

# PERFIL DE TOXICIDADE DO FLOROGLUCINOL E SEUS DERIVADOS

Lunardelli S<sup>1</sup>, Duarte MO<sup>1</sup>, Zenki KC<sup>2</sup>, Kalinine E<sup>2</sup>, Kiekow CJ<sup>1</sup>, Oliveira DL<sup>2</sup>, Gosmann G<sup>1</sup>

1-Laboratório de Fitoquímica. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre, RS, 90610-000, Brasil.

2-Laboratório 24, Departamento de Bioquímica, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos 2600 anexo, Porto Alegre, RS, 90035-000, Brasil.

E-mail: soraialunardelli@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

*Hipericum perforatum*, ou erva-de-São-João, é utilizada como tratamento alternativo no combate à depressão (1). Atribui-se esta atividade, principalmente, aos derivados de floroglucinol, como a hiperforina (2). Este composto age inibindo a recaptação de serotonina, noradrenalina, dopamina e GABA (3). Considerando dados da Organização Mundial de Saúde, estima-se que até 2020 a depressão estará em segundo lugar no ranking das doenças que causam perda da qualidade de vida (4). Os derivados do floroglucinol também apresentam outras atividades, como antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antialérgica, antiviral (5), antiparasitária (6) e até mesmo neuroprotetora contra doença de Alzheimer (7). Em vista disto, derivados do floroglucinol são sintetizados visando potenciais candidatos a novos fármacos para as atividades já citadas.

A fim de avaliar preliminarmente a sua toxicidade, o floroglucinol e três derivados sintéticos foram submetidos ao teste com MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazolina). O MTT, que possui coloração amarela, quando incubado com células vivas, tem seu substrato reduzido por enzimas mitocondriais, e passa à coloração púrpura (formazan). A produção de formazan reflete a viabilidade celular relacionado ao estado funcional das mitocôndrias (8).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Fatias de 400µm de hipocampo/córtex de camundongos machos foram colocadas em placa de 24 poços (uma por poço) contendo meio HBSS-HEPES em temperatura controlada (37°C). Após duas lavagens, as fatias foram incubadas com soluções, em três diferentes concentrações, dos produtos sintetizados por 1, 2 e 3 horas. Adicionou-se MTT (0,5mg/mL) e, após trinta minutos, o meio foi descartado. Os cristais de formazan formados foram dissolvidos com dimetilsulfóxido (DMSO) por trinta minutos em agitação branda. A densidade óptica foi medida em SpectraMax® nas absorvâncias de 560nm e 650nm onde a diferença (Abs. 560 – Abs. 650) forneceu o índice de viabilidade mitocondrial.

## RESULTADOS

Os compostos ensaiados foram obtidos através da síntese orgânica clássica, exceto o Floroglucinol que foi obtido comercialmente da marca Sigma-Aldrich®. Todos compostos foram isolados e identificados por RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C.

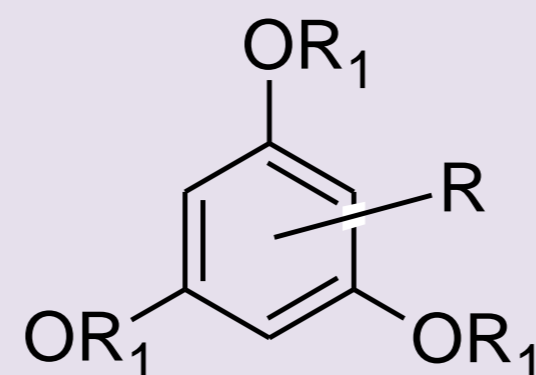


Figura 1: Estrutura química dos compostos analisados.

Floroglucinol (M4): R=H; R<sub>1</sub>=H  
 Composto 1 (M1): R= acila; R<sub>1</sub>= alquila  
 Composto 2 (M2): R= acila; R<sub>1</sub>= H  
 Composto 3 (M3): R= H; R<sub>1</sub>=alquila

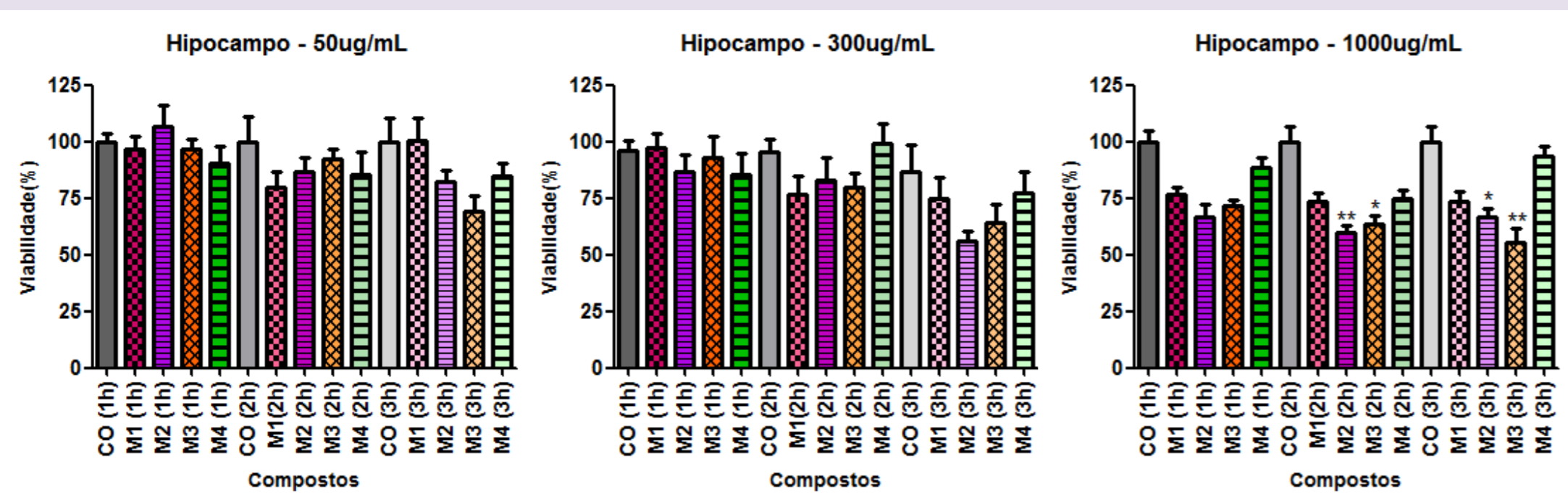


Figura 2: Efeito dos compostos sobre a viabilidade de fatias hipocámpais de camundongos por períodos de 1, 2 e 3 horas. A viabilidade celular foi avaliada pelo método de redução do MTT (N=9). Teste de Kruskal-Wallis (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

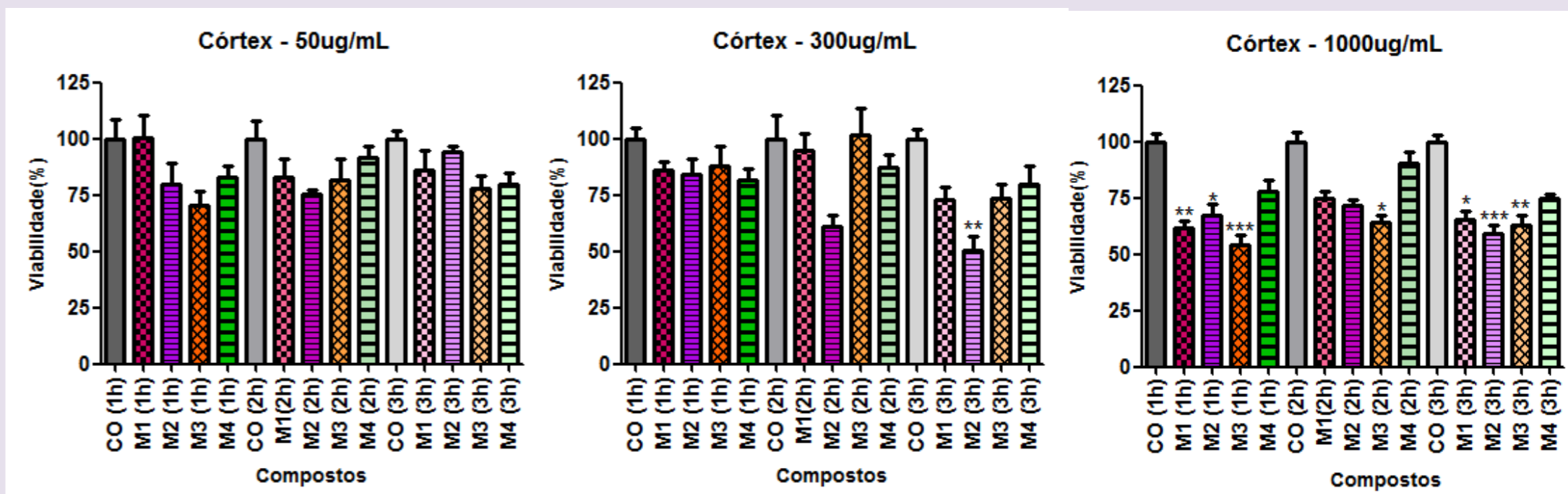


Figura 3: Efeito dos compostos sobre a viabilidade de fatias de córtex de camundongos por períodos de 1, 2 e 3 horas. A viabilidade celular foi avaliada pelo método de redução do MTT (N=9). Teste de Kruskal-Wallis (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001).

No hipocampo e no córtex, os compostos com a concentração de 50µg/mL não alteraram significativamente a viabilidade das fatias. Pode-se perceber uma diminuição da viabilidade tempo-dependente para alguns compostos na concentração intermediária. Em ambas estruturas cerebrais, a concentração de 1000µg/mL dos compostos provocou queda acentuada na viabilidade. De modo geral, o floroglucinol (M4) não apresentou modificações significativas da viabilidade em relação ao controle.

## CONCLUSÃO

O método de verificação da viabilidade mitocondrial usando o MTT tem sido bastante utilizado para medir toxicidade, proliferação e ativação celular, além de ser empregado para quantificação de danos neuronais após uma variedade de insultos em diversos sistemas bioquímicos (9). Este teste pode demonstrar que a exposição de fatias de córtex e hipocampo ao floroglucinol e três derivados sintéticos, por um período agudo, causa modificações na viabilidade celular. Estes resultados sugerem que os compostos sintetizados, se apresentarem atividade antidepressiva, devem ser cuidadosamente avaliados quanto à sua toxicidade.

## REFERÊNCIAS

- 1- GREESON J.M., SANFORD B., MONTI D.A. . *Psychopharmacology*, v. 153, p. 402-414, 2001.
- 2- MÜLLER, W.E., SINGER, A., WONNEMANN, W. *Pharmacopsychiatry*, v. 34(1), p. S98-S102, 2001.
- 3- MULLER, W., ROLLI, M., SCHAFFER, C., HAFNER, U. *Pharmacopsychiatry*, v. 30 , p. 102-107, 1997.
- 4- WHO,2011. [http://www.who.int/mental\\_health/management/depression/definition/en/](http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/).
- 5- SINGH, I.P.; BHARATE, S.B. *Natural Product Reports*, v.23 (4), p. 558-591, 2006.
- 6- MOON, HYUNG-IN. *Phytotherapy Research*, v. 24, p. 941-944, 2010.
- 7- GRIFFITH, T.N., VARELA-NALLAR, L., DINAMARCA, M.C., INESTROSA, N.C.. *Current Medicinal Chemistry*, v. 17(5), p. 391-406, 2010.
- 8- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.
- 9- LOO DT, RILLEMA JR. Measurement Of Cell Death. *Methods In Cell Biol*, v. 57 p. 251-264, 1998.

## AGRADECIMENTOS

CNPq; CAPES; PPGCF.