

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIPIROLIFERATIVO DE DERIVADOS DE QUINOLINAS EM LINHAGEM CELULAR DE CARCINOMA DE BEXIGA

IZADORA PETER FURTADO¹; MARIANA S. SONEGO^{2,3}; NATÁLIA V. SEGATTO¹; VICTORIA M. BORBA¹; DIEGO ALVES^{2,4}, FABIANA K. SEIXAS^{2,3}

¹*Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas – izapfurtado@gmail.com; naty_segatto@hotmail.com; victoriamborba2@hotmail.com*

²*Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, UFPel - marianassonego@gmail.com*

³*Grupo de Pesquisa em Oncologia Celular e Molecular – Laboratório de Biotecnologia do Câncer – seixas.fk@gmail.com*

⁴ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – LASOL- diego.alves@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O câncer de bexiga é a mais comum entre as malignidades que afetam o sistema urinário, com crescente incidência e mortalidade (JOHN et al., 2017). No Brasil, no ano de 2013, o número de mortes resultantes deste tipo de câncer foi de 3.642, sendo 2.542 referentes a homens e 1.099 à mulheres, além das estimativas terem ultrapassado 9.000 novos casos para o ano de 2016. (INCA, 2016). Dentre os principais fatores de risco se destacam o tabagismo e exposição a químicos, além do gênero, raça e idade serem determinantes na predisposição da doença (SIEGEL et al., 2013).

O carcinoma superficial de bexiga é a forma mais típica como este câncer se apresenta. Cerca de 75 a 80% dos tumores de bexiga são neoplasias superficiais, os quais caracterizam este subtipo por não invadirem as demais camadas do epitélio ou progredirem para metástase, porém possuem grande taxa de recidiva e grande propensão de evoluírem para músculo invasivo (SYLVESTER et al., 2005). A quimioterapia como abordagem terapêutica é amplamente utilizada, no entanto, o tempo prolongado de tratamento e as taxas de recorrência sugerem a busca por fármacos mais eficientes terapeuticamente (SIEGEL et al., 2013).

As quinolinas são compostos aromáticos heterocíclicos com dois anéis hexagonais fundidos em que, na posição do carbono 1, há substituição por um nitrogênio. Os derivados de quinolinas são atrativos por apresentarem diversas atividades biológicas, como antimicrobiana (VANGAPANDU et al., 2004), antioxidante (DOREY et al., 2005) e antitumoral (MONTENEGRO et al., 2011). Entre seus derivados, as cloroquinolinas (CQ) são de extrema relevância por apresentarem potencial de uso farmacêutico em diferentes tipos de câncer humano, principalmente pulmão e glioma (MONTENEGRO et al., 2011), além de mama triplo negativo (BEGNINI et al., 2017).

Nesse sentido, tendo em vista o potencial farmacoterapêutico das quinolinas e seus derivados, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito antiproliferativo e citotóxico em linhagem celular de carcinoma de bexiga humano (5637).

2. METODOLOGIA

2.1. Síntese das quinolinas

As quinolinas foram sintetizadas e disponibilizadas pelo grupo de pesquisa parceiro LASOL (Laboratório de Síntese Orgânica Limpa), pertencente a Universidade Federal de Pelotas. Neste estudo foram utilizadas: QTCA comercial, QTCA-1 (possui um radical metil como substituinte) e QTCA-4 (possui radical metil e um átomo de flúor).

2.2. Cultivo Celular

A linhagem celular de carcinoma de bexiga (5637), obtida através do Banco de Células do Rio de Janeiro (PABCAM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil), foi cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). As células foram mantidas em condições de cultivo controladas, a 37°C, 95% de umidade e 5% de CO₂.

2.3. Ensaio colorimétrico de MTT

Para avaliação de citotoxicidade das quinolinas, foi realizado o teste de MTT, o qual se baseia na redução do reagente brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio de coloração amarela, em cristais de formazan, de cor azul-púrpura, de acordo com a atividade metabólica das células viáveis. Neste ensaio os valores de absorbância determinam a porcentagem de células vivas, através de leitura a 492nm. Primeiramente, as células foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 2x10⁴ células por poço. Passadas 24h, as células receberam como tratamento as cloroquinolinas A (comercial), 1 e 4, nas concentrações 5, 10, 20, 40 e 80µM e incubadas por 24 e 48hrs. Como controle negativo foram utilizados poços contendo células sem receberem tratamento algum. E como controle do veículo, poços contendo meio e DMSO. A porcentagem de inibição do crescimento foi determinada através da fórmula: % de inibição = (1- Abs₄₉₂ células tratadas/Abs₄₉₂ células controles) x 100.

2.4. Análise dos dados

Foi utilizado software Statistix 8. ANOVA, seguido de teste Tukey para múltiplas comparações, em que foram comparados a inibição X tempo e inibição X concentração. P<0.05 foi considerado significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do potencial antiproliferativo e citotóxico mostrou que o efeito das cloroquinolinas é dose e tempo dependente, de forma que a concentração 80µM

obteve melhores resultados com os três compostos sintetizados no tempo de 48h (Figura 1). Os valores de IC_{50} referentes a QTCA não puderam ser calculados, devido a não demonstrar inibição do crescimento aproximada de 50%, enquanto que QTCA-1 e QTCA-4 apresentaram valores de 14 μ M e 17 μ M, respectivamente, ambos no maior tempo de exposição aos compostos. O tempo de 24 horas não demonstrou resultados significativos.

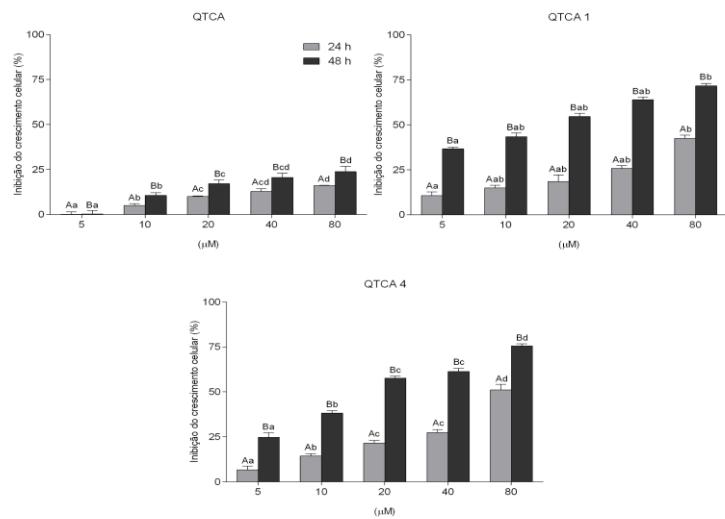


Figura 1: Efeito antiproliferativo das quinolinas frente à linhagem celular 5637 após exposição a cinco concentrações diferentes nos intervalos de 24 e 48h. Letras maiúsculas representam a diferença entre o tempo e letras minúsculas a diferença entre as concentrações. Valores de $P<0.05$ foram considerados significativos.

Os resultados observados utilizando as quinolinas demonstram relação com a literatura, a qual faz referência a utilização de compostos heterocíclicos contendo nitrogênio na síntese orgânica de novos fármacos. Estes compostos vêm sendo empregados e exibindo potencial promissor por apresentarem e favorecerem a ligação de alvos biomoleculares (AGALAVE et al, 2011). De forma similar a este trabalho, os resultados observados com os mesmos compostos em linhagem de câncer de mama triplo negativo em artigo publicado no início do ano, apresentam grande semelhança, demonstrando que as concentrações de IC_{50} e tempo foram aproximados aos apresentados aqui (BEGNINI et al., 2017). Além disso, estudos recentes elaborados com as quinolinas mostraram atividade emprevenção de formação de metástase e migração celular em modelos animais (BOUCHARD et al, 2016).

4. CONCLUSÕES

Tendo em vista os dados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que as quinolinas são interessantes compostos que demonstraram efeito antiproliferativo

frente linhagem celular 5637 de carcinoma de bexiga, podendo ser uma alternativa terapêutica contra o câncer futuramente. Além disso, novos estudos nesta área são de extrema relevância para busca de fármacos mais seletivos e eficientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGALAVE, S. R; MAUJAN, V.S. Pore, Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores, **Chem. Asian J.** 6 (2011)
- BEGNINI, K R; DUARTE, W. R.; SILVA, L. P; BUSS, J. H.; GOLDANI, B. S; FRONZA, M; SEGATTO, N. V; ALVES, D; SAVEGNAGO, L; SEIXAS, F. K; COLLARES, T. Apoptosis induction by 7-chloroquinoline-1,2,3-triazoyl carboxamides in triple negative breast cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy.** 2017
- BOUCHARD, G.; THERRIAULT, H; GEHA, S; BÉRUBÉ-LAUZIÉRE, R; BUJOLD, C; SAUCIER, B. PAQUETTE. Stimulation of triple negative breast cancer cell migration and metastases formation is prevented by chloroquine in a pre-irradiated mouse model, **BMC Cancer** 16 (2016)
- DOREY, G; LOCKHART, P; LESTAGE, P; CASARA. New quinolinic derivatives as centrally active antioxidants, **Bioorgan. Med. Chem.** 2005
- INCA – Estimativa 2016, Incidência de Câncer no Brasil. Acessado em 27 de setembro de 2017. Disponível em <http://www.inca.gov.br/>
- JOHN, B; SAID, N. Insights from animal models of bladder cancer: recent advances, challenges, and opportunities. **Oncotarget.** v.8, n.34, pp: 57766-57781, 2017
- MONTENEGRO, R.C; LOTUFO, L.V; MORAES, M.O; PESSOA, C.O; RODRIGUES, F.A.R; M.L.F; BISPO, CARDOSO, L.N.F; KAISER, C.R; SOUZA, M.V.N. Synthesis and antitumoral evaluation of 7-chloro-4-quinolinylhydrazones derivatives. **Med.Chem.** (ShaÓriqah (United Arab Emirates)) 7 (2011)
- SIEGEL, R.; NAISHADHAM, D; JEMAL, A. Cancer statistics, 2015. **Ca Cancer J. Clin.**, Hodoboken, v. 63, p. 11–30, 2015.
- SYLVESTER, R.J.; VAN DER MEIJDEN, A.; WITJES, J.A.; JAKSE, G.; NONOMURA, N.; CHENG, C.; TORRES, A.; WATSON, R.; KURTH, K.H. High-grade Ta urothelial carcinoma and carcinoma in situ of the bladder. **Urology, Cleveland**, v. 66, p. 90-107, 2005.
- VANGAPANDU, S; JAIN, M; JAIN, R; JAIN, S; KAUR, P; SINGH, P. Ring-substituted quinolines as potential anti-tuberculosis agents. **Bioorgan. Med. Chem.** 12 (2004)
- SIEGEL, R.; NAISHADHAM, D; JEMAL, A. Cancer statistics, 2015. **Ca Cancer J. Clin.**, Hodoboken, v. 63, p. 11–30, 2015.