



## APLICAÇÃO DA CICLODEXTRINA COMPLEXADA COM EXTRATO DE SIBIPIRUNA PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS

*Ana Carolina Guidi<sup>1</sup>, Fernanda Giacomini Bueno<sup>2</sup>, João Carlos Palazzo de Mello<sup>3</sup>, Eneri Vieira de Souza Leite-Mello<sup>4</sup>*

**RESUMO:** Quaisquer danos na pele desencadeiam uma série de eventos para reconstituição do tecido lesado. Feridas representam um importante impacto econômico sobre a saúde. Em países menos desenvolvidos é comum a aplicação tópica de preparações à base de plantas, baseados na medicina tradicional local. Com uso já comprovado para tratamento de disenteria, malária e cicatrização de feridas, *Poincianella pluviosa*, conhecida como “sibipiruna”, vem sendo estudada. Nos últimos anos, diversos sistemas carreadores de fármacos vêm surgindo para melhorar a absorção e eficácia de fármacos, como as ciclodextrinas (CD). Sua estrutura permite formar complexos com moléculas, com solubilidade alterada, velocidade de dissolução, estabilidade e protegendo as mucosas da irritação. Por isso, aliando o uso tradicional de plantas como ferramenta para acelerar a reparação tecidual, visando a descoberta de novos fármacos e valorizando a biodiversidade brasileira, este trabalho tem como objetivo avaliar a interferência da CD complexada com extrato bruto de sibipiruna (EB) no tratamento de feridas cutâneas *in vivo*. Foram utilizados ratos Wistar saudáveis e confeccionadas duas feridas lado a lado no dorso dos animais. Para o tratamento, utilizou-se um gel contendo 1% de EB complexado com CD (EB+CD) e gel base, sem EB+CD. Os animais receberam tratamento tópico diário até atingir 7, 10, e 14 dias de tratamento, no qual, uma das feridas recebeu tratamento com gel base (Controle) e a outra, com o gel EB+CD (Tratado). Os animais, após os períodos de tratamento, foram eutanasiados para remoção dos fragmentos de pele contendo a ferida, para análise histológica. Os fragmentos de pele (Controle e Tratado) dos animais foram emblocados em parafina e cortados em micrótomo. Os cortes foram dispostos em duas lâminas, uma corada pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) para avaliar a re-epitelização e número de metáfases, e a outra por picro-Sirius para a quantificação das fibras colágenas tipo I e III. Em ambas as colorações, serão feitas a captura de imagens e posterior avaliação pelo programa Image Pro-Plus®. Os resultados serão submetidos à análise estatística utilizando o programa Statistica® 8.0 e as diferenças serão determinadas por teste adequado. Esperam-se resultados comprobatórios de uma melhor ação do EB quando complexado com CD sobre a ação do EB demonstrado em estudos anteriores, sugerindo uma modificação no perfil de liberação e melhora da absorção do fármaco, contribuindo no desenvolvimento de futuras formulações farmacêuticas para o tratamento clínico de feridas cutâneas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cicatrização; Ciclodextrina; *Poincianella pluviosa*; Sibipiruna.

### 1 INTRODUÇÃO

A pele recobre a superfície do corpo como uma barreira protetora contra o ambiente externo e micro-organismos, além de regular a temperatura corporal e evitar perda de água (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Quaisquer danos tissulares desencadeiam imediatamente uma série de eventos celulares e moleculares que interagem para reconstituição do tecido lesado. A cicatrização de feridas é um processo dinâmico e complexo que envolve três etapas que se sobrepõe: inflamação, proliferação e remodelação do tecido (MANDELBAUM et al., 2003; BALBINO et al., 2005).

No entanto, este processo pode ser prolongado devido a alguns fatores, podendo representar um importante impacto econômico sobre a saúde, tanto em países desenvolvidos quanto não desenvolvidos. Em países menos desenvolvidos é comum a aplicação tópica de preparações à base de plantas, baseados na medicina tradicional local (BUENO et al., 2014).

A espécie *Poincianella pluviosa* (DC.) L.P. Queiroz, pertencente à família Caesalpinaceae, conhecida popularmente como “sibipiruna” ou “falso pau Brasil”, é utilizada como planta ornamental e possui potencial

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – PR. Bolsista de apoio técnico /Fundação Araucária. carol\_guidi@hotmail.com

<sup>2</sup> Profa. Dra. da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas. Cascavel – PR. buenofgb@gmail.com

<sup>3</sup> Prof. Dr. da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Departamento de Farmácia, Maringá – PR. mellocnpq@gmail.com

<sup>4</sup> Profa. Dra. da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Departamento de Ciências Morfológicas, Maringá – PR. enerileite@gmail.com



madeireiro. Diversas espécies da família Caesalpiniaceae vêm sendo estudadas por apresentar atividade farmacológica. O uso da sibipiruna foi descrito para tratamento de disenteria, malária e cicatrizante de feridas, apresentando atividade estimulante de queratinócitos humanos e de fibroblastos dérmicos (BUENO et al., 2014).

Buscando novas formulações farmacêuticas para a melhora de patologias, têm surgido nos últimos anos, diversos sistemas de carreadores de fármacos com a finalidade de modular a cinética de liberação, melhorar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou direcioná-lo para uma determinada população celular. Uma das alternativas que vem sendo estudada e aplicada para esse fim são as ciclodextrinas, amplamente utilizadas nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêuticas e na agricultura (SALTÃO; VEIGA, 2001; MORIWAKI et al., 2009).

As ciclodextrinas (CD), naturais ou quimicamente modificadas, são oligossacarídeos cíclicos, com formato de cone truncado, cujo interior é hidrofóbico e a superfície é hidrofílica. Devido a esta estrutura, as CDs podem formar complexos de inclusão com várias moléculas orgânicas e inorgânicas. O complexo pode apresentar características diferentes em relação ao fármaco livre, como a alteração da solubilidade, além de modular a velocidade de dissolução, aumentar a estabilidade e proteger as mucosas da irritação causada por determinados fármacos (SALTÃO; VEIGA, 2001; MARTINS; VEIGA, 2002; MORIWAKI et al., 2009).

O conceito de medicamento vem evoluindo no sentido de permitir obter parâmetros farmacocinéticos adequados à ação pretendida, melhorando assim, a eficácia do fármaco, prolongando o seu efeito ou aumentando o seu índice terapêutico (SALTÃO; VEIGA, 2001).

Por isso, aliando o uso tradicional de plantas com ferramentas tecnológicas que podem melhorar suas características, o trabalho avalia a interferência da ciclodextrina complexada com extrato de sibipiruna na cicatrização de feridas cutâneas. Propõe-se, assim, como alternativa para acelerar a reparação tecidual, visando contribuir para a descoberta de novos fármacos utilizados em tratamentos clínicos, além de valorizar a biodiversidade brasileira.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 1.1 Animais

Foram utilizados 15 ratos Wistar machos (220-240 g) provenientes do Biotério Central da UEM, que permaneceram no Biotério Setorial (DCM-UEM) em gaiolas individuais, em condições padronizadas (temperatura de  $22\pm 1$  °C e umidade relativa de  $50\pm 10\%$ ), ciclo dia-noite de 12 h e livre acesso à ração e água. Os experimentos foram aprovados e conduzidos de acordo com as regras de cuidado e uso de animais de laboratório descritos pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (Parecer nº 141/2010).

### 1.2 Matéria-prima vegetal e formulação do gel para tratamento tópico

As cascas de *Poincianella pluviosa* foram coletadas no campus da Universidade Estadual de Maringá, secas em estufa e moídas em moinho de martelos. O extrato bruto (EB) foi preparado a partir das cascas moídas, por turbólise (15 min) e empregando-se etanol 50% (v/v) como líquido extrator, sendo posteriormente filtrado, concentrado em evaporador rotatório em temperatura máxima de 40 °C sob pressão reduzida e, liofilizado para armazenamento. O EB foi submetido a testes de controle de qualidade, além da determinação do teor de polifenóis totais e taninos totais.

Foi realizada a complexação do EB com a ciclodextrina (EB+CD) e após, foi incorporado a um gel. Para o preparo do gel, foi utilizado: carbopol 940 NS (0,2 g); trietanolamina (0,2 g); óleo de amêndoas (0,6 g); EB+CD (1%); água destilada (q.s.p. 20 g).

O gel contendo EB+CD e uma parte do gel sem a incorporação do EB+CD (gel base) foram utilizados no tratamento tópico dos animais. O gel base serviu como controle no tratamento.

### 1.3 Avaliação da atividade cicatrizante

Para avaliação da atividade cicatrizante, foram utilizados 15 ratos Wistar machos saudáveis (220-240 g). Os animais foram divididos em 3 grupos de 5 animais por grupo e receberam tratamento tópico diário até atingir 7, 10, e 14 dias. Após os dias de tratamento, os animais foram analgésicos com Rompun/Ketamina 1:1 (0,1 mL/100 g) para realização do procedimento cirúrgico. Após tricotomia e assepsia do local, um molde (punch) foi utilizado para marcar a área para confecção de duas feridas (1 cm<sup>2</sup> cada), com remoção da epiderme e derme no dorso dos animais. Uma ferida recebeu tratamento com gel base (Controle) e a outra recebeu tratamento com o gel contendo 1% de EB+CD (Tratado). Os grupos de animais, após 7, 10, e 14 dias, foram eutanasiados com dose letal de tiopental. Duas horas antes da eutanásia, os animais receberam por via endovenosa, 0,5 mg/kg de sulfato de vincristina 0,1 mg/mL para bloquear a proliferação celular. As feridas cutâneas foram medidas e avaliadas quanto ao seu aspecto macroscópico e os fragmentos da pele foram removidos para análise histológica.

### 1.4 Análise Histológica

Os fragmentos de pele (Controle e Tratado) dos animais foram emblocados em parafina e cortados em micrótomo (6 µm) em cortes semisseriados a partir do centro da ferida. Os cortes foram dispostos em duas



lâminas, com cinco cortes cada. Uma lâmina foi corada pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e a outra por picro-Sírius.

As lâminas coradas com a técnica HE serão avaliadas em microscópio com captura de imagem e analisadas pelo programa Image Pro-Plus® quanto à re-epitelização (comprimento e espessura) e número de metáfases presentes na camada basal e supra-basal da epiderme. As lâminas coradas com a técnica picro-Sírius serão avaliadas em microscópio contendo luz polarizada para a quantificação das fibras colágenas tipo I e III através do programa Image Pro-Plus®.

### 1.5 Análise estatística

Os resultados serão submetidos à análise estatística através do programa Statistica® 8.0 (Copyright StatSoft, Inc. 1984-2007). Os dados serão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão [coeficiente de variação (%)], utilizando análise de variância unilateral (one-way ANOVA). As diferenças significativas serão determinadas através do teste de Tukey, para resultados paramétricos, e Mann-Whitney, para resultados não paramétricos, e  $p < 0,05$  será considerado como critério de significância.

## 3 RESULTADOS ESPERADOS

A sibipiruna já possui atividade em queratinócitos e fibroblastos *in vitro* (BUENO et al., 2014) e comprovada atividade farmacológica quanto à cicatrização de feridas utilizando o EB incorporado ao gel. Portanto, esperam-se resultados comprobatórios de uma melhor ação do extrato complexado com ciclodextrina sobre a atividade do extrato bruto, demonstrado em estudos anteriores (BUENO, 2014). Com uma melhor solubilidade e liberação do EB espera-se que o EB atue estimulando ainda mais a migração e proliferação celular dos queratinócitos e a fibroplasia, sugerindo uma modificação na liberação e melhora da absorção do fármaco.

Também serão identificadas possíveis reações alérgicas, além de apontar a necessidade de estudos complementares que possam comprovar a ação do complexo ciclodextrina com extrato de sibipiruna no tratamento clínico de feridas, desta forma, contribuir para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas.

## REFERÊNCIAS

BALBINO, Carlos Alberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; CURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p.27-51, 2005.

BUENO, Fernanda Giacomini. **Poincianella pluviosa**: estudo da viabilidade celular e proliferação de fibroblastos e queratinócitos *in vitro*, e avaliação da atividade cicatrizante em ratos diabéticos e normoglicêmicos. 2014. 102 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.

BUENO, Fernanda Giacomini et al. Hydrolyzable tannins from hydroalcoholic extract from *Poincianella pluviosa* stem bark and its wound-healing properties: phytochemical investigations and influence on *in vitro* cell physiology of human keratinocytes and dermal fibroblasts. **Fitoterapia**, v. 99, p.252-260, 2014.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. **Histologia Básica**: texto e atlas, 12ª ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2013.

MANDELBAUM, Samuel Henrique; SANTIS, Érico Pampado di; MANDELBAUM, Maria Helena Sant'ana. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p.393-410, 2003.

MARTINS, Maria Rita Fernandes Moraes; VEIGA, Francisco. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p.33-54, 2002.

MORIWAKI, Cristiane et al. Produção, purificação e aumento da performance de ciclodextrina glicosiltransferase para produção de ciclodextrina. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p.2360-2368, 2009.

SALTÃO, Rui; VEIGA, Francisco. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, p.1-18, 2001.