

POTENCIAL ANTIHIPERGLICEMIANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*, L.) E TOMILHO (*Thymus vulgaris*, L.)

MARJANA RADÜNZ¹; TAIANE MOTA CAMARGO²; JOÃO PEDRO BLANK DA SILVA²; HELEN CRISTINA DOS SANTOS HACKBART²; ELIEZER AVILA GANDRA²; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE³

¹Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – taianemcamargo@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – blank.pedro94@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – helenhackbart@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – elessandrad@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus tipo II é um distúrbio metabólico caracterizado pela presença de um processo hiperglicêmico, causado por defeitos na secreção e/ou ação da insulina. Esta doença possui elevado grau de morbimortalidade, sendo considerada a terceira maior causa de morte prematura no mundo. No ano de 2015, o Brasil foi considerado o quarto país com maior número de portadores de diabetes (14,3 milhões de pessoas). Destes, os mais afetados são mulheres e indivíduos com baixo grau de escolaridade (OMS, 2018).

As enzimas digestivas α -amilase e α -glicosidase estão relacionadas com o desenvolvimento da diabetes, pois são responsáveis pelo metabolismo de compostos glicoconjugados, atuando na absorção da glicose nos enterócitos, onde ocorre a hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 da estrutura do amido por ação da α -amilase, produzindo dissacarídeos que serão hidrolisados em monossacarídeos pela α -glicosidase (YIN et al., 2014).

A inibição parcial dessas enzimas pode ser uma alternativa para o controle da diabetes mellitus tipo II, pois promove o retardamento da absorção da glicose no intestino delgado, reduzindo a glicemia pós-prandial. Existem diversos medicamentos no mercado, como a acarbose, que atuam inibindo a ação destas enzimas. Apesar dos benefícios, a acarbose promove uma gama de distúrbios gastrointestinais que diminuem a qualidade de vida dos indivíduos portadores da doença (OBOH et al., 2011; WU et al., 2011). Desta maneira, são necessários estudos que visem alternativas naturais para inibição das enzimas.

Os óleos essenciais, compostos produzidos pelo metabolismo especializado de plantas aromáticas, podem atuar na inibição das enzimas, pois apresentam em sua composição compostos fenólicos. Dentre os diversos óleos essenciais, destacam-se os oriundos do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.) e do tomilho (*Thymus vulgaris*, L), que possuem em sua composição eugenol (cravo-da-índia) e timol (tomilho) que apresentam comprovadas atividades biológicas, podendo atuar no controle de diversas doenças (RADÜNZ et al., 2019; RADÜNZ et al., 2020). Baseado no exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial antihiperglicemiante *in vitro* dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho.

2. METODOLOGIA

2.1 OBTEÇÃO DAS AMOSTRAS

Os floretes secos de cravo-da-índia e os ramos secos de tomilho foram obtidos no comércio local da cidade de Pelotas, RS. Para a obtenção dos óleos essenciais as amostras foram moidas em moinho de facas, e em seguida, os pós foram homogeneizados com água deionizada e hidrodestilados por arraste de vapor, durante 3 horas, de acordo com a recomendação da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010).

2.2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIHIPERGLICEMIANTE

O potencial antihiperglicemiante foi realizado por meio da inibição das enzimas digestivas α -amilase e α -glicosidase. Para fins de comparação, um controle utilizando acarbose (um dos medicamentos usuais no tratamento da diabetes mellitus tipo II) foi realizado. Tanto os óleos essenciais, quanto a acarbose foram utilizados na concentração de 250 mg/mL.

2.2.1 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA α -AMILASE

O potencial de inibição da α -amilase foi determinado de acordo com o método proposto por Satoh et al. (2015), com algumas modificações. Foram adicionadas em microplacas de 96 poços, 15 μ L de amostra, 50 μ L de tampão de fosfato (pH 7,0) e 12,5 μ L da enzima α -amilase pancreática porcina (241,71 U/mL, Sigma Aldrich). A placa foi então incubada em espectrofotômetro de microplaca (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA) por 5 min a 37 °C. Em seguida, 62,5 μ L de amido solúvel foram adicionados como substrato, e a mistura foi incubada por 15 min a 37 °C. Posteriormente, 12,5 μ L de HCl 1 M foram adicionados para interromper a reação. Finalmente, 25 μ L de solução de iodo (0,005 M) e iodeto de potássio (0,005 M) foram adicionados. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA), no comprimento de onda de 690 nm.

2.2.2 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA α -GLICOSIDASE

A atividade inibitória da α -glucosidase foi avaliada usando o procedimento descrito por Vinholes et al. (2011), com algumas modificações. Em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 10 μ L da amostra e 50 μ L de uma solução de substrato de p-nitrofenil- α -D-glicopiranósideo 3,25 mM (diluída em tampão de fosfato, pH 7,0). Em seguida, foram adicionados 50 μ L da enzima α -glucosidase (9,37 U/mL, diluída em tampão fosfato, pH 7,0; Sigma Aldrich) e a placa foi incubada em espectrofotômetro de microplaca (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA) a 37 °C por 10 min. Finalmente, a leitura da absorvância foi realizada a 405 nm.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada pela análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com nível de significância de 5% utilizando o programa Statistica 7.0 (Statsoft, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antihiperglicemiante dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Atividade antihiperglicemiante *in vitro* dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L) e tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) frente as enzimas α -amilase e α -glicosidase

Amostra	Inibição (%)	
	α -amilase	α -glicosidase
Cravo-da-índia	75,5b	93,1a
Tomilho	98,8a	81,3b
Acarbose*	73,4c	32,5c

*Acarbose – medicamento usual para controle de diabetes mellitus tipo II. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%)

O óleo essencial de tomilho apresentou maior potencial de inibição da enzima α -amilase quando comparados com o óleo essencial de cravo-da-índia e com a acarbose. Enquanto para a enzima α -glicosidase, o maior percentual de inibição foi o do óleo essencial de cravo-da-índia. Quando comparados com a acarbose, ambos os óleos essenciais apresentaram resultados estatisticamente superiores para as duas enzimas avaliadas, demonstrando o potencial promissor destes para o controle do processo hiperglicêmico.

Os resultados de inibição das enzimas por ação do óleo essencial de cravo-da-índia encontrados em nosso estudo, foram inferiores aos relatados nos estudos de Tahir et al. (2016) e Adefegha e Oboh (2012), entretanto as concentrações do óleo essencial aplicadas nestes estudos foram superiores a utilizada no presente trabalho. Ao contrário do resultado encontrado no óleo essencial de cravo-da-índia, os valores de inibição das enzimas por ação do óleo essencial de tomilho encontrados em nosso estudo, são superiores aos 50% de inibição relatados por Loizzo et al. (2014), mesmo em concentrações inferiores ao trabalho destes autores. Estas diferenças se devem a fatores edafoclimáticos, que alteram a composição dos óleos essenciais (RADÜNZ et al., 2019).

Existem poucos relatos na literatura a respeito do efeito antihiperglicemiante *in vitro* decorrente da inibição de enzimas digestivas pela ação de óleos essenciais. Porém estudos comprovam que os compostos polifenólicos presentes nesses óleos, podem apresentar efeitos insulínicos no uso da glicose, atuando na inibição dessas enzimas essenciais relacionadas ao processo hiperglicêmico (RANILLA et al., 2010). Nossos resultados são promissores e demonstram que os óleos essenciais podem ser usados, após testes em modelos *in vivo*, como agentes antihiperglicemiantes.

4. CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho apresentaram elevadas inibições das enzimas α -amilase e α -glicosidase, sendo estes superiores aos encontrados na acarbose. Deste modo, esses óleos essenciais podem futuramente, após ensaios *in vivo*, serem utilizados como medicamentos no controle da diabetes mellitus tipo II.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEFEGHA, S. A.; OBOH, G. In vitro inhibition activity of polyphenol-rich extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Clove) buds against carbohydrate hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat pancreas. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, p. 774-781, 2012.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; DUTHIE, G. Anti-rancidity effect of essential oils, application in the lipid stability of cooked turkey meat patties and potential implications for health. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, p. 50-57, 2014.

OBOH, G.; ADEMILUYI, A. O.; FALOYE, Y. M. Effect of Combination on the Antioxidant and Inhibitory Properties of Tropical Pepper Varieties Against α -Amylase and α -Glucosidase Activities In Vitro. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 1152-1158, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Health statistics and information systems: disease burden and mortality estimates. 2018. Disponível em: <http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html>. Acesso em : 21 de abril de 2020.

RADÜNZ, M.; HACKBART, H. C. S.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F. P.; DE BARROS, F. A. P.; DAL MAGRO, J.; SANCHES FILHO, P. J.; GANDRA, E. A.; RADÜNZ, A. L.; ZAVAREZE, E. R. Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 330, p. 108696, 2020.

RADÜNZ, M.; TRINDADE, M. L. M.; CAMARGO, T. M.; RADÜNZ, A. L.; BORGES, C. D.; GANDRA, E. A.; HELBIG, E. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food Chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.

SATOH, T.; IGARASHI, M.; YAMADA, S.; TAKAHASHI, N.; WATANABE, K. Inhibitory effect of black tea and its combination with acarbose on small intestinal α - glucosidase activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 147-155, 2015.

TAHIR, U.; SARFRAZ, A.; ASHRAF, A.; ADIL, S. Chemical Composition and Antidiabetic Activity of Essential Oils Obtained from Two Spices (*Syzygium aromaticum* and *Cuminum cuminum*). **International Journal of Food Properties**, v. 19, p. 2156-2164, 2016.

VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P. B.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P. G. D.; FERRERES, F. In vitro studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, v. 129, p. 454-462, 2011.

WU, T.; ZHOU, X.; DENG, Y.; JING, Q.; LI, M.; YUAN, L. In vitro studies of *Gynura divaricata* (L.) DC extracts as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 305-308, 2011.

YIN, Z.; ZHANG, W.; FENG, F.; ZHANG, Y.; KANG, W. α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, n. 3, p. 136-174, 2014.