

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE CHALCONAS DERIVADAS DO CINAMALDEÍDO EM LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE BEXIGA HUMANO

VICTORIA MASCARENHAS BORBA¹; ROSIANE MASTELARI MARTINS¹;
JULIETI HUCH BUSS¹; NATÁLIA VIEIRA SEGATTO¹; CLAUDIO M. PEREIRA²;
FABIANA KÖMMLING SEIXAS^{1,2}

¹Grupo de Pesquisa em Oncologia Celular e Molecular (GPO) – Laboratório de Biotecnologia do Câncer, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – victoriamborba2@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – seixas.fk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública mundial e é a segunda maior causa de morte os Estados Unidos (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2017). No Brasil, para o ano de 2016, foi estimado 7.200 casos novos de câncer de bexiga em homens e 2.470 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco aproximado de 7,26 casos novos a cada 100 mil homens e 2,39 para cada 100 mil mulheres (INCA, 2016).

Grande parte dos cânceres uroteliais - aproximadamente 70% - apresentam-se como câncer de bexiga não músculo-invasivo (CBNMI) (WITJES; HENDRICKSEN, 2007). Geralmente, esse tipo de câncer é tratado através de ressecção transuretral após quimioterapia intravesical ou imunoterapia, mas a taxa de recorrência permanece elevada, e em alguns casos, podem progredir para um grau superior (RHIJN et al., 2009).

Chalconas (1,3-diaryl-2-propen-1-onas) são moléculas α,β -insaturadas com um anel aromático ligado a carbonila e outro ligado a instauração (Figura 1). (RITTER; MARTINS; SILVANA A. ROSA, JULIANA L. MALAVOLTA, RAFAEL G. LUND, 2015).

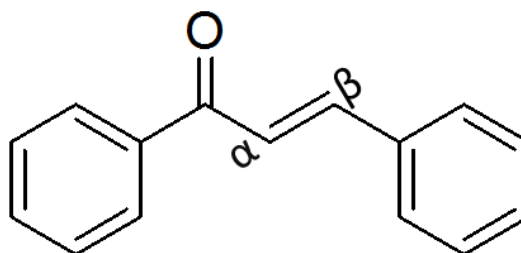


Figura 1 – Estrutura básica das chalconas.

Estas moléculas são encontradas em produtos naturais ou podem ser obtidas através de processos sintéticos. A literatura tem reportado importantes atividades biológicas em chalconas e seus derivados diversamente substituídos, como anticâncer, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, entre outras (VASCONCELOS et al., 2013; RITTER et al., 2015).

Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado à busca de novos compostos com potencial antitumoral e estratégias terapêuticas *in vitro* para tratamento de diferentes tipos de câncer (VASCONCELOS et al., 2013;

BEGNINI et al., 2014; SCHULTZE et al., 2014). Com o propósito de dar seguimento às pesquisas do grupo nessa área, e considerando-se o potencial farmacoterapêutico que diferentes chalconas e seus derivados apresentam frente a diversas linhagens tumorais, o objetivo do presente trabalho foi sintetizar uma classe de chalconas e avaliar o potencial citotóxico dessas moléculas em células de câncer de bexiga humano (linhagem 5637).

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese das Chalconas

As chalconas foram sintetizadas a partir do cinamaldeído, de acordo com metodologia previamente reportada pelo nosso grupo de pesquisa (VASCONCELOS et al., 2013). Após o processo de síntese das chalconas, a confirmação das mesmas foi realizada através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

2.2 Linhagem Celular

A linhagem celular de câncer de bexiga humano (5637) foi obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (PABCAM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e cultivada em meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), obtido da (Vitrocell Embriolife - Campinas, Brasil), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Gibco - Grand Island, NY, USA). As células foram mantidas em atmosfera controlada com 37°C CO₂ e 95% de umidade. Os experimentos foram realizados com as células em fase logarítmica de crescimento.

2.3 Determinação da Citotoxicidade - Ensaio de redução do MTT

O potencial citotóxico das chalconas foi avaliado através do ensaio colorimétrico de MTT (3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). Nesse ensaio, o sal de MTT, de coloração amarela, é reduzido a cristais de formazan de cor azul-púrpura pelas células viáveis. As células foram tratadas com 4, 8, 16, 32 e 64µM das diferentes chalconas e a citotoxicidade foi avaliada após 24 e 48 horas de exposição aos tratamentos. Como controle negativo foram utilizados poços com células sem tratamento. A porcentagem de inibição do crescimento foi determinada através da fórmula: % de inibição = $(1 - \frac{\text{Abs}_{492} \text{ células tratadas}}{\text{Abs}_{492} \text{ células controles}}) \times 100$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A literatura contém muitos relatos que demonstram que as chalconas possuem atividades antitumorais entre várias propriedades biológicas interessantes (LIN et al., 2002; NOWAKOWSKA et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2013; RITTER et al., 2015). Os resultados do ensaio de citotoxicidade demonstraram alto potencial antitumoral das chalconas sintetizadas. Conforme demonstrado na figura 3, o efeito inibitório demonstrado foi dose e tempo dependente para as moléculas testadas.

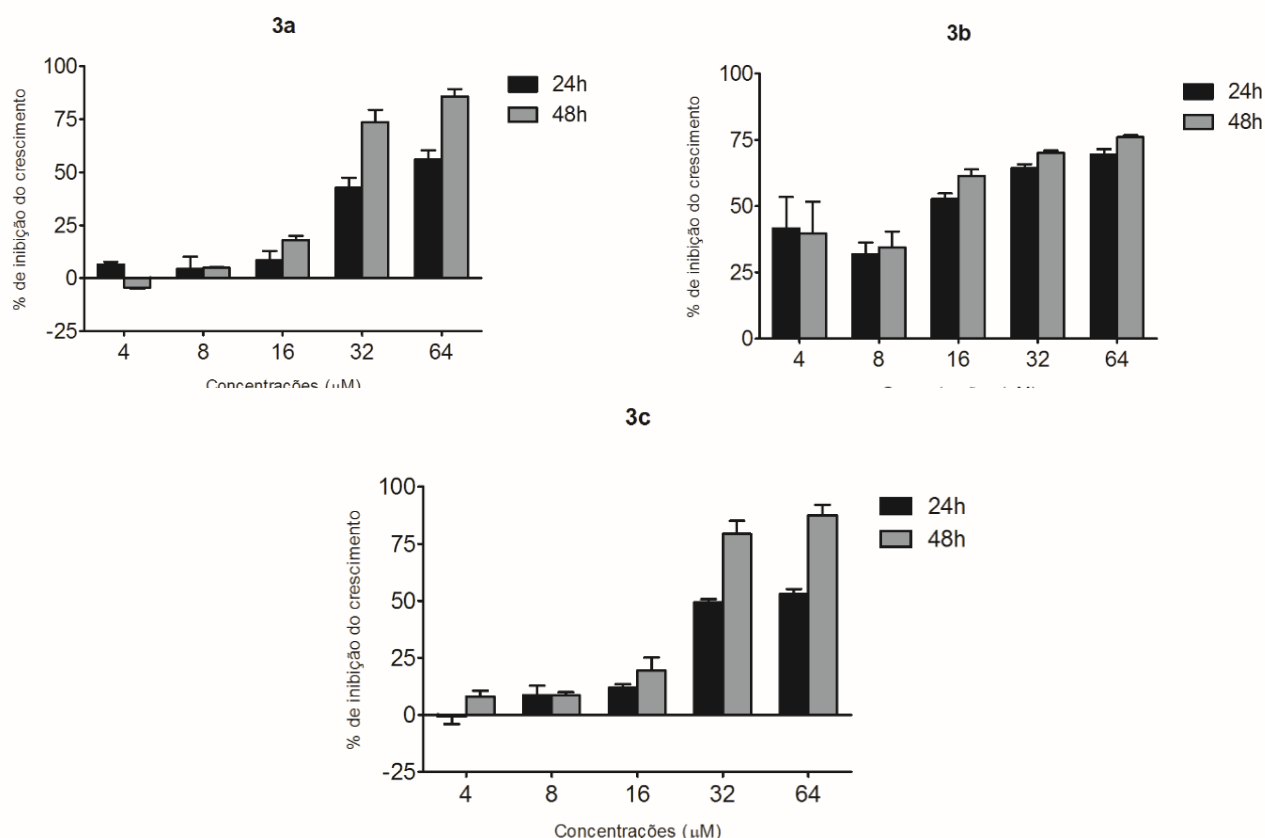


Figura 2 – Porcentagem de inibição do crescimento das células 5637 após 24 e 48h de exposição à 4-64μM das diferentes chalconas **3a**, **3b** e **3c**. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos e os dados foram expressos como média \pm EPM.

Mizuno et al. (2010) demonstraram que chalconas com grupos retiradores de elétrons no anel benzênico, como átomos de halogênio, hidroxila ou nitro, tinham as maiores atividades inibitórias contra células de carcinoma do cólon. Nossos resultados estão de acordo com esse relato, uma vez que as chalconas com substituintes retiradores de elétrons, como **3c**, também demonstrou maior efeito citotóxico. Em estudo prévio, nosso grupo também relatou citotóxico e apoptótico de chalconas em células de adenocarcinoma de cólon humano (VASCONCELOS et al., 2013).

De acordo com a literatura, a atividade anticâncer das chalconas está relacionada à alteração de genes apoptóticos, alterações mitocondriais, alterações no metabolismo, alterações no processo de divisão celular e expressão de proteínas (DE VASCONCELOS et al., 2013; FOGAÇA et al., 2017; JEON et al., 2016; KETABFOROOSH et al., 2014). Nesse contexto, pode-se concluir que chalconas representam uma classe importante e promissora para a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes farmacoterapêuticos. Nossos resultados indicam que as chalconas **3a-c** podem representar uma potencial ferramenta terapêutica nessa área.

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos neste estudo, as chalconas derivadas do cinamaldeído sintetizadas apresentaram significativo efeito antiproliferativo frente à linhagem de células de câncer de bexiga humano (5637) *in vitro*.

Apesar de ser um estudo inicial, os resultados apresentados demonstram que podemos concluir que as chalconas estudadas podem representar uma fonte potencial de agentes terapêuticos para o câncer de bexiga. Sendo assim, mais pesquisas devem ser conduzidas para explorar o potencial bioativo dessas moléculas, com o objetivo de garantir a sua aplicação como potenciais ferramentas terapêuticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEGNINI, K. et al. Brazilian red propolis induces apoptosis-like cell death and decreases migration potential in bladder cancer cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.
- INCA, Instituto Nacional do Câncer 2016. Acessado em 15 set. 2017. Online. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>.
- LIN, Yuh-Meei et al. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 10, n. 8, p. 2795-2802, 2002.
- NOWAKOWSKA, Zdzisława. A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 125-137, 2007.
- RHIJN, B. W. G. VAN et al. Recurrence and Progression of Disease in Non – Muscle-Invasive Bladder Cancer: From Epidemiology to Treatment Strategy. v. 56, p. 430–442, 2009.
- RITTER, M.; MARTINS, R. M.; ROSA, S. A.; MALAVOLTA, J. L.; LUND, R. G.; FLORES, A. F.; PEREIRA, C. M. Green Synthesis of Chalcones and Microbiological Evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1201-1210, 2015.
- SCHULTZE, E. et al. Encapsulation in lipid-core nanocapsules overcomes lung cancer cell resistance to tretinoin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 87, n. 1, p. 55-63, 2014.
- SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. **Cancer Statistics** , 2017. v. 67, n. 1, p. 7–30, 2017.
- VASCONCELOS A.; CAMPOS V. F.; NEDEL F.; SEIXAS F. K.; DELLAGOSTIN O. A.; SMITH K. R.; DE PEREIRA C. M.; STEFANELLO F. M.; COLLARES T.; BARSCHAK A. G. Cytotoxic and apoptotic effects of chalcone derivatives of 2-acetyl thiophene on human colon adenocarcinoma cells. **Cell biochemistry and function**, v. 31, n. 4, p. 289-297, 2013.
- WITJES, J. A.; HENDRICKSEN, K. Intravesical Pharmacotherapy for Non – Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Critical Analysis of Currently Available Drugs, Treatment Schedules , and Long-Term Results. 2007.