

HETEROCICLOS DERIVADOS DE PICOLIAMINAS, POTENCIAIS AGENTES ANTIOXIDANTES

**FILIPE SANTOS PEREIRA DUTRA¹; DANIELA COELHO DOS SANTOS²;
 PATHISE SOUTO OLIVEIRA²; JULIANO BOSENBECKER², WILSON CUNICO²,
 FRANCIELI MORO STEFANELLO³**

¹Universidade Federal de Pelotas – *filipe.spd@gmail.com*

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas– *fmstefanello@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Tiazolidinonas são moléculas heterocíclicas de cinco membros contendo em sua estrutura um átomo de enxofre, um átomo de nitrogênio e uma carbonila. Na literatura diversas aplicações das tiazolidinonas já foram relatadas, na área médica, como antiretroviral, anti-inflamatória, antibacteriana, anticonvulsivante e tuberculostática; na área agrícola, como inseticida (CUNICO et al., 2008).

Os radicais livres são estruturas químicas que possuem um elétron desemparelhado, o que os torna instáveis, altamente reativos e com uma enorme capacidade para combinar-se inespecificamente com diversas classes de moléculas integrantes da estrutura celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Essas espécies reativas podem ser geradas endogenamente, subproduto do metabolismo aeróbico ou ainda a sua formação pode ser aumentada por agentes externos, que agem como catalisadores desse processo. Normalmente, nos organismos saudáveis existe um equilíbrio entre a produção de espécies reativas e as defesas antioxidantes, tanto as enzimáticas como não enzimáticas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Estudos recentes demonstram que diversos processos patológicos estão relacionados ao desequilíbrio entre formação aumentada de espécies reativas e os níveis das defesas antioxidantes do organismo (BARSCHAK et al., 2008; STEFANELLO et al., 2007).

Pesquisas biológicas voltadas para antioxidantes e radicais livres têm produzido resultados promissores no que se refere às novas abordagens terapêuticas. Dessa forma, terapias antioxidantes têm surgido como alternativas para o tratamento de doenças degenerativas crônicas incluindo câncer, inflamação e doenças neurodegenerativas (BARSCHAK et al., 2008; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; STEFANELLO et al., 2007).

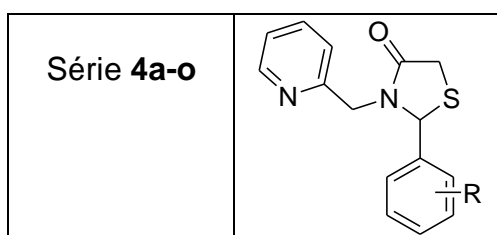
Considerando o exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante de derivados sintéticos tiazolidinônicos.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção dos Compostos

Os compostos (Tabela 1) foram sintetizados no Laboratório de Química Aplicada a Bioativos do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da UFPel. As moléculas foram pesadas e então diluídas nas concentrações adequadas para utilização nos ensaios.

Tabela 1 - Estrutura Geral das Tiazolidinonas Estudadas



R = substituinte variável

2.2. Teste de triagem da atividade antioxidante

Todas as moléculas sintetizadas passaram por um processo de triagem *in vitro* da atividade antioxidante através dos ensaios do DPPH e ABTS. O ensaio de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) foi realizado em conformidade com o procedimento relatado por BRAND-WILLIAMS et al. (1995) com algumas modificações. A atividade anti-radicalar foi definida como a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% (EC₅₀). O segundo teste de triagem utilizado foi de captura do radical 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfônico (ABTS) conforme descrito por RE et al. (1999) com algumas modificações. A percentagem de eliminação de radicais foi calculada como TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao trolox).

O antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) foi usado como padrão.

2.3. Animais

Para os testes biológicos foram utilizados ratos Wistar obtidos a partir do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. Os animais foram mantidos em um ciclo de claro/escuro de 12 h a temperatura constante. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 7194).

Os animais foram sacrificados por decapitação e o encéfalo foi cuidadosamente retirado e armazenado -80°C até o momento dos ensaios bioquímicos.

2.4. Indução de Dano Oxidativo

O peróxido de hidrogênio e o sulfato de ferro foram utilizados para induzir dano oxidativo. Diferentes concentrações de derivados das tiazolidinonas (50 a 200 µM) foram incubadas durante 1 h a 37°C, juntamente com os indutores de dano e o tecido cerebral. O antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) foi usado como padrão.

2.5. Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um índice de peroxidação lipídica, foram determinadas de acordo com o método descrito por BUEGE; AUST (1978) com algumas modificações. Os resultados foram expressos como nmol de TBARS/mg de proteína.

2.6. Determinação do Conteúdo Total de Grupos Tiólicos

O conteúdo total de tiol foi determinado pelo método de DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico), descrito por AKSENOV; MARKESBERY (2001) com algumas modificações. Os resultados foram expressos como nmol de TNB/mg de proteína.

2.7. Determinação de Proteínas

A determinação proteica foi realizada pelo método de LOWRY et al. (1951), utilizando albumina bovina como padrão.

2.8. Análise Estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As comparações das médias foram analisadas por análise de variância (ANOVA) seguida por um teste de Duncan quando o valor de F era significativo. Um valor de $P \leq 0,05$ foi considerado significativo. As análises foram realizadas utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No processo de triagem foram testados 15 compostos, e destes, apenas o composto **4f** apresentou atividade antioxidante frente ao DPPH, similar a observada no padrão utilizado. Nenhum composto apresentou resultado significativo no ensaio do ABTS.

A tiazolidinona **4f** foi estudada em meio biológico a fim de melhorar caracterizar a ação antioxidante demonstrada nos testes de triagem. Os resultados mostraram que este composto reduziu levemente (aproximadamente 15%) os níveis de TBARS, marcador de dano oxidativo a lipídeos, em córtex cerebral de ratos nas concentrações de 50, 100 e 200 μM .

Adicionalmente, avaliamos o conteúdo tiólico total como uma medida de dano oxidativo a proteínas. No entanto, o composto **4f** não foi efetivo em proteger os grupos tióis proteicos.

4. CONCLUSÕES

O cérebro é um órgão extremamente rico em lipídeos e com baixo nível de defesas antioxidantes sendo, dessa forma, muito suscetível ao ataque de espécies reativas, as quais podem causar danos irreversíveis aos sistemas biológicos. Os resultados do presente trabalho demonstraram que dos compostos testados, apenas o **4f** modificou o dano oxidativo a lipídeos induzido *in vitro* em córtex cerebral de ratos.

No entanto, mais estudos são necessários para melhor entender o efeito antioxidante desse composto nos sistemas biológicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY W.R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, v. **302**, p.41-145, 2001.

- BARSCHAK, A.G.; SITTA, A.; DEON, M.; BARDEN, A.T.; DUTRA-FILHO, C.S.; WAJNER, M.; VARGAS, C.R. Oxidative stress in plasma from maple syrup urine disease patients during treatment. **Metabolic Brain Disease**, v.23, p.71-80, 2008.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELI, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- BUEGE, J.A., AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v.52, p.302-309, 1978.
- CUNICO, W.; GOMES, C.R.B.; VELLASCO JUNIOR, W.T. Chemistry and Biological Activities of 1,3-Thiazolidin-4-ones. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v.5, p.336-344, 2008.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford University Press, 2007.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.
- RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, PANNALA A, YANG M, RICE-EVANS C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p.1231-1237, 1999.
- STEFANELLO F.M.; SCHERER E.B.S.; KUREK A.G.; MATTOS, C.B.; WYSE, A.T.S. Effect of hypermethioninemia on some parameters of oxidative stress and on Na⁺, K⁺ -ATPase activity in hippocampus of rats. **Metabolic Brain Disease**, v.22, p.172-182, 2007.