

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE 4-(FENILSELANIL)-2H-CROMEN-2-ONA (4-PSCO)

CAROLINE DA COSTA FAGUNDES¹; CAREN ALINE RAMSON DA FONSECA²;
ANDREI LUCCA BELLADONA³; RICARDO FREDERICO SCHUMACHER⁴;
CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – *caroline.fagundes@hotmail.com*

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

³Universidade Federal de Santa Maria – *andrei.belladona@gmail.com*

⁴Universidade Federal de Santa Maria – *ricardo.schumacher@ufsm.br*

⁵Universidade Federal de Pelotas – *cristiane_luchese@yahoo.com.br* (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas – *ethelwilhelm@yahoo.com.br* (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

As espécies reativas (ER) são conhecidas como moléculas altamente instáveis formadas a partir do metabolismo celular. Durante os processos metabólicos e fisiológicos, as ER atuam como mediadores na transferência de elétrons em várias reações bioquímicas e na regulação do fluxo sanguíneo. No entanto, em excesso, as ER podem ocasionar alterações na homeostase redox celular e conseqüentemente levar a danos irreversíveis às biomoléculas adjacentes, como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (WU et al., 2019). Em vista disso, a produção excessiva de ER está envolvida na patogênese de diversas doenças e processos neurodegenerativos, como câncer, diabetes, demência, envelhecimento, entre outros (CARDOSO, 2014; HALLIWEL; GUTTERIDGE, 2015; HE et al., 2017).

Diante disso, o desenvolvimento de moléculas inovadoras com potencial antioxidante tem se intensificado nos últimos anos (WILHELM et al. 2017). Nesse sentido, os compostos orgânicos de selênio vêm sendo largamente estudados pelo fato de possuírem síntese simples e atividades farmacológicas relevantes, como antioxidante (WILHELM et al., 2017, VOGT et al., 2018), anti-inflamatória e antinociceptiva (SILVA et al., 2017, VOSS et al., 2018).

Em paralelo aos compostos orgânicos de selênio, os derivados cumarínicos também vêm se destacando, uma vez que apresentaram ações antioxidantes, anticoagulantes, imunossupressoras, vasodilatadoras, antivirais, antibacterianas, anti-inflamatórias e antinociceptivas (MATOS et al. 2015; CHERIY et al., 2017; SALEEM et al., 2021).

Dessa forma, considerando as propriedades farmacológicas dos compostos orgânicos de selênio, dos derivados de cumarina e a necessidade de novas abordagens terapêuticas com potencial contra danos oxidativos, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito antioxidante *in vitro* do composto 4-(fenilselanil)-2H-cromen-2-ona (4-PSCO), um derivado de cumarina contendo selênio.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese

O composto orgânico de selênio, 4-PSCO (Figura 1) foi sintetizado e caracterizado por pesquisadores do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Para a realização dos ensaios antioxidantes, o composto 4-PSCO foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) para a obtenção de uma concentração final correspondente à 1, 10, 100 e 200 μM . O ácido ascórbico foi usado como controle positivo.

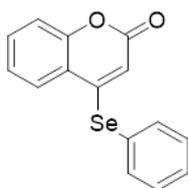


Figura 1. Estrutura química do composto 4-PSCO.

2.2. Atividade *scavenger* do radical 2,2'-difeníl-1-picril-hidrazil (DPPH)

O método descrito por CHOI et al. (2002) consiste em avaliar a atividade *scavenger* sobre o radical livre sintético DPPH, por meio da doação de prótons ou elétrons. Nesse ensaio a atividade antioxidante do composto foi determinada por meio de uma mudança na coloração do radical DPPH, de púrpura para amarelo. Dessa forma, em uma alíquota de 10 μ L de cada concentração (1-200 μ M) do composto contido nos tubos de ensaio foi adicionado 1 mL da solução DPPH diluída em etanol. Para o grupo controle, foi utilizado 10 μ L de água destilada. A solução foi incubada durante 30 minutos, na ausência de luz e lida espectrofotometricamente no comprimento de onda de 517 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

2.3. Atividade *scavenger* do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

O método previamente descrito por RE et al. (1999) consiste em avaliar a capacidade do composto em neutralizar o radical sintético ABTS, por meio da redução da absorbância pela doação de elétrons do composto para o radical. As diferentes concentrações do composto (1-200 μ M) (alíquota de 10 μ L) foram adicionadas à solução de 1 mL do radical ABTS, diluído em tampão fosfato de potássio (TFK). Para o grupo controle, foi utilizado 10 μ L de água destilada. A solução foi incubada durante 30 minutos, na ausência de luz. Posteriormente, as leituras foram determinadas espectrofotometricamente no comprimento de onda de 734 nm e os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

2.4. Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de D' Agostino e Pearson. Os resultados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey quando apropriado. Os dados foram de média \pm E.P.M. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios *in vitro* foram realizados como testes preliminares para avaliar a ação antioxidante do composto 4-PSCO. Conforme ilustrado nas figuras 2A e 3A, o 4-PSCO apresentou absorbâncias semelhantes ao controle em todas as concentrações testadas, assim como em ambos os ensaios realizados. Frente a isso, os resultados demonstram que o composto 4-PSCO não apresentou atividade *scavenger* do radical DPPH e ABTS, ou seja, não foi capaz de reduzir ou neutralizar esses radicais livres, sugerindo que o 4-PSCO não exibe ação antioxidante por meio de atividade *scavenger*.

Por sua vez, o ácido ascórbico (controle positivo), um agente antioxidante amplamente conhecido, reduziu a absorbância quando comparado ao grupo controle, a partir da concentração de 10 μ M (10-200 μ M), apresentando atividade *scavenger* de radicais DPPH e ABTS (Figuras 2B e 3B).

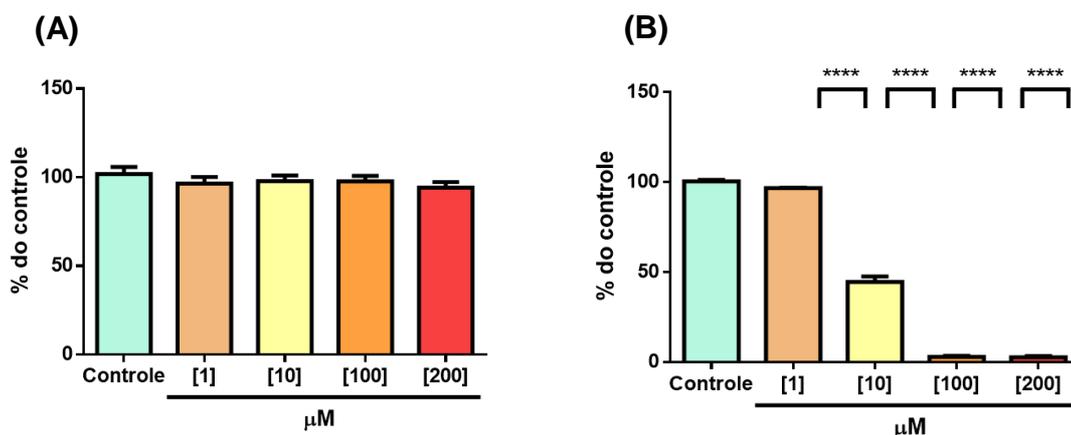


Figura 2. Efeito do composto 4-PSCO (A) e do ácido ascórbico (B) no ensaio doDPPH. (****) $p < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey.

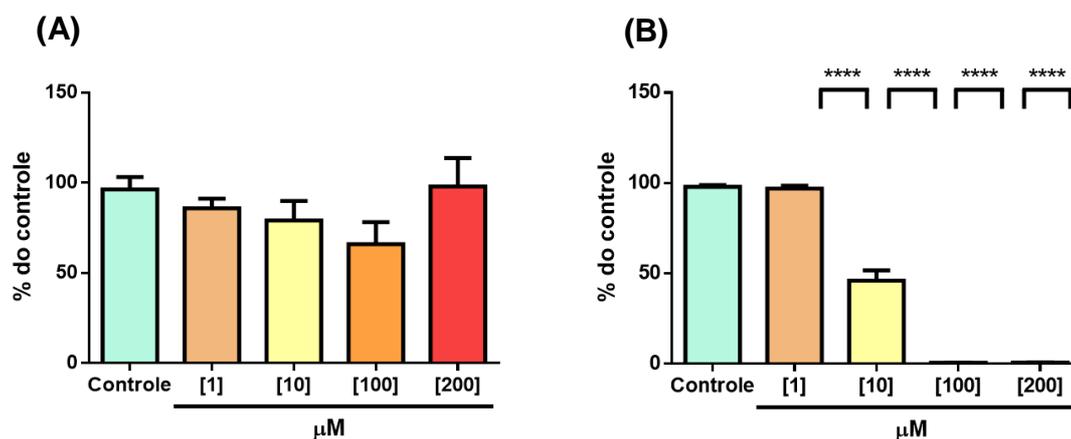


Figura 3. Efeito do composto 4-PSCO (A) e do ácido ascórbico (B) no ensaio doABTS. (****) $p < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Tukey.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados nesse estudo, pode-se concluir que o composto 4-PSCO não apresentou atividade *scavenger* de radicais livres. Entretanto, os experimentos realizados até o momento são considerados preliminares e, dessa forma, mais estudos são necessários para investigar o potencial farmacológico do 4-PSCO.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, K.B.F.; COSTA N.M.B.; ALFENAS, R.C.G; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de nutrição**. Viçosa, v.23, p.629-643, 2010.
 CARDOSO, A. **Geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) mitocondriais: Papel das Acil-CoA desidrogenases de cadeia muito longa**. 2004. Tese (doutorado em ciências (bioquímicas) - Programa de pós-graduação em ciências biológicas (bioquímica), Universidade de São Paulo.

- CHERIYAN, B.V. Sr; KADHIRVELU, P.K. Sr; NADIPELLY, J. Jr; SHANMUGASUNDARAM, J.; SAYELI, V. Sr; SUBRAMANIAN, V. Sr. Antinociceptive effect of 7-methoxy coumarin from *Eupatorium Triplinerve vahl* (Asteraceae). **Pharmacognosy magazine**, v. 13, n. 49, p. 81, 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 assay guided comparison. **Plant Science**, Korea, v. 153, p.1161-1168, 2002.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, vol. 43, n. 1, 1997.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radical Biology & Medicine, Oxford, **Oxford Science Publications**, v.5, 2015.
- HE, L.; HE, T.; FARRAR, S.; JI, L.; LIU, T.; MA, X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.
- HYBERTSON, B. M.; GAO, B.; BOSE, S. K.; MCCORD, J. M. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. **Molecular Aspects of Medicine**. v.32, p.234-246, 2011.
- MEDEIROS, M.S. **Associação entre Metabolismo do Ferro e Estresse Oxidativo em Pacientes de Parkinson**. 2014. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas.
- MATOS, M.J.; SANTANA, L.; URIARTE, E.; ABREU, O.A.; MOLINA, E.; YORDI, E.G. Coumarins- An Important Class of Phytochemicals. **In Phytochemicals- isalation. Characterisation and role in human health**. v. 25, p. 533-538, 2015.
- 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.
- SALEEM, M.; ASIF, M.; PARVEEN, A.; YASEEN, H. S.; SAADULLAH, M.; BASHIR, A.; ASIF, J.; ARIF, M.; KHAN, I. U.; KHAN, R. U. Investigation of in vivo anti-inflammatory and anti-angiogenic attributes of coumarin-rich ethanolic extract of *Melilotus indicus*. **Inflammopharmacology**, v.29, p. 281-293, 2021.
- SILVA, V. D.; REIS, A. S.; PINZ, M.; DA FONSECA, C. A.; DUARTE, L. F. B.; ROEHRS, J. A.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.31, p. 513- 525, 2017.
- VOSS, G.T.; OLIVEIRA, R.L.; DE SOUZA, J.F.; DUARTE, L.F.B.; FAJARDO, A.R.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. Therapeutic and technological potential of 7-chloro-4-phenylselenyl quinoline for the treatment of atopic dermatitis-like lesions in mice. **Materials Science and Engineering C.**, v. 84, p. 90-98, 2018.
- WILHELM, E.A.; SOARES, P.S.; REIS, A.S.; BARTH, A.; FREITAS, B.G.; MOTTA, K. P.; LEMOS, B.B.; VOGT, A.G.; FONSECA, C.A.; ARAUJO, D.R.; BARCELLOS, A.M.; PERIN, G.; LUCHESE, C. Se-[(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl]-4-chlorobenzoselenolate reduces the nociceptive and edematogenic response by chemical noxious stimuli in mice: Implications of multi-target actions. **Pharmacological Reports**, v. 71, p. 1201-1209, 2019.