

## POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO DE AZIDA DE $\beta$ -ARILCALCOGÊNIO CONTENDO SELÊNIO SOBRE O CRESCIMENTO DE CÉLULAS DE CARCINOMA DE BEXIGA

JULIETI HUCH BUSS<sup>1</sup>; MARTHA RUIZ BENINTEZ<sup>2</sup>; IZADORA PETER FURTADO<sup>2</sup>; VICTORIA MASCARENHAS BORBA<sup>2</sup>; OSCAR E.D. RODRIGUES<sup>3</sup>; FABIANA KÖMMLING SEIXAS<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – Graduação em Biotecnologia - [julietibuss@hotmail.com](mailto:julietibuss@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – Laboratório de Biotecnologia do Câncer

<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Maria - LabSelen-NanoBio - Departamento de Química

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – Laboratório de Biotecnologia do Câncer – [seixas.f@gmail.com](mailto:seixas.f@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O câncer de bexiga é o quarto tipo de tumor mais comum em homens e o décimo primeiro mais comum em mulheres, sendo responsável por aproximadamente 5% de todas as mortes ocorridas por câncer (Simons, et al., 2007). Além disso, no ano de 2016, foi responsável, no Brasil, por aproximadamente 7.200 casos em homens e 2.470 casos em mulheres no Brasil (INCA, 2016).

De acordo com as altas taxas de recorrência, relatadas em aproximadamente 70% dos pacientes, e o extenso período de tratamento, o câncer de bexiga representa o tratamento neoplásico de maior custo econômico para a saúde pública (Siegel et al., 2013).

Dessa maneira, o desenvolvimento de novos compostos economicamente viáveis e que apresentem significativo potencial antineoplásico, constitui um dos maiores desafios da terapêutica para tumores de bexiga (Begnini et al., 2013).

Nesse sentido, desde a descoberta de suas importantes propriedades biológicas (Klayman et al., 1973), compostos organocalcogênicos tem sido o foco de diversos estudos. Dentre elas, podemos destacar as atividades antitumorais e antioxidantes demonstradas por esses compostos (Rosa et al., 2017), que atualmente têm sido amplamente explorada. Nesse contexto, diferentes moléculas contendo núcleo calcogênio demonstraram aumentar sua resposta biológica (Alcolea et al., 2016) (Rosa et al., 2017) (Vieira et al., 2015).

Da mesma forma, azidas orgânicas receberam atenção considerável no século passado. A síntese de compostos derivados de chalcogenozidovudina, que contém um grupo de azida, foi recentemente demonstrada em um estudo mostrando significativas propriedades antioxidantes e antitumorais (Souza et al., 2015).

Dessa maneira, o objetivo do presente estudo foi de avaliar a atividade antiproliferativa de derivados de aminoácidos contendo calcogênio (*azida de  $\beta$ -arilcalcogênio contendo selênio*) sobre o crescimento de células de carcinoma de bexiga linhagem 5637.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Cultivo Celular

As células de carcinoma de bexiga, linhagem 5637, de grau II de diferenciação, foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (PABCAM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e cultivadas em meio DMEM suplementadas com 10% de soro fetal bovino (FBS).

As células foram mantidas à 37°C em estufa umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Os experimentos foram realizados em triplicada e com as células em fase logarítmica de crescimento.

## 2.2. Ensaio antiproliferativo

A capacidade antiproliferativa dos compostos organocalcogênicos derivados de aminoácidos foi avaliada através do ensaio colorimétrico de MTT. O ensaio colorimétrico de MTT é um teste de triagem que avalia a atividade metabólica das células através da redução do reagente brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio.

Dessa maneira, células viáveis reduzem metabolicamente o sal de MTT, formando os cristais de formazan de coloração azul-púrpura, que se acumulam no interior do citoplasma das células.

Para a realização deste ensaio, as células foram semeadas a uma densidade de  $2 \cdot 10^4$  células por poço em placas de 96 poços, contendo 100 µL de meio + 10% de FBS em cada poço. Após 24 horas sob atmosfera controlada, a morfologia celular foi avaliada em microscópio e foram testadas as seguintes concentrações dos compostos **3b** e **3g**: 0,1; 1; 2,5; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µM durante 48h de tratamento. Os compostos derivados de aminoácidos utilizados foram diluídos em alíquotas de DMSO, em concentrações de DMSO previamente calculadas para no máximo 1% de DMSO por poço. Assim, na mesma placa foram realizados controles negativos contendo somente meio DMEM + 10% de SFB e controle de DMSO, na máxima concentração dos compostos testados.

Através de leitura de densidade óptica à 492nm, as diferenças nos valores de absorbância determinaram a porcentagem de células vivas. A inibição do crescimento celular foi determinada da seguinte forma: Inibição do Crescimento =  $(1 - \text{Abs}_{492\text{células tratadas}} / \text{Abs}_{492\text{controle de células}}) \times 100\%$ .

## 2.3. Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados através de two-way ANOVA, seguido por teste de Tukey para comparações múltiplas. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados significantes nas análises. Os dados foram expressos como média  $\pm$  SEM.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do ensaio antiproliferativo demonstram o potencial inibitório de ambos os compostos **3b** e **3g** de azida de  $\beta$ -arilcalcogênio contendo selênio sobre o crescimento de células de carcinoma de bexiga.

De acordo com os valores de IC<sub>50</sub> obtidos (Tabela 1), podemos observar que os compostos derivados de aminoácidos contendo selênio como átomo calcogênio **3b** e **3g** demonstraram atividade antiproliferativa *in vitro*, demonstrando valores de IC<sub>50</sub> de  $43,6 \pm 0,59$  e  $68,35 \pm 0,54$ , respectivamente.

Composto	IC <sub>50</sub> (µM)
<b>3b</b>	$43,6 \pm 17,47$
<b>3g</b>	$68,35 \pm 54,18$

**Tabela 1:** IC<sub>50</sub> dos compostos **3b** e **3g** após 48h de exposição sobre o crescimento de células de carcinoma de bexiga – 5637.

De acordo com a literatura, diferentes compostos orgânicos contendo calcogênios em sua estrutura são descritos por apresentarem atividade antitumoral frente a células de carcinoma de bexiga (Souza et al., 2015; Rosa et al., 2017). Além disso, os compostos de azida de  $\beta$ -arilcalcogênio foram capazes de reduzir a viabilidade de células de adenocarcinoma de pulmão (A549), induzir a apoptose e parada de ciclo celular, ocasionada pelo aumento do número de células de adenocarcinoma pulmonar na fase G2/M do ciclo celular (Tabarelli et al., 2017).

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que os compostos derivados de aminoácidos contendo selênio demonstraram atividade antiproliferativa sobre o crescimento das células de carcinoma de bexiga. Entretanto, o efeito inibitório demonstrado foi significativamente maior em doses superiores de tratamento.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCOLEA, V. PLANO, D. ENCÍO, I. PALOP, J.A. SHARMA, A.K. SANMARTÍN, C. Chalcogen containing heterocyclic scaffolds: New hybrids with antitumoral activity. **Eur. J. Med. Chem**, v. 123, p.407–18, 2016.

BEGINI, K.R. LEON, P.M.M. RODRIGUES, F. THUROW, H.S. HENRIQUES, J.A.P. SEIXAS, F.K. Potencial antitumoral e apoptótico da própolis vermelha em células de carcinoma de bexiga. In: XV **ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**, Pelotas, 2013.

KLAYMAN, D.L. GUNTHER, W. H. H. Organoselenium Compounds: Their Chemistry and Biology, Wiley-Interscience, New York, 1973.

ROSA, R.M. PICCOLI, B.C. SILVA, F.D.A. DORNELLES, L. ROCHA, J.B.T. SONEGO, M.S. BEGINI, K.R. COLLARES, T. SEIXAS, F.K. RODRIGUES, O. E. D. Synthesis, antioxidant and antitumoral activities of 5'-arylchalcogeno-3-aminothymidine (ACAT) derivatives. **Med. Chem. Commun**, v.8, p.408–414, 2017.

SIEGEL, R. NAISHADHAM, D. Jemal, A. (2013) Cancer statistics. **CA Cancer J Clin**, v.63, p.11-30, 2013.

SIMONS, M.P.; NAUSEEF, W.M.; GRIFFITH, T.S. Neutrophils and TRAIL: insights into BCG immunotherapy for bladder cancer. **Immunol.Res**, v. 39, p. 79-93, 2007.

SOUZA, D. MARIANO, D.O.C. NEDEL, F. SCHULTZE, E. CAMPOS, V.F. SEIXAS, F. SILVA, R.F. MUNCHEN, T.S. ILHA, V. DORNELLES, L. BRAGA, A.L. ROCHA, J.B.T. COLLARES, T. RODRIGUES, O.E.D. New Organochalcogen Multitarget Drug: Synthesis and Antioxidant and Antitumoral Activities of Chalcogenozidovudine Derivatives. **J. Med. Chem**, v.58, n.8, p.3329–3339, 2015.



TABARELLI, G. DORNELLES, L. IGLESIAS, B.A. GONÇALVES, D.F. STEFANELLO, S.T. SOARES, F.A.A. PICCOLI, B.C. Silva, F.D.A. ROCHA, J.B.T. SCHULTZE, E. BENDER, C.B. COLLARES, T. SEIXAS, F.K. PETERLE, M.M. BRAGA, A. RODRIGUES, O.E.D. Synthesis and Antitumoral Lung Carcinoma A549 and Antioxidant Activity Assays Of New Chiral b-Aryl-Chalcogenium Azide Compounds **Chemistry Select**, v.2, p.8423 – 8430, 2017.

VIEIRA, A. A. BRANDAO, I. R. VALENCA, W. O. SIMONE, C. A. CAVALCANTI, B. C. PESSOA, C. **Eur. J. Med. Chem**, v.101, p.254–65, 2015.