
EMULSÃO HIDRATANTE COM EXTRATO DE CUMARU (*Dipteryx odorata*) COMO POTENCIAL TRATAMENTO DA PSORÍASE.

MOISTURIZING EMULSION WITH CUMARU EXTRACT (*Dipteryx odorata*) AS A POTENTIAL PSORIASIS TREATMENT.

Vitória Dinardo^{1*}; Gabriela Rosa de Moura¹; Ricardo Luís Nascimento de Matos²;
Helena Tiemi Suzukawa³; Briani Gisele Bigotto⁴; Sueli Fumie Yamada Ogatta⁵;
Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni⁶

1 - Discente do curso de Farmácia da UEL

2 - Doutorando em Química pela UEL

3 - Doutoranda em Microbiologia pela UEL

4 - Doutoranda em Biotecnologia pela UEL

5 - Docente do Departamento de Microbiologia da UEL

6 - Docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UEL

RESUMO:

Psoríase é uma doença de pele crônica e não contagiosa, que atinge cerca de 2% a 3% da população mundial, entretanto, afeta a qualidade de vida do paciente, pelo fato de gerar lesões avermelhadas e que descamam na pele. Apesar do mecanismo de ação não ser bem elucidado, sabe-se que envolve alterações no sistema imunológico, além de ser uma doença inflamatória e psicodermatosa, ou seja, ocasionada por estresse físico e emocional, sobretudo, em momentos de alta preocupação, irritabilidade e ansiedade, levando também ao aumento na recidiva da doença. *Dipteryx odorata* é o nome científico do Cumaru, árvore que ocorre no norte do Brasil, cujas sementes possuem a cumarina. O psoraleno, uma furanocumarina, é utilizado no tratamento de eczema e psoríase de forma oral associado com radiação UVA. Neste trabalho, foram produzidos e caracterizados por CLAE sete extratos de cumaru segundo planejamento experimental simplex-centroide. A partir do extrato com maior concentração de cumarina foram desenvolvidas emulsões hidratantes, que foram posteriormente avaliadas em relação às características organolépticas, físicas e químicas como potencial tratamento para a psoríase. O extrato selecionado não apresentou efeito citotóxico frente a macrófagos murinos e reduziu a expressão de TNF- α . A emulsão escolhida apresentou excelente capacidade de hidratação e atividade antioxidante, sendo sugerida como potencial tratamento tópico para a psoríase.

Palavras-chave: Cumaru; *Dipteryx odorata*; Psoríase; Hidratante; Cumarina.

ABSTRACT:

Psoriasis is a chronic and non-contagious skin disease, that affects 2 to 3% of world population, however, it affects patient's life quality, since it generates reddened lesions that peel on the skin. Even though the mechanism of action is not well elucidated, it is known that evolves alterations on the immune system, besides being an inflammatory and psychodermatous disease, in other words, it is caused by physical and emotional stress, especially in moments of great worry, irritability and anxiety, also leading to an increase in disease recurrence. *Dipteryx odorata* is the scientific name for Cumaru, a tree that occurs in Brazil's Northern, which seeds contain coumarin. Psoralen, a furanocoumarin, is used on eczema and psoriasis treatment orally associated with UVA radiation. On this job, seven

Cumaru extracts were produced and characterized in HPLC according to simplex-centroid experimental design. From the extract with the highest concentration of coumarin, were developed moisturizing emulsions that were later evaluated regarding to organoleptic, physical, and chemical characteristics as potential treatment for psoriasis. The selected extract has not showed cytotoxic effect against murine macrophages and has reduced the expression of TNF- α . The chosen emulsion presents excellent moisturizing and antioxidant capacity, being suggested as potential topical treatment for psoriasis.

Keywords: Cumaru; *Dipteryx odorata*; Psoriasis; Moisturizing; Coumarin.

1. INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença de pele relativamente comum, crônica e não contagiosa, que atinge cerca de 2% a 3% da população mundial. É cíclica, ou seja, apresenta sintomas que desaparecem e reaparecem periodicamente. Esse ciclo faz com que células mortas não consigam ser eliminadas eficientemente, formando lesões em placa, salientes na pele e de coloração avermelhada. Normalmente, essa cadeia só é quebrada com tratamento, feito com o uso de corticosteroides tópicos, análogos de vitamina D, entre outros. Pelo fato de a psoríase fazer com que o paciente fique com a pele manchada e com feridas, ela acaba afetando a qualidade de vida dele, ou seja, seu bem-estar físico, mental e social. Sua causa é desconhecida, mas pode estar relacionada ao sistema imunológico, às interações com o meio ambiente e à suscetibilidade genética. (CARNEIRO, 2007; SILVA; SILVA, 2007; SBD, 2020; SILVEIRA, 2015; MARTINS; CHAUL, 2009).

Apesar do mecanismo de ação da psoríase não ser bem elucidado, sabe-se que envolve alterações no sistema imunológico, cujas células dendríticas e queratinócitos são ativadas devido a fatores ambientais ou mecânicos, que após várias etapas, leva à produção de citocinas, que ocasionam o processo inflamatório (SANCHEZ, 2010). De acordo com Moreira, Fernandes e Magalhães (2016), a psoríase é uma doença psicodermatosa, ou seja, é ocasionada por estresse físico e emocional e em momentos de alta preocupação, irritabilidade e ansiedade, há aumento na recidiva da doença.

Dipteryx odorata é o nome científico dado a árvore que pode chegar a 40 metros de altura comumente chamada de cumaru, cumaru verdadeiro e tonka, que ocorre nos estados brasileiros da região Norte (EMBRAPA, 2009). Na semente do cumaru é possível encontrar a cumarina, um composto cuja função é basicamente de defesa (LIMA et al, 2014). O psoraleno, uma furanocumarina, é utilizado no tratamento de eczema e psoríase de forma oral associado com radiação UVA (VIEIRA, 2010). Além disso, tem efeito estimulante de macrófagos e ativa outras células do sistema imune, podendo fazer com

que sintomas de doenças crônicas desapareçam, e ela e seus derivados são eficazes contra resposta inflamatória (JAIN; JOSHI, 2012).

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver extratos de semente de *Dipteryx odorata*, e a partir do extrato com maior concentração de cumarina foram desenvolvidas emulsões hidratantes, que foram posteriormente avaliadas em relação às características organolépticas, físicas e químicas como potencial tratamento para a psoríase.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo e caracterização dos extratos

Os extratos foram preparados através de planejamento simplex centroide axial, utilizando etanol P.A. (ET), clorofórmio P.A. (CL) e éter dietílico P.A. (ED) como líquidos extratores, de forma a se obter sete extratos denominados EC01 (100% ET), EC02 (100% ED), EC03 (100% CL), EC04 (50% ET + 50% ED), EC05 (50% ED + 50% CL), EC06 (50% CL + 50% ET) e EC07 (33,3% ET + 33,3% ED + 33,3% CL). A extração foi feita por maceração à frio por 14 dias, em seguida, os extratos foram filtrados em tecido e à vácuo utilizando papel de filtro.

A caracterização dos extratos foi feita através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e em ambas se utilizou o padrão de cumarina (Sigma-Aldrich). Na CLAE, o preparo das amostras e padrão foi feita com base em LIMA et al (2014) e a metodologia utilizada foi uma adaptação de Oliveros-Bastidas et al (2011). A fase móvel da análise foi água destilada (fase A) e acetonitrila (fase B), em diferentes proporções (A:B) de acordo com o tempo, sendo proporção de 80:20 no tempo 0 min, 60:40, em 5 min, 55:45 em 10 e 25 min e 20:80 no tempo de 30 min.

2.2 Desenvolvimento das formulações

No total foram desenvolvidas cinco formulações do tipo emulsão O/A de uso tópico, sendo formulação base (FB), formulação padrão contendo 0,5% de padrão de cumarina (FCa) e três formulações denominadas FT1, FT2 e FT3, com 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) e 1,5% (p/p) de EC, respectivamente.

2.3 Caracterização farmacotécnica das formulações

As formulações foram avaliadas em ensaios de pré-estabilidade e organolépticos de acordo com o Guia de Controle de Qualidade para Cosméticos (2018). A determinação de pH das formulações foi realizada utilizando-se peagâmetro digital (Tepron TpH-2000) e para a densidade utilizou-se picnômetro de vidro de 10 mL (PHOX-NCM 70179000). A avaliação da espalhabilidade foi realizada conforme descrito por Borghetti e Knorst (2006).

2.4 Avaliação da citotoxicidade dos extratos

A avaliação da citotoxicidade foi feita em placa de 96 poços na qual, foram cultivadas $2,5 \times 10^5$ células RAW 264.7 (macrófagos murinos) ATCC TIB-71/poço que foram submetidas ao tratamento com EC01 nas concentrações de 100 µg, 50 µg, 25 µg, 12,5 µg e 6,25 µg por 12 horas.

A viabilidade celular foi determinada pela redução do sal de tetrazólio (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)- 2,5-difeniltetrazólio brometo) pelo método MTT (Merck). A concentração citotóxica de 50% (CC50) foi calculada por análise de regressão.

2.5 Avaliação da expressão de TNF- α em células RAW 264.7 com EC01

Células RAW 264.7 foram incubadas por 10 horas juntamente com 100 ng de LPS (lipopolissacarídeo) para simular o ambiente pró-inflamatório das placas e lesões formadas na pele do paciente com psoríase. Após a incubação, o estímulo com LPS foi removido e as células foram então tratadas com 500 µg/mL, 250 µg/mL e 125 µg/mL de EC01. Para o controle, as células ativadas com LPS foram restituídas de meio de cultura. As células tratadas e não tratadas foram submetidas à extração de RNA utilizando-se Triazol® (Thermo Fischer), conforme recomendações do fabricante. A expressão do gene que codifica o TNF- α foi avaliada com q-PCR (em tempo real), utilizando as células não tratadas como referência.

2.6 Avaliação da retenção de umidade das formulações

Foram avaliadas conforme metodologia descrita por Zhao *et al* (2012) e Zhang *et al* (2012) por 96 h. A capacidade de retenção de umidade (RU) foi avaliada pela

porcentagem de água residual presente nas amostras, que foi calculada pela equação: $RU(\%) = (PT \div PO) \times 100$, onde PT é o peso final e PO, o peso inicial.

2.7 Análise antioxidante das formulações

A análise foi feita com DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), utilizando etanol P.A. como solubilizante, conforme metodologia adaptada de Amarowicz *et al* (2004). O cálculo da atividade antioxidante foi feito através da equação: $\% \text{Inibição} = [(Abs \text{ do controle} - Abs \text{ amostra}) \div Abs \text{ controle}] \times 100$.

2.8 Análise estatística

Todos os testes foram estatisticamente comprovados utilizando-se análise de variância (ANOVA). As diferenças individuais entre as médias foram identificadas pelo teste de Turkey. Em todos os casos, o nível de significância aceito para denotar significância foi $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos extratos

Quando submetidos à CCD não foi possível confirmar a presença de cumarina nos extratos, provavelmente devido à baixa concentração. Contudo, com a CLAE confirmou-se a presença de cumarina conforme Figura 1, mostrando os tempos de retenção dos picos dos extratos e do padrão. Observa-se que EC01 é o que possui o maior pico correspondente ao de cumarina. Essa informação é confirmada através do tempo de retenção dele (13,188 min) que se encontra próximo ao maior pico do padrão de cumarina (13,198 min). Por este motivo, esse extrato foi selecionado para ser utilizado nas etapas seguintes do projeto.

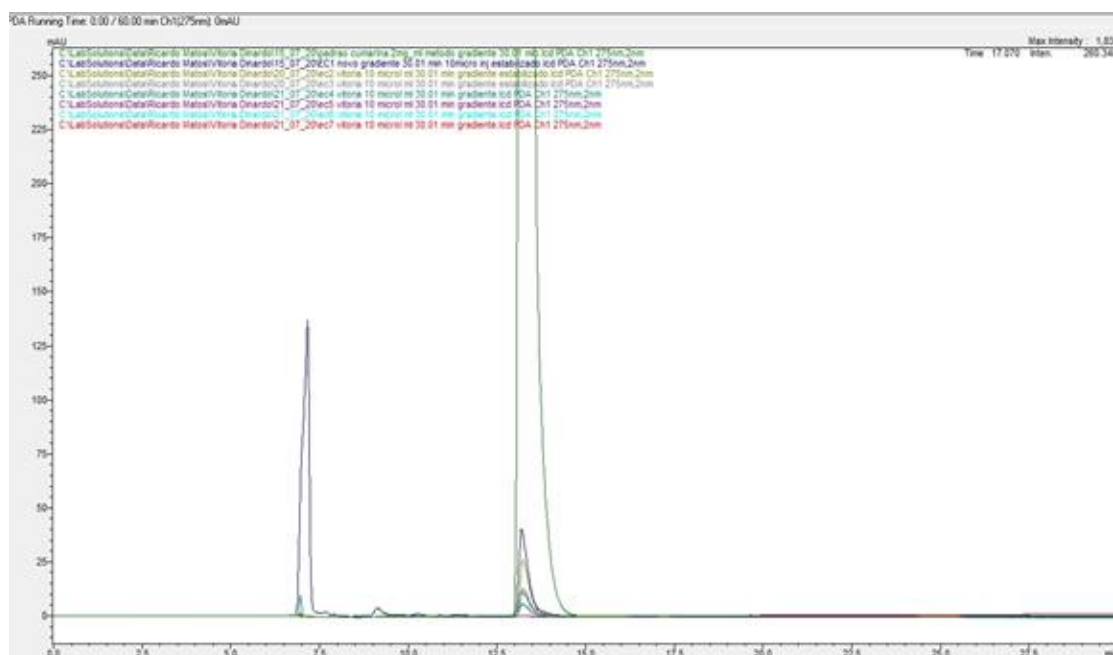


FIGURA 1: CROMATOGRAMA DOS ECS E PADRÃO DE CUMARINA APÓS CORRIDA EM CLAE NO COMPRIMENTO DE ONDA DE 275 NM.

3.1 Caracterização farmacotécnica das formulações

Todas as formulações quando submetidas à centrifugação, mantiveram-se uniformes, não separando de fase, sendo, portanto, consideradas estáveis. Em relação aos ensaios organolépticos, todas apresentaram coloração branca, aspecto sedoso e odor característico de baunilha, exceto FB, que é inodora.

Como o pH da pele encontra-se entre 4,5 e 5,8 (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002), todas as formulações demonstraram resultados positivos e dentro do valor necessário, conforme apresentado na tabela 1.

TABELA 1: VALORES MÉDIOS DE PH E DENSIDADE RELATIVA MÉDIA OBTIDOS PARA CADA UMA DAS FORMULAÇÕES DERMOCOSMÉTICAS.

	FB			Fca	FT1	FT2	FT3
pH	5,8	±	0,47	5,0 ± 0 (0%)	5,5 ± 0 (0%)	5,5 ± 0 (0%)	5,5 ± 0 (0%)
	(0,22%)						
Densidade	9,998 ± 0,002			10,006 ± 0	10,010 ± 0	10,007 ± 0	10,009 ± 0
relativa	(0,02%)			(0,02%)	(0,04%)	(0,05%)	(0,001%)

Os resultados do teste de espalhabilidade mostraram que as formulações FB, FT2 e FT3 apresentaram aumento no perfil de espalhabilidade até determinado peso empregado (33,625 g), o que sugere uma boa espalhabilidade e alto rendimento. FCa apresentou aumento até 25,625 g e após se manteve constante. O mesmo comportamento se deu com FT1 que apresentou aumento da espalhabilidade até 27,625 g, ou seja, a relação entre a área de espalhamento com a força aplicada sobre o produto e o esforço limite.

3.2 Avaliação da citotoxicidade de EC01

Com essa avaliação, concluiu-se que nenhuma das concentrações utilizadas de extrato apresentou efeito citotóxico nas células RAW 264.7 (Figura 2), e a partir desses resultados, obteve-se o CC50 abaixo de 3 µg.

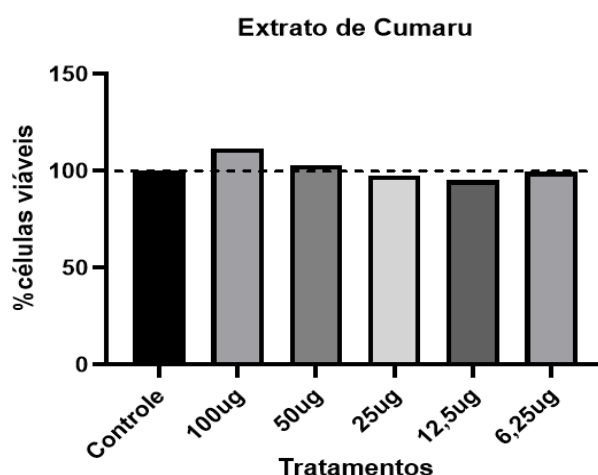


FIGURA 2: PORCENTAGEM DE CÉLULAS RAW 264.7 VIÁVEIS DE ACORDO COM A CONCENTRAÇÃO UTILIZADA DE EC01.

3.3 Avaliação da expressão de TNF- α em células RAW 264.7 com EC01

Como mostrado na Figura 3, com a quantificação de TNF- α por q-PCR, foi possível observar uma diminuição na expressão dessa citocina na maior concentração analisada (500 µg/mL). Nas demais concentrações não houve diferença estatística comparado aos valores do controle (linha tracejada).

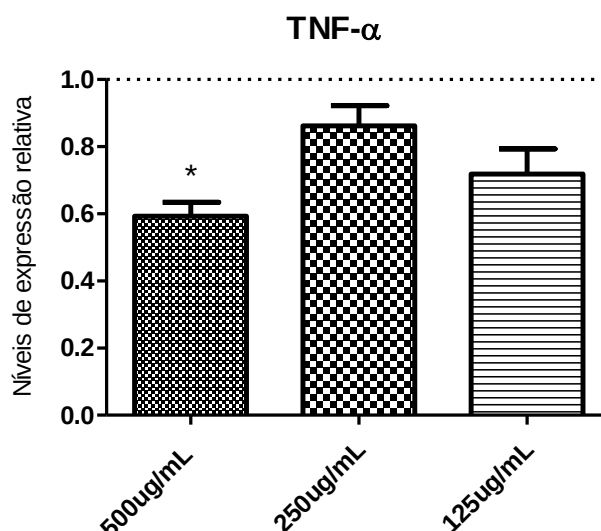


FIGURA 3: EXPRESSÃO RELATIVA DE TNF- A EM CÉLULAS RAW 264.7 TRATADAS COM EC01.

Apesar de não ser possível afirmar com exatidão que EC01 possui efeito anti-inflamatório *in vitro*, os resultados apresentados são extremamente importantes e positivos, uma vez que TNF- α , além de tratar-se de uma citocina pró-inflamatória, também está presente no mecanismo de surgimento da psoríase (LIMA; LIMA, 2011).

3.4 Avaliação da retenção de umidade

Todas as formulações apresentam uma excelente taxa de retenção de umidade *in vitro*, uma vez que todos os valores se apresentaram próximos a 100%, tendo FB retenção de umidade de 95,54% $\pm$ 0,24 (0,06%); FCa, 95,69% $\pm$ 0,13 (0,01%); FT1, 94,84% $\pm$ 1,02 (1,05%); FT2, 95,61% $\pm$ 0,46 (0,21%); e FT3, 94,83% $\pm$ 0,54 (0,31%).

Essa alta retenção de umidade confere ao produto uma característica de extrema importância, que é a capacidade de hidratação *in vitro* (CAMARGO JUNIOR, 2016), favorecendo a cicatrização mais eficiente das feridas formadas pela psoríase. Podemos deduzir que a presença de EC01 somado as outras matérias-primas presentes nas formulações desempenharam atividade hidratante devido suas moléculas serem higroscópicas, ou seja, captam a água presente na epiderme, mantendo-a úmida e consequentemente, hidratada.

3.5 Análise antioxidante das formulações

As atividades antioxidantes de FB, FCa, FT1, FT2, FT3 e EC01 foram de 56,69%, 50,70%, 22,53%, 66,19%, 35,21%, 17,60% e 66,90%, respectivamente. FT2 foi o que apresentou a maior atividade.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que EC01 não apresenta efeito citotóxico e tem capacidade de reduzir expressão de TNF- α frente a macrófagos murinos; e a formulação e FT2 é a que apresentou os mais satisfatórios, sendo essa a escolhida como a que possui maior potencial para tratamento tópico da psoríase, uma vez que apresenta boa espalhabilidade, atividade antioxidante maior que todas as outras formulações e excelente capacidade de retenção de umidade, e conseqüentemente, de hidratação, melhorando a qualidade da pele do paciente. Este dermocosmético tem o potencial de ajudar a parte considerável da população que segue sofrendo com os sintomas incômodos que a psoríase proporciona a eles e melhorar a qualidade de vida deles.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e Universidade Estadual de Londrina pelo apoio financeiro e fomento da bolsa.

6. REFERÊNCIAS

AMAROWICZ, R. *et al.* Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 84, n. 4, p. 551-562, mar. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00278-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00278-4).

BORGHETTI, G.S.; KNORST, M.T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.42, n.4, p. 531-537, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle**

de Qualidade de Produtos Cosméticos. Brasília: ANVISA, 2^a. ed., 2018.

CAMARGO JUNIOR, F. B. de. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana por bioengenharia cutânea.** 153 f. Dissertação (Mestrado), Ribeirão Preto, 2006. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-17012007-143439/publico/FlavioBuenodeCamargoJunior.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2021.

CARNEIRO, S. C. S. **Psoríase: mecanismos de doença e implicações terapêuticas.** Tese de mestrado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Dermatologia. São Paulo, 2007.

EMBRAPA. **Comunicado técnico: Cumaru-ferro (*Dipteryx odorata*).** Colombo, 2009.

JAIN, P. K.; JOSHI, H. Coumarin: Chemical and pharmacological profile. **Journal of Applied Pharmaceutical Science.** v.2, n.6, p.236-240. 2012.

LEONARDI, Gislaine Ricci; GASPAR, Lorena Rigo; CAMPOS, Patrícia M. B. G. Maia. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 77, p. 563-569, out. 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/hwQJzSTYSnFJqYCRBrmfJ6b/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 28 jul. 2021.

LIMA, Emerson de Andrade; LIMA, Mariana de Andrade. Imunopatogênese da psoríase: revisando conceitos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 86, n. 6, p. 1151-1158, dez. 2011. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/x9BG5z7pMRVqjrFDRbWvX4N/?lang=pt>. Acesso em: 23 set. 2021.

LIMA, J. C. et al. **Extração de compostos bioativos da semente de cumaru (*Dipteryx odorata*) utilizando fluidos pressurizados.** Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2014.

LIMA, J. de C. et al. Extração supercrítica com utilização de modificadores e caracterização a partir da semente de cumaru (*Dipteryx odorata*). In: **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2014, Florianópolis.

MARTINS, Gladys Aires; CHAUL, Aiçar. Tratamento tópico da psoríase. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. **Consenso Brasileiro de Psoríase**. 2009. Cap. 5. p. 41-48.

MOREIRA, F. F. B.; FERNANDES, M. V. O.; MAGALHÃES, E. N. A influência do estresse no desencadeamento e evolução da psoríase. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**. v.15, n.1, p.87-90. 2016.

OLIVEROS- BASTIDAS, A. et al. Extracción y cuantificación de cumarina mediante HPLC-UV en extractos hidroetanólico de semillas de *Dipteryx odorata*. **Revi. Latinoamer. Quím.** v.39, n.1-2, p. 17-31, 2011.

SANCHEZ, A. P. G. Imunopatogênese da psoríase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.85, n.5, p.747-749. 2010.

SBD. Psoríase. Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/psoriase/18/>>. Acesso em: 24 ago 2020.

SILVA, K. D.; SILVA, E. A. T. Psoríase e sua relação com aspectos psicológicos, stress e eventos da vida. **Estudos da psicologia**. v.24, n.2, p.257-266. Campinas, 2007.

SILVEIRA, Maria Eugênia de Bona; PELEGRINA NETO, Gabriel; FERREIRA, Flávia Regina. Perfil epidemiológico e qualidade de vida na psoríase. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 4, n. 15, p. 246-251, dez. 2015. Disponível em: sbcm.org.br/ojs3/index.php/rsbcm/article/view/307/279. Acesso em: 24 jul. 2021.

VIEIRA, L. C. C. **Síntese de uma coleção de cumarinas, possíveis inibidores da enzima acetilcolinesterase**. Dissertação de mestrado. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2010.

ZHAO, L. *et al.* Culture medium optimization of a new bacterial extracellular polysaccharide with excellent moisture retention activity. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 97, n. 7, p. 2841-2850, 27 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4515-0>.

ZHANG, Z. *et al.* Purification, antioxidant and moisture-preserving activities of polysaccharides from papaya. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 87, n. 3, p. 2332-2337, fev. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.067>.

***Autor(a) para correspondência:**

Vitória Dinardo

E-mail para contato: vitoriadinardo27@gmail.com

Universidade Estadual de Londrina - Paraná - Brasil

Recebido: 16/11/2021 Aceite: 12/01/2022