

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE SELENOCIANATOS NO TESTE DE ATIVIDADE SCAVENGER DO RADICAL DPPH

VITÓRIA VELHO MARTINS¹; KAUANE NAYARA BAHR LEDEBUHR²; JOÃO MARCOS ANGHINONI³; SABRINA SOUZA FERREIRA⁴; EDER JOÃO LENARDÃO⁵; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁶

^{1,2,6} Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – martinsvitória380@gmail.com; kauaneledebuhr@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br

^{3,4,5} Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), Universidade Federal de Pelotas.

1. INTRODUÇÃO

No organismo de um indivíduo ocorrem processos de oxidação de moléculas, o que pode vir a trazer malefícios. Este processo ocorre através da ação dos radicais livres, que possuem uma natureza instável, apoiada no fato de possuírem um número ímpar de elétrons na sua camada de valência, ou seja, são espécies que possuem um ou mais elétrons desemparelhados (GOUVEIA et al., 2017). A instabilidade destes radicais os torna capazes de reagir com outras moléculas, oxidando-as, ou seja, capturam elétrons de moléculas importantes para o organismo, como proteínas, lipídeos e até mesmo os ácidos nucleicos (DNA e RNA), levando a danos celulares irreparáveis. A formação e ação dos radicais é um mecanismo natural, pois quando se fala em organismos aeróbios, fala-se sobre o processo de respiração. A cadeia transportadora de elétrons, que ocorre mais especificamente no interior das mitocôndrias, é parte importante da respiração e se utiliza do oxigênio como acceptor final de elétrons. Dentro deste processo, caso o oxigênio não seja reduzido de forma completa, ou seja, não receba todos os elétrons de que necessita, há a formação de espécies reativas de oxigênio, denominadas pela sigla “EROs” (RIBEIRO et al., 2005).

Para neutralizar as EROs, a célula pode se utilizar de biomoléculas enzimáticas ou não enzimáticas, como as enzimas catalase e glutathiona peroxidase, vitaminas C e E, ubiquinonas, entre outros. No entanto, quando a célula não é capaz de eliminar os radicais livres, a quantidade de oxidantes acaba por se sobrepor a de antioxidantes e, a partir deste momento, pode-se dizer que a célula está sofrendo estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2010). O estresse oxidativo pode causar doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e até mesmo câncer. Os antioxidantes são as moléculas responsáveis por barrar estes processos danosos, realizando um papel protetor para as células. Isto é possível porque os antioxidantes são capazes de doar um elétron para o radical livre, sem que estes primeiros percam a sua estabilidade e se tornem reativos. Por este motivo, a triagem da atividade antioxidante de novos compostos é objeto de muitos estudos.

Uma das técnicas utilizadas para avaliar a capacidade antioxidante de um composto é o método de sequestro do radical livre estável DPPH. Esta consiste em um teste *in vitro*, através do qual é observada a capacidade do composto em reduzir o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), através da coloração e leitura da absorbância das amostras. O presente trabalho, teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante dos compostos 1-fenil-2-selenocianoetan-1-ona (JME H), 1-(3-nitrofenil)-2-selenocianoetan-1-ona (JME-3-NITRO) e 2-selenociano-1-(p-tolil)etan-1-ona (JME-METIL), que são compostos contendo selênio, através do teste de atividade scavenger do radical DPPH *in vitro*. Os compostos contendo selênio têm um papel importante na atividade antioxidante do organismo. O selênio

é um micronutriente essencial que faz parte de selenoproteínas, uma classe de proteínas que desempenham diversas funções biológicas, incluindo a proteção contra o estresse oxidativo. Interessantemente, compostos sintéticos contendo selênio têm demonstrado atividade antioxidante em diferentes ensaios (MAMGAIN, 2023).

2. METODOLOGIA

Para a análise da atividade scavenger do radical DPPH, foram utilizados tubos de microcentrífuga, além de tubos de ensaio. Foram utilizadas soluções-mãe dos compostos JME-H, JME-3-NITRO e JME-METIL (Figura 1), que foram testados nas concentrações de 1 a 500 μ M. O DMSO foi utilizado como veículo. Além disso, foi utilizada uma concentração de 200 μ M de ácido ascórbico como controle positivo. Posteriormente, 10 μ l de cada concentração foram passados para tubos de ensaio, onde receberam 1 ml de solução de DPPH e permaneceram no escuro por 30 minutos. Após, as alíquotas foram lidas a 537 nm, no espectrofotômetro, para determinação da absorbância. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando apresentaram valores de $p < 0,05$, quando analisados pelo software GraphPad Prism. Os testes utilizados foram ANOVA de uma via e *post-hoc* de Newman-Keuls e os resultados foram expressos em média + erro padrão da média (EPM).

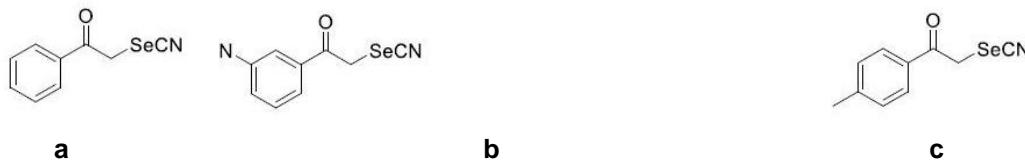


Figura 1. Estrutura dos selenocianatos. **a)** 1-fenil-2-selenocianoetan-1-ona (JME H); **b)** 1-(3-nitrofenil)-2-selenocianoetan-1-ona (JME-3-NITRO); **c)** 2-selenociano -1-(p-tolil)etan-1-ona (JME-METIL).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para JME-H estão demonstrados na Figura 2 e revelam uma capacidade de redução do radical DPPH a partir da concentração de 200 μ M, demonstrando um resultado estatisticamente significativo, quando comparado ao grupo veículo. O mesmo pode ser observado na concentração de ácido ascórbico.

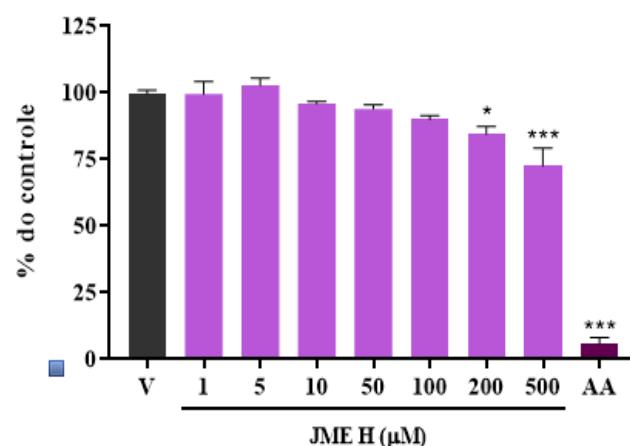


Figura 2. Avaliação da atividade scavenger do radical DPPH do composto JME-H. Os dados representam a média \pm EPM de 3 experimentos independentes, e os

resultados estão expressos em % do controle. Ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo. * $p<0,05$ e *** $p<0,001$ quando comparado ao grupo veículo (V).

Os resultados para JME 3-NITRO, demonstram que este composto foi capaz de reduzir o radical DPPH a partir da concentração de 50 μM . A concentração de ácido ascórbico, utilizada como controle positivo, também apresentou resultado estatisticamente significativo, quando comparado ao grupo veículo (Figura 3), demonstrando a atividade antioxidante promissora deste selenocianato.

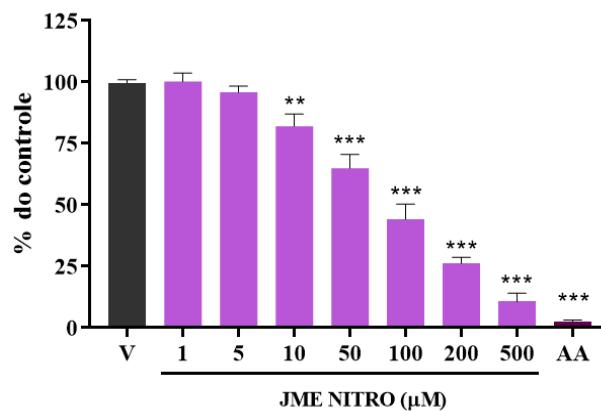


Figura 3. Avaliação da atividade scavenger do radical DPPH do composto JME-NITRO. Os dados representam a média \pm EPM de 3 experimentos independentes, e os resultados estão expressos em % do controle. Ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo. ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$ quando comparado ao grupo veículo (V).

Por sua vez, o composto JME-METIL demonstrou resultados estatisticamente significativos a partir da concentração de 200 μM , quando comparado ao grupo veículo (Figura 4), também demonstrando capacidade antioxidante.

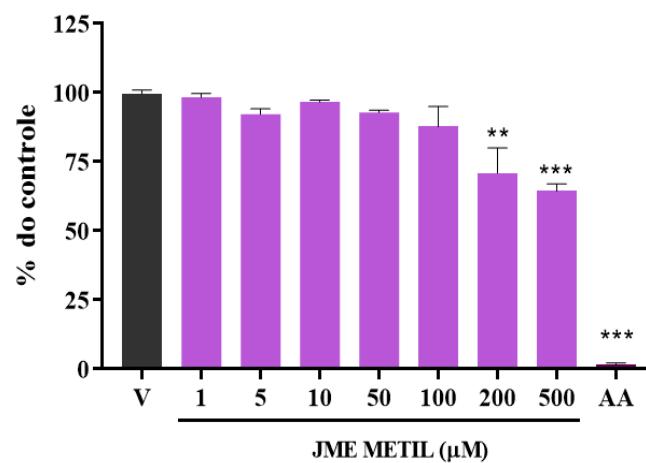


Figura 4. Avaliação da atividade scavenger do radical DPPH do composto JME-METIL. Os dados representam a média \pm EPM de 3 experimentos independentes, e os resultados estão expressos em % do controle. Ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo. ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$ quando comparado ao grupo veículo (V).



4. CONCLUSÕES

Com base nestas informações, foi observado que o composto JME 3-NITRO foi o que apresentou o maior efeito, reduzindo o radical DPPH a partir da concentração de 10 µM. Apesar disso, JME-METIL e JME-H também obtiveram resultados significativos (ambos apenas em duas concentrações, a partir da concentração de 200 µM). Os resultados evidenciam a habilidade das moléculas em reduzir o radical DPPH, doando a este um elétron, através da transferência de um átomo de hidrogênio, sem perda da estabilidade destas moléculas, apresentando assim um potencial efeito protetor antioxidant. É importante ressaltar que, as diferenças nos grupamentos radicais de cada um dos três compostos, os tornam diferentes entre si. Há, portanto, uma relação estrutura-atividade, que torna estas oposições determinantes para as distinções entre os efeitos de cada composto.

Estes resultados demonstram, finalmente, que as duas moléculas citadas, se revelaram como promissoras na reversão de danos celulares ocasionados pelos oxidantes no organismo e, que acarretam patologias diversas, desde aquelas que levam à neurodegeneração, até a formação de células tumorais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. de C. G., De Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J.. (2010). **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.** *Revista De Nutrição*, 23(4), 629–643.
- Mamgain, R., Kostic, M., Singh, F.V. (2023) Synthesis and Antioxidant Properties of Organoselenium Compounds. *Curr Med Chem.* 30(21):2421-2448
- Gouveia, S. da S.; Lima, Adeânio Almeida. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 20, n. 3, p. 174-179, 2017.
- Ribeiro, S. M. R. et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience journal**, v. 21, n. 3, 2005.