AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTICONVULSIVANTE DE UMA FORMULAÇÃO NANOESTRUTURADA PARA APLICAÇÃO INTRANASAL DE CANABIDIOL

Carlos Denilson Silva Soares (PIBIC/CNPq-FA-UEM), Francielly Fernanda da Silva (Coorientadora), Maria Vitória Gouveia Botan, Marcos Luciano Bruschi, Humberto Milani (Orientador). E-mail: milani@uem.br
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Maringá, PR
Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde / Farmacologia / Neuropsicofarmacologia
Palavras-chave: Epilepsia; Pentilenotetrazol; Canabidiol, Administração nasal

RESUMO

A epilepsia é um distúrbio neurológico crônico que afeta cerca de 1% da população mundial, sendo 30% dos pacientes refratários às terapias convencionais. O canabidiol (CBD) surge como alternativa promissora, mas sua baixa biodisponibilidade oral limita sua utilidade clínica. Este trabalho avaliou o efeito anticonvulsivante de uma formulação nanoestruturada, mucoadesiva e termorresponsiva para administração de canabidiol (CBD-nano) por via nasal (rinário), no modelo de convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ). Camundongos Swiss machos jovens foram distribuídos nos seguintes grupos : Veículos + PTZ, Fenobarbital (PB) + PTZ (controle positive); CBD oral + PTZ, CBD intraperitoneal (i.p.) + PTZ, e CBDnano (nasal) + PTZ. As administrações de veículo, PB ou CBD foram feitas 30 minutos antes da aplicação do PTZ. Após os tratamentos, os seguintes parâmetros forma medidos: A) latência para a primeira convulsão tônico-clônica, B) severidade da convulsão (escala de Racine) e C) número de convulsões. O fenobarbital protegeu completamente contra a convulsão medida pelos três parâmetros ($p < 0.001$-0.01), indicando a sensibilidade do modelo PTZ. O CBD (60 mg/kg) dado por v.o. ou i.p. aumentou a latência em comparação ao veículo do PTZ (salina, $p < 0.01$-0.05). Nenhuma via ou dose de CBD reduziu a severidade (escala de Racini) ou o número de convulsões tônico-clônicas em relação aos seus respectivos veículos (óleo de milho, salina, gel). Os resultados indicam que, nas condições testadas, o CBD não reproduziu o efeito anticonvulsivante do fenobarbital. É possível que o tempo de 30 minutos entre o CBD e o PTZ não tenha sido suficiente para o CBD alcançar uma concentração cerebral eficaz. Um intervalo de 60 minutos será testados em ensaios futuros.

INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma desordem neurológica crônica caracterizada por hiperexcitabilidade neuronal, manifestada por crises recorrentes que afetam aproximadamente 1% da população mundial (LATTANZI et al., 2018). Embora existam diversos fármacos clássicos, cerca de 30% dos pacientes apresentam quadros farmacorresistentes, demandando novas alternativas terapêuticas (LATTANZI et al., 2018; MASCAL et al., 2019). O canabidiol (CBD) tem se destacado por seu potencial anticonvulsivante, mas sua aplicabilidade clínica é limitada por baixa solubilidade aquosa e extenso metabolismo de primeira

passagem, que resultam em biodisponibilidade oral reduzida. A via intranasal (IN) surge como estratégia promissora para contornar essas limitações, permitindo o transporte direto do fármaco ao sistema nervoso central e evitando o metabolismo hepático de primeira passagem, podendo ainda aumentar o tempo de residência do fármaco na mucosa nasal em formulações nanoestruturadas (Wang et al., 2025). Este estudo tem como objetivo avaliar o efeito anticonvulsivante do CBD administrado por via intranasal, em formulação nanoestruturada (CBD-nano), comparativamente às vias oral e intraperitoneal, no modelo de convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais Experimentais

Camundongos Swiss machos jovens (3-4 meses de idade, ~35 g) foram utilizados. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos sob autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Tratamentos

Os camundongos foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos: (1) Veículos + PTZ: (60 mg/kg, i.p.); (2) PTZ + Fenobarbital (PB, 30 mg/kg, i.p., controle positivo) (3) PTZ + CBD oral (60 mg/kg), (4) PTZ + CDB i.p. (60 mg/kg), e (5) PTZ + CDB nasal (1 µL/grama de peso). Para administração nasal, uma micropipeta foi usada para aplicação da solução de CDB-nano no rinário (região globosa e sem pelo do nariz), estando o animal em posição vertical preso em uma das mãos do experimentador. Após a aplicação, o animal foi mantido nesta posição por cerca de 2 minutos. A formulação nanoestruturada, mucoadesiva e termorresponsiva contendo CBD (concentração 8,5 mg/mL) foi desenvolvida pelo Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Sistemas de Liberação de Fármacos (LABSLiF/UEM).

Avaliação Comportamental

Imediatamente após a injeção de PTZ, os animais foram filmados por 20 minutos. Os registros foram analisados para determinar: (A) a latência para o início da primeira crise tônico-clônica generalizada; e (B) a gravidade máxima das crises, graduada pela Escala de Racine com escore de 0 a 5 (0: comportamento normal; 1: espasmos mioclônicos faciais isolados; 2: crises atípicas mínimas ou ondas convulsivas; 3: convulsões com clônus de cabeça e membros anteriores com reflexo de endireitamento presente; 4: convulsões generalizadas maiores sem fase tônica; e 5: crises tônico-clônicas generalizadas completas com perda de reflexo de endireitamento, progredindo para clônus e óbito) (UTTL et al., 2021), e (C) número de convulssões.

Análise Estatística

A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de D'Agostino & Pearson. A comparação estatística das latências comportamentais entre os grupos foi realizada por análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Tukey (dados paramétricos) empregando o software GraphPad Prism 7 e adotando o nível de significância de $p < 0,05$ RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 ilustra os resultados obtidos até o presente. O modelo de convulsão induzida por PTZ foi validado pela comparação entre os grupos veículo (salina oral)

e fenobarbital (PB, controle positivo). O PB aumentou a latência para a primeira convulsão (Fig. A, $p < 0.001$), reduziu o escore de Racini (Fig. B, $p < 0001$), e reduziu o número de convulsões tônico-clônica (Fig. C, $p < 0.001$), confirmando a sensibilidade do modelo a um fármaco anticonvulsivante de referência.

Entre os tratamentos com CBD, a administração oral ou intraperitoneal na dose de 60 mg/kg elevou a latência da primeira convulsão, em comparação ao veículo do PB (salina) (Fig. A, $p < 0.01 – 0.05$). Entretanto, quando comparado aos seus próprios veículos (salina, óleo de milho ou gel-nano, representados como "pool"), o efeito do CBD sobre a latência não foi estatisticamente significativo (Fig. A, $p > 0.05$). Em contraste ao PB, o tratamento oral, i.p. ou nasal com CBD não protegeu contra a severidade da convulsão (Fig. B), e não impediu a ocorrência de convulsões (Fig. C).

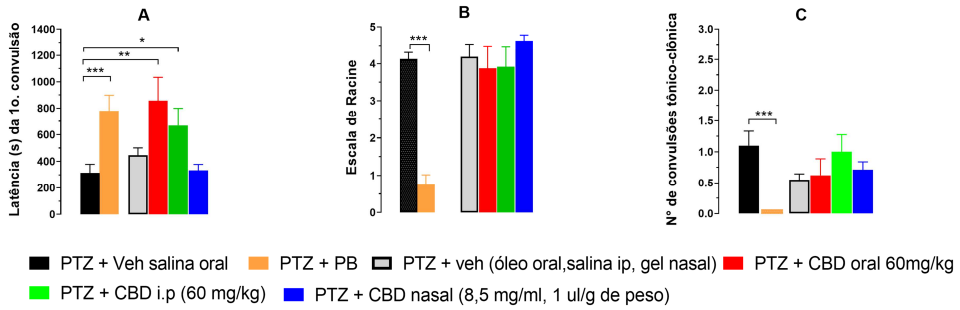


Figura 1 – Efeito do CBD administrado por diferentes vias sobre parâmetros comportamentais da convulsão induzida por PTZ (60 mg/kg, i.p.), 30 minutos após o pré-tratamento com veículo, fenobarbital (PB, 30 mg/kg, v.o.) ou CBD nas vias e doses indicadas. (A) Latência (s) para a primeira convulsão. (B) Escala de Racine. (C) Número de convulsões tônico-clônicas.

A ausência de efeito anticonvulsivante do CBD (60 mg/kg) administrado por via oral ou intraperitoneal frustrou nossas expectativas. Esse resultado negativo pode ser devido ao intervalo de tempo entre as administrações do CBD e PTZ. O intervalo de 30 minutos pode não ter sido suficiente para que o CBD alcançasse o cérebro em concentração eficaz para proteger contra a convulsão induzida pelo PTZ. Um novo experimento será conduzido para testarmos essa hipótese, onde o intervalo de 60 minutos será usado entre a administração do CBD (oral e i.p.) e a aplicação do PTZ (Utll et al., 2021). A ausência de efeitos do CBD oral ou i.p. dificulta a interpretação sobre a ausência de efeitos do CBD dado por via nasal., o que é o foco deste estudo.

CONCLUSÕES

Nas condições avaliadas, o CBD oral ou i.p. (60 mg/kg) aparentemente elevou a latência para a manifestação da primeira convulsão. Não alterou, entretanto, a severidade ou a frequência das convulsões. Estudos posteriores devem avaliar a biodisponibilidade cerebral de CBD e testar um interval de pré-tratamento maior que 30 minutos.

.

AGRADECIMENTOS

O autor expressa seus sinceros agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (FA), à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela concessão de bolsa de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq-FA-UEM) e pelo suporte financeiro e estrutural indispensáveis para a viabilização deste projeto de pesquisa, além do Laboratório de Isquemia Cerebral e Neuroproteção e, principalmente, ao professor Dr. Humberto Milani, por ter aberto as portas do laboratório e permitido eu entrar na pesquisa.

REFERÊNCIAS

LATTANZI, S. et al. Efficacy and Safety of Cannabidiol in Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Drugs**, v. 78, n. 17, p. 1791-1804, 2018.

MASCAL, M. et al. Synthetic, non-intoxicating 8,9-dihydrocannabidiol for the mitigation of seizures. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 7778, 2019.

UTTL, L. et al. Anticonvulsive Effects and Pharmacokinetic Profile of Cannabidiol (CBD) in the Pentylenetetrazol (PTZ) and N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Models of Seizures in Infantile Rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 94, 2021.

WANG, L. et al. Cannabidiol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Nose to Brain Delivery: An Effective Therapeutic Approach against Epilepsy. **Molecular Pharmaceutics**, v. 22, n. 8, p. 4804-4818, 2025.

Formatado: Não Realce

Formatado: Não Realce

Formatado: Não Realce

Formatado: Não Realce