

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS COMPOSTOS N-[(6-CLORO-1,3-BENZOTIAZOL-2-IL)CARBAMOTIOIL]BENZAMIDA E N-(PIRIMIDINA-2-ILCARBAMOTIOIL)BENZAMIDA EM CAMUNDONGOS

LETICIA FIGUEIREDO MOURA<sup>1</sup>; ANA PAULA BONATO WILLE<sup>2</sup>; VANESSA MACEDO ESTEVES DA ROCHA<sup>3</sup>; RAUL RAMOS CAIRO<sup>4</sup>; RENIEIDY FLAVIA CLEMENTE DIAS<sup>5</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>6</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – leticia.fmoura@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – ana\_paulabonatowille@outlook.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – vnsmacedo@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade de Havana - rramoscairo@yahoo.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Goiás – clemente23@ufg.br*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas - ethelwilhelm@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

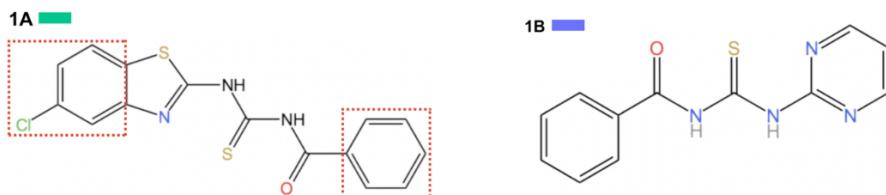
Os derivados de aciltioureias são compostos de interesse crescente devido a suas amplas aplicações farmacológicas, como precursores sintéticos de novos heterocíclicos, na ciência dos materiais, na farmacologia e nas demais áreas tecnológicas (ZAHRA et al., 2022). O grupo funcional tioureia é amplamente reconhecido por conferir propriedades biológicas relevantes a seus derivados, destacando seus promissores efeitos farmacológicos frente a distintas patologias (KETCHEMEN et al., 2021). Além disso, esses derivados tem sido investigados por sua grande versatilidade do ponto de vista estrutural, que os confere atividades biológicas relevantes, incluindo antifúngica, anti-inflamatória, bactericida, antiviral, antiparasitária, pesticida e antitumoral (OLIVEIRA et al., 2020; ZAHRA et al., 2022).

Frente a isso, pesquisas recentes apontam que os derivados de aciltioureias possuem grande potencial terapêutico na prospecção de novos fármacos (ZAHRA et al., 2022). Nesse sentido, o desenvolvimento de novos tratamentos farmacológicos segue um processo que abrange desde a descoberta inicial até a comercialização, passando por fases fundamentais como testes pré-clínicos, ensaios clínicos e aprovação regulatória. Os testes pré-clínicos são cruciais para avaliar a toxicidade de potenciais fármacos, garantindo que os compostos sejam seguros para testes em humanos (CHI et al., 2022). A eficácia de um novo fármaco precisa ser maximizada, com suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas bem caracterizadas e os efeitos fora do alvo e toxicidade minimizados (NETO et al., 2024). Essas etapas permitem o surgimento de novas terapias, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida, menor tempo de internação hospitalar e, consequentemente, aumentar a expectativa de vida. Além disso, a modificação de compostos pode melhorar seu perfil farmacocinético e reduzir efeitos adversos (WANG et al., 2019).

Neste contexto, o presente estudo buscou avaliar a toxicidade aguda dos compostos sintéticos N-[(6-cloro-1,3-benzotiazol-2-il)carbamotioil]benzamida (1A) e N-(pirimidina-2-ilcarbamotioil)benzamida (1B) em camundongos, investigando seus efeitos em tecidos cerebrais, renais e hepáticos por meio de testes *ex vivo*. Cabe mencionar que determinar o perfil toxicológico desses compostos é fundamental para abrir caminhos para seu potencial uso como agentes terapêuticos.

### 2. METODOLOGIA

Os compostos 1A e 1B (Figura 1) foram sintetizados na Universidade de Havana (UH) e caracterizados pelo grupo de Síntese e Estudos Avançados em Metalofármacos da UFPel (OLIVEIRA et al., 2020).



**Figura 1.** Estrutura química dos compostos N-[(6-cloro-1,3-benzotiazol-2-il)carbamotioil]benzamida (**1A**) e N-(pirimidina-2-ilcarbamotioil)benzamida (**1B**)

O protocolo experimental de análise de toxicidade foi conduzido de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pelotas (CEUA 035767/2021-41), seguindo também a diretriz 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD). Para este experimento foram utilizados camundongos Swiss machos, adultos (60 dias de idade), selecionados e separados aleatoriamente em grupos experimentais de 3 animais. No primeiro dia do protocolo, os animais receberam uma única administração dos compostos 1A e 1B nas doses de 50 mg/kg ou 300 mg/kg, ou óleo de canola (10 mL/kg) todos os tratamentos por via intragástrica, de acordo com os grupos experimentais aos quais foram designados. Posteriormente, os animais foram observados durante 14 dias consecutivos quanto a sinais de toxicidade. Após, os animais foram submetidos à eutanásia por meio da anestesia com sobredose de isoflurano, pela via inalatória, para posterior retirada de amostras cerebrais, renais e hepáticas para realização das análises bioquímicas.

## 2.1 Análises Bioquímicas

Os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e de espécies reativas (ER) foram determinados conforme metodologia descrita por OHKAWA et al. (1979) e por LOETCHUTINAT et al. (2005), respectivamente. A atividade da enzima catalase (CAT) foi avaliada segundo a metodologia descrita por AEBI (1984).

## 2.2 Análise estatística

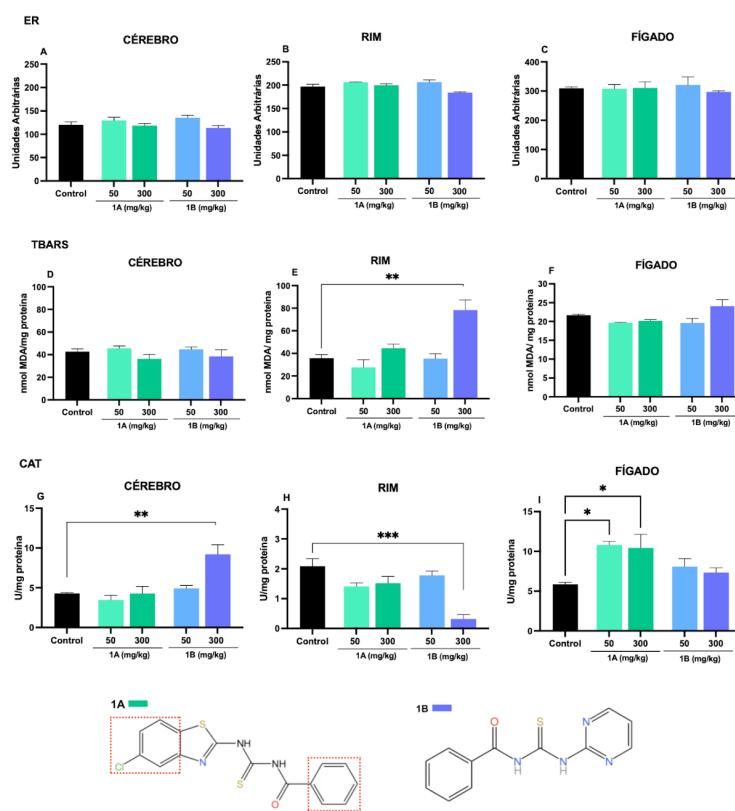
As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 10.2. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) e a significância estatística foi determinada por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Tukey. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que os animais não apresentaram sinais de toxicidade durante o experimento, uma vez que não foram observados sintomas como ptose, diarreia ou tremores. Além disso, não houve alterações nos sinais clínicos e comportamentais e não houve mortalidade entre os animais, sugerindo que as doses administradas dos compostos testados foram bem toleradas pelos animais, sem provocar efeitos adversos significativos.

Os resultados ilustrados na Figura 2 (A-C) demonstram que a exposição aos compostos 1A e 1B, nas doses de 50 e 300 mg/kg, não provocou alterações significativas na produção de ER em nenhum dos tecidos analisados quando comparados ao grupo controle. Conforme demonstrado na Figura 2E, o aumento dos níveis de TBARS, observado exclusivamente no tecido renal com o composto 1B na dose de 300 mg/kg, aponta para um dano oxidativo específico nesse órgão. Assim, esse resultado sugere que o rim pode ser particularmente vulnerável à peroxidação lipídica quando exposto a altas concentrações do composto 1B, o que sugere um potencial pró-oxidante renal em doses elevadas.

Em relação à atividade da CAT, o composto 1B, na dose de 300 mg/kg, causou um aumento significativo da atividade da enzima no tecido cerebral (Figura 2G), o que pode ser interpretado como uma resposta compensatória ao possível estresse oxidativo causado. Por outro lado, nos rins, a atividade da CAT foi reduzida nessa mesma dose do composto 1B (Figura 2H), o que sugere uma deficiência no mecanismo de defesa antioxidante, corroborando com o aumento nos níveis de TBARS e evidenciando danos oxidativos mais acentuados nesse órgão. No tecido hepático, observou-se um aumento da atividade da CAT em resposta ao composto 1C nas doses de 50 mg/kg e 300 mg/kg. Esse aumento pode refletir uma resposta adaptativa do fígado para prevenir o acúmulo de danos oxidativos, mesmo a partir de uma dose relativamente baixa. Diante disso, esses resultados sugerem que os efeitos pró-oxidantes dos compostos 1A e 1B são dependentes da dose e do tecido, com o rim se mostrando mais suscetível ao composto 1B em altas doses, enquanto o fígado parece responder de maneira mais sensível ao composto 1A, mesmo em doses menores.



**Figura 2.** Efeito da administração única com os compostos 1A (50 e 300 mg/kg) e 1B (50 e 300 mg/kg) sobre os níveis de espécies reativas (ER) no cérebro (A) rim

(B) e fígado (C), níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no cérebro (D), rim (E) e fígado (F), e a atividade da enzima catalase (CAT) no cérebro (G), rim (H) e fígado (I) de camundongos (n=3 animais/grupo). Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey. (\*\*) p < 0,01, (\*\*\*) p < 0,001, denotam níveis de significância em comparação com o grupo controle.

#### 4. CONCLUSÕES

Tendo em vista as evidências apresentadas neste estudo, pode-se concluir que os compostos 1A e 1B apresentaram efeito pró-oxidante dose e tecido-dependente. O composto 1B, em dose elevada, causa dano oxidativo nos rins, enquanto o composto 1A, mesmo em doses menores, altera a capacidade antioxidante no fígado. Apesar de não ter ocorrido a morte de nenhum animal durante o protocolo experimental, esses resultados sugerem a necessidade de cautela para a sequência de estudos envolvendo as possíveis atividades farmacológicas desses compostos, considerando seus efeitos específicos em órgãos como rins e fígado.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- CHI, L. H.; BURROWS, A. D.; ANDERSON, R. L. Can preclinical drug development help to predict adverse events in clinical trials?. **Drug discovery today**, v. 27, n. 1, p. 257-268, 2022.
- KETCHEMEN, Y. I., et al. Crystal structures and physicochemical studies of some novel divalent and trivalent transition metal chelates of N-morpholine-N'-benzoylthiourea. **Journal of Molecular Structure**, v. 1229 p. 1229, 2021.
- LOETCHUTINAT, C., et al. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2',7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, n. 2–3, p. 323–331, 2005.
- NETO, C. et al. Avanços Tecnológicos no planejamento e desenvolvimento de fármacos: Uma revisão. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 4, p. e3690, 2024.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.
- OLIVEIRA, T. D., et al. Cytotoxicity of ruthenium-N,N,N-disubstituted-N'-acylthioureas complexes. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 115, p. 111106, 2020.
- WANG, S.; DONG, G.; & SHENG, C. Structural simplification: an efficient strategy in lead optimization. **Acta pharmaceutica Sinica**, v.9,n.5, p.880–901, 2019.
- ZAHRA, U., et al. Recent trends in chemistry, structure, and various applications of 1-acyl-3-substituted thioureas: a detailed review. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 12, n. 20, p.12710-12745, 2022.