

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE 2-FENIL-3-(FENILTIO) INDOLIZINA E DERIVADOS SUBSTITUÍDOS NA REDUÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA INDUZIDA POR NITROPRUSSIATO DE SÓDIO

CLEISSON SCHOSSLER GARCIA<sup>1</sup>; FILIPE PENTEADO<sup>2</sup>; CAROLINE SIGNORINI GOMES<sup>2</sup>; ÉDER JOÃO LENARDÃO<sup>2</sup>; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO<sup>1</sup>; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – [cleissonschossler@gmail.com](mailto:cleissonschossler@gmail.com); [cabruning@yahoo.com.br](mailto:cabruning@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), Universidade Federal de Pelotas.

### 1. INTRODUÇÃO

Doenças neurodegenerativas e neuropsiquiátricas estão intimamente relacionadas aos processos de formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, dentre outras disfunções no organismo (PÔRTO, 2001). Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das espécies reativas, sendo a membrana um dos mais atingidos em decorrência da lipoperoxidação, que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas celulares (MELLO FILHO *et al.*, 1983), assim, ocorrendo a perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, além da formação de produtos citotóxicos (como o malondialdeído), resultando na morte celular (HERSHKO, C., 1989). Segundo OBOH e HELEN (1999) o cérebro é um órgão vulnerável à peroxidação lipídica, pois demanda de uma grande quantidade de oxigênio e é rico em ácidos graxos poli-insaturados altamente peroxidáveis, ademais, sua capacidade antioxidante é limitada.

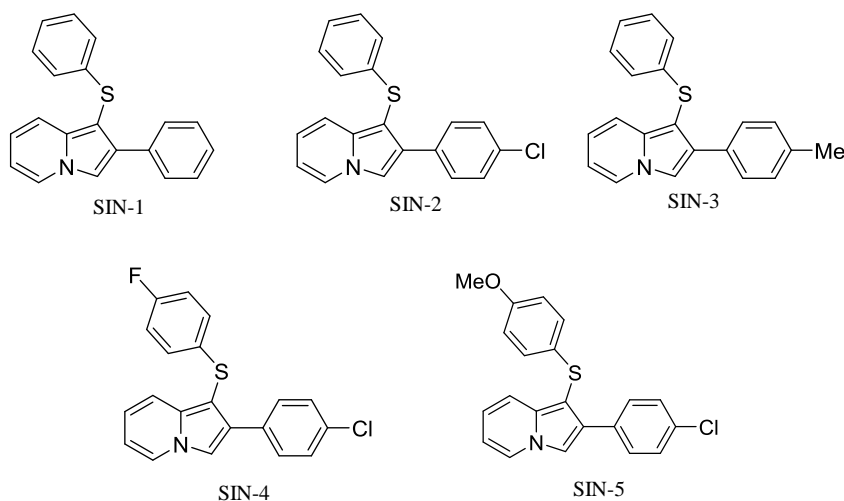
As espécies reativas são fundamentais para o funcionamento do metabolismo de maneira regular, no entanto seu excesso pode ser nocivo, podendo ocasionar a instalação do estresse oxidativo. Este processo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses (BARBOSA, K.B.F. *et al.* 2010). O estresse oxidativo está associado à patogênese de diversas doenças, como aterosclerose, doença de Parkinson e doença de Alzheimer (MEDEIROS, M.S., 2014).

Compostos químicos contendo o núcleo indolizínico têm recebido bastante atenção e são alvos de estudos devido às suas atividades farmacológicas. Alguns compostos dessa classe apresentam atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, dentre outras (SHARMA, V.; KUMAR, V., 2014). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante *in vitro* de um grupo de compostos sintéticos da classe das tioindolizinas (2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN) e derivados substituídos (Fig. 1)) na peroxidação lipídica em homogenizado de cérebro de camundongos.

### 2. METODOLOGIA

A síntese da 2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN1) e dos derivados substituídos (SIN2-5) foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). O ensaio utilizado foi o método espectrofotométrico de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), descrito por OHKAWA *et al.* (1979). Os animais foram obtidos no Biotério Central

da UFPel e foram utilizados de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFPel (CEEA 12231-2019).



**Figura 1.** Estrutura química da 2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN1) e derivados substituídos (SIN2-5).

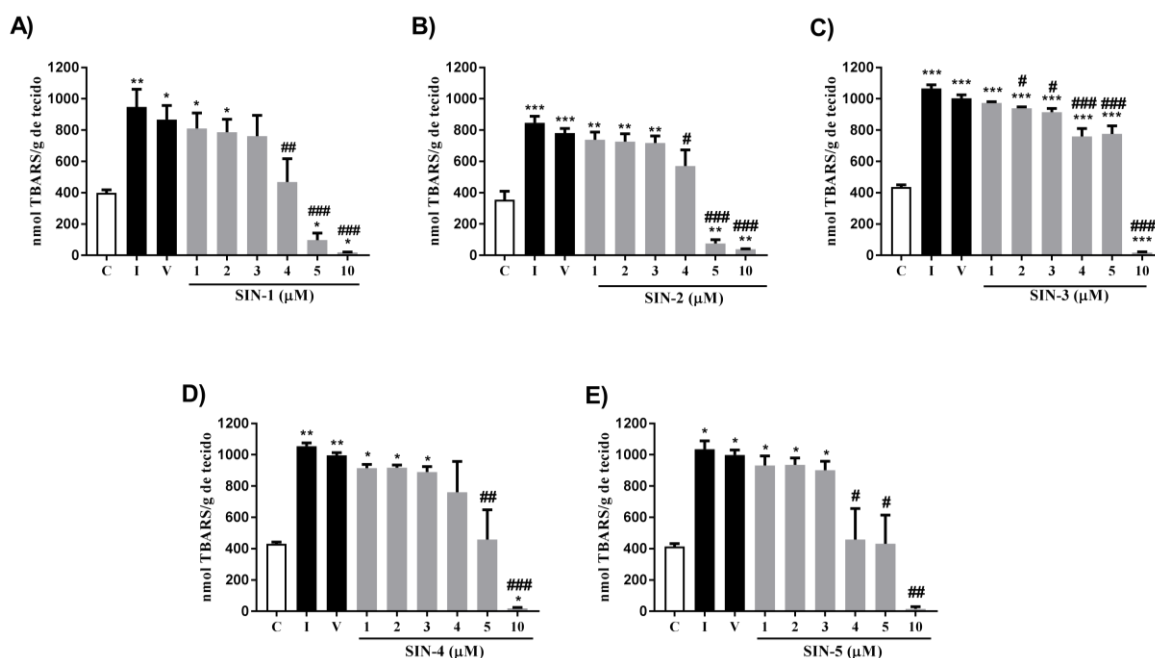
Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e testados nas concentrações de 1 à 10  $\mu\text{M}$ . O nitroprussiato de sódio (NPS) foi utilizado como indutor da peroxidação lipídica. O homogenato de cérebro de camundongo foi utilizado como fonte de lipídeos peroxidáveis. O tecido foi homogeneizado em tampão Tris-HCl 50 mM pH 7.4 numa proporção de 1:10 (peso:volume). Posteriormente, foi submetido à centrifugação e o sobrenadante foi adicionado em um meio contendo água milli-Q, tampão Tris-HCl 50 mM pH 7.4 e NPS. O NPS não foi adicionado no grupo controle. Além disso, os grupos veículo e composto receberam 10  $\mu\text{l}$  de DMSO e 10  $\mu\text{l}$  do composto a ser testado em diferentes concentrações, respectivamente. Em seguida, houve a incubação a 37 °C pelo período de 1 hora. Após, foi adicionado ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.8%, tampão ácido acético e dodecil sulfato de sódio (SDS). Sucessivamente à incubação de 95 °C pelo período de 1 hora houve a leitura em espectrofotômetro (532nm).

A análise estatística foi realizada por ANOVA unidirecional seguido pelo *post hoc* de Newman-Keuls. Os dados foram expressos como nmol de TBARS/g de tecido. Valores de  $p < 0,05$ , foram considerados significativamente diferentes. A inibição máxima ( $I_{\text{máx}}$ ) foi calculada na concentração mais efetiva utilizada.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O NPS aumentou os níveis de peroxidação lipídica, e todos os compostos reduziram os níveis da mesma quando comparados ao grupo veículo (Fig. 2). Os compostos SIN-1, SIN-2 e SIN-5 apresentaram efeito antioxidante a partir da concentração de 4  $\mu\text{M}$ , quando comparados ao grupo veículo (Fig. 2A e 2E). O composto SIN-3 apresentou efeito antioxidante a partir da concentração de 2  $\mu\text{M}$ , e o composto SIN-4 apresentou o mesmo efeito a partir da concentração de 5  $\mu\text{M}$ , quando comparados ao grupo veículo (Fig. 2C e 2D). Interessantemente, em determinadas concentrações, a maioria dos compostos testados reduziu significativamente o nível de peroxidação lipídica além do nível do grupo controle,

conforme demonstrado na figura 2. Os valores de  $I_{\text{máx}}$  de cada molécula SIN foram similares e estão demonstrados na tabela 1.



**Figura 2.** Efeito dos compostos SIN1-5 (A-E) sobre os níveis de lipoperoxidação induzida por NPS em homogenato de cérebro de camundongos. Os dados representam a média±EPM de 3 experimentos independentes, e os resultados estão expressos como nmol de TBARS/g de tecido. (\*)  $p < 0,05$ , (\*\*)  $p < 0,01$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$  quando comparado ao grupo controle (C); (#)  $p < 0,05$ , (##)  $p < 0,01$  e (###)  $p < 0,001$  quando comparado ao grupo veículo (V).

**Tabela 1** – Valores de  $I_{\text{máx}}$  para os compostos SIN no teste do TBARS.

Composto	$I_{\text{máx}}$ (%)
SIN1	98 ± 0
SIN2	95 ± 0
SIN3	98 ± 0
SIN4	98 ± 0
SIN5	98 ± 1

## 4. CONCLUSÕES

A 2-fenil-3-(feniltio) indolizina e seus derivados substituídos apresentaram atividade antioxidante pelo método do TBARS em homogeneizado de cérebro de camundongos. Por meio de investigações mais aprofundadas, esses compostos poderiam ser utilizados para evitar processos pró-oxidativos associados à patogênese de diversas doenças.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, K.B.F.; COSTA N.M.B.; ALFENAS, R.C.G; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Oxiadative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de nutrição**. Viçosa, 23(4):629-643, jul./ago., 2010.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin Hematol**1989; 26: 277-85.

MEDEIROS, M.S.; **Associação entre Metabolismo do Ferro e Estresse Oxidativo em Pacientes de Parkinson**. 2014. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas.

MELLO FILHO, A.C., HOFFMAN, M.E., MENEHINI R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem J** 1983; 218: 273-5.

OBOH. G, et al. Inhibition of fibril formation in beta-amyloid peptide by a novel series of benzofurans **The Biochemical Journal**. P. 283-289, 1999.

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

PÔRTO W.G. Radicais Livres e Neurodegeneração. Entendimento Fisiológico: Base para Nova Terapia?. **Revista Neurociências**. p.70-76, 2001.

SHARMA, V.; KUMAR, V.; Indolizine: a biologically active moiety. **Medicinal Chemistry Research**, New York, p. 01-14, 2014.