



## ARTIGO

# Inibição de enzimas digestivas por pellets de lúpulo (*Humulus lupulus* L.)

Tamara Rezende Marques<sup>1\*</sup>, Luciana Lopes Silva Pereira<sup>1</sup>, Anderson Assaid Simão<sup>1</sup>, Vinicius de Oliveira Ramos<sup>1</sup>, Mariana Aparecida Braga<sup>1</sup>, Angelita Duarte Corrêa<sup>1</sup> e Custodio Donizete dos Santos<sup>1</sup>

Recebido: 28 de novembro de 2013    Recebido após revisão: 1 de novembro de 2014    Aceito: 20 de novembro de 2014  
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2854>

**RESUMO:** (Inibição de enzimas digestivas por pellets de lúpulo (*Humulus lupulus* L.)). A utilização de plantas medicinais representa um vasto campo de pesquisa na busca de novas fontes terapêuticas para tratamento da obesidade, entre outras doenças. Objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial inibitório do extrato aquoso de lúpulo (forma de pellets) sobre as enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase, lipase e tripsina. Foi preparado um extrato aquoso de lúpulo (forma de pellets) na proporção 1:20 (p/v) que foi utilizado como inibidor nos ensaios enzimáticos, que foram realizados na ausência e presença de fluido gástrico simulado afim de simular o processo de digestão no estômago *in vitro*. Avaliou-se também o efeito da temperatura na atividade dos inibidores. Na ausência do fluido gástrico simulado houve inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase ( $80,91 \pm 1,16\%$ ),  $\alpha$ -glicosidase ( $40,96 \pm 3,57\%$ ) e tripsina ( $67,48 \pm 3,69\%$ ), enquanto que na presença do fluido gástrico simulado, a capacidade inibitória do extrato desapareceu para a  $\alpha$ -amilase, teve pequeno aumento para a  $\alpha$ -glicosidase ( $44,25 \pm 2,81\%$ ) e aumento significativo para a tripsina ( $89,01 \pm 1,45\%$ ). O tratamento térmico não alterou a capacidade inibitória do extrato. Conclui-se que o extrato aquoso de lúpulo apresenta potencial no tratamento da obesidade, porém, um estudo mais detalhado ainda se faz necessário para a melhor compreensão de seus mecanismos de ação, possibilitando futuras aplicações no tratamento desta patologia ou para diversos fins terapêuticos.

**Palavras-chave:** plantas medicinais, obesidade, enzimas digestivas.

**ABSTRACT:** (Inhibition of digestive enzymes by pellets of hop (*Humulus lupulus* L.)). The use of medicinal plants represents a wide field of research in the search for new therapeutic sources for the treatment of obesity, among other diseases. The objective of this study was to evaluate the inhibitory potential of the aqueous hop extract (in pellet form) on the digestive enzymes  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase and trypsin. An aqueous hop extract (in pellet form) was prepared in the 1:20 ratio (w/v) and used as an inhibitor in enzyme assays, which were performed in the absence and presence of simulated gastric fluid, in order to simulate the digestive process in the stomach *in vitro*. The effect of temperature on the activity of the inhibitors was also evaluated. In the absence of simulated gastric fluid, there was inhibition of enzymes  $\alpha$ -amylase ( $80.91 \pm 1.16\%$ ),  $\alpha$ -glucosidase ( $40.96 \pm 3.57\%$ ) and trypsin ( $67.48 \pm 3.69\%$ ), whereas in the presence of simulated gastric fluid the inhibitory capacity of the extract disappeared for  $\alpha$ -amylase, had a slight increase for  $\alpha$ -glucosidase ( $44.25 \pm 2.81\%$ ) and a significant increase for trypsin ( $89.01 \pm 1.45\%$ ). Heat treatment did not alter the inhibitory capacity of the extract. We concluded that the aqueous hop extract has a potential use in the treatment of obesity. However, a more detailed study is still necessary for better understanding its mechanisms of action, which would thus enable future applications in the treatment of this pathology or for several therapeutic purposes.

**Key words:** medicinal plants, obesity, digestive enzymes.

## INTRODUÇÃO

A incidência de sobrepeso e obesidade vem aumentando em todo mundo, sendo considerada uma epidemia global, caracterizando-se como um dos principais contribuintes para a elevada prevalência de doenças crônicas e incapacitantes na atualidade. Estima-se que haja mais de um bilhão de adultos acima do peso no mundo, e destes, 400 milhões estejam clinicamente obesos (Tucci *et al.* 2010).

Das opções disponíveis para tratamento desta enfermidade, as mais empregadas são o uso de dietas balanceadas, práticas regulares de exercícios físicos e os tratamentos medicamentosos, que vão desde inibidores de enzimas a anorexígenos e, em casos extremos, cirurgia (Celleno *et al.* 2007).

Devido aos efeitos colaterais, ineficácia e elevado custo dos medicamentos tradicionalmente utilizados no tratamento da obesidade, a utilização de plantas medicinais

está sendo amplamente explorada, tanto pela população, devido ao fácil acesso, baixo custo, não exigência de prescrição médica e crença de ausência de efeitos tóxicos, como pela indústria farmacêutica que vê nessas plantas uma alternativa viável para o desenvolvimento futuro de medicamentos que induzam a redução de peso de forma eficaz e segura (Mayer *et al.* 2009, Park *et al.* 2005). Estudos mostram que vários produtos naturais, incluindo extratos e compostos isolados de plantas, estão sendo utilizados para a redução do peso corporal e prevenção da obesidade (Rayalam *et al.* 2008, Souza *et al.* 2011, Simão *et al.* 2012).

Para tratamento da obesidade, uma das estratégias inclui o estudo de inibidores da digestão e absorção de nutrientes, alvos esses presentes em produtos naturais. Inibidores das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase responsáveis pelo processamento de carboidratos provenientes da dieta oferecem uma estratégia promissora para auxiliar

1. Laboratório de Bioquímica. Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

\* Autor para contato. E-mail: [tamara\\_rezende@hotmail.com](mailto:tamara_rezende@hotmail.com)

no tratamento da obesidade, hiperglicemia associada ao diabetes tipo 2 e hipertensão através da redução da quebra do amido e da absorção da glicose no intestino (Kwon *et al.* 2006). Adicionalmente, a lipase envolvida no metabolismo de lipídios apresenta-se também como alvo de inibidores, uma vez que sua inibição promove redução na absorção de triglicerídeos da dieta, ocasionando diminuição do aproveitamento calórico e perda de peso (Viegas Jr *et al.* 2006). Assim, inibidores de enzimas digestivas que ajudem a limitar a absorção intestinal de carboidratos e gorduras na fase inicial podem revelar-se úteis como auxiliares no tratamento da obesidade.

Neste contexto, o lúpulo (*Humulus lupulus* L.), planta silvestre e herbácea pertencente à família Cannabaceae, se mostra como uma opção bastante promissora para tratamento da obesidade. Desde a antiguidade o lúpulo era utilizado como planta medicinal e nos dias atuais, a medicina natural atribui-lhe várias propriedades terapêuticas, indicando-o no combate a várias enfermidades (Magalhães 2006). Em sua composição destaca-se a presença de compostos fenólicos que são substâncias bioativas que podem propiciar vários benefícios para tratamento da obesidade e doenças correlacionadas.

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, originados do metabolismo secundário das plantas, encontrados largamente em frutas (Angelo & Jorge 2007). As estruturas fenólicas têm a capacidade de se combinar com enzimas digestivas, proteínas e outros polímeros (carboidratos e pectinas) formando complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes, assim, faz com que os compostos fenólicos sejam possíveis inibidores de algumas enzimas digestivas (Costa *et al.* 2008).

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o potencial inibitório do extrato aquoso de lúpulo (forma de pellets) sobre as enzimas digestivas  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase, lipase e tripsina, com vistas a determinar possíveis propriedades antiobesidade deste extrato.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção da amostra

O lúpulo (*H. lupulus*) utilizado foi do tipo pellets Horizon, utilizado na fabricação de cervejas artesanais, adquirido no mercado local de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

### Preparo do extrato de lúpulo

O extrato foi preparado em água na proporção de 1 g de lúpulo tipo pellets para um volume de água de 20 mL. A mistura foi agitada por 60 minutos, filtrada em tecido organza e centrifugada a 2500 x g, durante 10 minutos. O sobrenadante denominado inibidor foi utilizado nos ensaios de inibição enzimática.

### Obtenção das enzimas

Foram utilizadas nos ensaios a enzima  $\alpha$ -amilase (EC

3.2.1.1) pancreática suína do tipo VI (SIGMA) e as enzimas tripsina (EC 3.4.21.4) pancreática suína e lipase (EC 3.1.1.3) suína tipo II (MERCK).

A  $\alpha$ -glicosidase (EC 3.2.1.20) foi obtida a partir de duodeno suíno fresco. O tecido foi triturado em liquidificador com tampão Tris-HCl 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH 8,0 a 15 °C, para extração das enzimas das membranas dos enterócitos e processado em mixer até completa homogeneização. O homogeneizado foi filtrado em malha de nylon e centrifugado por 10 minutos a 4.000 x g, a 15 °C. O sobrenadante foi recolhido e utilizado como extrato enzimático (Souza *et al.* 2011).

### Ensaio de inibição da $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase

Para a determinação da inibição de  $\alpha$ -amilase na presença e ausência do inibidor utilizou o método proposto por Noelting & Bernfeld (1948). Assim, 50  $\mu$ L do extrato de lúpulo e 50  $\mu$ L de enzima  $\alpha$ -amilase (preparada em tampão Tris 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 acrescido de NaCl 0,38 mMol L<sup>-1</sup> e CaCl<sub>2</sub> 0,1 mMol L<sup>-1</sup>) foram pré-incubados, por 20 minutos, em banho-maria a 37 °C. O substrato foi o amido 1% preparado em água. Após adição de 100  $\mu$ L do substrato, a mistura foi incubada por quatro períodos de tempo. A reação foi interrompida adicionando-se 200  $\mu$ L do reagente ácido 3,5 dinitrosalicílico e o produto lido em espectrofotômetro a 540 nm.

A atividade de  $\alpha$ -glicosidase foi determinada segundo Kwon *et al.* (2006), utilizando *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo 5 mmol L<sup>-1</sup> em tampão citrato-fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50  $\mu$ L do extrato de lúpulo e 100  $\mu$ L de enzima foram incubados em banho-maria, a 37 °C, por quatro períodos de tempo, após adição de 50  $\mu$ L do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1.000  $\mu$ L de NaOH 0,05 mol L<sup>-1</sup> e a leitura do produto feita em espectrofotômetro a 410 nm.

### Ensaio de inibição da lipase

A lipase pancreática foi preparada em tampão Tris-HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>, pH 8 (contendo NaCl 0,025 mol L<sup>-1</sup> e CaCl<sub>2</sub> 0,010 mol L<sup>-1</sup>). O *p*-nitrofenilpalmitato (substrato da lipase) 0,008 mol L<sup>-1</sup> foi dissolvido em Triton-X 100, 0,5% (m/v), a 37 °C. O *p*-nitrofenol (produto da ação da lipase sobre o *p*-nitrofenilpalmitato), de coloração amarela no pH do ensaio, foi lido a 410 nm, sem interrupção da reação (Souza *et al.* 2011).

### Ensaio de inibição da tripsina

A atividade de tripsina foi determinada segundo a metodologia proposta por Erlanger *et al.* (1961), no qual 200  $\mu$ L do extrato de lúpulo e 200  $\mu$ L de enzima foram incubados em banho-maria, a 37 °C, por quatro períodos de tempo, após adição de 800  $\mu$ L do substrato *p*-benzoil-D-L-arginina-*p*-nitroanilida (BAPNA) preparado em tampão TRIS (trihidroximetilaminometano) 0,05 mol L<sup>-1</sup>, pH 8,2. A reação foi interrompida adicionando-se 200  $\mu$ L de ácido acético 30% e o produto lido em espectrofotômetro a 410 nm.

### Ensaio de inibição enzimática

Para as análises de atividade e de inibição, a mistura de reação foi incubada por pelo menos quatro diferentes períodos de tempos. Concomitantemente foram preparados tubos controle (enzima e substrato sem adição de extrato de lúpulo) e branco controle (extrato de lúpulo e enzima sem substrato e extrato de lúpulo e substrato sem enzima).

A inibição das enzimas foi obtida a partir dos ensaios na ausência de extrato de lúpulo (A), na ausência do extrato de lúpulo e da enzima (a), na presença de extrato de lúpulo, enzima e substrato (B) e na ausência da enzima (b). Em cada análise, os extratos foram pré-incubados com a enzima por 20 minutos, antes da adição do substrato e início da contagem do tempo. Todas as análises foram feitas em triplicata.

A inibição das enzimas foi calculada a partir da diferença entre a inclinação da reta do gráfico (absorbância x tempo) do ensaio na ausência do inibidor ( $A-a$ ) e na presença do inibidor ( $B-b$ ) e foi expressa em porcentagem (%) de inibição.

A porcentagem de inibição ( $I\%$ ) foi calculada pela equação:

$$I\% = \frac{(A - a) - (B - b)}{(A - a)} \times 100$$

### Teste de resistência do inibidor frente ao fluido gástrico simulado

O extrato de lúpulo foi incubado com o fluido gástrico simulado preparado segundo a Farmacopéia Americana (USP, 1995), por 60 minutos, em banho-maria a 37 °C para simular o processo de digestão no estômago. Após esse período, foi neutralizado com bicarbonato de sódio puro até pH fisiológico, com o intuito de observar a influência do pH gástrico na inibição das enzimas.

### Teste de resistência do inibidor frente ao tratamento térmico

O extrato de lúpulo foi colocado em banho-maria a 37, 50, 70 e 95 °C durante 30 minutos. Após a exposição às temperaturas os ensaios enzimáticos foram repetidos para verificar se houve alteração na efetividade do inibidor.

### Determinação de compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi realizada com 1 g de lúpulo em 50 mL de metanol 50% sob refluxo por três vezes consecutivas, a 80 °C, e os extratos recolhidos, evaporados até 25 mL e submetidos à dosagem de compostos fenólicos, utilizando-se o reagente de Folin-Denis, e como padrão o ácido tânico (AOAC 2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inibição de enzimas digestivas é uma promissora alternativa para tratamento da obesidade, principalmente pelo fato de elas agirem no intestino delgado, sem atuação

no sistema nervoso central onde atuam os anorexígenos geralmente usados.

Os resultados da inibição enzimática pelo extrato aquoso de lúpulo (1 g de pellets/20 mL) encontram-se na Tabela 1.

O extrato aquoso de lúpulo inibiu as duas glicosidas analisadas. A inibição dessas enzimas digestivas é vantajosa para o tratamento da obesidade e do diabetes mellitus tipo II, entretanto, como os extratos de plantas podem apresentar muitos metabólitos secundários, envolvidos em sua própria defesa, podem também inibir enzimas digestivas importantes para o ser humano e, se isso ocorrer, são considerados como antinutrientes.

A tripsina, uma importante proteinase digestiva encontrada no tubo digestivo, também foi analisada e mostrou uma alta inibição pelo extrato de lúpulo (67,48 % ± 3,69). Inibidores de tripsina presentes na dieta podem ocasionar redução na taxa de crescimento em animais acompanhada de uma diminuição na digestibilidade proteica podendo acarretar perda de peso (Macdougall *et al.* 2005). Essa alta inibição da tripsina pode ser inativada com o aquecimento, mudança de pH do extrato que leva a inativação dos inibidores provavelmente por desnaturação e complexação com os componentes do extrato ou pela adição de algum agente que reduza as ligações dissulfeto provavelmente presentes no extrato de lúpulo (Sgarbieri & Whitaker, 1982, Carvalho *et al.* 2002). Não se detectou inibição da enzima lipase, envolvida no metabolismo lipídico pelo extrato aquoso de lúpulo.

Vários estudos têm buscado em plantas medicinais inibidores de enzimas digestivas para serem utilizados no tratamento da obesidade, como os de Pereira *et al.* (2010) (chá verde e preto), Souza *et al.* (2011) (*Baccharis trimera*), Pereira *et al.* (2011) (*Hoodia gordonii*), Simão *et al.* (2012) (*Aloe vera*, *Garcinia cambogia*, *Simaba ferruginea* e *Tournefortia paniculata*), entre outros. Tais estudos demonstram a eficácia, a importância e o potencial de uso de inibidores dessas enzimas no tratamento da obesidade e comorbidades associadas e reforçam a necessidade da busca por novas fontes de inibidores de amilases (Obiro *et al.* 2008, Udani *et al.* 2009), de glicosidas (Kwon *et al.* 2006) e de lipases (Sharma *et al.* 2005, Souza *et al.* 2011).

A passagem do extrato de lúpulo pelo trato gastrointestinal pode acarretar modificações estruturais nos inibidores em decorrência do pH ácido do estômago, inativando-os. Como a ingestão desse extrato ou outra forma medicinal

**Tabela 1.** Percentual de inibição de  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase, tripsina e lipase pelo extrato aquoso de lúpulo em pellets, a 37 °C, antes e após a simulação da digestão com fluido gástrico.

Enzimas	% Inibição a 37 °C <sup>1</sup>	
	Sem fluido	Com fluido
$\alpha$ -amilase	80,91 ± 1,16	nd
$\alpha$ -glicosidase	40,96 ± 1,25	44,25 ± 2,81
Tripsina	67,48 ± 3,69	89,01 ± 1,45
Lipase	nd	nd

1. Média de 3 repetições ± desvio padrão; nd, não detectado.

**Tabela 2.** Percentual de inibição de  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase, tripsina e lipase pelo extrato de lúpulo em pellets após o tratamento térmico.

Enzimas	% Inibição por Temperatura <sup>1</sup>			
	37 °C	50 °C	70 °C	95 °C
$\alpha$ -amilase	80,91 $\pm$ 1,16	90,41 $\pm$ 2,26	77,72 $\pm$ 3,58	75,13 $\pm$ 3,69
$\alpha$ -glicosidase	40,96 $\pm$ 1,25	40,13 $\pm$ 4,37	45,24 $\pm$ 1,04	61,21 $\pm$ 0,79
Tripsina	67,48 $\pm$ 3,69	61,48 $\pm$ 4,21	69,48 $\pm$ 4,78	75,32 $\pm$ 4,02
Lipase	nd	nd	nd	nd

1. Média de 3 repetições  $\pm$  desvio padrão; nd, não detectado.

nal derivada do lúpulo vai passar pelo estômago, que é muito ácido, existe a expectativa de alterar a estrutura do inibidor, hidrolisando, por exemplo, uma ligação éster e alterando conseqüentemente a inibição das enzimas.

Esse comportamento seria desejável se ocorresse com o inibidor de tripsina eliminando o caráter antinutricional do extrato, mas indesejável se os inibidores das outras enzimas fossem hidrolisados e deixassem de inibir as glicosidases, após a passagem do extrato pelo estômago. Assim, considerando a expressiva inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase e tripsina na presença do extrato de FBA, este foi submetido a um teste de possível ação do fluido gástrico sob a atividade inibitória do extrato.

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostraram que a inibição da  $\alpha$ -amilase desaparece após a exposição ao fluido gástrico simulado, enquanto que, a inibição da tripsina aumenta de 67,48% para 89,01% e, da glicosidase tem pequeno aumento de 40,96% para 44,25%. Dessa forma, o caráter antinutricional é acentuado com a passagem do extrato pelo estômago enquanto o caráter antiobesidade mais interessante, que é a inibição da amilase, uma despolimerase responsável pelo início da hidrólise do amido, e indiretamente responsável por diminuir a absorção de glicose e contribuir para o controle da obesidade, desaparece.

O desaparecimento da atividade da  $\alpha$ -amilase após a simulação da digestão estomacal sugere que o inibidor desta enzima presente no extrato de lúpulo seja um tanino hidrolisável, que apresenta como característica um núcleo central de glicose, esterificado com ácido gálico ou elágico através de ligações ésteres, ligações essas, sensíveis a ácidos (Soares 2002).

O não desaparecimento da inibição da  $\alpha$ -glicosidase, após a simulação da digestão, pode também ser especulado considerando: a) o inibidor é uma molécula pequena estável em meio ácido, ou, b) o inibidor é também um tanino hidrolisável, porém resistente à hidrólise ácida, diferente do que ocorre com o inibidor da  $\alpha$ -amilase. Taninos hidrolisáveis após a hidrólise reduzem o tamanho molecular produzindo ácidos fenólicos como ácido gálico e elágico, conseqüentemente essas moléculas menores ficam com maior mobilidade e eficiência de inibição enzimática (Sowunmi *et al.* 1996, Silva & Silva, 1999, Sowunmi *et al.* 2000). Provavelmente foi o que ocorreu com o extrato de lúpulo após a passagem pelo fluido gástrico, o que levou a geração de ácidos fenólicos mais resistentes e eficientes na inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase e também da tripsina.

Como os inibidores das enzimas digestivas podem ser protéicos (sensíveis e resistentes ao calor) ou não protéicos, a análise da inibição enzimática após o tratamento térmico do extrato de lúpulo em várias temperaturas foi realizado com a expectativa de desnaturar o inibidor da tripsina e manter ativos os inibidores das glicosidases, eliminando, assim, o caráter antinutricional do extrato. Além disso, com o tratamento térmico a temperaturas muito altas, como 95 °C, e por um tempo longo, como 30 minutos realizado neste trabalho, normalmente desnaturam até os inibidores protéicos resistentes ao calor.

Os resultados mostrados na Tabela 2 sugerem que todos os inibidores são resistentes ao calor e provavelmente não protéicos, mantendo, além do caráter antiobesidade também o caráter antinutricional e indesejável do extrato em relação à inibição da tripsina.

A resistência oferecida pelos inibidores de tripsina à inativação térmica pode ser devida à sua configuração compacta, como conseqüência do elevado número de ligações dissulfídicas nas suas moléculas (Sgarbieri & Whitaker, 1982). O aumento da atividade de inibidor de tripsina em amostras tratadas termicamente e hidrolisadas *in vitro* pode ser conseqüência dos seguintes fatores: interação dos inibidores por ação do calor, com outras substâncias próprias do extrato ou pela não desnaturação térmica das moléculas dos inibidores (Carvalho *et al.* 2002).

Entre os possíveis compostos secundários que podem provocar a inibição das enzimas, podem-se citar os compostos fenólicos devido à característica estrutural comum a todos eles que é a presença de um anel aromático hidroxilado, que se assemelham à estrutura dos açúcares, substratos naturais das glicosidases (Kwon *et al.* 2006) e como a espécie *Humulus lupulus* é reconhecida como fonte destes compostos, estes podem ser os possíveis inibidores das enzimas analisadas neste trabalho. O teor de compostos fenólicos registrado nos pellets de lúpulo foi de 4,75%.

Na literatura não há consenso entre a porcentagem de compostos fenólicos que pode inibir as enzimas digestivas. Porém, sabe-se que os compostos fenólicos têm a capacidade de se combinar com as enzimas digestivas, proteínas e outros polímeros (carboidratos e pectinas) para formar complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes (Costa *et al.* 2008). Essa capacidade de se combinar se dá, provavelmente, através de pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos e determinados sítios das proteínas, o que confere uma grande estabilidade a estas substâncias (Monteiro *et al.* 2005). Portanto, o

teor encontrado nos pellets de lúpulo pode ter levado a complexação com as enzimas digestivas e provavelmente contribuindo para suas inibições.

Esses resultados mostram que o extrato de lúpulo (obtido a partir de pellets) apresenta potencial para ser utilizado no tratamento da obesidade e do diabetes mellitus tipo 2. Entretanto, considerando apenas o aspecto da inibição das enzimas digestivas, ainda serão necessários mais estudos para eliminar o caráter antinutricional que é a inibição da tripsina e, contornar através de processos farmacológicos que impeçam a ação ácida que ocorre na digestão gástrica, a perda da atividade do inibidor da  $\alpha$ -amilase, como ocorreu durante a simulação da digestão estomacal.

O extrato aquoso do lúpulo apresenta potencial como adjuvante no tratamento da obesidade, uma vez que inibe as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase. Porém, após a simulação do fluido gástrico, a enzima  $\alpha$ -amilase deixa de ser inibida pelo extrato. O conteúdo de compostos fenólicos no lúpulo em pellets foi de 4,75%, o que afirma o reconhecimento da espécie *Humulus lupulus* como fonte destes compostos.

Para a indicação do lúpulo para tratamento da obesidade, um estudo mais detalhado do potencial medicinal e toxicológico assim como a caracterização dos fitoquímicos presentes nesta planta ainda se faz necessário para melhor compreensão de seus mecanismos no tratamento desta patologia, além de outras possíveis aplicações terapêuticas.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. 2005. *Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemists*. 18. ed. Mayland: AOAC. 1094 p.
- ANGELO, P. M. & JORGE, N. 2007. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista Insituto Adolfo Lutz*, 66(1): 1-9.
- CARVALHO, M.R.B. de, KIRSCHNIK, P.G., PAIVA, K.C. & AIURA, F.S. 2002. Evaluation of trypsin inhibitors activity after enzymatic digestion in heat-treated soybean. *Revista de Nutrição*, 15(3): 267-272.
- CELLENO, L., TOLAINE, M.V., DAMORE, A., PERRICONE, M.V. & PREUSS, H.G. 2007. A dietary supplement containing standardized Phaseolus vulgaris extract influences body composition of overweight men and women. *International Journal of Medical Sciences*, 4(1): 45-52.
- COSTA, C.T.C., BEVILAQUA, C.M.L., MORAES, S.M. & VIEIRA, L.S. 2008. Tannins and their use in small ruminants. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, 10(4): 108-116.
- ERLANGER, B.F., KOKOWSKY, N. & COHEN, W. 1961. The preparation and prperties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives Biochemistry Biophysics*, 95: 271-278.
- KWON, Y.I., APOSTOLIDIS, E. & SHETTY, K. 2006. Inhibitory potential of wine and tea against  $\alpha$  glicosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal Food Biochemistry*, 32: 15-331.
- MAGALHÃES, P.J.C.R. 2006. *Desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação de xanto-humul e isoxanto-humul no lúpulo e na cerveja*. 174 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química. Universidade do Porto, Portugal, 2006.
- MAYER, M.A., HOCHT, C., PUYO, A. & TAIARA, C.A. 2009. Recent advances in obesity pharmacotherapy. *Current Clinical Pharmacology*, 4(1): 53-61.
- MCDUGALL, G.J., FIFFE, S., DOBSON, P. & STEWART, D. 2005. Anthocyanins from red wine – Their stability under simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*, 66(21): 2540-2548.
- MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P., ARAÚJO, E. de L. & AMORIM, E. L. C. de. 2005. Tannins: from chemistry to ecology. *Química Nova*, 28(5): 892-896.
- NOELTING, G. & BERNFELD, P. 1948. Sur les enzymes amylolytiques III-La b amylase: dosage dactiveté et contrôle de labsence da amylase. *Helvetica Chimica Acta*, 31(1): 286-290.
- OBIRO, W.C., ZHANG, T. & JIANG, B. 2008. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris*  $\alpha$ -amylase inhibitor. *British Journal Nutrition*, 100(1): 1-12.
- PARK, M.Y., LEE, K.S. & SUNG, M.K. 2005. Effects of dietary mulberry, Korean red ginseng, and banaba on glucose homeostasis in relation to PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , and LPL mRNA expressions. *Elsevier*, 77(26): 3344-3354.
- PEREIRA, C.A., PEREIRA, L.L.S., CORRÊA, A.D., CHAGAS, P.M.B., SOUZA, S.P. & SANTOS, C.D. 2011. Inhibition of digestive enzymes by commercial powder extracts of *Hoodia gordonii*. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(3): 265-269.
- PEREIRA, L.L.S., SOUZA, S.P., SILVA, M.C., CARVALHO, G.A., SANTOS, C.D., CORRÊA, A.D. & ABREU, C.M.P. 2010. Atividades das glicosidases na presença de chá verde e preto. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, 12(4): 516-518.
- RAYALAM, S., DELLA-FERA, M.A. & BAILE, C.A. 2008. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *Journal Nutrition Biochemistry*, 19(11): 717-726.
- SGARBIERI, V.C., WHITAKER, J.R. 1982. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. *Advance Food Research*, 28(1): 93-166.
- SHARMA, N., SHARMA, V.K. & SEO, S.Y. 2005. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. *Journal Ethnopharmacology*, 97(3): 453-456.
- SILVA, M. R., SILVA, M. A. A. P. 1999. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Revista Nutrição*, 12(1): 5-19.
- SIMÃO, A.A., CORRÊA, A.D. & CHAGAS, P.M.B. 2012. Inhibition of digestive enzymes by medicinal plant aqueous extracts used to aid the treatment of obesity. *Journal Medicine Plants Research*, 6(47): 5826-5830.
- SOARES, S. E. 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, 15(1): 71-81.
- SOUZA, S.P., PEREIRA, L.L.S., SOUZA, A.A. & SANTOS, C.D. 2011. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera* (Less.) DC. Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(3): 450-455.
- SOWUNMI, S., EBWELE, R.O., CONNER, A.H. & RIVER, B.H. 1996. Fortified mangrove tannin-based adhesive. *Journal of Applied Polymer Science*, 62(3): 577-584.
- SOWUNMI, S., EBWELE, R.O., PETERS, O. & CONNER, A.H. 2000. Differential scanning calorimetry of hydrolysed mangrove tannin. *Polymer International*, 49(6): 574-578.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 2005. *The national formulary NF 18*. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention.
- TUCCI, S.A., BOYLAND, E.J. & HALFORD & J.C.G. 2010. The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents. *Diabetes, Metabolic, Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 3: 125-143.
- UDANI, J.K., SINGH, B.B., BARRET, M.L. & PREUSS, H.G. 2009. Lowering the glycemic index of white bread using a white bean extract. *Journal of Nutrition*, 8(52): 1-5.
- VIEGAS-JR, C., BOLZANI, V.S. & BARREIRO, E.J. 2006. The natural products and the modern medicinal chemistry. *Revista Química Nova*, 29(2): 326-337.