



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

LETÍCIA KISLLEY ANDRADE LARANJEIRA

DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO A PARTIR DO ÓLEO DE *Copaifera Langsdorffii* Desf. E DO EXTRATO AQUOSO DE *Magonia Pubescens* A. St. Hil.

Barreiras – BA

2023

LETÍCIA KISLLEY ANDRADE LARANJEIRA

DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO A PARTIR DO ÓLEO DE *Copaifera Langsdorffii* Desf. E DO EXTRATO AQUOSO DE *Magonia Pubescens* A. St. Hil.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Diploma de Graduação no Curso de Farmácia.

Orientador(a): Prof.^a. Dr^a. Vanessa Cristina Rescia

Barreiras – BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

L318 Laranjeira, Letícia Kisley Andrade.

Desenvolvimento de Nanoemulsão a partir do óleo de *Copaifera langsdorffii* Desf. e do extrato aquoso de *Magonia pubescens* A. St. Hil.. / Letícia Kisley Andrade Laranjeira. – 2023.

45f.

Orientador: Profª Dra. Vanessa Cristina Rescia.

TCC (Graduação) – Bacharelado em Farmácia. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2023.

1. Nanotecnologia Verde. 2. Nanoemulsão. 3. Emulsão. 4. *Magonia Pubescens*. 5. *Copaifera langsdorffii*. I. Rescia, Vanessa Cristina. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 615.32

Biblioteca Universitária de Barreiras - UFOB

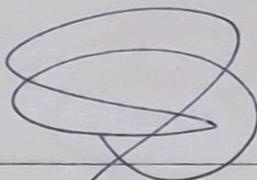
LETÍCIA KISLLEY ANDRADE LARANJEIRA

DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÃO A PARTIR DO ÓLEO DE
Copaifera Langsdorffii Desff. E DO EXTRATO AQUOSO DE *Magonia*
Pubescens A. St.Hil

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal do
Oeste da Bahia, como requisito parcial para
obtenção do Diploma de Graduação no Curso
de Farmácia.

Aprovado em 15 de janeiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA:



Prof.(^a) Dr(^a) ~~Vanessa Cristina Rescia~~
(Orientadora)



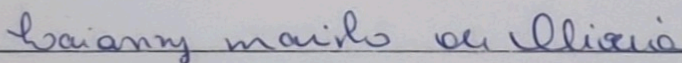
Documento assinado digitalmente

ANA MARIA SANTOS GUIMARAES

Data: 15/01/2024 20:38:42-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.(^a) Esp. Ana Maria Santos Guimarães
(Membro)



Prof.(^a) Esp. Laianny Marinho de Oliveira
(Membro)

A Deus, que torna tudo possível.

*E aos meus pais, pelo carinho
e apoio de sempre.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar que com sua infinita graça me conduziu, fez com que meus objetivos fossem alcançados durante os meus anos de estudo.

A minha família, meu alicerce que nunca mediu esforços para me apoiar, obrigada pelo constante incentivo que fizeram para que eu pudesse realizar esse sonho, a minha eterna gratidão por todo sacrifício e apoio.

As minhas Amigas Ana Maria e Roberta, que estiveram ao meu lado, obrigada pela amizade incondicional, risos, por dividir cada conquista e pelo apoio ao longo dos anos.

A minha professora e orientadora Vanessa Rescia por me transmitir todo o conhecimento durante as aulas e ser uma inspiração a esse projeto, por ter aceitado me acompanhar e ensinar neste trabalho, minha sincera apreciação por toda dedicação, orientação e apoio durante minha jornada acadêmica.

Aos CNPq, PIBIC e UFOB pelo apoio e incentivo a minha pesquisa.

Aos amigos que mesmo distantes se fizeram presentes e por celebrarem as conquistas comigo.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente neste projeto, e fizeram parte da minha jornada acadêmica meus sinceros agradecimentos.

*“Confie ao senhor tudo que você faz, e
seus planos serão bem-sucedidos”*

Provérbios 16:3

RESUMO

A utilização de materiais de origem vegetal em rotas de síntese verde de nanossistemas (nanopartículas de base lipídica com tensoativos de origem vegetal) é uma oportunidade de se obter materiais estruturados em nanoescala, inovadores, aplicáveis em áreas diversificadas e que sejam biocompatíveis, biodegradáveis, seguros e eficazes. Nesse sentido o objetivo com esse projeto foi o de desenvolver um sistema emulsionado nanotecnológico, ou seja, uma nanoemulsão do tipo óleo em água, sendo esta composta pelo óleo da *Copaifera langsdorffii* Desf., com o sistema tensoativo formado pelo extrato vegetal da *Magonia Pubescens* A. St. Hil., para formular um transportador dessas substâncias ativas que possuem potencial de aplicação em produtos farmacêuticos, cosméticos, alimentícios, agrícolas. Foi avaliado o teor de umidade das sementes da *M. pubescens*. Foram preparados extratos aquosos de *M. pubescens* para avaliação do teor de resíduo seco e seu perfil fitoquímico qualitativo preliminar e semiquantativo para as saponinas presentes. Os ensaios utilizados para identificação das classes de metabólitos secundários foram baseados em metodologias clássicas, que consistiram de reações de precipitação e/ou cromáticas. Também foram avaliados o pH, o índice de intumescência e a concentração micelar crítica. Do óleo de *C. langsdorffii* foi analisado o índice de emulsificação. Com base no EHL crítico pesquisado da *C. langsdorffii*, com valor de 14,8, foram realizados testes de preparo de nanoemulsão e emulsão. Os resultados obtidos na triagem fitoquímica revelaram a presença de alto teor de saponinas, bem como de alcaloides, taninos, flavonoides, triterpenos e esteroides, o teor de umidade foi de 4,8 %, para 1g da droga o índice de intumescimento foi 8,3 mL, indicativo da presença de mucilagens e propriedade emoliente. Os testes de nanoemulsão e emulsão não se mostraram satisfatórios, devido a separação de fases. Pelo estudo foi confirmado que a *M. pubescens* tem potencial terapêutico e como adjuvante farmacotécnico.

Palavras-chave: Nanotecnologia Verde, Nanoemulsão, emulsão, *Magonia pubescens*, *Copaifera langsdorffii*.

ABSTRACT

The use of plant materials in green synthesis routes of the plant-based nanoparticulate system is an opportunity to obtain innovative nanoscale structured materials applicable in many areas that are biocompatible, biodegradable, safe and effective. In this sense, the objective of the project was to develop a nanotechnological emulsified system, that is, an oil-in-water nanoemulsion, composed of *Copaifera langsdorffii* Desf. Oil and with a surfactant system formed by *Magonia pubescens* A. St. Hill plant extract., to formulate active substance carriers with potential application in pharmaceutical, cosmetic, food and agricultural products. The moisture content of *M. pubescens* seeds was evaluated. Aqueous extracts of *M. pubescens* were prepared to evaluate the dry residue content and its preliminary qualitative and semiquantitative phytochemical profile for the saponins present. The assays used to identify secondary classes of metabolites were based on classical methodologies, which consisted of precipitation and / or chromatic reactions. The pH, swelling index and critical micellar concentration were also evaluated. From *C. langsdorffii* oil, the emulsification index was analyzed. Based on *C. langsdorffii* critical EHL, with a value of 14.8, nanoemulsion tests and emulsion preparation were performed. The results obtained in the phytochemical screening revealed the presence of high saponins, besides alkaloids, tannins, flavonoids, triterpenes and steroids, the moisture content was 4.8%, for 1g of the drug the swelling index was 8, 3 mL, indicative of mucilage and emollient property. Nanoemulsion and emulsion tests were not satisfactory due to phase separation. The study confirmed that *M. pubescens* has therapeutic potential and as a pharmacotechnical adjuvant.

Key words: Green nanotechnology, Nanoemulsion, emulsion, *Magonia pubescens*, *Copaifera Langsdorffii*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O - Água em Óleo

CNPq - Conselho Nacional de Pesquisa

EHL - Equilíbrio hidrófilo Lipofílico

FA- Fase Aquosa

FDA - Food and Drug Administration

FO- Fase Oleosa

O/A - Óleo em Água

PIBIC- Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teste de intumescência.....	pág. 36
Figura 2. Concentração Micelar Crítica do extrato de <i>M. pubescens</i>	pág.48
Figura 3. Índice de emulsificação com óleo de <i>C. langsdorffii</i>	pág.40
Figura 4. Testes de nanoemulsão pela técnica de injeção etanólica.....	pág. 41

LISTA DE SÍMBOLOS

® - Marca registrada

°C - Graus centígrados

μ - Micro

% - Porcentagem

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação do teste nº 1 do preparo de nanoemulsão.....	pág.27
Tabela 2. Formulação do teste nº 2 do preparo de nanoemulsão.....	pág.27
Tabela 3. Formulação do teste nº 3 do preparo de nanoemulsão.....	pág.27
Tabela 4. Formulação do teste nº 1 do preparo de emulsão.....	pág. 28
Tabela 5. Formulação do teste nº 2 do preparo de emulsão.....	pág. 28
Tabela 6. Formulação do teste nº 3 do preparo de emulsão.....	pág. 28
Tabela 7. Formulação do teste nº 4 do preparo de emulsão.....	pág. 29
Tabela 8. Formulação do teste nº 5 do preparo de emulsão.....	pág. 29
Tabela 9. Dados da análise fitoquímica preliminar.....	pág. 30
Tabela 10. Teor de umidade nas sementes de <i>M. pubescens</i>	pág. 34
Tabela 11. Resíduo seco do extrato aquoso das sementes da <i>M. pubescens</i>	pág. 35
Tabela 12. Índice de intumescência das sementes de <i>M. pubescens</i>	pág. 36
Tabela 13. Índice de Emulsificação da emulsão composta por extrato de <i>M. pubescens</i> , água e óleo de soja e as medidas após 24 horas.....	pag 39

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
NANOTECNOLOGIA.....	16
EMULSÕES.....	16
NANOEMULSÕES.....	17
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	18
<i>Magonia pubescens</i> A. St. Hil.....	19
OBJETIVOS.....	20
OBJETIVO GERAL	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
MATERIAIS	21
MÉTODOS.....	21
TRIAGEM FITOQUÍMICA.....	22
PREPARO DA NANOEMULSÃO	26
PREPARO DA EMULSÃO.....	28
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O Bioma Cerrado é a segunda maior formação vegetal brasileira depois da Amazônia e também é a savana tropical mais rica do mundo em biodiversidade, concentrando um terço da biodiversidade nacional e 5 % da flora e da fauna mundial (Varanda, 2006).

Apesar da imensa biodiversidade brasileira e da ampla utilização das plantas medicinais no Brasil, o País ainda deixa a desejar quando se trata do desenvolvimento e pesquisas tecnológicas de plantas medicinais nativas.

Existe um mercado potencial para produtos da biodiversidade brasileira, tanto no mercado nacional quanto internacional e um grande apelo mercadológico para produtos nanotecnológicos (Souza et al., 2010).

A nanotecnologia é um tipo de manipulação em escala atômica e molecular que utilizam estruturas de 1 a 100 nanômetros, e pode atuar no desenvolvimento de matérias e sistemas nanoemulsionados.

Produtos que apresentam sistemas nanoemulsionados, tem sua grande parcela de empregos nas diversas indústrias, como a farmacêutica, cosmética, e alimentícia, entre outras, e possuem vantagens na veiculação de princípios ativos de diferentes afinidades e aplicações. Neles podem se incluir as nanoemulsões, microemulsões, lipossomas, micelas onde cada uma possui suas características diferenciadas.

As nanoemulsões apresentam características que despertam interesses no mercado, tais como estabilidade, alto poder de hidratação na pele, aspecto sensorial agradável. Para sua obtenção existem métodos que envolvem a alto ou baixo uso de energia de emulsificação (Tadros et al., 2004).

O uso de materiais de origem vegetal em rotas de síntese verde de nanossistemas (nanopartículas de base lipídica com tensoativos de origem vegetal), devido ao fato que esses materiais, quando estruturados em nanoescala, apresentam características novas que possibilitam uma vasta gama de aplicações inovadoras, além de conferir, em geral, características almejavéis de biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade.

Dentre as plantas do Cerrado com potencial econômico, devido a extração de óleo-resina que pode ser aplicada na fabricação de cosméticos e produtos

farmacêuticos, tem-se a espécie *Copaifera langsdorffii* Desf., que se trata de uma espécie bastante promissora, apresentando diversas propriedades terapêuticas (Paiva et al., 2004).

A *Copaifera langsdorffii* Desf., conhecida popularmente como copaíba é utilizada pela população como agente cicatrizante, protetor da mucosa gástrica e intestinal e anti-inflamatório potente, utilizada na reparação de motores, fabricação de tintas, vernizes, na construção civil e na produção de móveis. Seu óleo é extraído do tronco através de um furo do tronco ao cerne, suas propriedades medicinais foram registradas no FDA.

A *Magonia pubescens* A. St. Hill é conhecida popularmente como timbó ou tingui do cerrado, é uma planta de porte alto que pode ser encontrado no cerrado e na caatinga é utilizado pela população para fabricação de sabão caseiro, para tratar de úlceras da pele, na pesca, com efeito de sedação nos peixes, e como inseticida na plantação.

Devido à biodiversidade regional apresentar uma enorme fonte de matérias-primas e a crescente busca por novos insumos para o preparo de formulações a base de produtos vegetais, viu-se a oportunidade de desenvolver uma formulação nanotecnológica, na forma de nanoemulsão, utilizando plantas do Cerrado Baiano.

A nanotecnologia verde está em consonância com a crescente preocupação com questões relacionadas à sustentabilidade e uma maior diminuição no impacto ambiental. E neste contexto, se utilizam de métodos e materiais que visam à geração de produtos e processos com agregação de valor aos produtos vegetais, que podem, potencialmente, gerar ganhos sociais para a região Oeste da Bahia.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 NANOTECNOLOGIA

A nanotecnologia pode ser definida como um campo científico multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos, encontrando assim sua aplicação nas mais diversas áreas, desde setores de energia, indústria alimentícia e até a indústria farmacêutica. As propriedades dos nanomateriais vêm sendo explorada de forma industrial através da fabricação de novos cosméticos, medicamentos, tintas, catalisadores, revestimentos e tecidos (Rossi-Bergmann, 2008).

A nanotecnologia consiste na abordagem, investigação e desenvolvimento quando se referem ao estudo dos fenômenos e manipulação de materiais às escalas atômica, molecular e macromolecular, onde as propriedades diferem significativamente das de grande escala. Ambas vêm criando e transformando uma grande variedade de produtos e serviços passíveis de melhorarem a prática clínica e a saúde pública (Figueiras et al., 2014). Há bastantes estudos com nanotecnologia e suas aplicações industriais como sistemas nanoemulsionados, nanopartículas lipídicas e poliméricas e microemulsionados (Shah et al., 2014).

2.2 EMULSÕES

Emulsões é uma forma farmacêutica líquida que consiste em um ou mais princípios ativos que formam um sistema de duas fases com pelo menos dois líquidos imiscíveis, onde um destes líquidos é disperso na forma de pequenas gotas (fase interna ou dispersa) no outro líquido (fase externa ou contínua), onde o diâmetro de partícula varia entre aproximadamente 0,1 a 10 μ m, podendo ser encontrado preparações pequenas com 0,01 μ m e grandes como 100 μ m (Farmacopeia Brasileira 6ª edição, 2023; Zanon, 2010).

Como componentes da emulsão há dois líquidos imiscíveis sendo estes, água e óleo, para a escolha dos componentes da emulsão dependendo das propriedades das substâncias que estarão presentes na formulação,

considerando os tipos de estabilidade e fatores como aspecto, odor ou sabor (Allen Jr. et. al., 2017; Thompson, 2006).

Na formulação de emulsões a proporção entre óleo e água e demais componentes de sua composição são fatores que influenciam no produto final. A fase oleosa pode ser formada por material de origem animal, vegetal ou mineral, sendo os de origem vegetal a escolha mais popular devido oferecerem diferentes graus de estabilidade e efeitos na pele, sendo a multiplicidade de perfis químicos de ácidos graxos o responsável por esses efeitos (Loden, 2005).

A estabilidade das emulsões deve-se ao uso de substâncias anfifílicas, ou tensoativo que se posicionam na interface entre água e óleo, equilibrando o sistema devido à diminuição da tensão superficial. O EHL é um sistema de classificação de tensoativo desenvolvido por Griffin em 1949, que se baseia em uma escala dimensional que varia de 1 a 10, com os critérios de natureza hidrofílica e lipofílica, onde tensoativos com valores altos de EHL produzem emulsões do tipo O/A e tensoativo com valores baixos de EHL produzem emulsões do tipo A/O (Griffin, 1949; Zanin et al., 2002).

A principal função do agente emulsificante é reduzir a tensão interfacial e atuar como uma barreira contra a coalescência, se tornando assim uma agente estabilizante para a emulsão, os agentes de natureza lipofílica favorecem a formação de emulsões do tipo A/O e os de natureza hidrofílica favorecem a formação de emulsões do tipo O/A (Zanon, 2010; Lachman et. al., 2011).

No mercado há uma grande variedade de agentes emulsificantes, onde são divididos de acordo com o grau de ionização em solução aquosa e substâncias de origem natural, e classificados como tensoativo, sintéticos ou semissintéticos (Aulton, 2005).

Os tensoativos são os compostos responsáveis pela estabilidade das nanoemulsões, sendo estes compostos anfifílicos, ou seja, ele se estabelece entre as duas fases da emulsão a aquosa e a oleosa, o que dá origem a estabilização do sistema (Fernandez et al., 2004).

2.3 NANOEMULSÕES

As nanoemulsões têm potencial em diversas áreas das ciências farmacêuticas e cosméticas, devido a mesma possuir estabilidade físico-química e sensorial agradável que é bastante desejável a aplicação cosmética, mas para utilizá-la como veículo se deve ater aos fatores de obtenção e estabilidade dos sistemas dispersos que são criteriosamente estudados. (Pereira, 2008).

Nanoemulsões são constituídas de glóbulos de 20 a 500nm, podendo apresentar aparência translúcida quando o tamanho for menor que 200nm e aparência leitosa quando o tamanho for entre 200 a 500 nm (Fernandez et al., 2004; Capek, 2004).

A estabilidade das nanoemulsões está relacionada com a utilização de tensoativos não-iônicos e polímeros que dão estabilização estérica entre os glóbulos e assim reduzindo a coalescência, isso ocorre devido os glóbulos não serem facilmente deformáveis, ou seja, a espessura do filme interfacial de acordo com o tamanho do glóbulo, previne a diminuição natural do filme não seja o suficiente para causar um rompimento no glóbulo (Tadros et al., 2004; Bouchemal et al., 2004).

As nanoemulsões podem ser obtidas por métodos de baixa ou alta energia de emulsificação, os métodos de alta energia são baseados através da alta tensão de cisalhamento, homogeneizadores de alta pressão, fluidizadores, já os métodos de baixa energia usam propriedades físico-químicas do sistema e inversão espontânea na curvatura do tensoativo para obter os glóbulos em tamanhos reduzidos (Tadros et al., 2004; Sajjadi, 2006).

2.4 *Copaifera Langsdorffii* Desf.

A *Copaifera langsdorffii* Desf. é uma árvore da família Leguminosae, a qual é conhecida popularmente por copaíba, pau-d'óleo, podói, cupaúba e cupiúva. As plantas deste gênero *Copaifera* podem ser encontradas na África e em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul principalmente no Brasil, Venezuela, Guianas e Colômbia (Lima neto et al., 2008). A floração ocorre nos períodos quentes e úmidos (Rossi, 2008).

No Brasil, ela pode ser encontrada em todo País, mas são encontradas principalmente na região norte e nordeste. Estas plantas são bastante

conhecidas pelo seu óleo-resina, devido ao seu uso na medicina popular, principalmente como agente cicatrizante e anti-inflamatório (Lima Neto et al., 2008).

O óleo-resina da *C. langsdorffii* é extraído do tronco, as atividades biológicas têm como responsáveis os sesquiterpenos constituindo 50 % do óleo, diterpenos e ácidos terpênicos. Sua ação anti-inflamatória tem como responsável o cariofileno e ácido caurenóico (Rossi, 2008).

Os frutos da *C. langsdorffii* possuem compostos cumarínicos com concentração de 0,65% sendo encontrado umbeliferona nos extratos etéreos das sementes desta espécie e amilóides xiloglucânicos, nos cotilédones foram encontrados polissacarídeos (Lima Neto et al., 2008).

2.5 *Magonia Pubescens* A. St. Hil.

A *Magonia pubescens* A. St. Hil. é uma espécie pertencente à família Sapindaceae, é conhecida popularmente como tingui do cerrado ou timbó. É uma árvore decídua e heliófita, seletiva xerófita, de ocorrência natural e amplamente distribuída nos Cerrados do Brasil, a mesma também pode ser facilmente encontrada nos estados do Ceará, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso (Lorenzi, 2009).

O fruto do timbó tem o formato de uma cápsula globosa, lenhosa, de 7 a 10 cm de diâmetro, de coloração castanho-claro, com várias sementes em seu interior, a mesma pode chegar até oito cm de largura, as sementes têm características oleaginosas e são comumente utilizadas na fabricação de sabão na indústria caseira e na composição de arranjos florais secos (Silva Júnior, 2005; Lorenzi, 2009). Também é rica em saponinas e popularmente utilizada para a limpeza de úlceras de pele, o chá da casca do caule é utilizado no tratamento de feridas e suas raízes usada como calmante (Guarim Neto; Moraes, 2003).

Nas folhas e flores podem ser encontrados heterosídeos, saponinas e taninos hidrolisáveis, gálicos. Apenas nas folhas podem ser encontrados isoflavanoides e chalconas, enquanto somente nas flores são encontradas flavonas e flavononas, taninos gálicos. Alcalóides totais são fracamente detectados nas folhas e flores, estudos prévios detectaram presença negativa de triterpenos na composição das folhas e flores (Aguilar et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo com este trabalho foi o de desenvolver um sistema emulsionado lipídico-nanotecnológico, na forma de nanoemulsões do tipo O/A composto pelo óleo fixo de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) com o sistema tensoativo formado pelo extrato vegetal rico em saponinas, como o da casca do fruto ou da semente do timbó (*Magonia pubescens* A. St. Hil.), para formular transportador dessas substâncias e de outras substâncias ativas, com potencial de aplicação em produtos farmacêuticos, cosméticos, alimentícios, veterinários e agrícolas, entre outros.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar e fazer a fundamentação teórica do tema;
- Obter óleos fixos da *Copaifera langsdorffii* Desf. e extratos ricos em saponinas (*Magonia pubescens* A. St. Hil.);
- Realizar o perfil fitoquímico preliminar do extrato aquoso de *M. pubescens*;
- Caracterizar as propriedades tensoativas do extrato aquoso de *M. pubescens*
- Desenvolver nanoemulsões O/A, por método de baixa energia;
- Obter as características físico-químicas do sistema nanoemulsionado obtido.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

UTENSÍLIOS	EQUIPAMENTOS	REAGENTES
Algodão hidrófilo Balão volumétrico - 100 mL Béquer - 50, 150 e 200 mL Espátula Papel-filtro Pipetas volumétricas de vidro Pipetas volumétricas automáticas Provetas 50, 100 mL Tubos de ensaio de vidro	Balança analítica (Forlaqb Modelo BL2200AS-BI) Espectrofotômetro modelo V1200. Estufa modelo SSDcr 40L Liofilizador TelStarr modelo LyoQuest Moinho de Facas (Solab® - Modelo SL31) pHmetro de bancada Pg2000 Placa aquecedora Lucadema (Modelo LUCA-0851/P)	Ácido Sulfúrico PA Água destilada Anidrido Acético PA Cloreto férrico Alfa-naftol Ácido Clorídrico Magnésio metálico Solução de Hidróxido de sódio 1 M Acetato de Cobre Solução de gelatina Iodo Iodeto de potássio Solução de NH ₄ OH 10%

4.2 MÉTODOS

4.2.1 OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS MATERIAIS VEGETAIS

Os frutos de *Magonia pubescens* A. St. Hil. foram coletados e foi preparada uma exsicata para identificação no herbário da UFOB. O óleo de copaíba, da espécie *Copaifera langsdorffii* Desf., foi adquirido da empresa Mundo dos Óleos.

4.2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO VEGETAL

As sementes da *M. pubescens* foram selecionadas, limpas e secas em estufa a 35°C, durante quatro dias. Após o processo de secagem as sementes foram trituradas em moinho de facas (Solab® - Modelo SL31). Os extratos foram preparados em água destilada à 10 % (m/v) e submetidos à extração a quente, pelo método de decocção, por cinco minutos. Posteriormente foram filtrados com

auxílio de papel-filtro e em seguida submetidos às análises fitoquímicas para verificação dos metabólitos secundários.

4.2.3 Triagem fitoquímica

4.2.3.1 Pesquisa de saponinas

4.2.3.1.1 Teste qualitativo de espuma por agitação

Foram adicionados em dois tubos, alíquotas A e B (branco), 2,0 mL de extrato aquoso a 10 % da droga vegetal. Logo após, agitou-se energeticamente a alíquota A, no sentido vertical, por 15 segundos, deixando-a em repouso por 15 minutos. Ao final, comparou-se com o branco (alíquota B). A presença de espuma persistente por 15 minutos é indicativa de reação positiva para saponinas. Enquanto que o desaparecimento da espuma por 15 minutos indica a ausência de saponinas (Matos, 2009). O experimento foi realizado em triplicata.

4.2.3.1.2 Análise do índice afrosimétrico – determinação semi-quantitativa do índice de espuma

Para a realização da determinação do índice afrosimétrico, padronizaram-se 10 tubos de ensaios iguais. As diluições preparadas foram de 1/9, 2/8, 3/7, 4/6, 5/5, 6/4, 7/3, 8/2, 9/1 e 10/0 de decocto/ água completando um volume de 10 mL em cada tubo. Os tubos foram numerados de 1 a 10 e agitados vigorosamente no sentido vertical durante 15 segundos. Posteriormente estes tubos permaneceram em repouso por um período de 15 minutos.

Após transcorrido os 15 minutos verificar qual tubo há formação de um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1 cm de altura (SBFgnosia, 2018).

4.2.3.2 Pesquisa de Terpenos (detecção da Genina) - Reação de Liebermann-Buchard

Em dois tubos de ensaio, alíquotas A e B, foram adicionados 2,0 mL do extrato aquoso à 10 %. Em seguida, foi colocado 2,0 mL de anidrido acético na

alíquota A. Os tubos foram agitados suavemente e pelas paredes destes e, adicionou-se cuidadosamente 1,0 mL de H₂SO₄ concentrado. Tornou-se a agitar suavemente. Foi observada mudança de cores em comparação branco (alíquota B). O experimento foi feito em triplicata.

A coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa de esteroides livres e a coloração vermelha, rosa ou púrpura indica triterpenos pentacíclicos livres (Simões, 2017; Matos, 2009).

4.2.3.3 Pesquisa de Flavonoides – Reação de Shinoda

Em dois tubos de ensaio, alíquotas A e B, adicionou-se 2,0 mL do extrato aquoso à 10 %. Na alíquota A, colocou-se seis fragmentos de Mg metálico. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL de HCl concentrado sobre as paredes do tubo, observando-se se ocorre o desenvolvimento de coloração e comparou-se com a alíquota B (branco) (Simões, 2017; Matos, 2009). O experimento foi realizado em triplicata.

4.2.3.4 Pesquisa de Taninos

Foram efetuados 3 testes diferentes para identificação da classe de metabólito secundário taninos. Assim, dois testes com resultado positivo confirma a presença de taninos. São eles: reação com gelatina, reação com Cloreto férrico, reação com Acetato de cobre (Simões, 2017; Matos, 2009).

4.2.3.4.1 Reação com gelatina

Em dois tubos de ensaio, alíquotas A e B, adicionou-se 2,0 mL do extrato aquoso à 10 %. Na alíquota A, foram adicionadas três gotas de gelatina 2% e comparou-se com a alíquota B (branco) (Simões, 2017; Matos, 2009). O experimento foi realizado em triplicata.

4.2.3.4.2 Reação com Cloreto férrico

Foram adicionados, em dois tubos de ensaio, alíquotas A e B, 2,0 mL do extrato aquoso a 10 %. Posteriormente, adicionou-se 3 gotas da solução de cloreto férrico na alíquota A e, comparou-se com o branco (alíquota B). O experimento foi feito em triplicata.

4.3.4.4.3 Reação com metais pesados (acetato de cobre)

Foram adicionados em dois tubos de ensaio, alíquotas A e B (branco), 2,0 mL do extrato aquoso a 10%. Posteriormente, foram adicionadas 3 gotas de solução $\text{Cu}_2(\text{OAc})_4$ a 10 % na alíquota A e comparou-se com o branco (alíquota B). O experimento foi feito em triplicata.

4.3.4.5 Pesquisa de Alcaloides - Reação de Bouchardat (Wagner)

O extrato aquoso a 10 % da planta foi diluído em 10 mL de HCl 5 %. O extrato solubilizado foi dividido em alíquotas A e B (branco) com 2 mL em cada uma delas. No tubo A, foram adicionadas quatro gotas do reagente de Bouchardat, em seguida, foi observado a cor do precipitado e comparado com o tubo B (branco). O experimento foi feito em triplicata.

4.3.4.6 Liofilização do extrato

Foi preparado um litro de extrato aquoso a 10%, em seguida separado em copos descartáveis numa proporção de 2 mL em cada copo, e congelados a -30°C durante 6 horas, em seguida essas amostras foram submetidas a secagem por liofilização a uma pressão de vácuo de aproximadamente 1689 μHg com temperatura do condensador de -29°C . Em seguida as amostras foram pesadas e armazenadas em embalagem plásticas com tampa.

4.3.4.7 Determinação do teor de umidade

Foi transferido cerca de 3,0 g para um vidro relógio previamente tarado e dissecado nas mesmas condições a serem adotadas para a amostra, durante 30 minutos. As amostras foram dessecadas a 105°C , durante 5 horas, até peso constante. Foi calculada a porcentagem de água em relação à droga seca ao ar.

4.3.4.8 Determinação do Resíduo seco

O resíduo seco para o extrato vegetal, das sementes de *M. pubescens*, obtido por decocção na concentração de 10 % foi determinado em triplicata. 2 mL da solução extrativa foi adicionado a vidro relógio e dessecadas em estufa à 100-105 °C, por 3 horas. Após resfriamento foram pesadas. O procedimento foi repetido até peso constante. O resíduo seco foi calculado em porcentagem de massa pesada sobre o volume de 2 mL (m/v), sendo calculada a média e desvio padrão.

4.3.4.9 Determinação do Ph da solução extrativa

O pH da solução extrativa à 10 % foi determinado por leitura direta em potenciômetro calibrado a 25 °C. O ensaio foi realizado em triplicata, calculando-se a média e desvio padrão.

4.3.4.10 Determinação do Índice de intumescência

Foram pesas, exatamente, 5,0 g das sementes de *M. pubescens* pulverizada e colocar em proveta de 100 mL com tampa esmerilhada. Foram adicionados 100 mL de água e as amostras foram agitadas a cada 10 minutos, por uma hora. A mistura foi deixada em repouso por 3 horas, à temperatura ambiente. Foi medido o volume, em mililitros, ocupado pelo material vegetal acrescido da mucilagem ou qualquer outro material aderido subtraído do volume inicial da droga. Foi calculado o valor médio obtido a partir das várias determinações individuais realizadas e relacionar a 1 g de material vegetal (adaptado da Farmacopeia brasileira, 2010). Foi utilizada a seguinte fórmula:

$$II = Vf - Vi,$$

Onde, II = Índice de Intumescimento;

Vf = volume final da droga;

Vi = volume inicial.

4.3.4.11 Concentração micelar crítica

Foram preparadas soluções aquosas nas concentrações de 0,001 a 10 g/L com o extrato bruto liofilizado, das sementes de *M. pubescens*. Foi medida a transmitância em 450 nm em espectrofotômetro. O ensaio foi realizado em triplicata e a variação da transmitância foi avaliada para se determinar a concentração micelar crítica. Foi realizado um gráfico em percentual de transmitância x concentração.

4.3.4.12 Índice de emulsificação com óleo de soja (IE₂₄)

Foram preparadas 4 mL de soluções de concentração 0,1; 1 e 10 g/L de extrato bruto liofilizado. Foram adicionados 4 ml de óleo de soja em cada tubo. Os tubos foram agitados em vórtex por 2 minutos, à 2800 rpm, formando uma emulsão. O IE₂₄ foi calculado como a razão entre a altura da emulsão após 24 horas e a altura total da mistura. O ensaio foi realizado em triplicata. Foi calculada a variância e a existência de diferenças estatísticas entre as médias.

4.3.4.13 Índice de emulsificação do óleo de copaíba

Foram preparadas 4 mL de soluções de concentração 0,1; 1 e 10 g/L de extrato bruto liofilizado das sementes de *M. pubescens*. Foram adicionados 4 ml de óleo de copaíba (*C. langsdorffii*) em cada tubo. Os tubos foram agitados em vórtex por 2 minutos, à 2800 rpm, formando uma emulsão. O IE₂₄ foi calculado como a razão entre a altura da emulsão após 24 horas e a altura total da mistura. O ensaio foi realizado em triplicata. Foi calculada a variância e a existência de diferenças estatísticas entre as médias.

4.3.4.14 Preparo de nanoemulsão

As formulações foram preparadas pelo método de deslocamento de solvente, onde se tem a fase aquosa em um béquer, e se dilui a fase oleosa em etanol e coloca em uma seringa, é adicionada a ponta da seringa dentro do béquer em contato com a fase aquosa, onde a fase oleosa irá gotejar e sob agitação e se misturar na fase aquosa. Neste procedimento foram utilizados, inicialmente, o extrato de *M. pubescens* como tensoativo em percentual de 2% e a fase oleosa com óleo vegetal de *C. langsdorffii* na proporção de 1% em 10

mL de etanol e água destilada q.s.p. para 20 mL de formulação. As composições que foram testadas, seguem nas tabelas 1 a 3:

Tabela 1. Formulação do teste nº 1 do preparo de nanoemulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 1	
1,0 % de Óleo de Copaíba em 10 mL Etanol PA (FO) 2,0 % Extrato de timbó (FA) 2,0% Fosfatidilcolina de Soja (FA) 95,0 % Água destilada (FA)	Foi preparado 20,0 mL de nanoemulsão contendo 0,2 mL de Óleo de copaíba em 10mL de Etanol PA, 0,4 mL de extrato de timbó, 0,4mL de fosfatidilcolina de soja e 10,0 mL de água destilada. As fases oleosa e aquosa foram aquecidas até atingir a temperatura de 80°C, por meio de gotejamento foi vertida a fase oleosa na aquosa, agitando-se até atingir a temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 2. Formulação do teste nº 2 do preparo de nanoemulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 2	
2,0 % de Óleo de Copaíba em 10 mL Etanol PA (FO) 4,0 % Extrato de timbó (FA) 2,0% Fosfatidilcolina de Soja (FA) 95,0 % Água destilada (FA)	Foi preparado 20,0 mL de nanoemulsão contendo 0,4 mL de Óleo de copaíba em 10mL de Etanol PA, 0,8 mL de extrato de timbó, 0,4 mL de fosfatidilcolina de soja e 08,4 mL de água destilada. As fases Oleosa e aquosa foram aquecidas até atingir a temperatura de 80°C, por meio de gotejamento foi vertida a fase oleosa na aquosa, agitando-se até atingir a temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 3. Formulação do teste nº 3 do preparo de nanoemulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 3	
3,0 % de Óleo de Copaíba em 10 mL Etanol PA (FO) 4,0 % Extrato de timbó (FA) 3,0% Fosfatidilcolina de Soja (FA) 95,0 % Água destilada (FA)	Foi preparado 20,0 mL de nanoemulsão contendo 0,6 mL de Óleo de copaíba em 10mL de Etanol PA, 0,8 mL de extrato de timbó, 0,6 mL de fosfatidilcolina de soja e 08,0 mL de água destilada. A fase Oleosa e aquosa foram aquecidas até atingir a temperatura de 80°C, por meio de gotejamento foi vertida a fase oleosa na aquosa, agitando-se até atingir a temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

Devido ao fato das formulações das nanoemulsões não estarem chegando ao objetivo de emulsionar e se estabilizarem, se viu a necessidade de investigar e comparar se as amostras do Óleo de Copaíba e do extrato aquoso das sementes de *M. pubescens* tinham ação emulsionantes de forma isoladas com

outros tensoativos. Visando com o objetivo de investigar esses aspectos foram conduzidos experimentos de emulsão utilizando diversas formulações e diferentes agentes tensoativos. As composições testadas seguem descritas nas tabelas 4 ao 8.

Tabela 4. Formulação do teste nº 1 do preparo de emulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 1 EMULSÃO	
1,0 % de Óleo de Copaíba em 10 mL Etanol PA (FO) 2,0 % Fosfatidilcolina de Soja (FA) 97,0 % Água destilada (FA)	Foi preparado 20,0 mL de nanoemulsão contendo 0,2mL Óleo de copaíba em 10mL de Etanol PA, 0,4 ml de Fosfatidilcolina de Soja 09,4 mL de água destilada. As fases oleosa e aquosa foram aquecidas até atingir a temperatura de 80°C, por meio de gotejamento foi vertida a fase aquosa na oleosa, agitando-se até atingir a temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5. Formulação do teste nº 2 do preparo de emulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 2 EMULSÃO	
5,0 % de Óleo de copaíba 2,5 % Monoestearato de glicerila 2,5 % Lauril sulfato de Sódio 90,0 % Água Destilada	Foi preparado 20,0 mL de emulsão contendo 1,0 mL de Óleo de copaíba, 0,5 mL de Monoestearato de glicerila e 0,5mL de Lauril Sulfato de Sódio, e 18 mL de água destilada, onde foram aquecidas as fases oleosa e aquosa até atingir 80 °C, em seguida verteu a fase aquosa na fase oleosa, e agitou-se até atingir temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 6. Formulação do teste nº 3 do preparo de emulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 3 EMULSÃO	
10,0 % mL do Óleo de copaíba 2,5 % mL de Tween 20® 2,5 % mL de Tween 80® 85,0 % Água Destilada	Foi preparado 20,0 mL de emulsão contendo 2,0 mL de Óleo de copaíba, 0,5 mL de Tween 20® e 0,5 mL de Tween 80®, e 17 mL de água destilada, onde foram aquecidas as fases oleosa e aquosa até atingir 80 °C, em seguida verteu a fase aquosa na fase oleosa, e agitou-se até atingir temperatura ambiente

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 7- Formulação do teste nº 4 do preparo de emulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 4 EMULSÃO	
20,0 % Óleo de copaíba 1,0 % Tween 20® 3,0 % Tween 80® 76,0 % Água destilada	Foi preparado 20,0 mL de emulsão contendo 4,0 mL de Óleo de copaíba, 0,2 mL de Tween 20® e 0,6 mL de Tween 80®, e 15,2 mL de água destilada, onde foram aquecidas as fases oleosa e aquosa até atingir 80 °C, em seguida verteu a fase aquosa na fase oleosa, e agitou-se até atingir temperatura ambiente

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 8- Formulação do teste nº 5 do preparo de emulsão.

FORMULAÇÃO DO TESTE Nº 5 EMULSÃO	
10,0 % Óleo de copaíba 1,0 % Trietanolamina 5,0 % Monoestearato de glicerila 84,0 % Água destilada	Foi preparado 20 mL de nanoemulsão contendo 2 mL do Óleo de copaíba, 0,2 mL de trietanolamina e 1 mL de monoestearato de glicerila e 16,8 mL de água destilada. Foram aquecidas as fases oleosa e aquosa até atingir 80 °C, verteu-se a fase aquosa na fase oleosa, agitando até atingir a temperatura ambiente.

Fonte: Autoria Própria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos de *Magonia pubescens* A. St. Hil. foram coletadas no dia vinte de agosto de 2018, às margens da BR 242, no município de Barreiras, Bahia (latitude a 12 graus 8' 51,578" S, longitude a 45 graus 1'21,16596"). Uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Oeste da Bahia. A identificação taxonômica foi realizada pela botânica Juliana Gastaldello Rando, obtendo o número BRBA7627 (Voucher Number).

Após secagem e pulverização das sementes, foi preparado um extrato aquoso de *M. pubescens* a 10,0 %, pelo método de decocção, por período de cinco minutos. Posteriormente foram filtrados com auxílio de papel-filtro e em seguida submetidos às análises para verificação dos metabólitos secundários.

O extrato aquoso das sementes da *M. pubescens* revelou resultados positivos para a presença de taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, esteroides e triterpenos (Tabela 9).

Tabela 9. Dados da análise fitoquímica preliminar.

Metabólito secundário	Resultados
Saponinas	+++
Flavonoides	+
Taninos	+
Alcaloides	+
Esteroides e Triterpenos	+

FONTE: Autoria Própria.

Sobre os testes utilizados na análise fitoquímica e os metabólitos de estudo, temos: as saponinas são consideradas com uma classe de metabolitos glicosídicos e esteroidal, sendo caracterizadas por sua natureza anfifílica devido a sua estrutura química, por conter uma parte hidrofílica (açúcares) e uma parte lipofílica (triterpênica ou esteroidal), apresentando, portanto, um caráter polar e apolar. Devido a estas características, as saponinas possuem a propriedade de redução da tensão superficial da água, tem ação emulsificante e formam espuma abundante quando agitadas em água (Podolak; Galanty; Sobolewska, 2010; Vincken et al., 2007; Hostettmann; Marston, 1995).

A mesma ainda apresenta uma grande variedade de efeitos farmacológicos como ação anti-inflamatória, hipoglicêmico, antifúngico, antiparasitária, dentre outros. Na indústria farmacêutica é utilizada para a produção de vacinas hormonais a partir das saponinas esteroidal (Podolak et al., 2010).

Na família Sapindaceae é observado uma significativa quantidade da classe de saponinas (Claudino, 2005).

A presença de espuma persistente por 15 minutos é indicativa de reação positiva para saponinas. Enquanto que o desaparecimento da espuma por 15 minutos indica a ausência de saponinas (Matos, 2009).

Nesse sentido, o experimento de caráter qualitativo em questão evidenciou a presença do metabólito secundário saponinas nas sementes do timbó visto que houve a permanência de espuma sem alterações após a duração de 15 minutos o que sugere resultado positivo para a presença de saponinas.

A análise do índice afrosimétrico – Determinação semiquantitativa do índice de espuma. O Índice de espuma tem como objetivo determinar a maior diluição em que 1 g de droga é capaz de formar 1 cm de espuma em determinadas condições. Esse teste possui caráter semiquantitativo, pois através do índice pode-se estimar a quantidade de saponinas que se tem na droga. Após transcorrido os 15 minutos foi verificado em qual tubo houve a formação de um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1 cm de altura (SBFGNOSIA, 2018). Após a realização do procedimento verificou-se que no tubo III, contido 3 ml da solução da droga houve-se formação de um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1 cm de altura. Desse modo, após os cálculos, obteve-se o valor do Índice Afrosimétrico de 67. Os resultados obtidos durante a avaliação semiquantitativa de glicosídeos saponínicos na droga de origem vegetal *M. pubescens*, realizado por este teste de ação superficial ou espuma, confirmam uma quantidade significativa de saponinas na droga em questão.

A reação de Libermann-Buchard possibilita a identificação do esqueleto esteroidal ou triterpênico. Dessa forma a coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa de esteroides livres e a coloração vermelha, rosa ou púrpura indica triterpenos pentacíclicos livres. A coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa de esteroides livres e a coloração vermelha, rosa ou púrpura indica triterpenos pentacíclicos livres (Simões, 2017; Matos, 2009). Assim, os tubos contendo o extrato de *M. pubescens* apresentaram resultado positivo para a presença de esteroides, visto que se visualizou uma coloração verde.

Os flavonoides compõem uma ampla classe de compostos polifenólicos de origem vegetal. Eles podem ser divididos em uma variedade de subclasses como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavandiol, dihidroflavonol, catequinas, antocianinas, auronas e isoflavonas (Kumar; Pandey, 2013). As atividades biológicas dos flavonoides vêm sendo bastante estudadas e dentre elas podemos citar suas propriedades farmacológicas como antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas e anticarcinogênicas, juntamente com a capacidade de modular a função chave da enzima celular. As diferentes estruturas químicas dos flavonoides dependem do carbono do anel C em que o

anel B está ligado e do grau de insaturação e oxidação do anel C. Os flavonoides em que o anel B está ligado na posição 3 do anel C são chamados de isoflavonas. Aqueles em que o anel B está ligado na posição 4 são chamados de neoflavonoides, enquanto aqueles em que o anel B está ligado na posição 2 podem ser subdivididos em vários subgrupos com base nas características estruturais do anel C (Panche et al., 2016). A reação de Shinoda ou da Cianidina é baseada na oxidação do magnésio sendo comumente utilizada para a identificação qualitativa de flavonoides como, por exemplo, flavononas, flavonas, flavanonois e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos. O aparecimento de uma coloração rósea-avermelhada é indicativo da presença de flavonoides (Matos, 2009; Simões, 2017). A coloração rósea-avermelhada é indicativa da presença de flavononas, enquanto a coloração laranja é indicativa da presença de flavonas. É também uma reação onde há liberação do gás hidrogênio (Mouco et al., 2003; Souza et al., 2007). Assim, para esta reação, o teste com o extrato de *M. pubescens* St. Hil foi positivo visto que as amostras apresentaram coloração rosa.

Os taninos são considerados polifenóis solúveis em água de pesos moleculares variáveis, são armazenados em vacúolos, caules, cascas, folhas, sementes e flores. São providos de diversas atividades biológicas e consequentemente usados na medicina principalmente por causa de suas propriedades adstringentes. Essas propriedades são conferidas devido à capacidade dos taninos precipitar proteínas. Eles também formam complexos com alcaloides e gelatina (Jesus, et al., 2012; Redondo et al., 2014). Estudos comprovaram outras atividades farmacológicas como antisséptico, antidiarreico, anti-inflamatório, cicatrizante e antimicrobiano (Jesus, et al., 2012). Classicamente, as estruturas químicas dos taninos são divididas em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Taninos hidrolisáveis são subdivididos em galotaninos e elagitaninos. Outra classe também pode ser considerada: os taninos complexos. Os taninos hidrolisáveis constituem uma mistura de fenóis tais como ácido elágico e ácido gálico, ésteres de açúcares (isto é, glicose), ácido gálico ou ácido digálico. Já os taninos condensados mais numerosos (muitas vezes chamados de proantocianidinas) são derivados de monómeros de flavan-3-ol. Os taninos complexos são formados a partir de uma unidade elagitaninos e uma unidade flavan-3-ol (Laurichesse; Avérous, 2015; Redondo et al., 2014).

Nesse sentido, para a identificação de taninos foram realizados três tipos de testes para identificação, sendo que dois testes positivos confirmam a presença dessa classe de metabólitos.

A reação com gelatina é um teste genérico, pois só classifica a presença de tanino. A formação de precipitado, a reação é considerada positiva para a presença de taninos (Simões, 2017). Nesta reação utilizando-se gelatina, as amostras com o extrato de *M. pubescens* apresentaram resultado positivo com a formação de precipitação e turvação o que indica a presença de taninos. O surgimento de turvação a precipitação indica reação positiva para taninos (SBFgnosia, 2018). Para esta reação os tubos contendo o extrato das sementes de *M. pubescens* formaram um precipitado esbranquiçado com turvação indicando a ocorrência de taninos.

A reação com cloreto férrico possibilita identificar a presença de substâncias fenólicas através da mudança de coloração que pode variar entre violeta, azul, verde e amarelo-castanho, dependendo do tipo de substância fenólica (Mouco et al., 2003). Esta reação permite identificar taninos condensados e/ou hidrolisáveis. A formação de coloração azul indica a presença de taninos hidrolisáveis ou gálicos (Simões, 2017; Matos, 2009). Já a coloração verde indica a presença de taninos condensados ou catéquicos. Enquanto que a coloração azul e verde apresenta taninos hidrolisáveis e condensados (Simões, 2017; Fonte, 2015; Matos, 2009). Dessa forma, os tubos apresentaram coloração azul e verde, indicando resultado positivo para a presença de taninos hidrolisáveis e condensados no extrato da planta.

Os alcaloides são substâncias nitrogenadas farmacologicamente ativas. São produzidos por uma grande variedade de organismos, incluindo bactérias, fungos, plantas e animais, e fazem parte do grupo de metabolitos secundários. Muitos alcaloides são deliberados tóxicos, mas outros geralmente são usados terapeuticamente já que apresenta efeitos fisiológicos que os tornam úteis como medicamentos (Moudi, et al., 2013; Perviz, et al., 2016). Eles possuem grupos funcionais em sua composição, como aminas, primárias, secundárias e terciárias, porém alguns alcaloides contêm em sua composição outros grupos funcionais como amônio (Osman et al., 2018). Os alcaloides são classificados em três categorias: alcaloides verdadeiros que possuem um átomo de nitrogênio presente em um anel heterocíclico, os protoalcaloides possuindo o sistema

heterocíclico, porém o átomo de nitrogênio não faz parte do ciclo, e os pseudoalcaloides que são compostos nitrogenados com ou sem ciclo porém não são derivados de aminoácidos (Simoes, 2017; Roy, 2017). Exibem atividades biológicas significativas, das quais incluem ação analgésica, anticancerígena, antiplaquetário. Uma classificação baseada em caminhos biossintéticos é usada principalmente para categorizar diferentes tipos de alcaloides (LU, et al., 2012). O aparecimento de turvação e/ou precipitação marrom a indica a presença de alcaloides (Simões, 2017). Desse modo, o teste foi positivo para a presença de alcaloides uma vez que houve a formação de precipitado branco nos tubos que continham o extrato da planta.

Três métodos são empregados para a determinação de água em drogas vegetais: método gravimétrico (dessecação), método azeotrópico (destilação com tolueno) e método volumétrico (Karl Fischer). O primeiro, tecnicamente mais simples e rápido, não é aplicável quando a droga contém substâncias voláteis. Os demais requerem equipamentos especiais e compreendem técnicas mais complexas. Foi escolhido o primeiro método. Obtendo como resultado para este procedimento uma média de 4,78% de teor de umidade com desvio padrão de 0,04 (tabela 10):

Tabela 10. Teor de umidade nas sementes de *M. pubescens*.

Amostra	Vidro de relógio vazio (g)	Peso da droga vegetal pulverizada (g)	Peso final após a secagem (g) com vidro de relógio	Peso final após a secagem (g)	Diferença = perda por secagem (g)	Teor de Umidade (%)
1	35,9614	2,0975	37,9592	1,9978	0,0997	4,75
2	34,6473	2,0664	36,6140	1,9667	0,0997	4,82
3	36,6185	2,0453	38,5663	1,9478	0,0975	4,77
MÉDIA						4,78
DESVIO PADRÃO						0,04

Fonte: Autoria própria.

O extrato à 10 % de *M. pubescens* apresentou pH 6,0, ou seja, levemente ácido.

O teor de resíduo seco pode ser obtido como uma forma de evidenciar a concentração do fitocomplexo ou do princípio ativo presente no extrato. Com base nos parâmetros obtidos, pode-se chegar a uma estimativa em relação a qualidade dos produtos e, conseqüentemente, uma eficácia e segurança do mesmo quando inseridos em formulações (Cardoso, 2009). Os resultados obtidos no teste são de uma média de 1,3 % m/v de resíduo seco do extrato 10,0 % com um desvio padrão de 0,06 e uma média de 12,6 % m/v de resíduo seco do extrato a 100% com desvio padrão de 0,62 % (Tabela 11).

Tabela 11. Resíduo seco do extrato aquoso das sementes da *M. pubescens*.

Amostra	Vidro de relógio vazio (g)	Volume do extrato bruto (mL)	Peso final após a secagem (g) com vidro de relógio	Peso final após a secagem (g)	Extrato 10% - decocção - massa droga vegetal em 2 mL	Resíduo seco (m/v)	% Resíduo seco do Extrato 10% (m/v)
1	34,5483	2,0	34,5957	0,0474	0,2	0,0237	1,19
2	34,1909	2,0	34,2420	0,0511	0,2	0,0256	1,28
3	35,9458	2,0	35,9982	0,0524	0,2	0,0262	1,31
						MÉDIA	12,6
						DESVIO PADRÃO	0,62

Fonte: Autoria própria.

O índice de intumescência ou índice de intumescimento é a medida do volume ocupado pelo intumescimento de 1 g da droga, pela adição de água ou outro agente intumescente, sob condições definidas. As mucilagens são polissacarídeos acídicos que aparecem como constituintes normais de células, quando há uma grande presença de mucilagem denominasse que há presença de células mucilaginosas, essa substância está presente em tegumentos de sementes, e uma das suas características principais é intumescer em presença de água (Figura 1). Os conteúdos mucilaginosos têm a capacidade de permitir a elaboração de substâncias emolientes (Capasso et al., 2000).

Figura 1: Teste de intumescência.



Fonte: Acervo pessoal do autor.

No ensaio mediu-se o volume ocupado pela planta seca, o volume inicial de 10,0 mL. Posteriormente, mediu-se o volume ocupado pelo material vegetal acrescido da mucilagem, volume final de 43,0 mL na primeira proveta e 46 mL tanto na segunda, quanto na terceira proveta, com média de 45,0 mL. Como resultado, obteve-se um valor de 31,0 mL de intumescimento. Calculando para 1g da droga, obteve-se os resultados de uma média de 8,3 mL de intumescimento por proveta, com desvio padrão 0,43 mL (Tabela 12):

Tabela 12. Índice de intumescência das sementes de *M. pubescens*.

Amostra	Volume ocupado da droga seca (5g)	Volume final da droga seca (5 g)	Volume final da droga calculado para 1g de droga seca
Proveta 1	10 mL	43	8,6
Proveta 2	10 mL	46	8,2
Proveta 3	10 mL	46	8.2
		MEDIA: 45 DESVIO PADRÃO: 2	MEDIA: 8,1 DESVIO PADRÃO: 0,43

Fonte: Autoria própria.

Com esse teste foi possível confirmar a presença de mucilagem nas sementes de *M. pubescens*.

A CMC é uma importante propriedade, característica de cada surfactante. O processo de formação de micelas é fundamental para qualquer aplicação de um surfactante, uma vez que propriedades como emulsificação, detergência e formação de espuma só se pronunciam quando a concentração do surfactante é maior que a CMC (Jumpertz et al., 2010).

A concentração na qual se inicia o processo de formação de micelas é denominada de concentração micelar crítica (CMC). A CMC é uma propriedade intrínseca e característica de cada surfactante. As micelas são agregadas moleculares que contêm regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, que se associam em meio aquoso, dinâmica e espontaneamente, que partir de determinada concentração crítica formam agregados moleculares de dimensões coloidais. As micelas são termodinamicamente estáveis, mas facilmente destruídas com a adição de água, pois o surfactante fica abaixo da CMC. De acordo com as propriedades de emulsificação e formação de espuma isso só se evidencia se a concentração do surfactante for maior que a CMC. Após atingir a CMC, mesmo com a adição de surfactante, a tensão superficial se mantém constante. A natureza química do grupo hidrofóbico, do grupo hidrofílico, força iônica, temperatura e a presença de eletrólitos são fatores que afetam a CMC. (Jumpertz et al., 2010).

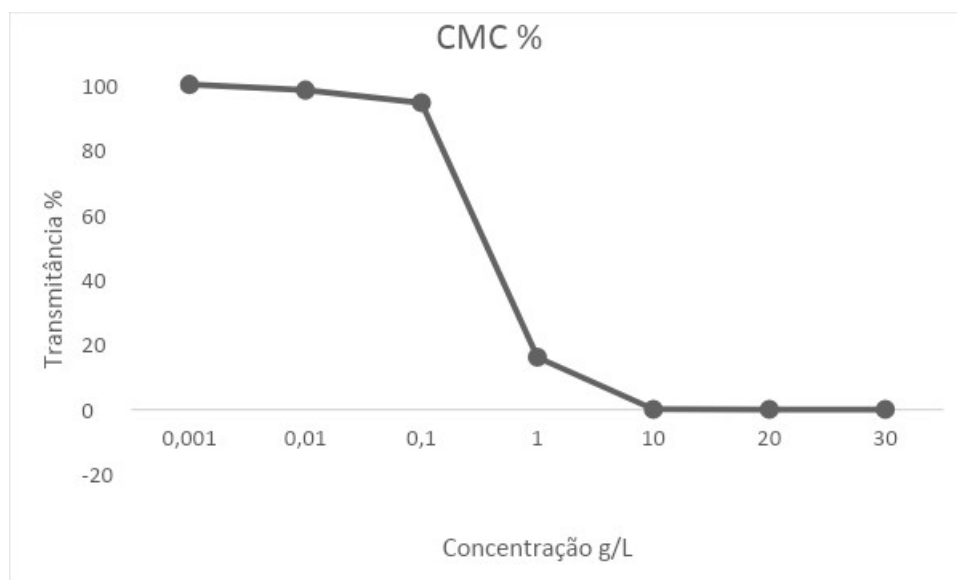
As micelas são definidas como agregados moleculares que possuem regiões estruturais do tipo hidrofóbicas e hidrofílicas, essas que se associam de forma espontânea em meio aquoso, a partir de uma determinada concentração crítica tendo como formação de agregados moleculares de dimensões coloidais, as micelas são termodinamicamente estáveis, porém, são facilmente destruídas com adição de água, devido ao fato da concentração de tensoativo ficar abaixo da CMC (Hinzel, 1979; Pelizzeti; Pramauro, 1987).

A CMC pode ser determinada experimentalmente, aumentando-se gradativamente a concentração do surfactante em solução e observando-se a redução da tensão superficial que ocorre devido à migração das moléculas tensoativas para as interfaces líquido-ar e líquido-sólido. A tensão superficial cai com o aumento da concentração até que, na CMC, todas as interfaces estão saturadas e inicia-se a formação de micelas. Nesse ponto, a tensão deixa de variar e atinge um patamar mínimo, tornando possível a determinação da CMC graficamente (Daltin, 2011).

Na CMC, ocorrem mudanças em propriedades macroscópicas da solução (Figura 2), sendo possível determiná-las não só pelo acompanhamento da tensão superficial, como também pela variação da turbidez, pressão osmótica, solubilidade, condutividade, auto-difusão, etc. quanto menor a CMC, mais

eficiente é o biossurfactante. Os biossurfactantes de baixo peso molecular são mais eficientes na formação de espuma, já os de alto peso molecular possuem maior eficiência para estabilizar emulsões O/A (Gurgel, 2000; Viades-Trejo et al., 2012). A Figura 2 mostra o resultado do método turbidimétrico para determinação da CMC. A partir da variação da transmitância das soluções de saponinas pela concentração, determinou-se a concentração em que as moléculas iniciam a formação de micelas. O início da formação de micelas, para as concentrações testadas, se deu próximo a 0,1 g/L.

Figura 2. Concentração Micelar Crítica do extrato de *M. pubescens*.



Fonte: Autoria própria.

O Índice de emulsificação (IE) é considerado um importante parâmetro de avaliação do poder de um emulsificante e da estabilidade da emulsão. O IE é calculado pela razão entre a altura remanescente de emulsão e a altura total de líquido, após agitação de dois líquidos imiscíveis, normalmente água e óleo, na presença de um surfactante (Cooper; Goldenberg, 1987; Abu-Ruwaida et al., 1991). O IE é dependente do tempo, logo, estabelece-se um intervalo para sua avaliação, por exemplo, o IE₂₄ é medido 24 horas após a agitação. O IE para um mesmo surfactante pode variar com o tipo de substância hidrofóbica utilizada (diferentes hidrocarbonetos ou óleos vegetais) (Barros et al., 2008). Os

resultados para o índice de emulsificação obtidos demonstraram que houve aumento inversamente proporcional à concentração de extrato, corroborando com a CMC que foi de 0,1 g/L.

Tabela 13. Índice de Emulsificação da emulsão composta por extrato de *M. pubescens*, água e óleo de soja e as medidas após 24 horas.

TUBOS	0,1 g/L	1g/L	10g/L	20g/L	30g/L
1	3,1 cm	3,2 cm	3,3 cm	3,4 cm	3,5 cm
2	3,1 cm	3,2 cm	3,3 cm	3,4 cm	3,5 cm
3	3,1 cm	3,2 cm	3,3 cm	3,4 cm	3,5 cm
CONTROLE	3,0 cm	3,0 cm	3,0 cm	3,0 cm	3,0 cm
IE ₂₄ (%)	96,77	93,75	90,9	88,2	85,71

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os índices de emulsificação encontrados para as saponinas do extrato bruto de *M. pubescens* com óleo de soja são superiores aos encontrados por Ribeiro (2012) para os surfactantes comerciais Span 20 e Tween 80, nas mesmas condições: 53%.

As saponinas da solução de *M. pubescens*, na concentração de 30 g/L e na proporção de 50 % com óleo de *C. langsdorffii* apresentarem excelente Índice de Emulsificação (IE₂₄), em torno de langsdorffii 73,3 %, quando em comparação às saponinas do juá tiveram um Índice de Emulsificação (IE₂₄) 50%, o que foi considerado um dos melhores desempenhos, quando se compararam saponinas de diversas fontes vegetais (Ribeiro, 2012).

Foi observado que nos tubos 1, 2 e 3 ocorreu separação de fases de forma rápida, no tubo 4 houve emulsificação, porém ocorreu rápida separação de fases e no tubo 5 houve emulsificação e as fases começaram a separar depois de 30 minutos (Figura 3).

Figura 3. Índice de emulsificação com óleo de *C. langsdorffii*.



Fonte: Acervo Pessoal do autor.

O aumento de concentração para 30 g/L do extrato bruto da *M. pubescens* resultou em um maior índice de emulsificação do óleo de *C. langsdorffii* e água. Desta forma, as saponinas presentes no extrato bruto de *M. pubescens*, apesar de reduzirem a tensão superficial da água e serem capazes de formar espumas persistentes, no que tange à estabilidade de emulsões, ainda necessitariam ser utilizadas em conjunto com outro surfactante ou ter aumentado a sua concentração. Outra possibilidade seria o isolamento das saponinas para utilização como surfactante, podendo haver interferência no processo de emulsificação por outros metabólitos secundários presentes no extrato bruto. Entretanto, cabe ressaltar que o volume emulsionado se manteve estável por cerca de 96 horas.

Nos testes de emulsificação convencionais realizadas não houve a emulsificação das fases ou houve separação de fases de forma instantânea assim que houve o término da agitação.

Após o preparo das nanoemulsões 1 e 2, foi possível observar que houve a formação da nanoemulsão pelo método de injeção etanólica, porém ocorreu a separação de fases em poucos minutos (Figura 4).

Figura 4. Testes de nanoemulsão pela técnica de injeção etanólica.



Fonte: Acervo Pessoal do autor.

As emulsões 4 e 5 (contadas da esquerda para a direita) tiveram resultados satisfatórios, conseguindo se manter estáveis por 48 horas, porém após esse período houve separação das fases aquosa e oleosa.

6 CONCLUSÃO

Com base nos estudos obtidos feitos através da análise do perfil fitoquímico, que teve como a finalidade observar a presença de metabolitos, constatou-se a presença de saponinas, flavonoides, taninos e alcaloides, que são de grande importância na produção de medicamentos à base de produtos naturais. Alguns metabólitos descritos na literatura não foram detectados, mas não significa que não há a presença dos mesmos na *M. pubescens*, pois fatores naturais como estação de ano, local de coleta da planta influenciam no metabolismo, concentração e produção de metabólitos nas plantas.

Devido aos testes de nanoemulsão com o óleo de *C. langsdorffii* e extrato de *M. pubescens* não ter tido resultados positivos para a formulação, foram incluídos os testes de concentração micelar crítica (CMC) e teste de emulsificação (IE₂₄), estes testes obtiveram resultados satisfatórios para que pudesse ser identificado a presença de parâmetros constituinte para a formulação de uma emulsão, necessitando do acréscimo de mais uma interface para aumento da estabilidade entre as fases da nanoemulsão ou da utilização de outra metodologia de alta energia para sua obtenção. Resultados como esses auxiliam no desenvolvimento farmacotécnico de formulações.

A necessidade de investigar se ambos as amostras do óleo de copaíba e do extrato das sementes de timbó tinha ação emulsionante separadas evidenciou que ambos possuem um parâmetro de formulação de emulsificação e assim se vê a necessidade de repetir as formulações por outro método além dos de baixa energia, visto que o método escolhido no decorrer do trabalho foi baseado nos recursos que a universidade possuía no momento.

É importante ressaltar que mesmo que não foi possível desenvolver uma nanoemulsão e emulsão que tivesse um período maior de estabilidade, tivemos resultados satisfatórios com os extratos separados e outros tensoativos. Deixando uma oportunidade de as formulações serem testadas em novos projetos.

A escolha do desenvolvimento de uma nanoemulsão com produtos naturais é desafiador e ao mesmo tempo de extrema importância, a nanoemulsão com produtos do cerrado agregaria muito na cultura, ofereceria um veículo de baixo custo, que poderia reduzir efeitos colaterais pois permitiria o uso de doses menores, menor quantidade de ativos artificiais.

Devido ao período de enfrentamento da pandemia global da COVID-19 e a necessidade de isolamento social, os testes de formulação, bem como outros testes foram interrompidos, o que ocasionou um atraso na finalização deste trabalho e a impossibilidade de sua continuidade.

REFERÊNCIAS

- Aguiar, M. M. R. et al. Antioxidant activity, total flavonoids and volatile constituents of *Magonia Pubescens* A.St.-Hil. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S.l.], Vol. 9(43), p. 1089- 1097. 17 nov. 2015.
- Allen-Jr, L. V.; Popovich, N. G.; Ansel, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- Aulton, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- Bouchemal, K.; Briançon, S. & Perrier, E.; Fessi, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: Solvent, oil and surfactant optimisation. **International journal of pharmaceutics**. 280. 241-51, 2004.
- Capek, I. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in colloid and interface Science**, v.107, p. 125-155, Bratislava, 2004.
- Farmacopeia Brasileira. 6.ed. São Paulo: Atheneu, 2012. pt.1. Disponível em:<<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>>. Acesso em: 18 dez. 2023.
- Fernandez, P.; André, V.; Rieger, J.; Kühmle, A. Nano-emulsions formation by emulsion phase inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Amsterdam, v.251, p. 53-58,2004.
- Figueiras, A. R.R.; Coimbra, A. B.; Veiga, F. J.B. Nanotecnologia na saúde: aplicações e perspectivas. **Boletim Informativo Geum**, v. 5, n. 2, p. 14-26, abr./jun., 2014.
- Guarim Neto, G.; Morais, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasilica**, Feira de Santana-BA, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.
- Jesus, N. Z. T. et al. Taninos, úlceras pépticas e mecanismos relacionados. **International Journal of Molecular Sciences**, 13.3 (2012): 3203-3228. *PMC*. Rede. 26 de fevereiro de 2018.
- Jumpertz, T. et al. High-throughput evaluation of the critical micelle concentration of detergents. **Analytical Biochemistry**, 408 (1), 64–70, 2010.
- Kumar, S.; Pandey, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. **Sci. World J.**, 2013, 2013, 162750.
- Laurichesse, S.; Avérous L. Chemical modification of lignins: towards biobased polymers. **Prog Polym Sci**, 2014. 39(7):1266–1290.
- Lima Neto, J.S.; GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. Constituintes químicos do fruto de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Química Nova**, v.31, n.5, p.1078-80, 2008.

Loden, M. The clinical Benefit of Moisturizers. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 19, n.6, p. 672-688, nov, 2005.

Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 5. ed. v.1. Nova Odessa-SP: **Plantarum**, 2009. 347p.

Matos, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009, p. 45-78.

Osman, A. G. et al. Utility of alkaloids as chemical and biomarkers for quality, efficacy, and safety assessment of botanical ingredients. **International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, p. 01-37, 2018.

Perviz, S.; Khan, H.; Pervaiz, A. Plant Alkaloids as an Emerging Therapeutic Alternative for the Treatment of Depression. **Frontiers in Pharmacology**. 2016; 7:28.

Podolak, I.; Galanty, A.; Sobolewska, D. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 425–474, 2010.

Redondo, L. M. et al. "Perspectives in the Use of Tannins as Alternative to Antimicrobial Growth Promoter Factors in Poultry." **Frontiers in Microbiology** 5 (2014): 118. *PMC*.

Rossi-Bergmann, Bartira. Uma nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Cienc. Culto**. São Paulo, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.

Sajjadi, S.; Zerfa M.; BROOKS, B.W. Phase inversion in p-xylene/water emulsions with the non- ionic surfactant pair sorbitan monolaurate/polyoxyethylene sorbitab monolaurate (span 20/ tween 20). *Colloids and surfaces A: Physiocochem.* **Eng. Aspects**, v.218, p. 241-254, 2003.

SBFgnosia – Sociedade Brasileira de Farmacognosia. Informações gerais. Disponível em: < <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html>>. Acesso em: 25 fev. 2018.

Shah, R. M; Malherbe, F.; Eldridge, D.; Palombo, E. A.; HARDING, I.H. Physicochemical characterization of solid lipid nanoparticles (SLNs) prepared by a novel microemulsion technique. **Journal of colloid and interface science**, v.428, p 286-294, 2014.

Silva Júnior, M. C. 100 árvores do Cerrado: guia de campo. Brasília-DF: Rede de sementes do Cerrado, 2005. 278 p.

Simões, C.M. O. **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Editora Artmed, 502p, 2017.

Tadros, T. Application of rheology for assessment and prediction of the loeng-term physical stability of emulsions. **Advances in colloid and interface science**, v. 108- 109, p. 227-258, 2004.

Thompson, J. E. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006

Vincken, J. P, Heng L, Groot, A, Sdten, A. D. Saponina. Classificação e ocorrência no reino vegetal. **Phyto- Química** 68: 275-297 123, 2007.

Zanin, S. M. W. et al. Determinação do equilíbrio hidrófilo- lipofílico (EHL) de óleos de origem vegeta. **Visão acadêmica**, v. 3, n. 1, 2002

Zanon, A. B. Aspecto Teórico e prático sobre a avaliação da estabilidade de emulsão manipuladas em farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do sul, Porto Alegre, 2010.