

Síntese e caracterização de derivado de pectina com propriedades antitumorais.

Elizangela A. M. S. Almeida¹ (PG), Alessandro F. Martins^{1,2} (PQ), Samara Nocchi³ (PG), Ivânia T. A. Schuquel¹ (TS), Celso V. Nakamura³ (PQ), Adley F. Rubira (PQ), Edvani C. Muniz (PQ)*. email:ecmuniz@uem.br

¹Universidade Estadual de Maringá - Dep. de Química - Av. Colombo, 5790 - 87020-900 - Maringá, PR - Brasil.

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Estr. p/ B. Esperança - 86400-000 - Dois Vizinhos, PR -Brasil.

³Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Análises Clínicas - Av. Colombo, 5790 - 87020-900 - Maringá, PR - Brasil.

Palavras Chave: Pectina quimicamente modificada, anidrido maleico, ação antitumoral, células Caco-2, maleinização.

Introdução

A Pectina (Pec) é um polissacarídeo amplamente usado em sistemas de liberação de fármacos, devido à sua excelente biocompatibilidade e sensibilidade a variações de pH. Além disso, acredita-se que a Pec ajuda reduzir o nível de colesterol no sangue, contribui para a redução da absorção de glicose, facilita a excreção de toxinas e de metais bivalentes na urina¹ e possui atividade antitumoral.² Neste estudo foi preparado um novo derivado insaturado da Pec por meio da reação com anidrido maleico (MA) e avaliou-se a atividade citotóxica de Pec-MA contra células de câncer de cólon (Caco-2) visando a aplicação como biomaterial de ação antitumoral. Para isto, Pec e MA foram colocados separadamente em DMF e agitados a temperatura ambiente até a solubilização. Após, a solução de MA foi adicionada à solução de Pec e aquecida a 70 °C, sob agitação durante 24 h. Finalmente, foi precipitado em acetona, separado por filtração, redissolvido em água destilada e colocado em tubo de celulose para diálise contra água deionizada a um pH ente 6,0-6,5, durante quatro dias. Após, foi congelado e liofilizado a -55 °C durante 72 h. A Pec-MA foi caracterizada por meio de RMN (¹H e ¹³C), FTIR, TGA/DTG e WAXS. Foi medido o potencial Zeta (ZP) na Pec e na Pec-MA. Testes de citotoxicidade de Pec e Pec-MA contra células Caco-2 foram realizados.³ As células foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas sob CO₂. Após 48 h, monocamadas de células foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS), fixadas com ácido tricloroacético e coradas durante 30 min com sulforrodamina B em ácido acético. Após remoção do corante com ácido acético, o corante ainda ligado à proteína foi extraído com Tris não tamponada e foi determinada a densidade óptica relativa à quantidade de corante residual.

Resultados e Discussão

A presença de carbonos vinílicos na Pec-MA foi evidenciada por RMN ¹H, devido a dois novos sinais assimétricos em 6,30 e 6,60 ppm. O pico a 6,30 ppm foi atribuído a átomos de hidrogênio de C vinílicos adjacentes a grupos de ácido carboxílicos da pectina, enquanto que o pico a 6,60 ppm foi atribuído a átomos de hidrogênio de C vinílicos adjacentes a grupos éster. Isto foi confirmado pela 37^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

presença de um sinal em 136 ppm no espectro de RMN ¹³C. A incorporação de MA na estrutura da Pec também foi confirmada por FTIR. Espectros FTIR da Pec-MA mostram mudanças discretas, por exemplo, o deslocamento de banda em 1750-1736 cm⁻¹, que foi atribuído à existência de ésteres conjugados na estrutura Pec-MA. A incorporação de MA na estrutura Pec aumentou a proporção de grupos COOH em relação à Pec original. O potencial Zeta da Pec-MA foi -22,8 mV, enquanto da Pec é -13,0 mV. Esta diferença foi relacionada com a maior quantidade de grupos carboxilato na Pec-MA, em comparação com a Pec. Perfil de WAXS mostrou que Pec possui estrutura mais organizada do que Pec-MA. Curvas de TGA/DTG mostraram que a estabilidade térmica da Pec é pouco maior (18 °C) do que a Pec-MA. A Pec-MA apresentou efeito citotóxico considerável contra células Caco-2 após 48 horas de incubação, com concentração média citotóxica (CC₅₀) no intervalo de 25 µg/ml. Por outro lado, a CC₅₀ da PEC é 140 µg/ml. Este resultado demonstrou que a Pec-MA é muito mais eficaz para inibir o crescimento de células tumorais Caco-2, em comparação com a Pec. Assim, sugere-se que a inserção de MA na Pec favorece o efeito citotóxico sobre as células doentes, potencializando a atividade anti-tumoral. A maior quantidade de grupos carboxilato na Pec-MA contribui para este comportamento, principalmente reduzindo o potencial de superfície. Este resultado está de acordo com estudos já publicados em que Pec após ser copolimerizada com outros tipos de anidrido e possui propriedades antitumorais.⁴

Conclusões

As condições de reação utilizadas neste trabalho permitiram preparar um novo biomaterial baseado no derivado pectina-maleato. Ensaios de citotoxicidade contra células Caco-2 revelaram que a Pec-MA foi mais eficaz para inibir o crescimento de células tumorais, em comparação com a Pec.

Agradecimentos

EAMSA agradece a CAPES pela bolsa de mestrado.

¹Ogonczyk, D. *et al.*, *Biomicrofluids*. 2011;5: 013405.

²Ovodov, Y. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2009;35:269.

³Skehan, P. *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* 1990;82:1107-12.

⁴Karakus, G. *et al.*, *J. Appl. Polym Sci.* 2011;122:2821.