

COMPARAÇÃO ENTRE MODOS DE ADMINISTRAÇÃO DE FITOTERÁPICOS A BASE DE MELISSA OFFICINALIS – UMA DISCUSSÃO FARMACOCINÉTICA



Artigo Original
Original Article
Artículo Original

Comparison between modes of administration of phytoterapics based on Melissa officinalis - a pharmacokinetic discussion

Comparación entre los modos de administración la base herbácea la Melissa officinalis - un farmacocinética discusión

Yasmym Oliveira de Morais¹, Guilherme Nobre L. do Nascimento^{*1}

¹ Laboratório de Ciências Básica e da Saúde - LaCibs, Nutrição, UFT, Palmas, Brasil.

*Correspondência: Laboratório de Ciências Básica e da Saúde, Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77.010-090. e-mail guilherme.nobre@uft.edu.br.

Artigo recebido em 30/10/2015. Aprovado em 09/12/2015. Publicado em 24/02/2017.

RESUMO

A *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) apresenta altos níveis de compostos fenólicos que apresentam entre outros efeitos biológicos a atividade anti-inflamatória, inibindo a atividade da ciclooxigenase e a inibição do citocromo P450. Devido seus efeitos biológicos tem ganhado espaço de destaque em diversos estudos. Os compostos fenólicos amplamente presentes nos vegetais formam-se constituintes da nossa alimentação, destacando-se chás e as cápsulas de fitoterápicos. O objetivo do presente estudo foi comparar a diferença de disponibilidade de moléculas ativas provenientes de plantas medicinais em duas diferentes formas de uso, cápsulas e chá. Após simulação in vitro da digestão gástrica os compostos fenólicos totais foram determinados empregando-se o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Obtivemos valores maiores de teor de fenóis totais na digestão das cápsulas do que nos chás de *Melissa officinalis*. Indicando que provavelmente as cápsulas apresentam maior disponibilidade de princípios ativos que as infusões. Vale ressaltar a necessidade de mais estudos para a comparação do teor de fenóis totais das infusões de *Melissa officinalis*, além de uso de outras plantas para verificar a melhor forma de uso das plantas medicinais.

Palavras-chave: Fenóis totais, Folin-ciocalteu, *Melissa officinalis*.

ABSTRACT

The Melissa officinalis L. (Lamiaceae) presents high levels of phenolic compounds that have a serie of biological effects, as anti- inflammatory that inhibits the activity of cyclooxygenase and inhibition of Cytochromes P450. Due to his biological effects, it is in evidence in diverse studies. They are present in vegetables and in diverse forms in our food, like tea and herbal capsules. The objective this study was to compare the difference in availability of active molecules from medicinal plants in two different forms of use, capsules and tea. After simulation in vitro of gastric digestion, the total phenolic compounds were determined employing a spectrophotometric method Folin-Ciocalteu. We obtained higher values of total phenols in the digestion of capsules than in Melissa officinalis. It indicates that probably the capsules presents more availability of active ingredients that infusions. It is worth mentioning the need for further studies to compare the total phenol content of Melissa officinalis infusions, as well as the use of other plants to verify the best use of medicinal plants.

Keywords: Total phenols, Folin-ciocalteu, *Melissa officinalis*.

RESUMEN

La Melissa officinalis L. (Lamiaceae) tiene altos niveles de compuestos fenólicos que presentan diversos efectos biológicos, como antiinflamatorio, que inhibe la actividad de la ciclooxigenasa y inducción/inhibición del citocromo P450. Debido sus efectos biológicos han ganado espacio destacado en diversos estudios. Los compuestos fenólicos ampliamente presentes en los vegetales son constituintes de nuestra alimentación, con destaque a los tés y capsulas de medicamentos fitoterapéuticos. El objetivo de este estudio fue hacer una

comparación de la diferencia de la disponibilidad de moléculas activas provenientes de las plantas medicinales en dos maneras de uso, cápsula y té. Después de una simulación in vitro de digestión gástrica los compuestos fenólicos totales han sido determinados empleando lo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Hemos obtenido valores más altos de contenido de fenoles totales en la digestión de cápsulas lo que los tés de *Melissa officinalis*. Lo que indica probablemente que las cápsulas tienen una mayor disponibilidad de principios activos que las infusiones. Es importante mencionar la necesidad de más estudios para comparar el contenido de fenoles totales de *Melissa officinalis* infusiones, así como el uso de otras plantas para comprobar la mejor manera de utilizar las plantas medicinales.

Descriptor: Fenoles totales, Folin ciocalteu, *Melissa officinalis*

INTRODUÇÃO

As substâncias antioxidantes podem ser naturais ou artificiais. Os antioxidantes naturais são encontrados principalmente em plantas na forma de compostos fenólicos (flavonoides, ácidos, álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis), ácido ascórbico e carotenoides, alguns antioxidantes artificiais são: butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e o ácido cítrico (MARIOD et al., 2009 in BERNADES et al. 2011).

Os compostos fenólicos, dentre as diversas classes de antioxidantes de ocorrência natural, tem se destacado por suas propriedades redutoras e estruturas químicas, que possuem capacidade de sequestrar radicais livres, na etapa de iniciação e de propagação do processo oxidativo (YAMAGUCHI, 1998; MÜZELL, 2006). Compostos fenólicos também apresentam diversos efeitos biológicos, dentre eles inibição da ciclooxigenase e a indução/inibição do citocromos P450 (MUZELL, 2006).

Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes conferindo á planta alta resistência a microrganismos e pragas, e aos alimentos conferem qualidade sensorial, através de atributos como cor, textura, amargor e adstringência, podendo influenciar o valor nutricional (EVERETTE et al., 2010 in ROCHA et al. 2011).

Estão amplamente distribuídos no reino vegetal, englobando desde moléculas simples até

outras com alto grau de polimerização. Sendo definidos como substâncias dotadas de um anel aromático, com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (SOARES et al., 2008 in ROCHA et al. 2011).

Também são atribuídos efeitos hepatoprotetor, nefroprotetor e anti-inflamatórios relacionados à ação antioxidante deste grupo de moléculas segundo relatos. (MÜZELL, 2006). Devido essa substância possuem capacidade combater radicais livres. Sendo esses Radicais livres átomos que contêm elétrons não pareados (HALLIWELL, 1994), e causam lesões aos componentes celulares tais como proteínas, lípidos e DNA (BORGES, 2012).

Os compostos fenólicos amplamente presentes nos vegetais formam-se constituintes da alimentação humana, destacando-se chás e as cápsulas de fitoterápicos. As cápsulas duras possuem grande aceitação pela população e, juntamente com os comprimidos, constituem as formas mais correntes de administração oral de fármacos (MARQUES, 2008). O chá, também possui grande aceitação, sendo a bebida mais consumida em todo o mundo (BRAIBANTE, SILVA, BRAIBANTE, PAZINATO, 2014), bastante presente na cultura brasileira e na medicina popular (NAKAMURA et al., 2013).

Melissa officinalis espécie pertencente á família Lamiaceae, amplamente utilizada pela população em geral, possui óleo essencial e,

apresenta cerca de 0,5% de compostos fenólicos em folhas (BARNES et al, 2005).

O efeito biológico é atribuído à ingestão destes compostos que sofrem os processos farmacocinéticos e necessitam de concentrações específicas para excitarem receptores específicos (BRUTON, L.L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. 2007). A fase farmacodinâmica é dependente dos fatores iniciais, conhecida como fase farmacêutica. Logo as formas de apresentação de consumo destes alimentos/fitoterápicos podem estar influenciando no efeito terapêutico final (BRUTON, L.L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. 2007).

Com isto, o objetivo foi comparar a diferença de disponibilidade de moléculas ativas provenientes de plantas medicinais em duas diferentes formas de uso, cápsulas e chá.

MATERIAIS E MÉTODOS

Em farmácias e ervanarias foram coletadas amostras de *Melissa officinalis*. Foi adquirido amostras de dois fornecedores diferentes designadas *Melissa officinalis A* e *Melissa officinalis B*. Estas já se encontram secas e estabilizadas. As informações botânicas: nomenclatura oficial, espécie, gênero e família, assim como a parte da planta utilizada foram obtidos através dos laudos de controle de qualidade dos fornecedores.

2.1 Preparo das amostras

Todo material vegetal foi submetidos à nova secagem em estufa a 40 °C por 12 horas. E todas as preparações foram realizadas em triplicata.

Para a primeira preparação utilizou-se 5g da planta a qual foi triturada e encapsulada. No preparo das infusões adicionaram-se 100 ml de água filtrada fervente a 5 g de planta. Deixando durante 10

minutos sob infusão. Então as amostras foram filtradas através de um filtro de papel.

2.2 Simulação *in vitro* da digestão gástrica

Para a simulação da digestão gástrica, o processo foi realizado em um aparelho Shaker a 37°C, com agitação a 50 rpm. Utilizou-se Erlenmeyer contendo 900 ml de água destilada a pH 2 (HCl), e 3g de pepsina para cada litro de solução de pepsina, durante 2 horas. Em seguida as soluções foram imersas em água a 100° C por 10 minutos e posteriormente em gelo por mais 10 minutos para inativação enzimática.

Findo este tempo, as amostras foram filtradas a vácuo, através de um filtro de papel (Whatman n.º 1) e armazenadas a 10° C em incubadora B.O.D.

2.3 Determinação de fenóis totais através do método Folin-Ciocalteu

Através do ensaio, usando o reagente de Folin-Ciocalteu foram quantificados de fenóis totais das amostras. Deixou-se as amostras um minuto à temperatura ambiente, retirou-se 0,5 ml de cada amostra e adicionou-se 2 ml de uma solução de carbonato de sódio a 4% (peso/volume) e 2,5 ml de solução de Folin-Ciocalteu a 10%. As misturas assim preparadas foram incubadas durante 2 horas, a 25 °C e no escuro. Então se procedeu com a medição da absorbância das amostras num espectrofotômetro (Genesys 10S uv-vis) a 750 nm, contra um branco preparado da mesma forma, mas substituindo a amostra de água destilada. Todas as amostras foram analisadas em triplicata, tendo a concentração em fenóis sido determinada por interpolação de uma reta de calibração, onde foram substituindo as amostras por soluções de ácido gálico com concentrações entre 0,05 mg/ml a 0,2mg/ml. Os resultados obtidos foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por litro de infusão.

2.4 Construção da reta de calibração do ácido gálico.

Para construção da curva preparou-se a Solução estoque 1 composta por 0,02g Ácido Gálico e adição de álcool etílico absoluto 99% P.A/ACS ate perfazer o volume de 10 ml. Dessa solução foi retirada 1 ml e adicionado álcool etílico absoluto 99% P.A/ACS ate perfazer o volume de 10 ml para a preparação da solução estoque 2.

Da solução estoque 2 são preparadas 6 soluções de diferentes volumes sendo elas: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 1; 2 ml e a cada concentração foi adicionado álcool etílico absoluto 99% P.A/ACS 1,9; 1,8; 1,7; 1,6; 1; 0 ml respectivamente.

De cada uma dessas soluções foi retirado 0,5 mL e colocado em um tubo de ensaio ao abrigo da luz. Acrescentaram aos tubos de ensaio 2,5 mL de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 ml de Carbonato de sódio a 4%. Deixou-se descansar por 2 horas ao abrigo de luz. Logo em seguida foi realizada a leitura no espectrofotômetro em absorvância de 750 nm. Obtivemos os seguintes pontos expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Pontos da reta de calibração.

Pontos	Concentração em mg de ácido gálico
P1	0,034
P2	0,02
P3	0,046
P4	0,072
P5	0,34
P6	0,94

2.5 Análise dos resultados

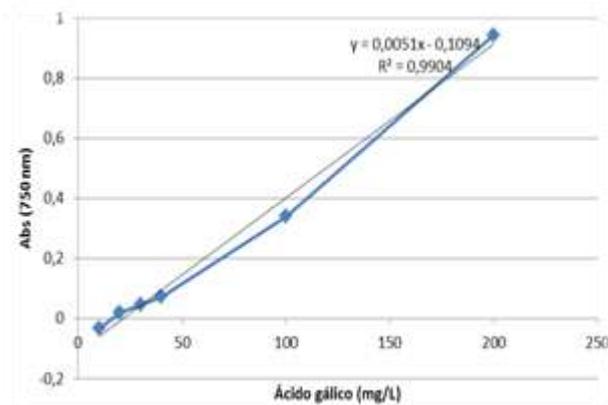
Foi realizada a análise de variância (ANOVA) seguida de testes tukey. Análise dos resultados foi realizada através do programa

estatístico Graph Pad Prism versão 6, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de fenólicos totais foi determinado com recurso ao método Folin-Ciocalteu e os resultados obtidos expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por litro de infusão. A Figura 1 apresenta a curva de calibração com ácido gálico, enquanto que os resultados referentes à composição em compostos fenólicos totais das amostras em estudo se encontram presentes na Tabela 2.

Figura 1. Reta de calibração com ácido gálico para interpolação do teor de fenólicos totais em amostras de chá e cápsulas de *Melissa officinalis*.



Os resultados obtidos referentes à composição de compostos fenólicos totais das cápsulas de *Melissa officinalis* encontram demonstrados na Tabela 3.

A comparação do teor de fenóis totais das infusões de cidreira, depois da simulação da digestão gastrointestinal, com outros valores publicados na literatura torna-se difícil devido aos procedimentos de preparação das amostras ser bastante variável e na variação do próprio método.

Tabela 2. Teor de fenólicos totais nas cápsulas de *Melissa officinalis* após simulação da digestão gastrointestinal.

Amostra	Absorbância	Equivalente de ácido gálico (mg)
Cidreira A	0,18	35,344
Cidreira A	0,158	31,027
Cidreira A	0,203	39,858
Cidreira B	0,372	73,011
Cidreira B	0,383	75,16
Cidreira B	0,381	74,77

Tabela 3. Teor de fenólicos totais nas infusões de *Melissa officinalis* após simulação da digestão gastrointestinal

Amostra	Absorbância	Equivalente de ácido gálico (mg)
Cidreira A	0,117	23,051
Cidreira A	0,125	24,619
Cidreira A	0,094	18,541
Cidreira B	0,227	44,61
Cidreira B	0,16	31,45
Cidreira B	0,175	34,42

Quando comparados os valores médios entre infusão e cápsula tanto da amostra A e B observamos maiores teores para a cápsula como observados nas Figuras 2 e 3.

Figura 2. Comparação entre infusão e cápsula de *Melissa officinalis* A da disponibilidade de fenólicos totais.

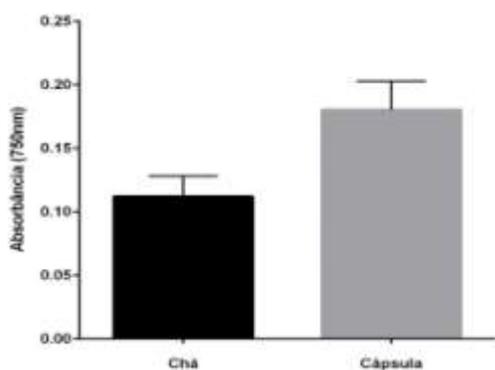
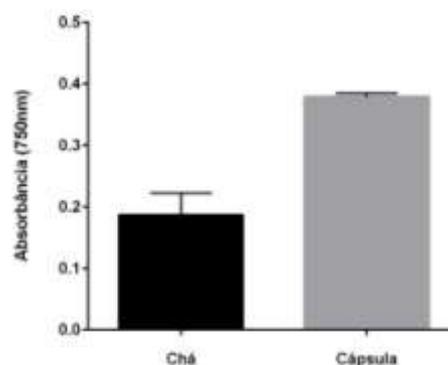


Figura 3. Comparação entre infusão e cápsula de *Melissa officinalis* B da disponibilidade de fenólicos totais.



A comparação do teor de fenóis totais das infusões de cidreira, depois da simulação da digestão gastrointestinal, com outros valores publicados na literatura torna-se difícil devido aos procedimentos de preparação das amostras ser bastante variável e na variação do próprio método.

Vale ressaltar que a digestão gastrointestinal não interfere no processo de quantificação de fenóis da Erva Cidreira tendo em vista que seus fenóis são resistentes ao processo como citado por Borges (2012) em estudo onde avaliou o efeito da digestão sobre os compostos fenólicos.

Na infusão, a extração se dá com auxílio de temperatura o que aumenta a solubilidade do princípio ativo. Porém ocorre sem agitação contínua, a planta apresenta-se parcialmente fracionada e o processo tem duração de apenas 10 minutos, logo em seguida a planta é retirada, portanto mesmo sendo digerido o chá não sofre extração ácida, pois não há mais extrato quando chega ao estômago.

A cápsula sofre extração ácida, a planta é triturada apresentando uma maior fragmentação do que a utilizada no chá, permitindo dessa forma uma maior superfície de contato da planta com o meio extrator, esta ocorre no estômago por ação do ácido clorídrico com duração de maior que a que ocorre no preparo do chá. Logo a cápsula se mostra mais eficaz

por possuir uma série de fatores e contribui para uma maior extração de princípios ativos.

Uma maior disponibilidade é indicativo de provável maior biodisponibilidade. Quanto maior a concentração de princípio ativo maior o efeito terapêutico (BRUTON, L.L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. 2007).

Cada modalidade de uso de fototerápicos de *Melissa officinalis* apresenta suas vantagens e desvantagens, que devem ser avaliadas com cautela tanto pelo profissional de saúde quanto usuário.

Entre as vantagens das cápsulas estão o fácil transporte, a facilidade de administração oral, a proteção contra contaminação, o mascaramento de sabor desagradável entre outros (DUTRA, 2012). São consideradas uma das melhores formas para acondicionar substâncias medicamentosas, pois protegem-nas da ação do ar, da luz e da humidade (MARQUES, 2008), além de serem manipuladas em farmácia onde a planta terá laudo de identificação de um botânico (espécie, gênero e família), será estabilizada e processada de maneira segura à saúde do consumidor.

CONCLUSÃO

Por meio do seguinte estudo foi possível observar que há uma maior disponibilidade de princípio ativo após a digestão das cápsulas de *Melissa officinalis*.

AGRADECIMENTO

Agradecemos ao CNPq e a UFT pelas bolsas fornecidas.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

BARNES, J.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. Plantas medicinales: guía para los profesionales de la salud. **Pharma editors**. 1ª ed., p. 568, 2005.

BERNARDES, N.R.; GLÓRIA, L.L.; NUNES, C.R.; PESSANHA, F.F.; MUZITANO, M.F.; OLIVEIRA, B.D. Quantificação dos Teores de Taninos e Fenóis Totais e Avaliação da Atividade Antioxidante dos Frutos de Aroeira. **VÉRTICES**. v. 13, n. 3, p. 117-128, 2011.

BORGES, Marta Barreto. **Avaliação do efeito da simulação in vitro da digestão gastrointestinal nas propriedades antioxidantes das infusões de cidreira e tília**. Lisboa, 56f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências e Tecnologia. 2012.

BRAIBANTE, M.E.F.; SILVA, D.; BRAIBANTE, H.T.S.; PAZINATO, M.S. . A Química dos Chás. **Quím. Nova Esc**. v. 36, n.3, p. 168-175, 2014.

BRUTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. **Goodman & Gilmar. As bases farmacológicas da terapêutica**. Ed. 11. McGraw-Hill Interamericana do Brasil, p. 1821,2007.

DUTRA, V.C. **Dossiê técnico: Manipulação de cápsulas**. Serviços Brasileiros de Resposta Técnicas. 2012.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: A personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

MARQUES, O.C.P.. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de *Uncaria tomentosa* com atividade antioxidante**. Coimbra. 2008. Dissertação. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2008.

MÜZELL, D.P. **Propriedades biológicas de extratos de *Melissa officinalis* L. (LAMIACEAE) em ratos wistar**. Porto Alegre, 2006. Dissertação (Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2006.

NAKAMURA ,T.; SILVA, F.S.; SILVA, D.X.; SOUZA M.W.; MOYA, H.D. Determinação da atividade antioxidante e do teor total de polifenol em amostras de chá de ervas comercializadas em sachets. **ABCS Health Sci**. v. 38, n. 1, p. 8-16, 2013.

Rocha, W.S.; Lopes, R.M.; Silva, D.B.; Vieira, R.F.; Silva, J.P.; Agostini-Costa, T.S. Compostos fenólicos totais e taninos Condensados em frutas nativas do

cerrado. **Rev. Bras. Frutic.** v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

YAMAGUCHY, T; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAU, J. HPLC method for evaluation of the

free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v. 62, n. 6, p. 1201-1204, 1998.