



Chalcona (e)-3-(2-fluorofenil) -1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil) prop-2-en-1-ona reverte comportamento convulsivo em zebrafish (danio rerio) adulto.

Chalcona (e) -3- (2-fluorofenil) -1- (2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenil) prop-2-en-1-ona reverses convulsive behavior in adult zebrafish (danio rerio).

DOI: <https://doi.org/10.24979/ambiente.v1i1.930>

Maria Kueirislene Amâncio Ferreira - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0002-4270-8109>

Antônio Wlisses da Silva - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0002-1686-1644>

Paulo Nogueira Bandeira - Universidade Estadual Vale do Acaraú <https://orcid.org/0000-0001-5374-1839>

Helcio Silva dos Santos - Universidade Estadual Vale do Acaraú <https://orcid.org/0000-0001-5527-164X>

Jane Eire Silva Alencar de Menezes - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0001-9632-5464>

RESUMO: O comportamento convulsivo é manifestado por convulsões causadas por atividade elétrica anormal dos neurônios do SNC. Chalconas são flavonoides de cadeia aberta distribuídas no reino vegetal. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito anticonvulsivante da chalcona 2-flúor em zebrafish adulto. Os animais foram tratados com a chalcona 2-Flúor (4; 20 e 40 mg/kg); veículo (DMSO 3%) e (DZP; 40 mg/kg). Após 30 min, foram expostos, individualmente na solução de (PTZ; 7,5 mM). Três estágios da convulsão foram analisados. Todas as doses da chalcona 2-flúor aumentaram o tempo de latência para o primeiro estágio da convulsão em ZFa. No estágio 2 as mesmas doses aumentaram o tempo de latência para comportamento convulsivo e no estágio III a maior dose (40 mg/kg) foi capaz de aumentar a latência para o início da crise convulsiva. A metilação dos flavonoides, assim como a presença dos 3 substituintes metóxi (-OCH₃) da chalcona 2-flúor sugere melhor potencialização do efeito anticonvulsivo, pois facilita a absorção e afeta positivamente sua biodisponibilidade.

Palavras-chave: Flavonoides, Epilepsia, GABA_A, Chalconas.

ABSTRACT: Seizure behavior is manifested by seizures caused by abnormal electrical activity of CNS neurons. Chalcones are open-chain flavonoids distributed in the plant kingdom. The objective of this work was to investigate the anticonvulsant effect of chalcone 2-fluoride in adult zebrafish. The animals were treated with chalcone 2-Fluorine (4; 20 and 40 mg / kg); vehicle (3% DMSO;) and (DZP; 40 mg / kg). After 30 min, they were individually exposed in the (PTZ; 7.5 mM) solution. Three stages of the seizure were analyzed. All doses of chalcone 2-fluorine increased the latency time for the first stage of the ZFa seizure. In stage 2, the same doses increased the latency time for convulsive behavior and in stage III the highest dose (40 mg / kg) was able to increase the latency for the onset of the seizure. Methylation of flavonoids, as well as the presence of the 3 methoxy substituents (-OCH₃) of chalcone 2-fluorine suggests better potentiation of the anticonvulsant effect, as it facilitates absorption and positively affects its bioavailability.

Keywords: Flavonoids, Epilepsy, GABA_A, Chalcones.

INTRODUÇÃO

A epilepsia é um distúrbio neurológico que afeta aproximadamente 65 milhões de pessoas em todo o mundo (MOSHÉ e colab., 2015). O comportamento convulsivo é manifestado por convulsões repetitivas causadas por atividade elétrica anormal dos neurônios. Os anticonvulsivantes (ASDs) atualmente disponíveis, usados no tratamento para a epilepsia, suprimem os sintomas da doença (convulsões), mas não aliviam o processo de epileptogênese (PERUCCA e GILLIAM, 2012).

As chalconas são consideradas flavonoides de cadeia aberta distribuídas no reino vegetal, são produtos intermediários e finais na biossíntese de flavonoides, considerados importantes na pigmentação de flores. Possui função atrativa para polinização, além de desempenharem ação contra patógenos e insetos e apesar da sua ocorrência em plantas, podem ser sintetizadas também em laboratório (BATOVSKA e TODOROVA, 2010). São características básicas desta a abertura de um terceiro anel, presentes nas classes de flavonoides, o que torna possível a formação de uma ligação dupla com os carbonos denominados α e β na função carbonila (VENTURELLI e colab., 2016).

Modelos farmacológicos são usados para triagem de alto rendimento de novos compostos para o tratamento de convulsões, o modelo mais comumente usado é o ensaio de convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ), em que convulsões semelhantes a tônico-clônicas estão correlacionadas com hiperlocomoção nas larvas peixe-zebra (COPMANS e colab., 2018; GAWEL e colab., 2020).

Portanto, como essa classe de compostos são conhecidas por apresentar atividade de eliminação de radicais livres e o estresse oxidativo estar envolvido no início na progressão da epileptogênese (DINIZ e colab., 2019), o objetivo deste trabalho foi investigar

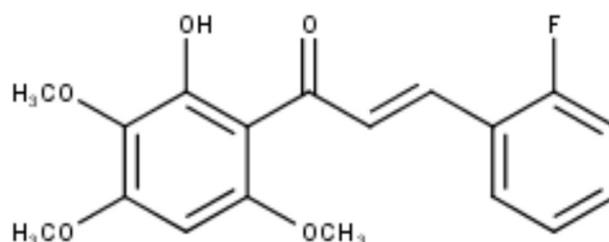
o efeito anticonvulsivante da chalcona (E)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil) prop-2-en-1-ona em zebrafish adulto.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da amostra

A chalcona (E)-3-(2-fluorofenil)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil) prop-2-en-1-ona (2-flúor) foi sintetizada com base na metodologia de (FERREIRA et al., 2019), a partir de um produto natural.

Figura 1: Estrutura química da chalcona 2-Flúor.



Animais e Comitê de ética

Foram utilizados zebrafish (*Danio rerio*) adultos (ZFa), selvagens, ambos os sexos com idade de 60-90 dias, tamanhos de $3,5 \pm 0,5$ cm e peso $0,4 \pm 0,1$ g, obtidos da Agroquímica: Comércio de Produtos Veterinários LTDA, um fornecedor em Fortaleza (Ceará, Brasil). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA-UECE), sob protocolo nº 7210149/2016.

Atividade anticonvulsivante

Os animais ($n=6$ /grupo) foram tratados com 20 μ L via intraperitoneal com 2-Flúor (4 ou 20 ou 40 mg/kg) ou veículo (DMSO 3%; 20 μ L) ou Diazepam (DZP; 40 mg/kg). Após 30 min dos tratamentos via intraperitoneal, os animais foram expostos, individualmente, a solução de pentilenotetrazol (PTZ; 7,5 mM). O comportamento do tipo convulsivo foi analisado por observadores treinados e as cegas, medido em segundos, e classificado de

acordo com os estágios: Estágio I – atividade de natação drasticamente aumentada; Estágio II – natação em redemoínhos; Estágio III – convulsões semelhantes a clônus, seguida de perda de postura, quando o animal cai para o lado e permanece imóvel por 1-3 s (SIEBEL e colab., 2015).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como valores da média \pm erro padrão da média para cada grupo de 6 animais. Depois de confirmar a normalidade de distribuição e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA unidirecional), seguido do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o software GraphPad Prism v. 6.0. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todas as doses da chalcona 2-flúor (Fig. 2A) aumentaram significativamente ($p < 0,001$; $p < 0,0001$ vs. Naive ou veículo) o tempo de latência para o primeiro estágio da convulsão em ZFa Fig.3. No estágio 2 as mesmas doses aumentaram significativamente ($p < 0,0001$ vs. Naive ou veículo) o tempo de latência para comportamento convulsivo referente a este estágio. Em seguida foi observado que no estágio III a maior dose (40 mg/kg) foi capaz de aumentar a latência para o início da crise convulsiva. Esses efeitos anticonvulsivante da chalcona 2-flúor foram significativamente ($p > 0,05$) semelhante ao efeito do DZP (40 mg/kg).

O pentilenotetrazol é um convulsivante que atua alostericamente no receptor $GABA_A$

e já está bem documentado que convulsões induzidas por PTZ são produzidas devido à alteração do nível de GABA no cérebro. Portanto, os receptores $GABA_A$ estão envolvidos na epilepsia e sua ativação direta corresponde a um efeito antiepilético (MAHENDRAN e colab., 2014).

As chalconas são subclasses de compostos flavonoides, estes que são conhecidos por exercerem efeitos antiinflamatórios potentes no cérebro por meio da atividade de eliminação de radicais livres (DINIZ e colab., 2019), ou pela modulação direta de componentes-chave da cascata neuroinflamatória. Conseqüentemente, esta atividade neuroprotetora pode ser considerada para explicar o efeito anticonvulsivante desses compostos. (DINIZ e colab., 2015; GOLECHHA e colab., 2014; SPENCER e colab., 2012).

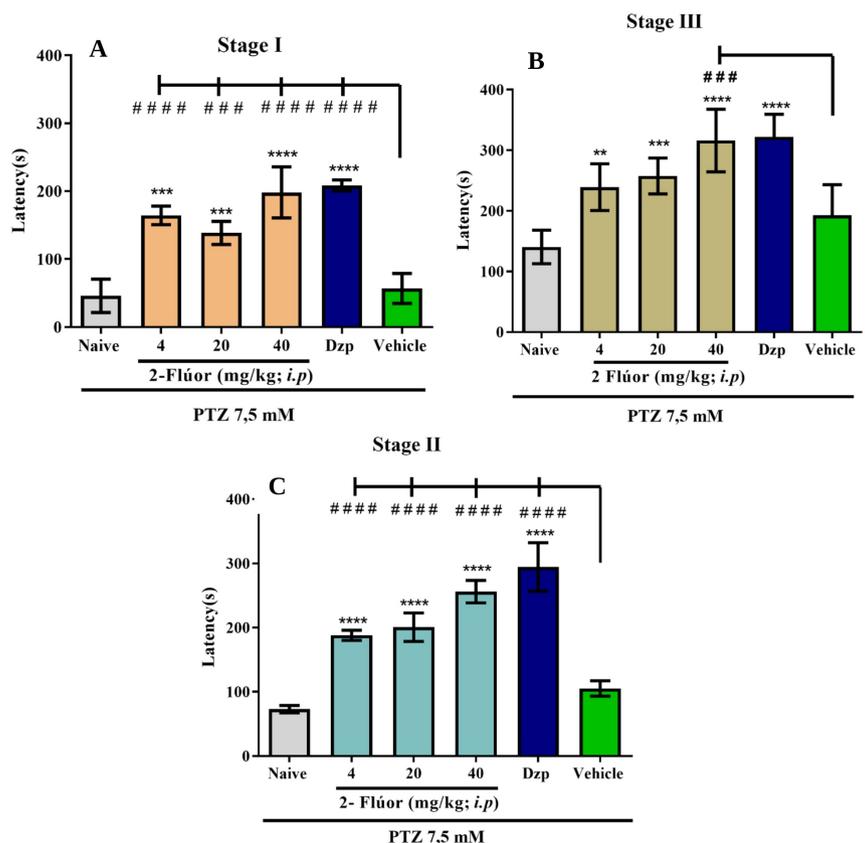


Figura 2: Efeito da chalcona 2-Flúor sob ação do Estágio Convulsivante I, II e III induzido por PTZ em zebrafish (Danio rerio) adulto. DZP – diazepam (Controle; 40 mg/kg; 20 μ L; i.p.). ANOVA seguida do Teste Tukey (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs. Naive; ##### $p < 0,0001$ vs Veículo).

No aspecto estrutural da molécula, como pode ser visto na Fig.1, a estrutura química da chalcona 2-flúor possui 3 substituintes metóxi (-OCH₃). Em atribuição a isto, ao investigar a atividade anticonvulsivante de flavonoides metilados pelo modelo de convulsão induzida por PTZ em larvas de peixe-zebra, Copmans et al. (2018) observou que flavonóides não metilados como NRG (naringenina) e KFL (kaempferol) tiveram apenas atividade anticonvulsiva limitada e a metilação de NRGs (formando naringenina 7-O-metil éter (NRG-M), e naringenina 40,7-éter dimetílico (NRG-DM)), tiveram um claro impacto no resultado mostrando melhor efeito anticonvulsivo. Assim como os compostos metilados anteriores, nossos resultados mostram que a chalcona 2-flúor teve efeito anticonvulsivo em todos os estágios da convulsão. Diante disso, os autores perceberam que a metilação dos flavonoides favorece sua estabilidade metabólica e transporte de membrana, onde facilita a absorção e afeta positivamente sua biodisponibilidade (KOIRALA e colab., 2016).

CONCLUSÃO

Nossos achados são considerados relevantes porque, embora mais pesquisas sejam necessárias para elucidar os alvos moleculares anticonvulsivantes da chalcona 2-flúor, esses resultados em concordância com a literatura, indicam que a metilação de flavonóides produz um espectro farmacológico distinto que pode ser particularmente relevante na descoberta de novas drogas anticonvulsivantes.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Universidade Estadual do Ceará, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico- FUNCAP.

REFERÊNCIAS

BATOVSKA, Daniela Ilieva e TODOROVA, Iva

Todorova. Trends in utilization of the pharmacological potential of chalcones. *Current Clinical Pharmacology*, v. 5, n. January 2010, p. 1–29, 2010.

COPMANS, Daniëlle e colab. Methylated flavonoids as anti-seizure agents: Naringenin 4',7-dimethyl ether attenuates epileptic seizures in zebrafish and mouse models. *Neurochemistry International*, v. 112, p. 124–133, 2018.

DINIZ, Tâmara Coimbra e colab. Anticonvulsant, sedative, anxiolytic and antidepressant activities of the essential oil of *Annona vepretorum* in mice: Involvement of GABAergic and serotonergic systems. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 111, n. July 2018, p. 1074–1087, 2019.

DINIZ, Tâmara Coimbra e colab. The role of flavonoids on oxidative stress in epilepsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2015, 2015.

FERREIRA, M.K.A. e colab. Anxiolytic-like effect of chalcone N-{{(4'-(E)-3-(4-fluorophenyl)-1-(phenyl) prop-2-en-1-one}} acetamide on adult zebrafish (*Danio rerio*): Involvement of the GABAergic system. *Behavioural Brain Research*, v. 374, 2019.

GAWEL, Kinga e colab. The Influence of Palmatine Isolated from *Berberis sibirica* Radix on Pentylentetrazole-Induced Seizures in Zebrafish. *Cells*, Vol. 9, n. 5, p. 1233, 2020.

GOLECHHA, Mahaveer e colab. Naringin ameliorates pentylentetrazol-induced seizures and associated oxidative stress, inflammation, and cognitive impairment in rats: Possible mechanisms of neuroprotection. *Epilepsy and Behavior*, 2014.

KOIRALA, Niranjana e colab. Enzyme and Microbial Technology Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. v. 86, p. 103–116, 2016.

MAHENDRAN, G. e colab. Evaluation of

anticonvulsant, sedative, anxiolytic, and phytochemical profile of the methanol extract from the aerial parts of *Swertia corymbosa* (Griseb.) Wight ex C.B. Clarke. *BioMed Research International*, v. 2014, 2014.

MOSHÉ, Solomon L. e colab. Epilepsy: New advances. *The Lancet*, v. 385, n. 9971, p. 884–898, 2015.

PERUCCA, Piero e GILLIAM, Frank G. Adverse effects of antiepileptic drugs. *The Lancet Neurology*, v. 11, n. 9, p. 792–802, 2012.

SIEBEL, Anna Maria e colab. Role of adenosine signaling on pentylentetrazole-induced seizures in zebrafish. *Zebrafish*, v. 12, n. 2, p. 127–136, 2015.

SPENCER, Jeremy P.E. e colab. Neuroinflammation: Modulation by flavonoids and mechanisms of action. 2012, [S.l: s.n.], 2012.

VENTURELLI, Sascha e colab. Prenylated chalcones and flavonoids for the prevention and treatment of cancer. *Nutrition*, v. 32, n. 11–12, p. 1171–1178, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2016.03.020>>.