



## ANÁLISE DAS FIBRAS COLÁGENAS DE FERIDAS CUTÂNEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO DE *Poincianella pluviosa* INCORPORADO EM FILME POLIMÉRICO

Ana Carolina Guidi<sup>1</sup>; Daniela Cristina de Medeiros<sup>2</sup>; Eneri Vieira de Souza Leite Mello<sup>3</sup>; João Carlos Palazzo de Mello<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná; <sup>2</sup>Pesquisador, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná; <sup>3</sup>Docente, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná; <sup>4</sup>Docente, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

### RESUMO

Apesar do desenvolvimento de produtos sintéticos, muitos fármacos são obtidos de matérias-primas vegetais e o estudo envolvendo a cicatrização de feridas vem se intensificando. O extrato bruto de *Poincianella pluviosa* já demonstrou boa atividade na proliferação de células da pele e na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. Buscando alternativas para melhorar a adesão ao tratamento e intensificar o tratamento, o objetivo do trabalho foi avaliar as fibras colágenas de feridas cutâneas utilizando um filme polimérico contendo extrato bruto de *P. pluviosa* no tratamento. Filmes de carboximetilcelulose foram preparados com extrato bruto (EB) de *P. pluviosa* a 1%. O filme sem extrato foi utilizado como controle negativo. Para avaliar a cicatrização de feridas, foram utilizados 20 ratos Wistar, divididos em 4 grupos (n=5) de acordo com o período de tratamento: 4, 7, 10 e 14 dias. Foram feitas duas feridas excepcionais no dorso. Em uma das feridas foi aplicado diariamente o filme com EB e na outra, o controle negativo. No final de cada período, amostras de pele foram encaminhadas para confecção de lâminas histológica, para quantificação das fibras colágenas tipo I e III. As lâminas estão sendo analisadas no programa Image Pro-Plus® e os dados serão submetidos à análise estatística. As análises estão em andamento. O uso de filmes poliméricos contendo extrato bruto de *P. pluviosa* pode ser uma boa alternativa no tratamento de feridas, por aumentar a adesão do paciente ao tratamento e prolongar o tempo de contato com a ferida.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hidrogel; cicatrização; colágeno.

## 1 INTRODUÇÃO

A estrutura da pele representa uma barreira eficaz na passagem de substâncias. As preparações tópicas, em diferentes formas farmacêuticas, podem produzir efeitos locais ou sistêmicos (SILVA, 2010). Uma gama de curativos a base de hidrogel está disponível no mercado para o tratamento de pequenas queimaduras e feridas. Apresentam-se de diversas formas, como géis amorfos, gazes impregnadas com gel, filmes ou emplastos (MADAGHIELE et al., 2014).

Apesar do desenvolvimento de produtos sintéticos, muitos fármacos são obtidos de matérias-primas vegetais (BERNARDES et al., 2017). O estudo de produtos naturais como agente cicatrizante vem se intensificando devido às substâncias que podem influenciar em uma ou mais fases da cicatrização. Novas tecnologias, incluindo o uso de extratos vegetais incorporados a formas farmacêuticas, visam acelerar o processo cicatricial e reduzir suas complicações (MANDELBAUM; DI SANTIS; MANDELBAUM, 2003).

A *Poincianella pluviosa* é muito abundante nas cidades e seus extratos e substâncias isoladas já demonstraram atividades farmacológicas. É utilizada popularmente na Bolívia para tratamento de disenteria (DE LUCCA; ZALLES, 1992), já foi descrita para inibição da atividade antimalárica *in vitro* e *in vivo* (BAELMANS et al., 2000; FLORES; VILA; ALMANZA, 2006; KAYANO et al., 2011), o extrato e substâncias isoladas demonstraram atividade contra a bactéria *Staphylococcus aureus* (FLORES; VILA; ALMANZA, 2006), mostrou boa resposta na viabilidade e proliferação de células da pele (BUENO et al., 2014), apresentou atividade antitumoral *in vitro*, capaz de reduzir a viabilidade das linhas de células tumorais do carcinoma de pulmão humano, carcinomas de mama humano e carcinoma hepatocelular de ratos (ZANIN et al., 2015), cicatrizante de feridas cutâneas (BUENO et



Encontro Internacional  
de Produção Científica  
24 a 26 de outubro de 2017

al., 2016), inibição enzimática sobre a amilase pancreática *in vitro* e ação hipoglicêmica *in vivo* (KATO et al., 2016a; 2016b).

Embora muitas pesquisas já tenham sido realizadas na área da cicatrização, ainda há muito que se pesquisar para aperfeiçoar e torná-los acessíveis à população. Devido a sua estrutura, os hidrogéis na forma de filme apresentam propriedades necessárias para se ajustar a feridas localizadas em diferentes locais do corpo (MADAGHIELE et al., 2014). Os filmes são formados a partir de uma base polimérica e podem prolongar o tempo de contato no local de ação, intensificando o contato do fármaco com a barreira epitelial.

O uso de filmes poliméricos pode ser uma boa alternativa no tratamento de feridas por aumentar a adesão do paciente ao tratamento. Desta forma, o trabalho pretende avaliar a atividade do extrato bruto de *P. pluviosa*, incorporado em filme polimérico, na cicatrização e síntese de fibras colágenas em feridas cutâneas em ratos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Filmes de carboximetilcelulose foram preparados com extrato bruto (EB) de *P. pluviosa* a 1%. O filme sem extrato foi utilizado como controle negativo.

Foram utilizados 20 ratos Wistar machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, esses foram divididos em 4 grupos de 5 animais de acordo com o período de tratamento e receberam tratamento tópico até atingir 4, 7, 10 e 14 dias. O início do tratamento ocorreu a partir do dia posterior a confecção das feridas. O Projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob protocolo nº 9861231115. Para a confecção das feridas, os animais foram anestesiados com Tiopental (40 mg/kg) associado com Lidocaína 10 mg/ml (7 mg/kg), via intraperitoneal. Após tricotomia e assepsia do local, foram feitas duas feridas, com remoção da epiderme e derme no dorso dos animais. Uma ferida recebeu tratamento com filme contendo EB e a outra recebeu o controle negativo. Os animais após os períodos de tratamento, foram eutanasiados com sobredose de Tiopental (120 mg/kg, via intraperitoneal) associado com lidocaína 10 mg/ml (7 mg/kg) para remoção dos fragmentos de pele contendo as feridas e confecção de lâminas histológicas. As lâminas foram coradas pela técnica de Picrosírius para a quantificação da área ocupada pelas fibras colágenas tipo I e III.

As imagens foram capturadas em microscópio óptico acoplado a um polarizador, que permite birrefringência e diferenciação das fibras colágenas. As fibras do colágeno tipo I coram-se em amarelo/vermelho, e as fibras do colágeno tipo III, em verde. Foram considerados três campos em cada corte histológico da ferida: um campo central e dois laterais, próximos às margens. Foi utilizada a objetiva de 20X para a captura das imagens. A quantificação das fibras foi feita através do programa Image Pro-Plus®.

Os resultados obtidos estão sendo submetidos à análise estatística utilizando o programa GraphPad Prism® 5 (Copyright GraphPad Software, Inc.). Utilizando teste t pareado para resultados paramétricos e Mann-Whitney, para resultados não paramétricos, sendo considerado  $p < 0,05$  como critério de significância (BUENO et al., 2016).

## 3 RESULTADOS PARCIAIS

Assim como no estudo realizado por Pinto et al. (2015) utilizando *Stryphnodendron adstringens*, feridas continham uma maior quantidade de fibras de colágeno do tipo I do que o tipo III. Aos 4 dias, na análise do colágeno tipo I, não foi observado diferença significativa entre o grupo





controle e o tratado com filme contendo EB (Figura 1). A análise dos outros períodos de tratamento então em andamento.

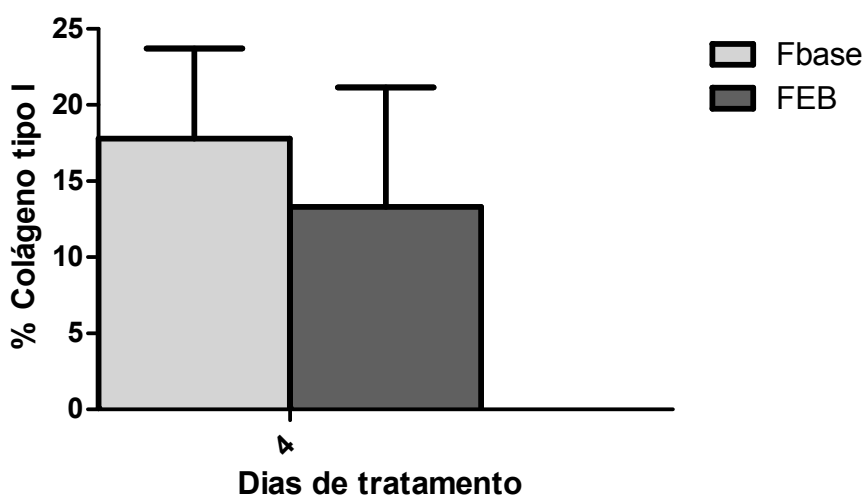


Figura 1. Gráfico representativo da média±desvio padrão da % de colágeno tipo I após 4 dias de tratamento com FEB e Fbase.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de filmes poliméricos contendo extrato bruto de *P. pluviosa* pode ser uma boa alternativa no tratamento de feridas, por aumentar a adesão do paciente ao tratamento e prolongar o tempo de contato com a ferida.

O desenvolvimento de novas alternativas no tratamento, envolvendo um produto natural em uma forma farmacêutica prática, pode aumentar a eficiência terapêutica e proporcionar alívio e conforto para o paciente.

#### REFERÊNCIAS

BAELMANS, R.; DEHARO, E.; BOURDY, G.; MUNÓZ, V.; QUENEVO, C.; SAUVAIN, C.; GINSBURG, H. Search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part IV. Is a new haem polymerisation inhibition test pertinent for the detection of antimalarial natural products? **Journal Ethnopharmacology**, v.73, p.271-275, 2000.

BERNARDES, L. S. C.; LANG, K. L.; PETROVICK, P. R.; SCHENKEL, E. P. Produtos naturais e o desenvolvimento de fármacos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do Produto Natural ao Medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, v.1, p. 107-128.

BUENO, F. G.; MOREIRA, E. A.; MORAIS, G. R.; PACHECO, I. A.; BAESSO, M. L.; LEITE-MELLO, E. V. S.; MELLO, J. C. P. Enhanced cutaneous wound healing in vivo by standardized crude extract of *Poincianella pluviosa*. **Plos One**, v.11, p.1-13, 2016.



Encontro Internacional  
de Produção Científica  
24 a 26 de outubro de 2017

BUENO, F. G.; PANIZZON, G. P.; LEITE MELLO, E. V. S.; LECHTENBERG, M.; PETEREIT, F.; MELLO, J. C. P.; HENSEL, A. 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.

CARVALHO, A. C. B; BALBINO, E. E; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.18, p.314-319, 2008.

DE LUCCA, M.; ZALLES, J. **Flora Medicinal Boliviana**. Dicionario Enciclopédico. Editorial Los Amigos del Libro. La Paz, Bolivia, p. 498, 1992.

FLORES, Y.; VILA, J.; ALMANZA, G.R. Secondary metabolites from *Caesalpinia pluviosa*. **Revista Boliviana de Química**, v.23, p.1-10, 2006.

KATO, C. G.; SA-NAKANISHI, A. B.; GUIDI, A. C.; MELLO, J. C. P.; PERALTA, R. M. Efeitos inibitórios in vitro e in vivo do extrato bruto da casca de Sibipiruna (*Poincianella pluviosa*) rico em tanino hidrolisável na atividade da amilase pancreática. In: 6º COSIMP - Congresso de Ciências Farmacêuticas do Mercosul, 2016, Cascavel. **Anais do 6º COSIMP**, v. 6, 2016b.

KATO, C. G.; GUIDI, A. C.; BUENO, F. G.; MELLO, J. C. P.; PERALTA, R. M. Efeito inibitório das frações aquosa e acetato de etila da casca de sibipiruna (*Poincianella pluviosa*) na atividade da  $\alpha$ -amilase pancreática. In: 6º COSIMP - CONGRESSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DO MERCOSUL, 2016, Cascavel. **Anais do 6º COSIMP**, v. 6, 2016a.

KAYANO, A. C.; LOPES, S. C. P.; BUENO, F. G.; CABRAL, E. C.; SOUZA-NEIRAS, W. C.; YAMAUCHI, L. M.; FOGLIO, M. A.; EBERLIN, M. N.; MELLO, J. C. P.; COSTA, F. T. M. *In vitro* and *in vivo* assessment of the anti-malarial activity of *Caesalpinia pluviosa*. **Malaria Journal**, v.10, p.112, 2011.

MADAGHIELE, M.; DEMITRI, C.; SANNINO, A.; AMBROSIO, L. Polymeric hydrogels for burn wound care: Advanced skin wound dressings and regenerative templates. **Burns & Trauma**, v. 2, n. 4, p.153-161, 2014.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, p.525-542, 2003.

PINTO, S. et al. *Stryphnodendron adstringens*: clarifying wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. **Planta Medica**, v. 81, n. 12/13, p.1090-1096, 2015.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ZANIN, J. L. B.; MASSONI, A. M.; SANTOS, A. M. H.; FREITAS, A. G. C.; NIERO, B. E. L. O.; SCHEFER, C. R. R.; LAGO, B. J. H. G.; IONTAE, D. M.; SOARES, M. G. Caesalpinioflavone, a new cytotoxic biflavonoid isolated from *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides*. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 26, p.804-809, 2015.