

Atividade citostática e seletividade de derivados de dipeptidil nitrilas inibidoras de cisteíno proteases em linhagem de câncer de pâncreas

S. M. Botelho(*), A. Leitão

Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo – Av. Trabalhador São-Carlense, 400, São Carlos/SP - Brasil

(*) sabrina.botelho@usp.br

Objetivos

O trabalho visou analisar a atividade de derivados de dipeptidil nitrilas sintetizadas no NEQUIMED usando linhagem de câncer de pâncreas (MIA PaCa-2)¹, por meio de ensaio de viabilidade e migração celular, formação de colônias e inibição da atividade de cisteíno proteases celulares.

Métodos e Procedimentos

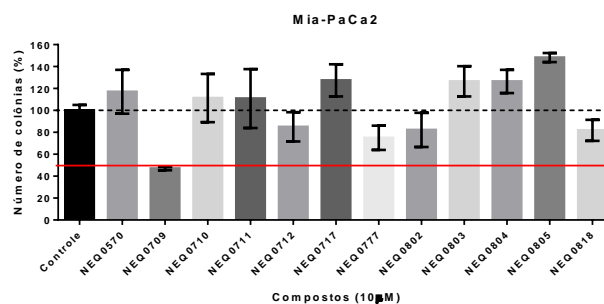
A série homóloga de (S)-N-(1-((1-cianociclopropil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)benzamida foi diluída em meio de cultura com DMSO (0,5%) para os ensaios biológicos. As células MIA PaCa-2 foram cultivadas com meio DMEM, em estufa a 37 °C, 90% de umidade, e atmosfera com 5% CO₂. A formação de colônias ocorreu em placa de 6 poços com 300 células.mL⁻¹ e incubação dos compostos a 10 µM por 72 h. Após 7 dias, o meio de cultura foi removido e adicionado 1 mL de corante Giemsa 1:5 (24 h de incubação), seguido de lavagem com paraformaldeído e água para obtenção das imagens. O ensaio de fechamento de risca (*wound healing*) foi feito em placa de 24 poços com 4x10⁵ células/mL, mantidas em estufa com 1 mL de meio de cultura e composto. O fechamento da risca foi monitorado a cada 24 h. O último ensaio foi a quantificação da inibição da atividade de cisteíno proteases usando o lisado celular, com quantificação da fluorescência do metabólito do substrato Z-FR-MCA (λ_{exc} = 360 nm, λ_{emm} = 460 nm).

Resultados

Neq0709 obteve melhor resposta para redução do número de colônias (Fig. 1a), enquanto no ensaio de fechamento de risca as substâncias foram inativas. De forma análoga, Neq0709 inibiu a atividade de cisteíno proteases. No

entanto, Neq0712 não obteve a mesma relação (Fig. 1b). Somente o composto que contém o átomo de cloro na posição orto foi ativo em dois dos três ensaios (Neq0709), enquanto o derivado *m*-CH₃ (Neq0712) somente inibiu a proteólise. Todos os outros derivados contendo cloro em meta e para foram inativos.

a)



b)

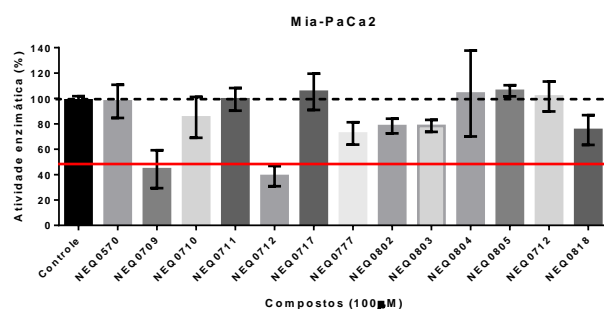


Figura 1. Ensaio clonogênico (a) e de atividade proteolítica (b).

Conclusões

Neq0709 foi o único derivado com atividade anticlonogênica e inibitória enzimática. Isto demonstra que o *o*-cloro é essencial para a bioatividade desta série homóloga.

Referência Bibliográfica

1. Quilles Jr., J. C.; *et al.* *Anticancer Agents Med. Chem.* **2019**, 19, 112.