



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

EMANUELLY PEREIRA DA SILVA FERREIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE MOLÉCULAS
HÍBRIDAS COM UNIDADE δ -LACTONAS α,β -INSATURADAS E UM
ANEL DE TRIAZOL , EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS**

Recife
2024

EMANUELLY PEREIRA DA SILVA FERREIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE MOLÉCULAS
HÍBRIDAS COM UNIDADE δ -LACTONAS α,β -INSATURADAS E UM
ANEL DE TRIAZOL , EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS**

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: Prof^a Dr^a Gardenia Carmen Gadelha Militão

Co-Orientadora: Ms Silvia Maria de Souza

Recife
2024

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

Ferreira, Emanuely Pereira da Silva.

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE MOLÉCULAS
HÍBRIDAS COM UNIDADE D-LACTONAS A,B-INSATURADAS E UM
ANEL DE TRIAZOL , EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS /

Emanuely Pereira da Silva Ferreira. - Recife, 2024.

48 p. : il., tab.

Orientador(a): Gardênia Carmen Gadelha Militão

Coorientador(a): Silvia Maria de Souza

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, , 2024.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Câncer. 2. D-lactonas. 3. Triazol. 4. Potencial Terapêutico . 5. MTT. I.
Militão, Gardênia Carmen Gadelha. (Orientação). II. Souza, Silvia Maria de.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

EMANUELLY PEREIRA DA SILVA FERREIRA

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE MOLÉCULAS
HÍBRIDAS COM UNIDADE δ -LACTONAS α,β -INSATURADAS E UM
ANEL DE TRIAZOL , EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS**

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: 15/04/2024

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a. Dr^a Gardenia Carmen Gadelha Militão
UFPE/ Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Co-Orientadora: MSc Silvia Maria de Souza
UFPE/ Departamento de Fisiologia e Farmacologia

MSc Marry Aneyts de Santana Cirilo
UFPE/ Departamento de Bioquímica

Prof. Dr Thiago David dos Santos Silva
UNIFACOL/ Centro Universitário Facol

Suplente: Prof^a. Dr^a Ângela Amâncio dos Santos
UFPE/ Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Dedico este trabalho à minha família, alicerce sólido que sustenta meus sonhos, agradeço por cada sacrifício e por serem fontes inesgotáveis e incansáveis de encorajamento e amor. Aos meus amigos, cúmplices nas horas de estudos, descobertas, risos e também lamentações. Por fim, dedico este trabalho à busca constante pelo conhecimento e ao desejo de contribuir para o avanço da ciência e da sociedade. Que este esforço possa agregar valor e inspirar outros em suas jornadas.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha orientadora, Prof^a Dr^a Gardenia Carmen Gadelha Militão, por sua incrível paciência, confiança e orientação durante todo o desenvolvimento desse projeto e antes mesmo disso. Sua disponibilidade em me guiar mesmo perante aos obstáculos foi essencial para o sucesso desse trabalho. Agradeço por esclarecer minhas dúvidas e fornecer orientações valiosas em todos os momentos. Sua abordagem atenciosa e compreensiva permitiu que eu me sentisse segura para explorar novos caminhos e superar dificuldades ao longo do processo. Além disso, sua confiança em minha capacidade e seu incentivo foram verdadeiros motores de inspiração, responsável por me impulsionar a obter um melhor desempenho. Seu comprometimento em me ajudar a alcançar meus objetivos acadêmicos não passou despercebido, e sou imensamente grata por isso.

Minha sincera gratidão à minha coorientadora, Ms. Silvia, pela sua disponibilidade constante e por compartilhar seu conhecimento e experiência, mostrando-me novas perspectivas e ensinando-me técnicas valiosas ao longo deste projeto. Sua orientação foi fundamental para o meu crescimento acadêmico e profissional. Muito obrigado por sua contribuição e apoio.

Quero estender minha gratidão ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco pelo suporte essencial fornecido durante todo o período deste projeto. Agradeço pela infraestrutura, recursos e ambiente colaborativo que foram fundamentais para a realização deste trabalho. Além disso, gostaria de expressar meu apreço aos dedicados funcionários do local. Suas contribuições diárias e atenção aos detalhes tornam este ambiente propício ao crescimento profissional e ao desenvolvimento de projetos como este.

Agradeço especialmente à minha família, quero expressar minha profunda gratidão a cada um de vocês. Seu amor, apoio e presença constante foram a luz que guiou meu caminho em todas as fases da vida. Agradeço por serem meu alicerce, por compartilharem sorrisos nos momentos felizes e por serem o suporte nos desafios. Cada gesto, palavra e demonstração de carinho não passaram

despercebidos e foram fundamentais para minha jornada. Quero agradecer a minha mãe, Severina Pereira, que tem sido desde sempre minha fonte inesgotável de inspiração, nunca me deixando ceder diante as dificuldades ao ser minha fortaleza no meio das tempestades. Seu amor, dedicação e encorajamento foram fundamentais para que eu alcançasse este momento tão significativo. Sou grata por cada palavra de incentivo nos momentos de dúvida, por cada gesto de carinho que amenizou os desafios e por ser o meu exemplo constante de companheirismo. Quero agradecer também ao meu pai Antônio Inácio por cada sacrifício feito em prol do meu bem-estar e crescimento, pelo seu amor, e por toda animação demonstrada por cada pequena conquista alcançada nessa jornada. Aos meus queridos avós Inácia Izaulina e Manoel Pereira agradeço por cada conselho sábio, por cada história compartilhada e por serem fontes de minha base sólida. Seu legado de amor, dedicação e resiliência moldou quem sou hoje, e essa herança é um tesouro que guardo com carinho. Aos meus irmãos, Elivelton José e Eliel Antônio agradeço por sempre acreditarem na minha capacidade, especialmente quando a dúvida pairava, por me fazerem acreditar que consigo alcançar qualquer objetivo que trilho para minha vida. Cada gesto de proteção, cada palavra de estímulo e cada demonstração de confiança e encorajamento foram essenciais para o meu crescimento e sucesso. Quero estender minha gratidão ao meu namorado Miguel Santos por sua paciência nos momentos conturbados, por seu apoio incondicional nos desafios e por sua presença constante, tornando os dias mais coloridos e as noites mais aconchegantes. Seu amor trouxe luz aos meus dias e inspiração para enfrentar o desconhecido. Esta conquista é, sem dúvida, compartilhada por todos vocês, pois cada passo que dei foi guiado pela luz do amor e pela força da orientação de cada um de vocês. Vocês são mais do que família; são meus maiores amigos, confidentes e companheiros de vida. Cada desafio superado é mais leve porque sei que tenho o apoio de uma família extraordinária.

Com imensa gratidão e carinho quero agradecer também aos meus amigos: ao meu fiel amigo de longa data José Pedro, por ser alguém que sempre ouviu minhas ideias com paciência, acolheu meus medos com compreensão e dissipou minhas dúvidas com sabedoria. Sua presença constante trouxe luz aos meus dias, transformou as minhas dificuldades durante essa jornada em conquistas compartilhadas. A minha amiga maravilhosa Laura Nascimento, desde o momento

em que nos conhecemos, demonstrou uma abertura e acolhimento que fizeram toda a diferença para mim. Agradeço por sua generosidade, compreensão e empatia. Você sempre esteve lá para ouvir minhas preocupações e alegrias, sem julgamentos, apenas com compaixão e apoio verdadeiro. Sua disposição em oferecer suporte tornaram esta jornada mais leve e significativa. Obrigada pelos seus abraços calorosos retribuídos, eles foram um refúgio nos dias difíceis, transmitindo-me conforto e segurança. A minha amiga Thaísa Moura agradeço sinceramente pela sua presença em minha vida, por sempre tá cuidando de todos nós, por ser uma amiga leal e compassiva, obrigada por ser um farol de conhecimento, compartilhando desde sempre suas sabedorias e experiências de maneira generosa. Seu entendimento profundo e suas palavras sábias têm sido uma bússola e um verdadeiro pilar nos momentos de incerteza e também naqueles desafiadores. Quero estender também meu agradecimento a Vitória Camillo pelo acolhimento caloroso que me ofereceu desde o primeiro momento. Sua disposição para conversar, ouvir e compartilhar risadas tornaram os dias mais leves e os desafios mais suportáveis. Mesmo que nossa amizade tenha começado no final desta jornada acadêmica, estou grato por ter lhe conhecimento e anseio cultivar esta amizade ao longo dos próximos capítulos. A todos vocês obrigada pelos apoios incondicionais saibam que cada caminhada aleatória pelo campus foi mais que um simples momento de descontração; foi uma oportunidade de criar memórias, discutir ideias malucas e deixar tudo mais suportável. Este percurso foi enriquecido pela presença de cada um de vocês, e cada conquista vindo dele, também são suas.

**Um passo à frente e você não está mais no
mesmo lugar**

- Chico Science

FERREIRA, E.P. INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE MOLÉCULAS HÍBRIDAS COM UNIDADE δ -LACTONAS α,β -INSATURADAS E UM ANEL DE TRIAZOL, EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS. 2024. Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

O câncer é a denominação dada a um amplo grupo de doenças resultantes de mutações genéticas, espontâneas ou induzidas por agentes patogênicos que comprometem a função celular levando a um crescimento desordenado das células e invasão dos tecidos e órgãos, podendo espalhar-se por outras regiões do corpo (metástase) e levar ao óbito. Com a incidência e mortalidade por câncer em ascensão em todo o mundo, conforme apontado pela Organização Mundial da Saúde - OMS a doença tem se tornado uma das principais causas de óbito prematuro antes dos 70 anos. No contexto brasileiro, a projeção alarmante de novos casos, especialmente em regiões como Pernambuco, destaca a urgência de estratégias eficazes de prevenção e tratamento. O tratamento do câncer é multifacetado, abrangendo métodos como cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia, o que reflete a complexidade da doença, porém apesar da cirurgia, quimioterapia e a radioterapia serem os pilares dos tratamentos tradicionais, eles possuem como principal desvantagem a falta de seletividade para as células tumorais e os quimioterápicos geralmente usados na clínica como a cisplatina e o metotrexato estão associados a reações adversas graves, enquanto os fitocompostos provaram ser menos tóxicos e mais eficazes. No entanto, alguns desafios surgem quando se utiliza moléculas advindas de metabólitos secundários, como baixa biodisponibilidade oral e uma citotoxicidade exagerada. A modificação estrutural emerge como uma estratégia fundamental para otimizar a eficácia desses compostos. Dentro desse cenário, as lactonas e os triazóis surgem como classes de compostos com propriedades biológicas notáveis. Lactonas, estruturas cíclicas derivadas da desidratação do ácido láctico, e triazóis, compostos heterocíclicos, têm sido estudados por suas bioatividades, entre elas atividades antimicrobianas, antiinflamatórias e antitumorais. A sinergia entre essas estruturas inspirou a síntese de uma molécula híbrida, com potencial para apresentar eficácia na inibição de células tumorais, minimizando efeitos adversos. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo investigar a atividade citotóxica das moléculas híbridas JC01 e JC03 obtidas a partir da síntese total de uma unidade d-lactonas α,β -insaturadas e um anel de triazol, em linhagens de células tumorais pelo ensaio colorimétrico de MTT. Os resultados demonstraram potencial antitumoral promissor, considerando diferentes linhagens e concentrações, comparando-se e em alguns casos se sobressaindo a doxorrubicina, tratamento consolidado na clínica. Apesar dos resultados entusiasmantes, seria interessante avaliações adicionais para compreender completamente os efeitos citotóxicos e mecanismo de ação das moléculas híbridas no painel de linhagens testadas, assim como em novas linhagens.

Palavras-chave: Câncer. δ -lactonas. Triazol. MTT. Potencial terapêutico

FERREIRA, E. P . INVESTIGATION OF THE CYTOTOXIC POTENCIAL OF HYBRID MOLECULES α,β -INSATURATED δ -LACTONE UNIT AND A TRIAZOLE RING, IN TUMOR CELL LINES. 2024. Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Cancer is the term given to a broad group of diseases resulting from genetic mutations, either spontaneous or induced by pathogenic agents, which impair cellular function, leading to uncontrolled cell growth and invasion of tissues and organs. This can spread to other parts of the body (metastasis) and may result in death. With the incidence and mortality of cancer rising worldwide, as highlighted by the World Health Organization (WHO), the disease has become one of the leading causes of premature death before the age of 70. In the Brazilian context, the alarming projection of new cases, especially in regions such as Pernambuco, underscores the urgency of effective prevention and treatment strategies. Cancer treatment is multifaceted, encompassing methods such as surgery, radiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy, reflecting the complexity of the disease. However, despite surgery, chemotherapy, and radiotherapy being the cornerstones of traditional treatments, they have the major disadvantage of lacking selectivity for tumor cells. Chemotherapeutic agents commonly used in clinical settings, such as cisplatin and methotrexate, are associated with severe adverse reactions, whereas phytochemicals have proven to be less toxic and more effective. Nevertheless, some challenges arise when using molecules derived from secondary metabolites, such as low oral bioavailability and excessive cytotoxicity. Structural modification emerges as a key strategy to optimize the efficacy of these compounds. In this context, lactones and triazoles have emerged as classes of compounds with notable biological properties. Lactones, cyclic structures derived from the dehydration of lactic acid, and triazoles, heterocyclic compounds, have been studied for their bioactivities, including antimicrobial, anti-inflammatory, and antitumor activities. The synergy between these structures inspired the synthesis of a hybrid molecule with the potential to effectively inhibit tumor cells while minimizing adverse effects. In light of this, the present study aims to investigate the cytotoxic activity of the hybrid molecules JC01 and JC03, obtained from the total synthesis of an α,β -unsaturated δ -lactone unit and a triazole ring, in tumor cell lines using the MTT colorimetric assay. The results demonstrated promising antitumor potential, considering different cell lines and concentrations, in some cases surpassing doxorubicin, a well-established clinical treatment. Despite these encouraging results, further evaluations would be beneficial to fully understand the cytotoxic effects and mechanism of action of the hybrid molecules in the tested cell panel, as well as in new cell lines.

Keywords: Cancer. δ -lactones. Triazole. MTT. Therapeutic potential.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 O que é câncer?.....	14
2.1.2 A Epidemiologia Do Câncer.....	15
2.1.3 Etiologia do câncer.....	16
2.1.4 Oncogenes e câncer.....	18
2.1.5 Supressores de tumor e câncer.....	18
2.2 Imunoterapia - inibidores de check-point.....	21
2.3 Compostos naturais como tratamentos para o câncer.....	24
2.4 História do uso de compostos naturais.....	26
2.4.1 Lactonas.....	27
2.4.2 Triazol.....	29
2.4.3 Drogas híbridas.....	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo Geral.....	33
3.2 Objetivos Específicos.....	33
4 METODOLOGIA.....	33
4.1 Células.....	34
4.2 Obtenção das Séries de Compostos Derivados.....	34
4.3 Avaliação da citotoxicidade pela redução de MTT.....	34
4.4 Método de análises do resultado.....	35
4.5 Análise estatística.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um grande grupo de doenças que representa um obstáculo persistente para a saúde global, elas são caracterizadas principalmente pelo crescimento descontrolado de células anormais que podem se originar em diversos órgãos e tecidos, invadindo estruturas adjacentes e, eventualmente, disseminando-se para outras partes do corpo (Inca, 2022).

Com a incidência e mortalidade por câncer em ascensão em todo o mundo, conforme apontado pela Organização Mundial da Saúde - OMS a doença tem se tornado uma das principais causas de óbito prematuro antes dos 70 anos. No contexto brasileiro, a projeção alarmante de novos casos, especialmente em regiões como Pernambuco, destaca a urgência de estratégias eficazes de prevenção e tratamento (Sung *et al.*, 2021).

Além do fator genético (Meeks *et al.*, 2015), a exposição a fatores de risco e o estilo de vida, parecem aumentar o risco de desenvolvimento de câncer. Logo, compreender o impacto de tais fatores sobre a fisiopatologia da doença, é fundamental para desenvolver abordagens preventivas e terapêuticas personalizadas (Kanch *et al.*, 2014).

O tratamento do câncer é multifacetado, abrangendo métodos como cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia, o que reflete a complexidade da doença (Devita *et al.*, 2008 e Weinberg, 2013). Apesar da cirurgia, quimioterapia e a radioterapia serem os pilares dos tratamentos tradicionais, eles possuem como principal desvantagem a falta de seletividade para as células tumorais (Demain *et al.*, 2010).

Os medicamentos quimioterápicos convencionais como a cisplatina e o metotrexato estão associados a reações adversas graves, como perda de cabelo, lesão gastrointestinal, supressão da medula óssea, disfunção neurológica e resistência aos medicamentos, enquanto os fitocompostos provaram ser menos tóxicos e mais eficazes (Amit Koparde *et al.*, 2019).

Diante disso, a busca por novos agentes terapêuticos tem levado à exploração de compostos derivados de produtos naturais (Huang *et al.*, 2018) por fornecerem uma fonte de inúmeros compostos medicinais com um amplo espectro de diversidade química e funcional, tornando-os perfeitos para a descoberta de novos medicamentos (Zhang *et al.*, 2023). Um exemplo disso é que uma parcela substancial dos medicamentos antitumorais tem origem de metabólitos secundários (Newman, 2020).

Apesar do aumento da popularidade dos produtos sintéticos que levou à existência de muitos medicamentos hoje em dia (Feng *et al.*, 2024), os metabólitos secundários das plantas permanecem vitais para o design de medicamentos (Amit Kopard *et al.*, 2019), pois suas estruturas centrais servem como modelos para a síntese ou semi síntese de novas substâncias para o tratamento de doenças (Newman, 2023). Além disso, embora a segurança e eficácia das drogas sintéticas permaneça discutível, as moléculas naturais ainda desempenham um papel dominante no tratamento de doenças (Meier; Lappas, 2016 e Cragg; Pezzuto, 2016) devido à sua alta tolerância e aceitação pelo paciente (Newman, 2023).

Então os benefícios dos compostos naturais como a redução dos efeitos adversos e a capacidade de impactar nas múltiplas vias de sinalização envolvidas no processo de carcinogênese, poderiam ser considerados uma explicação para o fato de que há uma maior aprovação de medicamentos antitumorais naturais ou seminaturais do que aqueles estritamente sintéticos (Dehelean *et al.*, 2021).

As plantas medicinais, utilizadas desde tempos antigos, desempenham um papel significativo na descoberta de substâncias bioativas (Seeman, 2017). O avanço na síntese total de produtos naturais, exemplificado por pioneiros como Robert Burns Woodward, contribuiu substancialmente para o desenvolvimento de terapias baseadas em compostos da natureza (Nicolaou *et al.*, 2000)

No entanto, alguns desafios surgem quando se utiliza moléculas advindas de metabólitos secundários, como baixa biodisponibilidade oral e uma citotoxicidade exagerada. A modificação estrutural emerge como uma estratégia fundamental para otimizar a eficácia desses compostos (Johnston *et al.*, 2016).

O uso da planta *Galega officinalis* conhecida também como arruda de cabra, era prescrita como medicamento fitoterápico na Europa medieval para o tratamento de “sede” e/ou micção excessiva, picadas de veneno, varíola, sarampo e até na produção de queijos (Hernández Velázquez *et al.*, 2023). Em 1918 Watanabe confirmou a capacidade da *G. officinalis* em reduzir os níveis de glicose no sangue após injetar em coelhos, cloridrato de guanidina extraído da planta, conseguindo gerar um estado hipoglicêmico (Watanabe, 1918).

A metformina, composto que é fruto de uma derivação de uma síntese química da biguanida à base de arginina, destaca-se como um exemplo bem-sucedido de modificação estrutural, sendo utilizada no tratamento de diabetes e investigada por seus efeitos cardiovasculares e antitumorais (Zhang *et al.*, 2020).

Dentro desse cenário, as lactonas e os triazóis surgem como classes de compostos com propriedades biológicas notáveis. Lactonas, estruturas cíclicas derivadas da desidratação do ácido láctico (Kim *et al.*, 2021), e triazóis, compostos heterocíclicos (Song *et al.*, 2018), têm sido estudados por suas bioatividades, entre elas atividades antimicrobianas, antiinflamatórias e antitumorais (Song *et al.*, 2018 e Kim *et al.*, 2021).

A sinergia entre essas estruturas inspirou a síntese de uma molécula híbrida, com potencial para apresentar eficácia na inibição de células tumorais, minimizando efeitos adversos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O QUE É CÂNCER?

Câncer é um grupo de mais de 100 doenças (Inca, 2020) que têm em comum o crescimento desordenado de células anormais e com maior taxa de replicação do que as células normais (Roy & Saikia., 2016). O surgimento e o desenvolvimento do câncer são influenciados por uma ampla gama de fatores,

tanto internos às células (como mutações genéticas, estado imunológico e níveis hormonais) quanto externos ao organismo (como exposição ao tabagismo, substâncias químicas, agentes infecciosos e radiação) (Roy & Saikia., 2016). Esses elementos interagem de maneira complexa, levando a um comportamento celular anômalo e a uma proliferação descontrolada.

A conseqüente formação de uma massa celular anormal no corpo pode afetar os tecidos saudáveis circundantes e, em alguns casos, se disseminar para outras partes do organismo através do processo de metástase que contém propriedades invasivas (Ames; Gold; Willett., 1995). O desenvolvimento da metástase aumenta o risco de morbidade e mortalidade para a maioria dos pacientes (Anand P *et al.*, 2008).

2.1.2 A Epidemiologia Do Câncer

A incidência e a mortalidade por câncer estão crescendo de forma expressiva em todo o mundo, considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) um dos principais desafios em termos de saúde pública e uma das principais causas de óbito globalmente. Na maioria dos países, corresponde à primeira ou à segunda causa de morte prematura, antes dos 70 anos (Sung *et al.*, 2021)

De acordo com dados publicados da International Agency for Research on Cancer (IARC), a estimativa é que ocorreram anualmente mais de 19 milhões de novos casos de câncer em todo o mundo só em 2020, resultando em aproximadamente 10 milhões de óbitos, e prevê-se que aumente para 13 milhões até 2030 (Sung *et al.*, 2021).

O câncer de pulmão permanece como a principal causa de morte, contribuindo com aproximadamente 1,8 milhões de óbitos anuais (Sung *et al.*, 2021), sendo o câncer de mama o tipo mais comum diagnosticado entre as mulheres (Sung *et al.*, 2021) e o de próstata entre os homens (Siegel *et al.*, 2023). Estima-se que o impacto global do câncer atinja 28,4 milhões de casos até 2040,

representando um aumento de 47% em comparação a 2020. Para o Brasil, a projeção para o período de 2023 a 2025 sugere que serão diagnosticados aproximadamente 704 mil novos casos de câncer, onde Pernambuco tem uma taxa estimada de 251,26 casos para cada 100 mil habitantes (Sung *et al.*, 2021).

2.1.3 Etiologia do câncer

Frequentemente a doença surge devido a alterações genéticas que afetam proteínas responsáveis pela regulação do ciclo celular (Iranzo, 2018). Essas alterações podem ser hereditárias ou resultar de mutações provocadas por agentes carcinogênicos presentes no habitat ou pelo estilo de vida do indivíduo (Zhu *et al.*, 2015). Em muitos casos, fatores genéticos e ambientais coexistem, contribuindo para o acúmulo gradual de mutações necessárias para desencadear o desenvolvimento do câncer (Zhu *et al.*, 2015).

Segundo as análises do estudo "Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study (GBG)", o tabagismo é consistentemente reconhecido como um dos principais impulsionadores do risco para diversos tipos de câncer, abrangendo áreas como pulmão, boca e esôfago. Além disso, o mesmo estudo reconhece a contribuição da poluição atmosférica, radiação ionizante e exposição a produtos químicos ambientais, como o benzeno, para o aumento do risco da doença (Jeffrey D. Stanaway *et al.*, 2018). Uma dieta inadequada, com o consumo insuficiente de frutas, vegetais e fibras e o aumento do consumo de açúcares simples, decorrentes do processo de transição alimentar e nutricional na alimentação, também é associada ao aumento do risco de câncer, especialmente o colorretal (Jeffrey D. Stanaway *et al.*, 2019; World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research., 2020).

Toxinas ambientais, radiação, inflamação e processos metabólicos podem levar a produção excessiva de espécie reativa de oxigênio (ERO) e causar estresse oxidativo (Sharma *et al.*, 2022). O início e a progressão do câncer estão intimamente ligados à geração de estresse oxidativo dentro das células. O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de ERO e os mecanismos

de defesa antioxidante nas células. Em condições fisiológicas normais, a produção de ERO é equilibrada pela presença de antioxidantes, que neutralizam essas espécies reativas e mantêm a homeostase celular (Sharma *et al.*, 2022)

O estresse oxidativo em excesso pode causar danos a alguns componentes celulares como ao ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas e lipídeos (Sharma *et al.*, 2022), o que desencadeia a ativação dos mecanismos de reparo para corrigir a lesão. Se esses mecanismos de reparo não forem capazes de restaurar adequadamente o DNA danificado, são iniciados sinais de morte celular. Contudo, se esses mecanismos falham, as mutações celulares podem se proliferar ao longo do tempo, acumulando-se e eventualmente formando um tumor cancerígeno (Goldar *et al.*, 2015; Torgovnick & Schumacher, 2015 e Rizvi *et al.*, 2021).

Fatores genéticos também são destacados como influentes na predisposição dessa doença (Kanch *et al.*, 2014 e Meeks *et al.*, 2015). Os genes envolvidos no câncer podem ser divididos em dois grupos principais: oncogenes, que tem o potencial de induzir o desenvolvimento do câncer quando alterados, e genes supressores de tumor, que inibem o desenvolvimento de tumores quando funcionam devidamente (Mabeta, 2018).

O p53 é um dos genes supressores de tumor mais importantes, regulando o ciclo celular e a apoptose. Oncogenes significativos envolvidos na fisiopatologia da doença incluem K-RAS, B-RAF e c-MYC (Croce, 2008 e M. Zhao *et al.*, 2012). As alterações genéticas e epigenéticas frequentemente presentes na célula tumoral podem causar efeitos como aumento da proliferação celular com elas se tornando altamente resistentes à indução da apoptose. Esses efeitos são mediados por diversas vias de sinalização que desempenham um papel na tumorigênese. Compreender, definir e rastrear a via de sinalização e os genes envolvidos é crucial para identificar indivíduos em maior risco e desenvolver estratégias personalizadas de prevenção e tratamento (Vaghari Tanari *et al.*, 2021).

2.1.4 Oncogenes e câncer

Nos mecanismos das células saudáveis, são identificados proto-oncogenes que desempenham funções importantes na regulação dos processos biológicos. Estes proto-oncogenes desempenham papéis polifuncionais, podendo atuar como mediadores do crescimento celular, transdutores de sinais intracelulares e facilitadores da transcrição genética no núcleo celular. Estando presente nos genomas de mamíferos e aves, há proto-oncogenes responsáveis por regular tanto a diferenciação quanto a proliferação celular normal (Derelanko, 2001).

Um proto-oncogene pode ser expresso em níveis relativamente baixos, adaptando-se às demandas metabólicas da célula. Contudo, em situações específicas, sua expressão pode ser substancialmente induzida (Jgarglio, 2012). Alterações nos genes que afetam o controle do comportamento celular ou na estrutura das proteínas que os genes codificam, podem resultar na transformação de proto-oncogenes em oncogenes nas células cancerígenas. Esses oncogenes, uma vez formados, estimulam a divisão celular, desempenhando um papel crucial na origem do câncer (Jan, Chaudhry, 2019; Tabel, Digiovanni, 2011).

As mutações físicas que ativam esses proto-oncogenes podem ser categorizadas em dois tipos: aquelas que alteram a estrutura da proteína codificada (como nas alterações pontuais nos proto-oncogenes RAS e rearranjos cromossômicos, como a translocação Filadélfia (BRC-ABL), formando genes híbridos e também mutações que perturbam a regulação da expressão proteica, como na amplificação de genes ou da translocação de cromossomos, como no caso em que o gene MYC é colocado sob o controle das sequências intensificadoras de imunoglobulina (Battaile, Reynard, Ducarme, 2017; Kurebayashi, 2001 e Klinakis *et al.*, 2016).

2.1.5 Supressores de tumor e câncer

Nas células normais saudáveis, há expressão dos oncogenes e os genes supressores que também desempenham papel crucial no crescimento e diferenciação celular normais, além de impedirem o desenvolvimento da célula cancerígena (Nenclares; Harrington, 2020). Há um extenso grupo desses genes que compartilham a característica comum de protegerem o organismo contra a neoplasia. Para que uma célula cancerosa prospere ou persista, ambas as cópias de um gene supressor de tumor precisam estar inativas. A ausência ou inativação devido a mutações desses genes supressores de tumor, é associada ao desenvolvimento do câncer (Nenclares; Harrington, 2020).

As mutações no gene TP53, que codifica a proteína p53, são as ocorrências genéticas mais comuns no câncer (Freed-Pastor; Prives, 2012). Elas são observadas em 30% a 50% dos casos de câncer em humanos, com uma incidência especialmente elevada, superior a 50%, em casos como câncer de ovário, pulmão, colorretal, cabeça e pescoço, pâncreas, útero, mama e bexiga (Cerami *et al.*, 2012).

A proteína p53 transcrita pelo gene TP53 é considerada uma proteína supressora tumoral por ser uma proteína capaz de detectar inconformidades gênicas ou desequilíbrios homeostáticos nas células, atuando na ativação de genes que levarão a diferentes respostas de supressão ao dano, que podem variar desde um simples reparo no DNA até a indução apoptótica da célula em questão (Pezzini *et al.*, 2023) por meio de dois mecanismos principais: primeiramente, interrompendo o ciclo celular e impedindo que as células prossigam para a fase G1, e segundo, atuando como um catalisador para a apoptose, o processo de morte celular programada. Assim, a desativação da p53 acarreta na perda de dois importantes mecanismos reguladores do processo tumoral: a capacidade de as células se proliferarem e a capacidade de se auto destruírem (Yeo, 1999).

A resistência aos sinais de morte celular e a capacidade de se tornarem imortais são características fundamentais do processo tumoral. Existem três principais formas de morte celular programada: apoptose, autofagia e necrose

programada, as quais podem, em conjunto, determinar o destino das células cancerosas (Jain *et al.*, 2013). No entanto, a apoptose destaca-se particularmente, sendo objeto para o desenvolvimento de estratégias para induzir a morte celular em células cancerosas, como parte do tratamento contra o câncer (Pimentel; Zhou; Gen Sheng Wu, 2023)

2.2 TRATAMENTOS DO CÂNCER

A escolha e a eficácia do tratamento do câncer dependem de diversos fatores, como o tipo específico do tumor, sua localização no corpo e em qual estadiamento se encontra. O tratamento oncológico é altamente diversificado, muitas vezes exigindo uma abordagem multidisciplinar que combina diferentes modalidades terapêuticas. A cirurgia é a principal estratégia para eliminar células em tumores sólidos, não sendo apropriado para inibir ou erradicar células que se metastizaram (Pan *et al.*, 2016). Segundo o trabalho publicado por Pan *et al.*, a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia são os pilares dos tratamentos tradicionais, que possuem como principal desvantagem a falta de seletividade para as células tumorais. O tratamento citotóxico frequentemente suprime a expressão de DNA e proteínas em células cancerígenas tumorais e células normais do hospedeiro, não diferenciando entre células saudáveis ou mutantes. Isso resulta em um índice terapêutico estreito, levando à indiscriminada toxicidade (Pan *et al.*, 2016).

Além disso, como a maioria dos medicamentos quimioterápicos atuam em células de multiplicação rápida, como aquelas encontradas na medula óssea, trato gastrointestinal (TGI) e folículos capilares, eles podem afetar negativamente essas áreas de forma significativa (Amjad *et al.*, 2022).

A resistência à quimioterapia representa uma barreira adicional no tratamento do câncer. Diversos mecanismos de resistência a medicamentos quimioterápicos incluem efluxo ativo, inativação do medicamento, modificação do alvo do medicamento e inibição do processo de morte celular (Seukep; Kuete.,

2024). Portanto, é crucial entender as diferenças moleculares entre células normais e cancerígenas para identificar alvos específicos no câncer. Isso permitirá o desenvolvimento de terapias direcionadas, aumentando sua eficácia e reduzindo os efeitos colaterais, evidenciando a necessidade de tratamentos antitumorais cada vez mais eficazes (Weinberg, 1983 e Riley; Desai, 2009).

Levando isso em consideração, novas abordagens estão em constante desenvolvimento. Isso inclui terapias mais modernas, como a terapia hormonal, terapias baseadas em células-tronco, imunoterapias e terapias direcionadas, que visam especificamente os mecanismos biológicos envolvidos no crescimento e na propagação do câncer (Dorai; Aggarwal, 2004). Além disso, novos ensaios experimentais recentes estão explorando maneiras de interromper a capacidade de angiogênese tumoral de manipular geneticamente as vias celulares envolvidas na morte celular programada e na supressão tumoral (Pan et al., 2016). Esses tratamentos inovadores são aplicados em uma ampla gama de tipos de câncer, abrangendo desde o cérebro até os órgãos reprodutivos. (Folge. O *et al.*, 2011).

A cirurgia é indicada em casos de tumores primários quando possível, enquanto que a radioterapia usa da radiação para destruir ou danificar as células cancerosas. A quimioterapia, utiliza medicamentos para combater as células anormais, sendo especialmente eficaz em cânceres com elevada taxa de replicação e risco de metástases como nos cânceres de mama. A imunoterapia mobiliza o sistema imunológico do paciente para combater o câncer, tornando-as mais eficazes na identificação e destruição de células malignas. Enquanto que terapias-alvo visam bloquear ou interferir em processos específicos que promovem o crescimento tumoral (Weinberg, 2013 e Devita *et al.*, 2019).

2.2 IMUNOTERAPIA - INIBIDORES DE CHECK-POINT

Em situações fisiológicas do corpo, as células do sistema imunológico utilizam de pontos de verificação para iniciar uma resposta imune. Esse mecanismo tem a finalidade de regular a resposta imunológica, assegurando a

homeostase do organismo e prevenindo doenças autoimunes (Haanen; Robert., 2015). Os checkpoints imunológicos são moléculas localizadas na superfície das células do sistema imune, responsáveis por enviar estímulos co-inibitórios que atenuam a resposta imune (Naidoo; Page; Wolchok., 2014). Eles modificam a regulação da ativação e multiplicação de células T, possibilitando a tolerância a autoantígenos e a certos tipos de células tumorais.

Ao estimular as células T CD4+/CD8+ citotóxicas, os Inibidores de Checkpoint Imunológico (ICI) modificam a resposta do sistema imune, desencadeando uma atividade antitumoral (Sibaud., 2017). A terapia de ICI recebeu aprovação tanto da Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos quanto da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil para o tratamento de diversos tipos de tumores, conforme indicado na Tabela 1 (Reis Ap *et al.*, 2020).

Tipos de tumor	Agente terapêutico	Ano de aprovação
Melanoma	Ipilimumabe	2011
Câncer pulmonar de células não pequenas	Nivolumabe	2015
Câncer pulmonar de células não pequenas	Pembrolizumabe	2015
Melanoma (BRAF selvagem)	Ipilimumabe+	2015
Melanoma	Ipilimumabe	2015
Carcinoma renal	Nivolumabe	2015
Carcinomas de cabeça e pescoço	Pembrolizumabe	2016
Melanoma (qualquer BRAF)	Ipilimumabe+Nivolumabe	2016
Câncer pulmonar de células não pequenas	Atezolizumabe	2016
Linfoma de Hodgkin	Pembrolizumabe	2017
Carcinomas de vias urinárias	Avelumabe	2017

Carcinomas de vias urinárias	Durvalumabe	2017
Carcinoma hepatocelular	Nivolumabe	2017
Carcinoma gástrico e gastroesofágico	Pembrolizumabe	2017
Carcinoma renal	Ipilimumabe+Nivolumabe	2018

Tabela 1. Inibidores de checkpoint imunológico aprovados pela FDA. (Adaptado em Reis Ap *et al.*, 2020)

Inovações significativas têm marcado os avanços no tratamento do câncer nos últimos anos devido à terapia de ICI. A intervenção através do bloqueio do CTLA-4 (Anticorpos Contra o Linfócito T Citotóxico-4) e da PD-1 (morte celular programada da proteína 1) ou de seu ligante, PDL-1 (morte celular programada da anti-proteína 1), tem potencializado a resposta imunológica do organismo contra células tumorais em diversos tipos de câncer, incluindo melanoma, câncer de pulmão, bexiga, rim, cabeça e pescoço, linfoma, tumores intestinais, de fígado e gástricos (Reis Ap *et al.*, 2020)

O checkpoint imunológico CTLA-4 foi identificado pela primeira vez por Brunet *et al.* em 1980 (Brunet *et al.*, 1987). Posteriormente, descobriu-se que o CTLA-4 nas células T se liga competitivamente ao B7 (CD80) das células apresentadoras de antígenos, interferindo nas interações com o CD28. Essa interferência impacta a coestimulação na fase inicial da ativação das células T (Krummel; Allison., 1995). O CTLA-4 é encontrado na superfície das células T, desempenhando um papel inibitório. O ipilimumab, um anticorpo monoclonal humanizado, atua impedindo a ligação do CTLA-4, resultando na desativação do sinal inibitório da célula T (Haanen; Robert., 2015).

Em 1992, o checkpoint imunológico PD-1 foi clonado (Leach; Krummel; Allison., 1996) seguido pela identificação do seu ligante, o PDL-1 (Ishida *et al.*, 1992; Dong *et al.*, 2002; Freeman *et al.*, 2000; Dong *et al.*, 1999). O PDL-1 é expresso em vários tecidos tumorais, como rins e pulmões, isso faz com que as células tumorais se tornem invisíveis ao sistema imunológico, ao se ligar com a proteína de morte celular programada (PD-1), um ponto de verificação das células

T, leva a morte delas, favorecendo a massa tumoral (Topalian; Drake; Pardoll, 2012)

Muitos tipos de câncer utilizam esse mecanismo para evitar a detecção e destruição pelas células T. Os inibidores do PD-1 bloqueiam a interação entre o PDL-1 e seu receptor, permitindo que o sistema imunológico reconheça e ataque as células tumorais. Os anticorpos inibidores direcionados à interação entre o PD-1 e seus ligantes têm mostrado eficácia na resposta antitumoral (Topalian; Drake; Pardoll, 2012). Anticorpos humanizados como pembrolizumab, nivolumab, MEDI4736 e MPDL3280A impulsionam a resposta antitumoral das células T ao bloquear a interação entre PD-1 e PD-L1, prevenindo a inativação das células T (Reck *et al.*, 2016).

Embora essa terapia represente um avanço significativo no tratamento do câncer, ainda há desafios, especialmente em relação aos efeitos adversos imunorrelacionados: Desenvolvimento de doenças autoimunes tais como a destruição de células saudáveis do organismo, devido à quebra da tolerância imunológica. Os efeitos adversos comuns incluem diarreia, colite, rash cutâneo, dermatite, elevação de transaminases, hipofisite e tireoidite (Berner *et al.*, 2019).

2.3 COMPOSTOS NATURAIS COMO TRATAMENTOS PARA O CÂNCER

Desde os tempos pré-históricos, as plantas medicinais têm sido utilizadas como recursos terapêuticos (Awuchi Chinaza, 2019). O uso de plantas como remédio remonta aos primórdios do homem. Os registros fósseis datam o uso humano de plantas como medicamentos pelo menos até o Paleolítico Médio. Evidências desta associação inicial foram encontradas no túmulo de um homem de Neandertal enterrado há 60 mil anos (Hosseinzadeh *et al.*, 2015). Com a invenção da escrita, o compartilhamento de conhecimento erudito tornou-se comum. Os escritos mais antigos, de Shen Nong de 2800 anos a.C detalham o uso medicinal de diversas plantas (Almeida, 2019). O Papiro de Ebers 2900 a.C. é outro histórico importante onde são descritas 700 espécies medicinais e destaca-se como documento basilar na cultura médica (Firmo *et al.*, 2011).

Ao longo dos séculos, O LIVRO “Matéria Médica Chinesa” foi amplamente documentada, começando em 1100 a.C. com Wu Shi Er Bing Fang (Cragg and Newman, 2013) Este livro aborda tratamentos à base de fitoterápicos para 52 doenças, sendo posteriormente registrado no Shennong Herbal, cerca de 100 a.C., com 365 medicamentos, e no Tang Herbal, em 659 d.C., mencionando 850 fitoterápicos. Esses registros históricos fornecem uma base valiosa para a prática médica tradicional chinesa (Jütte *et al.*, 2017).

Os gregos e romanos desempenharam um papel significativo no desenvolvimento racional do uso de compostos bioativos à base de plantas no antigo mundo ocidental (Cragg and Newman, 2013), Os autores mencionam que por volta de 300 a.C., o filósofo e cientista natural grego, Theophrastus, estudou diversas ervas medicinais, enquanto em 100 d.C., o médico grego Dioscórides registrou métodos de coleta, armazenamento e indicações de várias plantas medicinais..

O destaque na terapêutica moderna pode ser observado com a utilização notável de ervas terapêuticas como a papoula, a maconha e a babosa (Calixto e Siqueira, 2008). Porém apenas no século XIX, quando Friedrich Serturmer isolou o alcaloide “ morfina ” em 1806, a busca científica por princípios ativos dessas plantas teve início (Demain *et al.*, 2010). Exemplos notáveis do uso clínico de princípios ativos de plantas incluem a D-tubocurarina, um relaxante muscular, e a berberina com sua atividade antibacteriana no tratamento de enterite infecciosa e disenteria bacilar (Zhang *et al.*, 2020). (

O estudo moderno de compostos derivados de plantas para tratamento de doenças também acontece porque, como muitos metabólitos secundários estão envolvidos nas interações das plantas com seu ambiente, seu aparecimento nas linhagens de plantas está intimamente associado à defesa contra à coevolução de micróbios/pragas/predadores da planta (Dixon; Alexandra Jazz Dickinson, 2024).

Nos últimos anos, houve uma extensa utilização de medicamentos derivados de produtos naturais no tratamento do câncer, devido sua diversidade de fontes, bioatividades aprimoradas e baixa toxicidade (Huang *et al.*, 2019). Além disso, numerosos estudos indicam que essas drogas, provenientes de fontes naturais, podem desempenhar papéis anticâncer, interferindo em processos como metástases, invasões, apoptose e angiogênese, que constituem características cruciais nos cânceres humanos (Sharma, 2018; Hanahan e Weinberg, 2000).

Durante o período de 1981 a 2019, cerca de 25% dos medicamentos anticâncer recém-aprovados foram associados a produtos naturais (D.J. Newman, 2020) Nesse intermédio, foram documentados diversos compostos com potencial anticâncer e características estruturais únicas que exploram novas abordagens terapêuticas para a doença (M.Y. Huang *et al.*, 2018)

No cenário brasileiro, são realizados estudos sobre moléculas isoladas de plantas que apresentam atividade antitumoral, abrangendo diversas classes químicas, como pterocarpanos, alcaloides, diterpenos e cucurbitacinas (Militão *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2014; Militão *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2016). A fonte de compostos bioativos da flora brasileira permite o isolamento e identificação de moléculas biologicamente ativas.

2.4 HISTÓRIA DO USO DE COMPOSTOS NATURAIS

Ao longo do século XIX, os progressos nas áreas de fitoquímica e química analítica aprimoraram a habilidade humana de investigar detalhadamente os compostos naturais, identificando constituintes bioativos puros para maximizar o potencial de sua aplicação. A descoberta de medicamentos baseados nesses produtos ganhou proeminência no último século devido aos avanços científicos na química e medicina modernas (Johnston *et al.*, 2016)

Conforme a ciência avança no isolamento de compostos ativos de substâncias naturais, a ênfase na descoberta de medicamentos volta-se para a identificação estrutural. Na década de 1940, Robert Burns Woodward introduziu

métodos físicos para identificar essas estruturas (Seeman, 2017). Robert foi um pioneiro na síntese total de produtos naturais, realizando a síntese de diversas substâncias complexas de sua época, incluindo colesterol, cortisona, clorofila, quinina e reserpina (Seeman, 2017). Essa contribuição impulsionou o avanço na síntese total de substâncias orgânicas de origem natural (Nicolaou *et al.*, 2010).

Porém, alguns produtos naturais podem apresentar baixa atividade ou biodisponibilidade oral, a modificação no design da sua estrutura pode fazer a diferença (Johnston *et al.*, 2016). A obtenção desses compostos ocorre por meio de modificação estrutural e síntese química, sendo esses métodos frequentemente empregados para desenvolver medicamentos ideais (Johnston *et al.*, 2016)

A integração crescente da pesquisa em produtos de metabolismo secundário com a biologia molecular, promete a obtenção de recursos farmacêuticos mais valiosos da natureza. Um exemplo disso, é a metformina, um derivado de produtos naturais obtido através de uma síntese química da biguanida à base de arginina, utilizado amplamente na prática clínica como um medicamento de primeira linha para o tratamento de diabetes mellitus tipo 2. Foi aprovada pelo FDA em 1994 e experimentalmente, vem-se estudando seu potencial cardioprotetor e antitumoral (Zhang, L *et al.*, 2020).

Outro exemplo é que as moléculas como os macrolídeos, o taxol, as ecteinascidinas e a caliqueamicina γ I, que passaram por síntese total, são atualmente objetos extensivamente estudados em várias abordagens de design, devido aos seus notáveis valores terapêuticos (Li, G.; Lou; Qi., 2022).

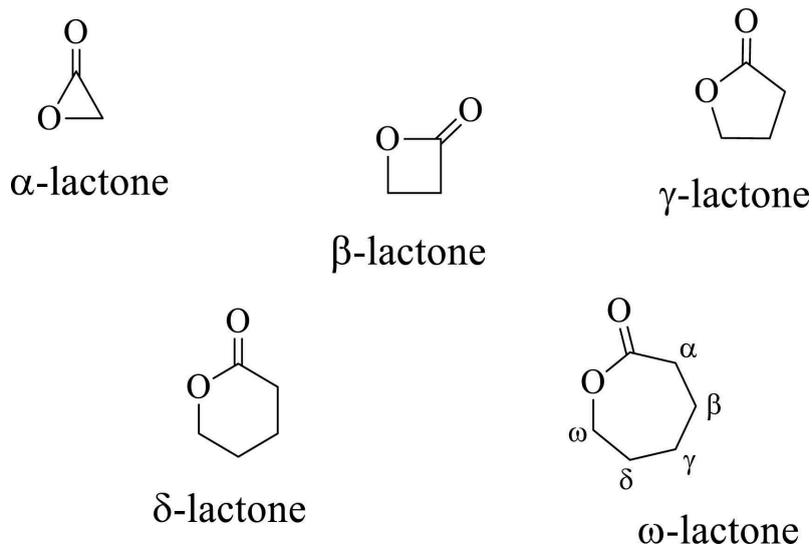
2.4.1 Lactonas

Os metabólitos secundários, também conhecidos como produtos naturais, possuem um papel de protagonismo na pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias bioativas (Takamura, 2018). Entre eles, as lactonas se destacam

devido às suas notáveis propriedades biológicas e estruturas químicas interessantes. Esses compostos são sintetizados por uma variedade de organismos como as plantas, bactérias, fungos, esponjas marinhas e outros (Reddy *et al.*, 2018). As lactonas, são ésteres orgânicos derivados da desidratação do ácido láctico, com estrutura química cíclicas (Kim *et al.*, 2021). Podendo ter em sua estrutura análogos contendo insaturação ou heteroátomos substituindo um ou mais átomos de carbono no anel (Sartori; Diaz; Diaz-Muñoz, 2021).

Produtos isolados de animais marinhos e plantas contendo unidade δ -lactonas α,β -insaturadas em suas composições, têm sido objeto de estudo significativo pois exibem uma diversidade notável de atividades biológicas, abrangendo propriedades anti-parasitárias, antitumorais, anti-inflamatórias e antivirais, em especial contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Kim *et al.*, 2021; Barros *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2011; Hagen *et al.*, 2000). Entre esses compostos, vale ressaltar a fostriecina, a citostatina, a leptomicina B, a goniotalamina, a massoialactona e cavalactona (Barros *et al.*, 2014; Lee, S.-M. *et al.*, 2011; Carmona *et al.*, 2003). Os membros dessas categorias são nomeados de α -, β -, γ -, δ - e ω -lactonas, possuindo anéis com 3, 4, 5, 6 e 7 membros, respectivamente (Figura 1) (Raimo Alén, 2018). As γ - e δ -lactonas são encontradas em mais abundância na natureza devido à alta estabilidade de seus anéis lactônicos (Koszelewski *et al.*, 2019; Melis sardan *et al.*, 2012).

Figura 1 - Representação estrutural de α -, β -, γ -, δ - e ω -lactonas.



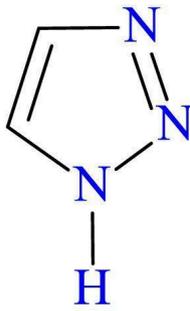
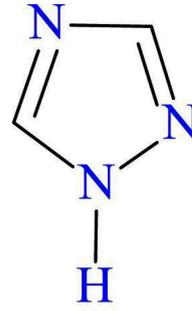
(Sartori; Diaz; Diaz-Muñoz, 2021).

Dentre algumas lactonas α , β -insaturadas previamente mencionadas, algumas demonstraram efeitos imunossupressores contra a interleucina-2 (IL-2) (Schmidt *et al.*, 1999). Devido os efeitos farmacológicos dessas moléculas não estarem bem estabelecidas, ensaios experimentais vêm sendo desenvolvidos em busca de avaliar seu efeito biológico a partir da exploração de suas propriedades bioativas

2.4.2 Triazol

Triazol é um composto heterocíclico caracterizado por um anel de cinco membros contendo dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio (Song *et al.*, 2018). Com base na disposição dos nitrogênios e na posição dos três hidrogênios no anel de cinco membros, o triazol possui quatro isômeros. Esses isômeros podem ser categorizados em dois pares de tautômeros: 1,2,3-triazol (1H-1,2,3- e 2H-1,2,3-) e 1,2,4-triazol (1H-1,2,4- e 2H-1,2,4-) (Sumrra *et al.*, 2020) (Figura 2)

Figura 2 - Representação esquemática dos isômeros da molécula de triazol

**1****1,2,3-triazole****2****1,2,4-triazole**(Salma *et al.*, 2024)

Estudos indicam que os derivados de triazol possuem uma ampla gama de atividades biológicas (Ayati *et al.*, 2016), exibindo atividade de inibição contra algumas enzimas comuns, como tirosinase, acetilcolinesterase, β -lactamase, anidrase carbônica e enzima α -glicosidase (Salma *et al.*, 2024) além de atividades analgésicas, antiinflamatórias, anticonvulsivantes, antineoplásicas, antimaláricas, antivirais, anti proliferativas e antimicrobianas. além de apresentar potencial citotóxico em ensaios *in vitro* contra várias células cancerígenas humanas (Deng; Sun; Bahaa G.M. Youssif., 2023; D. Kumar *et al.*, 2011). São encontrados em muitos compostos potentes e biologicamente ativos, como trazodona (antidepressivo), rizatriptano (medicamento antimigrano), hexaconazol (antifúngico) e alprazolam (hiptônico, sedativo e tranquilizante). A abundância de elétrons e a natureza aromática do triazol conferem-lhe a capacidade de se associar de maneira versátil com diversas biomacromoléculas, estabelecendo interações que incluem ligações pi-pi, ligações de hidrogênio e ligações íon-dipolo (Song *et al.*, 2018; Deng; Sun; Bahaa G.M. Youssif, 2023). Esse heterociclo é também reconhecido por sua estabilidade em condições ácidas, básicas e oxido-redutivas (M. Whiting, 2006).

2.4.3 Drogas híbridas

A crescente compreensão da complexidade molecular do câncer e dos mecanismos de sua resistência a medicamentos anticâncer, aliada à vasta experiência clínica, sugere que atingir efeitos quimioterápicos desejáveis no tratamento avançado da doença é quase impossível por meio de terapia medicamentosa única (Falzone; Salomone; Libra., 2018). A abordagem multi alvo oferece benefícios terapêuticos anticâncer aprimorados com maior segurança e também diminui o risco de desenvolvimento de resistência aos medicamentos (Delou *et al.*, 2019). Os híbridos baseiam-se no princípio de combinar estruturas parciais ou inteiras para criar entidades moleculares novas e possivelmente mais ativas (Mehta; Singh, V., 2002).

Os medicamentos híbridos, conhecidos também como "alvos múltiplos de molécula única" ou "ligantes múltiplos", representam uma forma avançada de terapia combinada. Uma abordagem de design de medicamentos baseada em racionalidade que viabiliza a fusão de um ou mais compostos bioativos, ou suas subunidades farmacofóricas, em uma única molécula (Szumilak *et al.*, 2021). Moléculas híbridas são conhecidas como compostos multidirecionados, polimultifuncionais e quiméricos. Estas representam combinações de duas moléculas bioativas distintas, apresentando atividade farmacofórica complementar e diferentes modos de ação. Tal arranjo resulta em atividades farmacológicas aprimoradas e efeitos sinérgicos. Esse novo paradigma abre perspectivas inovadoras para explorar fontes naturais, visando aumentar tanto a segurança quanto a eficácia (Szumilak *et al.*, 2021).

Diversos compostos com ampla diversidade molecular têm sido clinicamente empregados na quimioterapia do câncer. Produtos naturais como paclitaxel, docetaxel, estrogênio, geldanamicina, doxorubicina, daunorrubicina, distamicina A, curcumina e topsentinas têm demonstrado eficácia no tratamento do câncer (Xiao *et al.*, 2016). Um exemplo disso é pode ser visto em uma molécula híbrida de geldanamicina-estradiol que possui (IC₅₀ = 0,1 µM, HER2; IC₅₀ = 0,08 µM; ER) que promove degradação seletiva de proteínas tirosina

quinases ER e HER-2 possuindo também mais seletividade do que os medicamentos individuais (Choudhary *et al.*, 2018).

Diante dos resultados farmacológicos promissores e uma retórica bibliográfica pertinente, nosso grupo sintetizou moléculas híbridas criada a partir da síntese total de uma unidade d-lactona α,β -insaturadas e um anel de triazol para avaliação de citotoxicidade em células tumorais humanas (Figura 3 e 4). A JC01 possui dois grupos acetato (AcO) ligados a um anel lactônico. Já na molécula JC03 um dos grupos acetato foi removido, revelando um grupo hidroxila (OH) livre.

A natureza complexa dessa molécula permite explorar sinergias entre os grupos funcionais de ambas as estruturas, potencializando seus efeitos farmacológicos. A presença do triazol fornece propriedades químicas específicas, enquanto a lactona desempenha um papel importante na modulação da atividade celular. Essa estratégia de design molecular visa a eficácia na inibição das células tumorais e também a minimização de efeitos adversos em células saudáveis.

Figura 3 — Estrutura química da molécula híbrida d-lactonas α,β -insaturadas com um anel de triazol JC01.

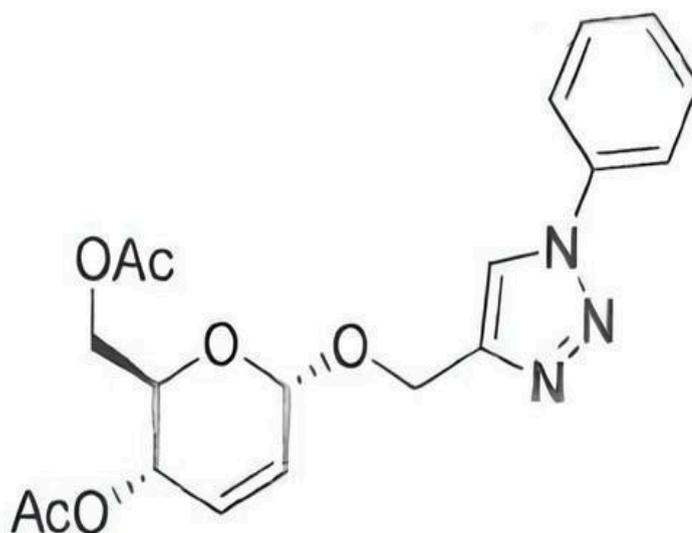
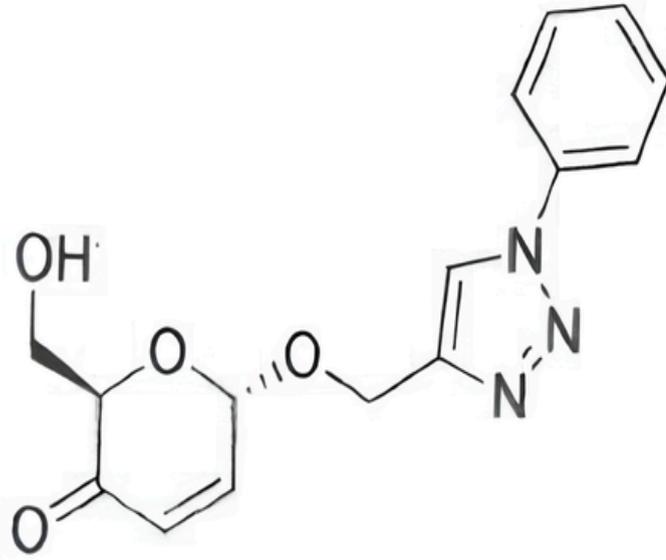


Figura 4 — Estrutura química da molécula híbrida d-lactonas α,β -insaturadas com um anel de triazol JC03.



3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação da citotoxicidade da molécula híbrida, obtida pela síntese total de uma unidade δ -lactonas α,β -insaturadas e um anel de triazol, em diferentes linhagens de células tumorais.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinação da citotoxicidade em concentração única num painel de quatro (4) linhagens tumorais.
- Determinar a concentração que causa 50% de inibição (IC50) em quatro (4) linhagens tumorais.

4 METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco entre os anos de 2022 e 2023.

4.1 CÉLULAS

As células utilizadas nos ensaios de citotoxicidade foram HL60, HCT-116, K562, NCI-H292 (Leucemia Promielocítica, Carcinoma Colorretal, Leucemia Mieloide Crônica, Carcinoma Pulmonar, respectivamente), e obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro.

4.2 Obtenção das Séries de Compostos Derivados

O composto JC01 e JC03 foi cedido pelo professor Dr. Paulo de Menezes da Universidade Federal de Pernambuco obtida pela síntese total de uma unidade δ -lactonas α,β -insaturadas com inserção de um anel de triazol.

4.3 Avaliação da citotoxicidade pela redução de MTT

O experimento de avaliação de citotoxicidade foi conduzido mediante o ensaio colorimétrico de MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio), que avalia a viabilidade celular por meio do estado metabólico das células, se foi ou não diminuída pelo agente citotóxico (Sylvester *et al.*, 2011) e baseia-se na capacidade de células viáveis metabolizarem o tetrazólio na mitocôndria pela ação de enzimas desidrogenases a um produto final, o formazan (Mosmann, 1983). As linhagens celulares foram cultivadas em frascos plásticos para cultura (SPL Life Sciences, 25cm², volume de 150mL para células aderidas e 75cm²) e utilizando o meio de cultura RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina).

As células foram incubadas em estufa a 37°C com atmosfera de 5% de CO₂, sendo distribuídas em multiplacas de 96 poços em uma densidade de 1,0 x 10⁵ células/mL. Após 24 horas de incubação, os derivados d-lactonas

α,β -insaturadas dissolvidos em DMSO puro estéril para a concentração estoque de 5mg/mL foram diluídos seriadamente em meio RPMI para obtenção das concentrações finais (0,039-25 μ g/mL) e adicionados em placa de 96 poços (100 μ L/poço), sendo incubados por 72 horas.

Para fins de comparação, o quimioterápico doxorubicina (1mg/mL) foi utilizado como controle positivo, como controle negativo foi utilizado o DMSO na mesma quantidade usada da doxorubicina. Após o período de incubação, cada cavidade recebeu 20 μ L da solução de MTT. As placas foram reincubadas durante 3 horas, em estufa a 37°C e a 5% CO₂. Após esse período, o sobrenadante foi descartado (MTT excedente removido), e o precipitado foi ressuspenso em 100 μ L de DMSO com a finalidade de solubilizar e quantificar os cristais de formazan produzidos pelas células vivas durante a incubação. Em seguida, as absorbâncias das amostras foram lidas em um leitor de microplacas (Varioskan, Thermo Scientific) no comprimento de onda de 575nm (Mossman *et al.*, 1983).

O composto foi testado em diluição seriada, em duplicata, registrando a porcentagem de inibição em relação ao log da concentração de cada composto. As CI₅₀ (concentração inibitória média capaz de inibir 50% do efeito máximo) e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram determinados a partir de regressão não-linear utilizando o programa Prisma versão 5.0 (GraphPad Software).

4.4 Método de análises do resultado

Na avaliação de concentração única, as amostras foram submetidas ao teste a uma concentração fixa de 25 μ g/mL. Utilizando uma escala de intensidade, o potencial citotóxico das amostras foi classificado em categorias: sem atividade, com pouca atividade (inibição de crescimento celular de 1 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular de 50 a 75%) e com muita atividade (inibição de crescimento de 75 a 100%). Amostras que apresentaram mais de 75% de inibição tiveram a CI₅₀ calculada.

O controle positivo foi representado pela doxorrubicina na concentração de 5 µg/mL. Os experimentos foram analisados com base em suas médias e respectivos intervalos de confiança, utilizando o programa GraphPad Prism. Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos independentes.

4.5 Análise estatística

Para o cálculo da CI50, foi empregada uma regressão não linear no programa GraphPad Prism, com cada amostra sendo testada em duplicata. Essa análise permitiu determinar a concentração na qual 50% do efeito inibitório foi alcançado para cada amostra.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta a porcentagem de inibição do crescimento celular e o desvio padrão da média em linhagens tumorais, após o tratamento com os compostos em uma concentração única de 25 µg/mL. Essa análise proporciona uma visão detalhada do impacto dos compostos sobre o crescimento celular nas linhagens tumorais, destacando a variabilidade nas respostas observadas

Tabela 2 — Porcentagem de inibição do crescimento celular e desvio padrão da média em linhagens tumorais após tratamento com os compostos na concentração de 25 µg/mL.

	NCI-H292		HL60		K562		HCT116	
Compostos	%inibição	Desvio	%inibição	Desvio	%inibição	Desvio	%inibição	Desvio
JC01	17,8	8,4	42,8	15,4	45,4	14,3	36,4	13,4
JC03	93,8	4,1	85,3	7,5	89,7	5,4	95,3	2,5
Doxorrubicina	90,3	5,2	92,5	0,3	89,7	1,7	79,4	6,1

O composto híbrido JC03, na concentração de 25 µg/mL, demonstrou uma notável eficácia inibitória no crescimento celular da linhagem NCI-H292, atingindo

uma porcentagem de inibição de 93,8%, evidenciando um resultado similar ao grupo controle. O composto JC01 teve pouca atividade nessa linhagem, tendo 17,8% de inibição

Na linhagem HL60, o composto JC03 apresentou uma porcentagem de inibição de 85,3%, indicando uma eficácia inferior em comparação com a linhagem NCI-H292 porém manteve proximidade com os resultados obtidos nas células tratadas com o grupo controle. Enquanto que a JC01 apresentou a menor inibição dentre os três compostos, em especial nessa linhagem, apresentando 42,8% de inibição

Na linhagem K562, o composto JC03 demonstrou uma porcentagem de inibição de 89,7% sugerindo eficácia antitumoral notável e consistência moderada, se igualando novamente com os resultados obtidos no grupo controle. O composto JC01 apresentou inibição de 45,4%

Na linhagem HCT116, o composto JC03 destacou-se com uma elevada porcentagem de inibição de 95,3%, evidenciando a maior eficácia entre todas as linhagens testadas, indicando uma atividade antitumoral potente, superando os resultados da doxorrubicina, um composto já usada na clínica. Nessas linhagens o JC01 teve taxa de inibição de 36,4%, sendo a menor atividade antitumoral dele dentre as linhagens testadas

Considerando a média geral da inibição de crescimento celular com a concentração de 25 µg/mL, JC03 se mostrou um composto mais eficaz do que a JC01. Por esse motivo, o composto JC03 foi escolhido para realizar a IC50 no painel das quatro linhagens de células tumorais

Tabela 3 — Efeito Citotóxico em linhagens de células tumorais. A concentração que causa 50% de inibição do crescimento 50% (IC50) e intervalo de confiança (IC) das amostras nas quatro linhagens tumorais e seu intervalo de confiança em µg/mL.

Compostos	NCI-H292	HL60	K562	HCT116
JC03	1,16 (0.8 - 1.6)	3,6 (1.7 - 7.3)	2,7 (1.1 - 6.8)	2,0 (1.8 - 2.3)
Doxorrubicina	0,2 (0.1 - 0.5)	0,23 (0.18 - 0.32)	1.1 (0.8 - 1.5)	0.7 (0.5 - 0.9)

O composto JC03 exige uma concentração de 1,16 µg/mL para alcançar 50% de inibição em NCI-H292, de todas as células testadas, foi nessa linhagem que o composto híbrido teve uma maior taxa de inibição, com valores mais próximos ao controle positivo.

Para a linhagem HL60, a JC03 apresenta uma IC50 de 3,6 µg/mL, sendo essa a linhagem que precisou de mais concentração do composto para ter inibição celular de 50%. Porém, se comparado a IC50 de 5.4 de um estudo onde foi utilizado um análogo de massoilactona, JC03 demonstrou inibição superior quando se fala dessa linhagem (Barros *et al.*, 2014).

JC03 exige uma concentração de 2,7 µg/mL para 50% de inibição em K562. O mesmo análogo da massoilactona 10d do estudo de Barros citado anteriormente, obteve IC50 de 2.9 (Barros *et al.*, 2014). A JC03 parecendo ser ligeiramente mais potente do que a massoilactona, já que possui um IC50 ligeiramente menor, levando a considerar que poderia ser mais eficaz em doses ligeiramente menores ou em condições onde a eficácia na inibição celular é crucial.

Levando em consideração a IC50, a linhagem HCT116 foi a que se destacou como a mais sensível ao composto JC03, atingindo uma porcentagem de inibição de 95,3% com uma IC50 de 2,0 µg/mL, o segundo menor valor de IC50 apresentado, levando em conta as quatro linhagens tumorais testadas.

A maior atividade da molécula JC03 em relação a JC01 em determinadas linhagens de câncer pode ser analisada em profundidade ao considerar várias facetas da química orgânica, bioquímica e farmacologia.

Na molécula JC01 ambos os grupos hidroxila do anel lactônico estão protegidos como ésteres de acetato (AcO). Os grupos acetato são volumosos e apolares, o que reduz a polaridade da molécula e diminui sua capacidade de formar ligações de hidrogênio com alvos biológicos (enzimas ou proteínas). Além disso, a proteção com grupos acetato torna as hidroxilas menos reativas, o que pode afetar a capacidade da molécula de interagir com os componentes celulares

Na JC03 um dos grupos acetatos foi removido, deixando um grupo hidroxila (OH) livre. Esse grupo é polar e pode formar pontes de hidrogênio, o que pode aumentar a afinidade das moléculas com alvos biológicos que possuem grupos funcionais complementares como carbonilas, amidas ou outras hidroxilas. Essa diferença estrutural pode resultar em uma maior reatividade e capacidade de ligação da JC03 com proteínas ou outras biomoléculas, facilitando sua interação com componentes celulares específicos, como proteínas reguladoras do ciclo celular ou DNA

As proteínas no corpo humano (incluindo aquelas nas células cancerígenas) frequentemente possuem sítios ativos que dependem de interações com moléculas pequenas, como inibidores ou moduladores, através de ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e outras forças intermoleculares. A presença de um grupo hidroxila na JC03 permite que ela forme ligações de hidrogênio com resíduos de aminoácidos nos sítios de uma proteína-alvo, potencialmente aumentando a afinidade e a especificidade da interação.

Moléculas que afetam o ciclo celular, como muitos agentes anticancerígenos, geralmente precisam interagir com proteínas-chave, como quinases que controlam o avanço do ciclo celular. A estrutura da JC03 pode permitir uma inibição mais eficaz dessas quinases ao se ligar de maneira mais robusta ao sítio ativo ou ao interferir na sua capacidade de fosforilar substratos

A presença de grupos acetato, como na JC01, pode reduzir a solubilidade em água e dificultar a passagem da molécula através da membrana celular, que é uma barreira lipídica. A JC03, com um grupo hidroxila exposto, pode ter uma solubilidade ligeiramente maior em água e também pode ser melhor reconhecida por transportadores celulares específicos, facilitando sua entrada na célula. Em

alguns casos, a atividade de uma molécula pode depender de sua metabolização dentro da célula. A JC03, por ter um grupo OH livre, pode ser mais metabolizada por enzimas celulares, o que pode ativá-las ou transformá-las em uma forma ainda mais reativa ou eficaz contra o câncer

A JC03 pode ser mais eficaz porque seu perfil de ligação a proteínas é diferente de JC01, permitindo que ela ataque uma gama diferente de proteínas ou alvo celulares, possivelmente aquelas mais críticas para a sobrevivência das células cancerígenas. A JC01, com ambos os grupos acetato, pode não ser tão específica ou eficaz em se ligar a esses alvos, resultando em uma menor citotoxicidade.

Células cancerosas frequentemente desenvolvem resistência a tratamentos ao modificar ou inativar as moléculas terapêuticas antes que elas possam agir. JC03 sendo estruturalmente diferente da JC01, pode ser menos suscetível a essas formas de resistência, permitindo uma maior eficácia em linhagens celulares resistentes

O grupo hidroxila da JC03 pode alterar o potencial de óxido/redução da molécula (Wang; Zhang, 2018), influenciando sua capacidade de participar em reações redox intracelulares, que são importantes no controle da apoptose e na manutenção da homeostase celular. As lactonas α,β -insaturadas, como as presentes em JC01 e JC03, são conhecidas por participar de reações de adição nucleofílica em Michael, onde um nucleófilo ataca a dupla ligação conjugada (Mather *et al.*, 2006). A presença do grupo OH livre na JC03 pode alterar a eletronegatividade da molécula e sua suscetibilidade a ataques nucleofílicos, possivelmente influenciando as interações com alvos biológicos

6 CONCLUSÃO

A partir de tal investigação, JC03, a 25 $\mu\text{g/mL}$, inibiu NCI-H292 em 93,8%, tendo a segunda menor IC50 do composto nas linhagens testadas. JC03 se destacou especialmente na linhagem da HCT-116, com 95,3% de inibição, superando a doxorrubicina (79,4%), fármaco já utilizado nas clínicas,

apresentando também a menor IC50 do composto, demonstrando ser a linhagem testada mais sensível ao mecanismo de ação do composto. JC01 teve menor desempenho em todas as outras linhagens comparadas ao valor da JC03, porém com valores constantes, salvo na linhagem de NCI-H292 onde teve pouca atividade tendo 17,8% de inibição

A maior atividade da molécula JC03 em relação a JC01 em certas linhagens de câncer pode ser atribuída a remoção do grupo acetato, que expõe o grupo hidroxila livre, aumentando a reatividade química, a solubilidade, e a capacidade de formar ligações de hidrogênio. Essas mudanças estruturais tornam a JC032 potencialmente mais eficaz em interagir com proteínas e outras moléculas biológicas dentro das células cancerígenas, resultando em uma maior citotoxicidade e eficácia terapêutica. Essas diferenças destacam a importância de pequenas alterações estruturais na modulação da atividade biológica de compostos anticancerígenos para melhor aproveitamento

Para melhorar e impulsionar a atividade da molécula JC01 em linhagens cancerígenas, seria interessante realizar combinações de modificações químicas para expor ou alterar grupos funcionais, o uso de sistemas avançados de entrega da molécula, e a combinação com outros tratamentos para maximizar a sua eficácia. Cada uma dessas abordagens deve ser testada experimentalmente para avaliar seu impacto na citotoxicidade e eficácia em diferentes linhagens de células cancerígenas

Porém, embora o composto JC03 tenha demonstrado um maior potencial antitumoral, é importante considerar a eficácia em diferentes linhagens e as concentrações necessárias para a inibição celular. Para uma compreensão mais abrangente dos efeitos citotóxicos do composto híbrido JC03, seria interessante realizar outros estudos de ensaios de citotoxicidade (como o ensaio de LDH, clonogênico, apoptose, citometria de fluxo e expressão gênica) do composto nas linhagens tumorais já testadas e também adicionar novas linhagens aos painéis de estudo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais**. Scielo Books, 2011. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/xf7vy/pdf/almeida-9788523212162>. Acesso em: dez. 2023.
- AMES, B. N.; GOLD, L. S.; WILLETT, W. C. **The causes and prevention of cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences**, 6 jun. 1995. v. 92, n. 12, p. 5258–5265.
- ANAND, P. et al. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. **Pharmaceutical Research**, 15 jul. 2008. v. 25, n. 9, p. 2097–2116.
- AWUCHI, C. Medicinal Plants: the Medical, Food, and Nutritional Biochemistry and Uses. *International Journal of Advanced Academic Research | Sciences, Technology and Engineering*, nov. 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Chinaza.Awuchi/publication/337649086_Medicinal_Plants_the_Medical_Food_and_Nutritional_Biochemistry_and_Uses. Acesso em: dez. 2023.
- AYATI, A.; EMAMI, S.; FOROUMADI, A. The Importance of Triazole Scaffold in the Development of Anticonvulsant Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 15 fev. 2016. v. 109, p. 380–392. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523416300095>. Acesso em: 21 nov. 2021.
- BATAILLE, P.; REYNARD, A.; DUCARME, G. Spontaneous heterotopic triplets – A review of literature. **Journal of gynecology obstetrics and human reproduction**, 2017. v. 46, n. 8, p. 657–659.
- BERNER, F. *et al.* Association of Checkpoint Inhibitor-Induced Toxic Effects With Shared Cancer and Tissue Antigens in Non-Small Cell Lung Cancer. **JAMA oncology**, 1 jul. 2019. v. 5, n. 7, p. 1043–1047. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31021392/>. Acesso em: 16 jan. 2022.
- BRUNET, J.-F. *et al.* A new member of the immunoglobulin superfamily—CTLA-4. **Nature**, jul. 1987. v. 328, n. 6127, p. 267–270.
- CARMONA, D. *et al.* Antiprotozoal 6-Substituted-5,6-Dihydro-a-Pyrones from *Raimondia CF. Monoica*. **Natural Product Research**, 1 ago. 2003. v. 17, n. 4, p. 275–280. Acesso em: 27 fev. 2024.
- CERAMI, E. *et al.* The cBio Cancer Genomics Portal: An Open Platform for Exploring Multidimensional Cancer Genomics Data. **Cancer Discovery**, maio. 2012. v. 2, n. 5, p. 401–404.

CHOUDHARY, S. *et al.* Success Stories of Natural product-based Hybrid Molecules for multi-factorial Diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, maio. 2018. v. 151, p. 62–97. Acesso em: 20 mar. 2022.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, jun. 2013. v. 1830, n. 6, p. 3670–3695.

DELOU, J. M. A. *et al.* Highlights in Resistance Mechanism Pathways for Combination Therapy. **Cells**, 30 ago. 2019. v. 8, n. 9. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6770082/#app1-cells-08-01013>>.

DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, P. Natural products for cancer chemotherapy. **Microbial Biotechnology**, 18 nov. 2010. v. 4, n. 6, p. 687–699. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3815406>.

DENG, X.; SUN, H.; BAHAA G.M. YOUSSEF. Editorial: Pharmaceutical Insights into the triazoles: Recent Advances. **Frontiers in Chemistry**, 1 fev. 2023. v. 11. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9929530/>>. Acesso em: 1º dez. 2023.

DERELANKO, M. J. **Handbook of toxicology**, second edition, 2001. 2. ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

DEVITA, V. T.; LAWRENCE, T. S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer : principles and practice of oncology**, 2008. Philadelphia, Pa.: **Lippincott Williams And Wilkins**.

DONG, H. *et al.* B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. **Nature Medicine**, dez. 1999. v. 5, n. 12, p. 1365–1369.

DONG, H. *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. **Nature Medicine**, 24 jun. 2002. v. 8, n. 8, p. 793–800.

DORAI, T.; AGGARWAL, B. B. **Role of chemopreventive agents in cancer therapy**. **Cancer Letters**, nov. 2004. v. 215, n. 2, p. 129–140.

FALZONE, L.; SALOMONE, S.; LIBRA, M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. **Frontiers in Pharmacology**, 13 nov. 2018. v. 9. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01300/full>>.

FIRMO, W. D. *et al.* Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais, 2011. **Caderno De Pesquisa**.

FREED-PASTOR, W. A.; PRIVES, C. Mutant p53: one name, many proteins. **Genes & Development**, 15 jun. 2012. v. 26, n. 12, p. 1268–1286.

FREEMAN, G. J. *et al.* Engagement of the Pd-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation. **The Journal of Experimental Medicine**, 2 out. 2000. v. 192, n. 7, p. 1027–1034.

HAANEN, J. B. A. G.; ROBERT, C. Immune Checkpoint Inhibitors. **Progress in Tumor Research**, 2015. v. 42, p. 55–66.

HAGEN, S.; J.V.N. VARA PRASAD; TAIT, B. D. Nonpeptide inhibitors of HIV protease. **Advances in medicinal chemistry**, 1 jan. 2000. p. 159–195. Acesso em: 27 fev. 2024.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, 7 jan. 2000. v. 100, n. 1, p. 57–70. Disponível em: <[https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(00\)81683-9](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(00)81683-9)>.

HERNÁNDEZ-VELÁZQUEZ, E. D. *et al.* Metformin, a Biological and Synthetic Overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, abr. 2023. v. 86, p. 129241.

HUANG, M.-Y. *et al.* Anticancer drug discovery from Chinese medicinal herbs. **Chinese Medicine**, 4 jul. 2018. v. 13, n. 1.

Iranzo, J., Martincorena, I., & Koonin, E. V. (2018). Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 115, E6010–E6019.

ISHIDA, Y. *et al.* Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. **The EMBO Journal**, nov. 1992. v. 11, n. 11, p. 3887–3895.

JAN, R.; CHAUDHRY, G.-E.-S. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. **Advanced pharmaceutical bulletin**, 2019. v. 9, n. 2, p. 205–218.

JAN, R.; CHAUDHRY, G.-S. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 1 jun. 2019. v. 9, n. 2, p. 205–218. Disponível em: <<https://apb.tbzmed.ac.ir/Article/apb-23014>>.

JGARIGLIO, C. Oncogenes and tumor suppressor genes. Em: *Molecular Oncology Principles and Recent Advances*. Camacho J. [s.l.] **Bentham Science Publishing**, 2012. p. 64–82.

- JOHNSTON, C. W. et al. Informatic search strategies to discover analogues and variants of natural product archetypes. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, 1 mar. 2016. v. 43, n. 2-3, p. 293–298. Acesso em: 17 dez. 2023.
- JÜTTE, R. et al. Herbal medicinal products - Evidence and tradition from a historical perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, 31 jul. 2017. v. 207, p. 220–225. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28668645/>>. Acesso em: 17 fev. 2022.
- KANCHI, K. L. et al. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer. **Nature Communications**, 22 jan. 2014. v. 5, n. 1.
- KIM, Y.-H.; SENGUPTA, S.; SIM, T. Natural and Synthetic Lactones Possessing Antitumor Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, 21 jan. 2021. v. 22, n. 3, p. 1052–1052. Acesso em: 17 dez. 2023.
- KLINAKIS, A. et al. *Myc* is a Notch1 transcriptional target and a requisite for Notch1-induced mammary tumorigenesis in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 2006. v. 103, n. 24, p. 9262–9267.
- KOSZELEWSKI, D. et al. Synthesis of Enantiomerically Pure 5,6-Dihydropyran-2-ones via Chemoenzymatic Sequential DKR-RCM Reaction. **European Journal of Organic Chemistry**, 16 jan. 2019. v. 2019, n. 7, p. 1653–1658. Acesso em: 14 set. 2022.
- KRUMMEL, M. F.; ALLISON, J. P. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. **The Journal of Experimental Medicine**, 1 ago. 1995. v. 182, n. 2, p. 459–465.
- KUMAR, D. et al. Synthesis of Novel Indolyl-1,2,4-triazoles as Potent and Selective Anticancer Agents. **Chemical Biology; Drug Design**, 19 jan. 2011. v. 77, n. 3, p. 182–188. Acesso em: 16 fev. 2020.
- KUREBAYASHI, J. Biological and clinical significance of her2 overexpression in Breast Cancer. **Breast cancer (Tokyo, Japan)**, 2001. v. 8, n. 1, p. 45–51.
- LEACH, D. R.; KRUMMEL, M. F.; ALLISON, J. P. Enhancement of Antitumor Immunity by CTLA-4 Blockade. **Science**, 22 mar. 1996. v. 271, n. 5256, p. 1734–1736. Disponível em: <<https://science.sciencemag.org/content/271/5256/1734>>.
- LEE, S.-M. et al. Synthesis and biological evaluation of α,β -unsaturated lactones as potent immunosuppressive agents. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, out. 2011. v. 21, n. 19, p. 5726–5729. Acesso em: 5 out. 2022.

LEE, S.-M. *et al.* Synthesis and biological evaluation of α,β -unsaturated lactones as potent immunosuppressive agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, out. 2011. v. 21, n. 19, p. 5726–5729.

MARIA E.S.B. BARROS *et al.* Synthesis and evaluation of (-)-Massoialactone and analogues as potential anticancer and anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 1 abr. 2014. v. 76, p. 291–300. Acesso em: 17 dez. 2023.

MEEKS, H. D. *et al.* BRCA2 Polymorphic Stop Codon K3326X and the Risk of Breast, Prostate, and Ovarian Cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, 2015. v. 108, n. 2, p. djv315. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26586665>;. Acesso em: 18 nov. 2019.

MEHTA, G.; SINGH, V. Hybrid Systems through Natural Product leads: an Approach Towards New Molecular Entities. **Chemical Society Reviews**, 3 out. 2002. v. 31, n. 6, p. 324–334. Acesso em: 5 jul. 2020.

MELIS ŞARDAN *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Optically Active Conjugated γ - and δ -lactone Derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 1 set. 2012. v. 22, n. 18, p. 5814–5818.

MILITÃO, G. C. G.; DANTAS, I. N. F.; FERREIRA, P. M. P.; ALVES, A. P. N. N.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTALOFUTO, L. V. In vitro and in vivo anticancer properties of cucurbitacin isolated from *Cayaponia racemosa*. **Pharmaceutical Biology**, 2012. v. 50, p. 1479-1787.

MILITÃO, G. C. G.; PRADO, M. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; VELOSO, P. A.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MACHADO, S. G. M. Pterocarpanes induce tumor cell death through persistent mitotic arrest during prometaphase. **Biochimie (Paris. Print)**, 2014. v. 14, p. 148.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, 16 dez. 1983. v. 65, n. 1-2, p. 55–63.

NAIDOO, J.; PAGE, D. B.; WOLCHOK, J. D. Immune Checkpoint Blockade. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, jun. 2014. v. 28, n. 3, p. 585–600. Acesso em: 1º maio 2022.

Natural Products for Treating Colorectal cancer: a Mechanistic Review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 1 set. 2019. v. 117, p. 109142. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332219309072#bib0200>>.

NENCLARES, P.; HARRINGTON, K. J. The biology of cancer. **Medicine**, 1 fev. 2020. v. 48, n. 2, p. 67–72. Disponível em:
[https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039\(19\)30287-7/fulltext](https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039(19)30287-7/fulltext).

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, 12 mar.2020. v. 83, n. 3.

NICOLAOU, K. C. et al. The Art and Science of Total Synthesis at the Dawn of the Twenty-First Century. **Angewandte Chemie International Edition**, 2000. v. 39 (1), n. 44-122.

O que é câncer? Instituto Nacional de Câncer - INCA, 31 maio. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>.

PAN, S.-T. *et al.* Molecular mechanisms for tumour resistance to chemotherapy. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 4 jul. 2016. v. 43, n. 8, p. 723–737.

RAIMO ALÉN. **Carbohydrate Chemistry**, 2018: World Scientific Publishing Company.

RECK, M. *et al.* Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. **New England Journal of Medicine**, 10 nov. 2016. v. 375, n. 19, p. 1823–1833. Disponível em:
<<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1606774>>.

REDDY, Y. N. *et al.* Chemoenzymatic Total Synthesis of Cryptocaryalactone Natural Products. **Tetrahedron Letters**, jan. 2018. v. 59, n. 2, p. 160–162. Acesso em: 26 jul. 2020.

Reis AP, Machado JAN. Imunoterapia no câncer - inibidores do checkpoint imunológico. *Arq Asma Alerg Imunol.* 2020;4(1):72-77

Roy, P. S., & Saikia, B. J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. **Indian Journal of Cancer**, 53, 441–442.

SAI KIRAN SHARMA *et al.* Fc-Mediated Anomalous Biodistribution of Therapeutic Antibodies in Immunodeficient Mouse Models. **Cancer Research**, 1 abr. 2018. v. 78, n. 7, p. 1820–1832. Acesso em: 27 out. 2023.

SALMA, U. *et al.* A Review: Synthetic Approaches and Biological Applications of Triazole Derivatives. **Journal of Molecular Structure**, 1 abr. 2024. v. 1301, p. 137240–137240. Acesso em: 2 mar. 2024.

SARTORI, S. K.; DIAZ, M. A. N.; DIAZ-MUÑOZ, G. Lactones: Classification, synthesis, biological activities, and industrial applications. **Tetrahedron**, 26 mar. 2021. v. 84, p. 132001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402021001009>>.

SCHMIDT, T. J. *et al.* Helenanolide type sesquiterpene lactones. Part 5: The role of glutathione addition under physiological conditions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, dez. 1999. v. 7, n. 12, p. 2849–2855. Acesso em: 30 jan. 2020.

SEEMAN, J. I. R. B. Woodward: a Larger-than-Life Chemistry Rock Star. **Angewandte Chemie**, 14 ago. 2017. v. 56, n. 34, p. 10228–10245. Acesso em: 21 abr. 2023.

SEUKEP, A. J.; KUETE, V. Established anticancer agents from plants. **Advances in Botanical Research**, 1 jan. 2024. Acesso em: 24 fev. 2024.

SIBAUD, V. Dermatologic Reactions to Immune Checkpoint Inhibitors. **American Journal of Clinical Dermatology**, 18 dez. 2017. v. 19, n. 3, p. 345–361. Acesso em: 23 jan. 2021.

SONG, M.-X.; DENG, X.-Q. Recent developments on triazole nucleus in anticonvulsant compounds: a review. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 1 jan. 2018. v. 33, n. 1, p. 453–478

SOUZA, L. M.; CARVALHO, J. L.; GOIS, R. W. S.; SILVA, H. C.; SANTIAGO, G. M. P. S.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; ALVES, P. B.; MATOS, I. L.; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, P. B. N.; SILVA, T. G. **Rec. Nat. Prod.** 10:3 341-348, 2016.

SUMRRA, S. H. *et al.* A Review on the Efficacy and Medicinal Applications of metal-based Triazole Derivatives. **Journal of Coordination Chemistry**, 28 out. 2020. v. 73, n. 20-22, p. 2838–2877.

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: **GLOBOCAN** Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 4 fev. 2021. v. 71, n. 3, p. 209–249. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>.

SYLVESTER, P. W. Optimization of the Tetrazolium Dye (MTT) Colorimetric Assay for Cellular Growth and Viability. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, 1 jan. 2011. v. 716, p. 157–168. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21318905/>>.

SZUMILAK, M.; WIKTOROWSKA-OWCZAREK, A.; STANCZAK, A. Hybrid Drugs—A Strategy for Overcoming Anticancer Drug Resistance? **Molecules**, 29 abr. 2021. v. 26, n. 9, p. 2601. Acesso em: 18 maio 2021.

TABEL, P.; DIGIOVANNI, E. L. Multistage carcinogenesis. Em: PENNING, T. (Ed.). **Chemical Carcinogenesis**. Current Cancer Research. [s.l.] Humana Press, 2011. p. 27–51.

TAKAMURA, H. Recent Topics of the Stereodivergent Synthesis of Natural Products. **Tetrahedron Letters**, 10 fev. 2018. v. 59, n. 11, p. 955–966. Acesso em: 4 jun. 2023.

TOPALIAN, S. L.; DRAKE, C. G.; PARDOLL, D. M. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. **Current Opinion in Immunology**, abr. 2012. v. 24, n. 2, p. 207–212.

TRAN, K. B. et al. The global burden of cancer attributable to risk factors, 2010–19: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, ago. 2022. v. 400, n. 10352, p. 563–591.

WHITING, M. et al. Rapid Discovery and Structure–Activity Profiling of Novel Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Enabled by the Copper(I)-Catalyzed Synthesis of 1,2,3-Triazoles and Their Further Functionalization. **Journal of Medicinal Chemistry**, 30 nov. 2006. v. 49, n. 26, p. 7697–7710. Acesso em: 12 abr. 2023

WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Diet, nutrition, physical activity and cancer : a global perspective : a summary of the Third expert report. London: **World Cancer Research Fund International**, 2018.

XIAO, Z.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LEE, K.-H. Strategies for the Optimization of Natural Leads to Anticancer Drugs or Drug Candidates. **Medicinal research reviews**, 1 jan. 2016. v. 36, n. 1, p. 32–91. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4679534/>>.

YEO, C. J. Tumor suppressor genes: A short review. **Surgery**, abr. 1999. v. 125, n. 4, p. 363–366. Acesso em: 13 abr. 2020.

ZHANG, L. et al. The strategies and techniques of drug discovery from natural products. **Pharmacology Therapeutics**, dez. 2020. v. 216, p. 107686.

Zhu, K., Liu, Q., Zhou, Y., Tao, C., Zhao, Z., Sun, J., & Xu, H. (2015). Oncogenes and tumor suppressor genes: Comparative genomics and network perspectives. **BMC Genomics**, 16(Suppl. 7), S8.