

Avaliação de propriedades antimetastáticas de derivados guanidínicos sintéticos: triagem biológica e identificação do alvo molecular

Wanessa F. Altei¹ (PG)*, Marília Valli² (PG), Ricardo N. dos Santos¹ (PG), Luis O. Regasini² (PQ)
Vanderlan da S. Bolzani² (PQ), Adriano D. Andricopulo¹ (PQ)

wanaltei@yahoo.com.br

¹ Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo.

² Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais Instituto de Química- NuBBE, UNESP.

Palavras Chave: câncer, metástase, migração celular, tubulina

Introdução

A metástase é a principal causa de morte em pacientes com câncer.¹ O processo todo envolve uma série de eventos que vão desde a alteração da dinâmica do citoesqueleto celular até a destruição da matriz extracelular e o extravasamento das células para outros locais. Não se trata, portanto, de um alvo singular, mas de um conjunto de alvos potenciais para a atuação de moduladores.

Dentre as abordagens adotadas em estudos sobre metástase, a busca por compostos capazes de interferir no processo de migração celular tem passado por uma crescente evolução nos últimos anos. Ensaios *in vitro*, como o *wound healing* (WH)², os ensaios de inibição de migração e de invasão celular em câmara de Boyden,³ bem como os ensaios frente a alvos moleculares estabelecidos, representam uma abordagem eficaz na identificação e caracterização de novos compostos capazes de alterar a mobilidade celular.

Este trabalho apresenta a avaliação biológica de uma série de derivados guanidínicos sintéticos empregando ensaios de WH. Os compostos com propriedades promissoras do processo de migração foram selecionados para ensaios de polimerização com a proteína tubulina (um alvo molecular importante na terapia do câncer), a fim de se estudar o mecanismo de ação associado ao efeito antimetastático desta série de compostos.

Resultados e Discussão

Uma série de 10 derivados guanidínicos sintéticos foi avaliada em ensaio de WH na linhagem MDA-MB-231 de câncer de mama. Nesse ensaio, as células foram plaqueadas em placas de 24 poços (1,0 x 10⁵ cels./poço), e após o crescimento adequado (80-90% de confluência), o meio de cultura foi retirado e, com o auxílio de uma ponteira estéril, uma ferida foi criada na monocamada celular. Os compostos foram solubilizados em meio de cultura e adicionados à monocamada com a ferida. A inibição foi avaliada comparando-se a área da ferida no tempo 0 e 22 h por meio da análise de fotomicrografias. Os ensaios de WH em dose única resultaram em 3 compostos da série capazes de inibir a migração celular em concentrações inferiores a 10 µM (Figura 1A).

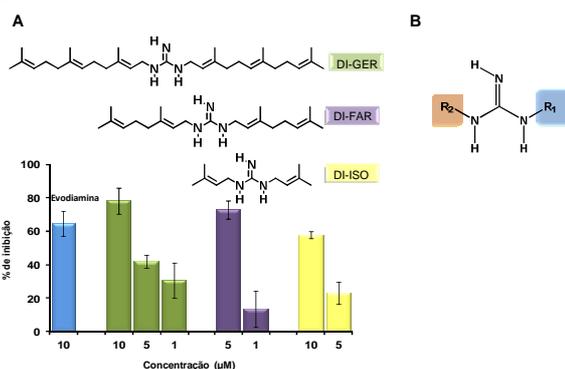


Figura 1. A) Análogos ativos em células MDA-MB-231 e gráfico da porcentagem de inibição de migração celular. B) Estrutura base dos análogos sintetizados.

A análise da série mostrou que a substituição do nitrogênio do grupo guanidina afetou a ação antimetastática, com redução significativa da atividade. Comparando-se DI-FAR e DI-GER com DI-ISO e outros compostos da série com cadeias menores, observa-se também uma redução da atividade com a redução da cadeia. A partir desses resultados foram realizados ensaios de polimerização de tubulina na presença de DI-FAR e DI-GER, a fim de determinar a capacidade desta série em interferir com a formação de microtúbulos. A avaliação dos compostos em concentração única (250 µM) revelou importante efeito na modulação do processo de formação de microtúbulos, indicando a tubulina como possível alvo responsável pela atividade anticâncer desta classe.

Conclusões

Os compostos sintetizados possuem importante ação frente ao processo de migração celular. Destaca-se também a associação dos ensaios *in vitro* de WH e de polimerização de tubulina, como uma abordagem importante para o planejamento racional de novos agentes antitumorais.

Agradecimentos

Agradecemos CNPq, CAPES e FAPESP pelo apoio.

- Chang, T. T.; More, S. V.; Lu, I. H.; Hsu, J. C.; Chen, T. J.; Jen, Y. C.; Lu, C. K.; Li, W. S., *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (9), 3810-3819.
- Yue, P. Y. K.; Leung, E. P. Y.; Mak, N. K.; Wong, R. N. S. *J. Biomol. Screen.* **2010**, *15* (4), 427-433.
- Shan, D. D.; Chen, L.; Njardarson, J. T.; Gaul, C.; Ma, X. J.; Danishefsky, S. J.; Huang, X. Y. *PNAS* **2005**, *102* (10), 3772-3776.