

## Triagem biológica de galatos de alquila na identificação de inibidores de metástase em células de câncer de mama

Wanessa F. Altei<sup>1</sup>(PG)\*, Luis O. Regasini<sup>2</sup> (PQ)  
Vanderlan S. Bolzani<sup>2</sup> (PQ), Adriano D. Andricopulo<sup>1</sup> (PQ)

wanaltei@yahoo.com.br

<sup>1</sup> Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo.

<sup>2</sup> Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais Instituto de Química- NuBBE, UNESP

Palavras Chave: Câncer, metástase, ensaio celular, wound healing

### Introdução

A migração celular é um processo envolvido em eventos fisiológicos normais, como o movimento dos linfócitos sanguíneos, mas que também pode estar associada ao estado de doença, como é o caso de células cancerígenas que adquirem a capacidade de migração e invasão, tornando-se metastáticas. Nesse estágio, o sucesso em bloquear o desenvolvimento de novos focos de tumor no organismo significa aumentar as chances de vida dos pacientes, o que torna a pesquisa por inibidores da metástase um importante campo de pesquisa para a química medicinal.<sup>1</sup>

Ensaios *in vitro*, como o *wound healing* (WH)<sup>2</sup> e os ensaios de inibição de migração e invasão celular em câmara de Boyden<sup>3</sup> têm se mostrado versáteis na caracterização de estruturas capazes de alterar a mobilidade celular sendo amplamente empregados na pesquisa por novos agentes antitumorais. Neste trabalho serão apresentados resultados obtidos a partir da realização de ensaios de WH que permitiram a identificação de algumas características estruturais importantes de duas séries de compostos derivadas dos ácidos gálico e protocatecuico.

### Resultados e Discussão

Duas séries de galatos de alquila foram avaliadas quanto à sua capacidade de inibição da migração celular em linhagem tumoral MDA-MB-231 de câncer de mama, utilizando o ensaio WH. Nesse ensaio, as células são plaqueadas em placas de 24 poços (1,0 x 10<sup>5</sup> cels./poço), e após o crescimento adequado (80-90% de confluência), o meio de cultura é retirado e, com o auxílio de uma ponteira estéril, uma “ferida” é criada na monocamada celular. O composto teste é solubilizado em meio de cultura e adicionado à monocamada com a “ferida”. A inibição é avaliada comparando-se a área dessa “ferida” no tempo 0h e 22h por meio da análise de fotomicrografias. As séries testadas, derivadas dos ácidos gálico e protocatecuico, contêm cadeias alquílicas que variam de 1 a 14 átomos de carbono, e foram avaliadas no ensaio WH em 2 estágios diferentes. Inicialmente foi realizada uma avaliação dos compostos em concentração única para observação qualitativa do efeito sobre as células, e aqueles capazes de inibir a migração celular em ao menos 50% foram então avaliados em ensaio WH

semi-quantitativos. Os resultados dos ensaios concentração x resposta mostraram que o aumento da cadeia alquílica exerce um efeito positivo na atividade. Outra observação importante é a diferença na atividade entre os ácidos gálico (I) e protocatecuico (Ia), sugerindo a importância da hidroxila na posição 5 do anel benzênico para a inibição da migração celular (Figura 1).



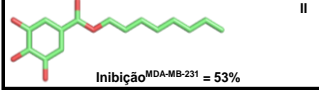
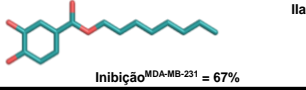
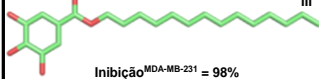
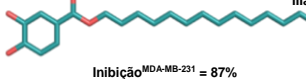
Ácido gálico e derivados	Ácido protocatecuico e derivados
 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 31%	 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 0%
 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 53%	 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 67%
 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 98%	 Inibição <sup>MDA-MB-231</sup> = 87%

Figura 1. Resultados dos ensaios de WH para compostos derivados dos ácidos gálico e protocatecuico em concentração única de 50 µM.

### Conclusões

Os resultados indicam a importância da cadeia carbônica dos galatos de alquila avaliados, sugerindo que o aumento da lipofilia está associado ao aumento da atividade. Há também uma perda de atividade associada à ausência da hidroxila na posição 5 do anel benzênico. Esses dados confirmam a eficácia do método na identificação de compostos bioativos de forma rápida e conveniente, permitindo que apenas compostos promissores sejam envolvidos em ensaios celulares mais sofisticados.

### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio do CNPq, CAPES e FAPESP.

1. Coghlin, C.; Murray, G. I. *Journal of Pathology* **2010**, 222 (1), 1-15.
2. Yue, P. Y. K.; Leung, E. P. Y.; Mak, N. K.; Wong, R. N. S. *Journal of Biomolecular Screening* **2010**, 15 (4), 427-433.
3. Shan, D. D.; Chen, L.; Njardarson, J. T.; Gaul, C.; Ma, X. J.; Danishefsky, S. J.; Huang, X. Y. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, 102 (10), 3772-3776.