

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE NOVOS DERIVADOS DE INDOL CONTENDO SULFETOS VINÍLICOS

THALIA DE SOUZA AMARAL LEMOS¹; ANA PAULA BONATO WILLE²;
NATHAN PINTO BRITES³; RICARDO FREDERICO SCHUMACHER⁴;
CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – thaliaamaral8@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - anapaulabonatowille@gmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – nathambrites@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – ricardo.schumacher@ufts.br

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

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

1. INTRODUÇÃO

As espécies reativas (ER) são moléculas de natureza instável originadas a partir do metabolismo celular (WANG; WANG, 2020). Em condições fisiológicas, essas espécies auxiliam em processos críticos para a manutenção da homeostase redox, incluindo a síntese de substâncias biológicas e a sinalização e defesa celular (ZHAO et al., 2019). No entanto, quando em excesso, as ER têm o potencial de ocasionar modificações oxidativas em componentes celulares vitais, tais como lipídeos e proteínas. O acúmulo desses danos oxidativos constitui um mecanismo fisiopatológico que se manifesta em diversas doenças, em especial degenerativas e neurodegenerativas, incluindo câncer, diabetes e demência (SIES, 2020).

Nesse contexto, é essencial a busca por novas moléculas polifuncionais capazes de minimizar os danos oxidativos decorrentes do desequilíbrio redox (ZHAO et al., 2019). Os compostos indólicos têm se destacado por suas promissoras propriedades biológicas, dentre elas anti-inflamatória (KUMARI; SINGH, 2019), antitumoral (DADASHPOUR; EMAMI, 2018), antibactericida (SONG et al., 2020) e especialmente, antioxidante (KUMARI; SINGH, 2019). Ainda, destaca-se que a síntese de derivados indólicos contendo porções organossulfuradas é considerada uma estratégia eficaz para preparação de moléculas com maior bioatividade e biodisponibilidade (KUMARI; SINGH, 2019).

Dessa forma, considerando os benefícios biológicos dos derivados indólicos e a necessidade de abordagens terapêuticas inovadoras para a prevenção dos danos oxidativos, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito antioxidant *in vitro* dos compostos (Z)-1-benzil-3-(2-((ciclopentilidenometil)tio)vinil-1*H*-indol (**A**) e ((*E*)-2-(1-benzil-1*H*-indol-3*il*)vinil)((Z)-2-(1-benzil-1*H*-indol-3-*il*)vinil)sulfano (**B**).

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese dos compostos

Os compostos **A** e **B** (Figura 1) foram sintetizados no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), de acordo com BRITES et al. 2022. Para a realização dos ensaios os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO), nas concentrações finais de 1, 10, 50, 100, 200 e 500 µM.

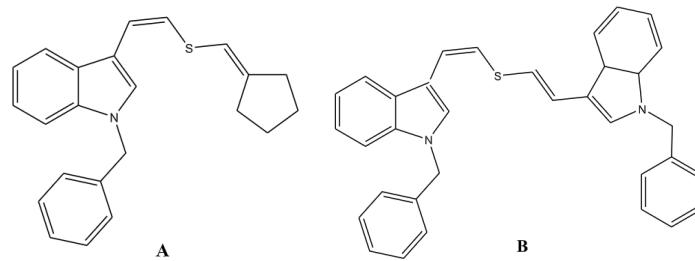


Figura 1. Estrutura química dos compostos (Z)-1-benzil-3-(2-((ciclopentenilidenometil)thio)vinil-1H-indol (**A**) e ((E)-2-(1-benzil-1H-indol-3-il)vinil)((Z)-2-(1-benzil-1H-indol-3-il)vinil)sulfano (**B**).

2.2 Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Este ensaio avaliou o efeito protetor dos compostos **A** e **B** contra a peroxidação lipídica induzida por nitroprussiato de sódio (NPS) no fígado de ratos, conforme OHKAWA; OHISHI; YAGI (1979). Inicialmente, as amostras de fígado foram homogeneizadas, e o sobrenadante (S_1) foi coletado. Após, uma alíquota do S_1 foi adicionada a um meio contendo diferentes concentrações dos compostos **A** e **B** (1-500 μ M), tampão Tris HCl 50 mM e NPS 50 μ M. Após a incubação de 1 hora a 37 °C, foram adicionados ao meio, ácido tiobarbitúrico 0,8%, tampão ácido acético (pH 3,4) e dodecilsulfato de sódio 8,1%. A reação foi incubada a 95 °C por 2 horas. Posteriormente, a leitura foi realizada espectrofotometricamente no comprimento de onda de 532 nm. O resultado foi expresso como nmol de malondialdeído (MDA)/mg de proteína. Para a realização deste ensaio, as amostras de fígado foram retiradas de ratos obtidos de uma colônia de criação local da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 1287-2016; CEEA 4506-2017).

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

O ensaio descrito por RE et al. (1999) foi utilizado para avaliar a capacidade dos compostos **A** e **B** de estabilizar o radical ABTS⁺, através da doação de prótons. Para isso, uma solução rica em radicais ABTS⁺, diluída em tampão fosfato de potássio (TFK) foi adicionada em um meio contendo diferentes concentrações dos compostos **A** e **B** (1-500 μ M). A reação foi incubada durante 30 minutos na ausência de luz. A leitura foi realizada no comprimento de onda de 734 nm e os resultados foram expressos como porcentagem do controle. Para fins comparativos, o ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo.

2.4 Atividade *scavenger* do radical 2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

O ensaio do radical DPPH, descrito por CHOI et al. (2002), é utilizado para avaliar a capacidade dos compostos **A** e **B** em estabilizar o radical livre sintético DPPH, por meio da doação de prótons e/ou elétrons. Para isso, adicionou-se uma solução metanólica rica em radicais DPPH a um meio contendo diferentes concentrações dos compostos **A** e **B** (1-500 μ M). A reação foi incubada durante 30 minutos na ausência de luz e lida no comprimento de onda de 517 nm. Os resultados foram expressos como porcentagem do controle. Para fins comparativos, o ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo.

2.5 Análise estatística

A análise dos dados foi conduzida utilizando o Software GraphPad Prism 8. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade de D'Agostino e Pearson, seguido da aplicação da análise de variância unidirecional (ANOVA) de

uma via, com subsequente emprego do teste de Tukey. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando analisar a atividade antioxidante dos compostos **A** e **B**, o ensaio dos níveis de TBARS *in vitro* foi realizado. De acordo com os resultados apresentados na Figura 2, o composto **A** atenuou a peroxidação lipídica hepática induzida por NPS, em concentrações iguais ou superiores a 1 μM (1-500 μM). Em contrapartida, o composto **B** exerceu efeito protetor contra a oxidação lipídica hepática apenas nas concentrações de 1 e 10 μM .

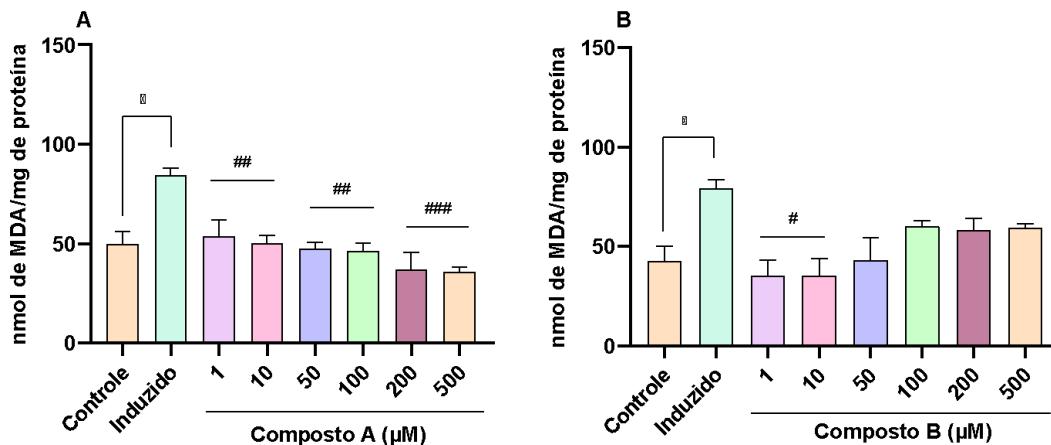


Figura 2. Efeito dos compostos **A** (A) e **B** (B) na formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) induzidas por NPS no fígado de ratos. Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M, para três experimentos distintos, realizados em dias diferentes. (*) $p < 0,05$ em comparação ao Controle. (#) $p < 0,05$; (##) $p < 0,01$ e (####) $p < 0,001$ em comparação ao Induzido (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

Com o objetivo de explorar os mecanismos pelos quais os compostos **A** e **B** exercem esse efeito antioxidante, os ensaios de eliminação dos radicais ABTS⁺ e DPPH foram realizados. Em relação a doação de prótons, analisada no ensaio do radical ABTS⁺ (Fig. 3), o composto **A** apresentou efeito *scavenger* em concentrações a partir de 10 μM (10-500 μM) (Fig. 3A), enquanto o composto **B** apresentou o mesmo efeito em concentrações a partir de 50 μM (50-500 μM) (Fig. 3B). No ensaio do radical DPPH, que avalia a doação de prótons e/ou elétrons, o composto **B** foi capaz de estabilizar este radical a partir da concentração de 200 μM (200-500 μM) (Fig. 3E), enquanto o composto **A** apresentou essa atividade somente na concentração de 500 μM (Fig. 3D).

Por sua vez, o ácido ascórbico, utilizado como controle positivo, foi capaz de eliminar os radicais ABTS⁺ (Fig. 3C) e DPPH (Fig. 3F) em todas as concentrações analisadas (1-500 μM).

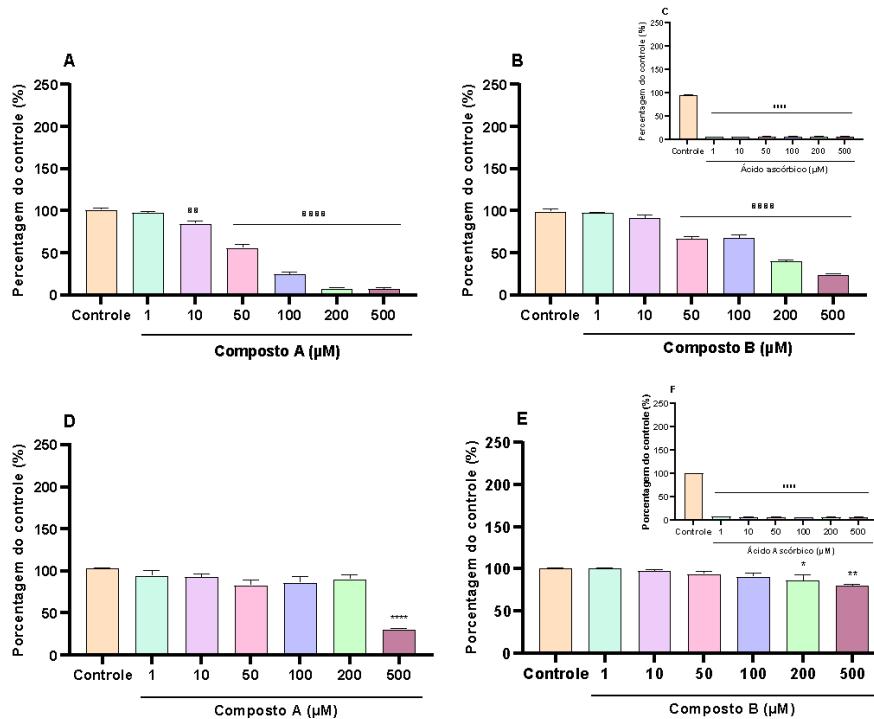


Figura 3. Efeito dos compostos **A**, **B** e do ácido ascórbico no ensaio dos radicais ABTS⁺ (A, B e C, respectivamente) e DPPH (D, E e F, respectivamente). Os resultados foram expressos como média ± E.P.M, para três experimentos distintos, realizados em dias diferentes. (*) p< 0,05; (**) p<0,01 e (****) p<0,0001 em comparação ao Controle.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que os compostos **A** e **B** são promissores agentes antioxidantes, pois apresentaram capacidade de diminuir a peroxidação lipídica e estabilizar os radicais ABTS⁺ e DPPH. Apesar disso, mais estudos são necessários para elucidar seu potencial farmacológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DADASHPOUR, S.; EMAMI, S. Indole in the target-based design of anticancer agents: A versatile scaffold with diverse mechanisms. **European Journal of Med Chem**, v. 150, p. 9–29, abr. 2018.
- KUMARI, A.; SINGH, R. K. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic prospectives. **Bio Chem**, v. 89, p. 103021, ago. 2019.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem.**, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad Biol Med**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999.
- SIES, H. Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 852, 10 set. 2020.
- SONG, F. et al. Indole/isatin-containing hybrids as potential antibacterial agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 353, n. 10, p. 2000143, out. 2020.
- WANG, J.; WANG, S. Reactive species in advanced oxidation processes: Formation, identification and reaction mechanism. **Chem Eng Jour**, v. 401, p. 126158, dez. 2020.
- ZHAO, R.-Z. et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). **Inter Jour of Molec Med**, v. 44, n. 1, p. 3–15, jul. 2019.