

ELABORAÇÃO DE MICROEMULSÃO DA PLANTA MAYTENUS RÍGIDA COM ATIVIDADE ANTIMICÓTICA

Mayara dos Santos Tavares
mayara.mc.ilsinho@hotmail.com

Igor Adriano de Oliveira Reis
guigo-aju@hotmail.com

Samuel Bruno dos Santos
samuelbruno@gmail.com

Resumo: As Plantas são utilizadas pela medicina popular há muito tempo com a finalidade de tratamento e prevenção e diversas doenças. (Reinaldo Et Al., 2015). Diante disto, o presente trabalho tem por objetivo produzir as micro emulsões 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/h₂o (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⁻¹ 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⁻¹ que alcançou o valor de 103,89% ± 5,68 e nessa mesma fração observamos o menor resultado com a concentração 300 µg.mL⁻¹ 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; Micro-emulsão.

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 destes compostos presentes nas matrizes das células vegetais é através dos métodos extrativos. O objetivo do trabalho foi a produção de microemulsão com ação antimicótica do extrato da entrecasca da planta *Maytenus Rígida*, com a intenção de confirmar o potencial curativo.

MATERIAL E MÉTODOS

O preparo e o 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 e sua umidade final não foi verificada. Logo após, foram reduzidas a pó utilizando-se um moinho de facas, que 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, submetidas 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/H₂O (2:3) e submetida à extração líquido-líquido com Hexano, Clorofórmio e Acetato de Etíla, visando à aquisição das Frações Hexânica – FHX, Clorofórmica – FC, Acetato de Etíla – FACE e Hidrometanólica – FHM. Extrato Hidroetanólico da Entrecasca – EHEE, das Frações Clorofórmica FC, Frações Hexânica – FHX, Acetato de EtílaFACE 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, 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 CO₂ e a viabilidade das células J774 (2 x 10⁴ células) foi avaliada em triplicata após 24 h de exposição contínua ao EHEE FAE, FC, FHX e FHM da *M. Rígida* e medida através do ensaio colorimétrico de redução do MTT a formazan, conforme (MOSMANN,1983).

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, 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 CO₂ e a viabilidade das células J774 (2 x 10⁴ células) foi avaliada em triplicata após 24 h de exposição contínua ao EHEE FAE, FC, FHX e FHM da *M. Rígida* 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. Rígida* foi selecionada para produção de microemulsão, dado a riqueza de terpenos, flavonoide, flavonóis, taninos e xantonas presente nela, esses metabolitos apresentam atividades biológicas, 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

Como demonstra a figura 1 o diagrama de fase ternário (Teewn80, 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, elegendo como ponto de trabalho para 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 também facilita 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 18,33nm 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.

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 et al, 2002).

Estatisticamente, nenhuma delas apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), entre si, em relação a este parâmetro.

Microscopia deLuz 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. 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; DJEKIC; PRIMORAC; JOCKOVIC, 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 amíude, seu potencial químico, bem como testar os compostos isolados. E esse trabalho já foi publicado em revista.

REFERÊNCIAS

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.

MOLINARI, G. Natural Products in Drug Discovery: Present Status and Perspectives. Pharmaceutical Biotechnology – Advances in Experimental Medicine and Biology. v. 655, p. 13-27, 2009.

REINALDO, R. C. P. S. et al. Do ferns and lycophytes function as medicinal plants? A study of their low representation in traditional pharmacopoeias. Journal of Ethnopharmacology. v. 175, p.39-47, 2015.

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.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Method., v.65. p. 55- 63,198

AGRADECIMENTO

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

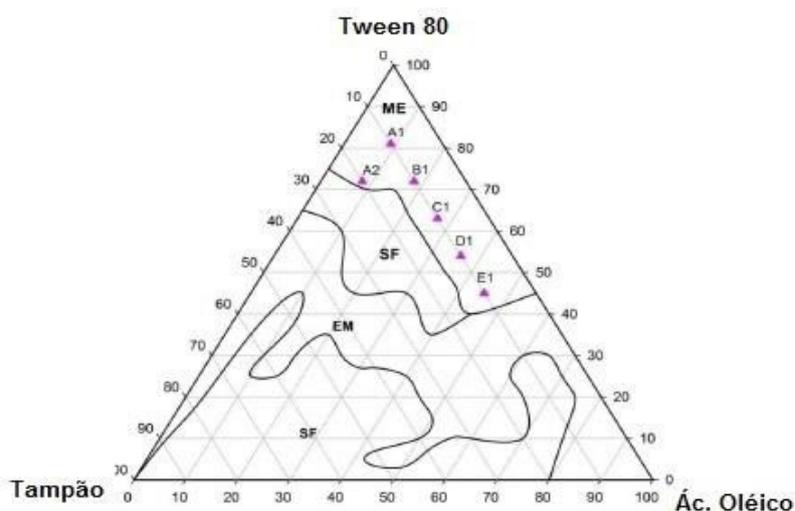


Figura 1 - Diagrama Ternário Tampão, Tween 80 e Ác. Oleico.

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

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

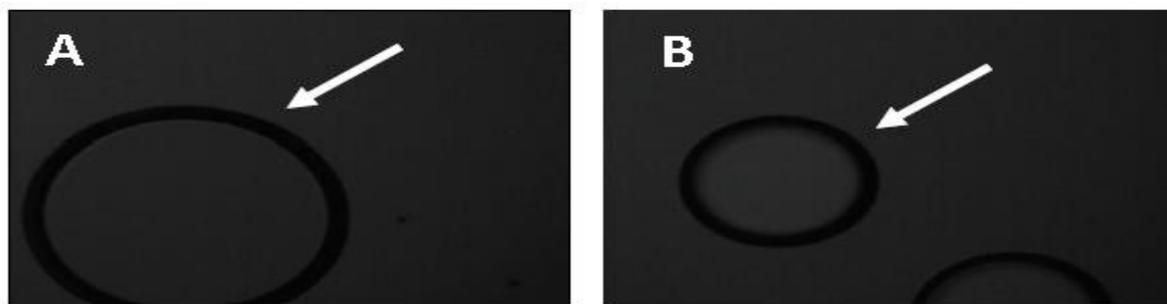


Figura 2 - Fotomicrografias, tiradas com aumento de 100x, representativas de comportamento isotrópico (campo escuro) obtidas das formulações A – Ensaio (tensoativo tween 80, ácido oleico: água), microemulsão veículo (MV), B – Ensaio (tensoativo tween 80, ácido oleico: água) + fração hexânica a 10% da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