



* B R 1 1 2 0 1 9 0 2 7 0 8 9 B 1 *

República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112019027089-2 B1

(22) Data do Depósito: 27/06/2018

(45) Data de Concessão: 25/04/2023

(54) Título: FORMULAÇÃO TÓPICA, SEU USO, USO DE UM GALACTO-OLIGOSSACARÍDEO E XILITOL, E COSMÉTICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA

(51) Int.Cl.: A61K 8/34; A61K 8/60; A61Q 17/00; A61Q 19/00; A61Q 19/10; (...).

(30) Prioridade Unionista: 27/06/2017 US 62/525,489.

(73) Titular(es): ROTTAPHARM SPA.

(72) Inventor(es): ANDREA ZANARDI; ALESSANDRA CERACI; IVAN MONTALDO.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018067337 de 27/06/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/002421 de 03/01/2019

(85) Data do Início da Fase Nacional: 18/12/2019

(57) Resumo: A invenção refere-se a formulações tópicas compreendendo: ? um galacto-oligossacarídeo; ? 0,01% a 10% em p/p de xilitol; e ? um veículo farmacologicamente ou cosmeticamente aceitável. A invenção também se refere ao uso das formulações e métodos para sua preparação.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"FORMULAÇÃO TÓPICA, SEU USO, USO DE UM GALACTO-OLIGOSSACARÍDEO E XILITOL, E COSMÉTICO PARA APLICAÇÃO TÓPICA"**.

[001] A presente invenção se refere a uma formulação tópica compreendendo um galacto-oligossacarídeo e xilitol e seu uso em terapia por aplicação tópica.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] O maior órgão do corpo humano é a pele que desempenha um papel fundamental na proteção do hospedeiro de infecções patogênicas e penetração de agentes nocivos. Antes do nascimento, a pele é completamente estéril, mas após o nascimento, micróbios ambientais que estão em homeostase com o hospedeiro a colonizam. Além disso, após um parto vaginal, micróbios fecais e vaginais pertencendo à microflora bacteriana da mãe também colonizam a pele dos bebês. A comunidade microbiana que vive na pele humana é chamada microbiota da pele e é constituída por mais de 100 espécies distintas de bactérias. A pele é a interface do corpo para o mundo exterior e ela abriga populações de microrganismos comensais não patogênicos e têm uma função importante na saúde e na doença da pele.

[003] A pele hospeda cerca de 10^6 bactérias por centímetro quadrado as quais formam a microflora da pele. Uma biota de pele equilibrada saudável é o escudo microbiano contra microrganismos patogênicos e ela pode prevenir condições de pele seca e melhorar a saúde da pele.

[004] Alterações no microbioma da pele são um componente importante da fisiopatologia da dermatite atópica. A pele afetada pela dermatite atópica é frequentemente colonizada por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), particularmente durante uma crise da doença, ao passo que a abundância de outras bactérias comensais é acentuada-

mente diminuída. Estas mudanças no microbioma da pele afetam negativamente a barreira epidérmica e iniciam a inflamação. Quando bactérias, tal como *S. aureus* fixam à superfície da pele, elas formam biofilmes que agem como um andaime para crescimento bacteriano adicional. Antibióticos não são o tratamento ideal para remover bactérias da pele de pacientes de dermatite atópica devido a problemas, tal como irritação de pele e resistência bacteriana.

[005] É um objetivo da presente invenção fornecer uma formulação tópica para tratar uma doença ou distúrbio da pele, por exemplo, dermatite atópica.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[006] Em um primeiro aspecto, a invenção fornece uma formulação tópica que compreende:

- um galacto-oligossacarídeo;
- 0,01% a 10% em p/p de xilitol; e
- um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável.

[007] Em um segundo aspecto, a invenção fornece a formulação como definida pelo primeiro aspecto da invenção para uso em terapia.

[008] Em um terceiro aspecto, a invenção fornece uma formulação compreendendo:

- um galacto-oligossacarídeo,
- xilitol, e
- um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável para uso em terapia por aplicação tópica.

[009] Em um quarto aspecto, a invenção proporciona a formulação, como definida pelo primeiro aspecto da invenção para uso como um cosmético.

[0010] Surpreendentemente, o requerente constatou que uma formulação compreendendo galacto-oligossacarídeo e xilitol tem um efeito benéfico no microbioma da pele e, desse modo, é adequada para

tratar doenças e distúrbios da pele e para usos cosméticos para melhorar a aparência da pele.

[0011] Em um quinto aspecto, a invenção fornece uma formulação tópica compreendendo um galacto-oligossacarídeo para uso no tratamento de dermatite atópica por aplicação tópica.

[0012] Aspectos adicionais da invenção são descritos mais detalhadamente na descrição detalhada a seguir das várias modalidades.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0013] A invenção fornece uma formulação tópica que compreende:

- um galacto-oligossacarídeo;
- 0,01% a 10% em p/p de xilitol; e
- um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável.

[0014] A formulação tópica inclui um galacto-oligossacarídeo. Para evitar dúvidas, o termo galacto-oligossacarídeo inclui misturas (isto é, um ou mais) de galacto-oligossacarídeos e formulações compreendendo misturas de galacto-oligossacarídeos são cobertas pela invenção.

[0015] Os galacto-oligossacarídeos pertencem ao grupo de prebióticos, que são ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro estimulando o crescimento e/ou a atividade de bactérias benéficas. O galacto-oligossacarídeo está presente em produtos comercialmente disponíveis, tal como alimentos para bebês e adultos. Os galacto-oligossacarídeos são produzidos através da conversão enzimática de lactose ou de uma fonte botânica e sua composição da fração de galacto-oligossacarídeo varia no comprimento de cadeia e no tipo de ligação entre as unidades de monômero.

[0016] Os galacto-oligossacarídeos são oligômeros ou polímeros de moléculas de galactose terminando principalmente com uma glicose ou às vezes terminando com uma molécula de galactose e têm

graus variados de polimerização e tipos de ligações. Em uma modalidade, o galacto-oligossacarídeo compreende moléculas de galactose e glicose. Em outra modalidade, o galacto-oligossacarídeo compreende apenas moléculas de galactose. Em uma modalidade adicional, galacto-oligossacarídeo são oligossacarídeos contendo galactose da forma de $[\beta\text{-D-Gal-(1-6)}]_n\text{-}\beta\text{-D-Gal-(1-4)-D-Glc}$ em que n é de 2 a 20. Em outra modalidade, os galacto-oligossacarídeos são oligossacarídeos contendo galactose da forma $\text{Glc-}\alpha\text{-1-4-}[\beta\text{-Gal1-6}]_n$ onde $n=2\text{-}20$. Em outra modalidade, os galacto-oligossacarídeos estão na forma de $\alpha\text{-D-Glc(1-4)-}[\beta\text{-D-Gal-(1-6)}]_n$, em que $n=2\text{-}20$. Gal é uma unidade de galactopiranosose e Glc (ou Glu) é uma unidade de glicopiranosose.

[0017] Os galacto-oligossacarídeos são encontrados no leite materno humano e bovino. Os galacto-oligossacarídeos podem ser produzidos a partir de xarope de lactose usando a atividade transgalactosilase da enzima beta-galactosidase (Crittenden, (1999) Probiotics: A Critical Review. Tannock, G. (ed) Horizon Scientific Press, Wymondham, pp. 141-156). Sabe-se que a $\beta\text{-D-galactosidase}$ catalisa não apenas a hidrólise da ligação $\beta\text{-D-galactosídeo}$ da lactose para dar D-glicose e D-galactose, mas também realiza reações de transgalactosilação, em que o grupo D-galactosila de uma beta-D-galactosídeo é transferido para um aceitador hidroxilado. Por exemplo, quando um $\beta\text{-D-galactosídeo}$, tal como lactose ou outro carboidrato, está presente, é possível obter novas ligações glicosídicas entre a unidade de D-galactose e o aceitador. O galactosídeo de partida, tal como lactose, também pode estar presente em uma mistura de galacto-oligossacarídeo em seguida às reações de transgalactosilação.

[0018] Como aqui utilizado, o galacto-oligossacarídeo compreende um ou mais sacarídeos que foram produzidos de um glicosídeo e da reação de transgalactosilação de uma $\beta\text{-galactosidase}$. Assim, os galacto-oligossacarídeos incluem sacarídeos, tal como oligossacarídeos

transgalactosilados (isto é, transgalacto-oligossacarídeos) ou dissacarídeos transgalactosilatos. Os graus de polimerização (DP) do oligossacarídeo formado podem variar, tipicamente de 2 a 20, dependendo da fonte da enzima. Em uma modalidade, uma composição de galacto-oligossacarídeos é uma mistura de um ou mais sacarídeos com uma faixa de DP de 2 a 6 (isto é, di a hexassacarídeos).

[0019] Em outra modalidade, uma composição de galacto-oligosacarídeos é uma mistura de um ou mais sacarídeos com uma faixa de DP de 2 a 8 (isto é, di a octassacarídeos). Em outra modalidade, uma composição de galacto-oligossacarídeo é uma mistura de um ou mais sacarídeos com uma faixa de DP maior que 8. Em ainda outra modalidade, uma composição de galacto-oligossacarídeos é uma mistura de um ou mais sacarídeos com uma faixa de DP de 9 a 15. Em outra modalidade, uma composição de galacto-oligossacarídeos é uma mistura de um ou mais sacarídeos com um DP de 1, uma faixa de DP de 2 a 6, uma faixa de DP de 6 a 8 e uma faixa de DP maior que 8.

[0020] Em uma modalidade, a formulação tópica compreende 0,01% a 10% em p/p de galacto-oligossacarídeo, por exemplo, 0,01% a 5% em p/p de galacto-oligossacarídeo. Alternativamente, a formulação compreende 0,1% a 5% em p/p de galacto-oligossacarídeo ou 0,5% a 5% em p/p de galacto-oligossacarídeo.

[0021] Em uma modalidade preferida, a formulação tópica compreende 0,01% a 5% em p/p de galacto-oligossacarídeo.

[0022] A formulação tópica inclui 0,01% a 10% em p/p de xilitol. Xilitol é um álcool de açúcar ocorrendo naturalmente usado como um adoçante. Ele é encontrado em baixas concentrações nas fibras de muitas frutas e vegetais e pode ser extraído de várias bagas, aveia e cogumelos, assim como de material fibroso, tal como casca de milho e bagaço de cana-de-açúcar.

[0023] Em uma modalidade, a formulação tópica compreende

0,01% a 5% em p/p de xilitol. Alternativamente, a formulação compreende 0,1% a 5% em p/p de xilitol ou 0,5% a 5% em p/p de xilitol.

[0024] Em uma modalidade preferida, a formulação tópica compreende 0,01% a 5% em p/p de xilitol.

[0025] Em uma modalidade, a formulação tópica compreende uma razão em peso de galacto-oligossacarídeo:xilitol de 10:1 a 1:10, de 8:1 a 1:8, de 5:1 a 1:5 ou de 3:1 a 1:3

[0026] Em uma modalidade preferida, a formulação tópica compreende uma razão em peso de galacto-oligossacarídeo:xilitol de 2:1 a 1:2.

[0027] As formulações tópicas são para uso em terapia, em particular por aplicação tópica.

[0028] Em uma modalidade, a invenção fornece uma formulação tópica que compreende:

- um galacto-oligossacarídeo;
- xilitol; e
- um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável;

para uso em terapia por aplicação tópica.

[0029] Em uma modalidade adicional, a invenção fornece uma formulação tópica compreendendo um galacto-oligossacarídeo para uso no tratamento de dermatite atópica por aplicação tópica.

[0030] Em uma modalidade, as formulações são para uso no tratamento de uma doença ou um distúrbio de pele.

[0031] Em uma modalidade, a invenção fornece um método para tratar uma doença ou um distúrbio de pele compreendendo a aplicação tópica de uma quantidade eficaz de formulação tópica de acordo com a invenção a um paciente em necessidade da mesma.

[0032] Em outra modalidade, a invenção fornece o uso de um galacto-oligossacarídeo e xilitol para a fabricação de um medicamento para uso em um método para tratar uma doença ou um distúrbio de

pele.

[0033] Em uma modalidade, as formulações tópicas são para uso no tratamento de uma doença ou um distúrbio de pele associado com *S. aureus*. Uma doença ou um distúrbio de pele associado com *S. aureus* é um o qual é causado ou promovido por *S. aureus*.

[0034] *S. aureus* é uma cepa patogênica gram-positiva responsável por uma ampla variedade de condições, variando de inflamação clínica a infecções severas que causam pneumonia, endocardite e septicemia. *S. aureus* é uma das bactérias mais importantes em doenças humanas. *S. aureus* está particularmente associada à dermatite atópica, uma doença de pele inflamatória crônica comum caracterizada por eritema de lesões eczematosas agudas. O prurido também é proeminente e consistente e, assim, tem um efeito na qualidade de vida. A dermatite atópica afeta 10 a 30% das crianças e 2 a 3% dos adultos em países industrializados. *S. aureus* também é um fator causador ou composto na patogênese de outras infecções de pele menores, tal como espinhas, impetigo, celulite e foliculite, e em doenças mais graves e invasivas, tal como pneumonia, vaginite, meningite, osteomielite, síndrome do choque tóxico, bacteremia e sepse.

[0035] Em uma modalidade, a doença ou o distúrbio de pele é dermatite atópica (isto é, eczema atópico) e, em particular, é dermatite atópica associada a *S. aureus*.

[0036] Sem estar limitado pela teoria, acredita-se que as formulações tópicas da invenção promovam o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), a espécie de bactérias mais comumente isolada em pele saudável a qual representa até 90% da flora aeróbica. *S. epidermidis* equilibra a resposta inflamatória após a lesão de pele e produz moléculas antimicrobianas que inibem seletivamente patógenos de pele. Pensa-se que o crescimento de *S. epidermidis* inibe o crescimento de *S. aureus*.

[0037] Por conseguinte, a invenção fornece o uso de uma formulação tópica da invenção para impedir o crescimento de *S. aureus*, em particular na pele de um humano ou animal.

[0038] Novamente, sem estar limitado pela teoria, pensa-se que as formulações tópicas da invenção impedem a formação de um biofilme de *S. aureus* ou removem esse biofilme uma vez formado, em particular na pele de um humano ou animal.

[0039] Por conseguinte, a invenção fornece o uso de uma formulação tópica da invenção para impedir a formação de um biofilme de *S. aureus* ou remover esse biofilme uma vez formado, em particular na pele de um humano ou animal.

[0040] Em outra modalidade, a invenção fornece o uso da formulação tópica como um cosmético. No uso cosmético da invenção, a formulação tópica não é usada em terapia. Em vez disso, a formulação é usada para melhorar a aparência da superfície, por exemplo, a pele à qual a formulação é aplicada topicamente.

[0041] Outro aspecto da presente invenção é um método para a preparação da formulação tópica compreendendo galacto-oligossacarídeo. Em uma modalidade, o método envolve misturar o galacto-oligossacarídeo, xilitol e o veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável e, então, isolar a formulação tópica.

[0042] A formulação tópica é para aplicação tópica. A formulação tópica pode ser uma formulação dermatológica.

[0043] De preferência, a formulação tópica é aplicada à pele. Por conseguinte, as formulações tópicas tipicamente em forma líquida ou semissólida, por exemplo, como uma emulsão (por exemplo, uma emulsão óleo em água ou uma emulsão água em óleo), um emoliente, uma pasta, um creme, um unguento, um gel, um xampu ou um lenço.

[0044] Por conseguinte, a formulação também compreende um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável do tipo adequado

para aplicações destinadas a aplicação tópica.

[0045] A formulação tópica é de preferência uma emulsão óleo em água compreendendo um óleo, pelo menos um emulsificante tensoativo, galacto-oligossacarídeo, xilitol e água.

[0046] O óleo é geralmente um óleo mineral. A emulsão compreende outros ingredientes que tipicamente estão presentes em emulsões óleo em água. Por exemplo, a formulação da invenção pode opcionalmente conter um agente protetor de umidade, tal como glicerina. Esta formulação também pode conter um álcool de ácido graxo, por exemplo, álcool estearílico, álcool palmitílico, álcool maleico ou álcool cetílico. A presente formulação também contém um meio aquoso, por exemplo, água geralmente purificada.

[0047] O ácido graxo pode ter um máximo 16 a 18 carbonos, por exemplo, estearato e palmitato, dentre outros. Intensificadores opcionais podem ser incluídos, por exemplo, citrato, ácido maleico, ácido etilenodiaminatetracético, aminoácidos livres e carbopol, goma xantana, carragena e polímeros quaternarizados condicionantes.

[0048] Adicionalmente, é desejável incluir uma pequena quantidade de conservante na formulação da presente invenção para permitir armazenamento das formulações em boas condições. Podem ser empregados conservantes tais como metil e propil parabeno, bem como outros conservantes conhecidos como fenoxietanol, benzoato de sódio e sorbato de potássio. As formulações podem ser preservadas usando também pentileno glicol, decileno glicol, 1,2-octanodiol, 1,2-hexanodiol e o-Cimen-5-ol.

[0049] Adicionalmente, é desejável incluir tensoativos na formulação da presente invenção. A formulação pode conter sódio laureth sulfato, sódio myreth sulfato, dissódio laureth sulfosuccinato, sódio cocoanfoacetato e sódio cocoanfoacetato.

[0050] Dependendo da formulação específica da formulação, os

outros ingredientes ou excipientes variarão em sua funcionalidade e quantidade. Por exemplo, além de galacto-oligossacarídeo e xilitol, formulações de lavagem corporal, loção corporal, emolientes e lavagem corporal contêm tipicamente as seguintes quantidades de excipientes.

Lavagem corporal (quantidade % em p/p)	
Água	75-90
Tensoativo	5-10
Umectante	0,1-5
Condicionador	0,1-5
Fragrância	0,1-2
Emoliente	0,1-2
Agente gelificante	0,1-2
Conservante	0,1-2
Tampão	0,1-2

Loção corporal (quantidade % em p/p)	
Água	55-70
Emoliente	5-20
Condicionador	5-10
Umectante	0,1-10
Tensoativo	0,1-3
Fragrância	0,1-2
Antioxidante	0,1-2
Agente estabilizador	0,1-5
Controlador de viscosidade	0,1-2
Agente gelificante	0,1-2
Emulsificante	0,1-2
Absorvente	0,1-2
Tampão	0,01-0,5

Xampu (quantidade % em p/p)	
Água	80-95
Tensoativo	5-12
Umectante	0,1-5
Condicionador	0,1-2
Fragrância	0,1-2
Emoliente	0,1-2
Antioxidante	0,1-2
Antimicrobiano	0,1-2
Tampão	0,1-2
Agente quelante	0,01-0,5

Emoliente (quantidade % em p/p)	
Água	50-70
Emoliente	5-15
Umectante	5-15
Condicionador	5-15
Emulsificante	1-10
Agente estabilizador	0,1-5
Antioxidante	0,1-2
Agente gelificante	0,1-2
Agente quelante	0,1-2
Agente de mascaramento	0,1-2
Tampão	0,01-0,5

[0051] As formulações de acordo com a invenção são estáveis e exibem boa estabilidade física e química ao longo do tempo, mesmo a uma temperatura acima da temperatura ambiente.

[0052] Em outra modalidade, a formulação tópica é fornecida em um lenço. Nesta modalidade, o usuário pode aplicar topicamente a formulação usando o lenço.

[0053] Os exemplos seguintes descrevem a inibição bem-sucedida de *S. aureus* com as formulações da invenção e, portanto, indicam que as formulações tópicas seriam úteis para tratar doenças e distúrbios de pele, em particular dermatite atópica.

EXEMPLOS

Exemplo 1

[0054] A seguinte formulação tópica é um limpador de pele.

	% em p/p
Glicirrinato de Potássio	0,1-0,5
Niacinamida	0,1-1
Xilitol	5
Galacto-oligossacarídeos	0,5
Goma xantana	0,1-0,5
Triglicerídeo caprílico/cáprico	4
Esteróis de Glycine soya (soja)	0,1-1
Glicosfingolipídeos, fosfolipídeos, colesterol	0,1-0,5
BHT	0,05-1
Ésteres de distearato de poligliceril-6 (e) jojoba (e) cera de abelha poligliceril-3 (e) álcool cetílico	3-5
Laurato de isoamila	1-3
cetil fosfato de potássio, glicérides de palma hidrogenados	0,4-1
Laureth-9	1-3
laurato de glicerila	1-3
Álcool cetearílico	1-3
Butyrospermum parkii	5-10
Lecitina hidrogenada	0,1-3
Glicirretinato de estearila	0,1-05
Óleo de semente de <i>Linum usitatissimum</i>	2-5
Acetato de Tocoferila	1-4
Acrilatos/ polímero reticulado de acrilato de alquila C10-30	0,1-2
Metilpropandiol, caprilil glicol, fenilpropanol	1-4

Arginina	1-3
Água	até 100

Exemplo 2

[0055] A seguinte formulação tópica é um emoliente:

	% em p/p
Xilitol	5
Laureth sulfossuccinato de dissódio	5-15
Laureth-9	1-3
Cocoanfoacetato de sódio	1-15
Cloreto de hidroxipropil guar hidroxipropiltrimônio	0,5-4
Ácido láctico	
Caprilil glicol	0,5-3
Lauril sulfoacetato de sódio	1-5
Propileno glicol	1-5
Niacinamida	0,1-3
Galacto-oligosacarídeo	0,5
Glicirrizato dipotássico	0,1-1
Extrato de flor/folha/caule de <i>Malva sylvestris</i>	1-3
Aqua/água	até 100

[0056] Aproximadamente 1×10^4 cfu de duas cepas diferentes de *S. aureus* (ATCC 29213 e 815) foram adicionados às formulações dos Exemplos 1 e 2. Os resultados são expressos como a % de inibição de crescimento e formação de biofilme em 3 horas.

Tabela 1

	Exemplo 1		Exemplo 2	
	ATCC 29213	815	ATCC 29213	815
<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	815	ATCC 29213	815
Inibição de crescimento	99,99% em 3h	99,99% em 3h	99,99% em 3h	100% em 3h
Inibição de formação de biofilme	99,99% em 3h	99,99% em 3h	99,99% em 3h	99,99% em 3h

[0057] Todas as formulações inibiram rapidamente o crescimento de ambas as cepas de *S. aureus* dentro de 3 horas e inibiram a formação de biofilmes. Estes resultados demonstram a possibilidade de inibir a microflora da pele patogênica em distúrbios de pele usando formulações contendo probióticos isentas de conservantes.

Exemplo 3

[0058] A Tabela 2 estabelece quantidades típicas de galacto-oligosacarídeo (GOS) e xilitol (p/p) da formulação em tipos particulares de formulação.

Formulação	GOS % em p/p	xilitol % em p/p
Limpador	0,01-3, por exemplo, 0,5	1-10, por exemplo, 5
Emoliente	0,01-3, por exemplo, 0,5	1-10, por exemplo, 5
Lavagem corporal	0,01-3, por exemplo, 0,5	0,01-3, por exemplo, 0,5
Creme para assaduras	0,5-2,5, por exemplo, 1	0,1-3, por exemplo, 1
Creme hidratante	0,1-3, por exemplo, 1	0,1-3, por exemplo, 1
Lenços úmidos	0,01-3, por exemplo, 0,1	0,01-3, por exemplo, 0,1
Espuma de banho	0,01-3, por exemplo, 0,1	0,01-3, por exemplo, 0,1
Xampu	0,01-3, por exemplo, 0,1	0,01-3, por exemplo, 0,1
Loção corporal	0,1-3, por exemplo, 1	0,1-3, por exemplo, 1

Exemplo 4

[0059] Galacto-oligosacarídeo e xilitol foram avaliados sozinhos e em combinação em diferentes concentrações (concentrações: 0,1, 2,5 e 5%) para afetar a produção planctônica bacteriana e a capacidade de formação de biofilme de culturas de caldo padronizado de *S. aureus* 815 (cepa clínica) e *S. epidermidis* 317 (cepa clínica) foi avaliada.

[0060] A forma planctônica de bactérias é caracterizada por células separadas que flutuam ou existem independentemente como uma suspensão dentro dos meios líquidos. A forma de biofilme (ou agregada/séssil) é caracterizada por um estado no qual as células estão fortemente restritas e firmemente fixadas umas às outras. Tipicamente, a forma de biofilme está associada à inflamação e infecção clínica em humanos.

Exemplo 4.1 - fase planctônica

[0061] Diferentes concentrações de galacto-oligosacarídeo, xilitol e sua combinação foram adicionadas a uma placa de 96 poços para avaliar seu efeito in vitro na população planctônica bacteriana de *S. aureus* e *S. epidermidis*. O inóculo bacteriano durante a noite foi pre-

parado em caldo de soja Tryptic (TSB), renovado no mesmo meio e ajustado para $OD_{600} = 0,12$ (aproximadamente 5×10^6 CFU/mL) para os experimentos. Para os controles, galacto-oligossacarídeo e xilitol também foram analisados sozinhos. As placas foram incubadas por $t = 3$ e 6 h a 37°C em condições aeróbicas. Cada determinação foi realizada em duplicata para três experimentos independentes e a biomassa foi avaliada usando um método de coloração de safranina.

[0062] Após cada tempo de incubação, a redução da OD_{600} foi avaliada em relação aos controles e as unidades formadoras de colônias (UFC)/mL em 0 e 24h foram detectadas. Cada determinação foi realizada em duplicata para três experimentos independentes e a biomassa foi avaliada usando um método de coloração de safranina.

[0063] A Tabela 3 delinea a redução percentual do crescimento de *S. aureus* 815 e *S. epidermidis* 317 em fase planctônica na presença de galacto-oligossacarídeo, xilitol e suas combinações em diferentes concentrações (OD_{600}) após 3 e 6h.

3h – *S. aureus* 815

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	14,38	23,93	26,70
	1	13,88	22,47	27,94	30,23
	2,5	18,78	26,80	32,24	34,96
	5	29,52	34,26	38,88	40,66

6h – *S. aureus* 815

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	15,86	27,80	35,13
	1	22,59	34,54	41,18	43,60
	2,5	22,35	31,44	37,39	46,42
	5	32,26	41,88	51,35	55,50

3h – S. epidermidis 317

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	13,40	19,36	27,13
	1	10,89	19,94	27,10	32,94
	2,5	20,94	32,16	34,57	38,81
	5	31,35	33,38	38,70	45,34

6h – S. epidermidis 317

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	22,11	28,57	29,99
	1	15,92	27,86	37,78	42,89
	2,5	26,63	34,75	40,18	45,87
	5	36,67	40,41	45,70	51,06

[0064] Galacto-oligossacarídeo e xilitol dosados sozinhos e em combinação proporcionam uma redução no crescimento planctônico de *S. aureus* 815 e *S. epidermidis* 317.

Exemplo 4.2 - fase de biofilme

[0065] Suspensões bacterianas cultivadas em TSB suplementadas com glicose a 0,5% (v/v) em fase logarítmica foram incubadas em 96 placas de microlitro de fundo chato na presença de galacto-oligossacarídeo ou xilitol ou sua combinação em diferentes concentrações ou TSB (controle). Após incubação por 3h e 24h a 37°C, cada poço foi lavado duas vezes com PBS estéril, seco ao ar, corado por 1 min com safranina a 0,1% e lavado com PBS. O biofilme corado foi ressuspensão em 200 µL de etanol (95% v/v) e OD₄₉₂ foi medida por espectrofotometria usando um leitor de ELISA.

[0066] A Tabela 4 delinea a porcentagem de redução de biofilme (antiadesivo (3h) e antibiofilme (24h)) de *S. aureus* 815 e *S. epidermidis* 317 na presença de galacto-oligossacarídeo, xilitol e suas combinações em diferentes concentrações.

3h – S. aureus 815

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	21,61	28,81	36,98
	1	16,66	29,44	33,15	38,45
	2,5	21,02	25,62	31,47	35,36
	5	28,16	29,97	35,89	39,60

24h - S. aureus 815

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	51,68	47,8	56,02
	1	38,59	35,94	48,94	51,53
	2,5	40,88	33,76	39,79	61,13
	5	32,14	33,93	36,07	50,03

3h – S. epidermidis 317

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	1,00	10,64	14,16
	1	2,56	2,50	11,73	11,16
	2,5	1,20	2,84	13,83	14,86
	5	1,00	3,45	18,65	19,77

24h - S. epidermidis 317

		Xilitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	22,81	22,18	5,67
	1	4,70	8,34	18,02	11,50
	2,5	8,13	4,64	1,33	21,05
	5	8,76	8,30	12,49	13,69

[0067] O galacto-oligossacarídeo e o xilitol dosados sozinhos e em combinação proporcionam uma redução da formação de biofilme em *S. aureus* 815 de até 40% após 3 horas de tratamento (efeito antiadesivo) e até 60% após 24 h (efeito antibiofilme). Para *S. epidermidis* 317, este efeito não foi observado.

[0068] A presente invenção também inclui as seguintes modalidades:

1. Um método para melhorar eficácia antibacteriana contra *S. Aureus* compreendendo a aplicação tópica de uma formulação dermatológica que compreende um galacto-oligossacarídeo.

2. O método em que a formulação compreende ainda xilitol.

3. O método em que a formulação dermatológica é formulada como um emoliente, detergente, pasta ou gel.

4. O método em que o galacto-oligossacarídeo está presente em uma quantidade de 0% a 5% em p/p da formulação.

5. O método em que o xilitol está presente em uma quantidade de 0% a 5% em p/p da formulação.

6. Um método para melhorar eficácia antibacteriana contra *S. Aureus* compreendendo a aplicação tópica de uma formulação dermatológica que compreende de 0% a 5% em p/p da formulação de galacto-oligossacarídeo e de 0% a 5% em p/p da formulação de xilitol.

7. Uma formulação dermatológica que compreende de 0% a 5% em p/p da formulação de galacto-oligossacarídeo e de 0% a 5% em p/p da formulação de xilitol.

8. Um método para o tratamento de dermatite atópica compreendendo aplicar topicamente na pele de um indivíduo em necessidade de tal tratamento uma composição tópica compreendendo uma quantidade eficaz de galacto-oligossacarídeo.

9. O método em que a composição é formulada como uma emulsão.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação tópica, caracterizada pelo fato de que compreende:

- 0,01% a 10% em p/p de galacto-oligossacarídeo;
- 0,01% a 10% em p/p de xilitol; e
- um veículo farmacêutica ou cosmeticamente aceitável;

sendo que a razão em peso de galacto-oligossacarídeo:xilitol é de 10:1 a 1:10.

2. Formulação tópica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende 0,01% a 5% em p/p de xilitol.

3. Formulação tópica, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que compreende 0,01% a 5% em p/p de galacto-oligossacarídeo.

4. Formulação tópica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que compreende uma razão em peso de galacto-oligossacarídeo:xilitol de 2:1 a 1:2.

5. Formulação tópica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o compósito é uma emulsão (por exemplo, uma emulsão óleo em água ou uma emulsão água em óleo), um emoliente, uma pasta, um creme, um unguento ou um gel.

6. Formulação tópica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizada pelo fato de que é uma emulsão óleo em água.

7. Formulação tópica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizada pelo fato de que é para uso em terapia.

8. Formulação tópica, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que é para uso em terapia por aplicação tópica.

9. Formulação tópica, de acordo com a reivindicação 7 ou 8, caracterizada pelo fato de que é para uso no tratamento de uma doença ou distúrbio de pele.

10. Uso de um galacto-oligossacarídeo e xilitol, caracterizado pelo fato de que é para fabricação de uma formulação tópica, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, para tratamento de uma doença ou distúrbio de pele por aplicação tópica.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a doença ou o distúrbio de pele é uma doença de distúrbio associado a *S. aureus*.

12. Uso, de acordo com a reivindicação 10 ou 11, caracterizado pelo fato de que a doença ou o distúrbio de pele é dermatite atópica.

13. Uso de uma formulação tópica, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que é como um cosmético para melhorar a aparência da pele.

14. Cosmético para aplicação tópica, caracterizado pelo fato de que compreende uma formulação tópica, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.