

Explorando Derivados de Aciltioureas como Alternativas Terapêuticas no Tratamento do Câncer Colorretal

ADRYO NOBRE TAVARES¹; RENIEIDY FLÁVIA CLEMENTE DIAS²; IANKA
JACONDINO NUNES³; JENIFER SAFFI⁴; ADRIANA CASTRO PINHEIRO⁵

¹Universidade Federal De Pelotas (UFPEL) – adryo.nobre.tavares12@gmail.com

²Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – flaviaufrgs04@gmail.com

³Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) -
ianka.nunes@ufcspa.edu.br

⁴Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - jenifers@ufcspa.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – acpinheiro@ufpel.edu.br

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), foram registrados mais de 500 mil novos casos da doença no ano de 2023, sendo o câncer colorretal o segundo com mais diagnosticados entre os brasileiros com mais de 45 mil casos, e o terceiro com mais mortes em 2021 com mais de 21 mil mortes (GOV, 2023).

A quimioterapia é um dos tratamentos mais utilizados contra o câncer, envolvendo o uso de compostos químicos, conhecidos como quimioterápicos. Embora seja uma estratégia essencial, ela pode causar uma série de efeitos colaterais, como toxicidade neurológica, renal e gastrointestinal, entre outros. Além disso, a quimiorresistência é um fator adicional que compromete a eficácia do tratamento. Esses desafios impactam negativamente a qualidade de vida dos pacientes, além de tornarem a quimioterapia um procedimento de alto custo (Zoñ et al., 2023). Por isso, a inovação no tratamento quimioterápico, seja através do desenvolvimento de terapias mais seletivas para tipos específicos de tumor ou de quimioterápicos mais acessíveis, que possam ser incorporados ao Sistema Único de Saúde (SUS), é de grande importância para a área da saúde.

Uma abordagem promissora para enfrentar esses desafios é o desenvolvimento de terapias que combinem quimioterápicos com compostos antioxidantes. Os antioxidantes atuam neutralizando o estresse oxidativo, que é frequentemente exacerbado durante o tratamento quimioterápico e contribui tanto para a toxicidade em células saudáveis quanto para o desenvolvimento da quimiorresistência. A sinergia de compostos antioxidantes com quimioterápicos clínicos, no regime terapêutico, pode proteger as células normais dos danos oxidativos induzidos pela quimioterapia, potencialmente reduzindo os efeitos colaterais, como a toxicidade neurológica e renal. Além disso, antioxidantes têm mostrado potencial em sensibilizar células tumorais à quimioterapia, o que pode ajudar a superar a resistência ao tratamento e melhorar sua eficácia.

Aciltioureas são uma classe de compostos orgânicos com potencial atividade antitumoral e antioxidante ainda pouco explorada. Nosso grupo de pesquisa está focado no estudo de novas terapias antitumorais. Neste trabalho apresentamos a síntese, caracterização e avaliação antioxidante e antitumoral de dois novos compostos derivados da classe aciltioureas, visando a bioprospecção de novos fármacos para quimioterapia do câncer colorretal.

2. ANÁLISE DE MERCADO

Em 2022 o Sistema Único de Saúde (SUS) gastou R\$3,8 bilhões com tratamento de câncer, sendo R\$3 bilhões com quimioterapia. Diante deste desafio, torna-se de extrema importância pesquisas de desenvolvimento de novos compostos e estratégias terapêuticas mais eficientes e acessíveis. Compostos da classe das aciltioureas, por exemplo, destacam-se por utilizarem reagentes de

baixo custo e por sua síntese simples, tornando-os candidatos promissores para o desenvolvimento de tratamentos mais econômicos e inovadores.

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

A estratégia para o desenvolvimento e implementação de um novo quimioterápico incluiu a síntese e caracterização de dois compostos derivados da classe aciltioureia, com uma abordagem que posiciona a atividade antioxidante como coadjuvante no tratamento antitumoral. Até o momento, o processo envolveu ensaios em células humanas saudáveis e tumorais, buscando verificar, a citotoxicidade, genotoxicidade e seletividade dos compostos a células tumorais. Adicionalmente, esses ensaios foram realizados para assegurar a segurança dos compostos, reforçando seu papel como uma opção terapêutica inovadora. A atividade antioxidante foi avaliada por ensaios *in vitro*.

3.1. Síntese e caracterização dos compostos derivados de aciltiureias

N-[(6-cloro-1,3-benzotiazol-2-il)carbamotioil]benzamida (**1**): O composto **1** foi obtido através da adição gota a gota de uma solução de tiocianato de potássio (1,5 mmol, 0,1458 g) em acetona a uma solução de cloreto de benzoíla (1,5 mmol, 0,2108 g) solubilizado em 10 mL de acetona. A mistura reacional foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 2 horas para a formação *in situ* do intermediário isotiocianato de benzoíla. Em seguida, uma solução de 2-amino-4-nitrofenol (1,5 mmol, 0,2311 g) em acetona foi adicionada gota a gota na mistura reacional. A reação permaneceu sob agitação magnética por um período de 24 horas em temperatura ambiente. Após, o solvente foi evaporado a vácuo e o sólido resultante foi lavado com hexano. O composto **1** (**Esquema 1**) foi obtido um sólido de cor amarela com rendimento de 83%. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13,24 (s, 1H), 11,71 (s, 1H), 9,79 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,05 (dd, J = 9,0, 2,8 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,67 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 7,13 (d, J = 9,0 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ 178,09; 168,52; 155,16; 138,51; 133,25; 131,95; 128,77; 128,45; 122,52; 117,83; 114,86.

N-((2-hidroxi-4-nitrofenil) carbamotioil) benzamida (**2**): O composto **2** foi obtido conforme descrito para **1**, adicionando 6-clorobenzo[β]thiazol-2-amino (1,5 mmol, 0,2759 g) no meio reacional. O composto **2** foi obtido com um sólido amarelo com rendimento de 87%. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 14,25 (s, 1H), 12,60 (s, 1H), 8,18-8,10 (m, 2H), 8,03-7,99 (m, 1H), 7,78 (dd, J = 11,4, 8,6 Hz, 1H), 7,67 (dt, J = 9,7, 7,4 Hz, 1H), 7,56 (td, J = 7,8, 1,8 Hz, 2H), 7,48 (ddd, J = 10,7, 8,6, 2,2 Hz, 1H). RMN ¹³C (101 MHz, DMSO-d₆): δ 168,91; 159,54; 133,45; 132,92; 128,89; 128,60; 128,43; 128,31; 127,72; 126,90; 126,45; 121,54; 121,37.

3.2 Ensaios da atividade antioxidante dos compostos 1 e 2

A capacidade antioxidante dos compostos **1** e **2** foi avaliada utilizando os radicais livres sintéticos ABTS⁺ e DPPH. Os ensaios foram realizados com diferentes concentrações dos compostos, variando de 1 μM a 200 μM. Após a adição do radical, a solução foi incubada na ausência de luz por 30 minutos. Os ensaios foram conduzidos em triplicata de forma independente. As leituras de absorbância das soluções foram realizadas em um espectrofotômetro UV-vis, com medições a 517 nm para os ensaios com DPPH e a 734 nm para os ensaios com ABTS⁺. A redução inicial das absorbâncias foi considerada um indicativo da capacidade antioxidante dos compostos. Os resultados foram obtidos em forma de porcentagem de controle. Os valores de inibição de 50% dos radicais (IC₅₀), foram

calculados usando o software GraphPad Prisma 8.0. Como controle positivo foi utilizado o Trolox, um composto já conhecido derivado da vitamina E.

3.3. Cultura celular e ensaios de viabilidade celular

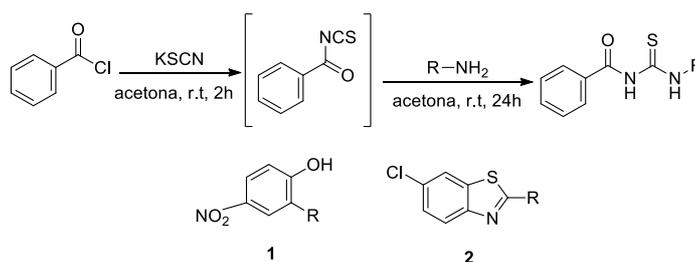
Foram cultivadas células de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (V79), fibroblastos de pulmão humano saudável (MRC-5), adenoma colorretal humano (SW-620), carcinoma colorretal humano (HCT-116) e adenocarcinoma mamário humano (MCF-7). As células utilizadas neste estudo foram adquiridas da American Tissue Culture Collection (ATCC) e cultivadas sob condições padrão de temperatura a 37 °C, em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. Após 24 h, as foram tratadas com os compostos **1** ou **2** em concentrações de 1-200 µM por 72 h. O ensaio de viabilidade celular pela redução do brometo (MTT) e o ensaio vermelho neutro avaliaram o potencial citotóxico. A concentração do composto necessária para inibir 50% do crescimento celular (IC₅₀) foi determinada pelo GraphPad Prism.

3.6 Ensaio Genotoxicidade: análise de danos à molécula de DNA

O ensaio cometa alcalino foi utilizado para detectar danos no DNA de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (V79). As células foram semeadas e tratadas por 24 horas com compostos nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 µM. A doxorrubicina (5 µM) foi usada como controle positivo. Após o tratamento, as células foram misturadas com agarose de baixo ponto de fusão e aplicadas em lâminas. As lâminas foram submetidas à lise por 24 horas, seguidas de eletroforese em tampão alcalino e neutralização. Após fixação em etanol, as lâminas foram coradas com nitrato de prata e analisadas. Foram classificados 100 núcleos por lâmina, de acordo com o padrão de cauda do cometa, e o índice de dano (DI) variou de 0 (sem danos) a 400 (dano máximo).

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

Os compostos foram sintetizados com bons rendimentos. A rota geral de síntese é apresentada no Esquema 1. Os compostos foram caracterizados por RMN ¹H e ¹³C.



Esquema 1. Reação da síntese dos compostos **1** e **2**.

Os dados da atividade antioxidante são expressos em porcentagem de captura dos radicais livres, com IC₅₀ de 26,5 µM para o composto **2** em DPPH, em comparação ao Trolox (IC₅₀=12,5) o composto apresentou concentração superior de IC₅₀, o composto **1** não foi possível calcular o IC₅₀. Para o radical ABTS⁺ os resultados de IC₅₀ são 25,4µM e 4,8 µM para os compostos **1** e **2**, respectivamente, onde o composto **1** apresentou concentração maior que o Trolox (10,8µM), porém o composto **2** apresentou concentração inferior para inibição de 50% do radical, assim mostrando um potencial antioxidante.

Após a realização dos ensaios de Vermelho Neutro e MTT, o composto **1** apresentou valores de IC₅₀ de 2,84 µM, 3,39 µM, 14,07 µM, 26,62 µM, 29,4 µM e 37,4 µM para as linhagens celulares HCT116, SW620, MDA-MB-321, MCF-7, MRC-5 e SKBR-3, respectivamente. Para as células V79, não foi possível calcular o IC₅₀, pois as concentrações utilizadas não produziram resultados significativos. A análise dos valores obtidos demonstra que, até a concentração de 20 µM, o composto inibiu de forma eficaz as células HCT116 e MDA-MB-321, sem causar efeitos significativos sobre as células saudáveis MRC-5, sugerindo que o composto possui potencial como agente terapêutico no tratamento de câncer de mama.

No ensaio cometa, foi possível avaliar o dano induzido ao DNA. Observou-se que o composto **1**, na concentração de 1 µM, provoca menor dano ao DNA em comparação ao controle positivo, doxorubicina (5 µM). No entanto, na concentração de 10 µM, o composto demonstrou causar um dano semelhante, ainda que ligeiramente superior, ao causado pela DOXO.

5. CONCLUSÕES

Novos compostos da classe das aciltioureas foi sintetizado e devidamente caracterizado. Os ensaios antioxidantes apresentaram que o composto **2** possui potencial na inibição do radical ABTS⁺ com IC₅₀ inferior ao encontrado no mercado. Os ensaios de citotoxicidade realizados demonstraram resultados promissores nas linhagens celulares HCT116 e MDA-MB-321, com valores de IC₅₀ de 2,84 µM e 15,07 µM, respectivamente. Nos ensaios cometa, o composto com o dobro de concentração do DOXO apresentou um dano ao DNA semelhante. Quanto a perspectivas futuras, será analisada as propriedades ADMETox (Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) dos compostos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estatísticas de Câncer**. Ministério da Saúde 18 jul. **2023**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>. Acesso em 25 set. 2024.

Zoń, A.; Bednarek, I. Cisplatin in Ovarian Cancer Treatment—Known Limitations in Therapy Force New Solutions. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24, p. 7585, **2023**

Molinaro C, Martoriati A, Pelinski L, Cailliau K. Copper Complexes as Anticancer Agents Targeting Topoisomerases I and II. *Cancers (Basel)*. v. 12, p.2863, **2020**.