

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES DE SOLUÇÃO EXTRATIVA E EXTRATO SECO *VITEX AGNUS-CASTUS* (VEBENACEAE)

Angélica Gomes Coelho (bolsista do PIBIC/CNPq), Eilika Andréia Feitosa Vasconcelos (colaborador, UFPI), Antônia Maria das Graças Lopes Citó (co-orientador, UFPI), José de Arimatéia Dantas Lopes (Orientador, Depto de Química – UFPI)

Introdução

A espécie *Vitex agnus-castus* (VAC), selecionada para este estudo, age no equilíbrio estrógeno-progesterona através de ações indiretas via glândula pituitária e inúmeros estudos recentes apontam essa espécie vegetal como fonte de fitoestrogênios, agindo, portanto também através de ação direta. Os fitoestrogênios vêm sendo apontados como alternativa na Terapia de Reposição Hormonal (TRH) com a possibilidade de menos efeitos colaterais, motivo pelo qual a TRH tradicional apresenta um alto índice de abandono do tratamento. (ANDRZEJ & DIANA, 2006; JARRY et al, 2006; PRILEPSKAYA et al, 2006).

Na análise dos constituintes ativos de espécies vegetais, a extração realizada a partir da matéria-prima bruta merece muitos cuidados. O termo extração significa retirar, da forma mais seletiva e completa possível, as substâncias ou frações ativas contidas na droga vegetal, utilizando para isso, um líquido ou mistura de líquidos tecnologicamente apropriados e toxicologicamente seguros. O produto resultante dessa extração sólido-líquido é denominado solução extrativa (SIMÕES, 2004).

Uma vez realizado o processo adequado de extração das frações ativas de *Vitex agnus castus*, é de grande interesse a incorporação desse extrato a formulações farmacêuticas adequadas, bem como a avaliação qualiquantitativa dos extratos nas formulações. Tais estudos são necessários para o futuro desenvolvimento tecnológico de fito-hormônio à base de derivados da *Vitex agnus-castus*.

Metodologia

Do material vegetal pesaram-se 100 g e realizou-se análise granulométrica através da passagem forçada através de tamises previamente tarados, com aberturas de malha de 1,2mm, 0,85mm, 0,42mm, 0,25mm e 0,18mm.

No estudo das condições de extração e padronização do método para obtenção das soluções extrativas, seguiram-se as variáveis: métodos de extração (percolação e maceração), líquido extrator (etanol 70°GL e água) e a granulometria do material vegetal (partículas pré-selecionadas de 1,2 mm \geq \varnothing \geq 0,18 mm e partículas de tamanhos não selecionados). Obtiveram-se extratos macerados (M) ou percolados (P), aquosos (A) ou etanólicos (E) e de partículas não selecionadas (MA1, ME1, PA1, PE1) ou selecionadas (MA2, ME2, PA2, PE2). A determinação do resíduo seco na solução foi utilizada como parâmetro de avaliação.

O planejamento fatorial foi utilizado como um tratamento racional para avaliar o efeito de cada fator sobre o resíduo seco da solução extrativa. O delineamento fatorial utilizado foi do tipo 2³, onde foram estudados três fatores (Método de extração, Solvente e Granulometria) em dois níveis (Percolação/Maceração; Álcool/Água; Partículas Selecionadas e não selecionadas).

O creme base das formulações foi produzido por método de inversão de fase na temperatura de 70°C. Em seguida foi incorporado o extrato de *Vitex agnus-castus* (VAC) nas concentrações de 15 mg/g e 30mg/g de VAC e realizada determinação qualitativa do extrato de *Vitex agnus-castus* nas formulações creme (diluídos à concentração de 20 mg.L⁻¹, 30 mg.L⁻¹e 40 mg.L⁻¹ com etanol) por espectrofotometria UV através de leitura direta, sendo os espectros de varredura do extrato determinados na região de 190 a 800 nm, usando etanol como branco. Na construção da curva de calibração do extrato hidroalcoólico, soluções finais de leitura de 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 e 60 mg.L⁻¹ foram preparadas e a absorbância foi determinada em 275 nm, usando etanol como branco.

Resultados e Discussão

Na obtenção de soluções extrativas de *Vitex agnus castus*, a influência dos fatores estudados foi avaliada considerando o resíduo seco (sólidos totais solúveis) na solução, para a otimização do método de extração e as condições do material vegetal a ser empregado.

A análise granulométrica do material vegetal por tamisação demonstrou que as partículas encontram-se predominantemente distribuídas nas classes entre 0,85mm e 0,42mm. Para SIMÕES, 2004, o tamanho da partícula influencia a secagem do material vegetal, que será tanto mais rápida quanto mais dividido estiver o material vegetal, assim como aumenta a área de contato entre o material sólido e o líquido extrator e torna mais eficiente a operação. (SIMÕES, 2004).

Neste trabalho o método de extração por maceração resultou em um maior valor de resíduo seco que o método por percolação. Quanto ao tamanho das partículas a presença de partículas de tamanhos variados (partículas totais) pode ter facilitado a penetração do solvente e o arraste das substâncias solúveis.

Os resultados obtidos para resíduo seco das soluções extrativas após o tratamento do planejamento fatorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a origem dos efeitos e/ou interações (Tabela 1). A análise de variância mostrou-se altamente significativa ao nível de 5% para as causas de variação: método de extração, solvente, granulometria, e as interações: método de extração X solvente, método de extração X granulometria, solvente X granulometria, método de extração X solvente X granulometria.

Tabela 1. Análise de Variância dos teores de resíduo seco dos diferentes extratos.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	5,737341	6	0,95622356	2640,240827	1,5E-20	2,847726
Dentro dos grupos	0,00507	14	0,00036217			
Total	5,742412	20				

Na determinação qualitativa do extrato de *Vitex agnus-castus* nas formulações creme por espectrofotometria UV, em avaliação comparativa, os espectros das soluções do extrato e da

formulação mostraram que houve uma sobreposição das curvas, conforme mostrado na figura 9. A absorbância determinada foi de 275nm, que é a área de absorção dos compostos polifenólicos.

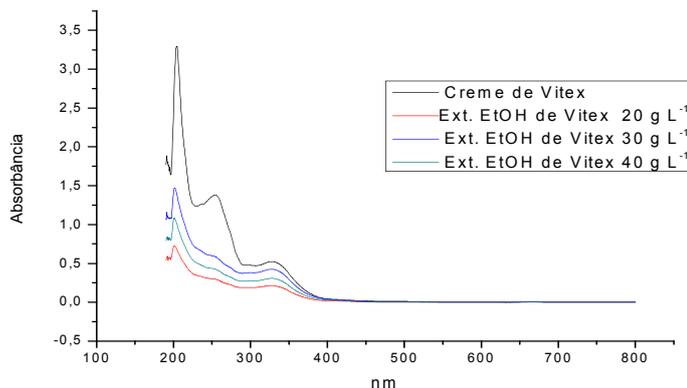


Figura 1: Espectro de Absorção no UV/Visível do extrato hidroalcoólico de *Vitex agnus-castus* e creme com 15mg/g de extrato seco de *Vitex agnus-castus*.

Com o desenvolvimento da curva de calibração do Extrato Hidroalcoólico de *Vitex agnus-castus*, o coeficiente de regressão calculado foi de 0,998, indicando que 99,8% dos valores obtidos são explicados pela equação proposta. Com isto mostramos que o método de determinação direta obedece à linearidade. A curva de calibração do extrato hidroalcoólico mostra que as leituras obedecem a Lei de Lambert Beer, onde aumentando a concentração do extrato tem-se uma maior absorbância.

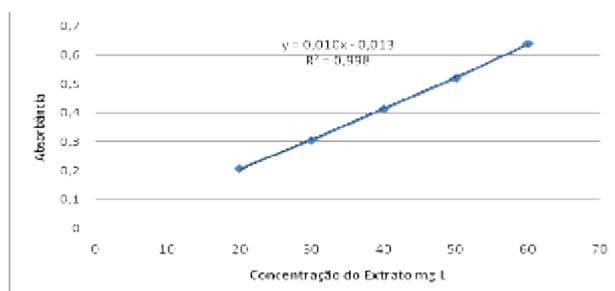


Figura 2: Curva de calibração do extrato, através de leitura em 275 nm. ($Y = 0,010x - 0,013$).

Conclusão

O solvente hidroalcoólico utilizado proporcionou uma maior eficiência do processo extrativo independente do método, sendo a maceração o método de extração mais eficiente. No método de quantificação dos constituintes químicos de interesse, foi identificado o comprimento de onda de leitura de 275 nm.

Apoio: PIBIC/UFPI; CNPQ

Referências Bibliográficas

- JARRY, H., et al. *First evidence for estrogenic compounds in Vitex agnus castus: effects on in vitro teroid secretion from human granulosa and porcine luteal cells*. J Menopause. Vol. 7, (Suppl.4), 2003.
- PRILEPSKAYA, V.N., et al. *Vitex agnus castus : Successful treatment of moderate to severe premenstrual syndrome*. Maturitas. Vol. 55, p. 55-63, 2006.
- SIMÕES, C. M. O., et al. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 5ed. Porto Alegre: Editora da UFRS, 2004.

Palavras Chave: *Vitex agnus castus*. Extração. Espectrofotometria