

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS DERIVADOS DE α -AMINOFOSFÔNICOS

MILENE MARQUES FREITAS¹; ANE GABRIELA VOGT²; PATRÍCIA CECÍLIA DA SILVA³; MÁRCIO SANTOS SILVA⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas - milene.freitas-@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - aneg.vogt@gmail.com

³Universidade Federal do ABC – paticsilva@hotmail.com

⁴Universidade Federal do ABC - s.marcio@ufabc.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientador)

⁶Universidade Federal de Pelotas - ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientador)

1. INTRODUÇÃO

Atualmente existe um grande interesse no estudo de antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito das espécies reativas (ERs) no organismo. Durante os processos metabólicos, as ERs atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Porém, a produção excessiva destas e/ou uma diminuição no sistema de defesa antioxidante, podem gerar um processo chamado de estresse oxidativos (EO), e este processo por sua vez, pode conduzir a danos oxidativos (SHAMI et al., 2004), tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e injúria às proteínas, às enzimas, carboidratos e DNA. Além disso, sabe-se que o processo de EO, está envolvido na patogênese de diversas doenças e processos neurodegenerativos, tais como demência, inflamação, envelhecimento, entre outras (HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2015).

Neste contexto, tem se intensificado o interesse em sintetizar moléculas orgânicas com potencial antioxidante para prevenir e/ou combater essas patologias (SAVEGNAGO et al., 2013, WILHELM et al., 2017). Neste contexto, destacam-se os compostos derivados de α -aminofosfônicos, devido as suas atividades biológicas (SHAIKH et al., 2016). Os derivados de α -aminofosfônicos são importantes na química farmacêutica por serem análogos estruturais dos α -aminoácidos, podendo ser utilizados como antibióticos, anticancerígenos, inibidores de enzimas, mimetizadores de peptídios e para o tratamento de outras patologias que envolvem os processos de EO (MULLA et al., 2014). Paralelamente os derivados de α -aminofosfônicos, estão os compostos de selênio, sendo que os mesmos são amplamente estudados, e apresentam importantes propriedades antioxidantes (PINZ et al., 2016, WILHELM et al., 2017).

Levando em consideração a eficácia relatada de compostos derivados de α -aminofosfônicos e de compostos de selênio, e sabendo a necessidade de pesquisa relacionada a novos compostos com potencial contra danos oxidativos, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito antioxidante de derivados de α -aminofosfônicos contendo selênio, e os possíveis mecanismos envolvidos nessa ação.

2. METODOLOGIA

2.1. Síntese dos compostos

Os compostos organoselânio α -aminofosfônico (figura 1) foram sintetizados e caracterizados na Universidade Federal do ABC.

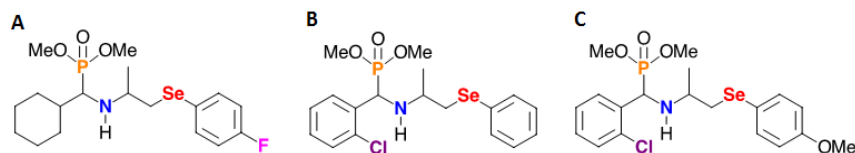


Figura 1. Estrutura química dos compostos organoselânio α -aminofosfônico A, B e C.

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

O potencial inibitório dos compostos A, B e C (1, 10, 100, 200 e 500 μ M) contra a peroxidação lipídica induzida pelo nitroprussiato de sódio (NPS) foi avaliado através do ensaio de TBARS (OHKAWA, 1979). Para a realização desse ensaio, foi utilizado fígado de camundongos machos Swiss, segundo o Comitê de Ética nº1287/2016. Os tecidos foram homogeneizados com Tris HCl 50 mM, pH 7,4 e centrifugados a 900xg. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio do TBARS. Nessa reação o malondialdeído (MDA) se liga ao TBA formando o complexo MDA-TBA, em meio ácido, determinado espectrofotometricamente a 532 nm. Os resultados foram expressos como porcentagem do induzido.

2.3. Atividade *scavenger* do radical 2,2'-difênol-1-picril-hidrazil (DPPH)

O método de DPPH consiste em avaliar a capacidade dos compostos em sequestrar o radical livre sintético de coloração púrpura DPPH, através da doação de prótons e/ou elétrons, sendo este resultado observado através do decréscimo de sua absorvância. As diferentes concentrações dos compostos A, B e C (1, 10, 100, 200 e 500 μ M) foram adicionadas a solução do radical DPPH em etanol e estas incubadas à 30°C por 30 minutos na ausência de luz. Após, as amostras foram lidas em um espectrofotômetro no comprimento de onda 517 nm (CHOI et al., 2002). Os resultados foram expressos como porcentagem do controle.

2.4. Atividade *scavenger* do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS)

O ensaio consiste em avaliar a capacidade do composto em neutralizar o radical livre sintético ABTS, de coloração verde, através da redução da absorvância pela doação de elétrons do composto para o radical (RE et al., 1999). As diferentes concentrações dos compostos A, B e C (1, 10, 100 e 200 μ M) foram incorporadas a solução do radical ABTS em tampão fosfato de sódio (TFK) e estas incubadas em temperatura ambiente por 30 minutos na ausência de luz. Após, as amostras foram lidas no espectrofotômetro a 734 nm. Os resultados foram expressos como porcentagem do controle.

2.6. Análise estatística

Os dados dos ensaios foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os dados foram expressos como média \pm S.E.M. Os valores de probabilidade inferiores a 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar o potencial antioxidante das moléculas sintetizadas, realizaram-se diferentes ensaios *in vitro*. Conforme demonstrado na Figura 2, os compostos A, B e C (500 μ M) reduziram a peroxidação lipídica induzida pelo NPS.

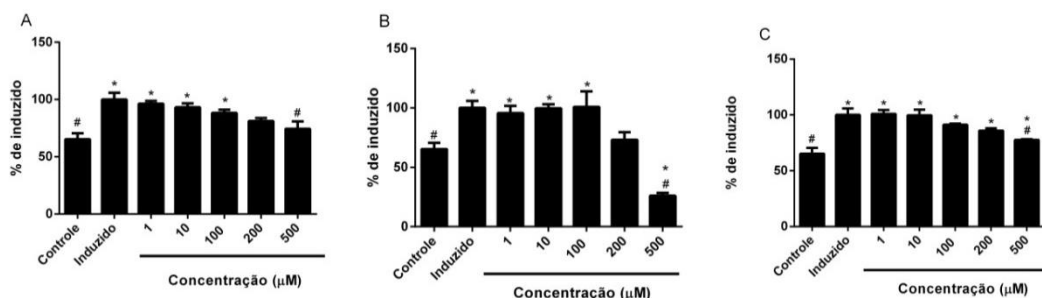


Figura 2. Efeito dos compostos α-aminofosfônicos A, B e C na peroxidação lipídica induzida por NPS em fígado de camundongos. $p < 0,05$ quando comparados com (#) induzido e (*) controle.

A partir dos resultados obtidos foi possível calcular a inibição máxima apresentada por cada um dos compostos, onde o composto A apresentou $I_{\max} \cong 25,5 \pm 6,4$, B $I_{\max} \cong 73,9 \pm 2,4$ e C $I_{\max} \cong 22,3 \pm 0,5$, sugerindo assim que o composto A manifesta maior capacidade inibitória contra a peroxidação lipídica.

Para ampliar o conhecimento do potencial antioxidante dos compostos α-aminofosfônicos, os ensaios DPPH e ABTS foram realizados. Conforme verificado na Figura 3, os compostos A, B e C, nas concentrações testadas, não apresentam atividade neutralizadora de radicais DPPH, sugerindo que este não é o mecanismo pelo qual os compostos exibem sua ação antioxidante.

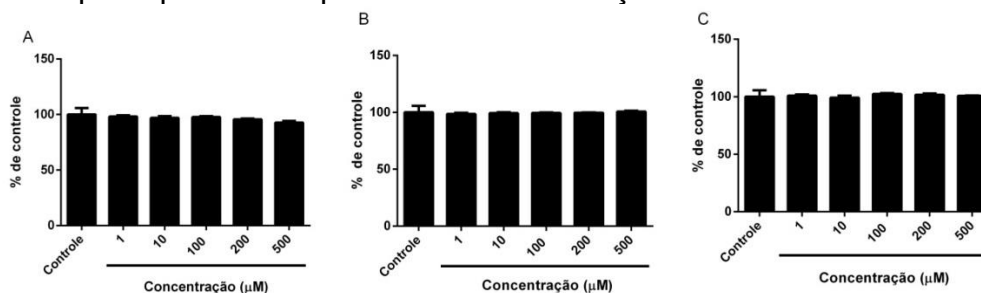


Figura 3. Avaliação da atividade *scavenger* do radical DPPH dos compostos α-aminofosfônicos A, B e C.

Outro resultado interessante encontrado no presente estudo foi que o composto A (em concentração igual a 100 μM) apresentou atividade *scavenger* de radicais ABTS. Em contraste, os compostos B e C não apresentaram atividade de eliminação de radicais ABTS (Figura 4).

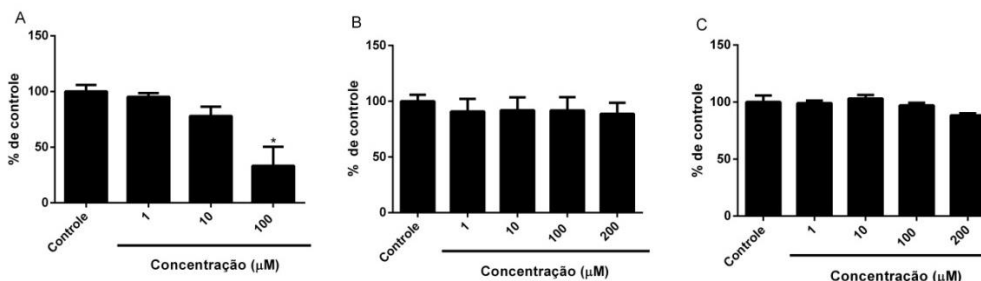


Figura 4. Avaliação da atividade *scavenger* do radical ABTS dos compostos α-aminofosfônicos A, B e C. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

A determinação da atividade *scavenger* de radicais ABTS dos compostos A, B e C não foi realizada em concentração superiores, pois o meio de reação se tornou turvo.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que esta classe de compostos tem um potencial importante para atuar contra o estresse oxidativo. Através dos resultados pode-se sugerir que a introdução de diferentes substituintes na estrutura dos compostos contribui consideravelmente para o efeito antioxidante.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, Korea, v.153, p.1161-1168, 2002.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical Biology & Medicine**, Oxford, Oxford Science Publications, v.5, 2015.

HUGHES, A.; EDS, V. P.; KUKHAR; VADIM, R. Amino Acids, Peptides, and Proteins in Organic Chemistry: Modified Amino Acids, Organocatalysis and Enzyme. **Wiley-VCH**, Weinheim, v.2, p.189-260, 2009.

MULLA, S. A. R.; PATHAN, M. Y.; CHAVAN, S. S.; GAMPLE, S. P.; SARKAR, D. Highly efficient one-pot multi-component synthesis of α -aminophosphonates and bis- α -aminophosphonates catalyzed by heterogeneous reusable silica supported dodecatungstophosphoric acid (DTP/SiO₂) at ambient temperature and their antitubercular evaluation against Mycobacterium Tuberculosis. **RSC Advances**, v.4, p.7666-7672, 2014.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, 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, p.1231-1237, 1999.

SHAIKH, M. H.; SUBHDARI, D. D.; KHAN, F. A. K.; SANGSHETTI, J. N.; SHINGATE, B. B. [Et₃NH][HSO₄]-catalyzed one-pot, solvent-free synthesis and biological evaluation of α -amino phosphonates. **Research on Chemical Intermediates**, v.42, p.5115-5131, 2016.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Lycopene as an antioxidant agent. **Revista de Nutrição**, São Paulo, v.17, n.2, p.277-236, 2004.

SAVEGNAGO, L.; VIEIRA, A. I.; SEUS, N.; GOLDANI, B. S.; CASTRO, M. R.; LENARDÃO, E. J.; ALVES, D. Synthesis and antioxidant properties of novel quinoline-chalcogenium compounds. **Tetrahedron Letter**, v.54, p.40-44, 2013.

WILHELM, E. A.; FERREIRA, A. T.; PINZ, M. P.; DOS REIS, A.; VOGT, A. G.; STEIN, A. L.; ZENI, G.; LUCHESE, C. Antioxidant effect of quinoline derivatives containing or not selenium: Relationship with antinociceptive action quinolines are antioxidant and antinociceptive. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.89, p.457-467, 2017.