



EFEITO DO CANABIDIOL SOBRE A BARREIRA HEMATOENCEFALICA EM CAMUNDONGOS MACHOS SUBMETIDOS A ISQUEMIA CEREBRAL GLOBAL E TRANSITORIA

Maria Clara Splendor¹

Luana Yukari Chinen²

Humberto Milani³

Rubia Maria Weffort de Oliveira³

¹Acadêmico de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Mestre em Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual de Maringá. ³Docente – Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Universidade Estadual de Maringá

Introdução: Isquemia cerebral (IC) é uma das principais causas de morte em todo o mundo. Alguns mecanismos envolvidos na fisiopatologia da IC são a neuroinflamação e a desintegridade da barreira hematoencefálica (BHE). A interrupção do fluxo sanguíneo causa quebra da integridade da BHE, aumento da permeabilidade, edema cerebral, neuroinflamação e dano neuronal. Atualmente existe apenas um fármaco usado no tratamento dos efeitos agudos da isquemia, o ativador do plasminogênio tecidual recombinante (rtPA). O rtPA é aplicável nos casos de isquemias causadas por artérias cerebrais ocluídas por trombos e janela terapêutica de 3 a 4 horas após a ocorrência do evento. Resultados recentes mostraram efeito neuroprotetor para o canabidiol (CBD) em camundongos submetidos a um modelo de isquemia cerebral global e transitória (ICGT). O tratamento destes animais com o CBD (3-30 mg/Kg) melhorou a aprendizagem e a memória e reduziu a neurodegeneração hipocampal. Somado a estes resultados, o CBD aumentou a proliferação celular e a neurogênese no hipocampo daqueles animais. Em outro estudo, administração de CBD

diminuiu a ansiedade e comportamento do tipo-depressivo decorrentes da isquemia cerebral em camundongos. O CBD diminuiu a expressão de marcadores de neuroinflamação no Sistema Nervoso Central (SNC) de animais isquêmicos.

Objetivo: Avaliar os efeitos do CBD na integridade da BHE, estrutura diretamente afetada pela IC e envolvida nas consequências funcionais observadas após o evento.

Material e métodos: Foi realizado um modelo de ICGT pela oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC) em camundongos (C57BL/J) e analisado o extravasamento do corante Evans Blue (CEUA N° 7995230420).

Resultados: O CBD atenuou a interrupção da BHE nos animais machos OBACC no tempo de 24 horas (10 mg/kg) comparado com animal falso operado ($p < 0,05$).

Conclusão: Os efeitos protetores do CBD contra a quebra da BHE induzida pela OBACC envolvem a preservação da integridade da BHE.

Palavras-chave: isquemia cerebral; barreira hematoencefálica; canabidiol.

Financiador (es): CAPES





Referencias

Mori MA, Meyer E, Soares LM, Milani H, Guimarães FS, de Oliveira RMW. Cannabidiol reduces neuroinflammation and promotes neuroplasticity and functional recovery after brain ischemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017 Apr 3;75:94-105..

Mori MA, Meyer E, da Silva FF, Milani H, Guimarães FS, Oliveira RMW. Differential contribution of CB1, CB2, 5-HT1A, and PPAR- γ receptors to cannabidiol effects on ischemia-induced emotional and cognitive impairments. *Eur J Neurosci*. 2021 Mar;53(6):1738-51.

Meyer E, Bonato JM, Mori MA, Mattos BA, Guimarães FS, Milani H, et al. Cannabidiol Confers Neuroprotection in Rats in a Model of Transient Global Cerebral Ischemia: Impact of Hippocampal Synaptic Neuroplasticity. *Mol Neurobiol*. 2021 Oct;58(10):5338-55.





DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO SIMPLES E RÁPIDO PARA A QUANTIFICAÇÃO DA GABAPENTINA POR CLAE/UV-VIS

Gustavo Finatti Sakamoto¹
Nathalia Aiko Kawamura²
Victor Nery Machado Lippa³
João Marcos Barbosa Piai³
Fernanda Belincanta Borghi Pangoni⁴
Andréa Diniz⁴

¹Acadêmico de Pós-Graduação (Doutorado) em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacocinética e Biofarmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Acadêmica de Graduação em Farmácia, Laboratório de Farmacocinética e Biofarmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ³Acadêmico de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacocinética e Biofarmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ⁴Docente – Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacocinética e Biofarmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR

Introdução: Predições da performance *in vivo* de fármacos a partir de dados *in vitro* encontram-se no centro do paradigma rumo à implementação de estratégias de modelagem e simulação na indústria farmacêutica, e a utilização de meios biorrelevantes em ensaios de solubilidade desempenha um papel pivotal neste cenário.

Objetivo: Desenvolver e validar um método em CLAE/UV-Vis para quantificar a gabapentina (GBP) em ensaios de solubilidade.

Material e métodos: O padrão analítico da GBP (pureza $\geq 99,4\%$) foi fornecido pela empresa Prati-Donaduzzi (Toledo, Paraná, BR). Os solventes utilizados foram água ultrapura, acetonitrila e ácido trifluoracético (Merck KGaA[®], Darmstadt, DE). As soluções-padrão de GBP (0,20-2,00 mg/mL) foram preparadas em água com 0,05% de ácido trifluoracético (pH 2,4):acetonitrila (86:14 v/v) (fase móvel). As análises foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu[®] LC-20A Prominence (Tóquio, JP) utilizando uma coluna Phenomenex Gemini[®] C18 (150 x 4,6 mm, 3 μ m) (Torrance, CA, EUA),

eluição isocrática, fluxo de 1,0 mL/min, temperatura da coluna em 30 °C, volume de injeção igual a 20 μ L e $\lambda = 210$ nm. Os meios farmacopeicos e biorrelevantes foram preparados de acordo com a Farmacopeia Brasileira e com base no estudo de Jantratid et al., respectivamente.

Resultados: O método foi linear na faixa de 0,20-2,00 mg/mL de GBP ($\rho \geq 0,9994$ e $R^2 \geq 0,9988$) e mostrou a equação da regressão linear $y = 796616x + 7923,4$. O método demonstrou ser seletivo, preciso, exato (intra- e inter-corridas) e robusto frente a pequenas variações na temperatura da coluna ($27,7 \pm 0,3$ °C).

Conclusão: Um método simples e rápido para a quantificação da GBP sem derivatização por CLAE/UV-Vis foi desenvolvido e validado para analisar amostras de estudos de solubilidade.

Palavras-chave: gabapentina; solubilidade; clae/uv-vis.

Financiador(es): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).





Referências

Kostewicz ES, Aarons L, Bergstrand M, Bolger MB, Galetin A, Hatley O, et al. PBPK models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. *Eur J Pharm Sci.* 2014; 57:300-21.

Caleffi-Marchesini ER, Borghi-Pangoni FB, Macente J, Chiamulera-Mantovani P, Mazucheli J, Cristofolletti R, et al. Exploring *in vitro* solubility of lamotrigine in physiologically mimetic conditions to prospect the *in vivo* dissolution in pediatric population. *Biopharm Drug Dispos.* 2023; 44(2):147-56.

Dressman JB, Vertzoni M, Goumas K, Reppas C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007; 59(7):591-602.

Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. 6. ed. vol. 1. 2019;1:1-904.

Jantratid E, Janssen N, Reppas C, Dressman JB. Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update. *Pharm Res.* 2008; 25(7):1663-76.





CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE SOLUBILIDADE DA MOLÉCULA LMM6 EM DIFERENTES MEIOS

João Marcos Barbosa Piai¹
Victor Nery Machado Lipa¹
Gustavo Finatti Sakoto²
Andrea Diniz³

¹Acadêmico de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Acadêmico de Pós-Graduação (Doutorado) em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ³Docente – Departamento de Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR

Introdução: Infecções fúngicas representam um desafio crescente na prática clínica devido à sua alta incidência e à resistência antifúngica. O derivado LMM6 demonstrou em estudos prévios promissora atividade antifúngica, devido a incorporação do grupo 4-fluorofenil no carbono 5 do anel oxadiazólico. O trabalho desenvolvido resalta a importância da caracterização de parâmetros físico-químicos na formulação de fármacos e propõe uma análise biofarmacêutica referente a solubilidade da LMM6 em diferentes meios.

Objetivo: O estudo desenvolvido busca avaliar a característica de solubilidade termodinâmica em meios farmacopeicos aquosos e biorrelevantes.

Material e métodos: Foi validada uma metodologia cromatográfica para HPLC visando a quantificação da LMM6, seguindo padrões da ANVISA e da Agência de Medicamentos Europeia. Parâmetros como adequabilidade do sistema, especificidade, linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação foram avaliados. Para a avaliação da solubilidade termodinâmica, empregou-se a técnica *shake-flask* com agitador orbital a 37°C por 24 horas, seguido de centrifugação a 12.000 rpm por 10 minutos. A leitura foi realizada em

um HPLC Shimadzu Prominence-i LC-2030C *photodiode array detector* (PAD), abrangendo quatro meios farmacopeicos e três biorrelevantes.

Resultados: Os valores de solubilidade termodinâmica da LMM6 variaram nos diferentes meios: $4,94 \pm 0,06$ µg/mL no meio HCl (pH 1,2); $2,95 \pm 0,06$ µg/mL no tampão fosfato (pH 7,4); $1,84 \pm 0,02$ µg/mL no meio tampão acetato (pH 4,5); $2,93 \pm 0,04$ µg/mL em H₂O (pH 5,94); $12,95 \pm 0,34$ µg/mL no meio FASSGF (pH 1,6); $3,80 \pm 0,07$ µg/mL no meio FASSIF (pH 6,5); e $5,13 \pm 0,16$ µg/mL no meio FESSIF (pH 6,5).

Conclusão: A avaliação da solubilidade termodinâmica da molécula LMM6 indica baixa solubilidade, independente do pH. Portanto, o desenvolvimento de uma formulação potencial deve levar em conta esses fatores, e estratégias farmacotécnicas podem ser exploradas para aumentar a solubilidade.

Palavras-chave: estudo biofarmacêutico; solubilidade; meios biorrelevantes.

Financiador (es): Este estudo foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes – Brasília, Brasil) e FAPDF 00193-00001743/2022-64.





Referências

Revankar, S.G. An overview of fungal infections. MSD Manuals abr 2023. Available from: <https://www.msmanuals.com/home/infections/fungal-infections/overview-of-fungal-infections>.

Faria, D. R., et al. Fungicidal Activity of a Safe 1,3,4-Oxadiazole Derivative Against *Candida albicans*. *Pathogens*. Mar 2021; 10(3): 314. Available from: <https://doi.org/10.3390/pathogens10030314>.

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada- RDC n. 166. de 24 de julho de 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pdf.

Veseli A, Žakelj S, Kristl A. A review of methods for solubility determination in biopharmaceutical drug characterization. *Drug Dev Ind Pharm*. 2019 Nov;45(11):1717-24.





VALIDAÇÃO DE MODELO EXPERIMENTAL DE EPILEPSIA INDUZIDA COM PENTILENOTETRAZOL PELOS MÉTODOS AGUDO E CRÔNICO DE ADMINISTRAÇÃO EM CAMUNDONGOS

Luís Fernando Fernandes Miranda¹
José Guilherme Pinhatti Carrasco¹
Humberto Milani²
Cristiano Correia Bacarin²

¹ Acadêmico de Graduação em Medicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ² Docente – Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Universidade Estadual de Maringá

Introdução: A epilepsia é caracterizada por episódios recorrentes de crises convulsivas não provocadas, ocorrendo devido à hiperestimulação aberrante dos neurônios. Apesar de vários fármacos estarem disponíveis, nenhum se mostra eficaz em tratar a causa da patologia, agindo apenas nas crises. Com isso, é importante validar modelos animais para estudo de substâncias com propriedades antiepilépticas.

Objetivo: Validar modelos experimentais animais de epilepsia com a utilização do pentilenotetrazol (PTZ).

Material e métodos: Foram utilizados camundongos Swiss machos. Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA (nº 3935250722). O estudo foi dividido em dois experimentos com base na dose e periodicidade da administração do PTZ. No experimento 1, os animais receberam dose única de PTZ 60 mg/kg por via intraperitoneal. No experimento 2, receberam doses, durante 21 dias em dias alternados, de PTZ 30 e 35 mg/kg. Foi administrado veículo (Vei) ou fenobarbital (PB, 30 mg/kg) via oral 30 minutos antes do PTZ. A resposta

comportamental foi registrada em vídeo durante 20 minutos após administração do PTZ. Os parâmetros observados foram: latência para os primeiros sinais de convulsão, latência para convulsão tônico-clônica e severidade da crise (escala de Racine).

Resultados: No experimento I, o grupo PTZ + Vei apresentou diferenças estatísticas em comparação ao PTZ + FB em todos os parâmetros analisados ($p < 0,01$; e $p < 0,0001$). No experimento II, não houve diferença entre os grupos PTZ + Vei e PTZ + FB com a dose de PTZ 30 mg/kg. No entanto, houve diferença entre o grupo PTZ + Vei e PTZ + PB na latência para a convulsão tônico-clônica ($p < 0,05$) e na escala de Racine ($p < 0,01$) ao longo dos 21 dias, com a dose de PTZ 35 mg/kg.

Conclusão: Tanto a administração aguda quanto a crônica do PTZ apresentaram-se positivas para futura utilização de modelos experimentais animais de epilepsia.

Palavras-chave: pentilenotetrazol; modelo experimental; epilepsia.





Referências

- Dhir A. Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Curr Protoc Neurosci*. 2012;Chapter 9:Unit9.37.
- Leite JP, Garcia-Cairasco N, Cavalheiro EA. New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Research*. 2002 Jun; 50(1-2):93–103.
- Morel G, Chiavellini P, Canatelli-Mallat M, Lehmann M, Goya R. Therapeutic potential of glial cell line-derived neurotrophic factor and cell reprogramming for hippocampal-related neurological disorders. *Neural Regeneration Research*. 2022; 17(3):469.
- Vilela LR, Medeiros DC, Rezende GHS, de Oliveira ACP, Moraes MFD, Moreira FA. Effects of cannabinoids and endocannabinoid hydrolysis inhibition on pentylentetrazole-induced seizure and electroencephalographic activity in rats. *Epilepsy Research*. 2013 May; 104(3):195–202.





LAMOTRIGINE DOSE ADJUSTMENT IN CHILDREN USING MODEL-INFORMED PRECISION DOSING (MIPD)

Edilainy Rizzieri Caleffi-Marchesini¹
Julia Macente²
Priscila de Freitas Lima³
Rafaela Moreno⁴
Fernanda Belincanta Borghi-Pangoni⁵
Rodrigo Cristofolletti⁶
Andréa Diniz⁵

¹Posdoctoral researcher in Pharmaceutical Science, State University of Maringá, Maringá/PR, Brazil. ²PhD student in Drug delivery and Disposition, KU Leuven, Belgium. ³Graduate student, Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁴Professor, Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁵Professor, Department of Pharmacy, State University of Maringá, Maringá/PR, Brazil. ⁶Professor, Center for Pharmacometrics & Systems Pharmacology, University of Florida, Orlando, FL, USA.

Introduction: Epilepsy is a disease that affects around 50 million people worldwide, including the youngest children. Therapeutic options for these populations are limited. One drug approved for pediatric use is lamotrigine (LTG) which is indicated for children between 2-12 y/o with other antiepileptics. Despite the dose interval indications shown in the literature and given by official guidelines, it is known that the prescriber often makes the adjustment by assessing the patient's response to treatment. In this sense, recently, a new tool called Model-informed precision dosing (MIPD) has been discussed. MIPD is one application of the Physiologically-based pharmacokinetic model (PBPK), used to optimize and individualize doses and could be a tool for dose adjustment of LTG in pediatrics.

Objective: Considering the empirical way of adjusting the LTG dosage for pediatric population, the aim of this study was to evaluate the safest dosage regimens for each age group using MIPD.

Material and methods: An adult LTG PBPK model was developed using GastroPlus™ software. It

Acknowledgement: Simulations Plus (Lancaster, USA) for the academic license of the GastroPlus™ Software.

was verified and extrapolated to pediatrics. Doses of 5 and 15 mg/kg/day, and 200 mg (2) were simulated under the following conditions: once a day (OD), twice a day (BID), and three times a day (TID). Following, pharmacokinetics (PK) parameters C_{max} and C_{trough} were analyzed.

Results: The simulated PK parameters for pediatrics (2-6 y/o) showed that the LTG safest administration regimen should be between 5-15 mg/kg/day BID or TID. On the other hand, for older children (7-12 y/o), the usual doses for adults (single dose of 200 mg OD or BID, limited to 400 mg/day) could get a safe plasma concentration.

Conclusion: Thus, from LTG MIPD it can be predicted that younger children (2-6 y/o) should have the dose adjusted for weight, while older children (7-12 y/o) can safely receive similar doses to adults.

Keywords: lamotrigine; pediatrics; pharmacokinetics.

Funding statement: Coordination of Superior Level Staff Improvement (CAPES) Araucaria Foundation and Paraná State.





References

Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475–82. GlaxoSmithKline. Lamictal® Tablets Prescribing Information. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.319, de 25 de novembro de 2013 - Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Epilepsia. [Internet]. Brasília/DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde; 2013. Available from: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/fevereiro/07/pcdt-epilepsia-2013.pdf>

Pérez-Blanco JS, Lanao JM. Model-Informed Precision Dosing (MIPD). *Pharmaceutics*. 2022 Dec 6;14(12):2731.





MÉTODO HPLC PARA QUANTIFICAÇÃO DA RUTINA, AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE E TESTES DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE RUTINA: DISCUSSÃO DOS DADOS

Victor Nery Machado Lippa¹
Julia Marques Piton Paes Oliveira²
Giovanna Suematsu de Aquino²
Andrea Diniz³
Fernanda Belincanta Borghi-Pangoni³

¹Acadêmico de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Acadêmico de Graduação, Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ³Docente – Departamento de Farmácia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR

Introdução: A Rutina (RU) é um flavonoide com propriedades antioxidantes, antitumorais, anti-inflamatória e vasoprotetora. Por conta de sua baixa solubilidade aquosa, formulações contendo RU para administração por via oral são desafiadoras. **Objetivo:** Avaliar a solubilidade termodinâmica da RU em diferentes meios e construir perfis de dissolução como ferramentas para o desenvolvimento farmacotécnico.

Material e métodos: Uma metodologia cromatográfica (HPLC) capaz de quantificar a RU foi validada de acordo com os parâmetros preconizados pela ANVISA, farmacopeia americana e guias da agência de medicamentos europeia. Foram avaliados os parâmetros de adequabilidade do sistema, linearidade, sensibilidade, especificidade, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez da metodologia. O método de *Shake-flask* foi utilizado para avaliação da solubilidade termodinâmica de dois meios biorrelevantes e dois meios farmacopeicos preparados de acordo com a literatura. O perfil de dissolução de

cápsulas de RU adquiridas comercialmente em Maringá foi feito para dois meios distintos, solução HCl e tampão fosfato, empregando um aparato do tipo cesto, numa cuba de 900 mL em banho de 37 °C e rotação de 100 rpm durante 45 minutos, tendo sido feitas 5 coletas. **Resultados:** A solubilidade termodinâmica da RU para os diferentes meios foi definida como: 139,82 ± 36,62 µg/mL para o meio HCl, 63,33 ± 3,62 µg/mL para o tampão fosfato, 59,27 ± 1,73 µg/mL para o meio ácido FaSSGF e 69,09 ± 1,16 µg/mL para o FaSSIF. O perfil de dissolução demonstrou um resultado baixo com apenas cerca de 20% da massa total sendo dissolvida no tempo do experimento. **Conclusão:** A união dos resultados observados para o perfil de dissolução da RU com a caracterização da solubilidade termodinâmica da mesma fornece dados importantes para a necessidade de explorar novos tipos de formulação.

Palavras-chave: solubilidade termodinâmica; Rutina; dissolução.

Referências

Prasad R, Prasad SB. A review on the chemistry and biological properties of Rutin, a promising nutraceutical agent. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019;5(S1):1-20. Doi: 10.31024/ajpp.2019.5.s1.1

Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada-RDC N.166. 24 jul. 2017. Disponível em:

https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sauolegis/anvisa/2017/rdc0166_24_07_2017.pdf

Veseli A, Zakelj, Kristl A. A review of methods for solubility determination in biopharmaceutical drug characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2019 Sep 12;45(11):1717-24.





EFEITO DOSE-DEPENDENTE DO CANABIGEROL SOBRE A QUEBRA DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA INDUZIDA POR ISQUEMIA CEREBRAL EM CAMUNDONGOS

José Guilherme Pinhatti Carrasco¹
Luis Fernando Fernandes Miranda¹
Rúbia Maria Monteiro Weffort²
Humberto Milani²
Cristiano Correia Bacarin²

¹Acadêmico de Medicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Docente – Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Universidade Estadual de Maringá

Introdução: Estudos com o canabigerol (CBG) vem apresentando resultados promissores para o tratamento de doenças neurodegenerativas. Entretanto, ainda pouco se sabe sobre os efeitos do CBG na isquemia cerebral (IC), caracterizada por diversos mecanismos fisiopatológicos, como a quebra da barreira hematoencefálica (BHE), os quais resultam em neurodegeneração e déficit cognitivo.

Objetivo: Avaliar o efeito de diferentes doses do CBG sobre quebra da BHE em camundongos submetidos a IC.

Material e Métodos: Camundongos C57BL/6 machos foram submetidos à IC através da oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC) por 20 minutos. Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA (nº 4320080223). Os animais do grupo sham foram expostos ao mesmo procedimento, mas sem oclusão. A quebra da BHE foi avaliada 2 e 7 dias após a OBACC e o efeito do CBG foi testado no dia 7, uma vez que a quebra da BHE foi mais

expressiva nesse momento. O veículo ou CBG, nas doses de 5 e 10 mg/kg, (intraperitoneal), foram administrados 1 h após OBACC, sendo mantido uma dose diária por 7 dias. Oito horas antes da eutanásia e extração dos cérebros, foi injetado azul de Evans 2% (AE; 4 mL/kg, intraperitoneal). O extravasamento do AE foi medido em microplacas através do aparelho Asys Expert Plus a 620 nm .

Resultados: Houve aumento estatisticamente significativo no extravasamento do AE 7 dias após a OBACC em comparação ao grupo sham ($p < 0,00001$). Ademais, a quebra da BHE foi prevenida pelo CBG no grupo tratado com 5 mg/kg ($p < 0,0001$), mas não no grupo tratado com 10 mg/kg ($p > 0,05$).

Conclusão: O CBG demonstrou um efeito protetor sobre a quebra da BHE após IC apenas na dose 5 mg/kg, sugerindo que com doses maiores este efeito pode ser perdido.

Palavras-chave: isquemia cerebral; canabigerol; barreira hematoencefálica.

Referências

Granja AG, Carrillo-Salinas F, Pagani A, Gómez-Cañas M, Negri R, Navarrete C, et al. A Cannabigerol Quinone Alleviates Neuroinflammation in a Chronic Model of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2012 Sep 14; 7(4):1002–16.

Mammana S, Cavalli E, Gugliandolo A, Silvestro S, Pollastro F, Bramanti P, et al. Could the Combination of Two Non-Psychotropic Cannabinoids Counteract Neuroinflammation? Effectiveness of Cannabidiol Associated with Cannabigerol. *Medicina*. 2019 Nov 18; 55(11):747.

Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The Science of Stroke: Mechanisms in Search of Treatments. *Neuron*. 2010 Jul; 67(2):181–98.





BEHAVIORAL AND HISTOLOGICAL EFFECTS OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF PROPOLIS IN MICE WITH BILATERAL COMMON CAROTID ARTERIES OCCLUSION

Gabriella Candido¹
Nathália Akemi Kohara¹
Carolina de Alencar Tedardi²
Pablo Pompeu Quini²
Marcos Luciano Bruschi⁴
Humberto Milani³
Rúbia Maria Weffort de Oliveira³.

¹Postgraduate student (Master), Laboratory of Pharmacology and Therapeutics, State University of Maringá. ²Under graduated student of the State University of Maringá. ³Professor - Laboratory of Pharmacology and Therapeutics, State University of Maringá. ⁴Professor - Laboratory of Research and Development of Drug Delivery Systems.

Introduction: Extracts of propolis have shown anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective activities. However, the extracts present low solubility that can impair their pharmacokinetics and pharmacological effects. Currently, the poloxamer 188 (P188) has been used as vehicle. The P188 forms a dispersion with the hydroalcoholic extract of propolis (HEP) (i.e., the P188/HEP).

Aim: This study aimed to investigate the effects of subacute or late treatment with P188/HEP in mice with bilateral occlusion of the common carotid arteries (BCCAO).

Methods: The procedures were approved by the Ethical Committee of the State University of Maringá (CEUA nº 3943160921). Male C57BL/6 mice were subjected to BCCAO, 20 minutes. Animals received P188 or P188/HEP 50, 100, or 150 mg/kg (7 days, start 1h after BCCAO). Another group of animals received same treatment (start in day 3 to day 15 after BCCAO), by gavage. The animals were evaluated in the open field (OF) and elevated zero maze (EZM) tests, day 7, and the tail suspension test (TST), day 15. The animals' brains were removed and

the effects of P188/HEP on neuroinflammatory markers were evaluated using immunohistochemistry to detect Iba-1. Data were analyzed by ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test.

Results: The subacute treatment with P188/HEP 150 mg/kg resulted in an increase in the time spent in the open arms of the EZM in BCCAO mice, indicating the anxiolytic-like effects. P188/HEP 150 mg/kg also decreased despairs-like behaviors of ischemic mice, indicated by an increase in the latency and a decrease in the immobility time in the TST. Furthermore, P188/HEP 100 mg/kg attenuated neuroinflammation in the hippocampus of the BCCAO animals. The late treatment with P188/HEP produced no significant behavioral effects in mice with BCCAO.

Conclusion: These findings suggest that subacute treatment with P188/HEP may exert protective mechanisms, improved functional recovery and decreased neuroinflammation in ischemic mice.

Keywords: Hydroalcoholic extract of propolis; Bilateral common carotid arteries occlusion; Neuroinflammation.

Sponsors: CAPES, CNPq





References

Bazmandegan G, Boroushaki MT, Shamsizadeh A, Ayoobi F, Hakimizadeh E, Allahtavakoli M. Brown propolis attenuates cerebral ischemia-induced oxidative damage via affecting antioxidant enzyme system in mice. *Biomed Pharmacother.* 2017 Jan;85:503-10

Chen WN, Shaikh MF, Bhuvanendran S, Date A, Ansari MT, Radhakrishnan AK, et al. Poloxamer 188 (P188), A Potential Polymeric Protective Agent for Central Nervous System Disorders: A Systematic Review. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(4):799-808.





COMPORTAMENTO DO TIPO ANSIOSO EM RESPOSTA AO ESTRESSE JUVENIL É SEXO E ESPÉCIE DEPENDENTE

Letícia Alexandrino Barilli¹
Gustavo Henrique Pereira²
Mariana Dalban³
Silvana Regina de Melo⁴

¹Acadêmico de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR. ²Acadêmico de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá. ³Acadêmica de Graduação em Psicologia, Universidade Estadual de Maringá

⁴Docente – Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá.

Introdução: A idade de exposição ao estresse é relevante para as respostas neuroplásticas e no período da infância e adolescência a plasticidade cerebral é máxima, sendo considerado crítico para o neurodesenvolvimento. No entanto, os efeitos variam, podendo ser prejudiciais, inócuos e até provocar adaptação positiva, considerada como resiliência.

Objetivo: Verificar os efeitos do estresse de isolamento social (EIS) e imobilização (EI) no comportamento do tipo ansioso em modelos animais.

Material e métodos: Procedimentos aprovados pelo CEUA (128.125.072-2 e 963.923.112-1). Foram utilizados 55 ratos Wistar e 92 camundongos C57/BL6 (machos e fêmeas) provenientes de fêmeas prenhas do biotério central da UEM, e mantidos em condições padrão. Os animais foram distribuídos nos grupos: Controle C (mantidos agrupados), Estresse de Imobilização (EI) colocados por 2h/dia em tubos cilíndricos que impedia a movimentação, Estresse de Isolamento Social (EIS) mantidos individualmente em caixas padrão, isolados do contato físico e social 24h/dia. Ambos os modelos de estresse foram durante 15 dias (P21-P35). Aos 36 dias de idade, os animais foram

submetidos aos testes do Campo Aberto (CA) e Labirinto em Cruz elevado (LCE) respectivamente, intercalados por 24h, para avaliação do comportamento tipo-ansioso. Análise estatística realizada com *Two-Way* ANOVA e *post-hoc* de Tukey $p < 0,005$.

Resultados: Ratos machos e fêmeas de ambos os grupos EI e EIS não tiveram alteração no CA. Os camundongos EI machos apresentaram maior número de entradas no centro, sendo tempo e distância no centro inalterado. No teste do LCE, ratas EIS apresentaram maior índice de ansiedade e menor tempo no braço aberto. Enquanto em camundongos fêmeas EI notou-se efeito contrário, pois houve diminuição do índice de ansiedade no LCE.

Conclusão: Os resultados demonstram que as duas espécies respondem diferentemente ao mesmo contexto, submetidos a mesma idade. O IS causou prejuízos às ratas, enquanto que nos camundongos houve resiliência com redução do índice de ansiedade.

Palavras-chave: Isolamento social; Imobilização; Ansiedade.

Financiador (es): Fundação Araucária e Capes/CNPq.





Referências

Stylianakis AA, Harmon-Jones SK, Richardson R, Baker KD. Differences in the persistence of spatial memory deficits induced by a chronic stressor in adolescents compared to juveniles. *Dev Psychobiol.* 2018 Nov; 60(7):805-813.

McCormick CM, Mathews IZ. HPA function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enduring consequences of exposure to stressors. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007 Feb;86(2):220-33.

De Melo SR, de David Antoniazzi CT, Hossain S, Kolb B. Neonatal Stress Has a Long-Lasting Sex-Dependent Effect on Anxiety-Like Behavior and Neuronal Morphology in the Prefrontal Cortex and Hippocampus. *Dev Neurosci.* 2018; 40(2):93-103.

