

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA E DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO SEMI-SÓLIDA DE USO TÓPICO

*Marcielli Indiara de Oliveira*<sup>1</sup>  
*Manuella Schneider*<sup>2</sup>  
*Maira Braga da Rosa*<sup>3</sup>  
*Chana Medeiros da Silva*<sup>4</sup>  
*Maria Silvana Aranda Moraes*<sup>5</sup>  
*Rosana de Cassia de Souza Schneider*<sup>6</sup>  
*Lourdes Teresinha Kist*<sup>7</sup>

### RESUMO

As plantas medicinais são muito conhecidas e utilizadas pela maioria da população, sendo empregadas para diversas finalidades, tais como na culinária, perfumaria, e na terapêutica, atuando tanto na prevenção quanto no tratamento de doenças. A espécie *Melaleuca alternifolia*, é uma planta medicinal rica em óleo essencial e com poderosa ação antimicrobiana e antifúngica. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi realizar a extração do óleo essencial da melaleuca e avaliar sua composição química, bem como desenvolver uma formulação semi-sólida de uso tópico para a incorporação do óleo. O óleo foi extraído por arraste a vapor, utilizando-se de um aparelho do tipo *Clevenger* nos tempos de 4 e 6 horas e sua composição química foi avaliada por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/MS). Após obtenção do óleo, o mesmo foi incorporado na formulação e avaliada sua estabilidade preliminar e acelerada. O rendimento do óleo extraído foi de 0,82% para 4 horas e 1,59% para 6 horas. Através das análises cromatográficas foi possível obter um perfil do óleo extraído, encontrando os compostos  $\alpha$  – terpineno,  $\gamma$ - terpineno,  $\rho$  – cimeno, terpinen-4-ol, 1,8 – cineol como majoritários. Após incorporação do óleo de melaleuca (4%) na pomada, a formulação foi aprovada nos estudos conduzidos quanto aos critérios de cor, odor, aspecto e pH.

**Palavras-chave:** *Melaleuca alternifolia*. Óleo essencial. Formulação semi-sólida.

### ABSTRACT

Medicinal plants are well known and widely used by the majority population, being also used for various purposes as cooking, perfumery, aromatherapy, etc. Among their benefits, the treatment and prevention of diseases can also result into development of new products. *Melaleuca alternifolia* is a plant rich in essential oil with a powerful antimicrobial and antifungal action. Thereby, this study aimed to perform the extraction of melaleuca essential oil and to evaluate its chemical composition, developing a semi-solid formulation for topical use in order to incorporate the oil. The oil was extracted by steam distillation for 4 and 6

<sup>1</sup> Aluna do Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul.

<sup>2</sup> Aluna do Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul.

<sup>3</sup> Aluna do Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul.

<sup>4</sup> Professora do Departamento de Biologia e Farmácia na Universidade de Santa Cruz do Sul. <csilva@unisc.br>

<sup>5</sup> Pesquisadora no PPGTA – UNISC.

<sup>6</sup> Professora do Departamento de Química e Física na Universidade de Santa Cruz do Sul. <rosana@unisc.br>

<sup>7</sup> Professora do Departamento de Química e Física na Universidade de Santa Cruz do Sul <lourdes@unisc.br>

hours using a Clevenger apparatus and its chemical composition was evaluated by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). After obtaining the oil, it was incorporated into the formulation and finally it was evaluated its stability both accelerated and preliminary. The yield of the extracted oil was 0,82% for 4 hours and 1,59% for 6 hours. Through chromatographic analysis it was possible to obtain a profile from the extracted oil, identifying the major compounds  $\alpha$  - terpinene,  $\gamma$ - terpinene,  $\rho$  - cymene, terpinen-4-ol, 1,8 - cineole. After the melaleuca oil incorporation (4%) in the ointment, the formulation was approved in the studies conducted regarding the criterion of color, odor, appearance and pH.

**Keywords:** *Melaleuca alternifolia*. Essential oil. Semi-solid formulation.

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais despertam cada vez mais o interesse de pesquisadores que buscam estudar seu uso terapêutico. Nos últimos anos, ocorreu um aumento significativo na busca por medicamentos alternativos, o que propiciou um avanço nas pesquisas relacionadas com o uso farmacológico das plantas medicinais para a cura dos mais variados tipos de doenças (OLIVEIRA et al., 2011).

A procura por medicamentos naturais por parte dos consumidores deve-se ao custo elevado dos medicamentos convencionais industrializados e, muitas vezes, pela dificuldade que a população tem ao acesso à assistência médica e aos medicamentos (OLIVEIRA et al., 2011).

Compostos de origem vegetal, como os óleos essenciais, têm sido utilizados para aplicações medicinais, entre eles a melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), pertencente à família das mirtáceas (*Myrtaceae*). Ela é uma espécie de árvore nativa da Austrália que possui em seu óleo uma grande importância, devido a seu efeito antimicrobiano e anti-inflamatório já conhecido (BENELLI et al., 2013).

O fato de muitos micro-organismos causarem diversas enfermidades e terem se mostrado resistentes aos tratamentos convencionais também tem impulsionado a busca por tratamentos baseados na medicina natural (CARSON et al., 2006).

Segundo Martins et al. (2010), a constituição química do óleo essencial da melaleuca é bem conhecida, sendo o mesmo rico em terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineno,  $\gamma$ -terpineno, 1,8-cineol, principais responsáveis por suas propriedades medicinais. Esse óleo pode ser extraído das folhas, ramos e caule, tendo a sua composição documentada pela ISO 4730 (International Organization for Standardization, 1996).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A melaleuca é uma árvore pertencente à família das mirtáceas (*Myrtaceae*) que se subdivide em duas subfamílias: *Myrtoidea*, de ampla ocorrência na América Tropical, e *Leptospermoideae*, que ocorre principalmente na Austrália, Malásia e Polinésia. O gênero *Melaleuca* pertence a esta última, incluindo aproximadamente 100 espécies nativas na Austrália e nas ilhas do Oceano Índico. (VIEIRA et al., 2004).

Estas árvores têm uma casca fina e folhas longas e pontiagudas que, quando partidas, exalam um aroma forte. Em geral, elas podem atingir sete metros de altura, sendo cortadas após 15 meses do cultivo e recortadas a cada ano, pois seu crescimento é rápido (SIMÕES, et. al., 2002).

Ela é também chamada de árvore do chá (do inglês *Tea Tree*), nome que foi estabelecido por conta de suas folhas, uma vez que estas eram utilizadas para preparar um chá aromático. As propriedades de cura das folhas da árvore do chá já eram bem conhecidas dos australianos aborígenes ao norte de Nova Gales do Sul na Austrália. As folhas eram maceradas em água durante longos períodos (horas ou até mesmo dias) e depois empregadas para o tratamento de resfriado comum, dor de garganta, picadas de insetos, feridas ou infecções fúngicas da pele (SALLER et al., 1998).

O óleo essencial de melaleuca foi obtido pela primeira vez em 1925 por Arthur Penfold, curador do Museu Australiano de Artes e Ciências Aplicadas, que o destilou e também avaliou suas propriedades germicidas com ampla ação bacteriana e antifúngica (HAMMER et. al., 2006).

De acordo com Saller e colaboradores (1998), quando começou a grande procura pela planta durante a Segunda Guerra Mundial, o óleo essencial foi utilizado em grandes quantidades como agente antisséptico. Porém, com o tempo, perdeu importância devido à descoberta da penicilina, desde então, programas de estudo a respeito dessa planta foram interrompidos. Na década de 70, com a resistência dos micro-organismos frente ao uso de antibióticos, o óleo de melaleuca foi “redescoberto”.

O Comitê Australiano de Padronização estabelece que o óleo de melaleuca deve conter no mínimo 30% de terpinen-4-ol e no máximo 15% de 1,8-cineol, para que tenha eficácia mínima como antisséptico. Esses níveis são indicados principalmente porque o cineol é um conhecido irritante da pele e o terpinen-4-ol é apontado como o maior contribuinte da atividade antimicrobiana dentre os constituintes deste óleo (SIMÕES et al., 2002).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Material Botânico

As folhas de *Melaleuca alternifolia* foram coletadas no município de Novo Cabrais – (RS), localizado a 29 ° 44 '46.9 "de longitude sul e em 53 ° 00 '10.8" na latitude oeste, a uma altitude de 69,3m, no mês de abril de 2014 no período da manhã. A espécie foi identificada e depositada em Herbário do Departamento de Biologia e Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), sob número de registro 03843 (Figura 1).



**Figura 1.** Imagens da *Melaleuca alternifolia* a) Plantação de *Melaleuca alternifolia* b) partes aéreas picadas

#### 3.2 Extração do óleo essencial

As folhas de *Melaleuca alternifolia* foram fragmentadas em três porções de 75 g cada e submetidas à extração por arraste a vapor em aparelho do tipo *Clevenger* com 1,5 L de água destilada e deixadas em aquecimento por 4 e 6 horas. Após extração, os óleos obtidos foram secos com sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anidro para remover qualquer traço de umidade. O rendimento do óleo essencial foi calculado através da relação de massa de óleo encontrado com a massa de material vegetal seco. Todas as extrações foram feitas em triplicatas e os seus óleos obtidos foram armazenados sob-refrigeração até serem analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS).

#### 3.3 Cromatografia gasosa-espectrometria de massa (CG/MS)

Para a avaliação dos compostos químicos, preparou-se uma amostra de cada extração (0,02 g/mL). A análise cromatográfica foi realizada utilizando-se o aparelho Shimadzu®

GCMS-QP 2010 Plus (Tokyo, Japão), no laboratório de Cromatografia do Curso de Química da UNISC.

Os compostos presentes no óleo de melaleuca foram separados em uma coluna capilar DB5 (5 % difenil – 95 % dimetilpolisiloxano, Ohio Valley, CA, USA), com 30 m de comprimento 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de fase estacionária. A fase móvel utilizada foi o hélio (ultra puro adquirido da White Martins Gases Industriais, Canoas, Brasil, 99,999 %), sendo este empregado como gás de arraste e a sua taxa de fluxo foi de 1 mL/min. O volume de injeção foi de 1  $\mu\text{L}$  no modo de injeção com divisão de fluxo *split* 1:100. A programação de temperatura do forno iniciou em 60 °C aumentando até 260 °C com uma taxa de aquecimento de 5 °C  $\text{min}^{-1}$ , onde permaneceu até o final da corrida que teve duração de 40 min. A energia de ionização por impacto de elétrons foi de 70 eV.

A avaliação dos compostos presentes no óleo de melaleuca foi efetuada através da comparação dos espectros de massas dos compostos da biblioteca do equipamento (Wiley mass spectro library Wiley MS 6<sup>th</sup> edition ) e através de comparação dos tempos de retenção para dois padrões, terpinen-4-ol e  $\alpha$ -terpineno, preparados em concentração de 10 mg  $\text{mL}^{-1}$  em diclorometano.

### 3.4 Formulação semi-sólida de lanovaselina

A formulação foi preparada segundo descrição do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira no Laboratório de Cosmetologia do Curso de Farmácia da UNISC. Misturamos em um graal 30 g de lanolina anidra e 100 g de vaselina sólida. Após a homogeneização, foi adicionado 0,02 g butil-hidroxitolueno (BHT) previamente solubilizado em vaselina líquida até a homogeneização completa. Em seguida, foi acrescentado o óleo essencial de melaleuca extraído (4,0 %). A formulação foi armazenada em uma embalagem plástica e deixada em repouso por 24 horas em condições normais de temperatura e pressão.

### 3.5 Teste de estabilidade

Para a realização dos testes de estabilidade, parte da formulação (10g) foi submetida a condições distintas de temperatura: Aquecimento em estufa:  $T = 40 \pm 2$  °C, Ciclos alternados de resfriamento e aquecimento (ciclo gela-degela): ciclos de 24 horas a  $45 \pm 2$  °C, e 24 horas a  $5 \pm 2$  °C, e resfriamento  $5 \pm 2$  °C.

Foi realizada a análise das características organolépticas (aspecto, cor, odor) e homogeneidade, bem como a determinação do pH durante 15 dias em períodos de tempo pré-estabelecidos (tempo zero, 7º e 14º dia) e, posteriormente, em 30, 60 e 90 dias.

Uma amostra de referência, denominada controle, foi mantida à temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) ao abrigo da luz para avaliar o aspecto, cor, odor, pH e a homogeneidade da formulação (BRASIL, 2011).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Análise do rendimento**

Após obtenção dos óleos essenciais da melaleuca em diferentes tempos de extração, observamos que o obtido no tempo de 4 horas apresentou um rendimento de 0,82%, enquanto que a extração no tempo de 6 horas forneceu rendimentos maiores de 1,59%.

O método de destilação por arraste a vapor pode provocar degradação de alguns compostos presentes no óleo essencial devido ao longo período de tempo em que a matéria-prima permanece em contato direto com a água quente (SERAFINI et al., 2002). Ou seja, a duração do processo de destilação é um parâmetro importante que influencia sobre o rendimento e a composição dos óleos essenciais.

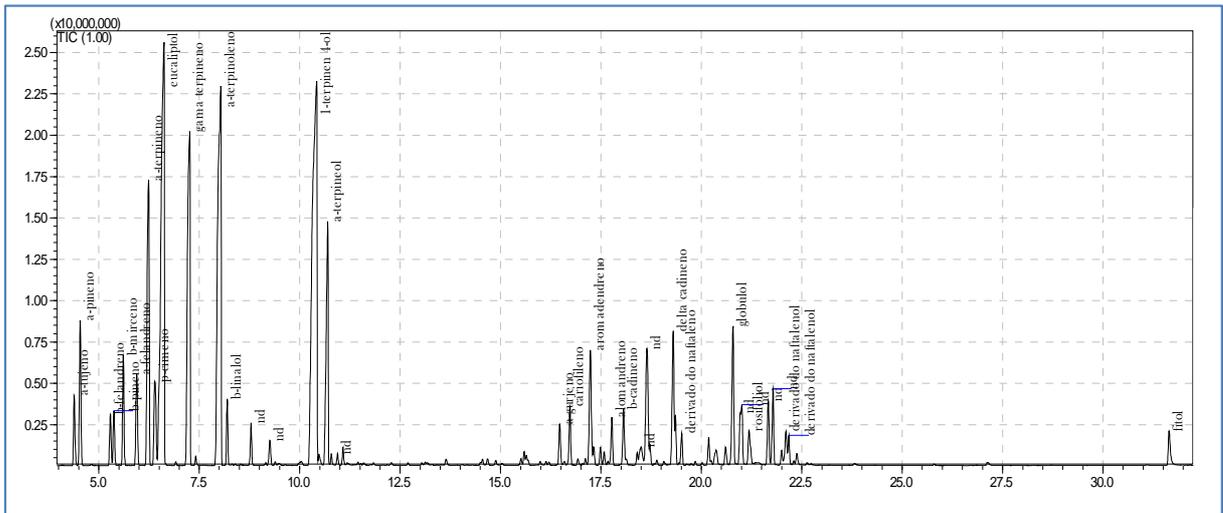
### **4.2 Avaliação e caracterização dos constituintes do óleo essencial de *M. alternifolia***

Através das análises por cromatografia gasosa, acoplada com espectrômetro de massas (CG/MS), foi possível obter um perfil químico dos óleos extraídos.

Na identificação, foram analisados apenas os picos principais encontrados no CG que apresentavam um espectro de fragmentação de massas (no MS) com mais de 90 % de similaridade com os dados contidos na biblioteca do equipamento. Alguns compostos, mesmo com mais de 90% de similaridade com a biblioteca de espectros de massas, foram considerados apenas como derivados de um grupo de compostos, devido à possibilidade das informações de posição dos grupos funcionais e ramificações puderem ser diferentes do que estava sendo indicado.

Na sobreposição da sextuplicata de extratos obtidos com 4 horas e 6 horas, todos os extratos apresentaram os mesmos picos. Com relação à proporção de cada componente separado no cromatograma, no modo íon total (TIC), observou-se que alguns extratos apresentaram maior intensidade, no entanto, a proporção entre esses picos mantiveram-se. Na Figura 1, podemos observar o perfil químico do óleo essencial de melaleuca.

**Figura 1.** Principais constituintes do óleo essencial de melaleuca.



Segundo Hammer (2003), existem cerca de 100 componentes no óleo essencial da melaleuca. Discriminadamente, sua composição química contém um perfil cromatográfico e, ao mesmo tempo, uma composição percentual para 15 componentes. Alguns dos componentes principais terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno e  $\alpha$ -terpineno correspondem cerca de 70 % da composição total do óleo, enquanto p-cimeno, terpinoleno,  $\alpha$ -terpineol e  $\alpha$ -pineno representam apenas 15 % do total do óleo, sendo o restante os compostos em menor porcentagem.

### 4.3 Formulação desenvolvida e estabilidade

A formulação contendo óleo essencial, submetida aos testes de estabilidade preliminar e acelerada, mostrou-se estável em relação às amostras controle, sem alteração no aspecto, odor e homogeneidade. Quando analisado nos períodos de tempo pré-estabelecidos, o óleo manteve-se uniforme, com coloração amarelada e odor característico. Por último, observamos que o líquido não apresentou separação de fases, comprovando a estabilidade física das formulações quando expostas a essas temperaturas.

Quanto às análises do pH, as mesmas apresentaram uma leve diminuição nos seus valores, podendo então ser visualizadas no caso de formulações que contenham em sua composição óleos vegetais. Uma diminuição no pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos que, por sua vez, geram ácidos graxos livre, ocorrendo diminuição do pH, no qual as formulações foram submetidas a mudanças bruscas de temperatura (MARTINI, 2005).

O estudo de estabilidade de formulações cosméticas auxilia na orientação do desenvolvimento e compatibilidade com material de embalagem, na estimativa do prazo de validade, assegurando que as características físicas e químicas responsáveis pela sua eficácia serão mantidas durante o prazo de validade estabelecido. O perfil de estabilidade de um produto é um dos parâmetros utilizados para avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além de sua aceitação pelo consumidor (BRASIL, 2014).

## 5 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, foi possível concluir que, quanto maior o tempo de extração, maior a quantidade de óleo extraído. No entanto, também foi perceptível a não alteração da composição em relação aos compostos identificados.

Quanto à formulação desenvolvida, foi observado que a mesma apresentou-se estável e apta para utilização.

Os óleos essenciais têm se mostrado fundamentais quanto ao seu benefício, sendo então considerados uma eficiente fonte de produtos naturais no tratamento de patógenos resistentes a medicamentos. Além disso, tem se potencializado o uso desses óleos como alternativa para doenças infecciosas, pois estes constituem uma fonte de compostos orgânicos naturais muito promissoras no combate de diversas doenças.

## REFERÊNCIAS

BENELLI, G. et al. Biototoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), the its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Industrial Crops and Products*, Pisa, n. 1, v. 50, p. 596-603, ago. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Diário Oficial da União, Brasília, 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/cosmeticos.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2014.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, n. 1, v. 19, p. 50-62, jan. 2006.

HAMMER, K. A. ; CARSON, C. F. ; RILEY, T. V . Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, Crawley, n. 1, v. 95, p. 853–860, jun. 2003.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 4730:2004. Oil of *Melaleuca terpin-4-ol* type (Tea tree oil). Geneva Switzerland: ISO, 1996.

LEE, L. S. et al. Geographic variation in the essential oils and morphology of natural populations of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Biochemical Systematics And Ecology*, Austrália, n. 4, v. 30, p. 343-360, 2001.

MARTINI, E. *Nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos: formulação e caracterização físico-química*. Porto Alegre, 2005. 106 p.. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2005.

MARTINS, J. A. S. et al. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. *Biosci J*. Uberlândia, n. 1, v. 27, p. 49-51, jan./fev. 2010.

OLIVEIRA, A. C. M. et al. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, Botucatu, n. 4, v. 13, p. 492-499, jul. 2011.

SAILER, R. et al. Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian Tea tree oil. *Phytomedicine*, Zurich, n. 6, v. 5, p. 489-495, dez. 1998.

COSTA, A.C.V. Perfil químico e atividade antibacteriana *in vitro* e em uma matriz elementar do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffn. In: SERAFINI, L. A. (Org.). *Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais*. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

SIMÕES, R. P. et al. Efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre a infecção estafilocócica. *Revista Lecta*. Bragança Paulista, n. 2, v. 20, p. 143-152, jul./dez. 2002.

VIEIRA, T. R. et al. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Química Nova*, São Paulo, n. 4, v. 27, p. 536-539, jul./ago. 2004.