

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS PIRIDILTIAZÓIS

Millena Caroline da Silva Melo<sup>1</sup>; Teresinha Gonçalves da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Farmácia- CCS- UFPE; E-mail: millena\_hp@hotmail.com,

<sup>2</sup>Teresinha Gonçalves da Silva /pesquisador do Depto de Antibióticos – CCB – UFPE. E-mail:teresinha100@gmail.com.

**Sumário:** Derivados de benzo [d] isotiazol têm capacidade de inibir o crescimento de células em linhagens de células leucêmicas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos citotóxicos de novos derivados piridil-tiazol. A atividade citotóxica foi realizada frente às células tumorais NCI-H292, HEP-2 e MCF-7 e HL-60. A citotoxicidade das substâncias (PF01, PF02, PF03, PF04, PF05, PF06, PF07, PF08, PF09, PF10, PF11, PF12) foi avaliada pelo método do MTT. Para as substâncias que apresentaram uma inibição superior a 70% foi determinada  $CI_{50}$ . A morfologia da linhagem celular HL-60 foi avaliada pelo método de coloração (May-Grunwald-Giemsa). Todos os compostos testados apresentaram atividade citotóxica apenas frente às linhagens HL-60 com percentual de inibição acima de 70%. Os compostos PF01, PF03, PF05, PF10 E PF11 apresentaram valores de  $CI_{50}$  variando de 0,7 – 31,5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . A análise morfológica revelou que nos grupos tratados com PF03, PF05 e PF11, as células apresentaram morfologia consistente com o processo de apoptose. A doxorrubicina também apresentou todas as características de apoptose. Desta forma, os resultados obtidos indicam que alguns novos derivados piridil-tiazóis mostraram-se eficientes na inibição do crescimento celular, sobretudo em células leucêmicas.

**Palavras-chave:** Atividade anticâncer, piridil-tiazóis, apoptose, citotoxicidade.

### INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento celular descontrolado que invadem tecidos e órgãos normais. As neoplasias surgem devido a mutações genéticas espontâneas ou induzidas (ALMEIDA et al, 2005). A taxa de mortalidade por câncer vem crescendo nos últimos anos, sendo, portanto considerada um problema de saúde pública. Apesar da grande quantidade de fármacos já existente para o tratamento do câncer, a maioria apresenta graves efeitos colaterais, uma vez que, a maioria dos fármacos utilizados na quimioterapia apresentam uma elevada citotoxicidade em células normais e toxicidade em vários órgãos. Por isso, vários estudos visam a descobertas de novos compostos antitumorais mais seletivos e com uma baixa toxicidade. As propriedades anticâncer da tiossemicarbazona têm sido bastante investigadas. Os compostos  $\alpha$  (N) heterocíclicos carboxialdeido tiossemicarbazona, apresentam uma taxa de inibição da enzima ribonucleosídeo difosfato redutase(RDR) bastante efetiva em linhagens celulares de leucemia. Os tiazóis e seus derivados são classes de moléculas que apresentam diversas funções biológicas como atividade anticâncer (SOUZA et al., 2005). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi a triagem anticâncer preliminar de uma série de compostos derivados do núcleo piridiltiazol.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Os compostos foram fornecidos pelo Laboratório de Planejamento em Química Medicinal/DCF/UFPE, sob a coordenação da Prof<sup>ta</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Cristina Lima Leite. As

linhagens de células cancerígenas humanas, NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão), HL-60 (leucemia promielocítica), HEP-2 (carcinoma epidermóide de laringe), MCF-7 (câncer de mama), foram mantidas no Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Antibióticos – UFPE em estufa 37 °C, em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO<sub>2</sub>. A determinação do potencial de inibição foi realizada pelo método do MTT ([brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio. As células tumorais NCI-H292, HEP-2 e MCF-7 (10<sup>5</sup> células/mL) e HL-60 (0,3 x 10<sup>6</sup> células/mL) foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas por 24h. Em seguida as amostras dissolvidas em DMSO (1%) foram adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. A doxorrubicina (5 µg/mL) foi utilizada como padrão. Após 72 h de incubação, foi adicionado 25 µL de MTT e após 3 h de reincubação, o meio de cultura com o MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (560 nm). A CI<sub>50</sub>% foi determinada para as substâncias PF01, PF03, PF05, PF10 e PF11 (0,19 – 25 µg.mL) . Os experimentos foram realizados em quadruplicata. Para observar a morfologia celular, foram preparadas lâminas em citocentrífugas e coradas com May-Grunwald-Giemsa. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico e o registro das alterações celulares foi feito por fotografia.

## RESULTADOS

As estruturas químicas dos compostos utilizados neste estudo não podem ser divulgadas por serem substâncias inéditas. Todos os compostos testados apresentaram atividade citotóxica, principalmente frente à linhagem de leucemia HL-60 e K562 (Tabela 1)

**Tabela 1:** Efeito dos compostos piridil tiazol na inibição do crescimento celular em linhagens de células cancerígenas.

Compostos	Inibição do crescimento celular (%) 72 horas				
	NCI-H292	HEP-2	MCF-7	HL-60	K562
<b>PF-01</b>	63,6 ±0,7	55,3 ±0,9	46,8±1,1	<b>78,6±1,0</b>	90,0±1,0
<b>PF-02</b>	52,4 ±2,6	38,4±1,1	59,3±4,1	74,5±0,8	11,5±0,5
<b>PF-03</b>	57,7±0,5	56,7±0,8	37,7±2,7	<b>78,3±0,6</b>	71,5±5,4
<b>PF-04</b>	67,3 ±1,7	60,6±0,5	56,0±2,1	77,5±0,6	85,5±5,6
<b>PF-05</b>	60,6 ±3,1	61,7±0,9	24,6±0,3	<b>77,7±0,6</b>	94,6±1,4
<b>PF-06</b>	64,6 ±1,6	56,4±1,2	73,3±1,5	74,6±0,8	67,8±3,8
<b>PF-07</b>	57,2±1,1	53,5±0,8	56,8±1,7	76,1±0,7	34,5±1,4
<b>PF-08</b>	50,7 ±2,3	43,9±1,3	55,6±1,2	75,1±0,6	42,4±1,2
<b>PF-09</b>	35,2 ±3,1	60,8±0,4	46,9±3,9	73,3±1,1	24,8±1,4
<b>PF-10</b>	53,7 ±1,5	43,2±1,0	57,6±3,2	<b>74,1±0,3</b>	77,7 ±5,0
<b>PF-11</b>	67,2 ±1,2	54,9±1,8	25,6±0,5	<b>75,9±0,8</b>	90,8± 1,3
<b>DOX</b>	94,1 ± 2,0	79,4 ±2,6	74,8 ± 2,1	92,9 ±0,6	91,7 ± 1,4

Os dados são expressos em media percentual de inibição ±desvio padrão.

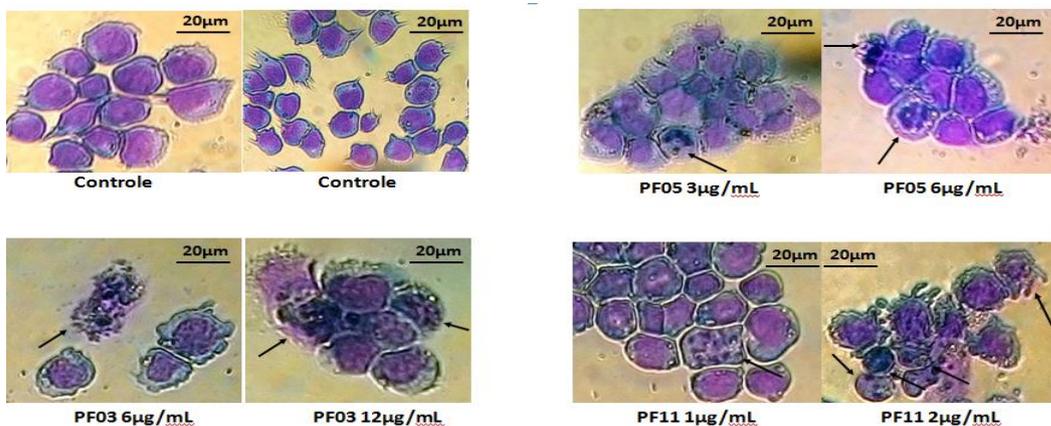
Os compostos que apresentaram inibição maior que 70% frente às duas linhagens de leucemia foram determinadas a CI<sub>50</sub> frente à HL-60(Tabela 2)

**Tabela 2:** valores de  $CI_{50}$  da linhagem HL-60 (concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular), ( $\mu\text{g/mL}$ ) e intervalo de confiança de 95%.

	72h	24h
	$CI_{50}(\mu\text{g.mL}^{-1})$ Intervalo de confiança	$CI_{50}(\mu\text{g.mL}^{-1})$ Intervalo de confiança
DOX	0,1 0,05 - 0,07	5,8 4,35 - 7,7
PF01	1,05 0,9 - 1,1	17,4 9,6 - 31,5
PF03	1,1 0,9 - 1,3	6,3 4,3 - 9,3
PF05	1,04 0,9 - 1,1	3,3 2,2 - 4,8
PF10	2,14 1,7 - 2,5	9,5 6,7 - 13,5
PF11	n.d.	1,0 0,7 - 1,3

n.d não determinada

**Coloração por May-Grunwald-Giemsa:** A análise microscópica revelou diversas alterações morfológicas induzidas pelas substâncias testadas. As células do grupo controle (não tratadas) exibiram uma morfologia típica de células não aderidas. Nos grupos tratados, as células apresentaram morfologia consistente com células em processo de apoptose assim como o grupo tratado com a doxorubicina (Figura 1)



**Figura 1:** avaliação morfológica de indução de morte celular causada pelos compostos. As setas mostram a indução de morte celular causada pela via apoptótica (corpos apoptóticos).

## DISCUSSÃO

Todos os compostos testados neste estudo apresentaram atividade citotóxica frente à linhagem tumoral HL-60, mas o PF11 foi o que teve uma melhor atividade mostrando-se bastante promissor e corroborando com achados anteriores que avaliaram a atividade anti-neoplásica de vários derivados piridina-2-carboxaldeído tiossemicarbazonas em camundongos portadores de leucemia L1210 (LIU, et al., 1992). Já a análise de alterações morfológicas permite uma confirmação dos resultados obtidos nos testes de viabilidade celular. Para que a célula esteja realmente sofrendo processo de apoptose é necessário que haja uma manutenção da integridade da membrana e que a célula esteja apresentando alguns tipos de alterações como, condensação da cromatina e fragmentação do núcleo

(MESQUITA, 2009). Nos poços tratados com PF03, PF05 e PF11 as análises mostram células em processo de apoptose.

### CONCLUSÕES

Os novos derivados piridil-tiazóis mostraram-se eficientes em destruir células cancerígenas, sobretudo células leucêmicas e a análise morfológica mostrou células com características de apoptose. Com base nestes resultados, os estudos posteriores serão realizados para confirmar e quantificar a morte por apoptose, bem como identificar as vias bioquímicas envolvidas.

### AGRADECIMENTOS

Ao programa CNPq/PIBIC e a CAPES pela bolsa de iniciação científica concedida.

### REFERÊNCIAS

ALMEIDA V.L.; LEITÃO A.; REINA L.C.B.; MONTANARI C.A.; DONNICI C.L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

LIU M.C.; LIN T.S.; SARTORELLI A.C. Synthesis and antitumor activity of amino derivatives of pyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 2, n. 35(20), p. 3672-7. 1992.

SOUZA M.V.N.; FERREIRA S.B.; MENDONÇA J.S.; COSTA M.; REBELLO F.R. Método de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v. 28, N. 1, p.77-84, 2005.