

SÍNTESE E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE SELENOAZIDAS ORGÂNICAS NO MODELO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

JANAINE PERIN (IC)¹, LETIÈRE CABREIRA SOARES (PQ)*¹

¹Universidade Federal da Fronteira Sul *Campus* Realeza - PR

*Letiére Cabreira Soares, e-mail: letiere.soares@uffs.edu.br

1 Introdução

Segundo Schmit *et. al.* (2006) o Paraquat é um herbicida, não-seletivo, geralmente usado na agricultura e responsável com muitas mortes por ingestão ou contato acidental ou intencional. Sabe-se que o Paraquat é um agente pró-oxidante e tem grande influência na produção de espécies reativas de oxigênio ERO_(s), que quando em excesso pode causar danos no organismo humano, através de lesões nos tecidos celulares e provocar doenças como Parkinson e Alzheimer, além do envelhecimento precoce (ARBO, *et.al.* 2006).

Dessa forma, há estudos que comprovam a utilização de compostos para a inibição ou redução dos efeitos causados por este praguicida. Um desses compostos que ganha a comunidade científica atualmente é o selênio. Esse mineral é um antioxidante utilizado como componente catalizador do sistema imunológico, apresentando-se na estrutura da Glutathione Peroxidase (GPx), importante enzima protetora do organismo frente as Espécies Reativas de Oxigênio (KUSS, 2005).

Dessa forma, na avaliação do estresse oxidativo, é empregada a utilização do modelo bioquímico *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). *C. elegans* é um nematódeo hermafrodita muito importante para desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas, facilitando o manuseio e cultivo em laboratório (SILVA, 2004). Possui aproximadamente 1 mm de comprimento, seu ciclo de vida é de aproximadamente 20 dias (da fase larval até a sua morte) se conservados em temperatura ambiente (~20°C). Além disso, possuem muitas vantagens para o desenvolvimento de pesquisas laboratoriais, tais como: ciclo de vida rápido; autofertilização; 0,1-0,2% dos organismos são machos; vermes transparentes em todos os estágios do seu ciclo de vida, permitindo a visualização dos órgãos e movimentos internos; alimentação pela bactéria *Echerichia coli* (*E. coli*) (DIOGO; MOTA *apud* GILBERT, 1988).

2 Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi sintetizar e avaliar os compostos das selenoazidas orgânicas frente a toxicidade do Paraquat, utilizando como modelo bioquímico o nematódeo *C. elegans*.

3 Metodologia

As atividades do projeto se desenvolveram em dois momentos distintos. Em primeiro momento foi planejada, juntamente com a parceria da Universidade Federal de Santa Maria, UFSM (RS), a síntese de um composto orgânico sintético e inédito com base no aminoácido fenilalanina contendo um fragmento funcionalizados com átomo de selênio, selenoazidas. Foram necessário 6 etapas para o desenvolvimento dessas selenoazidas: 1) Redução do aminoácido Fenilalanina para a produção do fenilalaninol; 2) Proteção do grupamento amina do fenilalaninol; 3) Mesilação do grupamento álcool; 4) Inserção dos nucleófilos de Selênio; 5) Desproteção do grupamento amina; 6) Transformação do grupamento amino em azida. As estruturas foram analisadas por ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN H1, a figura (1) abaixo ilustra a elucidação da selenoazida.

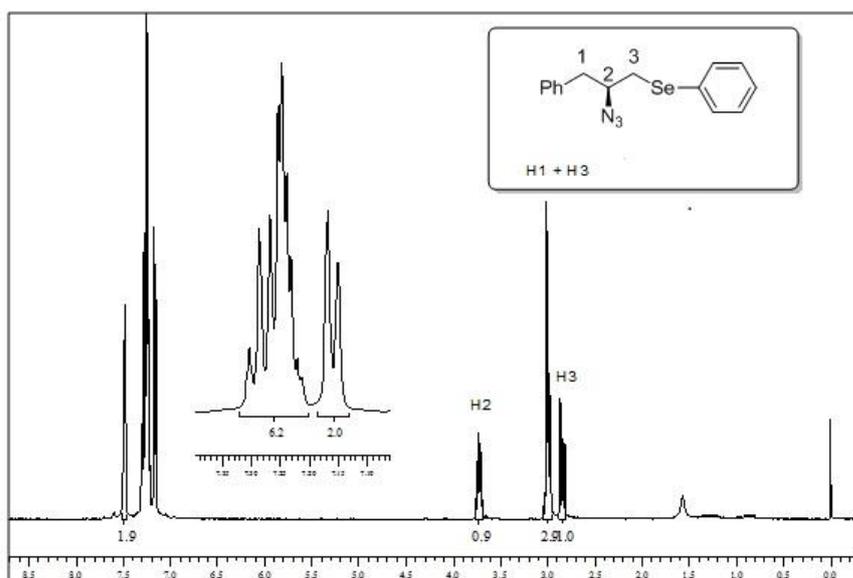


Figura 1: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN H1.

Em um segundo momento foi desenvolvido as atividades nos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul (PR) com o cultivo, testes reprodutivos que incluem a

avaliação do número de ovos colocados pelos nematódeos e a viabilidade desses ovos através do processo de eclosão dos nematódeos *C. elegans*, com a finalidade de verificar os efeitos toxicológicos do praguicida Paraquat frente às selenoazidas orgânicas.

Com isso, as atividades em laboratórios foram divididos 3 etapas: 1) Meio de crescimento para *C. elegans*; 2) Preparo das placas de petri; 3) Sincronização. Na primeira etapa utilizou-se o Meio de Crescimento para Nematódeos (Nematode Growth Medium – NGM) em placas de petri de 60 mm, utilizando como alimento a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) da cepa OP50. A cepa do nematódeo foi propagada utilizando uma B.O.D. com temperatura regulada em 22° C. Para a segunda etapa as placas foram preparadas em capela de fluxo laminar, esterilizando todos os materiais utilizados com álcool 70% e autoclave. Foi adicionado o meio de cultivo para nematódeos, o colesterol, pela impossibilidade de ser produzido pelo *C. elegans*, e a *E. coli*. Espera-se secar e armazenam-se as placas na geladeira, as mesmas podem ser usadas posteriormente conforme necessidade dos procedimentos. Para a sincronização, foram utilizados uma placa com *C. elegans* grávidos, centrifugação por 5 minutos a 4000 rpm e a coleta da amostra no fim da sincronização com os vermes esturados. No final, o pellet, contendo apenas ovos do nematódeo foi repassado para as placas de 60 mm contendo meio de cultura, sendo armazenado na B.O.D em “overnight” e avaliado após 24 horas, tempo necessário para eclosão das larvas .

4 Resultados e Discussão

Como resultados, foi possível realizar os testes de síntese do composto orgânico sintético, produzindo-se 3 distintas selenoazidas quirais. A comprovação da síntese foi feita através da leitura da Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio. Além disso, foi possível obter domínio sobre a técnica de cultivo de nematódeos *C. elegans*, a partir do processamento de sincronização adaptado, já que na literatura alguns parâmetros não estão totalmente descritos.

Entretanto, não foi possível analisar os efeitos toxicológicos do Paraquat sobre os *C. elegans* na presença de selenoazidas orgânicas, em virtude da incompatibilidade da solubilidade das azidas sintetizadas com o meio onde os nematódeos são cultivados. A metodologia foi estendida para o emprego de etanol e dimetilsulfóxido (DMSO) na porcentagem de 5% destes solventes em água. Cabe ressaltar que esses solventes são os



únicos descritos para ensaios com *C. elegans*, porém para valores superiores a 5% começam a interferir no ciclo de vida no nematódeo, inviabilizando os experimentos.

5 Conclusão

Ao que propunha o projeto foi alcançado em parte, apesar de não ter sido possível a conclusão de análise da toxicidade do praguicida Paraquat foi de grande importância a síntese de 3 selenoazidas diferentes e inéditas, podendo ser utilizadas em outro momento para pesquisa.

Contudo, as atividades experimentais realizadas proporcionaram um aprofundamento das técnicas desenvolvidas em laboratório. Além do conhecimento fornecido sobre novos métodos de pesquisa laboratorial, utilizando-se de um modelo bioquímico não comum, mas da mesma forma eficiente, para a realização das atividades.

Palavra chave: selenoazidas orgânicas; *C. elegans*; radicais livres; avaliação toxicológica.

Referências:

ARBO, M.D.; et al. Efeito tóxico dos praguicidas maneb e paraquat sobre a atividade da enzima antioxidante catalase em ratos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apli.** Porto Alegre - RS, 2006. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/361/346>. Acesso em: 03 de julho de 2016.

DIOGO, A.; MOTA, M.M..*apud* GILBERT, 1988. **Caenorhabditis elegans modelo biológico para seu século XXI**, 2001. Disponível em: <http://arquivo.ordembilogos.pt/Publicacoes/Biologias/1_Caenorhabditis_elegans%20--%2020Abr05.pdf>. Acesso em: 05 de julho de 2016.

KUSS, F. **Agentes oxidantes e antioxidantes.** Porto Alegre – RS, 2005. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/ag_oxid_antioxid.pdf>. Acesso em: 05 de julho de 2016.

SILVA, J.C. **Estabelecimento do cultivo dos nematóides *Caenorhabditiseleaaans*, *Panaarellusredivivas* e *Turbatrixacetii* e averiguação destes como bioindicadores à presença de chumbo.** Curitiba – PR, 2004. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/36770/MONOGRAFIA%20JULIANA%20CHIESSE%20DA%20SILVA.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 04 de julho de 2016.