

	Universidade Estadual de Maringá
	Programa de Pós-graduação em Bioquímica
	Discente: Milena Thais Francisco da Silva
	Título: Extrato de Folha de Kalanchoe laetivirens Inibe Picos Glicêmicos e Lipidêmicos: Uma Potencial Abordagem Terapêutica para Distúrbios Metabólicos

RESUMO GERAL

Introdução: Publicações recentes destacam os potenciais efeitos anti-hiperglicêmicos e anti-obesidade de plantas do gênero *Kalanchoe*. No entanto, ainda não há estudos publicados sobre os efeitos de *Kalanchoe laetivirens* na regulação do metabolismo glicêmico e lipídico. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo investigar o potencial antiobesidade do extrato bruto de *K. laetivirens* e frações por meio de análises *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. **Metodologia:** O extrato hidroetanólico foi preparado e liofilizado. Uma parte do extrato bruto foi fracionada por partição em frações de acetato de etila e aquosa. Os testes antioxidantes foram realizados em sistemas *in vitro*, incluindo FRAP, DPPH, ABTS e a geração de TBARS. O extrato bruto foi caracterizado quanto ao seu perfil fenólico, e outros fitoquímicos presentes no extrato e nas frações foram identificados por UHPLC-MS. A atividade das enzimas α -amilase e lipase foi avaliada variando simultaneamente o substrato e o extrato. A absorção de carboidratos e gorduras foi analisada por meio de testes de tolerância oral ao amido e à gordura. Estudos *in vitro* foram conduzidos para identificar moléculas que interagem com as enzimas avaliadas.

Resultados e discussão: A fração acetato apresentou a maior capacidade antioxidante, com valores de IC50 de $90.01 \pm 4.00 \mu\text{g/mL}$ para ABTS e $28.58 \pm 3.30 \mu\text{g/mL}$ para DPPH. No ensaio FRAP, essa fração demonstrou a maior capacidade de redução de ferro, enquanto no ensaio TBARS, inibiu eficazmente a peroxidação lipídica, evidenciando seu significativo potencial antioxidante. A caracterização fitoquímica revelou altos níveis de compostos fenólicos e flavonoides, fortemente associados à atividade antioxidante. O extrato bruto continha $37,09 \mu\text{g}$ de equivalentes de ácido gálico por mg, enquanto as frações acetato e aquosa continham $4,03 \mu\text{g/mg}$ e $15,76 \mu\text{g/mg}$, respectivamente. O teor de flavonoides no extrato bruto foi de $4,17 \mu\text{g}$ de equivalentes de catequina (CE) por mg. A fração acetato apresentou maior concentração de flavonoides do que a fração aquosa, com valores de $3,31 \mu\text{g CE/mg}$ e $0,84 \mu\text{g CE/mg}$, respectivamente. Esses achados indicam que a fracionamento separa efetivamente os compostos de acordo com sua polaridade, sugerindo que as

moléculas concentradas na fração acetato desempenham um papel significativo na neutralização de radicais livres e na proteção contra danos oxidativos. Análises quantitativas identificaram compostos fenólicos, alcaloides, ácidos fenólicos e outros fenólicos presentes no extrato. Dentre os compostos fenólicos identificados, o kaempferol foi o mais abundante (7,62 mg/g), superando os demais em uma ordem de grandeza. As análises putativas revelaram 17 compostos distintos, incluindo ácidos graxos insaturados, aminoácidos, vitaminas, compostos fenólicos, uma lactona, um nucleosídeo, ácidos carboxílicos e lactonas monoterpênicas. Alguns fitoquímicos foram detectados exclusivamente na fração acetato, como ácido 6-hidroxicotínico, loliolídeo e timina. Por outro lado, ácido citramálico, ácido cítrico, ácido glucônico, ácido úrico, ácido oleico, fenilalanina e uridina foram encontrados apenas na fração aquosa. Tanto o extrato bruto quanto suas frações inibiram a α -amilase e a lipase pancreática de maneira dependente da concentração. No entanto, a fração aquosa apresentou uma atividade inibitória ligeiramente maior do que a fração acetato e o extrato bruto. Isso foi refletido nos valores de IC50 obtidos por interpolação numérica: $1347 \pm 117 \mu\text{g/mL}$ para a fração aquosa, em comparação com $1735 \pm 57 \mu\text{g/mL}$ e $1738 \pm 58 \mu\text{g/mL}$ para o extrato bruto e a fração acetato, respectivamente. Estudos cinéticos indicaram que o extrato inibiu a α -amilase de forma não competitiva, ligando-se tanto à enzima livre quanto ao complexo enzima-substrato, sem levar à inibição completa. Esse mecanismo reduz a conversão do amido em monossacarídeos, impactando diretamente os níveis de glicose no sangue, com um IC50 de 1060 mg/kg. Além disso, o extrato apresentou um leve efeito inibitório no transporte de açúcar através das células intestinais. A combinação dos efeitos da inibição da α -amilase e da redução na atividade dos transportadores de monossacarídeos contribui para a inibição geral da absorção de amido por um mecanismo complexo. Tanto o extrato bruto quanto suas frações inibiram claramente a enzima de maneira dependente da concentração, com valores de IC50 em torno de 1600 $\mu\text{g/mL}$. Notavelmente, houve uma tendência clara de atingir quase 100% de inibição em concentrações acima de 2000 $\mu\text{g/mL}$. Análises cinéticas revelaram que o extrato atua como um inibidor não competitivo. Surpreendentemente, o extrato inibiu completamente a absorção de gordura na dose de 250 mg/kg. Esses achados sugerem fortemente o envolvimento de pelo menos um mecanismo adicional nas modificações observadas na absorção de triglicerídeos induzidas pelo extrato da folha de *K. laetivirens*. Uma hipótese possível é que o extrato prejudique o transporte de monoacilgliceróis e ácidos graxos nas células intestinais. Estudos de docking molecular foram realizados para identificar um ou mais fitoquímicos que interagem com as enzimas, buscando sustentar suas ações anti-hiperglicêmicas e anti-lipidêmicas. Os resultados confirmaram que flavonoides como quercetina, kaempferol e miricetina interagem tanto com os sítios ativos quanto com os sítios alostéricos da α -amilase e da lipase pancreática. Dentre os compostos, os melhores ranqueados para a α -amilase, com base nos valores de MRS, foram

os flavonoides rutina, kaempferol-7-O-neohesperidósido, miricetina, quercetina e kaempferol. Esses mesmos flavonoides, que se destacaram como ligantes para a α -amilase, também surgiram como potenciais ligantes para a lipase, embora em uma ordem diferente. O kaempferol-7-O-neohesperidósido apresentou o maior escore médio relativo (MRS), seguido por kaempferol, quercetina, miricetina e rutina. Todos esses compostos mostraram uma probabilidade de ligação ao sítio ativo superior à do MUP (fármaco de referência). Embora compostos semelhantes interajam com os sítios ativos de ambas as enzimas, seus mecanismos de ligação diferem ligeiramente. Na α -amilase, o ancoramento ocorre principalmente por meio de múltiplas ligações de hidrogênio. O número e a disposição espacial dos grupos hidroxila nas moléculas de flavonoides influenciam suas interações com a enzima. Vale destacar que, embora os estudos de docking revelem interações significativas dos compostos com o sítio ativo em comparação ao sítio alostérico, eles apenas fornecem uma visão relativa da afinidade por cada sítio. A ligação eficaz também depende da concentração de cada molécula, tornando altamente provável que o kaempferol seja um dos principais inibidores presentes no extrato.

Conclusão: Os resultados deste estudo revelam o potencial do extrato para regular a absorção de carboidratos e lipídios em camundongos. Além disso, ele apresenta propriedades antioxidantes, sugerindo aplicações terapêuticas para distúrbios metabólicos, como diabetes e obesidade.

Palavras-chave: Kalanchoe laetivirens, antioxidantes, caracterização fitoquímica, inibição enzimática, absorção de nutrientes, docking molecular, metabolismo de carboidratos e lipídeos.