

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE IN VITRO DO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE AZIDOVUDINA

Lucas Lemos ¹

Lucas Magno Lopes Lemos ²

Márcia Rósula Poetini ³

Vandrezza Cardoso Bortolotto ⁴

Bianca Santos Bertolazi ⁵

Marina Prigol ⁶

Luana Barreto Meichtry ⁷

Resumo:

Atualmente vivemos em um cenário de avanços positivos relacionados a novas pesquisas que visam à elaboração de novos fármacos para tratamento de diversas doenças. Frente a isso os nucleosídeos modificados, como selenonucleosídeos têm sido objeto de intensa investigação como uma potencial fonte de medicamentos mais eficazes e menos tóxicos contra as espécies de radicais livres, além de apresentarem outras propriedades biológicas importantes, tais como, anti-tumoral, anti-inflamatórios, anti-infecciosos, e atividade antiviral. Baseado nisto, o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante in vitro do composto selenonucleosídeo derivado do 3' - azido- 3' - desoxitimidina também conhecido como zidovudina. A avaliação da capacidade antioxidante in vitro dos compostos químicos foi realizada por meio da atividade sequestradora do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), com as concentrações de selenonucleosídeo de 1 M, 10 M, 25 M, 50 M, 100 M mg.mL⁻¹, estes, foram realizados em triplicata e utilizando ácido ascórbico como controle positivo. Com o presente estudo podemos concluir que o composto selenonucleosídeo apresentou efeito antioxidante avaliado pelo método ABTS in vitro e que mais estudos precisam ser realizados para avaliar sua atividade in vivo.

Palavras-chave: Nucleosídeos, composto, selênio

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE IN VITRO DO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE AZIDOVUDINA

¹ Aluno de graduação. lucas.magno129@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. lucas.magno129@gmail.com. Apresentador

³ Aluno de pós-graduação. marciapoetini@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de pós-graduação. vandrezza.bortolotto@gmail.com. Co-autor

⁵ Aluno de graduação. bibertolazi@gmail.com. Co-autor

⁶ Docente. marinaprigol@gmail.com. Orientador

⁷ Aluno de pós-graduação. luanabm93@gmail.com. Co-orientador



AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DO COMPOSTO SELENONUCLEOSÍDEO DERIVADO DE AZIDOVUDINA

1. INTRODUÇÃO

Os nucleosídeos e nucleotídeos são compostos endógenos que estão envolvidos em vários processos celulares, como a síntese de DNA e RNA, sinalização celular, regulação de enzimas e metabolismo, assim como a produção de espécies reativas e estresse oxidativo, frente a isso evidências epidemiológicas demonstram o papel de compostos químicos antioxidantes na prevenção de várias doenças (JORDHEIM et al., 2013).

Os análogos de nucleosídeos e nucleotídeos são compostos sintéticos, quimicamente modificados, que têm sido desenvolvidos a fim de explorar o metabolismo celular e, subsequentemente, ser incorporado no DNA e RNA para inibir a divisão celular e a replicação viral (JORDHEIM et al., 2013).

O 3' - azido- 3' - desoxitimidina (Figura 1. A), também conhecido como zidovudina ou AZT, é um dos nucleosídeos sintéticos mais utilizados na medicina, desde 1987, quando foi aprovado para comercialização, pelo órgão norte-americano de controle sobre produtos farmacêuticos FDA (Food and Drug Administration) (SOUZA e STORPIRTIS, 2004).

Vivendo no presente cenário de avanços positivos em relação a novas pesquisas e elaboração de novos fármacos para tratamento de diversas doenças, as quais cada vez mais acometem a população, os nucleosídeos modificados como os selenonucleosídeos têm sido objeto de intensa investigação como uma potencial fonte de medicamentos mais eficazes e menos tóxicos. A combinação do selenonucleosídeo biologicamente ativo derivado da zidovudina (Figura 1. B) mostra-se uma nova classe de compostos biologicamente ativos proeminentes de compostos organocalcogêneos (DE SOUZA et al., 2015). Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* do composto selenonucleosídeo a partir dos métodos ABTS e DPPH.

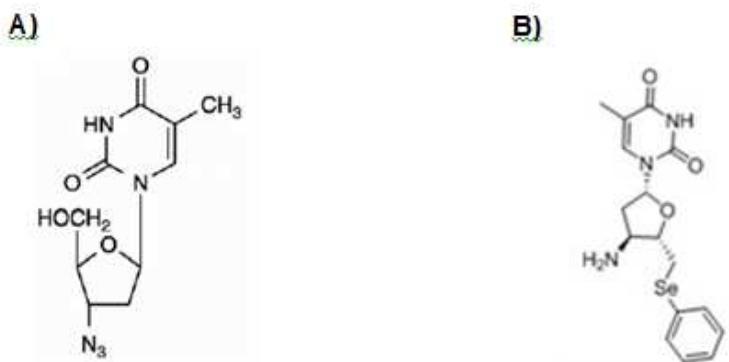


Figura 1. A) Fórmula molecular da zidovudina. B) Fórmula molecular do selenonucleosídeo derivado de zidovudina.

2. Metodologia

Para a verificação da capacidade antioxidante serão utilizados os métodos *scavenging* do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e *scavenging* do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico - ABTS). Conforme metodologia que segue abaixo.

2.1 Método DPPH

Para a verificação da capacidade antioxidante utilizando o método *scavenging* do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), como descrito por Sharma et al. (2009), foram preparadas soluções de DPPH 50 mM. Em tubos de ensaio foi adicionado 1 mL da solução DPPH e 10 μ L de diferentes concentrações (1 μ M, 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, μ g.mL⁻¹) do selenonucleosídeo para obtermos o volume final de 1010 μ L.

O potencial de inibição foi medido espectrofotometricamente pelo decréscimo da absorbância (λ = 517 nm) após 30 min de incubação, no escuro e em 30°C. Os ensaios foram realizados em triplicata e foi utilizado ácido ascórbico (vitamina C) como controle positivo. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

2.2 Método ABTS

Para a verificação da capacidade antioxidante utilizando o método *scavenging* do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), como descrito por Re et al. (1999), foram preparadas soluções de ABTS 1 mM. Em tubos de ensaio foi adicionado 1 mL da solução ABTS e 10 μ L de diferentes concentrações (1 μ M, 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, μ g.mL⁻¹) do selenonucleosídeo para obtermos o volume final de 1010 μ L.

O potencial de inibição foi medido espectrofotometricamente pelo decréscimo da absorbância (λ = 734 nm) após 30 min de incubação, no escuro em temperatura ambiente. Os ensaios foram realizados em triplicata e foi utilizado ácido ascórbico (vitamina C) como controle positivo. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Nos últimos anos um grande número de análogos de nucleosídeos com atividade anticâncer foram planejados e sintetizados, aparentemente esse fato se deve a uma necessidade na busca de análogos que sejam capazes de auxiliar no controle do estresse oxidativo. Os compostos organocalcogênicos tem surgido como uma alternativa para o tratamento do câncer, agindo principalmente através de enzimas de detoxificação das espécies reativas de oxigênio (EROs) (STEIBRENNER, 2009). Com isso, foi analisada a toxicidade de determinados análogos do AZT com selênio, através de testes *in vitro*, verificados por marcadores de estresse oxidativo, tendo em vista que os compostos orgânicos de selênio possuem ações farmacológicas *in vitro* e *in vivo* que podem ser atribuídas, em parte, as suas propriedades antioxidantes (PATAI'S, 2012). Em nosso trabalho, verificou-se que o composto selenonucleosídeo produz inibição significativa na produção de

espécies reativas onde foi mostrando um resultado de CE50 e efetividade máxima demonstrada na tabela 1.

Tabela 1. Concentração efetiva média calculada (CE50) e Inibição máxima (Imax) do composto selenonucleosídeo sobre a atividade de eliminação de radicais DPPH e ABTS.

	Atividade scavenging ABTS ⁺	Atividade scavenging DPPH ⁺
CE ₅₀ (μM)	45	>100
Imax (%)	95.0±2.0	35.5±11.7

Conforme na tabela 1, os resultados obtidos no método ABTS demonstraram que a CE capaz de sequestrar 50% do radical foi de 45 μM e o efeito máximo foi de 95.0±2.0 %, enquanto no método DPPH a EC50 foi encontrada em concentrações superiores a 100 μM e que o efeito máximo alcançando foi de apenas 35.5±11.7. A capacidade antioxidante diferente entre os ensaios DPPH e ABTS pode estar relacionada às diferentes estruturas químicas desses dois radicais. Além disso, poderia ser refletido que o átomo de nitrogênio no anel de piridina tem importância para a atividade de eliminação de prótons de radicais (WOLF et al.). Nossos resultados estão de acordo com WOLF et al. e LUCHESE et al. onde os compostos avaliados em seus estudos foram eficazes na eliminação de radicais ABTS, sendo menos eficazes na remoção do radical DPPH, podendo indicar que a capacidade antioxidante desse composto poderia estar relacionada a atividade protonada do eliminador de radicais .

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente estudo podemos concluir que o composto selenonucleosídeo apresentou efeito antioxidante avaliado pelo método ABTS *in vitro* e que mais estudos precisam ser realizados para avaliar sua atividade *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS

DE SOUZA, D., MARIANO, D.O.C., NEDEL, F., SCHULTZE, E., CAMPOS, V.F., SEIXAS, F., DA SILVA, R.S., MUNCHEN, T.S., ILHA, V., DORNELLES, L., BRAGA, A.L., ROCHA, J.B.T., COLLARES, T., RODRIGUES, O.E.D. New organochalcogen multitarget drug: Synthesis and antioxidant and antitumoral activities of chalcogenozidovudine derivatives. *Journal of medicinal chemistry*. 58: 8, 3329-3339, 2015.

JORDHEIM, L. P.; DURANTEL, D.; ZOULIM, F.; DUMONET, C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. 12, 447– 464, 2013.

LUCHESI, C.; BRANDÃO, R.; ACKER, C. I.; NOGUEIRA, C. W. Resultados da pesquisa. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 367, 153, 2012.

PATAI'S CHEMISTRY OF FUNCTIONAL GROUPS. The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium Compounds. Rappoport Z (Ed), John Wiley & Sons Ltd, pp 61, 2012.

RE, R., PELEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1-9, 1231-1237, 1999.

SHARMA, O.P., BHAT, T.K. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113, 1202-1205, 2009.

SOUZA, J., STORPIRTIS, S. Atividade anti-retroviral e propriedades farmacocinéticas da associação entre lamivudina e zidovudina. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 40:1, 9-19, 2004.

STEIBRENNER, H., SIES, H. Protection against reactive oxygen species by seleno proteins. *Biochim. Biophys. Acta*. 1790, 1478-1485, 2009.

WOLF, L.; QUOOS, N.; MAYER, J. C. P.; SOUZA, D.; SAUER, A. C.; MEICHTRY, L.; BORTOLOTTI, V.; PRIGOL, M.; RODRIGUES, O. E. D.; DORNELLES, L. Synthesis and free radical scavenging activity of 2-alkyl/arylchalcogenyl-N-(4-aryl-1,3-thiazol-2-yl)acetamides compounds. *Tetrahedron Letters*. 57, 1031-1034, 2016.