

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS DE USO TÓPICO A PARTIR DE *PLATONIA INSIGNIS* MART. PARA O TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

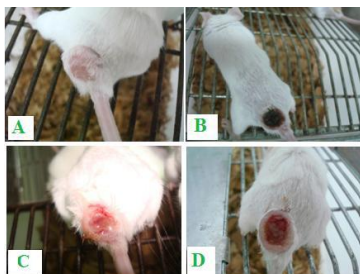
Ytallo Samuel Oliveira Barros (Bolsista PIBITI/CNPq); Antônia Maria das Graças Lopes Citó (Orientadora, Professora Associada nível III - UFPI, CCN); Ana Karina Marques Fortes Lustosa (Colaboradora, Mestre em Ciências Farmacêuticas); Fernando Aécio de Amorim Carvalho (Colaborador, Professor Associado nível II - UFPI, CCS)

Introdução. *Platonia insignis* Mart. (*Clusiaceae*) popularmente conhecida como “bacuri” tem sua origem no Pará na Ilha de Marajó, sendo encontrada também no Piauí e outros estados (MORAES, R.L.B. et al, 2009). A banha do bacuri é obtida do óleo extraído das sementes e possui alta porcentagem de ácidos palmítico e oleico, sendo muito utilizada na medicina popular como cicatrizante, anti-inflamatória, antidiarreica, dermatites, dores de ouvido e picada de insetos (AGUIAR, 2006; COSTA JÚNIOR, 2011; LIMA et al., 2007). A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença infecto-parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, é um problema de saúde pública, visto que é negligenciada por pesquisadores e agências de financiamento, embora ocorram cerca de 2 milhões de casos anualmente. A Leishmaniose cutânea é a mais comum e é caracterizada por muitas lesões na pele, porém o tratamento envolve compostos amoniacais com elevada toxicidade e administração parenteral. Inúmeras plantas apresentam compostos bioativos que podem fornecer elementos alternativos aos tratamentos convencionais. O presente trabalho desenvolveu formulações de uso tópico, utilizando como ativo o extrato hexânico das sementes de *Platonia insignis* Mart. que apresenta a garcianialiptona (GFC) como substância marcadora e efetuou testes *in vivo* e *in vitro* contra *Leishmania amazonensis*.

Metodologia. Neste estudo foram avaliadas duas banhas-manteigas de bacuri, uma que representa o extrato hexânico das sementes, extraída na UFPI e denominada (BBU) e outra obtida industrialmente, denominada (BBI). As sementes foram obtidas em Barras e a exsiccata foi depositada no Herbário Graziella Barroso da UFPI sob nº ICN TEPB 27174. 848g de pó seco das sementes foram extraídos em Soxhlet por 8 h e o extrato concentrado em rotaevaporador e armazenados a 4 °C. O perfil químico das amostras foi determinada por CG-EM e, posteriormente foi realizado o doseamento da GFC, usando espectrofotometria UV-Vis. Na obtenção tecnológica, três formulações foram utilizadas, sendo veiculadas em Pluronic® Lecithin Organogel (P.L.O.): uma contendo BBU (FBBU), outra contendo BBI (FBBI), ambas a 5% e o placebo. As formulações foram submetidas a testes de estabilidade preliminar e acelerada, analisando-se os parâmetros: características organolépticas, espalhabilidade, resistência a centrifugação, pH e viscosidade. Na avaliação farmacológica, as manteigas foram analisadas quanto à atividade citotóxica em MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio) (MTT). As análises estatísticas foram realizadas através do Teste t de Student para amostras não-pareadas ou Análise de Variância (ANOVA) para análise de significância entre os grupos. Para a plotagem das curvas utilizou-se o Graph Prism 5.0. A avaliação da atividade leishmanicida *in vivo* utilizou camundongos fêmeas, *Mus musculus*, linhagem Balb/C avaliados pelo comitê de ética (CEE/UFPI 076/2010), dividido em 3 grupos com 6 animais cada (controle, BBI e BBU). A infecção dos animais se deu com a inoculação na base da cauda por via subcutânea de 1×10^6 promastigotas infectantes em fase estacionária da cepa IFLA/BR/67/PH-8,

obtidas no Núcleo de Pesquisa de Plantas Medicinais (NPPM) – UFPI. Os nódulos/lesões ulcerativas (**Figura 01**) foram tratados por 7 semanas, duas vezes por dia.

Figura 01: Formação do nódulo; B- Úlcera com crosta capaz de fechar toda a abertura da ferida; C – Úlcera com material de consistência purulenta; D- Extensão total da úlcera após assepsia.

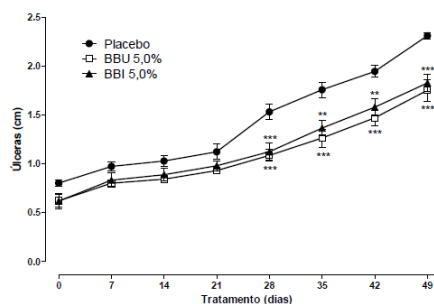


Fonte: Arquivo pessoal.

Na avaliação da eficácia do tratamento analisou-se o aspecto clínico e a avaliação quantitativa das lesões ulcerativas. Determinou-se *in vitro* os parâmetros para ativação dos macrófagos com a realização do cultivo de macrófagos peritoneais em camundongos e ensaios de determinação do volume lisossomal e capacidade fagocítica com avaliação posterior sobre as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. A análise estatística dos testes *in vivo* e *in vitro* foram realizadas utilizando-se o programa gráfico prisma 5.0.

Resultados e Discussão. O extrato hexânico apresentou rendimento de 63%. A análise da CG/EM mostrou que a Fr AcOEt BBI é mais rica em constituintes que a fração BBU. Ambas mostraram o ácido oleico e tocoferol elevados. No doseamento de GFC, um floroglucinol isolado das sementes, a concentração em BBU foi de 5,95% e BBI 4,86%. Nas formulações o veículo utilizado foi o P.L.O., uma emulsão que aumenta a permeação na pele (MURDAM, 2005). Os testes de estabilidade preliminar e acelerada mostrou que todas as formulações estavam conformes em todos os parâmetros analisados. A análise da atividade citotóxica apresentou CC50 de 77% para BBI e 89,86% para BBU, mostrando que ambas são capazes de reduzir 50% da viabilidade de macrófagos com 77 µg/mL e 89,86 µg/mL. As formulações tiveram suas atividades testadas *in vivo*, o início do tratamento ocorreu aproximadamente 30 dias após a infecção, no momento do surgimento dos nódulos. Quando submetidos ao tratamento, todos os grupos evoluíram de nódulos para úlceras. As lesões ulcerativas não regrediram ao ponto de cicatrizar, mas se comparadas às lesões do grupo que usou o placebo tiveram uma redução significativa (**Figura 02**). Mostrou-se também que houve ganho de peso nos animais, demonstrando que não houve comprometimento das funções vitais dos animais.

Figura 02: Gráfico da relação entre o tamanho das úlceras e os dias de tratamento das formulações placebo; BBI e BBU.



Os ensaios *in vitro* mostraram que as manteigas aumentaram os parâmetros de ativação de macrófagos, sendo esta ativação necessária para estabelecer o controle de infecção intracelular e a progressão da infecção por leishmania (GHAZANFARI et al., 2006). Os resultados do ensaio de determinação do volume lisossomal mostraram que o tratamento dos macrófagos com BBI ou BBU promoveu discreto aumento no número e/ou volume das vesículas do compartimento endocítico, sugerindo o aumento no potencial de defesa dessas células, onde BBI promoveu um significativo incremento na retenção do vermelho neutro nas vesículas de secreção de macrófagos nas concentrações de 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12 µg/mL, enquanto que BBU apresentou efeito significativo apenas em 50, 25 e 12,5 µg/mL. A capacidade fagocítica dos macrófagos foi estimada pela incorporação de partículas de zimosan corado com vermelho neutro e observou-se que o BBU estimulou a fagocitose dessas partículas em 25, 12,5, 6,25 e 3,12 µg/mL, enquanto que BBU em 25, 12,5 e 6,5 µg/mL. As amostras são seguras para macrófagos, apresentando bons índices de seletividade para as formas amastigotas, demonstrando considerável atividade leishmanicida.

Conclusão. Nota-se que os resultados sugerem que o processo de obtenção das manteigas influencia de sobremaneira sua composição bem como nas suas atividades farmacológicas, mostrando que a veiculação de ativos em formas farmacêuticas semi-sólidas pode representar uma excelente opção para o tratamento tópico de várias enfermidades. A busca por alternativas terapêuticas de origem natural em substituição às que existem no mercado farmacêutico, utilizando plantas como fonte importante de produtos bioativos, impulsionou o estudo das atividades desta planta como promissora para o desenvolvimento de fitofármacos.

Apoio. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Farmácia Escola da UFPI, NPPM, Galeno Farmácia de Manipulação, LIMAV.

Referências.

AGUIAR, Larissa Pereira. **Qualidade e potencial de utilização de bacuris oriundos da região meio-norte.** Dissertação de Mestrado Larissa Pereira Aguiar, 2006 122f.

COSTA JUNIOR, J.S. **Análise Fitoquímica e Toxicológica das Sementes de *Platonia insignis* Mart. (Bacuri).** Canoas: ULBRA, 2011.217p. Tese (Dotourado) – Programa de Pós- Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Canoas, 2011.

GHAZANFARI, T.; HASSAN, Z. M.; KHAMESIPOUR, A. Enhancement of peritoneal macrophage phagocytic activity against *Leishmania major* by garlic (*Allium Sativum*) treatment. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p.333–337, 2006.

LIMA, M.M.O.; VIEIRA, L.F.; COSTA JUNIOR, J.S. **Avaliação da atividade antioxidante de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae).** II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica. Paraíba: João Pessoa, 2007.

MORAES, R.L.B.; GUTJAHR, E. **Química de Oleogenosas - Valorização da Biodiversidade Amazônica.** Agência de Cooperação Técnica Alemã, 2009.

MURDAN, S. A review of pluronic lecithin organogel as a topical and transdermal drug delivery system. **Hospital Pharmacist**, London,v.12, p.267-270, 2005.

Palavras-chave: *Platonia insignis* Mart. Banha-manteiga de bacuri. Leishmaniose tegumentar.