

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CURCUMINAS *IN VITRO*

MARINA LAURA CHUPEL PIT TORRES<sup>1</sup>; CAREN RAMSON<sup>2</sup>; CAROLINE NICLODI<sup>3</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>4</sup>; ETHEL WILHELM<sup>5</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas — marinalaura\_@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas — carenramson@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas — caroline\_nicolodi@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas — claudiochemistry@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas — ethelwilhelm@yahoo.com.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas — cristiane\_luchese@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) bem como as de nitrogênio (ERNs), em concentrações normais, podem ser neutralizadas por defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (VALKO et al. 2007). O estresse oxidativo é ocasionado devido a um desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e as defesas antioxidantes, provocando assim alterações nos componentes celulares, como lipídios, proteínas e DNA (BIRBEN et al. 2012). Compostos que apresentam atividade antioxidante podem eliminar as espécies reativas e retardar e/ou prevenir o processo de peroxidação lipídica (AK, 2008).

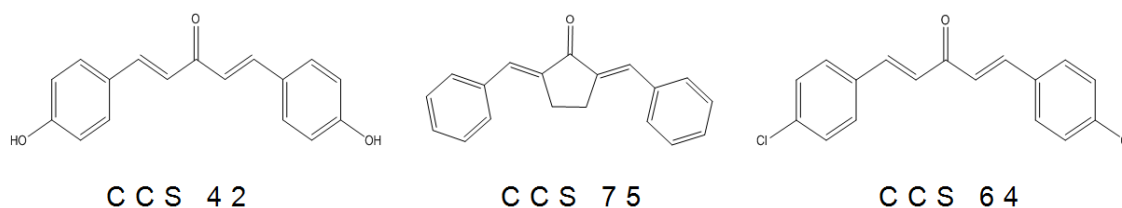
Neste contexto, destacam-se as curcuminas que apresentam propriedades antioxidantes, apresentando um papel importante contra patologias crônicas, aterosclerose e doenças neurodegenerativas (MENON, 2007). A atividade antioxidante das curcuminas pode ser proveniente da captação de átomos de hidrogênio a partir do grupo hidroxila livre. A doação de átomos de hidrogênio do grupo fenólico é responsável pelas propriedades antioxidantes das curcuminas (AK, 2008).

Considerando a necessidade da pesquisa de compostos antioxidantes capazes de reduzir o estresse oxidativo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antioxidante de diferentes curcuminas *in vitro*.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Síntese dos compostos

As curcuminas (Figura 1) foram sintetizados no Laboratório de Bio-orgânica e Lipidômica da Universidade Federal de Pelotas.



**Figura 1.** Estrutura química dos compostos sintéticos de curcuminas.

#### 2.2 Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O ensaio avaliou o potencial antioxidante contra a peroxidação lipídica de diferentes curcuminas (1, 10, 100, 200 e 500  $\mu\text{M}$ ). A peroxidação lipídica foi induzida com nitroprussiato de sódio (3 mM). Para a realização desse ensaio, utilizou-se fígados de camundongos machos Swiss. Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas preconizadas pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal da Universidade Federal de Pelotas (nº CEEA 1287/2016). Os tecidos foram homogeneizados com o Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 e centrifugados por 10 min a 900 xg. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio de TBARS. O teste foi realizado conforme descrito por OHKAWA et al. (1979). Os resultados foram expressos como porcentagem do induzido.

### 2.3 Atividade *scavenger* do radical 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6sulfônico) (ABTS)

O ensaio foi realizado para verificar a atividade *scavenger* de diferentes curcuminas (1, 10, 100, 200 e 500  $\mu\text{M}$ ) sobre o radical ABTS conforme descrito por RE et al. (1999). Este método consiste na capacidade dos compostos em neutralizar o radical livre ABTS, preferencialmente através da doação de elétrons e prótons, sendo observado através da redução da absorbância (SCOTTI, 2007). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem do controle. As leituras foram determinadas espectrofotometricamente em 734 nm.

### 2.4 Atividade *scavenger* do radical 2,2'-difênil-1-picril-hidrazila (DPPH)

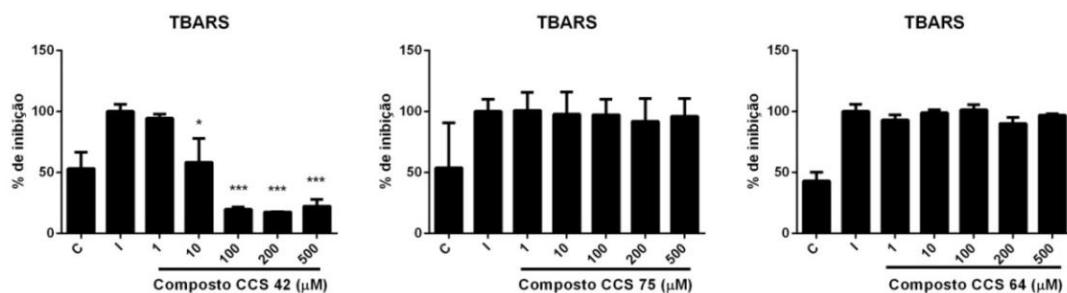
O ensaio foi realizado para verificar a atividade *scavenger* de diferentes curcuminas (1, 10, 100, 200 e 500  $\mu\text{M}$ ) sobre o radical DPPH conforme descrito por SHARMA et al. (2009). Este método avalia a capacidade do composto em sequestrar o radical livre sintético de coloração púrpura DPPH, através da doação de elétrons e prótons (NASCIMENTO, 2011). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem do controle. As leituras foram determinadas espectrofotometricamente em 517 nm.

### 2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

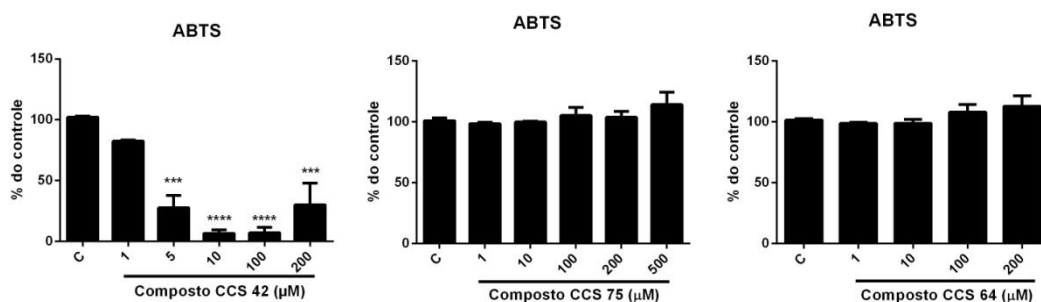
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 2 demonstra o efeito de diferentes curcuminas na peroxidação lipídica induzida por NPS em fígado de camundongos. De acordo com os resultados demonstrados na figura 2 pode-se observar que o composto CCS 42 foi capaz proteger contra o aumento nos níveis de TBARS a partir da concentração de 10  $\mu\text{M}$ . Por outro lado, os compostos CCS 75 e CCS 64 não apresentaram efeito em nenhuma das concentrações testadas. Entretanto, outros indutores da peroxidação lipídica, assim como outros testes devem ser utilizados para descartar o efeito antioxidante desses compostos.



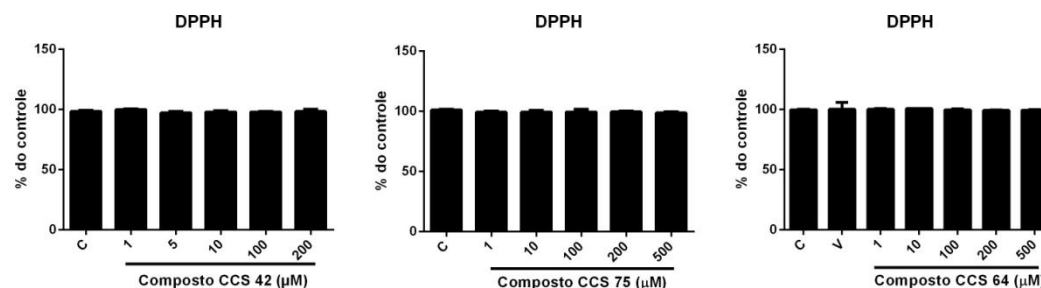
**Figura 2.** Efeito dos compostos sintéticos de curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64) na peroxidação lipídica induzida por NPS em fígado de camundongos. (\*)  $p < 0,05$ , (\*\*\*)  $p < 0,001$ , quando comparados com o induzido.

A figura 3 demonstra a atividade *scavenger* de diferentes curcuminas sobre o radical sintético ABTS. Os resultados da figura 3 demonstraram que o composto CCS 42 apresentou atividade *scavenger* sobre o radical sintético ABTS a partir da concentração de 5  $\mu\text{M}$ , quando comparado ao controle. Os compostos CCS 75 e CCS 64 não demonstraram atividade *scavenger* sobre o radical sintético ABTS em nenhuma das concentrações testadas.



**Figura 3.** Atividade neutralizadora do radical ABTS das curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64). (\*\*\*)  $p < 0,001$ , (\*\*\*\*)  $p < 0,0001$  quando comparado com o controle. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle  $\pm$  erro padrão.

A figura 4 apresenta a atividade *scavenger* de diferentes curcuminas sobre o radical sintético DPPH. De acordo com os resultados demonstrados na figura 4, nenhum dos compostos apresentou atividade *scavenger* do radical DPPH. Apesar disso, não pode ser descartada a possibilidade dos compostos CCS 75 e CCS 64 serem antioxidantes, visto que o mecanismo de ação desses compostos pode ser diferente em relação a outras moléculas já estudadas (LUCHESE et al. 2012; JUNG et al. 2002).



**Figura 4.** Atividade *scavenger* do radical DPPH das curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64). Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

#### 4. CONCLUSÕES

Neste sentido, o composto CCS 42, uma curcumina substituída com hidroxilas, apresentou atividade antioxidante por proteger contra a peroxidação lipídica induzida por NPS e neutralizar os radicais ABTS. Além disso, outros ensaios devem ser realizados objetivando complementar o estudo do efeito antioxidante do composto.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AK, T.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-biological Interactions**, [s.l.], v. 174, n. 1, p.27-37, 2008.
- BIRBEN, E.; SAHINER, U.M.; SACKESSEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**, Turkey, v. 5, n. 1, p.9-19, 2012.
- JUNG, C.; WASHBURN, M.P.; WELLS, W.W. Ebselen has dehydroascorbatereductase and thioltransferase-like activities. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.291, n.3, p.550-553, 2002.
- LUCHESSE, C.; BRANDÃO, R.; ACKER, C.I.; NOGUEIRA, C.W. 2,2'-Dipyridyldiselenide is a better antioxidant than other disubstituted diaryldiselenies. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.367, n.1-2, p.153-163, 2012.
- MENON, V.P.; SUDHEER, A.R. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [s.l.], p.105-125, 2007.
- NASCIMENTO, J.C.; LAGE, L.F.O.; CAMARGOS, C.R.D.; AMARAL, J.C.; COSTA, L.M.; SOUSA, A.N.; OLIVEIRA, F.Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da Bauhinia variegata L. **Revista Brasileira de Farmácia**, Belo Horizonte, v. 92, n. 4, p.327-332, 2011.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, Japão, v.95, n.2, p.351- 358, 1979.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical Biology Medicine**, v.26, n. 9-10, p.1231-1237, 1999.
- SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 2, p.153-166, jun. 2007.
- SHARMA, O.P.; BHAT, T.K.. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 113, n. 4, p.1202-1205, 2009.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s.l.], v.39, n.1, p.44-84, 2007.