

ATIVIDADE SCAVENGER DE 2-FENIL-3-(FENILTIO) INDOLIZINAS SOBRE O RADICAL ABTS^{•+}

CLEISSON SCHOSSLER GARCIA¹; FILIPE PENTEADO²; CAROLINE S. GOMES²; ÉDER J. LENARDÃO²; CRISTIANI F. BORTOLLATO¹; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING¹

¹ Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular, Universidade Federal de Pelotas – cleissonschossler@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br

² Laboratório de Síntese Orgânica Limpa, Universidade Federal de Pelotas.

1. INTRODUÇÃO

O termo radical livre refere-se a um átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (FERREIRA, A.L.A. & MATSUBARA, L.S., 1997), sendo assim, uma molécula instável. Para que ocorra a estabilidade da camada eletrônica, essa molécula adquire elétrons em outros compostos químicos, resultando na oxidação dos mesmos e na consequente instabilidade celular. Segundo MELLO, A.C.F. *et al.* (1983), radical livre não é o termo ideal para designar os agentes patogênicos, pois alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. Como em sua maioria são derivados do metabolismo do oxigênio, o mesmo é designado como “espécies reativas do metabolismo do oxigênio”.

Quando tem-se espécies reativas em excesso, as mesmas estão associadas a lesões celulares como a peroxidação de lipídeos, a oxidação de proteínas, a inativação enzimática, ativação excessiva de genes pró-inflamatórios [fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (IL)], danos ao DNA e aumento do risco de câncer (SILVA, W.J.M. & FERRARI, C.K.B., 2011). As espécies reativas são essenciais para um bom funcionamento do metabolismo, no entanto quando há um desequilíbrio desses radicais ocorre o denominado estresse oxidativo. A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses (BARBOSA, K.B.F. *et al.* 2010). O estresse oxidativo está associado à patogênese de diversas doenças, como aterosclerose, doença de Parkinson e doença de Alzheimer (MEDEIROS, M.S., 2014).

Compostos químicos contendo o núcleo indolizínico estão sendo bastante estudados devido a suas atividades farmacológicas. Alguns compostos dessa classe apresentam atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, dentre outras (SHARMA, V.; KUMAR, V., 2014). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade *scavenger* de um grupo de compostos sintéticos da classe das tioindolizina, 2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN) e derivados substituídos (Fig.1), frente ao radical sintético ABTS^{•+}, cuja finalidade é determinar se o composto tem a capacidade de neutralizar o radical livre.

2. METODOLOGIA

A síntese da 2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN1) e dos derivados substituídos (SIN2-5) foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas. A atividade *scavenger* dos compostos foi avaliada através do protocolo descrito por RE *et al.* (1999).

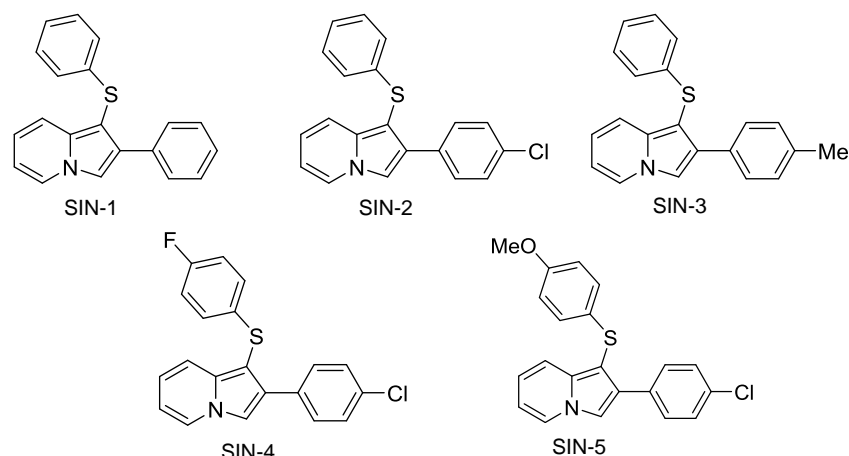


Figura 1. Estrutura química da 2-fenil-3-(feniltio) indolizina (SIN1) e derivados substituídos (SIN2-5)

Os compostos foram diluídos em DMSO e testados nas concentrações de 1 à 25 μM . O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo, nas mesmas concentrações. Inicialmente foi realizado o preparo da solução estoque de $\text{ABTS}^{+\bullet}$ (solução aquosa de ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) 7mM). O radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ foi produzido reagindo a solução estoque com persulfato de potássio, na concentração final de 2.45 mM, à temperatura ambiente e no escuro, durante 12-16h antes do uso. No dia do ensaio, a solução de ABTS foi diluída em TFK 10 mM, pH 7,0, 1:88 (vol/vol).

Um volume de 10 μL de cada concentração dos compostos SIN (1-5) ou ácido ascórbico foi adicionado à 1 mL de solução de $\text{ABTS}^{+\bullet}$ diluída. Após 30 min de incubação à temperatura ambiente e no escuro, a atividade *scavenger* dos compostos SIN bem como do ácido ascórbico foi avaliada pela percentagem de inibição da absorbância à 734 nm.

A análise estatística foi realizada por ANOVA unidirecional seguido pelo teste de Newman-Keuls. Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média. Valores de (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ foram considerados significativamente diferentes quando comparado ao grupo controle. A concentração que inibe 50% do radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ (CI_{50}) foi calculada por regressão não linear a partir de experimentos individuais e expressa como média acompanhada dos limites de confiança de 95%. A inibição máxima ($I_{\text{máx}}$) foi calculada na concentração mais efetiva utilizada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os compostos apresentaram atividade *scavenger* de maneira similar ao controle positivo ácido ascórbico, como demonstrado na figura 1.

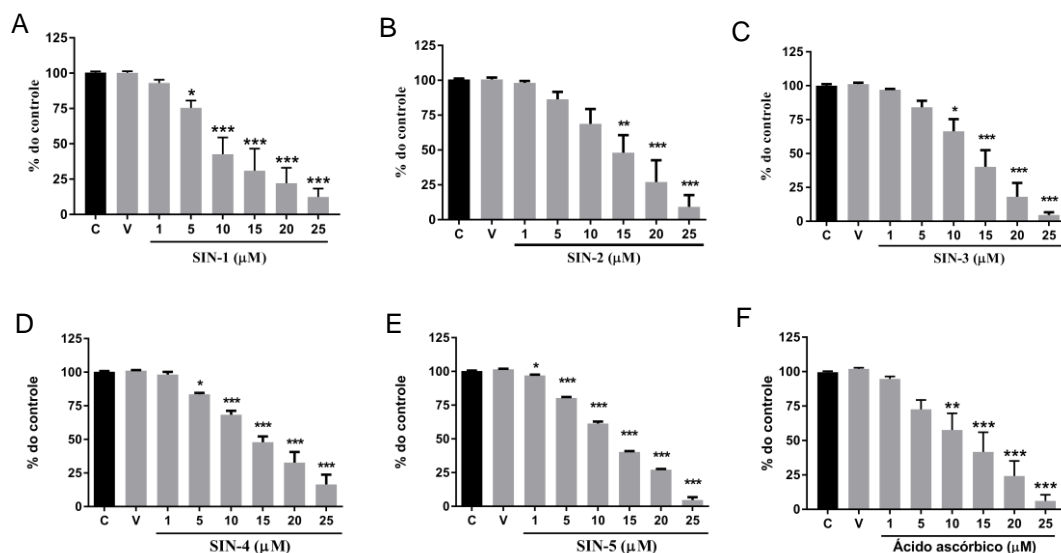


Figura 1. Avaliação da atividade *scavenger* do radical ABTS dos compostos SIN1-5 (A-E) e do controle positivo ácido ascórbico (F). (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle.

Os valores de Cl_{50} e $I_{máx}$ de cada molécula SIN e do ácido ascórbico foram similares e estão demonstrados na tabela 1. Protótipo da classe, o SIN1 apresentou o menor valor de Cl_{50} , inclusive em relação ao controle positivo.

Tabela 1 – Valores de Cl_{50} e $I_{máx}$ para os compostos SIN e ácido ascórbico no teste do ABTS

	Cl_{50} (µM)	$I_{máx}$ (%)
SIN1	8,971 (7,164–11,23)	88 ± 6
SIN2	13,48 (11,17–16,27)	91 ± 8
SIN3	12,24 (10,52–14,23)	95 ± 2
SIN4	13,73 (12,27–15,36)	83 ± 7
SIN5	11,7 (10,7–12,79)	95 ± 2
Ácido ascórbico	10,83 (8,354–14,05)	94 ± 4

4. CONCLUSÕES

A 2-fenil-3-(feniltio) indolizina e seus derivados substituídos apresentaram atividade *scavenger* do radical ABTS^{•+} com Cl_{50} similares ao controle positivo ácido ascórbico. Mediante investigações mais aprofundadas, esses compostos poderiam ser utilizados para neutralizar radicais livres que estão associados à patogênese de diversas doenças.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, K.B.F.; COSTA N.M.B.; ALFENAS, R.C.G; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Oxiadative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de nutrição**. Viçosa, 23(4):629-643, jul./ago., 2010.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, vol. 43, n. 1, 1997.

MEDEIROS, M.S.; **Associação entre Metabolismo do Ferro e Estresse Oxidativo em Pacientes de Parkinson**. 2014. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas.

MELLO, A.C.F.; HOFFMAN, M.E.; MENEHINI, R.; Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem. J**, 1983; 218: 273-5.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26, 1231-1237, 1999.

SHARMA, V.; KUMAR, V.; Indolizine: a biologically active moiety. **Medicinal Chemistry Research**, New York, p. 01-14, 2014.

SILVA, W.J.M.; FERRARI, C.K.B; Mitocondrial Metabolism, Free Radical and Aging. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro, 14(3)441-451, 2011.

Documentos eletrônicos:

INSTITUTO NACIONAL DE TELECOMUNICAÇÕES. **O que são radicais livres**. Inatel, Santa Rita do Sapucaí, 25 abr. 2008. Informativos. Acessado em 03 ago. 2018. Online. Disponível em: <https://www.inatel.br/cipa/index.php/informativos/34-o-que-sao-radicaais-livres>