

**Universidade Federal do Ceará**  
**Unidade Multiusuário NPDM**

**Avaliação de vitanolídeos na modulação de proteínas quinases com  
atividade antitumoral**

**1. Informações do Projeto**

**Proponente:** MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO

**CPF:** 04854543353

**Comitê de Ética:** Não foi submetido a nenhum comitê

**2. Descrição**

Os vitanolídeos são um grupo de esteróides C28 que ocorrem naturalmente, construídos sobre um esqueleto de ergostano em que C-26 e C-22, ou C-26 e C-23, são oxidados para formar uma  $\alpha$ -ou  $\beta$ -lactona. Os vitanolídeos foram estudados de acordo com suas diversas atividades farmacológicas como antibacteriano, antileishmanial, antitripanosomal, anti-inflamatório, antitumoral, citotóxico, bem como pela indução da atividade da quinona redutase e proteção contra hepatotoxicidade induzida por CCl<sub>4</sub>. Estudos evidenciam outras substâncias dessa mesma classe capazes de reduzir a atividade das ciclinas dependente de quinases 1 (Cdk 1) e prevenir a formação do complexo Cdk1/ciclina B1 que é a chave para a progressão do ciclo celular. A desregulação ou superexpressão de proteínas cinases se relaciona com a progressão de diversas doenças, como câncer, diabetes, desordens autoimunes e/ou inflamatórias, neurológicas e cardiovasculares. Visto resultados prévios em linhagens tumorais humanas de vitanolídeos purificados de extratos de *Withania somnifera* e *Acnistus arborescens* que apresentaram atividades citotóxicas, parada do ciclo celular com acúmulo na fase mitótica, além de parada do ciclo também na fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> e mecanismos de morte por apoptose e também por necrose, esse projeto visa fundamentalmente dar continuidade aos estudos realizados com essas moléculas já isoladas, avaliando a atividade destes quanto a modulação de proteínas quinases e correlacionar tais efeitos com o potencial antitumoral desses compostos. As substâncias a serem utilizadas nos experimentos não possuem registro SISBIO.

**3. Justificativa de Uso**

Será necessário a utilização do citômetro BD FACSVerse do Laboratório de Citometria de Fluxo da Unidade Multiusuário do NPDM/ UFC, para análise da detecção da expressão do receptor de membrana celular EGFR; avaliação da integridade da membrana, densidade de células e morfologia celular, análise de conteúdo e fragmentação de DNA (ciclo celular) de células sincronizadas e sem sincronização e avaliação da externalização da fosfatidilserina  $\gamma$  Anexina V; determinação do potencial transmembrânico de mitocôndria (Rhodamina 123); avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs); e avaliação de ligação de cálcio intracelular. As avaliações serão realizadas nas linhagens A-549 e/ou NCI-H460, ambas linhagens celulares tumorais humanas de pulmão utilizando-se 4 substâncias isoladas e 2 controles (um positivo e outro negativo). Os experimentos a serem realizados no citômetro não será com as duas linhagens para todas as avaliações. Alguns experimentos será com a linhagem NCI-H460 e outros com a A-549.

Para tais experimentos serão utilizados os reagentes iodeto de propídio (PI), o marcador de apoptose Anexina V e 7-AAD, corante Fluo-4 Direct fluo-3, cuja fluorescência aumenta de acordo

com a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, Rodamina 123, corante diacetato de 2,7-diclorodihidrofluoresceína (DCHF-DA) para determinação de EROs e Alexa-Fluor-488 para marcação do EGFR.

As substâncias estão submetidas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado sob cadastro nº A86B918.

O número estimado de agendamentos, considerando o número de amostras e as repetições necessárias para um resultado confiável, será de 30 turnos.

## **4. Participantes do Projeto**

### **Participante 1**

Nome: Gabriel Gusmão Grisi Rocha

Email: gabriellgusmao@gmail.com