POTENCIAL TERAPÊUTICO ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS

R. C. SILVA¹, R. V. C. SANTOS¹, N. C. FONSECA², R. B. OLIVEIRA², M. G. R. PITTA¹, M. J. B. M. REGO¹.

¹ Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT), Npucleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (NUPIT), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

² Departamento de Produtos Farmacêuticos, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

E-mail para contato: raquelclaudiano@gmail.com

RESUMO – Dentre os tumores malignos, as doenças linfoproliferativas fazem parte de um grupo de doenças que acometem o tecido linfóide, decorrentes da proliferação e acúmulo de linfócitos anormais em diversos estágios de diferenciação. Os tratamentos atuais encontram diversos obstáculos como variados efeitos colaterais e alta resistência tumoral após um período de terapia, trazendo a necessidade da busca de novos compostos com potencial atividade antitumoral, maior eficácia e menos prejuízos ao paciente. O objetivo do presente trabalho foi analisar a capacidade de novos derivados tiazolidínicos (RN 08, 16, 18, 35, 53, 86, 88, 99, 112 e 113) em reduzir a viabilidade celular de linhagens de células neoplásicas de linfoma/leucemia (MOLT, K562 e Toledo), a fim de se obter possíveis candidatos a estudos posteriores sobre a otimização da terapêutica contra as neoplasias pertencentes às linhagens testadas. Os compostos 08, 88, 18, 99 e 113 se mostraram mais promissores frente aos resultados obtidos, sendo necessários mais estudos a respeito de seus mecanismos de ação para melhor entendimento e otimização de sua eficácia.

Palavras-chave: Derivados tiazolidínicos; Leucemia; Linfoma.

ABSTRACT – Among malignant tumors, lymphoproliferative diseases are part of a group of diseases that affect lymphoid tissue, resulting from the proliferation and accumulation of abnormal lymphocytes in several stages of differentiation. The current treatments find several obstacles such as several side effects and high tumor resistance after a period of therapy, bringing the need of searching new compounds with potential antitumor activity, greater efficacy and less harm to the patient. The aim of the present study was to analyze the ability of new thiazolidine derivatives (RN 08, 16, 18, 35, 53, 86, 88, 99, 112 e 113) to reduce the cell viability of some lymphoma / leukemia tumor cell lines (MOLT, K562 and Toledo) in order to obtain possible candidates for further studies on the optimization of the neoplasia belonging to the lineages tested. Compounds 08, 88, 18, 99 and 113 have shown to be more promising compared to the results obtained, but more studies are necessary about their mechanism of action for a better understanding of their efficacy.

Keywords: Thiazolidine derivates; Leukemia; Lymphoma.

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, o câncer mata cerca de 8,8 milhões de pessoas em todo o mundo por ano, principalmente em países de baixa e média renda. Dentre as neoplasias malignas, as doenças linfoproliferativas fazem parte de um grupo de doenças que acometem o tecido linfóide, decorrentes da proliferação e acúmulo de linfócitos anormais em diversos estágios de diferenciação.

Os métodos mais comuns para o tratamento tumoral hoje em dia são a quimioterapia e radioterapia, as quais atuam destruindo células cancerígenas, interrompendo ou diminuindo o seu crescimento. Contudo, ambas as intervenções terapêuticas encontram como barreira a capacidade agressiva das células tumorais em resistir às abordagens medicamentosas existentes.

Desta forma, torna-se imprescindível a busca por novos agentes antitumorais que apresentem eficácia e menos efeitos colaterais, além da importância de oferecer uma diversidade terapêutica mais robusta dado que, eventualmente, todo câncer vai se tornar resistente. As Tiazolidinas já foram utilizadas como tratamento de algumas doenças, como por exemplo, antivirais, antifúngicos, antiparasitárias e hipoglicemiantes, porém seu potencial antineoplásico vem sendo estudado com mais afinco nos últimos anos (Rego *et al.*, 2014). Tal classe tem sensibilidade para receptores ativados por proliferador de peroxissoma gama (PPAR γ) (Wuertz *et al.*, 2017), o qual está presente em diversas linhagens tumorais, envolvido com proliferação e apoptose celular.

Os derivados tiazolidínicos utilizados neste trabalho são compostos heterocíclicos com algumas atividades biológicas já comprovadas em ensaios contra fungos (Pereira de Sá *et al.*, 2015) e alguns parasitas (Fonseca *et al.*, 2015). Esses compostos foram escolhidos pela presença de grupos nitrila em sua estrutura e pelo possível papel antitumoral em sítios com hipóxia, que é bastante comum em ambientes tumorais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente trabalho foram utilizadas linhagens tumorais de Leucemia e Linfoma, sendo elas: K562, Molt e Toledo. Todas elas foram cultivadas em meio RPMI, plaqueadas em placas de 96 poços 3×10^4 células por poço e incubadas por 24h a 37°C a 5% de CO₂. Após 24h, foram incubados os derivados tiazolidínicos RN08, 16, 18, 35, 53, 86, 88, 99, 112 e 113, em triplicata nas concentrações de 10, 50 e 100 μ M.

Após 72h as células foram incubadas com 20 μ L do corante vital [3-(4,5 dimethyl thiazole-2yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide] (MTT), o qual mede a atividade mitocondrial das células viáveis ao metabolizarem sais de tetrazolium. A reação foi interrompida com a adição de 130 μ L de Dodecil Sulfato de Sódio a 20%. A leitura foi realizada no espectrofotômetro, a 570nm, após 24h. Foram realizados três ensaios independentes para cada linhagem, bem como a exclusão dos compostos RN que foram citotóxicos para células saudáveis (fibroblastos da linhagem MRC5). Ao final o ensaio foi possível calcular o IC₅₀ de cada composto capaz de reduzir a viabilidade celular a menos de 50%. A viabilidade celular para cada linhagem foi calculada e analisada em comparação ao controle positivo (Doxorrubicina) e negativo (apenas células, sem tratamento).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os derivados tiazolidínicos foram testados inicialmente em fibroblastos (Linhagem MRC5), contra os quais se mostraram citotóxicos os compostos RN16 e RN35, sendo

então excluídos dos ensaios contra as linhagens tumorais, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - IC₅₀ dos compostos contra células de fibroblastos (MRC5).

Código do Composto	IC ₅₀
RN 08	> 100μM
RN 16	24,46μM ± 6,83
RN 18	> 100μM
RN 35	79,74μM ± 5,54
RN 53	> 100μM
RN 86	> 100μM
RN 88	> 100μM
RN 99	> 100μM
RN 112	> 100μM
RN 113	> 100μM

Na linhagem K652, os RNs que apresentaram redução na viabilidade celular foram os 08 (IC₅₀ = 58,35μM ± 1,33), 18 (IC₅₀ = 22,78μM ± 2,91), 88 (IC₅₀ = 21,46μM ± 4,63) e 113 (IC₅₀ = 30,83μM ± 3,59). Quando testados contra a linhagem MOLT, verificou-se redução de viabilidade celular a menos de 50% pelos compostos RN 08 (IC₅₀ = 56,91μM ± 0,41), RN 88 (IC₅₀ = 50,48μM ± 2,15) e RN 99 (IC₅₀ = 32,89μM ± 9,53). A linhagem Toledo apresentou resultados parciais (n=2) em relação à redução de sua viabilidade celular pelos RN 08 (IC₅₀ = 41,63μM ± 14,8) e RN18 (IC₅₀ = 66,43μM ± 13,06), necessitando de mais experimentos para consolidar os resultados, conforme Figura 1.

Figura 1 - IC₅₀ dos compostos contra as linhagens K562, MOLT e Toledo.

Os derivados RN08 e RN88 se apresentaram como os mais promissores para posteriores estudos de aprofundamento em suas propriedades antitumorais, tendo sido eficazes contra as três linhagens testadas. Os compostos RN18, RN99 e RN113 também se mostraram eficientes contra as linhagens Toledo e K562. Outro estudo com derivados tiazolidínicos também apresentou atividade antitumoral contra linhagens de leucemia e linfoma, além de hepatocarcinoma e glioblastoma (linhagens de tumores sólidos), corroborando o potencial antineoplásico desta classe de compostos (Rego *et al.*, 2014).

É importante salientar que apesar dos valores de IC₅₀ encontrados para esses derivados tiazolidínicos terem se mostrado altos, a necessidade de uma diversidade de opções quimioterápicas frente a resistência tumoral favorece a continuação das pesquisas sobre os mesmos. O aprofundamento dos estudos que possam otimizar os compostos a partir de sua eficácia aqui demonstrada e entender seu mecanismo de ação faz-se necessário diante do seu potencial antineoplásico.

4. CONCLUSÃO

Os compostos RN08 e RN88 se mostraram os mais eficientes, agindo eficazmente contra as três linhagens analisadas, bem como os RN18, RN 99 e RN 113 o foram contra Toledo e K562. Faz-se necessário estudos posteriores a respeito de seus mecanismos de ação no contexto da terapia antitumoral, de forma a otimizar seu papel e otimizar a quantidade de composto a ser utilizada, a fim de reduzir possíveis efeitos colaterais.

5. REFERÊNCIAS

FONSECA, N; FARIA, L; SILVA, F; APARECIDA, G; LAGE, J; KELLAR, D; SUZUKI, B; RAY, D; BELARMINO, T; JOSÉ, R; ADEMAR, P; JOSÉ, A; MARIA, S; CONOR, R; BARBOSA, R; SALGADO, R. Synthesis of a Sugar-Based Thiosemicarbazone Series and Structure-Activity Relationship versus the Parasite Cysteine Proteases Rhodesain, Cruzain, and Schistosoma mansoni Cathepsin B1. **a.a.c.**, Minas Gerais, V. 59, Mai. 2015.

PEREIRA, N; INÁCIO, C; CRISTINA, N; MARTINS, B; PEREIRA, J; MARIA, E; FAGUNDES, AUGUSTO, C; ASSIS, D; BARBOSA, R; JOHANN, S. Thiazole compounds with activity against *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* in vitro. **e.j.m.c.** V. 102, p. 233-242, jul. 2015

A. V. HOFFBRAND, P. A. H. MOSS, J. E. PETTIT. Fundamentos em Hematologia. 5º ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2008.

M. J. B. M. RÊGO, M. R. G. PITTA, D. T. M. PEREIRA, J. C. SILVA, M. M. RABELLO, M. C. A. LIMA, M. Z. HERNANDES, I. R. PITTA, S. L. GALDINO, M. G. R. PITTA. Synthesis, in vitro anticancer activity and in silico study of new disubstituted thiazolidinedione derivatives. **m. c. r.** Recife, V. 23, p. 3220–3226, jan. 2014