



Polifenóis totais de *Aloysia gratissima* e biodisponibilidade depois de um tratamento oral subcrônico em ratos Wistar

Total polyphenols from *Aloysia gratissima* and bioavailability after subchronic oral treatment in Wistar rats

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2024.1630>

Schreiner, Gêniler Erminda^{1*}

 <https://orcid.org/0000-0002-0203-3944>

Schmitt, Elizandra Gomes¹

 <https://orcid.org/0009-0007-9813-5542>

Santos, Laura Smolski dos¹

 <https://orcid.org/0000-0001-8858-9654>

Sarmiento, Sílvia Muller de Moura¹

 <https://orcid.org/0000-0002-6872-406X>

Maders, Luana Tamires¹

 <https://orcid.org/0009-0008-2948-7023>

Brites, Gabriela Escalante¹

 <https://orcid.org/0009-0004-9877-5951>

Pereira, Camila Berny¹

 <https://orcid.org/0009-0000-0023-0306>

Malheiros, Rafael Tamborena²

 <https://orcid.org/0000-0002-6163-3122>

Dartora, Nessana³

 <https://orcid.org/0000-0001-7700-0904>

Manfredini, Vanusa¹

 <https://orcid.org/0000-0002-9622-7861>

¹Universidade Federal do Pampa (Unipampa), *Campus* Uruguaiana, BR 472 – Km 585, CEP 97501-970, Uruguaiana, RS, Brasil.

²Hospital Santa Casa de Caridade de Uruguaiana, Domingos de Almeida, 3801, São Miguel, CEP 97502-854, Uruguaiana, RS, Brasil.

³Universidade Federal da Fronteira SUL (UFFS), *Campus* Cerro Largo, Av. Jacob Reinaldo Haupenthal, 1580 - Bairro São Pedro, CEP 97900-000, Cerro Largo, RS, Brasil.

*Correspondência: geniferschreiner@gmail.com.

Resumo

O presente trabalho realizou a quantificação de polifenóis totais no extrato aquoso das folhas de *Aloysia gratissima*, e o seu índice de absorção oral em ratos Wistar. Para tal, 20 ratos adultos foram divididos em cinco grupos de tratamento: solução salina; 100 mg/Kg do extrato de *A. gratissima*; 50 mg/Kg e 100 mg/Kg de rutina e co-tratamento com 50 mg/Kg de extrato e 10mg/Kg de rutina, realizados por via oral por 14 dias. Para a quantificação de polifenóis totais foi utilizado o método de Folin Ciocalteu. No extrato, a concentração de polifenóis totais foi 7,11 mg GAE/mL, no plasma dos animais controles o nível basal foi de 4,3 mg GAE/mL. Nos grupos tratados observou-se valores, significativamente, superiores de 9,32mg GAE/mL, 6,65 mg GAE/mL, 8,34 mg GAE/mL e 10,14 mg GAE/mL, respectivamente. Tais dados configuram a *A. gratissima* como uma boa fonte para obtenção de polifenóis totais, devido, tanto a sua alta concentração no extrato como também pela sua boa biodisponibilidade.

Palavras-chave: Disponibilidade biológica. Absorção. Terapêutica.

Abstract

The present work carried out the quantification of total polyphenols in the aqueous extract of the leaves of *Aloysia gratissima*, and its oral absorption index in Wistar rats. For this, 20 adult rats were divided into five treatment groups: saline solution; 100 mg/Kg of *A. gratissima* extract; 50 mg/Kg and 100 mg/Kg of rutin and co-treatment with 50 mg/Kg of extract and 10 mg/Kg of rutin, performed orally for 14 days. For the quantification of total polyphenols, the Folin Ciocalteau method was used. In the extract, the concentration of total polyphenols was 7.11 mg GAE/mL, in the plasma of control animals the baseline level was 4.3 mg GAE/mL. In the treated groups, significantly higher values were observed, of 9.32 mg GAE/mL, 6.65 mg GAE/mL, 8.34 mg GAE/mL and 10.14 mg GAE/mL, respectively. Such data configure *A. gratissima* as a good source for obtaining total polyphenols due both to its high concentration in the extract and also to their good bioavailability.

Keywords: Biological availability. Absorption. Therapy.

Introdução

Polifenóis, ou compostos fenólicos, são moléculas que contêm anéis aromáticos ligados a uma ou mais hidroxilas, possuem importante papel antioxidante e anti-inflamatório e podem ser grandes aliados na manutenção da saúde^[1]. No entanto, a biodisponibilidade dos polifenóis, ou seja, a quantidade de compostos que o organismo consegue absorver e utilizar, é uma preocupação relevante. Uma vez que ela depende de fatores físico-químicos do composto alvo, assim como da sua bioacessibilidade, ou seja, o quanto ele é extraído e solubilizado no alimento. Nem todos os compostos de interesse farmacológico e/ou funcional presentes nas plantas realmente chegam aos seus alvos terapêuticos, como é o caso dos polifenóis, cuja absorção no trato gastrointestinal é baixa^[2].

A *Aloysia gratissima* (Gilles & Hook) Tronc. possui potencial antioxidante e anti-inflamatório bem conhecidos, seu composto majoritário é o flavonoide rutina, também com capacidades medicinais já descritas^[1]. Diante do exposto, este estudo teve como objetivo quantificar os polifenóis presentes na planta *A. gratissima* e avaliar sua absorção gastrointestinal, assim como do seu flavonoide majoritário, a rutina.

Material e Métodos

Preparo do extrato

As amostras de *Aloysia gratissima* foram coletadas em fevereiro de 2021, na cidade de Uruguaiana-RS, Brasil. Uma exsicata se encontra no herbário Bruno Edgar Irgang sob o número de registro HBEI 1639.

Depois de coletadas, o extrato foi obtido das folhas, secas à temperatura ambiente e abrigadas do sol, maceradas, utilizando água destilada como extrator, em uma proporção de 50 g para 1L. Para a realização da

extração a mistura foi acondicionada em frascos âmbar, sob refrigeração, à 5°C, por sete dias. Ao fim o material foi filtrado, utilizando um filtro de papel e algodão, o extrato resultante foi liofilizado e armazenado à -20°C.

Modelo experimental

O protocolo foi previamente submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da instituição, sendo aprovado sob o número de registro 021/2021. Foram utilizados 20 ratos Wistar machos adultos, pesando aproximadamente 350 g, adquiridos, e mantidos, no biotério da UNIPAMPA, o Biopampa, permanecendo em ambiente controlado, com ciclo claro/escuro de 12 h, temperatura de 22±2°C, água e alimentação à vontade.

Para o desenho experimental, os 20 animais foram divididos em cinco grupos de tratamentos: 100 mg/Kg do extrato de *Aloysia gratissima* (AG), 50 mg/kg (R50) e 100 mg/kg (R100) de rutina, e o cotratamento de ambos, com 50 mg/kg de extrato e 10 mg/kg de rutina (AG+R), administrados por gavagem, diariamente, por 14 dias. Ao fim deste tempo os animais foram anestesiados e eutanasiados por punção cardíaca. O sangue coletado foi centrifugado e armazenado -20°C para testes posteriores.

Quantificação de polifenóis totais no extrato e nas amostras biológicas

Utilizou-se o método de Folin Ciocalteu, no qual 500 mg do extrato foi ressuspenso em 1 mL de água destilada, seguido por diluição na proporção de 1:1000, afim de obter-se uma amostra de absorvância confiável. À uma das alíquotas adicionou-se o reagente Folin Ciocalteu e Na₂CO₃ 20%. Fez-se a leitura da absorvância utilizando um espectrofotômetro (SP-22 monofeixe da Biospectro), à 730 nm. Calculou-se a concentração de polifenóis a partir equação da reta obtida pela curva padrão confeccionada utilizando cinco diferentes diluições de ácido gálico, 0,025, 0,020, 0,015, 0,010 e 0,005 mg/mL, feitas em triplicata, sendo o resultado expresso em mg GAE/mL^[3].

As amostras de soro passaram pelo mesmo processo geral, sendo diluídas em PBS de pH 7,4, diluídas 1:100 e centrifugadas a 1500 rpm por 10 min antes da leitura.

Análise estatística

Realizou-se uma ANOVA one way com 95% de significância, seguida de teste de comparações múltiplas de Tukey, empregando o software GraphPad prism 9, os resultados foram expressos em média ± DP.

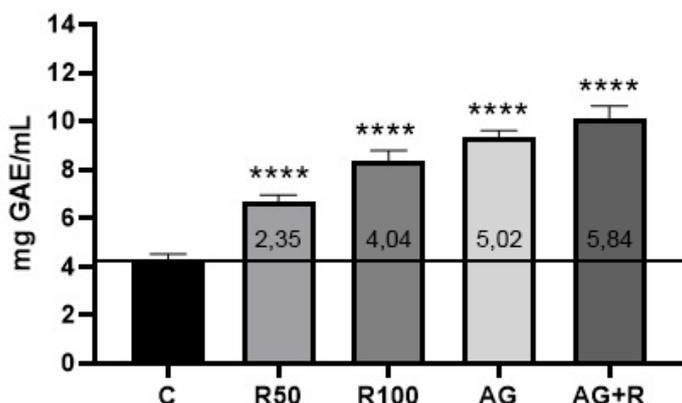
Resultados e Discussão

Para quantificar a concentração de polifenóis totais da amostra, construiu-se a curva de absorção de um composto conhecido, neste caso foi utilizado o Ácido Gálico, a equação da reta obtida foi $y=64,473x-0,0642$, com de $R^2=0,9912$. A partir desta, calculou-se a concentração de polifenóis no extrato aquoso, obtendo 7,11 mg GAE/mL de polifenóis totais, o que condiz com 1,42% do extrato total. Não foram encontrados na literatura dados referentes aos valores de polifenóis totais de *A. gratissima*, porém, em estudo anterior de Faller e Fialho^[4], no qual foi quantificado, utilizando a mesma metodologia, os polifenóis totais dos 12 alimentos mais consumidos pelos brasileiros, encontrou-se o maior valor para a banana, com 215,7 mg EAG/ 100 g de peso fresco. Esse valor, convertido para a diluição aqui utilizada, daria um total de 1,07 mg GAE, cerca de 6x menos do que o extrato aqui utilizado. Sabendo que diferentes formas de processamento, principalmente que envolvam temperatura e exposição à luz, podem afetar negativamente essa produção

de polifenóis^[2], acredita-se que a matéria vegetal verde, como geralmente é consumida a planta estudada, pode ter valores ainda mais expressivos dos aqui encontrados.

Porém, sabe-se que a capacidade de absorção dos polifenóis pelo organismo é apenas uma parte, por vezes muito pequena, da quantidade total de polifenóis consumida. Na **FIGURA 1** pode-se observar que, de maneira geral, todos os tratamentos empregados aumentaram significativamente o valor de polifenóis ($p < 0,0001$) no soro dos animais tratados.

FIGURA 1: Biodisponibilidade de polifenóis totais no soro dos animais tratados.



Fonte: Autores, 2023.

Legenda: C: controle; R50: Rutina (50 mg/kg); R100: Rutina (100 mg/Kg); AG: extrato de *Aloysia gratissima* (100 mg/kg); AG+R: *Aloysia gratissima* (50 mg/Kg do extrato) + Rutina (10 mg/Kg).

Nos animais do grupo AG, foram encontrados valores de 9,32 mg GAE/mL, o que, descontando o valor de 4,3 mg GAE/mL encontrado para o controle, pode-se dizer que a diferença de 5,02 mg GAE/mL de polifenóis foram advindos do tratamento. Lembrando que, 500 mg do extrato tem uma concentração de 7,11 mg GAE/mL, e que a dose administrada aos animais foi de 100 mg/kg, por 14 dias, totalizando, aproximadamente, 6,97 mg GAE/mL de polifenóis administrados. Sendo assim, pode-se dizer que os animais absorveram 72% dos polifenóis administrados durante o tratamento, mostrando um bom potencial de absorção. Tal resultado é interessante uma vez que, geralmente, a biodisponibilidade de compostos administrados retorna a níveis séricos 4 h depois da administração^[5], tempo que se excedeu no presente estudo.

No grupo R50 encontrou-se 6,65 mg GAE/mL, o que, diminuindo-se do valor basal, demonstra uma absorção de 2,35 mg GAE/mL dos 245 mg do flavonoide administrado (0,95%), mostrando que a rutina não é tão bem absorvida, ou rapidamente metabolizada, pelo organismo, o que é confirmado quando se dobra a dose no grupo R100, e a absorção foi de 4,04 (0,82%). Já o grupo AG+R teve uma absorção de 5,84 mg GAE/mL, dos 52,48 mg GAE/mL administrados durante o tratamento (11,12%), sendo que 3,48 mg GAE/mL de polifenóis foram disponibilizados pelo extrato.

Conclusão

Tais dados configuram a *A. gratissima* como uma boa fonte para obtenção de polifenóis totais. Tanto devido à sua alta concentração no extrato, como também pela sua boa disponibilidade e conservação, superando, inclusive, a biodisponibilidade advinda da administração isolada do flavonoide rutina.

Fontes de Financiamento

Bolsas da CAPES, UNIPAMPA, CNPq e FAPERGS.

Conflito de Interesses

Os autores não apresentam conflito de interesses.

Agradecimentos

À CAPES, UNIPAMPA, CNPq e FAPERGS pela concessão de bolsas.

Colaboradores

Concepção do estudo: GES; VM; ND.

Curadoria dos dados: GES; ND; EGS; LSS.

Coleta de dados: GES; GEB; CBP; LTM.

Análise dos dados: GES; SMMSS; RTM.

Redação do manuscrito original: GES; VM; ND.

Redação da revisão e edição: GES; VM; ND.

Referências

1. Schreiner GE. **Efeito da suplementação com o extrato aquoso de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. e rutina em ratos machos e fêmeas com comportamento tipo depressivo: avaliação de parâmetros bioquímicos, oxidativos e inflamatórios.** Uruguaiana; 2022. 107 p. Dissertação de Mestrado. [Programa de Pós-Graduação em Bioquímica] - Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, 2022. [<https://dspace.unipampa.edu.br/handle/riu/7657>].
2. Arnoso BJM, Costa GF, Schmidt B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutr Brasil.** 2019; 18(1): 39. [<https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>].
3. Sigleton VL, Orthofer R, Lamula-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Meth Enzymol.** 1999; 299: 152-178. [[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)].
4. Faller ALK, Fialho E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Rev Saúde Públ.** 2003; 43: 211–218. [<https://doi.org/10.1590/S0034-89102009005000010>].
5. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ. Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. **Clin Biochem.** 2003; 36(1): 79–87. [[https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(02\)00397-1](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(02)00397-1)].

Histórico do artigo | Submissão: 01/08/2023 | **Aceite:** 17/04/2024 | **Publicação:** 15/07/2024

Como citar este artigo: Schreiner GE, Schmitt EG, Santos LS, Sarmento SMM *et al*. Polifenóis totais de *Aloysia gratissima* e biodisponibilidade depois de um tratamento oral subcrônico em ratos Wistar. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2024; 18(1): e1630. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2024.1630>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

