

Avaliação do efeito da casca desidratada do maracujá (*Passiflora edulis*) e seu extrato aquoso na redução da glicemia em ratos diabéticos induzidos por aloxano

Passion fruit (*Passiflora edulis*) dehydrated bark and its aqueous extract evaluation on glucose blood levels decrease induced in alloxan-diabetic rats

Carolina Lopes Krahn¹, Andressa Braga¹, Aline Rigon Zimmer² & Bibiana Verlindo de Araújo³

RESUMO – O estudo teve como objetivo investigar o efeito hipoglicemiante da casca desidratada do maracujá (*Passiflora edulis*) e de seu extrato aquoso em animais diabéticos induzidos por aloxano nas doses de 1 e 2g/kg, v.o. Os animais receberam aloxano i.p. na dose de 200mg/kg e desses, 50% desenvolveram um quadro de *Diabetes mellitus* com glicemia média de 490,6±92,7mg/dL. Após o tratamento percebeu-se um decréscimo dos níveis de glicemia estatisticamente significativo dos grupos tratados em relação ao grupo controle (P=0,007), contudo, o efeito é percebido somente 4 horas após o início do tratamento. Com relação à atividade do extrato aquoso e da casca desidratada, os tratamentos se mostraram iguais (P=0,783), da mesma maneira constatou-se que a diferente dose do suplemento alimentar e de seu extrato tem efeito semelhante. Sugere-se que sejam realizados maiores experimentos para identificar o constituinte fitoquímico que desencadeia essa atividade hipoglicemiante, pois as fibras solúveis parecem não serem as únicas responsáveis pelo decréscimo da glicemia.

PALAVRAS-CHAVE – Ratos diabéticos, *Passiflora edulis*, hipoglicemiante, extrato aquoso.

SUMMARY – This study investigates the hypoglycemic effect of passion fruit (*Passiflora edulis*) dehydrated bark and its aqueous extract in alloxan-diabetic rats induced after oral administration with 1 and 2g/kg doses. The animals received alloxan 200mg/kg intraperitoneal injection and 50% of them developed Diabetes mellitus symptoms with average 490.6±92.7 mg/dL glucose blood levels. After the treatment it was noticed a statistically significant decrease on the treated groups in relation to the control group (P=0.007), however, the effect starts only after 4 hours from the beginning to the treatment. Between the aqueous extract activity and dehydrated bark, the treatments showed been equal (P=0.783), in the same way it was found that the different compound nourish supplement doses and its extract have similar effect. More experiments should be done to identify the compound that unlinks this hypoglycemic activity, because the soluble fiber seems not be the single responsible on glucose blood levels decreasing.

KEYWORDS – Diabetic rats, *Passiflora edulis*, hypoglycemic, aqueous extract.

INTRODUÇÃO

No Brasil são conhecidas várias espécies do gênero *Passiflora*, destacando-se *Passiflora edulis* e *Passiflora alata* como as mais amplamente cultivadas (Simões et al. 2003), devido as suas aplicações na indústria de sucos e como constituinte de alguns fitoterápicos.

Há várias indicações populares para o uso medicinal do maracujá (*Passiflora* sp) tais como estado depressivo, ansiedade, insônia e como auxiliar no tratamento da hipertensão arterial (Lorenzi & Matos, 2002; Corrêa et al., 2000).

Recentemente a *Passiflora edulis* se popularizou entre os pacientes diabéticos como um hipoglicemian-

te natural (Ramos, 2004), reflexo da tendência de utilização de vegetais ricos em fibras solúveis na prevenção da doença e, ainda, como auxiliar no controle da glicemia (Córdova et al., 2005).

Para tal atividade, entretanto, existem poucos relatos científicos descritos na literatura (Carvalho et al. 2005). Estudos preliminares dos componentes fitoquímicos da casca, relatam que esta é composta de 33,79% de fibras solúveis, como pectinas e mucilagens (Ramos, 2004).

Além destes constituintes supracitados, é relatada para a *Passiflora edulis* a presença de glicosídeos triterpênicos derivados do núcleo ciclopropano e flavonóides glicosilados, compostos fenólicos e alcalóides do tipo harmano, concentrados principalmente nas fo-

Recebido em 10/7/2007

¹ Alunas do Curso de Farmácia Clínica Industrial, Univ. Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

² Farmacêutica Industrial, Mestre em Fitoquímica pela Univ. Fed. do Rio Grande do Sul, Univ. Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

³ Farmacêutica, Mestre em Produção e Controle de Medicamentos, Univ. Reg. Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Av. Universidade das Missões, 646 - sala 13203, Santo Ângelo/RS - 98802-000

lhas, carotenóides, antocianinas, γ -lactonas, óleos voláteis, aminoácidos, carboidratos (como maltose e pectina) e minerais (Birk *et al.*, 2005; Dhawan *et al.*, 2004).

O possível mecanismo de ação hipoglicemiante da *Passiflora edulis* pode ser atribuído à expressiva presença das fibras solúveis em sua casca, as quais, quando inseridas na dieta do paciente diabético, formariam um filme gelificado em torno da parede intestinal, alterando a absorção da glicose (Derivi *et al.*, 2002) e melhorando sua tolerância a esta substância, em um processo análogo ao obtido na utilização de pectinas e mucilagens, que proporcionam um decréscimo da absorção sérica de glicose em dietas ricas em carboidratos (Córdova *et al.*, 2005; Ramos, 2004).

Considerando que não há dados presentes na literatura a respeito do efeito agudo da casca desidratada do maracujá e de seus constituintes hidrofílicos (especialmente pectinas), e ainda, a importância deste dado para a orientação do uso deste suplemento alimentar pelos pacientes diabéticos, o presente estudo teve como objetivo investigar a ação hipoglicemiante do referido suplemento e de seu extrato aquoso, em animais diabéticos induzidos por aloxano, nas doses de 1 e 2g/kg v.o.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da casca desidratada de *Passiflora edulis* e do extrato aquoso

A casca desidratada de *Passiflora edulis* utilizada neste estudo foi adquirida comercialmente (Liv Sugar[®], Laboratório Químico e Farmacêutico Tiaraju, Brasil) em uma farmácia da cidade de Santo Ângelo-RS.

Para a obtenção do extrato aquoso, primeiramente o suplemento alimentar foi extraído exaustivamente com solventes apolares (acetato de etila e n-butanol) na proporção droga/solvente de 4:30, em um aparelho de Soxhlet. Após a extração dos componentes apolares, o resíduo foi submetido à maceração sob aquecimento por um período de 4 horas, utilizando-se como solvente água. Em seguida, o extrato foi filtrado e evaporou-se a água até que se obtivesse a fração desejada.

Para a administração das substâncias testadas, a casca desidratada foi pesada e dissolvida em água destilada, já o extrato aquoso, de consistência semi-sólida, a densidade foi determinada através da relação massa/volume, sendo o valor de 1,2g/mL.

Indução do diabetes

Todos os experimentos com animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões sob o registro # 082-4/TCA/04 e seguiram os princípios éticos da experimentação animal preconizados pelo COBEA.

Ratos Wistar machos pesando entre 160 e 170g oriundos da colônia da Fundação Estadual de Pesquisa em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul foram utilizados neste estudo e mantidos no Biotério da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões durante o período de experimentação animal, em ambiente climatizado, com ciclo de claro/escuro de 12 horas e com alimentação e água ad libitum, conforme preconizado pelo Conselho Canadense de Experimentação Animal.

A indução do *Diabetes mellitus* nos animais foi realizada através da administração de aloxano monohidratado (Sigma-Aldrich Inc., Saint Louis-MI, EUA), o

qual foi dissolvido em água destilada antes do uso e administrado via i.p. na dose de 200mg/kg, após jejum de 12 horas.

Os animais foram privados da alimentação nos 30 minutos seguintes à administração do aloxano. A verificação do estado diabético foi realizada 5 dias após a indução e foram considerados diabéticos os animais que apresentaram valores glicêmicos acima de 300 mg/dL (Schoenfelder *et al.* 2006).

Estudo do efeito hipoglicemiante da casca desidratada e do extrato aquoso

Os animais após 24 horas de estado alimentado foram divididos em 5 grupos experimentais (n = 5 p/grupo), conforme esquema abaixo:

- Grupo I: controle (sem intervenção).
- Grupo II: tratado com casca de maracujá desidratada (1g/kg, v.o.).
- Grupo III: tratado com casca de maracujá desidratada (2g/kg, v.o.).
- Grupo IV: tratado com extrato aquoso (1g/kg, v.o.).
- Grupo V: tratado com extrato aquoso (2g/kg, v.o.).

Após administração da casca desidratada ou do extrato aquoso, as amostras sanguíneas foram coletadas da veia lateral da cauda dos animais nos tempos 0, 1, 2 e 4h após o início do tratamento (Zanatta *et al.* 2007), e foram determinados os níveis glicêmicos com auxílio de um glucômetro Prestige IQ (Home Diagnostics, EUA).

Análise estatística

Os valores de glicemia foram comparados para os diferentes grupos utilizando a Análise da Variância (Anova) e as diferenças entre os grupos foram avaliadas utilizando-se o método de Holm-Sidak, com o auxílio do software Sigma-Stat v. 3.5 (Systat Inc, AL).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A casca do maracujá desidratada (*Passiflora edulis*), ao ser dissolvida em água, apresentou aspecto similar ao de sua fração aquosa, porém, com uma menor viscosidade, provavelmente devido à menor concentração de fibras solúveis.

O extrato aquoso apresentou-se como um líquido, com viscosidade expressiva, que se tornava sólido quando mantido sob refrigeração (4°C), podendo esta propriedade estar relacionada ao grau de aglutinação das fibras do maracujá (Roman *et al.*, 2004). Sob aquecimento em banho a 37°C, o extrato adquiriu o aspecto de uma calda de coloração caramelo. O rendimento do extrato aquoso foi bem satisfatório com valores de 64,83%.

A indução do *Diabetes mellitus* por aloxano foi efetiva em 50% dos animais, levando a uma glicemia média de 490,6 \pm 92,7mg/dL. Estes valores são bem próximos dos descritos na literatura por outros autores que utilizaram o mesmo método de indução, 434,06 \pm 48,02mg/dL, (Schoenfelder *et al.* 2006), entretanto o percentual de animais diabéticos obtidos no presente estudo foi menor do que o relatado por estes autores (90%).

Após 4 dias da administração do aloxano, foram observados os sintomas característicos da enfermidade tais como polifagia, polidipsia e poliúria nos animais diabéticos, conforme relatado previamente por Lerco *et al.* (2003).

O resultado dos valores de glicemia para os diferentes grupos testados são mostrados na **Tabela I**.

TABELA 1
Efeito hipoglicemiante da casca desidratada e do extrato aquoso do maracujá em ratos diabéticos induzidos por aloxano

Dose	Grupo				
	Controle	Casca desidratada		Extrato aquoso	
		—	1g/kg	2g/kg	1g/kg
Tempo h					
0	491,6 ± 20,5	495,0 ± 18,6	429,4 ± 16,4	432,2 ± 11,8	490,6 ± 18,9
1	489,0 ± 8,4	417,8 ± 41,8	420,4 ± 16,1	352,6 ± 13,3**	422,8 ± 7,8
2	458,8 ± 17,2	391,0 ± 42,9	403,6 ± 20,1	397,2 ± 17,7	397,0 ± 26,9
4	459,2 ± 24,5	312,4 ± 54,3*	340,0 ± 7,7*	362,0 ± 35,5*	247,2 ± 48,0*

Valores expressam a média ± erro padrão relativo

* diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($P < 0,01$)

** diferença estatisticamente significativa em relação à dose de 2 g/kg e ao controle ($P < 0,001$)

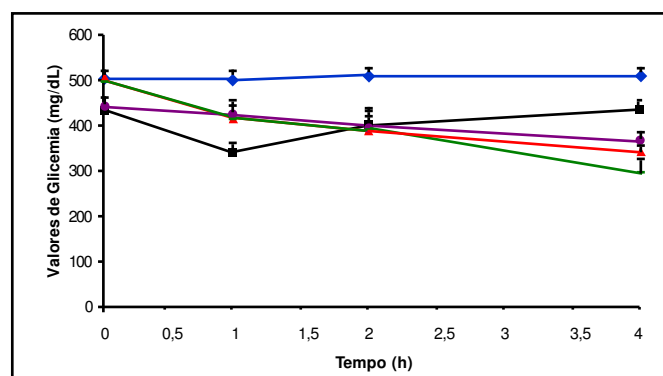


FIG. 1 - Valores glicêmicos dos grupos tratados e do grupo controle (médias + erro padrão relativo) em relação ao tempo. Grupo tratado com extrato aquoso dose 2g/kg (-); Grupo tratado com casca desidratada dose 1g/kg (▲); Grupo tratado com a casca desidratada dose 2g/kg (●); Grupo tratado com extrato aquoso dose 1g/kg (■); Grupo controle (◆).

Os níveis glicêmicos verificados nos animais tratados com o maracujá foram inferiores aos do grupo controle e esta diferença mostrou-se estatisticamente significativa ($P = 0,007$), ou seja, o tratamento demonstra ser eficaz na redução dos níveis de glicose periféricos, embora esta diferença estatística seja verificada somente quatro horas após a administração do extrato, o que sugere um efeito hipoglicemiante tempo-dependente. Este fenômeno é similar ao do extrato de *Vitex megapota* que provoca uma redução glicêmica 3 horas após sua administração (Zanatta *et al.*, 2007).

Esta demora na obtenção do efeito pode ser associada ao possível mecanismo de ação hipoglicemiante, que envolve a formação do filme gelificado formado pelas fibras solúveis no lúmen intestinal.

Este efeito hipoglicêmico já foi associado à viscosidade das fibras por Jenkins *et al.* (1978), que relataram o efeito de inibição da absorção da glicose e aumento no trânsito intestinal, embora a pectina propriamente dita, não tenha demonstrado decréscimo nos níveis glicêmicos estatisticamente significantes neste mesmo estudo.

Pode-se verificar ainda, que a atividade hipoglicemiante da fração aquosa foi comparável a observada com a casca desidratada ($P = 0,783$), confirmando a hipótese de que são os componentes polares os responsáveis pela ação hipoglicêmica do extrato da casca de maracujá (Figura 1).

Quando comparadas as diferentes doses utilizadas (1g/kg e 2g/kg) nos animais tratados com o extrato aquoso, é verificada diferença entre os níveis glicêmicos somente 1 hora após o tratamento ($P = 0,001$), sendo

que no tempo quatro há diferença somente entre os animais tratados com extrato aquoso na dose 2 g/kg e o grupo controle ($P = 0,0154$).

Não houve diferença estatística na redução da glicemia dos animais tratados com a casca desidratada do maracujá para as doses de 1g/kg e 2 g/kg ($P = 0,013$), sendo que, os mesmos mostraram-se diferentes em relação ao grupo controle. Indicando que o efeito máximo já é obtido com a dose de 1g/kg, e possivelmente a formação do filme de gelatina no lúmen intestinal é limitado na sua ação de inibição da absorção da glicose.

CONCLUSÃO

O tratamento utilizando a casca do maracujá como um hipoglicemiante natural, mostrou-se eficaz e dose independente para a faixa de 1 a 2g/kg testadas neste estudo. A obtenção do extrato aquoso forneceu um rendimento satisfatório (64,83%), entretanto o efeito hipoglicemiante foi comparável ao observado na casca, indicando que as fibras hidrossolúveis presentes são as principais responsáveis pelo efeito. Este resultado, no entanto, não descarta a possibilidade da presença de outros fitoconstituintes polares estarem contribuindo para a ação hipoglicemiante.

Desta forma, sugere-se que sejam realizados outros experimentos para testar a atividade hipoglicemiante dos constituintes apolares da casca desidratada, e a posterior identificação dos constituintes fitoquímicos presentes nas frações mais ativas.

REFERÊNCIAS

- Birk, C.D.; Provensi, G.; Gosmann, G.; Reginatto, F.F. et al., TLC fingerprint of flavonoids and saponins from *Passiflora* species. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2005 (28): 2285 – 2291.
- Carvalho, R.B. Avaliação da atividade hipoglicemiante do extrato da casca de *Passiflora edulis* em ratos sadios e diabéticos. 2005. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia Clínica Industrial, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões.
- Córdova, K.V.; Gama, T.T.B.; Winter, C.M.G.; Neto G.K. et al. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* degen) obtida por secagem.
- B. Ceppa. 2005 (23): 221-230. Corrêa, A.D.; Batista, R.S.; Quintas, L.E.M. Plantas medicinais do cultivo à terapêutica. Petrópolis: Editora Vozes, 2000. 3ª ed., 246 p.
- Derivi, S.C.N.; Mendez, M.H.M.; Francisconi, A.D.; Silva, C.S. et al. Efeito hipoglicêmico de rações à base de berinjela (*Solanum melongena*, L.) em ratos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2002 (22): 164-9.
- Dhawan, K.; Dhawan, S.; Sharma, A. *Passiflora*: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004 (94): 1-23.
- Jenkins, D.J.A.; Wolever, T.M.S.; Leeds, A.R.; Gassul, M.A. et al. Dietary fibres, analogues fibres and glucose tolerance: importance of viscosity. *British Medical Journal*. 1978 (1): 1392
- Lerco, M.M.; Spadella, C.T.; Machado, J.L.M.; et al. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes mellitus, induzido por aloxano em ratos: estudo clínico e laboratorial. *Acta Cir. Bras.* 2003 (18): 132-142.
- Lorenzi, H.; Matos, F.J.A. *Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarium, 2002. 1ª ed., 511 p.
- Ramos, E.R.F. O uso de *Passiflora* sp. no controle do Diabetes mellitus: estudo qualitativo preliminar. 2004. 36 f. Monografia de Conclusão de Curso de Farmácia, Centro Universitário de Maringá.
- Román, M.; Maria, O.; Flórez, O.A.; Gutiérrez, E.; et al. Desarrollo de una forma de dosificación sólida con fibra dietaria. *Vitae*. 2004 (2): 6-11.
- Schoenfelder, T.; Cirimbelli, T.M.; Zanette, V.C. Acute effect of *Trema micrantha* (Ulmaceae) on serum glucose levels in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006 (107): 456-9.
- Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS / UFSC, 2003. 5ª ed., 1102 p.
- Zanatta, L.; Sousa, E.D.; Cazaroli, L.H. et al. Effect of crude extract and fractions from *Vitex megapota* leaves on hyperglycemia in aloxan-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007 (109): 151-5.

Endereço eletrônico

Bibiana Verlindo de Araújo

E-mail: bvaraujo@urisan.tche.br