

## **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE AZIRIDINAS CONTENDO SELÊNIO E ENXOFRE**

**MAURICE NETO DE SOUZA<sup>1</sup>; FERNANDA S.S. SOUSA<sup>2</sup>; PAULO H. SCHNEIDER<sup>3</sup>; RODRIGO BORGES<sup>3</sup>; LUCIELLI SAVEGNAGO<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN, Curso de Farmácia, Universidade Federal de Pelotas – mauricesouza@hotmail.com;*

<sup>2</sup>*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia, – GPN, Programa de Pós graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas;*

<sup>3</sup>*Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul;*

<sup>4</sup>*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN, Universidade Federal de Pelotas - luciellisavegnago@yahoo.com.br*

### **1. INTRODUÇÃO**

Os compostos aziridínicos são um dos mais versáteis sistemas de heterociclos da química sintética moderna e também podem ser encontrados em alguns produtos naturais. Os derivados destes compostos heterocíclicos nitrogenados de 3 membros veem sendo relacionados com diversas atividades tais como, anticâncer, antibacteriano e/ou antimicrobiana (GIL et al., 2007; DAÍ et al., 1999).

O selênio é considerado um micronutriente traço necessário para o funcionamento do organismo e faz parte do sítio ativo de diversas enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase (TERRY & DIAMANTE, 2012) (BRIGELIUS-FLOHÉ E BANNING, 2006). Diversos estudos mostram que o seu consumo diário diminui os riscos de aparecimento de doenças como Alzheimer e diabetes (CORRIGAN et al., 1991). Da mesma forma, o enxofre é importante, pois é um constituinte essencial de aminoácidos, como a cisteína, que está presente na glutathione (JÚNIOR et al., 2001).

Os organocalcogênicos tem aumentado seu âmbito de aplicação de na terapêutica, por demonstrarem importante papel em uma variedade de condições em que radicais livres estão envolvidos. A farmacoterapia com antioxidantes emergiu como uma ferramenta para minimizar o dano biomolecular causado por estes (NOGUEIRA et al., 2004).

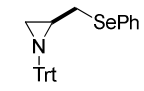
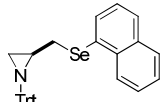
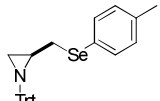
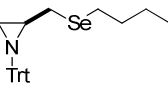
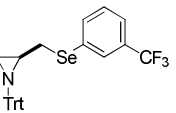
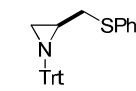
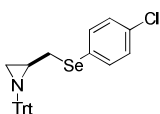
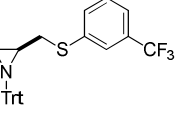
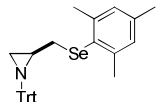
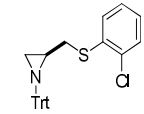
Com isto, é de grande interesse avaliar a capacidade antioxidante de aziridinas contendo selênio e/ou enxofre, através do teste de capacidade redutora do íon férrico (FRAP) e da inibição da oxidação do ácido linoleico induzida por nitroprussiato de sódio.

### **2. METODOLOGIA**

#### **2.1 Compostos**

Os compostos demonstrados na Tabela 1 foram sintetizados no laboratório de química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

**Tabela 1:** Aziridinas contendo selênio e enxofre

$(\text{PhSe})_2$		6a	$(\text{NafSe})_2$		6f
$(4\text{-MePhSe})_2$		6b	$(\text{BuSe})_2$		6g
$(3\text{-CF}_3\text{PhSe})_2$		6c	$(\text{PhS})_2$		6h
$(4\text{-ClPhSe})_2$		6d	$(3\text{-CF}_3\text{PhS})_2$		6i
$(2,4,6\text{-MePhSe})_2$		6e	$(2\text{-(ClPhS)})_2$		6j

## 2.2 Avaliação das aziridinas contendo selênio e enxofre na oxidação do ácido linoleico induzido por nitroprussiato de sódio:

Este teste avalia o potencial dos compostos selênio aziridinas e tio-aziridinas, contra a peroxidação lipídica induzida pelo nitroprussiato de sódio, utilizando o ácido linoleico (lipídeo da classe dos ácidos graxos insaturados). Os compostos foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO) nas concentrações de 10 - 500  $\mu\text{M}$ . A capacidade de inibição da oxidação do ácido linoleico induzida por nitroprussiato de sódio foi baseada no teste de Choi et al. (2002).

## 2.3 Potencial redutor do íon férrico:

O ensaio FRAP foi realizado de acordo com o método de STRATIL et al. (2006), o qual é usado para medir a capacidade redutora dos compostos. Diferentes concentrações (10 - 500  $\mu\text{M}$ ) das aziridinas contendo selênio e enxofre (diluídos em dimetilsulfóxido) e o reagente FRAP foram adicionados em cada amostra, e a mistura foi incubada a 37°C por 40 minutos no escuro. A absorbância da solução resultante foi medida espectrofotometricamente a 593nm.

## 2.4 Análise Estatística:

Os testes foram realizados pelo menos três vezes em duplicata. Os valores de  $\text{IC}_{50}$  foram calculados a partir da percentagem de eliminação do efeito em função da concentração do composto. A análise estatística foi realizada utilizando análise de uma via da variância (ANOVA) seguido por Newman-Keuls. Os níveis de significância foram fixados em: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism versão 5.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os dados demonstrados na tabela 2, os compostos selênio aziridinas **6a**, **6c** e **6d**, diminuíram os níveis de peroxidação lipídica, a partir da concentração de 50  $\mu\text{M}$ , enquanto que as selênio aziridinas **6f** e **6g** foram eficazes na concentração igual ou superior a 100  $\mu\text{M}$ . Destes compostos, o **6a** foi o mais potente, com o menor valor de  $\text{IC}_{50}$  ( $70,6 \pm 13,65 \mu\text{M}$ ), enquanto **6e** foi o menos potente ( $\text{IC}_{50} 291,6 \pm 202,8 \mu\text{M}$ ). Enquanto que nos compostos tio-aziridinas, o composto **6h** foi o mais potente, com o menor valor de  $\text{IC}_{50}$  ( $89,6 \pm 66,11$ ), enquanto que o composto **6j** ( $\text{IC}_{50} 87,5 \pm 45,96$ ) foi eficaz em concentrações iguais ou superiores a 100  $\mu\text{M}$ . A potência dos compostos selênio aziridinas,

segue a ordem **6a <6c <6f <6d <6g <6b <6e**, e dos compostos tio-aziridinas **6j ≤6h <6i**. Portanto, os compostos **6a** e **6h** demonstraram a melhor atividade antioxidante, por apresentarem maior capacidade em reduzir a peroxidação lipídica. Esses compostos não possuem substituintes em seu anel aromático, demonstrando que tanto o enxofre quanto o selênio não tem sua atividade aumentada pela adição de ligantes no anel aromático.

**Tabela 2:** Avaliação dos compostos selênio aziridinas e tio-aziridinas na oxidação do ácido linoleico induzido por nitroprussiato de sódio

Compostos	Concentrações (μM)					IC <sub>50</sub> (μM)	I <sub>max</sub> (%)
	10	50	100	250	500		
<b>6a</b>	97,35 ± 3,57	63,25 ± 5,75**	33,58 ± 12,7***	24,24 ± 17,8***	-	70,6 ± 13,65	49,6 ± 37,22
<b>6b</b>	99,0 ± 1,73	81,83 ± 28,56	73,42 ± 23,08	-	30,02 ± 9,23*	184,3 ± 190,1	69,98 ± 9,23
<b>6c</b>	83,18 ± 18,41	56,78 ± 16,53*	41,10 ± 19,84**	29,96 ± 13,68**	-	79,0 ± 43,28	70,04 ± 13,68
<b>6d</b>	91,17 ± 9,18	60,84 ± 34,10*	48,17 ± 15,67*	29,23 ± 10,57**	-	88,25 ± 20,02	65,65 ± 13,39
<b>6e</b>	87,02 ± 20,4	89,83 ± 20,35	86,29 ± 26,28	-	35,92 ± 34,4*	291,6 ± 202,8	69,26 ± 28,43
<b>6f</b>	80,52 ± 9,88	69,33 ± 24,44	38,47 ± 15,68**	24,53 ± 3,43***	-	80,0 ± 25,0	60,32 ± 30,41
<b>6g</b>	100 ± 0,0	82,94 ± 20,63	53,82 ± 23,63*	-	14,51 ± 8,6***	116,2 ± 54,06	85,49 ± 8,58
<b>6h</b>	61,64 ± 26,28*	41,59 ± 21,93*	41,38 ± 20,33*	31,76 ± 20,30**	-	89,6 ± 66,11	68,24 ± 20,30
<b>6i</b>	63,93 ± 18,3	65,79 ± 15,33	61,61 ± 20,91	-	33,25 ± 17,1**	107,5 ± 15,00	66,75 ± 17,12
<b>6j</b>	69,85 ± 21,2	58,44 ± 26,65	42,26 ± 23,82*	35,31 ± 19,95*	-	87,5 ± 45,96	67,49 ± 22,79

. Os dados estão demonstrados como % de oxidação do ácido linoleico. \*p< 0,05; \*\*p< 0,01; \*\*\*p< 0,001 (One-way ANOVA/Newman-Keuls). IC<sub>50</sub> = concentração (μM) necessária para diminuir em 50% os níveis de peroxidação lipídica; I<sub>max</sub> = % de inibição máxima.

Conforme os dados demonstrados na tabela 3, o composto **6a** tem a capacidade de reduzir o íon férrico na concentração de 50 μM (p< 0,001). Os compostos **6b** e **6e** reduzem o íon férrico nas concentrações de 50 -100 μM. Os compostos **6d** e **6f** têm o potencial de redução nas concentrações de 10 -100 μM. Baseando-se nestes dados, os melhores compostos com potencial redutor do íon férrico são o **6d** e o **6f**. Todos os outros compostos (**6c**, **6g**, **6h**, **6i** e **6j**) não apresentaram efeito neste ensaio. Assim, os melhores compostos para a redução do íon férrico são as selênio aziridinas.

**Tabela 3:** Avaliação dos compostos selênio aziridinas e tio-aziridinas no teste do potencial redutor do íon férrico (FRAP).

Compostos	Concentrações (μM)		
	10	50	100
<b>6a</b>	0,451 ± 0,032	1,43 ± 0,32***	-
<b>6b</b>	0,257 ± 0,06	0,463 ± 0,14*	0,759 ± 0,15***
<b>6d</b>	0,315 ± 0,04**	0,773 ± 0,07***	1,258 ± 0,06***
<b>6e</b>	0,158 ± 0,06	0,819 ± 0,25***	1,144 ± 0,04***
<b>6f</b>	0,288 ± 0,02**	0,772 ± 0,007***	1,315 ± 0,05***

Os dados estão demonstrados ± SD (n=3) \*p< 0,05; \*\*p< 0,01; \*\*\*p< 0,001 (Newman-Keuls).

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que no teste de inibição da oxidação do ácido linoleico induzida por nitroprussiato de sódio, os compostos com maior potencial de inibição da peroxidação lipídica são a seleno aziridina **6a** e a tio-aziridina **6h**. Analisando a estrutura química dos compostos pode-se sugerir que por não possuírem substituintes, facilitaria a inibição da lipoperoxidação. No teste do potencial redutor do íon férrico, a melhor atividade foi observada nas seleno aziridinas **6d** e **6f**, que tiveram atividades a partir da concentração de 10 µM. Os compostos da classe das tio-aziridinas não apresentaram atividade neste ensaio. Com isso, pode-se concluir que as seleno aziridinas possuem um melhor potencial antioxidante frente aos compostos tio-aziridinas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- NIEDZIELSKI P.; RUDNICKA M.; WACHELKA M.; KOZAK L.; RZANY M.; WOZNIAK M.; KASKOW Z. Selenium species in selenium fortified dietary supplement. **Food Chemistry**. v.190, p. 454-459, 2015.
- BRIGELIUS-FLOHÉ R.; BANNING A. Part of the series: from dietary antioxidants to regulators in cellular signaling and gene regulation. Sulforaphane and selenium, partners in adaptive response and prevention of câncer. **Free Radicial. Research**, v.40, p. 775-787, 2006.
- CORRIGAN, F.M.; VAN RHIJN A.G.; IJOMAH G.; MCINTYRE F.; SKINNER E.R.; HORROBIN D.F. Reductions of zinc and selenium in brain in Alzheimer's Disease. **Journal Trace Elements Expert Medicine**, v.8, p.1-5, 1991.
- CHOI, C.W.; KIM, S.C.; HWANG, S.S.; CHOI, B.K.; AHN, H.J.; LEE, M.Y.; PARK, S.H.; KIM, S.K. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay Guided Comparison. **Plant Science**, v.153, p.1161-1168, 2002.
- DAI, L.X.; HOU, X.L.; ZHOU, Y.G. Stereoselective Reactions with imines. *Pure and Applied Chemistry*, v.71, n.6, p.1033-1040, 1999.
- Gil, M. V.; AREVALO, M. J.; LOPEZ, O. Click Chemistry - What's in a Name? Triazole Synthesis and Beyond. *Synthesis*, v.11, p.1589-1620, 2007.
- JÚNIOR, L.R.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, A.P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v.24, n.1, p.112-119, 2001.
- OLIVEIRA, I.P.; NEVES, B.P.; MOREIRA, F.P.; COSTA, K.A.P. Manejo sustentável nutrição mineral do nim indiano, v.16, p. Comunicado técnico 110, 2005.
- STRATIL, P.; KLEJDUS B.; KUBAN V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables- evaluation of spectrophotometric methods. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.54, n.3, p.607-16, 2006.
- NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, Brasil, v.104, n.12, p.6255-6285, 2004.
- SAVEGNAGO, L.; JESSE, C.R.; NOGUEIRA, C.W. Structural modifications into diphenyl diselenide molecule do not cause toxicity in mice. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Brasil, v.27, n.2, p.271-276, 2009.
- VICTORIA, F.N.; DÉBORA, M.M.; CASTRO, M.; CASARIL, A.M.; ALVES, D.; LENARDÃO, E.J.; SALLES, H.D.; SCHNEIDER, P.H.; SAVEGNAGO, L. Antioxidant properties of (R)-Se-aryl thiazolidine-4-carboselenoate. **Chemico-Biological Interactions**, Brasil, v.205, n.2, p.100-107, 2013.