

## AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DO DISSELENETO DE BIS(3-INDOLILA)

KELLEN BÖHLKE THUROW<sup>1</sup>; MARCIA JUCIELE DA ROCHA<sup>2</sup>; JOÃO MARCOS ANGHINONI<sup>3</sup>; SABRINA SOUZA FERREIRA<sup>4</sup>; ÉDER JOÃO LENARDÃO<sup>5</sup>; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) - Universidade Federal de Pelotas – kellenthurow5@gmail.com;

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – marciajr\_15@hotmail.com;

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – joaomarcos9641@gmail.com;

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – sabrinaasouzaaf@gmail.com;

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – elenardao@uol.com.br;

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br.

### 1. INTRODUÇÃO

O oxigênio é um elemento químico altamente reativo que tem a capacidade de formar facilmente óxidos quando entra em contato com a maioria dos elementos e compostos químicos. Na atmosfera, o oxigênio existe em seu estado fundamental onde duas moléculas de oxigênio estão ligadas juntas e compartilham dois elétrons desemparelhados com spins paralelos em seus orbitais antiligantes separados. Essa configuração de elétrons desemparelhados é crucial porque permite ao oxigênio aceitar um par de elétrons de um doador de elétrons durante reações químicas. Esse processo, conhecido como reação redox, envolve a transferência de elétrons de uma espécie para outra que em organismos vivos é vital, pois constituem a cadeia de reações químicas que usam o oxigênio do ar para oxidação e para produzir energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) que é essencial para o funcionamento do sistema biológico (DI MEO; VENDITTI, 2020).

No entanto, quando o fluxo de elétrons não ocorre de maneira eficiente pode levar à geração de radicais livres que são átomos, moléculas ou íons que possuem elétrons desemparelhados em sua estrutura, tornando-os altamente instáveis e reativos em reações químicas com outras moléculas. Os radicais livres derivam principalmente de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre. Os radicais livres centrados no oxigênio, são conhecidos como espécies reativas de oxigênio (EROs), incluem o superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), peróxil ( $ROO^{\cdot}$ ), alcóxil ( $RO^{\cdot}$ ) e óxido nítrico ( $NO^{\cdot}$ ). Essas EROs podem causar danos às células e biomoléculas se não forem controladas adequadamente (FORMAN; ZHANG, 2021).

Para controlar a quantidade de EROs, o organismo apresenta antioxidantes endógenos como a glutatona, catalase e a superóxido dismutase que são substâncias capazes de atrasar ou inibir a oxidação de uma substância oxidável. O desequilíbrio resultante entre pró-oxidantes e antioxidantes ocasiona o estresse oxidativo. Esse estresse desregula funções celulares e leva a condições patológicas como doenças neurodegenerativas, câncer e ao envelhecimento (GULCIN, 2020).

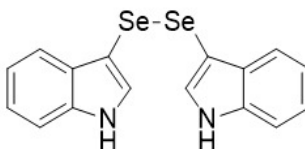
Para retardar ou até mesmo impedir a formação de EROs são empregados antioxidantes exógenos, como a vitamina C, vitamina E, flavonóides e carotenóides que podem ser encontrados em produtos vegetais. Os antioxidantes desempenham um papel fundamental na proteção contra os danos causados pelos radicais livres, atuando de forma precisa ao transferir um átomo de hidrogênio e um elétron para neutralizá-los. Essas substâncias antioxidantes,

quando presentes em quantidades ínfimas tanto nos alimentos quanto no corpo humano, manifestam a notável capacidade de retardar, controlar e até prevenir processos oxidativos. A complexidade desse mecanismo de proteção envolve uma variedade de métodos e atividades que colaboram no processo de inibição da oxidação mediada pelos antioxidantes. Esses agentes antioxidantes não somente atuam como doadores de hidrogênio, mas também exercem a função de receptores de radicais livres, gerando radicais mais estáveis que interrompem a perigosa cascata de oxidação, assegurando assim a manutenção da saúde e a preservação da qualidade dos alimentos (MUNTEANU; APETREI, 2021).

O selênio é um elemento essencial que possui importantes funções antioxidantes em pequenas concentrações, pois é parte essencial de importantes enzimas antioxidantes (KIEŁCZYKOWSKA et al., 2018). Nesse sentido, diferentes autores relataram que compostos orgânicos de selênio apresentam ação do tipo antioxidante (YADAV et al., 2023; BOCCHINI et al., 2021). Além disso, o grupo indol é importante para atividade antioxidante, por ser uma das mais abundantes estruturas heterocíclicas com ação farmacológica na natureza, é encontrada, por exemplo, na serotonina (CASARIL et al., 2017). Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do disseleneto de bis(3-indolila) (DBI) frente ao teste da atividade *scavenger* do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), visto que este composto possui em sua estrutura tanto o selênio como o grupo indol.

## 2. METODOLOGIA

O composto DBI (figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEl).



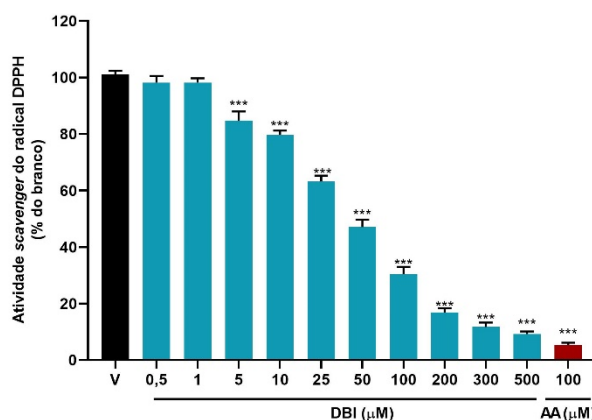
**Figura 1:** Estrutura química do disseleneto de bis(3-indolila) (DBI).

Para investigar o efeito antioxidante do composto DBI foi realizado o teste DPPH em solução alcóolica. O composto foi testado nas concentrações de 0,5µM a 500µM, dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO). Foi utilizado ácido ascórbico como controle positivo na concentração de 100 µM, por ser uma molécula com atividade antioxidante conhecida (SIRIVIBULKOVIT; NOUANTHAVONG; SAMEENOI, 2018). Inicialmente foi pipetado as soluções de DBI e AA em tubos separados e depois a solução do radical sintético DPPH (na concentração de 50mM) foi pipetada em todos os tubos e incubada por 30 minutos no escuro a 30°C. A leitura da absorbância foi realizada no espectrofotômetro a 517 nm. Cada experimento foi repetido três vezes e realizado em duplicata. Os resultados foram calculados como a porcentagem de radicais eliminados usando o valor da leitura do tubo em branco como 100% e foram expressos como porcentagem do branco. Além disso foi calculado a IC<sub>50</sub> (concentração inibitória de 50%), que indica a concentração do composto na qual 50% dos radicais foram neutralizados.

A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via seguido pelo teste post hoc de Newman-Keuls de múltiplas comparações e expressos em média ± erro padrão da média (E.P.M.). Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise realizada demonstrou que houve uma redução significativa da absorbância, em relação ao grupo veículo no ensaio de DPPH a partir da concentração de 5  $\mu\text{M}$ , como pode ser observado na figura 2. Ademais, nas concentrações posteriores tal redução foi ainda mais acentuada, demonstrando que o composto possui potencial redutor por conseguir reduzir o radical DPPH. O DPPH é um radical sintético com grande importância visto que é utilizado como teste de triagem de moléculas antioxidantes por diversos autores (AL-ABDALLAH et al., 2022; UPADHYAY et al., 2021; KEDARE; SINGH, 2011).



**Figura 2.** Atividade *scavenger* do DBI sobre o radical DPPH. \*\*\* $p < 0,001$  quando comparado com o tubo veículo. Siglas: DPPH= 2,2-difenil-1-picrilhidrazila, DBI=Disseleneto de bis(3-indolila), AA=ácido ascórbico.

O resultado obtido neste teste contribui com o de outros autores que encontraram resultados semelhantes quando se estudou moléculas contendo selênio (SAK et al., 2022) ou grupamento indol (SUZEN et al., 2011; ESTEVÃO et al., 2010) na estrutura. De acordo com os cálculos de  $\text{IC}_{50}$  foi observado que o composto reduz o radical DPPH em 50% em 41,68  $\mu\text{M}$ . A obtenção desse valor é importante pois informa sobre a eficácia do composto em neutralizar radicais livres, nesse sentido, quanto menor for a  $\text{IC}_{50}$ , maior será a atividade antioxidante do composto. Além disso, é relevante para determinar a faixa de concentrações em que o composto exerce atividade antioxidante significativa (AYKUL; MARTINEZ-HACKERT, 2016).

### 4. CONCLUSÕES

Mediante os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que o composto DBI apresentou ação antioxidante a partir da concentração de 5  $\mu\text{M}$  no teste do DPPH e com isso gera-se a perspectiva de testar o efeito antioxidante do DBI em outros ensaios e a possibilidade de ele ser usado como antioxidante em doenças relacionadas com o estresse oxidativo.

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-ABDALLAH, B.; AL-FAIYZ, Y. S.; SHAABAN, S. Anticancer, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of Organodiselenide-Tethered Methyl Anthranilates. *Biomolecules*, v. 12, n. 12, p. 1765, 2022.
- AYKUL, Senem; MARTINEZ-HACKERT, Erik. Determination of half-maximal

inhibitory concentration using biosensor-based protein interaction analysis. **Analytical Biochemistry**, v. 508, p. 97-103, 2016.

BOCCHINI, B.; GOLDANI, B.; SOUSA, F. S. S.; BIRMANN, P. T.; BRÜNING, C. A.; LENARDÃO, E. J.; SANTI, C.; SAVEGNAGO, L.; ALVES, D. Synthesis and Antioxidant Activity of New Selenium-Containing Quinolines. **Med Chem**, v. 17, n. 6, p. 667-676, 2021.

CASARIL, Angela M, et al. Antidepressant-like Effect of a New Selenium-Containing Compound Is Accompanied by a Reduction of Neuroinflammation and Oxidative Stress in Lipopolysaccharide-Challenged Mice. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 9, p. 1263–1273, 2017.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 32, 2020.

ESTEVÃO, Mónica S, et al. Antioxidant Activity of Unexplored Indole Derivatives: Synthesis and Screening. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4869–4878, 2010.

FORMAN, H. J.; ZHANG, H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 9, p. 689-709, 2021.

GULCIN, İlhami. Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651–715, 2020.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412–422, 2011.

KIEŁCZYKOWSKA, M. et al. Selenium – a fascinating antioxidant of protective properties. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 27, n. 2, p. 245–255, 2018.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Métodos Analíticos Utilizados na Determinação da Atividade Antioxidante: Uma Revisão. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 3380, 2021.

SAK, Marwa, et al. Novel Organoselenium Redox Modulators with Potential Anticancer, Antimicrobial, and Antioxidant Activities. **Antioxidants**, v. 11, n. 7, p. 1231, 2022.

SIRIVIBULKOVIT, K., NOUANTHAVONG, S. & SAMEENOI, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. **Anal. Sci.**, v. 34, p. 795–800, 2018.

SUZEN, Sibel, et al. Synthesis and Comparison of Antioxidant Properties of Indole-Based Melatonin Analogue Indole Amino Acid Derivatives. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 79, n. 1, p. 76–83, 2011.

UPADHYAY, A.; SINGH BHAKUNI, B.; MEENA, R.; KUMAR, S. Radical Chain Breaking Bis(ortho-organoselenium) Substituted Phenolic Antioxidants. **Chem Asian J**, v. 16, n. 8, p. 966-973, 2021.

YADAV, M.; KUMAR, M.; CHAHAL, A.; SODHI, N.; CHHILLAR, B.; ALAJANGI, H.K.; BARNWAL, R.P.; SINGH, V.P. Synthesis, Reactions, and Antioxidant Properties of Bis(3-amino-1-hydroxybenzyl)diselenide. **J Org Chem**, v. 88, n. 6, p. 3509-3522, 2023.