

Formulação de um gel fitoterápico a partir do extrato bruto do *Stryphnodendron adstringens* e *Eugenia uniflora* L. com propriedades antimicrobianas.

Danielle Leonel de Arruda Costa*¹, Lorena Florêncio Gualberto¹, Rayane Raquel da Silva¹, Risonildo Pereira Cordeiro² & Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra²

¹ Acadêmicos do curso de Farmácia, Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA, Caruaru, PE.

² Docentes do Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA, Caruaru, PE.

RESUMO: A capacidade curativa das plantas já é utilizada a um longo tempo e pode ser dita que surgiu junto da raça humana na terra. No Brasil, apesar do estímulo da indústria farmacêutica para o uso de medicamentos industrializados, a maioria da sociedade também se aplica as práticas suplementares para proteger a saúde, frente a isso surgiu o interesse pelo estudo das espécies *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) e *Eugenia uniflora* L. (Pitanga). Este trabalho teve como objetivo produzir um gel a partir do extrato bruto de barbatimão e pitanga com atividade antimicrobiana. Sendo um estudo experimental do tipo laboratorial. Evidenciou-se que a formulação do gel de pitanga apresentou poder inibitório frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosas*, e o gel de barbatimão apresentou poder inibitório frente às *Pseudomonas aeruginosas* e *Escherichia coli*. Já para a associação de ambos foi evidenciado um potencial de atividade frente apenas a *Escherichia coli* com morte de 100% dos microrganismos, não apresentou nenhuma atividade frente à *Pseudomonas aeruginosas* e *Staphylococcus aureus*. Foi evidenciado que os géis apresentaram um resultado expressivo com propriedades antimicrobianas que tem ação contra microrganismos da pele.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, Fármacos Dermatológicos, Fitoterapia.

ABSTRACT: The plant's healing capacity has been used for a long time and it can be said that it was created along with the human race. In Brazil, although the pharmaceutical industry stimulus for the use of manufactured drugs, most of society also applies supplementary practices in order to protect their health, with that comes the interest in studying *Stryphnodendron Adstringens* and *Eugenia Uniflora* L. (Surinam Cherry) species. The project main goal was to produce a gel from *Stryphnodendron Adstringens* and *Eugenia Unifloras* L. crude extract with antimicrobial activity. As a laboratory experimental research it showed that the formulation of cherry's gel had inhibitory power against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stryphnodendron adstringens'* gel had inhibitory power against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. As for the combination of both it was discovered a potential activity towards the *Escherichia coli* since 100% of all microorganisms were dead, it didn't show any activity towards the *Pseudomonas aeruginosas* and *Staphylococcus aureus*. It was proved that the gels had a significant result with antimicrobial properties that works against skin microorganisms.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Dermatologic Agents, Phytotherapy

INTRODUÇÃO

No Brasil é encontrada uma rica variedade de espécies de plantas, que o torna favorecido em relação à aplicação da fitoterapia e com uma herança genética de ampla potencialidade no sentido de progresso de medicamentos feitos recentemente, visto que equivale a mais de cem mil gêneros, cujo uma minoria obteve suas características analisadas cientificamente com a função de identificar algum efeito medicinal (Evangelista, 2013).

O conhecimento da aplicação de plantas e de outras fontes naturais com propriedades terapêuticas está sendo reconhecido pela comunidade de todo o mundo e regressou à condição de um manancial de produtos medicinais justo à procura por costumes mais saudáveis de vida e pelo árduo tratamento de algumas enfermidades e resistência microbiana (Bugno, 2005).

Stryphnodendron adstringens (Barbatimão) é uma planta nativa de uma população específica do cerrado sensu stricto, conhecida pelas comunidades rurais do norte do estado de Minas Gerais pela sua grande importância na medicina, também utilizada pelas empresas florestais para a reconquista de áreas degradadas. Os produtos produzidos a partir do barbatimão são essenciais para a subsistência da população nas comunidades rurais, as quais produzem e consomem fitoterápicos gerados de suas cascas e dispõe sua madeira para produção de energia doméstica. O interesse do uso das cascas do barbatimão é utilizado para tratamento anti-inflamatório, antisséptico, antibacteriano e cicatrizante. Os fármacos originados a partir do barbatimão são comercializados sob formas farmacêuticas de cremes, pomadas e extratos, havendo uma probabilidade para tratamento de infecções (Meira, 2013; Lorenzi & Matos, 2008).

De origem Brasileira, a pitanga (*Eugenia uniflora* L.), cresce em locais com clima tropical. É rica em fósforo, cálcio, vitamina C, antocianinas, flavonoides, carotenoides, o que indica o seu poder antioxidante. Pertencente à família *Myrtaceae* apresenta propriedades medicinais, e é utilizada na medicina popular como diurética, antidiarréica, antitérmica, e também é utilizada contra bactérias. A pitanga possui óleos essenciais com ação digestiva, seus frutos são ricos em ferro, cálcio e fósforo (Silva, 2006).

O óleo essencial da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) já foi estudado, com a intenção de verificar a sua eficácia contra o crescimento de algumas espécies de leveduras que pertencem ao gênero *Candida*. Onde foi confirmada a sua eficácia na utilização popular plantas medicinais para o tratamento de doenças infecciosas. Para que a pitanga possa ser utilizada como planta medicinal, é necessário garantir que os seus metabólitos importantes estejam contidos nas partes utilizadas, em quantidade suficiente para que possa ocorrer uma ação medicinal. Nos seus frutos e folhas são encontrados metabólitos especiais, no qual sua propriedade antioxidante poder ser relacionado com prevenção de algumas doenças (Rodrigues, Sandini & Perez, 2010).

Estudos comprovaram que as folhas da pitanga são ricas em antraquinonas, esteroides, triterpenos, heterosídeos, flavonóides, heterosídeos saponínicos e taninos. Os taninos, componentes polifenólicos encontrados na pitanga e em outras plantas são solúveis em água e possuem ação contra fungos e bactérias. E nos seus frutos também são encontrados cartenóides (Bezerra, 2012).

Ocasionalmente é improvável o uso das vias de administração mais comuns, tal como ocorre na via oral, já que existem fármacos sensíveis às modificações metabólicas que é capaz de acontecer no trato gastrointestinal e no fígado. Algumas vezes existe a necessidade de tratamentos locais, como exemplo doenças de pele, logo, a via tópica

tende a ser a mais apropriada. A utilização de fármacos unicamente tópicos possui o objetivo de potencializar a absorção do medicamento no tecido alvo. Existe uns compostos que são apropriados para manter-se na superfície da pele, os quais podem ser: os protetores solares ou os cremes barreira, ao mesmo tempo que diversas substâncias objetivam alcançar a epiderme viável ou a derme, como exemplo os analgésicos locais ou os antifúngicos (Lourenço, 2013).

A via tópica contém varias vantagens como: Não permitir o efeito de primeira passagem; Dispõe de fármacos com tempo de semivida curtos; Possibilita a suspensão da terapêutica quando preciso; Possibilita a autoadministração; Aplicação acessível; Diminuição da flutuação plasmática; Aumento da eficácia com menor dosagem; Menor risco agregado em relação à administração oral ou intravenosa (Lourenço, 2013).

Os géis são compostos por uma parte líquida que está presa em uma matriz polimérica que especifica o gel devidamente, a matriz é composta por substâncias gelificantes, os quais evaporam depressa, gerando uma distinta película adesiva. Eles oferecem como vantagem: baixo custo e produção que recorre a equipamentos e técnicas convencionais, pureza e homogeneidade (Corrêa et al, 2005).

Estudos de formas farmacêuticas com novos princípios ativos são importantes para a viabilização do aproveitamento das propriedades dos mesmos. A confirmação da atividade antimicrobiana de extratos de *Stryphnodendron adstringens* e *Eugenia uniflora* L. e o estudo da formulação de um gel com estes ativos e de sua estabilidade podem ser a base para trabalhos complementares e também de sua produção para aplicação posterior.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental do tipo laboratorial. O *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) foi obtido na loja de produtos homeopáticos Yerba & BotaniKa LTDA (SP) cujo lote foi de BARBR01/0614 e a responsável pela identificação foi a farmacêutica Helena de Moura Santos. A *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) foi colhida no Centro Universitário ASCES-UNITA, e sua identificação foi feita através do IPA (Instituto Agrônômico de Pernambuco) o qual o número do tombo é de 91191, e o responsável pela identificação da planta foi a Dra. Rita de Cássia Pereira.

Obtenção dos extratos

Para a obtenção do extrato da casca do barbatimão, foram utilizados 555 g das cascas trituradas, 300 mL de água destilada e 1 L de álcool anidro a 99,3 %. As folhas da pitanga foram trituradas no liquidificador industrial. Em um Becker foram colocados 384.11 g de folhas trituradas, 1 L de água destilada, 1 L de álcool absoluto. Ambos os extratos ficaram em repouso por 48 horas, foram filtrados para a separação do líquido e das partes sólidas, e o líquido foi armazenado em um Béquer, sob refrigeração por mais 48 horas. Logo após foi seco em incubadora refrigerada (BOD) a 50°C até total secagem.

Incorporação dos extratos

Para incorporação dos extratos na base de carbopol foram utilizados três frascos Erlenmeyer, foram preparadas três formulações testes: Gel B, cujo componente ativo era o extrato de barbatimão; gel P cujo componente ativo era a pitanga e o gel BP, cujo

componente era a associação de barbatimão e pitanga. As quantidades de cada componente estão informadas na Tabela 1.

Tabela 1

De cada amostra foi retirado volume suficiente para realização das análises em tempo inicial, o restante do volume de cada gel foi distribuído em quinze potes plásticos; cinco potes de cada gel foram postos em estufa a 45°C; cinco foram mantidos a temperatura ambiente à 25°C e cinco sob refrigeração à 5°C, onde permaneceram durante quinze dias, a cada sete dias todas as amostras foram avaliadas, quanto à espalhabilidade, a coloração, pH e odor.

As características organolépticas de cor e o pH foram realizados respectivamente por visualização e análise de pH com fita indicadora.

Teste de espalhabilidade

No teste de espalhabilidade a contagem foi feita a partir da placa 1, onde foram medidas os diâmetros, vertical e horizontal, após colocar 6 placas de vidro, com espessuras distintas, que determinaram a espalhabilidade de cada gel.

Testes microbiológicos

As amostras e os extratos foram avaliados quanto à ação antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 3613, *Escherichia coli* sp., *Klebsiella pneumoniae*, e *Pseudomonas aeruginosa*. O poder inibitório de microrganismos foi realizado a partir da técnica Pour-Plate. Para controlar a concentração bacteriana foi utilizada a escala 0,5 de Marc-Farland.

Para realização dos testes microbiológicos foram testadas cinco bactérias, sendo elas: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Escherichia coli*, as quais foram semeadas em placas de Petri e levadas a estufa por 24 horas.

Em tubos contendo 4 mL de caldo Caseína Soja foi adicionada massa celular do microrganismo teste até atingir turbidez equivalente ao tubo nº 0,5 da escala de Marc-Faland. Tal procedimento foi realizado com cada um dos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

Avaliação da atividade dos extratos

Para avaliar a atividade do extrato nas bactérias foram pesados 250mg do extrato de pitanga em uma balança analítica, em seguida colocado em um tubo de vidro e adicionado água destilada até completar 5 mL, foi feita a diluição em mais 3 tubos. Tubo 1 – 50 mg/ml, tubo 2-25 mg/mL, tubo 3-12.5 mg/ml, tubo 4 -6.75 mg/ml. Retirando de cada tubo 2,5 mL e completando com 5 mL de água. O mesmo processo ocorreu com o extrato de barbatimão.

Utilizando cinco tubos de vidro contendo 4 mL de caldo Caseína Soja, foi colocado uma cepa de cada bactéria nos respectivos tubos com o auxílio de uma alça de platina. As suspensões bacterianas foram semeadas em tapete em dez placas de Petri contendo ágar Caseína Soja com o auxílio de swab. Cinco placas para o extrato de barbatimão e cinco para o extrato de pitanga, foi semeado em cada placa um tipo de bactéria da suspensão, fazendo um antibiograma. Nas dez placas foram feitas quatro marcações que

correspondiam as diluições do extrato da pitanga e do barbatimão: a primeira marcação corresponde a 50%, a segunda marcação 25%, a terceira a 12.5% e a quarta 6.75%.

Com o auxílio de uma micropipeta de 50 µL foram pipetadas as diluições da pitanga e do barbatimão correspondentes nas quatro marcações das placas de Petri. Em seguida foi colocado um papel toalha na tampa das placas para evitar a umidade e levado para estufa sob temperatura de 45°C por 24 horas.

Avaliação da atividade do gel

Para análise da atividade do gel com as bactérias Gram positivas (*Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*) foram utilizados quatro tubos de vidro, nos quais foram adicionados 5 mL do caldo Caseína Soja e em cada um foi inserida uma cepa das quatro bactérias usadas com o auxílio de uma alça de platina e bico de Bunsen. Os tubos foram fechados com algodão hidrofóbico e colocados em repouso por 1 hora.

Com o auxílio de uma pipeta graduada em mais quatro tubos foram adicionados 10 µL de cada bactéria que estava em repouso, 5 mL do caldo Caseína Soja e 5 mL do gel. Foram utilizados quatro tubos para cada gel, sendo eles: Gel Base, Gel B, Gel P e Gel BP.

Após esse procedimento foram utilizadas quatro placas de Petri para cada tipo de gel e adicionado 1 mL da solução o qual foi homogeneizado com o meio ágar MH. Foram levadas a estufa por 24 horas para a realização da contagem de colônias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a evaporação obtiveram-se 4% de rendimento do pó do Barbatimão, e 0,7% do rendimento do pó da Pitanga. Os extratos foram armazenados em tubos de vidro, em temperatura ambiente no laboratório da Farmácia da Faculdade ASCES-UNITA.

Em relação às características organolépticas do gel dermatológico, o gel B apresentou uma cor marrom (tijolo), o gel P uma cor verde musgo e a associação gel BP apresentou uma cor caramelo. Todos os géis apresentam odor característico. Após 15 dias, os géis armazenados na geladeira apresentam consistência gelatinosa e homogênea, em temperatura ambiente apresentaram-se consistentes, e em estufa apresentaram-se consistentes com formação de grumos.

Atividade antibacteriana

O extrato de pitanga apresentou atividade antimicrobiana frente as cepas *Staphylococcus aureus* nas concentrações 50% com halo de inibição de 1,5 cm e de 25% com halo de inibição de 1,4 cm . O extrato de barbatimão apresentou apenas atividade frente a concentração de 50% com halo de 2,6 cm. Para os outros microorganismos testados *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Lactobacillus acidophilus* não houve formação de atividade antimicrobiana nas concentrações testadas, sendo que o único microrganismo Gram positivo foi o *Staphylococcus aureus* caracterizando potencial atividade frente à Gram positivos e não atividade frente à Gram negativos.

Evidenciou-se que a formulação do gel P apresentou poder inibitório frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosas* com potencial de atividade de 99% de morte dos microrganismos das cepas utilizadas.

O gel B apresentou poder inibitório frente às *Pseudomonas aeruginosas* e *Escherichia coli* com potencial de atividade de 99% de morte dos microrganismos das cepas utilizadas. Já para a associação BP foi evidenciado um potencial de atividade frente apenas a *Escherichia coli* com morte de 100% dos microrganismos, não apresentou nenhuma atividade frente a *Pseudomonas aeruginosas* e *Staphylococcus aureus*. Além disso, observa-se que a associação gel BP é sinérgica, pois ocorreu 100% de morte do microrganismo, não observado neles isolados, no respectivo, bem como um antagonismo na ação microbiana frente as cepas *Pseudomonas aeruginosas* e *Staphylococcus aureus*, onde não apresentou atividade antimicrobiana nula. (gráfico 2).

Gráfico 2.

Pinho et al (2012) relataram que o potencial antimicrobiano do extrato do barbatimão conseguiu impossibilitar o crescimento de *Staphylococcus aureus*. A partir disso, não foi apresentada atividade frente a *Escherichia coli* o que os autores atribuíram à menor susceptibilidade das bactérias Gram-negativas a extratos vegetais. Tal resultado diferiu do observado neste trabalho, o que pode se justificar pelo fato de o extrato de Pinho et al (2012) ter sido das folhas do barbatimão, enquanto o deste trabalho foi preparado a partir da casca.

Espalhabilidade

A espalhabilidade apresentada no gráfico 3, tem como finalidade definir o tempo que a preparação se expande sobre a área aplicada, o que permite identificar alterações em suas características reológicas. Para facilitar a identificação de teia modificações, foi construído um gráfico com a média dos índices de espalhabilidade (eixo das ordenadas) as massas de placas de vidro sobre a amostra (eixo das abscissas) (Gráfico 3).

Gráfico 3.

A adição dos extratos ao gel base promoveu o aumento da espalhabilidade do gel, para todos os extratos testados. Quando se compara a espalhabilidade entre os géis contendo extratos é possível verifica que os preparados com um único extrato (gel B e gel P) apresentaram espalhabilidade levemente mais elevadas do que o que continha ambos (gel BP).

pH final dos géis

O monitoramento do pH do gel permite a verificação de mudanças na estabilidade dos mesmos com o tempo. Os valores verificados em todos os géis no tempo inicial e com e 15 dias após o preparo foram exibidos na Tabela 4

Tabela 4.

O pH do gel apresentou estabilidade em pH ácido, situado entre 2 e 3, em todas as temperaturas, visto que o extrato bruto seco do barbatimão, pitanga e a associação de ambos mantiveram o pH ácido, conforme à base. Referindo-se ao pH inicial e com 15 dias depois, não apresentou mudança considerável.

CONCLUSÕES

Os testes realizados com o extrato bruto seco da *Stryphnodendron adstringens* e da *Eugenia uniflora* L. não apresentaram atividade antimicrobiana aos microrganismos Gram negativos, contudo eles apresentaram atividade a uma bactéria Gram positiva, (*Staphylococcus aureus*).

Foi desenvolvida uma formulação do gel dermatológico incorporado o extrato bruto seco do Barbatimão e da Pitanga, respectivamente. Os géis apresentarem uma atividade antimicrobiana satisfatória frente microrganismos testados. Após as avaliações realizadas nos géis, apresentaram pH, viscosidade e espalhabilidade satisfatória de acordo com o propósito definido para o produto.

Conclui-se que o gel P, o gel B e o gel BP, apresentaram um resultado expressivo com propriedades antimicrobianas que tem ação contra microrganismos da pele.

REFERÊNCIAS

Bezerra NA, Felismino DC, Chaves TP, Alencar LCB, Dantas IC, Sobrinha LC. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Eugenia uniflora* L. *Rev. Biologia e farmácia*. 8(2): 40-48, 2012.

Bugno A, Buzzo AA, Nakamura CT, Pereira TC, Matos D, Pinto TJA. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Rev Bras Cien Farmac*. 41(4): 491-497, 2005.

Corrêa NM, Júnior FBC, Ignácio RF, Leonardi GR. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 41(1): 73-78, 2005.
Eugenia Uniflora L1. *Rev. de biologia e farmácia.*, 8(2): 9, 2012.

Evagelista SS, Parente RC, Bandeira MFCL. Fitoterápicos na odontologia: estudo etnobotânico na cidade de Manaus. *Rev. bras. plantas med.*, 15(4): 513-519, 2013.

Lorenzi H & Matos FJA. Plantas Medicinais no Brasil - Nativas e Exóticas. *Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum*, 544, 2008.

Lourenço ARN & Mota JP. Administração tópica de fármacos – das restrições aos desafios. [Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas], 2013.

Meira MR, Cabacinha CD, Figueiredo LS, Martins ER. Barbatimão: Ecologia, produção de tanino e potencial sócio econômico na região norte mineira. *Centro Científico Conhecer*, 9(16): 466-494 2013.

Pinhol L, Souza PNS, Sobrinho EM, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Ciência Rural, Santa Maria*. 42(2): 326-331,2012.

Rodrigues NM, Sandini TM, Perez E. Avaliação farmacognóstica de folhas de *Eugenia uniflora* L., Myrtaceae (Pitangueira), advindas da cidade de Guarapuava, PR. *Rev. Biosaúde*, 12(1): 2010.

Santos RM, Oliveira MS, Ferri PH, Santos SC. Seasonal variation in the phenol content of *Eugenia uniflora* L. leaves. *Rev. bras. plantas med.*, 13(1): 85-89, 2011.

Silva SM. Pitanga. *Rev. Bras. Frutic.*, 28(1): 2006