

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS LCFO 1001 E LCFO 1002 EM *Rattus norvergicus* LINHAGEM Wistar

**BRUNO CABRAL CHAGAS<sup>1</sup>; RISCIELA SALARDI ALVES DE BRITO<sup>2</sup>; SABRINA DE OLIVEIRA CAPELLA<sup>3</sup>; ANTÔNIO GONÇALVES DE ANDRADE JUNIOR<sup>4</sup>; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas -brunocabral.chagas@gmail.com <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas-riscielasalardi234@yahoo.com.br <sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas-capellas.oliveira@gmail.com <sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas -antonio\_3@icloud.com<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas-marciaonobre@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda mercadológica por produtos de origem natural, impulsiona a pesquisa veterinária no desenvolvimento de formulações farmacêuticas com potências de ação baseados na sua vasta aplicabilidade terapêutica que varia desde efeitos hepatoprotetores (LIMA et al., 2018) até a efeitos neuroprotetores (AKBABA et al., 2016)..

A otite externa, a exemplo, é uma doença cutânea com grande casuística na clínica animais de companhia tendo sua classificação baseada na gravidade do processo inflamatório e a localização em relação ao conduto auditivo (HILL et al., 2006). Sua manifestação clínica inclui dor, produção excessiva de cerúmen, coceira descomedida, agitação da cabeça e em casos crônicos pode ocorrer total oclusão do canal auditivo e surdez (MILLER et al., 2012).

O tratamento da otite, é tradicionalmente realizado com antibióticos e antifúngicos de aplicação tópica e sistêmica baseando-se na identificação, caracterização e debelamento dos agentes infeciosos envolvidos, sendo eles fungos e/ou bactérias bem como no controle da inflamação e em casos crônicos podendo até ser necessária uma intervenção cirúrgica (SHAW. S, 2016)

Diversas pesquisas trazem a tona alternativas ao tratamento convencional, com o uso de subprodutos naturais como extratos vegetais e outros demonstrando bons efeitos de controle dos sinais da doença (NEVES et al., 2018; BISMARCK et al. 2018), porém, com a aplicabilidade comercial ainda pequena em virtude das etapas necessárias para sua inclusão no mercado. Uma destas etapas compreende a avaliação da toxicidade, a qual visa conferir a segurança de aplicação do produto pela resposta do organismo dos animais (SALLES et al., 2015).

Este trabalho objetiva apresentar a resposta clínica cutânea e parâmetros bioquímicos de *Rattus norvergicus* linhagem Wistar submetidos a aplicação tópica das formulações farmacêuticas otológicas LCFO 1001 e LCFO 1002 com extratos vegetais.

### 2. METODOLOGIA

Foram utilizados para o estudo, 12 ratos machos com média de 512g estoque Wistar oriundos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas. O trabalho realizado foi aprovado pelo comitê de ética e experimentação animal da UFPel sob registro CEEA 9055 e seguiu o modelo de toxicidade cutânea proposto pela OECD (Organização internacional de co-operação e desenvolvimento). Os ratos foram divididos em 3 grupos de 4 animais cada.

Previamente ao início dos testes os mesmos passaram por uma aclimatação de 3 dias com manipulação diária associado ao manejo de alimentação e

cuidados estipulado pelo biotério central. Foi realizada uma tricotomia com o uso de máquina de tricotomia, compreendendo o dorso dos animais. Durante 6 dias foi instilado uma vez ao dia diretamente sob a pele do dorso dos animais a dosagem de 1,1 mL compreendendo a dose terapêutica, dos produtos controle negativo (soro fisiológico), LCFO 1001, LCFO 1002 e realizada avaliação clínica diária da reação cutânea para presença e grau de eritema, edema e descamação. Os produtos utilizados para o teste estão dispostos sob a forma de código por estarem sendo submetidos a um pedido nacional de invenção e entrada na fase nacional do PCT junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI). Ao fim dos 6 dias, os animais foram submetidos a coleta de sangue sob efeito anestésico e conduzidos a eutanásia por sobredosagem anestésica com isofluorano, seguindo resolução normativa nº 37 do CONCEA de 15 de fevereiro de 2018.

O sangue coletado foi centrifugado a 2500 rotações por minuto e o soro extraído submetido a dosagem de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) para averiguação da condição hepática. A análise estatística foi realizada pelo método de ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman Keuls. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação clínica, demonstrou que dos 4 animais do grupo controle negativo, nenhum teve reação condizente com sinais de irritação cutânea e apenas um dos ratos tratados com o produto LCFO 1001 apresentou edema e eritema leve que desapareceram ao terceiro dia do protocolo de teste. Em análises histopatológicas de ratos tratados com extratos vegetais, não foram encontradas alterações pela aplicação dos mesmos (RÉGO et al., 2018) que corroboram com os dados expressos neste trabalho. De forma geral os extratos vegetais em sua essência, possuem uma segurança de metabolização extremamente acentuada e comprovada, em aplicações tópicas e administrações orais (TABARREI et al., 2019; MISHRA et al., 2018), tendo ainda comprovados efeitos protetores quando administrados juntamente com fármacos ocasionadores de efeitos deletérios (BAGHDADI et al., 2016).

Os dados de AST e ALT bem como as médias dos grupos estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1:** Valores de AST e ALT de ratos submetidos a tratamento tópico com as formulações farmacêuticas LCFO 1001 e LCFO 1002.

Grupos	Média dos grupos (AST U/L)	Média dos grupos (ALT U/L)
Ctrl neg	48	16,65
LCFO 1001	37,5	21,7
LCFO 1002	36,5	19,25

A média de referência utilizada foi de 10-50 U/L para ALT e 39-92 U/L para AST segundo o Canadian Council on Animal Care – (CCAC, 2011).

A comparação dos valores das médias de AST revela que o grupo controle em relação aos produtos LCFO 1001 e LCFO 1002 não expressou diferença estatística ( $p > 0,05$ ) bem como a comparação dos produtos entre si. A média dos valores de ALT quando comparado às formulações LCFO 1001 e LCFO 1002, também foi superior a 0,05, similar à comparação de uma formulação com a

outro. Em relação aos dados apresentados, os mesmos mantiveram-se dentro do limite esperado para a espécie, sendo seguro afirmar que os mesmos estimularam toxicidade.

As enzimas AST e ALT são marcadores de injúrias hepáticas, sendo que a AST também está presente em diversos outros órgãos do sistema, podendo pontuar danos em músculos esqueléticos, rins, pâncreas, coração e fígado e a ALT uma enzima extremamente sensível e responsiva a danos primários no fígado (AL-HABOR et al., 2002).

Em teste de toxicidade dérmica realizado com extratos hidroalcoólicos de *Plectranthus neochilus*, *Cnidoscolus quercifolius*, não foi notada toxicidade por parte da aplicação dos compostos sendo que os parâmetros de AST e ALT não diferiram entre si (RÊGO et al., 2018).

#### 4. CONCLUSÕES

Em virtude do exposto, concluímos que os produtos LCFO 1001 e LCFO 1002, não apresentaram toxicidade em dose terapêutica a nível tópico cutâneo e nem indício de dano hepático. Estes dados revelam a importância da realização de testes preliminares para a validação de formulações farmacêuticas a base de extratos vegetais para a continuidade com testes de eficácia e posterior avaliação mercadológica do mesmo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. **Journal of ethnopharmacology**. v. 83, p.209-217, 2002.
- BAGHDADI, H. H.; EL-DEMERDASH, F. M.; RADWAN, E. H.; & HUSSEIN, S. The protective effect of *Coriandrum sativum* L. oil against liver toxicity induced by ibuprofen in rats. **Journal of Bioscience Applied Research**, v. 2, p. 197-202, 2016.
- BISMARCK, Doris; DUSOLD, Anika; MÜLLER, Elisabeth. Essential oils versus antifungals—an in vitro study on their activity against *Malassezia pachydermatis*. In: **BSAVA Congress Proceedings 2018**. BSAVA Library, 2018. p. 442-443.
- HILL, P.; LO, A.; EDEN, C. A. N.; HUNTLEY, S.; MOREY, V.; RAMSEY, S.; THORPE, E. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. **Veterinary Record**. v.9, p.158:533, 2006.
- HRITCU, L.; AKBABA, E. A.; BAĞCI, E. The effects of sage essential oil on memory Impairment, anxiety and depression in the scopolamine rat model of Alzheimer's disease. 2016.
- LIMA, G. C.; VASCONCELOS, Y. D. A. G.; SANTANA, M. T.; OLIVEIRA, A. S.; BOMFIM, R. R.; ALBUQUERQUE J. R. L. C.; DINIZ, L. R. L. Hepatoprotective effect of essential oils from *hyptis crenata* in sepsis-induced liver dysfunction. **Journal of medicinal food**, v. 21, n. 7, p. 709-715, 2018.
- MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. Muller & Kirk's small animal dermatology (7th Ed). Philadelphia: Saunders; 2012

MISHRA, ARUN K., AMRITA MISHRA, AND PRONOBESH CHATTOPADHYAY. Screening of acute and sub-chronic dermal toxicity of *Calendula officinalis* L essential oil. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 98, p. 184-189, 2018.

NEVES, R. C.; MAKINO, H.; CRUZ, T. P.; SILVEIRA, M. M.; SOUSA, V. R.; DUTRA, V.; BELLI, C. B. In vitro and in vivo efficacy of tea tree essential oil for bacterial and yeast ear infections in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 1597-1607, 2018.

RÊGO, M. S.; SILVA, V. C. L.; MAIA, C. S.; TEIXEIRA, M. N.; MARINHO, M. L.; LIMA, E. R. Avaliação da segurança do extrato hidroalcoólico de partes aéreas de *Plectranthus neochilus Schlechter*, Lamiaceae e entrecascas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl, Eupharbiaceae em roedores. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 12, n. 2, p. 82-92, 2019.

SALES, P. B., OLIVEIRA, J., MOURA, E., SOUSA, M., SILVA, I., COSTA, T., & COSTA, A. Reproductive toxicity study in Wistar rats treated with hydroalcoholic extract of the pods of bordão-de-velho (*Samanea tubulosa* Benth). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 599-603, 2015.

SHAW S. Pathogens in otitis externa: diagnostic techniques to identify secondary causes of ear disease. **Practice FOCUS**. v.12, n.6, 2016.

TABARRAEI, H.; HASSAN, J.; PARVIZI, M. R.; GOLSHAHI, H. Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the black caraway seed essential oil in *Wistar* rats. **Toxicology reports**, 2019.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. 2011. **Guidelines laboratory rats**. Acessado em: 10 de setembro de 2019. Online. Disponível em: <https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Vol2/rats.pdf>.

CONCEA. **Resolução normativa nº 37 do CONCEA de 15 de fevereiro de 2018**. 2018. Acessado em 11 de setembro de 2019. Online. Disponível em: [https://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/legislacao/outros\\_atos/resolucoes/Resolucao\\_Normativa\\_CONCEA\\_n\\_37\\_de\\_15022018.html](https://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/legislacao/outros_atos/resolucoes/Resolucao_Normativa_CONCEA_n_37_de_15022018.html)