

# **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO COMPOSTO ORGÂNICO DE SELÊNIO SELANILTRIAZOIL CARBONITRILA EM DROSOPHILA MELANOGASTER**

**Elize Aparecida Santos Musachio**<sup>1</sup>

**Diego da Silva Alves**<sup>2</sup>

**Manoela do Sacramento**<sup>3</sup>

**Stéfani Machado Araujo**<sup>4</sup>

**Shanda de Freitas Couto**<sup>5</sup>

**Marina Prigol**<sup>6</sup>

## **Resumo:**

O selaniltriazol carbonitrila (STC) é um composto orgânico de selênio considerado densamente funcionalizado, sendo bem descritos seus efeitos antioxidantes, contudo um composto sintetizado com fins terapêuticos deve ter sua ação e nível tóxicos previamente avaliados em diferentes modelos animais, a fim de se comprovar cientificamente, os critérios de segurança. Nessa direção, o modelo da mosca da fruta *Drosophila melanogaster* tem sido considerado excelente para realização de estudos toxicológicos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos comportamentais e bioquímicos, associados à exposição oral aguda de *Drosophila melanogaster* a diferentes concentrações de selaniltriazol carbonitrila. Foram utilizadas *Drosophila melanogaster*, de ambos sexos, divididas em 5 grupos: (1) Controle, (2) STC 5M, (3) STC 25M, (4) STC 50M, (5) STC 100M. Foram expostas a diferentes concentrações durante 7 dias e diariamente foi contabilizada a taxa de mortalidade e realizados os testes comportamentais de geotaxia negativa, ensaio de campo aberto e avaliada a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE). Em nossos resultados podemos observar uma maior mortalidade no grupo que foi exposto a maior concentração de selaniltriazol carbonitrila (100 µM), quando comparado ao grupo controle. No entanto, positivamente, nas concentrações inferiores do composto evidenciou-se mortalidade similar à do grupo controle. Os resultados da ação do composto nos testes comportamentais e na atividade da enzima AChE na cabeça e no corpo das moscas, não houveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos respectivamente. Diante dos resultados podemos inferir que o composto orgânico de selenio selaniltriazol carbonitrila possui grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos

**Palavras-chave:** neurotoxicidade, mosca, motilidade

**Modalidade de Participação:** Pesquisador

## **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO COMPOSTO ORGÂNICO DE SELÊNIO SELANILTRIAZOIL CARBONITRILA EM DROSOPHILA MELANOGASTER**

<sup>1</sup> Aluno de pós-graduação. elizemusachio@gmail.com. Autor principal

<sup>2</sup> Docente. dsalves@gmail.com. Co-autor

<sup>3</sup> Aluno de pós-graduação. manoelasacramento@gmail.com. Co-autor

<sup>4</sup> Aluno de pós-graduação. araujofani@gmail.com. Co-autor

<sup>5</sup> Docente. shandacouto@gmail.com. Co-orientador

<sup>6</sup> Docente. marinaprigol@gmail.com. Co-orientador



## **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO COMPOSTO ORGÂNICO DE SELÊNIO SELANILTRIAZOIL CARBONITRILA EM *Drosophila melanogaster***

### **1. INTRODUÇÃO**

Os compostos orgânicos de selênio são constituintes importantes e versáteis na síntese orgânica. Ainda, destacam-se aqueles que apresentam átomos de nitrogênio, pois pertencem a uma classe que lhes permitem utiliza-los em vários propósitos, e também são caracterizados como potentes agentes farmacológicos com toxicidade menor quando comparada aos compostos inorgânicos (Nogueira et al., 2014).

Recentemente, observa-se uma crescente procura por novos compostos orgânicos de selênio, os quais têm sido bastante estudados, devido sua atividade biológica e possíveis aplicações farmacológicas, somada a sua baixa toxicidade e efeitos colaterais (Jaffe, 1995)

Seguindo esse propósito, o selaniltriazol carbonitrila é um composto orgânico de selênio considerado densamente funcionalizado, obtido a partir de seleneto de 2-azidofenil fenilo e utilizando benzoilacetoneitrilo, em vez de  $\beta$ -ceto-ésteres. Em estudo anterior, realizado por Savegnago et al., (2016) o composto foi capaz de reduzir íons férricos, peroxidação lipídica e a formação de espécies reativas de oxigênio em ratos devido a seu anel de 1,2,3-triazol que contribui para a atividade antioxidante desses compostos.

Contudo um composto sintetizado com fins terapêuticos deve ter sua ação e nível tóxicos previamente avaliados em diferentes modelos animais, a fim de se comprovar cientificamente, os critérios de segurança. Nessa direção, o modelo da mosca da fruta *Drosophila melanogaster* tem sido considerado excelente para realização de estudos toxicológicos. Segundo Pandey e Nicols (2011), apesar de serem animais invertebrados, essa espécie de mosca apresenta propriedades biológicas, fisiológicas e neurológicas semelhantes aos mamíferos. Ainda, de acordo com Nichols (2006), *Drosophila melanogaster* e humanos compartilham de vários genes, vias metabólicas e sinalizadores, além de semelhanças comportamentais.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos comportamentais e bioquímicos, associados à exposição oral aguda de *Drosophila melanogaster* a diferentes concentrações de selaniltriazol carbonitrila.

### **2. METODOLOGIA**

O composto selaniltriazol carbonitrila (STC) foi obtido da Universidade Federal de Pelotas do Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN. Os demais reagentes utilizados foram da grade analítica do Campus de UNIPAMPA Itaqui.

Foram utilizadas *Drosophila melanogaster*, de ambos sexos, com 1 a 4 dias de idade. As moscas foram divididas em 5 grupos, contendo 50 moscas em cada: (1) Controle, (2) STC 5 $\mu$ M, (3) STC 25 $\mu$ M, (4) STC 50 $\mu$ M, (5) STC 100 $\mu$ M. As moscas foram mantidas em incubadora BOD, em ciclo claro/escuro de 12h, em temperatura de (25°C  $\pm$  1°C, e 60 % de umidade). As moscas foram expostas as diferentes concentrações do composto por 7 dias, sendo o composto diluído em etanol e adicionado em uma dieta constituída por 2% de sacarose, 1% de leite em pó, 1% de ágar; 0,08% Nipagin.

Primeiramente, foi avaliada a mortalidade das moscas, sendo contabilizado o número de moscas mortas diariamente até o final do período experimental. Após o período de 7 dias, foram realizados os testes comportamentais de geotaxia negativa (Jimenez del-rio et al., 2010) e ensaio de campo aberto (Hirth, 2010). Posteriormente, foi avaliada a atividade da enzima acetilcolinesterase (Ache) segundo método proposto por Ellmann et al., (1961).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando ANOVA e as diferenças foram consideradas significativas entre os grupos quando  $p < 0,05$  utilizando o programa GraphPad Prism5.

### 3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Na avaliação da mortalidade, apresentada na Figura 1, observa-se uma maior mortalidade no grupo que recebeu maior concentração do selaniltriazol carbonitrila (100  $\mu$ M), quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). No entanto, positivamente, nas concentrações inferiores do composto evidenciou-se mortalidade similar à do grupo controle.

No estudo de Savegnago et al., (2016), a avaliação da toxicidade do composto foi observada através da determinação da atividade da enzima  $\delta$  - aminolevulinato-desidratase ( $\delta$ -ALA-D), *in vitro* essa enzima contém sulfidril e zinco, e catalisa a condensação assimétrica de duas moléculas de ácido  $\delta$  - aminolevulinico ( $\delta$  -ALA) para produzir porfobilinogênio, intermediário na biossíntese de heme (Jaffe., 1995). Assim,  $\delta$  -ALA-D é inibida em situações pró-oxidantes e por agentes oxidantes através da oxidação de seus grupos sulfidrilos (CHAGAS et al., 2013). Nesse sentido, tais autores, indicam que o composto não foi eficaz na inibição da atividade da enzima  $\delta$  -ALA-D, e portanto, não apresentou atividade pró-oxidante, uma vez que não há oxidação de grupos tiol (SAVEGNAGO et al, 2016). Esse efeito se reflete em nosso resultado onde nas menores concentrações de STC (5-50 $\mu$ M) não houve mortalidade significativa nas moscas.

A Figura 2 apresenta os resultados da ação do composto nos testes comportamentais e na atividade da enzima Ache na cabeça e no corpo das moscas respectivamente. De acordo com os resultados, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Tais testes avaliam a atividade locomotora, exploratória e neuromotora das moscas, sendo evidenciado efeito positivo do ponto de vista farmacológico, pelo fato do composto não provocar danos ou efeito sedativo nas moscas.

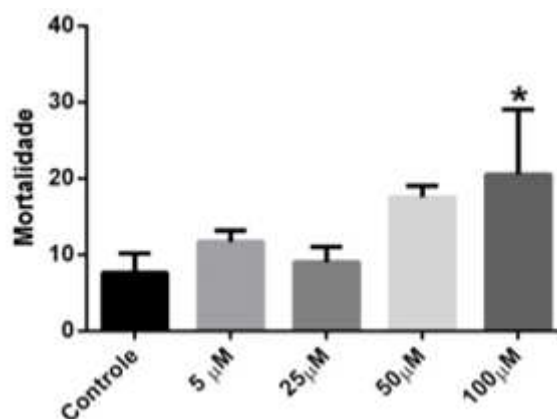


Figura 1: Avaliação da mortalidade em *Drosophila melanogaster* exposta a diferentes concentrações do composto selaniltriazol carbonitrila. Os valores são significativos quando  $p < 0,05$ . \* Diferença significativa em relação ao grupo de controle.

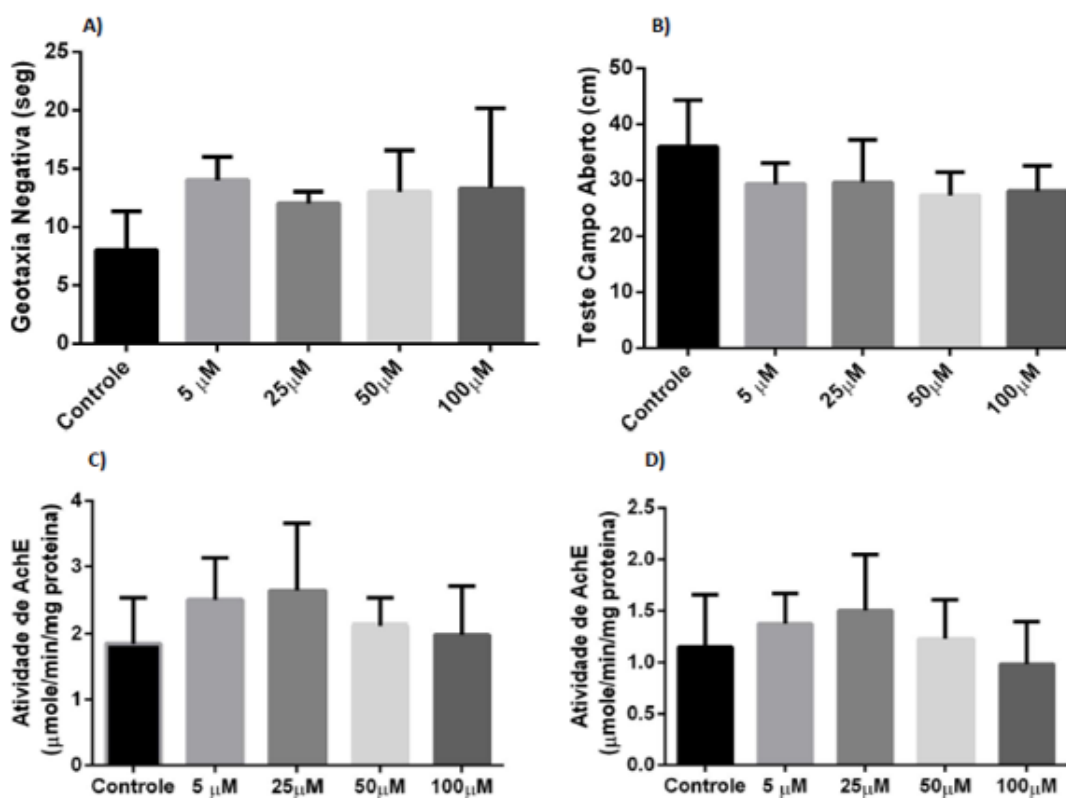


Figura 2: Testes de geotaxia negativa (A), ensaio de campo aberto (B), e avaliação da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) na cabeça (C) e no corpo (D) de *Drosophila melanogaster* expostas a diferentes concentrações do composto selaniltriazol carbonitrila.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho, de forma positiva, o composto selaniltriazol carbonitrila não apresentou toxicidade, sendo observada baixa mortalidade, em

concentrações menores do que 100 µM. Também foram preservadas a atividade locomotora, exploratória e neuromotora das moscas expostas a diferentes concentrações do composto. Diante dos resultados acredita-se que o selaniltriazol carbonitrila possui grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos.

## 5. REFERÊNCIAS

CHAGAS, P. M.; Bortolatto C. F.; WILHELM, E. A.; NOGUEIRA C. W. J. Appl. Toxicol., v.33, p.480, 2013.

ELLMANN, G. E.; COURTNEY, K. D.; ANDERSON, V. A new calorimetric determination of acetyl cholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. V.7, p.88–95, 1961.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. CNS Neurol. Disord. Drug Targets 9, 504–523, 2010.

HUGET, J. L. Oxidation of olefins catalyzed by selenium. Adv. Chem. Ser. v.76, p.345-351, 1967.

JAFFE, E. K. Porphobilinogen Synthase, The First Source of Heme's Asymmetry. Journal of Bioenergetics and Biomembranes. V.27, p.169, 1995.

JIMENEZ DEL-RIO, M.; MARTINEZ, C.; PARDO, C. V. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. Neurochem. Res. 35, 227–238, 2010.

NICHOLS, C. D. *Drosophila melanogaster* neurobiology, neuropharmacology, and how the fly can inform central nervous system drug discovery. Pharmacol. Ther., 112, 677-700, 2006.

NOGUEIRA, C; ZENI, G; ROCHA, J. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. Chemical Reviews, n. 104, p. 6255-6285, 2004.

PANDEY, U. B; NICHOLS, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. Revista Pharmacol. V.63, p.411–436, 2011.

SAVEGNAGO, L.; do SACRAMENTO, M.; BROD, L. M.; FRONZA, M. G., SEUS. N.; LENARDÃO, E. J., PAIXÃO, M.W., ALVES, D. Phenylselanyl-1 H-1, 2, 3-triazole-4-carbonitriles: synthesis, antioxidant properties and use as precursors to highly functionalized tetrazoles. *RSC Advances*, 6(10), p. 8021-8031, 2016.