

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CURCUMINAS *IN VITRO*

MARINA LAURA CHUPEL PIT TORRES¹; CAREN RAMSON²; CAROLINE NICOLODI³; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA⁴; ETHEL WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas — marinalaura_@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas — carenramson@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas — caroline_nicolodi@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas — claudiochemistry@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas — ethelwilhelm@yahoo.com.br

⁶Universidade 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.

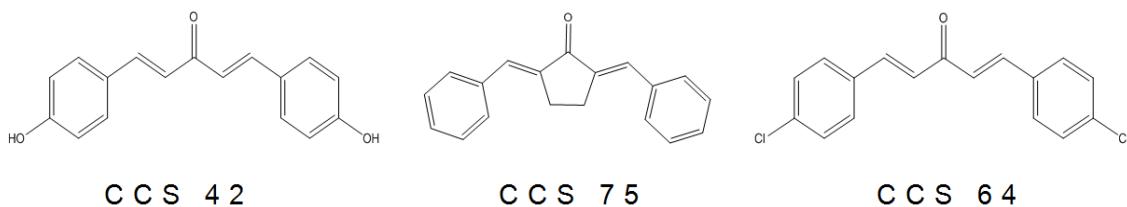


Figura 1. Estrutura química dos compostos sintéticos de curcuminas.

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 μ 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 μ 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'-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

O ensaio foi realizado para verificar a atividade *scavenger* de diferentes curcuminas (1, 10, 100, 200 e 500 μ 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 μ 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.

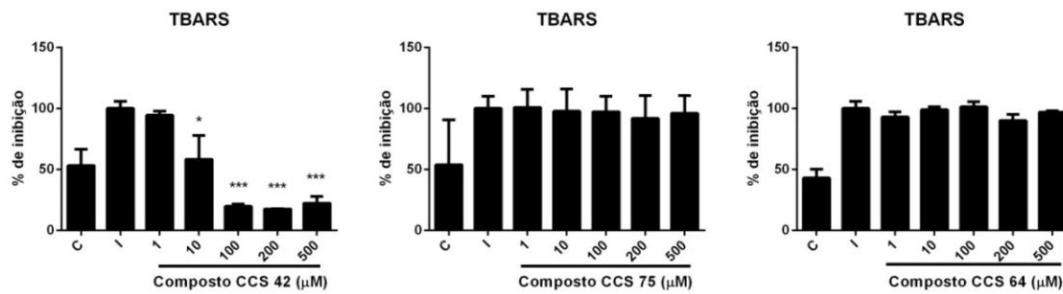


Figura 2. Efeito dos compostos sintéticos de curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64) na peroxidação lipídica induzida por NPS em fígado de camundongos. (*) p< 0,05, (*** p< 0,001, quando comparados com o induzido.

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 μM, 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.

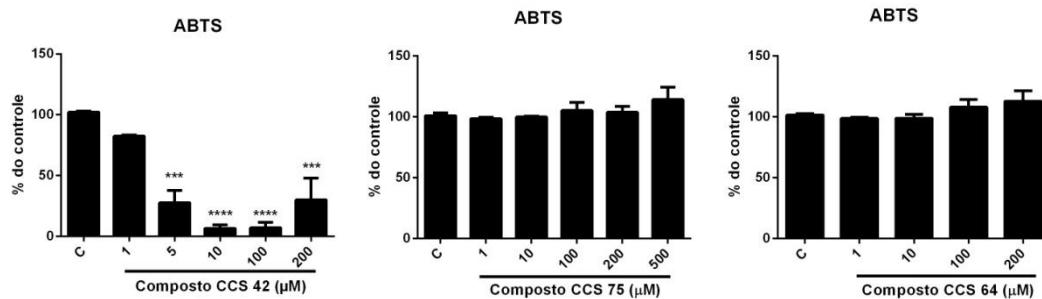


Figura 3. Atividade neutralizadora do radical ABTS das curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64). (*** p< 0,001, (****) p<0,0001 quando comparado com o controle. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle ± erro padrão.

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).

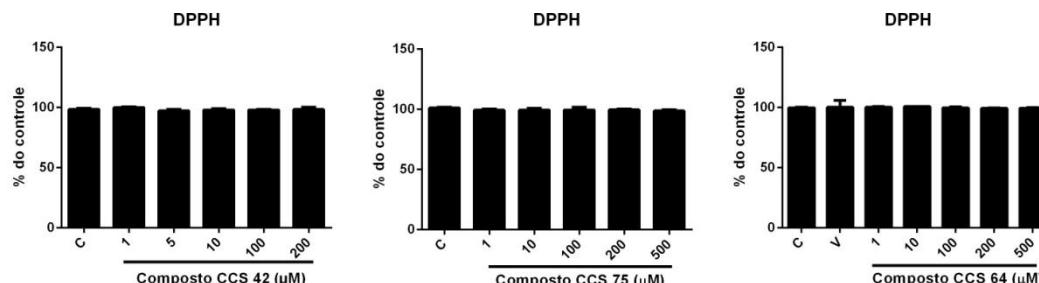


Figura 4. Atividade *scavenger* do radical DPPH das curcuminas (CCS 42, CCS 75 e CCS 64). Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

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.; SACKESEN, 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 dehydroascorbatedeductase and thioltransferase-like activities. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.291, n.3, p.550-553, 2002.
- LUCHESE, C.; BRANDÃO, R.; ACKER, C.I.; NOGUEIRA, C.W. 2,2'-Dipyridyldiselenide is a better antioxidant than other disubstituteddiaryldiselenies. **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 cationdecolorization assay. **Free radical Biology Medice**, 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.