

## ANÁLISE DA EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) NA MODULAÇÃO DA HIPERGLICEMIA: COMPARAÇÃO ENTRE FORMA NÃO ENCAPSULADO E ENCAPSULADO

PATRICK DIAS DAS NEVES<sup>1</sup>; MARJANA RADÜNZ<sup>2</sup>; TAIANE MOTA CAMARGO<sup>3</sup>; HELEN CRISTINA DOS SANTOS HACKBART<sup>4</sup>; MARIA EDUARDA MARRONI WEILER<sup>5</sup>; ALVARO RENATO GUERRA DIAS<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas– patrickdiasdasneves11@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas– marjanaradunz@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas– taianemcamargo@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas– helenhackbart@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas- mariaeduardamarroni@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - alvaro.guerradias@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A Diabetes mellitus é considerada como uma doença crônica não transmissível com elevadas taxas de morbimortalidade, caracterizada pelo processo de hiperglicemia resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (COBAS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012). Um dos métodos de controle dessa patologia é a inibição das enzimas digestivas, tais como a  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase, que atuam hidrolisando moléculas de glicose e amido. Atualmente os fármacos anti-hiperglicemiantes que exercem sua ação sobre essas enzimas estão associados a uma série de efeitos adversos, tais como dor abdominal, flatulência e diarreia. Portanto torna-se imperativo realizar uma investigação sobre compostos bioativos presentes de forma natural em alimentos, os quais possuam a capacidade de induzir uma inibição dessa atividade enzimática, com o intuito de mitigar os efeitos colaterais (YAMAGISHI et al., 2009; WEINERT et al., 2015).

Os óleos essenciais, substâncias obtidas do metabolismo especializado de plantas aromáticas podem desempenhar efeitos benéficos ao organismo humano. Dentre os óleos, destaca-se o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (ANDRADE, 2018). Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial anti-hiperglicemiante *in vitro* do óleo essencial de alecrim não encapsulado e encapsulado, pela técnica de *electrospinning*, através da capacidade de inibição das enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 AMOSTRAGEM E EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As amostras de alecrim foram coletadas no campo experimental pertencente ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, localizado no campus Erechim/RS. Em seguida, essas amostras foram liofilizadas por 48 horas, seguido de pulverização utilizando um moinho de bolas. Para a obtenção do óleo essencial, utilizou-se 80 gramas de alecrim em pó, que foram introduzidas em um extrator supercrítico. O extrator operou sob condições controladas, mantendo a temperatura constante a 25°C. A vazão de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) foi mantida a 2 L/min, como cálculo e monitoramento da vazão realizado por meio de cronômetro durante o experimento. A pressão inicial foi

estabelecida em 80 bar e, a cada 15 minutos, incrementada em 25 bar até atingir a pressão final de 280 bar estipulada para o experimento.

## 2.2. PROCESSO DE ENCAPSULAÇÃO

A encapsulação do óleo essencial de alecrim foi realizada na Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, empregando uma estação de eletrofação horizontal equipada com uma fonte de alta tensão de corrente contínua, bomba de infusão e coletor metálico revestido com alumínio. Como material de parede, utilizou-se a zeína, obtida comercialmente. A produção das cápsulas foi realizada da seguinte maneira: inicialmente, soluções poliméricas foram preparadas, utilizando zeína 9% (p/v) dissolvida em etanol 70%. Posteriormente, essa solução foi agitada de forma contínua durante 1h com o auxílio de um agitador magnético. O óleo essencial de alecrim foi então homogeneizado com as soluções de zeína em tubos de centrífuga de 2 mL, na proporção de 1%.

Em seguida, a solução foi transferida para uma seringa de 1 mL acoplada a um injetor com taxa de fluxo de 1 mL/h, com uma distância de 10 cm entre a ponta da agulha e o coletor de metálico. As tensões elétricas aplicadas foram de +16 kV na ponta da agulha. O óleo essencial encapsulado foi coletado no coletor de metálico, o qual foi revestido com folha de alumínio para a eficiente recuperação do material encapsulado.

## 2.3 ATIVIDADE ANTI-HIPERGLICEMIANTE

O potencial de inibição da  $\alpha$ -amilase foi determinado de acordo com o método proposto por Satoh et al. (2015). Inicialmente 15  $\mu$ L de amostra (óleo essencial de alecrim não encapsulado e encapsulado), 50  $\mu$ L de tampão de fosfato (pH 7,0) e 12,5  $\mu$ L da enzima  $\alpha$ -amilase pancreática porcina (241,71 U/mL, Sigma Aldrich) foram adicionadas em micro poços de uma microplaca. A placa foi então incubada em espectrofotômetro de microplaca (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA) por 5 min a 37 °C. Logo, 62,5  $\mu$ L de amido solúvel foram adicionados como substrato e, a mistura incubada por 15 min a 37 °C. Posteriormente, 12,5  $\mu$ L de ácido clorídrico 1 M foram adicionados para interromper a reação. Ao final, 25  $\mu$ L de solução de Lugol (iodo 0,005 M/ 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.

A atividade inibitória da  $\alpha$ -glucosidase foi avaliada usando o procedimento descrito por Vinholes et al. (2011). Inicialmente, em uma microplaca foram adicionados 10  $\mu$ L da amostra (óleo essencial de alecrim não encapsulado e encapsulado) e 50  $\mu$ L de solução de substrato de p-nitrofenil- $\alpha$ -Dglicopiranosídeo 3,25 mM (diluída em tampão de fosfato, pH 7,0). Em seguida, foram adicionados 50  $\mu$ L da enzima  $\alpha$ -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. Ao final, a leitura da absorvância foi realizada a 405 nm.

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística de média, desvio padrão e teste t-Student, com 95% de confiança, foi realizada utilizando programa estatístico Statistica 7.0 (Statsoft, EUA).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade anti-hiperglicemiante frente às enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase do óleo essencial de alecrim encapsulado e o do não encapsulado são apresentados na tabela 1, onde é possível observar que houve diferença significativa entre os óleos em ambas as enzimas. De acordo com a tabela 1 os óleos apresentaram atividades nas faixas de 74 – 36% para  $\alpha$ -amilase e 57 – 59% para  $\alpha$ -glicosidase para os óleos não encapsulados e encapsulados, respectivamente.

**Tabela 1.** Atividade anti-hiperglicemiante do óleo essencial de alecrim encapsulado e não encapsulado frente às enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase (média  $\pm$  desvio padrão).

Amostra	$\alpha$ -amilase (%)	$\alpha$ -glicosidase (%)
OEA não encapsulado	74,56 $\pm$ 0,30	57,40 $\pm$ 0,26
OEA encapsulado	36,76 $\pm$ 0,31	59,66 $\pm$ 0,55

\*OEA – óleo essencial de alecrim. ns: não significativo pelo teste t-Student ( $p > 0,05$ ).

As enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase são consideradas como enzimas-chave no metabolismo carboidratos, sendo que a inibição parcial destas enzimas pode ser uma forma de tratamento e prevenção da diabetes mellitus tipo II. A  $\alpha$ -amilase é responsável pela hidrólise de ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 da amilose e da amilopectina presentes no amido, enquanto a  $\alpha$ -glicosidase é responsável por hidrolisar os dissacarídeos, liberando duas moléculas de glicose para serem absorvidas na corrente sanguínea (MELBY, et al., 2009; YAMAGISHI et al., 2009; WILLIAMSON, 2013).

No presente estudo, o óleo essencial de alecrim não encapsulado inibiu fortemente a  $\alpha$ -amilase e moderadamente a  $\alpha$ -glicosidase, enquanto o óleo essencial de alecrim encapsulado inibiu moderadamente as duas enzimas. Estes resultados são promissores, visto que, inibir totalmente as enzimas digestivas é prejudicial para saúde, pois é necessária captação de parte da glicose para o funcionamento do organismo, ainda fortes inibições das enzimas podem promover um processo de fermentação bacteriana dos carboidratos não digeríveis no cólon, ocasionando efeitos adversos, tais como a diarreia (KIM et al., 2000; SOUZA, 2014).

## 4. CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de alecrim não encapsulado e encapsulado apresentaram atividade anti-hiperglicemiante por meio da inibição parcial das enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, podendo futuramente, após a realização de estudos mais aprofundados, serem utilizados para o controle da hiperglicemia. Em suma, os resultados deste estudo abre caminho para pesquisas

adicionais sobre o uso do óleo essencial de alecrim, como uma estratégia potencial no controle da diabetes mellitus tipo II. No entanto, é necessário realizar mais estudos para determinar a dosagem ideal e avaliar possíveis efeitos colaterais antes de considerar sua aplicação clínica.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. J.; FAUSTINO, C.; GARCIA, C.; LADEIRAS, D.; REIS, C. P.; RIJO, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. **Future Science OA**, v. 4, n. 2, 2018.

KIM, J. S.; KWON, C. S. SON, K. H. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 64, n. 11, p. 2458-2461, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas**. 1ª Edição. Instituto Plantarum. Nova Odessa, 512 p. 2006.

MELBY, C; SCHMITH, S.; HICKEY, H. Alimentos funcionais, resistência insulínica e diabetes. IN: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos Funcionais**. Viçosa: Folha de Viçosa, 2009, p. 159-184.

SATOH, T. et al. Inhibitory effect of black tea and its combination with acarbose on small intestinal  $\alpha$ -glucosidase activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 147-155, 2015.

SOUZA, R. L. A. **Estudo da funcionalidade de espécies comestíveis do semiárido nordestino e estratégias para sua utilização como ingredientes para fins alimentícios**. 2014. 145 f. Tese (Doutorado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

VINHOLES, J. et al. In vitro studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 454-462, 2011.

WEINERT, L. S; CAMARGO, E. G; SILVEIRO, S. P. Tratamento Medicamentoso da Hiperglicemia no Diabetes Mellitus Tipo 2. **Clinical & Biomedical Research**, v. 30, n. 4, 2015.

WILLIAMSON, G. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. **Molecular nutrition & food research**, v. 57, n. 1, p. 48-57, 2013.

YAMAGISHI, S; MATSUI, T; UEDA, S; FUKAMI, K; OKUDA, S. Clinical utility of acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor in cardiometabolic disorders. **Current Drug Metabolism**, n. 10, p. 159–163, 2009.