AVALIAÇÃO DA ADESIVIDADE, HISTOLOGIA E EFEITOS TERAPÊUTICOS DE EMULGEIS DE D-LIMONENO E BETA-CARIOFILENO

Gabriel de Souza Mussato (PIBIC/CNPq), Jéssica Bassi da Silva (Coorientadora) e Vagner Roberto Batistela (Orientador). E-mail: vrbatistela@uem.br

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

Ciências da Saúde: Farmácia/Farmacotecnia
Palavras-chave: inflamação; terpenos; emulgel

RESUMO

Os terpenos *d*-limoneno (LIM) e beta-cariofileno (BCF) têm sido amplamente estudados quanto às atividades anti-inflamatórias, conforme a literatura recente. Apesar de tal destaque, há poucos estudos sobre suas ações em aplicações tópicas. Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver os emulgeis termorresponsivos EMG-LIM e EMG-BCF, caracterizando-os quanto à sua adesividade, estabilidade e eficácia terapêutica em modelo animal. Inicialmente, as formulações foram avaliadas quanto à estabilidade, por meio de ciclos de gelo-degelo, DLS e potencial zeta; e quanto à sua adesividade, por meio de ensaios de mucoadesão, a 34 °C. Posteriormente, foi avaliada a redução de edema de orelha em modelo *in vivo* com camundongos machos *Swiss*, comparando a ação de emulgeis e dos terpenos em relação aos controles inflamado, não inflamado e dexametasona. Os resultados mostraram que ambos emulgeis são estáveis e mucoadesivos. Além disso, promoveram redução de edema de orelha comparável à dexametasona nos estudos *in vivo*, com ação anti-inflamatória superior aos terpenos, em concordância com as imagens histológicas analisadas. No entanto, a ação do EMG-BCF foi mais potente em relação ao EMG-LIM. Dessa forma, ambas as formulações se apresentam promissoras para a ampliação do arsenal terapêutico para doenças inflamatórias tópicas, com maior destaque para o EMG-BCF.

INTRODUÇÃO

Os terpenos são metabólitos secundários de plantas cujas propriedades terapêuticas têm sido estudadas na literatura recente (RAIMUNDO *et al.*, 2022). Dentre estes, destacam-se o monoterpeno *d*-limoneno (LIM) e o sesquiterpeno beta-cariofileno (BCF), devido às suas potenciais propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (TAFT *et al.*, 2025; BAGHER, 2025). Emulgeis, por sua vez, apresentam-se como um sistema promissor para formulações tópicas, por combinarem os benefícios de emulsões e géis, permitindo a incorporação de agentes lipofílicos em bases aquosas de modo estável (MALI *et al.*, 2025). Apesar do crescente interesse nesses compostos, suas aplicações no tratamento de

inflamações tópicas ainda não estão completamente avaliadas pela literatura. Deste modo, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento e caracterização de emulgeis contendo *d*-limoneno (EMG-LIM) e beta-cariofileno (EMG-BCF), descrevendo parâmetros de estabilidade, adesividade e atividade anti-inflamatória, por meio de estudos *in vivo* em modelo de edema de orelha em camundongos *Swiss*, sendo complementados por análises histológicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o preparo dos emulgeis utilizaram-se os terpenos *d*-limoneno (Quinari, LIM7A2C, pureza: 96,9%, densidade a 20 ºC = 0.841) e beta-cariofileno (Quinari, pureza: 96,4%, densidade a 20 ºC = 0.900), o surfactante Pluronic® F-127 (Sigma-Aldrich, P2443, F-127), o agente espessante Carbopol® 940, e Trietanolamina (TEA) para controle de pH. Para os ensaios *in vivo* utilizou-se como droga de referência a Dexametasona (DEX) e, como agente flogístico, o óleo de cróton (OC, Sigma-Aldrich, C6719).

Inicialmente, foram desenvolvidos os excipientes contendo Pluronic® F-127 e Carbopol® 940. Em seguida, foram preparadas as formulações de EMG-LIM, contendo o *d*-limoneno, e a de EMG-BCF, contendo o beta-cariofileno. O pH dos emulgeis foi neutralizado por TEA. Para o estudo de estabilidade, ambas formulações foram submetidas a ciclos de mudanças de temperatura, conforme as normas da ANVISA (2004), durante 12 dias seguidos, com pequenas adaptações. Por fim, ambos foram submetidos ao teste de centrifugação, a 3000 rpm, por 30 minutos a 5 °C. Das formulações estáveis foram retiradas pequenas alíquotas que foram diluídas em água destilada, na proporção de 1:200, para análises de potencial zeta (ζ) e DLS. A avaliação da mucoadesividade foi realizada para os emulgeis com o texturômetro TA-XTplus da Stable Micro Systems®, a 34 °C.

Para os ensaios *in vivo* foram necessários camundongos machos *Swiss* (CEUA: nº 6449120923), que foram mantidos em biotério para ambientação por, no mínimo, 3 dias, sob condições de temperatura e umidade controladas e regime *ad libitum*. Os animais foram separados em 8 grupos (n = 6), nos quais foram aplicadas as doses nas partes internas das suas orelhas, com os grupos “Controle” (apenas acetona/água), e grupos com os tratamentos com a aplicação de óleo de cróton 10 mg/mL seguido da aplicação de: “C.O.” (solução de acetona/água), “DEX” (dexametasona, 5 mg/mL), “EXC” (a base das formulações, sem terpeno, a 20 mg/orelha), “LIM 1.0 mg” (solução de LIM, 1 mg/20 µL), “BCF 1.0 mg” (solução de BCF, 1 mg/20 µL), “EMG-LIM 20 mg” (emulgel de LIM, 20 mg/orelha) e “EMG-BCF” (emulgel de BCF, 20 mg/orelha). Após a aplicação tópica, aguardou-se 6 h para o pico inflamatório do óleo de cróton. Em seguida, as orelhas foram seccionadas em discos de 6,0 mm de diâmetro e pesadas para avaliação de edema entre os diferentes grupos. Por fim, as orelhas coletadas foram cortadas ao meio com navalha e embebidas em solução de paraformol. Em seguida, foram submetidas ao

processo de desidratação, diafanização, inclusão, microtomia e coloração por hematoxilina e eosina (n = 5 orelhas/grupo), para visualização da espessura epitelial do órgão, por meio do software ImageJ®, adaptando a técnica realizada por WOLFF *et al*., 2023.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As formulações de EMG-LIM e EMG-BCF apresentaram estabilidade frente aos ensaios de resistência a variações de temperatura e centrifugação. Os valores de potencial zeta foram da ordem de -20 a -30 mV para ambos emulgeis. Nos estudos de tamanho com DLS, foram verificados picos de micelas de Pluronic® F-127 com o terpeno em sua porção interna entre 10 e 60 nm, além de bandas que podem estar relacionadas aos demais componentes dos emulgeis, como: o Carbopol® 940, as interações entre as micelas ou ainda uma porção do terpeno que não fora incorporada no surfactante. A propriedade mucoadesiva foi verificada tanto no EXC quanto nos EMG-LIM e EMG-BCF, com semelhança estatística entre os valores de força de destacamento (N) e trabalho de mucoadesão (N.mm) ($p>0.05$).

As análises *in vivo* demonstraram que o EXC, apesar de não possuir terpenos em sua composição, reduziu o edema em 63 %, podendo indicar certa atividade anti-inflamatória por parte de seu constituinte principal, o Pluronic® F-127. O terpeno LIM reduziu o edema de forma equivalente ao EXC enquanto que o BCF reduziu o edema em 87 %. No entanto, a redução do edema foi mais pronunciada com o EMG-LIM e EMG-BCF a cerca de, respectivamente, 83 e 100 %, sendo EMG-BCF de modo equivalente à droga de referência (DEX), apresentando, portanto, maior potência quando comparada ao EMG-LIM.

As análises histológicas confirmaram a atividade antiedematogênica pois houve diminuição da espessura das orelhas tratadas com EMG-LIM (483 µm) e EMG-BCF (429 µm) em relação aos grupos grupo C.O. (783 µm) e EXC (604 µm). Tais valores são muito próximos ao controle não inflamado (418 µm) e à DEX (401 µm). Dessa forma, a utilização dos emulgeis de terpenos, em especial EMG-LIM e EMG-BCF mostra-se como uma tecnologia promissora com potencial efeito anti-inflamatório tópico.

CONCLUSÕES

O EMG-BCF mostrou melhor ação anti-inflamatória tópica do que o EMG-LIM, embora as duas formulações possam ser aplicadas para esta finalidade pois ambas apresentaram resultados promissores quanto a seus aspectos antiedematogênicos. Pelas caracterizações, as formulações apresentaram-se estáveis e mucoadesivas, ampliando as possibilidades de aplicação não apenas para uso tópico, mas também em mucosas como, por exemplo, cavidade oral.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa concedida, ao COMCAP (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa), ao LabINF (Laboratório de Inflamação) e ao grupo de pesquisa Neurogastro.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: ANVISA. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view. Acesso em 25 ago. 2026.

BAGHER, A. M. Intraplantar β-Caryophyllene Alleviates Pain and Inflammation in STZ-Induced Diabetic Peripheral Neuropathy via CB2 Receptor Activation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 9, 4430, 2025.

MALI, A. J. *et al.* Development of novel emulgel comprising quercetin-loaded transferosomes and thuja oil for enhanced anti-inflammatory efficacy. **Next Nanotechnology**, v. 8, 100246, 2025.

RAIMUNDO, V. D.; CARVALHO, R. P. R.; MACHADO-NEVES, M.; MARQUES-DA-SILVA, E. DE A. Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: A systematic review of preclinical evidence. **Pharmacological Research**, v. 177, 106117, 2022.

TAFT, R. D. *et al*. Investigation of the healing effects of D-limonene on ovarian ischemia and reperfusion injury. **Tissue and Cell**, v. 95, 102912, 2025.

WOLFF, K. *et al*. Isothiocyanate-rich moringa seed extract reduces skin inflammation in mouse ear edema model. **Phytomedicine Plus**, v. 3, n. 4, 100479, 2023.