

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO COMPOSTO 2,4 DIFENIL-QUINOLINA

VANESSA DUARTE GONÇALVES DA SILVA¹; MÁRCIA JUCIELE DA ROCHA²;
ANDRÉ LUIZ STEIN³; GILSON ZENI³; CRISTIANE LUCHESE⁴; ETHEL ANTUNES
WILHELM⁵

¹ Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) - vanessa_dgs@hotmail.com

² Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) - marcajar_15@hotmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria

⁴Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN), Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br

⁵Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN), Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas, tendo importantes funções biológicas, como por exemplo, na fagocitose. Por outro lado, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que controla e restabelece o equilíbrio.

A elevada produção de EROS, bem como o seu acúmulo, resultam no estresse oxidativo. O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre o sistema pró-oxidante e antioxidante, causando danos no organismo. Há evidências de que o estresse oxidativo está envolvido nos processos de envelhecimento e morte celular, com consequências diretas em muitos processos patológicos e na fisiopatologia de doenças crônicas (HAO et al., 2014).

A fim de combater as EROS, o organismo apresenta mecanismos de defesa antioxidante que retardam ou previnem a oxidação de lipídios ou outras biomoléculas. Estas defesas atuam inibindo a iniciação e/ou a propagação da reação de oxidação em cadeia, prevenindo ou reparando os danos ocasionados às células pelas EROS.

Nesse contexto, o potencial farmacológico de grande parte dos derivados quinolínicos está diretamente relacionado ao seu efeito antioxidante (RAYNES et al., 1996). Além disso, estes compostos não são tóxicos para os seres humanos em absorção oral e inalação. Há relatos quanto as suas propriedades anti-malária, microbicida, anti-inflamatória e analgésica (MARELLA et al., 2013).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antioxidante do composto 2,4-difenil-quinolina (Figura 1).

2. METODOLOGIA

2.1. Composto

O 2,4-difenil-quinolina foi sintetizado no Laboratório de Síntese, Reatividade e Avaliação Farmacológica e Toxicológica de Organocalcogênios da Universidade Federal de Santa Maria.

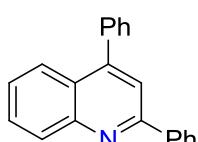


Figura 1: Estrutura química do composto 2,4- difenil-quinolina.

2.2. Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O ensaio avalia o potencial inibitório do composto (1, 10, 50 e 100 μ M) contra a peroxidação lipídica induzida pelo nitroprussiato de sódio (NPS). Para a realização desse ensaio, foram utilizados cérebros e fígados de camundongos machos Swiss. Os tecidos foram homogeneizados com Tris HCl 50 mM, pH 7,4 e centrifugados a 900xg. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio do TBARS. Nessa reação o malondialdeído (MDA) se liga ao ácido triobarbitúrico (TBA) formando o complexo MDA-TBA, em meio ácido, determinado espectrofotometricamente à 532 nm (OHKAWA, 1979). Os resultados foram expressos como porcentagem do induzido.

2.3. Atividade *scavenger* do radical 2,2'-azinobis-(ácido 3-etylbenzotiazolina-6sulfônico) (ABTS) e do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O ensaio foi realizado para verificar a atividade *scavenger* do composto (1, 10, 50 e 100 μ M) sobre o radical ABTS (RE et al., 1999) ou DPPH (CHOI et al., 2002). Os resultados foram expressos em porcentagem do branco (controle). O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo (50 μ M). Leituras foram determinadas espectrofotometricamente em 734 nm para o ABTS e 517 nm para o DPPH.

2.4. Atividade mimética da Glutationa S-Transferase (GST)

A atividade da GST pode ser mimetizada por compostos sintéticos através da reação de conjugação do 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) com a glutationa reduzida (GSH), produzindo uma coloração amarela, a qual é mensurada durante três minutos em uma absorbância de 340 nm (HABIG, 1974). O composto foi utilizado nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 μ M. Os resultados foram expressos em Δ absorbância/min.

2.5. Atividade mimética das enzimas tiol peroxidase/oxidase

O sistema tiol peroxidase/oxidase determina a redução do ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (DTNB) a tionitrobenzenato (TNB). A concentração de TNB formado, a partir da reação de grupos tiois (-SH) com DTNB, foi determinada espectrofotometricamente a 412 nm. A tiol peroxidase determina capacidade do composto em reduzir os grupos -SH, no caso a GSH, na presença de H_2O_2 . A tiol oxidase mensura a capacidade do composto em oxidar os grupos -SH sem a presença de H_2O_2 , indicando assim uma possível toxicidade do composto (ELMANN, 1959). As concentrações do composto utilizadas foram de 1, 10, 50 e 100 μ M. As medidas deste ensaio foram realizadas após 2 h de incubação a 37°C. Os resultados foram expressos em porcentagem de GSH.

2.6. Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os resultados foram analisados utilizando ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado, considerando $p < 0,05$ estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Figura 2A demonstraram que o composto 2,4-difenil-quinolina reduziu os níveis de TBARS induzidos por NPS no fígado dos animais na concentração de 100 μ M. Na Figura 2B pode-se observar que o composto não reduziu a peroxidação lipídica no cérebro dos camundongos em nenhuma das concentrações testadas. Através desses resultados, pode-se notar

que o efeito antioxidante do composto 2,4- difenil-quinolina é dependente do tecido analisado.

Para determinar o mecanismo pelo qual esse composto apresenta ação antioxidante foram realizadas: as atividades *scavenger* de radicais DPPH e ABTS, e o efeito mimético das enzimas GST e tiol peroxidase. As Figuras 3A e 3B mostram os resultados da atividade *scavenger* de radicais ABTS e DPPH, respectivamente. Em nenhuma das concentrações testadas, o composto 2,4-difenil-quinolina demonstrou efeito *scavenger* desses radicais, enquanto o controle positivo (50 μ M) apresentou efeito (Figuras 3A e 3B, respectivamente). Além disso, o composto 2,4-difenil-quinolina não apresentou efeito mimético das enzimas tiol peroxidase (Figura 4A) e GST (Figura 5). Baseado nesses resultados pode-se descartar que esses mecanismos poderiam estar envolvidos no efeito antioxidante do composto, demonstrado pela redução da peroxidação lipídica no fígado dos camundongos.

O efeito mimético da enzima tiol oxidase serve para estudar a capacidade do composto em oxidar os grupos -SH, que são importantes para o bom funcionamento de diversas enzimas. Este teste é utilizado para demonstrar a toxicidade do composto. A Figura 4B mostra que o composto não apresentou atividade mimética da enzima tiol oxidase, demonstrando que não é capaz de oxidar grupos -SH nas concentrações testadas.

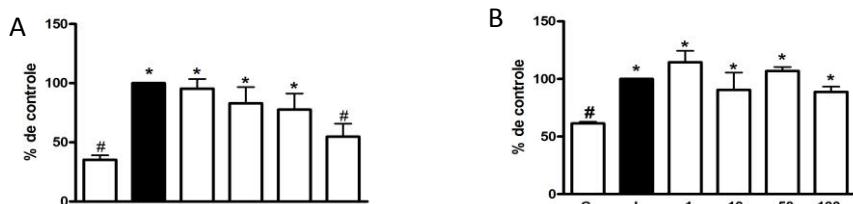


Figura 2: Efeito do composto 2,4- difenil-quinolina nos níveis de TBARS induzido por nitroprussiato de sódio no fígado (A) e no cérebro (B) dos camundongos. (#) $p < 0,05$ quando comparado com o induzido (I); (*) $p < 0,05$ quando comparado com o controle (C).

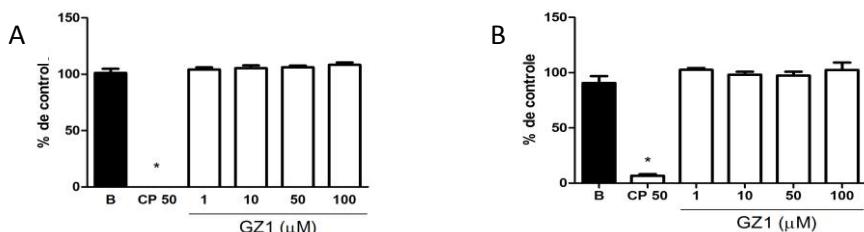


Figura 3: Efeito *scavenger* do composto 2,4- difenil-quinolina nos radicais ABTS (A) e DPPH (B). (*) $p < 0,05$ quando comparado com o branco (B).

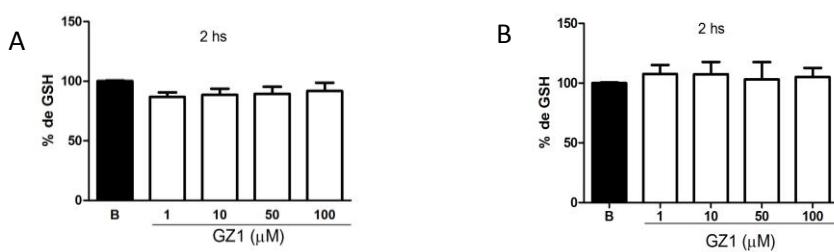


Figura 4: Atividade mimética das enzimas tiol peroxidase(A)/oxidase(B) pelo composto 2,4- difenil-quinolina.

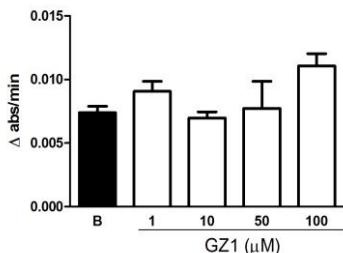


Figura 5: Atividade mimética da GST pelo composto 2,4- difenil-quinolina.

4. CONCLUSÕES

O 2,4-difenil-quinolina apresentou efeito antioxidante no fígado dos camundongos. Porém, a ação *scavenger* de radicais DPPH e ABTS, assim como o efeito mimético das enzimas GST e tiol peroxidase não são os mecanismos envolvidos no efeito antioxidante do composto. Além disso, o 2,4-difenil-quinolina não apresentou toxicidade em oxidar grupos -SH.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHOI, C. W. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay – guided comparasion. **Plant Science**, Daejeon, p. 1161-1168, 2002.

ELMANN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry Biofisics**, Seul, v. 82, p.70-77, 1959.

HAO, L.; HUANG, H.; GAO, J.; MARSHALL, C., CHEN, Y.; XIAO, M. The influence of gender, age and treatment time on brain oxidative stress and memory impairment induced by D-galactose in mice. **Neuroscience Letters**, New Haven, v. 571, p. 45-49, 2014.

HABIG, H.; PABST, J.; JAKOBY, B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 249, p. 7130-7139, 1974.

MARELLA, A.; TANWAR, O.; SAHA, R.; ALI, M.; SRIVASTAVA, S.; AKHTER, M.; SHAQUIQUZZAMAN, M.; ALAM, M. Quinoline: A versatile heterocyclic. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v.21, p. 1–12, 2013.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, 1979.

RAYNES, K.; FOLEY, M.; TILLEY, L.; DEADY, L. Novel bisquinoline antimalarials: synthesis, antimalarial activity na The *pfmdr1* gene of *Plasmodium falciparum* confers cellular resistance to antimalarial drugs in yeast cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of América**, Washington, v.93, p. 9942–9947, 1999.

RE, R.; PELLEGRINI, N. PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology Medice**, p. 1231-1237, 1999.