

POTENCIAL ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE MOLÉCULAS HÍBRIDAS CONTENDO SELÊNIO E VANILINA

MANOELA OTESBELGUE PINTO¹; RENATA L. DE OLIVEIRA²; VICTÓRIA DE C. ARMANI³; DANIELA HARTWIG⁴; RAQUEL G. JACOB⁵; LUCIELLI SAVENAGAO⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – manuotesbelgue@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – renataleivas15@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – viarmani@outlook.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – dani.hartwig@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – raquelgjacob@yahoo.com.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – luciellisavegnago@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade antioxidante do organismo, desempenha um papel central no processo de envelhecimento celular e na patogênese de diversas doenças crônicas, como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e distúrbios neurodegenerativos (TELEANU et al., 2022). Diante desse cenário, moléculas com potencial antioxidante vêm despertando grande interesse terapêutico por sua capacidade de neutralizar espécies reativas.

O selênio é um micronutriente essencial que atua na defesa antioxidante por meio de sua incorporação em selenoproteínas, como a glutationa peroxidase, enzima importante na manutenção do equilíbrio redox celular e além de sua função antioxidante, exerce papel na modulação do sistema imunológico e no controle da inflamação, sendo importante para prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (GALANT, 2020; HANDZLIK et al., 2024). Por sua vez, a vanilina, um aldeído fenólico natural majoritariamente extraído de espécies do gênero *Vanilla*, como *V. planifolia*, *V. tahitensis* e *V. pompona*, apresenta ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antimutagênicas, sendo considerada uma molécula promissora para aplicações farmacológicas (ARYA et al., 2021).

Nesse contexto, a combinação de estruturas bioativas como vanilina e selênio originou as selenovanilinas, uma classe de moléculas híbridas com potencial farmacológico. Diante disso, este estudo tem como objetivo avaliar o potencial antioxidante das selenovanilinas por meio de ensaios *in vitro*, investigando seu papel protetor frente ao estresse oxidativo.

2. METODOLOGIA

2.1 Compostos

As moléculas selenovanilinas (Figura 1) foram sintetizadas pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), de acordo com SILVA et al., (2017) com algumas modificações. As moléculas foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) nas concentrações finais de 10, 50, 100 e 500 µM. A vitamina C foi utilizada como controle positivo, a água como controle negativo e o DMSO como veículo para todos os testes *in vitro*.

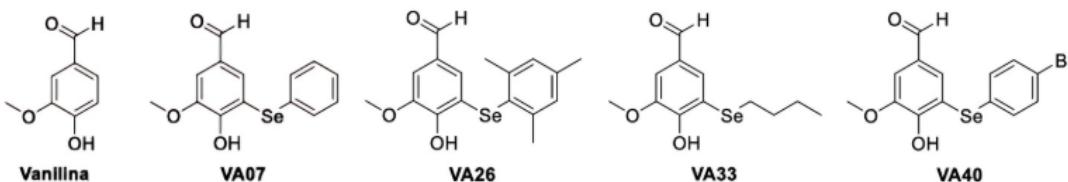


Figura 1. Estrutura química das moléculas 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (**Vanilina**); 4-hidroxi-3-metoxi-5-(fenilselanil)benzaldeído (**VA07**); 4-hidroxi-3-metoxi-5-[$(2,4$ -dimetilfenil)selanil]benzaldeído (**VA26**); 4-hidroxi-3-metoxi-5-(butilselanil)benzaldeído (**VA33**) e 4-hidroxi-3-metoxi-5-[$(4$ -bromofenil)selanil]benzaldeído (**VA40**).

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

A capacidade antioxidante das moléculas foi determinada por meio do ensaio de sequestro do radical livre 2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), seguindo metodologia adaptada de Choi et al. (2002). Nesse método, o DPPH, um radical estável de coloração violeta, sofre redução na presença de agentes antioxidantes, formando a difenil-picril-hidrazina, de coloração amarelada. Essa reação é acompanhada pela diminuição da absorbância da solução, mensurada por espectrofotometria no comprimento de onda de 517 nm. A partir desses valores, calculou-se a porcentagem de neutralização do radical, utilizada como indicador da atividade antioxidante das moléculas testadas.

2.3 Atividade scavenger do radical 2,2-azinobis (3-etylbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

Entre os ensaios aplicados para mensurar a capacidade antioxidante das moléculas, utilizou-se o método ABTS (2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), conforme descrito por Re et al. (1999). Para isso, preparou-se uma solução de ABTS (7 mM) associada a persulfato de potássio (140 mM), a qual foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente, em ausência de luz. A interação entre as moléculas e o radical ABTS⁺ promove sua neutralização, evidenciada pela redução da coloração turquesa da solução. Essa variação foi quantificada por espectrofotometria no comprimento de onda de 734 nm. A partir desses valores, calculou-se a porcentagem de neutralização do radical, utilizada como indicador da atividade antioxidante das moléculas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de DPPH e ABTS confirmaram a atividade antioxidante das selenovanilinas. No teste de DPPH (Tabela 1), a Vanilina e a VA40 apresentaram atividade apenas na maior concentração testada (500 µM), enquanto a VA07 mostrou efeito a partir de 50 µM e as moléculas VA26 e VA33 foram ativas em todas as concentrações avaliadas. A vitamina C, utilizada como controle positivo, apresentou capacidade antioxidante, de forma superior às moléculas testadas, validando a sensibilidade do método.

No ensaio de DPPH, o parâmetro IC₅₀, que representa a concentração necessária para inibir 50% dos radicais livres, evidenciou a molécula VA33 como a mais potente, seguida por VA40 e VA07. A avaliação da eficácia máxima (I_{max}) corroborou esse achado, indicando que VA33 apresentou a maior capacidade de inibição, enquanto VA40 e VA07 exibiram potências intermediárias. Em contraste, a Vanilina e VA26 revelaram atividade antioxidante mais restrita em relação às demais moléculas testadas.

Tabela 1. Atividade antioxidant das selenovanilinas no ensaio de DPPH.

	Concentração dos compostos (μ M)					
	10	50	100	500	IC_{50}	I_{max}
Vanilina	1,14 ± 0,43	2,03 ± 0,34	3,21 ± 1,06	10,55 ± 4,11 *	-	10,55%
VA07	2,57 ± 3,91	13,73 ± 4,54 *	22,30 ± 4,73 **	50,51 ± 4,93 ***	49,27	50,51%
VA26	4,28 ± 4,69 *	5,80 ± 10,30 *	17,46 ± 8,98 *	40,35 ± 10,60 ***	-	40,35%
VA33	21,37 ± 7,50 *	52,86 ± 9,18 ***	64,93 ± 10,64 ***	77,70 ± 8,71 ***	4,63	77,70%
VA40	21,89 ± 30,79	22,97 ± 12,35	31,09 ± 11,79	56,76 ± 9,83 **	39,47	56,76%
Vitamina C	54,73 ± 25,17 ***	96,48 ± 0,24 ***	96,34 ± 0,55 ***	96,87 ± 0,97 ***	-	96,87%

Os dados representam a média ± desvio padrão (n=3). IC_{50} sendo a concentração do composto necessária para inibir 50% dos radicais livres e I_{max} sendo a eficácia máxima de inibição no teste. (*) denota p < 0,05; (**) denota p < 0,01 e (***) denota p < 0,001, em comparação ao controle negativo (ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Tukey).

No ensaio ABTS, todas as moléculas demonstraram atividade antioxidant significativa nas concentrações testadas (10–500 μ M), evidenciando alta eficácia na neutralização do radical ABTS⁺ (Tabela 2). Na avaliação do IC_{50} , a molécula Vanilina obteve o menor valor, quando comparada aos compostos híbridos, indicando alta atividade de inibição. Quanto à análise do I_{max} , todas as moléculas atingiram valores superiores a 99%. Esses achados sugerem que, neste ensaio, a Vanilina apresenta excelente desempenho, possivelmente em função de maior afinidade ou reatividade com o radical ABTS⁺ quando comparada ao ensaio DPPH.

Tabela 2. Atividade antioxidant das selenovanilinas no ensaio de ABTS.

	Concentração dos compostos (μ M)					
	10	50	100	500	IC_{50}	I_{max}
Vanilina	39,67 ± 11,44 ***	95,31 ± 7,41 ***	99,44 ± 0,22 ***	99,81 ± 0,24 ***	1,74	99,81%
VA07	22,62 ± 1,31 ***	99,34 ± 0,56 ***	99,65 ± 0,58 ***	95,18 ± 7,25 ***	19,49	99,65%
VA26	55,49 ± 7,10 ***	99,07 ± 0,44 ***	94,97 ± 6,60 ***	94,82 ± 3,59 ***	-	99,07%
VA33	27,36 ± 2,62 ***	99,74 ± 0,19 ***	99,78 ± 0,28 ***	99,70 ± 0,43 ***	16,33	99,78%
VA40	31,34 ± 3,48 ***	99,67 ± 0,14 ***	98,51 ± 2,00 ***	89,54 ± 3,12 ***	16,71	99,67%
Vitamina C	26,91 ± 3,48 ***	99,70 ± 0,21 ***	99,6 ± 0,24 ***	99,52 ± 0,26 ***	16,58	99,70%

Os dados representam a média ± desvio padrão (n=3). IC_{50} sendo a concentração do composto necessária para inibir 50% dos radicais livres e I_{max} sendo a eficácia máxima de inibição no teste. (*** denota p < 0,001, em comparação ao controle negativo (ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Tukey).

A Vanilina apresenta um grupo fenólico que contribui com a ação antioxidant (BEZERRA et al., 2016), enquanto o selênio atua como agente redox no equilíbrio celular (GALANT, 2020; HANDZLIK et al., 2024). A combinação dessas moléculas em selenovanilinas potencializa a atividade antioxidant. A Vanilina apresentou elevada atividade antioxidant, principalmente no ensaio ABTS, no qual foi superior às selenovanilinas. Por outro lado, entre as moléculas híbridas testadas, a VA33 destacou-se como a mais promissora, possivelmente devido à presença do substituinte butilselanil, que conferiu à ela maior lipofilicidade e capacidade redox, favorecendo a neutralização de radicais livres tanto em meios hidrofílicos (como o ensaio ABTS) quanto lipofílicos (como o ensaio DPPH), o que explica seu ótimo desempenho, especialmente no teste de DPPH.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que as selenovanilinas possuem atividade antioxidante *in vitro*, principalmente no ensaio ABTS, com diferenças de potência e eficácia entre elas. A Vanilina apresentou efeito antioxidante superior no ensaio ABTS, quando comparada às selenovanilinas. Em contrapartida, a molécula VA33 demonstrou desempenho consistente nos testes realizados, indicando atividade antioxidante, com destaque no ensaio DPPH. Esses resultados reforçam o potencial de neutralização de radicais livres das selenovanilinas, e sugerem que modificações estruturais adicionais podem otimizar ainda mais sua eficácia, em conjunto com estudos complementares para investigar seus mecanismos de ação, toxicidade e aplicabilidade farmacológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARYA, S.S.; ROOKES, J.E.; CAHILL, D.M.; LENKA, S.K. Vanillin: a review on the therapeutic prospects of a popular flavouring molecule. **Advances in Traditional Medicine**, [S.I.], v.21, p.415–431, 2021.

HANDZLIK, J.; PYKA, P.; GARBO, S.; FIORAVANTI, R.; JACOB, C.; HITTINGER, M.; ZWERGEL, C.; BATTISTELLI, C. Selenium-containing compounds: a new hope for innovative treatments in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Drug Discovery Today**, Amsterdam, v.29, n.2, p.103812, 2024.

TELEANU, D.M.; NICULESCU, A.G.; LUNGU, I.I.; RADU, C.I.; VLADĂCENCO, O.; ROZA, E.; COSTĂCHESCU, B.; GRUMEZESCU, A.M.; TELEANU, R.I. An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.23, n.11, p.5938, 2022.

GALANT, L.S. **Estudo dos mecanismos moleculares envolvidos no efeito citoprotetor de compostos orgânicos de selênio em células neuronais e endoteliais**. 2020. 162f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, L.T.; AZEREDO, J.B.; SABA, S.; RAFIQUE, J.; BORTOLUZZI, A. J.; BRAGA, A. L. Solvent- and metal-free chalcogenation of bicyclic arenes using I₂/DMSO as non-metallic catalytic system. **European Journal of Organic Chemistry**, Weinheim, v.2017, n.32, p.4740–4748, 2017.

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 assayguided comparison. **Plant Science**, Korea, v.153, p.1161-1168, 2002.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999.

BEZERRA, D. P.; SOARES, A. K. N.; SOUSA, D. P. Overview of the Role of Vanillin on Redox Status and Cancer Development. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, Londres, v.2016, n.1, p.1–9, 2016.