

Extratos secos de *Alternanthera maritima* em leite de jorro: desenvolvimento tecnológico, elaboração de formulações tópicas e avaliação da atividade antioxidante.

Marília G. Pasqualetti Alves¹, Claudia R.F. Souza², Wanderley P. de Oliveira², Marcos José Salvador¹

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

Agência Financiadora: FAPESP, CAPES, CNPq

Palavras-chave: Atividade antioxidante - *Alternanthera maritima*, Extrato seco em leite de jorro

INTRODUÇÃO

Neste trabalho, visou-se a avaliação da atividade antioxidante de extratos padronizados (fluidos e secos em leite de jorro) de *Alternanthera maritima* a qual pertence à família Amaranthaceae e o preparo de formulações tópicas (creme e gel creme) contendo os extratos ativos. Para isso, os extratos foram submetidos ao estudo para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* (utilizando ensaios mediados pela transferência de elétrons e pela transferência de hidrogênio, tais como ensaio β -caroteno, redução do radical DPPH, Folin-Ciocalteu e ORACFL), buscando-se selecionar aqueles que apresentaram promissora capacidade antioxidante. Visando avaliar o comportamento dos extratos ativos em uma formulação farmacêutica, os extratos com promissora atividade antioxidante foram incorporados em formulações tópicas (creme e gel creme), estabelecendo-se um estudo comparativo da atividade antioxidante dos extratos fluidos e secos em leite de jorro e destes nas preparações creme e gel creme desenvolvidas.

MÉTODOS

O material vegetal *A. maritima* (partes aéreas) foi coletado em seu hábitat natural Restinga de Maricá (RJ, Brasil). Estas amostras, previamente secas a 40 °C em estufa de ar circulante, foram pulverizadas em moinho de facas até um diâmetro médio de 300 μ m e, em seguida, foram colocadas em contato com soluções aquosas, hidroalcoólicas e soluções alcoólicas em um sistema de extração de compostos utilizando um sistema de reator encamisado com controle de agitação e aquecimento. Os extratos com melhores resultados na avaliação da atividade antioxidante foram submetidos a etapa de secagem por leite de jorro. Os parâmetros avaliados foram a temperatura de extração, Text (30, 50 e 70 ° C), a relação entre a massa da planta e de solventes, mpl / msol (0,1 e 0,2) e os líquidos extratores, considerando a proporção de água: etanol (0, 50 e 100%, v/v). Os extratos foram filtrados sob vácuo e concentrado três vezes em um evaporador rotativo (pressão de vácuo de 600 mm Hg e 50°C) e sua concentração de sólidos e teor de álcool foram determinadas. Nos extratos filtrados resultantes a concentração de sólidos foi padronizada em 2,6% (m/m). A capacidade antioxidante dos extratos vegetais e formulações tópicas foi mensurada utilizando-se o ensaio ORACFL com fluoresceína como sonda fluorescente e AAPH (2,2'-Azobis (2-amidipropane) dihydrochloride) como fonte de radical livre. Os extratos ativos foram analisados quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis utilizando o método colorimétrico Folin-Ciocalteu A absorvância das amostras e amostra-padrão foi medida em espectrofotômetro ($\lambda=730$ nm) e os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalentes (GAE) por grama de extrato vegetal em base seca (mg de GAE/g). Pela análise dos seus espectros de RMN e IES-EM verificou-se que estas substâncias apresentam-se com um grau de pureza satisfatório, possibilitando o seu emprego em um estudo analítico. Avaliação do perfil químico dos extratos por CLAE-UV/DAD foi comparado entre os extratos fluidos e secos observando a presença ou não de artefatos ou picos de substância de degradação após a etapa de secagem dos extratos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1 apresenta as condições de extração utilizados em todos os extratos preparados de *A. maritima*. Os melhores resultados na avaliação da atividade antioxidante foi para os extratos 1, 8 e 10 que foram selecionados para a etapa de secagem em leite de jorro. De uma maneira geral, o secador de leite de jorro utilizado, apresentou um bom desempenho de secagem, levando a uma boa recuperação do produto (Tab.2). Através do ensaio de ORAC-FL foi avaliada a capacidade dos extratos vegetais (fluidos e secos) em seqüestrar radicais peroxil gerados por uma fonte radicalar (Tab.3). O extrato 8 foi selecionado e procedeu-se a análise do teor de fenólicos totais solúveis nos extratos fluidos e secos (Tab.4). Os extratos secos apresentam maior conteúdo fenólico. Observa-se que os extratos fluidos apresentam menor conteúdo fenólico, assim como menor atividade antioxidante. Quando os extratos são incorporados em formulações tópicas (creme e gel creme) (Fig.2)(Fig.3) a atividade antioxidante é potencializada, principalmente na formulação creme, com destaque ao extrato seco 8 A incorporado a 10% na formulação creme. A partir da análise por CLAE, foi possível observar perfis cromatográficos similares para o extrato fluido concentrado a 2,6% e os extratos secos em leite de jorro. Portanto, estes dados sugerem que a secagem em leite de jorro não promoveu degradação significativa dos constituintes presentes nos extratos de *A. maritima* (Tab.5).

Tabela 1- Condições utilizadas para a preparação dos extratos fluidos padronizados

Número do Extrato fluido	Condições de extração		
	m_{et}/m_w (%)	T_{ext} (°C)	m_{pl}/m_{sol} (-)
1	0	30	0.1
2	50	30	0.1
3	50	30	0.2
4	100	30	0.1
5	0	70	0.1
6	50	70	0.1
7	50	70	0.2
8	0	50	0.1
9	50	50	0.1
10	50	50	0.2

Tabela 3- Resultados da atividade antioxidante dos extratos fluidos e secos em leite de jorro de *Alternanthera maritima*

EXTRATOS	Atividade antioxidante ORAC-FL ^a (μ mol TE/g de extrato)	Coefficiente de variação (%)
1 (extrato fluido 1 conc. a 2,6% em termos de resíduos sólidos)	125,85	22,94
1A (extrato seco 1 condição A)	1119,73	2,85
1B (extrato seco 1 condição B)	1235,37	8,67
8 (extrato fluido 8 conc. a 2,6%)	140,07	3,17
8A (extrato seco 8 condição A)	1917,05	12,29
8B (extrato seco 8 condição B)	1689,49	6,22
10 (extrato fluido 10 conc. a 2,6%)	71,12	19,34
10A (extrato seco 10 condição A)	3246,73	0,09
10B (extrato seco 10 condição B)	2009,11	1,86
Quercetina ^b	5,60	1,20
Isoquercitrina ^b	5,10	1,40
Ácido cafeico ^b	2,85	1,15
Ácido clorogênico ^b	2,65	1,30

Tabela 4 - Conteúdo de fenóis solúveis totais para os extratos com atividade antioxidante fluido (8 conc. a 2,6%) e secos em leite de jorro (8A e 8B) de *Alternanthera maritima*.

EXTRATOS	CONTEUDO DE FENÓLICOS TOTAIS (mgAGE/g)
8 (extrato fluido 8 conc. a 2,6%)	<2,15
8A (extrato seco 8 condição A)	3,60
8B (extrato seco 8 condição B)	2,90

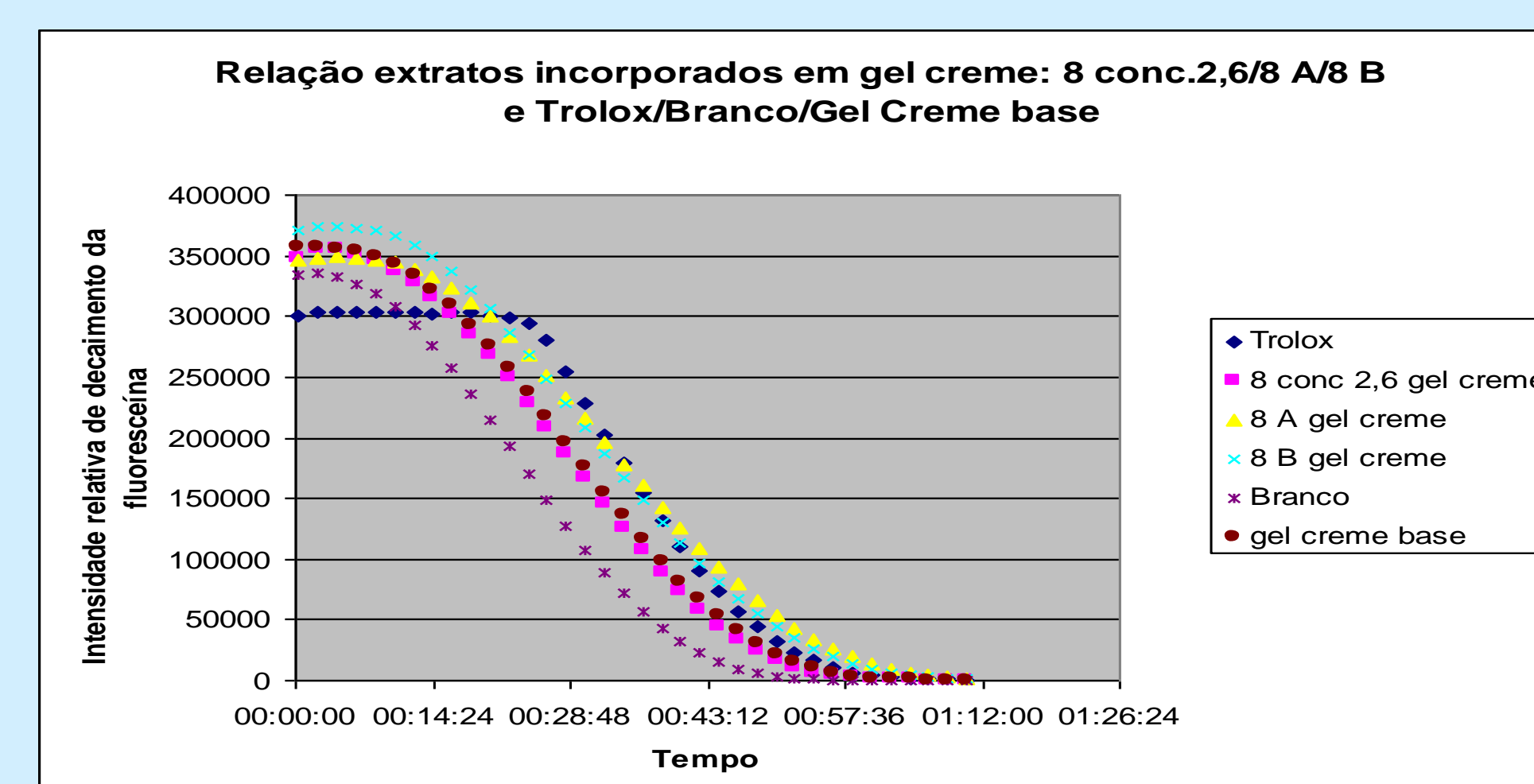


Figura 3- Curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína frente a seguintes amostras: extrato fluido 8 concentração 2,6 incorporado em gel creme; extrato seco em leite de jorro 8A de *Alternanthera maritima* incorporado em gel creme; extrato seco em leite de jorra 8B de *Alternanthera maritima* incorporado em gel creme; Trolox; Branco e Gel creme base (sem extrato).

Tabela 2 - Parâmetros de secagem utilizados para a obtenção do extrato seco em leite de jorro

Extrato seco	Condições de extração			Parâmetros de secagem		
	m_w/m_{et} (%)	T_{ext} (°C)	m_{pl}/m_{sol} (-)	T_{pi} (°C)	T_{go} (°C)	W_s (g/min)
1.A	0	30	0.1	80	56	20.0
1.B	0	30	0.1	150	129	8.5
8.A	0	50	0.1	150	113	20.0
8.B	0	50	0.1	150	114	8.5
10.A	50	50	0.2	150	105	20.0
10.B	50	50	0.2	150	128	8.5

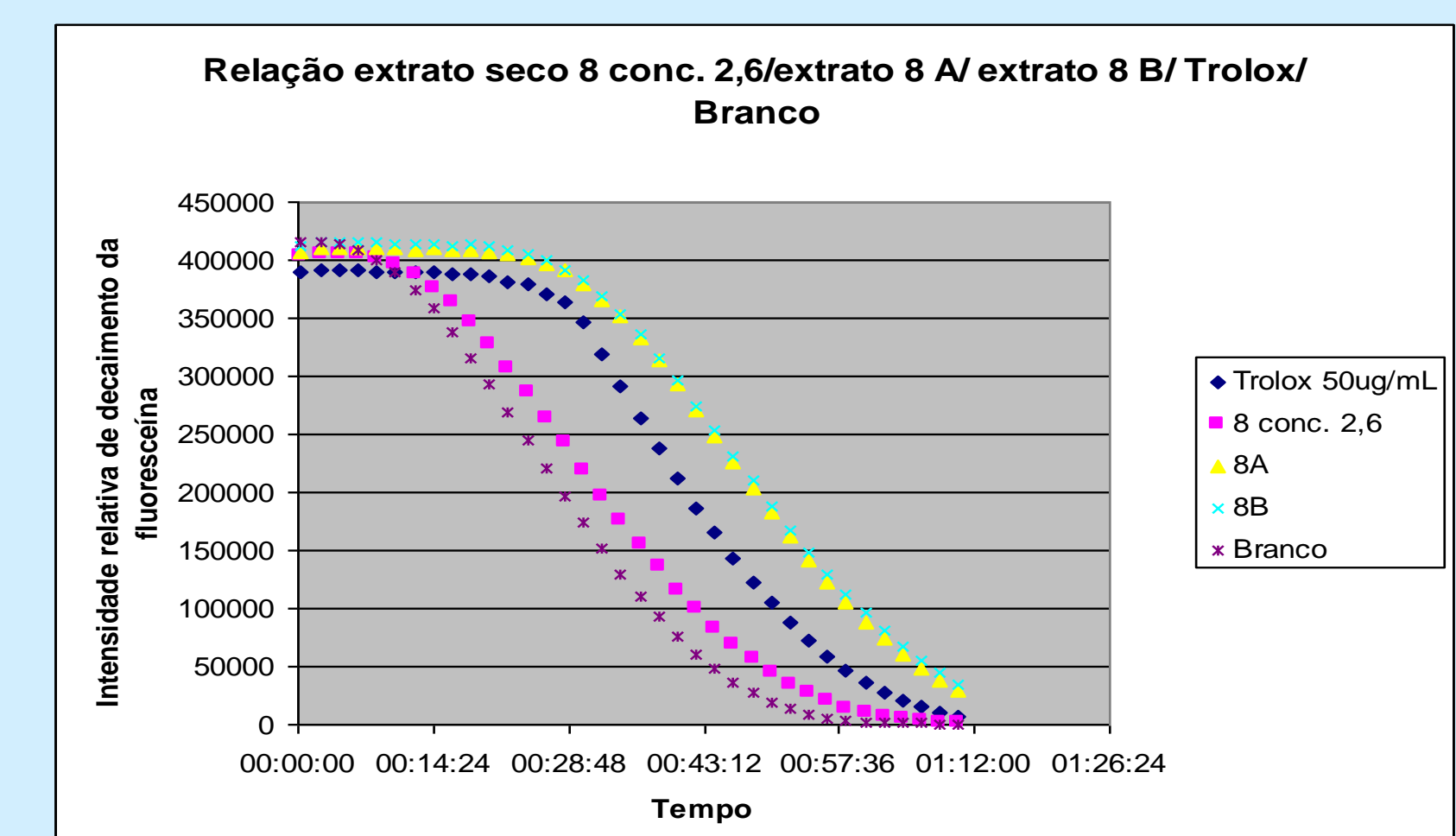


Figura 1 - Curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína frente a seguintes amostras: extrato fluido 8 concentrado a 2,6% em termos de resíduos sólidos; extrato seco em leite de jorro 8A de *Alternanthera maritima*; extrato seco em leite de jorro 8B de *Alternanthera maritima* e Trolox

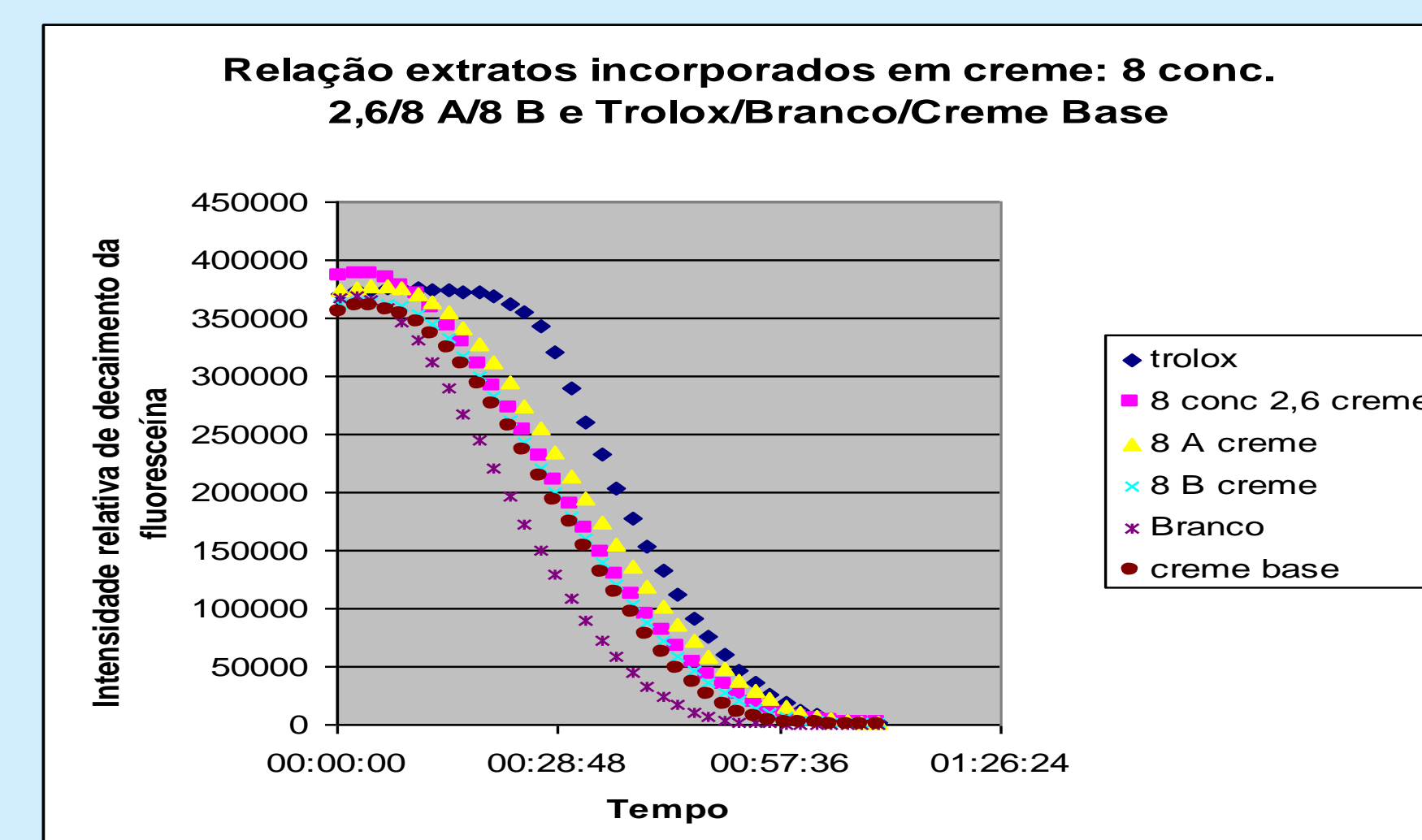


Figura 2 - Curva de decaimento da fluorescência da fluoresceína frente a seguintes amostras: extrato fluido 8 concentração 2,6 incorporado em creme; extrato seco em leite de jorro 8A de *Alternanthera maritima* incorporado em creme; extrato seco em leite de jorra 8B de *Alternanthera maritima* incorporado em creme; Trolox; Branco e Creme base (sem extrato).

Tabela 5 - Composição por CLAE/DAD dos extratos secos e fluidos de *Alternanthera maritima* (I a XI flavonóides agliconas, O- e C- glicosilados isolados previamente desta planta)

Compounds	Dried Extracts											Retention time (min)
	1	1.1	1.2	8	8.1	8.2	10	10.1	10.2	10.2	10.2	
I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.601
II	11.27	7.440	7.631	10.13	7.102	11.63	18.11	15.75	16.34	4.809	5.890	
III	0.070	0.041	0.030	0.832	1.622	1.643	1.630	1.842	1.654	5.672	5.672	
IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.672
V	0.591	0.452	0.470	0.451	0.400	0.450	0.801	0.672	0.922	7.114	8.672	
VI	0.030	0.021	0.032	0.400	0.481	0.442	0.430	0.560	0.621	8.672	8.672	
VII	0.020	0.010	0.021	0.020	0.022	0.020	0.240	0.421	0.340	8.720	9.203	
VIII	0.020	0.011	0.010	0.050	0.041	0.060	4.771	5.090	5.150	9.203	12.40	
IX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.40
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.64
XI	0.020	0.021	0.020	0.040	0.040	0.042	0.041	0.040	0.090	14.59	14.59	

CONCLUSÃO

- Os extratos fluidos 1, 8 e 10 obtido das partes aéreas de *A. maritima* apresentaram capacidade antioxidante promissora *in vitro* no ensaio ORAC-FL;
- Os extratos secos 1, 8 e 10 de *A. maritima* apresentaram os melhores resultados quanto a atividade antioxidante no ensaio ORAC-FL, com destaque para o extrato seco 8 A, mantendo o perfil químico por CLAE e a atividade antioxidante após o processo de secagem;
- Análises por ESI-MS permitiram sugerir a presença de flavonóides previamente reportados em *A. maritima* nos extratos fluidos e secos em leite de jorro obtidos;
- Os melhores resultados obtidos foram para as formulações em creme contendo o extrato seco 8 A de *A. maritima* a 10%, formulações estas que apresentaram atividade antioxidante nos ensaios utilizados e também se mostraram estáveis em ensaio de centrifugação, com pH e características organolépticas compatíveis para uso tópico.