

AVALIAÇÃO DO EFEITO TOXICOLÓGICO DE 7- CLORO - 4 - (FENILSELENO)QUINOLINA EM CAMUNDONGOS

ANGÉLICA S. REIS¹; MIKAELA P. PINZ²; GUILHERME T. VOSS³;
RENATA L. DE OLIVEIRA⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL A. WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – ge_schiavon@hotmail.com ²Universidade Federal de Pelotas – mikaelappinz@gmail.com ³Universidade Federal de Pelotas – gui_voss@hotmail.com
⁴Universidade Federal de Pelotas – renataleivas15@hotmail.com ⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora) ⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A versatilidade das quinolinas e seus derivados tem atraído a atenção na busca e desenvolvimento de novos fármacos (Chung et al., 2015; Mantovani et al., 2014; Marella et al., 2013). Paralelamente, destacam-se os compostos orgânicos de selênio, os quais possuem síntese simples e atividades farmacológicas relevantes. Desta forma, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado ao estudo das propriedades de 7 – cloro – 4 – fenilselênio (quinolina) (4 - PSQ), um novo derivado de quinolina contendo selênio.

Como demonstrado por Savegnago e colaboradores (2013), o 4 – PSQ apresenta efeito antioxidante *in vitro*. Recentemente, Pinz et al. (2016) revelaram que o 4 - PSQ possui efeito antinociceptivo em modelos de nocicepção químico e térmico, sem causar perturbações motoras. Adicionalmente, estudos têm demonstrado um potencial efeito do tipo-ansiolítico de 4 – PSQ em diferentes modelos comportamentais, bem como, o envolvimento do sistema glutamatérgico nesta ação.

No entanto, é importante ressaltar que muitos esforços estão sendo direcionados para o estudo dos mecanismos envolvidos na toxicidade de organocalcogênios, entre esses os compostos de selênio (Luchese e Nogueira, 2010). De acordo com Nogueira et al. (2004), compostos orgânicos de selênio podem exercer toxicidade através da oxidação de grupos sulfidrílicos.

Diante disso, tendo em vista o contínuo interesse na farmacologia deste composto e considerando suas promissoras propriedades biológicas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os possíveis efeitos toxicológicos de 4 - PSQ em camundongos.

2. METODOLOGIA

O 4-PSQ (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas (LASOL) (SAVEGNAGO et al., 2013).

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas preconizadas pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Pelotas (nº CEEA 4224-2015).

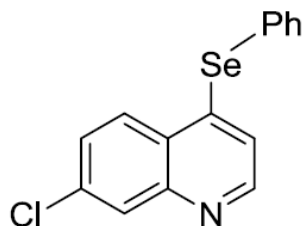


Figura 1. Estrutura química de 7 – cloro – 4 - (fenilselênio) quinolina (4 – PSQ)

Foram utilizados camundongos machos adultos Swiss (20-25 g). Para avaliar a toxicidade, os camundongos receberam uma única dose oral de 4 -PSQ (50 mg / kg) ou veículo e, logo após, foram observados por 72 h.

Posteriormente, os animais foram anestesiados e o sangue foi coletado por punção cardíaca. O plasma foi obtido por centrifugação a 900 x g durante 10 min e utilizado para os ensaios bioquímicos, os quais foram realizados com kits de testes comerciais. As determinações das atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), utilizadas como marcadores de lesão hepática aguda, foram determinadas colorimetricamente de acordo com Reitman e Frankel (1957). Adicionalmente, determinou-se os níveis de uréia plasmática, segundo Mackay e Mackay (1927), como parâmetro de lesão renal.

Além disso, foram realizadas determinações dos níveis de espécies reativas (RS) e tióis não proteicos (NPSH), bem como, da atividade das enzimas catalase (CAT) e δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D), em amostras de fígado e cérebro. Os tecidos foram homogeneizados em Tris / HCl 50 mM pH 7,5, (1:10 para o fígado e 1: 5 para o cérebro, m/v) e centrifugadas a 900 x g durante 10 min a 4 °C, para obtenção de um sobrenadante (S1).

Os níveis de RS foram determinados pelo método de fluorescência, utilizando diclorofluoresceína (DCFH) segundo Loetchutinat et al. (2005). A oxidação da DCFH foi registrada em 520 nm (fluorímetro Shimadzu RF-5301PC).

Os níveis de NPSH foram determinados conforme metodologia descrita por Ellman (1959). Os grupos tióis livres foram determinados espectrofotometricamente a 412 nm.

A atividade de CAT foi avaliada de acordo com o método de Aebi (1984). Desta forma, o produto da reação enzimática foi quantificado colorimetricamente através do desaparecimento do substrato, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), a 240 nm.

Além disso, a atividade da enzima δ -ALA-D foi determinada conforme método descrito por Sassa (1982), por meio da quantificação do produto da reação de porfobilinogenio (PBG) medido a 555 nm, utilizando o reagente de Ehrlich modificado.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio de um teste t não - pareado. Os valores foram expressos em média \pm S.E.M e foram considerados estatisticamente significativos quando inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma administração única por via oral de 4-PSQ (50 mg / kg) não causou a morte dos animais. Como demonstrado na Tabela 1, as atividades de ALT e AST, e os níveis de uréia permaneceram inalterados após tratamento com o 4-PSQ, quando comparados ao grupo controle.

Além disso, os níveis de NPSH e RS, assim como, a atividade da CAT e δ -ALA-D mantiveram-se inalteradas após o tratamento com 4-PSQ (50 mg / kg (Tabela 2).

Tabela 1. Efeito de uma única administração de 4-PSQ (50 mg/kg) em parâmetros bioquímicos em camundongos.

	Controle	4-PSQ (50 mg/kg)
AST (U/l)	49.1 \pm 3.4	42.2 \pm 1.8
ALT (U/l)	17.5 \pm 1.8	13.1 \pm 2.2
Uréia (mg/dl)	84.3 \pm 7.1	73.8 \pm 6.1

Os dados foram apresentados como médias \pm S.E.M. de 3-4 camundongos por grupo. A análise estatística foi realizada utilizando teste t não-pareado.

Tabela 2. Efeito de uma única administração de 4-PSQ (50 mg/kg) nos parâmetros de estresse oxidativo em cérebro e fígado de camundongos.

	Cérebro		Fígado	
	Controle	4-PSQ	Controle	4-PSQ
NPSH (μ mol NPSH/g tecido)	1.79 \pm 0.17	1.89 \pm 0.11	7.03 \pm 0.53	7.33 \pm 0.19
RS (Unidades Arbitrárias)	53.53 \pm 4.09	57.50 \pm 0.96	60.84 \pm 0.84	59.58 \pm 0.59
CAT (U/mg proteína)	0.13 \pm 0.03	0.09 \pm 0.03	8.94 \pm 0.50	9.13 \pm 1.07
δ -ALA-D (nmol PBG/mg proteína/h)	4.83 \pm 0.50	4.23 \pm 0.28	51.67 \pm 3.02	49.59 \pm 7.15

Os dados foram apresentados como médias \pm S.E.M. de 3-4 camundongos por grupo. A análise estatística foi realizada utilizando teste t não-pareado.

4. CONCLUSÕES

O 4 – PSQ não causou toxicidade e morte nos animais. Entretanto, mais estudos são necessários para elucidar outros mecanismos envolvidos na toxicidade do composto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. **Methods Enzymol.** 105, 121-126.

Chung, P.Y., Bian, Z.X., Pun, H.Y., Chan, D., Chan, A.S., Chui, C.H., Tang, J.C., Lam, K.H., 2015. Recent advances in research of natural and synthetic bioactive quinolines. **Future Med. Chem.** 7, 947-967.

Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. **Arch. Biochem.** 82, 70-77.

Lang, P.J., Bradley, M.M., Cuthbert, B.N., 1998. Emotion, motivation, and anxiety: brain mechanisms and psychophysiology. **Biol. Psychiatry** 44, 1248-1263.

Loetchutinat, C., Kothan, S., Dechsupa, S., Meesungnoen, J., Jay-Gerin, J.P., Mankhetkorn S., 2005. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiat. Phys. Chem.** 72, 323-331.

MacKay, E. M., & MacKay, L. L., 1927. The concentration of urea in the blood of normal individuals. **J. Clin. Invest.** 4, 295.

LUCHESI, C; NOGUEIRA, C. W., 2010. Diphenyl diselenide in its selenol form has dehydroascorbate reductase and glutathione S-transferase-like activity dependent on the glutathione content. **Journal of Pharmacy and Pharmacology.** 62, 1146-1151.

Mantovani, A.C., Pesarico, A.P., Sampaio, T.B., Nogueira, C.W., Zeni, G., 2014. Synthesis of pharmacologically active 1-amino-isoquinolines prepared via silver triflate-catalyzed cyclization of o-alkynylbenzaloximes with isocyanates. **Eur. J. Pharm. Sci.** 51, 196-203.

Marella, A., Tanwar, O.P., Saha, R., Ali, M.R., Srivastava, S., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M., Alam, M.M., 2013. Quinoline: A versatile heterocyclic. **Saudi Pharm. J.** 21, 1-12.

Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B.T., 2004. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. **Chem. Rev.** 104, 6255- 6285.

Pinz, M., Reis, A.S., Duarte, V., da Rocha, M.J., Goldani, B.S., Alves, D., Savegnago, L., Luchese, C., Wilhelm, E.A., 2016. 4-Phenylselenenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **Eur. J. Pharmacol.** 780, 122-128.

Reitman, S., Frankel, S., 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. **Am. J. Clin. Pathol.** 28, 56-63.

Sassa, S., 1982. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. **Enzyme** 28, 133-145.

Savegnago, L., Vieira, A.I., Seus, N., Goldani, B.S., Castro, M.R., Lenardão, E.J., Alves, D., 2013. Synthesis and antioxidant properties of novel quinoline-chalcogenium compounds. **Tetrahedron Lett.** 54, 40-44.