AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E DA POSSÍVEL TOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *Melissa officinalis*

Taynara Pacheco Valério (PROVIC/UEPG), Mateus Flórido Cubo (IC), Ana Carolina Mendes Hacke (PG), José Carlos Rebluglio Vellosa (PQ), Romaiana Picada Pereira (Orientadora), e-mail: romaiana@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Ciências Biológicas, Bioquímica

Palavras-chave: Antioxidantes, infusão, *Melissa officinalis*.

Resumo

A *Melissa officinalis* é utilizada na medicina popular para aliviar distúrbios do sono e desordens gastrointestinais. Estudos comprovam seus efeitos farmacológicos, porém pouco se sabe em relação aos mecanismos envolvidos. Este estudo tem como objetivo avaliar a composição química, atividade antioxidante e toxicidade do extrato aquoso da planta. O teor de compostos fenólicos e flavonoides totais foi determinado com o reagente de Folin-Ciocalteau e complexação com o íon alumínio, respectivamente. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH•, $ABTS^{\bullet+}$, HOCl e poder redutor. A toxicidade foi avaliada frente a *Artemia salina*. O teor de compostos fenólicos e flavonoides foi de 64,91 ± 7,55 mg AG g^{-1} e 0,23 ± 0,14 mg QER g^{-1}. Os valores de CI_{50} para os métodos de DPPH•, $ABTS^{\bullet+}$ e HOCl foram de 10,57 ± 0,49; 124,87 ± 10,42 e 30,51 ± 10,24 µg mL^{-1}, respectivamente. O extrato também apresentou atividade antioxidante no ensaio do poder redutor. Não foi observado toxicidade frente a *A. salina*. Este estudo demonstrou que diferentes mecanismos estão envolvidos na atividade antioxidante *in vitro* e sua baixa toxicidade *in vivo* sugere que esta espécie deve ser melhor investigada.

Introdução

Os produtos naturais de origem vegetal, provenientes do metabolismo secundário, são intensamente estudados por apresentarem efeitos biológicos importantes, como, por exemplo, potencial antioxidante (SILVA et al. 2017). O estresse oxidativo está relacionado ao desenvolvimento de algumas doenças degenerativas, e na tentativa de prevenir ou amenizar essas patologias, a procura por compostos naturais com ação antioxidante tem aumentado.

A *Melissa officinalis*, conhecida como erva-cidreira ou melissa, é popularmente utilizada na forma de chá para aliviar distúrbios do sono e também as desordens gastrointestinais. Além disso, alguns estudos demostraram que a planta apresenta efeitos antitumorais e neuroprotetores. Esses efeitos farmacológicos podem estar relacionados à presença de alguns compostos que possuem ação antioxidante, como os compostos fenólicos (DE SOUSA et al., 2004). Considerando o intenso uso popular da planta *Melissa officinalis* e a importância dos antioxidantes na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo, o objetivo deste estudo foi investigar a composição química, avaliar a atividade antioxidante e a toxicidade do extrato aquoso de *Melissa officinalis.*

Materiais e Métodos

Preparo do extrato
O extrato aquoso foi preparado antes de cada ensaio, a partir da imersão das folhas em água quente e repouso por 15 minutos.

Investigação da composição química
O teor de compostos fenólicos no extrato aquoso foi avaliado de acordo com Singleton, Orthofer e Lamuela-Ravento (1999), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteau. A concentração de flavonoides foi determinada a partir da complexação com o alumínio (WOISKY; SALATINO, 1998).

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH•, ABTS$^{•+}$ e HOCl
A atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade que os compostos presentes no extrato aquoso de *Melissa officinalis* apresentam em capturar os radicais DPPH•, ABTS$^{•+}$ e HOCl, conforme descrito por Sharma e Bhat (2009), Pellegrini e colaboradores (1999) e Costa e colaboradores (2004), respectivamente.

Avaliação do poder redutor
A atividade antioxidante pelo método do poder redutor, foi avaliada pelo método proposto por Oyaizu (1986).

Avaliação da toxicidade
A possível toxicidade do extrato, foi determinada avaliando a sobrevivência de *Artemia salina* na presença do extrato em diferentes concentrações (10 - 1000 µg mL^{-1}). Para controle positivo foi utilizado dicromato de potássio diluído em água salina artificial (MEYER et al, 1982).

Análise estatística
Os resultados das análises foram expressos como a média ± desvio padrão. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA e as médias dos grupos foram comparadas pelo teste *Student-Newman-Keuls* e $p < 0,05$ foi considerado significativo para todos os casos. Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o programa *Graph Pad Prism 5*.

Resultados e Discussão

Conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais do extrato aquoso de Melissa officinalis
Os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais foram de 64,91 ± 7,55 mg AG/g e 0,23 ± 0,14 mg QER/g, respectivamente.

Avaliação do poder redutor
A Figura 1 mostra os valores de absorbância em função das concentrações do extrato aquoso. Foi observado um aumento nos valores de absorbância com o aumento da concentração do extrato.

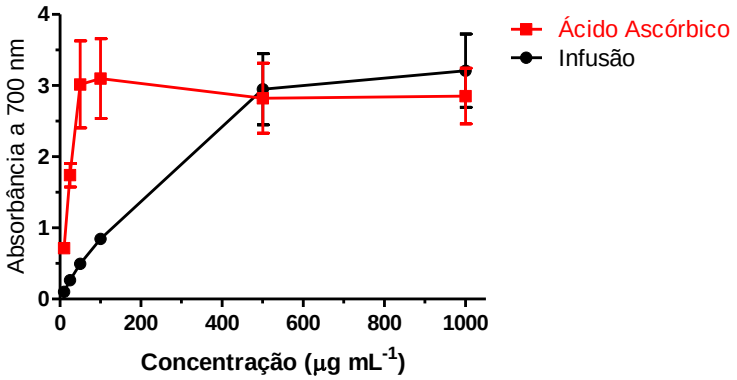


Figura 1: Valores de absorbância a 700 nm em função das concentrações da infusão.

Determinação da atividade antioxidante pelos métodos de DPPH•, ABTS$^{•+}$ e HOCl

A atividade antioxidante foi determinada a partir dos valores de CI_{50}, ou seja, a concentração necessária para inibir 50% dos radicais ABTS$^{•+}$ ou DPPH•, ou inibir a formação de HOCl. Os valores de CI_{50} estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de CI_{50} para o extrato aquoso de *Melissa officinalis*.

Amostras	DPPH• CI_{50} (µg mL^{-1})	ABTS$^{•+}$ CI_{50} (µg mL^{-1})	HOCl CI_{50} (µg mL^{-1})
M. officinalis	18,14 ± 0,96 a	124,87 ± 10,42 a	30,51 ± 10,24 a
Ácido ascórbico	10,57 ± 0,49 b	8,54 ± 0,61 b	4,86 ± 1,34 b

Os métodos de DPPH• e poder redutor avaliaram a habilidade de doação de átomos de hidrogênio dos compostos presentes na infusão. Enquanto que o método ABTS$^{•+}$ avaliou a capacidade dos compostos presentes no extrato em reduzir este radical (AWIKA et al., 2003). Já o método utilizando o radical HOCl, detectou componentes menos reativos presentes na infusão, pois é um agente oxidante mais forte.

Avaliação da toxicidade

O ensaio com *Artemia salina* é utilizado para avaliar a toxicidade de componentes ativos presentes nos produtos naturais. Considera-se o extrato aquoso atóxico, quando se obtêm concentrações acima de 1000 µg mL^{-1} (MEYER et al., 1982). O dicromato de potássio apresentou DL_{50} de 98,36 ± 12,22 µg mL^{-1}. No entanto, o extrato aquoso não apresentou toxicidade na faixa de concentração testada (10-1000 µg mL^{-1}).

Conclusões

O extrato aquoso de *Melissa officinalis* apresentou atividade antioxidante em diferentes ensaios, que envolvem diferentes mecanismos. Este efeito provavelmente está associado à presença de compostos fenólicos no chá. Além disso, foi observado que a infusão não apresentou toxicidade frente à *A. salina*. Assim, maiores investigações serão realizadas acerca dos mecanismos antioxidantes *in vivo* e elucidação de princípios ativos da planta.

Agradecimentos

Agradecimento a UEPG, ao Departamento de química e Departamento de Análises Clínicas.

Referências

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Screening methods to measure antioxidant activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6657-6662, 2003.

COSTA, M.; XIMENES, V. F.; FONSECA, L. M. Hypochlorous acid inhibition by acetoacetate: implications on neutrophil functions. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 1183-1187, 2004.

DE SOUSA, A.C.; ALVIANO, D.S.; BLANK, A.F.;ALVES, P.B.; ALVIANO, C.S.; GATTASS, C.R. *Melissa officinalis* essential oil: antitumoral and antioxidant activities. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** Vol. 56; 677–681, 2004.

MEYER B.N.; FERRIGNI N.R.; PUTNAM L.B.; JACOBSEN L.B.; NICHOLS D.E.; MCLAUGHLIN J.L.; Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, 45:31-4, 1982

OYAIZU, M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 44, p. 307-315, 1986.

PELLEGRINI, N.; RE, R.; YANG, M.; EVANS, C. R. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 379-389, 1999.

SHARMA O.P and .BHAT TK. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry** Vol. 113, 1202-05, 2009.

SILVA, N.L.; ARAÚJO, I.P.C.; BATISTA, M.R.F.; SANTOS, T.B.A.; FERNANDO, W.L.; AMARAL, F.R. Determinação da atividade antioxidante e do teor de flavonoides totais equivalentes em quercetina em extrato aquoso de folhas de *Cymbopogon citratus* (d.c.) stapf e *Melissa officinalis* lam obtidos por decocção. **Conexão Ciência**. Vol. 12; 46 – 53, 2017.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTO, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods in Enzymology**, Vol. 299, 152-178, 1999.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal Apicultural Research**, Vol. 37, 99-105, 1998.