

Extrato de casca de jaboticaba como inibidor da lipase pancreática *in vitro*

Pâmela Alves Castilho¹

Tamires Barlati Vieira da Silva²

Rosane Marina Peralta³

Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi⁴

Reaproveitamento, Reutilização e Tratamento de Resíduos

Resumo

A obesidade é uma desordem metabólica com acúmulo excessivo de gordura corporal e relacionado a várias comorbidades, um dos mecanismos anti obesidade se dá por inibição das enzimas digestivas. A jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) destaca-se entre as frutas nativas brasileiras devido as suas propriedades nutricionais e funcionais, entre eles estão presentes compostos bioativos que interferem no metabolismo de lipídios e carboidratos. **Objetivo.** Avaliar o potencial efeito inibitório do extrato hidroetanólico da casca de jaboticaba (EHCJ) sobre a atividade da lipase pancreática *in vitro*. **Metodologia.** A casca da jaboticaba foi adquirida do sítio do Belo, seca em estufa à 45°C, e triturada até obtenção de um pó fino. O extrato foi preparado na concentração de 10% em solução hidroetanólica 70%. O extrato bruto mantido em estufa a 45°C para evaporação do etanol. No final, a fase aquosa liofilizada e estocada em freezer a -20°C. Experimentos cinético foram realizados a 37°C em tampão Tris-HCl pH 8.0. **Resultados.** O EHCJ inibiu a lipase pancreática de maneira dose dependente, na concentração de 50 µg/mL o EHCJ reduziu em 11,5% a atividade da lipase pancreática e quando se utilizou a concentração de 300 µg/mL a atividade da lipase pancreática foi reduzida em 70%. **Conclusão.** Os dados obtidos demonstram forte inibição da lipase pancreática *in vitro* e sugerem que o resíduo da casca da jaboticaba, descartado pelas empresas, pode ser útil no controle da picos de hipertrigliceridemia, e quem sabe no futuro, contribuir como adjuvante no tratamento da obesidade.

Palavras-chave: Aproveitamento de resíduos; Inibidores de enzimas digestivas; *Myrciaria jaboticaba*.

¹ Mestranda, Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Bioquímica, pamela.alvescastilho@gmail.com

² Doutoranda, Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Bioquímica, tamiresbarlati93@gmail.com

³ Profa. Dra., Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Bioquímica, rosanemperalta@gmail.com

⁴ Profa. Dra., Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Bioquímica, absnakanishi@uem.br

INTRODUÇÃO

A jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) destaca-se entre as frutas nativas brasileiras pelo alto potencial comercial devido as suas propriedades sensoriais agradáveis, além das propriedades nutricionais e funcionais (INADA et al., 2015). É uma fruta fonte de polifenóis como antocianinas, proantocinidinas, quercetina e derivados do ácido elágico, como elagitaninos que se concentram principalmente na casca roxa escura a quase negra (ALEZANDRO et al., 2013). Entre estes compostos, as proantocianidinas, os elagitaninos e as antocianinas destacam-se pela capacidade antioxidante, antitumoral, e anti-inflamatória, além de auxiliarem no combate a doenças cardiovasculares, diabetes e sobre o metabolismo de carboidratos e lipídeos (LIU et al., 2015; ZHANG et al., 2014).

A obesidade é uma desordem metabólica com acúmulo excessivo de gordura corporal e relacionado a várias comorbidades, como por exemplo o diabetes tipo 2 (GALLAGHER; LEROITH, 2015). É um problema mundial de saúde pública, com custos sociais incalculáveis. Embora existam drogas anti-obesidade elas apresentam grandes efeitos colaterais, como dor abdominal, flatulência, diarreia e diminuição da absorção de vitaminas. Por esta razão, compostos naturais tem sido explorado como potenciais alternativas seguras no tratamento da obesidade. Um dos mecanismos anti obesidade se dá por inibição das enzimas digestivas α -amilase, α -glicosidase e lipase pancreática. Estas enzimas catalisam a hidrólise e absorção de carboidratos e lipídeos da dieta. Desse modo a inibição destas enzimas impedem hiperglicemia e hipertrigliceridemia pós-prandial.

A lipase pancreática é uma enzima secretada no duodeno, está principalmente envolvida com a digestão lipídica, sendo responsável pela absorção de gorduras da dieta através da quebra de triacilgliceróis em ácidos graxos livres e monoacilgliceróis no lúmen intestinal, além de ser essencial para digestão também participa do transporte e processamento dos lipídios alimentares (YANG et al., 2014). Recentemente, os inibidores da lipase pancreática têm atraído muito interesse pelos grupos de pesquisa devido a sua atividade anti-obesidade, por retardar a digestão e absorção de gorduras. (YANG et al., 2014).

Considerando o exposto, e com intuito de aproveitar a casca da jaboticaba que é

descartada como resíduo pela indústria de sucos, o objetivo deste trabalho foi preparar um extrato da casca e avaliar o seu efeito sobre a atividade da enzima lipase pancreática, *in vitro*.

METODOLOGIA

Preparo do extrato hidroetanólico de M. jaboticaba

A casca da jaboticaba foi adquirida do sítio do Belo (Estado de São Paulo), seca em estufa de recirculação de ar à 45°C, e triturada até obtenção de um pó fino. O extrato foi preparado na concentração de 10% (peso de casca por volume de líquido de extração) em solução hidroetanólica 70%. A solução foi mantida sob agitação (120rpm) a temperatura ambiente (2 horas) e protegida da luz. Esta foi filtrada em papel de filtro Whatman (número 1). O resíduo foi ressuspensionado em solução de extração como anteriormente e o procedimento repetido por mais 2 vezes. O extrato bruto foi concentrado em estufa a 45°C para evaporação do etanol. E finalmente liofilizado e estocado em freezer a -20°C.

Ensaio in vitro do efeito do extrato da jaboticaba sobre a atividade da lipase pancreática

A atividade da lipase pancreática foi determinada espectrofotometricamente a 410nm, usando p-nitrofenil-palmitato como substrato (OLIVEIRA et al., 2015). O substrato foi preparado em isopropanol e sonificado até completa solubilização. A lipase pancreática de porco foi solubilizada em tampão Tris-HCl (pH 8.0) na concentração de 2mg/mL. Esta suspensão foi centrifugada (2.000g, 15 min.) e o sobrenadante usado como fonte enzimática. O meio de reação contendo 100mM tampão Tris-HCl (pH8.2) e 530mM de substrato incubado a 37°C, e a solução da enzima (0,1mL) adicionado, a reação foi contínua por 20 minutos a mesma temperatura. A reação foi paralisada por transferência do tubo de reação para banho de gelo. Após 10min. o meio de reação centrifugado (1500g por 5 min.). Uma U de enzima foi definida como 1umol de p-nitrofenol liberado enzimaticamente a partir dos substratos por min., por mL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente foi estabelecida a relação entre a concentração do extrato hidroetanólico da casca de jaboticaba (EHCJ) e seu efeito inibidor, demonstrando

dependência da concentração do EHCJ com a inibição da lipase pancreática.

Para elucidar o mecanismo cinético da inibição do EHCJ foram conduzidas uma série de experimentos nas quais as concentrações de substrato (p-nitrofenil-palmitato) e inibidor (EHCJ) foram alterados de maneira sistemática. Os resultados são demonstrados na Figura 1. Como esperado, o aumento das concentrações são dependentes da dose.

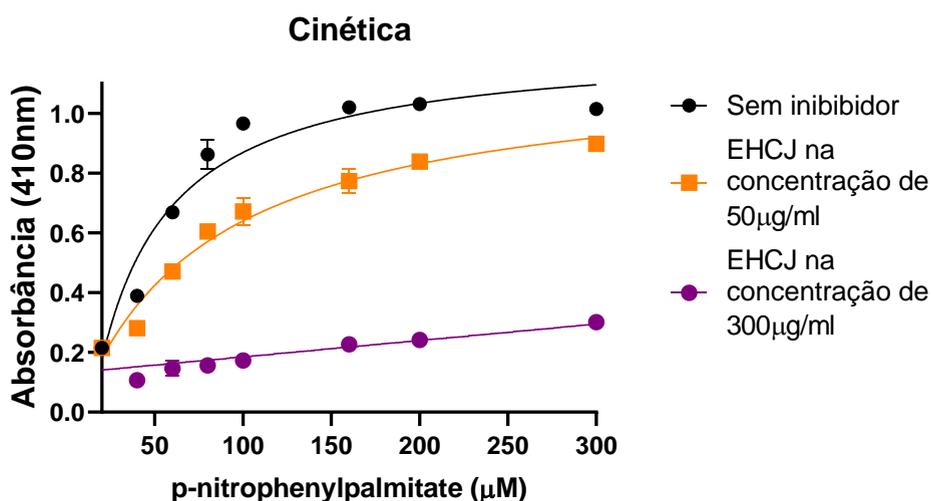


Figura 1. Efeito do EHCJ na inibição enzimática da lipase pancreática a 37°C.

Na concentração de 50 µg/mL o EHCJ reduziu em 11,5% a atividade da lipase pancreática e quando se utilizou a concentração de 300 µg/mL a atividade da lipase pancreática foi reduzida em 70%.

Nos últimos anos, vários artigos têm sido publicados explorando a capacidade de certos compostos fenólicos inibirem a ação de diversas enzimas (SILVA et al., 2014), sendo assim a capacidade de inibição do EHCJ pode ter ocorrido devido a presença desses compostos especialmente as antocianinas. Os resultados da maioria dos estudos de intervenção em humanos sustentam a hipótese de que as antocianinas podem afetar positivamente os marcadores de obesidade (GUO; LING, 2015).

CONCLUSÃO

O EHCJ demonstrou potente inibição da lipase pancreática *in vitro*. Os dados obtidos

sugerem que o resíduo da casca da jaboticaba, descartado pelas empresas, pode ser útil no controle da picos de hipertrigliceridemia, e quem sabe no futuro, contribuir como adjuvante no tratamento da obesidade.

REFERÊNCIAS

- ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468–477, 1 nov. 2013.
- GALLAGHER, E. J.; LEROITH, D. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. **Physiological reviews**, v. 95, n. 3, p. 727–48, jul. 2015.
- GUO, H.; LING, W. The update of anthocyanins on obesity and type 2 diabetes: Experimental evidence and clinical perspectives. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 4 mar. 2015.
- INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, 1 ago. 2015.
- LIU, R. et al. Effects of ellagic acid-rich extract of pomegranates peel on regulation of cholesterol metabolism and its molecular mechanism in hamsters. **Food & Function**, v. 6, n. 3, p. 780–787, 11 mar. 2015.
- OLIVEIRA, R. F. et al. Inhibition of pancreatic lipase and triacylglycerol intestinal absorption by a Pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5601–5614, 9 jul. 2015.
- SILVA, S. M. DA et al. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1–8, 1 fev. 2014.
- YANG, M. H. et al. Phenolic compounds with pancreatic lipase inhibitory activity from Korean yam (*Dioscorea opposita*). **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 1–6, fev. 2014.
- ZHANG, H.-M. et al. Research progress on the anticarcinogenic actions and mechanisms of ellagic acid. **Cancer biology & medicine**, v. 11, n. 2, p. 92–100, jun. 2014.