

PRODUÇÃO DE EXTRATOS DE *Maytenus ilicifolia* COM ESTABILIDADE PROLONGADA

VÍTOR HENRIQUE MENDES RAMOS¹, LETÍCIA DE SOUZA MATIAS²,
FERNANDA DOS ANJOS³, JULLYE GAVIOLI⁴, ALANA PATRÍCIA DA SILVA⁵,
GIANE ENGEL MONTAGNER⁶, GILNEI BRUNO DA SILVA⁷, DAIANE MANICA⁸,
PATRÍCIA GOMES⁹, MARGARETE DULCE BAGATINI¹⁰

Introdução

A *Maytenus ilicifolia*, pertencente à família Celastraceae, é uma planta nativa da região sul do Brasil, conhecida popularmente como espinheira-santa, maiteno, cancerosa, cancorosa, cancorosa-de-sete-espinhos, salva-vidas, coromilho-do-campo, espinho-de-deus. É popularmente utilizada em chás a partir de suas folhas, cascas e raízes, sendo descrita na literatura com potencial ação medicinal como analgésica, anti-inflamatória, antitumoral, antiulcerosa e antioxidante (Kasse *et al.*, 2008; Oliveira, Cunha, Colaço, 2009; Almeida *et al.*, 2015).

Nesse contexto, diversos estudos científicos têm relatado atividade imunomoduladora e antiproliferativa de extratos vegetais em diferentes linhagens de células cancerígenas. Extratos ricos em compostos bioativos, especialmente os compostos fenólicos, podem ajudar a reduzir várias doenças devido à capacidade antioxidante (Corazza *et al.*, 2018; Stefanello *et al.*, 2019; De Souza, 2021).

Em contrapartida, a farmacocinética e a biodisponibilidade de alguns fitoquímicos limitam as pesquisas. Nesse sentido, a nanotecnologia representa uma estratégia promissora

¹Acadêmico do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC, Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas, vitor.ramos@estudante.uffs.edu.br

²Acadêmica do curso de Enfermagem, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

³Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

⁴Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

⁵Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

⁶Mestra em Nanociências, Universidade Franciscana, campus Santa Maria-RS

⁷Mestre em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

⁸Mestra em Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Santa Catarina, campus Florianópolis-SC

⁹Doutora em Ciências Farmacêuticas, Universidade Franciscana, campus Santa Maria-RS

¹⁰Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó-SC

para proteger os fitoquímicos sensíveis à degradação, melhorar a biodisponibilidade, eficácia, estabilidade e seletividade dos princípios ativos.

Objetivos

O objetivo deste estudo foi ampliar o potencial terapêutico de extratos naturais utilizando o nanoencapsulamento, uma técnica que tem revolucionado diversas áreas da saúde, e que consiste no aprisionamento de moléculas, resultando em cápsulas biodegradáveis, de tamanho nanométrico.

Metodologia

Os extratos de *M. ilicifolia* foram obtidos por uma sequência de etapas.

Primeiramente, foi feita a preparação do extrato hexânico: ele foi obtido pelo extrator Soxhlet (Marconi, modelo MA-487/8, Brasil) e utilizou-se o hexano como solvente. A temperatura do sistema foi ajustada de acordo com a ebulição do solvente, mantendo um gotejamento constante sobre a amostra nos cartuchos de celulose. O tempo de extração foi de aproximadamente sete horas. Após a extração, o solvente foi removido em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até obter massa constante.

As nanoemulsões foram desenvolvidas pelo método de alta energia, sem o uso de solventes orgânicos e com controle de temperatura, descrito por Giongo *et al.* (2017). O extrato de espinheira-santa foi diluído em uma mistura de triglicerídeos cáprico/caprílico (TCM) e, após, foi adicionado monooleato de sorbitano (Span 80[®]), sendo essa a fase oleosa da nanoemulsão. As formulações foram obtidas (n=3) após injeção da fase oleosa na fase aquosa (polissorbato 80 (Tween 80[®]) e água ultrapura) sob alta agitação empregando um (Ultra-Turrax[®] T18, IKA[®], Alemanha) a 10.000 rpm. Após a agitação, foi aumentada para 17.000 rpm e mantida por 45 minutos. Durante o processo de obtenção das nanoemulsões foi realizado um controle de temperatura (banho de gelo), com a finalidade de prevenir a ocorrência da volatilização e/ou degradação dos constituintes. Para comparação, formulações em branco foram preparadas (n=3), sem a utilização do extrato de espinheira-santa. Todas as formulações foram preparadas em triplicata e armazenadas sob proteção da luz.

As determinações de pH foram realizadas em triplicata, utilizando o potenciômetro (Denver Instrument[®]) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. Os resultados

foram expressos a partir de três leituras diferentes das nanoemulsões. O diâmetro médio das partículas e o índice de polidispersidade das nanoemulsões foram determinados por dispersão dinâmica de luz no Zetasizer® Nano-ZS modelo ZEN 3600 (Malvern, Inglaterra). As formulações foram diluídas 500 vezes (v/v) em água filtrada ultrapura utilizando uma seringa e uma membrana com porosidade de 0,22 µm de diâmetro de Millipore®, a fim de serem opticamente transparentes e evitar a atenuação do feixe de laser pelas partículas, juntamente com a redução da luz espalhada que pode ser detectada (Mir-Palomo *et al.*, 2016). Os resultados do diâmetro médio foram expressos em nanômetros (nm) e analisados por meio da leitura média de três repetições.

O potencial zeta das formulações foi obtido pelo método de mobilidade eletroforética utilizando o equipamento Zetasizer® Nano-ZS modelo ZEN 3600 (Malvern, Inglaterra). As formulações foram diluídas 500 vezes (v/v) em solução de cloreto de sódio na concentração de 10 mmol L⁻¹. Os resultados foram expressos em milivolts (mV) através da leitura média de três repetições. Os resultados obtidos foram expressos com média e desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas por análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste complementar *Dunnett*, considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Os dados foram gerados através do *software GraphPad Prism 8*.

Resultados e discussão

Após a preparação da nanoemulsão, a estabilidade foi avaliada pelo período de 60 dias, por meio da análise de características de tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial de hidrogênio (pH) e potencial zeta. A análise foi aplicada para a nanoemulsão sem ativo e a nanoemulsão com extrato hexânico de *M. ilicifolia*. Não foi observada diferença de coloração na nanoemulsão sem ativo durante a avaliação de 60 dias, independentemente das suas técnicas de armazenamento.

O pH da nanoemulsão no tempo inicial foi de $5,50 \pm 0,06$ e manteve-se ácido. Sob refrigeração (4 ± 2 °C), houve aumento significativo do pH nos períodos de 15 a 60 dias. Na temperatura ambiente (25 ± 2 °C), houve redução significativa do pH em 45 e 60 dias, e quando a amostra foi submetida à câmara climática (40 °C + 75% UR) houve queda significativa e consecutivas do pH após 7 dias.

Em relação ao índice de polidispersão (PDI), em temperatura ambiente, observou-se

um aumento significativo em 30 e 60 dias; o comportamento do PDI em câmara climática foi semelhante ao aumento significativo em 45 e 60 dias.

O diâmetro médio da partícula (DP) no tempo inicial foi de $127,3 \pm 9,65$ com aumento significativo apenas em câmara climática com 30, 45 e 60 dias. Esse comportamento também foi observado na análise do potencial zeta, com aumento significativo da negatividade em câmara climática nos períodos de 15, 30, 45 e 60 dias.

A estabilidade foi avaliada de forma semelhante para a nanoemulsão com ativo. A formulação avaliada revela um processo de alteração de cor ao longo do tempo. A coloração amarela esverdeada e o odor mantiveram-se homogêneos pelo período de 60 dias em refrigeração e temperatura ambiente. Em câmara climática após 30 dias, houve perda da coloração e modificação para odor leve de ranço.

Os diâmetros médios das partículas foram cerca de 142 nm. As amostras apresentaram baixa índice de polidispersidade, que demonstra boa homogeneidade do sistema. O resultado do potencial zeta foi negativo em torno de $-6,7$ mV e o pH ácido de aproximadamente 5,8.

O pH da nanoemulsão na temperatura ambiente não teve variação significativa. Sob refrigeração (4 ± 2 °C), verificou-se aumento do pH nos períodos de 15 a 60 dias. Na câmara climática (40 °C + 75% UR), houve queda do pH em 7, 30, 45 e 60 dias.

A análise do PDI, em refrigeração e em temperatura ambiente, teve baixa variação, sendo na câmara climática registrado variação em 30, 45 e 60 dias.

O diâmetro médio da partícula no tempo inicial foi de $142,9 \pm 7,42$, e o valor manteve-se homogêneo pelo período de 60 dias com aumento significativo apenas em câmara climática registrado em 45 e 60 dias.

Esse comportamento também foi observado na análise do potencial zeta, com aumento significativo da negatividade em refrigeração 45 dias e câmara climática 60 dias.

Conclusão

A *M. ilicifolia* foi escolhida, pois seus constituintes são altamente oxidantes, os quais degradam-se rapidamente e reagem constantemente com o meio. Portanto, ao encapsular um composto, garante-se maior estabilidade e seletividade dos princípios ativos cujos resultados são esperados.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, C. *et al.* Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.): Saber de erva e feirantes em Pelotas (RS). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 722–729, 2015.

CORAZZA, G. O. *et al.* Pressurized liquid extraction of polyphenols from Goldenberry: Influence on antioxidant activity and chemical composition. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 112, p. 63–68, 2018.

DE SOUZA, N. E. J.; STAMM, B. Práticas Integrativas e Complementares no Tratamento do Câncer Sob a Perspectiva do Enfermeiro: Revisão Integrativa. **Revista Espaço Ciência & Saúde**, v. 9, n. 2, p. 70-83, 2021.

GIONGO, Janice Luehring *et al.* Anti-inflammatory effect of geranium nanoemulsion macrophages induced with soluble protein of *Candida albicans*. **Microbial pathogenesis**, v. 110, p. 694-702, 2017.

KASSE, C. A. *et al.* O uso de *Maytenus ilicifolia* na prevenção da ototoxicidade induzida pela cisplatina. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 74, n. 5, p. 712–717, 2008.

MIR-PALOMO, Silvia *et al.* Inhibition of skin inflammation by baicalin ultradeformable vesicles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 511, n. 1, p. 23-29, 2016.

OLIVEIRA, R. S.; CUNHA, S. C.; COLAÇO, W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2B, p. 650–659, 2009.

STEFANELLO, N. *et al.* Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], vol. 123, no. September 2018, p. 298–313, 2019.

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*; Nanoencapsulamento; Estabilidade Prolongada.

Número de registro no sistema Prisma: PES 2023-0399.

Financiamento: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).