

# TOXICIDADE AGUDA EM DOSE SIMPLES DO COMPOSTO EXPERIMENTAL CIS-TETRAAMINOXALATORUTÊNIO(III)

CARLOS EDUARDO SILVA BARBOSA  
ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA-LACERDA.

Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral.  
Laboratório de Genética Molecular e Citogenética Humana ICB1 s/no. Caixa Postal 131, Campus Samambaia II.  
74.001-970, Goiânia, GO.

Autor responsável E.P.S. Lacerda. E-mail: elacerda@icb.ufg.br

## INTRODUÇÃO

O elevado e crescente número de casos de ocorrência e mortalidade decorrente de tumores malignos corroboram o estudo de novos procedimentos para tratamento e prevenção das neoplasias. A Organização Mundial da Saúde estima que, no ano 2000, mais de 10 milhões novos casos de câncer foram diagnosticados, no mundo, e 6,2 milhões de pessoas morreram da doença (o que equivale a 12% de todas as mortes). Este número poderá aumentar para 15 milhões, no ano 2020, período em que o câncer deverá ser a causa mais freqüente de morte, no mundo (OMS, 2003).

No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA), 467,440 novos casos da doença devem ser diagnosticados, no ano de 2005 – 253,795 para cada 100 mil pessoas (INCA, 2004). Em 1999, esse índice era de 70 casos para cada 100 mil pessoas e, em 1979, eram 50 a cada 100 mil pessoas (IBGE, 2005).

### Sais metálicos

Os quimioterápicos têm se tornado uma das formas mais promissoras de combate a tumores malignos, uma vez que sua ação sistêmica possibilita o acesso a metástases e tumores líquidos (CRF-MS, 2003). Dessa classe de medicamentos, os compostos de Rutênio são classificados no grupo dos sais metálicos, cujo representante mais estudado quanto à atividade antineoplásica é a platina, desde 1960, com a descoberta da cisplatina, que estabelece uma ligação cruzada com a guanina do DNA, estabilizadas por ligações de Hidrogênio. Atualmente, muitas dessas drogas são utilizadas na clínica terapêutica, inclusive contra doenças parasitárias e bacterianas (Dyson & Claire, 2001; PAGE, 1999).

Devido à sua estrutura (octaédrica), os complexos de Rutênio (Ru) II e III provavelmente têm mecanismo de ação diferente da cisplatina. A “Ativação pela Redução” é

uma das propostas para o mecanismo de ação dessas substâncias. Essa hipótese sugere que os compostos de Ru(III) servem de prodogas que são reduzidas, *in vivo*, pelas condições citoplasmáticas das células tumorais, em que as concentrações de  $O_2$  são baixas em decorrência do consumo atípico de nutrientes; o pH baixo, devido à produção de ácido láctico na glicólise anaeróbica, compensatória da falta de oxigênio, e à presença de glutathiona (GSH) em níveis tipicamente altos nas células neoplásicas.

Essas diferenças das células tumorais relativamente às células normais poderiam favorecer a produção de Ru(II) a partir do Ru(III). O Ru(II) causaria mais ligações ao DNA que o Ru(III), gerando toxicidade seletiva às células tumorais. Outra hipótese explica a baixa toxicidade observada no rutênio levando em conta que certos compostos deste metal mimetizam o ferro, se ligando prontamente à albumina e da transferrina no sangue: as células tumorais, que requerem mais nutrientes que as células normais (demanda que é satisfeita pela angiogênese) sequestram mais transferrina circulante, que libera o grupo (neste caso o composto de rutênio) em condições de pH mais baixo (fig.1) (Clarke, 2003; Silveira- Lacerda, 2003).

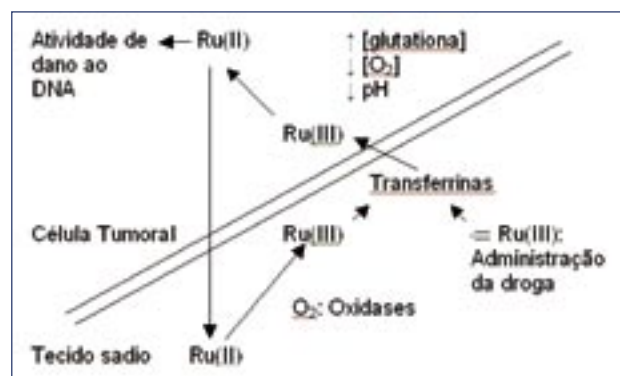


Figura 1. Mecanismo de “Ativação pela Redução” relacionado com a citotoxicidade seletiva dos compostos de Ru(III) às células cancerígenas. (SILVEIRA-LACERDA, 2003).

O conhecimento do mecanismo de ação de substâncias já testadas permite o direcionamento do estudo de novos agentes potencialmente terapêuticos. Portanto, partindo-se dos conhecimentos a respeito dos compostos de platina e de outros compostos de rutênio, como o NAMI (o composto de rutênio em estágio mais avançado de pesquisa) e o cis-[RuCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]Cl (cloreto de cis-tetramondiclororutênio(III)), que mostra atividade citostática ciclo celular-específica, com seletividade e genotoxicidade preferencial a células neoplásicas (SILVEIRA-LACERDA, 2003), tem-se perspectivas para análise de outros compostos com mecanismos potencialmente similares, como o cis-tetraamin oxalatorutênio(III) (cis-[Ru(C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sub>2</sub>), composto alvo deste estudo, com vistas à obtenção de medicamentos mais eficazes na terapêutica anticâncer.

### Avaliação da sensibilidade dos camundongos

O cis-tetraamin oxalatorutênio(III) mostrou baixos níveis relativos de citotoxicidade em células normais (Calixto *et al*, 2005). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi detectar a Dose Letal Mediana (DL<sub>50</sub>) e avaliar os efeitos comportamentais observados em campo aberto (open field) em camundongos tratados com o composto, como forma preliminar de detecção da toxicidade para a saúde, resultante de uma exposição de curta duração. Essa análise dá seguimento a uma série de testes que visam considerar sua utilização do composto como antineoplásico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Cis-tetraamin oxalatorutênio(III) (cis-[Ru(C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]<sub>2</sub>)

O composto foi sintetizado no Laboratório de Química Supramolecular do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

Neste trabalho testaram-se 4 diferentes concentrações da substância em grupos de animais, sob condições padronizadas, em 300 µL de NaCl 0,9%.

### Animais e formação dos grupos experimentais

Foram utilizados camundongos Swiss machos, saudáveis, com idade entre 4 e 6 semanas e com peso médio de 32 g (variação de 1,5g), do Biotério da Agrodefesa do Estado de Goiás. Foram alimentados com ração padrão e água à vontade.

Os animais foram divididos em 5 grupos de 6 indivíduos, mantidos a temperatura de 24° C a 26° C e tratados via intraperitoneal (ip) com as concentrações de rutênio: 300 mg/Kg/animal (9,6mg/animal); 30 mg/Kg/animal (0,96mg/animal); 10 mg/Kg/animal (0,32mg/animal); 3 mg/Kg/animal (0,096mg/animal) e controle Negativo (NaCl 0,9%).

## Teste

O *screening* farmacológico foi realizado no Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás.

O registro de comportamento e mortes foi feito durante as 24 horas seguintes à administração via ip do composto de rutênio. Após esse período os camundongos foram sacrificados por meio de deslocamento cervical e procedeu-se a observação macroscópica dos órgãos internos (BRITO, 1994).

## RESULTADOS

Os animais do grupo 1 (300 mg/Kg/animal) apresentaram sintomas como ptose palpebral, perda de resposta ao toque e aperto da cauda e, eventualmente, tremores, convulsões, perda de reflexo, diminuição da atividade motora e secreção bucal sanguinolenta. Metade dos animais testados morreram nas primeiras 24 h e na análise macroscópica de dos órgãos internos de um destes notaram-se manchas hepáticas.

Todos os camundongos apresentavam sinal hemorrágico na região de inoculação da substância, 24 h após o tratamento i.p. (fig. 2):



**Figura 2.** Aspecto geral da região peritoneal. Local da inoculação do cis-tetraamin oxalatorutênio(III), após 24 h.

Nos demais grupos não foram observados sintomas característicos de toxicidade aguda.

## DISCUSSÃO

A diminuição da atividade motora, ptose, ataxia foram aspectos observados no grupo de camundongos tratados com 300 mg/Kg/animal e sugerem depressão do Sistema Nervoso Central (Braggio *et al.*, 2002), além de tremores e convulsões.

A secreção bucal sanguinolenta e presença de sangue no local da inoculação sugerem que o composto de rutênio causa, em altas doses, sensibilidade e irritabilidade.

Os resultados do teste de toxicidade aguda serviram como referência para o cálculo da DL<sub>50</sub>.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que em altas doses o cis-tetraaminoxalatorutênio(III) induz alterações comportamentais sugestivas de atividade depressora do sistema nervoso central, mas não acarreta efeitos graves em doses mais baixas.

O valor da DL<sub>50</sub> encontrada foi 300 mg/Kg/animal. Esse resultado, somado à constatação de baixa citotoxicidade a células normais *in vitro* (Calixto *et al.* 2005) e *in vivo*, permitem concluir ainda que mesmo em fase de finalização dos testes pré-clínicos, visando o estabelecimento de condições seguras para terapia experimental em humanos, dever-se-ão prosseguir estudos visando detecção da absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e efeitos desejáveis e indesejáveis da substância.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braggio, M. M.; Lima, M. E. L., Veasey, E. A. & Haraguchi, M. Atividades Farmacológicas das Folhas da *Sesbania virgata* (CAV.) PERS. *Arq. Inst. Biol.* v.69, n.4, p.49-53, 2002.
- BRITO, A. S. *Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo*. Campinas: UNICAMP, 1994. 15-22p.
- CLAIRE, S. & DYSON, P.J. Ruthenium in Medicine: current clinical uses and future prospects. *Platinum Metals Rev.* v.45, n.2, p.62-69, 2001.

- LARKE, M.J. Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chem. Rev.* v. 236, p. 209-233, 2003.
- CRF-MS. CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA – MATO GROSSO DO SUL. Quimioterápicos Antineoplásicos. Campo Grande, 2003. 12-13p. (Manual Farmácia on-line).
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2005. Dia Mundial de Combate ao Câncer. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/datas/cancer/home.html>. Acesso em: 05 fev. 2005.
- INCA - BRASIL, Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. *Estimativa 2005: Incidência de Câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2004. 25, 44p.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. 2003. La incidencia mundial del cáncer podría aumentar en un 50% y llegar a 15 millones de nuevos casos en el año 2020. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/es/>. Acesso em: 05 fev. 2005.
- PAGE, C.P., CURTIS, M.J., SUTTER, M.C., WALKER, M.J.A., HOFFMAN, B.B. *Farmacologia Integrada*. Tradução por Ida C. Gubert, 1 Ed. São Paulo: Manole, 1999. 511p.
- SILVEIRA LACERDA, E. P. *Avaliação da Atividade Antitumoral do cis-[RuCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]Cl sobre linhagens tumorais humanas e de camundongos*. 2003. 67 f. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal Uberlândia - UFU, Uberlândia.
- Calixto S. F., Ciloni, Y. L. M., Barbosa C. E. S., Silveira-Lacerda E. P., Pavanin L. A. Avaliação da Citotoxicidade do cis-tetraaminoxalatorutênio(III) em macrófagos de camundongos. In: 28ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2005, Poços de Caldas, 2005.