

NAFTIL-AZODERIVADO DA SULFAMERAZINA: — TOXICIDADE AGUDA E ALGUNS EFEITOS COLATERAIS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Angélica Aparecida de Oliveira **
Celso Norikazu Tanahara **
Felicia Gema Taravella **
Maria de Fátima Gomes Pereira **
Mauricio Samuel Goldbaum **
Miriam Cabral ***
Szulim Ber Zyngier****

RESUMO: Neste trabalho visou-se estudar comparativamente as ações comportamentais do naftil-azoderivado da sulfamerazina e da própria sulfamerazina.

Observou-se que o naftil-azoderivado apresenta atuação que comprometem o comportamento aprendido diminuindo as respostas em ratos condicionados.

A movimentação espontânea, observada em campo aberto, em camundongos sob ação do naftil-azoderivado, aumentou com o decorrer do tempo, tendo atingido o seu máximo após 24 horas da injeção intraperitoneal.

A toxicidade aguda do naftil-azoderivado diminuiu em relação à sulfamerazina, quando da determinação da DL 50.

O composto já avaliado anteriormente continuou a apresentar atuação antimicrobiana.

UNITERMOS: Naftil-azoderivado da sulfamerazina; Toxicidade aguda; Movimentação espontânea; Comportamento Condicionado.

Introdução

A sulfamerazina é uma sulfonamida com ação antimicrobiana e anti-helmintica, possuindo atividade terapêutica esquistossomicida^(2, 6, 7), porém apresentando efeitos colaterais que limitam seu uso isolado.

Com objetivo de abolir ou diminuir seus efeitos tóxicos *korolkovas*⁽¹⁾ sintetizou um naftil-azoderivado da sulfamerazina, baseado em outras sínteses semelhantes.

O presente trabalho, partindo da premissa proposta pelo autor da síntese, visa a avaliação farmacológica quanto à toxicidade e alguns efeitos colaterais do produto final obtido.

Para tal, foram levados a efeito, estudos para determinação da DL50 e alguns efeitos comportamentais pós uso da droga.

Sabe-se que o uso de grandes doses podem levar a distúrbios neurológicos com crises convulsivas^(4, 7) chegando mesmo ao estado de coma. Paralelamente, o radical naftil também leva a convulsões podendo acarretar morte⁽⁶⁾.

* Trabalho realizado na Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

** Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

*** Professor Assistente da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

**** Professor Titular da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

É de conhecimento que a copulação adequada de sulfonamidas, concede-lhes um transportador adequado que em muitos casos diminui o aparecimento de efeitos indesejáveis das drogas de origem⁽¹⁾, mormente no que diz respeito a sua toxicidade aguda⁽³⁾.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Drogas:* Utilizou-se o naftil-azoderivado da sulfamerazina sintetizado e cedido pela Disciplina de Química Farmacêutica do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciência Farmacêutica da USP, sulfamerazina cedida pelo Laboratório Labofarma e soro fisiológico à 0,9%.

2. *Animais:* Foram usados 230 camundongos cepa Suíça, machos, adultos, pesando em média 20 gramas e 30 ratos Wistar, machos, adultos, pesando em média 175 gramas.

3. *Aparato para observar a movimentação espontânea em camundongos:* Consta de uma caixa quadrada de papelão com 30 cm de lado e 25 cm de altura, sendo que o piso desta foi dividido em 9 quadrados com 10 cm de lado. Neste experimento foram utilizadas 3 caixas.

4. *Primeira série de experimentos:* Constituiu de 50 camundongos divididos em 5 grupos de 10 animais em cada grupo, com o objetivo de se determinar a DL 50.

O composto naftil-azoderivado foi injetado nos 5 grupos intraperitoneal nas seguintes doses: 100, 200.

300, 350 e 400 mg/Kg/peso, respectivamente. Os animais foram observados por um período de 24 horas.

5. *Segunda série de experimentos*: Constituiu de 180 camundongos divididos em 3 grupos de 60 animais cada, com o objetivo de se estudar a movimentação espontânea aos 15, 30, 60, 120, 180 e 1.440 minutos após a administração das drogas.

Os animais, após a injeção, foram submetidos a uma única observação na caixa, para evitar variáveis intervenientes como cansaço, treino e adaptação à caixa.

Dos 3 grupos acima citados um grupo recebeu naftil-azoderivado na dose de 300mg/Kg/peso, outro grupo recebeu sulfamerazina na dose de 100mg/Kg/peso e o terceiro grupo recebeu soro fisiológico à 0,9%, que serviu como grupo controle. Todas as drogas foram injetadas intraperitonealmente.

Após a injeção das referidas drogas, 3 animais foram colocados simultaneamente nas caixas, sendo submetidos à observação do número de quadrados que percorriam, do número de vezes que se limpavam, do número de vezes que levantavam as patas dianteiras e do número de defecções. Os resultados obtidos foram tabelados e submetidos a teste de análise de variância.

6. *Terceira série de experimentos*:

6.1. Divisão dos grupos de ratos:

GRUPO I: controle: 10 animais receberam 1 ml de soro fisiológico, intraperitoneal, por 100 gramas de peso, no 12.º dia da experiência.

GRUPO II: esse grupo foi constituído por 10 ratos, nos quais foram administrados 100mg/Kg/peso de sulfamerazina, por via intraperitoneal, no 12.º dia da experiência.

GRUPO III: também constituído por 10 ratos, os quais receberam 300mg/Kg/peso de naftil-azoderivado, por via intraperitoneal, no 12.º dia da experiência.

6.2. Condicionamento dos ratos:

O condicionamento foi obtido pelo método de aproximações sucessivas, isto é, após a privação alimentar de 17 horas diárias foram colocados em uma prancha e para atingir o depósito de alimentos deveriam subir uma corda.

A prancha inicialmente estava a 50cm da caixa e nos dias subsequentemente foi-se acrescentando 10cm a essa medida inicial, até uma altura de 130cm, que se considerou a altura ideal.

Após o treino, os animais foram experimentados durante 4 dias para o traçado da linha basal (tempo médio de subida na corda) e no 12.º dia receberam o respectivo tratamento acima citado.

7. *Outras observações*: Os animais também foram observados quanto à mudanças de comportamento e quanto a outros sinais clínicos.

Resultados

Experimento I (Dose Letal 50):

Segundo nossas observações, a dose letal 50 do naftil-azoderivado é maior do que 2.000mg/Kg/peso, intraperitoneal, em um período de observação de 24 horas. Verificou-se que a droga possui baixa letalidade, visto que com doses de 100, 300, 350 e 400mg/Kg/peso não houve óbito em um período de observação de 30, 60, 180 e 1.44 minutos após a injeção da droga. Observou-se apenas um óbito com dose de 200mg/Kg/peso após 180 minutos da injeção da droga (Tabela I).

TABELA I

Número de óbitos obtidos na determinação da Dose Letal 50

Grupos	Doses (mg/Kg/peso)	Tempo de observação Número de óbitos			
		30'	60'	180'	1440'
1.º	100	—	—	—	—
2.º	200	—	—	1	—
3.º	300	—	—	—	—
4.º	350	—	—	—	—
5.º	400	—	—	—	—

Experimento II (Movimentação espontânea em camundongos):

Tanto para sulfamerazina como para o naftil-azoderivado os resultados foram comparados com o grupo controle (soro fisiológico à 0,9%).

Através da análise de variância, verificou-se que não houve alteração significativa na movimentação espontânea em camundongos que receberam sulfamerazina, naftil-azoderivado e soro fisiológico decorridos os prazos de 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. Após 1.440 minutos, notou-se uma variação entre o naftil-azoderivado e a sulfamerazina em relação ao soro fisiológico.

Submetidos os resultados obtidos, após 1.440 minutos da injeção, ao teste t de Student, notou-se uma significância a nível de 0,05 (Tabelas II e III).

Também foram observados os parâmetros de número de vezes que se limpavam e número de defecções, nos quais não se notou alterações significativas.

Experimento III (Condicionamento de ratos):

Esses animais foram estudados quanto ao tempo de subida na corda para encontrar alimentos (Tabela IV).

TABELA II

Dados originais obtidos após 1440 minutos de injeção intraperitoneal * do naftil-azoderivado (número de quadrados percorridos).

<i>Análise de variância</i> — Critério estatístico de significância — 5% de probabilidade				
F.V.	G1	SQ	QM	F
Tratamentos	2	3.312,67	1.656,335	9,51
Resíduo	24	4.178	174,08	
Total	26	7.490,67		
X = 24,55	C.V. = 69%		S = 16,97	
MÉDIAS:	<i>Soro fisiológico</i>	<i>Sulfamerazina</i>	<i>Naftil-azoderivado</i>	
	X = 9,7	X = 36,4	X = 27,4	

Conclusão: O naftil-azoderivado e a sulfamerazina diferem significativamente da solução fisiológica.

O naftil-azoderivado e a sulfamerazina não diferem significativamente. α para Sheffet — P crítico 5% = 2,60.

Animais	Soro fisiológico *	Sulfa-merazina *	Naftil-azoderivado *
1	10	29	6
2	2	32	49
3	3	20	26
4	14	25	22
5	2	44	27
6	25	38	49
7	19	68	23
8	10	28	7
9	3	44	38

Verificou-se que a sulfamerazina não ocasionou aparentemente, alterações comportamentais, fato demonstrado por uma diferença não significativa na média dos tempos obtidos nos quatro dias anteriores da administração da droga e após inoculação da mesma; e também pela não observação de qualquer manifestação diferente das notadas durante os de treinamento, como falta de iniciativa para subir na corda, parada durante o trajeto e outras.

Já em relação ao naftil-azoderivado, foram observadas grandes alterações comportamentais. No que concerne ao tempo de subida na corda, houve grande defazagem, visto que no último dia de treinamento a média do tempo de subida foi de 3,83 segundos e após a inoculação a média do tempo observada foi de 88,33 segundos. A maioria desses animais mostrou-se com

TABELA III

Dados originais obtidos após 1440 minutos de injeção intraperitoneal * (número de levantadas das patas dianteiras).

<i>Análise de variância</i> — Critério estatístico de significância — 5% de probabilidade				
F.V.	G1	SQ	QM	F
Tratamentos	2	1.220,08	610,04	5,6
Resíduo	24	2.585,78	107,74	
Total	26	3.805,86		
X = 13,92	V.V. = 86%		S = 12,09	
MÉDIAS:	<i>Soro fisiológico</i>	<i>Sulfamerazina</i>	<i>Naftil-azoderivado</i>	
	X = 5	X = 21,22	X = 15,57	

Conclusão: O naftil-azoderivado difere significativamente da solução fisiológica.

A sulfamerazina e a solução fisiológica não diferem entre si. α para Sheffet — P crítico 5% = 2,60.

Animais	Soro fisiológico *	Sulfa-merazina *	Naftil-azoderivado *
1	7	7	0
2	0	7	22
3	2	29	13
4	13	11	5
5	0	18	13
6	9	19	33
7	6	44	28
8	6	25	0
9	2	31	26

TABELA IV

Tempo de subida dos animais condicionados na corda. Os valores são as médias obtidas dos 10 animais de cada grupo.

Dias de treino	Soro fisiológico (segundos)	Sulfa-merazina (segundos)	Naftil-azoderivado (segundos)
8.º	7,62	4,71	4,50
9.º	5,52	4,11	4,22
10.º	7,59	4,56	4,89
11.º	5,04	3,93	3,83
Após a injeção	5,26	4,32	88,33

diminuição da iniciativa de subida na corda, muitos animais paravam durante o trajeto, outros subiam na corda e antes de alcançarem a plataforma voltavam à prancha.

Chegamos ao resultado que o naftil-azoderivado aumenta o tempo de subida na corda no nível de significância de 0,05 em relação ao soro fisiológico e à sulfamerazina. Entre a sulfamerazina e o soro fisiológico há um nível de diferença com significância de 0,05.

Discussão

A sulfamerazina apresenta uma série de efeitos colaterais que limitam o seu uso a casos em que há um diagnóstico exato.

Neste trabalho, objetivou-se analisar os efeitos do naftil-azoderivado sobre o sistema nervoso central, principalmente no que concerne ao comportamento aprendido e à mobilidade espontânea em animais de laboratório.

Esperávamos que o composto sintetizado apresentasse efeitos colaterais diminuídos em relação à substância original, fato este nem sempre verificado no presente experimento.

Notamos que após copulação da sulfa com o naftil, o produto apresentou uma atuação de diminuição da resposta aprendida em ratos no intervalo de tempo observado, levando a uma latência muito grande para a procura do alimento. Este fato não apresentou-se também com o uso da sulfamerazina comparando-se com a solução fisiológica.

Quanto à movimentação espontânea, em camundongos em espaços de tempo próximos à injeção do naftil-azoderivado, este não apresentou diferenças significativas em relação à sulfamerazina e a solução fisiológica. Fato importante é lembrar que houve diferença significativa entre as substâncias retrocitadas decorridos 1440 minutos da injeção. Acreditamos que nessa ocasião deve ter ocorrido a liberação da sulfa do gru-

pamento naftil, desencadeando então as respostas observadas.

O campo aberto, embora originalmente usado para defecação como expressão de timidez, é utilizado para outros parâmetros relacionados ou não com a emocionalidade. De um modo geral, notou-se que o naftil-azoderivado aumentou a atividade espontânea dos camundongos a ele submetidos, decorrido o prazo de 1440 minutos.

Esse fato corrobora com o obtido por Robertson⁽⁴⁾, que encontrou hiperatividade depois de tratamento com sulfonamidas.

A DL 50 do naftil-azoderivado para camundongos foi superior a 2000mg/kg/peso, bem diferente da obtida por Meyer F. P.⁽³⁾ que em camundongos obteve DL 50 da sulfamerazina de 1190 mg/kg/peso, indicando este fato que a toxicidade aguda da droga foi grandemente diminuída com a alteração estrutural efetuada.

Conclusão

1. O naftil-azoderivado levou a uma lentidão da resposta no comportamento aprendido.

2. A movimentação espontânea, decorrido o prazo de 24 horas, mostrou-se aumentada.

3. A emocionalidade dos animais foi pouco alterada após a administração da droga.

4. A DL 50 passou a ser superior a 2000mg/kg/peso, bem superior à DL 50 da sulfamerazina.

5. O naftil-azoderivado apresenta características de droga com atividade biológica boa, porém em alguns parâmetros não conseguiu diminuir ou abolir efeitos colaterais da sulfamerazina.

SUMMARY: In this study, the authors compared the actions of sulfamerazine naftilazoderivate and sulfamerazine itself on behavior.

It was observed that naftilazoderivate interferes with conditioned behavior, producing decreased responses on conditioned rats.

The observation of mice spontaneous moving in an open field showed an increase of moving with time and maximum effect was observed 24 hours after intraperitoneal administration.

The Lethal Dose 50 (LD 50) is higher for naftilazoderivate when compared to sulfamerazine, thus indicating less toxicity.

Previous studies showed similar antimicrobial action between naftilazoderivate and sulfamerazine.

KEY WORDS: Sulfamerazine naftilazoderivate; Acute toxicity; Spontaneous moving; Conditioned behavior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Korolkovas, A. — Síntese de novos naftil-azoderivados de sulfas com núcleo pirimidínico. *Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo* 6(1): 147-152, 1968.
2. Martin, Ew — *Remington's Pharmaceutical Sciences* — 13 ed, Pennsylvania, Mach Publishing Company, 1965.
3. Meyer, Fb & Oelzner, W — Substanz-und artspezifische Unterschiede in der akuten Toxizität einiger Sulfanilamide

für Maus und Ratte. *Acta Biol. Med. Germ.*, 27:141-148, 1971.

4. Robertson, Mb & Mashford, Ml — Hiperactivity after a Sulphonamide. *The Lancet* 1:350, March, 1974.
5. Spiegel, Mr — *Estatística*, pág. 276-304, Rio de Janeiro, Livro Técnico, 1969.
6. *The Merck Index*, New Jersey — 8. ed., pág. 995, 1968.
7. *Extra Pharmacopoeia Martindale* — 25 ed., pág. 1390-1391, 1967.