

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL GENOTÓXICO DE DERIVADOS FURILETILÉNICOS APLICANDO ENSAYOS *IN VITRO* E *IN VIVO*

Durante el proceso de desarrollo de fármacos para aplicación en medicina humana ocupa un papel relevante la evaluación toxicológica preclínica de los compuestos para establecer efectos adversos sobre la salud del ser humano. En las evaluaciones de seguridad es muy importante la evaluación del potencial genotóxico para predecir el riesgo de inducir daño en el material genético que puede conllevar a la inducción de cáncer.

En nuestro trabajo se aplicó la siguiente batería de ensayos *in vitro* e *in vivo* de genotoxicidad: ensayo *in vitro* de micronúcleos en linfocitos humanos, ensayo *in vitro* de intercambios entre cromátidas hermanas (SCE) en linfocitos humanos, ensayo *in vitro* de electroforesis en células aisladas o ensayo del cometa en células de mamíferos y el ensayo *in vivo* de micronúcleos en eritrocitos de médula ósea de ratón y los principales objetivos fueron:

- *Evaluar el potencial genotóxico de los derivados 2-furiletilénicos (G-0, G-1 y 2-βNF) mediante ensayos in vitro e in vivo.*
- *Aportar nuevos datos sobre la genotoxicidad en células eucariotas de los derivados del 2-furiletileno. Corroborar nuestros resultados con los obtenidos en el análisis estructura-actividad en estos derivados.*
- *Determinar la influencia del metabolismo sobre la genotoxicidad de estos derivados 2-furiletilénicos.*
- *Comparación del potencial genotóxico de los derivados 2-furiletilénicos estudiados con compuestos 5-nitrofuranos clásicos.*

Los principales resultados y conclusiones del estudio fueron:

1. Los derivados 2-furiletilénicos evaluados G-0, G-1 y 2-βNF no inducen un aumento significativo en la frecuencia de células binucleadas micronucleadas en los cultivos de linfocitos humanos, ni en presencia ni en ausencia de activación metabólica.
2. El G-0, G-1 y 2-βNF inducen un incremento estadísticamente significativo en la frecuencia de SCE en cultivos de linfocitos humanos *in vitro*. Se consideraron como agentes ligeramente genotóxicos, principalmente en los tratamientos sin activación metabólica.
3. La inducción de SCE se reduce hasta alcanzar valores no significativos estadísticamente o sin relevancia biológica cuando se evalúan los derivados con activación metabólica.
4. El G-0 y G-1 no inducen daño en el DNA en cultivos de células TK6 en ausencia de activación metabólica en el ensayo del cometa. El derivado 2-βNF se consideró ligeramente genotóxico en este ensayo en la concentración más alta evaluada.
5. Los compuestos 5-nitrofuranos clásicos evaluados inducen un claro efecto genotóxico en los cultivos de las células TK6 en el ensayo del cometa. Coincidiendo con resultados positivos obtenidos para estos compuestos en otros sistemas de ensayos.
6. Nuestros resultados confirman que los derivados 2-furiletilénicos estudiados que poseen el grupo nitro como sustituyente fuera del anillo furánico poseen menor actividad genotóxica

que los compuestos nitrofuranos que poseen el grupo nitro como sustituyente directo en el anillo furánico.

7. Los derivados G-0 y 2-βNF no inducen un aumento con significación ni biológica ni estadística en la frecuencia de eritrocitos policromáticos micronucleados en las células de la médula ósea de ratones en el estudio de micronúcleos *in vivo*.
8. Los resultados de los ensayos *in vitro* e *in vivo* demuestran la posible detoxificación que ejerce el metabolismo sobre la posible actividad genotóxica de estos derivados.
9. Los tres derivados G-0, G-1 y el 2-βNF inducen una elevada citotoxicidad en los cultivos de células de mamíferos *in vitro* principalmente en ausencia de activación metabólica. Los derivados inducen signos clínicos de toxicidad sistémica en los animales en el estudio de micronúcleos *in vivo*.
10. Nuestros resultados confirman que es posible encontrar para estos derivados un rango de concentraciones con efectos farmacológicos y los niveles de exposición no representen un riesgo genotóxico y podrían aplicarse en medicina humana y veterinaria.

EVALUATION OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF FURYLETHYLENE DERIVATIVES USING *IN VITRO* AND *IN VIVO* ASSAYS

During the drug development process for the application in human medicine the preclinical toxicological evaluation of compounds play a relevant role to establish the adverse effects on the human health. Among the safety evaluations is very important the evaluation of the genotoxic potential for the risk prediction to induce damage in the genetic material which can lead to the induction of cancer.

In our work was applied the following *in vitro* and *in vivo* battery of genotoxicity assays: *in vitro* micronucleus assays in human lymphocytes, *in vitro* sister-chromatid exchanges in human lymphocytes, *in vitro* single cell gel electrophoresis assay called Comet assay in mammalian cells and the *in vivo* micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes and the main objectives were:

- *To evaluate the genotoxic potential of the 2-furylethylene derivatives (G-0, G-1 and 2-βNF) using in vitro and in vivo assays.*
- *Provide further data concerning the genotoxicity in eukaryotic cells of the 2-furylethylene derivatives. Corroborate our results with those previously obtained in the structure-activity analysis on these derivatives.*
- *Determine the influence of metabolism on the genotoxicity of the 2-furylethylene derivatives.*
- *To compare the genotoxic potential of the 2-furylethylene derivatives evaluated with classical 5-nitrofurans compounds.*

The main conclusions and results of the study were:

1. The 2-furylethylene derivatives evaluated G-0, G-1 and 2-βNF not induces a significant increase in the frequency of micronucleated binucleated cells in the cultures of human lymphocytes, with or without metabolic activation.
2. The G-0, G-1 and 2-βNF induces a statistical significant increase in the frequency of SCE in cultures of human lymphocytes *in vitro*. Were considered slight genotoxic agents, mainly in the treatment without metabolic activation.
3. The induction of SCE was reduced up to no statistical significant values or without biological relevance when the derivatives are evaluated in presence of metabolic activation.
4. The G-0 and G-1 not induce DNA damage in the cultures of TK6 cells without metabolic activation in the Comet assay. The derivative 2-βNF was considered slight genotoxic in the assay at the highest concentration evaluated.
5. The classical 5-nitrofurans compounds evaluated induce a clear genotoxic effect in the cultures of TK6 cells in the Comet assay. There is coincidence with positive results obtained for these compounds in other system assays.
6. Our results confirm that the 2-furylethylene derivatives evaluated having the nitro group attached outside the furan ring have lower genotoxic activity compared with the nitrofurans with the nitro group directly attached to the furan ring.

7. The G-0 and 2-βNF derivatives not induce an increase with biological or statistical significance in the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes in the bone marrow cells of mice in the *in vivo* micronucleus study.
8. The results of the *in vitro* and *in vivo* assays demonstrate the possible detoxification of the metabolism on the possible genotoxic activity of these derivatives.
9. The three derivatives G-0, G-1 and 2-βNF induce high cytotoxicity in the cultures of mammalian cells *in vitro* mainly without metabolic activation. The derivatives induce clinical signs of systemic toxicity in the animals in the *in vivo* micronucleus study.
10. Our results confirm that is possible to find for these derivatives a concentrations range with pharmacologic effects and the exposure levels do not show a genotoxic risk and could have application in the veterinary and human medicine.