

# ESTUDO DA PERMEAÇÃO CUTÂNEA DO EXTRATO E FRAÇÕES DE *Sapindus saponaria* L. POR ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

José Rivaldo dos Santos Filho<sup>1</sup>, Lidiane Vizioli de Castro<sup>2</sup>, Francielle Sato<sup>3</sup>, Paulo Cesar Pozza<sup>4</sup>, Izabel Cristina Piloto Ferreira<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: rivaldinhosantos@hotmail.com

<sup>2</sup> Doutora, Departamento de Física, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: lidyvizioli@gmail.com

<sup>3</sup> Docente, Departamento de Física, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: fsatouem@gmail.com

<sup>4</sup> Docente, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: pcpozza@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Doutora, Departamento de Farmácia, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: icpferreira@uem.br

## RESUMO

A espécie *Sapindus saponaria* L. pertence à família Sapindaceae, os frutos são abundantes em glicosídeos, com predomínio de saponinas e oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos, responsáveis pelas principais atividades biológicas da espécie. O objetivo do presente trabalho foi obter frações enriquecidas de saponinas triterpênicas (SAP) e oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos (OGSA) por extração em fase sólida para avaliar a permeação cutânea. O extrato hidroalcoólico (EHA) obtido por maceração do pericarpo dos frutos de *S. saponaria* L. foi fracionado utilizando cartucho de fase reversa de octadecilsilano resultando em frações enriquecidas com saponinas (fração SAP1 e SAP2) e oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos (fração OGSA). A avaliação da permeação cutânea do EHA, e frações OGSA, SAP1 e SAP2 foram realizadas por espectroscopia fotoacústica em amostras de pele de orelha de porco. Os resultados demonstraram que a fração SAP1 possui maior capacidade de penetração, sendo seguida pela fração OGSA, o EHA e fração SAP2, respectivamente. Em relação às duas frações enriquecidas com saponinas (SAP1 e SAP2), a fração SAP1 demonstrou um perfil de intensidade de sinal fotoacústico superior à fração SAP2 ao longo de toda a região espectral observada (300 a 650 nm). A fração OGSA também apresentou um excelente perfil de penetração. As frações SAP1 e OGSA demonstram que a realização da extração em fase sólida de fase reversa é vantajosa, possibilitando melhores perfis de absorção na pele em relação ao EHA.

**PALAVRAS-CHAVE:** Saponinas; Oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos (OGSA); Extração em fase reversa; permeação cutânea.

## 1 INTRODUÇÃO

A aplicação tópica de medicamentos tem sido utilizada para o tratamento de diversos processos patológicos de pele. Para a eficácia desse tratamento é necessário que a penetração da droga, presente na formulação, consiga chegar às camadas internas da pele (derme) (BARRY, 2001). A ação terapêutica em sítios específicos do tecido epidérmico é o que se espera em uma terapia dermatológica, para isso é necessária a absorção percutânea do fármaco na pele. Os fármacos podem ser incorporados a diversas formas farmacêuticas que resultam em diferentes velocidades de absorção, tempo de início, pico e duração da penetração. A composição do fármaco utilizado, a natureza do veículo e as condições da pele influenciam na permeação dos medicamentos (ALLEN JR et al., 2007).

A espectroscopia fotoacústica (EFA) é um método que, diferente das técnicas espectroscópicas convencionais que ao invés de medir a radiação transmitida ou refletida pela amostra, como ocorre nas técnicas de espectroscopia convencionais que operam na região UV-Vis, a EFA determina a fração da energia absorvida que se transforma em calor. O resultado é um espectro semelhante à absorção óptica, o que permite estudar materiais sólidos ou semi-sólidos em massa ou em pó, bem como substâncias amorfas ou cristalinas, gel e outros (ROSENCWIAG, 1980 apud DE CASTRO, 2015).

A EFA tem se mostrado ser um método eficaz na pesquisa dermatológica para caracterizar tecido e lesões (SWEARINGEN et al., 2010) bem como avaliar a distribuição e penetração de substâncias através da pele onde as formulações são aplicadas (MOTA et al., 2011; DE MELO et al., 2011).

Plantas da família *Sapindaceae* constituem a base da medicina popular oriental, principalmente devido à presença de saponinas (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004). Uma representante desta família, *S. saponaria* L., conhecida popularmente como “sabão-do-soldado”, “saboneteira” (ALBIEIRO, 2001) é também conhecida pela presença marcantes de saponinas, um surfactante natural encontrado nas sementes e frutos (ALBIEIRO et al., 2001; PELEGRINI et al., 2008), destacando-se entre os principais glicosídeos presentes em seus frutos., juntamente com os oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos (OGSA).

As saponinas constituem uma das mais importantes classes de metabólitos secundários produzidos pelas plantas superiores, ocorrendo em grandes quantidades em tecidos vegetais (HOSTETTMANN; MARSTON, 2005). São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (WINA; MUETZEL; BECKER, 2005) e são atribuídas a elas as principais atividades biológicas (SPARG; LIGHT; STADEN, 2004).

Os OGSA são glicosídeos formados por uma ou mais cadeias de açúcares e uma unidade sesquiterpênica. Essa classe possui como característica marcante sua elevada massa molecular, normalmente acima de 1000 Da. Poucas atividades são relacionadas a esta classe de compostos, no entanto, principalmente na cultura oriental atua como surfactante e agentes expectorantes (WONG et al., 1991; SUN et al., 2002).

Neste contexto, o estudo da permeação cutânea através da espectroscopia fotoacústica serve para que as formulações dermatológicas sejam otimizadas permitindo assim uma maior permeação do fármaco na pele e conseqüentemente uma melhor ação terapêutica. O objetivo do presente trabalho foi obter frações enriquecidas de saponinas triterpênicas e OGSA por extração em fase sólida para avaliar a permeação cutânea.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Sapindus saponaria* L.

O extrato hidroalcoólico (EHA) foi obtido, a partir do pericarpo dos frutos rasurados, por maceração sucessiva a frio até esgotamento com etanol 90 %, concentrado à pressão reduzida em rotaevaporador à temperatura de 40 ° C e liofilizado.

### 2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DE FASE REVERSA

Com o objetivo de obter duas classes de metabólitos, sendo a primeira de saponinas na forma de heterosídeos (denominada fração SAP) e a segunda de oligoglicosídeos sesquiterpênicos acíclicos (denominada fração OGSA), 1000 mg de EHA foram submetidos a extração em fase sólida (EFS) em cartucho de fase reversa de octadecilsilano (ODS – Supelco Supelclean LC-18, 6 ml, 1000 mg). Os eluentes utilizados foram alíquotas de 10 mL de misturas de acetonitrila grau cromatográfico:água (purificada em sistema Milli-Q) nas proporções (v/v) de 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3 e 10:0, nesta ordem.

### 2.3 SINAL FOTOACÚSTICO

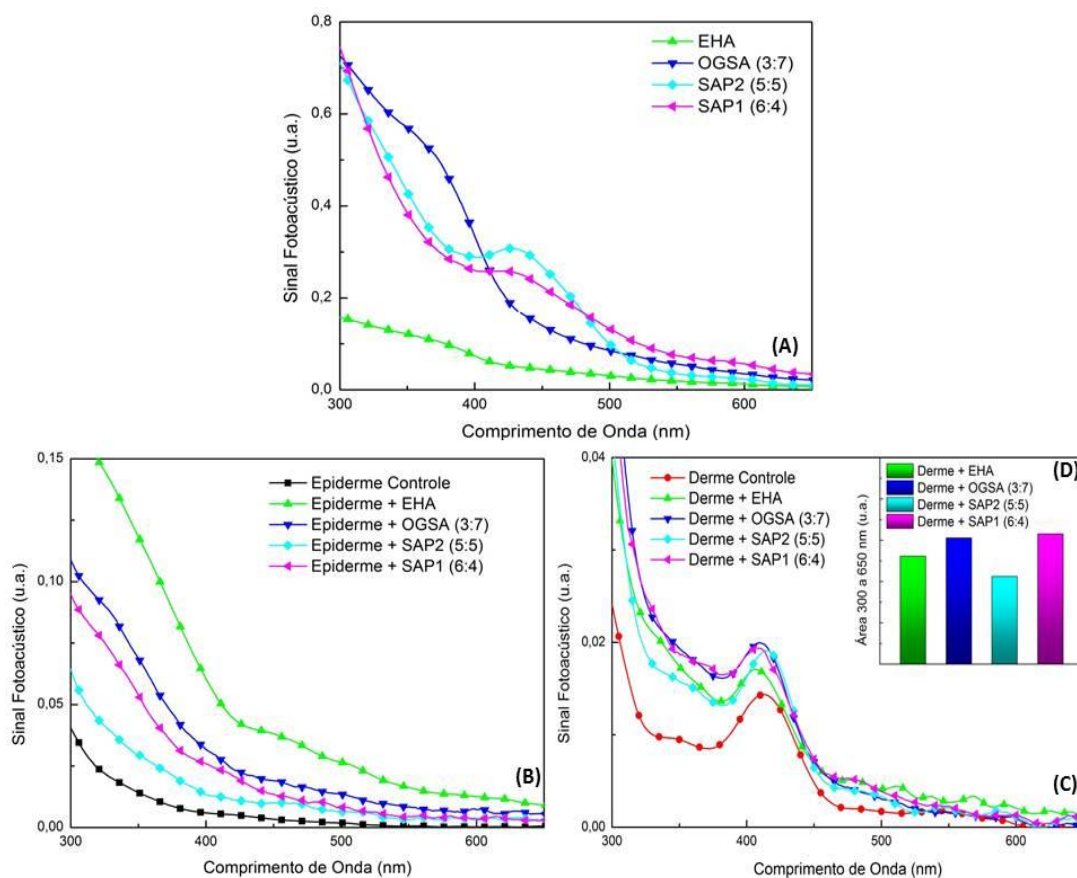
Amostras de pele de orelha de porco foram coletadas de porcos jovens, brancos e recém-abatidos oriundos da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) pertencente à Universidade Estadual de Maringá (UEM). As orelhas foram limpas com água purificada, a gordura subcutânea foi cuidadosamente separada e uma amostra de quadrado de pele foi obtida da região central do lado dorsal da aurícula, utilizando tesoura e bisturi cirúrgico, com pré-padronização de espessura.

Inicialmente a amostra foi posicionada com a superfície da epiderme voltada para cima, onde a iluminação foi realizada e o espectro fotoacústico determinado. Em seguida, a amostra foi girada de modo que o feixe de luz atingisse a região da derme, lado oposto aquele onde as amostras foram aplicadas. Esta estratégia garante detectar se houve penetração da formulação através da ferida

A espectroscopia fotoacústica foi utilizada para a detecção da permeabilidade do EHA e frações OGSA (3:7), SAP1 (6:4), SAP2 (5:5) de *S. saponaria* L. nos modelos de derme e epiderme. Os espectros foram obtidos nas regiões espectrais do ultravioleta e do visível, com variação de comprimento de onda de 200 a 800 nm. A potência da fonte foi de 800 W e a frequência de modulação da luz será de 16 Hz, e para análises de permeação 75 Hz.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise da permeação cutânea através da absorção óptica por meio da espectroscopia fotoacústica utilizou as bandas de absorção do EHA e frações OGSA (3:7), SAP2 (5:5) e SAP1(6:4), como indicadores na demonstração da penetração ou não da mesma na pele. As medidas foram realizadas para verificar a região espectral de absorção de seus componentes entre 200 e 800 nm (Figura 1a). O espectro em questão demonstra a absorção óptica referente às frações EHA, OGSA, SAP2 e SAP1. Os resultados indicaram que essas substâncias apresentam cromóforos absorvedores na região espectral avaliada, sobretudo a fração SAP2 (5:5) e SAP1(6:4) (Figura 1a).



**Figura 1.** Espectros de absorção óptica da fração EHA, OGSA (3:7), SAP2 (5:5) e SAP1 (6:4) (A). Espectros de absorção óptica da permeação das formulações pela pele (n=3) obtidos pela espectroscopia fotoacústica da superfície epidérmica (B) superfície dérmica (C) e área de absorção característica dos fármacos na derme (D)

Os espectros da Figura 1 (b, c) por meio do aumento de intensidade do espectro na região característica de absorção óptica das frações, mostram que as frações penetraram na epiderme e alcançaram a derme, se localizando em comprimentos de onda de 300 a 650 nm, quando comparado à pele controle. A pele não apresenta bandas de absorção óptica acima de 450 nm, demonstrando assim uma área espectral de absorção diferente para as frações, que continuam apresentando sinais de absorção até 600 nm.

Todas as frações apresentaram bandas de absorção óptica na epiderme (Figura 1b), resultado que já era esperado. O espectro mostra que a absorção do EHA foi a que gerou o sinal com maior intensidade, possivelmente relacionado à alta solubilidade do EHA em água, que foi o solvente utilizado para solubilizar as frações na pele.

Os resultados da absorção na derme estão demonstrados na Figura 1(c, d). A permeação da pele depende das características da pele e das formulações. Uma vez que estas medidas foram realizadas no lado oposto em relação aquele onde as frações foram aplicadas, a presença de bandas nos espectros, de 300 a 650 nm, indica que houve permeação da formulação através da pele, atingindo a derme. Assim como para a epiderme, os resultados demonstraram que a região de maior amplitude de absorção óptica se encontra entre 300 e 525 nm, sendo que todas as frações demonstram uma banda bem definida na região de absorção óptica característica dos fármacos. Para quantificar a permeação na derme foi feita a integração da área de absorção característica dos fármacos, na faixa de 300 a 650 nm, subtraída a área da derme controle (Figura 1, d). Os resultados demonstraram que a fração SAP1 (6:4) é a que possui maior capacidade de penetração, sendo seguida pela fração OGSA, EHA e fração SAP2 (5:5), respectivamente. Em relação às frações enriquecidas com saponinas (SAP1 e SAP2), a fração SAP1 demonstrou um perfil de intensidade de sinal fotoacústico superior à fração SAP2 ao longo de toda a região espectral observada (300 a 650 nm). A fração OGSA também apresentou um excelente perfil de penetração.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, os resultados mostram que a Espectroscopia Fotoacústica é uma excelente técnica para avaliar a distribuição e penetração de substâncias através da pele onde as formulações são administradas. As frações SAP1 e OGSA possuem melhores perfis de absorção na pele em relação ao EHA, demonstrando que a realização da extração em fase sólida de fase reversa é vantajosa, permitindo avaliar o perfil de permeação das classes de metabólitos glicosídeos presentes nos frutos de *S. saponaria* L.

#### 5 REFERÊNCIAS

ALBIERO, A. L. M.; BACCHI, E. M.; MOURÃO, K. S. M. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Acta Scientiarum**, v. 33, n. 2, p. 549-560, 2001.

ALLEN JR, L.V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos, 6 edição. **São Paulo: Premier**, 2007.

BARRY, B. W. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 14, n. 2, p. 101-114, 2001.

DE CASTRO, L. V. **Estudo de lesão de cárie experimental via espectroscopia fotoacústica e raman**. 2015. 78f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

DE MELO, J. O.; PEDROCHI, F.; BAESSO, M. L.; HERNANDES, L.; TRUITI, M. C. T.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C. A. Evidence of deep percutaneous penetration associated with anti-inflammatory activity of topically applied *Helicteres gardneriana* extract: a photoacoustic spectroscopy study. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 2, p. 331-336, 2011.

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A.. **Saponins: Chemistry & Pharmacology of Natural Products**. Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

MOTA, J. P.; CARVALHO, J. L.; CARVALHO, S. S.; BARJA, P. R. Photoacoustic technique applied to skin research: characterization of tissue, topically applied products and transdermal drug delivery. In: **Acoustic Waves-From Microdevices to Helioseismology**. InTech, 2011.

PELEGRINI, D. D.; TSUZUKI, J. K.; AMADO, C. A.; CORTEZ, D. A.; FERREIRA, I. C. Biological activity and isolated compounds in *Sapindus saponaria* L. and other plants of the genus *Sapindus*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, 2008.

ROSENCWAIG, A. **Photoacoustic e photoacoustic spectroscopy**. John Wiley & Sons, New York, 1980.

SPARG, S.G; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 219-243, 2004.

SUN, J. R.; CHENG, K. C.; PAN, T. Y.; SI, X. M. A new acyclic sesquiterpene oligoglycoside from pericarps of *Sapindus mukurossi*. **Chinese Chemical Letters**, v. 13, n. 6, p. 555-556, 2002.

SWEARINGEN, J. A.; HOLAN, S. H.; FELDMAN, M. M.; VIATOR, J. A. Photoacoustic discrimination of vascular and pigmented lesions using classical and Bayesian methods. **Journal of biomedical optics**, v. 15, n. 1, p. 016019-016019-9, 2010.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production A Review. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093-8105, 2005.

WONG, W.; KASAI, R.; CHOSHIM, W.; NAKAGAWA, Y.; MIZUTANI, K.; OHTANI, K.; TANAKA, O. Acyclic Sesquiterpene Oligoglycosides from Pericarps of *Sapindus delavayi*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2699-2702, 1991.