

Josiane Mello da Silva¹
Nícolas de Castro Campos Pinto¹
Renata de Freitas Mendes¹
Maria Christina Marques Nogueira
Castañón²
Elita Scio¹

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

²Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

✉ **Elita Scio**

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, R. José Lourenço Kelmer, s/n, Campus Universitário, São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais
CEP: 36036-900
✉ elita.scio@ufjf.br

RESUMO

Introdução: A psoríase, uma doença inflamatória crônica e imunomediada da pele, afeta aproximadamente 125 milhões de pessoas no mundo. Agentes imunossupressores são geralmente utilizados, porém podem causar efeitos colaterais locais e sistêmicos. Logo, há uma busca por novos agentes antipsoriáticos eficazes e com menor incidência de efeitos adversos, incluindo as formulações à base de plantas. **Objetivo:** Avaliar *in vivo* o potencial antipsoriático de formulações tópicas contendo uma fração hexânica da espécie vegetal *Lacistema pubescens* (HLP) e uma fração rica em sitosterol (SLP). **Material e Métodos:** As formulações foram preparadas na forma de creme contendo HLP e SLP, ambas a 6%. A atividade antipsoriática dos cremes HLP e SLP foi avaliada em camundongos pelo modelo do *mouse tail test*, em que 20 mg de cada creme foram aplicados; e do edema de orelha induzido por imiquimode (IMQ), em que 10 mg dos cremes foram administrados. **Resultados:** Verificou-se no modelo do mouse tail test que o creme HLP induziu a ortoceratose em 36,9%, bem como aumentou a espessura da epiderme (116,7%). O creme HLP também inibiu significativamente o aumento na espessura da orelha dos animais que receberam IMQ a partir do 10º dia, bem como os parâmetros inflamatórios. O creme SLP não demonstrou ação significativa. **Conclusão:** A fração hexânica de *L. pubescens* apresentou potencial terapêutico no tratamento da psoríase, o que encoraja futuros estudos para melhor investigação de como aproveitá-la na terapêutica.

Palavras-chave: Composição de Medicamentos; Imiquimode; Produtos Naturais; Psoríase.

ABSTRACT

Introduction: Psoriasis is a chronic inflammatory and immune-mediated disease that affects approximately 125 million people worldwide. Immunosuppressive agents are commonly used to treat this disorder; however, they can cause local and systemic adverse effects. Thus, new effective antipsoriatic agents with less probability of adverse reactions are needed, including plant-based pharmaceutical formulations. **Objective:** To evaluate *in vivo* the antipsoriatic potential of topical formulations containing the hexane fraction (HLP) and a sitosterol enriched fraction (SLP) from *Lacistema pubescens*. **Material and Methods:** The pharmaceutical formulations were prepared as creams containing HLP and SLP at 6%. The antipsoriatic activity of the HLP and SLP creams was evaluated in mice by the mouse tail test, using 20 mg of each cream; and by imiquimod-induced ear edema test, using 10 mg of each cream. **Results:** The mouse tail test revealed that HLP cream induced orthokeratosis by 36,9 % and increased the epidermal thickness (116.7%). The HLP cream also reduced significantly the ear thickness and the inflammatory parameters in animals that were treated with IMQ since day 10. The SLP cream did not show significant activity. **Conclusion:** *L. pubescens* hexane fraction showed therapeutic potential for psoriasis treatment, which encourages further investigation on how to better exploit it in clinical practice.

Keywords: Drug Compounding; Imiquimod; Natural Products; Psoriasis.

Submetido: 30/04/2024

Aceito: 25/06/2024



INTRODUÇÃO

A psoríase, uma doença inflamatória crônica e imunomediada da pele, caracteriza-se por ser dolorosa, incapacitante e incurável.^{1,2} Embora os fatores genéticos desempenhem um papel crucial em seu desenvolvimento, os fatores ambientais podem exacerbar seus sintomas.² A psoríase em placas é a forma mais comum da doença, identificada por pápulas ou placas eritematosas cobertas por escamas prateadas.² Há também uma associação da psoríase a outras comorbidades, tais como doenças cardiovasculares, síndrome metabólica, distúrbios gastrintestinais e psicológicos.^{3,4}

Afetando aproximadamente 125 milhões de pessoas globalmente, a psoríase foi reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2014 como uma grave doença não transmissível e que atinge igualmente homens e mulheres,¹ principalmente adultos.^{3,5} Destaca-se a angústia dos pacientes devido a diagnósticos equivocados, tratamentos inadequados e a estigmatização associada à doença.⁶

Para controlar essa condição, agentes imunossupressores, incluindo corticosteroides, são geralmente utilizados. No entanto, podem causar efeitos colaterais locais e sistêmicos, como atrofia da pele, estrias, telangiectasia e supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Portanto, a busca por novos agentes antipsoriáticos eficazes, com menor incidência de efeitos adversos e custos reduzidos, é uma área de pesquisa promissora.^{7,8} Pesquisas recentes demonstram que formulações à base de plantas são eficazes em uma variedade de comorbidades graves, com resultados positivos em ensaios pré-clínicos e clínicos,⁹ com destaque para seu potencial no tratamento da psoríase.¹⁰

Nesse contexto, trabalhos prévios exploraram o potencial terapêutico da *Lacistema pubescens* Mart., uma espécie vegetal nativa do Brasil, conhecida popularmente como "espeto-vermelho", "canela-vermelha", "sabonete" e "cafezinho", e usada por comunidades indígenas no Brasil para combater reumatismos e dores no corpo em geral, bem como vômitos e diarreia.^{11,12} O extrato bruto e outras frações foram avaliados em estudos de triagem (dados não publicados), porém a fração em hexano foi a única que demonstrou potencial em reduzir o processo inflamatório induzido por agentes flogísticos que ativam vias inflamatórias não específicas ou que não possuem relação direta com a psoríase.¹³ Essa atividade foi associada à inibição de vários mediadores pró-inflamatórios, sugerindo que essa fração possui mecanismo de ação semelhante ao dos glicocorticoides, o que foi reforçado pela presença do fitoesteroide sitosterol nessa amostra.¹³ Os compostos esteroidais, a exemplo dos fitoesteroides, possuem uma estrutura química muito similar, caracterizada por um núcleo esteroidal e, por isso, tendem a se ligar aos mesmos receptores celulares, incluindo o receptor GR,

tipicamente associados aos efeitos anti-inflamatórios dos glicocorticoides e do próprio sitosterol.^{14,15} Estudos adicionais com a fração em hexano revelaram sua eficácia e ausência de efeitos adversos em comparação com o glicocorticoide dexametasona, quando avaliada em um modelo preliminar crônico de inflamação da pele.¹⁶

Dessa forma, considerando o seu potencial anti-inflamatório e diante dos impactos fisiológicos e psicológicos da psoríase na vida dos pacientes, este estudo visa avaliar *in vivo* o potencial antipsoriático de formulações tópicas de *L. pubescens*, contendo uma fração hexânica (creme HLP) e uma fração rica em sitosterol (creme SLP), e verificar se seu efeito pode ser atribuído, pelo menos em parte, a essa substância. Este estudo reporta pela primeira vez a atividade antipsoriática de *L. pubescens* e de uma fração enriquecida com sitosterol utilizando os modelos *mouse tail test* e edema de orelha induzido por imiquimode.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas de *L. pubescens* foram coletadas em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil (SisGen AB37C49), em dezembro de 2011. Uma exsicata (CESJ 49751) foi depositada no herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e identificada pela Dra. Fátima Regina Gonçalves Salimena, do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF.

Extração e fracionamento

A fração hexânica (HLP) foi obtida do extrato bruto metanólico de *L. pubescens*.¹² As folhas secas (375 g) foram pulverizadas e maceradas com metanol (5 x 300 mL) durante cinco dias em temperatura ambiente. O extrato bruto (65 g), após remoção do solvente, foi ressuscitado em MeOH-H₂O (8:2) e particionado com hexano. A partição hexânica foi então concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida e mantida em frasco fechado sob refrigeração até a realização dos testes farmacológicos. O fracionamento cromatográfico de HLP (6 g), para obtenção de uma fração rica em sitosterol (SLP), foi realizado como previamente descrito.¹³ Em resumo, foi utilizada uma coluna de 42 x 5 cm contendo sílica-gel (malha 70-230) com um gradiente de hexano-acetato de etila (EtOAc) (90:10 v/v - 100% EtOAc) e EtOAc-MeOH (90:10 v/v - 100% MeOH) para obter um total de 17 frações (F1-F17). A fração F9 (802 mg) foi recromatografada e eluída com hexano-EtOAc (90:10 v/v a 20:80 v/v) e EtOAc-MeOH (90:10 v/v a 50:50 v/v) para obtenção de 12 frações (FF1-FF12), dentre as quais, SLP (FF3).

Caracterização química

A caracterização química da fração hexânica e da fração rica em sitosterol foi descrita previamente.^{12,13} As amostras foram analisadas por GC-MS por comparação computacional dos espectros de massa com aqueles presentes nas bibliotecas Wiley e NIST, levando em consideração a fragmentação de massas e índices de retenção em referência a uma série de n-alcenos em uma eluição com temperatura programada.¹² A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) também foi realizada com HPL.¹³ A detecção foi realizada a 210 nm. O padrão de sitosterol (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) foi utilizado como marcador nas mesmas condições utilizadas para HPL.

Preparo das formulações farmacêuticas contendo HLP e SLP

As formulações foram preparadas na forma de creme. Os ativos HLP ou SLP 6% foram incorporados em 20% de uma cera não iônica e autoemulsionante, 5% de óleo mineral hidrogenado, 5% de glicerina, 0,05% de propilparabeno, 0,1% de metilparabeno, 0,1% de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e água destilada q.s.p. Como substância de referência foi utilizado o clobetasol na forma de creme comercial (Psorex®).

Animais

Foram utilizados camundongos Balb/C albinos de 60 dias de idade no teste do imiquimode e Swiss de 30 dias no *mouse tail test*. Os animais foram fornecidos pelo Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos à temperatura de 22-23 °C e em ciclo claro/escuro de 12h. Água e ração padrão (Nuvital®, Colombo, PR, Brasil) foram fornecidos *ad libitum*. Os camundongos (N= 65) foram divididos em cinco grupos experimentais (n= 5 animais no *mouse tail test* e n= 8 animais no teste do edema de orelha induzido por imiquimode). Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFJF (Protocolo CEUA nº 027/2018).

Mouse tail test

A atividade antipsoriática dos cremes HLP e SLP foi avaliada pelo modelo do *mouse tail test*, com modificações.¹⁷ Cinco grupos com 5 animais cada receberam vinte miligramas do creme HLP, creme SLP, clobetasol 0,5 mg/g ou veículo (creme sem qualquer princípio ativo), os quais foram aplicados topicamente

na região proximal da cauda dos animais uma vez ao dia, cinco dias por semana, durante duas semanas. Um grupo de animais não recebeu qualquer tratamento (grupo não induzido). Em seguida, os animais foram eutanasiados e a área da cauda sujeitada ao experimento foi submetida a técnica histológica.

Em seguida, as lâminas (10x) foram analisadas histometricamente com auxílio do *software* Image-Pro Plus® 6.0 para o cálculo dos seguintes parâmetros:

- o comprimento total de uma região de escamação (região entre dois folículos pilosos) (20 regiões por animal);
- o comprimento da camada granulosa da epiderme na região de escamação (20 regiões por animal, 5 animais por grupo, total de 100 leituras para cada grupo);
- a espessura da epiderme em cada região de escamação (20 regiões por animal, 5 medidas por região, totalizando 100 medidas por animal);
- o grau de ortoceratose de cada região de escamação, calculado pela razão percentual de (2) em relação à (1) (100 dados para cada grupo);
- a atividade relativa de cada tratamento, calculada em função dos resultados obtidos para o grupo não induzido, utilizando a seguinte equação:
- atividade relativa= $(OCT - OCN) \times 100 / (100 - OCN)$;
- onde OCT é o grau de ortoceratose de um grupo teste e OCN é o grau de ortoceratose do grupo não induzido, obtidos a partir do parâmetro (4);
- a espessura relativa da epiderme de cada região de escamação, expressa pela porcentagem de cada dado obtido no parâmetro (3) em relação à média da espessura da epiderme do grupo não induzido, a qual foi ajustada para 100%.

Teste do edema de orelha induzido por imiquimode (IMQ)

A atividade antipsoriática dos cremes HLP e SLP também foi avaliada por meio do teste do edema de orelha induzido por imiquimode (IMQ), com pequenas modificações.^{4,18} Na véspera do início do experimento (dia 0), os cinco grupos com 8 animais em cada, foram anestesiados com cetamina 80 mg/kg e xilazina 15 mg/kg para aferição da espessura natural das orelhas direita e esquerda, utilizando-se de um micrômetro digital. A partir do dia 1, foram aplicados topicamente 3 mg de creme comercial de imiquimode (Modik®) na concentração de 50 mg/g no pavilhão auricular interno de ambas as orelhas direita e esquerda de cada animal. O mesmo procedimento foi repetido durante 6 dias, uma vez ao dia, para estabelecimento de um processo inflamatório cutâneo do tipo psoriático. A partir do dia 6, 10 mg do veículo (cremes sem os constituintes ativos de HLP e SLP), creme HLP, creme SLP e clobetasol 0,5 mg/g,

utilizado como controle, foram aplicados topicamente e diariamente, duas vezes ao dia, por 10 dias consecutivos, no pavilhão auricular interno das orelhas direita e esquerda de cada animal (0,6 mg/orelha). Um grupo de camundongos não recebeu qualquer tratamento (grupo não induzido). A espessura de ambas as orelhas foi aferida com auxílio de micrômetro digital nos dias 6, 8, 10, 12, 14 e 16, e indicou a intensidade do edema que, por sua vez, sinalizou a intensidade do processo inflamatório.

Análise histopatológica

No *mouse tail test*, após eutanásia dos animais, a área da cauda submetida ao experimento foi seccionada, descalcificada em ácido nítrico 5% por 48h, fixada em etanol 70% durante 24h e, posteriormente, preservada em formol a 10% para a realização de processamento histológico. As orelhas desafiadas com IMQ foram igualmente preservadas em formol a 10%. Posteriormente, as amostras foram emblocadas em parafina e, com auxílio de um micrótomo, foram realizadas secções (4 µm), as quais foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E) e examinadas por microscopia óptica.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Para avaliar a significância das diferenças entre as médias dos resultados dos grupos de estudo foi aplicada análise de variância (ANOVA), seguida do teste *post hoc* de Newman-Keuls ou Bonferroni com auxílio do *software* GraphPad Prism® 5.0. Valores de *p*

<0,05 foram considerados significantes.

RESULTADOS

Caracterização química

A Tabela 1 descreve os componentes químicos identificados na fração hexânica, com seus tempos de retenção e concentrações relativas.

Mouse tail test

De acordo com a Tabela 2, a análise histométrica revelou que clobetasol e o creme HLP induziram a ortoceratose na cauda dos animais quando comparados ao veículo e grupo não induzido (*p* <0,001). O creme HLP apresentou 36,9% de atividade relativa, clobetasol 60,7% e o veículo 4,7%. Do mesmo modo, o creme HLP aumentou significativamente a espessura da epiderme (*p* <0,05), quando comparado ao grupo não induzido, ao contrário do clobetasol que causou sua atrofia. O creme SLP, rico em sitosterol, apesar de não ter causado significativa atrofia na epiderme dos animais, não aumentou o grau de ortoceratose (*p* >0,05).

Fotomicrografias das secções histológicas das amostras de pele são mostradas na Figura 1 e confirmam os resultados da análise histométrica.

Teste do edema de orelha induzido por imiquimode (IMQ)

Tanto clobetasol quanto o creme HLP inibiram significativamente o aumento da espessura da orelha dos animais que receberam IMQ, conforme apresentado

Tabela 1: Constituintes químicos identificados na fração hexânica de *L. pubescens* por GC-MS^a.

Substância	TR (min) ^b	Fórmula química	Área (%)
Ácido palmítico metil éster	8,37	C16H34O2	0,93
Ácido palmítico	8,72	C16H32O2	4,21
Fitol	10,14	C20H40O	5,98
Ácido linoleico	10,33	C18H32O2	2,15
9,12,15-octadecatrienol	10,39	C18H32O	3,16
Ácido esteárico	10,59	C18H36O2	1,19
Z-8-Metil-9 ácido tetradecenoico	11,37	C15H28O2	1,35
β-tocoferol	17,29	C29H50O2	0,96
α-tocoferol	18,00	C29H50O2	1,53
Cotarnine	18,06	C12H13NO3	2,00
γ-Sitosterol	19,76	C29H50O	9,14
Acetato de farnesila	23,57	C17H28O	2,56
Triterpenos	25,69	-	41,05
Total (%)			76,21

^aBibliotecas Wiley 275.1 e NIST. ^bT_R: tempo de retenção.

na Figura 2. Cabe destacar que esse aumento é devido à hiperplasia dos queratinócitos e da derme. Esses dados foram confirmados pelas análises histopatológicas (Figura 3), em que ficou evidenciada a presença de edema, vasodilatação, hiperplasia epidérmica, paraceratose e acentuado infiltrado inflamatório nos animais do veículo e ausência desses parâmetros nos animais que receberam clobetasol e creme HLP. Não foi observada a atividade antipsoriática nos animais que receberam o creme SLP.

DISCUSSÃO

A psoríase tem sido associada a muitas outras comorbidades incluindo doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, hipertensão, dislipidemia, síndrome metabólica, doença hepática gordurosa não alcoólica, câncer, ansiedade e depressão, doença inflamatória

intestinal e artrite psoriática.⁴ Apesar da eficácia das terapias biológicas ou de corticosteroides no tratamento da psoríase, as altas taxas de reações adversas graves já foram observadas, incluindo propensão aumentada para infecções.¹⁹ Dessa forma, há uma busca incessante por novas alternativas para o tratamento ou alívio dos sintomas da psoríase. Diante da importância de se buscar novos produtos destinados aos pacientes acometidos pela doença, os derivados vegetais investigados neste estudo foram incorporados em formulação farmacêutica de uso tópico anteriormente já desenvolvida pela equipe, que serviu como o veículo de ativos de produto patenteado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob o número de registro BR 102015017575-2 (UFJF, 2021), cujos ensaios de estabilidade foram relatados por Pinto et al²⁰. A proporção de cera aniônica relatada conferiu a melhor consistência e tato ao veículo, enquanto a de conservantes (propilparabeno

Tabela 2: Efeito dos cremes HLP e SLP por via tópica quanto ao grau de indução de ortoceratose, atividade relativa e espessura da epiderme em caudas de camundongos submetidos ao *mouse tail test*.

Grupo ^a	Grau de ortoceratose (%) ^b	Atividade relativa (%)	Espessura da epiderme (%) ^b
Não induzido	15,7 ± 0,4	-	100 ± 3,3
Veículo	19,7 ± 0,7	4,7	110,5 ± 1,3
Creme HLP	48,8 ± 4,6***	36,9	116,7 ± 15,3*
Creme SLP	19,0 ± 0,6	4,0	112,3 ± 11,2
Clobetasol	66,9 ± 0,2***	60,7	65,9 ± 7,4***

^aVeículo (base da formulação farmacêutica), clobetasol, creme HLP e creme SLP foram administrados topicamente uma vez ao dia, durante duas semanas, cinco dias por semana. ^bOs valores em cada coluna representam a média ± e.p.m. ANOVA, seguida pelo teste de Newman-Keuls, utilizado como *post-hoc*. Valores significativos: ****p* < 0,001 e **p* < 0,05 vs. grupo não induzido (n= 5 animais).

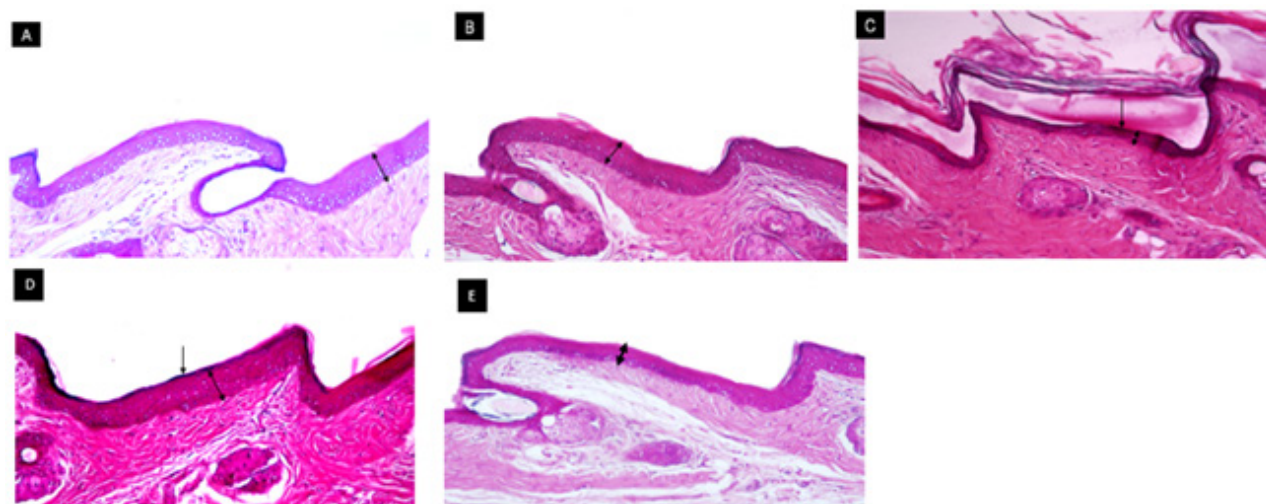


Figura 1: Fotomicrografias representativas de cortes longitudinais da região de escamação na cauda de camundongos submetidos ao *mouse tail test*. Aumento de 100x; coloração de hematoxilina e eosina. Veículo (creme base), clobetasol, creme HLP e creme SLP foram administrados topicamente uma vez ao dia, durante duas semanas, cinco dias por semana. (A) grupo não induzido, (B) veículo, (C) clobetasol, (D) creme HLP, (E) creme SLP. Em (C) e (D) a seta aponta a presença de camada granulosa na região de escamação e a dupla seta evidencia a espessura da epiderme. As imagens foram capturadas com auxílio do *software Image-Pro Plus*® 6.0.

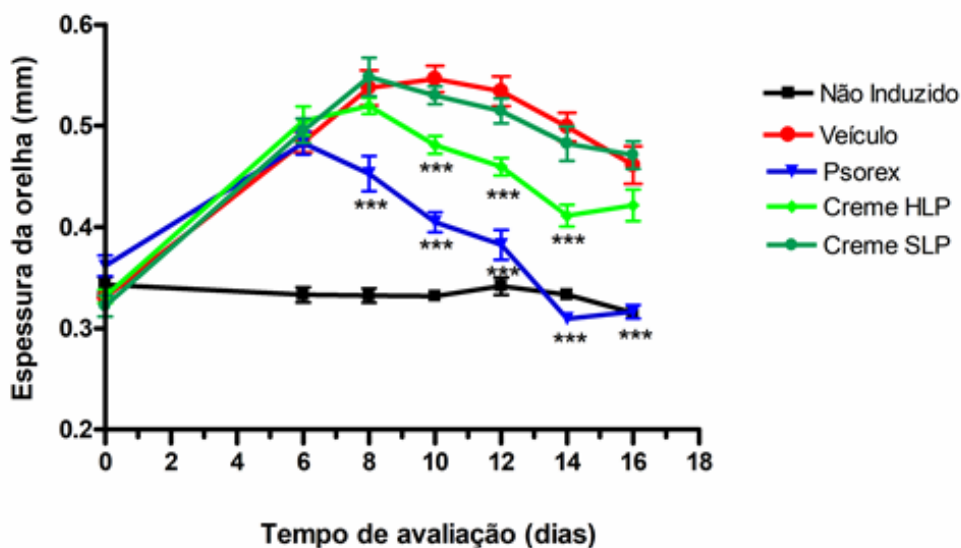


Figura 2: Efeito do creme HLP e do creme SLP sobre a espessura das orelhas no teste do edema de orelha induzido por imiquimode. Os valores representam a média \pm e.p.m. da espessura das orelhas direita e esquerda de cada animal. ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs. veículo.

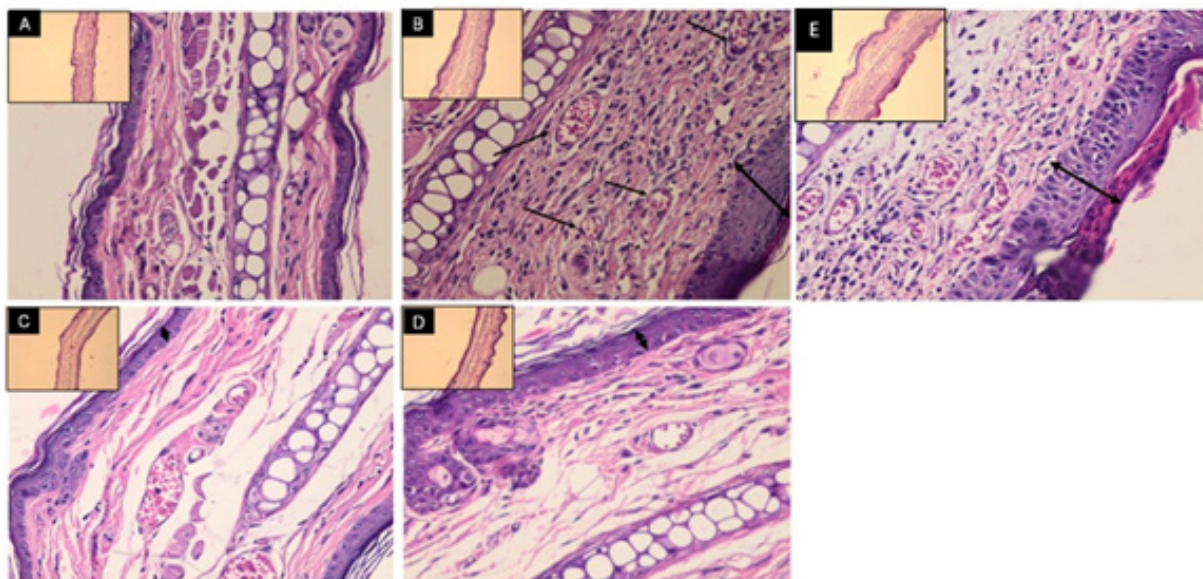


Figura 3: Fotomicrografias representativas (400x) do tecido auricular submetido ao tratamento tópico com creme HLP e creme SLP no último dia do teste do edema de orelha induzido por imiquimode. É possível observar a presença de núcleos na camada córnea, típicos de paraceratose, acentuado infiltrado inflamatório, hiperperatose no veículo e hiperproliferação epidérmica. As setas indicam a presença de vasodilatação e as duplas setas indicam hiperproliferação epidérmica, típica da histopatologia da psoríase.

Legenda: A) grupo não induzido; B) veículo; C) clobetasol; D) creme HLP; E) creme SLP.

e metilparabeno) e quelante (EDTA) é comumente utilizada para preservar formulações de uso tópico do crescimento bacteriano e fúngico, evitar o mau cheiro, a mudança de cor e a degradação dos ativos naturais.²¹ A concentração dos ativos foi baseada em um estudo prévio que indicou que a concentração de HLP com a melhor atividade anti-inflamatória *in vivo*, solubilizada em acetona, comumente utilizada para diluir ativos

a serem administrados topicamente em animais de experimentação, foi de 6%.¹³

O *mouse tail test* é um modelo de fácil execução, relativa sensibilidade, boa reprodutibilidade e alta correlação com a real atividade de antipsoriáticos tópicos ou orais na pele humana. Ademais, permite a avaliação histométrica dos efeitos de potenciais princípios ativos diante da diferenciação epidérmica.²² A

cauda normal dos camundongos adultos contém regiões de ortoceratose e paraceratose no estrato córneo. As regiões ortoceratóticas são áreas de secção de pele com células sem núcleo na camada córnea e evidente camada granular entre dois folículos pilosos. Entretanto, em regiões de paraceratose, a camada granular é fina ou ausente, com núcleos celulares visíveis na camada córnea.²³ Em adição, esse teste permite avaliar a espessura da epiderme. Extratos vegetais com atividade antipsoriática tendem a aumentar a espessura da epiderme neste modelo, além de drogas utilizadas para o tratamento da psoríase, com exceção dos glicocorticoides, como é o caso do ditranol, calcipotriol, tazaroteno e ciclosporina.^{17,20,24} Neste estudo, verificou-se que o creme HLP induziu a ortoceratose em 48,8% quando comparado ao veículo (19,7%), bem como aumentou significativamente a espessura da epiderme, sugerindo seu potencial no tratamento da psoríase. Dessa forma, sua atividade relativa foi de 36,9%. Em contrapartida, apesar de o clobetasol atuar na indução da formação da camada granulosa, causou considerável atrofia na epiderme dos animais, reforçando seus efeitos adversos. Outros estudos igualmente demonstraram os possíveis efeitos antipsoriáticos de espécies vegetais utilizando o mesmo modelo animal.^{20,25}

Embora sua patogênese não esteja totalmente compreendida, há crescentes evidências indicando que o eixo das interleucina-23 (IL-23)/IL-17A desempenha um papel crítico no desenvolvimento da doença. Muitas outras citocinas de origem imune, incluindo IL-20, IL-22, IL-1 β , IL-6 e TNF- α também estão envolvidas e interagem entre si, com a participação dos macrófagos, neutrófilos e células Th1/Th17.²⁶ Pesquisas confirmaram que na psoríase induzida por imiquimode (IMQ), a inflamação é mediada pelo eixo IL-23/IL-17A. A aplicação tópica de IMQ na pele de camundongos leva à rápida proliferação de células dendríticas plasmocitoides e estimula os queratinócitos a aumentarem a produção de citocinas.²⁷ Esses efeitos na pele dos animais assemelham-se muito à psoríase humana em relação a eritema, hiperkeratose epidérmica, paraceratose, hiperproliferação dos queratinócitos, acentuado infiltrado inflamatório, edema e vascularização aumentada.⁴

Neste trabalho, a atividade antipsoriática do creme HLP foi confirmada ao utilizar esse modelo de indução de psoríase pelo IMQ. Os parâmetros inflamatórios foram significativamente diminuídos até o 14º dia do experimento, verificado pela espessura da orelha dos animais. As análises histopatológicas confirmaram a diminuição do processo inflamatório, indução da ortoceratose e diminuição da espessura da epiderme. Cabe destacar que estudos anteriores evidenciaram que HLP inibiu *in vivo* vários mediadores pró-inflamatórios, incluindo IL-1 β , IL-6 e TNF- α .¹³

Para verificar se a atividade antipsoriática de *Lacistema pubescens* estava relacionada à presença do sitosterol, a mesma formulação foi elaborada com uma

fração enriquecida com esse constituinte químico (creme SLP). Estudos prévios demonstraram que sitosterol-3-O- β -D-glucosídeo, isolado das sementes de *Moringa oleifera*, melhorou as lesões cutâneas semelhantes a psoríase induzida por TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato) em camundongos.²⁸ Entretanto, nos modelos utilizados neste trabalho, o sitosterol não apresentou atividade antipsoriática significativa. SLP é uma fração enriquecida com sitosterol, enquanto HLP é uma matriz complexa em que diversos metabólitos secundários pouco polares produzidos por *L. pubescens* estão presentes. Diante dos resultados, pode-se concluir que é provável que outros compostos, além do sitosterol, sejam responsáveis pela atividade antipsoriática de HLP.

Além do sitosterol, as análises realizadas por CG-MS revelaram que o creme HLP apresentou os ácidos graxos como ácido palmítico, esteárico e ácido linoleico, os quais possuem reconhecidas propriedades anti-inflamatórias, restauradora e calmante da pele, além de iniciar respostas imunes.²⁹ Outras substâncias com atividade anti-inflamatória estão igualmente presentes no creme HLP, dentre as quais alfa-tocoferol,³⁰ fitol e triterpenos,³¹⁻³³ que são os componentes majoritários da amostra. Logo, considerando a fisiopatologia da psoríase, medicamentos que atuam por múltiplos mecanismos e vias, quando comparados àqueles que agem por mecanismos únicos, são uma ferramenta interessante para seu tratamento.³⁴

Cabe destacar que o interesse em efeitos sinérgicos entre substâncias com vistas às aplicações terapêuticas tem aumentado nos últimos anos com o objetivo de atuar simultaneamente sobre diversos alvos terapêuticos e evitar o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos medicamentos.³⁵

CONCLUSÃO

A formulação farmacêutica contendo *Lacistema pubescens* apresentou significativa atividade antipsoriática ao induzir a ortoceratose, modificar a espessura da epiderme e diminuir o processo inflamatório, sem induzir a atrofia da pele, um efeito adverso observado no medicamento de referência. Em suma, os achados deste estudo destacam o potencial terapêutico de *Lacistema pubescens* como uma alternativa promissora no tratamento da psoríase, ressaltando a importância de futuros estudos para elucidar os mecanismos envolvidos e otimizar sua aplicação clínica.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG CEX APQ 00487-16 e 1087-18) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG, ao Centro de Biologia da Reprodução da UFJF, a Dra. Fátima Regina Gonçalves Salimena pela identificação da espécie e a Delfino Antônio Campos pela assistência técnica.

CONFLITO DE INTERESSES

Nenhum declarado.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Global report on psoriasis. Geneva: WHO; 2016.
- Armstrong AW, Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: a review. *JAMA*. 2020; 323(19):1945-60. doi: 10.1001/jama.2020.4006
- Man AM, Orasan MS, Hoteiuc OA, Voevod MCO, Mocan T. Inflammation and psoriasis: a comprehensive review. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(22):16095. doi: 10.3390/ijms242216095
- Sun Y, Zhang J, Huo R, Zhai T, Li H, Wu P et al. Paeoniflorin inhibits skin lesions in imiquimod-induced psoriasis-like mice by down regulating inflammation. *Int Immunopharmacol*. 2015; 24:392-9. doi: 10.1016/j.intimp.2014.12.032
- Guillet C, Seeli C, Nina M, Maul LV, Maul JT. The impact of gender and sex in psoriasis: what to be aware of when treating women with psoriasis. *Int J Womens Dermatol*. 2022; 8(2):e010. doi: 10.1097/JW9.0000000000000010
- Raharja A, Mahil SK, Jonathan NC. Psoriasis: a brief overview. *ClinMed*. 2021; 3(21):170-3. doi: 10.7861/clinmed.2021-0257
- Alomar A, Berth-Jones J, Bos, JD, Giannetti A, Reitamo S, Ruzicka T et al. The role of topical calcineurin inhibitors in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2004; 151:3-27. doi: 10.1111/j.1365-2133.2004.06269.x
- Lim KM, Bae SJ, Koo JE, Kim ES, Bae ON, Lee JY. Suppression of skin inflammation in keratinocytes and acute/chronic disease models by caffeic acid phenethyl ester. *Arch Dermatol Res*. 2014; 307(3):219-27. doi: 10.1007/s00403-014-1529-8
- Ahmad Khan MSA, Ahmad I. Herbal medicine: current trends and future prospects. In: Khan MSA, Ahmad I, Chattopadhyay D (ed.). *New look to phytomedicine: advancements in herbal products as novel drug leads*. Academic Press; 2019; 3-13. doi: 10.1016/B978-0-12-814619-4.00001-X
- Elkhawaga OY, Ellety MM, Mofty SO, Ghanem MS, Mohamed AO. Review of natural compounds for potential psoriasis treatment. *Inflammopharmacol*. 2023; 31:1183-98. doi: 10.1007/s10787-023-01178-0
- Silva JM, Conegundes JLM, Pinto NCCP, Mendes RF, Castañón MC, Scio EC. Comparative analysis of *Lacistema pubescens* and dexamethasone on topical treatment of skin inflammation in a chronic disease model and side effects. *J PharmPharmacol*. 2018; 70(4):576-82. doi:10.1111/jphp.12886
- Silva JM, Motta EVS, Mendes R, Bellozi PMQ, Lima I, Ribeiro A et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the hexane extract of *Lacistema pubescens* Mart. leaves. *Pharmacologyonline*. 2012; 1:9-15.
- Silva JM, Conegundes JLM, Mendes RF, Pinto NCCP, Gualberto ACM, Antônia Ribeiro A et al. Topical application of the hexane fraction of *Lacistema pubescens* reduces skin inflammation and cytokine production in animal model. *J Pharm Pharmacol*. 2015; 67(11):1613-22. doi: 10.1111/jphp.12463
- Jianfeng Xu, Lei Yang, Tiantian Lin. β -sitosterol targets glucocorticoid receptor to reduce airway inflammation and remodeling in allergic asthma. *Pulm Pharmacol Ther*. 2023; 78:102183. doi: doi.org/10.1016/j.pupt.2022.102183
- Marahatha R, Gyawali K, Sharma K, Gyawali N, Tandan P, Adhikari A et al. Pharmacologic activities of phytosteroids in inflammatory diseases: mechanism of action and therapeutic potentials. *Phytother Res*. 2021; 35(9):5103-24. doi: 10.1002/ptr.7138
- Silva JM, Conegundes JLM, Pinto NCCP, Mendes RF, Castañón MC, Scio EC. Comparative analysis of *Lacistema pubescens* and dexamethasone on topical treatment of skin inflammation in a chronic disease model and side effects. *J PharmPharmacol*. 2018; 70(4):576-82. doi: 10.1111/jphp.12886
- Bosman B, Matthiesen T, Hess V, Friderichs E. A quantitative method for measuring antipsoriatic activity of drugs by the mouse tail test. *Skin Pharmacol*. 1992; 5:41-8.
- Satake K, Amano T, Okamoto T. Low systemic exposure and calcemic effect of calcipotriol/betamethasone ointment in rats with imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis. *Eur J Pharmacol*. 2018 5; 826:31-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.02.032
- Tovey MG, Christophe L. Immunogenicity and other problems associated with the use of biopharmaceuticals. *Ther Adv Drug Saf*. 2011; 2(3):113-28. doi: 10.1177/2042098611406318
- Pinto NCC, Maciel MSF, Rezende NS, Duque APN, Mendes RF, Silva JB et al. Preclinical studies indicate that INFLATIV, an herbal medicine cream containing *Pereskia aculeata*, presents potential to be marketed as a topical anti-inflammatory agent

- and as adjuvant in psoriasis therapy. *J Pharm Pharmacol*. 2020; 72(12):1933-45. doi: 10.1111/jphp.13357
21. Lombardo M. Estabilização e conservação de formulações farmacêuticas e cosméticas: aspectos de qualidade e de segurança. *J Appl Pharm Sci*. 2020; 7:43-55.
22. Dhanabal SP, Dwarampudi LP, Muruganantham N, Vadivelan R. Evaluation of the antipsoriatic activity of aloe vera leaf extract using a mouse tail model of psoriasis phytother. *Res*. 2012; 26:617-9. doi: 10.1002/ptr.3589
23. Bhatia A, Singh B, Wadhwa S, Raza K, Katare OP. Novel phospholipid-based topical formulations of tamoxifen: evaluation for antipsoriatic activity using mouse-tail model. *Pharm Dev Technol*. 2013; 19(2):160-3. doi: 10.3109/10837450.2013.763260
24. Lin ZX, Jiao BW, Che CT, Zuo Z, Mok CF et al. Ethyl acetate fraction of the root of *Rubia cordifolia* L. inhibits keratinocyte proliferation in vitro and promotes keratinocyte differentiation in vivo: potential application for psoriasis treatment. *Phytother Res*. 2010; 24(7):1056-64. doi: 10.1002/ptr.3079
25. Kumar S, Singh K, Rao R. Enhanced anti-psoriatic efficacy and regulation of oxidative stress of a novel topical babchi oil (*Psoralea corylifolia*) cyclodextrin-based nanogel in a mouse tail model. *J Microencapsul*. 2019; 36(2):140-55. doi: 10.1080/02652048.2019.1612475
26. Sun J, Zhao Y, Hu J. Curcumin inhibits imiquimod-induced psoriasis-like inflammation by inhibiting IL-1 beta and IL-6 production in Mice. *PLoS ONE*. 2013; 8(6):e67078. doi: 10.1371/journal.pone.0067078
27. Garzorz-Stark N, Lauffer F, Krause L, Thomas J, Atenhian A, Franz R et al. Toll-like receptor 7/8 agonists stimulate plasmacytoid dendritic cells to initiate TH17-deviated acute contact dermatitis in human subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2018; 141(4):1320-33. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.045
28. Ma N, Tang Q, Wu WT, Huang XA, Xu Q, Rong GL et al. Three constituents of moringa oleifera seeds regulate expression of Th17-relevant cytokines and ameliorate tpa-induced psoriasis-like skin lesions in Mice. *Molecules*. 2018; 23(12):3256. doi: 10.3390/molecules23123256
29. Yang M, Zhou M, Song L. A review of fatty acids influencing skin condition. *J Cosmet Dermatol*. 2020; 19(12):3199-204. doi: 10.1111/jocd.13616
30. Chang ZY, Chen CW, Tsai MJ, Chen CC, Alshetali A et al. The elucidation of structure-activity and structure-permeation relationships for the cutaneous delivery of phytosterols to attenuate psoriasiform inflammation. *Int Immunopharmacol*. 2023; 119:110202. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110202
31. Silva RO, Sousa FB, Damasceno SR, Carvalho NS, Silva VG et al. Phytol, a diterpene alcohol, inhibits the inflammatory response by reducing cytokine production and oxidative stress. *Fundam Clin Pharmacol*. 2014; 28(4):455-64. doi: 10.1111/fcp.12049
32. Almeida PD, Boleti AP, Rüdiger AL, Lourenço GA, Veiga Junior VF, Lima ES. Anti-inflammatory activity of triterpenes isolated from *protium paniculatum* oil-resins. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 293768. doi: 10.1155/2015/293768
33. Safayhi H, Sailer ER. Anti-inflammatory actions of pentacyclitriterpenes. *Planta Med*. 1997; 63(6):487-93. doi: 10.1055/s-2006-957748
34. Muruganantham N, Basavaraj KH, Dhanabal SP, Praveen TK, Shamasundar NM et al. Screening of *Caesalpinia bonduc* leaves for antipsoriatic activity. *J Ethnopharmacol*. 2011. 133(2):897-901. doi: 10.1016/j.jep.2010.09.026
35. Casanova LM, Costa SS. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. *Rev Virtual Quim*. 2017; 9(2):575-95.