

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO ANETOL MICROENCAPSULADO EM MODELO DE INFLAMAÇÃO AGUDA EXPERIMENTAL

Mayara Lais Pereira, João Victor Guedes Duda, Edvalkia Magna Teobaldo da Rocha, Odinei Hess Gonçalves, Roberto Kenji Nakamura Cuman, Ciomar Aparecida Bersani-Amado (Orientadora), e-mail: cabamado@uem.br

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

Ciências Biológicas, Farmacologia, Farmacologia Geral.

Palavras-chave: trans-anetol, micropartículas lipídicas sólidas, inflamação

Resumo:

O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do tratamento com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN) sobre a resposta inflamatória aguda experimental. Ratos Wistar foram divididos em grupos: 1) normais, 2) inflamados controle, 3) inflamados tratados com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN), dissolvidas em água, nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg, 4) inflamados tratados com trans-anetol (AN) na dose de 250 mg/kg, e 5) inflamados tratados com ibuprofeno (IB) na dose de 35 mg/kg. O tratamento dos animais foi realizado por via oral, em dose única, uma hora antes da indução da resposta inflamatória, pela aplicação intra-plantar de carragenina (200 µg/pata). O efeito de cada tratamento sobre a resposta inflamatória foi avaliado pela medida do edema de pata, e pela determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) e da concentração de óxido nítrico (NO) no tecido plantar dos animais. Os resultados mostraram evidências que o tratamento com MLSAN, em doses baixas, cinco a dez vezes menores que a do AN apresentaram grande eficácia anti-inflamatória no modelo experimental de inflamação aguda induzida pela carragenina, sugerindo que o processo de microencapsulação melhorou a biodisponibilidade e a atividade biológica do AN.

Introdução

O trans-anetol [anetol 1-metoxi-4-benzeno-(1-propenil)] é um composto aromático encontrado naturalmente no anis (*Pimpinella anisum*), anis-estrelado (*Illicium verum*) e funcho/erva-doce (*Foeniculum vulgare*) sendo responsável por mais de 90% da composição do óleo essencial. Este composto apresenta numerosas atividades biológicas: antimicrobiana, antioxidante, antinociceptiva, hepatoprotetora, anti-inflamatória, entre outras. Estudos anteriores mostraram que o trans-anetol (AN) administrado em ratos, por via oral, exibe um efeito inibitório sobre a dor de origem

inflamatória aguda (induzida pela carragenina) e persistente (induzida pelo adjuvante completo de Freund - ACF), e também sobre a resposta inflamatória aguda (edema de pata e pleurisia induzidos pela carragenina) e crônica (artrite induzida pelo ACF) (DOMICIANO et al., 2013; RITTER et al., 2014; 2017). Nestes estudos foi evidenciado que a maior eficácia do AN ocorreu quando o composto era administrado em doses altas (125 e 250 mg/kg). Recentemente, foi demonstrado que o tratamento de ratos com micropartículas contendo AN em doses baixas, apresentaram um potencial anti-inflamatório similar a monoterapia com AN e o IB em doses altas no modelo experimental de artrite induzida por ACF (ROCHA et al., 2021). O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do tratamento com micropartículas lipídicas sólidas contendo trans-anetol (MLSAN) sobre a resposta inflamatória aguda experimental induzida pela carragenina.

Materiais e métodos

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, com idade de 50 a 60 dias, pesando 200 - 220 g. Os animais foram mantidos sob temperatura controlada de 22°C em ciclo claro/escuro de 12 horas, com água e ração *ad libitum*. Este projeto está inserido no projeto “Avaliação da atividade antiinflamatória do anetol microencapsulado em modelos de inflamação experimental” que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº 3001210819). As MLSAN obtidas pela técnica de homogeneização a quente e caracterizadas por análises físico químicas, foram fornecidas pelo Prof. Odinei Hess Gonçalves (UTFPR/Campo Mourão-PR). O tratamento dos animais foi realizado por via oral em dose única, uma hora antes da indução da resposta inflamatória pela aplicação intra-plantar de carragenina (200 µg) em uma das patas posteriores. Os ratos foram divididos em grupos: 1) normais (n=3), 2) inflamados controle (n=5) inflamados tratados com MLSAN nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg de peso corporal (n=7, 7, 7, respectivamente), 4) inflamados tratados com AN na dose de 250 mg/kg de peso corporal (n=7), e 5) inflamados tratados com IB na dose de 35 mg/kg de peso corporal (n=7). O volume de ambas as patas foi determinado por pletismografia, antes da indução do edema e nos períodos de 1, 2 e 4 horas após a administração de carragenina. O aumento do volume final da pata foi calculado subtraindo o volume da pata injetada com salina (pata controle) do volume da pata injetada com a carragenina. A atividade da MPO e a concentração do óxido nítrico foram determinadas no sobrenadante de homogenato do tecido plantar de acordo com a técnica descrita por BANI et al., (1998) e de GREEN et al., (1982), respectivamente. Os resultados foram analisados utilizando teste T de *Student* não pareado com nível de significância de $P < 0.05$.

Resultados e Discussão

O tratamento dos ratos, por via oral, com as MLSAN nas doses de 25 e 50 mg/kg de peso corporal, reduziu a intensidade do edema (1h: 33%, 26%; 2h: 20%, 37%; 4h: 28%, 35%, respectivamente) e a atividade da MPO (40%, 65%, respectivamente). Da mesma maneira, o tratamento com AN (250 mg/kg) reduziu o edema (1h: 26%; 2h: 29%; 4h: 35%) e a atividade da MPO (52,5%). O tratamento com o IB (35 mg/kg) reduziu o edema (1h: 57%; 2h: 51%; 4h: 39%), porém não reduziu significativamente a atividade da MPO. O tratamento com MLSAN na dose de 12,5 mg/kg não reduziu significativamente o edema e a atividade da MPO. A concentração de NO tecidual, que tem um papel importante na resposta inflamatória aguda por aumentar a permeabilidade vascular e modular a adesão e migração de leucócitos, estava bastante aumentada na 4ª hora após a indução da resposta inflamatória aguda induzida pela carragenina, corroborando outros trabalhos (ALMEIDA et al., 2017; ROCHA et al., 2020). O tratamento com MLSAN nas doses de 25 e 50 mg/kg e com AN na dose de 250 mg/kg reduziu significativamente a concentração de NO tecidual (13%, 43%, 33%, respectivamente). O tratamento com IB (35 mg/kg) não modificou a concentração de NO. A redução da concentração de NO pode explicar, pelo menos parcialmente, os efeitos inibitórios da MLSAN e do AN na formação de edema e na atividade da MPO. No entanto, não devemos descartar a possibilidade de que a redução da concentração de outros mediadores inflamatórios também esteja envolvida no efeito anti-inflamatório observado neste modelo experimental. Uma evidência importante encontrada foi que o efeito inibitório da MLSAN sobre a resposta inflamatória aguda ocorreu em doses 5 a 10 vezes menores que a do AN. Assim, pode ser sugerido que o processo de microencapsulação melhorou a biodisponibilidade e a atividade biológica do AN, administrado por via oral, neste modelo experimental. Esta hipótese é sustentada por estudos de outros autores demonstrando que a encapsulação do AN aumenta sua solubilidade, estabilidade e eficácia biológica (ZHANG; YUAN, 2018; WANG et al, 2021).

Conclusões

Os resultados mostraram evidências que o tratamento com MLSAN, em doses baixas, apresentaram grande eficácia anti-inflamatória no modelo experimental de inflamação aguda induzida pela carragenina.

Agradecimentos

Agradecemos aos colegas e técnicos do Laboratório de Inflamação da UEM pelo apoio, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação Araucária (FA) e a UEM pelo suporte financeiro.

Referências

ALMEIDA, M.; ROCHA, B. A.; FRANCISCO, C. R.L.; MIRANDA, C. G.; SANTOS, P.

D.F.; ARAÚJO, P. H.H.; SAYER, C.; LEIMANN, F. V.; GONÇALVES, O. H.; BERSANI-AMADO, C. A. Evaluation of the in vivo acute antiinflammatory response of curcumin-loaded nanoparticles. **Food & Function**. v.9, p. 440-449, 2017.

BANI, D.; MASINI, E, BELLO, M. G.; BIGAZZI, M.; T B SACCHI, T. B. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. **American Journal of Pathology**, v. 152, n. 5, p. 1367–1376, 1998.

DOMICIANO, T. P.; DALALIO, M .M O.; SILVA, E. L.; RITTER, M. V.; ESTEVÃO-SILVA, C. F.; RAMOS, F. S.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Inhibitory effect of anethole in nonimmune acute inflammation. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 4, p. 331–338, 2013.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J.S.; TANNENBAUM, S. S. Analysis of Nitrate , Nitrite , and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, p. 131–138, 1982.

RITTER, A. M. V.; AMES, F. Q.; OTANI, F.; OLIVEIRA, R. M. W.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Effects of anethole in nociception experimental models. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

RITTER, A. M. V.; HERNANDES, L.; ROCHA, B. A.; ESTEVÃO-SILVA, C. F.; WISNIEWSKI-REBECA, E. S.; CEZAR, J. S.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K. N.; BERSANI-AMADO, C. A. Anethole reduces inflammation and joint damage in rats with adjuvant-induced arthritis. **Inflammation Research**, v. 66, n. 8, p. 725–737, 2017.

ROCHA, B. A.; FRANCISCO, C. R. L.; DE ALMEIDA, M.; AMES, F. Q.; BONA, E.; LEIMANN, F. V.; BERSANI-AMADO, C. A. Antiinflammatory activity of carnauba wax microparticles containing curcumin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 59, p. 101918, 2020.

ROCHA, E. M. T. Avaliação das atividades anti-inflamatória e gastroprotetora do trans-anetol microencapsulado em modelos de inflamação experimental. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Maringá-Pr, 2021.

WANG, Y.; LI, M. F.; WANG, L.; TAN, J.; LI, R.; JIANG, Z. T.; LI, T. T. Improvement of the stabilities and antioxidant activities of polyphenols from the leaves of Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) using β -cyclodextrin-based metal–organic frameworks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 1, p. 287-296, 2021.

ZHANG, G.; YUAN, C. Effect of selective encapsulation of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on components and antibacterial properties of star anise essential oil. **Molecules**, v.23, n. 5, p. 1126, 2018.