

AValiação DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS CONTENDO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE PUNICA GRANATUM, L.¹

Géssica Cardozo Sonemann², Katiele Daltrozo Coelho³, Viviane Cecília Kessler Nunes Deuschle⁴, Regis Augusto Norbert Deuschle⁵.

¹ Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Farmácia

² Aluna do Curso de Graduação em Farmácia, Universidade de Cruz Alta

³ Egressa do Curso de Graduação em Farmácia, Universidade de Cruz Alta

⁴ Aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

⁵ Professor orientador, Mestre em Ciência e Tecnologia Farmacêuticas, Curso de Farmácia, Universidade de Cruz Alta

Introdução

O emprego de plantas com fins medicinais é uma das formas mais antigas utilizadas pela população mundial. Os produtos naturais têm uma variada gama de constituintes naturais biologicamente ativos, podendo ser utilizados para síntese de grande número de fármacos. Com base nisso os produtos naturais tem sido considerados importante ferramenta na descoberta de novos fármacos (STROHL, 2000).

Estudos demonstram que a *Punica granatum*, L (romã) é uma planta que possui uma expressiva quantidade de compostos fenólicos em sua composição, oferecendo ação antioxidante e outras propriedades farmacológicas, tais como atividade antifúngica, atividade antibacteriana, atividade antiparasitária, modulação das respostas anti-inflamatórias e arteriosclerose. A romã é uma árvore pertencente às regiões áridas e a produção do seu fruto acontece nos períodos de setembro a fevereiro (MARTINS, 1995). Seu fruto esférico abriga sementes revestidas pela polpa e apresentam antocianinas (delfinina, cianidina, pelargonidina), flavonóides (rutina e quercetina), taninos hidrolisáveis e ácidos fenólicos (gálico e elágico) (CATÃO et al., 2006; JARDINI e MANCINI FILHO, 2010; WERKAN et AL., 2008).

Existe uma série de compostos antirradicais livres, podendo ser escolhidos com base em estudos de eficácia, custos e compatibilidade de formulações em desenvolvimento. Por isso cada vez mais estão sendo estudados extratos de plantas incorporados em formulações cosméticas para o combate ou prevenção do envelhecimento cutâneo (RIBEIRO, 2010).

O presente trabalho tem como objetivo verificar a capacidade antioxidante de uma formulação cosmética contendo o extrato hidroetanólico das folhas de *Punica Granatum* L.

Metodologia

As folhas da Romã (*Punica Granatum L.*) foram coletadas no município de Cruz Alta – RS, secas em estufa com circulação de ar forçado a uma temperatura de 45°C por um período de 3 dias. Realizou-se a trituração através de moinho de facas com tamis de malha fina. A identificação científica foi realizada por botânicos do Departamento de Biologia da Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ, e o material testemunho da amostra vegetal encontra-se depositado no Herbário. A extração foi feita pelo método de maceração, utilizando-se álcool etílico e água destilada como solventes extratores numa proporção de (70:30v/v). Foram feitas agitações manuais durante sete dias, sendo posteriormente filtrado e armazenado. O material vegetal foi novamente recoberto com o mesmo solvente, repetindo o processo por mais sete dias. O filtrado resultante da remaceração foi reunido ao primeiro, concentrado em evaporador rotatório para a eliminação do etanol, obtendo-se assim o extrato bruto hidroetanólico.

Foi adicionado 5% de extrato hidroetanólico das folhas de romã à uma base de gel de hidroxietilcelulose (Natrosol), que foi previamente preparado de acordo com o Formulário Nacional (BRASIL, 2005). Estas formulações foram submetidas a testes de estabilidade durante 60 dias (BRASIL, 2004), período no qual também foram realizadas as análises da capacidade antioxidante das formulações apresentadas neste trabalho.

Para a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* foi utilizado o método fotolorimétrico do DPPH (2,2-difenil,1-picrihidrazila), segundo Mariotti I e Frasson (2011) nas concentrações de 20, 10, 5, 2,5 e 1,25 mg/mL. A cada 2,5 mL de amostra foi adicionado 1mL da solução de DPPH 0,3mM em etanol. Após 30 minutos, foram realizadas as leituras, em espectrofotômetro (Shimadzu-UV-1201) que foi ajustado em 518nm. Uma solução de DPPH (1mL; 0,3mM) em etanol (2,5mL) foi usado como controle negativo e um gel com 5% de rutina foi usado como padrão (controle positivo), nas mesmas concentrações das amostras. O etanol foi usado para zerar o espectrofotômetro, tendo como brancos as soluções testes de cada amostra (sem a adição do DPPH), visando minimizar a interferência de componentes das amostras na leitura. O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo da atividade antioxidante seguiu a equação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - \left[\frac{\text{Abs amostra} - \text{Abs branco}}{\text{Abs controle}} \times 100 \right]$$

Onde: Abs amostra é a absorbância da amostra; Abs branco é a absorbância da amostra sem adição do DPPH; Abs Controle é a absorbância da solução de DPPH em etanol.

A verificação da capacidade antioxidante foi realizada nas amostras das formulações no tempo zero e após 60 dias, período em que as mesmas foram armazenadas em temperatura ambiente, estufa e refrigerador.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

O cálculo da concentração eficiente (CE50), foi calculado no programa Microsoft Office Excel 2007, utilizando a equação da reta das amostras.

Resultados e discussão

As determinações da capacidade antioxidante *in vitro* nas formulações contendo extrato hidroetanólico de *Punica granatum*, L. estão demonstradas na Figura 1. As EC50, em mg/mL, calculada para as amostras foram as seguintes: 7,09 (tempo zero); 6,73 (temperatura ambiente); 12,46 (estufa) e 13,74 (refrigerador).

O método usado para determinação da capacidade antioxidante é fundamentado na redução do radical DPPH na presença de substâncias antioxidantes (MARIOTTI e FRASSON, 2011).

De acordo com os resultados obtidos, observa-se uma maior capacidade antioxidante para o gel com romã no tempo zero, apresentando um decréscimo durante o tempo de armazenagem. Porém, durante os 60 dias em que foram estocados, observou-se que os melhores resultados foram obtidos nas amostras conservadas em temperatura ambiente e refrigerador, apresentando uma menor atividade na amostra conservada em estufa.

A concentração eficiente (CE50), é a quantidade de uma substância antioxidante capaz de reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% e quanto menor esse valor, melhor a capacidade antioxidante (MARIOTTI e FRASSON, 2011). Desta forma, observa-se que a menor CE50 foi obtida para as amostras conservadas em temperatura ambiente e no tempo zero, onde foi observada a melhor capacidade antioxidante.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, observa-se que o gel de hidroxietilcelulose acrescido do extrato hidroetanólico de *Punica granatum* L. apresentou uma boa capacidade antioxidante comparado com o padrão de rutina, um conhecido antioxidante. Esta capacidade está, provavelmente, relacionada com o conteúdo de polifenóis descritos na literatura para a planta. O decréscimo na atividade provavelmente foi devido à conservação do mesmo em estufa. Considerando-se que esta é uma determinação *in vitro*, faz-se necessária a continuidade deste estudo, realizando-se testes *in vivo*, de forma a complementar estes resultados.

Palavras-chave: DPPH; Estabilidade; Romã

Referências Bibliográficas

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1. ed., Brasília: ANVISA, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário Nacional / Ministério da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- CATÃO, R. M. R. (org.). 2006. Atividade antimicrobiana “*in vitro*” do extrato etanólico de *Punica granatum* Linn. (romã) sobre isolados dos ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. Revista Brasileira de Análises Clínicas. vol. 38, n.2, p111-114.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

IHA, M.S.; MIGLIATO, F.K.; VELLOSA, R.C.J.; SACRAMENTO, S.V.L.; PIETRO, R, L, C, R.; ISAAC, B.L.V.; BRUNETTI, L.I.; CORRÊA, A.M.; SALGADO, N.R.H. Estudo ﬁtoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação ﬁto cosmética. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.3, p. 397-383, 2008.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J., Composição centesimal e perfil dos ácidos graxos de romã (*Punica granatum*, L.) cultivada no Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 43, n. 1, jan./mar.,2007.

MARIOTTI, D.; FRASSON, A.P.Z. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de formulações cosméticas contendo extrato etanólico dos frutos de *Fragaria vesca* L. (morango). *Infarma*, v.23, n ¾, 2011.

MARTINS, E. Plantas medicinais. Viçosa: UFV, p. 162-163, 1995.

RIBEIRO, Cláudio. *Cosmetologia Aplicada a Dermoestética*. 2º Ed. Pharmabooks, 2010, p. 205-222.

STROHL, W. The role of natural products in a modern drug Discovery program. *Drug Disc. Today* 5, p.39-41, 2000.

WERKMAN, C; GRANATO, D. C.; KERBAUY, W.D.; SAMPAIO, F.C.; BRANDÃO, A.A.H.; RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu*, v.10, n.3,p.104-111, 2008.

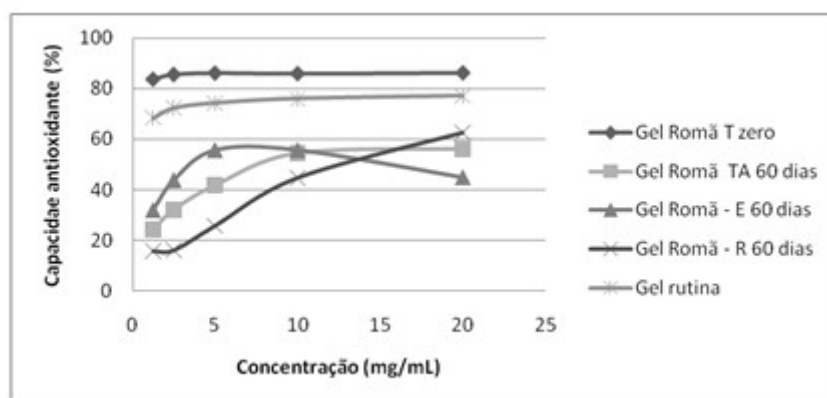


Figura 1. Capacidade antioxidante das formulações contendo extrato hidroetanólico das folhas de *Punica granatum*, L. Gel Romã T zero (determinação inicial); Gel Romã TA 60 dias (armazenada em temperatura ambiente por 60 dias); Gel Romã E 60 dias (armazenada em estufa por 60 dias); Gel Romã R 60 dias (armazenada em refrigerador por 60 dias) e Gel rutina (padrão).