

## Atividade Melanocítica de 1,4-naftoquinonas

Andressa Esteves-Souza (PQ)<sup>1</sup>, Lívia PTP Guimarães (IC)<sup>2</sup>, Maria D. Vargas (PQ)<sup>3</sup>, José Celso Torres (PQ)<sup>4</sup>, Aurea Echevarria (PQ)<sup>1</sup>, Cerli R. Gattass (PQ)<sup>2</sup>, e-mail: andressaesteves@ufrjr.br

<sup>1</sup>Departamento de Química, ICE, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro

<sup>2</sup>Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ

<sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro; <sup>4</sup>CEFET Química - Unidade Nilópolis

Palavras Chave: 1,4-naftoquinonas, atividade melanocítica, tirosinase

### Introdução

Melanomas são tumores de alta letalidade, cuja incidência tem aumentado nos últimos anos. Além disso, raramente respondem à quimioterapia provavelmente por expressar intrinsecamente o fenótipo de resistência a múltiplas drogas (MDR).<sup>1</sup> As 1,4-naftoquinonas têm mostrado interessante atuação sobre diversos tumores como mama, leucemia e pulmão<sup>3</sup> o que nos encorajou a investigar o perfil citotóxico de uma série de produtos de reações de Heck da 2-bromo-3-metoxi-1,4-naftoquinona com estirenos, **2a-e** e seus derivados **3a-d** e **4a-b**, sobre as linhagens de melanoma MEL85, SKMEL37, MV3 (humanos), TM5 e B16F10 (murinos), e da linhagem de pele normal MELAN A. Além disso, realizamos um estudo da influência dos derivados ativos sobre a enzima tirosinase, responsável pela produção de melanina e um dos alvos antimelanoma mais comentados atualmente.

### Resultados e Discussão

**Síntese:** Os derivados **2a-e** foram obtidos através de reações de acoplamento de Heck entre **1** e os estirenos.<sup>2</sup>

O tratamento dos compostos **2a-e** com KOH/H<sub>2</sub>O/MeOH e subsequente acidificação com HCl forneceu os derivados hidroxilados **3a-d**; cujas reações com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado resultaram na formação de **4a-b** (Figura 1).

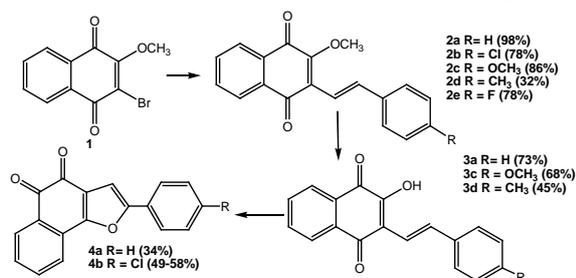


Figura 1. Compostos **2a-d**, **3a-d** e **4a-c** investigados.

**Atividade Citotóxica:** O potencial tumoricida dos derivados foi medido utilizando-se MTT<sup>3</sup> As células foram plaqueadas (10<sup>4</sup> cels/poço) e 24h depois tratadas com diferentes concentrações dos derivados **2**, **3** e **4**. Após 48h de incubação em estufa a 37°C e 5%CO<sub>2</sub>, adicionou-se o MTT (5mg/mL), e as placas foram incubadas por mais 3h. As absorvâncias foram lidas em leitor de ELISA a 570nm, e os valores de IC<sub>50</sub> calculados.

**Atividade Tirosinase:** A atividade inibitória da tirosinase foi medida em leitor ELISA a 490nm de acordo com método descrito na literatura<sup>4</sup>. Foram adicionados 175µL de solução de L-DOPA (2,5 mM, em PBS), 20µL de DMSO (controle) ou das amostras a serem testadas e 5µL de uma solução em PBS da tirosinase (1000U/mL). A mistura resultante foi incubada à temperatura ambiente por 30min e a formação da dopacroma foi acompanhada

pelo aumento da densidade ótica a 490nm. O ácido kójico foi utilizado como controle.

Em geral, os compostos **2a-e**, **3a-d** e **4a-b** causaram inibição da viabilidade celular de modo dose-dependente. No entanto, as linhagens celulares MEL85 e TM5 foram pouco sensíveis aos compostos e somente o derivado **6a** atuou sobre elas. Além disso, as linhagens murinas foram menos sensíveis que as humanas onde um maior número de derivados foi citotóxico. Todos os compostos tiveram ação citotóxica semelhante sobre a linhagem normal, com exceção do derivado **4a** que foi altamente citotóxico e inespecífico (Tabela).

Os resultados obtidos nos ensaios da atividade inibitória da tirosinase mostraram que os derivados inibiram no máximo 30% da atividade da enzima, sugerindo que outros mecanismos podem estar envolvidos na atuação destes compostos sobre as células destes melanomas.

Tabela. Valores de IC<sub>50</sub> obtidos.

Comps	IC <sub>50</sub> ± dp (µM)*					
	SKMEL3 7	MEL85	TM5	MV3	B16F10	MelanA
<b>2a</b>	38,8±1,7	>50	>50	25,9±2	34,8 ±2	40,3±1
<b>2b</b>	>50	>50	>50	39,9 ±3	>50	38,6±2
<b>2c</b>	42,8 ± 1	>50	>50	44,7 ±4	>50	35,0±2
<b>2d</b>	>50	>50	>50	37,9 ±1	>50	35,0± 2
<b>2e</b>	45,9 ± 2	>50	>50	34,7 ±1	>50	33,9 ±3
<b>3a</b>	41,2 ±1	>50	>50	>50	>50	45,0±1
<b>3c</b>	>50	>50	>50	>50	>50	45,9± 1
<b>3d</b>	>50	>50	>50	>50	>50	33,3±2
<b>4a</b>	14,8 ± 2	42,5 ± 2	10,9±2	10,3±1	15,1 ±1	4,1 ±1
<b>4b</b>	37,6 ± 2	>50	>50	>50	>50	35,9±3
<b>Cis-platina</b>	42,1± 1	79,9 ± 1	63,1±2	94,5 ±1	64,8±6	64,0± 1

\*Valores em média ± DP de 3 ensaios independentes em triplicata.

### Conclusões

Os resultados indicaram o potencial citotóxico dos derivados testados, no entanto, os mesmos mostraram-se bastante citotóxicos para a linhagem de pele normal. Os ensaios de avaliação da atividade da tirosinase indicaram que esses compostos não atuam fortemente sobre a via dopa-dependente. Porém, novos ensaios poderão ser realizados para estudar a ação destes das 1,4-naftoquinonas na expressão desta enzima.

### Agradecimentos

CAPES-CNPq-FAPERJ-FINEP

<sup>1</sup>INCa, Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil. RJ, 2007, [www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br). <sup>2</sup>Neves, L.C. et al. 28° RA SBQ, 2005, QO-150.

<sup>3</sup>Mosmann, T. J. *Immunol. Meth.* 1983, 65, 55. <sup>4</sup>Khatib, S.et al J. *Bioorg. Med. Chem.* 2005,13, 433.