

Atividade farmacológica in vitro de inibidores derivados de dipeptidil nitrilas em linhagens de células de câncer de fígado e pâncreas.

Vinicius Gonçalves Satkauskas,

Sabrina Mendes Botelho

Andrei Leitão

Grupo de Química Medicinal e Biológica (NEQUIMED)
Instituto de Química de São Carlos-Universidade de São Paulo (IQSC-USP)

vg.satkauskas@usp.br

Objetivos

A pesquisa desenvolvida neste projeto visa identificar novos compostos bioativos que atuam como inibidores de cisteíno cathepsinas presentes no meio intracelular e sua relação com resposta fenotípica usando uma série de dezesseis inibidores derivados de dipeptidil nitrilas em linhagens de células de câncer de pâncreas (MIA PaCa-2) e fígado (HepG2), em contraste com células de fibroblastos não tumorais (Balb/3T3 clone A31).

Métodos e Procedimentos

As três linhagens celulares foram cultivadas com meio DMEM, suplementado com 10% (v/v) FBS (sendo adicionado 2,5% de HS ao meio para MIA PaCa-2) e 1% (v/v) de solução penicilina/estreptomicina, à 37 °C e em 5% de CO₂. O meio foi trocado a cada dois a três dias até atingir 80% de confluência. Os ensaios celulares foram realizados quando a cultura celular atingiu 80% de confluência, as células foram contadas em Câmara de Neubauer para determinar a densidade celular de 1,0x10⁵ células/poços para semeadura em placas de 96 poços.

A viabilidade/citotoxicidade dos compostos foi avaliada adicionando o composto a 10 e 100 µM após 24 horas de incubação em uma placa de

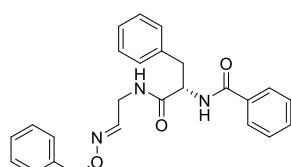
96 poços, seguido por 72 horas de incubação. O meio foi substituído por 100 µL de MTT em meio de cultura (1,0 mg/mL), incubando por 3 horas para análise colorimétrica. Em seguida, o sobrenadante foi removido e 100 µL do agente solubilizante DMSO foram adicionados para leitura da placa em $\lambda=570$ nm.

Ensaio de curva concentração-resposta foram conduzidos da mesma forma apenas com os compostos que apresentaram citotoxicidade, com oito concentrações do composto, variando de 1,0 a 250 µM.

Resultados

Dentre os dezesseis compostos avaliados na triagem inicial, apenas o composto NEQ1107 apresentou citotoxicidade com seletividade, uma vez que esse composto atingiu viabilidade menor do que 50% a 100 µM nas células de câncer de fígado (HepG2).

Ensaio de curva concentração-resposta demonstraram que o composto NEQ1107 apresentou seletividade e potência contra as células HepG2, com IC₅₀ = 37,7 ±3,6 µM.



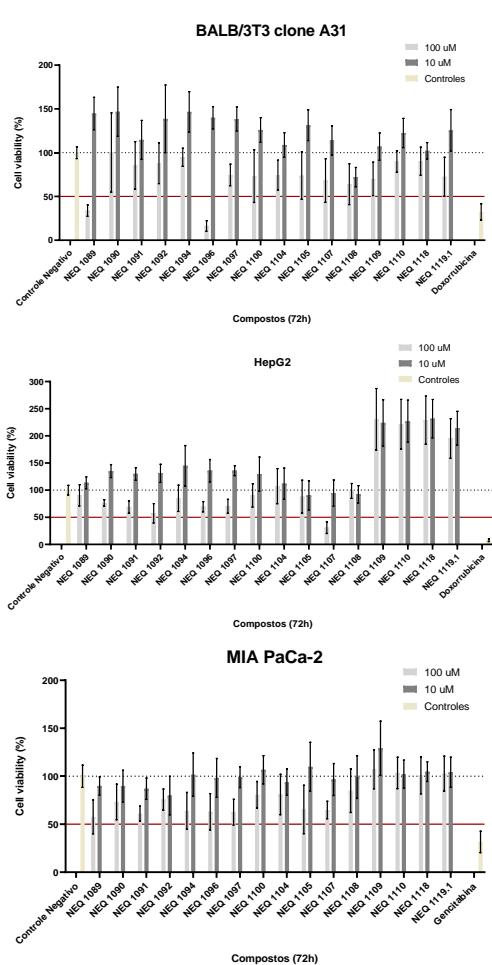


Figura 1: Análise da citotoxicidade pelo método MTT para dezesseis compostos derivados de dipeptidil nitrilas realizadas em duas concentrações ($10 \mu\text{M}$ e $100 \mu\text{M}$) após 72 horas de incubação nas linhagens Balb/3T3 clone A31, HepG2 e MIA PaCa-2.

Referências

1. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: INCA, **2022**.
2. Botelho, S. M.; Rocho, F. R.; Cianni, L.; Montanari, C. A; Leitão, A. The effect of dipeptidyl nitrile derivatives on pancreatic ductal adenocarcinoma cells in vitro. *Curr. Chem. Biol.* **2021**, 15, 278-286.

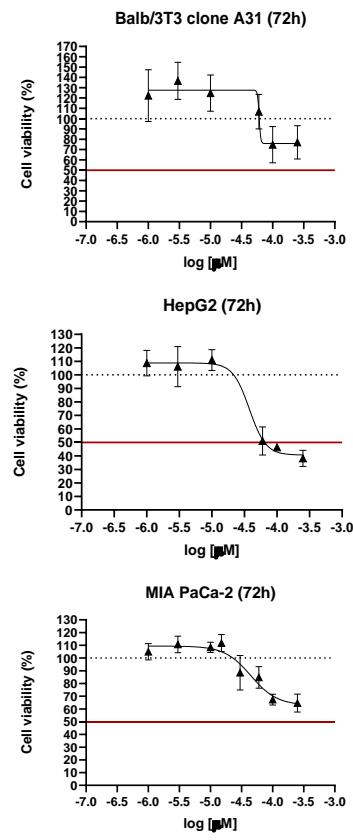


Figura 2: Análise da viabilidade celular para concentrações seriadas do composto citotóxico NEQ1107 para as linhagens HepG2, MIA PaCa-2 e Balb/3T3 clone A31.

Conclusões

Este estudo identificou um composto citotóxico derivado de dipeptidil nitrila, NEQ1107. O composto foi ativo e seletivo contra células de fígado (HepG2). Os próximos estudos analisarão o mecanismo de morte celular e a resistência das células viáveis remanescentes.

Agradecimentos

Processos 2023/16111-8 e 2024/01035-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), CNPq (312086/2023-7).