

DESENVOLVIMENTO DO SABONETE LÍQUIDO A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE CANABIDIOL E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO ÓLEO EM CEPA ATCC

Vitória Ferreira Borges de Lima, Daniela Frances Costa Moura, Jucilene Aparecida Alves dos Santos, Tarcísio Liberato de Souza Júnior, Sônia Khouri Sibelino, Matheus Salgado de Oliveira.

Universidade do Vale do Paraíba/Centro de Diagnóstico Laboratorial da UNIVAP, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, vitoria.ferreira26@gmail.com, matheus.salgado@univap.br.

Resumo

Por séculos, a humanidade tem recorrido aos cosméticos para aprimorar sua imagem, para higiene e zelar pela saúde. O objetivo do trabalho foi desenvolver e analisar as propriedades do sabonete líquido produzido com óleo essencial de Canabidiol por meio de parâmetros organolépticos e ensaios físico-químicos e analisar o potencial microbicida do óleo sobre cepa padrão ATCC de *Staphylococcus aureus* (6538) para determinar a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e CBM (Concentração Bactericida Mínima). Para o sabonete 50 ml da base líquida Régia® e 5 ml de óleo essencial de Canabidiol Sparoom® foram misturados mecanicamente e após agitado num vortex Quimis® por 2 minutos. O produto foi avaliado conforme o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos da ANVISA. Para a análise microbiológica foi preparada a solução de óleo essencial de Canabidiol com 950µl de óleo essencial com 50µl de Dimetilsulfóxido, adicionados em um microtubo de 1,5ml. O ensaio foi conduzido em placa de 96 poços. As análises forneceram informações para futuras abordagens acerca do potencial microbicida e estético do sabonete líquido a base de óleo essencial de Canabidiol.

Palavras-chave: Sabonete, Canabidiol, Microbicida.

Área do Conhecimento: Biomedicina.

Introdução

Desde tempos pré-históricos, a humanidade tem recorrido aos cosméticos para realçar a sua aparência e cuidar da pele. Entre as grandes civilizações da Antiguidade, o Egito Antigo emerge como uma influência de destaque no universo dos cuidados estéticos. Eles recorriam a componentes obtidos a partir da extração de recursos vindos de plantas, animais e minerais (Peyrefitte; Martini; Chivot, 1998; Minto *et al.*, 2020).

A principal finalidade do sabonete é simples e fundamental: limpar a pele, libertando-a das impurezas e sujeiras acumuladas. Essa atividade, que no presente consideramos uma prática rotineira, desempenha uma função primordial na preservação da saúde e na promoção do bem-estar (Neto; Del Pino, 1997; Minto *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2021). À medida que avançamos no século XXI, vemos a incorporação de inovações de vanguarda na indústria da cosmetologia com a integração de ingredientes naturais e inovadores em formulações de produtos destinados ao cuidado da pele e beleza. Entre esses avanços, a introdução do Canabidiol como ingrediente-chave em sabonetes surgiu com muito potencial, pois, os produtos canabinóides apresentam potencial para tratar uma variedade de doenças de pele, incluindo acne (Viana *et al.*, 2021).

A planta pertencente à família Cannabaceae, conhecida como *Cannabis sativa* L., possui uma composição rica em fitocanabinóides. Entre estes, destacam-se o delta 9-tetrahydrocannabinol, conhecido por suas propriedades psicoativas, e o Canabidiol (CBD), que, ao contrário, não apresenta efeitos psicotrópicos (Penha *et al.*, 2019; Viana *et al.*, 2021). No organismo, o sistema endocanabinóide é predominantemente composto por dois tipos de receptores: o receptor CB1 e o receptor CB2. Os receptores CB1 e CB2 desempenham papéis cruciais em funções como a formação e a manutenção da barreira cutânea, o crescimento e diferenciação celular, assim como processos imunológicos e inflamatórios (Baswan *et al.*, 2020). Além dos fitocanabinóides, a planta também apresenta terpenóides notáveis, como o limoneno, que exibe propriedades ansiolíticas; o mircenolol, com suas características

anti-inflamatórias, analgésicas e sedativas; e o opipeno, que além de suas propriedades anti-inflamatórias, também exerce uma notável ação antimicrobiana (Borille, 2016; Viana *et al.*, 2021).

Os extratos de CBD apresentaram capacidade de exercer efeitos inibitórios sobre bactérias Gram positivas, notadamente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus pyogenes*, assim demonstrando sua capacidade de atividade microbiana (Martinenghi *et al.*, 2020; Abichabki *et al.*, 2022). Neste contexto, o presente projeto teve por objetivo desenvolver e analisar o sabonete líquido à base de Canabidiol, além de qualificar a atividade microbicida do óleo utilizado para o desenvolvimento do sabonete em cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

Metodologia

Desenvolveu-se um sabonete líquido à base de óleo essencial de Canabidiol, em um becker utilizando 100 ml da base líquida Régia® com 5 ml de óleo essencial de Canabidiol Sparoom®, os ingredientes foram misturados mecanicamente com um bastão de vidro, após foi agitado em um vórtex Quimis® por 2 minutos até obter homogeneização dos compostos. O produto final foi testado durante quatro semanas seguindo as diretrizes do Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos da ANVISA, através de ensaios organolépticos e físico-químicos, que incluíam cor, odor, aspecto, pH, viscosidade e densidade. Para aferir o pH foi utilizado phmetro *FiveEasy Plus Mettler Toledo*®, previamente calibrado com as soluções tampões de acordo com Minto *et al.* (2020) e Pires *et al.* (2021), fora utilizado também fita reagente para detecção de pH como análise comparativa.

Para o teste microbicida com óleo essencial de Canabidiol, inicialmente, foi realizado o repique da cepa ATCC *Staphylococcus aureus* (6538) e incubado por 24 horas, seguidamente, foi feito o preparo do inóculo, com o auxílio de uma alça descartável, uma colônia foi inoculada em 10ml de caldo BHI e posteriormente incubada por 18 horas a 37°C. Foi preparada a solução de óleo essencial de Canabidiol com 950µl de óleo essencial com 50µl de Dimetilsulfóxido (DMSO), adicionados em um microtubo de 1,5ml. O ensaio foi conduzido em placa de 96 poços, com o poço 11 como controle positivo (100µl de hipoclorito de sódio a 2,5% e 5µl do inóculo) e o poço 12 como controle positivo (100µl de caldo BHI e 5µl do inóculo). O poço 1 foi preenchido com 100µl de caldo BHI concentrado e então adicionado 100µl da solução mais concentrada do óleo de Canabidiol. Começando no poço contendo concentração superior, os poços de 2 a 10 receberam 100µl de caldo BHI cada, garantindo 100µl em todos os poços após a microdiluição. Posteriormente, 100µl do poço 2 foram transferidos para o poço 3, homogeneizados três vezes e transferidos para o poço 4, e assim por diante até o completar o último poço. Seguidamente a microdiluição, 5µl do inóculo foram pipetados em todos os poços, seguido da incubação da placa na estufa por 16 a 20 horas, conforme a metodologia do CLSI de 2018 (Humphries *et al.*, 2018). Após o período de incubação. Uma alíquota de 3µl de diferentes diluições testadas foram semeadas em ágar Muller-Hinton utilizando o método da gota e incubada a 37°C por 24 horas para investigação da constituição (desenvolvimento) ou a carência de UFC/ml em cada diluição, a fim de estabelecer a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e CBM (Concentração Bactericida Mínima).

Resultados

Os resultados das análises dos ensaios organolépticos e físico-químicos da primeira à quarta semana foram - 1ª semana: apresentava coloração amarela clara e odor característico do óleo, herbal e bem intenso. Tinha aparência homogênea mas ao centro notava-se precipitação, pH na fita 8,0 e no peagâmetro 7,96, viscosidade de 870 Pa.s e densidade 1,0531 g/ml. 2ª semana: pH variou para 7,84 (peagâmetro), viscosidade de 910 Pa.s e densidade 0,9766 g/ml. 3ª semana: pH 7,84 (peagâmetro), viscosidade de 790 Pa.s e densidade 1,0402 g/ml. 4ª semana: pH de 7,69 (peagâmetro), viscosidade 820 Pa.s e densidade 0,9841 g/ml - A cor e o pH na fita foram os mesmos durante todo experimento, o odor teve diminuição gradual na intensidade a partir da 2ª semana, porém, permaneceu herbal e a mistura se tornou homogênea, não ocorrendo mais precipitações (Tabela 1).

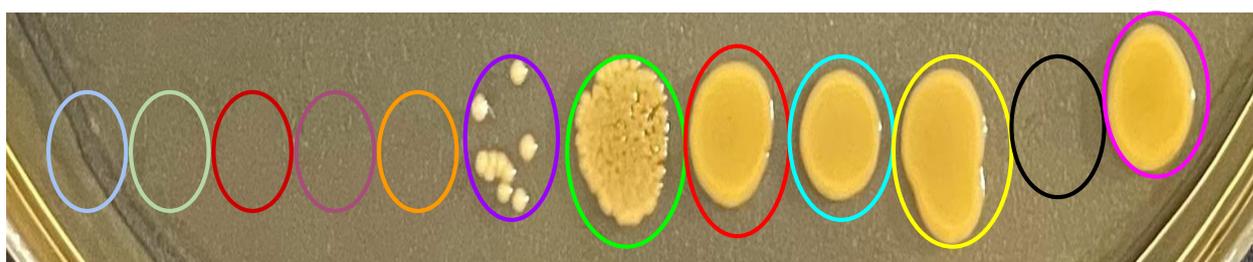
Tabela 1 - Resultados dos ensaios organolépticos e físico-químicos, testados durante 4 semanas.

semanas	cor	odor	aspecto	pH	Viscosidade (Pa.s)	Densidade (g/ml)
1 ^a	amarelo claro	característico do óleo	aparência homogênea e ao centro início de precipitação com um amarelo mais escuro	fita: 8 phmetro: 7,96	870	1,0531
2 ^a	amarelo claro	característico do óleo, mas com menor intensidade	aparência homogênea e desaparecimento da precipitação	fita: 8 phmetro: 7,84	910	0,9766
3 ^a	amarelo claro	característico do óleo, diminuição de intensidade	permaneceu o mesmo, homogêneo	fita: 8 phmetro: 7,84	790	1,0402
4 ^a	amarelo claro	característico do óleo, diminuição de intensidade	permaneceu o mesmo, homogêneo	fita: 8 phmetro: 7,69	820	0,9841

Fonte: Autora, 2024.

Na análise microbiológica para se estabelecer a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e CBM (Concentração Bactericida Mínima), observou-se que as diluições de 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 1,56% do óleo testado demonstraram eficácia (Figura 1), apresentando atividade bactericida significativa contra a cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*. No entanto, a partir da diluição de 0,78%, a atividade bactericida começou a diminuir consideravelmente, indicando que, em concentrações inferiores, o óleo essencial de Canabidiol Sparoom® não foi capaz de inibir de maneira eficaz a formação de colônias. Essa redução na eficácia pode ser atribuída à diminuição da concentração do princípio ativo, que não foi suficiente para manter a atividade bactericida contra o patógeno. Para melhor se avaliar o potencial microbicida foi encontrada a concentração inibitória mínima (CIM) de 5,8 µg/ml e a concentração bactericida mínima (CBM) de 11,6 µg/ml. Estes valores foram cruciais para compreender a eficácia do óleo avaliado e seu potencial como agente antimicrobiano.

Figura 1 - Avaliação da CBM e CIM das diluições analisadas. Legenda: A leitura foi feita da esquerda para direita (maior diluição para menor).



- | | | | |
|--------------|---------------|--------------|------------------|
| Dil. 50% ● | Dil. 6,25% ● | Dil. 0,78% ● | Dil. 0,097% ● |
| Dil. 25% ● | Dil. 3,125% ● | Dil. 0,39% ● | Cont. negativo ● |
| Dil. 12,5% ● | Dil. 1,56% ● | Dil. 0,19% ● | Cont. positivo ● |

Fonte: Autora, 2024.

Discussão

A análise dos parâmetros físico-químicos do sabonete desenvolvido (Tabela 1), revelaram pH variando de 7,96 na primeira semana para 7,69 na quarta semana, de acordo com a literatura (Leonardi *et al.*, 2002), a pele não apresenta um pH neutro e este pode variar conforme a região do corpo e a idade. No entanto, de modo geral, o pH fisiológico da pele situa-se entre 4,5 e 6,0, essa variação de pH desempenha um papel crucial na proteção da pele, oferecendo uma defesa eficaz contra bactérias e fungos na sua superfície. Na pesquisa desenvolvida por De Oliveira e colaboradores (2022), que analisaram o sabonete líquido com extrato de *Bidens pilosa* o pH final foi de 7,30, sendo que o valor do pH dos sabonetes pode variar entre 4,5 e 6,0 após o uso, no presente estudo o valor foi próximo do resultado obtido por De Oliveira *et al.* (2022), corroborando nossos achados (Tabela 1), a pequena diferença no pH pode ser devido a forma farmacêutica em questão do sabonete líquido, que consiste em uma solução contendo um ou mais princípios ativos, destinada à aplicação sobre a pele (Minto *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2021). O uso de sabonete líquido oferece várias vantagens em preparações farmacêuticas tópicas, incluindo facilidade de manuseio, uma aparência estética atraente e um nível superior de higiene em comparação com sabonetes em barra (Neto; Del Pino, 1997). Não foi possível encontrar um valor padrão ou de referência específico de densidade para sabonetes líquidos na literatura existente, contudo, o valor mais frequentemente encontrado é de 1,003 g/ml (Ferreira, 2000).

Os dados obtidos na pesquisa com sabonete líquido, desenvolvida por Astuti e colaboradores (2021), revelaram uma densidade de 1,1125 g/ml, uma viscosidade de 562,159 cP (equivalente a 0,562159 Pa·s) e um pH de 8. Em contraste, com a agitação homogênea, foram registrados uma densidade de 1,1007 g/ml, uma viscosidade de 482,5953 cP (ou 0,4825953 Pa·s) e o mesmo pH de 8, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo (Tabela 1), todavia, a viscosidade fora um parâmetro que apresentou maior variação, possivelmente devido a diferenças da composição química da base comercial utilizada.

A atividade antimicrobiana do Canabidiol foi relatada há várias décadas, mas só a partir de 2008 começou a ser mais bem explorada pela ciência (Martinenghi *et al.*, 2020; Abichabki *et al.*, 2022). As bactérias Gram-positivas são mais vulneráveis a diversos agentes e compostos devido às suas características estruturais específicas. Em contraste, as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa robusta e diferenciada, além de um fator estrutural e virulento significativo, o lipopolissacarídeo (Martinenghi *et al.*, 2020), no presente estudo, o óleo essencial de Canabidiol demonstrou atividade bactericida CIM e CBM na cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* (Figura 1), em estudos microbicidas realizados por Abichabki e colaboradores (2022), com CDB em cepas de bactérias gram-negativas, a CIM obteve resultados variando de 2 a 4 µg/ml e de 1 a 4 µg/ml e de 0,5 a 1 µg/ml. Em comparação com o resultado obtido no presente estudo, CIM de 5,8 µg/ml, é possível inferir que os valores foram próximos.

No estudo conduzido por Blaskovich e colaboradores (2021), realizaram um teste de mortalidade bacteriana (*time-kill assay*) utilizando a cepa MRSA ATCC 43300, que revelou uma rápida atividade bactericida do Canabidiol, com a eliminação efetiva das bactérias gram-negativas ocorrendo em menos de 3 horas, a concentração bactericida mínima foi de 2 µg/ml, já no trabalho de Tahsin e colaboradores (2021), as concentrações de CBD testadas variaram de 20 a 0,625 µg/ml e a CBM foi de 20 µg/ml. Esse resultado destaca uma diferença significativa em relação ao valor obtido no presente estudo (11,6 µg/ml) e no estudo de Blaskovich *et al.* (2021), sugerindo uma variação considerável nos resultados, essa discrepância por ser atribuída a diferentes fatores experimentais, como o agente microbiológico testado, cepa resistente a antibióticos e principalmente a eficácia do princípio ativo que ainda requer futuras pesquisas para melhor compreender os resultados de CIM e CBM com o óleo de Canabidiol (Viana *et al.*, 2021). Este estudo abre caminho para futuras abordagens acerca do potencial microbicida e estético do sabonete líquido a base de óleo essencial de Canabidiol.

Conclusão

O sabonete líquido desenvolvido apresentou características organolépticas e físico-químicas adequadas, sugere-se aprofundamentos para melhorias do produto e análises de eficácia temporal mais prolongadas. O óleo essencial de Canabidiol demonstrou atividade bactericida CIM e CBM na

cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*, nossos achados abrem caminho para futuras abordagens acerca do potencial microbicida e estético do sabonete líquido a base de óleo essencial de Canabidiol.

Referências

ABICHABKI, N. *et al.* Potential cannabidiol (CBD) repurposing as antibacterial and promising therapy of CBD plus polymyxin B (PB) against PB-resistant gram-negative bacilli. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 6454, 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2008.

ASTUTI, E.; RAHAYU, A.; SULISTIAWATI, E. Effect of Time and Reaction Speed on Making Liquid Soap in Terms of Viscosity and Density Values. **CHEMICA Jurnal Teknik Kimia**. 8(1):39, 2021.

BASWAN, S. M. *et al.* Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) for skin health and disorders. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, p. 927-942, 2020.

BLASKOVICH, M. A. T. *et al.* The antimicrobial potential of cannabidiol. **Communications biology**, v. 4, n. 1, p. 1-18, 2021.

BORILLE, B.T. **Caracterização química da planta *Cannabis sativa* L. a partir de sementes apreendidas pela Polícia Federal no Estado do Rio Grande do Sul**. Dissertação de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

DE OLIVEIRA, A. A. *et al.* Sabonete líquido com extrato de picão (*Bidens pilosa linn*) para o cuidado de recém-natos com icterícia neonatal. **Revista Científica FACS**, v. 22, n. 2, p. 18-29, 2022.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. In: Guia prático da Farmácia Magistral. p. 320-320, 2000.

HUMPHRIES, R. M. *et al.* CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. **Journal of clinical microbiology**, v. 56, n. 4, p. 10.1128/jcm. 01934-17, 2018.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M.B. G. 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**, v. 77, p. 563-569, 2002.

MARTINENGI, L. D. *et al.* Isolation, purification, and antimicrobial characterization of cannabidiolic acid and cannabidiol from *Cannabis sativa* L. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 900, 2020.

MINTO, L. F. *et al.* Desenvolvimento de Sabonete Líquido Antisséptico à Base de Óleos Essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Schinus terebenthifolius* e *Rosmarinus officinalis*. **Cadernos Camilliani** e-ISSN: 2594-9640, v. 17, n. 4, p. 2338-2354, 2020.

NETO, O. G. Z.; DEL PINO, J. C. **Trabalhando a química dos sabões e detergentes**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Departamento de química, Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico: Subprograma Educação para a Ciência (SPEC-PADCT), Porto Alegre, 1997.

PEYREFITTE, G.; MARTINI, M.; CHIVOT, M. Estética-cosmética: cosmetologia, biologia geral, biologia da pele. In: **Estética-cosmética: cosmetologia, biologia geral, biologia da pele**. p. 507-507, 1998.

PENHA, E. M. *et al.* A regulamentação de medicamentos derivados da *Cannabis sativa* no Brasil. **Brazilian journal of forensic sciences, medical law and bioethics**, v. 9, n. 1, p. 125-145, 2019.

PIRES, V. R. *et al.* Desenvolvimento de um sabonete líquido a partir do extrato da casca do fruto da pitomba (*Talisia esculenta*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e325101522791-e325101522791, 2021.

TAHSIN, K. N. *et al.* Antimicrobial Studies of Cannabidiol as Biomaterials against superbug MRSA. **CMBES Proceedings**, v. 44, 2021.

VIANA, L. *et al.* Efeito do óleo de canabidiol (CBD) sobre a acne. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e306101422075-e306101422075, 2021.