OBTENÇÃO DE β-SITOSTEROL PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS NANOENCAPSULADOS

Francielle Schremeta Humacayo (PIBIC/UEPG), Cássia G. Magalhães (Orientadora), e-mail: cassiagmag@yahoo.com.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de química.

Química/ Química orgânica.

Palavras-chave: β-sitosterol, *Maytenus ilicifolia*, nanopartículas de prata.

Resumo

Maytenus ilicifolia apresenta efeitos comprovados sobre desordens estomacais. A utilização de seu extrato demonstrou vantagens em comparação ao uso de fármacos sintéticos usados no tratamento de gastrite e úlceras. Nesse trabalho foi isolado o fitoesteróide β-sitosterol do extrato hexânico das folhas de *M. ilicifolia*, um composto de alto interesse cientifico, devido a seus efeitos terapêuticos. Esse metabólito será aplicado posteriormente em lipossomas. Foi avaliado o potencial redutor do extrato etanólico das folhas de *M. ilicifolia*. Esse material demonstrou capacidade de reduzir a prata a nanopartículas de prata, que apresentaram diâmetros variados e formato esférico. Os resultados obtidos enfatizam a aplicabilidade de extratos vegetais em processos no contexto da química verde.

Introdução

Maytenus ilicifolia, conhecida popularmente como “espinheira-santa”, é amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de desordens gástricas.[1] Estudos clínicos utilizando seu extrato demonstraram ausência de toxicidade da espécie, com poucos eventos adversos relacionados ao uso.[1] A utilização dessa espécie demonstrou, ainda, vantagens ao uso de fármacos sintéticos inibidores da bomba de prótons, como o omeprazol, que gera vários efeitos colaterais.[1]

O fitoesteróide β-sitosterol é um composto encontrado em espécies do gênero *Maytenus* e apresenta atividade biológica diversificada, com destaque para atividade analgésica e antitumoral.[2] O β-sitosterol possui ampla margem de segurança, incentivando a realizações de mais pesquisas farmacológicas a seu respeito.

A nanotecnologia é uma das áreas da ciência em franca expansão, devido à possibilidade de aplicações nas mais variadas áreas.[3] As nanopartículas de prata se destacam por suas propriedades antimicrobianas eficientes.[4] Por isso, pesquisas que visam estudar a capacidade e a eficiência de extratos vegetais na obtenção de nanopartículas de prata são bastante relevantes. A utilização de extratos de plantas para a síntese verde de nanopartículas metálicas têm sido extensamente explorada[5], pelo fato das plantas produzirem biomoléculas capazes de reduzir íons metálicos em nanopartículas em apenas uma etapa.[6]

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo químico das folhas de *M. ilicifolia* visando a obtenção de *β*-sitosterol para posterior aplicação em lipossomas e avaliar o potencial do extrato etanólico dessa espécie na obtenção de nanopartículas de prata.

Materiais e Métodos

Preparo dos extratos das folhas de M. ilicifolia

As folhas de *M. ilicifolia* (500,68 g) foram coletadas de um exemplar adulto localizado no campus da UEPG. O material vegetal coletado foi seco, moído e submetido à extração a quente com etanol em aparelho Sohxlet. Após a filtração e remoção do excesso de solvente, o respectivo extrato etanólico bruto apresentou volume de 350 mL, com coloração verde bem escura. Posteriormente, o extrato foi submetido à extração líquido-líquido, empregando-se hexano, diclorometano e acetato de etila como contra-fase. Após as extrações, as fases orgânicas foram concentradas, obtendo-se os respectivos extratos.

Obtenção do β-sitosterol

O extrato hexânico das folhas de *M. ilicifolia* (14,37 g) foi submetido à purificação por cromatografia em coluna. Foram utilizadas como fase móvel 500 mL de misturas hexano, diclorometano e acetato de etila, em diferentes proporções, com aumento crescente de polaridade. Foram recolhidas 28 frações, que após comparação por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica) foram reunidas em 20 grupos. No grupo A01 (0,206 g), correspondente as frações 12 e 13, observou-se a presença de sólido cristalino aderido ao fundo dos tubos. Foi realizada então a lavagem desse sólido com acetona. Após purificação, essa amostra foi enviada para análise por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e para devida caracterização. Após a interpretação dos resultados da análise por RMN de ^{1}H e ^{13}C, e comparação dos dados obtidos com a literatura, confirmou-se que a amostra é o β-sitosterol.

Obtenção de nanopartículas de prata

Foi preparada uma solução aquosa de nitrato de prata a 1 mM. Uma alíquota do extrato etanólico das folhas de *M. ilicifolia* (150 mL), foi diluída com água destilada, na proporção 1:1000, apresentando uma coloração transparente. Transferiu-se 1,0 mL do extrato diluído para frascos de vidro contendo 3,0 mL de solução de nitrato de prata à 1 mM. Os frascos foram expostos à luz de lâmpada: 2 frascos por 15 minutos e 2 por 30 minutos, à temperatura ambiente. Posteriormente, as amostras foram examinadas por Microscópio eletrônico de Varredura de alta resolução (FEG) para a caracterização das nanopartículas de prata sintetizadas, no Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LABMU) da UEPG.

Resultados e Discussão

O composto A01 apresentou-se como um sólido branco, de ponto de fusão 135-137 ºC. No espectro de RMN de ^{1}H de A01 (Figura 1) observou-se um dubleto em δ_H 5,37, referente ao hidrogênio ligado ao carbono olefínico H-6, e um singleto em δ_H 0,70 característico do β-sitosterol. Foram observados também um duplo dubleto em δ3,53 referente ao hidrogênio carbinólico H-3, bem como os demais sinais do sistema esteroidal, observados entre δ_H 0,70 e δ_H 2,30, característicos de absorções de hidrogênios metílicos e metilênicos.

Baseado nesses dados espectrais de RMN de ^{1}H e por comparação destes com os dados encontrados na literatura (Tabela 1), o composto A01 foi identificado como o esteroide β-sitosterol.

Tabela 1 – Dados de RMN de ^1H ($CDCl_3$, 400 MHz) de **A01** e dados do *β*-sitosterol descritos na literatura (SAYEED, M. S. B. et al, 2016)**.**

Hidrogênio	A01 δ_H	*β* -sitosterol ($CDCl_3$) δ_H
3	3,53 (dd, *J*= 4,96; 11,04 Hz)	3,52 (dd, 1H, *J* = 4,8; 9,6Hz)
6	5,37 (d, *J*= 5,2 Hz)	5.35 (d, 1H, *J* = 5,2 Hz)
18	0,70 (s)	0,68 (s, 3H)
19	1,03(s)	1,01 (s, 3H)
21	0,94 (d, *J*= 6,6 Hz)	0,93 (d,3H, *J* = 6,5 Hz)
26	0,85 (s)	0,83 (s)
28	0,83 (s)	0,81 (s)
29	0,85 (s)	0,84 (s)

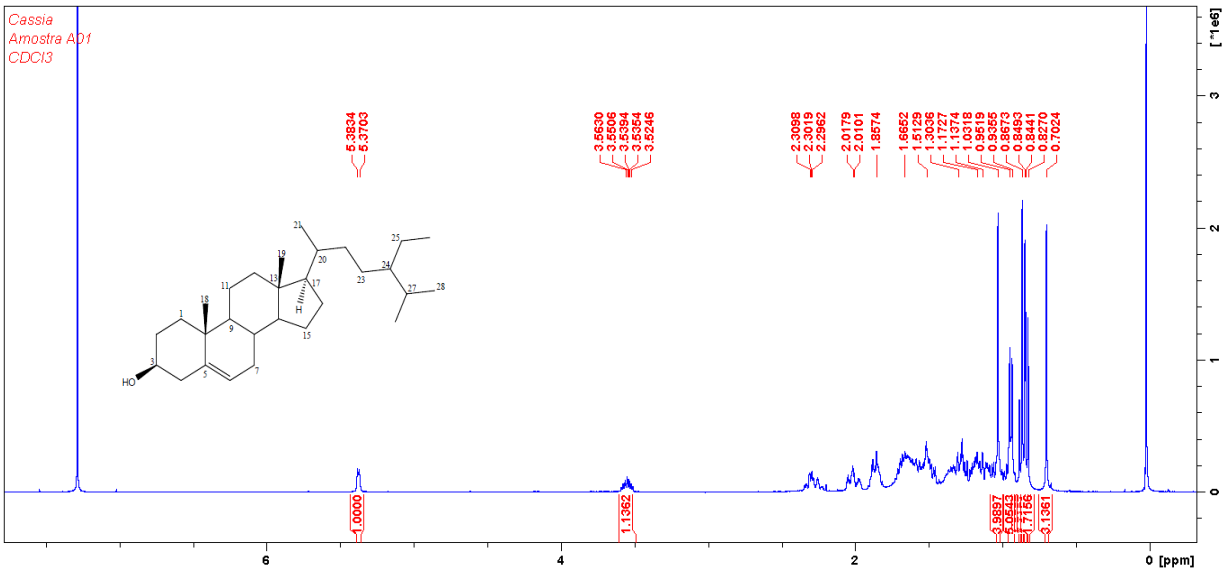
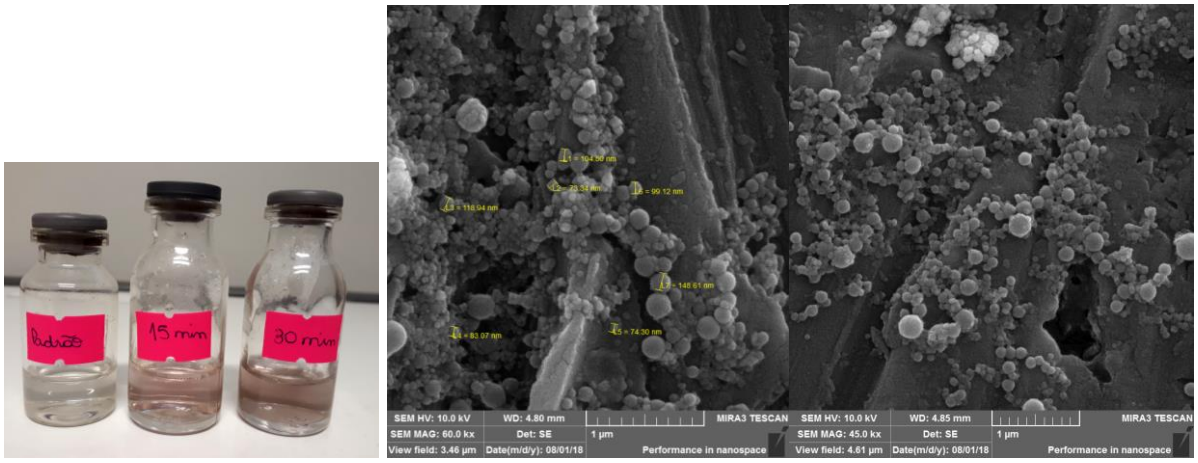


Figura 1 – Espectro de RMN de ^1H de **A01** (β-sitosterol) ($CDCl_3$; 400 MHz).

A literatura reporta a presença desse fitoesteróide em espécies do gênero *Maytenus*.[3] Esse composto será avaliado no preparo de lipossomas, em parceria com o grupo de pesquisa coordenado pela professora Josiane de Fátima Padilha de Paula, do departamento de Ciências Farmacêuticas da UEPG.

O extrato etanólico das folhas de *M. ilicifolia,* demonstrou capacidade de reduzir a prata a nanopartículas de prata. Observou-se que a cor da solução passou de transparente para um tom de lilás acinzentado após 15 e 30 minutos de reação, indicando a formação de nanopartículas (Figura 3A). Através da Microscopia Eletronica de Varredura de alta resolução (FEG) observou-se grande quantidade de nanoparticulas sintetizadas, que apresentaram diâmetros entre 10 nm e 200 nm. As nanoparticulas apresentaram morfologia esférica bem definida, com a presença de aglomerados (Figura 3B).



A **B** (C) (D)

Figura 3 – A) Mudança de coloração do extrato após a reação. **B)** Imagens obtidas por FEG das nanopartículas de prata sintetizadas com 15 (C) e 30 (D) minutos de reação.

Conclusões

Do extrato hexânico das folhas de *M. ilicifolia* foi obtido o β-sitosterol, um composto de alto interesse cientifico, visto que existem diversos estudos relatando sua expressiva atividade biológica. O extrato etanólico bruto das folhas de *M. ilicifolia* demonstrou a capacidade de reduzir a prata a nanopartículas de prata, as quais apresentaram diâmetros variados e formato esférico, fornecendo assim uma forma simples e eficiente para a síntese desses nanomateriais. Os experimentos foram realizados conforme o método da síntese verde, em uma única etapa, sem a utilização de solventes, com economia de energia, minimizando a geração de resíduos tóxicos.

Agradecimentos

Ao PIBIC – UEPG, pelo auxílio financeiro; à mestranda Natalia Restrepo Bolívar pelo auxílio na síntese e caracterização das nanopartículas.

Referências

1. TABACH, R.; ALMEIDA, J. M. D.; CARLINI, E. A. *Phytother. Res.* v. 31, p. 921–926, 2017.
2. SAEIDNIA, S.; MANAYI, A.; GOHARI, A. R.; ABDOLLAHI, M. *Eur. J. Med. Plants, v.* 4, p. 590-609, 2014.
3. ALMEIDA, J. C. B.; PALÁCIO, S. M.; FERREIRA, L. K.; DEON, M. T. M.; CAMPOS, E. A.; KERBER, K. C. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata. XXXVII ENEMP, *Universidade Federal de São Carlos*, 2015.
4. FREIRE, N. B.; PIRES, L. C. S. R.; OLIVEIRA, H. P.; COSTA, M. M. *Pesq. Vet. Bras*. v. 38, p. 244-249, 2018.
5. LOGESWARI, P.; SILAMBARASAN, S.; ABRAHAM, J.. *Sci. Iran. Transact. F: Nanotech.,* v. 20, p. 1049–1054, 2013.
6. IRAVANI, S. Green Chemistry . v. 13 , n. 10, 2011. p. 2638 - 2650.
7. SAYEED, M. S. B.; KARIM, S. M. R.; SHARMIN, T.; MORSHED, M. M. I. *Medicines*, v.3, p.29-54, 2016**.**