



## **ATIVIDADE ANTITUMORAL DE ANÁLOGOS MONOCARBOXÍLICOS CURCUMINÓIDES EM LINHAGENS DE CARCINOMA CERVICAL IMORTALIZADAS PELO HPV (SiHa E HeLa)**

Milene Cripa Pizzato de Araújo (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Vanessa Kaplum (PCF), Celso Vataru Nakamura (Orientador), e-mail: [cvnakamura@gmail.com](mailto:cvnakamura@gmail.com)

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde /Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Farmácia - Análise e Controle de Medicamentos

**Palavras-chave:** câncer cervical, monocarboxílicos curcuminoides, HPV.

### **Resumo:**

O efeito dos análogos monocarboxílicos curcuminóides foi analisado em células de câncer cervical, transformadas ou não pelo HPV. A análise de citotoxicidade foi realizada pelo método colorimétrico MTT. Os compostos A2K10A5, A2K10A10 e curcumina apresentaram atividade nas células HeLa e SiHa. Já o A2K10A2 foi ativo em célula SiHa e em células C33a os compostos ativos foram A2K10A5, A2K10A6, A2K10A10 e curcumina. Assim os análogos monocarboxílicos curcuminóides, por apresentarem atividade antitumoral, são bons candidatos para futuras pesquisas para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento das lesões cervicais.

### **Introdução**

A pesquisa de novos compostos antitumorais é necessária, já que os tratamentos atuais existentes apresentam eficácia variável, alta toxicidade, e podem ser incapazes de eliminar as células tumorais. Estudos prévios comprovaram a atividade antitumoral dos análogos curcuminoides em células transformadas em HPV, pela reativação de proteínas supressoras tumorais, inibidas pelo vírus. Este trabalho objetiva avaliar a eficácia *in vitro* dos análogos





monocarboxílicos curcuminoides, em células transformadas ou não pelo HPV de alto risco (16 e 18).

## **Materiais e métodos**

### *Cultura de células*

Foram utilizadas as células de câncer cervical transformadas pelo HPV de alto risco – HeLa (HPV-18) e SiHa (HPV-16), além da célula C33a não transformadas pelo vírus HPV. O meio de cultivo utilizado foi o Meio Eagle Modificado por Dubelcco (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino; as células foram mantidas a 37°C e tensão de 5% de CO<sub>2</sub>.

### *Avaliação de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT*

A avaliação da atividade antitumoral dos análogos monocarboxílicos curcuminoides foi realizada em células de carcinoma cervical transformadas pelo HPV 18 (Hela) e 16 (SiHa) e outra não transformada (C33a). Para isso, as células foram ressuspensas à concentração de  $2,5 \times 10^5$  cels/mL em meio DMEM acrescido de 10% de SFB, adicionado 100 µL nos poços da placa de 96 poços, e incubada por 24 h a 37 °C / 5% de CO<sub>2</sub>.

Os 15 compostos testados foram diluídos (1, 10, 50 e 100 µM), adicionados sobre a monocamada celular e as placas foram incubadas, por 48 h, a 37°C / 5% de CO<sub>2</sub>.

Após a incubação, os poços foram lavados com 100 µL de PBS, e foi adicionado 50 µL de solução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), na concentração de 2 mg/mL. A placa foi incubada por 4 h a 37 °C 5% de CO<sub>2</sub> (protegido da luz) e foi adicionado 150 µL de DMSO, tendo sido a leitura procedida em leitor de micro-placa (BIO-TEK Power Wave XS) a 570 nm. A concentração citotóxica para 50% das células (CC<sub>50</sub>) foi determinada, então, como a concentração capaz de reduzir 50% da densidade óptica das células tratadas em comparação com o controle, sendo a análise por meio de regressão linear.

## **Resultados e Discussão**

Os análogos monocarboxílicos curcuminoides foram ativos em células SiHa, sendo que os compostos que apresentaram efetividade foram:





A2K10A2, com concentração citotóxica para 50% das células ( $CC_{50}$ ) de 62,8  $\mu\text{M}$ ; A2K10A10 mostrou  $CC_{50}$  de 37,6  $\mu\text{M}$ ; A2K10A5, obteve  $CC_{50}$  igual a 86,6  $\mu\text{M}$  e a Curcumina de 92,8  $\mu\text{M}$ .

Quando testadas em células HeLa o composto A2K10A5 evidenciou atividade ( $CC_{50}$ ) na concentração de 85,5  $\mu\text{M}$ ; A2K10A10 em 37,3  $\mu\text{M}$  e a curcumina em 68,3  $\mu\text{M}$ . Já para as células C33A, não transformadas pelo HPV, os resultados do  $CC_{50}$  para os compostos A2K10A5, A2K10A6, A2K10A10 e curcumina foram 83,8, 79,4, 48,8 e 61,6  $\mu\text{M}$ , respectivamente.

Relacionando a estrutura química dos análogos monocarboxílicos curcuminoides com a atividade antitumoral, podemos verificar que o efeito exercido pelas drogas A2K10, A2K10A2, A2K10A5, A2K10A10 e curcumina nas células HeLa, provavelmente decorre da presença do grupo químico metóxi. Já o composto A2K10A6 foi ativo somente em células C33a, provavelmente por ser um nitrocomposto. Já na célula SiHa, apenas os compostos que continham metóxi associado a outros radicais (como haleto de bromo, dioximetano ou butanona) apresentaram atividade antitumoral.

**Tabela 1 –  $CC_{50}$  das drogas testadas nas células HeLa, SiHa e C33a.**

Análogos monocarboxílicos curcuminoides	HeLa	SiHa	C33a
	$CC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	$CC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	$CC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
A2K10	46,5 $\pm$ 6,21	>100	67,6 $\pm$ 0,04
A2K10A2	>100	>100	>100
A2K10A5	>100	>100	>100
A2K10A6	>100	>100	>100
A2K10A9	>100	>100	>100
A2K10A10	>100	>100	>100
A2K10A11	>100	>100	>100
A2K10A13	>100	>100	>100
A2K10A14	>100	62,8 $\pm$ 6,18	>100
A2K10A23	85,5 $\pm$ 7,52	86,6 $\pm$ 12,33	83,8 $\pm$ 15,51





<b>A11K10A11</b>	>100	>100	79,4 ± 8,81
<b>A5K10A5</b>	>100	>100	>100
<b>A5K10A10</b>	37,3 ± 5,43	37,6 ± 3,62	48,8 ± 4,56
<b>A5K10A13</b>	>100	>100	>100
<b>Curcumina</b>	69,8 ± 7,36	92,8 ± 6,98	61,6 ± 4,83

CC<sub>50</sub>: concentração capaz de reduzir 50% da densidade óptica das células tratadas em relação ao controle.

## Conclusões

Em razão da atividade antitumoral, os análogos monocarboxílicos curcuminoides são bons candidatos para futuras pesquisas para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento das lesões cervicais.

## Agradecimentos

Ao CNPq, pelo apoio e pela concessão de bolsa de iniciação científica.

## Referências

Lizano, Marcela. Role of Innate Immunity against Human Papillomavirus (HPV) Infections and Effect of Adjuvants in Promoting Specific Immune Response. Viruses, México, 28 outubro, 2013.

P.R. Debata et al. A novel curcumin-based vaginal cream Vacurin selectively eliminates apposed human cervical cancer cells. Gynecologic Oncology, Elsevier, Staten Island, Usa, v.129, dezembro, 2012.

SIGNH, Mayank; SIGNH, Neeta. Molecular mechanism of curcumin induced cytotoxicity in human cervical carcinoma cells. Springer Science+Business Media, LLC, fevereiro, 2009.

