

DERIVADOS DAS TIAZOLIDINONAS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIOXIDANTES

**LAIZ XAVIER RODRIGUES¹; PÂMELA GONÇALVES DA SILVA²; NATÁLIA
PORTO FLORES³; CHRISTINE BERNY VOLZ⁴; WILSON CUNICO⁵; FRANCIELI
MORO STEFANELLO⁶**

¹*Universidade Federal de Pelotas – laizinha152009@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – pamela.gsilva@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – nataliahporto@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – tinekah@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – wjcunico@yahoo.com.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

As tiazolidinonas são compostos heterocíclicos que apresentam em sua estrutura um átomo de enxofre, um átomo de nitrogênio e uma carbonila. São encontradas na literatura diversas aplicações biológicas destes compostos, por exemplo, como antiretroviral, anti-inflamatória, antibacteriana, anticonvulsivante, tuberculostática (CUNICO et al., 2008).

Sabe-se que inúmeras patologias como, doenças metabólicas hereditárias, artrite reumatóide, câncer, doença de Parkinson e Alzheimer estão relacionadas à formação aumentada de espécies reativas e/ou redução das defesas antioxidantes (STEFANELLO et al., 2007; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; BARSCHAK et al., 2008). Desta forma, pesquisas biológicas voltadas para antioxidantes e radicais livres têm produzido resultados promissores no que se refere às novas abordagens terapêuticas para o tratamento destas doenças.

Considerando o exposto, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante de derivados sintéticos das tiazolidinonas, com intuito de descobrir novas moléculas bioativas.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção dos compostos

As tiazolidinonas utilizadas foram sintetizadas no Laboratório Química Aplicada a Bioativos (LaQuiABio) do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, pesadas e então diluídas nas concentrações adequadas para utilização nas técnicas.

2.2 Captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

A determinação da ação antioxidante das tiazolidinonas foi realizada segundo o método de BRAND-WILLIAMS et al. (1995), baseado na captura do radical (DPPH). A partir da curva de calibração do DPPH e do monitoramento da reação entre as diferentes tiazolidinonas, após 30 min à temperatura ambiente, foi determinada a concentração destes compostos necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC_{50}). O antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) foi usado como padrão.

2.3 Animais

Para os testes biológicos foram utilizados ratos Wistar obtidos a partir do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. Os animais foram mantidos em um ciclo de claro/escuro de 12 h a temperatura constante. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 7194).

2.4 Preparação do tecido

Os animais foram sacrificados por decapitação e o córtex cerebral foi cuidadosamente dissecado e homogeneizado em tampão adequado. Os homogeneizados foram centrifugados, o pellet descartado e o sobrenadante utilizado para avaliação da atividade antioxidante.

Uma alíquota do tecido homogeneizado foi adicionada ao peróxido de hidrogênio e o sulfato de ferro, os quais foram utilizados para induzir dano oxidativo. Diferentes concentrações de derivados das tiazolidinonas (50 a 200 μ M) foram incubadas durante 1 h a 37°C, juntamente com os indutores de dano e o tecido cerebral.

2.5 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS), um índice de peroxidação lipídica, foram determinadas de acordo com o método descrito por BUEGE e AUST (1978) com algumas modificações. A absorbância foi lida a 535 nm e os resultados foram expressos como nmol de TBARS / mg de proteína.

2.6 Determinação proteica

A determinação proteica foi realizada pelo método de LOWRY et al. (1951), utilizando albumina bovina como padrão.

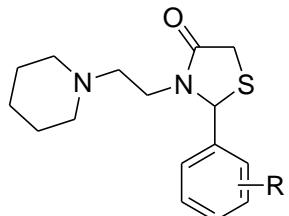
2.7 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As comparações das médias foram analisadas por análise de variância (ANOVA) seguida por um teste de Tukey quando o valor de F era significativo. Um valor de $P \leq 0,05$ foi considerado significativo. As análises foram realizadas utilizando o programa *GraphPad Prism5*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem da capacidade antioxidante das diferentes tiazolidinonas foi avaliada com base na captura do radical DPPH. Das 16 tiazolidinonas analisadas, os compostos 4a, 4g, 4h e 4p apresentaram atividade antioxidante satisfatória frente ao radical DPPH, apresentando EC₅₀ inferior a 200 μ M. Foi utilizado como antioxidante controle o BHT (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade scavenger das tiazolidinonas 4a-p



| Compostos | R | DPPH[•] EC₅₀ (μM) |
|------------------|--------------------|--------------------------------------------------|
| 4 ^a | 2-F | 168 |
| 4b | 3-F | 289 |
| 4c | 4-F | 258 |
| 4d | 2-Cl | 545 |
| 4e | 3-Cl | 470 |
| 4f | 4-Cl | 417 |
| 4g | 2-NO ₂ | 200 |
| 4h | 3-NO ₂ | 185 |
| 4i | 4-NO ₂ | 740 |
| 4j | 3-OH | 404 |
| 4k | 4-OH | 376 |
| 4l | 2-OCH ₃ | 750 |
| 4m | 3-OCH ₃ | 831 |
| 4n | 4-OCH ₃ | 420 |
| 4º | 4-CH ₃ | 829 |
| 4p | 2,6-Cl | 61 |
| BHT | | 102 |

Nota: EC₅₀ significa a quantidade de antioxidante necessária para reduzirem 50 % a concentração inicial do DPPH[•].

A fim de dar continuidade aos ensaios de triagem, avaliamos a peroxidação lipídica em tecido biológico utilizando indutores de dano oxidativo *in vitro*. Os resultados mostraram que a tiazolidinona 4 h reduziu os níveis de TBARS, marcador de peroxidação lipídica, em córtex cerebral de ratos nas concentrações de 50, 100 e 200 μM e a 4p nas concentrações de 100 e 200 μM. Sabe-se que a peroxidação lipídica induz alterações nas propriedades das membranas biológicas tais como, distúrbios na estrutura, perda de função, e modificações na permeabilidade, que podem resultar em neurodegeneração (MISOEK et al., 2007; NIKI, 2008). Desta forma, os compostos testados podem ser potencialmente úteis para auxiliar no tratamento de pacientes com alterações neurológicas. No entanto, estudos adicionais são necessários para uma melhor compreensão dos efeitos antioxidantes destes compostos.

4. CONCLUSÕES

Os resultados foram satisfatórios para um processo de triagem da atividade antioxidante através do método do DPPH, bem como para a avaliação do efeito desses compostos sobre um importante alvo de espécies reativas.

Para uma mais completa caracterização da propriedade antioxidante dos derivados, outros estudos devem ser realizados tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARSCHAK, A.G.; SITTA, A.; DEON, M.; BARDEN, A.T.; DUTRA-FILHO, C.S.; WAJNER, M.; VARGAS, C.R. Oxidative stress in plasma from maple syrup urine disease patients during treatment. **Metab Brain Dis.** v.23, p.71-80, 2008.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELI, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.** 28, 25. 1995.
- BUEGE, J.A., AUST, S.D. (1978) Microssomal lipid peroxidation. **Meth Enzymol**;52:302-309.
- CUNICO, W.; GOMES, C.R.B.; VELLASCO JUNIOR, W.T. Chemistry and Biological Activities of 1,3-Thiazolidin-4-ones. **Mini-Rev. Org. Chem.** v.5, 336-344, 2008.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press, 2007.
- LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. **J Biol Chem**; 193:265-275.
- MISOEK, E.S.; MCLAUCHLIN, B.; MORROW, J.D. Electrophilic cyclopentenone isoprostanes in neurodegeneration. **Journal of Molecular Neuroscience**. v.33, p.80-86, 2007.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrayl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** v.26, p.211-219, 2004.
- NIKI, E. Lipidic peroxidation products as oxidative stress biomarkers. **Bio Factors**. v.34, p.171-180, 2008.
- STEFANELLO F.M.; SCHERER E.B.S.; KUREK A.G.; MATTOS, C.B.; WYSE, A.T.S. Effect of hypermethioninemia on some parameters of oxidative stress and on Na^+ , K^+ - ATPase activity in hippocampus of rats. **Metab Brain Dis**, v.22, p.172-82, 2007.