AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE DO LINALOL SOBRE A CITOTOXICIDADE, A QUIMIOTAXIA E A FAGOCITOSE *IN VITRO*

Ulisses Gonçalves Serra Guarrata (PIC), Guilherme Henrique Oliveira Silva, Gabriel Lucas Rodrigues de Melo, Camila Ferreira Amaral Previato (Co-orientadora), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador). E-mail: rkncuman@uem.br

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

Área do Conhecimento (CNPq): Ciências Biológicas / Farmacologia / Farmacologia Geral (2.10.01.00-6)

Palavras-chave: Produtos naturais, Linalol, Inflamação.

RESUMO

A resposta inflamatória é uma defesa do organismo frente a uma injúria e quando alterada evolui para a fase crônica, como ocorre na artrite. O Linalol é um monoterpeno presente em óleos essenciais obtido de várias espécies vegetais e apresenta atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante, dentre outras. Neste trabalho foram avaliados a citotoxicidade do Linalol e seu efeito sobre a migração leucocitária (quimiotaxia) e a fagocitose *in vitro.* Os resultados obtidos indicaram que este terpeno apresenta citotoxicidade reduzida, avaliada pela viabilidade celular. Houve redução da migração leucocitária de 71,27% e 87,16% nas concentrações de 30µg/mL e 90µg/mL de Linalol, respectivamente, quando comparado ao fMLP (10^{-6} M). No ensaio da atividade fagocítica houve a redução de 80,15% e 87,5%, também nas concentrações de 30 e 90 µg/mL de Linalol. Estes resultados indicam um importante efeito de atenuação da citotoxicidade e redução da quimiotaxia e fagocitose, parâmetros importantes sobre o processo inflamatório.

INTRODUÇÃO

O recrutamento massivo e a hiperativação dos leucócitos resultam na liberação descontrolada de mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio e enzimas proteolíticas, exacerbando o dano tecidual e a falência orgânica (ALVES-FILHO et al., 2010). Nesse sentido, o processo inflamatório é importante em diversas enfermidades agudas e crônicas, como a gota, a sepse e a artrite. O impacto negativo dessas condições na qualidade de vida dos pacientes evidencia a necessidade de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Nesse contexto, a resposta inflamatória representa o principal mecanismo fisiopatológico de defesa contra a migração e disseminação bacteriana, operando por meio do recrutamento leucocitário e da liberação de mediadores da resposta inflamatória (ALVES-FILHO et al., 2010).

Produtos naturais e constituintes isolados despertam interesse como fontes de agentes anti-inflamatório. O monoterpeno linalol (3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol), destaca-se por apresentar atividades anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana (SILVA; OLIVEIRA, 2025). Nesta pesquisa foram avaliados: a citotoxicidade do Linalol e seus efeitos *in vitro* sobre a quimiotaxia e a fagocitose celular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem C57BL/6 com peso corporal entre 20g e 30 g. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (UEM) (número do protocolo: 8741190525).

Avaliação da Citotoxicidade in Vitro

O ensaio de MTT foi conduzido conforme Mosmann (1983), com modificações.

Obtenção de Leucócitos

Para a realização dos testes in vitro, os leucócitos foram obtidos da cavidade peritoneal de camundongos machos C57BL/6 4 horas após a injeção de zymosan (1 mg/cavidade, i.p.). As células foram coletadas após lavagem da cavidade peritoneal com 2mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético).

Quimiotaxia de Leucócitos

Os efeitos do Linalol sobre o processo de quimiotaxia foram observados em Câmara de Boyden (BOYDEN, 1962*).*

Atividade Fagocítica de Neutrófilos

Para avaliar os efeitos do Linalol sobre a atividade de fagocitose, leucócitos foram isolados conforme descrito acima. A suspensão de células (2×10^6 células/mL células/mL) foi ressuspendida em meio RPMI 1640 completo, e incubada com as concentrações 3, 10, 30 e 90 µg/ml de Linalol por 30 minutos.

Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (E.P.M.). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey no Graph Pad Prism 5.0®. $P < 0,05$ foi considerado como nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nossos experimentos para avaliação da citotoxicidade utilizando-se o ensaio de MTT, o Linalol não apresentou atividade citotóxica in vitro em nenhuma

concentração testada (3, 10, 30 e 90 µg/mL), e os leucócitos tratados com este terpeno apresentaram viabilidade celular superior a 80%, o que vai de acordo com resultados mostrados por outros estudos (LI et al., 2013).

Diante da relevância dos mediadores inflamatórios e do recrutamento celular, a modulação dos mecanismos inflamatórios surge como estratégia terapêutica para conter danos teciduais. O Linalol apresentou atividade atuante frente ao estímulo com fMLP (Figura 1), nas concentrações de 30 e 90 µg/mL (71,27% e 87,16%, respectivamente). O recrutamento excessivo e descontrolado de leucócitos para os tecidos é um dos principais motores do dano tecidual e da resposta inflamatória exacerbada (ALVES-FILHO et al., 2010). Assim, a redução da migração direcionada, observada nas concentrações de 30µg/mL e 90 μg/mL, sugere uma possível ação associada à sua atividade anti-inflamatória, o que corrobora outros achados da literatura (SILVA; OLIVEIRA, 2025).

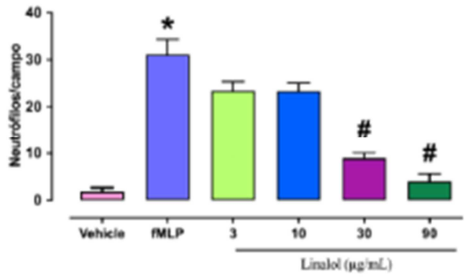


Fig. 1 Efeito do Linalol na quimiotaxia de leucócitos. Leucócitos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos foram tratados com Linalol nas concentrações de 3, 10, 30, 90 µg/mL. *p < 0,05 quando comparado ao RPMI (controle negativo). #p < 0,05 quando comparado ao fMLP (controle positivo). Os dados foram analisados pelo teste de variância ANOVA seguido do teste de Tukey.

Quanto à capacidade fagocítica, houve redução da atividade nos neutrófilos pré-tratados: o Linalol a 30µg/mL e 90 µg/mL reduziu a atividade em 80,15% e 87,5%, respectivamente (Figura 2). Embora a fagocitose seja função efetora essencial do neutrófilo, sua ativação desmedida acarreta extravasamento de enzimas proteolíticas e espécies reativas de oxigênio para o meio extracelular, gerando lesão tecidual (ALVES-FILHO et al., 2010). Isso demonstra a importância do estudo de novos compostos para atuar nas patologias de mecanismo inflamatório, como os monoterpenos (SANTOS *et al.*, 2025).

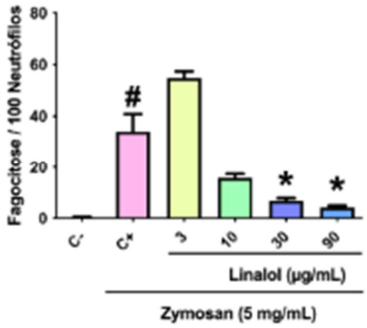


Fig. 2 Efeito do Linalol na atividade fagocítica de neutrófilos. C- e C+ representam controle, sendo C- somente a presença de células e C+ presença de células e Zymosan Opsonizado. Neutrófilos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos foram tratados com Linalol nas concentrações de 3, 10, 30, 90 µg/mL. *p < 0,05 quando comparado ao controle positivo #p.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que o Linalol exerceu uma relevante atividade anti-inflamatória *in vitro*, sendo capaz de reduzir a quimiotaxia e modular a fagocitose de forma eficaz. Apesar dos resultados encontrados nesse estudo preliminar, são necessários mais estudos para investigar o potencial farmacológico do composto.

AGRADECIMENTOS

À UEM, ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Kenji Nakamura Cuman, à Co-Orientadora Ma. Camila Ferreira Amaral Previato e ao Me. Guilherme Henrique Oliveira Silva e colegas pelo apoio durante a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALVES-FILHO, J. C. et al. Regulation of leukocyte migration to the infection site during sepsis. *Trends in Molecular Medicine*, v. 16, n. 4, p. 166-174, 2010

BOYDEN, S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 115, n. 3, p. 453-466, 1962.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

SILVA, A. B.; OLIVEIRA, C. D. Linalool alleviates oxidative stress and inflammatory markers in rats with CFA-induced rheumatoid arthritis. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 68, e25240161, 2025.

SANTOS, E. F. *et al*. Linalool in chronic diseases: A comprehensive review of its pharmacological potential and delivery aspects. Fitoterapia, [S. l.], v. 185, 106123, 2025.