

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE E ANTINOCICEPTIVO DE UM NOVO COMPOSTO DERIVADO DE PIRIDINA EM CAMUNDONGOS.

KETLYN P. DA MOTTA¹; CAROLINA C. MARTINS ²; THIAGO J. PEGLOW³;
RICARDO H. BARTZ⁴; CRISTIANE LUCHESE ⁵, ETHEL A. WILHELM ^{6*}.

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – mottaketlyn@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – carol_cristovao@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – thiago_lasol@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – quimricardo20@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora)

^{6*}Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A síntese de compostos orgânicos, área responsável por cerca de 85% dos medicamentos disponíveis, representa um importante papel na descoberta e no desenvolvimento de novos fármacos (BARREIRO et al., 2014). Destes, 62% são compostos heterocíclicos, ganhando destaque aqueles pertencentes ao grupo dos calcogênios, tais como o selênio (Se), o telúrio (Te) e o enxofre (S) por serem descritos como potenciais agentes antioxidante e anti-inflamatório (BARREIRO et al., 2001; MOTTA et al., 2016).

Neste sentido, também se destacam os compostos derivados da piridina, pois apresentam efeito anti-inflamatório e antinociceptivo (REIS et al., 2019; HELAL et al., 2015). Tendo em vista os importantes efeitos descritos dos compostos derivados de piridina, aliados à ação biológica dos calcogênios, os mesmos apresentam-se como moléculas promissoras ao tratamento da dor (REIS et al., 2019).

A dor é descrita como uma experiência emocional e sensorial desagradável associada com uma lesão tecidual real ou potencial (IASP, 1994). Além disso, é importante ressaltar, que os mecanismos envolvidos na dor aguda, crônica ou em neuropatias estão fortemente ligados a ação de agentes oxidantes (ZHOU et al., 2017; POLLI et al., 2019). Logo, novos fármacos com ação antioxidante podem apresentar-se como uma alternativa ao tratamento da dor (PINZ et al., 2016; KIM et al., 2004).

Apesar de diversos fármacos estarem disponíveis para o tratamento da dor e apresentarem resultados relevantes, os mesmos desencadeiam efeitos adversos severos comprometendo o seu uso (CHOU et al., 2016). Ademais, pouco tem sido abordado a respeito de moléculas derivadas de piridina incorporadas a ação dos calcogênios S, Te e Se. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de compostos derivados da piridina incorporados aos calcogênios Se, Te e S, assim como investigar o efeito antinociceptivo *in vivo* do mais promissor destes.

2. METODOLOGIA

Síntese dos compostos e comitê de ética

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 1287-2016 e 1289-2016). Foram utilizados camundongos machos adultos da raça *Swiss* provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os compostos derivados da piridina contendo Te, S e Se (Figura 1) foram sintetizados no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL).

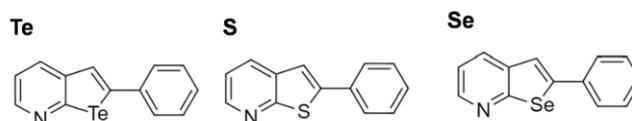


Figura 1 – Estrutura química dos compostos telurofeno [2,3-b] piridina (Te), tieno [2,3-b] piridina (S) e selenofeno [2,3-b] piridina (Se).

Avaliação do efeito antioxidante *in vitro*:

Atividade scavenger do radical 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH):

O ensaio foi realizado para verificar a atividade *scavenger* dos compostos (1, 10, 100, 200 e 500 μ M) sobre o radical ABTS (RE et al., 1999) ou DPPH (CHOI et al., 2002). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem do controle. As leituras foram determinadas espectrofotometricamente em 734 e 517 nm, respectivamente.

Avaliação do efeito antinociceptivo:

Os camundongos receberam uma injeção intraplantar (i.pl.) de Complexo Adjuvante de Freund (CFA) (1 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis*, 20 μ l) na pata posterior direita e solução salina (0,9%, 20 μ l/ pata) na pata esquerda. Após 24h, os animais receberam o veículo (óleo de canola, via oral (v.o.)), o composto S (1, 10 e 50 mg/kg, v.o.) ou o meloxicam (50 mg/kg, v.o.). Transcorridos 30 min, foi verificada a resposta nociceptiva através do teste do von Frey. Este teste descrito por BORTOLANZA et al. (2002) determina a hiperalgesia mecânica por meio do limiar de retirada da pata.

Avaliação do efeito antioxidante *ex vivo*:

Os níveis de Espécies Reativas (ER) (LOETCHUTINAT et al., 2005) na pata dos animais foram determinados através do ensaio de diacetato de diclorofluoresceína (DCHF-DA). A emissão e a extinção da intensidade de fluorescência do DCF foram registradas a 525 e 488 nm, respectivamente. Os níveis de ER foram expressos como unidades arbitrárias de fluorescência.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar o potencial antioxidante dos compostos sintetizados e a fim de realizar uma triagem dos mesmos, foram feitos diferentes ensaios *in vitro*. Os dados na Tabela 1 e 2 demonstram a atividade *scavenger* dos radicais ABTS e DPPH. Os compostos Te e S foram capazes de estabilizar ambos os radicais, evidenciando a atividade antioxidante intrínseca dos mesmos. Neste contexto, para os estudos posteriores foi escolhido o composto S, uma vez que este foi promissor em ambos os testes.

Os resultados demonstrados na Figura 2 indicam que o composto S apresentou efeito antinociceptivo em todas as doses testadas, assim como o medicamento de referência. Além disso, sugere-se que o efeito antinociceptivo deste composto está relacionado à sua propriedade antioxidante, uma vez que

este reduziu os níveis ER na pata dos camundongos induzidos com o CFA (Figura 3).

Tabela 1 - Efeito dos Compostos Te, S e Se na atividade scavenger do radical ABTS.

	Controle	1 µM	10 µM	100 µM	200 µM
Te	100,0±0,57	98,9±1,02	71,6±2,78**	9,9±3,12****	40,8±9,42****
S	100,0±0,57	104,1±4,53	100,1±3,03	74,6±4,82***	52,3±5,32***
Se	100,0±0,57	100,7±1,14	100,1±1,67	97,1±2,63	97,4±0,27

Os asteriscos indicam níveis de significância quando comparados ao grupo controle (**) p < 0,01; (***) p < 0,001 e (****) p < 0,0001. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

Tabela 2 - Efeito dos Compostos Te, S e Se na atividade scavenger do radical DPPH.

	Controle	1 µM	10 µM	100 µM	200 µM
Te	100,0±0,57	101,7±1,02	101,2±2,78	99,5±3,12	96,0±9,42****
S	100,0±0,57	100,8±0,69	100,7±1,01	94,6±0,79*	86,8±0,48****
Se	100,0±0,58	100,2±1,22	99,4±0,86	100,8±1,42	101,2±1,76

Os asteriscos indicam níveis de significância quando comparados ao grupo controle (*) p < 0,05 e (****) p < 0,0001. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de única via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

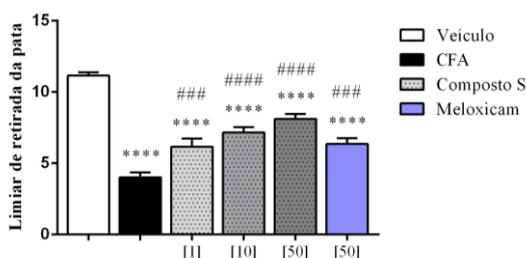


Figura 2 - Efeito do Composto S (1, 10 e 50 mg/kg) na hiperalgesia mecânica induzida por CFA na pata posterior direita de camundongos. (****) p < 0,0001 denota níveis de significância quando comparados ao grupo controle (###) p < 0,001 indicam níveis de significância em relação ao grupo CFA. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de única via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

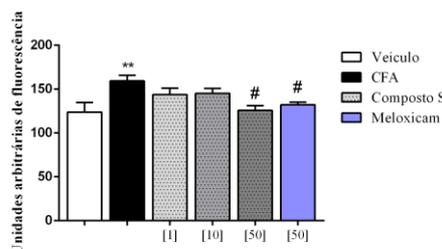


Figura 3 – Efeito do composto S (1, 10 e 50 mg/kg) nos níveis de ER na pata de camundongos induzidos com CFA. (**) p < 0,01 denota níveis de significância quando comparados ao grupo controle e (#) p < 0,05 indicam níveis de significância em relação ao CFA. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de única via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

4. CONCLUSÕES

Dentre os compostos estudados, o composto S apresentou atividade antioxidantes *in vitro* mais promissora. Além disso, esta característica antioxidante do composto parece contribuir para o seu efeito antinociceptivo em camundongos. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar os mecanismos envolvidos nesta ação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. As bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: **Artmed Editora**, 2001.
- BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos Alberto Manssour. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. **Artmed Editora**, 2014.
- BORTOLANZA, Léslei Bauermann et al. Atividade antinociceptiva do triterpeno ácido tormêntico isolado das cascas da *Vochysia divergens* (vochysiaceae) em modelos de nocicepção aguda e crônica, em camundongo. 2002.
- 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.
- CHOU, Roger et al. Management of Postoperative Pain: a clinical practice guideline from the American pain society, the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists' committee on regional anesthesia, executive committee, and administrative council. **The Journal of Pain**, v. 17, n. 2, p. 131-157, 2016.
- HELAL, M. H. et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of novel series of pyridine derivatives as anticancer, anti-inflammatory and analgesic agents. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 764-773, 2015.
- KIM, Hee Kee et al. Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. **Pain**, v. 111, n. 1-2, p. 116-124, 2004.
- LOETCHUTINAT, Chatchanok et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, n. 2-3, p. 323-331, 2005.
- MOTTA, Hodara Santos; DA SILVA ÁVILA, Daiana; DAL FORNO, Ana Helena de Castro. Análise toxicológica de compostos orgânicos de se, te, s em modelo experimental caenorhabditis elegans. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 7, n. 2, 2016.
- PINZ, Mikaela et al. 4-Phenylselenenyl-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.
- POLLI, Andrea et al. Relationship between exercise-induced oxidative stress changes and parasympathetic activity in chronic fatigue syndrome: an observational study in patients and healthy subjects. **Clinical therapeutics**, v. 41, n. 4, p. 641-655, 2019.
- RE R, PELLEQRINI N, PROTEQQENTE A, PANNALA A, YANG M, RICE-EVANS C: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med**, p. 1231-1237. 1999.
- REIS, Angélica S. et al. Modulation of COX-2, INF- γ , glutamatergic and opioid systems contributes to antinociceptive, anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effects of bis (3-amino-2-pyridine) diselenide. **Chemico-biological interactions**, p. 108790, 2019.
- ZHOU, Feng-Ming et al. Antioxidants attenuate acute and chronic itch: peripheral and central mechanisms of oxidative stress in pruritus. **Neuroscience bulletin**, v. 33, n. 4, p. 423-435, 2017.