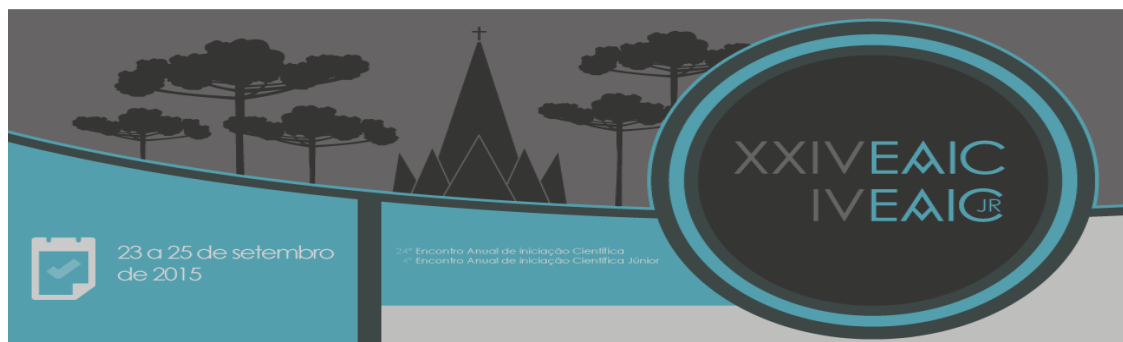




PRODUÇÃO DE EXTRATO, FRAÇÕES E FORMULAÇÃO DE *Stryphnodendron adstringens* PARA ENSAIO CLÍNICO EM MULHERES COM CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Milene Cripa Pizatto de Araújo (PIBIC/CNPq/Uem), Vanessa Kaplum, João Carlos Palazzo de Mello, Celso Vataru Nakamura (Orientador), e-mail: cvnakamura@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Microbiologia – Microbiologia Médica

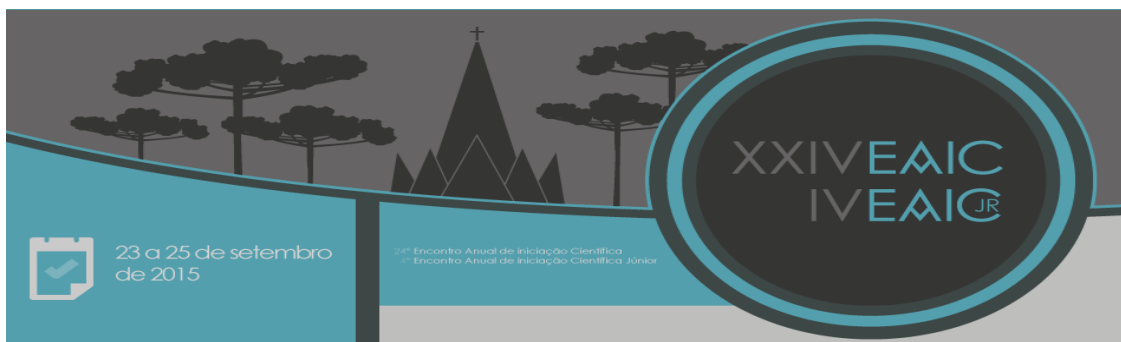
Palavras-chave: *Stryphnodendron adstringens*, formulação, *Candida albicans*.

Resumo

A fração aquosa do extrato de *Stryphnodendron adstringens* apresentou atividade antifúngica, em estudos anteriores. Desse modo, foram coletadas cascas da *S. adstringens* para produção de extratos e da formulação, com o objetivo de realizar ensaio clínico randomizado duplo-cego em mulheres com sintomatologia de candidíase vulvovaginal. As cascas coletadas foram secas, moídas e submetidas a turbo-extração em acetona 70%. Para a obtenção das frações, o extrato bruto foi particionado em acetato de etila:água (1:1), resultando em uma fração aquosa e outra fração acetato de etila. Finalmente, foi preparado o gel de carbopol com a fração aquosa do *S. adstringens*, que foi acondicionado em bisnagas identificadas com códigos numéricos randômicos. O ensaio clínico encontra-se em andamento, no processo de seleção das pacientes.

Introdução

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (barbatimão) é utilizado como antimicrobiano, cicatrizante e no tratamento de leucorréia, blenorragia, diarreias, disenterias, hemorragias (Sanches et al. 2005). Diversos estudos já foram realizados para avaliar a atividade antifúngica do *S. adstringens* frente à *Candida albicans*, tendo a fração aquosa apresentado atividade igual a 7,80 µg/mL, e citotoxicidade *in vitro* em células Vero e macrófagos J774G8 superior a 100 µg/mL (Ishida, et al. 2006). A segurança toxicológica *in vivo* da fração aquosa de *S. adstringens* foi investigada por meio da



genotoxicidade, toxicidade aguda e crônica, não havendo alterações significativas (Costa et al., 2010; 2013).

Considerando a atividade antifúngica evidenciada pela fração aquosa do *S. adstringens*, propôs-se avaliar a eficácia do uso terapêutico desta em mulheres com candidíase vulvovaginal.

Materiais e métodos

Coleta das cascas de S. adstringens

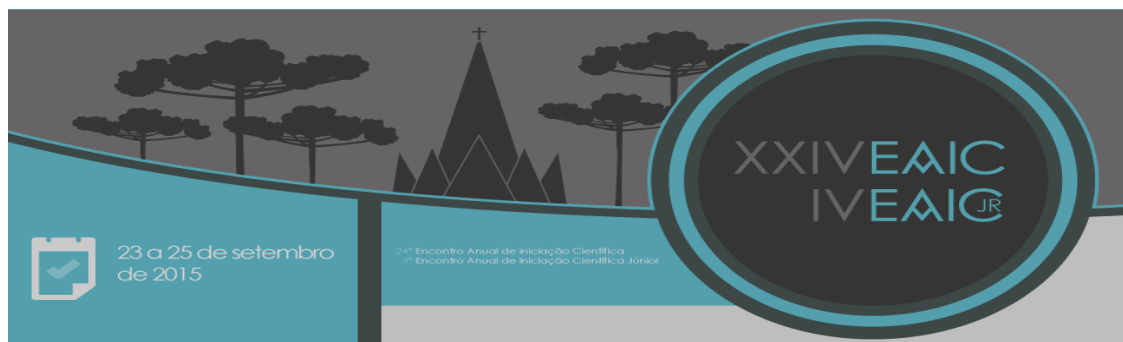
Cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville coletadas em São Jerônimo da Serra, Paraná, Brasil (23°43'78"S, 50°45'24"W) e a exsicata depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá, sob o registro HUEM 28197.

Obtenção do extrato e frações de S. adstringens

Para a obtenção do extrato, as cascas foram secas em estufa climatizada e ventilada a 35,9 °C, e moídas em moinho de martelos. Por turbo-extração com acetona:água (7:3), obteve-se o extrato bruto, que foi inicialmente agitado por 5 min e mantido 12 h em repouso. Foram ainda realizados 4 ciclos de 5 min de agitação e 20 min de repouso, seguidos de filtração do extrato em funil Buchner. Finalmente a acetona foi retirada por rota-evaporação e o extrato bruto foi liofilizado. Para a obtenção das frações, o extrato liofilizado foi particionado com acetato de etila:água (1:1), utilizando-se funil de separação, em que 50 g de extrato bruto foram particionados com 500 mL de acetato de etila e 500 mL de água, processo repetido 10 vezes. A fração aquosa (F2) e a fração acetato de etila também foram rota-evaporadas e liofilizadas.

Desenvolvimento farmacotécnico: gel de carbopol contendo fração aquosa de S. adstringens (F2)

Foi preparado gel base de carbopol 940®, o polímero foi aquecido à temperatura de $55 \pm 2^\circ\text{C}$, com agitação magnética constante por 10 min, para completa hidratação. Em seguida, foi neutralizado com solução saturada de carbonato de sódio até pH 6. O conservante utilizado foi o metilparabeno. A fração ativa do extrato aquoso de *S. adstringens* (F2) foi incorporada na concentração de 2,5% p/p, e o gel agora contendo a fração



foi acondicionado em bisnagas, identificadas com códigos numéricos, de acordo com lista de números randômicos.

Resultados e Discussão

As árvores de *S. adstringens* utilizadas para coleta das cascas apresentavam entre 2 e 3 m de altura (Figura 1 A). Os folíolos evidenciavam coloração verde, com tons entre lima e verde grama. A casca mostrou coloração pardo-esverdeada na superfície externa e pardo-avermelhada na superfície interna, tal como na literatura (Figura 1 B).

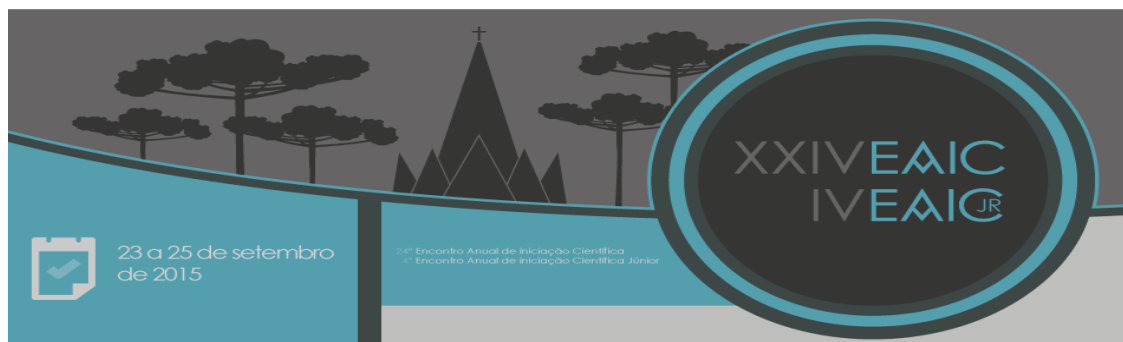


Figura 1. Coleta das cascas frescas de *S. adstringens*, na cidade de São Gerônimo da Serra/PR (A). Cascas frescas retiradas do tronco das árvores e, cascas picadas (B).

As cascas frescas obtidas foram picadas manualmente, resultando em 18,599 Kg; este montante foi depois colocado em estufa com circulação de ar a 35,9 °C, onde permaneceu secando até estabilização do peso das amostras coletadas aleatoriamente. O peso final das cascas secas de *S. adstringens* foi igual a 9,174 Kg, ou 49,33% do peso inicial, assim houve perda de 50,67% de água. As cascas secas foram moídas em moinho de martelo, resultando em 8,972 Kg de pó da casca. Desse modo, o rendimento foi de 97,8% e a perda pelo processo de moagem foi de 2,20%.

O extrato bruto foi feito por turbo-extração em acetona 70% em água, tendo sido produzido a partir de 4,013 Kg de pó da casca, e resultou em 1,656 Kg de extrato bruto. O rendimento foi, portanto, de 41,28% e houve perda de 58,72% durante o processamento.

Finalmente, a produção das frações a partir da partição em acetato de etila:água foi realizada a partir de 357,2 g do extrato bruto, apresentando um rendimento de 72,71% (259,75 g) da fração aquosa (F2) e de 27,24% (97,3 g) da fração acetato de etila (F3).



A fração aquosa de *S. adstringens* foi destinada à produção de uma formulação para realização da pesquisa clínica em mulheres acometidas por candidíase vulvovaginal, que está sendo desenvolvida pelo nosso grupo de pesquisa. O gel contendo a fração aquosa (F2) foi acondicionado em bisnagas, que foram numeradas sequencialmente, de acordo com lista de números randômicos. As formulações já estão sendo dispensadas para as mulheres selecionadas para participação no ensaio clínico.

Conclusões

O extrato bruto, frações e formulação foram produzidos em grande quantidade, de forma a atender a demanda gerada pela pesquisa clínica. O ensaio clínico encontra-se em andamento, em processo de seleção das pacientes.

Agradecimentos

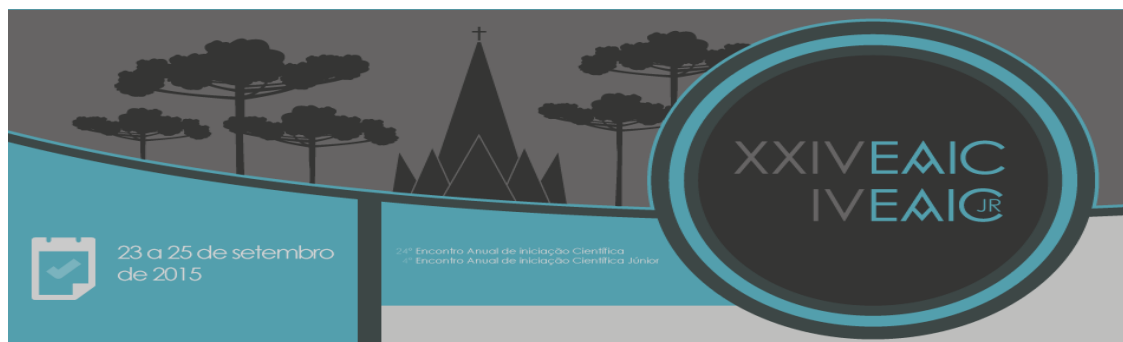
Ao CNPq pelo apoio e pela concessão de bolsa de iniciação científica.

Referências

COSTA, M. A.; Ishida K.; Kaplum V.; Koslyk E. D. A.; Mello J. C. P.; Ueda-Nakamura T.; Dias Filho B. P.; Nakamura C. V. Safety evaluation of proantocyanidin polymer-rich fraction obtained from stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (BARBATIMÃO) for use as a pharmacological agent. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 58, p. 303-335, 2010.

COSTA, M. A.; Mello J. C. P.; Kaneshima E. N.; Ueda-Nakamura T.; Dias Filho B. P.; Audi E. A.; Nakamura C. V. Acute and chronic toxicity of na aqueous fraction of the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) in rodents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, ID 841580, 9 páginas, 2013.

ISHIDA, K. ; Mello, J C P ; Cortez, D. A. G. ; Dias Filho, B. P. ; Nakamura, T. U. ; Nakamura, C. V.. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.58, p. 942-949, 2006.



SANCHES, A.C.C.; Lopes, G.C.; Nakamura, C.V.; Dias Filho, B.P.; Mello, J.C.P.; Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. ***Braslian Journal of Pharmaceutical Sciences.***, v. 41, n. 1, jan/mar., 2005.