

ATIVIDADE CITOTÓXICA DE TIAZOLIDINONAS EM DIFERENTES LINHAGENS CELULARES

CLARISSA CAETANO DE CASTRO¹; DÉBORA SCOPEL E SILVA¹; DANIELA PIRES GOUVÊA²; ALICE KUNZLER²; WILSON CUNICO²; SILVIA DE OLIVEIRA HUBNER³

¹Universidade Federal de Pelotas. Doutoranda do PPGV – Laboratório de Virologia e Imunologia - clarissac.decastro@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

³Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária – sohubner@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Existe uma busca incessante por novos compostos visando o tratamento de diversas doenças. Princípios ativos mais eficazes e menos tóxicos estão sendo obtidos através da síntese de novos compostos ou por modificações estruturais em moléculas já conhecidas (LIMA, 2005).

Dentro desse contexto, as substâncias heterocíclicas se destacam devido a sua vasta aplicação no campo medicinal, visto que a maioria dos fármacos em uso clínico apresentam em sua estrutura no mínimo um núcleo heterocíclico.

As tiazolidinonas representam um importante grupo de substâncias heterocíclicas, estas apresentam em sua estrutura um anel de 5 membros com um átomo de enxofre na posição 1, um átomo de nitrogênio na posição 3 e uma carbonila na posição 4 (CUNICO et al., 2008).

Moléculas derivadas das tiazolidinonas estão sendo bastante estudadas por possuírem importantes propriedades biológicas, como: antimicrobiana, antiprotozoária, anti-inflamatória, analgésica, anticonvulsivante, tuberculostática e antiviral (JAIN et al., 2012). Neste sentido, torna-se fundamental estabelecer os níveis de toxicidade destas moléculas.

Este trabalho teve por objetivo determinar a toxicidade de 10 tiazolidinonas ainda não relatadas, em diferentes linhagens celulares e, assim, contribuir em futuras investigações da possibilidade do uso como agentes antivirais.

2. METODOLOGIA

Dez tiazolidinonas foram sintetizadas no Laboratório de Química Aplicada a Bioativos da UFPel. Cinco moléculas, identificadas como AKs (AK11, AK16, AK17, AK18 e AK20), foram obtidas através das reações “one-pot” entre 2 mmol de benzaldeídos substituídos e 1 mmol de 2-aminoetilpiperidina, sob agitação e refluxo de tolueno por duas horas, posteriormente foram adicionados 3 mmol de ácido mercaptoacético e a reação ocorreu por mais 3 horas. Também foram sintetizadas outras cinco moléculas, identificadas como Vs (V19, V20, V23, V28 e V29), as quais foram oriundas da reação multicomponente entre 1mmol de 2-picolilamina, 1mmol de benzaldeídos substituídos e 3 mmol de ácido mercaptoacético, sob agitação e refluxo de tolueno por 16 horas.

Para a avaliação da citotoxicidade, células CRFK (Crandell rees feline kidney), RK13 (Rabbit kidney), MDCK (Madin-Darby Canine kidney) e MDBK (Madin-Darby bovine kidney) foram preparadas em microplacas de 96 poços com E-MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, enrofloxacina (10 mg mL⁻¹)

e anfotericina B ($0,025 \mu\text{g mL}^{-1}$). As células foram mantidas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em uma estufa contendo 5% de CO_2 e após confluência, $100 \mu\text{L}$ de diluições seriadas ($9,5 - 630 \mu\text{g mL}^{-1}$) de cada molécula foram adicionadas. As placas foram incubadas por 72 horas nas mesmas condições. A citotoxicidade foi avaliada pela análise morfológica diária, em microscópio invertido, observando as possíveis alterações na desorganização do tapete celular e pelo ensaio com vermelho neutro, que determina a viabilidade celular. Após tratamento com as moléculas durante 72 horas foi retirado o E-MEM sobrenadante dos poços e adicionado meio contendo 3.3 mg^{-1} de vermelho neutro. Após 2 horas de incubação a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ com 5% de CO_2 , a solução foi removida e as células lavadas com E-MEM. O corante incorporado foi solubilizado pela adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução contendo etanol 50%, ácido acético 1% e água destilada q.s.p. A placa foi mantida a temperatura ambiente por 10 minutos para posterior leitura das densidades ópticas em um espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm. A porcentagem de viabilidade foi calculada mediante a fórmula $\text{AT/AC} \times 100$, sendo AT e AC a absorbância dos tratados e a absorbância dos controles, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A toxicidade das tiazolidinonas foi variável nos diferentes tipos celulares. Foram consideradas como não tóxicas as concentrações utilizadas que não resultaram em alterações nas células quando visualizadas em microscopia e que obtiveram viabilidade superior a 90% quando analisadas pelo ensaio do vermelho neutro.

As moléculas AK16 e AK17 testadas nas células CRFK, RK13, MDCK e MDBK apresentaram uma concentração tóxica a partir de $157,5 \mu\text{g/mL}$ e $78 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, enquanto que as moléculas AK11, AK18 e AK20 foram as que se mostraram mais citotóxicas, toxicidade observada acima de $19 \mu\text{g/mL}$.

As moléculas V19, V23, V28, V29 avaliadas nos cultivos celulares RK13, MDCK e MDBK foram tóxicas acima de $78 \mu\text{g/mL}$, assim como a molécula V20 nas células RK13 e MDCK, enquanto que na célula MDBK a concentração não tóxica foi a partir de $52 \mu\text{g/mL}$. Nas células CRFK as concentrações foram de $62,4 \mu\text{g/mL}$ com as moléculas V20, V23 e V28 e de $39 \mu\text{g/mL}$ com as moléculas V19 e V29.

4. CONCLUSÕES

As tiazolidinonas sintéticas apresentaram citotoxicidade variável, dependente do tipo celular em questão. A determinação da concentração adequada é imprescindível para garantir o uso seguro das tiazolidinonas, em estudos de atividades terapêuticas, sem causar prejuízos às funções celulares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUNICO, W.; GOMES, C.R.B.; VELLASCO JUNIOR, W.T. Chemistry and Biological Activities of 1,3-Thiazolidin-4-ones. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**. U.S.A. v.5, p.336-344, 2008.

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**, v. 11, p. 3378-3395, 2012.

LIMA, M.S. **Síntese, caracterização e estudo termoanalítico de novas imidazolidinas 2,4-diona e 2-tioxo-4-ona**. 2005. 98f. Dissertação de Mestrado em Química - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.