

DESENVOLVIMENTO DE FORMULADOS DE ROSA DE BENGALA EM GEL VISANDO APLICAÇÕES EM INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE MICRO- ORGANISMOS

Gabryella Proença Gonçalves de Camargo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Katieli da Silva Souza Campanholi (Coorientadora), Vagner Roberto Batistela (Orientador), e-mail: vrbatistela@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR

Área e subárea: Química (1.06.00.00-0), Físico-química (1.06.03.00-0).

Palavras-chave: Rosa de Bengala, Carragena, Inativação Fotodinâmica.

Resumo:

A terapia fotodinâmica é uma modalidade de intervenção não invasiva amplamente reconhecida para tratamentos dermatológicos de células pré-cancerosas e inativação de micro-organismos. Neste trabalho, a proposta consiste na obtenção de géis de carragena contendo o fotossensibilizador Rosa de bengala (RB), visando obtenção de géis termorresponsivos adequados para tratamentos tópicos. Os géis foram caracterizados com relação a suas propriedades texturais, reológicas, solubilidade, morfologia e permeação em tecidos. As formulações propostas resultam em géis bioadesivos, pseudoplásticos, viscoelásticos e com alta permeabilidade cutânea. Com esses resultados, os géis preparados apresentam alto potencial para aplicação na inativação de micro-organismos especialmente àqueles relacionados e doenças de pele.

Introdução

A resistência dos micro-organismos aos antibióticos representa um sério problema de saúde pública em todo o mundo. O uso incorreto de antibióticos favorece os mecanismos de resistência dos patógenos, dificultando o tratamento e aumentando o número de doenças infecciosas. Esse cenário estimula o interesse da comunidade científica para o desenvolvimento de terapias complementares e mais eficazes do que antibioticoterapia tradicional, e que não desenvolvam mecanismos de resistência ao tratamento.

A inativação fotodinâmica de micro-organismos (IFDMO) é uma prática terapêutica emergente, minimamente invasiva, localizada, e que pode ser empregada no tratamento de infecções resistentes como, por exemplo, lesões cutâneas infecciosas. (CAMPANHOLI *et al.*, 2018). Nesse processo, a busca incessante por respostas clínicas promissoras culmina em duas estratégias: a escolha de um fotossensibilizador eficiente e a plataforma farmacêutica apropriada.

A Rosa de Bengala (RB) apresenta propriedades interessantes para o uso como fotossensibilizador por ser o corante com o maior rendimento quântico de oxigênio singlete dentre os xantenos tradicionais. (CAMPANHOLI *et al.*, 2018). Além

disso, a aplicação da carragena no campo farmacêutico está aumentando rapidamente, sendo empregada tanto para a entrega de pequenos fármacos e proteínas químicas quanto também para a regeneração de tecidos. (LIANG *et al.*, 2014). Por isso, neste trabalho o objetivo foi avaliar a atividade fotodinâmica de formulados de RB preparados em gel de carragena visando futuras aplicações farmacológicas.

Materiais e Métodos

Obtenção dos formulados: Para o preparo de 60,00 g do gel branco (CAR), o qual possui somente o agente estruturante, a carragena, foram devidamente misturados 1,20 g de carragena (2,0% m/m) e 58,80 g de água destilada. Para o preparo do gel contendo rosa de bengala (CAR-RB) foram misturados 0,30 g da RB (0,50% m/m), 1,20 g da carragena e 58,50 g de água destilada.

Análises de textura: Os parâmetros de compressibilidade, dureza, coesão, elasticidade e adesividade foram analisados por meio de texturômetro (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) com software TAXTplus®, em 25,0 °C e a 37,0 °C, com triplicata para cada amostra.

Análises reológicas: As análises reológicas foram realizadas em reômetro MARS II para a obtenção das curvas de fluxo e propriedades viscoelásticas, a 37,0 °C. As equações de Ostwald-de-Waele e Herschel-Bulkley foram utilizadas para o ajuste das curvas de fluxo ascendentes (reologia contínua) para cinco replicatas. (BRUSCHI; DE FREITA, 2005).

Análise qualitativa da erosão da matriz do gel em água: Uma alíquota do gel CAR-RB foi colocada em um béquer de 10 mL. Em seguida, completou-se o béquer com água destilada no intuito de observar a dissolução do gel em 10 e 15 minutos após a adição da água.

Permeação do sistema CAR-RB em ex-vivo: Foram retirados segmentos do lado dorsal da aurícula de um porco (sem nenhuma lesão ou anormalidades) com um bisturi cirúrgico e posterior armazenamento a -18,0 °C até a utilização. Os espectros de fotoacústica foram obtidos de 250 – 650 nm com fonte de potência de 800 W e frequência de modulação da luz de 13 Hz. A espessura do tecido que contribui para o sinal fotoacústico foi obtida pelo cálculo do comprimento de difusão térmica (Junqueira *et al.*, 2016).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV): As amostras de géis CAR e a CAR-RB, foram preparadas pelo congelamento instantâneo na presença de nitrogênio líquido e posterior liofilização (Liofilizador Freeze Dryer®). Em seguida, foram metalizadas com ouro para serem avaliadas em um microscópio eletrônico Quanta 250-Thermo Fisher Scientific-FEI.

Resultados e Discussão

As análises texturais foram avaliadas a 25,0 °C (temperatura ambiente) e a 37,0 °C (temperatura corporal). A 37,0 °C, o gel CAR-RB apresentou redução da dureza, compressibilidade e elasticidade; e aumento da adesividade e coesividade, em relação ao gel CAR.

Na análise reológica contínua, os géis mostraram comportamento pseudoplástico, caracterizado pela redução da viscosidade com a aplicação da tensão de cisalhamento. Ainda, a CAR-RB demonstrou-se ser mais resistente à deformação devido à capacidade de estruturação promovida pela RB. A maior interação entre as cadeias levou a importantes alterações morfológicas, as quais puderam ser visualizadas nas fotos de microscopia eletrônica de varredura. Pelas Figuras 1A e 1B, foi possível verificar a estrutura reticulada da CAR (Figura 1A), que se tornou mais intensa após a adição da RB (Figura 1B).

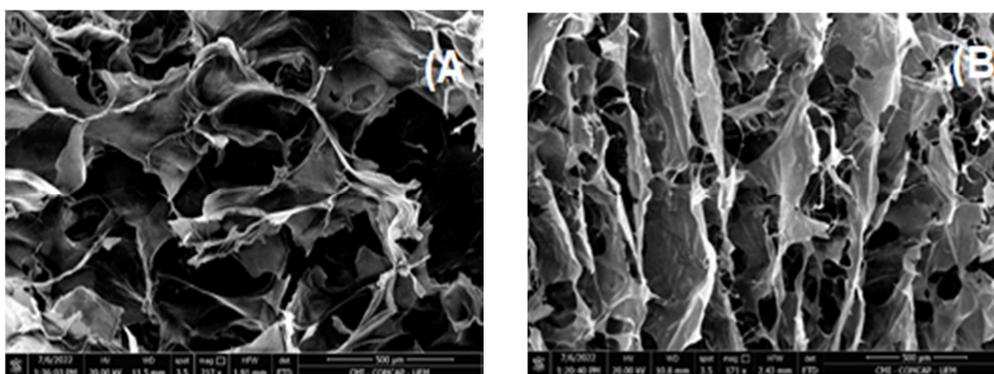


Figura 1 – Fotos de microscopia eletrônica de varredura dos géis A) CAR. B) Gel CAR-RB.

As análises por reologia oscilatória dos géis nos módulos elástico e viscoso a 37,0 °C evidenciaram um comportamento predominantemente elástico, caracterizando uma formulação viscoelástica. A presença da RB permitiu mudanças no módulo elástico e viscoso do gel, mostrando que esta associação tornou a formulação mais estável. A viscosidade da formulação mostrou-se diminuir com o aumento da frequência visto que tanto a CAR-RB quanto a CAR comportaram-se de forma semelhante. E tratando-se de um gel de tendência elástica causa uma diminuição sequencial na tangente de delta. Os valores do modo elástico associada a tangente sugeriram uma maior estabilidade da formulação (BRUSCHI; DE FREITAS, 2005).

Pela análise qualitativa, verificou-se a alta capacidade de desprendimento do fotossensibilizador RB do gel, indicativo de sua alta hidrofiliicidade. Tal comportamento foi acelerado pela erosão da matriz polimérica, que aumentou a superfície de contato para efeitos de partição do fármaco. Após 15 minutos, verificou-se que a coloração mais intensa mantida na parte inferior do béquer demonstrando então o equilíbrio entre o RB e a CAR.

Os espectros de absorção fotoacústica do gel permitiram a detecção da profundidade de permeação do gel ao longo da espessura do tecido. O gel CAR apresenta absorção abaixo de 400 nm, enquanto o gel RB apresentou uma banda larga até 600 nm, características da presença de RB. Após 30 min da aplicação dos géis na superfície de pele de porco, nota-se aumento de intensidade na região característica de absorção (400 – 600 nm) revelando a permeação do fotossensibilizador pela epiderme.

Conclusões

Os géis obtidos mostraram-se adesivos, termorresponsivos, pseudoplásticos, viscoelásticos e com alta permeabilidade em pele mediante os estudos reológicos, mecânicos e morfológicos. Tais características dos géis são vantajosas para tratamentos dermatológicos e muco-cutâneos.

Agradecimentos

Ao PIBIC/CNPq pela bolsa concedida, à Capes e à COMCAP.

Referências

BRUSCHI, M. L.; DE FREITAS, O. **Oral Bioadhesive Drug Delivery Systems**. Drug Dev. Ind. Pharm., v. 31(3), p. 293–310, Mar 2005.

CAMPANHOLI, K. S. S.; FRANCISCO, L. M. B.; SILVA, J. B.; OLIVEIRA, E. L.; ROCHA, N. L.; CASTRO, L. V.; BRAGA, G.; BRUSCHI, M. L.; HIOKA, N.; CAETANO, W. **Biomedical Platform Development of a Chlorophyll-Based Extract for Topic Photodynamic Therapy: Mechanical and Spectroscopic Properties**. Langmuir, v. 34 p. 8230-8244, 2018.

JUNQUEIRA, M. V.; BORGHI-PANGONI, F. B.; FERREIRA, S. B.; RABELLO, B. R.; HIOKA, N.; BRUSCHI, M. L. **Functional polymeric systems as delivery vehicles for methylene blue in photodynamic therapy**. Langmuir, v. 32(1), p. 19-27. Jan 2016.

LIANG, L; NI, R; SHAO, Y; MAO, S. **Carrageenan and its applications in drug delivery**. Carbohydrate Polymers, v. 103, p. 1–11, Mar 2014.