

## 7-CLORO-4-(FENILSELENO) QUINOLINA PROTEGE CONTRA O ESTRESSE OXIDATIVO CEREBRAL INDUZIDO POR NITROPRUSSIATO DE SÓDIO

ANE GABRIELA VOGT<sup>1</sup>; ANGÉLICA DOS REIS SCHIAVON<sup>2</sup>; GUILHERME TEIXEIRA VOSS<sup>3</sup>; DIEGO ALVES<sup>4</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>5</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – aneg.vogt@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – ge\_schiavon@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – gui\_voss@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – dsalves@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (coorientadora)

<sup>6</sup>Cristiane Luchese – cristiane\_luchese@yahoo.com.br (orientadora)

### 1. INTRODUÇÃO

O metabolismo celular produz continuamente espécies reativas (ER) através da respiração e outras atividades metabólicas. O desequilíbrio entre os sistemas de defesa antioxidante e uma elevada produção de ER resulta no estresse oxidativo. Esse quadro de estresse oxidativo pode causar danos a todas as estruturas celulares, incluindo o DNA, os lipídios e as proteínas. Além disso, o estresse oxidativo está envolvido na patogênese de diversas doenças e processos neurodegenerativos, tais como demência, inflamação, envelhecimento, entre outras (HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2007).

Com a intenção de evitar os danos relacionados com o estresse oxidativo, numerosos compostos estão sendo sintetizados. O estudo de novos compostos derivados de quinolinas com potencial antioxidante pode representar uma alternativa terapêutica para controlar o dano oxidativo cerebral. Neste contexto, nosso grupo de pesquisa tem intensificado o estudo das propriedades farmacológicas de compostos derivados de quinolinas (PINZ et al., 2016; WILHELM et al., 2014).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito antioxidante de 7-cloro-4-fenilseleno quinolina (4PSQ) no dano oxidativo cerebral induzido por nitroprussiato de sódio (NPS) em camundongos.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Animais

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPel (1287-2016). Foram utilizados camundongos machos da linhagem Swiss (25-35g), mantidos em condições adequadas (ciclo claro/escuro de 12 h, temperatura de 22 ± 2°C e com livre acesso a água e comida).

#### 2.2. Composto

O 4PSQ (Fig. 1) foi sintetizado e caracterizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPel, de acordo com metodologia previamente descrita (SAVEGNAGO et al., 2013). O composto foi dissolvido em óleo de canola.

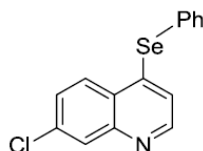


FIGURA 1. Estrutura química de 4-PSQ

### 2.3. Protocolo experimental

Os camundongos foram divididos em 4 grupos (n=8/cada) (TABELA 1). O óleo de canola (10 mg/mL) ou o 4PSQ (50 mg/Kg) foram administrados pela via oral. Trinta minutos após os tratamentos, os animais receberam uma injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de salina 0,9 % (2 µl) ou NPS 0,335 µmol (2 µl, diluído em salina 0,9 %). Para a realização das injeções i.c.v., os animais foram anestesiados com isoflurano (0.08-1.5%). Após 1 hora da administração de NPS ou salina, os cérebros (sem o cerebelo) dos animais foram removidos e homogeneizados (1:5) para as dosagens de níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de tióis não proteicos (NPSH), de proteína carbonila, bem como para a determinação das atividades das enzimas  $\delta$ -aminolevulinato desidratase ( $\delta$ -ALA-D), catalase e glutathione S-transferase (GST).

TABELA 1. Protocolo de tratamento.

Grupos	Tratamento
I (controle)	Óleo de canola + Salina
II (4PSQ)	Composto + Salina
III (NPS)	Óleo de canola + NPS
IV (NPS + 4PSQ)	Composto + NPS

### 2.4. Dosagens Bioquímicas

#### - Níveis de TBARS:

Este parâmetro foi utilizado como medida da peroxidação lipídica e a metodologia utilizada foi conforme descrito por OHKAWA et al. (1979).

#### - Conteúdo de proteína carbonila:

O teor de carbonila foi determinado por um método baseado na reação de proteína carbonila com dinitrofenilidrazina (DNPH) formando dinitrofenilidrazona (REZNICK; PACKER, 1994).

#### - Níveis de NPSH:

A determinação dos níveis de NPSH foram realizados como descrito por ELLMAN (1959).

#### - Atividade de enzimas antioxidantes:

A atividade da GST foi determinada utilizando 1-cloro-2-4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato (HABIG et al., 1974). A atividade da catalase foi determinada monitorando o desaparecimento do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> conforme metodologia descrita por AEBI (1984).

#### - Atividade da $\delta$ -ALA- D:

A atividade da enzima foi determinada de acordo com método descrito por SASSA (1982).

### 2.5. Análise estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão. A análise estatística foi realizada utilizando uma análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido por Newman-Keuls. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o NPS aumentou os níveis de TBARS e a carbonilação de proteínas no cérebro dos camundongos (FIGURAS 2A e 2B, respectivamente). O tratamento com o 4-PSQ foi capaz de proteger parcialmente e completamente contra o aumento dos níveis de TBARS e a carbonilação de proteínas causado pelo NPS, respectivamente. Estes resultados demonstram que

este composto foi capaz de proteger contra a oxidação de lipídeos e proteínas cerebrais.

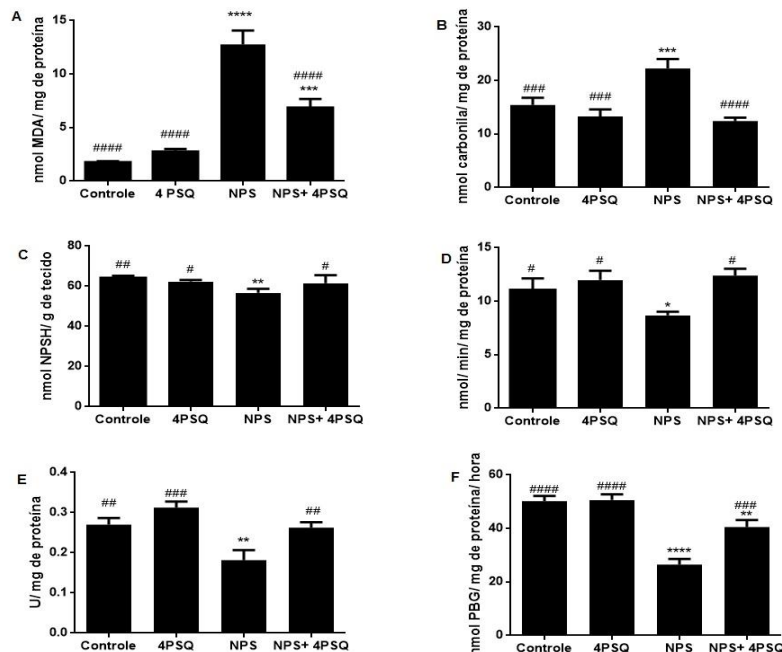


FIGURA 2. Efeito protetor de 4PSQ nos níveis de TBARS (A), carbonilação de proteínas (B), níveis de NPSH (C), atividades das enzimas GST (D), catalase (E) e  $\delta$ -ALA-D (F), alterados pelo NPS no cérebro de camundongos. Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão. Os dados foram analisados usando análise de variância seguida pelo teste de Newman-Keuls. (\*) (\*\*) (\*\*\*) e (\*\*\*\*) indicam  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente, em relação ao grupo controle; (#) (##) (###) e (####) indicam  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente, em relação ao grupo NPS.

A figura 2C apresenta os resultados dos níveis de NPSH no cérebro dos camundongos. A injeção de NPS reduziu os níveis de NPSH cerebrais, enquanto o tratamento com o 4PSQ foi capaz de proteger contra a redução nos níveis dessa defesa antioxidante não-enzimática (FIGURA 2C).

Em relação as defesas antioxidantes enzimáticas investigadas neste estudo, os resultados demonstram que o NPS inibiu a atividade das enzimas GST e catalase no cérebro dos animais (FIGURAS 2D e 2E, respectivamente). O tratamento com 4PSQ restaurou a atividade destas enzimas antioxidantes no cérebro dos camundongos (FIGURAS 2D e 2E).

A figura 2F apresenta os resultados da atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D. O NPS inibiu a atividade da  $\delta$ -ALA-D no cérebro de camundongos e o tratamento com 4PSQ restaurou parcialmente a atividade da enzima (FIGURA 2F). A inibição da atividade da  $\delta$ -ALA-D pelo NPS poderia estar relacionada com o aumento do dano oxidativo cerebral. Evidências indicaram que a  $\delta$ -ALA-D é uma enzima extremamente sensível a situações associadas com o estresse oxidativo em diferentes tecidos de roedores (LUCHESE et al., 2007; NOGUEIRA et al., 2004).

#### 4. CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou que o 4PSQ protege contra o dano oxidativo cerebral induzido pelo NPS em camundongos, evidenciando o efeito antioxidante deste composto.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro, **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126, 1984.
- ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry Biophysics**, v. 82, p. 70– 77, 1959.
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY W. B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, **Journal of Biological Chemistry**, v. 249 , n. 22, p. 7130- 7139, 1974.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, JMC. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford/UK: Clarendon Press, Oxford Science Publications, 2007.
- LUCHESI, C.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.T.; NOGUEIRA, C.W.; SANTOS, F.W. Cadmium inhibits  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase from rat lung in vitro: interaction with chelating and antioxidant agents. **Chemico-Biological Interactions**, v.165, p. 127–137, 2007.
- NOGUEIRA, C. W.; ZENI G.; ROCHA J. B. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chemical Review**, v. 104, p. 6255– 6285, 2004.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.
- PINZ, M.; REIS, A.; DUARTE, V.; ROCHA, M. J.; GOLDANI, B.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal of Pharmacology**, v. 780, p. 122–128, 2016.
- REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 357–363, 1994.
- SASSA, S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. **Enzyme**, v. 28, p. 133– 145, 1982.
- SAVEGNAGO, L.; VIEIRA, A.I.; SEUS, N.; GOLDANI, B.S.; CASTRO, M.R.; LENARDÃO, E. J.; ALVES, D. Synthesis and antioxidant properties of novel quinoline– chalcogenium compounds. **Tetrahedron Letter**, v. 54, p. 40–44, 2013.
- WILHELM, E. A.; MACHADO, N. C.; PEDROSO, A. B.; GOLDANI, B. S.; SEUS, N.; MOURA, S.; SAVEGNAGO, L.; JACOB, R.G.; ALVES, D. Organocatalytic synthesis and evaluation of 7-chloroquinoline-1,2,3-triazolylcarboxamides as potential anti-nociceptive, anti-inflammatory and anticonvulsant agent. **RSC Advances**, v. 04, p. 41437–41445, 2014.