

COMPOSTOS 3-ORGANOSELENIL-BENZOFURANOS PROTEGEM CONTRA O AUMENTO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS INDUZIDO POR AZIDA DE SÓDIO EM CÉREBRO DE CAMUNDONGOS *IN VITRO*

LUIZ ROBERTO CARRARO JUNIOR¹; JÉSSICA IARA GALL²; JOSÉ SEBASTIÃO SANTOS NETO²; TAÍS DA SILVA TEIXEIRA RECH²; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO³

¹Universidade Federal de Pelotas – luzrobertocarraro@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br; je.gall@hotmail.com; zeneto.qmc@gmail.com; taisteixeira.r@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Em pequenas quantidades, as espécies reativas de oxigênio (EROS) são reconhecidas por suas ações fisiológicas no organismo humano como, por exemplo, a regulação de fatores de transcrição. Entretanto, sob algumas circunstâncias patológicas ocorre um aumento expressivo destas EROS, resultando em prejuízos à célula, os quais podem incluir a morte celular (TOUYZ, 2012). Estas EROS são originadas da reação de moléculas de oxigênio com elétrons e todas (incluindo o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio) possuem ligações instáveis ou elétrons de valência não pareados (BRIEGER et al, 2012).

No organismo, existem as defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas que combatem os efeitos negativos das EROS: diminuindo sua formação, eliminando as EROS já formadas, e/ou corrigindo o dano por elas causado. Isto é, intrinsecamente, uma indicação de que as EROs são mais prejudiciais à saúde que benéficas (LIOCHEV, 2013). Baseando-se nisso, estudos vêm sendo realizados a fim de sintetizar moléculas capazes de deter a atividade dessas espécies no organismo, simulando o trabalho dessas enzimas.

Benzofuranos são compostos heterocíclicos que vêm sendo testados experimentalmente no tratamento de doenças do sistema nervoso central (RIZZO et al, 2008). Com base nisso, estudos com a inserção de selênio nessas moléculas orgânicas estão sendo realizados, a fim de se obter moléculas híbridas com potencial biológico. Além disso, os efeitos antioxidantes do selênio demonstram que este pode ser usado para potencialização de moléculas com efeitos farmacológicos (ALFIERI et al, 1998).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo testar a capacidade de uma classe de 3-organoselenil-benzofuranos em proteger contra o aumento nos níveis de EROS induzido por azida de sódio em cérebro de camundongos *in vitro*.

2. METODOLOGIA

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), localizado na Universidade Federal de Pelotas. Os compostos 2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano (BZF1), 3-(4-fluorofenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (BZF2), 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (BZF3), 3-(4-clorofenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (BZF4) e 2-fenil-3-(p-tolilselanil)benzofurano (BZF5) (figura 1) foram sintetizados pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpas (LASOL), presente na mesma

universidade. Este projeto está cadastrado no COCEPE sob o código 8784 e o mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEAA/UFPeL 4897-2017).

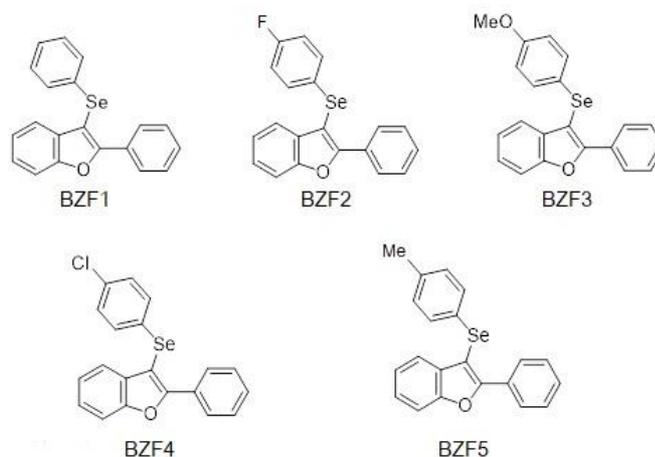


Figura 1. Estrutura molecular dos compostos 3-organoselenil-benzofuranos.

2.1. Ensaio da medição de EROS

Os níveis de EROs presentes *in vitro* foram determinados através de um método espectrofluorimétrico, utilizando no ensaio a 2',7' diacetato de diclorofluoresceína (DCHF-DA), de acordo com LOETCHUTINA et al. (2005).

Para realização do ensaio, o homogenato de cérebro de camundongo foi utilizado. Este foi homogeneizado em uma solução tampão de Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, em uma proporção de 1 grama de cérebro para 10 mililitros de tampão. A seguir, foi submetido à centrifugação para a utilização do sobrenadante (S₁) no experimento.

Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e avaliados nas concentrações de 1, 10, 25 e 50 μ M. O grupo veículo recebeu apenas DMSO e um grupo controle apenas tampão. A azida de sódio foi utilizada como indutor do aumento de EROS e o trolox, um análogo da vitamina E, foi utilizado como controle positivo.

Os compostos 3-organoselenil-benzofuranos (1-5) foram incubados com 2,81 mL de solução tampão Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, 50 μ l de S₁ de cérebro e 100 μ l de DCHF-DA 1 mM (preparado em etanol e na ausência de luz). A mistura foi incubada por 30 minutos, mantida no escuro e à temperatura ambiente. Para detectar os níveis de EROs foi medida a oxidação do DCHF-DA a diclorofluoresceína fluorescente (DCHF). A emissão de intensidade de fluorescência DCHF foi registrada a 520nm com excitação em 480nm, 30 minutos após a adição de DCHF-DA. Os resultados obtidos foram expressos como unidades arbitrárias (UA) de fluorescência.

2.2. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa GraphPad Prism 7.04 e os resultados apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Os grupos foram comparados entre si através da análise de variância ANOVA de uma via (dados paramétricos) seguida pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls para todos os 3-organoselenil-benzofuranos e pelo teste T não pareado para o controle positivo. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes a dosagem de EROS em cérebro de camundongos na presença dos 5 compostos 3-organoselenil-benzofuranos ou trolox estão demonstrados nos gráficos abaixo (figura 2). Como pode ser observado, todos os compostos revertem o aumento de EROS induzido pela azida quando testados nas concentrações de 10, 25 e 50 μM , quando comparados com o grupo induzido (I) ou veículo (V) ($p < 0,05$). Como esperado, o trolox também reverteu o aumento de EROS. Estes resultados demonstram o potencial antioxidante das cinco moléculas 3-organoselenil-benzofuranos testadas em cérebro de camundongos *in vitro*.

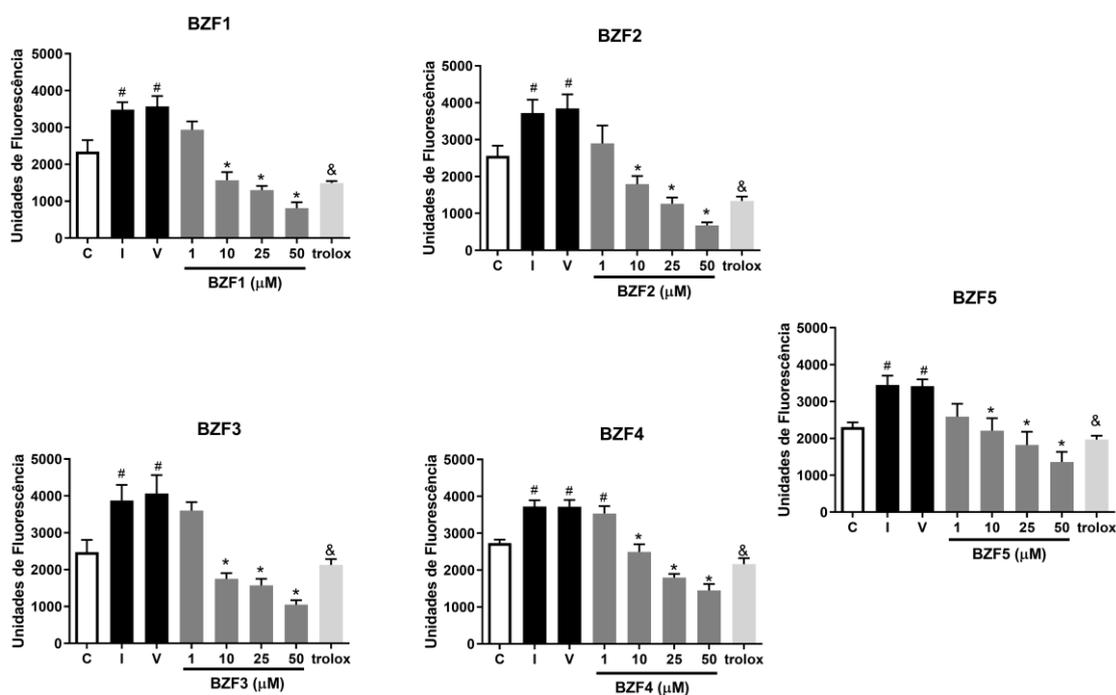


Figura 2. Efeito dos compostos 3-organoselenil-benzofuranos sobre o aumento nos níveis de EROS induzido por azida de sódio em cérebro de camundongos. Os dados demonstram a média \pm EPM de três experimentos independentes, sendo seus resultados expressos em unidades de fluorescência. # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle, * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo induzido ou veículo, ANOVA de uma via/Newman-Keuls. & $p < 0,05$ quando comparado ao grupo induzido para o teste T não pareado.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se verificar que os compostos 3-organoselenil-benzofuranos foram eficazes em proteger contra o aumento dos níveis de EROS induzido por azida de sódio em cérebro de camundongos *in vitro*. Desta forma, sua ação antioxidante poderia vir a contribuir futuramente em quadros de injúria ao sistema nervoso relacionados ao estresse oxidativo. Entretanto, outros ensaios são necessários para podermos afirmar a eficácia destes compostos e os mecanismos pelos quais eles atuam no organismo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Touyz, R. M. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress. **Primer on the Autonomic Nervous System**, p.335–338, 2012.

BRIEGER, Katharine, et al. Reactive oxygen species: from health to disease. **Swiss Medical Weekly**, Genebra, vol. 142, p. w13659, 2012.

Liochev, S. I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. **Free Radical Biology and Medicine**, Durham, v.60, p.1–4, 2013.

Rizzo, S., *et al.* Benzofuran-Based Hybrid Compounds for the Inhibition of Cholinesterase Activity, β Amyloid Aggregation, and A β Neurotoxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, Bologna, v.51(10), p.2883–2886, 2008.

Alfieri, M. A., Leung, F. Y., & Grace, D. M. Selenium and zinc levels in surgical patients receiving total parenteral nutrition. **Biological Trace Element Research**, Londres, v.61(1), p.33–39, 1998.