

ESTUDO DA REATIVIDADE DE PLUMBAGIN E NAFTOQUINONAS DERIVADAS COM AGENTES OXIDANTES

Vivian Aparecida Fernandes do Couto¹; Tiago Rodrigues²

Estudante do Curso de Farmácia; e-mail: vih.couto@hotmail.com¹

Professor da Universidade Federal do ABC; e-mail: trodrigues.ufabc@gmail.com²

Área do Conhecimento: Radicais Livres

Palavras-chave: Plumbagin, naftoquinona, peróxido de hidrogênio, reatividade.

INTRODUÇÃO

As quinonas representam uma ampla e variada família de metabólitos distribuídos naturalmente. Nos últimos anos o interesse por estas substâncias tem se intensificado devido à importância que estes compostos têm em relação aos processos bioquímicos vitais e ao destaque que as quinonas têm recebido em estudos farmacológicos (SILVA, FERREIRA, SOUZA, 2003). O plumbagin é uma naftoquinona citotóxica, produzida pela planta *Dionaea muscipula* Ellis - uma das plantas carnívoras mais conhecidas no mundo (TOKUNAGA, TAKADA, UEDA, 2004), que apresenta um amplo espectro de propriedades biológicas e farmacológicas, como: antimaláricas, anti-microbianas antifúngicas, antialérgicas e anti-câncer (GREVENSTUK *et al.* 2007). De acordo com VESSECCHI *et al.* (2006) as atividades biológicas desses compostos estão relacionadas com seu potencial redox, enquanto sua atividade citostática e antimicrobiana se deve à sua habilidade de agir como um potente inibidor do transporte de elétrons. Segundo Grevenstuk *et al.* (2007), as propriedades antitumorais apresentadas pelo plumbagin e seus derivados podem representar uma nova dimensão na terapia contra o câncer. Esta citotoxicidade apresentada pelo plumbagin em células tumorais parece estar relacionada à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (KAWIAK *et al.*, 2007; WANG, LUO, ZENG, 2008; POWOLNY, SINGH, 2008) como o radical hidroxil ($\bullet\text{OH}$), ânion radical superóxido (O_2^-) e hidroperóxil ($\text{ROO}\bullet$) (SOUSA *et al.* 2007), que podem atuar como eletrófilos ou nucleófilos, atacando moléculas orgânicas pela abstração de hidrogênio ou acoplando-se em duplas ligações e anéis aromáticos (hidroxilação), inclusive em posições substituídas causando reações como desmetilação, desalogenação, desalquilação, desnitrilação, desaminação e descarboxilação (AGUIAR *et al.* 2007), podendo causar danos ao DNA ou oxidar lipídeos e proteínas e ainda atacar cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídeos e do colesterol, iniciando o processo de peroxidação lipídica nas membranas celulares (SOUSA *et al.* 2007).

OBJETIVO

Realizar estudos acerca da reatividade do plumbagin com agentes oxidantes, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a fim de estabelecer alguma relação entre os resultados obtidos e os efeitos biológicos apresentados por estas substâncias.

METODOLOGIA

O plumbagin foi adquirido da empresa Sigma Chem Co. (St. Louis, USA) e todas as outras substâncias utilizadas possuem o maior nível de pureza disponível comercialmente. A água utilizada para o preparo das soluções tampão é bidestilada e purificada pelo sistema Milli-Q e a concentração máxima de cálcio presente na mesma é de 10 $\mu\text{mol/L}$. Os experimentos envolvendo espectrofotômetro foram realizados em um espectrofotômetro Matriz Fotodiodo MultiSpec-1501 (Shimadzu Co., Kyoto, Japão) e foi utilizada uma cubeta de quartzo com caminho ótimo de 1 cm. Dentro destas

condições obteve-se a variação do pH utilizando um tampão universal cuja composição consiste de ácido bórico, ácido acético, ácido fosfórico e água, seguida pela adição de hidróxido de sódio 3M para obtenção do pH desejado (medido com pHmetro). Foram realizados espectros de absorção eletrônica do plumbagin com variação do pH de 2,0 a 12,0 na presença e na ausência do agente oxidante peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com o objetivo de verificar possíveis variações causadas pelo peróxido de acordo com o tempo. Ainda com peróxido de hidrogênio presente no meio realizou-se a obtenção de espectros de absorção com variação da concentração da droga de 4,5 μM a 288 μM , na presença da resina a resina quelante EGTA (ácido etilenoglicoltetracético), com Chelex[®], com SDS (dodecil sulfato de sódio) e com CTAB (brometo de cetiltrimetil amônio) a fim de observar se cátions, ânions e metais influenciaram nos resultados obtidos. Ainda, foi realizada a espectrofotometria de fluorescência do plumbagin com a sua concentração variando de 50 μM a 250 μM .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O plumbagin apresenta três bandas de absorção características: em 273, 416 e 516 nm, como pode ser notado na figura 1, sendo que apenas duas coexistem em diferentes faixas de pH. O aumento do pH promove a desprotonação da hidroxila do grupamento fenólico da molécula da naftoquinona ocasionando o deslocamento do pico de absorção em 416 nm para 516 nm em meio alcalino. Portanto, o pico em 416 nm aparente em pH ácido é referente à espécie protonada do plumbagin e o pico em 516 nm que só é aparente em pH alcalino refere-se à espécie desprotonada da molécula. Ao plotarmos os valores de absorbância máxima em função do pH, obtemos o valor do pK_a desta transição que foi de 9,5.

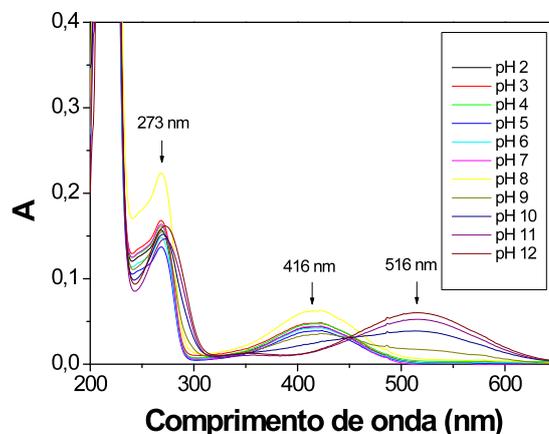


Figura 1 – Espectro UV-visível do plumbagin 10 μM em tampão universal em diferentes valores de pH.

A reação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com o plumbagin foi avaliada espectrofotometricamente pelas mudanças no espectro de absorção eletrônica do plumbagin. Em meio alcalino (pH 10,0), a adição de H_2O_2 causou um deslocamento da banda de absorção em 516 nm para 416 nm seguido de *bleaching* da banda em 416 nm. (figura 2). Esse efeito foi observado também em pH 7, mas com uma velocidade de reação muito menor e não foi observado em pH 4, indicando que o H_2O_2 não reage com plumbagin em pH relativamente ácidos. A banda de absorção em 516 nm do plumbagin em pH 10 sumiu após a adição de EGTA ou da resina quelante Chelex[®], mas mesmo assim, na presença de H_2O_2 foi observado *bleaching* da banda em 416 nm. O mesmo comportamento foi observado na presença dos surfactantes positivo CTAB ou negativo

SDS. No entanto a reatividade do plumbagin com H_2O_2 foi maior no meio contendo CTAB do que SDS. As velocidades da reação em meios heterogêneos micelares serão calculadas posteriormente, bem como o produto da reação do plumbagin com H_2O_2 será identificado.

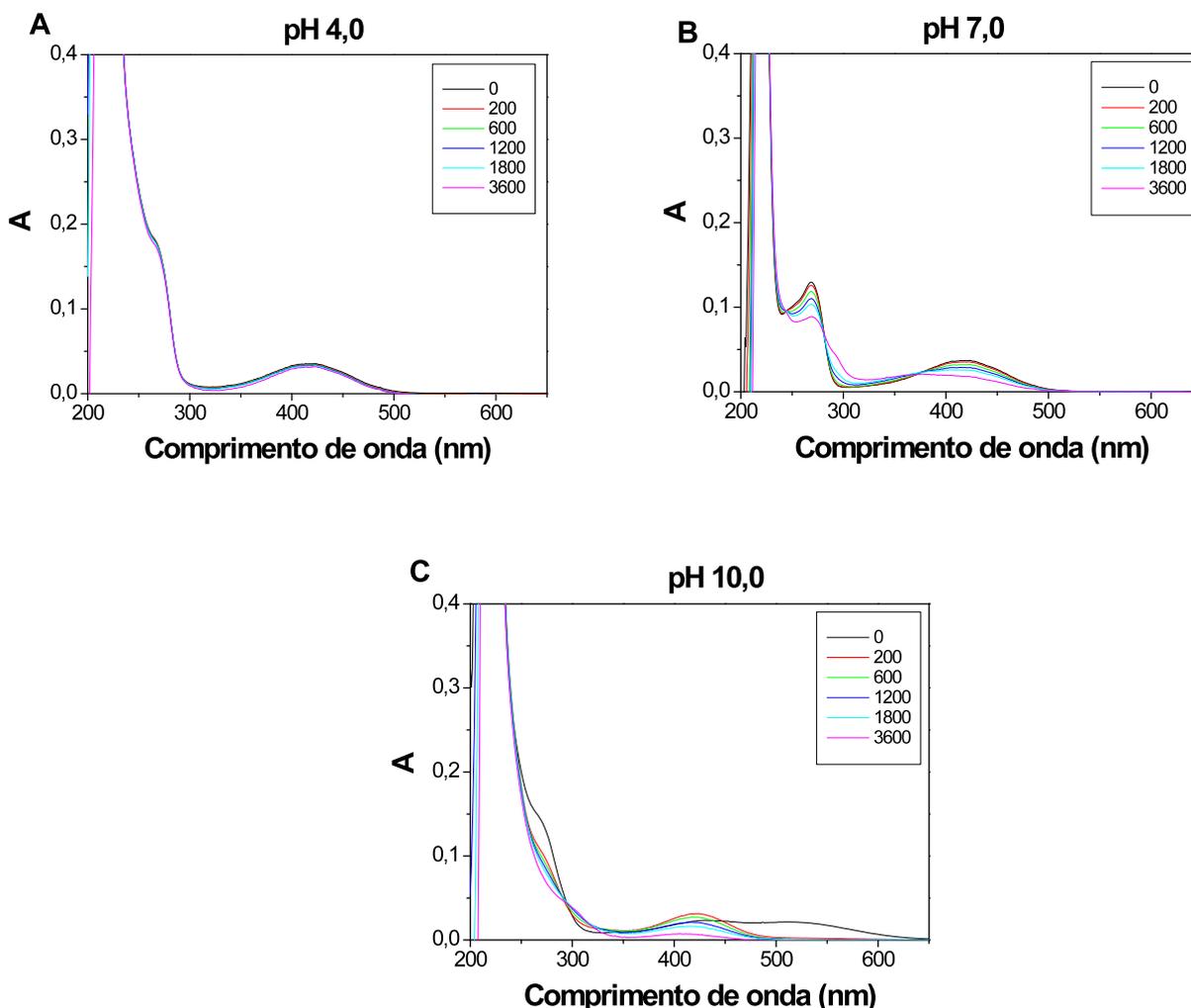


Figura 2 – Espectro UV-visível do plumbagin $10 \mu M$ com peróxido de hidrogênio $3 \mu M$ em tampão universal em pH 4,0 (A), 7,0 (B) e 10,0 (C), cinéticas realizadas em 0, 200, 600, 1200, 1800 e 3600 segundos.

CONCLUSÕES

Em meio ácido o plumbagin apresenta dois picos de absorção característicos sendo um em 216 nm e o segundo em 416 nm, em valores de pH alcalinos ocorre um deslocamento do pico em 416 nm para 516 nm. O valor do pK_a do plumbagin estimado foi de 9,5. O peróxido de hidrogênio reage com plumbagin, conforme demonstrado pelas mudanças espectrais do plumbagin na presença do agente oxidante, sendo que a reatividade aumentou com o aumento do pH, indicando que a reação ocorre com a forma desprotonada da naftoquinona.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A., FERRAZ, A., CONTRERAS, D., RODRÍGUEZ, J. (2007) Mecanismo e aplicações da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 623 – 628.
- GREVENSTUK, T.; GONÇALVES, S.; NOGUEIRA, J. M. F.; ROMANO, A. (2007). Plumbagin Recovery from Field Specimens of *Drosophyllum lusitanicum* (L.) Link. *Phytochemical Analysis*, v. 19 : 229 – 235.
- KAWIAK, A. A.; PIOSIK, J.; STASILOJC, G.; GWIZDEK-WISNIEWSKA, A.; MARCZAK, L.; STOBIECKI, M.; BIGDA, J.; LOJKOWSK, E. (2007). Induction of apoptosis by plumbagin through reactive oxygen species-mediated inhibition of topoisomerase II. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 223: 267–276.
- POWOLNY, A. A.; SINGH, S. V. (2008). Plumbagin-induced Apoptosis in Human Prostate Cancer Cells is Associated with Modulation of Cellular Redox Status and Generation of Reactive Oxygen Species. *Pharmaceutical Research*.
- SILVA, M. N., FERREIRA, V. F., SOUZA, M. C. B. V. (2003). Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. *Química Nova*, n. 3. v. 26 : 407 – 416.
- SOUSA, C. M. M., SILVA, H. R., VIEIRA-JR, G. M., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., CHAVES, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, n. 2. v. 30 : 351 – 355.
- TOKUNAGA, T.; TAKADA, N.; UEDA, M. (2004). Mechanism of antifeedant activity of plumbagin, a compound concerning the chemical defense in carnivorous plant. *Tetrahedron Letters*, v. 45: 7115 – 7119.
- VESSECCHI, R.; NASCIMENTO, P. G. B. D.; LOPES, J. N. C.; LOPES, N. P. (2006). Fragmentation studies of synthetic 2-acylamino-1,4-naphthoquinones by electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 41: 1219 – 1225.
- WANG, W.; LI, H.; LUO, X.; ZENG, X. (2007). THz Spectra of 1,4-Naphthoquinones and its Four Derivatives. *Proc. of SPIE*. v. 6840 : 1- 7.