

EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI-INFLAMATÓRIO DO COMPOSTO 4-(FENILSELANIL)-2H-CHROMEN-2-ONA EM UM MODELO PRÉ-CLÍNICO DE ARTRITE REUMATÓIDE EM CAMUNDONGOS

EUGÊNIA FUHRMANN DA SILVA¹; CAREN RAMSON DA FONSECA²; VINICIUS COSTA PRADO³; LETÍCIA CRUZ⁴; RICARDO FREDERICO SCHUMACHER⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – eugeniafuhrmann14@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carenramson@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vini132007@gmail.com

⁴Universidade Federal de Santa Maria – leticia.cruz@ufsm.br

⁵Universidade Federal de Santa Maria – ricardo.schumacher@ufsm.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide (AR) é uma doença autoimune de ordem crônica, inflamatória e progressiva na qual podem ser observados sintomas como a sinovite, dores intensas nas articulações e deformidades irreversíveis nessas regiões (MUELLER *et al.*, 2021). Considerando que a AR é uma doença que não possui cura e que afeta muitas pessoas, é relevante a pesquisa pré-clínica de novos compostos para o manejo terapêutico da AR.

Nesse contexto, a abordagem terapêutica utilizada atualmente compreende o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, corticóides e anti reumáticos. Apesar de efetivos, esses agentes são acompanhados de efeitos adversos relevantes como, por exemplo, ulcerações, lesões renais e cardiotoxicidade (FREY, 2021). Com o objetivo de prospectar novos compostos com potencial farmacológico para o tratamento da AR, nosso grupo de pesquisa têm dedicado-se a estudar compostos orgânicos de selênio como o composto (4-(fenilselanil)-2H-chromen-2-ona) (4-PSCO). Estudos prévios demonstraram os efeitos anti-inflamatório, antinociceptivo, antioxidante e a ausência de toxicidade do 4-PSCO em camundongos (DA FONSECA *et al.*, 2024). Em conjunto, essas propriedades o qualificam como um potencial agente terapêutico para o tratamento da AR.

Entretanto, apesar de promissor, esse composto apresenta algumas limitações físico-químicas. Para contornar essas limitações, foi desenvolvida uma suspensão de nanocápsulas poliméricas contendo o composto 4-PSCO. Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades terapêuticas do composto 4-PSCO na forma livre e nanoencapsulada em um modelo experimental de AR em camundongos.

2. METODOLOGIA

A suspensão de nanocápsulas contendo o composto 4-PSCO (4-PSCO NC) foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado, utilizando etilcelulose como constituinte da membrana polimérica e triglicerídeos de cadeia média (TCM) como núcleo oleoso. Para fins comparativos, suspensões de nanocápsula sem o composto foram desenvolvidas e denominadas como placebo (NC P). O modelo *in vivo* de AR foi induzido através de uma única administração

de Adjuvante Completo de Freund (CFA). O protocolo experimental teve duração de 16 dias. Camundongos Swiss fêmeas foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos ($n=7$ /grupo): I) Controle; II) Nanocápsula Placebo (NC P); III) 4-PSCO livre; IV) Suspensão de nanocápsula contendo 4-PSCO (4-PSCO NC); V) CFA; VI) CFA + NC P; VII) CFA + 4-PSCO livre, VIII) CFA + 4-PSCO NC). Para a indução de AR (dia experimental 1), os animais dos grupos V, VI, VII e VIII receberam CFA através de uma injeção intraplantar na pata esquerda CFA (0,1 mL) (MAKUCH; WIĘCEK; WOŹNIAK, 2021; BAZAN *et al.*, 2024). Para fins comparativos, os animais dos grupos I, II, III e IV receberam solução salina (0,9%) nas mesmas condições experimentais. A partir do quinto dia do protocolo, o composto 4-PSCO na forma livre (solubilizado em óleo de canola) ou nanoencapsulado foi administrado diariamente na dose de 1 mg/Kg através da via intragástrica (i.g.) até o 15º dia do protocolo experimental. Nos dias experimentais 1, 5, 10 e 15, os animais foram submetidos ao teste de hiperalgesia térmica (Hot Plate) para avaliação da latência de resposta nociceptiva. Além disso, a formação de edema de pata foi monitorado através da medida da circunferência e do diâmetro da pata traseira. No dia experimental 16, os animais foram eutanasiados e as patas foram coletadas para a determinação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPEL (CEUA número: 13049-2021).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

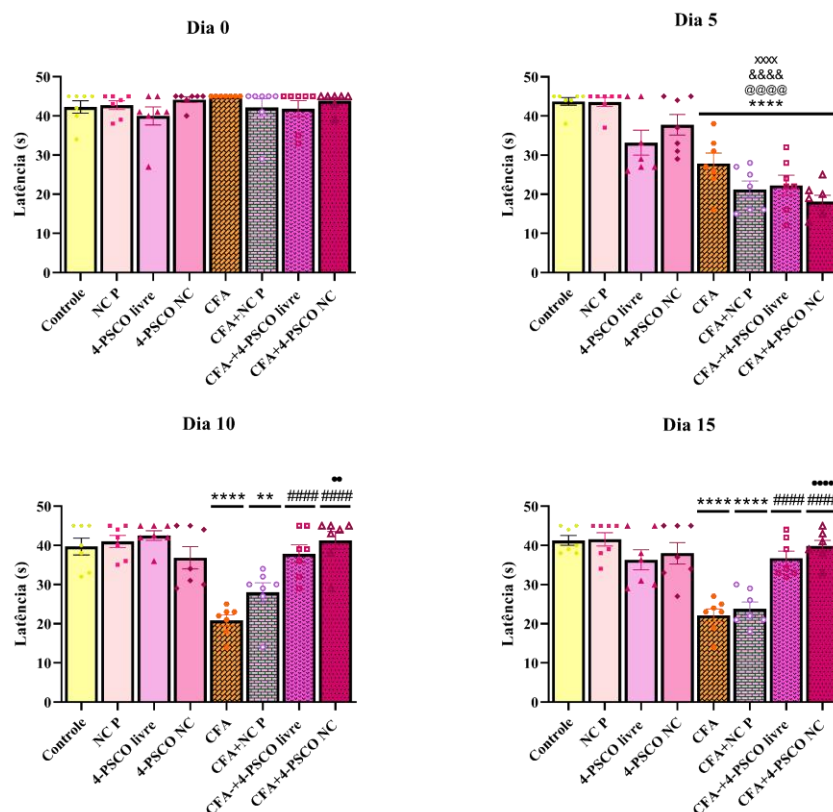


Figura 1. Efeitos do composto 4-PSCO livre ou nanoencapsulado sobre a hiperalgesia térmica em camundongos. $N=7$. (**) $p < 0.01$, e (****) $p < 0.0001$

indicam diferenças significativas em relação ao grupo Controle; (####) $p < 0.0001$ em relação ao grupo CFA; (@@@@) $p < 0.0001$ em relação ao grupo NC P; (&&&&) $p < 0.0001$ em relação ao grupo 4-PSCO livre; (xxxx) $p < 0.0001$ em relação ao grupo 4-PSCO NC; (**) $p < 0.01$ e (***) $p < 0.0001$ em relação ao grupo CFA+NC P (ANOVA de uma via seguida pelo pós teste de Tukey).

Conforme mostra a figura 1, a indução da AR por CFA resultou em uma significativa redução do tempo de latência no teste Hot Plate, estabelecendo um quadro de hiperalgesia térmica em comparação ao grupo controle. O tratamento com o composto 4-PSCO livre foi capaz de atenuar parcialmente a hiperalgesia, promovendo uma redução significativa da nocicepção em relação ao grupo CFA. Contudo, a formulação nanoencapsulada (4-PSCO NC) apresentou uma eficácia superior, elevando o tempo de latência. Além disso, a administração de 4-PSCO NC superou o efeito obtido pelas nanocápsulas placebo, demonstrando o efeito antinociceptivo do composto ativo. Esses achados indicam que a nanoencapsulação do 4-PSCO aumentou a sua biodisponibilidade, reforçando o seu potencial terapêutico em relação à hipersensibilidade térmica associada à AR experimental.

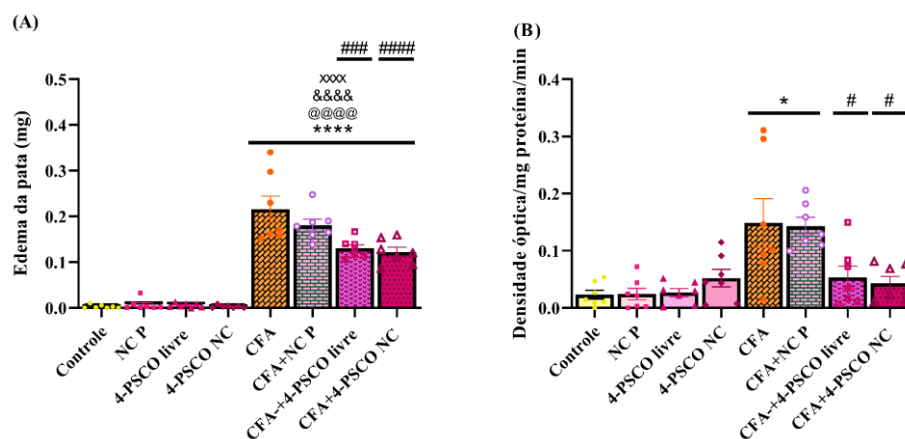


Figura 2. Efeitos do composto 4-PSCO livre e nanoencapsulado sobre o edema de pata (A) e a atividade da enzima mieloperoxidase na pata (MPO). $n=7$. (*) $p < 0.05$, e (****) $p < 0.0001$ indicam diferenças significativas em relação ao grupo Controle; (#) $p < 0.05$, (##) $p < 0.01$, (###) $p < 0.001$ e (####) $p < 0.0001$ em relação ao grupo CFA; (@@@@) $p < 0.0001$ em relação ao grupo NC P; (&&&&) $p < 0.0001$ em relação ao grupo 4-PSCO livre; (xxxx) $p < 0.0001$ em relação ao grupo 4-PSCO NC (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

Na figura 2, a indução de AR por CFA resultou em um aumento do edema de pata e na atividade da mieloperoxidase (MPO) em comparação ao grupo controle. Em conjunto, esses resultados confirmam o estabelecimento de um processo inflamatório no local (DA FONSECA *et al.*, 2024). O tratamento com 4-PSCO na forma livre foi eficaz em reduzir o edema da pata e atenuar o aumento da atividade da enzima MPO. No entanto, esses efeitos foram mais significativos

para os animais que receberam o composto na forma nanoencapsulada, que obteve um melhor desempenho na redução tanto do edema em relação ao grupo CFA e aos grupos tratados com nanocápsulas placebo e 4-PSCO livre, evidenciando um maior desempenho na ação anti-inflamatória com a nanoencapsulação. Esses resultados demonstram que a veiculação do 4-PSCO em nanocápsulas poliméricas manteve o efeito do 4-PSCO em alguns parâmetros e potencializou a sua ação farmacológica em outros, reduzindo a infiltração de neutrófilos e o edema articular associado à AR.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, demonstra-se que o composto 4-PSCO modula a nocicepção e as manifestações inflamatórias no modelo pré-clínico de AR. Apesar dos resultados promissores, mais estudos são necessários para a avaliação de mecanismos de ação envolvidos e avaliação de parâmetros de toxicidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAZAN, H. A. et al. Transcriptomic signature, bioactivity and safety of a non-hepatotoxic analgesic generating AM404 in the midbrain PAG region. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 11103, 2024.

DA FONSECA, C. A. R. et al. 4-(Phenylselanyl)-2H-chromen-2-one-loaded nanocapsule suspension—a promising breakthrough in pain management: comprehensive molecular docking, formulation design, and toxicological and pharmacological assessments in mice. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 2, p. 269, 2024.

FREY, S. H. A. Conventional Disease-Modifying Antirheumatic Drugs for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health: **Canadian Journal of Health Technology Review**, v. 1, n. 5, 2021.

MAKUCH, S.; WIĘCEK, K.; WOŹNIAK, M.. The immunomodulatory and anti-inflammatory effect of curcumin on immune cell populations, cytokines, and in vivo models of rheumatoid arthritis. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 4, p. 309, 2021.

MUELLER, A. et al. Recent advances in understanding the pathogenesis of rheumatoid arthritis: new treatment strategies. **Cells**, v. 10, n. 11, p. 3017, 2021.