

Setor 11. Toxicologia

11.001

TOXICIDADE DOS ANÁLOGOS DAS RIPARINAS I, II E III SOBRE LINHAGENS CELULARES

Silveira, A. L.¹; Militão, G. C. G.²; Moreira, A. C. P.¹; Barbosa-Filho, J. M.¹; Araujo, D. A. M.¹ - ¹UFPB - Tecnologia Farmacêutica; ²UFC - Laboratório de Oncologia Experimental

INTRODUÇÃO: Os estudos *in vitro* têm sido direcionados para reduzir o uso dos animais de laboratório utilizados nos testes de toxicidade, refinar os modelos toxicológicos *in vivo* e ajudar na elucidação dos mecanismos de ação da substância em nível celular e molecular. Nessas circunstâncias, os ensaios de citotoxicidade são bastante úteis, devido a sua rapidez, reprodutibilidade e baixo custo. Estudos farmacológicos demonstraram que os análogos das riparinas I, II e III apresentam várias atividades biológicas, entre as quais ação antidepressiva e antimicrobiana. Devido à ausência na literatura de estudos sobre a citotoxicidade dessas alcanidas, procurou-se avaliá-la em fibroblastos L929 e em macrófagos J774. **MÉTODOS:** Executaram-se, inicialmente, os ensaios de redução do sal de tetrazólio (MTT), captação do vermelho neutro (CVN) e medida do conteúdo de ácidos nucleicos totais (CAN), após períodos de 24 e 48 horas de exposição, utilizando-se as seguintes concentrações: 7,5 mM; 15 mM; 30 mM; 60 mM e 120 mM. Em seguida, para detectar se as alcanidas estariam promovendo a indução de eventos apoptóticos e/ou necróticos, observaram-se as alterações morfológicas utilizando-se a coloração diferencial por Hematoxilina/Eosina (H/E), avaliou-se a integridade da membrana celular e a fragmentação do DNA por citometria de fluxo. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Verificou-se, para ambas as linhagens celulares, que o período de 24 horas de incubação foi suficiente para causar os efeitos de maneira concentração-dependente nos ensaios do MTT, CAN e CVN. Os valores de IC₅₀ da riparina I obtidos nos experimentos de MTT, CAN e CVN foram: 33,34 µM, 73,86 µM e 83,96 µM, respectivamente. Os valores de IC₅₀ da riparina II corresponderam a 26,37 µM no ensaio do MTT, 43 µM no teste do CAN e 65,51 µM no método de CVN. Os valores de IC₅₀ da riparina III obtidos nos testes de MTT, CAN e CVN foram: 21,02 µM, 34,10 µM e 65,16 µM, respectivamente. Os valores de IC₅₀ para o período de incubação de 48 horas foram semelhantes aos do período de 24 horas. Portanto, o ensaio do MTT apresentou-se mais sensível aos efeitos das alcanidas sobre a proliferação celular e, em todos os testes executados, a riparina III foi a mais citotóxica. A detecção da ocorrência de eventos apoptóticos e/ou necróticos foi realizada na linhagem celular onde foram obtidos os menores valores de IC₅₀, L929. As concentrações utilizadas foram 33,34 µM, 26,37 µM e 21,02 µM para as riparinas I, II e III, respectivamente. Não foram observadas alterações morfológicas que sugerissem apoptose ou necrose. Também foi verificado que as alcanidas não promoveram perda da integridade da membrana celular, fragmentação do DNA e nem causaram parada em nenhuma das fases do ciclo celular. Conclui-se que as riparinas I, II e III têm uma baixa toxicidade *in vitro*. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq

11.002

EFEITO CITOTÓXICO DE DERIVADOS SINTÉTICOS DA PODOFILOTOXINA.

Silveira, A. L.¹; Ferreira, P. M. P.²; Silva, A. M. L.¹; Montenegro, R. C.²; Moraes, M. O.²; Costa-Lotufo, L. V.²; Pessoa, C.²; Dias, A. F.¹; Araujo, D. A. M.¹ - ¹UFPB - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica; ²UFC - Laboratório de Oncologia Experimental

Introdução: A importância da síntese de produtos naturais biologicamente ativos consiste na busca de uma maior economia de tempo e melhor aproveitamento dos recursos naturais e financeiros. Além disso, modificações na estrutura química de análogos sintéticos podem favorecer o desenvolvimento de fármacos mais seguros e seletivos. Sendo assim, dois derivados inéditos da podofilotoxina, uma lignana antineoplásica cuja viabilidade de utilização terapêutica é relativamente limitada, foram sintetizados com o objetivo de serem avaliados os seus potenciais citotóxicos sobre linhagens celulares tumorais. **Métodos:** O efeito antiproliferativo dos análogos da podofilotoxina - codificados como P1 e P2 - foi avaliado frente a quatro linhagens humanas de células tumorais (HCT-8, cólon; HL-60, leucemia; SF-295, glioblastoma; MDA/MB-435, mama), por meio do ensaio de redução do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), após 72 horas de incubação. As concentrações utilizadas variaram de 0,009 µg/mL a 5 µg/mL. **Resultados e Discussão:** Os derivados sintéticos da podofilotoxina apresentaram valores de $CI_{50} > 5$ µg/mL, não sendo considerados ativos o suficiente para favorecerem um efeito antitumoral. No entanto, como tais análogos possuem um esqueleto básico semelhante ao da podofilotoxina, eles podem servir como protótipos para a síntese de novas substâncias com propriedades anti-câncer. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq

11.003

L-ARGININE TREATMENT SHOWS THERAPEUTIC POTENTIAL ON THE ADVERSE CARDIOVASCULAR EFFECTS IN PLUMBISM

Fresneda da Silva, A.¹; Cordellini, S.² - ¹UNESP - FM - Botucatu - Patologia; ²UNESP - IB - Botucatu - Farmacologia

Introduction: Previous data from our laboratory have shown hypertension associated with increased aorta reactivity to noradrenaline (NA) in adult rats exposed to lead (Pb) during pregnancy and lactation. The effect of L-arginine (L-arg) treatment during the adult life on these Pb-induced cardiovascular alterations were investigated. **Methods:** Wistar rat dams received Pb (500 ppm, acetate) or sodium acetate (to equalize acetate exposure) in the drinking water during pregnancy and lactation. Male pups intoxicated or not were weaned at 22 days of life on tap water (Na⁺/water and Pb/water). At the age of 70 days, groups of rats exposed or not to Pb received L-arg (1%) in the drinking water for 30 additional days (water/water, water/L-arg, Pb/water, Pb/L-arg). Beginning on wean, systolic blood pressure (SBP) was weekly determined in conscious rats. Male pups were killed on postnatal day 70 or 100. Curves to NA were obtained in aorta, with (+E) and without (-E) endothelium, from rats exposed or not to Pb, treated or not with L-arg. **Results:** SBP was significantly increased by Pb exposure (mmHg 70 days Na⁺/water 126.7±1.6, Pb/water 138.6±2.1*; 100 days water/water 124.7±2.1, water/L-arg 125.0±6.2, Pb/water 137.0±3.1⁺, Pb/L-arg 132.6±3.4; n = 13-20, *P < 0.05 related to Na⁺/water, ⁺P < 0.05 related to water/water and water/L-arg). None of the procedures altered the reactivity to NA of aorta -E. Increased reactivity to NA was observed in aorta +E from adult rats exposed to Pb during pregnancy and lactation. L-arg treatment restored vascular reactivity to NA in aorta +E from adult rats exposed to Pb [maximal responses (g of tension) 70 days Na⁺/water 3.4±0.1, Pb/water 4.3±0.2*; 100 days water/water 3.2±0.3, water/L-arg 3.5±0.3, Pb/water 4.2±0.2⁺, Pb/L-arg 3.1±0.5; n = 6-15, *P < 0.05 relate to Na⁺/water, ⁺P < 0.05 related to all groups of 100-day-old rats]. **Discussion:** L-arg treatment seems to have a therapeutic potential on the adverse cardiovascular effects in plumbism, since it partially restored the SBP and completely reverted the vascular reactivity alterations induced by Pb. **Supported by:** FAPESP

11.004

CITOTOXICIDADE DO VENENO BRUTO E DA FOSFOLIPASE A₂ OBTIDOS DA SERPENTE *Crotalus durissus cascavella*

Evangelista, J. S. A. M.¹; Sousa, F. C. M. de²; Evangelista, I. L.²; Evangelista, J. J. F.¹; Maia, D. G.²; Nojosa, D. M. B.³; Toyama, M. H.⁴; Costa-Lotufo, L. V.²; Moraes, M. E. A.²; Monteiro, H. S. A.²; Moraes, M. O.² - ¹UECE - Veterinária; ²UFC - Fisiologia e Farmacologia; ³UFC - Biologia; ⁴UNICAMP - Instituto de Biologia

Os venenos de serpentes peçonhentas apresentam uma infinidade de substâncias com estruturas simples e complexas, cuja proporção e características variam entre as espécies (Varanda e Giannini, 2000). O envenenamento pela *Crotalus durissus cascavella* (*C.d.cascavella*) conduz à alteração sistêmica, sendo responsável pela causa preliminar de morte após o acidente ofídico. Este estudo aponta para a avaliação do potencial citotóxico do veneno bruto (VB) e da fosfolipase A₂ (PLA₂) obtido da serpente *C.d. cascavella*, analisado em diversas linhas de células tumorais e eritrócitos de ratos. A atividade citotóxica foi analisada em quatro linhas humanas de células tumorais: HL-60 (leucemia), MDA-MB435 (tumor de mama), HCT-8 (tumor de cólon) e SF-295 (tumor do sistema nervoso) e quantificada colorimetricamente pelo método do MTT (sal 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difeniltetrazolium bromida), sendo estudada a viabilidade e o estado metabólico da célula após 72 horas de incubação. Os danos de membrana plasmática foram investigados em eritrócitos de rato após 1, 2 e 4 horas de incubação. A PLA₂ mostrou uma atividade hemolítica de forma tempo-dependente, em 1 hora, 2 horas e 4 horas, nas concentrações médias de 293.1; 93.78 e 15.68 µg/mL, respectivamente, p<0.05. Porém, não demonstrou atividade citotóxica nas linhagens tumorais, com concentrações médias > 25 µg/mL, p>0.05. O VB foi fortemente citotóxico nas concentrações inibitórias médias de: 1.56; 3.01; 3.30; e 0.66 µg/mL em HL-60; MDA-MB435; HCT-8; e SF-295, respectivamente, com média de IC50 de 2.13 ± 0.33 µg/mL e p<0.05. O VB não mostrou nenhuma atividade hemolítica nas concentrações testadas, apresentando concentrações médias >500 µg/mL e p>0.05. Estudos adicionais são necessários para elucidar o mecanismo de ação do VB, bem como, compreender a atividade cinética detalhada da PLA₂.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e Finep

11.005

TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE FOLHAS DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE) EM CAMUNDONGOS

Della Bruna, D.¹; Lora, J.²; Schoenfelder, T.¹; Costa-Campos, L.² - ¹UNESC - EtnoFarmacologia; ²UNESC - PPGCA

Objetivos: *Eugenia uniflora* L. é uma planta da família Myrtaceae amplamente distribuída na América do Sul, Ásia do Sul e África, conhecida como “pitangueira”. Algumas atividades farmacológicas são atribuídas às folhas tais como: anti-hipertensivo e hipoglicemiante, antidiarréico, antiinflamatório e distúrbios estomacais. Entretanto poucos estudos avaliam a sua toxicidade. Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico em camundongos através de parâmetros comportamentais e bioquímicos. **Métodos:** A toxicidade foi avaliada após a administração aguda do extrato hidroalcoólico (EBH) de folhas de *E. uniflora* (125; 250; 500; 1.000 mg/kg, v.o.) ou controle sol. salina 0,9% em grupos de 10 camundongos CF1 machos e fêmeas com 3 meses de idade. Cada animal foi observado por um minuto aos 0, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24, e 48 horas após a administração, para a presença de sialorréia, taquipnéia, náusea, vômito, diarreia, tremor e mioclonia. Variáveis sobre atividade espontânea foram avaliadas na forma de escores. Ao final da avaliação comportamental o sangue dos animais foi retirado por via intraocular e utilizado para as dosagens bioquímicas de glicose, triglicerídeos, colesterol total, bilirrubina, transaminase pirúvica (TGP), transaminase oxalacética (TGO). Os dados comportamentais foram comparados estatisticamente por Mann-Whitney Test ($p \leq 0,05$), os bioquímicos foram comparados por Tukey Test ($p \leq 0,05$).

Resultados: Os resultados obtidos mostraram que o EBH alterou significativamente a atividade espontânea tanto em fêmeas (250, 500 e 1.000 mg/kg) quanto nos machos (500 e 1.000 mg/kg). Observou-se a presença de respiração ofegante (1.000 mg/kg), ânsia de vômito (1.000 mg/kg), e morte (500 e 1.000 mg/kg). Na análise bioquímica não se observou diferença significativa para a glicose. Entretanto, a enzima TGO foi alterada pelas doses de 500 e 1.000 mg/kg e TGP nas doses de 125, 500 e 1.000 mg/kg. **Conclusão:** Existem poucos trabalhos que avaliam a toxicidade da *E. uniflora*, entretanto é uma planta largamente utilizada pela população, principalmente para a diarreia. Estudo realizado por Schmeda-Hirschmann et al. (J. Ethnopharmacology, 21:183, 1987) não verificou toxicidade do extrato hidroalcoólico desta espécie em doses até 4,2 g/kg em camundongos. Auricchio e Bacchi obtiveram DL50% de 5,93 g/kg de extrato em camundongos (Rev.Inst.Adolfo Lutz, 62(1):55, 2003). No nosso estudo, o EBH de *E. uniflora* mostrou toxicidade comportamental e bioquímica significativa em doses bem mais baixas do que as citadas na literatura (250, 500 e 1000 mg/kg). Popularmente esta planta é utilizada para diabetes e baixar os níveis de colesterol e triglicerídeos. Entretanto, nossos resultados sugerem que a *E. uniflora* possa até mesmo aumentar alguns destes parâmetros. Mais estudos devem ser realizados para um avaliação mais aprofundada, como a toxicidade crônica desta espécie.

Apoio Financeiro: UNESC

11.006

REPEATED TREATMENT WITH MEGLUMINE ANTIMONIATE DEPRESSES THE ACTIVITY OF CYTOCHROME P450S IN THE RAT LIVER

Friedrich, K.¹; Carvalho, R. S.²; Sarpa, M.³; Oliveira, A. C. A. X. de³; Paumgartten, F. J. R.³ - ¹INCQS - FIOCRUZ - Imunologia; ²INCA - Farmacologia; ³ENSP - FIOCRUZ - Toxicologia Ambiental - DCB

Aims: Meglumine antimoniate (MA), a pentavalent antimonial (Sb^V) compound, has been the first choice drug for all clinical forms of leishmaniasis. Although being used for over half-a-century, effects of MA on the activity of xenobiotic biotransformation enzymes have not been investigated so far. This study was undertaken to evaluate the effects of repeated treatment with MA on the activity of hepatic cytochrome P450 (CYP) isoforms. **Methods and results:** Adult male Wistar rats were treated with MA (300 mg Sb^V/ kg body weight / day, subcutaneously) (N=11) or with the vehicle alone (N=12) for 20 consecutive days. Twenty-four hours after the last dose, animals were killed and livers were quickly removed, weighed and frozen in liquid nitrogen until further use. After homogenization of liver tissue, microsomal fraction was obtained by centrifugation at 100.000g for 60 minutes. Monooxygenase activities were assayed essentially as reported by Conte *et al.* (Braz.J.Med.Biol.Res., 40, 657, 2007) and, in the case of erythromycin *N*-demethylase (END), as described by Berg-Candolfi (Int. J. Parasitol., 26, 1321, 1996). Activities of monooxygenases in liver microsomes of MA-treated (MA) and control (CON) rats were as follows (mean±SD): ethoxyresorufin-*O*-deethylase (EROD, pmoles resorufin/mg protein/ min), CON =69.6±14.5 and MA= 31.7±7.8 (Student t test, P<0.05); benzyloxyresorufin-*O*-debenzylase (BROD, pmoles resorufin/mg protein/ min) CON =15.7±5.3 and MA= 8.8±4.2 (Student t test, P<0.05); END (nmoles/mg protein/min), CON= 0.4±0,1 and MA=0.2±0.0 (Student t test, P<0.05). EROD, BROD and END are markers for CYP1A1/2, CYP2B1/2 and CYP3A, respectively. *N*-nitrosodimethylamine demethylase (nmoles formaldehyde/min/mg protein), a marker for CYP2E1, was slightly decreased in MA group (0.5±0.0) as compared to CON group (0.7±0.1 nmoles/min/mg ptn) (Student t test, P<0.05). The activity of *p*-nitrophenol-hydroxylase (PNPH, nmoles 4-nitrocatechol/mg protein/min) in MA (4.8±0.7), however, was higher than the activity in CON (3.0±1.0) (Student t test, P<0.05). PNPH is catalyzed by CYP2E1 and possibly also by other CYPs. **Conclusions:** Results from the present study indicated that treatment with MA depressed the activities of CYPs belonging to subfamilies 1A, 2B and 3A in the rat liver. Nonetheless, CYP2E1, and some other isoforms, seemed to have been differently affected by this pentavalent antimonial drug. Findings from this study thus suggested that, during and after repeated treatment with MA, the clearance of drugs and toxicants metabolized by CYP1A, 2B and 3A isoforms may be impaired.

Supported by: CNPq, CAPES

11.007

ASSESSMENT OF HOW PREGNANCY MODIFIES PLASMA LEAD AND PLASMA/WHOLE BLOOD LEAD RATIO INDEPENDENTLY OF ALAD GENOTYPE

Montenegro, M. F.¹; Barbosa Jr, F.²; Tanus-Santos, J. E.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FCFRP - USP - Toxicologia

Introduction: Pregnant women are one of the most sensitive populations to the toxic effects associated with lead (Pb) exposure. These effects are primarily associated with plasma Pb (Pb-P), which reflects the most rapidly exchangeable fraction of Pb in the bloodstream, and elevated maternal Pb-P may be more relevant to fetal Pb exposure than whole blood Pb (Pb-B). We investigated how pregnancy affects Pb-B, Pb-P and %Pb-P/Pb-B ratio without the influence of the ALAD G177C polymorphism, which is a major genetic factor influencing Pb-B, Pb-P and %Pb-P/Pb-B ratio. Methods: Genotypes for the ALAD G177C polymorphism were determined by PCR and restriction fragment length digestion in 9 pregnant and 20 non-pregnant women, aged from 18 to 33, environmentally exposed to Pb. Our institutional review committee approved this study, and each subject provided written informed consent. Here, we included only women with ALAD 1-1 genotype. Pb-P and Pb-B were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry and by graphite furnace atomic absorption spectrometry, respectively. Results and Discussion: We found no differences in Pb-B concentrations (44.2 ± 5.8 mg/L in pregnant women, versus 58.8 ± 5.4 mg/L in non-pregnant women; $P > 0.05$). However, pregnant women presented significantly higher Pb-P (0.55 ± 0.11 mg/L versus 0.26 ± 0.04 mg/L) and %Pb-P/Pb-B (1.56 ± 0.33 % versus 0.46 ± 0.06 %) ratios compared with non-pregnant women (both $P < 0.01$, respectively). The present study confirms previous data indicating that pregnancy increase Pb-P and suggests that this increase on Pb-P during pregnancy occurs without the influence of ALAD G177C polymorphism.

Supported by: CAPES, CNPq, FAPESP

11.008

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *Morus nigra* L. NA PRODUÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES EM RATOS WISTAR

Santos, A. A. F.¹; Vieira, V. A.¹; Mendonça, A. L. L.¹; Faria, V. C.¹; Queiroz, G. T.¹; Freitas, P. S.¹; Leite, M. N.²; Sa, R. C. S.³ - ¹UFJF - Centro de Biologia da Reprodução (CBR); ²UFJF - Farmácia e Bioquímica; ³UFJF - Biologia

Introdução: A espécie *Morus nigra* L. (conhecida como amoreira - família Moraceae), é utilizada no Brasil para aliviar os sintomas da menopausa, e também pelas suas várias atividades terapêuticas (laxativa, sedativa, expectorante, emoliente, calmante, diurética e antidiabética). Entre os princípios ativos dessa planta estão a cumarina e os flavonóides, cuja interferência na fertilidade de ratas adultas e de cães foi relatada em estudos prévios. Considerando a utilização da *Morus nigra* na medicina popular e a ausência de estudos sobre os efeitos específicos desta planta no sistema reprodutor masculino, este trabalho propõe-se a investigar os efeitos do extrato aquoso de *Morus nigra* na produção de gametas de ratos Wistar machos submetidos a tratamento subcrônico. **Métodos:** Ratos Wistar adultos (90 dias) foram divididos em quatro grupos de 15 animais: um grupo controle e três grupos tratados (T1, T2 e T3). Cada animal dos grupos tratados recebeu, via intragástrica e uma vez ao dia, T1 = 0,5 mL (25 mg/kg); T2 = 1,0 mL (50 mg/kg) e T3 = 1,5 mL (75 mg/kg) do extrato aquoso de *Morus nigra* durante 30 dias. Os animais do grupo controle receberam 0,5 mL de água destilada, seguindo o mesmo procedimento. Os animais foram pesados no primeiro dia de tratamento, a cada semana e no dia do sacrifício. O consumo de ração foi medido diariamente. Os animais foram sacrificados por injeção intramuscular de Ketamina no 31º dia. Os espermatozóides foram coletados na secreção obtida da cauda do epidídimo direito, procedendo-se a contagem dos espermatozóides em câmara de Neubauer. O número total de espermatozóides foi obtido pela média de duas contagens, correspondentes ao campo superior e inferior da câmara de Neubauer. **Resultados:** O tratamento não interferiu na alimentação dos animais e não houve perda significativa de peso. Não foi observada alteração significativa na produção de espermatozóides dos animais tratados (**C**= 659,22±201,98, **T1**= 713,48±165,08, **T2**= 776,54±213,20, **T3**= 759,91±250,36). **Discussão:** Nas doses utilizadas, o extrato aquoso de *Morus nigra* não interferiu na produção de espermatozóides de ratos Wistar, submetidos a tratamento subcrônico. **Apoio Financeiro:** CBR/UFJF

11.009

TOXICIDADE REPRODUTIVA DO TRIFENIL HIDRÓXIDO DE ESTANHO (TPTH) EM CAMUNDONGOS: EXPOSIÇÃO ANTES E DURANTE A PUBERDADE.

Sarpa, M.¹; Lopes, C. M. T.²; Delgado, I. F.²; Paumgarten, F. J. R.¹ - ¹ENSP - FIOCRUZ - Laboratório de Toxicologia Ambiental; ²INCQS - FIOCRUZ - DFT

Introdução: O TPTH é usado como algicida, fungicida, moluscicida e estabilizador de PVC, em preservativos da madeira e como aditivo em tintas de uso náutico. No Brasil, o TPTH é utilizado como pesticida agrícola nas lavouras de batata, beterraba, lúpulo, aipo e outras. O TPTH é tido como um potencial desregulador endócrino, mas seus efeitos sobre a maturação dos órgãos reprodutivos masculinos e femininos ainda são objeto de controvérsia na literatura. Neste estudo investigamos os efeitos da exposição ao TPTH, antes e durante a puberdade, sobre o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos e sobre a fertilidade de camundongos.

Métodos: Camundongos *Swiss Webster* foram tratados por entubação gástrica com TPTH (0, 1,875; 3,75, 7,5 e 15,0 mg TPTH/kg de peso corpóreo/dia) nos dias 15-45 de vida pós-natal (PN). Parâmetros físicos do desenvolvimento pós-natal (descida de testículos e abertura de vagina) e o peso corporal foram avaliados diariamente. No dia 46PN, metade dos animais foi sacrificada sendo determinados os pesos do timo, baço e órgãos reprodutivos, o número de espermatozóides e a produção espermática diária. No dia 65PN, a outra metade foi testada quanto à fertilidade e sacrificada.

Resultados: A maior dose de TPTH (15mg/kg) causou acentuada mortalidade (80%) a partir do 6º dia de tratamento. O TPTH reduziu o ganho ponderal (média±DP) na primeira semana do tratamento (0=3,41±0,99g, 1,875mg/kg=2,84±0,77g, 3,75 mg/kg=2,26±0,75g, 7,5mg/kg=0,85±1,09g e 15mg/kg=-0,49±0,55g; ANOVA, Bonferroni, P<0.05), mas houve recuperação nas semanas que se seguiram de modo que ao final do tratamento a redução foi observada apenas com as duas maiores doses (0=21,02±2,55g, 7,5mg/kg=18,85±2,99g e 15mg/kg=14,55±1,80g; ANOVA, Bonferroni, P<0.05). A descida de testículos (mediana) ocorreu no dia 21PN no grupo controle e no dia 29PN no grupo tratado com 15mg/kg (teste Kruskal-Wallis, seguido do teste U de Mann-Whitney, KW-MW, P<0.05). A abertura de vagina também foi atrasada nos grupos tratados com as duas maiores doses (0=27PN, 7,5mg/kg= 31PN e 15mg/kg=39PN, KW-MW, P<0.05). O número de espermatozóides na cauda do epidídimo foi 30±9 (x10⁶) na maior dose, 103±31 (x10⁶) nos animais tratados com 7,5mg/kg e 167±39 (x10⁶) no grupo controle e a produção espermática diária foi de 45±14 e 82±16 (x10⁶) nos grupos tratados com 15mg/kg e óleo de milho, respectivamente (P<0.05). No teste de fertilidade, a razão entre o número de fêmeas que cruzaram e o número de fêmeas que deram à luz não diferiu entre os grupos (teste do qui-quadrado, P>0.05). Não foram observadas diferenças quanto ao número de espermatozóides e de espermátides entre os grupos de animais que participaram do teste de fertilidade.

Conclusões: A maior dose de TPTH induziu acentuada mortalidade. O TPTH retardou a descida de testículos e a abertura de vagina nos grupos tratados com doses superiores a 3,75mg TPTH/kg e diminuiu o número de espermatozóides e espermátides nas doses de 7,5 e 15mg TPTH/kg nos animais sacrificados logo após o fim do tratamento (46PN). Essa redução não foi observada, entretanto, nos animais que participaram do teste de fertilidade (65PN), indicando os efeitos tóxicos sobre as gônadas masculinas foram reversíveis com a interrupção do tratamento.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq

11.010

FARMACOCINÉTICA DO PRAZIQUANTEL EM CAMUNDONGOS INFECTADOS COM SCHISTOSOMA MANSONI.

Gotardo, M. A.¹; Sarpa, M.¹; Paumgartten, F. J. R.¹ - ¹FIOCRUZ - ENSP - Toxicologia Ambiental - DCB

Introdução: Tem sido descrito que diferentes infecções (virais, bacterianas e parasitárias) e processos inflamatórios assépticos, incluindo infecções por *Schistosoma mansoni*, alteram a expressão e a atividade do citocromo P450, o que pode modificar a cinética de fármacos e outros xenobióticos. Faltam, entretanto, estudos sistemáticos e abrangentes sobre a cinética de fármacos em modelos *in vivo* de infecções. O praziquantel (PQZ) é um derivado pirazinoquinolínico com ampla atividade contra trematódeos e cestódeos que é usado, principalmente, no tratamento da esquistossomose. Os objetivos deste trabalho foram estudar a farmacocinética do PQZ em camundongos e verificar em que medida esta é alterada em animais infectados com *S. mansoni*. Para este estudo um método analítico para a determinação da concentração plasmática de PQZ, empregando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi validado com base em método descrito na literatura.

Método: Foram utilizados camundongos machos *Swiss Webster*, infectados com 100 cercárias de *S. mansoni* mortos 55 dias após a infecção e controles não infectados. O PQZ foi administrado por via oral em dose única (400 mg/kg peso corpóreo) e amostras de sangue foram coletadas do seio periorbital em diferentes intervalos de tempo após o tratamento (5, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos). O método analítico envolveu um procedimento simples para extrair o PQZ e diazepam (padrão interno) das amostras de plasma. A separação foi realizada utilizando uma coluna de fase reversa C18 e água:acetoneitrila (58:42, v/v) como fase móvel, num fluxo de 1,5 ml/min. A detecção foi em 217 nm. **Resultados:** O método apresentou linearidade na faixa de 0,7 a 44,0 µg/ml, com coeficiente de correlação linear de 0,9998. A precisão e exatidão, demonstradas por ensaios intra e inter-dias, apresentaram variações menores que 5% e os valores médios de recuperação variaram de 85 a 90%. O método, uma vez validado, foi aplicado na análise de amostras de plasma de camundongos infectados e não-infectados tratados com PQZ. Nos animais infectados os valores médios (\pm DP) de concentração plasmática de PQZ, determinados 5, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos após a administração do fármaco, foram 6,4 \pm 2,2; 14,6 \pm 3,2; 6,3 \pm 3,3; 4,4 \pm 2,9; 7,2 \pm 9,4 e 3,1 \pm 1,3 µg/ml, respectivamente, enquanto que nos animais não infectados, os valores médios (\pm DP) de concentração plasmática foram, nos mesmos intervalos de tempo, 20,2 \pm 3,7; 28,2 \pm 5,4; 21,7 \pm 10,5; 4,9 \pm 4,5; 1,8 \pm 0,5 µg/ml. Nas amostras retiradas em 180 minutos após o tratamento, os níveis de PQZ estavam abaixo do limite de quantificação do método. **Discussão:** O método cromatográfico foi considerado adequado para a quantificação de PQZ em amostras de plasma de camundongos, não sendo observados picos interferentes nos cromatogramas obtidos. Os resultados obtidos até agora mostraram que os animais infectados apresentaram concentrações plasmáticas de PQZ menores e significativamente diferentes (teste t de Student, $p < 0,05$) do que os não infectados nos intervalos até 30 minutos. Entre 30 e 180 minutos, as concentrações plasmáticas de PQZ diminuem acentuadamente, tanto nos animais infectados como naqueles não infectados. Estudos adicionais estão em curso visando esclarecer as diferenças entre a cinética do PQZ em animais infectados com *S. mansoni* e controles não infectados.

Apoio Financeiro: Faperj, Capes, CNPq

11.011

GELATINASES ACTIVITY IN AORTAS IS ASSOCIATED WITH CHRONIC LEAD (PB) EXPOSURE-INDUCED HYPERTENSION

Rizzi, E.¹; Castro, M. M.¹; Fernandes, K. S.¹; Lopes, L. F.¹; Arisi, G. M.²; Garcia-Cairasco, N.³; Barbosa Jr, F.¹; Bendhack, L. M.⁴; Tanus-Santos, J. E.¹; Gerlach, R. F.⁵ -
¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FMRP - USP - Fisiologia; ³FMRP - USP - Physiology; ⁴USP - FCFRP; ⁵FORP - USP - Morfologia

Introduction: Chronic exposure to low levels of Pb has been considered a risk factor for cardiovascular disease. Matrix metalloproteinases (MMPs) are enzymes involved in the degradation of the extracellular matrix, whose activity has been affected by different concentrations of metals. MMP-2 and MMP-9 are involved in many cardiovascular diseases. Studies have shown that MMP-2 is involved in vascular tone regulation, probably causing vasodilatory peptide degradation and increased vasoconstrictor peptides activity. Thus, in this work, we evaluate the effects of MMPs in vascular alterations of rats chronically exposed to Pb. **Methods:** Male Wistar rats (250 g) were chronically exposed (8 weeks) to low levels of Pb (0, 30ppm or 90ppm). Systolic blood pressure (SBP) was assessed weekly by tail cuff plethysmography. In another treatment (8 weeks) four groups of rats were as followed: (1) control, (2) Pb90: 90ppm of lead, (3) D: treated with doxycycline (inhibitor of MMPs) and (4) D-Pb90: Pb90 treated with doxycycline. SBP was assessed by tail cuff plethysmography. Pb levels in aorta and blood were measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Gelatin Zymography and Real Time RT-PCR of MMP-2 aorta samples were performed. Endothelium-dependent and -independent relaxations were evaluated with concentration-response curves to acetylcholine and sodium nitroprussiate, respectively. Morphometry analysis (cross section area, numbers of cells, elastin and collagen fibers) was performed with ImageJ Program (NIH - National Institutes of Health) as previously described (Dao H, 2005). **Results:** A significant increase in SBP was detected after treatment with 90ppm of Pb (128±3.6 versus 147±3.8 mmHg; P<0.005). In parallel, a significant increase was found in MMP-2 levels in aorta of this group (2.53±0.3 arbitrary units (AU) versus 3.65±0.4 AU; P<0.05). In another treatment, the Pb90 group increased SBP (Pb90: from 125±2 mmHg to 136±3 mmHg; P<0.05) and MMP-2 mRNA expression (1.00±1.0 relative quantity (RQ) versus 4.19±0.6 RQ; P<0.05). However, the doxycycline treatment blocked the increase of SBP in this group (D-Pb90: from 118±2 mmHg to 100±3 mmHg; P<0.05) and decreased an increase of MMP-2 mRNA expression (D:13.0±0.6 relative quantity (RQ) versus D-Pb90 group, 0.17±2.3 RQ; P<0.05). The vascular reactivity and structure of the aortas was evaluated and no difference was found (P>0.005). **Discussion:** Our study shows that chronic Pb exposure induced-hypertension might involve increase of MMP-2 in aortas. MMPs were increased in aorta tissue extracts and treatment with doxycycline reversed lead induced hypertension. However, MMP activity does not seem to be associated with vascular functional or morphometric alterations in aortas. **References:** Dao HH et al. J Hypertens 2001;19:1965 **Supported by:** CAPES, FAPESP, CNPq

11.012

SYNTHETIC QUINONES WITH CYTOTOXIC ACTIVITY AGAINST TUMOR CELL LINES

Araujo, A. J.¹; Barros, F. W. A.¹; Silva-Junior, E. N.²; Ferreira, V. F.²; De Souza, M. C. B. V.²; Pinto, A. V.³; Pinto, M. C. F. R.²; Goulart, M. O. F.⁴; Costa-Lotufo, L. V.¹; Moraes, M. O.¹; Pessoa, C.¹; Montenegro, R. C.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFF - Química Orgânica; ³UFRJ - Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais; ⁴UFAL - Instituto de Química e Biotecnologia

Introduction: Quinones play a central role in energy metabolism and in many other key processes where redox cycling drugs are utilized. Many efficient antineoplastic drugs are either quinones, quinonoid derivatives (quinolones, genistein) or drugs such as etoposide that can be easily converted to quinones by *in vivo* oxidation. The aim of this work was to evaluate the cytotoxicity of new synthetic quinones (ENSJ 1-8) obtained by structural modification of nor- β -lapachone. **Methodology:** The compounds (0.01-5 μ g/mL) were tested against six cancer cell lines: MDA/MB-435 (breast), B-16 (murine melanoma), PC-3 (prostate), HL-60 (leukemia), HCT-8 (colon), SF-295 (glyoblastoma) and one normal cell L-929 (fibroblasts) after 72 h of incubation. Cell growth was quantified by the ability of living cells to reduce MTT to a blue formazan product. To perform the hemolytic assay, it was used a 2% mouse erythrocyte suspension. After incubation for 1h with compounds (0.78-200 μ g/mL), the supernatant containing hemoglobin was measured spectrophotometrically at 540 nm. **Results:** All compounds were cytotoxic for all cell lines tested, except the compound ENSJ 2 in L-929 cells ($IC_{50} > 5\mu$ g/mL). IC_{50} values were lower than 1 μ g/mL for: ENSJ 1, 3, 4, 5, 6 and 8 in: HL-60, SF-295, HCT-8, B-16 cell lines; for ENSJ 1, 2, 3, 5, 6 and 8 in PC-3; for ENSJ 3, 4 and 8 in L-929; all compounds presented high cytotoxicity against MDA/MB-435 ($IC_{50} < 0.5\mu$ g/mL). Among the quinones, the weakest one was ENSJ 7, with IC_{50} values higher than 5 μ g/mL against the majority of the lines. Regarding the hemolytic assay, none of the compounds was capable to cause hemolysis in mouse erythrocytes, even at the highest concentration (200 μ g/mL). **Discussion:** Drugs containing a quinone moiety like lapachol show excellent anticancer activity. Present results corroborate with these observation since IC_{50} ranged from 0.12 to 3.08 μ g/mL. Absence of lytic effects suggests that the mechanism of cytotoxicity of the substances is not related with membrane disruption and is probably related to a more specific pathway. These findings point to the potential of these synthetic quinones as model molecules to produce new compounds with anticancer properties. **Supported by:** CNPq, CAPES, BNB, CNPq/Neoplasias, IM-INOFAR, FUNCAP, FINEP e InCb.

11.013

EFEITOS DO LOPAP NOS VASOS DA MICROCIRCULAÇÃO

Waismam, K.¹; Chudzinski-Tavassi, A. M.²; Farsky, S.¹ - ¹USP - Análises Clínicas e Toxicológicas; ²Instituto Butantan - Bioquímica

Introdução: LOPAP (*Lonomia obliqua* prothrombin activator protease) foi isolada das cerdas da lagarta *Lonomia obliqua*. Esta proteína possui atividade anti-coagulante, induz a secreção de mediadores inflamatórios e moléculas de adesão no endotélio, além de inibir a apoptose destas células e estimular a cicatrização em camundongos *in vivo* (Chudzinski-Tavassi, et al. 2001, Fritzen et al. 2005, Zannin et al. 2003, Reis et al. 1999). **Objetivos:** Avaliar o comportamento dos vasos da microcirculação e células circulantes sob ação do LOPAP. **Métodos:** Ratos Wistar, machos, adultos (180-220g) foram anestesiados pelo pentobarbital sódico e o leito mesentérico exposto para ensaios de microscopia intravital. O LOPAP foi administrado topicamente (0,3; 3; 10µg/10µL) e os números de leucócitos em comportamento “rolling” e aderidos ao endotélio e o diâmetro de vênulas pós-capilares foram mensurados. **Resultados:** Não foram observadas alterações no diâmetro vascular com as doses de 0,3 e 3 µg/10µL. A aplicação da dose de 10 µg/10µL provocou intensa alteração na parede vascular, com constrição da parede, além de visível alteração morfológica e estase sangüínea reversível. Quanto à interação leucócito-endotélio, a aplicação da dose de 0,3 µg/10µL não modificou o número de leucócitos rollers e aderidos; a dose de 3,0 µg/10µL reduziu o número de leucócitos rollers (56%), sem alterar o número de leucócitos aderidos ao endotélio; e a dose de 10 µg/µL provocou intensa aderência de leucócitos à parede vascular (600%). **Conclusões:** Os dados obtidos mostram que o LOPAP parece não alterar diretamente a interação leucócito-endotélio. Os efeitos podem ser decorrentes das alterações da coagulação, uma vez que a intensa aderência à parede vascular foi observada somente com dose que provocou alterações de fluxo sangüíneo. **Apoio Financeiro:** FAPESP (Processo 06/58643-0)

11.014

AÇÃO ANTICOLINESTERÁSICA DO ENDOSULFANO E EFEITO SOBRE A CONTRATILIDADE DO MÚSCULO LISO (JEJUNO) DE RATOS.

Crestani, S.¹; Soares, K. C. N.¹; Silva de Assis, H. C.¹; da Silva-Santos, J. E.²; Marques, M. C. A.¹ - ¹UFPR - Farmacologia; ²UNIVILLE - Farmácia

Introdução: O endosulfano (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzo-dioxathiepin-3-oxide) é um inseticida organoclorado do grupo dos ciclodienos amplamente utilizado na agricultura. É um inseticida moderadamente tóxico, mas ganha relevância como poluente ambiental devido à sua utilização em larga escala. Apesar de não ser descrito como um inibidor específico da colinesterase, o endosulfano inibiu esta enzima tanto nas progenitoras quanto nos seus descendentes (com 65 dias de vida) quando as mães foram tratadas cronicamente com endosulfano 0,5 e 1,5 mg/kg (Revista Bras. de Toxicol. V14.2 pg143-2001).

Objetivo: Confirmar *in vitro* a ação anticolinesterásica observada *in vivo* e avaliar os efeitos do endosulfano sobre a contratilidade da musculatura lisa não-vascular.

Material e métodos: Jejuno isolado de rato (Wistar) foi acondicionado em cubas contendo soluções nutritivas adequadas, aeradas e aquecidas a 37°C. Foi aplicada uma tensão de 1g para o registro das contrações isotônicas. Foram feitos registros das contrações induzidas pela adição da Ach (10^{-9} a 10^{-3} M) na ausência e na presença do endosulfano (1, 10 e 30µg/ml); da CE₅₀ da ACh (2×10^{-7} M) antes e após a incubação, durante 5 min, com plasma (400 µl) e com endosulfano (1, 2 e 3 µg/ml). **Resultados:** O endosulfano reduziu a contração máxima induzida pela acetilcolina de forma dependente da concentração, caracterizando um mecanismo de ação não competitivo. A área sob a curva (concentração-efeito) foi reduzida de $265,81 \pm 13,56$ (controle) para $199,16 \pm 25,75$; para $66,72 \pm 21,33$ e para $30,79 \pm 6,18$ respectivamente pelo endosulfano nas concentrações de 1, 10 e 30µg/ml correspondendo a taxas de inibições de 27,8; 71,1 e 81,2% respectivamente. A resposta contrátil do jejuno quando exposto a CE₅₀ da Acetilcolina (2×10^{-7} M = $51,4 \pm 0,7\%$) foi completamente abolida após a incubação com o plasma a 37°C durante 5 minutos. Quando o jejuno foi exposto a CE₅₀ da ACh juntamente com plasma e 1µg/ml de endosulfano a contração foi de $0,3 \pm 0,3\%$ sugerindo que o endosulfano, nessa concentração não foi capaz de proteger a ACh contra a ação da colinesterase plasmática. Porém quando a CE₅₀ de Acetilcolina foi adicionada à mistura de endosulfano nas concentrações de 2 e 3 µg/ml e plasma a resposta contrátil do jejuno foi de $23,5 \pm 5,1$ e $41,6 \pm 3,7\%$ respectivamente indicando a proteção do metabolismo da Ach pela colinesterase plasmática de forma dependente da concentração do endosulfano. **Conclusões:** Em conjunto, estes resultados indicam que o endosulfano altera a contratilidade da musculatura lisa (jejuno) e apresenta atividade anticolinesterásica *in vitro*, confirmando o resultado previamente observado nos estudos *in vivo*.

11.015

DNA-PROTEIN CROSSLINKS INDUCED BY EXPOSURE OF CULTURED HUMAN LYMPHOCYTES TO FORMOCRESOL

Cavalcanti, B. C.¹; Ramos, M. S. P.²; Costa-Lotufo, L. V.¹; Moraes, M. O.¹; Cerqueira, E. M. M.³; Pessoa, C.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UEFS - Saúde; ³UEFS - Ciências Biológicas

Introduction: Formocresol, a formaldehyde compound, used as a pulpotomy medicament has a long and successful clinical history. However, its safety has also been questioned since it is known to have a toxic, mutagenic and carcinogenic potential, and studies have demonstrated a systemic uptake of formocresol from pulpotomized teeth. Nevertheless, genotoxicity studies with formocresol are quite inconsistent. **Objective:** The goal of this study was to examine the genotoxic potential of formocresol on human peripheral blood lymphocytes by the single cell gel electrophoresis (comet) assay. **Methods:** Heparanized blood (from healthy, non-smoker donors who had not taken any drug at least 15 days prior to sampling) was collected and lymphocytes were isolated by a standard method of density-gradient centrifugation over Histopaque-1077. For comet assay, lymphocytes were washed with RPMI 1640 (culture medium) and adjusted to a concentration of 1×10^6 cells/mL. Cells were incubated for 45 min with three dilutions of formocresol (1:750, 1:1000 and 1:2000) in RPMI 1640 medium. To verify the possibility of formocresol to induce DNA-protein crosslinks (DPC), treated cells were incubated with proteinase K (1 mg/mL) for 2 h at 37°C. The vehicle (glycerin) and doxorubicin (0.3 µg/mL) were used as negative and positive controls, respectively. After treatment, the slides were stained with ethidium bromide and cells were classified in five levels of DNA damage, according to tail size (from undamaged-0, to maximally damaged-4) and a DNA damage score was calculated. **Results:** Formocresol did not produce detectable DNA damage evaluated by comet assay on lymphocytes (all cells are in level 0, DNA damage score is 0). However, when treated cells were incubated with proteinase K, a dose-dependent increase of DNA migration was observed (DNA damage score, 67.33^a, 53.00^b and 41.33^c for 1:750, 1:1000 and 1:2000 dilutions, respectively (^ap < 0.01, ^bp < 0.001 and ^cp < 0.05 in relation to vehicle group). **Discussion:** We used the alkaline version of the comet assay (pH > 13) to evaluate the magnitude of DNA damage. However, the standard protocol of the comet assay seems to be unable to detect DNA damage by crosslinking agents. Recently, some modifications of the standard comet assay protocol have been established to specifically study the effects of crosslinking agents. The reduction in the DNA migration could be reflecting the induction of adducts between DNA strands or with proteins. In order to confirm this hypothesis, a modification of the standard protocol allowing the detection of DNA-protein adducts was performed. When treated cells were incubated with proteinase K, a dose-dependent increase of DNA migration was observed. These results suggested that DPC may be an important *in vitro* genotoxic effect induced by formocresol in human lymphocytes. **Supported by:** CNPq, FUNCAP, FINEP and Claude Bernard Institute

11.016

ABILITY OF A SYNTHETIC COUMESTAN NAMED LQB93 TO PROTECT AGAINST THE CARDIOTOXIC EFFECT OF *Bothrops jararacussu* VENOM

Ricardo, H. D.¹; Martins, V. V.¹; Sifuentes, D. N.¹; Costa, P. R. R.²; da Silva, A. J.²; Melo, P. A.¹ - ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica - ICB; ²UFRJ - NPPN

Snakebite caused by *Bothrops* species induces local damage with edema, hemorrhage and myonecrosis. This cell damage are not well understood and poorly neutralized by antivenoms. We investigated the *in vitro* cardiotoxic activity of *Bothrops jararacussu* crude venom and the antivenom effect of a synthetic coumestan named LQB93 in rats. Cardiotoxicity was evaluated in a Langendorff preparation with adult Wistar rat heart bathed and continuously perfused (2-5 mL/min) with Ringer solution at 37°C. Heart tension was recorded continuously with a transducer coupled in a 7D Grass Polygraph, as well as the electrocardiogram (EKG). In the isolated heart preparation, *B. jararacussu* venom (10µg/mL) induced a progressive negative inotropic effect (1.2±0.04 to 0.43±0.03 g/cm, n=4), decreasing heart tension down to 0%, and abolished EKG waves, both after 15 min. The addition of LQB93 10µM decreased about 80% of the venom cardiotoxic effect (1.21±0.06 to 0.93±0.03 g/cm, n=4). The heart was then removed from the Langendorff apparatus; both the auricles and root of aorta were excised out. The ventricles were sliced into uniform sections of 2-3 mm thickness. The slices were incubated in 1% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) at 37 °C (pH 7.4) for 4 min. At the end of the incubation period, the heart slice was placed in phormoldehyde solution, which not only fixes the tissue but also enhances the color contrast developed. The normal myocardium was stained brick red, while the infarcted portion remained unstained. Infarct size was measured by WCIF Imaje J program. The percentage of damaged area were: 1) *B. jararacussu* (10µg/mL), 55 % of infarct area; 2) LQB93 10, 0 µM (alone) and venom (10µg/mL) + LQB93 100 µM, 10 % of infarct area. The association of LQB93 to the crude venom was able to antagonize completely the cardiac arrest. **Supported by:** CNPq; CAPES; FUJB-UFRJ; FAPERJ; PRONEX

11.017

EFFECTS OF PHENOL OR HYDROQUINONE ASSOCIATED ON LEUKOCYTE MIGRATION TO INFLAMED LUNG

Macedo, S. M. D.¹; Furukawa, J. K.¹; Ferreira Jr, J. M. C.²; Tavares de Lima, W.³; Farsky, S.¹ - ¹ICB - USP - Análises Clínicas e Toxicológicas; ²Instituto Butantan - Imunoquímica; ³ICB - USP - Farmacologia

Introduction: Cigarette smoke releases benzene that can induce hematotoxicity when exposed over long periods of time. Benzene is metabolized by the liver generating phenol (PHE) and hydroquinone (HQ), that is myeloperoxidated in the bone marrow result in 1,4 *p*-benzoquinone, and possibly inhibits the recruitment and the function of leukocytes. However, a clear evidence of the benzene role is limited. **Methods:** This study evaluated if PHE or HQ, isolated or associated, may be able to change the mobilization of leukocyte in the peripheric blood and in the recruitment to lungs when were challenged with ovoalbumin (AO). Full leucogram of rats Wistar was performed before treatment initially. After, HQ (5mg/kg/day) and PHE (5mg/kg/day), and HQ and PHE associated (HQ/PHE) in 5 mg/kg/day, were administered during 13 days. One week after begin the administration the metabolites, was carried out the sensibilization by OA dissolved in alumen (Aluminum hydroxide, 10 mg), i.p. Circulating OA-anaphylactic antibodies were assessed by passive cutaneous anaphylaxis assay and mast cell degranulation was assessed by contraction of *ex-vivo* tracheal segments upon OA-challenge. Subsequently, a new leucogram was carried out and followed by a bronchial provocation by OA inhalation (at 100µg/ml). After 24 hours, a bronchoalveolar lavage (BAL) was performed and a new leucogram (BAL and blood) obtained. **Results:** The results showed that HQ and PHE, but not HQ/PHE caused leucogram alteration of the peripheric blood (vehicle 6580,50±423,46, HQ 7743,34±142,90, PHE 5425,00±211,70, HQ/PHE 5027,50±288,47* X10³cells/mm³, *P<0,05). The leucogram of BAL after exposures with the metabolites, HQ 5 and 10mg/kg/day, and PHE 10 mg/kg/day-exposed animals showed change in the total leukocytes recruitment to the lungs (vehicle 263,60±21,00, HQ 138,50±18,90*, PHE 150,62±40,90* X10³cells/mm³, *P<0,05). However, the same effect was not observed to HQ/PHE (247,76±34,76 X10³cells/mm³). Differently, HQ, PHE and association diminished the levels of circulating OA-anaphylactic antibodies (vehicle 8,00±0,01, HQ 3,00±0,90*, PHE 3,4±1,23*, HQ/PHE 4,18±1,97* title of PCA, *P<0,05) and the force contraction of *ex-vivo* tracheal segments upon OA-challenge (vehicle 12,42±1,76, HQ 7,7±0,97*, PHE 8,31±0,89*, HQ/PHE 8,15±1,46* g, *P<0,05). **Discussion:** The results found to HQ/PHE showed that differently of literature data cited, when PHE is potentially able to hematotoxic action of HQ because HQ/PHE isn't able to reduce the recruitment of total leukocytes to lungs.

Supported by: FAPESP grants #03/04013-8

11.018

INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO OBTIDO DAS PARTES AÉREAS DE *Praxelis clematidea* (GRISEB.) R.M.KING & H.ROB.

Gomes, S. M.¹; Falcao, H. S.²; Mendes, J. M.²; Xavier, A. L.²; Diniz, M. F. F. M.³; Agra, M. F.³; Barbosa-Filho, J. M.³; Batista, L. M.³ - ¹PET-Farmácia/UFPB - Ciências Farmacêutica; ²UFPB - Ciências Farmacêutica; ³UFPB - Tecnologia Farmacêutica/Ciências Farmacêutica

Introdução: *Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae) é uma planta nativa da América do Sul e, comumente, confundida com espécies do gênero *Ageratum* pela população, a qual relata efeitos antiinflamatório, analgésico e febrífugo. De acordo com o uso popular e características quimiotaxonômicas (flavonóides), a espécie *Praxelis clematidea* foi selecionada para o presente estudo. **Métodos:** O extrato etanólico bruto (Ext. EtOH) das partes aéreas de *Praxelis clematidea* foi avaliado frente aos modelos de toxicidade: bioensaio com as larvas (náuplio) do microcrustáceo *Artemia salina* Leach para determinação da concentração letal 50 % (CL₅₀) (LOPES et al., Revista Eletrônica, 2002), triagem comportamental e dose letal 50 % (DL₅₀) em camundongos suíços machos (ALMEIDA et al., Rev.Bras.Farm.,80,1999). Para a realização em triplicata do bioensaio com *Artemia salina* L., 5 ml das concentrações do Ext. EtOH da planta (40, 120, 240, 360, 720 e 940 µg/ml) e do veículo dimetilsulfóxido 5 % (grupo controle) foram adicionados em tubos de ensaio contendo 15 náuplio e incubados sob luz artificial por 24 horas. Em seguida, realizou-se a contagem de larvas mortas/vivas e determinou-se a CL₅₀ (CL₅₀<80 µg/ml, altamente tóxico; CL₅₀ entre 80 e 250 µg/ml, moderadamente tóxico; e CL₅₀>250 µg/ml, baixa toxicidade ou atóxico) utilizando o método estatístico de Probitos. Para a realização da triagem comportamental e DL₅₀, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas, distribuídos em grupos controle (tween 80 12 %) e tratados com diferentes doses do Ext. EtOH da planta pelas vias oral (5000, 2500, 1250, 625 e 312,5 mg/kg) e intraperitoneal (2000, 1000, 500, 250 e 125 mg/kg). Parâmetros comportamentais como: hiperatividade, agressividade, tremores, convulsões, piloereção, ptose palpebral, sedação, ataxia, catatonía, analgesia, autolimpeza, vocalização, diarreia, constipação, defecação, micção, salivação, cianose, tono muscular e morte foram avaliados durante 4 horas e, posteriormente, por 72 horas para que se determinasse a DL₅₀. **Resultados:** No bioensaio com *A. salina*, o valor médio da CL₅₀ foi de 215,2 µg/ml; na triagem comportamental não foram evidenciadas alterações comportamentais dos camundongos e não foi possível determinar a DL₅₀ devido ausência de morte dos animais. **Discussão:** Uma amostra bioativa pode ser considerada moderadamente tóxica quando apresentar CL₅₀ entre 80 e 250 µg/ml após realização do bioensaio com *Artemia salina*, portanto *Praxelis clematidea* é considerada moderadamente tóxica devido CL₅₀ = 215,2 µg/ml. Contudo, o bioensaio com *Artemia salina* é um teste preliminar e estudos mais apurados de toxicidade são necessários. Assim, realizou-se experimento para verificar possíveis efeitos de *Praxelis clematidea* sobre o sistema nervoso central (triagem comportamental) e determinar a DL₅₀ cujos resultados (ausências de morte e alteração comportamental) mostraram que a espécie vegetal selecionada pode ser considerada de baixa toxicidade ou atóxica dentro das condições de estudo. **Agradecimentos:** FAPESQ, CAPES e LTF.

Apoio Financeiro: FAPESQ

11.019

BIOLOGICAL ACTIVITIES OF NAPHTHOQUINONES: STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS IN HEMOLYTIC AND CYTOTOXIC ASSAYS

Pessôa, H. L. F.¹; Cavalcante, F. de A.²; Barbosa, T. P.³; Camara, C. A.⁴; Pinto, A. C.⁵; Vargas, M. D.⁶; Sa, A.⁷; Pessoa, C.⁷; Silva, B. A. da⁸ - ¹UFPB - DBM; ²UFAL / UFPB - ICBS / LTF; ³UFPB - LTF; ⁴UFRPE - DQ; ⁵UFRJ - IQ; ⁶UFF - IQ; ⁷UFC - Fisiologia e Farmacologia; ⁸UFPB - Tecnologia Farmacêutica / Ciências Farmacêuticas

Introduction: lapachol (**I**), a- (**II**) and b-lapachone (**III**) are naphthoquinones isolated from a number of species of *Tabebuia* sp. (Bignoniaceae) abundant in Brazil and South America. Norlapachol (**IV**), a- (**V**) and b-norlapachone (**VI**), and hydro-hydroxy-norlapachol (**VII**) are a synthetic derivatives of (**I**) (HOOKER, J. Am. Chem. Soc. 58, 1168, 1936). Heterocyclic quinones and quinones containing nitrogen atoms that are known to exhibit excellent antitumor and other biological activities (HAYASHI, J. Med. Chem. 1987, 26, 2005; NEVES-PINTO, J. Med. Chem. 45, 2112, 2002). The new nitrogen compounds [2-(2,2-Dimethoxy-ethylamino)-3-(2-methyl-propenyl)-1,4-naphthoquinone] (**VIII**) and 2-(Butylamino)-3-(2-methyl-propenyl)-1,4-naphthoquinone (**IX**) and the diastereomeric 1-aza-anthraquinones [(±)-cis-3-Methoxy-4-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl) - 1,2,3,4-tetrahydro-benzo [g] quinoline-5,10-dione] (**X**) were obtained recently. Therefore, we report the structure-activity relationships of hemolytic and cytotoxic effects of lapachol and its synthetic derivatives. **Methods:** erythrocytes were isolated from blood of Wistar male rat according to the method described by Rangel, 1997. The possible hemolytic activity was measured by absorbance at 540 nm in the supernatant. Total hemolysis was obtained with 1 % Triton X-100 detergent and the percentage of hemolysis of the naphthoquinones (3×10^{-7} – 3×10^{-4} M) was calculated relative to this value. The cytotoxicity of the compounds (5 µg/mL) was tested against three tumor cell lines: SF-295 (glyoblastoma), HL-60 (leukemia), HCT-8 (colon) by the using the MTT assay, after 72 h drug exposure. **Results:** naphthoquinones (**II**), (**III**), (**V**) and (**IX**) did not cause hemolysis, however it showed inhibition of growth over than 90 % in all cells lines. The compounds (**I**) and (**VI**) displayed moderate hemolytic activities (33.8 ± 6.2 and 41.8 ± 8.5 %, respectively), and only (**VI**) presented cytotoxicity. The synthetic derivatives, (**IV**), (**VII**), (**VIII**) and (**X**) only 3×10^{-4} M showed highest hemolytic activity about 99.3 ± 0.7 ; 89.9 ± 5.7 ; 100 and 80.8 ± 11.8 %, respectively, however did not present antitumoral activity in the tested cells lines. **Discussion:** The cyclic naphthoquinones (**II**), (**III**), (**V**) and (**VI**) were more active than compounds (**I**) and (**IV**) against all cells lines, whereas these cyclic naphthoquinones showed lower hemolytic activity in comparison with its acyclic naphthoquinones. It was found that the modification of the naphthoquinones skeleton had drastic consequence on the biological activities. (**II**), (**III**), (**V**), (**VI**) and (**IX**) had presented one potential antitumoral activity, thus being able to be used in the therapeutical one without damaging membrane of the erythrocytes, since these naphthoquinones had presented moderate hemolytic activity or not. **Supported by:** CAPES, PIBIC/CNPq, LTF/UFPB