

EFEITOS DO β -CARIOFILENO CARREADO EM SISTEMA AUTOEMULSIONANTE SOBRE A INFLAMAÇÃO DE RATOS ARTRÍTICOS

Ana Maria Canassa Pinheiro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Any Carolina Chagas (Co-orientador), Jurandir Fernando Comar (Orientador). E-mail: jfcomar@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas / Bioquímica / Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: Artrite reumatoide; óleo essencial de cravo; inflamação crônica.

RESUMO

O β -cariofileno é um composto conhecido por sua atividade anti-inflamatória. O caráter lipofílico do β -cariofileno dificulta sua interação com o trato gastrointestinal aquoso, mas os carreadores autoemulsionantes têm sido eficazes para administração oral de compostos com baixa solubilidade em água. Desta forma, o objetivo deste estudo foi preparar um sistema autoemulsionante (SNEDDS) contendo β -cariofileno e avaliar seu efeito anti-inflamatório, quando administrado por via oral, em ratos com artrite induzida por adjuvante de Freund. O SNEDDS foi um sistema composto de β -cariofileno, surfactante e etiloleato. Ratos Holtzman foram divididos em 4 grupos: CT, controles; AIA, ratos artríticos; AIA- β A e AIA- β L, ratos artríticos tratados com β -cariofileno 100 mg/Kg em SNEDDS e não formulado, respectivamente. O SNEDDS aumentou em 38% a biodisponibilidade oral do β -cariofileno. Os volumes das patas injetada e contralateral foram respectivamente 220% e 189% maiores em AIA e não foi diminuído pelo tratamento, mas o edema da pata contralateral foi 50% menor em AIA- β A e não modificado em AIA- β L. O número de leucócitos infiltrados nas articulações femorotibiais injetada e contralateral foram elevados em AIA. O número de leucócitos da articulação contralateral foi 83% menor em AIA- β A, comparado com AIA, mas não diminuído em AIA- β L. A expressão articular de TNF α foi 7 vezes maior em AIA do que em CT e foi 32% menor em AIA- β A, mas não reduzido em AIA- β L. Os resultados mostram que o β -cariofileno carreado em SNEDDS aumenta a sua biodisponibilidade oral e seus efeitos anti-inflamatórios em ratos artríticos.

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória autoimune crônica que afeta as articulações e atinge cerca de 1% da população adulta mundial. A patologia envolve uma intensa hiperplasia da cartilagem e membrana sinovial de pequenas articulações. O (-)- β -cariofileno é um sesquiterpeno que apresenta atividade anti-inflamatória e é obtido por síntese assimétrica ou a partir de óleos essenciais (MAFFEI, 2020). Este composto oralmente administrado foi capaz de diminuir o edema das patas e a

hiperplasia articular de ratos com artrite induzida por adjuvante, mas apenas em doses elevadas (400 mg/kg) (AMES-SIBIN et al., 2018, 2024). Botões de cravo são ricos em eugenol (70-90%), que é amplamente utilizado em perfumes e aromatizantes, mas também contém uma quantidade considerável de β -cariofileno. O eugenol é extraído do óleo de cravo por destilação fracionada, que também separa uma fração muito rica em β -cariofileno (NURDJANNAH e BERMAWIE, 2012). Esta última é chamada β -cariofileno natural, embora outros hidrocarbonetos também são encontrados em pequenas quantidades, como o α -humuleno.

O caráter lipofílico do β -cariofileno dificulta a sua interação com o ambiente aquoso gastrointestinal, o que deve diminuir a sua biodisponibilidade quando oralmente administrado. Veículos nanoemulsionantes são eficazes como sistemas para administração oral de compostos com baixa solubilidade aquosa (YAO et al., 2020). Portanto, eles deveriam melhorar a atividade antirreumática do β -cariofileno. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos do β -cariofileno natural veiculado em um sistema de liberação de drogas autoemulsionante nanoestruturado (SNEDDS) sobre a inflamação articular de ratos com artrite induzida por adjuvante completo de Freund (CFA).

MATERIAIS E MÉTODOS

O β -cariofileno natural foi adquirido da Quinarí Fragrâncias Ltda (Ponta Grossa, PR, Brasil) e sua composição foi determinada por cromatografia gasosa associada e espectrometria de massas (GC-MS). O SNEDDS foi composto por β -cariofileno, Cremophor (surfactante) e etiloleato. Ratos Holtzman com cerca de 60 dias de idade foram divididos em quatro grupos: CT, ratos saudáveis tratados com salina; AIA, ratos artríticos tratados com salina; AIA- β A, ratos artríticos tratados com β -cariofileno 100 mg/Kg formulado em SNEDDS, e AIA- β L, ratos artríticos tratados com β -cariofileno 100 mg/Kg não formulado.

O tratamento foi realizado por via oral (gavage) por dezoito dias após a administração de CFA. Os animais foram pesados, o volume (edema) das patas traseiras determinados com plestismógrafo digital e as lesões secundárias à artrite monitoradas a cada três dias. Os animais foram eutanasiados com overdose de tiopental sódico 120 mg/kg no décimo nono dia e o sangue coletado da cauda para contagem de leucócitos circulantes. As articulações femorotibiais traseiras foram expostas e as cavidades lavadas com 40 μ L de PBS. Os exsudatos obtidos foram utilizados para a quantificação de leucócitos articulares.

Na sequência, amostras do músculo tibial anterior esquerdo envolvendo as articulações foram coletadas, o RNA total extraído e a expressão em termos de RNAm do fator de necrose tumoral alfa (TNF α) quantificada por PCR em tempo real (RT-PCR). A biodisponibilidade oral foi determinada em ratos saudáveis pela quantificação de β -cariofileno no plasma. Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEM (nº 2008040222).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O β -cariofileno natural continha β -cariofileno (91%), α -humuleno (8,2%) e copaeno (0,7%). A formulação do β -cariofileno em SNEDDS aumentou a sua biodisponibilidade em 38%. Isto ocorre devido à formação de micelas que impedem a precipitação do β -cariofileno no ambiente aquoso gastrointestinal e melhora as interações com os componentes da digestão (AMES-SIBIN et al., 2024).

Os volumes das patas injetada e contralateral no décimo nono dia após a indução da artrite foram respectivamente 220% e 189% maiores em AIA. O edema da pata injetada de AIA- β A e AIA- β L não foi diminuído pelo tratamento, mas o edema da pata contralateral foi 50% menor em AIA- β A e não modificado em AIA- β L (comparados com AIA) (Figura 1). O escore de lesões secundárias de AIA- β A e AIA- β L foram 36% menor que AIA, mas só no décimo quinto dia, figura 1.

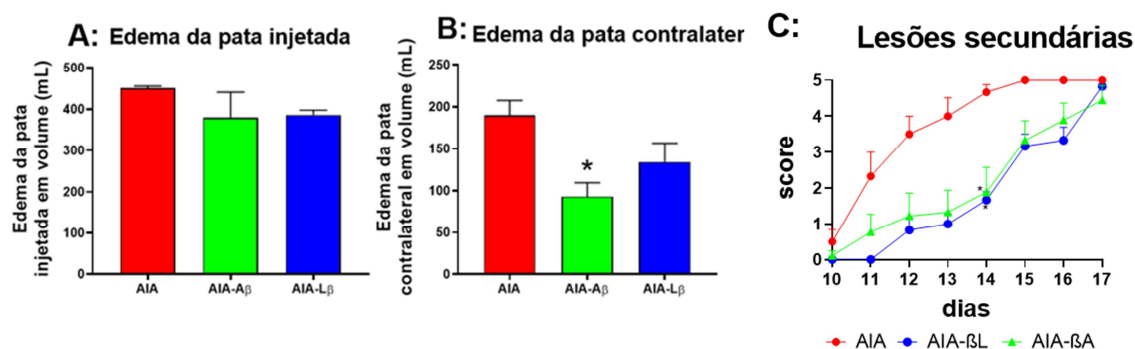


Figura 1 – Efeitos do β -cariofileno natural sobre o aparecimento de lesões secundárias (painel A) e na evolução do edema das patas (painel B e C). * $p < 0,05$: diferente de AIA.

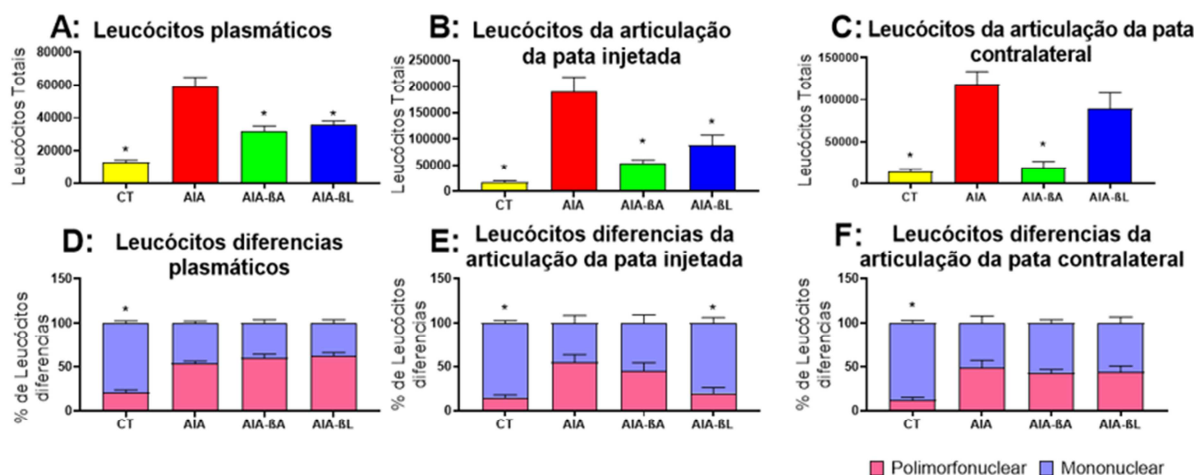


Figura 2 – Contagem de leucócitos totais e diferenciais plasmáticos e articulares

CONCLUSÕES

A formulação do β -cariofileno natural em SNEDDS aumenta a sua biodisponibilidade quando administrado oralmente em ratos. Esse fenômeno aumenta os efeitos antirreumáticos do β -cariofileno em ratos com artrite induzida por adjuvante e mostra que a formulação pode ser uma alternativa a ser incluída no tratamento da artrite reumatoide.

AGRADECIMENTOS

CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

AMES-SIBIN, A.P.; BARIZÃO, C.L.; CASTRO-GHIZONI, C.V.; SILVIA, F.M.S.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; BERSANI-AMADO, C.A.; MARÇAL-NATALI, M.R.; BRACHT, A. & COMAR, J.F., 2018. β -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. **Journal of Cellular Biochemistry**, 119(12), 10262–10277. <https://doi.org/10.1002/jcb.27369>

AMES-SIBIN, A.P.; CHAGAS, A.C.; FERREIRA, S.B.S.; MANDIM, F.; FINIMUNDY, T.C.; CALHELHA, M.R.C.; PERALTA, R.M.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; BRUSCHI, M.L.; BRACHT, A.; BARROS, L.; COMAR, J.F., 2024. Characterization and bioactivity of copaiba essential oil carried in a self-nanoemulsifying drug delivery system. **J. Drug Deliv. Sci. Technol.** 91, 105206. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105206>

MAFFEI, M.E. Plant natural sources of the endocannabinoid (E)- β -caryophyllene: a systematic quantitative analysis of published literature. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020) 6540. <https://doi.org/10.3390/ijms21186540>

NURDJANNAH, N.; BERMAWIE, N. Cloves. In: Peter KV, Editor. **Handbook of Herbs and Spices**, second edition, vol.1. Woodhead Publishing limited, p. 197-215, 2012. <https://doi.org/10.1533/9780857095671.197>

YAO, M.; LI, Z.; MCCLEMENTS, D.J.; TANG, Z.; XIAO, H., 2020. Design of nanoemulsion-based delivery systems to enhance intestinal lymphatic transport of lipophilic food bioactives: Influence of oil type, **Food Chem.** 317, 126229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126229>