

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

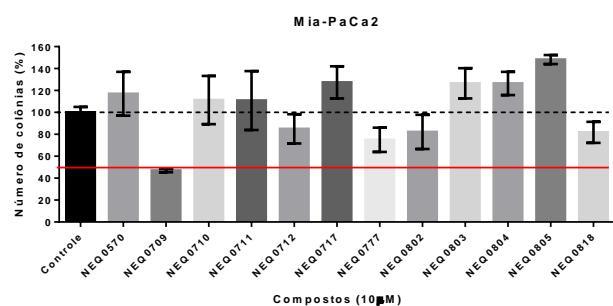
A série homóloga de (S)-N-(1-((1-cianociclopropil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)benzamida foi diluída em meio de cultura com DMSO (0,5%) para os ensaios biológicos. As células MIA PaCa-2 foram cultivadas com meio DMEM, em estufa a 37 °C, 90% de humidade, e atmosfera com 5% CO₂. A formação de colônias 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 ($\lambda_{exc}= 360$ nm, $\lambda_{emm}= 460$ 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)

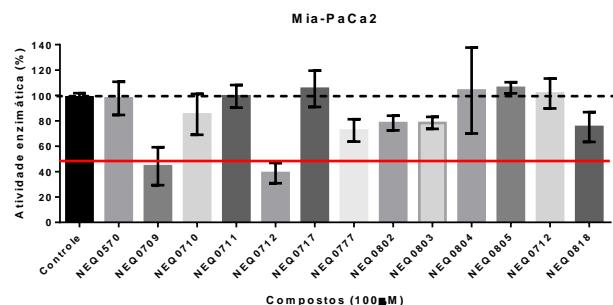


Figura 1. Ensaio clonogênico (a) e de atividade proteolítica (b).

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

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