

## INIBIÇÃO DE $\alpha$ -AMILASE E $\alpha$ -GLICOSIDASE POR AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*, L.)

JOÃO PEDRO BLANK DA SILVA<sup>1</sup>; MARJANA RADÜNZ<sup>2</sup>; TAIANE MOTA CAMARGO<sup>2</sup>; ELIEZER AVILA GANDRA<sup>2</sup>; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>2</sup>; ALVARO RENATO GUERRA DIAS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – blank.pedro94@gmail.com

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

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

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – elessandrad@yahoo.com.br

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

### 1. INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos ultraprocessados, excesso de bebidas alcoólicas, tabagismo e o sedentarismo estão diretamente ligados ao aumento do número de pessoas com Diabetes Mellitus tipo II (DMII). No Brasil, esta doença afeta 11 milhões de brasileiros. Os principais afetados, segundo a Federação Internacional de Diabetes, são indivíduos entre 20 e 79 anos, entretanto observa-se uma crescente demanda da doença em crianças e adolescentes (IDF, 2015).

A DMII é caracterizada como um processo hiperglicêmico resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. As enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase estão relacionadas como o surgimento da doença, pois são responsáveis pelo metabolismo de glicoconjugados, atuando na degradação de carboidratos (YIN et al., 2014).

Um dos medicamentos usados para controle da hiperglicemia, como a acarbose, atua inibindo parcialmente a atividade das enzimas, reduzindo a glicose pós-prandial, devido retardo da absorção de carboidratos, em contrapartida este medicamento provoca uma gama de efeitos colaterais, tais como flatulência (WU et al., 2011). Deste modo, terapias alternativas com uso de compostos naturais se fazem necessárias para o controle da doença. Dentre os compostos que podem apresentar efeitos na redução da glicemia pós-prandial, destacam-se os óleos essenciais, como o de orégano (*Origanum vulgare*, L.), pois apresenta em sua composição carvacrol e o timol, compostos com comprovadas atividades biológicas (BÉJAOUI et al., 2013; GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2019).

Baseado no exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial de inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase pelo óleo essencial de orégano.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de orégano foram obtidas no comércio local da cidade de Pelotas. Para a obtenção do óleo essencial, as amostras foram moídas em moinho de facas, e em seguida, o pó foi homogeneizado com água deionizada e hidrodestilado 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 antihiperlicemiante foi realizado por meio da inibição das enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase. Para fins de comparação, um controle utilizando acarbose (um dos medicamentos usuais no tratamento da diabetes mellitus tipo 2) foi realizado. Tanto o óleo essencial, quanto a acarbose foram utilizados na concentração de 250 mg/mL.

### 2.2.1 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA $\alpha$ -AMILASE

O potencial de inibição da  $\alpha$ -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  $\mu$ L de amostra, 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). A placa foi então incubada em espectrofotômetro de microplaca (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA) por 5 min a 37 °C. Em seguida, 62,5  $\mu$ L de amido solúvel foram adicionados como substrato, e a mistura foi incubada por 15 min a 37 °C. Posteriormente, 12,5  $\mu$ L de HCl 1 M foram adicionados para interromper a reação. Finalmente, 25  $\mu$ 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.

### 2.2.3 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA $\alpha$ -GLICOSIDASE

A atividade inibitória da  $\alpha$ -glucosidase foi avaliada usando o procedimento descrito por Vinholes et al. (2011), com algumas modificações. Em uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 10  $\mu$ L da amostra e 50  $\mu$ L de uma solução de substrato de p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo 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. 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

O óleo essencial de orégano apresentou menor inibição da enzima  $\alpha$ -amilase e maior inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase, quando comparada com o controle (acarbose) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Potencial antihiperlicemiante do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*, L.) frente as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase

Amostra	Inibição (%)	
	$\alpha$ -amilase	$\alpha$ -glicosidase
Orégano	50,5b	81,4a
Acarbose*	73,4a	32,5b

\*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 orégano apresentou percentual de inibição de 50,5% para a enzima  $\alpha$ -amilase, resultado semelhante ao encontrado por outros autores, que em suas pesquisas obtiveram percentuais de inibição da  $\alpha$ -amilase entre 20,3 a 95% em diferentes concentrações (BÉJAOUI et al., 2013; GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2019), entretanto inferior ao encontrado para a acarbose, evidenciando que para esta enzima, o óleo essencial de orégano não foi tão efetivo quanto o medicamento, mas ainda assim, inibe mais da metade da capacidade de ação da enzima, sendo um resultado bastante promissor.

Não foram encontrados estudos avaliando o potencial de inibição de  $\alpha$ -glicosidase, entretanto o resultado encontrado em nosso estudo é superior ao encontrado para a acarbose, o que é considerado uma inibição forte, apresentando um resultado considerado bastante interessante. Pode-se sugerir que o óleo essencial de orégano pode atuar como um agente natural para o controle de DMII.

#### 4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de orégano apresentou moderada atividade de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase e alta inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase, quando comparada com a acarbose, demonstrando assim que esse óleo essencial pode ser utilizado futuramente como um medicamento para o controle do processo hiperglicêmico.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÉJAOUI, A.; BOULILA, A.; BOUSSAID, M. Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare* subsp. glandulosum Desf. from Tunisia. **Journal Of Medicinal Plant Research**, v. 7, p. 2429-2435, 2013.

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

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P.; ANTUNES-RICARDO, M.; ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; BASILIO-HEREDIA, J. Cellular antioxidant activity and in vitro inhibition of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and pancreatic lipase of oregano polyphenols under simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 116, p. 676-686, 2018.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Diabetes Atlas [Internet]. 6th ed. Brussels: **International Diabetes Federation**; 2014. Disponível em: <http://www.idf.org/diabetesatlas>.

SATOH, T.; IGARASHI, M.; YAMADA, S.; TAKAHASHI, N.; WATANABE, K. 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.

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.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, n. 3, p. 136-174, 2014.