

AValiação DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINÓIDES NATURAIS CONJUGADO AO POLIVINILPIRROLIDONE NO MODELO DE EDEMA DE ORELHA EM CAMUNDONGOS

Mariana Pedrozo do Nascimento (PIBIC/CNPq/FA/Uem), João Marcos Parolo Carmona, Emanuele Parreira de Lima, Ciomar Aparecida Bersani-Amado (Orientador), e-mail: cabamado@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Maringá, PR.

Ciências Biológicas, Farmacologia, Farmacologia Geral.

Palavras-chave: curcuminóides, inflamação, nanoencapsulação.

Resumo:

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia anti-inflamatória das nanopartículas de poli(vinil pirrolidona) contendo curcuminóides naturais da cúrcuma, extraídos diretamente da raiz da planta (Nano-cur), comparativamente aos curcuminóides livres (não encapsulados, Cur) sobre a inflamação cutânea induzida pelo óleo de croton. A resposta inflamatória (edema e recrutamento celular) foi induzida pela aplicação de óleo de croton na orelha de camundongos, que foram tratados por via tópica e oral com as preparações de Nano-cur e Cur. O edema foi avaliado como aumento no peso da orelha (mg) utilizando balança analítica e a atividade da enzima MPO foi determinada para avaliar o recrutamento de leucócitos. A aplicação tópica das preparações de Nano-cur 0,5, 0,25, 0,125 e de Cur 0,5, 0,25, 0,125 reduziram o edema em 68,9%, 91,2%, 66,1% e 52,7%, 71,7%, 58,6%, respectivamente. O tratamento oral com Nano-cur 50 e Cur 400 inibiu a formação de edema em 38,7% e 46,8%, respectivamente. As preparações de Nano-cur 0,5, 0,25 e de Cur 0,5 aplicados por via tópica reduziram a MPO em 75,7%, 61,6%, 63,1%, respectivamente. O tratamento oral com Nano-cur 50, 25 e Cur 400, 200 e 100 reduziram a MPO em 53,1%, 80,8%, 53,8%, 70,5% e 66,7%, respectivamente. No conjunto, os dados mostraram que as preparações de Nano-cur e Cur, quando administradas na mesma dose, por via tópica, inibiram de modo similar, a resposta inflamatória. Por outro lado, quando as preparações foram administradas por via oral, a Nano-cur inibiu a formação do edema em dose oito vezes menor que a Cur, sugerindo uma melhor biodisponibilidade da Nano-cur quando comparada a Cur.

Introdução

A *Cúrcuma longa L.*, popularmente conhecida como açafrão tem sua origem no Oriente Médio, e se distribui mundialmente, se destacando tanto por suas propriedades alimentícias como também por suas atividades biológicas (FACCHI et al., 2016; ALMEIDA et al., 2018). Em especial, sua atividade anti-inflamatória deve-se a um grupo de pigmentos chamados curcuminóides, compostos por curcumina, dimetoxicurcumina, bis-imetoxicurcumina e ciclocurcumina, sendo a curcumina, o componente principal e mais estudado deste grupo. O uso terapêutico dos

curcuminóides é limitado devido à sua baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade quando administrado por via oral (SHAO et al., 2011). Assim, tem sido empregadas estratégias para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade dos curcuminóides, dentre elas a utilização de adjuvantes, encapsulação em nano e micropartículas, associação com lipossomas, com micelas, entre outras. No entanto, pelo nosso conhecimento, poucos estudos foram realizados para avaliar o efeito dos curcuminóides, seja na forma livre ou encapsulada, sobre a inflamação cutânea. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia anti-inflamatória das nanopartículas de poli(vinil pirrolidona) contendo curcuminóides naturais da cúrcuma, extraídos diretamente da raiz da planta (Nano-cur), comparativamente aos curcuminóides livres (não encapsulados, Cur) sobre a inflamação cutânea induzida pelo óleo de cróton.

Materiais e métodos

Os experimentos foram realizados utilizando camundongos *Swiss*, machos, pesando 25-30g. Os animais foram mantidos em ambiente com umidade (40-60%), temperatura (22°C +/- 2°C) e luminosidade (ciclo claro-escuro de 12 h/12 h), com livre acesso a ração e a água. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM 2624080318). As nanopartículas contendo curcuminóides foram fornecidas pelo Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campo Mourão Campus. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: (1) tratados por via tópica com Cur e Nano-cur nas doses de 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 e 0,03125 mg/orelha e, (2) tratados por via oral com Cur nas doses de 400, 200 e 100 mg/kg e Nano-cur nas doses de 50,0; 25,0 e 12,5 mg/kg. Imediatamente após o aplicação tópica ou 1h após o tratamento por via oral, foi induzido o processo inflamatório pela aplicação de 20 µL de óleo de cróton (OC - 200 µg) diluído em acetona 70% (acetona/água 7:3, v/v veículo) na face interna da orelha esquerda do camundongo. A orelha direita (não inflamada) recebeu apenas a aplicação tópica de 20 µL de acetona (veículo do OC). Seis horas após da aplicação do OC, os animais foram anestesiados e sacrificados, as orelhas foram seccionadas em discos de 6,0 mm de diâmetro para avaliação do edema e da MPO (marcador indireto de recrutamento de leucócitos). O edema de orelha foi avaliado como um aumento no peso da orelha (mg) utilizando balança analítica. A atividade da MPO foi determinada para avaliar o recrutamento de leucócitos, seguindo a técnica de Bradley et al. (1982), com modificações. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussão:

A aplicação tópica de OC na orelha do animal provoca intenso edema e aumento do recrutamento de células inflamatórias. O tratamento com as preparações de Nano-cur e Cur tanto por via tópica como por via oral inibiu o desenvolvimento da resposta inflamatória (edema e atividade da MPO). No entanto, a eficácia anti-inflamatória das preparações foi diferente de acordo com a via de administração utilizada (**Figura 1**).

O tratamento por via tópica, com ambas as preparações, apresentou efeito inibitório similar sobre o desenvolvimento do edema e da atividade da MPO. Mas quando as preparações de Nano-cur e Cur foram administradas por via oral, a Nano-cur mostrou maior eficácia anti-inflamatória quando comparada a Cur.

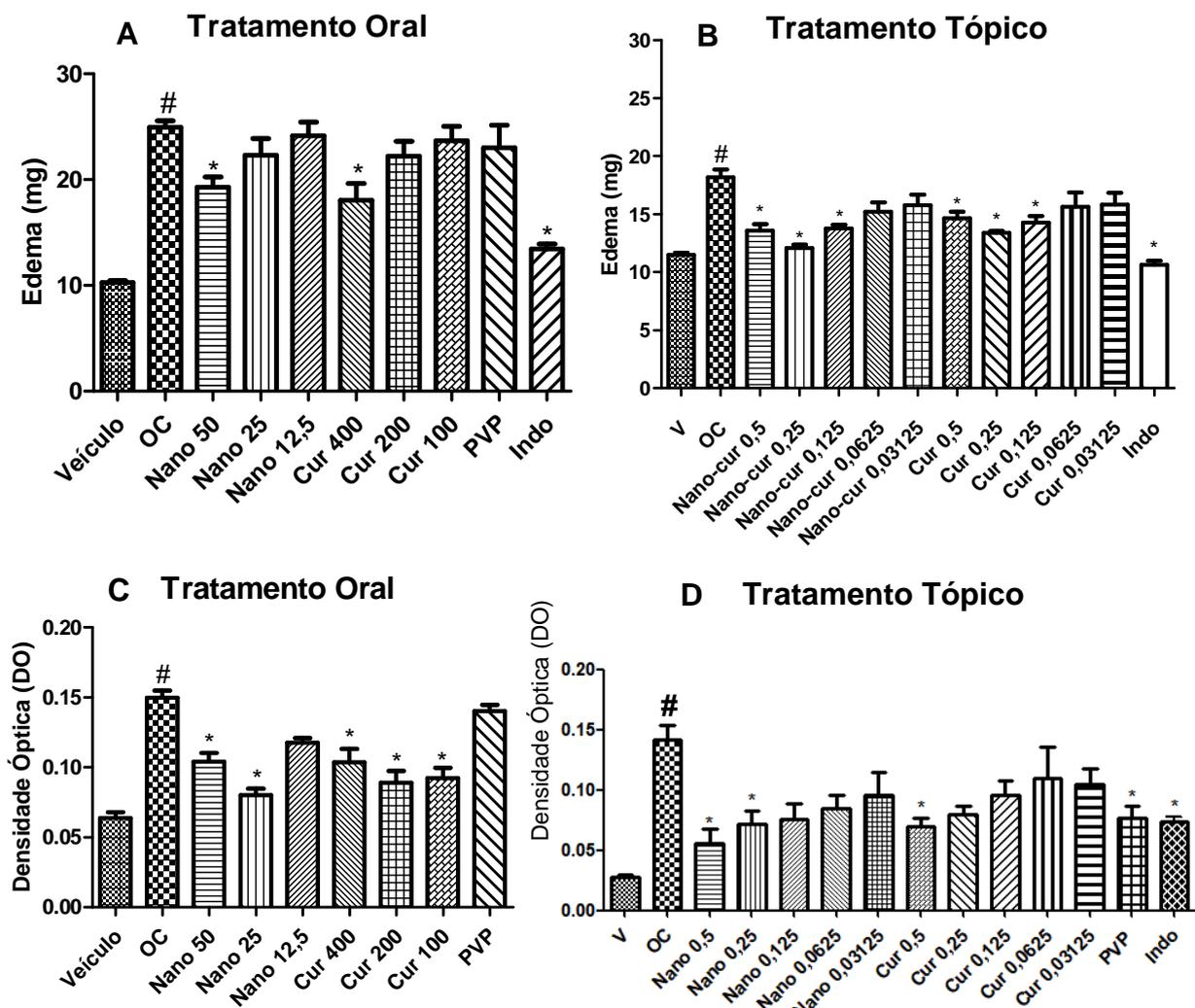


Figura 1. Efeito das nanopartículas contendo curcuminóides e curcuminóides livres, na formação do edema (A, B) e na atividade da MPO (C, D). # P < 0,05 quando comparado o grupo inflamado (OC) ao não inflamado (Veículo). * P < 0,05 quando comparado ao grupo OC.

Como observado, a Nano-cur mostrou um efeito inibitório sobre o desenvolvimento do edema de orelha em dose oito vezes menor e sobre a atividade da MPO em dose quatro vezes menor do que a Cur. Alguns estudos mostram que a curcumina (componente majoritário dos curcuminóides) exerce atividade anti-inflamatória por inibir a expressão da enzima ciclo-oxigenase 2 (COX₂), a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-8) e a enzima óxido nítrico sintase (ROCHA et al., 2014). Assim, podemos sugerir que o efeito inibitório das preparações de Cur e Nano-cur sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória induzida pelo OC, observado no presente estudo, pode estar relacionado a uma ação inibitória sobre os mediadores inflamatórios envolvidos nesta resposta. Neste contexto, podemos sugerir que a curcumina tem uma participação importante no efeito inibitório das

preparações de Cur e Nano-cur sobre a resposta inflamatória induzida pelo OC, não descartando, no entanto, a participação dos outros curcuminóides. Diante destes resultados, é válido destacar que a atividade da Nano-cur quando administrada por via oral é decorrente da melhora da biodisponibilidade dos Cur uma vez que tais efeitos foram observados com doses quatro a oito vezes menor. Por outro lado, a eficácia similar da Nano-cur e da Cur aplicados topicamente pode ser explicada pelo fato dos Cur não sofrerem metabolismo de primeira passagem. No conjunto os dados mostram que o processo de nanoencapsulação dos curcuminóides naturais é importante para proteção dos mesmos contra a biodegradação após administração por via oral. Quando administrados de forma tópica, os curcuminóides não são metabolizados, atingindo o foco inflamatório mesmo quando não encapsulados.

Conclusão

Os dados mostraram que as preparações de Cur e Nano-cur, quando administradas na mesma dose, por via tópica, inibiram de modo similar, a resposta inflamatória. Por outro lado, quando as preparações foram administradas por via oral, a Nano-cur inibiu tais respostas em doses de quatro a oito vezes menor que a Cur, sugerindo uma melhor biodisponibilidade da Nano-cur quando comparada a Cur.

Agradecimentos

Agradecemos aos colegas do Laboratório de Inflamação da UEM pelo apoio e incentivo, e a Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Referências

ALMEIDA, M. et al. Evaluation of the *in vivo* acute antiinflammatory response of curcumin-loaded nanoparticles. **Food & function**, Inglaterra, v. 9, n. 1, p. 440-449, 2018.

BRADLEY, P. P. et al. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **J. Invest. Dermatol.**, Estados Unidos, v. 78, n. 3, p. 206–209, 1982.

FACCHI S, P. et al. Preparation and cytotoxicity of N-modified chitosan nanoparticles applied in curcumin delivery. **Int. J. Biol. Macromol.**, Holanda, v. 87, p. 237-245, 2016.

ROCHA, B.A. et al. Curcumin encapsulated in poly-L-lactic acid improves its anti-inflammatory efficacy in vivo, **Adv. Med. Plant. Res.**, [s.l.], v. 2, n. 4, p. 62-73, 2014.

SHAO, J. et al. Curcumin delivery by methoxy polyethylene glycol poly(caprolactone) nanoparticles inhibits the growth of C6 glioma cells. **Acta. Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)**, China, v. 43, n. 4, p. 74-267, 2011.