

AVALIAÇÃO DO EFEITOS ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO COMPOSTO 2-FENILTIENO [2,3-b] PIRIDINA *IN VIVO*

CAROLINA C. MARTINS¹; KETLYN P. DA MOTTA²; THIAGO J. PEGLOW³;
RICARDO H. BARTZ⁴, CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL A. WILHELM^{6*}

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – carol_cristovao@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – mottaketlyn@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – thiago_lasol@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – quimricardo20@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

Amplamente distribuídos na natureza, os compostos heterocíclicos apresentam uma versátil aplicabilidade sintética, assim como inúmeras propriedades biológicas e, portanto, tornam-se alvos de estudo na área da química medicinal como protótipo de novos fármacos (MISHRA et al., 2015). Dentro desse contexto, os núcleos piridina e tiofeno destacam-se dentre os heterociclos devido a extensiva aplicação biológica e clínica dos mesmos (KOLAV et al., 2006; REIS et al., 2019).

Somando-se a isso, ambos os núcleos já foram descritos na literatura como possíveis agentes antioxidantes e anti-inflamatórios (PILLAI et al., 2005; HELAL et al., 2015). Uma vez que tanto o estresse oxidativo como a inflamação estão envolvidos na etiologia de inúmeras condições dolorosas, tais propriedades biológicas tornam-se essenciais no planejamento de novos fármacos (VERRI WA Jr. et al., 2006). Portanto, tendo em vista as relevantes ações farmacológicas de tais heterociclos, a fusão dos núcleos piridina e tiofeno pode ser considerada uma promissora abordagem terapêutica diante de condições dolorosas.

Apesar dos diversos fármacos disponíveis comercialmente para o manejo da dor, o uso prolongado dos mesmos apresenta riscos elevados aos pacientes. Nesse contexto, os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) frequentemente prescritos na clínica, além de desencadearem severos efeitos adversos, são incapazes de eliminar completamente a dor (PELLICANO, 2014). Similarmente, os inibidores seletivos da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) estão fortemente associados ao desenvolvimento de problemas cardiovasculares (ONASANWO et al., 2017).

Diante disso, há uma necessidade emergencial no planejamento de novos compostos com propriedades antinociceptiva e anti-inflamatória mais eficientes e seguros no que tange o tratamento de condições dolorosas. Nesse sentido, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado ao estudo da síntese e das ações biológicas de novos compostos, incluindo as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória dos mesmos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar os possíveis efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório *in vivo* de um novo composto derivado dos núcleos tiofeno e piridina, denominado 2-feniltiено [2,3-b] piridina.

2. METODOLOGIA

Síntese do 2-feniltiено [2,3-b] piridina e Comitê de Ética

O composto 2-feniltiено [2,3-b] piridina foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Todos os experimentos envolvendo animais foram realizados conforme as normas da Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 1287-2016 e

1289-2016). Para este trabalho, foram utilizados camundongos machos, adultos, da raça Swiss provenientes do Biotério Central da UFPel.

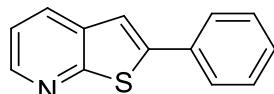


Figura 1: Estrutura química do composto 2-feniltieno [2,3-b] piridina (composto S).

Avaliação do efeito antinociceptivo e anti-inflamatório do composto S:

Neste experimento, foi avaliada a duração do efeito antinociceptivo do composto S. Para isso, foi administrada uma injeção intraplantar (i. pl.) do Completo Adjuvante de Freund (CFA) (1 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis*, 20 µl) e de solução salina 0,9% (20 µl) na pata posterior direita e esquerda dos camundongos, respectivamente. Após 24h, estes animais foram tratados com óleo de canola (10 mg/ml), com o composto S (50 mg/Kg), ou com o meloxicam (50 mg/Kg) pela via intragástrica (i.g.). A duração do efeito antinociceptivo exercida por este composto foi avaliada através do teste do von-Frey nos tempos de 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h e 8h após a realização dos tratamentos. Este teste descrito por BORTOLANZA et al. (2002) determina a hiperalgesia mecânica por meio do limiar de retirada da pata.

Efeito do composto S no edema da pata:

Outro grupo de animais foi exposto às mesmas condições descritas anteriormente para a realização de uma curva de dose. Neste experimento, transcorridas 24h da injeção do CFA e 30 min da administração dos tratamentos com o composto S (1, 10 e 50 mg/kg) ou com o meloxicam (50 mg/kg), os camundongos foram submetidos ao teste do von-Frey. Após a realização do teste comportamental, os animais foram sacrificados e ambas as patas posteriores foram removidas na região da articulação do tornozelo para serem imediatamente pesadas em uma balança analítica. O edema da pata foi quantificado através da diferença entre o peso da pata tratada com CFA e o peso da pata contralateral.

Avaliação do efeito antioxidante do composto S:

Os níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram quantificados na pata dos camundongos 30 min após o tratamento com o composto S (1, 10 e 50 mg/kg) ou com o meloxicam (50 mg/kg). O ensaio do TBARS determina indiretamente os níveis de malondialdeído (MDA), um importante marcador de peroxidação lipídica (OHKAWA et al., 1979). A intensidade da cor foi mensurada à 532 nm e os resultados foram expressos como nmol de MDA/g de tecido.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais tratados com o composto S e com o meloxicam, um medicamento de referência, demonstraram uma redução na hiperalgesia mecânica induzida pelo CFA. Os resultados ilustrados na Figura 2A indicam que o

efeito antinociceptivo exercido pelo composto S tem início cerca de 30 min após a administração do mesmo e persiste significativo por 6h, enquanto que o meloxicam diminuiu significativamente a hipersensibilidade nos animais durante um período de 2h.

Corroborando com estes resultados, a administração do composto S na maior dose testada (50 mg/kg) também foi capaz de reduzir a formação do edema na pata de camundongos induzidos com CFA sugerindo, desta forma, que o mesmo também exerce efeito anti-inflamatório (Figura 2B). Em contrapartida, não houve diferença significativa na formação do edema da pata entre os grupos tratados com CFA e com o meloxicam (50 mg/kg). Além disso, os tratamentos com o meloxicam (50 mg/kg) e com o composto S, em todas as doses testadas, diminuiram os níveis de TBARS na pata dos camundongos tratados com CFA conforme demonstrado na Figura 2C.

Diante de tais evidências, sugere-se que a propriedade antioxidante inerente do composto S contribuiu para reduzir o dano oxidativo presente na pata de camundongos tratados com o CFA. Este mecanismo antioxidante também pode estar envolvido tanto na diminuição do processo inflamatório, representado pela redução na formação do edema, como no efeito antinociceptivo exercido pelo composto S. Somando-se a isso, este composto apresentou efeitos semelhantes quando comparado ao meloxicam e, portanto, pode ser considerado com uma promissora abordagem terapêutica diante de condições dolorosas.

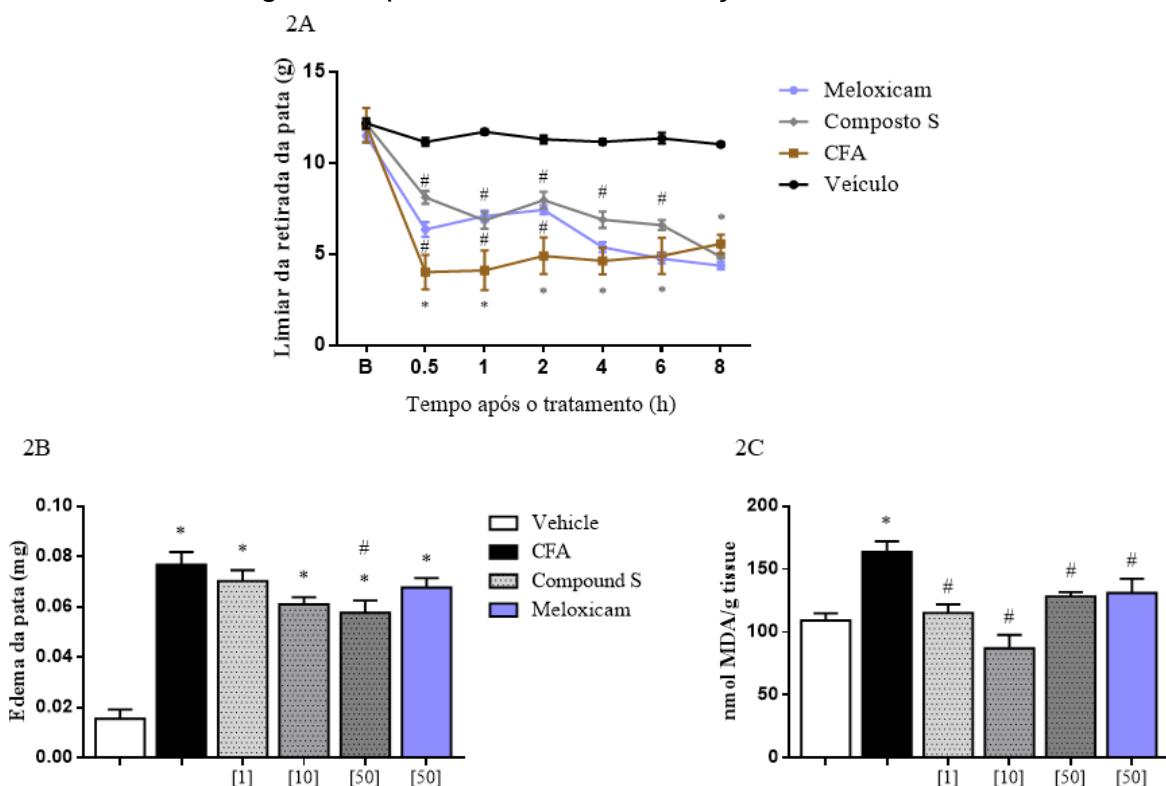


Figura 2: Efeito do composto S (50 mg/kg) na hiperalgesia mecânica (A), no edema da pata (B) e nos níveis de TBARS (C) na pata de camundongos induzidos com CFA. O asterisco (*) $p < 0,05$ denota níveis de significância quando comparados ao grupo controle. A hashtag (#) $p < 0,05$ indica níveis de significância em relação ao grupo CFA. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que o composto S apresentou efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório através da redução da hiperalgesia mecânica e da formação do edema na pata de camundongos tratados com CFA, respectivamente. Além disso, tais efeitos exercidos por este composto parecem ser mediados pela modulação do dano oxidativo. Entretanto, mais estudos são necessários para a melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nos efeitos farmacológicos do composto S.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORTALANZA, L.B.; FERREIRA, J.; HESS, S.C.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Anti-allodynic action of the tormentic acid, a triterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 453, n. 2-3, p. 203-208, 453.
- HELAL, M.H.; EL-AWDAN, S.A.; SALEM, M.A.; ABD-ELAZIZ, T.A.; MOAHAMED, Y.A.; EL-SHERIF, A.A.; MOHAMED, G.A.M. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of novel series of pyridine derivatives as anticancer, anti-inflammatory and analgesic agents. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 764-773, 2015.
- KOLAV, G.; HEGDE, V.; KHAZI, I.; GADAD, P. Synthesis and evaluation of antitubercular activity of imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 9, p. 3069-3080, 2006.
- MISHRA, R.; SHARMA, P.K. A review on synthesis and medicinal importance of thiophene. **International Journal of Engineering and Allied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 46-59, 2015.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipids peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.
- ONASANWO, S.A.; OYEBANJO, O.T.; AJAYI, A.M.; OLUBORI, M.A. Antinociceptive and anti-inflammatory potentials of Vernonia amygdalina leaf extract via reductions of leucocyte migration and lipid peroxidation. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 6, n. 2, p. 192-198, 2017.
- PELLICANO, R. Gastrointestinal damage by non-steroidal anti-inflammatory drugs: updated clinical considerations. **Minerva Gastroenterologica e Dietologica**, v. 60, n. 4, p. 255-261, 2014.
- PILLAI, A.D.; RATHOD, P.D.; XAVIER, F.P.; PAD, H.; SUDARSANAM, V.; VASU, K.K. Tetra substituted thiophenes as anti-inflammatory agents: exploitation of analogue-based drug design. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 24, p. 6685-6692, 2005.
- REIS, A.S.; VOGT, A.G.; PINZ, M.P.; VOSS, G.T.; da FONSECA, C.A.R.; PALTIAN, J.J.; PEGLOW, T.J.; VAUCHER, R.A.; ECHEIQUE, J.V.Z.; SOARES, M.P.; SCHUMACHER, R.F.; PERIN, G.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. Modulation of COX-2, INF- γ , glutamatergic and opioid systems contributes to antinociceptive, anti-inflammatory, and anti-hyperalgesic effects of bis(3-amino-2-pyridine) diselenide. **Chemico-Biological Interactions**, doi: 10.1016/j.cbi.2019.108790, 2019.
- VERRI WA Jr.; CUNHA, T.M.; PARADA, C.A.; POOLE, S.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. Hypnociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.