

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DOS COMPOSTOS SELENO-CARBOIDRATOS

LUCIMAR MARQUES PINTO¹; JAQUELINE PINTO VARGAS²; DIOGO SEIBERT LÜDTKE²; LUCIELLI SAVEGNAGO¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas –
lucmpinto@hotmail.com

²Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas –
lucellisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são continuamente formadas como consequência do metabolismo do oxigênio celular (WEISSMAN et al., 2007); cerca de 1-5 % do total de oxigênio consumido pela mitocôndria é convertido em ERO pela redução parcial de oxigênio para o radical ânion superóxido (LEE et al., 2012). Em concentrações mais baixas, as EROs desempenham papéis importantes na transdução de sinal, plasticidade sináptica e a formação da memória (KISHIDA e KLANN, 2007). Entretanto, em níveis mais elevados, as EROs podem danificar macromoléculas celulares incluindo lipídeos, proteínas e DNA, o que pode conduzir à morte da célula (BRAWEK et al., 2010; VALKO et al., 2006). Somando-se a isso, as EROs desencadeiam o processo de estresse oxidativo, que também tem sido associado com o processo de envelhecimento e estados neurodegenerativos (BRAWEK et al., 2010). Neste contexto, a farmacoterapia antioxidante emergiu como um meio para minimizar os danos causados pelas EROs em componentes vitais de organismos vivos.

Nesse sentido, se encaixam os compostos de selênio, os quais têm sido estudados pelas suas propriedades antioxidantes e sua capacidade de prevenir doenças. De fato, as moléculas orgânicas contendo selênio, são geralmente mais potentes antioxidantes que os “clássicos” antioxidantes, e este fato serve como um impulso para aumentar o interesse no desenho racional de compostos organo sintéticos (NOGUEIRA et al., 2004; NOGUEIRA e ROCHA, 2011). Em relação aos compostos orgânicos de selênio, uma classe que tem chamado atenção são os seleno-carboidratos os quais já apresentaram atividades farmacológicas promissoras, tais como, inibição da síntese de melanina em células melan-A (AHN et al. 2006).

Portanto, baseando-se no que foi descrito, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante dos seleno-carboidratos através de ensaios antioxidantes *in vitro*.

2. METODOLOGIA

2.1 Compostos

Os compostos testados foram sintetizados no Instituto de Química na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

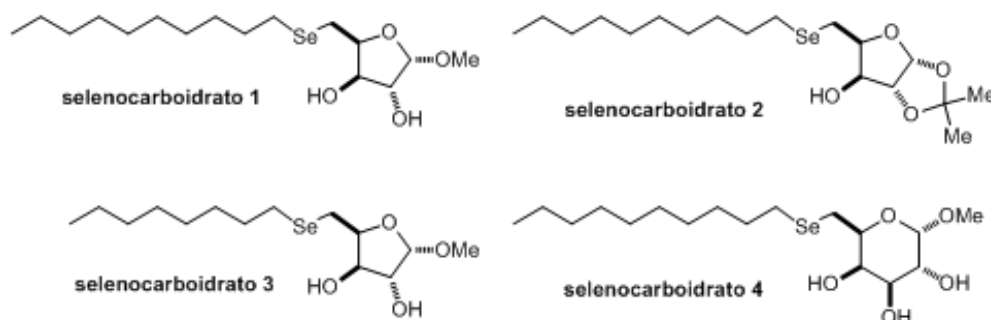


Figura 1: Estrutura química dos Seleno-carboidratos 1, 2, 3 e 4.

2.2. Ensaio antioxidantes *in vitro*

Para avaliar o efeito antioxidante dos seleno-carboidratos, foram realizados os ensaios descritos abaixo.

2.2.1. Atividade neutralizadora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e atividade neutralizadora do radical 2,2-azinobis-3-etil-benzotiazolona-6-ácido sulfônico (ABTS).

A fim de investigar a atividade de neutralização de radicais livres dos compostos, foi utilizado o ensaio de DPPH e ABTS, ambos os radicais livres são sintéticos, contudo, relacionados com diferentes mecanismos antioxidantes. ABTS está relacionado com a transferência de um elétron, enquanto o DPPH envolve a transferência de hidrogênio e elétrons.

A atividade neutralizadora de DPPH foi realizada pelo método de Choi (2002) e a neutralização de radicais ABTS foi realizada de acordo com a Re et al. (1999). Os resultados são expressos como porcentagens de inibição dos radicais em relação aos respectivos valores de controle.

Os valores são expressos como a porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS (% de inibição) em relação aos valores do controle, tal como calculado a partir da seguinte equação:

$$I\% = [(AC - AS / AC) \times 100]$$

onde I = inibição DPPH ou ABTS, AC representa a absorvância da solução controle e AS representa a absorvância da amostra em diferentes concentrações.

2.2.2. Poder Redutor do Íon Férrico (FRAP)

O método do poder antioxidante redutor do íon férrico (Fe^{3+}), foi utilizado para medir a capacidade de redução de seleno-carboidratos. O ensaio FRAP foi realizado como descrito por Stratil et al. (2006). Para esse fim, diferentes concentrações de seleno-carboidratos 1, 3 e 4 (10, 50, 100 e 500 μM) foram testadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade de redução de um composto férrico pode servir como um indicador significativo da sua potencial atividade antioxidante de transferência de elétrons. De acordo com a tabela 1, o composto 1 (500 μM) mostrou um potencial redutor mais elevado em comparação com os controles.

Tabela 1- Atividade antioxidante do **Seleno-carboidrato 1** no ensaio FRAP

μM	FRAP (Absorbância)
10	0,19 \pm 0,06
50	0,19 \pm 0,04
100	0,20 \pm 0,03
500	0,65 \pm 0,07 **

(**) $p < 0,01$ em relação ao controle (One-way ANOVA/Newman-Keuls).

A tabela 2, mostra os resultados do composto **3** nos ensaios ABTS, DPPH e FRAP. No ensaio ABTS, o composto **3** apresentou atividade antioxidante nas concentrações de 50, 100 e 500 μM . Além disso, mostrou valores de IC_{50} (concentração da amostra necessária para inibir 50% dos radicais ABTS) de 210 μM . Nos ensaios DPPH e FRAP, o composto **3** apresentou atividade significativa em relação ao controle na concentração de 500 μM .

Tabela 2- Atividade antioxidante do **Seleno-carboidrato 3** nos ensaios ABTS, DPPH e FRAP.

μM	% neutralização ABTS	μM	% neutralização DPPH	μM	FRAP (Absorbância)
10	2,27 \pm 1,79	10	0,03 \pm 0,05	10	0,19 \pm 0,04
50	13,60 \pm 1,57 ***	50	0,26 \pm 0,45	50	0,22 \pm 0,03
100	25,99 \pm 1,61 ***	100	0,13 \pm 0,22	100	0,26 \pm 0,02
500	81,69 \pm 0,90 ***	500	5,49 \pm 3,40 **	500	0,57 \pm 0,08 ***
IC_{50} (μM)	210				

(*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$ em relação ao controle (Oneway ANOVA/Newman-Keuls).
 IC_{50} : Concentração (μM) da amostra necessária para inibir 50% dos radicais livres

A tabela 3, apresenta os resultados do seleno-carboidrato **4**. No ensaio ABTS, o composto apresentou atividade significativa nas concentrações de 50, 100 e 500 μM . Já no ensaio FRAP, o composto **4** mostrou um potencial redutor mais elevado na concentração de 500 μM , em comparação com os controles.

O composto seleno-carboidrato **1**, não apresentou resultados significativos nos ensaios DPPH e ABTS (dados não mostrados), e o composto seleno-carboidrato **2**, não apresentou resultados significativos nos ensaios DPPS, ABTS e FRAP (dados não mostrados).

Tabela 3- Atividade antioxidante do composto **Seleno-carboidrato 4** nos ensaios ABTS e FRAP.

μM	% neutralização ABTS	μM	FRAP (Absorbância)
10	3,04 \pm 4,10	10	0,20 \pm 0,04
50	12,47 \pm 3,74	50	0,20 \pm 0,03
100	24,90 \pm 5,81 ***	100	0,23 \pm 0,06
500	21,01 \pm 7,87 **	500	0,54 \pm 0,07 ***

(*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$ em relação ao controle. (One-way ANOVA/Newman-Keuls).

4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que os seleno-carboidratos, principalmente os compostos **1**, **3** e **4**, apresentaram atividade antioxidante significativa, o que nos leva a continuar a pesquisa de tais compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHN, S. J.; KOKETSU, M.; ISHIHARA, H.; LEE, S. M.; HA, S. K.; LEE, K. H.; KANG, T. H.; KIM, S. Y. Regulation of melanin synthesis by selenium-containing carbohydrates, **Chem. Pharm. Bull.** v. 54, p.281–286, 2006.
- BRAWEK, B.; LOFFER, M.; WAGNER, K.; WUPPERTZ, H.J.; WENDLING, A.S.; WEYEBROCK, A.; JACKISH, R.; FEUERSTEIN, T.J. Reactive oxygen species (ROS) in the human neocortex: role of aging and cognition, **Brain Res. Bull.** v.81, p. 484–490, 2010.
- CHOI C.W., KIM S.C., HWANG S.S., CHOI B.K., AHN H.J., LEE M.Y., et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Sci.** v.153, p.1161–1168, 2002.
- KISHIDA, K.T.; KLANN, E. Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic and memory, **Antioxid. Redox. Signal.** v.2, p.233–244, 2007.
- LEE, S.K.; ARUNKUMAR, S.; SIRAJUDEEN, K.N.; SINGH, H.J. Glutathione system in young spontaneously hypertensive rats, **J. Physiol. Biochem.** v.66, p. 321-327. 2012.
- NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B.T. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds, **Arch. Toxicol.** v.85, p.1313-1359, 2011.
- NOGUEIRA, C.W.; ZENI, G.; ROCHA, J.B. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology, **Chem. Rev.** v.104, p. 225–6285, 2004.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, **Free Radic Biol Med.** v.26, p.1231-1237, 1999.
- STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBAN, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables—evaluation of spectrophotometric methods. **J Agric Food Chem.** v.54, p.607–616, 2006.
- VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, **Chem. Biol. Inter.** v.160, p.1-40, 2006.
- WEISSMAN, I.; SOUZA-PINTO, N.C.; STEVNSNER, T.; BOHR, V.A. DNA repair, mitochondria, and neurodegeneration, **Neuroscience.** v.145, p.1318-1329, 2007.