

SÍNTESE DE DERIVADOS DA 2,4-TIAZOLIDINEDIONA COM POSSÍVEL ATIVIDADE ANTITUMORAL

LARISSA RIBEIRO DE MOURA¹; ALANA VASCONCELOS²; FRANCIELI MORO STEFANELLO², NATÁLIA PONTES BONA², NATHALIA STARK PEDRA², WILSON JOÃO CUNICO FILHO³

¹Universidade Federal de Pelotas – llaariss638@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas –
alanabdv@hotmail.com, fmstefanello@gmail.com, nataliapbona@gmail.com,
nathaliastark@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – wjcunico@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

As 2,4-tiazolidinedionas (TZDs) são compostos heterocíclicos de cincomembros que compreendem três átomos de carbono, dois de oxigênio, um de hidrogênio, um de nitrogênio e um de enxofre (Figura 1).

Os derivados da TZD estão sendo estudados para várias atividades biológicas importantes, como por exemplo, a atividade antitumoral (VERMA et. al., 2008). Estudos *in vitro* demonstram que as TZDs são citotóxicas para diferentes linhagens celulares de glioma (REGO et. al., 2014; PENG et. al., 2012).

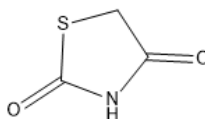


Figura 1. Anel da 2,4-tiazolidinediona

O glioma é um dos tumores cerebrais primários mais comuns (FERLAY, J. et al., 2010), originalmente derivado de células progenitoras ou tronco neuroglial, menos de 3% dos pacientes com glioma sobrevivem mais de cinco anos após o diagnóstico (OHGAKI H, KLEIHUES P, 2005). O tratamento do glioma envolve remoção cirúrgica, radiação e quimioterapia, o que afeta profundamente a qualidade de vida dos pacientes (WELLER, 2015). O agente quimioterápico usado atualmente é a temozolomida (TMZ), um agente alquilante que induz dano ao DNA levando à morte celular (E.F. SILVEIRA. et. al., 2013; NEWLANDS, 1997).

De acordo com o que foi descrito, os derivados da TDZ possuem vasta importância biológica. Deste modo o objetivo desse trabalho é sintetizar dezessete derivados da 2,4-tiazolidinediona e testar a citotoxicidade *in vitro* em linhagem celulares de glioblastoma (C6) de ratos.

2. METODOLOGIA

2.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS.

Em um tubo de micro-ondas de 35 mL, foi adicionado 9mL do solvente dimetilformamida (DMF), 3 mmol de 2,4-tiazolidinediona, 4,2 mmol de benzaldeído substituído, 4,2 mmol de cloreto de benzila substituído e 6 mmol da base trietilamina. A reação ocorreu em uma temperatura de 120 °C, por um período de 40 minutos em micro-ondas (Discover CEM 300 W). Em seguida, em um funil de separação, a mistura reacional foi lavada com água destilada (H₂O 2x50 mL) e a fase aquosa foi extraída com acetato de etila (2x50 mL). A fase orgânica foi lavada com cloreto de sódio saturado (NaCl 1x50 mL), seca com

sulfato de magnésio (MgSO_4) e filtrada, o solvente remanescente foi retirado no evaporador rotativo. A purificação foi feita através da recristalização em álcool etílico PA (50 mL).

2.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE.

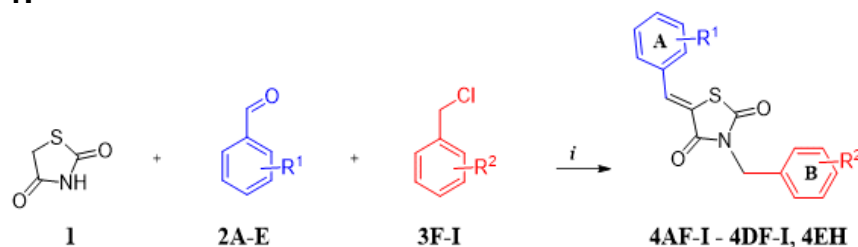
A linhagem de glioblastoma C6 foi cultivada em meio DMEM e suplementada com 10% de soro fetal bovino e mantidas sob condições padrão de cultivo celular. Posteriormente as células foram semeadas em placas de 96 poços (5×10^3 células) e expostas as dezessete TZDs (**4AF-I** - **4DF-I**, **4EH**) na concentração de 100 μM durante o tempo de 72 h. Células expostas ao DMSO (0,05%) foram consideradas como controle. Após a exposição às TZDs, a viabilidade celular foi determinada através do método do MTT.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 QUÍMICA.

Os 17 derivados da 2,4-tiazolidinediona foram sintetizados por procedimento multicomponente *one-pot*. A metodologia utilizada foi baseada no trabalho descrito por RADL et al., (2010). A síntese foi realizada através da reação de Knoevenagel, a qual ocorre entre os reagentes **1** e **2**, e da reação de *N*-alquilação, que ocorre entre os reagentes **1** e **3**, em meio básico (Esquema 1). As análises por cromatografia de camada delgada (CCD) foram utilizadas para o monitoramento das reações sendo os compostos identificados e caracterizados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS) e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H RMN) e carbono (^{13}C RMN), confirmando a formação dos produtos **4AF-I-4DF-I, 4EH** com rendimentos variando de 12-49% (Tabela 1).

Esquema 1.



$i = \text{MW}; 40 \text{ min}; \text{DMF}; \text{Et}_3\text{N}$

$\text{R}^1 = \begin{matrix} \text{A} & \text{B} & \text{C} & \text{D} & \text{E} \\ 4\text{-Cl} & 4\text{-F} & 4\text{-OCH}_3 & 4\text{-H} & 4\text{-Br} \end{matrix}$

$\text{R}^2 = \begin{matrix} \text{F} & \text{G} & \text{H} & \text{I} \\ 3\text{-Cl} & 4\text{-Cl} & 4\text{-OCH}_3 & 4\text{-F} \end{matrix}$

Tabela 1. Substituintes dos derivados e rendimentos obtidos.

Código	R ¹	R ²	Rend. (%)	Código	R ¹	R ²	Rend. (%)
4AF	4-Cl	3-Cl	38	4CF	4-OCH ₃	3-Cl	42
4AG	4-Cl	4-Cl	38	4CG	4-OCH ₃	4-Cl	24
4AH	4-Cl	4-OCH ₃	26	4CI	4-OCH ₃	4-OCH ₃	12
4AI	4-Cl	4-F	31	4CH	4-OCH ₃	4-F	49
4BF	4-F	3-Cl	12	4DF	4-H	3-Cl	39
4BG	4-F	4-Cl	20	4DG	4-H	4-Cl	27
4BH	4-F	4-OCH ₃	16	4DH	4-H	4-OCH ₃	13
4BI	4-F	4-F	38	4DI	4-H	4-F	33
				4EH	Br	4-OCH ₃	23

Através do CG/MS foi verificado alta pureza, o íon molecular, pico base e demais fragmentos. Com relação ao pico base foram obtidos dois padrões quanto à fragmentação conforme, a Figura 2.

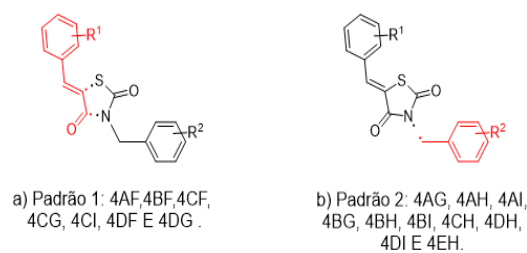


Figura 2. Fragmentos resultantes da quebra das moléculas no CG/MS

3.2 BIOLOGICA.

Foi realizada a análise da citotoxicidade dos compostos nas linhagens celulares de glioblastoma de rato (C6). Todas as TZDs foram significativamente mais citotóxicas que o controle, **4CI** e **4DI** obtiveram os melhores resultados (figura 4). Esses dois compostos têm o átomo de flúor na posição *para* do anel B.

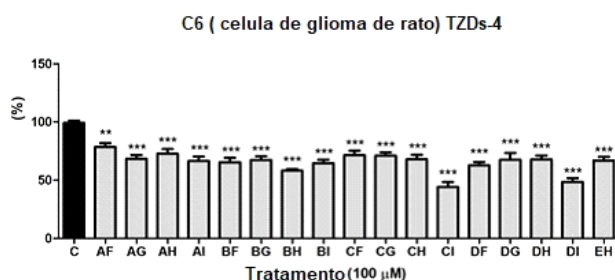


Figura 3. Efeito antitumoral das TZDs em células de glioblastoma de ratos C6. O eixo y refere-se a viabilidade celular (%). A análise estatística foi realizada no software GraphPadPrism 5. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (MEV) e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste post hoc de Tukey para comparações múltiplas. As diferenças entre os valores médios foram consideradas significativas quando ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$.

4. CONCLUSÕES

De acordo com o exposto, os compostos obtidos apresentaram alta pureza e foram sintetizados em um curto período de tempo, além disto, a purificação foi

realizada de uma maneira mais simples e econômica com relação à RADI et. al., (2010).

Quanto à citotoxicidade dos compostos, na linhagem celular de glioblastoma de rato (C6), foi possível observar que todas as moléculas demonstraram uma redução significativa da viabilidade celular. As moléculas mais promissoras foram a **4CI** e **4DI** (Figura 4), ressaltando que estes dois compostos apresentam na sua estrutura um átomo de flúor na posição *para* do anel B.

Mais estudos são necessários para uma melhor avaliação da ação antiglioma dos derivados testados, como, por exemplo, testes com diferentes dosagens das TZDs para o cálculo do IC₅₀ e testes *in vivo*, para avaliar a redução da massa tumoral em modelos de xenoinxerto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

E.F. SILVEIRA. et. al. Ketoprofen-loaded polymeric nanocapsules selectively inhibit cancer cell growth in vitro and in preclinical model of glioblastoma multiforme, **Invest. New Drugs**, 31, 1424 –1435, 2013.

E.S. NEWLANDS. Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, pre-clinical development and clinical trials, **Cancer Treat. Rev**, 23, 35 – 61, 1997.

FERLAY, J. et. al. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. **Eur. J. Cancer**, 46, 765 – 781, 2010.

OHGAKI, H.; KLEIHUES, P. Epidemiology and etiology of gliomas. **ActaNeuropathol**, 109, 93 – 108, 2005.

RÊGO, M. J. B. M. et. al. Synthesis, in vitro anticancer activity and in silico study of new disubstituted thiazolidinedione derivatives. **Med Chem Res**, 23, 3220–3226, 2014.

VERMA, A.; SARAF, SK.; (2008) 4-Thiazolidinone-a biologically active scaffold. **Eur J Med Chem**, 43, 897–905, 2007.

WANG, P.; YU, J.; YIN, Q.; LI, W.; REN, X.; HAO, X. Rosiglitazone Suppresses Glioma Cell Growth and Cell Cycle by Blocking the Transforming Growth Factor-Beta Mediated Pathway. **Neurochem Res**, 37, 2076–2084, 2012.

WELLER, M. et. al. Glioma. **Nature reviews / disease primers**, 1, 1-18, 2015.

RADI, M. et. al. Practical one- pot two-step protocol for the microwave-assisted synthesis of highly functionalized rhodanine derivatives. **Comb. Chem**, 12, 200–205, 2010.