

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DE DERIVADOS SINTÉTICOS DAS CHALCONAS

**OLIVEIRA, Pathise Souto¹; DA SILVA, Nathália Victória Pinto²;
VASCONCELOS, Alana³; STEFANELLO, Francieli Moro⁴.**

¹Bolsista CNPq Pibic e Graduanda- Faculdade de Nutrição

²Bolsista FAPERGS Probic e Graduanda- Faculdade de Nutrição

³Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ/UFPEl

⁴Professora do departamento de Bioquímica- IQG/UFPEl

Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. pathisesouto@hotmail.com

BARSCHAK, Alethéa Gatto⁵

⁵ Professora de Bioquímica - Orientadora- IQG/UFPEl- aletheagatto@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), entre outras, é parte integrante do metabolismo humano e tem sido observada em diversas condições fisiológicas, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar microorganismos, células tumorais e outras células que precisam ser removidas, bem como na sinalização celular. Entretanto, quando em excesso, as ER podem oxidar diversas biomoléculas, como os lipídios, as proteínas e o DNA (Halliwell e Gutteridge, 2007).

A fim de evitar os efeitos danosos das espécies reativas, o organismo dispõe de mecanismos eficientes para a detoxificação desses agentes oxidantes, conhecidos como defesas antioxidantes. Essas podem ser divididas em enzimáticas (principalmente superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase), e não enzimáticas como por exemplo o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol (vitamina E), os polifenóis e a melatonina (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Em condições fisiológicas, há um balanço entre a produção de espécies reativas e os sistemas de defesa antioxidante; porém, em certas condições patológicas pode haver aumento da produção de oxidantes e/ou diminuição dos níveis de antioxidantes, favorecendo a ocorrência do estresse oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

A inflamação é uma reação de defesa do organismo e de seus tecidos a estímulos danosos (Silbernagl e Lang, 2006). As ERO e as ERN desempenham um papel importante dentro desse processo, atuando tanto na destruição do patógeno como também modulando a resposta inflamatória, uma vez que agem como segundos mensageiros durante a liberação de mediadores inflamatórios (Federico et al., 2007; Halliwell e Gutteridge, 2007; Valko et al., 2007). Estudos recentes têm demonstrado que as doenças associadas à progressão dos processos inflamatórios (artrite reumatóide, diabetes, câncer, doença de Parkinson e outras doenças neurodegenerativas) estão relacionadas à formação de espécies reativas nos sítios de inflamação, indicando que o estímulo prolongado causado pelas doenças inflamatórias crônicas pode levar a um desequilíbrio na produção de radicais livres causando lesão em células e tecidos (Libby, 2008; Droge, 2002).

As chalconas, ou 1,3-diaril-2-propen-1-onas, são cetonas α,β -insaturadas que podem pertencer à família dos flavonóides. De modo geral, os flavonóides possuem estrutura ideal para o sequestro de radicais, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E (Dimmock et al., 1999). Derivados sintéticos das chalconas têm sido sintetizados e testados como inibidores da ativação de mastócitos, neutrófilos,

macrófagos e células microgлияis, importantes mediadores de desordens inflamatórias. Além da importante atividade anti-inflamatória, estudos recentes têm demonstrado que derivados das chalconas apresentam também atividade antioxidante (Gacche et al., 2008; Oyedapo et al., 2008; Vogel et al., 2008).

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante de derivados sintéticos das chalconas, permitindo a identificação de compostos potencialmente úteis na terapêutica de doenças inflamatórias agudas e crônicas, pela determinação da atividade in vitro através da técnica de captação do radical 2,2 difenil-picril-hidrazila (DPPH).

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

2.1 Compostos testados: Foram testados 6 compostos (Figura 1)

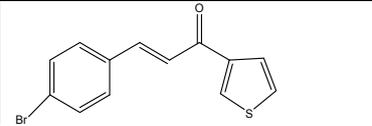
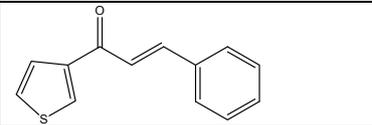
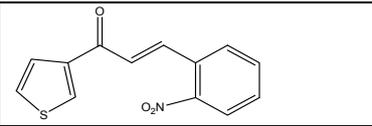
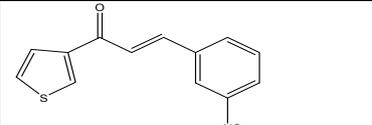
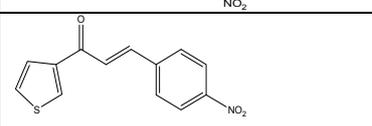
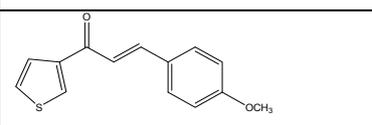
	(<i>E</i>)-3-(4-bromofenil)-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-ona C06	Fórmula Química: C ₁₃ H ₉ BrOS Massa: 291,96
	(<i>E</i>)-3-fenil-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-one C07	Fórmula Química: C ₁₃ H ₁₀ OS Massa: 214,05
	(<i>E</i>)-3-(2-nitrofenil)-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-one C09	Fórmula Química: C ₁₃ H ₉ NO ₃ S Massa: 259,03
	(<i>E</i>)-3-(3-nitrofenil)-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-one C10	Fórmula Química: C ₁₃ H ₉ NO ₃ S Massa: 259,03
	(<i>E</i>)-3-(4-nitrofenil)-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-one C11	Fórmula Química: C ₁₃ H ₉ NO ₃ S Massa: 259,03
	(<i>E</i>)-3-(4-metoxifenil)-1-(tiofen-3-il)prop-2-en-1-one C16	Fórmula Química: C ₁₄ H ₁₂ O ₂ S Massa: 244,06

Figura 1 – Chalconas testadas

2.2 Determinação da atividade antioxidante:

A determinação da ação antioxidante das chalconas foi realizada segundo o método de Brand-Williams et al. (1995), baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidantes, determinado em espectrofotômetro a 515 nm.

Foi preparada uma solução 60 μ M de DPPH em etanol absoluto, a partir desta foram preparadas soluções 10 μ M e 30 μ M de DPPH. As absorvâncias foram determinadas a fim de estabelecer uma curva de concentração de DPPH (estabelecer a relação entre absorvância e concentração de DPPH). Também foram preparadas soluções 60 μ M, 30 μ M e 15 μ M em etanol absoluto das diferentes chalconas a serem testadas.

Utilizando as soluções de chalconas foram preparadas as reações entre os compostos testados e o DPPH, utilizando 1mL da solução 60 μ M de DPPH e 1 mL dos compostos a serem testados. O etanol absoluto foi utilizado como branco para a calibração do espectrofotômetro. As absorvâncias das reações foram monitoradas

nos tempos 0, 5, 15 e a cada 30 minutos até 6 horas, em comprimento de onda de 515 nm.

A partir da curva de calibração do DPPH e do monitoramento da reação entre as diferentes chalconas e o DPPH foi determinada a concentração de chalcona necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC_{50} , concentração eficiente).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A capacidade antioxidante das diferentes chalconas foi testada com base na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidantes, escolhida por ser uma metodologia simples, rápida e sensível, muito conveniente para avaliar um grande número de substâncias.

A molécula do DPPH é caracterizada como um radical livre estável que apresenta uma cor violeta escuro em solução de etanol e uma banda de absorvância em torno de 515 nm. Quando a solução de DPPH é misturada com uma substância a qual pode doar átomos de hidrogênio, o DPPH se torna reduzido e perde sua coloração violeta. O potencial de diferentes compostos em sequestrar radicais livres é expresso como concentração necessária para reduzir o radical DPPH em 50 % (EC_{50}) (Molyneux, 2004).

No total foram testadas 6 chalconas e como controle utilizou-se o trolox, das chalconas testadas, apenas o composto C09 apresentou atividade antioxidante.

A chalcona C09 apresentou EC_{50} de 40 μ M e um percentual remanescente de DPPH de 88,3% para C09 de 7,5 μ M, 81,3% para 15 μ M e 63% para 30 μ M, sendo considerado um bom antioxidante frente ao radical DPPH. Apesar disso, a reação pode ser considerada lenta, pois atingiu a estabilização (equilíbrio de reação) apenas após 6 horas.

O trolox 150 μ M obteve 17% de porcentagem remanescente para o DPPH, em um período inferior a 5 minutos.

Existem 3 tipos de comportamento cinético dependendo da natureza do antioxidante testado: rápido, quando o equilíbrio de reação é atingido em menos de 1 minuto, intermediário com equilíbrio entre 5 e 30 minutos e lento quando o tempo para atingir o equilíbrio variar entre 30 minutos e 6 horas (Huang et al., 2005; Brand-Williams et al., 1995).

4 CONCLUSÕES

Enfim, apesar do comportamento lento da C09 e das demais chalconas não reagirem com o radical DPPH, é possível que nos sistemas biológicos esses compostos se comportem de forma diferente. Estudos têm demonstrado que muitos antioxidantes que reagem lentamente ou mesmo são inertes ao DPPH podem reagir rapidamente com os radicais peroxila (Huang et al., 2005). Sendo assim, testes envolvendo estudos in vivo são necessários para verificar a atividade antioxidante desses derivados das chalconas em condições biológicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPERGS e CNPq e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Ainda, gostaríamos de agradecer o Professor Cláudio M. P. Pereira pela síntese das chalconas testadas.

5 REFERÊNCIAS

1. BRAND-WILLIAMS, W.;CUVELI, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**v.28, 25-30, 1995.
2. DIMMOCK, J.R.,et al. Bioactivities of chalcones. **Curr Med Chem**, v.6, 1125-1149, 1999.
3. DROGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiol Rev**, v.82, 47-95, 2002.
4. FEDERICO, A., et al. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. **Int J Cancer**, v.121, 2381-2386, 2007.
5. GACCHE, R.N., et al.In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity. **J Enzyme Inhib Med Chem**, v.23, 28-31, 2008.
6. HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press ,2007.
7. HUANG, D.;OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem**,v.53, 1841-1856, 2005.
8. LIBBY, P. Role of inflammation in atherosclerosis associated with reumathoid arthritis. **Am J Med**, v.121, S21-S31,2008.
9. MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarín J. Sci. Technol.**,v. 26, 211-219, 2004.
10. OYEDAPO, A.O., et al. Analgesic, Antioxidant and Anti-inflammatory Related Activities of 2-hydroxy-2,4-dimethoxychalcone and 4-hydroxychalcone in Mice. **J. Biolog Sciences**, v.8, 131-136, 2008.
11. SILBERNAGL, S; LANG, F. **Fisiopatologia – Texto e Atlas**. Porto Alegre: Artmed, 2006.
12. VADAS, P.,et al. Induction of circulating group II phospholipase A2 expression in adults with malaria. **Infect. Immunol.**,v.60, 3928-3931,1992
13. VALKO, M., et al.Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, v.39, 44-84, 2007.
14. VOGEL, S.,et al. Natural and non-natural prenylated chalcones: Synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity. **Bioorg Med Chem**,v. 16, 4286-4293, 2008.