

ESTUDO DO COMPORTAMENTO REDOX DA INTERAÇÃO DA CHALCONA P-FLÚOR COM DNA

Maria N. do Nascimento¹, Hécio S. dos Santos², Paulo N. Bandeira², Murilo S. S. Julião^{3*}

1. Estudante do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UEVA)
2. Professor Associado do Curso de Química da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UEVA)
3. Professor Associado do Curso de Química da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UEVA)/Orientador

Resumo

As chalconas são importantes intermediários na síntese de compostos biologicamente ativos como os flavonoides e seus derivados. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento redox da chalcona [4-fluorofenil-1-(2-hidróxi-3,4,6-trimetóxi-fenil)-prop-2-en-1-ona] ou Chalcona p-flúor com o DNA a fim de detectar se a Chalcona p-flúor provoca a interrupção da duplicação de DNA.

A Chalcona p-flúor interagiu eletroquimicamente com o DNA em pH próximo ao do sangue humano, uma vez que os resultados obtidos por voltametria cíclica sobre eletrodo de carbono vítreo mostraram a elevada afinidade da Chalcona p-flúor com o DNA por meio de ligações intercaladas. Os resultados iniciais apontam para a possibilidade de melhorar o entendimento do mecanismo de interação necessário ao desenvolvimento de novos medicamentos anticâncer.

Palavras-chave: Carbono vítreo; mecanismos de oxirredução; voltametria cíclica.

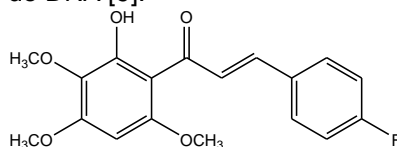
Apoio financeiro: Ao CNPq e à FUNCAP.

Introdução

Devido aos medicamentos ineficazes, o câncer é a segunda causa de morte mais importante depois da falência do músculo cardíaco. Portanto, os pesquisadores têm acelerado seus esforços para a geração de novos fármacos anticâncer com alto índice terapêutico. Neste contexto, um derivado antitumoral clinicamente eficaz da chalcona (caliqueamicina) estimulou os investigadores a concentrar os seus estudos nas chalconas e compostos relacionados [1].

As chalconas [2] (cetonas α , β -insaturadas) são candidatos promissores na nova era dos medicamentos devido ao seu amplo espectro de atividades antitumorais, antibacterianas e antiinflamatórias [3-5]. Até agora, várias equipes de pesquisa já relataram a interação de compostos e DNA usando células convencionais de três eletrodos que consistiam em eletrodos de carbono vítreo (ECV), calomelano saturado (ECS) e fio de platina (Pt). Esses trabalhos fornecem muitas informações valiosas para investigação adicional e a projeção de novos medicamentos anticâncer [6]. Técnicas espectroscópicas e voltamétricas podem ser aplicadas para determinar parâmetros como: constante de ligação, tamanho do sítio de ligação, energia livre de Gibbs, razão entre as constantes de ligação para espécies oxidadas e reduzidas, coeficiente de difusão (fármaco livre e ligado ao DNA) e constante da velocidade de transferência de elétrons heterogênea.

As atividades de várias moléculas ligadas ao DNA têm sua origem principalmente na intercalação [7]. No entanto, a natureza da intercalação depende do grupo funcional e da geometria da molécula [8]. O objetivo deste trabalho foi estudar por meio da voltametria cíclica; em metanol aquoso 10% tamponado em pH 7,4 usando Tris-HCl 0,05 mol L⁻¹; a interação da chalcona [4-fluorofenil-1-(2-hidróxi-3,4,6-trimetóxi-fenil)-prop-2-en-1-ona], denominada aqui de Chalcona p-flúor (Figura 1) com o DNA a fim de detectar se esta chalcona provoca a interrupção da duplicação da molécula de DNA [9].



chalcona 4-fluor

Figura 1. Estrutura molecular da Chalcona p-flúor (MM = 332,32 g mol⁻¹).

Metodologia**Reagentes e Soluções**

A Chalcona p-flúor foi sintetizada pelo Grupo de Pesquisa em Química de Produtos Naturais e Síntese de Compostos Orgânicos da UEVA. O metanol com pureza superior a 99,5% e o perclorato de tetrabutilamônio (TBAP, Fluka, 99%) foram usados sem purificação adicional. Água deionizada foi usada para preparar todas as soluções e tamponada a pH 7,4 com solução Tris-HCl 0,05 mol L⁻¹. O DNA foi adquirido da Sigma-Aldrich.

A solução estoque de DNA foi preparada dissolvendo uma quantidade apropriada de DNA em água deionizada e armazenada a 4°C. A solução estoque da Chalcona p-flúor (6,0 mmol L⁻¹) foi preparada por dissolução da chalcona em metanol aquoso a 10% (v/v).

Equipamentos e procedimentos

Os experimentos voltamétricos foram realizados usando um potenciostato/galvanostato μ Autolab (Metrohm) interfaceado ao software NOVA versão 2.1. As medidas foram realizadas numa célula convencional de três eletrodos: calomelano saturado (ECS) como eletrodo referência, bobina de Pt de 0,5 mm de espessura como eletrodo auxiliar e carbono vítreo (ECV) com área geométrica de 0,071 cm² como eletrodo de trabalho. Antes dos experimentos, o ECV foi polido sobre pasta de alumina de 0,25 μ m numa almofada de polimento de náilon.

Nos experimentos registrados por voltametria cíclica (VC), a concentração e o volume da Chalcona p-flúor foram mantidos constantes enquanto a concentração do DNA em solução era variada. Os voltamogramas cíclicos foram registrados com a adição de volumes conhecidos da solução de DNA. As soluções foram desoxigenadas por meio de purga com gás N₂ por 10 min antes de cada experimento e usadas para manter a atmosfera de nitrogênio durante as medições. Todos os experimentos foram realizados a 28°C e pH = 7,4. Antes de cada registro voltamétrico, o ECV era polido para realizar o processo eletroquímico com a superfície limpa do eletrodo.

Resultados e Discussão

Comportamento redox da interação da Chalcona p-flúor-DNA

O comportamento voltamétrico da Chalcona p-flúor 2,0 mmol L⁻¹ em tampão Tris-HC/ 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,4) sobre eletrodo de carbono vítreo (ECV) na ausência e presença de concentração variável de ácido desoxirribonucleico (DNA) foi mostrado na Figura 2.

O voltamograma (—) mostra que a Chalcona p-flúor exibe dois picos de redução proeminentes e um pico de oxidação fraco no ECV limpo. O pico catódico I_{pc1} registrado em -1,06 V corresponde à redução de um elétron do carbono 3 seguida pela formação de dímero. O pico I_{pc2} registrado em -1,40 V pode ser atribuído à redução de 2 elétrons/2 prótons do dímero. O pico anódico fraco (I_{pa}) em -0,94 V pode ser devido à eletrooxidação do produto gerado a partir do pico registrado em I_{pc2} .

Os voltamogramas cíclicos (- - -) e (...) apresentados na Figura 2 indicam ainda uma diminuição considerável das correntes dos picos e mudança dos potenciais de pico catódico para valores menos negativos pela adição crescente da concentração de DNA. Tais observações podem ser atribuídas à diminuição da concentração do Chalcona p-flúor livre devido à sua intercalação no DNA [10]. A mudança no potencial de pico indica a interação da Chalcona p-flúor com o DNA.

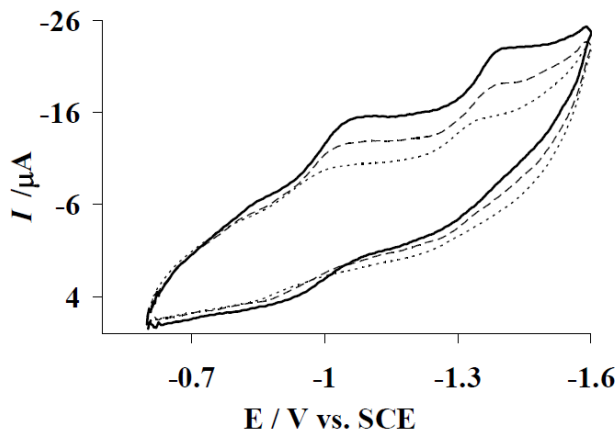


Figura 2. Voltamogramas cíclicos registrados sobre ECV para 2,0 mmol L⁻¹ de Chalcona p-flúor em metanol com 0,1 mol L⁻¹ de TBAP, na (—) ausência e presença de (- - -) 1 μ mol L⁻¹ de DNA e (...) 5 μ mol L⁻¹ de DNA. Condições experimentais: velocidade de varredura = 100 mV/s; tampão Tris-HC/ 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,4) e 28°C.

Uma análise mais aprofundada dos voltamogramas cíclicos revela o desaparecimento do pico anódico pode ser devido à formação de um aduto da Chalcona p-flúor-DNA eletroquimicamente não oxidável. Para mostrar que a diminuição na corrente de pico se deve à formação do complexo Chalcona p-flúor-DNA de difusão lenta, o coeficiente de difusão da chalcona com e sem DNA foi determinado usando a equação (1) de Randles-Sevcik [11]:

$$I_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot C_o^* \cdot D_o^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (1)$$

Onde: I_p (A) é a corrente de pico, A (cm²) a área do eletrodo, C_o^* (mol cm⁻³), a concentração da espécie eletroativa, D_o (cm²s⁻¹) o coeficiente de difusão e v (Vs⁻¹) é a velocidade de varredura.

A linearidade do gráfico (Figura 3) entre I_p e $v^{1/2}$ indica que a redução da Chalcona p-flúor é controlada por difusão. Os coeficientes de difusão de 2,0 mmol L⁻¹ da Chalcona p-flúor na ausência e presença de 5 μ mol L⁻¹ de DNA foram obtidos a partir da inclinação do gráfico de I_p versus $v^{1/2}$ e iguais a 1,1 $\times 10^{-9}$ m² s⁻¹ e 2,9 $\times 10^{-10}$ m² s⁻¹, respectivamente.

Esses resultados indicam que o coeficiente de difusão da Chalcona p-flúor ligada ao DNA, o qual é uma ordem de magnitude menor do que da Chalcona p-flúor livre, é responsável pela diminuição observada na corrente de pico. Resultados semelhantes também foram obtidos por outros pesquisadores [12].

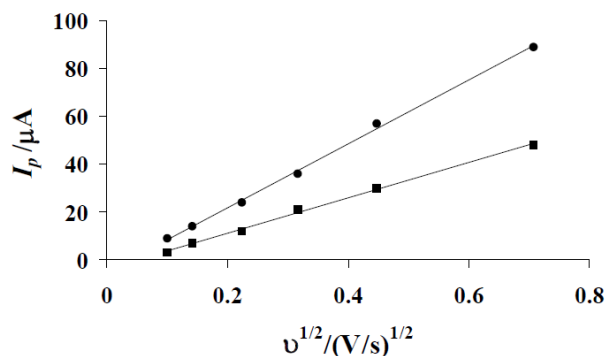


Figura 3. Gráfico de I_p versus $v^{1/2}$ da Chalcona p-flúor 2 mmolL^{-1} na (●) ausência de DNA e (■) presença de $5 \mu\text{molL}^{-1}$ de DNA obtido a partir de voltamogramas cíclicos registrados em tampão Tris-HCl $0,05 \text{ molL}^{-1}$ (pH 7,4) a 28°C a diferentes velocidades de varredura: 20 mV/s, 50 mV/s, 100 mV/s, 200 mV/s e 500 mV/s.

Conclusões

Em suma, a Chalcona p-flúor mostra interações mensuráveis eletroquimicamente com o DNA em pH próximo ao do sangue humano e à temperatura ambiente de 28°C . Os resultados obtidos por voltametria cíclica confirmaram um modo intercalativo de ligação com alta afinidade para o DNA. Esses resultados preliminares ajudarão a compreender melhor o mecanismo de interação necessário para o desenvolvimento de novos medicamentos anticâncer.

Referências bibliográficas

- GRAHAM SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A. **Solomons' Organic Chemistry**. 12 ed.; New York: Wiley and Sons, p 1144, 2017.
- NI, L.; MENG, C. Q.; SIKORSKI, J. A. Recent advances in therapeutic chalcones. **Expert Opinions Therapy Patients**, v. 144, p. 1669-1691, 2004.
- SASAYAMA, T.; TANAKA, K.; MIZUKAWA, K. et al. Trans-4-Iodo,4-boranyl-chalcone induces antitumor activity against malignant glioma cell lines *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Neurology-Oncology**, v. 85, p. 123-132, 2007.
- CHANG, H. J.; YOON, G.; PARK, J. S. et al. Induction of apoptosis by the Licochalcone E in endothelial cells via modulation of NF-B and Bcl-2 family. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p. 2290-2293, 2007.
- PANDEY, M. K.; SANDUR, S. K.; SUNG, B. et al. Butein, a tetrahydrochalcone, inhibits nuclear factor (NF)-B and NF-B-regulated gene expression through direct inhibition of IB kinase on cysteine 179 residue. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 282, p.17340-17350, 2007.
- GIBSON, D. Drug-DNA interactions and novel drug design. **Pharmacogenomics Journal**, v. 2, p. 275-276, 2002.
- BERMAN, H. M.; YOUNG, P. R. The interaction of intercalating drugs with nucleic acids. **Annuals Reviews of the Biophysics and Bioenergetics**, v. 10, p. 87-114, 1981.
- WILSON, W. D.; JONES, R. L. Intercalating drugs: DNA binding and molecular pharmacology. **Advances in Pharmacology and Chemotherapy**, 1981, v. 18, p. 177-222, 1981.
- ANSARI, F. L.; NAZIR, S.; NOUREEN, H.; MIRZA, B. Combinatorial synthesis and antibacterial evaluation of an indexed chalcone library. **Chemistry Biodiverse**, v. 2, p. 1656-1664, 2005.
- LU, X.; ZHANG, M.; KANG, J. et al. Electrochemical studies of kanamycin immobilization on self-assembled monolayer and interaction with DNA. **Journal of the Inorganic and Biochemistry**, v. 98, 582-588, 2004.
- BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações**. Coimbra: Almedina, p.191-217, 1996.
- WELCH, T. W.; THORP, H. H. Distribution of metal complexes bound to DNA determined by normal pulse voltammetry. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, p. 13829-13836, 1996.