



ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS BENZOXAZÓIS DE COBALTO

Cristiano Wiederkehr¹

Dione Silva Corrêa²

Resumo

O câncer é caracterizado como um conjunto de doenças, que tem como sua principal característica, o crescimento celular descontrolado ou inadequado das células, causado pela desregulação dos processos bioquímicos normais, originando um novo tecido designado neoplásico. O interesse em química de coordenação está aumentando continuamente com a síntese de ligantes orgânicos que apresentam importância biológica. Benzoxazóis substituídos na posição 2 e seus derivados fazem parte de uma classe de compostos biológicos ativos, possuindo um amplo espectro de atividades farmacológicas: antifúngicas, antibacteriana, anticâncer, antiviral, anti-inflamatória. Neste trabalho foram sintetizados complexos de cobalto de derivados 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol e a análise prévia da citotoxicidade em células tumorais. O ensaio colorimétrico de MTT foi empregado para avaliação da citotoxicidade dos compostos. Os complexos benzoxazóis de cobalto avaliados apresentaram potencial antitumoral sobre linhagens celulares de mama (MCF-7) e cérebro (U-251).

Palavras chave: Ação antitumoral; 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol; Complexos de Cobalto; Citotoxicidade.

INTRODUÇÃO

Com o constante avanço na busca pelo tratamento do câncer, cresce o interesse em desenvolver novos compostos que sejam capazes de inibir o crescimento de células anormais no organismo. As células tumorais caracterizam-se por um crescimento invasivo e descontrolado, causado pela desregulação dos processos bioquímicos normais, originando um novo tecido designado neoplásico (BERG et al., 2008).

¹ Acadêmico do curso de Química Industrial / ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS – cristianowiederkehr@hotmail.com

² Professora do curso de Química e do Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada/ ULBRA – dione.silvacorrea@gmail.com

Benzoxazóis são compostos orgânicos aromáticos com sua estrutura formada pela fusão de um anel de benzeno com um anel de oxazol (Fig. 1). Os núcleos benzazóis substituídos na posição 2 fazem parte de uma classe de compostos biológicos ativos, possuindo um amplo espectro de atividades farmacológicas, tal como antifúngicas, antibacteriana, anticâncer, antiviral, anti-inflamatória (MABIED et al., 2014). Destacando-se a família dos derivados 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol.

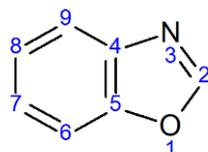


Figura 1. Estrutura química do benzoxazol (Fonte: autor)

Há evidências que a complexação de íons metálicos é importante para a citotoxicidade de derivados tipo benzazóis (McKEE et al., 2008). As aplicações citadas permitem compreender o interesse pela síntese de compostos desta família diferentemente substituídos.

O presente trabalho centra-se na síntese e análise de complexos metálicos de cobalto de ligantes da família 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol, a fim de avaliar o efeito dos ligantes benzoxazóis sobre a atividade contra linhas de células cancerosas, correlacionando a ligação do metal com a citotoxicidade dos compostos.

METODOLOGIA

Os ligantes Benzoxazóis foram sintetizados através de reações de condensação entre derivados do ácido 2-hidroxibenzóico com anilinas *orto* substituídas em presença de um agente de desidratação, conforme a figura 2:

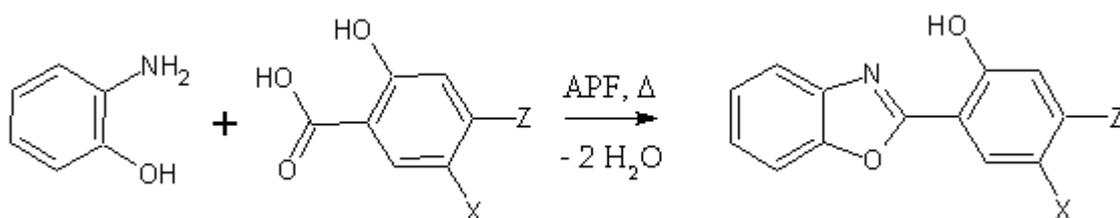


Figura 2. Reação de obtenção dos ligantes benzoxazóis (Fonte: autor)

Em um balão foram adicionados o derivado carboxílico aromático com a anilina *orto* substituída em ácido polifosfórico (APF). A mistura foi agitada, sob aquecimento a 180 °C, por um período de 4 horas. Após decorrido o tempo de reação, a mistura reacional foi vertida em água gelada e o precipitado obtido foi filtrado e neutralizado com uma solução de bicarbonato de sódio 10% e lavado com água, até atingir pH neutro. Após filtrado o produto foi levado a estufa a uma temperatura de 60°C para secagem. Para a purificação foi empregada a cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando diclorometano como eluente.

A complexação com o metal consistiu na reação do ligante benzoxazol com um sal inorgânico do metal, resultando no complexo metálico, conforme a figura 3:

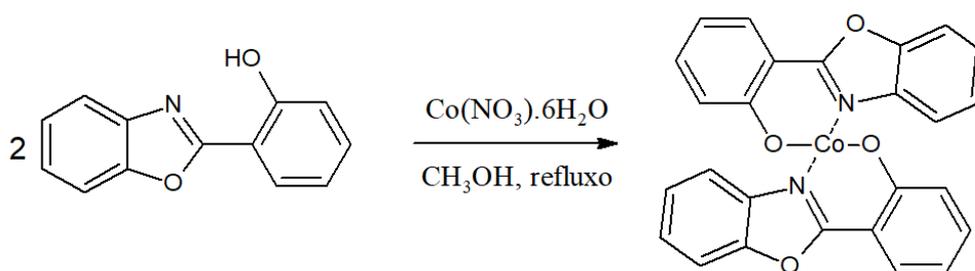


Figura 3. Reação de complexação do benzoxazol com o sal metálico (Fonte:autor)

O ligante benzoxazol foi solubilizado em metanol com algumas gotas de NaOH 10%. Paralelamente, o nitrato de cobalto foi solubilizado em metanol e adicionado gota a gota ao balão sob agitação. Deixou-se o sistema em refluxo por 24 h. Ao término da reação, os produtos obtidos nas sínteses dos complexos metálicos foram purificados através da filtração à vácuo dos precipitados e lavados com 20 mL de uma solução de bicarbonato de sódio 10%, 20 mL água destilada quente, deixando o precipitado secar ao ar e após lavando-o com 10 mL de metanol e então seco à temperatura baixa.

A citotoxicidade dos complexos metálicos de cobalto foi testada usando o ensaio na linha celular de câncer da mama (MCF-7), cérebro (U-251) e a linha celular saudável (L929).

As células foram mantidas em frascos de cultura de 25 cm² com meio de cultura Dulbecco's contendo 10% de soro fetal bovino (v/v), a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂ e umidade de no mínimo 95%. A citotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio colorimétrico de MTT ((3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)). Culturas em triplicatas foram expostas por 24 h aos compostos em doses seriadas variando de 0 a 100µL. Após os tratamentos, as células forma incubadas com 100µL de solução de MTT (5 mg/mL de MTT) em meio de cultura sem soro fetal bovino e sem fenol, a 37°C por 4 horas. Após a

incubação, o sobrenadante foi removido cuidadosamente e os cristais foram solubilizados em 200µL de DMSO e quantificados em um leitor de microplacas (Multiskan, UNISCIENCE), em densidade ótica de 540 nm. %. Nos testes realizados foram utilizadas doses de 25 ug/mL como parâmetro para avaliar o potencial citotóxico do composto, por estar próximo a dose (30 µg/mL) considerada pelo National Cancer Institute (EUA) como sendo de interesse para extratos brutos com potencial anticâncer.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através de reações de condensação entre derivados carboxílicos aromáticos com anilinas *orto* substituídas em presença de um agente de desidratação, obtiveram-se quatro derivados 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol com rendimentos na faixa de 70%. Todas as propriedades físicas e espectroscópicas (PF, UV, RMN) destes compostos foram avaliadas e confirmaram a estrutura.

Foram obtidos quatro complexos metálicos de cobalto com elevado grau de pureza e bons rendimentos.

- cobalto-bis-2-(4'-amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol foi obtido com rendimento de 73 % e com ponto de fusão em 227 °C.

- cobalto-bis-2-(5'-acetamida-2'-hidroxifenil)benzoxazol foi obtido com rendimento de 84 % e com ponto de fusão em 374 °C.

- cobalto-bis-2-(5'-acetamida-2'-hidroxifenil)benzoxazol foi obtido com rendimento de 32 % e com ponto de fusão em 258-260 °C.

- cobalto-bis-2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol foi obtido com rendimento de 49 % e com ponto de fusão em 120 °C.

Neste estudo os complexos cobalto-bis-2-(5'-acetamida-2'-hidroxifenil)benzoxazol e o cobalto-bis-2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol foram testados nos ensaios de citotoxicidade, os demais já haviam sido testados por nosso grupo de pesquisa e os dados foram usados para fins de comparação.

Conforme a International Standards (ISO10993-6), que normatiza testes de citotoxicidade *in vitro* para avaliação de compostos para uso na área da saúde, considera-se como um produto de potencial citotóxico, os compostos que reduzem a viabilidade celular para valores inferiores a 70%. A figura 4 mostra os valores de viabilidade celular (%), conforme pode ser visto, os complexos estudados apresentaram percentuais bastante inferiores ao exigido pela ISO10993-6, sendo considerados citotóxicos às células tumorais

avaliadas. O Cobalto-bis-2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol mostrou o melhor potencial como agente antitumoral frente a linhagem celular U-251. Enquanto o Cobalto-bis-2-(5'-acetamida-2'-hidroxifenil)benzoxazol mostrou similaridade para as diferentes linhagens celulares estudadas.

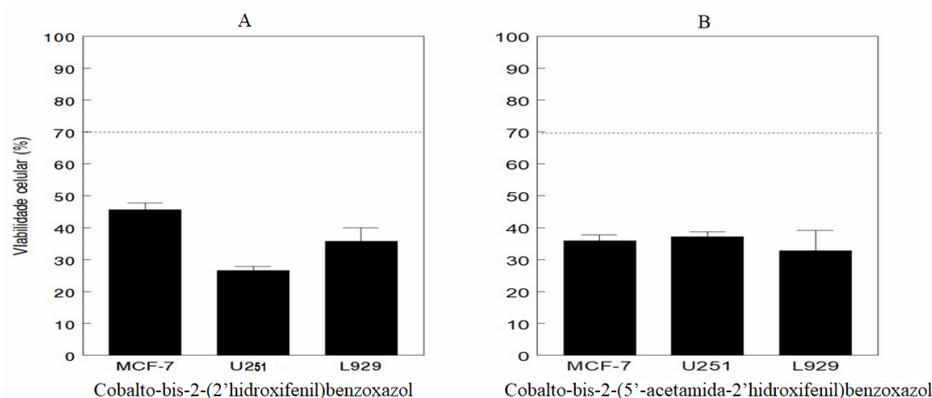


Figura 4. Resultados da citotoxicidade dos complexos metálicos

Os complexos diminuíram a viabilidade celular para valores menores que 46 %, mostrando assim a eficiência dos compostos contra células tumorais. Porém, observa-se também, que a viabilidade de células normais L929, diminuíram tanto quanto as linhagens celulares tumorais MCF-7 e U-251.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia empregada para a síntese dos complexos de cobalto da família 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol mostrou-se eficiente. Os ensaios preliminares dos complexos metálicos de cobalto do 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol indicam que os compostos apresentam potencial para serem empregados como agentes antitumorais, visto que a ISO10993-6 diz que para ser considerado um agente antitumoral ele precisa diminuir a viabilidade celular para números abaixo de 70%, e os complexos sintetizados nessa pesquisa alcançaram resultados abaixo de 46 % na viabilidade celular de células linhagens celulares MCF-7 do câncer de mama e U-251 da linhagem de células de cérebro.

REFERÊNCIAS

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L.. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 6. Ed, 2008.

McKEE, M. L.; KERWIN, S. M. Synthesis, metal ion binding, and biological evaluation of anticancer 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole analogs of UK-1. *Bioorg Med Chem.*, v. 16, n.4, p.1775-83, 2008.

MABIED, A. F. et al. Crystal Structure and Stereochemistry Study of 2Substituted Benzoxazole Derivatives. *ISRN Organic Chemistry*, v. 2014, Article ID 728343, 2014