

## **Introdução**

Amidas graxas endógenas (endocanabinóides) possuem diversas atividades biológicas, possibilitando o conhecimento de vários processos celulares e o desenvolvimento de novos medicamentos (Aloe et al, 1993). São moléculas nitrogenadas formadas a partir de longas cadeias saturadas ou insaturadas de ácidos graxos (Bezuglov et al, 1998) encontradas em microorganismos, plantas e animais e recentemente descritas como uma família de lipídios biologicamente ativos (Cravatt et al, 1995).

Amidas graxas têm sido sintetizadas no Laboratório Kolbe de Síntese Orgânica da Escola de Química e Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) utilizando fontes renováveis.

Considerando a importância da produção de moléculas sintéticas com possíveis atividades biológicas e a busca por novos agentes antitumorais que sejam efetivos, mas menos tóxicos em células normais, o objetivo deste trabalho foi avaliar a citotoxicidade da amida graxa derivada de fontes renováveis, Palmitoil Pirrolidil Amida (PPA), na linhagem eritroleucêmica humana K562 e em linfócitos não tumorais.

## **Metodologia**

As células K562 foram mantidas em meio RPMI-1640 com 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico e antimicótico, em garrafas de cultura a 37°C.

Para cada experimento as células K562 foram centrifugadas, lavadas com PBS e suspensas em meio sem  $\beta$ -mercaptoethanol para a concentração final de  $5 \times 10^5$  células/ml e tratadas em meio com diferentes concentrações de PPA (10; 25; 50; 100; 200 e 500  $\mu\text{g/ml}$ ). O grupo controle recebeu o mesmo volume de álcool e água estéril. Os linfócitos não tumorais foram coletados de homens voluntários saudáveis. Após 24 h de ativação com Fitohemaglutinina liofilizada (5 $\mu\text{g/ml}$ ) estes foram tratados com PPA nas mesmas condições acima.

A viabilidade celular foi avaliada através do ensaio MTT de acordo com Trindade et al. (1999) imediatamente, 24, 48 e 72 h após incubação com PPA. As células K562 também foram avaliadas pela técnica de exclusão por azul de Trypan por permitir a distinção entre inibição de proliferação e citotoxicidade.

Cada experimento foi repetido em três independentes ocasiões usando réplicas das amostras. Os dados foram analisados utilizando ANOVA com pós-teste de Tukey. Os valores de p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

## **Resultados e Discussão**

Para K562, pelo teste de viabilidade por azul de Trypan, a concentração de 10  $\mu\text{g/ml}$  já apresentou efeito de inibição de proliferação após 72 h de exposição em relação ao controle enquanto as concentrações de 25 e 50  $\mu\text{g/ml}$  apresentaram este efeito após 48 h de exposição. As concentrações de 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$  apresentaram efeito citotóxico após 24 h de exposição e a de 500  $\mu\text{g/ml}$  foi citotóxica imediatamente após exposição. Pelo ensaio MTT a concentração de 500  $\mu\text{g/ml}$  foi citotóxica em 24 h de exposição e após 48 h todas as concentrações apresentaram diminuição no número de células com relação ao controle. Com a utilização destas técnicas podemos afirmar que as

concentrações de 100, 200 e 500 µg/ml apresentaram efeito citotóxico e as de 10, 25 e 50 µg/ml, efeito de inibição de proliferação.

Para os linfócitos não tumorais as concentrações de 200 e 500 µg/ml apresentaram diminuição no número de células em 24 h com relação ao controle. As concentrações de 25, 50 e 100 µg/ml apresentaram diminuição no número de células apenas após 72 h de exposição e a concentração de 10 µg/ml não apresentou diferença significativa com relação ao controle.

### **Conclusões**

PPA provocou efeitos citotóxicos e de inibição de proliferação na linhagem K562.

Os linfócitos não tumorais apresentaram menor sensibilidade a PPA quando comparados a linhagem tumoral K562.

Estes resultados associados permitem sugerir uma possível capacidade antitumoral à amida graxa sintética PPA.

### **Referências**

- ALOE, L.; LEON, A.; LEVI-MONTALCINI, R. **A proposed autacoid mechanism controlling mastocyte behaviour.** Agents Action, 1993. 39: 145-147.
- BEZUGLOV, V.V.; BOBROV, M.Y.; ARCHAKOV, A.V. **Bioactive amides of fatty acids.** Biochemistry – Moscow, 1998. 63: 22-30
- CRAVATT, B.F.; PROSPERO-GARCIA, O.; SUIZDAK, G.; GILULA, N.B.; HENRIKSEN, S.J.; BOGER, D.L.; LERNER, R.A. **Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep.** Science 1995. 268: 1506-1509.
- TRINDADE, G.S.; CAPELLA, M.A.M.; CAPELLA, L.S.; AFFONSO-MITIDIER, O.R.; RUMJANEK, V.M. **Differences in sensitivity to UVC, UVB and UVA radiation of a multidrug-resistant cell line overexpressing P-glycoprotein.** Photochemistry and Photobiology, 1999. 69:694-699.