

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DERMATOLÓGICAS DE BIOATIVOS NATURAIS PARA APLICAÇÕES EM TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA.

Hellen Júlia Talharo da Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Gabryella Proença G. de Camargo, Katieli da Silva Souza Campanholi, Magali Soares dos Santos Pozza (Coorientadora), Vagner Roberto Batistela (Orientador). ra119965@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Maringá, PR.

Área e subárea: Química e Físico-química.

Palavras chaves: Terapia fotodinâmica, óleo de copaíba, barbatimão e spirulina.

RESUMO

A terapia fotodinâmica é uma modalidade de intervenção considerada não invasiva amplamente reconhecida para tratamentos dermatológicos de células pré-cancerosas e inativação de micro-organismos. Neste trabalho, a proposta consiste na obtenção de formulados a base de óleo-resina de copaíba, extrato de barbatimão e spirulina incorporado em carbopol, visando obtenção de gel fitoterapêutico adequado para tratamentos tópicos. O gel GCarb-CEB apresentou menor dureza, adesividade e compressibilidade em relação do gel GCarb (sem os bioativos) enquanto a coesividade e elasticidade não variaram significativamente, as análises foram feitas por meio do texturômetro TA-XTPlus. Além disso, apresentou adequada permeabilidade em pele e alta capacidade de inativar a bactéria *Staphylococcus aureus*. Com esses resultados, o gel GCarb-CEB apresentou-se promissores para aplicação na Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana, especialmente para aplicações em doenças de pele.

INTRODUÇÃO

O tratamento por Terapia Fotodinâmica consiste basicamente na interação da luz com comprimento de onda adequado, na administração de um fotossensibilizador (PS) e oxigênio molecular, que resultará em espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete e outras espécies reativas de oxigênio, que resulta na inativação de micro-organismos. Assim, a TFD se destaca por se tratar de uma modalidade terapêutica que não desenvolve efeitos de resistência nos agentes patógenos (Campanholi *et al.*, 2021).

Produtos naturais têm sido propostos como fonte de compostos fotossensibilizadores e também como aditivos para melhorar as propriedades terapêuticas em um formulado. Por exemplo, a spirulina (*Arthrospira platensis*), possui propriedades como anti-inflamatórias, antiviral, antitumoral, antioxidante e imunopotencializador. Sua principal ficobiliproteína são as ficocianinas azuis, compostas por subunidades que contêm cromóforos azuis de ficocianobilina,

utilizada como fotossensibilizador para formar as espécies reativas de oxigênio (Xiao *et al.*, 2023)

O barbatimão (*Stryphnodendron sp.*) possui atividades anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizantes, anti-cancerígenas, anti-parasitárias e antimicrobiana contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (Gomes *et al.*, 2021).

O óleo-resina de copaíba é um composto bioativo natural com propriedades anti-inflamatórias, antissépticas e anti-cancerígenas. Porém, além das atividades terapêuticas pode atuar como emoliente, permitindo maciez e hidratação à pele (Campanholi *et al.*, 2022).

Um importante sistema de formulação para o uso tópico é a base do polímero Carbopol. Esse material hidratado proporciona propriedades bioadesivas, aumentando a interação entre a pele e possui também alta capacidade de incorporação de extratos/ativos de produtos naturais (Campanholi *et al.*, 2021).

Por isso, neste trabalho, estão apresentados os benefícios de formulados de Carbopol com os bioativos naturais óleo-resina de copaíba, spirulina e barbatimão para se obter formulações para futuras aplicações em Terapia Fotodinâmica. Além disso, realizar a caracterização textural, avaliar a permeação em pele e avaliar a eficácia da formulação na inativação de bactérias *Staphylococcus aureus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de óleo-resina de copaíba, barbatimão e spirulina: Foram utilizados óleo-resina de Copaíba da espécie *Copaifera reticulata* Ducke “Copaíba da Amazônia”. Barbatimão da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart. Coville) e spirulina em pó foram em lojas de produtos naturais. O projeto está cadastrado no SISGEN com o código A43945B.

Obtenção do extrato de barbatimão: O extrato aquoso foi obtido por infusão, seguida por secagem em estufa de circulação até a obtenção de massa constante.

Preparo das formulações bioadesivas: A plataforma de administração tópica foi preparada pela mistura de spirulina, Carbopol® 934 P NF, óleo-resina de copaíba, infusão de barbatimão, em quantidades adequadas e água até perfazer 100% em massa. O pH foi ajustado para 7,0 utilizando a trietanolamina. Nesta etapa, o gel compostos por óleo-resina de copaíba, spirulina e barbatimão foram nomeados como GCarb-CEB (onde C se refere ao óleo-resina de copaíba; E se refere à spirulina; e B se refere ao barbatimão) e o gel desenvolvido na ausência dos bioativos nomeado como GCarb, contendo somente água destilada e Carbopol.

Análise de textura: A textura foi analisada por meio do texturômetro TA-XTplus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) e software. Foram analisados os parâmetros de compressibilidade, dureza, coesão, elasticidade e adesividade que derivam do resultado de parcelas de força-tempo e força-distância.

Análise estatística: As análises texturais foram analisadas por análise de variância (ANOVA). As médias entre os tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$), com o uso do software Excel®.

Permeação e retenção do sistema do emulgel GCarb-CEB em ex vivo: Foi utilizada pele de porco como sistema modelo nos estudos de permeação do geis. A dependência temporal da profundidade de penetração do gel GCarb-CEB foi obtida a partir da espectroscopia fotoacústica, utilizando lâmpada de arco de Xenônio

(Oriol, modelo 68820, com potência nominal de 1000 W, com emissão no intervalo entre 180 e 4000 nm), após 30 e 320 minutos, em ambos os lados do segmento (córneo e derme).

Suscetibilidade antibacteriana do gel GCarb-CEB: A bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, com viabilidade e pureza assegurada, foi cultivada antes de cada experimento em Caldo Difco™ Mueller Hinton (MHB) a 37 °C, por 24 h. Para a concentração inibitória mínima (CIM), as concentrações da formulação foram avaliadas entre 0,06 e 7,90 mg mL⁻¹. Após o contato entre a bactéria e o gel GCarb-CEB, os poços foram iluminados por 20 minutos usando LED tipo COB (*Chips on Board*), que emitem luz vermelha $\lambda_{\max}=665$ nm, com irradiância de $3,40 \times 10^{-3}$ $\mu\text{Watt/cm}^2$. O valor de CIM foi determinada pelo método visual, considerando a ausência de turbidez no meio. E, a concentração bacteriostática mínima (CBM), foi obtida com as bactérias plaqueadas em Mueller Hinton Ágar e incubadas a 37,0 °C durante 24 h.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as análises texturais, foi verificada a redução da dureza, que está relacionada com a força necessária para remoção do gel do frasco, do formulado GCarb-CEB em relação ao GCarb ($p > 0,05$). Este resultado indica que a formulação apresenta maior fluidez que é um fator associado à emoliência do óleo-resina de copaíba, além da consistência bastante líquida vinda do extrato de barbatimão.

A compressibilidade, relacionada com a força necessária para remoção do gel do frasco, mostrou-se menor no gel GCarb-CEB ($p < 0,05$). Os valores desse parâmetro devem ser baixos mas não a ponto da formulação sair totalmente do frasco e escorrer no tecido de aplicação.

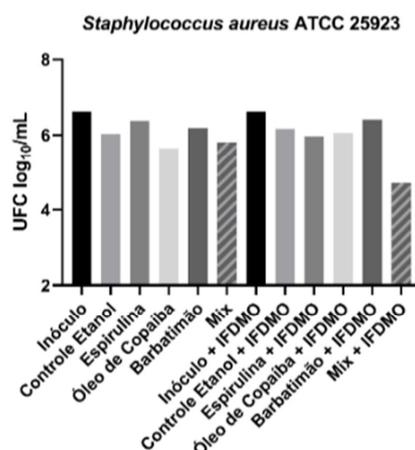
A adesividade, que é responsável por quantificar a interação entre a formulação com o recipiente e fatores de retenção cutânea, e que depende da combinação dos efeitos das forças coesivas e adesivas, também se apresentou menor no GCarb-CEB ($p < 0,05$).

A coesividade, que quantifica a estabilidade do gel de acordo com o cisalhamento, não resultou em variações relevantes do ponto de vista estatístico. E a elasticidade, que se refere à capacidade da formulação de retornar à sua forma inicial após ser aprisionadas em seringas, também não resultou em variações relevantes no ponto de vista estatístico.

Pelo estudo de permeação e retenção do sistema GCarb-CEB em *ex vivo*, foi verificado aumento de intensidade na região característica de absorção dos FS naturais (250 – 650 nm) do GCarb-CEB, em comparação à pele controle, nos dois tempos avaliados. Sendo assim, a formulação se mostrou capaz de permear a pele de maneira positiva, ultrapassando a barreira do estrato córneo e atingindo a derme. Na avaliação de susceptibilidade antibacteriana, os ensaios *in vitro* contra *S. aureus* apontam maior potencial antibacteriano do gel GCarb-CEB quando ocorre a associação entre todos os compostos de GCarb-CEB, em relação aos constituintes individuais, como mostrado na Figura 1.

Pela Figura 1, na ausência de luz, verificou-se que a atividade antimicrobiana dos produtos naturais forma bastante semelhantes ao do controle etanol e também ao mix (mistura de todos os componentes naturais).

Figura 1: Atividade fotodinâmica *in vitro* da formulação GCarb-CEB contra a *Staphylococcus aureus*, na ausência e presença de iluminação, em UFC



Na presença de luz, os compostos individuais apresentam efeitos semelhantes aos encontrados na ausência de luz. Porém, o mix apresentou elevada redução da contagem de colônias de *S. aureus*, indicando efetividade da ação fotodinâmica da mistura.

CONCLUSÃO

O gel GCarb-CEB apresentou menor dureza, adesividade e compressibilidade em relação ao gel GCarb enquanto que a coesividade e elasticidade não variaram significativamente. Além disso, o gel GCarb-CEB apresentou adequada permeabilidade em pele e capacidade de inativar a bactéria *S. aureus*, por meio da avaliação da atividade da mistura de produtos naturais. Dessa forma, o gel desenvolvido tem propriedades adequadas para futuros tratamentos de doenças infecciosas por Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, Fundação Araucária/PR e à CAPES.

REFERÊNCIAS

- CAMPANHOLI, K. DA S. S. *et al.* Stimulus-responsive phototherapeutic micellar platform of Rose Bengal B: A new perspective for the treatment of wounds. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.66, p. 102739, 2021.
- CAMPANHOLI, K. DA S. S. *et al.* Design and Optimization of Stimuli-responsive Emulsion-filled Gel for Topical Delivery of Copaiba Oil-resin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.111, p 287-292, 2022.
- GOMES, P. W. P. *et al.* Chemical composition and antibacterial action of *Stryphnodendron pulcherrimum* bark extract, “barbatimão” species: Evaluation of its use as a topical agent. **Arabian Journal of Chemistry**, v.14, p.103183, 2021.
- XIAO, S. *et al.* Phycocyanobilin from *Arthrospira platensis*: A potential photodynamic anticancer agent. **Dyes and Pigments**, v.219, p.111516, 2023.