

# Perfil químico, elaboração de formulações tópicas e avaliação da atividade antioxidante (ORAC-FL) de extratos padronizados (fluidos e secos em leite de jorro) de *Maytenus ilicifolia*

Aline Ariadne de Assis<sup>1</sup>, Claudia R. F. Souza<sup>2</sup>, Wanderley P. Oliveira<sup>2</sup>, Marcos José Salvador<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Curso de Farmácia, DBV/IB/UNICAMP; <sup>2</sup> Depto de Ciências Farmacêuticas, FCFRP/USP.

Agência Financiadora: FAPESP, PIBIC-CNPq

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*, Extrato fluido e seco em leite de jorro, Atividade antioxidante

## INTRODUÇÃO

A espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia*, é conhecida dentre tantas outras propriedades, por seu potencial antioxidante. Como há uma inter-relação entre atividade antioxidante, conteúdo de polifenóis e efeitos benéficos de antioxidantes frente à radicais livres, surge uma motivação do estudo da atividade antioxidante de extratos padronizados deste vegetal. Sabe-se que formulações farmacêuticas podem favorecer a biodisponibilidade dos constituintes ativos. Assim, objetiva-se avaliar a atividade antioxidante in vitro de extratos (fluidos e secos em leite de jorro) de *M. ilicifolia* e o desenvolvimento de formulações tópicas contendo os extratos ativos, avaliando a atividade antioxidante antes e após a secagem dos extratos, bem como antes e após a incorporação na formulação farmacêutica.

## MÉTODOS

As amostras de *M. ilicifolia* foram obtidas junto ao Instituto agrônomo de Campinas (IAC) e a caracterização taxonômica desta espécie foi realizada por pesquisadores do IAC. O material vegetal (folhas) foram secas a 40°C em estufa de ar circulante, pulverizadas em um moinho de facas (diâmetro médio de 300 µm) e submetidos a extração (maceração), tendo como líquido extrator uma solução etanol:água (7:3, m/m) à temperatura de 50°C, numa proporção de massa de pó/solvente extrator (m/v) de 0,1. Seguiu-se então com secagem dos extratos através do processo de secagem por leite de jorro. A capacidade antioxidante dos extratos (fluidos e secos em leite de jorro) de *M. ilicifolia* foi mensurada utilizando-se o ensaio ORACFL com fluoresceína como sonda fluorescente e AAPH (2,2'-Azobis (2-amidopropane) dihydrochloride) como fonte de radical livre, com controle positivo de trolox. Para os extratos com atividade antioxidante estimou-se o seu conteúdo de fenólicos totais solúveis, na concentração de 200 µg/mL, pelo método Folin-Ciocalteu (Leitor de Elisa λ=726 nm), e os resultados obtidos foram expressos como mg de ácido gálico equivalentes (GAE) por Kg de extrato, uma vez que se utilizou o ácido gálico como controle positivo. Os experimentos foram realizados em triplicata. Empregando a CLAE-UV-VIS e ESI-MS buscou-se a caracterização do perfil químico de triterpenos e polifenóis da espécie.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A solução extrativa foi preparada colocando o material pulverizado da planta em contato com uma solução de etanol:água (7:3), em temperatura controlada de 50°C. O secador de leite de jorro utilizado, apresentou um bom desempenho de secagem, levando a uma boa recuperação do produto (Fig. 1). Os resultados dos ensaios de ORAC-FL avaliaram a capacidade dos extratos vegetais (fluidos e secos) em seqüestrar radicais peroxil gerados por uma fonte radicalar (Tabela 1) sendo o trolox o controle positivo (Fig.2). Analisando a tabela 1 é possível se observar que o extrato fluido de *M. ilicifolia* apresenta menor atividade antioxidante que os extratos secos. Os extratos secos apresentam maior conteúdo fenólico com destaque ao extrato com 40% de adjuvante (Fig.3). Quando os extratos são incorporados em formulações tópicas (creme e gel creme) a atividade antioxidante é potencializada, principalmente na formulação creme, com destaque ao extrato com 40% de adjuvante incorporado a 10% na formulação creme (Fig.4) (Tabela 2). Na análise por CLAE (Fig. 5), Foi possível verificar que, para a maioria dos extratos secos, não se observou a presença de picos sugestivos de produtos de degradação/artefatos, com perfil cromatográfico similar ao do extrato fluido para a espécie vegetal. O perfil químico por ESI-MS (Fig.6), modo negativo, dos extratos secos em geral, foi possível identificar kaempferol, kaempferol O-rutinosideo, o-gal-(6'-rha)-2''-rha, catequina, naringenina, rutin, pristimerin e epicatequina.



Figura 1– Fotografia obtidas para o extrato seco em leite de jorro de *Maytenus ilicifolia*.

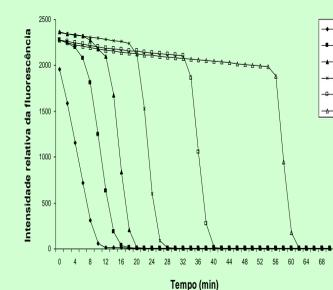


Figura 2 - Efeito da concentração do Trolox na curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína.

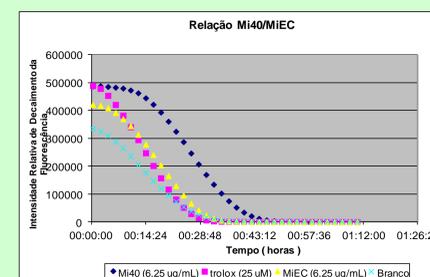


Figura 3- Curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína frente as seguintes amostras: extrato fluido concentrado MiEC, extrato seco em leite de jorro Mi40 de *Maytenus icilifolia*, controle branco (diluyente) e Trolox.

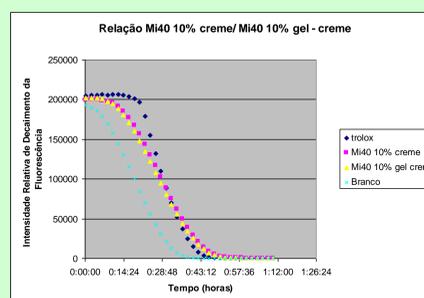


Figura 4— Curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína frente as seguintes amostras: extrato seco Mi40 a 10% de *Maytenus ilicifolia* incorporado na formulação creme, extrato seco Mi40 a 10% de *Maytenus ilicifolia* incorporado na formulação gel- creme, controle branco (diluyente) e Trolox.

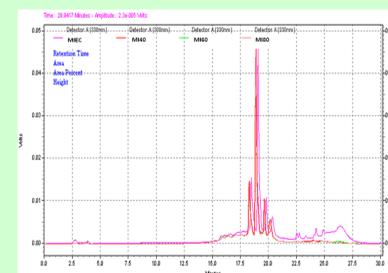


Figura 5- Comparação dos perfis químicos (CLAE-UV, 330nm) dos extratos fluidos e secos em leite de jorro de *Maytenus ilicifolia*.

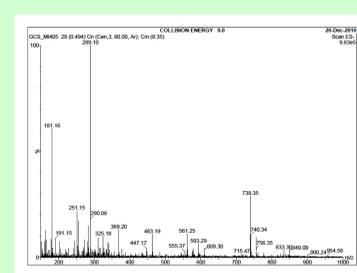


Figura 6— Perfil químico por ESI-MS, modo negativo, do extrato seco Mi40 de *Maytenus ilicifolia*.

Tabela 1 – Resultados da atividade antioxidante de extratos (fluidos e secos em leite de jorro) de *Maytenus ilicifolia*, amostras : MiEC, Mi40, Mi60 e Mi80.

Amostra	Atividade antioxidante ORAC-FL* (µmol TE/g de extrato)	Coefficiente de Variação (%)
MIEC	5828,33	2,02
Mi40	15249,31	1,74
Mi60	11931,85	6,24
Mi80	15194,83	1,42

\*Dados expressos como média do ensaio em triplicata.

Tabela 2 – Resultados da atividade antioxidante de extratos (fluidos e secos em leite de jorro) de *Maytenus ilicifolia*, amostras : MiEC creme/gel-creme 10%, 5% e 1%, Mi40 creme/gel-creme 10%, 5% e 1%, Mi60 creme/gel-creme 10%, 5% e 1% e Mi80 creme/gel-creme, 10%, 5% e 1%.

Amostra	Atividade antioxidante ORAC-FL* (µmol TE/g de extrato)*
MIEC 10% Gel - Creme	254,45
Mi40 10% Gel - Creme	646,58
Mi60 10% Gel - Creme	432
Mi80 10% Gel - Creme	372
Mi40 10% Creme	1079
Mi40 5% Creme	305,80
Mi60 5% Creme	561,90
Mi80 5% Creme	557,53
Mi80 1% Creme	521,92

\*Dados expressos como média do ensaio em triplicata. Os resultados do ensaio ORAC-FL estão expressos como micromol de trolox equivalente por grama de extrato em base seca.

## CONCLUSÃO

- Os extratos secos de *M. ilicifolia* apresentaram os melhores resultados quanto à atividade antioxidante no ensaio ORAC-FL se comparado ao extrato fluido, com destaque para o extrato seco Mi40. Quando incorporados em formulações tópicas, a formulação creme obteve melhores resultados, com destaque para o extrato seco Mi40 a 10%.
- Os extratos secos em leite de jorro, mantiveram o perfil químico por CLAE-UV/DAD similar ao do extrato fluido inicial, não se observando a formação de artefatos pelo processo de secagem.
- Análises por ESI-MS permitiram sugerir a presença de flavonóides nos extratos analisados através de relatos na literatura para *M. ilicifolia*, observando-se a manutenção do perfil químico entre o extrato fluido inicial e os extratos secos.