

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO COMPOSTO DIMETIL-1-FENIL-3,4-BIS(FENILSELENIL)-1H-PIRROL *IN VITRO*

RODIRGO PRATO PINTO¹; ANA PAULA PESARICO²; THIAGO JACOBSEN PEGLOW³; GELSON PERIN⁴; LUCIELLI SAVEGNAGO⁵

¹Universidade Federal de Pelotas– rodrigommd@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– anappesarico@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – thiago_lasol@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas– gelson_perin@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas– lucielisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O selênio é um micronutriente essencial para a saúde humana, uma vez que, entre outras funções, é um constituinte integral de selenoproteínas, as quais tem papel fundamental na manutenção do estado redox do organismo (Brigelius-Flohé and Flohé 2017). Com isso, compostos orgânicos contendo selênio se mostram promissoras moléculas para estudos farmacológicos (Casaril et al. 2019; Domingues et al., 2019; Singh et al. 2016; Masaki et al. 2016; Kil et al. 2017; Gandin et al. 2018; Sudati et al. 2018).

Nesse sentido, nosso grupo de pesquisa investiga compostos orgânicos de selênio que apresentam atividade biológica frente a distúrbios neuropsiquiátricos, como a depressão maior, que está associada, a um quadro de desequilíbrio oxidativo (Herken et al., 2007). Dentre esses compostos, foram avaliados os efeito da molécula dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol (selanilpirrol) (**Figura 1**).

Os compostos com núcleos pirrol também tem se mostrado promissoras moléculas bioativas (Bhardwaj et al., 2015), e, com isso, é interessante seu estudo frente ao estresse oxidativo. Portanto, nosso grupo de pesquisa hipotetizou que o selanilpirrol, uma molécula contendo dois elementos selênio e um núcleo pirrol, tenha ação antioxidante.

A fim de atingir esse objetivo realizou-se uma série de ensaios *in vitro*, dentre eles estão os ensaios da atividade scavenger do radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) e do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) e o ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

2. METODOLOGIA

2.1. Molécula

A molécula foi sintetizada pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), foi diluída em dimetilsofóxido e utilizada nas concentrações de 1 µM, 10 µM, 50 µM e 100 µM.

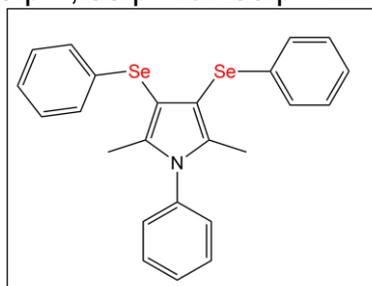


Figura 1. Estrutura química da molécula Dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol.

2.2. Atividade sequestrante do radical ABTS

A atividade de captura do radical ABTS pelo selanilpirrol foi realizada de acordo com o método descrito por Re et al (1999). Foi utilizado 10 μL da molécula das diferentes concentrações com 990 μL da solução ABTS e incubado no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorbância da solução foi lida a 734nm no espectrofotômetro, sendo que a diminuição da coloração em relação ao controle representa a atividade *scavenger* do composto.

2.3. Atividade sequestrante do radical DPPH

A atividade de captura do radical DPPH pelo selanilpirrol foi realizada de acordo com o método descrito por Sharma (2009). Foi utilizado 10 μL da molécula das diferentes concentrações com 990 μL da solução DPPH e incubado no escuro por 30 minutos à 30°C. A absorbância da solução foi lida a 517 nm no espectrofotômetro, sendo a diminuição da coloração em relação ao controle representa a atividade *scavenger* do composto.

2.4. Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

As análises de TBARS nos tecidos de cérebro total, rim e fígado foram realizadas de acordo com Ohkawa et al., (1979). A análise foi realizada por espectrofotometria a 532 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da peroxidação, tendo os animais induzidos como 0% de inibição.

2.5. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas utilizando o software graphpad prism 7 utilizando Análise de Variância ANOVA de uma via seguido pelo teste post hoc de Student-Newman-Keul. Foram considerados significativos quando $p > 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O composto não reduziu a quantidade de radicais livres de ABTS e DPPH (**Figura 2**) quando comparados com o grupo controle enquanto o Trolox (10 μM) demonstrou propriedades antioxidantes em ambos os ensaios.

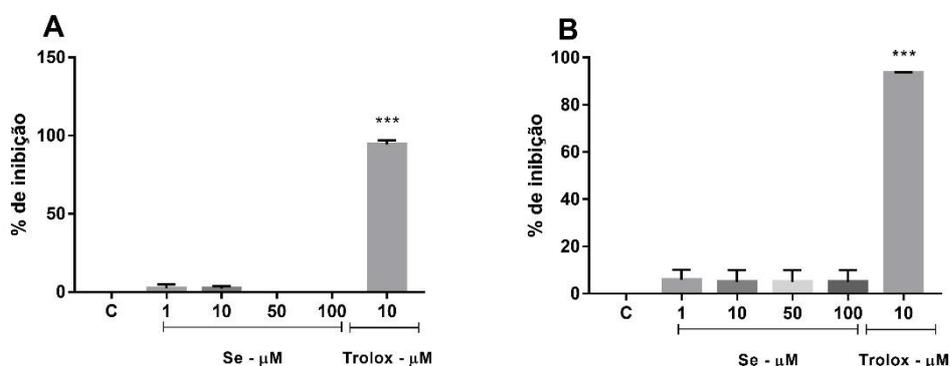


Figura 2. Efeito das diferentes concentrações do dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol e efeito do trolox nos ensaios da atividade *Scavenger* do radical ABTS (**A**), atividade *scavenger* do radical DPPH. Dados estão representados pela média \pm EPM. *** $p < 0,001$ quando comparado com o grupo controle. Abreviações: C: Controle, Se: Dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol.

Apesar de não demonstrar capacidade de reverter a formação dos radicais testados, o composto inibiu a peroxidação lipídica nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 μM nos diferentes tecidos utilizados (**Figura 3**).

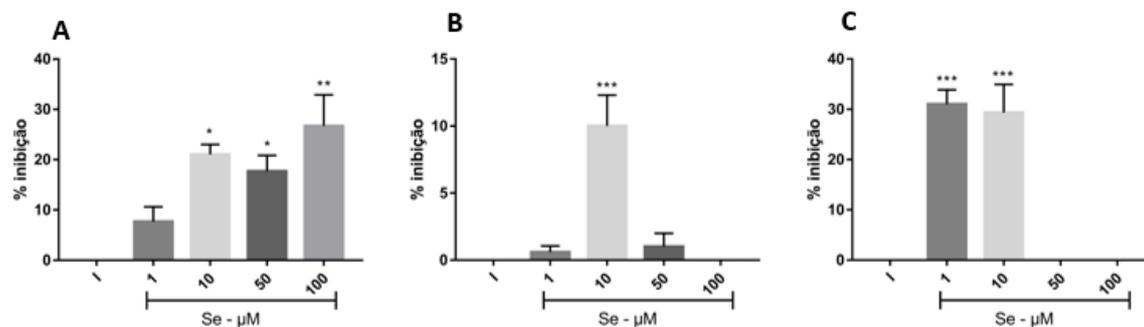


Figura 3. Efeito das diferentes concentrações do dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol nos ensaios de TBARS em tecido de fígado (**A**), rim (**B**) e cérebro (**C**). Dados estão representados pela média \pm EPM. * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ quando comparado com o grupo induzido. Abreviações: C: Controle; I: Induzido; Se: Dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol.

Portanto, a molécula de dimetil-1-fenil-3,4-bis(fenilselenil)-1H-pirrol diminuiu os níveis de peroxidação lipídica nos tecidos testados, todavia, ele não apresentou ação *scavenger* dos radicais ABTS e DPPH, sugerindo assim que sua ação antioxidante, possivelmente, não esteja associada com as vias abordadas nesse trabalho.

4. CONCLUSÕES

De acordo com o que foi exposto anteriormente, a molécula do selanilpirrol demonstrou ser um composto com promissora atividade antioxidante, uma vez que aumentou a porcentagem de inibição da formação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico tanto no fígado como no rim e no cérebro. Com base nesses resultados, mais estudos são necessários para elucidar seus efeitos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bhardwaj, V. et al. (2015) Pyrrole: a resourceful small molecule in keymedicinal hetero-aromatics. **Rsc advances** v. 5 p. 15233–15266;
- Brigelius-Flohé R, Flohé L (2017) Selenium and redox signaling. **Arch Biochem Biophys** v. 617 p. 48–59;
- Casari, A.M. et al. The selenium-containing compound 3-((4-chlorophenyl)selenyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxido-nitrosative stress and inflammatory pathway. **Psychopharmacology**, p. 1–14, 2019;
- Domingues, M. et al. Effects of a selanylimidazopyridine on the acute restraint stress-induced depressive- and anxiety-like behaviors and biological changes in mice. **Behavioural Brain Research** v. 366 p.96-207, 2019;
- Gandin V. et al. (2018) Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. **Free Radic Biol Med** v. 127 p. 80–97, 2018;
- Herken, H. et al. (2007) Adenosine Deaminase, Nitric Oxide, Superoxide Dismutase, and Xanthine Oxidase in Patients with Major Depression: Impact of Antidepressant Treatment. **Archives of Medical Research** v. 2 p. 247–252, 2018;

- Kil, J, et al. Safety and efficacy of ebselen for the prevention of noise-induced hearing loss: a randomised, double-blind, placebocontrolled, phase 2 trial. **Lancet** v. 390 p. 969–979, 2017;
- Masaki, C. et al. Effects of the potential lithium-mimetic, ebselen, on impulsivity and emotional processing. **Psychopharmacology** v. 233 p. 2655–2661, 2016;
- Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem.** v. 95, p. 351–358 1979;
- Re, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine** v. 26 p. 1231-1237, 1999;
- Sharma O.P., Bhat T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry** v.113 p. 1202-1205, 2009;
- Singh, N. et al. Effect of the putative lithium mimetic ebselen on brain myo-inositol, sleep and emotional processing in humans. **Neuropsychopharmacology** v. 41 p. 1768–1778, 2016;
- Sudati, J.H. et al. Diselenoamino acid derivatives as GPx mimics and as substrates of TrxR: in vitro and in silico studies. **Org Biomol Chem** v. 16 p. 3777–3787, 2018.