

Estudo fitoquímico de *Pterodon pubescens* Benth e *Cordia verbenacea* DC sob perspectiva farmacológica

Palavras-Chave: Fitoterápicos, tecnologia farmacêutica, formulações tópicas

Autoras:

Ana Beatriz Alves Bomfim dos Santos, FCF-UNICAMP
Ma. Ana Clara Brito Maria (coorientadora), FCF-UNICAMP
Prof^a. Dra. Mary Ann Foglio (orientadora), FCF-UNICAMP

1 INTRODUÇÃO:

Os produtos naturais desempenham um papel relevante no desenvolvimento de novos medicamentos, representando uma fonte rica em compostos bioativos com propriedades farmacológicas promissoras (NEWMAN & CRAGG, 2020). Entre os recursos vegetais explorados, destacam-se *Pterodon pubescens* Benth, popularmente conhecida como sucupira, e *Cordia verbenacea* DC, conhecida como erva-baleeira, ambas nativas do Brasil e tradicionalmente utilizadas na medicina popular para o tratamento de processos inflamatórios, dores reumáticas e outras afecções (LORENZI, 2008, HOSCHEID; CARDOSO, 2015).

A literatura científica demonstra que o extrato etanólico de sementes de *P. pubescens* possui atividades anti-inflamatória, antinociceptiva, antiartrítica e citotóxica, com destaque para os diterpenos do tipo vouacapano como principais responsáveis pelos efeitos biológicos (SPINDOLA et al, 2010 e 2011). Já o óleo essencial de *C. verbenacea*, rico em sesquiterpenos como α -humuleno e trans-cariofileno, apresenta efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e antiulcerogênicos (BASTING et al, 2019).

Estudos realizados pelo grupo de pesquisa da Dra. Mary Ann Foglio mostrou o efeito sinérgico nas atividades anti-inflamatória e antinociceptiva através da associação entre as espécies *P. pubescens* e *C. verbenacea* (BASTING et al, 2019). Dessa forma, este projeto teve como objetivo a extração, caracterização química e incorporação dos extratos de *P. pubescens* e *C. verbenacea* em formulações semissólidas, avaliando sua estabilidade físico-química e compatibilidade para uso tópico.

2 METODOLOGIA:

2.1. Coleta dos Materiais Vegetais

Os frutos de *P. pubescens* foram coletados no município de Ponto Chique, no estado de Minas Gerais/Brasil. As folhas de *C. verbenacea* foram coletadas no Campo Experimental do Centro Multidisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), no estado de São Paulo/Brasil. Ambos os materiais foram registrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob o número AD278EC.

2.2. Obtenção dos Extrato de *P. pubescens*

Para a obtenção do extrato, os frutos de *P. pubescens* foram triturados em Liquidificador de Inox de Alta Rotação e submetidos a três extrações sucessivas com etanol, de 1h30min cada, sob agitação

em agitador mecânico. Feito isso, o extrato foi filtrado, evaporado sob vácuo em evaporador rotatório e armazenado em temperatura ambiente (HOSCHEID et al., 2013).

2.3. Obtenção do Óleo Essencial de *C. verbenacea*

As folhas de *C. verbenacea* (OECV) foram submetidas à hidrodestilação em aparato do Clevenger por 2 horas (PASSOS et al., 2007). O óleo essencial foi armazenado em microtubo de centrifuga e mantido sob refrigeração.

2.4. Caracterização Química

A Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi utilizada para verificação do perfil químico do OE e do extrato de *P. pubescens*, assim como para a comparação dos padrões de voucapanos com o extrato obtido. O extrato de *P. pubescens* foi analisado pelo sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de massas de Alta Resolução (CLAE-EM-AR).

2.5. Desenvolvimento de Formulações

EPP e OECV foram incorporados, em associação, em bases semissólidas de gel, creme e gel-creme. O creme foi produzido utilizando uma mistura de emolientes e surfactantes com base na formulação do creme não-iônico disponível no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2012), conforme a Tabela 1. Para o preparo do creme, as fases oleosas e aquosa foram aquecidas até a temperatura de 75°C. Em seguida, a fase aquosa foi adicionada sob a fase oleosa em um agitador mecânico até a temperatura de 40°C (BRASIL,2012).

Componentes	Quantidade
Fase oleosa:	
Cera autoemulsionte não iônica	15g
Butil-hidroxitolueno	0,05g
Dimeticona	2,0g
Estearato de octila	2,0g
Fase aquosa:	
Água purificada	Q.s.p 100g
EDTA	0,1g
Solução conservantes de parabenos (metilparabeno, propilparabeno e propilenoglicol)	3,3g

Tabela 1- Composição do creme não iônico

Para o preparo das formulações em gel, foram utilizados agentes gelificantes não iônicos e aniônicos. Inicialmente, avaliou-se o gel não iônico contendo Natrosol® e a associação entre o OECV e o EPP. Para a formulação desse gel, 3g de hidroxietilcelulose foram adicionados juntamente a 5g de propilenoglicol, 0,15g de metil parabeno e ,30g de imidazolidinilureia. Após, foram adicionadas 91,55g de água destilada pré-aquecida a 50°C, seguido por agitação continua até a formação do gel (GIAROLA et al., 2021). OECV e EPP foram incorporados sob agitação manual no gel após atingir a temperatura ambiente. De forma similar, o OE e o extrato foram incorporados a uma base aniônica de Carbopol® obtida comercialmente.

O gel-creme foi preparado utilizando uma mistura de emolientes e surfactantes com base na formulação realizada por Takayama et al. (2022), com algumas modificações, conforme a Tabela 2. Para o preparo dessa formulação, as fases oleosa e aquosa foram aquecidas até a temperatura de 75°C. Em seguida, a fase aquosa foi adicionada sob a fase oleosa em um agitador mecânico até a temperatura de

40°C. Com isso, o Natrosol® e a água foram aquecidos até a gelificação. Após, a base em gel e a emulsão foram aquecidos e incorporados sob agitação constante.

Componentes	Quantidade
Fase oleosa:	
Álcool cetosteárilico	1,2g
Ceteareth-20	0,8g
Triglicerídeo caprílico	3,0g
Fase aquosa:	
Água purificada	Q.s.p 100g
Propilenoglicol	5,0g
Solução conservantes de parabenos (metilparabeno, propilparabeno e propilenoglicol)	0,8g
Agente Gelificante:	
Natrosol®	1,5g

Tabela 2- Composição do gel-creme base

As formulações foram avaliadas quanto à estabilidade através de teste de centrifugação e medição do pH. Para a centrifugação, foi utilizada a centrífuga refrigerada Solab SL-701 e as amostras foram avaliadas à temperatura ambiente.

Para determinar o valor de pH das formulações desenvolvidas, foi utilizado o pHmetro Q400AS e eletrodo próprio para formulações semissólidas. As amostras foram avaliadas à temperatura ambiente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Extrato de *P. pubescens*

O EPP apresentou odor característico, alta viscosidade e coloração castanho escuro. O rendimento obtido foi de 50,39% m/m, superior aos valores reportados na literatura por Figueiredo (2019), que obteve um rendimento de 35,56% m/m utilizando a mesma metodologia e ponto de coleta do material vegetal.

3.2. Óleo Essencial de *C. verbenacea*

O OECV apresentou odor característico da espécie vegetal e uma coloração levemente amarelada. O rendimento obtido foi de 0,1962% m/m, dentro do esperado, considerando variações sazonais e ambientais (VIEIRA e HARTIN, 2018).

3.2. Identificação dos Compostos Ativos

A análise por CCD indicou a presença de vouacapanos nas frações no EPP e dos sesquiterpenos no OECV. De acordo com as fragmentações apresentadas no cromatograma da CLAE-EM-AR e comparando com os resultados obtidos por Cabral (2010), foram identificados os vouacapanos de m/z 362 e 404, e o diterpeno 14,15-epoxi-geranilgeraniol.

No estudo de Basting (2019), houve a identificação das mesmas substâncias no extrato diclorometano de *P. pubescens*. Desta forma, caso os valores sejam semelhantes quantitativamente, é possível que exista uma intercambialidade entre os solventes etanol e diclorometano para o método de extração e, assim, o uso do etanol é preferível por ser mais seguro à saúde humana e ao meio ambiente (CAYOT et al., 2016).

3.3. Formulações Semissólidas

A formulação em gel apresentou baixa homogeneidade e sensorial desfavorável. Essas características podem ter ocorrido devido à dispersão inadequada do agente gelificante, tempo insuficiente de hidratação, pH inadequado ou incompatibilidades com o OECV e o EPP. A adição rápida ou incorreta pode formar grumos e comprometer a homogeneidade do gel (ANSEL, 2013). As formulações em creme e gel-creme apresentaram bom aspecto visual, estabilidade em teste de centrifugação e pH compatível com a pele (5,19 e 4,62, respectivamente) tornando-os adequados para administração cutânea com base no estudo de Gomes e Damazio (2009), em que as formulações para uso tópico devem possuir um pH compatível ao da pele, que situa-se entre 4,5 a 6,0. Dessa forma, essas duas formulações foram selecionadas para prosseguir em testes avançados de estabilidade e permeação cutânea.

4 CONCLUSÕES:

As metodologias utilizadas para a obtenção do EPP e OECV foram eficientes e demonstraram bons rendimentos. A análise do cromatograma obtido por CLAE-EM indicou a presença dos vouacapanos m/z 362 e 404 e do geranilgeraniol no extrato etanol de *P. pubescens*, indicando uma possível intercambialidade entre os solventes etanol e diclorometano.

Além disso, o uso de formulações feitas a partir de emulsões aparentaram ser preferíveis, pois a formulação sem a emulsão não incorporou os ativos. Nesse contexto, a formulação em creme e o gel-creme apresentaram boa homogeneidade, bom sensorial e pH compatíveis com a pele, portanto serão utilizadas para testes posteriores de estabilidade preliminar e acelerada e permeação *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

ANSEL, Howard C.; ALLEN, Lloyd; POPOVICH, Nicholas G. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

BASTING, R. T. *et al.* *Pterodon pubescens* and *Cordia verbenacea* Association Promotes a Synergistic Response in Antinociceptive Model and Improves the Anti-Inflammatory Results in Animal Models. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 112, 108693, 2019.

CABRAL, Elaine Cristina. Utilização da técnica de Fingerprinting por espectrometria de massas para a análise de extratos de produtos naturais. 2010. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo (USP). Conjunto das Químicas (IQ e FCF) (CQ/DBDCQ) São Paulo.

CAYOT, N. *et al.* Substitution of carcinogenic solvent dichloromethane for the extraction of volatile compounds in a fat-free model food system. **Journal of Chromatography A**, v. 1456, p. 77–88, 22 jul. 2016.

FIGUEIREDO, M. C. Desenvolvimento De Formulações Contendo O Extrato de *Pterodon pubescens* Benth Para Uso Odontológico [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2019, 154p.

GIAROLA, L. R. *et al.* *Pterodon pubescens* Benth (sucupira) microencapsulation influence on formulation stability outcome compared to non-encapsulated extract. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 67, p. 102875, 1 jan. 2022.

GOMES, R.K.; DAMAZIO, M.G. **Cosmetologia** - Descomplicando os Princípios Ativos. 3ªEdição. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

HOSCHEID, J. *et al.* Inhibitory Effect of the Hexane Fraction of the Ethanolic Extract of the Fruits of *Pterodon pubescens* Benth in Acute and Chronic Inflammation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-8, 2013.

HOSCHEID, J.; CARDOSO, M. L. C. Sucupira as a Potential Plant for Arthritis Treatment and Other Diseases. **Arthritis**, 2015.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

NEWMAN, D. J. & CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, p. 770-803, 2020.

PASSOS, G. F. *et al.* Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323–333, 21 mar. 2007.

SPINDOLA, H. M *et al.* Antinociceptive effect of geranylgeraniol and 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oate methyl ester isolated from *Pterodon pubescens* Benth. **BMC Pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2010.

SPINDOLA, H. M. *et al.* Geranylgeraniol and 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oate methyl ester isolated from *Pterodon pubescens* Benth.: Further investigation on the antinociceptive mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, v. 656, n. 1, p. 45–51, 10 abr. 2011.

TAKAYAMA, K. S. *et al.* Rosmarinus officinalis extract-loaded emulgel prevents UVB irradiation damage to the skin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, p. e20201058, 5 dez. 2022.

VIEIRA, C. R. *et al.* Antiproliferative activity of *Pterodon pubescens* Benth. seed oil and its active principle on human melanoma cells. **Phytomedicine**, v. 15, n. 6, p. 528–532, 20 jun. 2008.