

## THIAZOLIDINONAS PROMOVEM REDUÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DA LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA HUMANO U251MG

**ELITA FERREIRA DA SILVEIRA<sup>1</sup>; ALICE KUNZLER; FERNANDA CARDOSO TEIXEIRA; WILSON CUNICO; ELIZANDRA BRAGANHOL<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Centro de Ciências Químicas, Farmacêutica e de Alimentos-CCQFA- UFPEL  
elitafs24@gmail.com*

<sup>2</sup>*Centro de Ciências Químicas, Farmacêutica e de Alimentos-CCQFA UFPEL  
elizbraganhol@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

O tumor cerebral é uma massa de células anormais que cresce e se multiplica de forma descontrolada no cérebro e sua apresentação clínica poderá variar de acordo com a sua localização. Dentre os tumores cerebrais primários estão os gliomas, constituindo os tumores sólidos mais comuns em adultos (MAHER e RAFELL, 2004) e representam cerca de 50% de todas as neoplasias do Sistema Nervoso Central (PREUSSER et al., 2006; YIN et al., 2007; DUNN et al., 2007), sendo caracterizados também por possuírem ampla heterogeneidade histológica e clínica. Sua incidência vem aumentando ao longo dos anos e o prognóstico para os pacientes permanece muito ruim (KONOPKA e BONNI, 2003). A sobrevida média após o diagnóstico é de até cinco anos, porém, pacientes diagnosticados com glioma de alto grau (glioblastoma multiforme) sucumbem à doença em apenas 6-12 meses (HUNCHAREK e MUSCAT, 1998).

O Glioblastoma Multiforme (GBMs) é caracterizado histologicamente pela presença de células neoplásicas pouco diferenciadas com áreas de proliferação vascular e/ou necrose em paliçada (SATHORNUSUMETEE et al., 2008), possuem descontrole da proliferação celular, infiltração difusa no parênquima cerebral, angiogênese, intensa resistência a apoptose e elevada instabilidade genômica (LAWS e SHAFFREY, 1999). Os GBMs são quase sempre infiltrativos e comumente apresentam características multifocais (DAI e HOLLAND, 2001).

Dessa forma, apesar de intensos esforços em desenvolver novas terapias, agentes efetivos ainda não estão disponíveis, tornando o tratamento limitado à cirurgia, quando possível, seguido de radio- e quimioterapia (BUTOWSKI et al., 2006). Assim, surge a necessidade de encontrar novos e efetivos agentes antitumorais. Neste sentido, a utilização de linhagens celulares tumorais constitui uma ferramenta de pesquisa muito útil para a avaliação de substâncias com potencial antiproliferativo, bem como para descoberta de novos alvos terapêuticos que possibilitem uma sobrevida maior aos pacientes diagnosticados com gliomas. De acordo com a literatura, a classe de heterociclos das tiazolidinonas possui importantes atividades biológicas, como por exemplo, a atividade anti-inflamatória (JAIN et al., 2012) e antitumoral (WANG et al., 2011). Portanto, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito de diferentes tiazolidinonas sobre a viabilidade da linhagem de glioblastoma humano U251MG em cultura.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

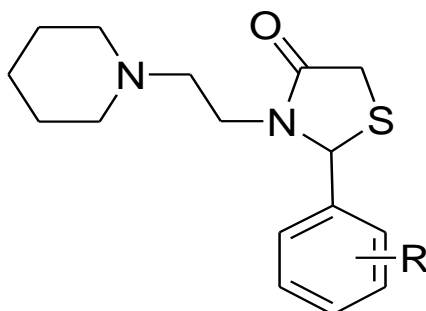
As 15 tiazolidinonas foram sintetizadas no Laboratório de Química Aplicada a Bioativos da UFPEL. As moléculas foram obtidas através de reações multicomponentes entre benzaldeídos substituídos, 2-aminoetilpiperidina e ácido

mercaptoacético sob refluxo de tolueno. A estrutura química de cada composto varia de acordo com o aldeído utilizado, revelando uma relação estrutura-atividade (Figura 1).

A linhagem de glioblastoma humano (U251MG) obtida da American Type Culture Collection (ATCC) foi cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), sendo mantida em estufa a 37°C em atmosfera umidificada com 5% de CO<sub>2</sub>. Após as células atingirem 90% de confluência, foram submetidas a tripsinização e contadas em câmara de Neubauer, ocorrendo depois deste processo a semeadura de 5.000 células por poço em placas de 96 poços. Essas placas foram mantidas em estufa a 37°C em atmosfera umidificada a 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas e após foram tratadas com diferentes tiazolidinonas em duas concentrações, 10 e 100 µM. Células tratadas com DMSO (solvente das moléculas) ou DMEM/10% SFB foram utilizadas como controle.

Após 72 horas de tratamento, a viabilidade celular foi determinada pelo método do MTT, o qual avalia a funcionalidade mitocondrial. Foram realizados 3 experimentos independentes e os dados foram analisados por ANOVA seguido pelo teste de Tukey.

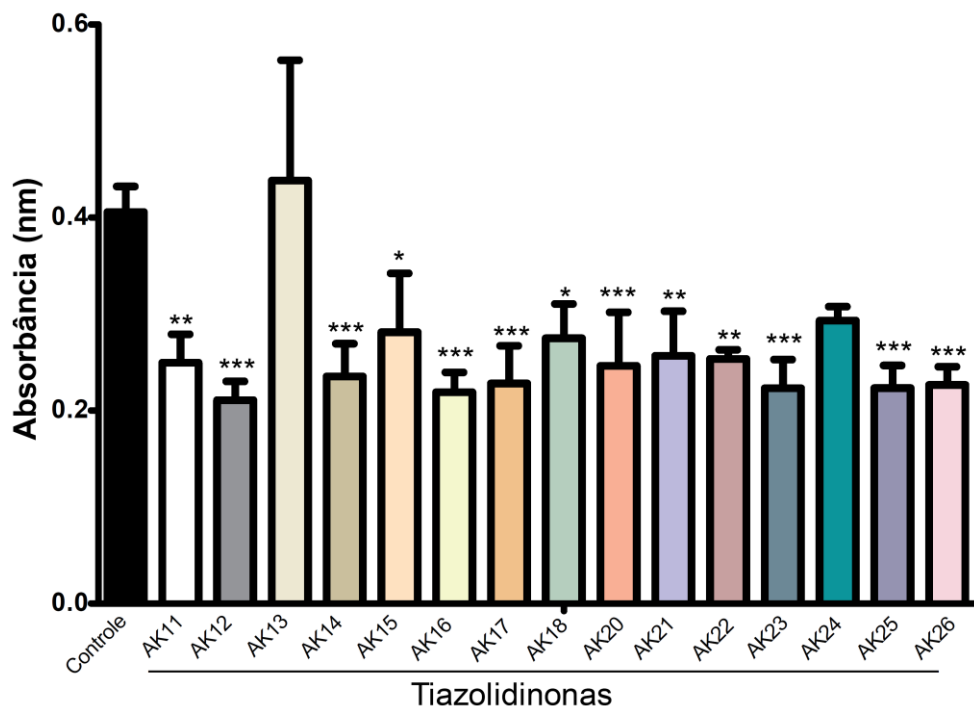
**Figura 1:** Estrutura geral das tiazolidinonas



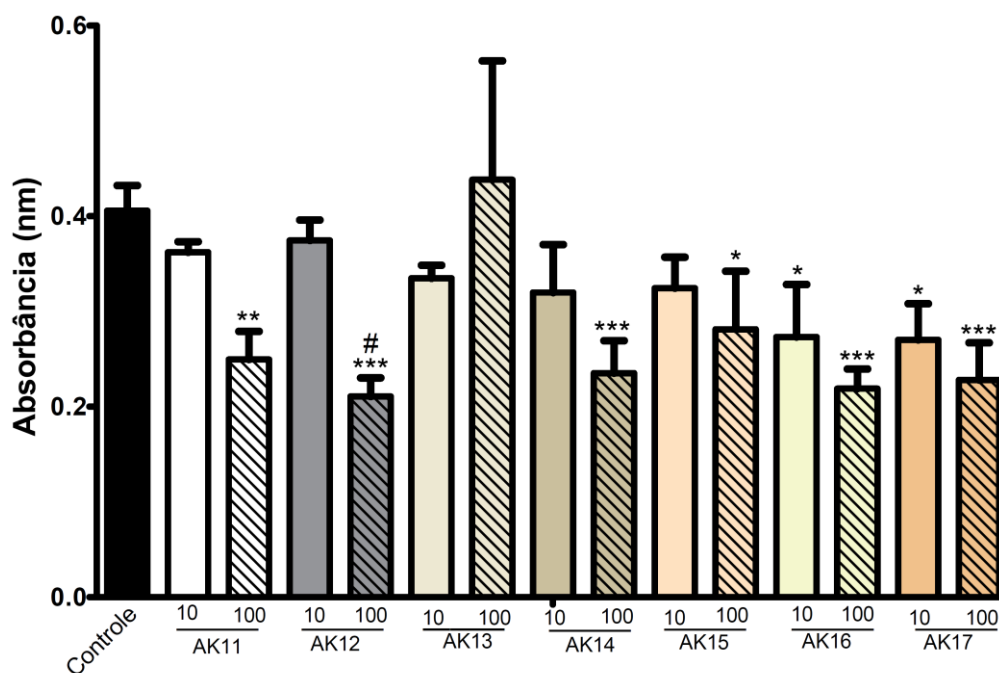
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com exceção das estruturas AK13 e AK24, as demais tiazolidinonas apresentaram atividade antitumoral frente a linhagem de glioblastoma U251MG. A redução da viabilidade tumoral na concentração de 100 µM foi observada na presença de 13 substâncias testadas, com redução na faixa de 30 a 40%, como pode ser observado na Figura 2.

No experimento seguinte, foi avaliado o efeito das tiazolidinonas AK11-AK17 em uma concentração menor, 10 µM. Nesta concentração, a redução da viabilidade celular alcançou níveis de 40%, destacando-se as estruturas AK16 e AK17 que mantiveram o mesmo padrão de atividade em ambas as concentrações. Os resultados estão reportados na Figura 3. Esses dados estão em acordo com a literatura, em que é relatado o efeito antitumoral de tiazolidinonas contra câncer de mama (ISLOOR et al., 2012), câncer de cólon, de pulmão e de fígado (WANG et al., 2011).



**Figura 2:** Atividade antitumoral de tiazolidinonas AK11-AK18 e AK20-AK26. Cultura de glioblastoma U251MG foram tratadas com 100  $\mu$ M das tiazolidinonas indicadas e a viabilidade celular foi avaliada pelo teste do MTT. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e foram analisados por ANOVA seguido de Tukey. \*diferença significativa quando comparado ao controle para um  $P \leq 0,01$ .



**Figura 3:** Análise comparativa da atividade antitumoral das tiazolidinonas AK11-AK17 em concentrações crescentes. Culturas de glioblastoma U251MG foram tratadas com 10 ou 100 uM das tiazolidinonas indicadas e a viabilidade celular foi avaliada pelo teste do MTT. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e foram analisados por ANOVA seguido de Tukey. \*diferença significativa quando comparado ao controle para um  $P \leq 0,01$ .

#### 4. CONCLUSÕES

A principal inovação desse trabalho é a síntese de novas tiazolidinonas ainda não reportadas na literatura e sua aplicação como potenciais agentes antigliomas. Considerando que o glioblastoma multiforme é um tumor letal e que não apresenta um tratamento efetivo, o efeito antitumoral apresentado por essa série de novas moléculas pode representar uma nova alternativa terapêutica para os pacientes, podendo ser utilizada isoladamente ou em combinação com a quimioterapia padrão. Mais estudos devem ser realizados para uma melhor caracterização do efeito antitumoral destas substâncias.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUTOWSKI NA, SNEED PK, CHANG SM . Diagnosis and treatment of recurrent high-grade astrocytoma. **J Clin Oncol**, Boston, 24 (8): 1273-1280,2006.
- DAI C, HOLLAND EC. Glioma models. **Biochim. Biophys. Acta**, Boston,1551:M19-M27,2001.
- DUNN, G. P.; DUNN, I. F.; CURRY, W. T. Focus on TILs; Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human glioma. **Cancer Immunity**, 7, New York, 12-28, 2007.
- JAIN, A.K.; VAIDYA, A.; RAVICHANDRAN, V.;KASHAW, S.K.; AGRAWAL, R.K. Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. La Jolla, 20 3378–3395, 2012.
- KONOPKA G, BONNI A. Signaling pathways regulating gliomagenesis. **Curr Mol Med**. Heidelberg, 3: 73-84, 2003.
- ISLOOR, A.M.; SUNIL,D.; SHETTY, P.; MALLADI, S.; PAI, K.S.R.; MALIYAKKL, N. Synthesis, characterization, anticancer, and antioxidant activity of some new thiazolidin-4-ones in MCF-7 cells. **Med Chem Res**. La Jolla, DOI: 10.1007/s00044-012-0071-5,2012.
- LAWS ER JR, SHAFFREY ME. The inherent invasiveness of cerebral gliomas: implications for clinical management. **Int J Dev Neurosci**. Galveston, 17: 413-420,1999.
- MAHER,CO AND RAFFEL, C. Neurosurgical treatment of brain tumors in children. **Pediatr Clin North Am.**, New York, 51 (2): 327-357,2004.
- PREUSSER M., HABERLER C., HAINFELLNER J.A., WIEN. Med. Wochenschr. 156 Malignant glioma: neuropathology and neurobiology. **Wien Med Wochenschr.**, Berlim, 156 332-337,2006.
- WANG, S.; ZHAO, Y.; ZHANG, G.; LV, Y.; ZHANG, N.; GONG, P.. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-one moiety as potential antitumor agent. **European Journal of Medicinal Chemistry** 46, Paris, 3509 – 3518, 2011.
- YIN, L. T.; FU, Y. J.; XU, Q. L.; YANG. J.; LIU, Z. L.; LIANG, A. H.; FAN, X. J.;et al. Potential biochemical therapy of glioma cancer. **Biochem. Bioph. Res. Co.**, 362, Stony Brook, 225-229,2007.