



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS

KAMILE BEATRIZ OLIVEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE DERIVADOS TIOSSEMICARBAZONAS COMO POTENCIAIS
AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CONTRA CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA
DUCTAL PANCREÁTICO**

RECIFE,
2025

KAMILE BEATRIZ OLIVEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE DERIVADOS TIOSSEMICARBAZONAS COMO POTENCIAIS
AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CONTRA CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA
DUCTAL PANCREÁTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Biomedicina da
Universidade Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de Bacharel
em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Valécia de Cassia Mendonça
da Costa Andrade

Coorientador: Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto
de Melo Rêgo

RECIFE,
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Kamile Beatriz Oliveira da.

Avaliação de derivados tiossemicarbazonas como potenciais agentes antineoplásicos contra células de adenocarcinoma ductal pancreático / Kamile Beatriz Oliveira da Silva. - Recife, 2025.

56p

Orientador(a): Válecia de Cassia Mendonça da Costa Andrade

Coorientador(a): Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

1. Alvos moleculares. 2. Citotoxicidade. 3. Câncer de Pâncreas. 4. Seletividade. 5. Tiossemicarbazonas. I. Andrade, Válecia de Cassia Mendonça da Costa. (Orientação). II. Rêgo, Moacyr Jesus Barreto de Melo. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

KAMILE BEATRIZ OLIVEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE DERIVADOS TIOSSEMICARBAZONAS COMO POTENCIAIS
AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CONTRA CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA
DUCTAL PANCREÁTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Biomedicina da
Universidade Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de Bacharel
em Biomedicina.

Aprovada em: 07/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **VALECIA DE CASSIA MENDONÇA DA COSTA AND**
Data: 01/10/2025 12:09:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora: Dra. Valécia de Cassia Mendonça da Costa Andrade
UFPE/CB

Documento assinado digitalmente
 **LILIA VIEIRA GALDINO**
Data: 01/10/2025 16:55:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Lilia Vieira Galdino
UFPE/CB

Documento assinado digitalmente
 **TACYLLA LIMA SILVA**
Data: 01/10/2025 17:10:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. TacyllaLima Silva
UFPE/CB

Dedico este trabalho à minha amada mãe, Cirbele. Seus ensinamentos sobre o valor do saber e seu apoio inabalável foram a bússola que guiou minha jornada acadêmica. Como bem expressou Cecília Meireles, “*Não se pode amar ou odiar aquilo que não se conhece*”. E foi conhecendo, estudando e aprendendo que cheguei até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha gratidão a Deus por todas as bênçãos e por me guiar até este momento. Mesmo não sendo uma pessoa extremamente religiosa, a força das orações daqueles que me amam e a minha própria fé, foram pilares essenciais para superar os desafios.

A dedicação deste trabalho é, em sua essência, à minha mãe, Cirbele. Ela, que com seu amor incondicional e apoio irrestrito em todos os aspectos da minha vida, me mostrou que o estudo é a base de tudo e a chave para alcançar grandes horizontes. Sou grata a tudo que ela abdicou para que nada me faltasse, e a todo o amor que me transmite, mesmo à distância. A cada visita ao interior, sou agraciada com seus braços abertos, seus conselhos e receitas que me encantam, um verdadeiro paraíso para uma viciada em doce.

Minha gratidão se estende à minha Vó Rosa, que à sua maneira única, sempre me proporcionou o melhor, cuidou de mim e me ensinou lições valiosas. Ambas, minha mãe e minha avó, são as mulheres fortes e minha inspiração em todos os sentidos. Agradeço também aos familiares próximos que sempre me apoiaram como podiam.

Um agradecimento especial à minha orientadora, Dra. Válecia, que foi a peça-chave para a minha inserção no fascinante mundo da pesquisa. Sua orientação precisa, apoio e incentivo constante foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Igualmente, sou grata ao meu coorientador e professor, Dr. Moacyr, por me apresentar ao instigante universo da pesquisa sobre câncer e por sua dedicação em me guiar em cada passo.

Expresso minha profunda gratidão a todos os amigos que estiveram ao meu lado durante esta jornada. Em especial, a Ana Eliza, Francisco, Patrick e Julianne: sem vocês, o dia a dia teria sido muito mais difícil. Compartilhamos a loucura das vésperas de prova, as madrugadas de trabalhos em grupo e as intermináveis conversas entre aulas. Vocês tornaram a rotina leve e divertida, com risadas e sonhos compartilhados. Aos amigos que o NUPIT me proporcionou, tornando o laboratório um ambiente de apoio, conversas, troca de conhecimento e sem esquecer das festas com "comidinhas". E àqueles que a vida fez conhecer ou reaproximar, que sempre compreenderam meus "sumiços" e me apoiaram nas minhas decisões.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pelo acolhimento, e a todo o corpo docente que contribuiu para a minha formação e tornou esta conquista possível.

Sem cada um de vocês, nada disto seria possível.

RESUMO

O adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) é uma neoplasia letal que apresenta cenário terapêutico insatisfatório, que impulsiona a busca por novos antineoplásicos. Nesse contexto, as tiossemicarbazonas (TSC) destacam-se como uma estratégia terapêutica, por atuarem na quelatação de metais e na inibição da síntese de DNA em células tumorais. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro* e *in silico*, o potencial terapêutico de novos análogos de TSC em células PDAC. As metodologias incluíram o cultivo das linhagens neoplásicas pancreáticas e o isolamento de PBMCs. Em seguida, foram realizados ensaios de citotoxicidade dos DT-08, DT-10, DT-22, DT-28 e DT-32 tanto nas linhagens BxPC-3, MIA PaCa-2, PANC-1 e em PBMCs para determinar a viabilidade celular, valores de IC_{50} e índices de seletividade (IS). Para a avaliação *in silico* dos parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos utilizou-se a plataforma SwissADME, enquanto a predição de alvos foi realizada pelas plataformas Swiss TargetPrediction e SEA Search Server. Os resultados de citotoxicidade em PBMCs revelaram que apenas o DT-08 apresentou toxicidade para células saudáveis ($IC_{50} = 19,02 \mu M$). Nas linhagens de PDAC, os compostos apresentaram após 72 horas de tratamento redução da viabilidade em todas as linhagens. Em BxPC-3, os derivados TSCs apresentaram $IC_{50} < 22,96 \mu M$ e $IS > 4,35$. Em MIA PaCa-2, os DTs tiveram $IC_{50} > 67,64$ e $IS < 1,73$ e o DT-32 não foi tóxico nas concentrações testadas. Por fim, em PANC-1 os valores de $IC_{50} < 12,49 \mu M$ e $IS > 6,76$. Para investigar o efeito tempo-dependente, a citotoxicidade foi investigada em 48 horas de tratamento nas linhagens BxPC-3 e PANC-1, uma vez que a MIA PaCa-2 não apresentou resultados promissores em 72 horas. Em 48 horas os compostos tiveram boa resposta em PANC-1 com $IC_{50} < 12,85 \mu M$ e $IS > 20,44$. No entanto, em BxPC-3 a eficácia foi menor com $IC_{50} < 11,65 \mu M$ e $IS > 4,13$. Em seguida, as análises farmacocinéticas e físico-químicas revelaram que todos os compostos seguiram as Regras de Lipinski e apresentaram boa solubilidade, polaridade e refratividade. Os derivados também demonstraram alta absorção gastrointestinal, baixa permeabilidade na barreira hematoencefálica, ausência de interação com a glicoproteína-P e baixa permeabilidade cutânea. Em relação ao metabolismo hepático, os derivados foram previstos como substrato de algumas das enzimas CYP, sugerindo risco de interações medicamentosas. Por fim, a predição de alvos moleculares apontou a Catepsina L como possível alvo dos compostos DT-08 e DT-22, o que é relevante, dado o papel dessa protease lisossomal na tumorigênese do PDAC. Em suma, os resultados obtidos sustentam o potencial dos derivados como candidatos a agentes terapêuticos e indicam a necessidade de

investigações em modelos experimentais mais complexos. Aliados ao perfil farmacocinético favorável, esses achados fornecem bases importantes para o avanço de estratégias terapêuticas mais eficazes e com menor toxicidade voltadas ao tratamento do PDAC.

Palavras-chave: Alvos moleculares. Citotoxicidade. Câncer de Pâncreas. Seletividade. Tiossemicarbazonas.

ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a lethal malignancy with unsatisfactory therapeutic options, driving the search for new antineoplastic agents. In this context, thiosemicarbazones (TSCs) stand out as a therapeutic strategy because of their ability to chelate metals and inhibit DNA synthesis in tumor cells. The objective of this study was to evaluate, *in vitro* and *in silico*, the therapeutic potential of new TSC analogues in PDAC cells. The methodologies included the culture of pancreatic cancer cell lines and the isolation of PBMCs. Cytotoxicity assays of DT-08, DT-10, DT-22, DT-28, and DT-32 were then performed in the BxPC-3, MIA PaCa-2, and PANC-1 lines, as well as in PBMCs, to determine cell viability, IC₅₀ values, and selectivity indices (SI). For the *in silico* assessment of physicochemical and pharmacokinetic parameters, the SwissADME platform was used, while target prediction was carried out with SwissTargetPrediction and the SEA Search Server. Cytotoxicity results in PBMCs revealed that only DT-08 showed toxicity toward healthy cells (IC₅₀ = 19.02 μ M). In PDAC cell lines, all compounds reduced viability after 72 hours of treatment. In BxPC-3 cells, the TSC derivatives exhibited IC₅₀ < 22.96 μ M and SI > 4.35. In MIA PaCa-2 cells, the DT compounds showed IC₅₀ > 67.64 μ M and SI < 1.73, and DT-32 was non-toxic at the tested concentrations. In PANC-1 cells, IC₅₀ values were < 12.49 μ M with SI > 6.76. To investigate time-dependent effects, cytotoxicity was also evaluated after 48 hours in BxPC-3 and PANC-1 cells, since MIA PaCa-2 did not show promising results at 72 hours. After 48 hours, the compounds displayed strong activity in PANC-1 cells (IC₅₀ < 12.85 μ M; SI > 20.44), whereas efficacy in BxPC-3 cells was lower (IC₅₀ < 11.65 μ M; SI > 4.13). Pharmacokinetic and physicochemical analyses revealed that all compounds complied with Lipinski's rules and exhibited favorable solubility, polarity, and refractivity. The derivatives also showed high gastrointestinal absorption, low blood–brain barrier permeability, no interaction with P-glycoprotein, and low skin permeability. Regarding hepatic metabolism, the derivatives were predicted to be substrates of certain CYP enzymes, suggesting a potential risk of drug–drug interactions. Finally, target prediction identified cathepsin L as a potential target for DT-08 and DT-22, which is noteworthy given the role of this lysosomal protease in PDAC tumorigenesis. In summary, the results support the potential of these derivatives as therapeutic candidates and highlight the need for further evaluation in more complex experimental models. Combined

with their favorable pharmacokinetic profiles, these findings provide a solid foundation for the development of more effective and less toxic therapeutic strategies for PDAC.

Keywords: Cytotoxicity. Molecular targets. Pancreatic cancer. Selectivity. Thiosemicarbazones.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Os “Hallmarks of cancer”	17
Figura 2 - A progressão da neoplasia intraepitelial pancreática	19
Figura 3 - Fluxograma das opções terapêuticas disponíveis em andamento para PDAC.....	22
Figura 4 - Estrutura química da tiossemicarbazona.....	23
Figura 5 - Fluxograma do plano de trabalho.....	27
Figura 6 – Efeito dos derivados tiossemicarbazonas sobre a viabilidade celular após 72 horas de tratamento.....	33
Figura 7 - Efeito dos derivados tiossemicarbazonas sobre a viabilidade celular após 48 horas de tratamento.....	36
Figura 8 - Gráficos de radar dos derivados tiossemicarbazonas.....	41
Figura 9 - Gráfico Boiled-egg dos derivados tiossemicarbazonas.....	43
Figura 10 - Diagramas de Ven de predição de alvos moleculares para os derivados de tiossemicarbazonas	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Códigos, nome químico e estrutura molecular dos derivados tiossemicarbazonas	27
Tabela 2 - Meios de cultivo, tempo de duplicação e características das linhagens pancreáticas	29
Tabela 3- Código SMILE dos derivados tiossemicarbazonas	31
Tabela 4 - Atividade citotóxica in vitro dos derivados tiossemicarbazonas em PBMCs	32
Tabela 5 - Atividade citotóxica in vitro dos derivados tiossemicarbazona em linhagens neoplásicas em 72 horas.....	35
Tabela 6 – Atividade citotóxica in vitro dos derivados tiossemicarbazona em linhagens neoplásicas em 48 horas.....	38
Tabela 7 - Valores das propriedades ADME dos derivados tiossemicarbazonas	40
Tabela 8 - Valores das propriedades farmacocinéticas dos derivados tiossemicarbazonas.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μM	Micromolar (Unidade de concentração)
A	Refratividade molar
Å²	Angstrom quadrado (Unidade de área)
ABC	Transportador ATP-binding cassette
ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
ASPT	Área de superfície polar topológica
BBB	Barreira Hematoencefálica
Bcl-2	B-cell lymphoma 2 (Proteína reguladora da apoptose)
BCRJ	Banco de células do Rio de Janeiro
BRCA1 e 2	Genes da proteína do câncer de mama 1 e 2
BxPC-3	Linhagem de células de adenocarcinoma pancreático
CA 19-9	Antígeno de Carboidrato 19-9
CAFs	Fibroblastos Associados ao Câncer
CAT	Catepsina
CDKN2A	Gene CDKN2A
CO2	Dióxido de Carbono
CP	Câncer de pâncreas
CTSL	Catepsina L
CYPs	Enzimas do Citocromo P450
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio-Padrão
DTs	Derivados de Tiossemicarbazonas
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
FOLFIRINOX	5-fluorouracil, leucovorina, irinotecano e oxaliplatina
GI	Gastrointestinal
GLOBOCAN	Observatório Global do Câncer
HEPES	Ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfônico
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IC₅₀	Concentração Inibitória de 50% (do crescimento celular)
iLogP	Energia Livre de Solvatação
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IS	Índice de Seletividade
KRAS	Gene KRAS (Oncogene)
Log Kp	Coeficiente de Partição Pele-Plasma
Log P	Medida de Lipofilicidade

Log S	Hidrofilicidade
LR	Ligações rotacionais
MAPK/ERK	Via de Sinalização Mitogen-Activated Protein Kinase/Extracellular signal-Regulated Kinase
MDR1	Proteína 1 de Resistência a Múltiplos Medicamentos
MEC	Matriz Extracelular
MIA PaCa-2	Linhagem de células de carcinoma pancreático
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil brometo de tetrazolina
NAH	Número de aceitadores de hidrogênio
NDH	Número de doadores de hidrogênio
NDRG1	N-Myc Downstream Regulated Gene 1
PANC-1	Linhagem de células de câncer de ducto pancreático
PanINs	Neoplasias Intraepiteliais Pancreáticas
PBMCs	Células Mononucleares do Sangue Periférico
PBS	Solução Tampão Fosfato
PDAC	Adenocarcinoma Ductal Pancreático
P-gp	Glicoproteína P
PM	Peso Molecular
PSA	Área de Superfície Polar
RNR	Ribonucleotídeo Redutase
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SC	Soro de Cavalo
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
SFB	Soro Fetal Bovino
SMAD4	Gene SMAD4 (Gene Supressor de Tumor)
SMILES	Simplified Molecular Input Line Entry Specification
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato gastrointestinal
TME	Microambiente Tumoral
TP53	Gene TP53 (Gene Supressor de Tumor)
TPSA	Área de Superfície Polar Topológica
TSCs	Tiossemicarbazonas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	Aspectos gerais do câncer	17
2.2	Câncer de pâncreas	18
2.3	Diagnóstico e tratamento do PDAC.....	20
2.4	O potencial das Tiossemicarbazonas	22
2.5	Metodologias empregadas na busca por novos derivados	24
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo geral	26
3.2	Objetivos específicos	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	Delineamento experimental.....	27
4.2	Derivados tiossemicarbazonas	27
4.3	Isolamento e manutenção de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)....	28
4.3.1	Considerações éticas.....	29
4.4	Manutenção de linhagens neoplásicas pancreáticas.....	29
4.5	Ensaio de citotoxicidade em PBMCs e em linhagens neoplásicas pancreáticas	30
4.6	Parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e predição de alvos moleculares - <i>in silico</i> 30	
4.7	Considerações estatísticas.....	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Ensaio de citotoxicidade.....	31
5.1.1	Citotoxicidade em PBMCs.....	31
5.1.2	Citotoxicidade em células neoplásicas pancreáticas	32
5.2	Parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos.....	39
5.2.1	Avaliação das Propriedades Físico-Químicas e Similaridade a Fármacos.....	39
5.2.2	Avaliação das Propriedades Farmacocinéticas e do Metabolismo Hepático	42
5.2.3	Predição de Alvos Moleculares.....	44
6	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXO A – DECLARAÇÃO DE VINCULO AO PROJETO DE PESQUISA “REDEHPB” COM COMITÊ DE ÉTICA APROVADO	56

1 INTRODUÇÃO

O câncer engloba doenças malignas caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células com potencial invasivo, capazes de atingir tecidos próximos ou órgãos distantes (INCA, 2022). Conforme a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), aproximadamente 20 milhões de novos casos da doença foram diagnosticados globalmente em 2022, resultando em 9,7 milhões de óbitos (Bray et al, 2022). No Brasil, os dados estimam cerca de 704.080 novos casos anuais e uma alta taxa de mortalidade, contabilizando aproximadamente 278.835 óbitos (INCA, 2022). Nesse contexto, o câncer de pâncreas figura entre as neoplasias gastrointestinais mais letais que afetam homens e mulheres no Brasil e no mundo, com estimativa de cerca de 10.980 novos casos no país entre 2023 e 2025 (Ferlay et al, 2022).

O adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) é o tipo mais comum de câncer de pâncreas, sendo diagnosticado em 90% dos casos. O PDAC evolui, na maioria das vezes, de neoplasias intraepiteliais pancreáticas microscópicas (PanINs), que consiste em uma lesão pré-cancerosa não invasiva e curável se detectada precocemente. Contudo, as PanINs são raramente visualizadas em exames de imagem abdominal. Ao decorrer da progressão das displasias há o acúmulo de mutações somáticas, iniciada pelo oncogene KRAS e seguida pelos supressores tumorais CDKN2A, TP53 e SMAD4 (Wood et al., 2022). Essas mutações favorecem o desenvolvimento do tumor, tornando-o mais heterogêneo aliado a uma intensa alteração do microambiente tumoral (TME), a progressão e a resistência terapêutica (Connor; Gallinger, 2022).

O TME do PDAC é caracterizado por um ambiente hipóxico e com a presença de diferentes componentes celulares, como os fibroblastos associados ao câncer (CAFs), estroma, células do sistema imune, vasos sanguíneos e nervos. Quando esses elementos se combinam com as células tumorais, o microambiente forma um escudo que contribui para a resistência aos tratamentos e dificulta a ação das terapias citotóxicas convencionais. Essa característica, em conjunto com o diagnóstico tardio contribuem para a elevada mortalidade (Sherman; Beatty, 2022).

Dessa forma, a detecção precoce é rara devido à natureza assintomática da doença nas fases iniciais, e quando os sintomas aparecem, o câncer geralmente já se espalhou além do pâncreas diminuindo as chances de um tratamento de sucesso. Com isso, a maioria dos casos de PDAC são identificados em estágios avançados, o que contribui para que apenas, o que

resulta em apenas 15% a 20% dos indivíduos diagnosticados com a doença possuem um tumor cirurgicamente ressecável, atualmente a principal possibilidade de cura para a doença. (Stoffel; Brand; Goggins, 2023).

No tratamento do PDAC, as terapias de primeira linha aprovadas são a Gemcitabina e o esquema FOLFIRINOX (5-fluorouracil, leucovorina, irinotecano e oxaliplatina), apesar da eficácia limitada e dos muitos efeitos adversos associados (Robatel; Sckenk, 2022). Mesmo com as terapias vigentes, a sobrevida global relativa de 5 anos permanece em cerca de 8 a 13% dos casos. Devido a isso, novas moléculas estão sendo amplamente investigadas como estratégias para melhorar o prognóstico dessas doenças (Ushio et al., 2021).

Nesse contexto, a hibridização estrutural de moléculas tem se destacado como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos com atividade antineoplásica. Essa técnica envolve a conjugação de partes de moléculas ou moléculas inteiras que já possuem ações farmacológicas significativas. Ao combinar essas estruturas em um único composto híbrido, é possível sintetizar drogas com perfil farmacológico aprimorado, tornando-as menos tóxicas e mais específicas para os alvos biológicos, o que pode superar as limitações das terapias convencionais (Kumar; Herrmann; Tsogoeva, 2020).

As tiossemicarbazonas (TSCs) são uma classe diversificada de compostos formados através da condensação entre tiossemicarbazidas e aldeídos ou cetonas. Estruturalmente, essas moléculas contêm heteroátomos de nitrogênio e enxofre, destacando-se as frações hidrazônica (HC=N-NH-) e tioamida (S=CN-) onde se ligam os substituintes (Leal et al., 2024). Quando associadas a íons metálicos, as TSCs exibem importante atividade antineoplásica devido à quelação de metais, interferência no DNA e inibição de enzimas como a topoisomerase e a ribonucleotídeo redutase (RNR) (Jiang et al., 2023). O principal alvo dessa classe é a RNR, pois ao inibi-la através da quelação de ferro, a transcrição e o reparo do DNA são afetados, resultando em apoptose celular (Ahmed; Almalki, 2021). A Triapina e o Dp44mT são derivados de tiossemicarbazona que inibem a ribonucleotídeo redutase e exibem efeito anticâncer; a Triapina está em fase III clínica, enquanto o Dp44mT segue em estudos pré-clínicos, ambos com evidências de atividade contra o câncer de pâncreas (Jiang et al., 2023).

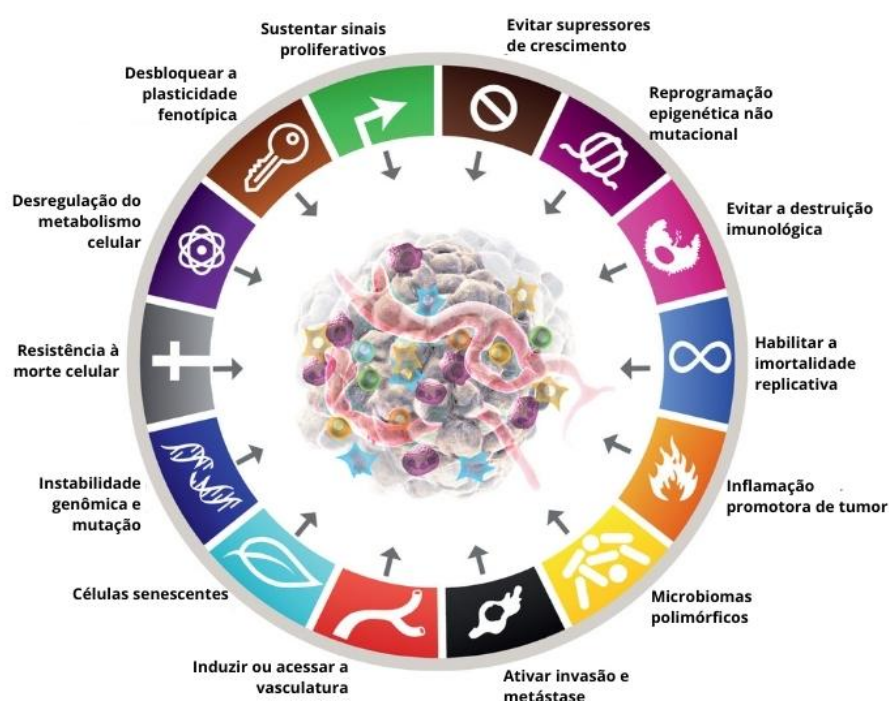
Diante dos desafios terapêuticos impostos pelo PDAC e do potencial antineoplásico das tiossemicarbazonas buscamos avaliar derivados TSCs em linhagens tumorais pancreáticas. Busca-se identificar compostos com maior seletividade para células neoplásicas, contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e menos tóxicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais do câncer

Câncer refere-se a um conjunto de doenças caracterizado por alterações celulares que resultam na proliferação descontrolada de células anormais. Essas células possuem a capacidade de escapar dos mecanismos fisiológicos de controle, resistir à morte celular e invadir tecidos adjacentes, podendo se disseminar por todo o corpo (Brown et al., 2023). Segundo Li et al. (2025), essas alterações resultam de mutações genéticas ou da ativação anormal de genes, os chamados oncogenes, e refletem a aquisição progressiva dos chamados “hallmarks of cancer”. Essas características incluem proliferação sustentada, evasão dos supressores de crescimento, resistência à apoptose, imortalidade replicativa, microbiomas polimórficos, indução de angiogênese, células senescentes, invasão e metástase, instabilidade genômica e mutações, inflamação tumoral, evasão da resposta imune, reprogramação do metabolismo energético, plasticidade fenotípica e reprogramação epigenética não mutacional, como mostra a figura 1 (Hanahan, 2022).

Figura 1 - Os “Hallmarks of cancer”



Fonte: Adaptada de Hanahan, 2022.

Diante disso, o câncer é um dos maiores desafios de saúde pública do século XXI e a segunda principal causa de morte global (Ferlay et al., 2021). Dados recentes do Observatório Global do Câncer (GLOBOCAN) demonstram que, o câncer afetou cerca de 20 milhões de pessoas, resultando em 9,7 milhões de mortes em todo o mundo. Além disso, de forma alarmante, as projeções indicam que, até 2050, o número de novos diagnósticos ultrapassará 35 milhões, representando um aumento de cerca de 75% (Bray et al., 2024).

Entretanto, a distribuição da incidência e da mortalidade é desigual entre os países. Nações de alta renda, como os Estados Unidos, têm apresentado uma redução significativa de 34% na mortalidade. Em contraste, países de baixa e média renda ainda enfrentam grandes desafios relacionados ao acesso ao diagnóstico e ao tratamento com cerca de 70% de mortes por câncer (Siegel et al., 2025). Esse panorama reforça a necessidade de investimentos em estratégias de prevenção primária, diagnóstico precoce, tratamento acessível e pesquisa, com o objetivo de reduzir desigualdades e aprimorar os desfechos clínicos, especialmente em regiões com alta carga da doença e menor infraestrutura de saúde (Barragan-Carillo et al., 2025). Em meio aos desafios globais, a atenção se volta para os cânceres do trato gastrointestinal (TGI), que representam cerca de 27% de todos os casos de câncer no mundo. Dentre eles, o câncer de pâncreas se destaca por sua agressividade e alta letalidade, mesmo não sendo o mais incidente nesse grupo (GLOBOCAN, 2022).

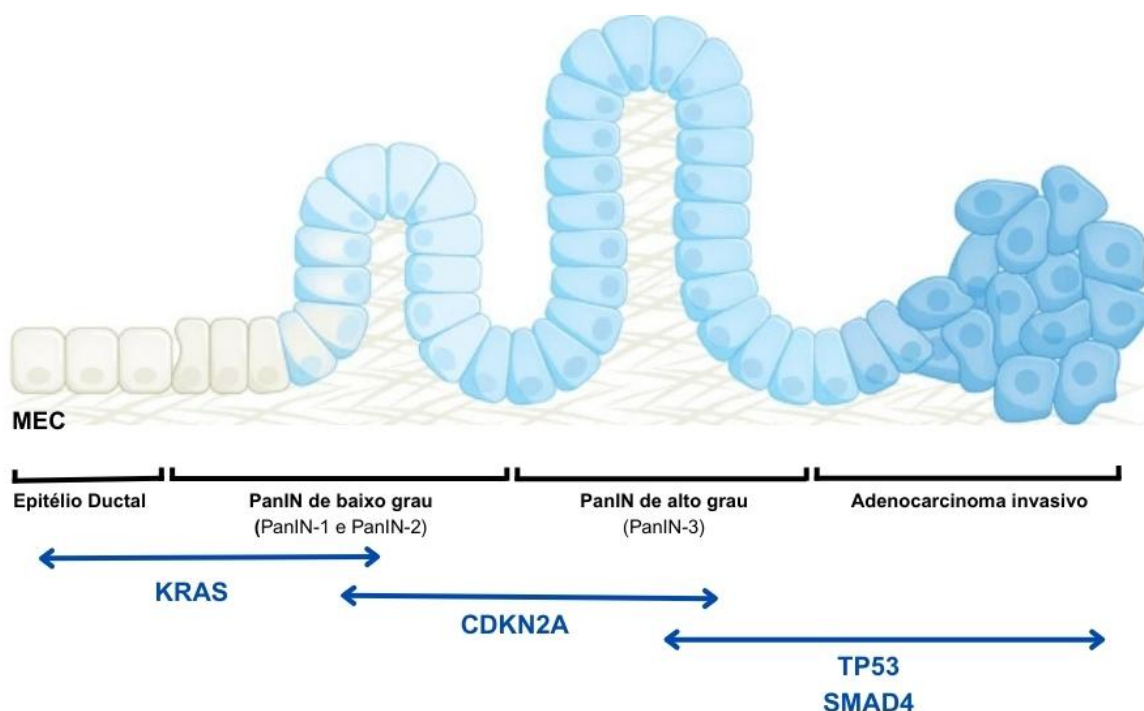
2.2 Câncer de pâncreas

O câncer de pâncreas (CP) é conhecido como uma das neoplasias mais letais dentre os cânceres do TGI, apresentando uma taxa de sobrevivência global em cinco anos de aproximadamente 10% (Sarantis et al., 2020). Dados recentes do Observatório Global do Câncer (IARC), divulgados em 2022, revelam um cenário preocupante: aproximadamente 511 mil novos casos de CP e cerca de 467 mil mortes em todo o mundo. Atualmente, essa doença ocupa a 12ª posição entre os cânceres mais incidentes e a 7ª entre os mais letais globalmente. As projeções para 2040 indicam um aumento alarmante de 61,7% no número total de casos. Esse crescimento é impulsionado principalmente pelo envelhecimento da população, um fator demográfico significativo e que torna a doença mais frequente em idosos, especialmente em países desenvolvidos (GLOBOCAN, 2022). No Brasil, conforme dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de pâncreas ocupa a 14ª posição entre tipos os mais frequentes para homens e o 11º para mulheres, com tendência de crescimento (INCA, 2023).

Neste contexto, o PDAC decorre de fatores genético e ambientais como idade avançada, etnia negra, obesidade, diabetes mellitus tipo 2, tabagismo, consumo excessivo de álcool, alimentação inadequada e predisposições genéticas ou hereditárias. Entre os fatores genéticos, destacam-se síndromes hereditárias como a pancreatite hereditária, síndrome de Lynch e mutações em BRCA1 e BRCA2 (Gupta; Yelamanchi, 2021; Ushio et al., 2021).

A agressividade do PDAC é relacionada com a localização anatômica, predominantemente, a cabeça do pâncreas, sendo menos frequente no corpo e na cauda do órgão. Essa neoplasia pode ser classificada em dois subtipos principais: o clássico, com melhor prognóstico, e o escamoso, mais comum em tumores do corpo e da cauda, relacionado a um pior desfecho clínico (Abdelrahim et al., 2024). A carcinogênese do PDAC é silenciosa e lenta, geralmente ocorrendo ao longo de uma década a partir de lesões precursoras. O processo inicia-se com as lesões não invasivas, como as neoplasias intraepiteliais pancreáticas (PanINs), que progridem em sequência, de lesões de baixo grau (PanIN 1 e 2) para lesões de alto grau (PanIN3), acumulando mutações genéticas críticas ao longo do tempo, como ilustra a figura 2 (Kim et al., 2021).

Figura 2 - A progressão da neoplasia intraepitelial pancreática. Evolução histológica do epitélio ductal pancreático: células normais adquirem mutação em KRAS, originando lesões intraepiteliais pancreáticas (PanIN-1). Com a progressão para PanIN-2 e PanIN-3, surgem mutações adicionais em CDKN2A, TP53 e SMAD4, culminando no desenvolvimento do adenocarcinoma ductal invasivo.



Fonte: Adaptada de Connor; Gallinger, 2022.

A mutação do oncogene KRAS é considerado o evento inicial na tumorigênese do PDAC, estando presente em cerca de 90% dos casos. Essa mutação resulta na ativação constitutiva da via de sinalização MAPK/ERK, o que promove uma proliferação celular descontrolada e sobrevivência das células através da regulação positiva de diversas vias metabólicas (Gupta; Yelamanchi, 2021). Com a progressão das lesões, ocorre o acúmulo de mutações adicionais, principalmente em genes supressores tumorais. Entre eles, destaca-se o TP53 (cerca de 74% dos casos), o CDKN2A (até 60% dos casos) e SMAD4 (aproximadamente 55% dos casos). Essas mutações favorecem, respectivamente, a sobrevivência de células mutadas, a proliferação desregulada e a progressão metastática (Wang et al., 2021) (Stefanoudakis et al., 2024).

As características histológicas e genéticas do PDAC contribuem para a criação de um TME hostil para sobrevivência das células neoplásicas, gerando uma resistência à terapia e contribuindo para sua letalidade (Tong et al., 2022). O TME do PDAC é caracterizado por um estroma desmoplásico e denso, composto por uma população celular heterogênea que incluem CAFs, células imunes, endoteliais e nervosas, além de componentes “acelulares” (Mejia et al., 2020). A interação entre essas células e as células neoplásicas gera intensa inflamação, hipóxia e imunossupressão, condições que promovem agressividade, invasão e um metabolismo adaptado à glicólise aeróbica (efeito Warburg), garantindo a sobrevivência tumoral mesmo em baixa oxigenação. Assim, estas características distinguem o PDAC de outras neoplasias malignas sólidas e consequentemente dificulta que os medicamentos atinjam a região do tumor de forma eficaz, tornando o tratamento um desafio (Sherman; Beatty, 2023).

2.3 Diagnóstico e tratamento do PDAC

A detecção precoce do PDAC é um desafio, em suas fases iniciais, os sinais clínicos são frequentemente inespecíficos, manifestando-se como dor abdominal, perda de peso, icterícia, náuseas e fadiga. Em estágios avançados, complicações como obstrução biliar, trombose venosa profunda e ascite podem surgir, intensificando a dor e impactando severamente a qualidade de vida (Mukund et al., 2024).

Além disso, a ausência de exames de rastreamento de rotina universalmente aprovados para a população geral, somada à inespecificidade dos sintomas e à raridade da doença, contribui para um diagnóstico tardio e prognóstico desfavorável (Sun et al., 2025). Em pacientes sintomáticos, o biomarcador CA 19-9 é utilizado devido à correlação dos seus níveis com tamanho do tumor, a presença de metástases e o prognóstico, apresentando sensibilidade de

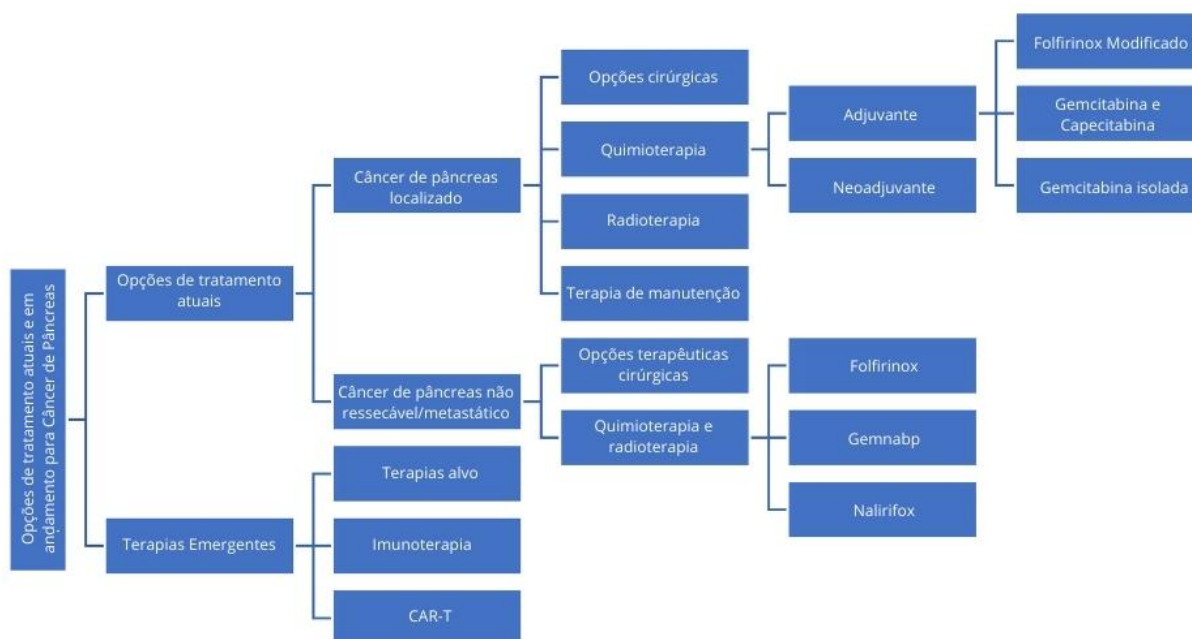
79% e especificidade de 80%. Contudo, esse marcador não é expresso em cerca de 10% da população, além de poder estar elevado em lesões benignas como inflamações pancreáticas ou obstruções biliares, exigindo cautela na interpretação (Kim et al., 2020).

Logo, devido às limitações do CA 19-9 como marcador de triagem, os exames de imagem são cruciais na detecção de lesões que podem preceder o PDAC. A tomografia computadorizada (TC) de abdome é o método preferencial para investigar a suspeita de PDAC com sensibilidade de aproximadamente 86%. Embora as PanINs sejam lesões microscópicas muitas vezes indetectáveis por imagem, a TC é indispensável por fornecer detalhes anatômicos para o estadiamento e planejamento do tratamento, permitindo a confirmação diagnóstica em associação com o exame histopatológico (Wood et al., 2023; Mukund et al., 2024).

Entre os tratamentos vigentes, a ressecção cirúrgica permanece como a única estratégia potencialmente curativa, sua aplicação é restrita a tumores localizados que não invadem vasos sanguíneos vitais, algo raro em razão do diagnóstico tardio e da rápida progressão da doença. Nos tumores considerados ressecáveis, conforme ilustra a figura 3, recorre-se à quimioterapia de primeira linha com gemcitabina ou com o regime FOLFIRINOX (Hayat et al., 2025). O regime FOLFIRINOX, introduzido em 2011, combina quatro agentes: (1) 5-fluorouracil, inibidor da timidilato-sintase; (2) leucovorina, que potencializa a ação do 5-FU e interfere na síntese de bases nitrogenadas; (3) irinotecano, derivado da camptotecina que inibe a topoisomerase I; e (4) oxaliplatina, composto à base de platina que promove ligações cruzadas no DNA, impedindo replicação e transcrição (Pereira; Corrêa, 2018).

A gemcitabina, aprovada em 1996, é um análogo da desoxicitidina que, após fosforilação intracelular, gera metabólitos capazes de inibir a ribonucleotídeo redutase, competir com nucleotídeos endógenos durante a síntese de DNA e desencadear apoptose (Pereira; Corrêa, 2018). Esses fármacos podem ser administrados isoladamente ou em associação com outros agentes. A gemcitabina, por exemplo, é atualmente combinada ao nab-paclitaxel para ampliar sua eficácia (Borz et al., 2025).

Figura 3 - Fluxograma das opções terapêuticas disponíveis em andamento para PDAC



Fonte: Adaptada de Hayat et al., 2025.

Apesar dos progressos terapêuticos, os resultados clínicos alcançados ainda são modestos, com sobrevida mediana de 11 meses variando conforme o estágio da doença. Novas estratégias têm sido investigadas, como imunoterapia, terapias alvo-dirigidas e radioterapia combinada. No entanto, o TME imunossupressor do PDAC e sua alta taxa de metástases dificultam resultados expressivos. Entre os imunoterápicos em estudo destacam-se o pembrolizumabe (anti-PD-1) e o ipilimumabe (anti-CTLA-4); entre as terapias alvo, o sotorasib, voltado para a mutação KRAS G12C, é o principal representante. No entanto, até o momento, nenhuma dessas abordagens demonstrou no PDAC eficácia comparável à observada em outros tumores sólidos (Li et al., 2024). Diante dos desafios terapêuticos para o PDAC, constantes estudos, buscando o desenvolvimento de novas drogas é alvo de estratégias terapêuticas que visam contornar esses mecanismos de resistência, modular o TME e, assim, aprimorar significativamente o prognóstico dos pacientes com PDAC (Farhangnia et al., 2024).

2.4 O potencial das Tiossemicarbazonas

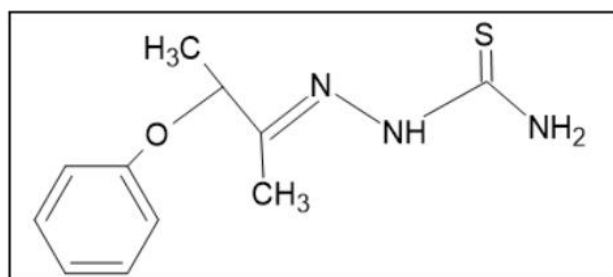
A constante necessidade de superar as limitações dos tratamentos existentes para o PDAC, impulsiona o desenvolvimento de novos fármacos, trazendo à tona abordagens inovadoras na síntese de moléculas. Dentre elas, destaca-se a hibridação molecular, que consiste

na combinação de dois ou mais grupos farmacofóricos em uma única estrutura híbrida. Essa estratégia permite que compostos, que originalmente apresentam atividades biológicas distintas, quando integrados, sejam capazes de potencializar suas ações ou atuar em múltiplos alvos biológicos simultaneamente (De Sena et al., 2024).

Uma vantagem adicional é a possibilidade de diminuir os efeitos colaterais conhecidos, associados a uma das drogas que compõem o híbrido, tornando essa abordagem particularmente vantajosa para doenças complexas como o PDAC. A partir dessa estratégia, surgiram diversos derivados, frequentemente associados a outros grupos químicos ou resultantes de modificações nas posições de elementos químicos, formando novos compostos cujos mecanismos de ação podem ser identificados e explorados terapeuticamente (Nepali et al., 2014; Marchesi; Perrone; Navacchia, 2023).

Com base nesse princípio, a hibridação molecular tem sido fundamental para o avanço da classe das tiossemicarbazonas (TSCs). Esses compostos heterocíclicos são sintetizados a partir da condensação entre tiossemicarbazida e aldeídos ou cetonas. A figura 4 mostra sua estrutura química, caracterizada por um sítio hidrazônico e uma extremidade tiólica, capazes de doar e aceitar pares de elétrons. O núcleo funcional HC=N-NH-C(=S) contém átomos de nitrogênio e enxofre com alta capacidade de doação eletrônica, permitindo a formação de complexos de coordenação, especialmente com íons metálicos como Fe(III/II) e Cu(II) , geralmente em geometria octaédrica. Essa notável habilidade de quelar metais confere às TSCs diversas propriedades biológicas, incluindo atividades antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral. Isso ocorre porque a quelação interfere em processos metabólicos cruciais que dependem desses íons, como a proliferação celular e a homeostase do ferro (Garbuz et al., 2025; Khan et al., 2022).

Figura 4 - Estrutura química da tiossemicarbazona



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

No contexto antitumoral, as TSCs destacam-se por seus mecanismos de ação multifacetados e promissores. Derivados dessa classe podem interromper a síntese de DNA ao sequestrar o ferro essencial para a ação da ribonucleotídeo redutase (RNR), enzima de suma importância na replicação e reparo do DNA. Além disso, promovem a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) na mitocôndria, levando à disfunção mitocondrial. As TSCs também atuam na inibição de topoisomerasas, enzimas essenciais para o enrolamento e desenrolamento do DNA. Somado a isso, induzem apoptose e modulam vias moleculares relevantes, como o receptor σ -2 e a proteína NDRG1. A metilação com cobre, por sua vez, tem se mostrado eficaz em aumentar a potência de inibição de alvos enzimáticos, especialmente da topoisomerase II α (Jiang et al., 2023; Menezes; Kovacevic; Richardson, 2019).

A relevância das TSCs é nítida ao apresentar resultados promissores em diversos tipos de câncer, mesmo que ainda não sejam amplamente utilizados na prática clínica. É importante destacar que a triapina, por exemplo, avançou para ensaios clínicos para leucemias, linfomas e tumores sólidos, embora sua toxicidade e metabolismo ainda sejam um desafio. Outros derivados de TSCs, como Dp44mT/DpC e FA4, estão sob intensa investigação pré-clínica em diversas neoplasias. Esses derivados têm se mostrado promissores contra leucemias e tumores sólidos, como câncer de mama, pâncreas, pulmão, melanoma, neuroblastoma, osteossarcoma e meduloblastoma. Alguns desses compostos já avançaram para ensaios clínicos de Fase I ou Fase II, apresentando atividade antiproliferativa e induzindo apoptose. O perfil diversificado permite que superem mecanismos de resistência a fármacos convencionais e atinjam alvos críticos para a sobrevivência das células tumorais, tornando-as candidatas atraentes para o desenvolvimento de novas terapias, inclusive como agentes únicos ou em combinação, visando aprimorar o prognóstico e a qualidade de vida dos pacientes (Anobile et al., 2022; Dharmasivam et al., 2024).

2.5 Metodologias empregadas na busca por novos derivados

A pesquisa básica atua como a base fundamental no desenvolvimento de novas terapias. Essa fase inicial é crucial para identificar compostos promissores e seus alvos biológicos, validando seus mecanismos de ação, eficácia e perfil de segurança. Com as informações obtidas através de ensaios laboratoriais e modelos pré-clínicos, é possível otimizar a estrutura molecular dos compostos, ajustando características como potência, seletividade e farmacocinética (Mete et al., 2025). Esse processo racional, que vai do conhecimento fundamental ao desenvolvimento de candidatos terapêuticos, é vital para gerar evidências antes

de avançar para testes em humanos. Dessa forma, aumenta-se significativamente a probabilidade de sucesso na jornada que leva da bancada do laboratório ao leito do paciente (Lattanzi et al., 2021; Van Rijt; Stefanek; Valente, 2023).

Nesse sentido, a triagem *in silico* tornou-se uma etapa indispensável nas fases pré-clínicas do desenvolvimento de novos compostos bioativos, especialmente quando integrada a ensaios *in vitro*. Ferramentas computacionais, como o SwissADME, oferecem abordagens acessíveis para a triagem de compostos. Elas permitem a avaliação preliminar de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). Além disso, permitem estimativas de similaridade com fármacos e compatibilidade com os princípios da química medicinal. Compostos que demonstram atividade biológica promissora, baixa toxicidade e potencial para alcançar o alvo terapêutico podem ser detectados por essas plataformas antes de serem selecionados para testes experimentais *in vitro* (Daina; Michielin; Zoete, 2017).

Historicamente, a falta desses estudos preliminares resultava em altas taxas de falha. Na década de 1990, por exemplo, cerca de 40% dos compostos em desenvolvimento eram descartados devido a propriedades farmacocinéticas e de biodisponibilidade inadequadas. Com a adoção de ensaios iniciais e a aplicação de regras como a "Regra dos Cinco" de Lipinski, essa taxa caiu para menos de 10% (Pathania; Singh, 2021). Com base nesses dados, a química medicinal pode otimizar a estrutura molecular do composto, ajustando características como lipofilicidade, solubilidade e estereoquímica. Isso resulta em um aprimoramento da potência, seletividade e perfil farmacocinético dos compostos, tornando-os mais eficazes e seguros (Afzal et al., 2024).

Além disso, o SwissADME oferece previsões das propriedades farmacocinéticas que, combinadas com os parâmetros físico-químicos, permitem estimar a biodisponibilidade oral, a possibilidade de utilizar doses menores e aumentar os intervalos entre administrações, contribuindo para a diminuição de efeitos adversos em pacientes (Hernandez et al., 2023). Outro aspecto fundamental da avaliação *in silico* envolve a previsão da interação dos compostos com as enzimas do citocromo P450 (CYPs), responsáveis por grande parte da biotransformação metabólica. Quando se trata do metabolismo hepático, a inibição dessas enzimas pode levar a interações medicamentosas indesejadas, alterando a farmacocinética do composto, o que pode resultar em efeitos adversos, toxicidade ou acúmulo do fármaco ou de seus metabólitos (Beck et al., 2021).

Adicionalmente, os ensaios *in vitro* representam uma ferramenta valiosa para a validação da eficácia e segurança de novos compostos. Cerca de 30% das falhas clínicas ainda

ocorrem devido à toxicidade, ressaltando a importância dessas análises desde as fases iniciais da pesquisa. Eles permitem a triagem inicial em larga escala e seleção de candidatos promissores, reduzindo significativamente o uso de modelos animais, bem como o tempo e os custos envolvidos na pesquisa. Além disso, esses ensaios possibilitam a avaliação da seletividade e toxicidade dos compostos em células saudáveis, contribuindo para a compreensão de seu perfil de segurança. Os modelos bidimensionais (2D), apesar de simplificados, são amplamente utilizados para análises de citotoxicidade e compreensão de mecanismos moleculares (Wei; Wang; Gou, 2021; Rijt; Stefanek; Valente, 2023).

Deste modo, linhagens celulares derivadas de tumores humanos são frequentemente utilizadas em pesquisas sobre a biologia do câncer e no desenvolvimento de novos fármacos, por serem de fácil manipulação, alta reprodutibilidade e por manterem características genéticas e fenotípicas do tecido de origem, especialmente nas primeiras passagens (Mirabelli; Coppola; Salvador, 2019). Dessa forma, a combinação dessas metodologias de pesquisa básica e pré-clínica é vital para triagem nas fases iniciais do desenvolvimento, prevenindo o avanço para processos mais caros e demorados nos estágios clínicos. Essa triagem rápida, barata e confiável é fundamental, considerando que, mesmo com todas as melhorias na pesquisa básica, desde a síntese até os ensaios pré-clínicos, apenas 1 em cada 8 compostos chega à fase clínica e se torna um medicamento aprovado (Yamaguchi; Kaneko; Narukawa, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Investigar o potencial de derivados tiossemicarbazonas como agentes terapêuticos para o adenocarcinoma ductal pancreático através de análises *in vitro* e *in silico*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a citotoxicidade dos derivados tiossemicarbazonas em células não neoplásicas e em linhagens neoplásicas pancreáticas;
- Analisar *in silico* os parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos;
- Prever *in silico* os possíveis alvos moleculares dos derivados tiossemicarbazonas.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento experimental

Trata-se de um estudo experimental que combina metodologias *in vitro* e *in silico*, conforme ilustrado na figura 5.

Figura 5 - Fluxograma do plano de trabalho



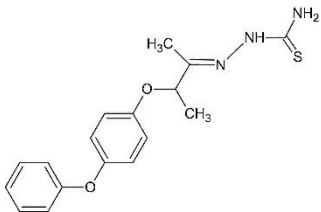
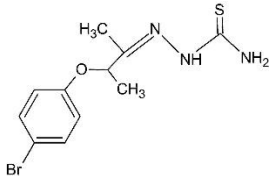
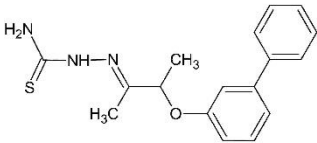
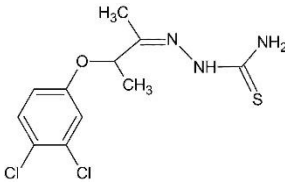
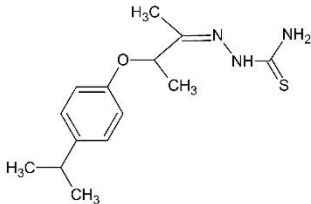
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

4.2 Derivados tiossemicarbazonas

Os derivados tiossemicarbazonas da série DT, foram sintetizados, caracterizados e purificados pelo grupo da Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Na tabela 1 estão apresentados o código, o nome químico e a estrutura molecular dos derivados estudados.

Tabela 1 - Códigos, nome químico e estrutura molecular dos derivados tiossemicarbazonas

Códigos	Nome químico	Estrutura molecular
---------	--------------	---------------------

DT-08	(E)-2-(3-(4-fenoxifenoxi)butan-2-ilideno)hidrazinacarbotoamida	
DT-10	(E)-2-(3-(4-bromofenoxi)butan-2-ilideno)hidrazinacarbotoamida	
DT-22	(E)-2-(3-([1,1'-bifenil]-3-iloxi)butan-2-ilideno)hidrazinacarbotoamida	
DT-28	(E)-2-(3-(3,4-diclorofenoxi)butan-2-ilideno)hidrazinacarbotoamida	
DT-32	E)-2-(3-(4-isopropilfenoxi)butan-2-ilideno)hidrazinacarbotoamida	

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

4.3 Isolamento e manutenção de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)

As células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) foram obtidas de voluntários saudáveis com mais de 18 anos, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram excluídos os voluntários que relataram uso crônico de medicamentos ou ingestão de bebidas alcoólicas nas 72 horas anteriores à coleta. Para a coleta, foram utilizados 18 mL de sangue, distribuídos em dois tubos de 9 mL com heparina. O isolamento das PBMCs

foi realizado pelo método de separação por gradiente de densidade com Ficoll Paque™ Plus. O sangue foi cuidadosamente sobreposto ao reagente em tubos e centrifugado por 45 minutos a 350g. Após a centrifugação, as PBMCs formaram uma “nuvem” entre o plasma e o Ficoll e foram cuidadosamente coletadas com uma pipeta Pasteur e transferidas para um novo tubo. As células foram ressuspensas em meio RPMI e centrifugadas duas vezes a 1500 rpm por 20 minutos para lavagem. Após a primeira lavagem, uma alíquota foi separada para contagem em câmara de Neubauer. O sobrenadante da segunda centrifugação foi descartado, e o pellet foi ressuspensado em meio RPMI 1640 completo (suplementado com 10% de soro bovino fetal) no volume calculado para o semeio em placas de 96 poços, na densidade de $5 \cdot 10^5$ células por poço. As placas foram mantidas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ (Li et al., 2019).

4.3.1 Considerações éticas

Os procedimentos que envolveram o uso de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), foram conduzidos após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, sob o número CAAE: 81072224.0.0000.5208. Além disso, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Protocolo de Pesquisa foi elaborado e respeitado, seguindo os princípios éticos e legais estabelecidos pela Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

4.4 Manutenção de linhagens neoplásicas pancreáticas

As linhagens celulares BxPC-3, MIA PaCa-2 e PANC-1 obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), foram utilizadas conforme as orientações descritas nos respectivos datasheets. As diferenças entre elas e os meios de cultivo correspondentes estão detalhados na tabela 2. As células foram incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂, com meios de cultura suplementados com L-Glutamina, 10mM de HEPES e 200U/mL de penicilina/estreptomicina, além dos soros. Os registros morfológicos foram monitorados diariamente utilizando um microscópio invertido (modelo Eclipse TS2R/DL-15, Nikon, EUA). Para as manutenções e experimentos, as células foram desaderidas das garrafas utilizando uma solução de PBS 1X e tripsina-EDTA (0,25% ou 0,5%). As linhagens foram autenticadas e testadas quanto à presença de Mycoplasma periodicamente

Tabela 2 - Meios de cultivo, tempo de duplicação e características das linhagens pancreáticas

BxPC-3	MIA PaCa-2	PANC-1
--------	------------	--------

Método de cultivo	RPMI 1640 + 10% soro fetal bovino	DMEM high + 10% soro fetal bovino + 2,5% de soro de cavalo	DMEM low + 10% soro fetal bovino
Tempo de duplicação	48-60 horas	40 horas	52 horas
Características	Sem a mutação no gene KRAS.	Apresenta mutação em KRAS, TP53 e CDKN2A.	Apresenta mutação em KRAS, TP53 e CDKN2A

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

4.5 Ensaio de citotoxicidade em PBMCs e em linhagens neoplásicas pancreáticas

As PBMCs, na densidade de $5 \cdot 10^5$ por poço, foram tratadas com os derivados logo após o isolamento, enquanto as células aderidas, na densidade de $1 \cdot 10^4$ por poço, foram tratadas 24 horas após a semeadura. Todos os cultivos foram mantidos em estufa a 37°C com 5% de CO₂. Os tratamentos com os derivados de tiossemicarbazonas foram realizados nas concentrações de 1, 10, 50 e 100 µM, com um período de exposição de 48 horas para as PBMCs e 72 e 48 horas para as linhagens neoplásicas. Em cada ensaio, foram incluídos controles de células não tratadas e controles de poços contendo apenas o solvente DMSO nas concentrações de 0,1% e 0,2%. Depois do período de incubação, o ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo método de MTT (3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), onde 20 µL do reagente foram adicionados e as células foram incubadas novamente na estufa por 3 horas. Em seguida, 130 µL de SDS (dodecil sulfato de sódio) foram adicionados. Por fim, após 24 horas, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro a 570nm (Da Costa et al., 2024). A partir dos resultados da viabilidade celular, o IC₅₀ foi calculado para cada tratamento utilizando o software Graph Pad Prism, versão 9.3.0. O Índice de Seletividade (IS) foi, então, determinado pela razão entre a IC₅₀ de células não neoplásicas e a IC₅₀ das células neoplásicas.

4.6 Parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e predição de alvos moleculares - *in silico*

A ferramenta online SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) foi empregada na análise dos descritores físico-químicos de predição, dos parâmetros de ADME (administração, distribuição, metabolismo, excreção) e das propriedades farmacocinéticas dos derivados tiossemicarbazonas por meio das estruturas moleculares e códigos SMILE

(Simplified Molecular Input Line Entry System), detalhados na tabela 3. Para prever os alvos moleculares, foram utilizadas duas plataformas distintas, SEA Search Server (<https://sea.bkslab.org/>) e Swiss TargetPrediction (<https://www.swisstargetprediction.ch/>). Essa análise foi feita a partir dos códigos SMILES dos derivados. Apenas os alvos que apareceram em ambas as plataformas foram considerados (Daina; Michelin; Zoete, 2017; Wang et al., 2016).

Tabela 3 - Código SMILE dos derivados tiossemicarbazonas

Derivados	Código SMILE
DT-08	<chem>S=C(N)NN=C(/C)C(C)Oc1ccc(Oc2ccccc2)cc1</chem>
DT-10	<chem>CC(/C(C)=N/NC(N)=S)OC1=CC=C(Br)C=C1</chem>
DT-22	<chem>S=C(N)NN=C(\C)C(C)Oc1cc(ccc1)c1ccccc1</chem>
DT-28	<chem>CC(Oc1cc(Cl)c(Cl)cc1)\C(C)=N/NC(=S)N</chem>
DT-32	<chem>CC(Oc1ccc(cc1)C(C)C)\C(C)=N/NC(=S)N</chem>

4.7 Considerações estatísticas

Todas as análises estatísticas e cálculos de IC₅₀ foram realizadas no software Graph PadPrism versão 9.3.0. Inicialmente as variáveis foram avaliadas quanto a representação gráfica em média e desvio padrão. O IC₅₀ foi calculada por meio de regressão não-linear, utilizando o modelo de curva dose-resposta com inclinação variável (variable slope). A análise estatística foi realizada por ANOVA de duas vias (two-way ANOVA), considerando-se $p < 0,05$, seguida de testes de comparações múltiplas para comparar as amostras tratadas com os controles de DMSO. Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata ($n = 3$), garantindo a reprodutibilidade dos resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaios de citotoxicidade

5.1.1 Citotoxicidade em PBMCs

O ensaio de citotoxicidade em PBMCs revelou um perfil de segurança promissor para a maioria dos compostos. Como mostrado na tabela 4, apenas o DT-08 apresentou toxicidade significativa para PBMCs, com um IC₅₀ de 19,02 μM . Isso significa que essa concentração de DT-08 foi suficiente para reduzir a viabilidade das células saudáveis pela metade. Essa

toxicidade específica pode ser atribuída à sua estrutura química particular, que emprega como ligante dois anéis aromáticos conectados por um átomo de oxigênio. Essa configuração torna o composto significativamente mais lipofílico, o que facilita sua capacidade de atravessar as membranas celulares por meio de interações hidrofóbicas e, conseqüentemente, afeta as células saudáveis de forma mais pronunciada. Essa diferença estrutural pode explicar a maior permeabilidade celular do DT-08 ou uma interação mais eficaz com seus alvos intracelulares, resultando na toxicidade observada (De Araujo et al., 2022; Polêto et al., 2018). Em contrapartida, os demais derivados não demonstraram qualquer efeito tóxicos sobre as PBMCs até a concentração testada de 100 μM .

Tabela 4 - Atividade citotóxica *in vitro* dos derivados tiossemicarbazonas em PBMCs. Os valores indicam a concentração inibitória média (IC_{50}) em $\mu\text{M} \pm$ desvio padrão (DP).

DERIVADOS	$\text{IC}_{50} (\mu\text{M}) \pm \text{DP}$
DT-08	19,02 $\pm$ 2,48
DT-10	>100
DT-22	>100
DT-28	>100
DT-32	>100

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

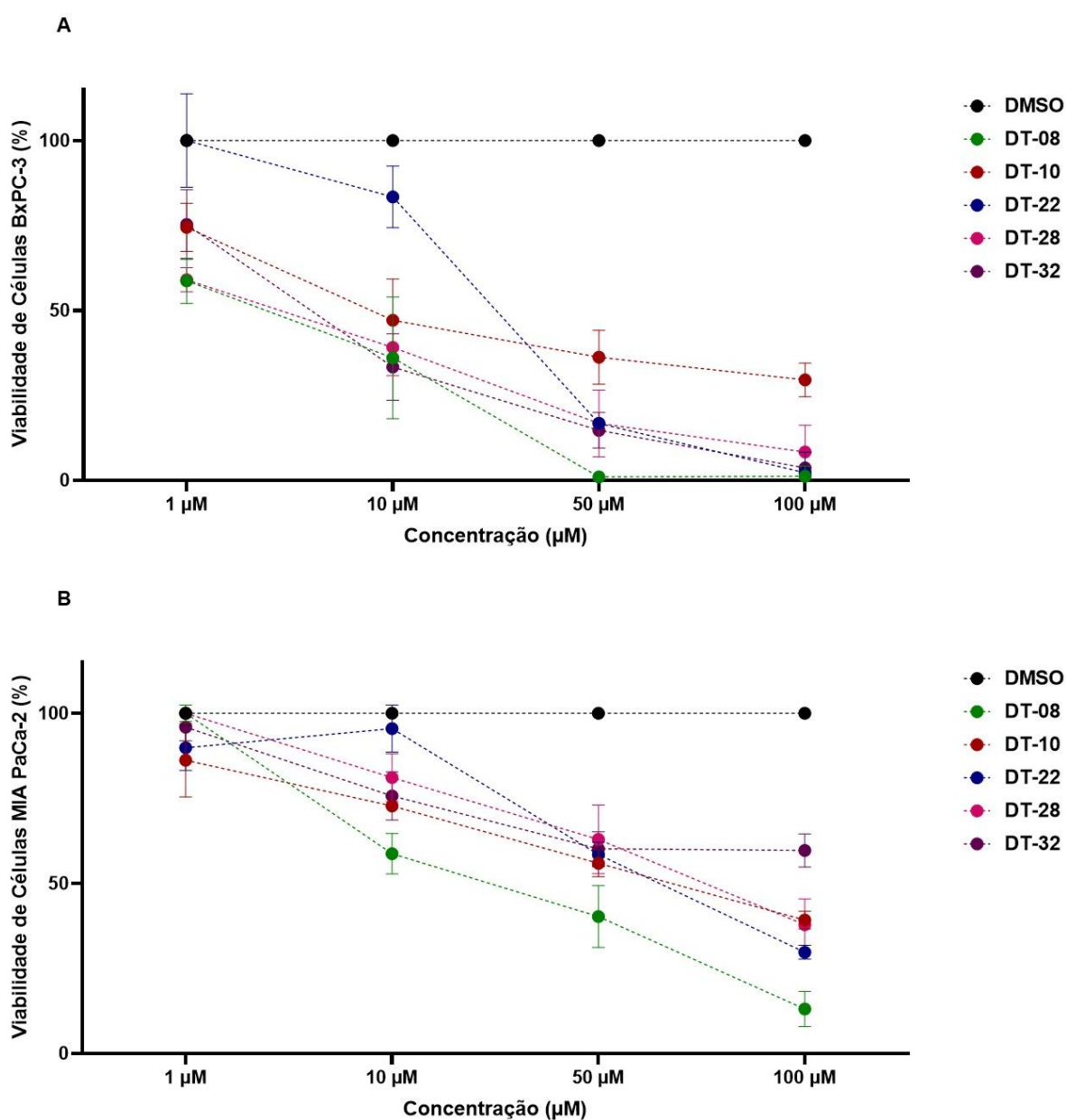
A baixa toxicidade em células não tumorais melhora diretamente a qualidade de vida do paciente e permite, em muitos casos, a administração de doses mais altas e potencialmente mais eficazes. Essa característica é fundamental no desenvolvimento de fármacos antineoplásicos para reduzir os efeitos colaterais severos que frequentemente acompanham as terapias tradicionais. (Garbuz et al., 2025).

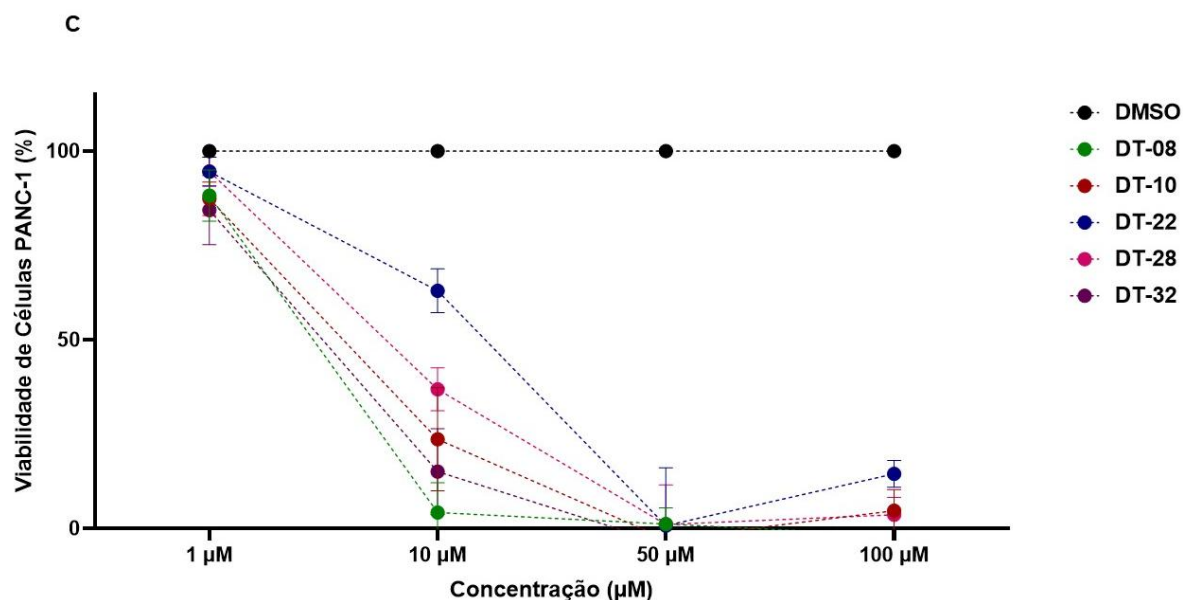
5.1.2 Citotoxicidade em células neoplásicas pancreáticas

O ensaio de viabilidade com os derivados tiossemicarbazonas revelou padrões de resposta distintos nas três linhagens neoplásicas. Na linhagem BxPC-3, como ilustrado no gráfico da figura 6A, foi possível observar que todos os compostos levaram à uma redução da viabilidade celular quando comparado ao DMSO, sendo o efeito mais expresso a partir da concentração de 50 e 100 μM . Para a linhagem MIA PaCa-2, a diminuição da viabilidade foi mais prevalente na concentração de 100 μM quando comparada ao DMSO, o que sugere que

os derivados não apresentaram resultados evidentes para essa linhagem, como mostra o gráfico da figura 6B. Já na linhagem PANC-1, a viabilidade celular dos DT-08, DT-10, DT-28 e DT-32 reduziu-se consideravelmente quando comparada ao DMSO a partir da concentração de 10 μM , conforme detalhado no gráfico da figura 6C.

Figura 6 – Efeito dos derivados tiossemicarbazonas sobre a viabilidade celular após 72 horas de tratamento. Os gráficos dose resposta mostram a viabilidade celular dos derivados de tiossemicarbazona (DTs: 08, 10, 22, 28, 32) e do DMSO em diferentes linhagens de células pancreáticas. O eixo "x" indica as concentrações (1, 10, 50 e 100 μM), enquanto o eixo "y" representa a viabilidade celular (%) em uma escala de 0 a 100%. A) viabilidade celular nas células BxPC-3. B) viabilidade celular nas células MIA PaCa-2. C) viabilidade celular nas células PANC-1.





Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Com base nos dados de viabilidade obtidos do ensaio de citotoxicidade, o IC_{50} foi calculado determinando a concentração mínima capaz de matar 50% das células. Em seguida, para determinar o potencial terapêutico dos compostos, foi calculado o IS, um parâmetro crucial que indica a especificidade de um fármaco para células tumorais em relação às células normais. O IS é obtido pela razão entre o IC_{50} das TSCs em células não-neoplásicas e o IC_{50} das TSCs em linhagens de câncer. Como regra geral, valores de IS maiores que três sugerem que o composto é preferencialmente tóxico para células cancerígenas, um perfil altamente desejável para o desenvolvimento de tratamentos (Bartmanska et al., 2018).

Dessa maneira, os valores de IC_{50} e IS estão apresentados na tabela 5, revelando variações significativas na potência antineoplásica dos derivados, contra as linhagens de células de câncer de pâncreas, com alguns compostos demonstrando eficácia notável mesmo em concentrações baixas. Na linhagem BxPC-3, a maioria dos derivados mostram toxicidade promissora com valores de IC_{50} variando entre 2,15 e 22,96 μM e IS variando de 4,35 a 40,48 com destaque ao DT-10, DT-28 e DT-32 apresentando os menores IC_{50} (9,58, 2,47 e 3,87 μM , respectivamente) e maiores IS (10,43, 40,48 e 25,83, respectivamente). Na linhagem MIA PaCa-2, o DT-08 demonstrou toxicidade relevante comparado aos demais, com um IC_{50} de 19,85 μM . No entanto, seu IS de 0,95 indica que o composto é quase igualmente citotóxico para células tumorais e saudáveis, o que não é desejável. Os demais derivados, apesar de seguros em PBMCs, demonstraram pouca atividade tóxica nesta linhagem, onde os compostos apresentaram IS menores que 3. De forma similar a BxPC-3, na linhagem PANC-1, os

derivados também tiveram resultados promissores, com IS relevante para todos os compostos. Para esta linhagem, observou-se uma variação nos valores de IC₅₀ entre 2,81 a 12,49 µM e IS 6,76 a 24,15, com destaque aos derivados DT-10, DT-28 e DT-32 apresentando os melhores resultados de toxicidade (IC₅₀: 4,14, 8,86 e 7,89, respectivamente) e seletividade (IS: 24,15, 11,28 e 12,67, respectivamente).

Tabela 5 - Atividade citotóxica *in vitro* dos derivados tiossemicarbazona em linhagens neoplásicas em 72 horas. Os valores indicam a concentração inibitória média (IC₅₀) em µM ± desvio padrão (DP) e Índice de seletividade (IS).

DERIVADOS	BxPC-3	MIA PaCa-2	PANC-1
DT-08	2,15±0,44 IS = 8,84	19,85±4,06 IS = 0,95	2,81±0,98 IS = 6,76
DT-10	9,58±1,18 IS = 10,43	59,07±5,07 IS = 1,69	4,14±2,05 IS = 24,15
DT-22	22,96±4,76 IS = 4,35	57,79±2,93 IS = 1,73	12,49±3,75 IS = 8
DT-28	2,47±0,9 IS = 40,48	67,64±8,84 IS = 1,47	8,86±1,87 IS = 11,28
DT-32	3,87±2,19 IS = 25,83	>100	7,89±1,92 IS = 12,67

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Nesse sentido, a menor citotoxicidade dos DTs para MIA PaCa-2 pode ser atribuída às suas características genéticas e moleculares intrínsecas. Curiosamente, a linhagem MIA PaCa-2 é conhecida por sua maior agressividade e invasividade, características impulsionadas por mutações em KRAS, TP53 e CDKN2A. Além disso, a presença de proteínas antiapoptóticas, como as da família Bcl-2, e a alta expressão de bombas de efluxo, como os transportadores ABC, que expulsam fármacos citotóxicos das células, conferem à MIA PaCa-2 uma resistência terapêutica intrínseca (Wu et al., 2024; Shichi et al., 2022). É relevante notar que, embora a linhagem PANC-1 também apresente mutações em KRAS, TP53 e CDKN2A, e a BxPC-3 não possua mutação em KRAS, ambas demonstram menor atividade de bombas de efluxo e menor expressão de proteínas antiapoptóticas. Essas características podem torná-las mais suscetíveis aos tratamentos avaliados, explicando a maior eficácia dos DTs observada nessas linhagens em comparação com a MIA PaCa-2 (Suri; Zimmerman; Burkhart, 2020; Gradiz et al., 2016).

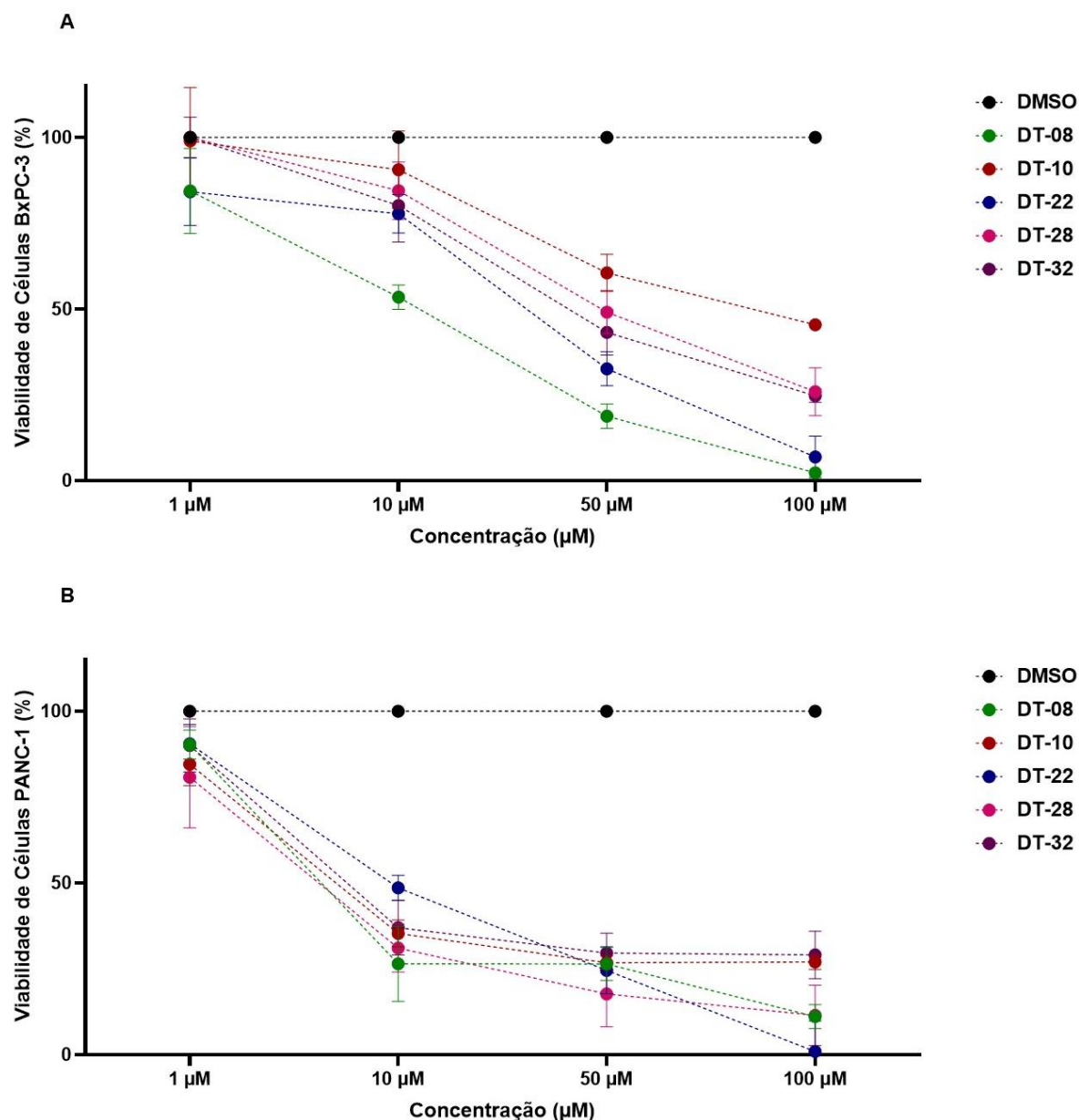
Os resultados, especialmente aqueles obtidos com a linhagem de câncer de pâncreas mais resistente, reforçam que a alta refratariedade do PDAC aos tratamentos farmacológicos é um grande obstáculo. A literatura aponta que um dos principais mecanismos de resistência terapêutica é o efluxo de fármacos para fora das células cancerígenas, um processo mediado por proteínas da superfamília ABC (ATP-binding cassette) presentes na membrana plasmática. Embora existam sete famílias de proteínas ABC em humanos, as famílias ABCB, ABCC e ABCG são as mais associadas à expulsão de medicamentos anticâncer. A primeira bomba identificada nessa função foi a MDR1 (ABCB1), também conhecida como glicoproteína P (P-gp), capaz de transportar uma vasta gama de fármacos e frequentemente expressa em tumores do sistema digestivo. Além da P-gp, vários membros da família ABCC, como MRP1 (ABCC1), MRP2 (ABCC2), MRP3 (ABCC3), MRP4 (ABCC4), MRP5 (ABCC5) e MRP6 (ABCC6), também contribuem para a resistência no PDAC, apesar de suas especificidades de substrato variarem (Hagmann et al., 2010; Marin et al., 2022).

Além disso, após verificar o efeito concentração dependente buscamos investigar como o tempo de exposição influencia a eficácia dos DTs através do ensaio de citotoxicidade. Para isso, realizamos o ensaio de citotoxicidade em um período reduzido de 48 horas nas linhagens BxPC-3 e PANC-1, que haviam apresentado os melhores resultados em tempos de exposição mais longos, conforme ilustrado na figura 6. Na linhagem BxPC-3, a redução da viabilidade celular foi menos pronunciada com a diminuição do tempo de exposição quando comparada aos resultados em 72 horas, especialmente nas concentrações de 50 e 100 μ M, com destaque para os DT-08, DT-22, DT-28 e DT-32 como mostrado na figura 7a. Isso indica que, para a BxPC-3, o tempo de incubação influenciou diretamente a toxicidade dos derivados, sugerindo que uma exposição mais prolongada é necessária para um maior impacto citotóxico.

Na linhagem PANC-1, a viabilidade celular diminuiu significativamente a partir de 10 μ M, com destaque para os DT-08, DT-10, DT-28 e o DT-32 como ilustrado na figura 7b. Em contraste com a BxPC-3, o tempo de exposição mais curto para a PANC-1 não alterou significativamente a ação dos compostos, mantendo um efeito tóxico similar ao observado em 72 horas. Essa disparidade pode estar intrinsecamente ligada às diferenças na duplicação celular entre as linhagens. A literatura indica que o tempo de duplicação da BxPC-3 varia entre 48 e 60 horas, enquanto o da PANC-1 é de aproximadamente 52 horas (Deer et al., 2010).

Figura 7 - Efeito dos derivados tiossemicarbazonas sobre a viabilidade celular após 48 horas de tratamento. Os gráficos dose resposta mostram a viabilidade celular dos derivados de tiossemicarbazona (DTs: 08, 10, 22, 28, 32) em diferentes linhagens de células pancreáticas. O eixo "x" indica as concentrações dos DTs (1, 10, 50 e 100 μ M) e do DMSO, enquanto o eixo "y" representa

a viabilidade celular (%) em uma escala de 0 a 100%. A) viabilidade celular nas células BxPC-3. B) viabilidade celular nas células PANC-1.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Embora a PANC-1 apresente divisão celular teoricamente similar ou ligeiramente mais rápida, a necessidade de um período de exposição mais longo para a BxPC-3 exibir toxicidade pode estar relacionada a fatores como uma fração de células em proliferação ativa menor ou mecanismos de reparo celular mais eficientes que exigem mais tempo para serem sobrecarregados pelos compostos. Além disso, a heterogeneidade intrínseca entre as linhagens de câncer de pâncreas pode influenciar essa resposta. Diferenças na expressão de proteínas reguladoras do ciclo celular, vias de sinalização específicas ou até mesmo a capacidade de

metabolizar ou efluir os compostos em diferentes ritmos podem contribuir para a variação na dependência temporal da toxicidade (Kim et al., 2014; Wang et al., 2013).

Ao analisar os IS em 72 horas para as linhagens BxPC-3 e PANC-1, os derivados DT-10, DT-28 e DT-32 se destacaram como os mais promissores em ambas as linhagens. Todos eles apresentaram IS bem maiores que 3 indicando uma seletividade significativa para as células tumorais. Quando o tempo de exposição foi reduzido para 48 horas, na linhagem BxPC-3, os valores de IC₅₀ aumentaram variando entre 11,65 a 79,99 µM e, conseqüentemente, os IS diminuíram variando de 1,25 a 4,13. Enquanto isso, o DT-22 apresentou desempenho melhor em 48 horas com IC₅₀ de 24,16 µM e IS de 4,13. O resultado representado na tabela 6 pode estar relacionado à necessidade de um período de exposição mais prolongado para que os fármacos atuem eficazmente, conforme discutido anteriormente sobre o tempo de duplicação celular e a cinética de ação em BxPC-3. Por outro lado, na linhagem PANC-1, todos os derivados TSCs tiveram IS > 3 e IC₅₀ até a concentração de 12,85 µM, sugerindo uma menor dependência do tempo de exposição.

Tabela 6 – Atividade citotóxica *in vitro* dos derivados tiossemicarbazona em linhagens neoplásicas em 48 horas. Os valores indicam a concentração inibitória média (IC₅₀) em µM ± desvio padrão (DP) e Índice de seletividade (IS).

DERIVADOS	BxPC-3	PANC-1
DT-08	11,65±2,6 IS = 1,63	5,93±2,2 IS = 3,21
DT-10	79,99±2,33 IS = 1,25	7,76±2,27 IS = 12,88
DT-22	24,16±6,52 IS = 4,13	12,85±1,82 IS = 7,78
DT-28	42,66±4,51 IS = 2,34	4,89±3,55 IS = 20,44
DT-32	36,03±1,28 IS = 2,77	10,46±2,88 IS = 9,56

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Por possuírem grupos aromáticos em suas estruturas químicas, os DTs apresentam alta lipossolubilidade, o que lhes permite interagir de forma hidrofóbica com a membrana celular. No entanto, essa propriedade, se não for balanceada adequadamente, pode ter consequências negativas. Em contraste, o DT-10 e o DT-28 contêm um grupo aromático ligado a um átomo

halogênico. Essa característica pode favorecer interações moleculares mais específicas com alvos biológicos, aumentando a afinidade e a seletividade dos compostos (Waring, 2010; Wang et al., 2018).

Já o DT-32 apresenta um grupo aromático com ramificações alifáticas, combinação que confere uma hidrofobicidade otimizada, contribuindo para sua alta seletividade em relação às células tumorais. Por outro lado, o DT-22, apesar de possuir um sistema aromático conjugado e alta hidrofobicidade, apresenta uma estrutura mais rígida que pode dificultar sua ligação com alvos biológicos específicos, o que poderia explicar sua menor potência e seletividade observadas em alguns casos (Xu et al., 2014; Yadav; Ganguly, 2015).

5.2 Parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos

5.2.1 Avaliação das Propriedades Físico-Químicas e Similaridade a Fármacos

A avaliação do "drug-likeness" é uma etapa crucial na fase de descoberta de fármacos, permitindo prever a probabilidade de um composto se tornar um medicamento de sucesso. Essa análise considera propriedades físico-químicas e estruturais essenciais para a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) de uma substância no corpo, especialmente para administração oral. Ao identificar compostos com perfis desfavoráveis *in silico*, evita-se investir em ensaios mais caros e complexos. As Regras de Lipinski são o padrão ouro para essa triagem inicial, utilizando parâmetros como peso molecular (PM), coeficiente de partição (LogP), número de doadores de ligações de hidrogênio (NDH) e número de aceptadores de ligações de hidrogênio (NAH) (Jia et al., 2020).

A partir deste conceito, os derivados tiossemicarbazonas foram avaliados através da ferramenta SwissADME. Os derivados DTs demonstraram um perfil promissor, pois não violaram nenhuma das Regras de Lipinski, um indicativo positivo de que essas moléculas possuem as características básicas para uma boa absorção e distribuição no organismo, conforme detalhado na tabela 7. Ao analisar os parâmetros individualmente, observamos que todos os DTs apresentaram PM na faixa de 279,40 g/mol a 329,42 g/mol. Esses valores são considerados ideais para a permeação de membranas biológicas, uma vez que são inferiores a 500 Daltons (Da). Em relação à polaridade, o número de doadores de ligações de hidrogênio (NDH) foi 2 e o de aceptadores (NAH) variou entre 2 e 3, ambos dentro dos limites estabelecidos por Lipinski (≤ 5 e ≤ 10 , respectivamente). Isso sugere um equilíbrio de polaridade adequado para a interação com alvos biológicos sem comprometer a penetração celular. Adicionalmente,

os valores de LogP, variaram de 2,80 a 3,29, indicando uma lipofilicidade moderada. Essa faixa é ideal para a permeação de membranas, pois não ultrapassa o valor de 5, evitando problemas de baixa solubilidade ou ligações inespecíficas (Veg et al., 2025).

Além das Regras de Lipinski, outros parâmetros e modelos são frequentemente usados para refinar a avaliação de "likeness" dos DTs, como mostrado na tabela 7. A refratividade molar (A), que corresponde ao volume molecular e à polarizabilidade, apresentou valores variando entre 79,17 e 95,99. Essa faixa está dentro do intervalo de referência de 40 a 130, indicando uma boa capacidade dos compostos de interagir com alvos biológicos e manter um perfil "drug-likeness" favorável. As ligações rotacionais (LR), que quantificam a flexibilidade molecular, variam entre 5 e 7 nos DTs. Essa faixa é considerada ideal, estando bem abaixo do limite de 10-12 ligações para fármacos orais, o que permite que a molécula se ajuste adequadamente ao seu alvo biológico sem perder a energia necessária para a interação. Quanto à solubilidade em água (LogS), os valores obtidos variaram entre -3,34 a -3,99. Esses valores menos negativos, indicam que, são relativamente pouco solúveis em água, uma característica comum para muitos compostos orgânicos e manejável em formulações. Por fim, a área de superfície polar topológica (ASPT) dos DTs, com valores entre 91,73 Å² e 100,96 Å², está bem abaixo do limite de 140 Å², o que é altamente favorável para uma boa permeabilidade de membranas e absorção gastrointestinal (Miebs et al., 2024).

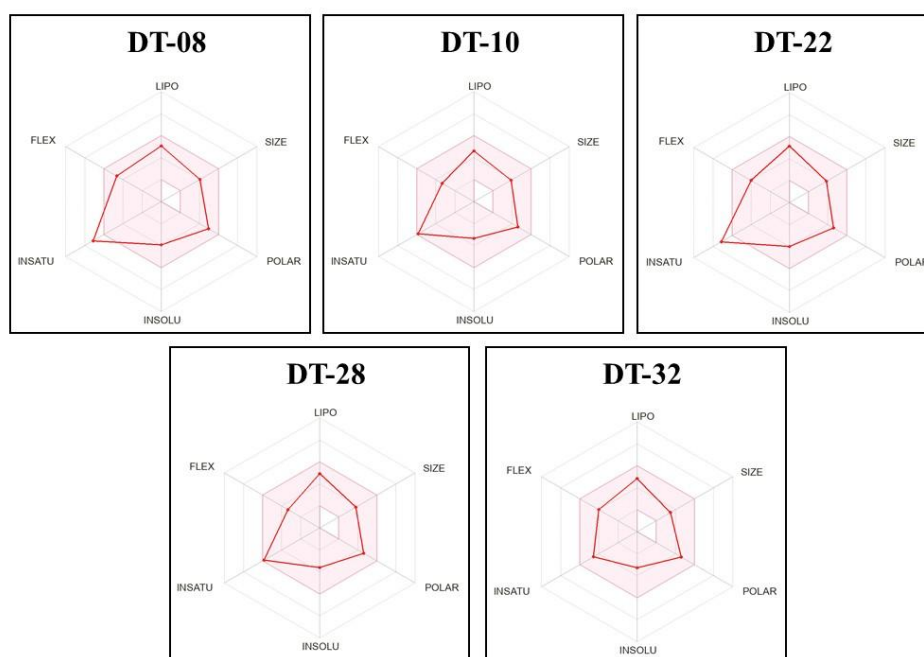
Tabela 7 - Valores das propriedades ADME dos derivados tiossemicarbazonas. PM - peso molecular; NAH - número de aceitadores de hidrogênio; NDH - número de doadores de hidrogênio; LogP - lipofilicidade; Violações: indicam se os derivados são aprovados ou reprovados na regra de Lipinski; A - refratividade molar, LR – ligações rotacionais, LogS - hidrofiliabilidade das moléculas e ASPT - área de superfície polar topológica.

	Regras de Lipinski					A	LR	LogS (ESOL)	ASPT (Å ²)
Derivados	PM (g/mol)	NAH	NDH	Log P (iLOG P)	Violações				
DT-08	329.42	3	2	3.29	0	95.66	7	-3.94	100.96
DT-10	316.22	2	2	2.80	0	76.85	5	-3.34	91.73
DT-22	313.42	2	2	3.17	0	94.58	6	-3.99	91.73
DT-28	306.21	2	2	2.67	0	79.17	5	-3.62	91.73
DT-32	279.40	2	2	3.10	0	83.73	6	-3.29	91.73

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

A conformidade de todos os DTs com as Regras de Lipinski é um forte indicativo de seu potencial para administração oral. Além disso, a análise detalhada de outros parâmetros reforça esse potencial, mostrando um bom equilíbrio de propriedades físico-químicas. Visualmente, os gráficos de radar mostrados na figura 8 ilustram claramente o perfil de "drug-likeness" de cada derivado, avaliando seis propriedades essenciais: lipofilicidade (LIPO), tamanho (SIZE), polaridade (POLAR), insolubilidade (INSOLU), insaturação (INSATU) e flexibilidade (FLEX). Para que um composto seja considerado um candidato ideal a fármaco oral, o polígono que representa as propriedades da molécula deve estar contido dentro de uma área pré-definida no gráfico, que demarca a faixa ótima para fármacos de administração oral. É notável que, todos os cinco compostos exibiram um bom equilíbrio dessas características, com seus perfis poligonais geralmente se encaixando dentro da área aceitável (rosa). Isso visualmente sublinha o significativo potencial desses derivados para administração oral (El-Sayed et al., 2022).

Figura 8 - Gráficos de radar dos derivados tiossemicarbazonas. Os gráficos apresentam os critérios de lipofilicidade (LIPO), tamanho (SIZE), polaridade (POLAR), insolubilidade (INSOLU), insaturação (INSATU) e flexibilidade (FLEX).



Fonte: Adaptado de SwissADME, 2025. Disponível em: <https://www.swissadme.ch>.

5.2.2 Avaliação das Propriedades Farmacocinéticas e do Metabolismo Hepático

As propriedades farmacocinéticas foram apresentadas na tabela 8, elas incluem a absorção gastrointestinal (GI), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB), glicoproteína (P-gp), permeabilidade na pele (Log Kp) e biodisponibilidade oral. A análise desse perfil revelou características importantes para o potencial desses compostos como fármacos. Todos os derivados demonstraram alta absorção gastrointestinal, um atributo muito favorável para medicamentos de uso oral. Além disso, um ponto crucial e altamente positivo é que nenhum dos derivados se mostrou um substrato da P-glicoproteína (P-gp). Essa bomba de efluxo é conhecida por sua capacidade de excretar fármacos das células, incluindo as que revestem o trato gastrointestinal. A ausência de afinidade dos DTs com a P-gp sugere um risco menor de que sejam ativamente removidos das células, o que potencialmente resulta em melhor biodisponibilidade e maior eficácia (Ziembicka et al., 2023).

Adicionalmente, foram analisadas a interação dos derivados com o metabolismo hepático, mediado pelas isoformas das enzimas Citocromo P450 (CYP). Essas enzimas são cruciais por biotransformar fármacos e seus metabólitos, influenciando diretamente a concentração sérica do medicamento e, conseqüentemente, sua eficácia. Nessa análise, como mostrado na tabela 8, o DT-08, em particular, apresenta um perfil metabólico mais extenso, sendo previsto como substrato para quatro das cinco CYPs avaliadas (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4). Em contrapartida, os demais compostos interagem com múltiplas isoformas de CYP, o que pode resultar em um metabolismo mais complexo. Essa interação levanta a possibilidade de potenciais interações com outros medicamentos que sejam substratos, inibidores ou indutores dessas enzimas. Dito isso, é recomendado estudos complementares de segurança e eventuais modificações estruturais para confirmar e aprimorar essas características (Joshi et al., 2020).

Em síntese, embora a alta absorção gastrointestinal e a baixa permeabilidade da barreira hematoencefálica sejam características positivas para todos os derivados, o perfil de metabolismo mediado pelas CYPs difere consideravelmente entre eles. Essa variabilidade ressalta a importância de uma análise aprofundada das interações medicamentosas para a seleção dos candidatos a fármacos mais promissores (Suleymanoglu et al., 2020).

Para finalizar a avaliação das propriedades farmacocinéticas, nenhum dos derivados demonstrou probabilidade de permear a barreira hematoencefálica (BBB), sugerindo que são mais propensos a atuar periféricamente, o que pode minimizar efeitos colaterais neurológicos indesejados. Em relação à permeação cutânea, os valores de Log Kp (coeficiente de partição

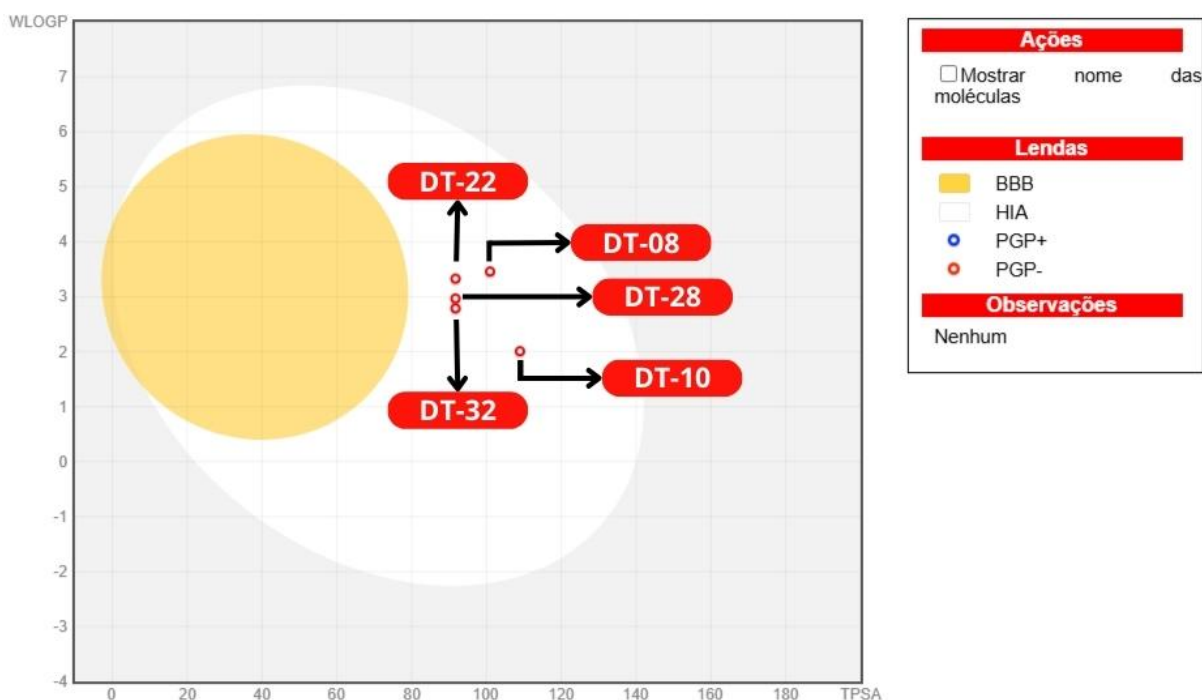
pele-plasma) variam entre -5,73 cm/s e -6,91 cm/s. Como valores mais negativos indicam menor permeação cutânea, isso significa um risco reduzido de toxicidade em outros órgãos e sistemas do corpo, mesmo se o fármaco não for aplicado diretamente na pele. As informações cruciais sobre a distribuição e a interação dos DTs com as barreiras biológicas são visualmente resumidas no Gráfico do "Boiled-egg", figura 9. Para os DTs, esse gráfico consistentemente aponta para uma boa absorção gastrointestinal, reforçando não só seu potencial para administração oral, mas também um perfil de segurança favorável (Sharma et al., 2021).

Tabela 8 - Valores das propriedades farmacocinéticas dos derivados tiossemicarbazonas. Absorção GI – absorção no trato gastrointestinal; Permeabilidade BBB – permeabilidade barreira hematoencefálica; Substrato da P-gp – substrato da glicoproteína P; Log K_p – permeabilidade na pele; CYPs – proteínas do citocromo C.

Derivados	Farmacocinética				Substratos das CYPs				
	Absorção GI	Permeabilidade BBB	Substrato da P-gp	Log K_p	CYP 1A2	CYP 2C19	CYP 2C9	CYP 2D6	CYP3 A4
DT-08	Alta	Não	Não	- 5.90 cm/s	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
DT-10	Alta	Não	Não	- 6.42 cm/s	Sim	Sim	Sim	Não	Não
DT-22	Alta	Não	Não	- 5.73 cm/s	Não	Sim	Sim	Não	Não
DT-28	Alta	Não	Não	- 5.95 cm/s	Sim	Sim	Sim	Não	Não
DT-32	Alta	Não	Não	- 5.88 cm/s	Sim	Sim	Sim	Não	Não

Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Figura 9 - Gráfico Boiled-egg dos derivados tiossemicarbazonas. O gráfico refere-se à absorção gastrointestinal (branca) e passagem pela barreira hematoencefálica (amarela); A cor azul representa a afinidade da molécula com a glicoproteína P e em vermelho as moléculas que não apresentam afinidade com a glicoproteína P.



Fonte: Adaptado de SwissADME, 2025. Disponível em: <https://www.swissadme.ch>.

5.2.3 Predição de Alvos Moleculares

A predição de alvos moleculares dos derivados de tiossemicarbazonas foi realizada utilizando as plataformas SEA Search Server e Swiss TargetPrediction. Como mostrado nos diagramas de Ven ilustrados na figura 10, a maioria dos derivados não apresentou alvos em comum entre as plataformas. No entanto, os derivados DT-08 e DT-22 destacaram-se por preverem a Catepsina L (CTSL) como um alvo em comum. Ao analisar a predição de alvos para os derivados DT-28 e DT-32 apenas pela plataforma SEA Search Server, a CTSL foi identificada como um possível alvo. Já para o derivado DT-10, a predição de CTSL como alvo foi feita apenas pela plataforma SwissTargetPrediction.

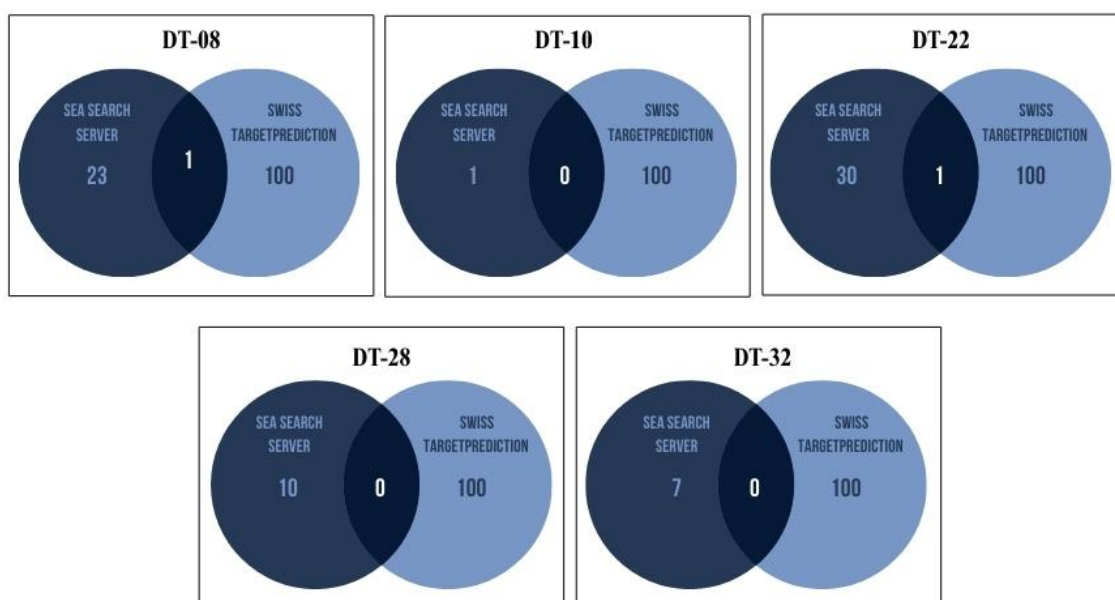
Conhecida por sua participação complexa na carcinogênese, a CTSL é uma protease cisteína lisossomal extensivamente estudada na pesquisa oncológica. Embora expressa no pâncreas humano e de camundongo e ativada em condições de pH ácido nos lisossomos de células normais, a enzima também está envolvida em funções biológicas como imunomodulação, osteólise e apoptose. Em células malignas, a CTSL é frequentemente translocada para a superfície celular e secretada no meio extracelular. O microambiente ácido do tumor intensifica a atividade dessa catepsina extracelular, o que contribui significativamente para a invasão e metástase tumoral (Padmini; Lavanya, 2025).

Dessa forma, a frequente superativação das catepsinas (CAT) por células tumorais

impactam na sua secreção na matriz extracelular (MEC), promovendo a metástase por meio da degradação da MEC e da membrana basal, induzindo a transição epitelial-mesenquimal (EMT), reduzindo a adesão célula-célula e promovendo a angiogênese tumoral. No câncer de ovário, a CTSL pode causar resistência a medicamentos como o Paclitaxel, comprometendo o tratamento e piorando o prognóstico. Além disso, pode modular o microambiente tumoral ao ativar fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas, promovendo a proliferação, sobrevivência e migração de células cancerosas (Zhang et al., 2024).

A relevância clínica da CTSL é corroborada por estudos que a identificam como um marcador prognóstico para câncer de pâncreas. Sua expressão no plasma, por exemplo, tem sido associada ao prognóstico de pacientes com PDAC. O desenvolvimento de agentes antimetastáticos que visam as CATs é uma área ativa de pesquisa. Por exemplo, o ASPER-29, um novo inibidor de catepsinas, demonstrou em ensaios *in vitro* e *in silico* a capacidade de inibir a atividade das CTSL ao se ligar diretamente essas enzimas. Portanto, a identificação da Catepsina L como um alvo potencial dos derivados DT-08 e DT-22 abre perspectivas para investigar o papel desses compostos na modulação da progressão metastática do PDAC (Yuan et al., 2022).

Figura 10 - Diagramas de Ven de predição de alvos moleculares para os derivados de tiossemicarbazonas. Os diagramas representam a sobreposição de alvos previstos pelas plataformas SEA Search Server (círculo escuro) e Swiss TargetPrediction (círculo claro). Os números indicam a quantidade de alvos únicos e comuns previstos por cada ferramenta para os derivados DT-08, DT-10, DT-22, DT-28 e DT-32.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

6 CONCLUSÃO

Em suma, nossos resultados *in vitro* confirmaram que os derivados de tiossemicarbazonas (TSCs) possuem atividade citotóxica significativa e alta seletividade para linhagens de células do PDAC. Nas linhagens BxPC-3 e PANC-1, os compostos exibiram IS superiores a 3, com destaque para DT-10, DT-28 e DT-32, que alcançaram IS de 10,43; 40,48 e 25,83, respectivamente. Por outro lado, na linhagem MIA PaCa-2, todos os derivados mostraram menor efeito citotóxico, registrando IS inferiores a 3.

Paralelamente, a triagem *in silico* para os DTs demonstrou um perfil farmacocinético e de "drug-likeness" bastante favorável. Os derivados cumpriram as Regras de Lipinski, apresentaram alta absorção gastrointestinal, baixa permeabilidade da barreira hematoencefálica e ausência de interação com a P-glicoproteína, fortalecendo seu potencial como candidatos a fármacos orais. Além disso, predição de alvos moleculares ainda sugeriu possível interação com a proteína CTSL, relacionada à tumorigênese pancreática.

Em síntese, os dados obtidos demonstraram o potencial dos novos derivados de TSCs para análises complementares *in vitro* quanto ao potencial terapêutico no PDAC.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHIM, Maen et al. Comparative molecular profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma of the head versus body and tail. **NPJ Precision Oncology**, v. 8, n. 1, p. 85, 2024.
- AFZAL, Ayesha Hena et al. Application of Machine Learning for the Prediction of Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion (ADME) Properties from Cichorium intybus Plant Phytomolecules. **Processes**, v. 12, n. 11, p. 2488, 2024.
- AHMED, Marwa F.; ALMALKI, Atiah H. Design, synthesis, antiproliferative activity, and cell cycle analysis of new thiosemicarbazone derivatives targeting ribonucleotide reductase. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 3, p. 102989, 2021.
- ANOBILE, Dario P. et al. New pharmacological strategies against pancreatic adenocarcinoma: The multifunctional thiosemicarbazone FA4. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1682, 2022.
- BARRAGAN-CARILLO, Regina et al. Global Oncology: Tackling Disparities and Promoting Innovations in Low-and Middle-Income Countries. **American Society of Clinical Oncology Educational Book**, v. 45, n. 3, p. e473930, 2025.
- BARTMAŃSKA, Agnieszka et al. Highly cancer selective antiproliferative activity of natural prenylated flavonoids. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2922, 2018.
- BECK, Tyler C. et al. Descriptors of cytochrome inhibitors and useful machine learning based methods for the design of safer drugs. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 5, p. 472, 2021.
- BORZ, Paul-Cristian et al. Improving Outcomes in Pancreatic Adenocarcinoma: A Systematic Review of Immunotherapy in Multimodal Treatment. **Medicina**, v. 61, n. 6, p. 1076, 2025.
- BRAY, Freddie et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229-263, 2024.

BROWN, Joel S. et al. Updating the definition of cancer. **Molecular Cancer Research**, v. 21, n. 11, p. 1142-1147, 2023.

CONNOR, Ashton A.; GALLINGER, Steven. Pancreatic cancer evolution and heterogeneity: integrating omics and clinical data. **Nature Reviews Cancer**, v. 22, n. 3, p. 131-142, 2022.

DA COSTA, Valécia de Cassia Mendonça et al. 5-nitro-thiophene-thiosemicarbazone derivative induces cell death, cell cycle arrest, and phospho-kinase shutdown in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 983, p. 176963, 2024.

DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 42717, 2017.

DE ARAUJO, Aline D. et al. Tuning electrostatic and hydrophobic surfaces of aromatic rings to enhance membrane association and cell uptake of peptides. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 61, n. 29, p. e202203995, 2022.

DE SENA MURTEIRA PINHEIRO, Pedro et al. Molecular hybridization: a powerful tool for multitarget drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 19, n. 4, p. 451-470, 2024.

DEER, Emily L. et al. Phenotype and genotype of pancreatic cancer cell lines. **Pancreas**, v. 39, n. 4, p. 425-435, 2010.

DHARMASIVAM, Mahendiran et al. Differential transmetallation of complexes of the anti-cancer thiosemicarbazone, Dp4e4mT: effects on anti-proliferative efficacy, redox activity, oxy-myoglobin and oxy-hemoglobin oxidation. **Chemical Science**, v. 15, n. 3, p. 974-990, 2024.

EL-SAYED, Nahed NE et al. Biological evaluation, molecular docking analyses, and ADME profiling of certain new quinazolinones as anti-colorectal agents. **ACS omega**, v. 7, n. 22, p. 18443-18458, 2022.

FARHANGNIA, Pooya et al. Current and future immunotherapeutic approaches in pancreatic cancer treatment. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 17, n. 1, p. 40, 2024.

FERLAY J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F. Global Cancer Observatory: Cancer Today. **Lyon, France: International Agency for Research on Cancer**, 2024.

FERLAY, Jacques et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International journal of cancer**, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021.

GARBUZ, Olga et al. Thiosemicarbazone-Based Compounds: Cancer Cell Inhibitors with Antioxidant Properties. **Molecules**, v. 30, n. 9, p. 2077, 2025.

GRADIZ, Rui et al. MIA PaCa-2 and PANC-1—pancreas ductal adenocarcinoma cell lines with neuroendocrine differentiation and somatostatin receptors. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 21648, 2016.

GUPTA, Nikhil; YELAMANCHI, Raghav. Pancreatic adenocarcinoma: A review of recent paradigms and advances in epidemiology, clinical diagnosis and management. **World journal of gastroenterology**, v. 27, n. 23, p. 3158, 2021.

HAGMANN, Wolfgang et al. Membrane drug transporters and chemoresistance in human pancreatic carcinoma. **Cancers**, v. 3, n. 1, p. 106-125, 2010.

HANAHAHAN, Douglas. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022.

HAYAT, Umar et al. Current and Emerging Treatment Options for Pancreatic Cancer: A Comprehensive Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 14, n. 4, p. 1129, 2025.

HERNANDEZ, Rajelle D. et al. Antiproliferative activities and SwissADME predictions of physicochemical properties of carbonyl group-modified rotenone analogues. **ChemistryOpen**, v. 13, n. 1, p. e202300087, 2024.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, p. 160, 2022.

JIA, Chen-Yang et al. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. **Drug discovery today**, v. 25, n. 1, p. 248-258, 2020.

JIANG, Xiaohua et al. Inhibition of Topoisomerases by Metal Thiosemicarbazone Complexes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12010, 2023.

JOSHI, Anand et al. In vitro evaluation of the metabolic enzymes and drug interaction potential of triapine. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 86, n. 5, p. 633-640, 2020.

KHAN, Azmat Ali et al. Determination of anticancer potential of a novel pharmacologically active thiosemicarbazone derivative against colorectal cancer cell lines. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 30, n. 6, p. 815-824, 2022.

KIM, Hongbeom et al. Biomarker panel for the diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Cancers**, v. 12, n. 6, p. 1443, 2020.

KIM, Jungsun et al. Longitudinal analysis of human pancreatic adenocarcinoma development reveals transient gene expression signatures. **Molecular Cancer Research**, v. 19, n. 11, p. 1854-1867, 2021.

KIM, Yikwon et al. Comparative proteomic profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines. **Molecules and cells**, v. 37, n. 12, p. 888-898, 2014.

KUMAR, Halmuthur M. Sampath; HERRMANN, Lars; TSOGOEVA, Svetlana B. Structural hybridization as a facile approach to new drug candidates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 23, p. 127514, 2020.

LATTANZI, Wanda et al. Basic and preclinical research for personalized medicine. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 5, p. 354, 2021.

LEAL, Mayse Manuele FV et al. Preliminary evaluation of the toxicological, antioxidant and antitumor activities promoted by the compounds 2, 4-dihydroxy-benzylidene-thiosemicarbazones an in silico, in vitro and in vivo study. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 2, p. e20231247, 2024.

LI, Bingyu et al. Targeted Therapies in Pancreatic Cancer: A New Era of Precision Medicine. **Biomedicines**, v. 12, n. 10, p. 2175, 2024.

LI, Hengchao et al. A comprehensive proteome analysis of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) to identify candidate biomarkers of pancreatic cancer. **Cancer genomics & proteomics**, v. 16, n. 1, p. 81-89, 2019.

LI, Ming et al. Molecular insights into immune evasion and therapeutic paradigms in pancreatic cancer. **Chinese Journal of Cancer Research**, v. 37, n. 3, p. 466, 2025.

MARCHESI, Elena; PERRONE, Daniela; NAVACCHIA, Maria Luisa. Molecular hybridization as a strategy for developing artemisinin-derived anticancer candidates. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 9, p. 2185, 2023.

MARIN, Jose JG et al. Expression of chemoresistance-associated ABC proteins in hepatobiliary, pancreatic and gastrointestinal cancers. **Cancers**, v. 14, n. 14, p. 3524, 2022.

MEJIA, Isabel et al. Pancreatic adenocarcinoma invasiveness and the tumor microenvironment: From biology to clinical trials. **Biomedicines**, v. 8, n. 10, p. 401, 2020.

MENEZES, Sharleen V.; KOVACEVIC, Zaklina; RICHARDSON, Des R. The metastasis suppressor NDRG1 down-regulates the epidermal growth factor receptor via a lysosomal mechanism by up-regulating mitogen-inducible gene 6. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 11, p. 4045-4064, 2019.

METE, Rumela et al. Transgênese na Descoberta de Fármacos: Aprimorando a Identificação e Validação de Alvos. **Biotecnologia Molecular**, p. 1-25, 2025.

MIEBS, Grzegorz et al. Beyond the arbitrariness of drug-likeness rules: Rough set theory and decision rules in the service of drug design. **Applied Sciences**, v. 14, n. 21, p. 9966, 2024.

MIRABELLI, Peppino; COPPOLA, Luigi; SALVATORE, Marco. Cancer cell lines are useful model systems for medical research. **Cancers**, v. 11, n. 8, p. 1098, 2019.

MUKUND, Ashwin et al. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC): a review of recent advancements enabled by artificial intelligence. **Cancers**, v. 16, n. 12, p. 2240, 2024.

NEPALI, Kunal et al. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. **European journal of medicinal chemistry**, v. 77, p. 422-487, 2014.

PADMINI, Ramakrishnan; LAVANYA, M. Cathepsins, chemoresistance, and cancer.

In: **Pathophysiological Aspects of Proteases in Cancer**. Academic Press, 2025. p. 363-384.

PATHANIA, Shelly; SINGH, Pankaj Kumar. Analyzing FDA-approved drugs for compliance of pharmacokinetic principles: should there be a critical screening parameter in drug designing protocols?. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 17, n. 4, p. 351-354, 2021.

PEREIRA, Nabyla Paixão; CORRÊA, José Raimundo. Pancreatic cancer: Treatment approaches and trends. **Journal of cancer metastasis and treatment**, v. 4, p. N/A-N/A, 2018.

POLÊTO, Marcelo D. et al. Aromatic rings commonly used in medicinal chemistry: force fields comparison and interactions with water toward the design of new chemical entities. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 395, 2018.

ROBATEL, Steve; SCHENK, Mirjam. Current limitations and novel perspectives in pancreatic cancer treatment. **Cancers**, v. 14, n. 4, p. 985, 2022.

SARANTIS, Panagiotis et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Treatment hurdles, tumor microenvironment and immunotherapy. **World journal of gastrointestinal oncology**, v. 12, n. 2, p. 173, 2020.

SHARMA, Pradeep et al. Pharmacokinetics: theory and application in drug discovery and development. In: **Drug Discovery and Development: From Targets and Molecules to Medicines**. Singapore: Springer Singapore, 2021. p. 297-355.

SHERMAN, Mara H.; BEATTY, Gregory L. Tumor microenvironment in pancreatic cancer pathogenesis and therapeutic resistance. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 18, p. 123-148, 2023.

SHICHI, Yuuki et al. Epithelial and mesenchymal features of pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines in two-and three-dimensional cultures. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 5, p. 746, 2022.

SIEGEL, Rebecca L. et al. Cancer statistics, 2025. **Ca**, v. 75, n. 1, p. 10, 2025.

STEFANOUDAKIS, Dimitrios et al. Significance of TP53, CDKN2A, SMAD4 and KRAS in Pancreatic Cancer. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 46, n. 4, p. 2827-2844, 2024.

STOFFEL, Elena M.; BRAND, Randall E.; GOGGINS, Michael. Pancreatic cancer: changing epidemiology and new approaches to risk assessment, early detection, and prevention. **Gastroenterology**, v. 164, n. 5, p. 752-765, 2023.

SÜLEYMANOĞLU, Mediha et al. Synthesis, structural, cytotoxic and pharmacokinetic evaluation of some thiosemicarbazone derivatives. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 34, n. 8, p. e22512, 2020.

SUN, James et al. Molecular Biomarkers for the Diagnosis and Prognostication of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. **Journal of Personalized Medicine**, v. 15, n. 6, p. 236, 2025.

SURI, Reecha; ZIMMERMAN, Jacquelyn W.; BURKHART, Richard A. Modeling human pancreatic ductal adenocarcinoma for translational research: Current options, challenges, and prospective directions. **Annals of pancreatic cancer**, v. 3, p. 17, 2020.

TONG, Yexin et al. Proteogenomic insights into the biology and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 15, n. 1, p. 168, 2022.

USHIO, Jun et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: Epidemiology and risk factors. **Diagnostics**, v. 11, n. 3, p. 562, 2021.

VAN RIJT, Antonia; STEFANEK, Evan; VALENTE, Karolina. Preclinical Testing Techniques: Paving the Way for New Oncology Screening Approaches. **Cancers**, v. 15, n. 18, p. 4466, 2023.

VEG, Ekhlakh et al. Computational Drug-Likeness Studies of Selected Thiosemicarbazones: A Sustainable Approach for Drug Designing. **Engineering Proceedings**, v. 87, n. 1, p. 35, 2025.

WANG, Pan-Fen et al. Halogen substitution influences ketamine metabolism by cytochrome P450 2B6: in vitro and computational approaches. **Molecular pharmaceuticals**, v. 16, n. 2, p. 898-906, 2018.

WANG, Shun et al. The molecular biology of pancreatic adenocarcinoma: translational challenges and clinical perspectives. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 6, n. 1, p.

249, 2021.

WANG, Xiyan et al. Concomitant targeting of multiple key transcription factors effectively disrupts cancer stem cells enriched in side population of human pancreatic cancer cells. **PloS one**, v. 8, n. 9, p. e73942, 2013.

WARING, Michael J. Lipophilicity in drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 5, n. 3, p. 235-248, 2010.

WEI, Fen; WANG, Sicen; GOU, Xilan. A review for cell-based screening methods in drug discovery. **Biophysics reports**, v. 7, n. 6, p. 504, 2021.

WOOD, Laura D. et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment. **Gastroenterology**, v. 163, n. 2, p. 386-402. e1, 2022.

WU, Yulin et al. 20 (S)-Ginsenoside Rh2 overcomes gemcitabine resistance in pancreatic cancer by inhibiting LAMC2-Modulated ABC transporters. **Journal of Advanced Research**, 2024.

XU, Zhijian et al. Halogen bond: its role beyond drug–target binding affinity for drug discovery and development. **Journal of chemical information and modeling**, v. 54, n. 1, p. 69-78, 2014.

YADAV, Geeta; GANGULY, Swastika. Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 419-443, 2015.

YAMAGUCHI, Shingo; KANEKO, Masayuki; NARUKAWA, Mamoru. Approval success rates of drug candidates based on target, action, modality, application, and their combinations. **Clinical and Translational Science**, v. 14, n. 3, p. 1113-1122, 2021.

YUAN, Lei et al. ASPER-29 suppresses the metastasis of pancreatic cancer cells by dual inhibition of cathepsin-L and cathepsin-S. **Chemico-Biological Interactions**, v. 353, p. 109811, 2022.

ZHANG, Tianci et al. Stromal softness confines pancreatic cancer growth through lysosomal-cathepsin mediated YAP1 degradation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 81, n. 1, p. 442, 2024.

ZIEMBICKA, Dagmara et al. Synthesis and structure–activity relationship of 2, 6-disubstituted thiosemicarbazone derivatives of pyridine as potential antituberculosis agents. **Materials**, v. 16, n. 1, p. 448, 2023.

**ANEXO A – DECLARAÇÃO DE VINCULO AO PROJETO DE PESQUISA
“REDEHPB” COM COMITÊ DE ÉTICA APROVADO**



Universidade Federal de Pernambuco

Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – NUPIT

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que Kamile Beatriz Oliveira da Silva participa, como estudante de graduação, das atividades vinculadas à **"Rede Internacional de Pesquisa para Câncer Hepato-Pancreato-Biliar (RedeHPB): Caracterização Clínica, Busca de novos biomarcadores e novas estratégias terapêuticas"**, financiado por financiado pelo **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, processo nº **442179/2023-5**, sob minha orientação, Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo de CPF 051.890.774-03. Sua participação envolve inserção nas rotinas do grupo de pesquisa, com contribuição em atividades acadêmicas e técnicas relacionadas ao projeto. O projeto "redeHPB" possui o seguinte **CAAE: 81072224.0.0000.5208**.

Recife, 01 de agosto de 2025

Documento assinado digitalmente
 **MOACYR JESUS BARRETO DE MELO REGO**
Data: 01/08/2025 15:15:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo
Docente Pesquisador
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)