

Título em Português: Investigação de candidatos a novas terapias anticancerígenas para as linhagens tumorais MDA-MB-231 e DU-145.

Título em Inglês: Investigation of candidates for new anticancer therapies for the tumor cell lines MDA-MB-231 and DU-145.

Autor: Tayla Hiroki Kawatoko

Instituição: Universidade de São Paulo

Unidade: Instituto de Física de São Carlos

Orientador: Adriano Defini Andricopulo

Área de Pesquisa / SubÁrea: Biofísica Molecular

Agência Financiadora: CNPq - PIBITI

INVESTIGAÇÃO DE CANDIDATOS A NOVAS TERAPIAS ANTICANCERÍGENAS PARA AS LINHAGENS TUMORAIS MDA-MB-231 E DU-145

Tayla Hiroki Kawatoko

Analú Rocha Costa, João Victor Silva e Silva

Prof. Dr. Adriano Defini Andricopulo

Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo (IFSC-USP)

tayla@usp.br

Objetivos

O câncer é uma patologia multifatorial e heterogênea, sendo um grande problema de saúde pública mundial, em decorrência dos elevados níveis de incidência e mortalidade diagnosticados. Estima-se que 1 em cada 5 indivíduo irá desenvolver algum tipo de câncer, antes dos 75 anos [1-3]. Os tumores de mama e de próstata são os mais incidentes em mulheres e homens, respectivamente, sendo composta por vários subtipos e apresentando grande heterogeneidade, tornando o tratamento desafiador, já que cada subtipo da doença possui características específicas e requer abordagens terapêuticas distintas [4-7]. Os subtipos triplo negativo para o câncer de mama e o câncer de próstata são os mais comuns e de difícil tratamento [8]. Por isso é urgente promover estratégias mais eficientes, voltadas para a terapia do câncer. Este trabalho tem como objetivo buscar por novos candidatos a terapias anticancerígenas, usando métodos experimentais e modelagem molecular no planejamento de fármacos para testar compostos nas linhagens tumorais MDA-MB-231 e DU-145.

Métodos e Procedimentos

Neste projeto, foram testados novos compostos, previamente sintetizados por laboratórios parceiros, nas linhagens tumorais MDA-MB-231 e DU-145. As soluções-estoque foram preparadas em 100% em dimetilsulfóxido (DMSO) e usadas nas concentrações indicadas para os ensaios, com um máximo de 1% de DMSO. Os ensaios *in vitro* de citotoxicidade dos compostos foram realizados nas linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231), de próstata (DU-145) e em fibroblastos não tumorais (HFF-1). As concentrações utilizadas nos ensaios foram escolhidas a partir de ensaios preliminares. Os valores de IC₅₀ e CC₅₀ dos compostos foi determinada a partir de uma curva de log da concentração utilizando o software GraphPad 8. E o índice seletividade (IS) foi calculado empregando a razão do valor de IC₅₀ (da linhagem celular não tumoral)/IC₅₀ (célula tumoral). A partir dos resultados, foram selecionados os compostos mais promissores para investigar seu mecanismo de ação.

Resultados

Na tentativa de encontrar compostos com melhor atividade e com potencial para serem utilizados como agentes quimioterápicos, foram investigados nas linhagens tumorais de mama e próstata e na HFF-1, são apresentados na Tabela 1. A nível de comparação, a citotoxicidade dos fármacos de referência doxorubicina e colchicina foram avaliadas, uma vez que esses compostos são conhecidos na literatura por sua atividade anticâncer.

Os ensaios biológicos *in vitro* para determinação da citotoxicidade dos compostos selecionados **1a** e **1b** apresentaram valores de IC50 abaixo de 5 μ M e na linhagem celular de fibroblasto IC50 < 100 μ M, a concentração máxima avaliada e exibiu menor IC50 para células MDA-MB-231 demonstrado ser mais eficaz entre a série avaliadas. Para linhagem celular DU-145 os compostos **3** e **4** exibiram valores de IC50 abaixo de 10 μ M.

A análise *in silico* foi realizada por meio da plataforma Swiss ADME. Os compostos, apresentam alta absorção gastrointestinal, o que é uma característica muito desejada para fármacos de via oral. O composto **1a** não apresenta violação a nenhum dos filtros fármaco-similares, isso indica que a molécula tem alto potencial de se tornar fármaco.

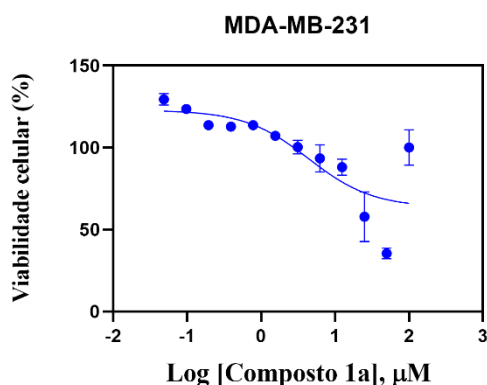


Figura 1: Curva de concentração-resposta da célula MDA-MB-231 após tratamento com os complexos **1a**.

Conclusões

Assim, os compostos testados neste estudo apresentaram resultados promissores, especialmente no que diz respeito à citotoxicidade seletiva contra as linhagens tumorais MDA-MB-231 e DU-145, quando comparados às células não tumorais HFF-1. Os compostos **1a** e **1b** demonstraram uma eficácia notável, com valores de IC50 abaixo de 5 μ M para MDA-MB-231, e compostos **3** e **4** exibiram IC50 inferior a 10 μ M na linhagem DU-145, o que reforça seu potencial como agentes anticancerígenos. Além disso, a análise *in silico* dos compostos mostrou alta absorção gastrointestinal e ausência de violação dos filtros de similaridade a fármacos, indicando que o composto **1a**, em particular, apresenta grande potencial para desenvolvimento como fármaco oral.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 121061/2023-0). A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil (bolsa CEPID-CIBFar 13/07600-3 pelo apoio financeiro).

Referências

- [1] De Silva, F.; Alcorn, J. A Tale of Two Cancers: A Current Concise Overview of Breast and Prostate Cancer. *Cancers* **2022**, *14*, 2954.
- [2] Estatísticas de câncer. <https://www.gov.br/inca/pt-r/assuntos/cancer/numeros>. Acessado: 01-09-2024.
- [3] Filippo Borri, Annarita Granaglia, Pathology of triple negative breast cancer, *Seminars in Cancer Biology*, Volume 72, 2021, Pages 136-145, ISSN 1044-579X.
- [4] L. L. Ferreira and A. D. Andricopulo. Cancer estimates in brazil reveal progress for the most lethal malignancies. 2020.
- [5] M. Hawash. Recent advances of tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site



for cancer therapy. 2022. Acessado: 01-09-2024.

[6] R. Medikonda, S. Srivastava, and T. Kim. Development of new brain metastases in triple negative breast cancer. 2021. Acessado: 01-09-2024.

[7] M. Santos, F. Lima, L. F. Martins, J. Oliveira, L. Almeida, and M. Cancela. Estimated cancer incidence in brazil, 2023-2025. 2023. Acessado: 01-09-2024.

[8] F. D. Silva and J. Alcorn. A tale of two cancers: A current concise overview of breast and prostate cancer. 2022. Acessado: 01-09-2024.

INVESTIGATION OF CANDIDATES FOR NEW ANTICANCER THERAPIES FOR THE MDA-MB-231 AND DU-145 TUMOR LINES

Tayla Hiroki Kawatoko

Analú Rocha Costa, João Victor Silva-Silva

Prof. Dr. Adriano Defini Andricopulo

Institute of Physics of São Carlos - University of São Paulo (IFSC-USP)

tayla@usp.br

Objectives

Cancer is a multifactorial and heterogeneous pathology, representing a major global public health issue due to the high levels of incidence and mortality diagnosed. It is estimated that 1 in 5 individuals will develop some type of cancer before the age of 75 [1-3]. Breast and prostate tumors are the most common in women and men, respectively, comprising various subtypes and exhibiting great heterogeneity. This makes treatment challenging since each subtype of the disease has specific characteristics and requires distinct therapeutic approaches [4-7]. Triple-negative subtypes of breast cancer and prostate cancer are the most common and the most difficult to treat [8]. Therefore, it is urgent to promote more efficient strategies aimed at cancer therapy. This study aims to search for new candidates for anticancer therapies using experimental methods and molecular modeling in drug design to test compounds on MDA-MB-231 and DU-145 tumor lines.

Methods and Procedures

In this project, new compounds, previously synthesized by partner laboratories, were tested on the MDA-MB-231 and DU-145 tumor lines. Stock solutions were prepared in 100% dimethyl sulfoxide (DMSO) and used at the

indicated concentrations for the assays, with a maximum of 1% DMSO. The in vitro cytotoxicity assays of the compounds were performed on breast cancer cell lines (MDA-MB-231), prostate cancer (DU-145), and non-tumor fibroblasts (HFF-1). The concentrations used in the assays were chosen based on preliminary tests. The IC₅₀ and CC₅₀ values of the compounds were determined from a logarithmic concentration curve using GraphPad 8 software. The selectivity index (SI) was calculated using the ratio of IC₅₀ (non-tumor cell line) to IC₅₀ (tumor cell). From the results, the most promising compounds were selected to investigate their mechanism of action.

Results

In the search for compounds with better activity and potential to be used as chemotherapeutic agents, they were investigated in breast and prostate tumor lines, as well as in HFF-1. The results are presented in Table 1. For comparison, the cytotoxicity of reference drugs doxorubicin and colchicine was evaluated, as these compounds are known in the literature for their anticancer activity.

The in vitro biological assays for determining the cytotoxicity of the selected compounds 1a

and 1b showed IC₅₀ values below 5 μ M in the fibroblast cell line IC₅₀ < 100 μ M, which was the maximum concentration evaluated. These compounds exhibited lower IC₅₀ values for MDA-MB-231 cells, demonstrating higher efficacy among the series evaluated. For the DU-145 cell line, compounds 3 and 4 exhibited IC₅₀ values below 10 μ M.

The silico analysis was performed using the Swiss ADME platform. The compounds showed high gastrointestinal absorption, a highly desired feature for oral drugs. Compound 1a did not violate any drug-like filters, indicating that the molecule has high potential to become a medicine.

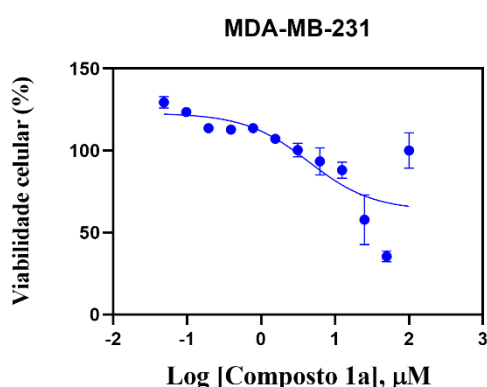


Figure 1: Concentration-response curve of the MDA-MB-231 cell after treatment with complexes 1a.

Conclusions

The compounds tested in this study showed promising results, especially regarding selective cytotoxicity against the MDA-MB-231 and DU-145 tumor lines when compared to non-tumor HFF-1 cells. Compounds 1a and 1b demonstrated remarkable efficacy, with IC₅₀ values below 5 μ M for MDA-MB-231, and compounds 3 and 4 exhibited IC₅₀ values below 10 μ M for the DU-145 line, reinforcing their potential as anticancer agents. Additionally, the in silico analysis of the compounds showed high gastrointestinal

absorption and no violations of drug similarity filters, indicating that compound 1a, in particular, has great potential for development as an oral drug.

Acknowledgments

Thanks to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 121061/2023-0) and the São Paulo Research Foundation (FAPESP), Brazil, for financial support (CEPID-CIBFar 13/07600-3).

References

- [1] De Silva, F.; Alcorn, J. A Tale of Two Cancers: A Current Concise Overview of Breast and Prostate Cancer. *Cancers* **2022**, *14*, 2954.
- [2] Estatísticas de câncer. <https://www.gov.br/inca/pt-r/assuntos/cancer/numeros>. Acessado: 01-09-2024.
- [3] Filippo Borri, Annarita Granaglia, Pathology of triple negative breast cancer, *Seminars in Cancer Biology*, Volume 72, 2021, Pages 136-145, ISSN 1044-579X.
- [4] L. L. Ferreira and A. D. Andricopulo. Cancer estimates in brazil reveal progress for the most lethal malignancies. 2020.
- [5] M. Hawash. Recent advances of tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site for cancer therapy. 2022. Acessado: 01-09-2024.
- [6] R. Medikonda, S. Srivastava, and T. Kim. Development of new brain metastases in triple negative breast cancer. 2021. Acessado: 01-09-2024.
- [7] M. Santos, F. Lima, L. F. Martins, J. Oliveira, L. Almeida, and M. Cancela. Estimated cancer incidence in brazil, 2023-2025. 2023. Acessado: 01-09-2024.
- [8] F. D. Silva and J. Alcorn. A tale of two cancers: A current concise overview of breast and prostate cancer. 2022. Acessado: 01-09-2024.