



ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS E *PERESKIA ACULEATA*

Bruna Hypólito Garcia¹; Leandro Alexandre Krauss¹; Claudenice Francisca Providelo Sartor²; Daniele Fernanda Felipe³

RESUMO: A própolis é considerada uma importante alternativa terapêutica, devido suas inúmeras propriedades farmacêuticas, dentre estas estão comprovadas as ações antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica, anticariogênica e antioxidante. A *Pereskia aculeata* tem sido empregada na medicina popular no abrandamento dos processos inflamatórios, estimulação imunológica, na recuperação da pele em casos de queimadura e na cicatrização de úlceras, Além disso, espécies do gênero *Pereskia*, como a *Pereskia grandifolia*, apresenta ação antioxidante moderada. Neste trabalho foi avaliada a ação antioxidante dos extratos de própolis verde e vermelha e da *Pereskia aculeata*. A ação antioxidante foi realizada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila). Quanto à ação antioxidante, a própolis verde apresentou melhor ação com o IC₅₀ de 80,64 µg/mL quando comparada com a própolis vermelha, a *Pereskia aculeata* apresentou melhor ação antioxidante do que as própolis testadas, apresentando um IC₅₀ de 56,64 µg/mL, sendo o extrato de própolis verde e de *Pereskia aculeata* empregado na formulação de um cosmético. Ambos os produtos desenvolvidos apresentaram-se estáveis e dentro dos parâmetros analisados para o controle de qualidade. Assim, justifica-se a utilização da própolis verde e de *Pereskia aculeata* em formulações cosméticas destinadas a prevenção do envelhecimento cutâneo.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante; Envelhecimento; Própolis; *Pereskia aculeata*

INTRODUÇÃO

O processo do envelhecimento tem reflexo em todo o nosso organismo, e um dos órgãos que mais cedo e melhor revela os sinais do envelhecimento é a pele, por representar 12% do peso total do corpo, sendo o maior sistema de órgãos expostos ao meio ambiente (GUIRRO;GUIRRO, 2004). A pele é um órgão complexo no qual interações celulares e moleculares reguladas de modo preciso governam muitas das agressões provindas do meio ambiente (HIRATA et al, 2004).

Como consequência da exposição crônica ou excessiva a fatores extrínsecos do envelhecimento, as espécies de oxigênio reativo (EROs) podem reduzir a capacidade de defesa antioxidante da pele, acelerando o processo de envelhecimento pela morte ou mau funcionamento das células (SOUZA et al, 2007).

Com o objetivo de retardar ou prevenir a deterioração, dano ou destruição provocada pela oxidação são empregadas substâncias antioxidantes. Os antioxidantes podem ser

¹ Acadêmicos do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. Programa de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). brunahypolito@hotmail.com, leandrokrauss@live.com

² Co-orientador, Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. claudenice@cesumar.br

³ Orientador, Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR), Maringá – Paraná. danielefelipe@cesumar.br

encontrados naturalmente em nosso organismo, em alimentos e em cosméticos. Estes são responsáveis pela proteção do organismo contra a ação oxidativa dos radicais livres (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

Produtos cosméticos são utilizados na manutenção e aperfeiçoamento da estética do corpo humano, porém sem interferir nos processos normais do metabolismo celular, devem colaborar para que esses processos ocorram de forma a melhorar a qualidade da pele e anexos (ROQUE et al, 2009). A formulação para obtenção de cosméticos naturais significa dar a preferência, sempre que possível, aos derivados vegetais, evitando a sua substituição por substâncias sintéticas. Portanto, é extremamente importante realizar um balanceamento lógico e coerente entre as matérias-primas sintéticas e naturais, maximizando a ação farmacológica, a fim de alcançar melhores efeitos (IHA, 2008).

A própolis é uma importante alternativa terapêutica do ponto de vista econômico e eficácia farmacológica por ser de fácil obtenção e por apresentar inúmeras propriedades farmacêuticas. Entre estas, está comprovada a ação antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica, anticariogênica e antioxidante (LONGHINI et al, 2007). Os principais compostos químicos isolados da própolis até o momento podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos fenólicos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxo, aminoácidos, esteróides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), Terpenóides, Proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais (MENEZES, 2005).

A *Pereskia aculeata*, a qual é conhecida popularmente como ora-pro-nobis é uma planta que tem se mostrado promissora no campo fitoterapêutico. Tal planta tem sido empregada na medicina popular no abrandamento dos processos inflamatórios, na recuperação da pele em casos de queimadura e na cicatrização de úlceras (ROSA; SOUZA, 2003; DUARTE; HAYASHI, 2005; GRONNER et al., 1999). Além disso, espécies do gênero *Pereskia*, como a *Pereskia grandifolia*, apresenta ação antioxidante moderada (TURRA, 2007). Segundo alguns estudos, foram encontradas substâncias como betacianina flavonóis, além de betaína, isobetanina e filocactina (SIERAKOWSKI et al., 1987).

Baseado neste contexto, a presente pesquisa teve como objetivo testar a ação antioxidante a partir dos extratos de própolis verde e vermelha e da *Pereskia aculeata*, tendo em vista que a medicina tem buscado alternativas para o desenvolvimento de novos fármacos com menos riscos a saúde, principalmente derivado de espécies vegetais.

MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da atividade antioxidante, foi realizada pelo método fotolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila). Preparou-se uma solução 0,3 mM de DPPH em metanol. As amostras foram preparadas adicionando-se 400 µL desta solução de DPPH a 3,0 mL de soluções dos extratos diluídos em metanol nas concentrações de 150; 125; 100; 75; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1 µg/mL para própolis verde, concentrações de 200; 150; 100; 75; 50; 25; 1; e 0,5 µg/mL para própolis vermelha e concentrações de 75; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 µg/mL. Para calibração do espectrofotômetro utilizou-se metanol. Como controle negativo, foi adicionado 3 mL de metanol em um tubo e 400 µL de DPPH. A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa e a ação antioxidante de um extrato pode ser visualizada pelo progressivo descoloramento da solução, ao final do qual a mesma torna-se amarelada. Trinta minutos após a adição de DPPH às amostras, foi feita a leitura em um espectrofotômetro de Ultravioleta UV- VIS (Varian) em 518nm. Todas as leituras foram realizadas em triplicata e, com a média dos dados obtidos foi calculada a

capacidade de sequestrar o radical livre, ou seja, a atividade antioxidante foi expressa em percentuais, segundo a expressão abaixo:

$$\% \text{sequestro} = \frac{\text{Abs do controle negativo} - \text{Abs da amostra}}{\text{Abs do controle negativo}} \times 100$$

A partir das atividades antioxidantes percentuais e da concentração de cada extrato foi realizada uma regressão linear, chegando-se assim à concentração necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado de 100% (IC_{50}) (VICENTINO; MENEZES, 2007).

Para o desenvolvimento do gel-creme com ação antioxidante, foi utilizado à própolis verde. Em um bécker foi adicionado BHT (0,05 g), metilparabeno (0,1 g), propilparabeno (0,1 g), EDTA (0,1 g), água destilada q.s.p 100 mL e aqueceu a 70°C dissolvendo as matérias-primas. Após foi adicionado aos poucos o Sepigel® 305, com agitação lenta e constante, até completa homogeneização. Resfriou a 40°C e adicionou estearado de octila (5 mL), óleo de amêndoas (3 mL) e o extrato de própolis verde (0,016 g) baseado no IC_{50} . Homogeneizou e verificou o pH (6).

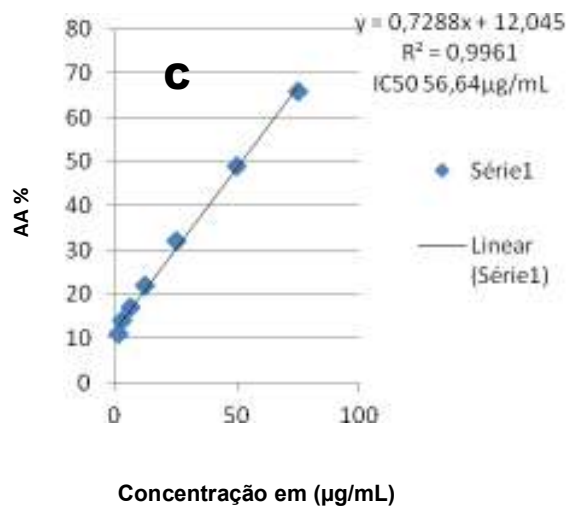
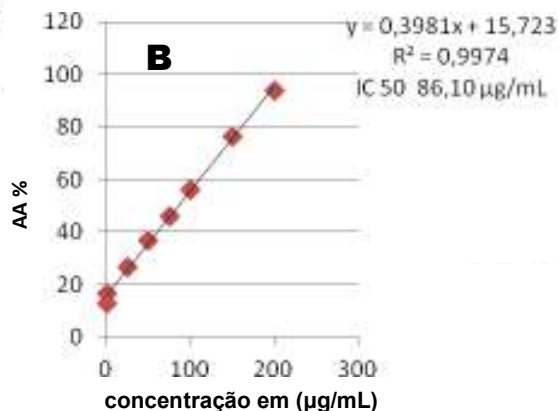
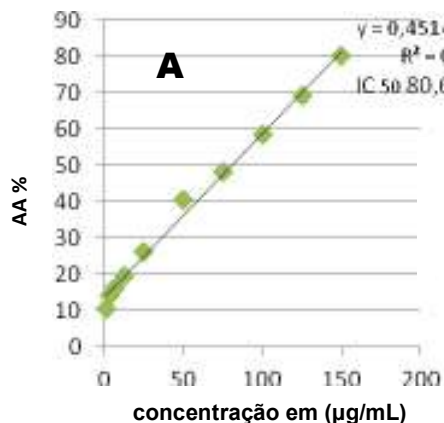
Para o desenvolvimento da base creme Polawax®, com ação antioxidante, foi utilizado o extrato de *Pereskia aculeata*. Para a preparação do creme a formulação foi dividida em fase 1, 2 e 3, onde fase 1 foi composta por 3mL de Óleo Mineral e 19,5g de Polawax®. A fase 2 foi composta por 4g de Estearato de Octila, 0,1g de Metilparabeno, 0,1g de Propilparabeno®, 5g de Propilenoglicol, 0,05g de Butilhidroxitolueno (BHT) e q.s.p. 100mL de Água Destilada. Fase 3 foi composta por 0,011g de extrato de *Pereskia aculeata* baseado no valor de IC_{50} . Homogeneizou e verificou o pH (6).

Foi realizado controle de qualidade dos produtos desenvolvidos sendo avaliados os itens aspecto, cor, odor e pH. Além disso, foi realizado o estudo de estabilidade preliminar, neste teste, amostras do produto foram armazenadas em estufa (40°C), na geladeira (5°C) e em temperatura ambiente durante 21 dias, sendo avaliadas nos tempos zero, 24 horas e após 7,14 e 21 dias quanto aos mesmos itens que foram verificados no controle de qualidade, segundo o Guia de Estabilidade da Anvisa (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração inibitória média (IC_{50}) é uma medida da eficácia de um composto em função biológica ou bioquímica de inibição. Esta medida quantitativa indica o quanto de um determinado medicamento ou outra substância (inibidor) é necessária para inibir um determinado processo biológico (ou componente de um processo, ou seja, uma enzima, células, receptor de células ou microorganismo) pela metade. O IC_{50} de uma droga pode ser determinada pela construção de uma curva dose-resposta. Valores de IC_{50} podem ser calculados para um antagonista dada por determinação da concentração necessária para inibir a metade da resposta máxima biológica do agonista. Em geral, quanto maior a concentração de inibidor, mais a atividade do agonista será reduzida (MOLYNEUX, 2003). O IC_{50} foi calculado a partir do gráfico 1 através da equação da reta.

Gráfico 1 – A) Atividade sequestrante de radical DPPH do extrato de própolis verde (IC_{50} 80,64 $\mu\text{g/mL}$). B) Atividade sequestrante de radical DPPH do extrato de própolis vermelha (IC_{50} 86,10 $\mu\text{g/mL}$). C) sequestrante de radical DPPH do extrato de *Pereskia aculeata* (IC_{50} 56,64 $\mu\text{g/mL}$)



Com respeito à atividade antioxidante, as amostras se comportaram de maneira distinta, isto é, observou-se que a amostra *Pereskia aculeata* apresentou um IC_{50} de $56,64 \mu\text{g/mL}$, o extrato de própolis verde apresentou um IC_{50} de $80,64 \mu\text{g/mL}$ e a própolis vermelha apresentou um IC_{50} de $86,10 \mu\text{g/mL}$ (Gráfico 1). Mostrando que o extrato de *Pereskia aculeata* possui uma maior atividade antioxidante, seguida da própolis verde e por ultimo a própolis vermelha.

Atualmente, é possível observar que estão sendo realizados diversos estudos com produtos vegetais, com o objetivo de analisar a atividade antioxidante destes, pois possuem em sua composição compostos fenólicos (CANTERLE, 2005). Para Santos et al. (2003), diversas substâncias fenólicas são importantes antioxidantes, uma vez que possuem esqueleto carbônico propício para a estabilização de radicais livres. Verificou-se que a posição e o grau de hidroxilação são fatores importantes para a atividade antioxidante dos flavonóides.

Segundo Alencar (2009), a composição química da própolis é altamente dependente da localização geográfica, ou seja, dependendo do local e da estação do ano sua composição química muda. Isto pode justificar os resultados encontrados, onde a ação antioxidante da própolis vermelha foi menor quando comparada com a própolis verde.

Chaves et al. (2007), relata em seu estudo uma boa ação antioxidante de 5 plantas medicinais estudadas, mostrando os seus respectivos IC_{50} em $\mu\text{g/mL}$ (*Terminalia brasiliensis* IC_{50} 27,59; *Terminalia fagifolia* IC_{50} 44,53; *Cenostigma macrophyllum* IC_{50} 78,45; *Qualea grandiflora* IC_{50} 50,16; *Copernicia prunifera* IC_{50} 111,14). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a seu IC_{50} e maior a sua atividade antioxidante. Em trabalho

realizado por Salgado et al. (2007), mostra que a goiaba possui uma considerável ação antioxidante, apresentando um IC₅₀ de 150 µg/mL.

Sendo assim, a *Pereskia aculeata* apresentou um IC₅₀ de 56,64 µg/mL possui uma boa ação antioxidante e a própolis verde apresentou um IC₅₀ de 80,64 µg/mL indicando uma considerável ação antioxidante, quando comparada às atividades antioxidantes dos diferentes extratos demonstrados nos trabalhos relatados acima, o que justifica o emprego do extrato de *Pereskia aculeata* e da própolis verde no desenvolvimento de formulações.

Desta forma, as formulações desenvolvidas foram com a própolis verde e *Pereskia aculeata*, sendo empregado o extrato de própolis verde em um gel-creme e o extrato de *Pereskia aculeata* em um base creme Polawax® contra envelhecimento cutâneo. As formulações apresentaram-se estáveis durante o estudo da estabilidade preliminar (21 dias), e dentro dos itens avaliados no controle de qualidade, ou seja, cor branca, odor característico, aspecto homogêneo e pH 6.

O perfil de estabilidade de um produto serve para avaliar o seu desempenho, segurança e eficácia, além de sua aceitação pelo consumidor. Fornece indicações sobre o comportamento do produto, em determinado intervalo de tempo, frente às condições ambientais a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade. Os ensaios organolépticos fornecem parâmetros que permitem avaliar, de imediato, alterações como separação de fases, precipitação e turvação (ANVISA, 2004).

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados mostram um caminho promissor para o uso dos extratos de própolis verde e *Pereskia aculeata*. Sendo assim, ambos os extratos foram empregadas no desenvolvimento de formulações que mantiveram-se estáveis durante o período de análises, quanto aos testes de qualidade realizados.

Desta forma, justifica-se a utilização dos extratos de própolis verde e *Pereskia aculeata* em formulações cosméticas destinadas a prevenção do envelhecimento cutâneo, tendo em vista que nas últimas décadas tem sido observado um crescente interesse no aproveitamento da biodiversidade, particularmente de espécie vegetais, que vêm sendo utilizadas em várias áreas da saúde em programas preventivos e curativos.

REFERÊNCIAS

CANTERLE, L.P. **Erva-Mate e atividade antioxidante**. 2005. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências e Tecnologia Dos Alimentos, Departamento de Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

COSMÉTICOS – Guia de estabilidade de produtos cosméticos: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, p.27, 2004.

CHAVES, M.S.B et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, Teresinha, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

CHORILLI, Marlus; LEONARDI, Gislaine Ricci; SALGADO, Hérica Regina Nunes. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Rev. Bras. Farm.**, Piracicaba, v.3, n.88, p.113-118, 2007.

GUIRRO, E. GUIRRO, R. **Fisioterapia Dermato-Funcional**. Barueri, SP. Manole, 2004.

HIRATA, Lillian Lúcio; SATO, Mayumi Eliza Otsuka; SANTOS, Cid Aimbiré de Moraes. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. **Acta Farm. Bonaerense**, Curitiba, v.23, n.3, p.418-424, jun. 2004.

IHA, Silvia M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocósmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Araraquara, v. 3, n. 18, p.387-393, Jul./set. 2005.

LONGHINI, Renata; RAKSA, Sheila M.; OLIVEIRA, Ana Carla P.; SVIDZINSKI, Terezinha I. E.; FRANCO, Selma L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, p. 388-395. July/Sept. 2007.

MENEZES, Hermes. Própolis: uma revisão dos recentes estudos. **Arq. Inst. Biol**, Rio Claro, v. 72, n. 3, p.405-411. Jul./set. 2005.

ROSA, Sônia Maciel de; SOUZA, Luiz Antonio de. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 25, n. 2, p. 415-428, 2003.

ROQUE, Alessandra et al. Cosmético antienvhecimento: a visão do consumidor. **Jornada de pesquisa e extensão**. Santa Maria, 2009.

SOUSA, Cleyton Marcos de et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, Teresinha, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

SIERAKOWSKI, Maria-Rita; GORIN, Philip A. J.; REICHER, Fany; CORRÊA, João Batista C. Some structure features of a heteropolysaccharide from the leaves of the cactus *Pereskia aculeate*. **Phytochemistry**, v.26 n.6, p.1709-1713, 1987.

TURRA, A. F.; MARÇAL, F. J. B.; BARETTA, I. P.; TAKEMURA, O. S.; LAVERDE-JR, A. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (cactaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan./abr. 2007.