

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE ORAL AGUDA DO COMPOSTO 3-((4-METOXIFENIL)SELANIL)-2-FENILBENZOFURANO EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS

EDIANDRA TISSOT CASTRO¹; AMÁLIA GONÇALVES ALVES²; DIANER NORBERG STRELOW²; RAYANE GONÇALVES DE OLIVEIRA²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO³

^{1,2,3}Universidade Federal de Pelotas - Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – ediandra.tissot@hotmail.com; amaliaalvs@gmail.com; strelowdianer@gmail.com; rayanegoliveira42@gmail.com; cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A implementação de um novo fármaco envolve diversas etapas e, após a seleção dos alvos terapêuticos, é imprescindível a execução de ensaios pré-clínicos, principalmente os ensaios toxicológicos. Este rastreio é crucial para o desenvolvimento e a segurança de novas moléculas (Lavandeira, 2014; Parasuraman, 2011). A realização de estudos de toxicidade utiliza principalmente roedores, os mesmos fornecem dados seguros no desenvolvimento de pesquisas acerca de alvos terapêuticos, em estudos de toxicologia, biologia e medicina (Gad, 2019; Perlman, 2016; Prior *et al.*, 2020). Este fato acontece justamente pela semelhança fisiológica com humanos, a facilidade de mantê-los e reproduzi-los em laboratório. Os biomarcadores são usados na identificação e determinação da toxicologia ou envolvimento na fisiopatologia de doenças. Eles são considerados parâmetros que fornecem dados quantitativos sobre a função biológica do animal, e, quando aplicados em toxicologia, são escolhidos justamente por serem compartilhados entre humanos e animais (Gad, 2019). O fígado é responsável por diversas funções como desintoxicação primária de metabólitos, síntese de proteínas, produção de enzimas digestivas. Lesões neste órgão causam alterações séricas nos níveis de enzimas como alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Semelhantemente, a ureia é mensurada para avaliar a função toxicológica, mas no rim. A insuficiência renal está associada à retenção de diversos produtos metabólicos como a ureia e um aumento sérico desta substância caracteriza alterações fisiológicas relevantes para estudos toxicológicos (Lala, Goyal, Bansal, & Minter, 2021).

Os compostos orgânicos contendo selênio têm demonstrado diversas propriedades biológicas e estão sendo investigados quanto aos seus efeitos antidepressivos, quimioterápicos e como candidatos para o tratamento de infecções virais respiratórias em ensaios pré-clínicos previamente publicados, por exemplo (Gall *et al.*, 2020; Gandin, Khalkar, Braude, & Fernandes, 2018; Sies & Parnham, 2020). Em especial, o nosso grupo de pesquisa tem estudado uma classe de compostos 3-organoselanil-benzofuranos (SeBZF) para os quais a síntese baseia-se na inserção do elemento selênio em uma molécula orgânica contendo o núcleo de benzofurano (Gay *et al.*, 2010). Atenção especial foi inicialmente dada ao protótipo da classe, o qual não apresenta substituintes em seu anel aromático (Gall *et al.*, 2020; da Silva Teixeira Rech *et al.*, 2021). Porém, um novo estudo tem avaliado o impacto biológico da adição de substituintes químicos no anel, tais como o grupamento -OMe (dados não publicados). Desta forma, a condução de um teste de toxicidade oral aguda para o composto 3-((4-

metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3) é imprescindível. Com base no que foi explicitado acima, esta pesquisa empregou técnicas de avaliação toxicológica para prever a sua segurança e dar prosseguimento aos estudos farmacológicos com este composto.

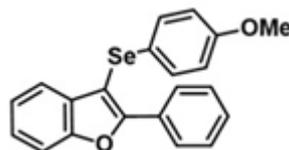


Figura 1. Estrutura química do SeBZF3

2. METODOLOGIA

Neste estudo foram utilizados camundongos Swiss machos pesando entre 25-35 gramas advindos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foram empregados machos em razão de estudos pré-clínicos paralelos conduzidos neste sexo. Os animais foram separados aleatoriamente em grupos, devidamente pesados e identificados, submetidos a um ciclo claro-escuro de 12 horas e temperatura controlada de ± 22 °C. Diversas informações para a condução deste estudo foram baseadas no teste nº 423: toxicidade oral aguda contido nas diretrizes da OCDE (2002) para testes de substâncias químicas. A cada etapa de experimentos foram utilizados 3 camundongos por grupo, totalizando um “N” de 6 animais/grupo.

O composto SeBZF3 (sintetizado pelo Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen) da Universidade Federal de Santa Catarina) foi administrado em uma dose de 300 mg/kg (3 frações de 100 mg/kg) pela via intragástrica (i.g.). Os animais do grupo controle receberam apenas óleo de canola, o qual foi usado como o veículo para a dissolução do composto devido a sua lipossolubilidade. Durante 14 dias os camundongos foram monitorados quanto a mudanças comportamentais como letargia, piloereção e diarreia. O consumo de água e comida também foi controlado por pesagem periódica. No décimo quinto dia, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto (TCA) a fim de se avaliar se houve alterações locomotoras. Após o TCA, eles foram anestesiados com isoflurano e foi coletado sangue heparinizado por meio de punção cardíaca. O sangue coletado foi centrifugado e o sobrenadante utilizado para análises bioquímicas. Realizou-se a dosagem da atividade das enzimas AST e ALT e os níveis ureia através de kits da Labtest®, e os testes foram realizados em duplicata.

As análises estatísticas foram realizadas através do *software* GraphPad Prism (versão 8.2.0). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste D’Agostino-Pearson e as comparações entre os grupos através do teste *t* não pareado. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Todos valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração oral aguda de SeBZF3 (300 mg/kg) em camundongos machos não causou sinais de toxicidade nos parâmetros analisados, uma vez que não foram detectadas mudanças comportamentais após a sua administração e tampouco alterações durante a necropsia. Além disso, como pode ser observado na Figura 2, a análise dos parâmetros bioquímicos revelou que o grupo submetido ao tratamento com o composto apresentou atividade da ALT ($p=0,1235$), da AST

($p=0,1089$) e nível de ureia plasmática ($p=0,1089$) semelhantes ao do grupo controle. Os animais submetidos ao tratamento com o composto apresentaram também valores de porcentagem do ganho de peso ($p=0,6902$), consumo alimentar em gramas ($p=0,7706$) e ingestão de água em mililitros ($p=0,9813$) sem alterações significativas em comparação ao grupo controle. Esses resultados demonstram que, nos parâmetros avaliados, não foram verificados sinais de toxicidade sistêmica do composto SeBZF3.

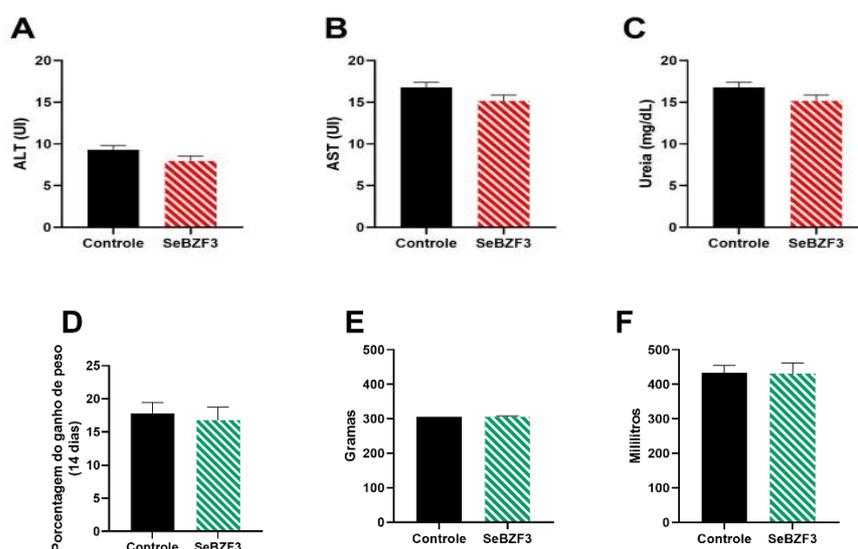


Figura 2. Parâmetros de toxicidade sistêmica em camundongos machos expostos à administração aguda de SeBZF3 (300 mg/kg, i.g.). (2A) ALT (U/L), (2B) AST (U/L), (2C) uréia (mg/dL), (2D) porcentagem do ganho de peso (14 dias), (2E) consumo alimentar (g) e (2F) ingestão de água (mL). Valores expressos como média \pm E.P.M ($n = 6$ animais/grupo). Teste t não pareado.

Além disso, o efeito do tratamento agudo de SeBZF3 (300 mg/kg) sobre os parâmetros locomotores (número de cruzamentos) e exploratórios (número de levantamentos sobre as patas posteriores) dos animais no TCA são apresentados na Figura 3. Alterações nestes parâmetros poderiam representar sinais de toxicidade, entretanto a análise estatística revelou que não houve diferença significativa entre os grupos no número de cruzamentos ($p=0,6357$) e número de levantamentos sobre as patas posteriores ($p=0,2869$). Portanto, de acordo com os resultados apresentados, não foram encontrados indicativos de toxicidade sistêmica pelo tratamento com o SeBZF3.

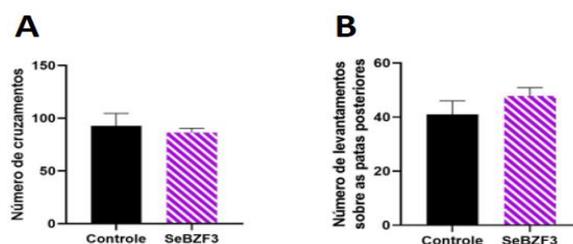


Figura 3. Efeito do tratamento agudo de SeBZF3 (300 mg/kg, i.g.) sobre os parâmetros locomotores e exploratórios de camundongos machos no TCA. (3A) Número de cruzamentos e (3B) número de levantamentos sobre as patas posteriores. Valores expressos como média \pm E.P.M ($n = 6$ animais/grupo). Teste t não pareado.

4. CONCLUSÕES

Em suma, os dados obtidos demonstram que a exposição oral aguda de camundongos a uma alta dose de SeBZF3 não gera sinais de toxicidade, sugerindo um certo grau de segurança desta substância química. Além disso, estudos adicionais a fim de delinear os possíveis efeitos farmacológicos e demais parâmetros toxicológicos deste composto mostram-se necessários.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chowdhury, S. R., Gu, J., Hu, Y., Wang, J., Lei, S., Tavallaie, M. S., . . . Fu, L. (2021). Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of benzofuran piperidine derivatives as Abeta antiaggregant. *Eur J Med Chem*, 222, 113541. doi:10.1016/j.ejmech.2021.113541.

DA SILVA TEIXEIRA RECH, T. et al., 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. *Psychopharmacology (Berl)*. doi:10.1007/s00213-021-05921-9. 2021.

El-Khouly, O. A., Henen, M. A., El-Sayed, M. A., Shabaan, M. I., & El-Messery, S. M. (2021). Synthesis, anticancer and antimicrobial evaluation of new benzofuran based derivatives: PI3K inhibition, quorum sensing and molecular modeling study. *Bioorg Med Chem*, 31, 115976. doi:10.1016/j.bmc.2020.115976

Gad, S. C. (2019). Rodent Models for Toxicity Testing and Biomarkers. In *Biomarkers in Toxicology* (pp. 7-73): Elsevier.

Gall, J. I., Goncalves Alves, A., Carraro Junior, L. R., da Silva Teixeira Rech, T., Dos Santos Neto, J. S., Alves, D., . . . Folharini Bortolatto, C. (2020). Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 102, 109956. doi:10.1016/j.pnpbp.2020.109956

Gandin, V., Khalkar, P., Braude, J., & Fernandes, A. P. (2018). Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. *Free Radic Biol Med*, 127, 80-97. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.001

Lala, V., Goyal, A., Bansal, P., & Minter, D. A. (2021). Liver Function Tests. In *StatPearls*. Treasure Island (FL).

Lavandeira, F. M. F. (2014). *Ensaio toxicológicos pré-clínicos na avaliação da segurança de novos fármacos*. [sn],

Parasuraman, S. (2011). Toxicological screening. *J Pharmacol Pharmacother*, 2(2), 74-79. doi:10.4103/0976-500X.81895.

Prior, H., Haworth, R., Labram, B., Roberts, R., Wolfreys, A., & Sewell, F. (2020). Justification for species selection for pharmaceutical toxicity studies. *Toxicol Res (Camb)*, 9(6), 758-770. doi:10.1093/toxres/taaa081

Sies, H., & Parnham, M. J. (2020). Potential therapeutic use of ebselen for COVID-19 and other respiratory viral infections. *Free Radic Biol Med*, 156, 107-112. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.032.