

Atividade de derivados 1,4-naftoquinonas-espermidina sobre a linhagem leucêmica HL-60

Andressa Esteves-Souza (PQ)^{1*}, Livia P.T.P. Guimarães (IC),¹ Andréa S. Cunha (PG)², Angelo C. Pinto (PQ)², Maria D. Vargas (PQ)³, Cerli R. Gattass (PQ)¹

¹Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21949-900; ²Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21945-970, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; ³Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Campus do Valonguinho, 24020-150, Niterói, RJ, Brasil.

Palavras Chave: espermidina-1,4-naftoquinona, atividade antitumoral, produção de ROS, célula HL-60

Introdução

O câncer é considerado um problema de saúde mundial, e o tratamento dessa doença ainda constitui um desafio. As quinonas e seus derivados são descritos na literatura como tendo ação antineoplásica, atuando como agentes intercalantes e alquilantes do DNA, como inibidoras do complexo das topoisomerases,¹ e participando no estresse oxidativo e na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS),² ações desencadeantes da apoptose celular. Assim, diante do interesse da clínica na busca de novos quimioterápicos mais ativos e seletivos para o tratamento do câncer e dando prosseguimento ao estudo da atividade tumoricida de derivados 1,4-naftoquinônicos investigamos o potencial citotóxico e a capacidade desses compostos em induzir a apoptose e seus efeitos na produção de ROS.

Resultados e Discussão

Os derivados **5a-c** foram obtidos pela reação entre a espermidina protegida **4** e as metoxinaftoquinonas **3a-c**,³ em MeOH, sob refluxo, por 24h. Os derivados desprotegidos **6a-c** foram obtidos da reação de **5a-c** com CF₃COOH/CH₂Cl₂, na intenção de se comparar o efeito do grupo de proteção sobre a atividade dos compostos.

Compostos	IC ₅₀ ±dp (mM)
Lausona 2a	> 50
Lapachol 2b	> 50
Nor-lapachol 2c	> 50
4	> 50
5a	16,48 ± 0,3
5b	14,01 ± 0,5
5c	12,51 ± 1,3
6a	10,54 ± 0,5
6b	13,75 ± 1,3
6c	13,51 ± 0,7

Figura 1. Derivados sintetizados e valores de IC₅₀ (dp: desvio padrão)

O potencial tumoricida dos compostos estudados foi medido utilizando-se o ensaio colorimétrico MTT⁴. As células tumorais HL-60 (leucemia promielocítica aguda humana) foram plaqueadas (10⁴ cels/poço) e 24h depois tratadas com os compostos **2a-c**, **4**, **5a-c** e **6a-c** nas doses de 6,25, 12,5, 25 e 50µM. As

absorbâncias foram lidas 48h após nova incubação, em leitor de ELISA a 570nm, e os valores de IC₅₀ calculados. Os compostos **5a-c**, **6a-c** causaram inibição da viabilidade celular de modo dose-dependente, além disso, mostraram maior atividade quando comparados com os produtos naturais **2a-c** e **4** (IC₅₀ > 50µM). No entanto, a retirada do grupo de proteção (Boc) dos compostos **5a-c** não resultou em aumento da atividade em **6a-c**. Os valores de IC₅₀ não mostraram diferença significativa com a variação do radical da cadeia lateral ficando entre 10,54 ± 0,5 (**6a**) e 16,48 ± 0,3µM (**5a**). A medida da apoptose causada pelos derivados **5a-c**, **6a-c** foi realizada através da análise do pico subG1 do ciclo celular. Os dados mostraram que o tratamento das células com os derivados **5a-c**, **6a** na dose de 25µM resultaram num significativo percentual de fragmentação do DNA. No entanto, os derivados **6b-c** na mesma dose só levaram a cerca de 40% de fragmentação do DNA. Como os derivados 1,4-naftoquinônicos são conhecidos por sua influência no equilíbrio redox celular nós investigamos a possível formação de ROS por um dos derivados. Após a exposição das células de HL 60 a 25µM ao derivado **5c** a produção de ROS foi avaliada por FACS utilizando-se H2CDF-DA. A comparação entre o pico de produção de ROS (2h) e de fragmentação de DNA (48h) indicou que a produção de ROS precede a apoptose.

Conclusões

Os resultados obtidos indicaram o alto potencial tumoricida dos derivados **5a-c** e **6a-c**, os quais apresentaram atividade citotóxica similar. Além disso, estes compostos mostraram-se capazes de induzir a formação de ROS antes da fragmentação de DNA. Esse conjunto de dados indica que as 1,4-naftoquinonas representam uma nova oportunidade para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para o tratamento do câncer.

Agradecimentos

PRONEX-CNPq-FAPERJ-FINEP

¹Cunha, A. S. et al. J. Braz. Chem. Soc. 2006, 17, 439. ²Corral, J.M.M. et al. Bioorg. Med. Chem. 2006, 14, 2816. ³Silva, M.N. et

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

al. Quím. Nova 2003, 26, 407.⁴Mossman, T. J. Immunol. Meth.
1983, 65, 55