# ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA TÓPICA DE EMULGEL TERMORRESPONSIVO DE BETA-MIRCENO EM MODELO DE INFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS

Carlos Henrique de Oliveira (PIBIC/CNPq), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Coorientador) e Vagner Roberto Batistela (Orientador). E-mail: ra123842@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Maringá, PR.

**Ciências da Saúde: Farmácia/Análise Toxicológica**
**Palavras-chave:** emulgel, mirceno, inflamação.

## RESUMO

O *β-mirceno* (MIR) é um monoterpeno de aroma agradável com propriedades anti-inflamatórias. No entanto, há poucos estudos relacionados a aplicações tópicas. Por isso, foram desenvolvidas formulações de emulgel termorresponsivo contendo MIR para avaliar suas propriedades físico-químicas e eficácia anti-inflamatória. A formulação foi desenvolvida com quantidade otimizada de MIR, Pluronic® F-127, Carbopol® C940, e água destilada. O emulgel foi submetido a testes de estabilidade em diferentes temperaturas (5,0 °C, 25,0 °C e 34,0 °C), análises de textura e reologia, além de ensaios *in vivo* para avaliar a redução de edema auricular em camundongos e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). Os emulgeis se mantiveram estáveis, sem separação de fases, e termorresponsivos. A presença de MIR favoreceu o aumento na dureza, adesividade e elasticidade a 34.0 $^{o}$C. Por reologia, foi observado comportamento pseudoplástico, o que facilita a aplicação e espalhamento tópico. Nos estudos *in vivo*, grupos de animais receberam diferentes tratamentos: veículo, óleo de Cróton (OC), Dexametasona (DEX), e emulgel com *β-mirceno* nas doses de 0,1 mg/orelha e 1,0 mg/orelha. O grupo que recebeu emulgel de 1,0 mg/orelha reduziu significativamente o edema de orelha (76,2%) e a atividade da MPO, em comparações com o controle positivo (C+). O emulgel de *β-mirceno* demonstrou boa estabilidade e eficácia na redução do edema e da inflamação, sugerindo seu potencial como alternativa terapêutica tópica. No entanto, estudos adicionais são recomendados para avaliar outros parâmetros anti-inflamatórios.

## INTRODUÇÃO

O *β-mirceno* (MIR) é um monoterpeno de aroma agradável, proveniente de óleos essenciais de muitas plantas bastante utilizado na fabricação de cosméticos e aromatizantes. Além disso, possui propriedades antibacterianas, antioxidantes, neuroprotetoras, antitumorais, analgésicas e anti-inflamatórias (BRUNTON, 2019). Para formulações tópicas, emulgeis são sistemas estáveis que combinam propriedades de uma emulsão (mistura de dois líquidos imiscíveis) com as de um gel (formulação semissólida constituída por uma rede tridimensional de polímeros). São

comumente constituídas apenas por polímeros, água destilada e um óleo, no caso, o próprio terpeno (TALAT *et al.*, 2021). Quando o agente polimérico autua como surfactante, adicionalmente, tem-se a presença de micelas, nas quais o princípio ativo fica contido no seu interior e é liberado gradualmente para exercer sua função. As vantagens de utilizar emulgel é sua fácil aplicação, devido às características químicas dos excipientes, pois abaixo da temperatura de gelificação o sistema encontra-se no estado líquido (ZHANG *et al.*, 2021). Ademais, possui fácil remoção, cremosidade e alta adesividade quando está acima da temperatura de gelificação, o qual se torna semissólido, permitindo certa proteção à injúria tecidual (TALAT *et al.*, 2021). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o de desenvolver um emulgel termorresponsivo contendo *β-mirceno* e avaliar sua estabilidade através de ensaios de variação de temperatura, centrifugação, textura e reologia. Além disso, analisar sua atividade anti-inflamatória considerando ação na redução de edema auricular em camundongos *Swiss* e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados o terpeno *β-mirceno* (MIR, Sigma-Aldrich, M100005, pureza >75%), o surfactante polimérico Pluronic® F-127 (Sigma-Aldrich, P2443, F-127), o estabilizante Carbopol® C940, Trietanolamida (TEA), Dexametasona (DEX) e óleo de Cróton (OC, Sigma-Aldrich, C6719, concentração <100%) e água destilada. Todos os reagentes foram utilizados com grau P. A., sem tratamento prévio. A formulação foi obtida em porcentagem otimizada de MIR em mistura de Pluronic® F-127, Carbopol® C940 e água destilada. Para testes de estabilidade térmica, as amostras foram mantidas em estufa a 5,0 ºC (temperatura de geladeira), 25,0 ºC (temperatura ambiente) e 34,0 ºC (temperatura aproximada da pele) por 10 min. Posteriormente, para avaliação de estabilidade à separação, as amostras foram colocadas em microtubos, submetidas à centrifugação a 5,0, 25,0 e 34,0 ºC, em 3000 rpm por 30 min. Análises de textura foram realizadas através do analisador de textura TA-XTplus da Stable Micro Systems® nas temperaturas de 5,0, 25,0 e 34,0 ºC para avaliação de compressibilidade, dureza, coesão, elasticidade e adesividade por meio do software Expoent versão 6.2 (Stable Micro Systems®). As análises de reometria oscilatória e fluxo de cisalhamento contínuo foram realizadas em um reômetro MARS II (Thermo-Haake, Thermo Fisher Scientific®) nas temperaturas de 5,0 e 34,0 ºC. Em modo de oscilação, avaliou-se a região viscoelástica linear da formulação. As propriedades reológicas dinâmicas, módulo de armazenamento (G') e módulo de perda (G''), foram calculadas utilizando o software RheoWin 4.10 (Haake®). As avaliações de cisalhamento contínuo foram obtidas através das curvas de fluxo ascendente e descendente. A equação de Herschel-Bulkley foi utilizada para o ajuste das curvas de fluxo ascendente. Nos ensaios *in* vivo com camundongos *Swiss* (CEUA nº 6449120923), os animais foram divididos em grupos (n= 4-7) e mantidos em temperatura (22 °C ± 2 °C) sob um regime de 12h/12h em ciclo claro/escuro e comida *ad libitum*. O grupo controle negativo (C-) recebeu apenas o veículo (acetona/água 7:3). O grupo controle positivo (C+) recebeu

aplicação de OC. Os demais grupos receberem a aplicação de OC dissolvido no veículo, seguido dos tratamentos após 30 min. Os tratamentos avaliados foram o MIR puro, excipiente puro e o emulgel, todos avaliados nas doses de 0,1 mg/orelha e 1,0 mg/orelha. Após 6 horas da aplicação, os animais foram eutanasiados e as orelhas seccionadas em discos circulares de 6,0 mm de diâmetro, pesadas em balança analítica para realizar a porcentagem de edema e análise da MPO. A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prisma v.8.05 e Microsoft 365 Excel versão 2404. Os dados passaram pelo teste de normalidade. Em casos de distribuição normal foi realizado o teste One-way ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey, os resultados foram expressos em média ± erro padrão. O valor de *p* menor que 0,05 ($p<0,05$) foi considerado estatisticamente significativosignificativos ($p<0,05$).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O emulgel não demonstrou separação de fase quando submetido às variações de temperatura, seja com ou sem agitação, de acordo com os testes de estabilidade realizados. No que diz respeito aos estudos de textura, o emulgel aumentou sua dureza, adesividade, compressibilidade e, em menor intensidade, sua elasticidade concomitante ao aumento da temperatura, de 5,0 para 34,0 $^{o}$C. Quando a dureza do emulgel aumenta, isso sugere que o emulgel se torna mais firme ou denso. Isso pode ocorrer devido à transição líquido-sólido, onde o aumento de temperatura provoca a reorganização dos polímeros ou a maior interação entre os componentes do emulgel, formando uma estrutura mais rígida (FERNANDES *et al.*, 2022). Já o aumento na adesividade ocorre porque a maior temperatura provoca a fusão parcial de certos componentes, proporcionando com que o emulgel tenha mais afinidade por superfícies, como a pele. (FERNANDES *et al.*, 2022). Quando a compressibilidade aumenta, resulta em uma matriz mais flexível, permitindo maior compressão sem ruptura. O aumento da elasticidade é explicado no relaxamento das cadeias poliméricas, permitindo maior mobilidade e flexibilidade. Toda via, essas variações de temperatura diminuíram ligeiramente sua coesividade e, assim, em aplicações tópicas, o emulgel terá aplicabilidade e espalhabilidade melhor (FERNANDES *et al.*, 2022). No que diz respeito à reologia de cisalhamento contínua, o emugel apresentou fluxo pseudoplástico, ou seja, a resistência ao fluxo diminuiu à medida que a força ou velocidade aplicada ao fluido (taxa de cisalhamento) facilitando sua aplicação e espalhamento. Apresentou perfis viscoelásticos a 5,0-25,0 ºC. Com o acréscimo de temperatura, foram verificadas propriedades elastoviscosas em alta frequência, resultando aumento de G’ e G”. O comportamento viscoelástico se torna importante pois realça melhores propriedades de aplicação e retenção no local desejado, contribuindo a eficácia terapêutica (SILVA *et al.*, 2020). Nos ensaios *in vivo*, a aplicação do emulgel a 1,0 mg/orelha reduziu o edema de orelhas de camundongos, induzido por óleo de cróton, e da enzima MPO, quando comparado com o C+. Por outro lado, o emulgel aplicado a 0,1 mg/orelha mg não demonstrou redução significativa, sugerindo relação da dose com

o efeito anti-inflamatório. Com exceção da DEX, os demais grupos não reduziram o edema. É sugestivo que a aplicação tópica de emulgel na dose de 1,0 mg/orelha foi eficaz na diminuição da ciclooxigenase 2 (COX-2), responsável pela produção de prostaglandinas que mediam a dor e inflamação (BRUNTON, 2019). No entanto, mais estudos devem ser realizados para avaliação mais detalhada do MIR na ação anti-inflamatória

## CONCLUSÃO

O emulgel termorresponsivo de *β-mirceno* apresentou estabilidade térmica à separação de fases, apresentou características texturais e reológicas desejáveis para aplicações tópicas e conseguiu reduzir o edema e atividade da enzima MPO em camundongos na dose de 1,0 mg/orelha. Todavia, mais estudos são importantes para avaliar outros parâmetros de inflamação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro, à Fundação Araucária, à COMCAP-UEM e à Capes.

## REFERÊNCIAS

BRUNTON, L.L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2019. 1744 p.

DA SILVA, Jéssica Bassi; COOK, Michael Thomas; BRUSCHI, Marcos Luciano. Thermoresponsive systems composed of poloxamer 407 and HPMC or NaCMC: Mechanical, rheological and sol-gel transition analysis. **Carbohydrate polymers**, v. 240, p. 116268, 2020. Disponível em: < https://encurtador.com.br/gE3aO>. Acesso em 16 ago 2024.

FERNANDES, Ariane Stephanie *et al.* The influence of different bioadhesive polymers on physicochemical properties of thermoresponsive emulgels containing Amazonian andiroba oil. **Journal of Molecular Liquids**, v. 365, p. 120102, 2022. Disponível em:< https://encurtador.com.br/uY6eh>. Acesso em 28 ago 2024.

TALAT, Maria *et al.* Emulgel: An effective drug delivery system. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 47, n. 8, 2021. Disponível em: < https://encurtador.com.br/X8L2z>. Acesso em 25 ago 2024.

ZHANG, Kaiwen; XUE, Kun; LOH, Xian Jun. Thermo-responsive hydrogels: from recent progress to biomedical applications. **Gels**, v. 7, n. 3, p. 77, 2021. Disponível em:< https://encurtador.com.br/kHD5V>. Acesso em 28 ago 2024.