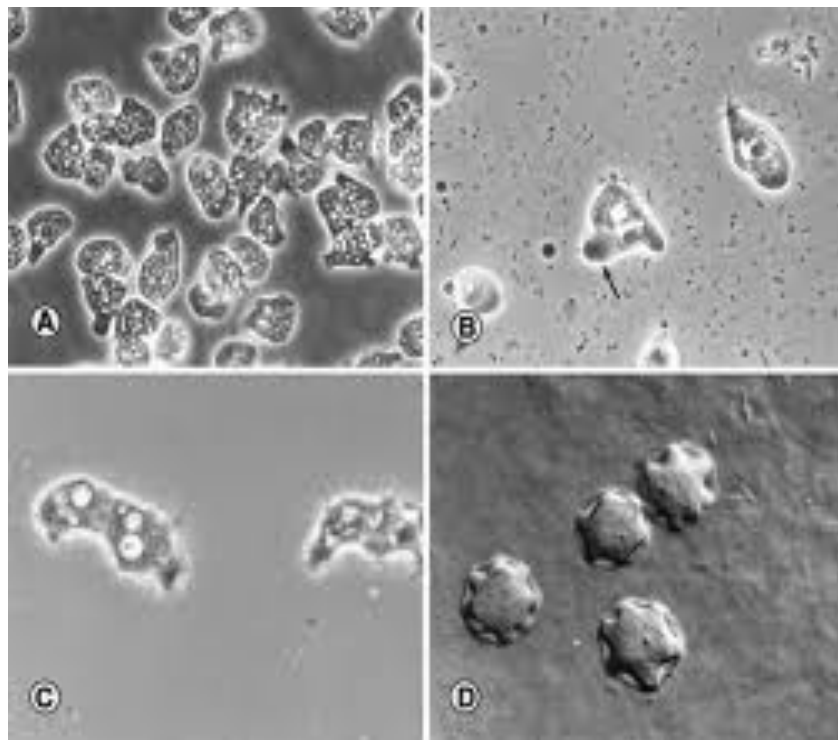


### Introdução

O número de casos de ceratite ocular por *Acanthamoeba* tem aumentado, especialmente devido ao aumento dos usuários de lentes de contato. O sucesso do tratamento é baixo, por conta do tempo de tratamento, inespecificidade e baixa adesão do paciente, mas principalmente devido a forma resistente de cisto do parasita (Figura 1).



**Figura 1.** A-C Trofozoítos de *Acanthamoeba* spp. (B, detalhe do núcleo; C, detalhe dos vacúolos). D) Forma cística da ameba.

Nesse sentido, a busca de novas alternativas tem sido amplamente descrita na literatura. Extratos de espécies do gênero *Pterocaulon*, tem demonstrado atividade antimicótica e antiparasitária, sendo estas atribuídas a presença de cumarinas nesses extratos. Nanoemulsões de uso ocular tem sido consideradas como potenciais carreadores de diversos fármacos devido à possibilidade de aumentar o tempo de contato dos fármacos com a superfície ocular podendo promover um aumento da disponibilidade local.



**Figura 2.** *Pterocaulon balansae* com inflorescências.

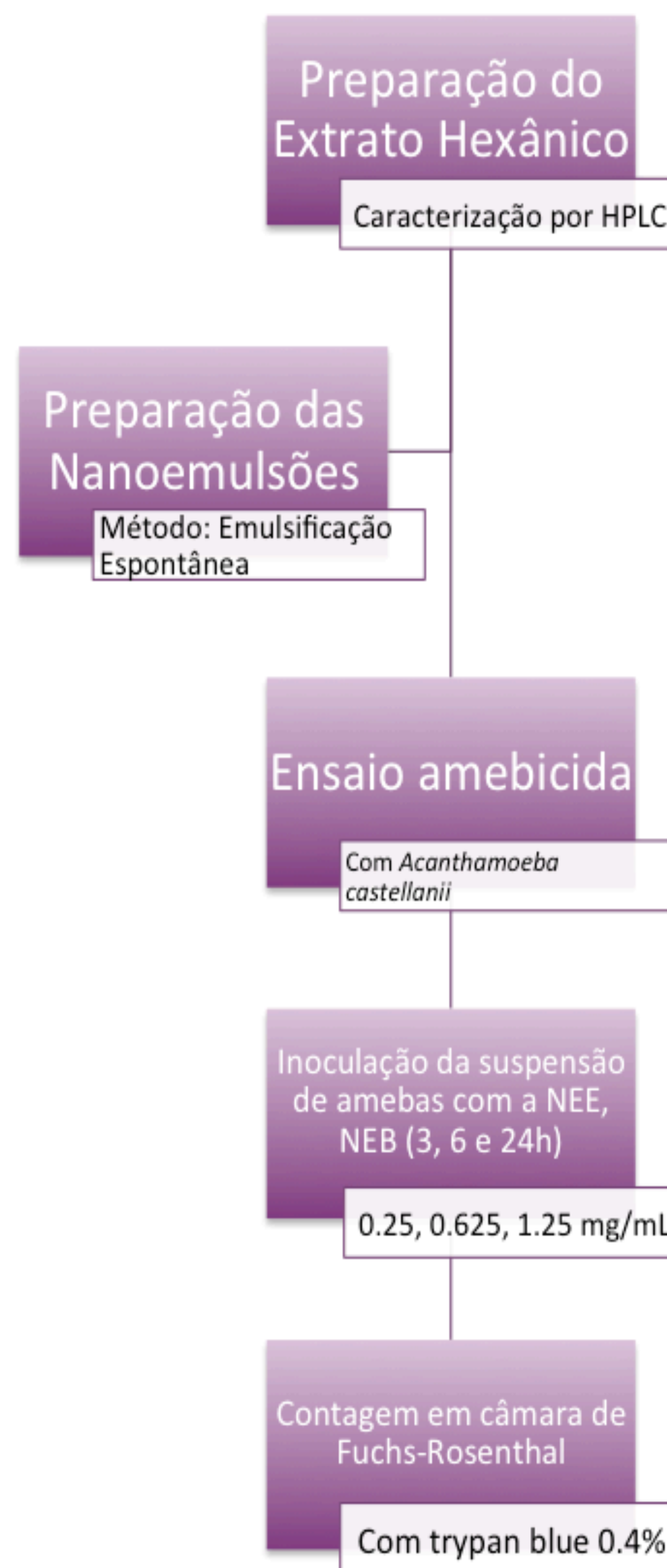
### Objetivos

O objetivo deste estudo foi desenvolver nanoemulsões contendo extrato hexânico de *Pterocaulon balansae* Chodat (rico em cumarinas) visando à obtenção de um produto de uso ocular com atividade amebicida

### Metodologia

O experimentos foram realizados conforme a Figura 3. O extrato hexânico foi preparado por maceração (razão solvente:droga de 5:1) e caracterizado por HPLC-UV/PDA/MS. A cumarina 5-MMDC foi escolhida o marcador. As nanoemulsões foram preparadas por emulsificação espontânea (2% lecitina e 8% triglicerídio de cadeia média e concentração variável de extrato – 1 a 5 mg/mL)

### Metodologia



**Figura 3.** Esquema ilustrando os experimentos desenvolvidos.

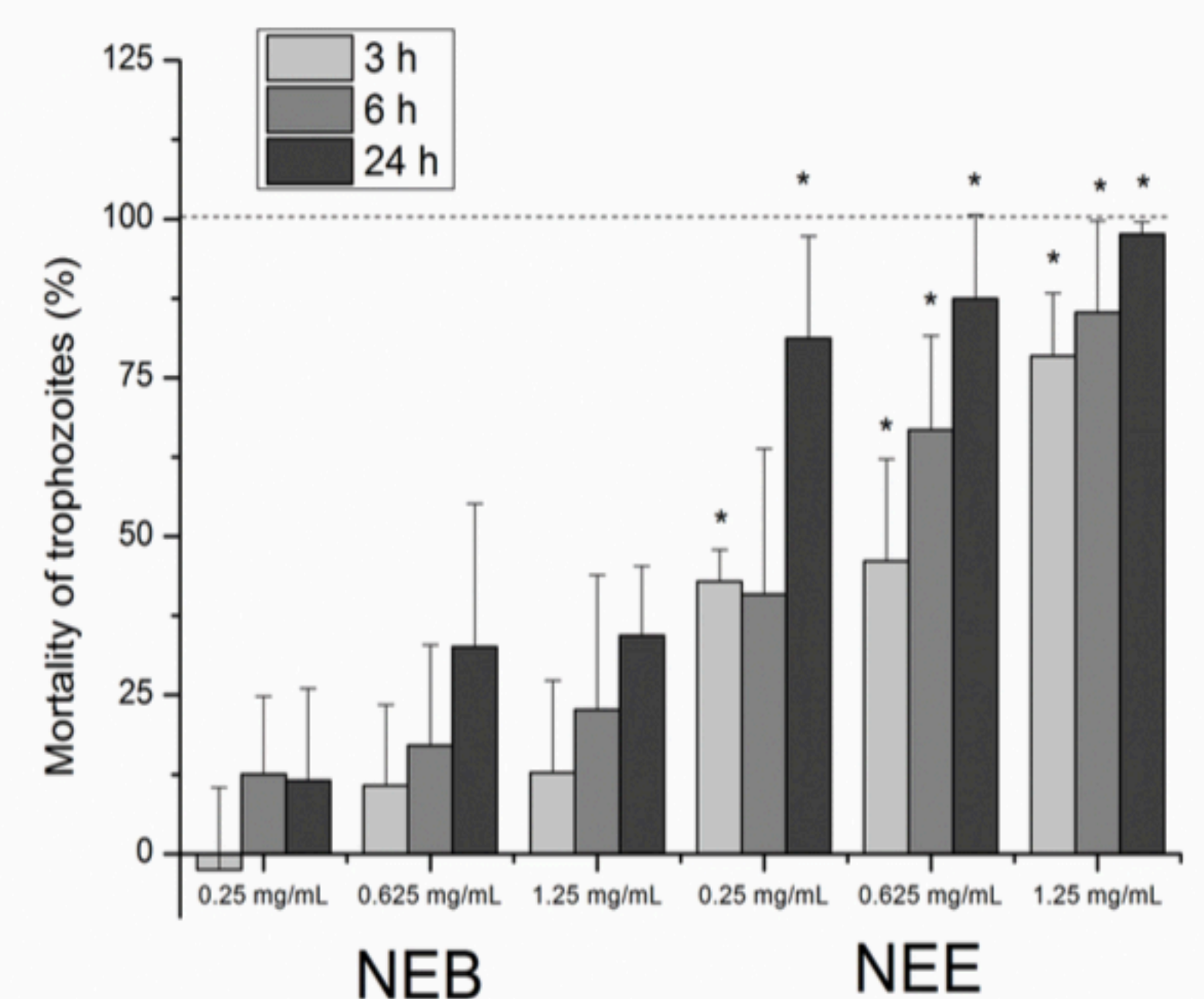
### Resultados

- ✓ Total de cumarinas obtidas do extrato 10.38%;
- ✓ Três diferentes formulações foram preparadas: nanoemulsões brancas (NEB; controle) e nanoemulsões contendo extrato (NEE).
- ✓ Tamanho médio de gotícula obtida foi entre 250-300 nm;
- ✓ Potencial zeta variou de -19 mV a -32 mV, havendo uma tendência a variar de acordo com a quantidade de extrato incorporada.
- ✓ NEB não mostrou interferir na viabilidade das amebas;
- ✓ NEE resultou em uma mortalidade dose-dependente e tempo-dependente para trofozoítos de *Acanthamoeba* (AP2);
- ✓ A eficácia do tratamento foi comparável com clorexidina (fármaco de primeira escolha) quando utilizada a maior concentração e maior tempo de incubação.

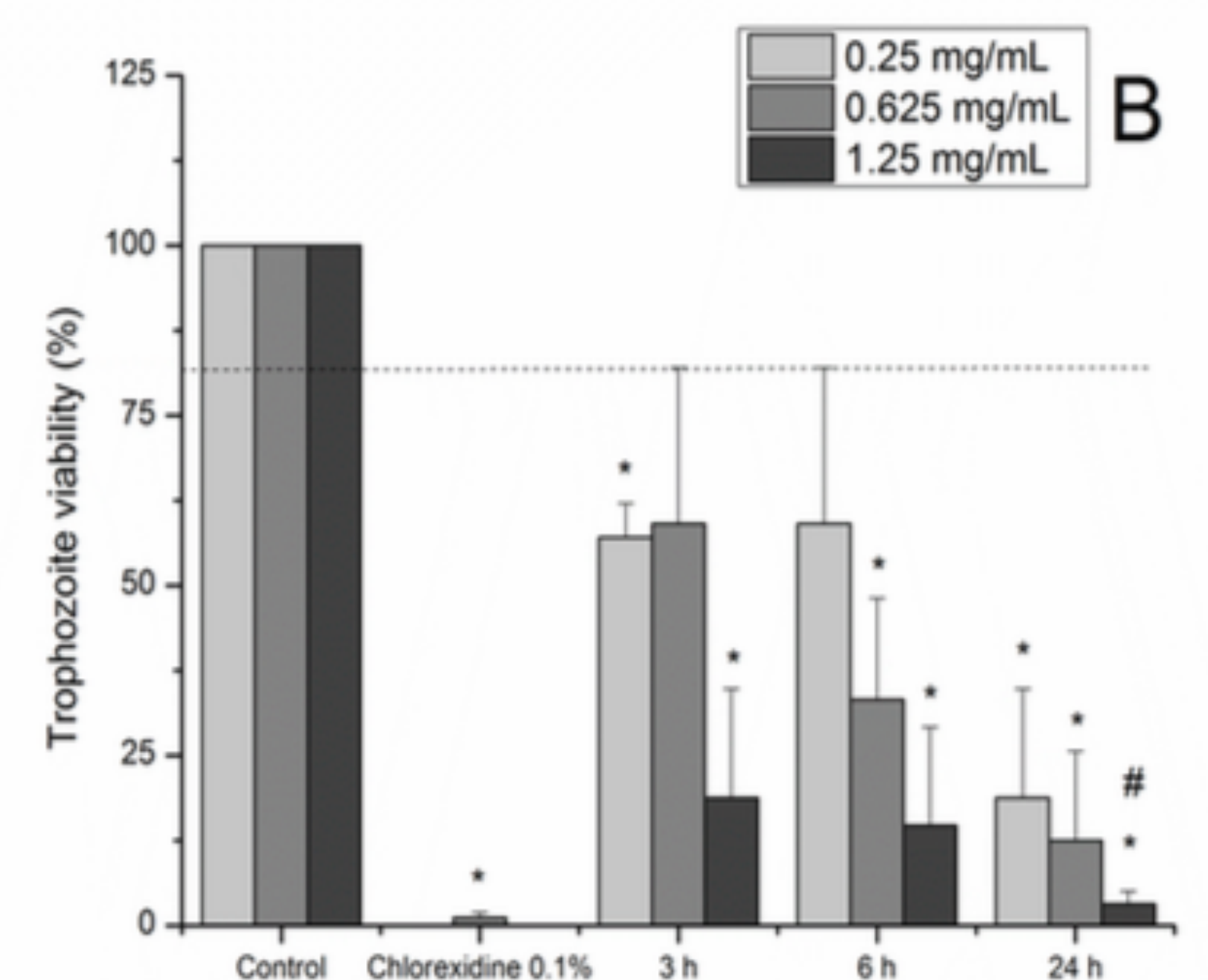
### Resultados

**Tabela 1.** Propriedades físico-químicas da nanoemulsão branca (NEB) e nanoemulsões com diferentes concentrações de extrato bruto (NEE 1.0-5.0 mg/mL).

	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)	Teor 5MMDC (mg/mL)
NEB	254 ±56	-34.3 ±0.7	-
NEE 1.0	295 ±86	-32.4 ±8.9	0.165 ± 0.001
NEE 2.5	251 ±37	-19.6 ±4.6	0.318 ± 0.004
NEE 5.0	276 ±54	-21.5 ±5.9	0.669 ± 0.026



**Figura 3.** Comparação entre a atividade de nanoemulsão com o extrato (NEE) e a nanoemulsão branca (NEB).



**Figura 4.** Viabilidade da *Acanthamoeba castellanii* frente à NEE nas concentrações utilizadas.

### Conclusões

- Estudo demonstrou bom potencial para tratamento de ceratite com o extrato hexânico de *Pterocaulon balansae* incorporado nas nanoemulsões.
- A atividade amebicida das formulações contra *Acanthamoeba castellanii* foi dependente da dose e do tempo de incubação, sendo 24 horas e a concentração de 1,25 mg/mL considerada como ótima (~5% de viabilidade).

### Agradecimentos

### Referências

- Visvesvara, G. S.; Moura, H.; Schuster, F. L., Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol* 2007, 50, 1-26.
- Panjwani, N., Pathogenesis of Acanthamoeba Keratitis. *Ocular Surface* 2010, 8, (2), 70-79.
- Alarcón, R.; Flores, R. C.; Ocampos, S.; Lucatti, A.; Galleguillo, L. F.; Tonn, C.; Sosa, V., Flavonoids from *Pterocaulon alopecuroides* with Antibacterial Activity. *Planta Medica* 2008, 74, (12), 1463-1467.
- Tadros, T.; Izquierdo, P.; Esquena, J.; Solans, C., Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* 2004, 108- 109, 303-318.
- Magalhães, A. F.; Magalhães, E. G.; Leitão Filho, H. F.; Frighetto, R. T. S.; Barros, S. M. G., Coumarins from *Pterocaulon balansae* and *P. lanatum*. *Phytochemistry* 1981, 20, (6), 1369-1371.