

## ELABORAÇÃO DE MICROEMULSÃO DA PLANTA MAYTENUS RÍGIDA COM ATIVIDADE ANTIMICÓTICA

**Mayara dos Santos Tavares**

Graduanda em Alimentos no Instituto Federal de Sergipe. E-mail: mayara.mc.ilsinho@hotmail.com

**Igor Adriano de Oliveira Reis**

Doutor em Engenharia de Processos e Professor do Instituto Federal de Sergipe. E-mail: guigo-aju@hotmail.com

**Samuel Bruno dos Santos**

Doutor em Biotecnologia e Professor da Universidade Federal de Sergipe. E-mail: samuelbruno@gmail.com

**Resumo:** As Plantas são utilizadas pela medicina popular há muito tempo com a finalidade de tratamento e prevenção e diversas doenças. Diante disto, o presente trabalho tem por objetivo produzir as microemulsões e a preparação dos extratos, com a finalidade de encontrar atividade antimicótica. Os materiais e métodos desenvolvidos foram preparo e fracionamento do extrato hidroetanólico da entrecasca da *m. rígida*. A entrecasca (2,3 kg) foi seca em estufa, a 37° C, com renovação e circulação de ar até peso constante. Logo após, foram reduzidas a pó utilizando-se um moinho de facas.. Uma parte deste extrato (250 g) foi dissolvida em uma solução de meoh/h<sub>2</sub>o (2:3) e submetida à extração líquido- líquido com hexano, clorofórmio e acetato de etila, visando à aquisição das frações hexânica – fhx, clorofórmica , acetato de etila – face e hidrometanólica – fhm. Em todas as concentrações testadas 30, 100 e 300 µg.mL<sup>-1</sup> em comparação às células não tratadas, às quais funcionaram como controles. Todas as amostras aqui a maior viabilidade foi observada no tratamento com FC que com a menor concentração de 10 µg.mL<sup>-1</sup> que alcançou o valor de 103,89% ± 5,68 e nessa mesma fração observamos o menor resultado com a concentração 300µg.mL<sup>-1</sup> que alcançou o valor de 78,33% ± 3,22, mas como a fração de melhor atividade antimicrobiana foi a FHX que não apresentou variação significativa, Concluímos diante dos resultados obtidos neste estudo, serão necessários, posteriormente, o aprofundamento de estudos químicos com extratos e frações.

**Palavras-chave:** Extração. Fração. Microemulsão.

### INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas pela medicina popular há muito tempo com a finalidade de tratamento e prevenção de diversas doenças, tornando-se um recurso terapêutico importante para grande parte da população (REINALDO et al., 2015).

Vale ressaltar que o interesse das plantas como recurso terapêutico está além do intuito de desenvolver medicamentos fitoterápicos, relacionando-se também ao ato de registrar o material vegetal de acordo com sua utilização dentro de uma comunidade, sua função no contexto da medicina tradicional, bem como a incorporação do material na rede de saúde pública, principalmente na atenção primária à saúde no setor do Sistema Único de Saúde - SUS (BITTENCOURT et al., 2002; PIRES et al., 2014).

A forma de retirada e obtenção dos compostos presentes nas matrizes das células vegetais é através dos métodos extrativos. O

objetivo do trabalho foi a produção de microemulsão com ação antimicrobiana do extrato da entrecasca da planta *Maytenus Rigida*, com a intenção de confirmar o potencial curativo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### O preparo e o fracionamento do Extrato Hidroetanólico da Entrecasca da *M. Rigida*.

A entrecasca (2,3 kg) foi seca em estufa, a 37° C, com renovação e circulação de ar até peso constante e sua umidade final não foi verificada. Logo após, foi reduzida a pó, utilizando-se um moinho de facas, o qual executa a moagem de amostras secas através de um motor potente responsável por movimentar as lâminas de facas que irão atuar dentro de uma câmara para atingir granulometrias menores. Posteriormente, submetida à extração em etanol 90% durante 5 dias na temperatura ambiente em recipiente fechado. Em seguida, o extrato foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida a 50° C, para eliminação do solvente e obtenção de Extrato Hidroetanólico da Entrecasca – EHEE.

Uma parte deste extrato (250 g) foi dissolvida em uma solução de Metanol - MeOH/H<sub>2</sub>O (2:3) e submetida à extração líquido-líquido com Hexano, Clorofórmio e Acetato de Etila, visando à aquisição das Frações Hexânica – FHX, Clorofórmica – FC, Acetato de Etila – FACE e Hidrometanólica – FHM, Extrato Hidroetanólico da Entrecasca – EHEE, das Frações Clorofórmica - FC, Frações Hexânica – FHX, Acetato de Etila - FACE e Hidrometanólica – FHM

respectivamente (10,00%; 14,08%; 4,72%; 22,28% e 19,44%).

### Análise de citotoxicidade *in vitro*

Os macrófagos (J774) foram cultivados em meio RMPI 10%, suplementado com SFB (Soro Fetal Bovino) que é um suplemento para meios de cultura celular e que contém uma grande quantidade de componentes como ácidos graxos, fatores de crescimento, aminoácidos e vitaminas. Seus componentes tem a finalidade de promover o crescimento das células. Foi colocado em câmara úmida a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> e a viabilidade das células J774 (2 x 10<sup>4</sup> células) foi avaliada em triplicata após 24 h de exposição contínua ao EHEE FAE, FC, FHX e FHM da *M. Rigida* e medida através do ensaio colorimétrico de redução do MTT a *formazan*, conforme (MOSMANN, 1983).

### PREPARO DAS MICROEMULSÕES

A FHX proveniente do EHEE da *M. Rigida* foi selecionada para produção de microemulsão, dado a riqueza de terpenos, flavonoide, flavonóis, taninos e xantonas presente nela. Esses metabolitos apresentam atividades biológicas e essa fração foi a que apresentou melhor resultado da atividade antimicrobiana (MARTUCCIELLO et al., 2010). Para a seleção da formulação da microemulsão, primeiro ponto foi escolher, em termos de transparência, homogeneidade e isotropia óptica. Essa escolha mostrou uma formulação que tem como primeira fase uma solução de tampão fosfato pH 7,4 (68,0%), e como a segunda Tween 80 (12,3%) e ácido oleico (19,7%).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

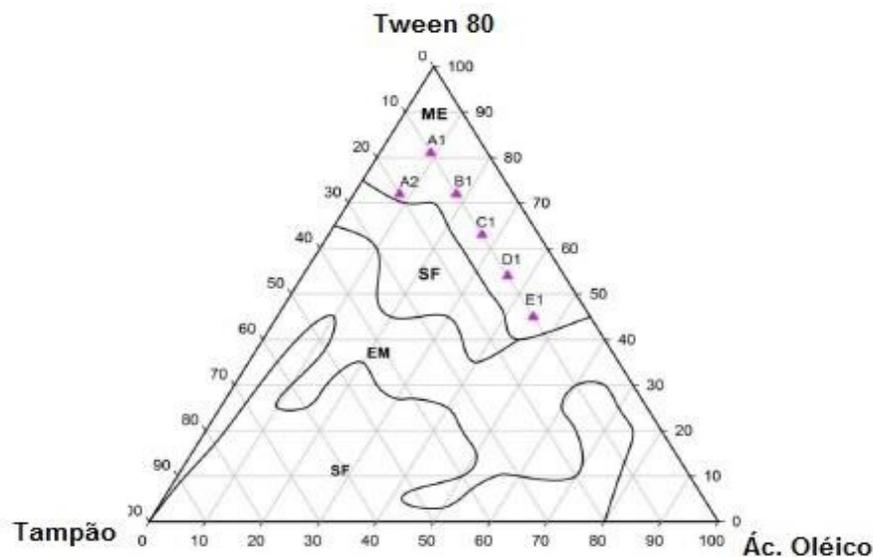
Compostos com atividade antimicrobiana com efeitos adversos menos graves que os atuais fármacos são ativamente procurados, principalmente aqueles compostos com um espectro de atividade complementar aos quimioterápicos já existentes. O método para análise antimicrobiana utilizado foi o da

difusão. Após o tempo de incubação, mede-se o diâmetro ou halo de inibição, a informação obtida é qualitativa, útil para estabelecer a sensibilidade do microrganismo (SANTOS et al., 2011).

### SISTEMAS NANOESTRUTURADOS -MICROEMULSÕES (ME)

#### Obtenção das Formulações - ME

Figura 1 - Diagrama Ternário Tampão, Tween 80 e Ác. Oleico



Fonte: OLIVEIRA et al., 2004.

Como demonstra a Figura 1, o diagrama de fase ternário (Tween80, solução tampão fosfato e ácido oleico, 85%, 5% e 10%, respectivamente) na formulação do ponto B1 localizado na fase do gráfico pertencente área identificada como microemulsão, por apresentar melhor solubilidade ao extrato, elegeu-se como ponto de trabalho para a área de microemulsão. Neste estudo foram produzidas e caracterizadas duas formulações: ME, 20 ml e MFHX 10%, 20 ml, para serem testadas em atividades biológicas.

### CARACTERIZAÇÃO DAS MES

#### Tamanho de Gotículas, pH, Índice de Polidispersividade e Potencial Zeta

A análise do tamanho das gotículas é feita para verificar se as formulações apresentam tamanho manométrico, facilitando a incorporação de moléculas e a perfusão e dispersão no tecido alvo. Quanto ao tamanho de gotícula, pode-se observar que ME e MHX 10% apresentaram diâmetro 20,29 e 18,33 nm respectivamente, enquadrando-se nos limites estabelecidos para dihidrojasmonato,

do tipo óleo/água, similar às do presente estudo, obtiveram gotículas de 47,7 a 181,1 nm para as microemulsões sem a presença do

metil dihidrojasmonato e àquelas com esta substância incorporada, 11,6 a 82,2 nm.

**Tabela 1** - Parâmetros físico-químicos das formulações microemulsão veículo (MV), microemulsão fração hexânica da entrecasca da *M. rigida* 10% (MHX 10%).

FORMULAÇÃO	TAMANHO DE GOTÍCULA (nm)	Ph	IPD	PZ (mV)
MV	20,29	5,72 ± 0,24 <sup>a</sup>	0,25	-15,1
MHX 10%	18,33	5,50 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,12	ND

**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Com relação ao pH, as formulações acima descritas apresentaram caráter levemente ácido (Tabela 1), ideal para aplicação tópica, dado que o pH da pele oscila entre 4,6–5,8, condição importante para proteção bactericida e fungicida em sua superfície (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002).

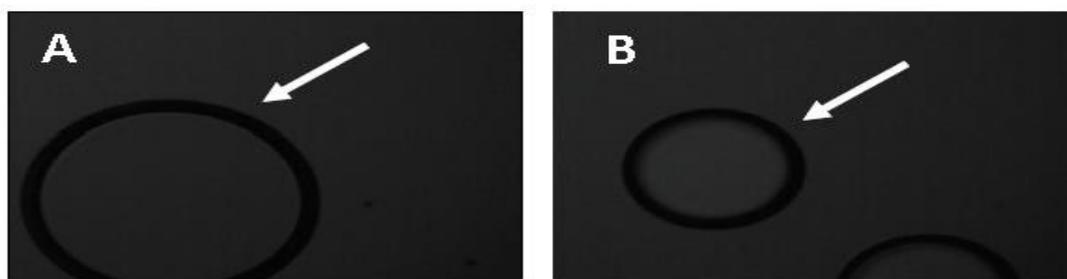
Estatisticamente, nenhuma delas apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ),

entre si em relação a este parâmetro.

### Microscopia de Luz Polarizada – MLP

Conforme a MLP, as formulações ME e MHX 10%, do tipo óleo/água são características de microemulsão, haja vista a presença de campo escuro (CARVALHO *et al.*, 2009), confirmadas pela presença de bolhas, como demonstrado na Figura 2.

**Figura 2** - Fotomicrografias, tiradas com aumento de 100x, representativas de comportamento isotrópico (campo escuro) obtidas das formulações A – Ensaio (tensoativo tween 80, ácido oleico: água), microemulsão veículo (MV), B – Ensaio (tensoativo tween 80, ácido oleico: água) + fração hexânica a 10% da *M. rigida*. A (s) seta (s) indica (m) a presença de bolha (s) de ar para comprovar o campo escuro.



**Fonte:** Elaborado pelos autores.

Desse modo, nenhuma delas apresentou desvio ou vibração da luz polarizada. Todas demonstraram as mesmas propriedades ópticas em todas as direções, configurando-se, assim, como estruturas isotrópicas

(HYDE, 2001; PRIMORAC; JOCKVIC, 2011).

### CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste

estudo, serão necessários, posteriormente, o aprofundamento de estudos químicos com extratos e frações da entrecasca para se conhecer, de forma amíúde, seu potencial químico, bem como testar os compostos isolados.

## REFERÊNCIAS

BITTENCOURT, S. C.; CAPONI, S.; FALKENBERG, M. B. O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com uso popular. **Rev Bras Farmacognos**, v. 12, p. 89-91, 2002.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não de vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **An Bras Dermatol.**, v. 77, p. 563-569.

MARTUCCIELLO, S.; BALESTRIERI, M. L.; FELICE, F.; ESTAVAM, C. S.; SANT'ANA, A. E. G.; PIZZA, C.; PIACENTE, S. Effects of triterpene derivatives from *Maytenus rigida* on VEGF-induced Kaposi's sarcoma cell proliferation. **Chem-Biol Interact**, v. 183, p. 450-454, 2010.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Method.**, v.65. p. 55- 63, 1983.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27 (1), p. 131-138, 2004.

PIRES, I. F. B.; SOUZA, A. A.; FEITOSA, M. H. A.; COSTA, S. M. Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Rev Bras Pl Med**, v. 16, n. 2, p. 426-433, 2014.

REINALDO, R. C. P. S.; SANTIAGO, A. C. P.; MEDEIROS, P. M.; ALBUQUERQUE, U. P. Do ferns and lycophytes function as medicinal plants? A study of their low representation in tradicional pharmacopoeias. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 175, p. 39-47, 2015.

SANTOS, V.L.; SOUZA, M.F.V.; BATISTA, L. M.; SILVA, B. A.; LIMA, M. S.; SOUZA, A. M. F.; BARBOSA, F. C.; CATAO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Rev Bras Pl Med**, v.13, n.1, p.68-72, 2011.

## AGRADECIMENTO

Gostaria de agradecer a PROPEX por todo custeio financeiro com a bolsa do PIBITI.