



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E  
BIOQUÍMICA**

***Avaliação In Vitro e In Silico* de um Complexo de Cobre com  
Potencial Anticâncer: De Docking Molecular à Morte Celular  
Programada**

**Aluno:** Ana Paula Campos Faria

**Orientador:** Robson José de Oliveira Júnior

**UBERLÂNDIA - MG**

**2025**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E  
BIOQUÍMICA**

***Avaliação In Vitro e In Silico* de um Complexo de Cobre com  
Potencial Anticâncer: De Docking Molecular à Morte Celular  
Programada**

**Aluno:** Ana Paula Campos Faria

**Orientador:** Robson José de Oliveira Júnior

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de  
Uberlândia como parte dos  
requisitos para obtenção do  
Título de Mestre em Genética  
e Bioquímica.

**UBERLÂNDIA - MG**

**2025**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F224  
2025

Faria, Ana Paula Campos, 1991-  
Avaliação In Vitro e In Silico de um Complexo de Cobre com  
Potencial Anticâncer: De Docking Molecular à Morte Celular  
Programada [recurso eletrônico] / Ana Paula Campos Faria. - 2025.

Orientador: Robson José de Oliveira Júnior.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Pós-graduação em Genética e Bioquímica.  
Modo de acesso: Internet.  
DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.483>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Genética. I. Oliveira Júnior, Robson José de ,1984-, (Orient.).  
II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em  
Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 575

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

## Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica

Av. Pará 1720, Bloco 2E, Sala 244 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
Telefone: +55 (34) 3225-8438 - www.ppggb.ibtec.ufu.br - ppggb@ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Genética e Bioquímica				
Defesa de:	Mestrado Acadêmico - PPGGB.				
Data:	Trinta e um de julho de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	09:00h	Hora de encerramento:	09:30h
Matrícula do Discente:	12222GBI001				
Nome do Discente:	Ana Paula Campos Faria				
Título do Trabalho:	Avaliação <i>In Vitro</i> e <i>In Silico</i> de um Complexo de Cobre com Potencial Anticâncer: De Docking Molecular à Morte Celular Programada				
Área de concentração:	Genética				
Linha de pesquisa:	Biologia Molecular e Celular.				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estratégia nanotecnológica para o preparo de carreadores lipídicos nanoestruturados funcionalizados com peptídeos ligantes de células tumorais que direcionam a entrega de Complexos de Cobre (II) bioativos.				

Aos trinta e um dias do mês de julho de dois mil e vinte e cinco, às 09:00h, reuniu-se via web conferência pela Plataforma *Cisco Webex*, em conformidade com a Portaria nº 36, de 19 de março de 2020 da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Resolução de nº 06/2020 do Conselho de Pesquisa e Pós-graduação pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, assim composta: Professores Doutores: Robson José de Oliveira Júnior (Presidente/Orientador), Pedro Henrique Alves Machado e Ana Maria Bonetti. A participação dos dois últimos se deu por epístola. Iniciando os trabalhos o (a) presidente Dr (a). Robson José de Oliveira Júnior apresentou a Comissão Examinadora e o candidato (a), agradeceu a presença dos participantes, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o senhor (a) presidente procedeu a leitura das epístolas enviadas pelos membros da banca. Em seguida os membros presentes, passaram a arguir o (a) candidato(a). Ultimada a leitura das epístolas e a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o (a) candidato(a):

( A ) PROVADO.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após

cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU. Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Robson José de Oliveira Junior, Presidente**, em 31/07/2025, às 10:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Maria Bonetti, Professor(a) do Magistério Superior**, em 31/07/2025, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pedro Henrique Alves Machado, Usuário Externo**, em 31/07/2025, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6493522** e o código CRC **38135CAB**.

**“O começo de todas as ciências é o espanto  
de as coisas serem o que são”. (Aristóteles)**

**Dedico este trabalho à Deus, ao meu esposo Alessandro,  
meus filhos Samuel e Raul, a toda minha família e amigos  
que não cessam de lutar junto a mim nessa caminhada...**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus, pelo infinito amor, pela infinita bondade, pela infinita misericórdia, pela infinita paciência comigo, para Ele, todo meu amor.

Gostaria de agradecer ao meu esposo Alessandro, pelo companheirismo, pelo incentivo, pela paciência nos dias mais atribulados, pelo amor dedicado a mim e aos nossos filhos.

Aos meus filhos, Samuel e Raul, pela paciência comigo em meus dias de maior impaciência para com eles, pelo amor, pela alegria e sentido da minha vida.

Aos meus pais, Lino e Teresa, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Aos meus irmãos, Léo e Ramon, pelo amor, pela amizade, pela parceria e apoio sempre.

À minha cunhada Ana Paula, pela amizade, pelo incentivo e apoio.

À toda minha família, pelo carinho e por todo amor.

Aos meus queridos amigos do trabalho, do Hospital Veterinário da UFU, que tanto me apoiaram e me ajudaram para a conclusão deste trabalho.

Aos meus queridos amigos do laboratório, especialmente, Clara e Mariana, que tanto me ajudaram nos experimentos.

Ao meu orientador Robson por ter aceito me orientar, pelos ensinamentos, pela paciência e bondade.

Agradeço ao apoio financeiro da UFU, CAPES, CNPq, Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais/FAPEMIG (APQ-00704-21 and APQ-01087-21), INCT-TERANANO, REMITRIBIC. O auxílio financeiro destas instituições e redes de pesquisa foram essenciais para a realização do trabalho.

À todo corpo docente da Universidade Federal de Uberlândia e à todos àqueles que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora que aceitaram o convite para avaliar este trabalho tão prestativamente.

Gratidão à todos!

## RESUMO

O câncer, uma das doenças mais temidas e evidentes do século, já é considerado um dos principais problemas de saúde pública impactando pessoas do mundo inteiro com elevado número de óbitos. Diante desta situação, faz-se necessário a busca constante por alternativas terapêuticas que sejam capazes de reduzir estes números aumentando a qualidade de vida das pessoas acometidas por esta doença. O tratamento mais comumente utilizado é a quimioterapia e após o sucesso da medicação cisplatina e seus derivados, moléculas à base de metal vêm sendo estudadas afim de encontrar uma possível nova medicação, com menos efeitos colaterais, mais segura e eficaz contra as neoplasias. O objetivo deste trabalho foi investigar a possível atividade citotóxica, em células humanas, do complexo de Cobre  $[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO_4)](ClO_4)$ , desvendando seu mecanismo de ação por meio dos testes *in vitro* de citotoxicidade, apoptose e necrose, análise da produção de espécies reativas de oxigênio e análise do ciclo celular. E também o teste *in silico* da docagem molecular. Os resultados obtidos revelaram que o metalocomplexo à base de cobre, é muito promissor, já que apresentou citotoxicidade frente as células tumorais, foi capaz de induzir apoptose tardia, induziu a produção de espécies reativas de oxigênio e proporcionou a diminuição crescimento celular e o aprisionamento de células nas fases G0-G1 do ciclo celular. Diante dos resultados promissores e da dificuldade de encontrar novas moléculas com atividade citotóxica, o composto  $[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO_4)](ClO_4)$  merece a continuação dos estudos para ajustar sua seletividade diante das células tumorais, consequentemente diminuindo os possíveis efeitos colaterais, podendo ser mais seguro e eficaz.

Palavras-chave: metalocomplexo, quimioterápicos, cobre, ROS, citotoxicidade



## ABSTRACT

Cancer, one of the most feared and evident diseases of the century. It is already considered one of the main public health problems, impacting people all over the world with a high number of deaths. Given this situation, it is necessary to constantly search for therapeutic alternatives that are capable of reducing these numbers, increasing the quality of life of people affected by this disease. The most commonly used treatment is chemotherapy, and after the success of the medication cisplatin and its derivatives, metal-based molecules have been studied in order to find a possible new medication with fewer side effects, safer and more effective against neoplasms. The objective of this work was to investigate the possible cytotoxic activity in human cells of the copper complex  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$ , unraveling its mechanism of action through in vitro tests of cytotoxicity, apoptosis and necrosis, analysis of the production of reactive oxygen species and analysis through the cell cycle. And also the in silico test of molecular docking. The results obtained revealed that the copper-based metallocomplex is very promising, since it showed cytotoxicity against tumor cells, was able to induce late apoptosis, induced the production of reactive oxygen species and provided a decrease in cell growth and cell trapping in the G0-G1 phases of the cell cycle. Given the promising results and the difficulty in finding new molecules with cytotoxic activity, the compound  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  deserves continued studies to adjust its selectivity towards tumor cells, consequently reducing possible side effects, and potentially being safer and more effective.

Keywords: metallocomplex, chemotherapeutic agents, copper, ROS, cytotoxicity

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1</b> - Taxa bruta por 100000 habitantes da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022 (GLOBOCAM, 2022) .....	3
<b>Figura 2</b> – Taxa bruta por 100000 habitantes da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022 por continente (GLOBOCAM, 2022) .....	4
<b>Figura 3</b> – Números absolutos da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022 por continente (GLOBOCAM, 2022) .....	5
<b>Figura 4</b> – Taxa de incidência de alguns tipos de câncer padronizada por idade em ambos os sexos no ano de 2022 na América Latina e Caribe em comparação com a Europa (GLOBOCAM, 2022) .....	6
<b>Figura 5</b> – Taxa de incidência de alguns tipos de câncer padronizada por idade no ano de 2022 comparando homens e mulheres (GLOBOCAM, 2022) .....	6
<b>Figura 6</b> – Estimativa do número de novos casos de 2022 até 2045 para ambos os sexos (GLOBOCAM, 2022) .....	7
<b>Figura 7</b> – Estrutura química do complexo ternário de cobre composto [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ).....	20
<b>Figura 8</b> – Representação da estrutura cristalina do complexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) utilizando o programa Ortep. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.....	21
<b>Figura 9</b> – Interação entre [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) e DNA com destaque ao encaixe, a. Interação entre [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) e DNA com destaque as cadeias de DNA, b. Ampliação da interação [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) e DNA com ênfase nas interações de contato, c. Ampliação da interação [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) e DNA com ênfase nas ligações de hidrogênio, d. ....	26
<b>Figura 10</b> – Gráfico de barras representativo das células tumorigênicas PC-3 tratadas com o metalocomplexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) nas concentrações 3µM, 6µM e 10µM. Os dados representam a média ± erro padrão. *	

p < 0,05. \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 e \*\*\*\* p < 0,0001 em comparação com o controle negativo por one-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.....30

**Figura 11** – Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação de espécies reativas de oxigênio com H2DCF-DA na linhagem tumorigênica PC-3. Os dados representam a média ± o erro padrão. \*\*\*\*equivalente a p< 0.0001 e, \*\*\* equivalente a p< 0.001e “ns” sendo não significante, comparando com o controle negativo por one-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.....33

**Figura 12** – Micrografia de epifluorescência, porcentagem de células PC-3 apoptóticas medidas por citometria de fluxo, sendo A: controle negativo; B: cisplatina; C: concentração de 3µM; D: concentração de 6µM; E:concentração de 10µM; F: formaldeído. Para o gráfico de barras, os dados são apresentados como média ± erro padrão. \* equivalente a p < 0,05, \*\*\*equivalente a p < 0,001, \*\*\*\* equivalente a p < 0,0001 e “ns” equivalente a não significativo, em comparação com o controle negativo por two-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.....34

**Tabela 1** – IC50 e Índice de seletividade (IS) do metalocomplexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) nas linhagens utilizadas..... 44

## LISTA DE ABREVIATURAS

143 B – Células de osteossarcoma humano

A549 - Células de câncer de pulmão

B16-F10 – Melanoma murino

[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) – Complexo de cobre (II) tiofeno 2-carbohidrazida 1,10 fenantrolina

C2C12- Mioblasto murino

DMEN – Meio Eagle modificado por Dulbecco

DNA – Ácido desoxirribonucleico

FEN ou PHEN – Fenantrolina

GLOBOCAN - Global Cancer Observatory

H2DCF-DA – 2,7 diacetato de diclorofluoresceína

HeLa – Tumor epitelial de colo de útero

HPV – Papiloma vírus humano

HT-29 - Células de câncer colorretal

IARC - Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer

IDH – Índice de desenvolvimento humano

IC50 – Dose de 50% da viabilidade celular

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IP ou PI– Iodeto de propídeo

IS – Índice de seletividade

K562 – Células de leucemia mieloide crônica

MCF-7 -Células do câncer de mama sensível a estrogênio

MDA-MB-231 – Células de tumor epitelial de mama

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

PC-3- Tumor epitelial de próstata

PNT-2 – Tecido epitelial de próstata

PSA – Antígeno prostático específico

RNase– Ribonuclease

ROS – Espécies reativas de oxigênio

RPMI 1640 – Roswell Park Memorial Institute

SFB – Soro fetal bovino

SHYD - tiofeno 2-carbohidrazida

SMMC-7721 – Hepatoma celular

SOBRAFO – Sociedade Brasileira de Farmacêuticos Oncologistas

SUS – Sistema Único de Saúde

TG180 – Sarcoma murino

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Epidemiologia do câncer.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Câncer: conceito, diagnóstico e tratamento.....</b>	<b>6</b>
1.2.1 Câncer de Mama .....	11
1.2.2 Câncer de Colo de Útero .....	12
1.2.3 Câncer de Próstata.....	14
<b>1.3 Compostos Metálicos.....</b>	<b>15</b>
1.3.1 Metalocomplexo à base de cobre.....	15
<b>1.4 Modelagem e docking molecular .....</b>	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo geral .....	17
2.2 Objetivos específicos .....	17
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>18</b>
3.1 Metalocomplexo .....	18
3.2 [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> ) – síntese e caracterização .....	18
3.3 <i>Docking</i> molecular e preparação dos ligantes.....	19
3.4 Cultura de células: manutenção das linhagens celulares .....	20
3.5 Ensaio de citotoxicidade Alamar Blue .....	20
3.6 Índice de seletividade (IS) .....	21
3.7 Ensaio de análise do ciclo celular .....	22
3.8 Ensaio para detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS) .....	22
3.9 Ensaio de apoptose e necrose .....	23
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
4.1 <i>Docking</i> Molecular .....	24
4.2 Ensaio de redução da resazurina .....	26
4.3 Ciclo celular .....	29
4.4 Formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) .....	32
4.5 Apoptose e Necrose .....	36
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>41</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epidemiologia do câncer

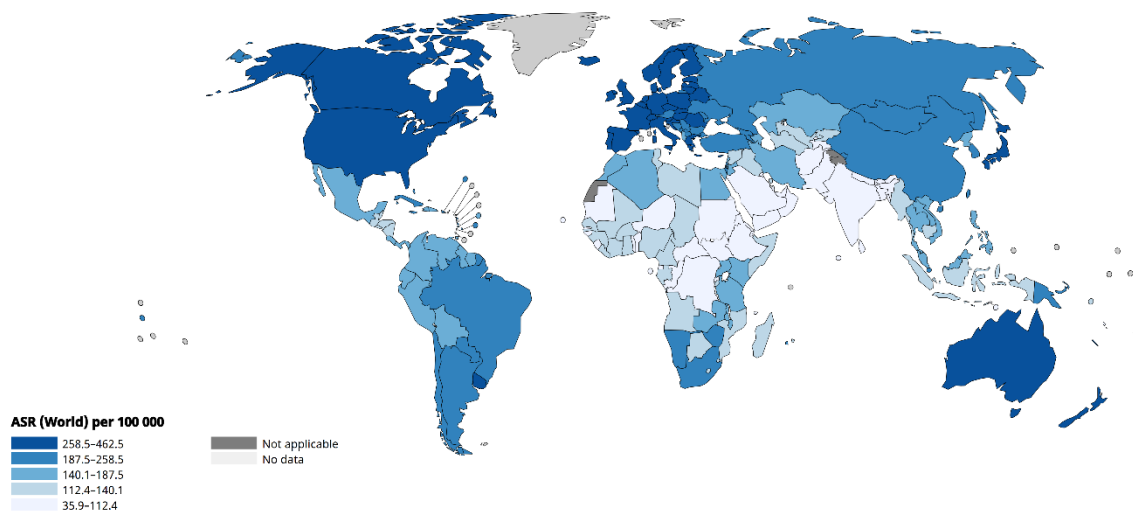
O câncer, uma das doenças mais temidas e evidentes do século, já é considerado um dos principais problemas de saúde pública no mundo e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e segundo a Agência Internacional de Investigação sobre o Câncer (IARC), em 2022, houveram registros de mais de 20 milhões de novos casos de câncer no mundo e 9,7 milhões de mortes (INCA, 2023). Estes números impactantes refletem como o câncer repercute bloqueando diretamente o aumento da expectativa de vida em todo o mundo, já que, na maioria dos países, o câncer corresponde à primeira ou segunda causa de morte prematura antes dos 70 anos (SUNG *et al.*, 2021). Além disso, segundo a OMS, 1 em cada 5 pessoas desenvolve câncer durante a vida, sendo que, aproximadamente 1 em 9 homens e 1 em 12 mulheres morrem da doença (INCA, 2023).

A alta incidência e mortalidade ocasionada pelo câncer impactam o cenário mundial no qual estamos vivendo. Estas taxas aumentadas revelam as principais transições pelas quais o mundo está passando, principalmente as demográficas, que mostram a dinâmica populacional humana. As transições epidemiológicas, que mostram a distribuição dos fenômenos de saúde e doença e seus fatores condicionantes ou determinantes, também revelam o efeito desta doença nos dias atuais (SUNG *et al.*, 2021; WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020). Demograficamente, nota-se uma redução nas taxas de mortalidade infantil e também de fertilidade e como resultado um aumento na população na proporção de idosos. Epidemiologicamente, nota-se a gradual substituição da mortalidade por doenças infecciosas pelas mortes relacionadas às doenças crônicas. A mudança destes padrões que afetam diretamente o comportamento, o ambiente e o próprio processo de envelhecimento do indivíduo, proporciona o aumento da incidência e mortalidade por câncer (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

Nas figuras 1 e 2, demonstradas logo abaixo, é possível observar as taxas brutas de incidência do câncer a nível mundial, sendo possível destacar os números absolutos de casos nos países e, para analisar é preciso levar em consideração a densidade populacional de cada país e as mudanças nos perfis demográficos e

epidemiológicos da população, principalmente nas regiões mais desenvolvidas como relatado no texto acima.

**Age-Standardized Rate (World) per 100 000, Incidence, Both sexes, in 2022**  
All cancers



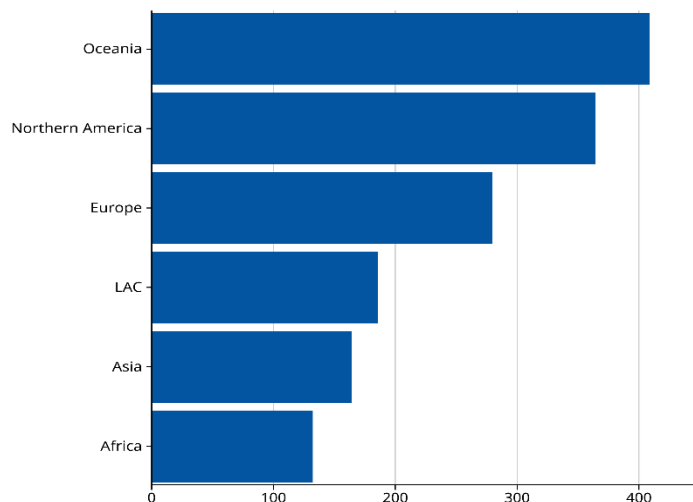
All rights reserved. The designations employed and the presentation of the material in this publication do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization / International Agency for Research on Cancer concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate borderlines for which there may not yet be full agreement.

**Cancer TODAY | IARC**  
<https://gco.iarc.fr/today>  
Data version: Globocan 2022 (version 1.1) - 08.02.2024  
© All Rights Reserved 2025

International Agency  
for Research on Cancer  
World Health  
Organization

**Figura 1.** Taxa bruta por 100000 habitantes da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022. As cores mais escuras mostram onde se concentram as maiores taxas. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-heatmap?mode=population>

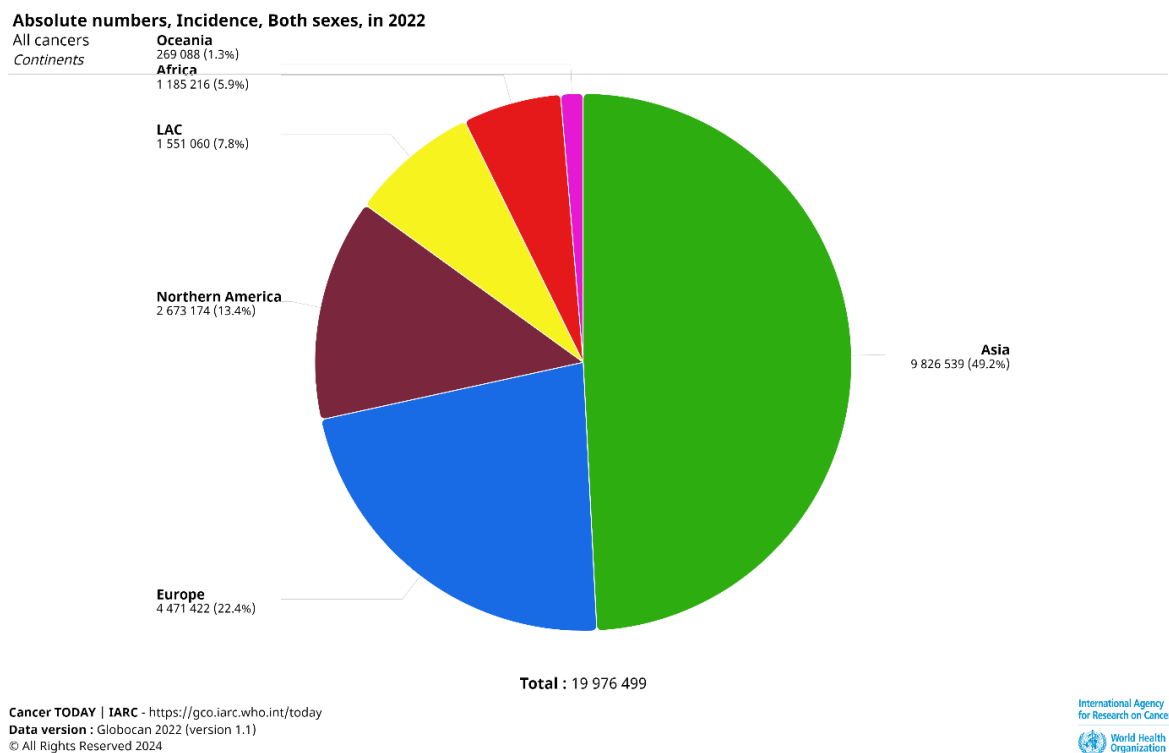
**Age-Standardized Rate (World) per 100000, Incidence, Both sexes, in 2022**



**Figura 2.** Taxa bruta por 100000 habitantes da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022 por continente. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/bars?mode=population>



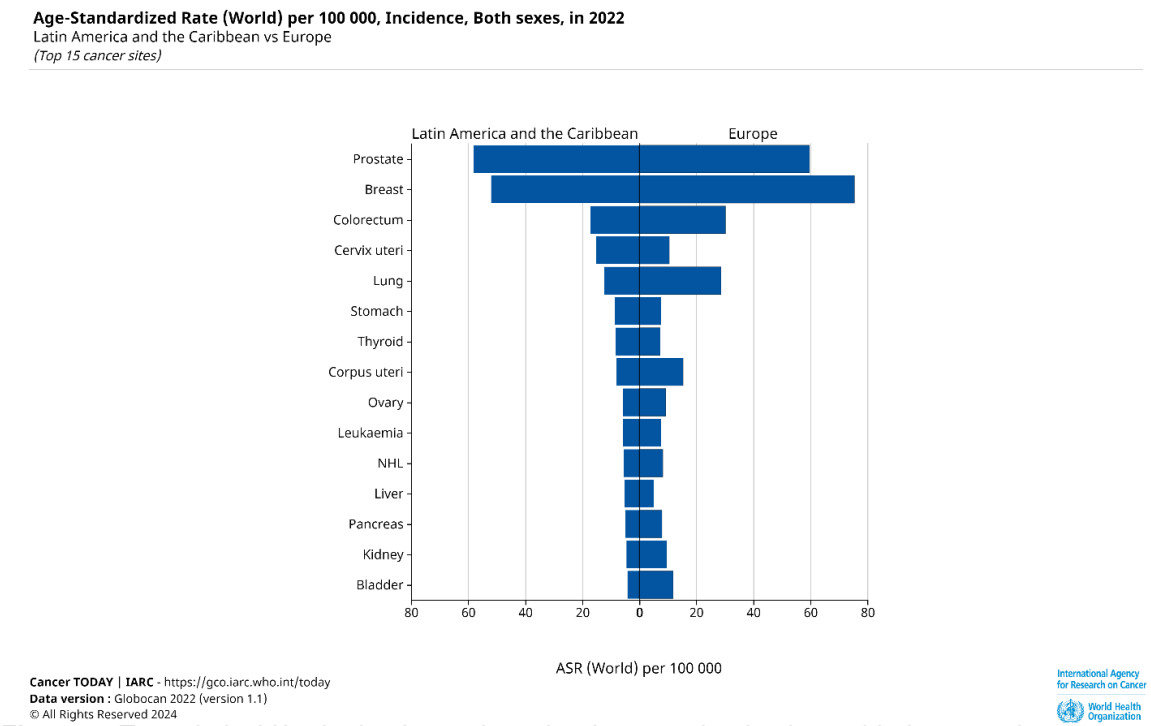
Nos países com alto índice de desenvolvimento humano (IDH), observa-se uma alta taxa de incidência e mortalidade devido aos casos de câncer, isso justificado pela alta densidade populacional e o impacto das ações mais efetivas de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento. Nos países com baixo e médio IDH, as taxas de incidência e mortalidade pelo câncer seguem aumentando ou mantendo-se estáveis, sendo necessário políticas públicas mais abrangentes para tornar mais efetiva a detecção e o controle do câncer (INCA, 2024).



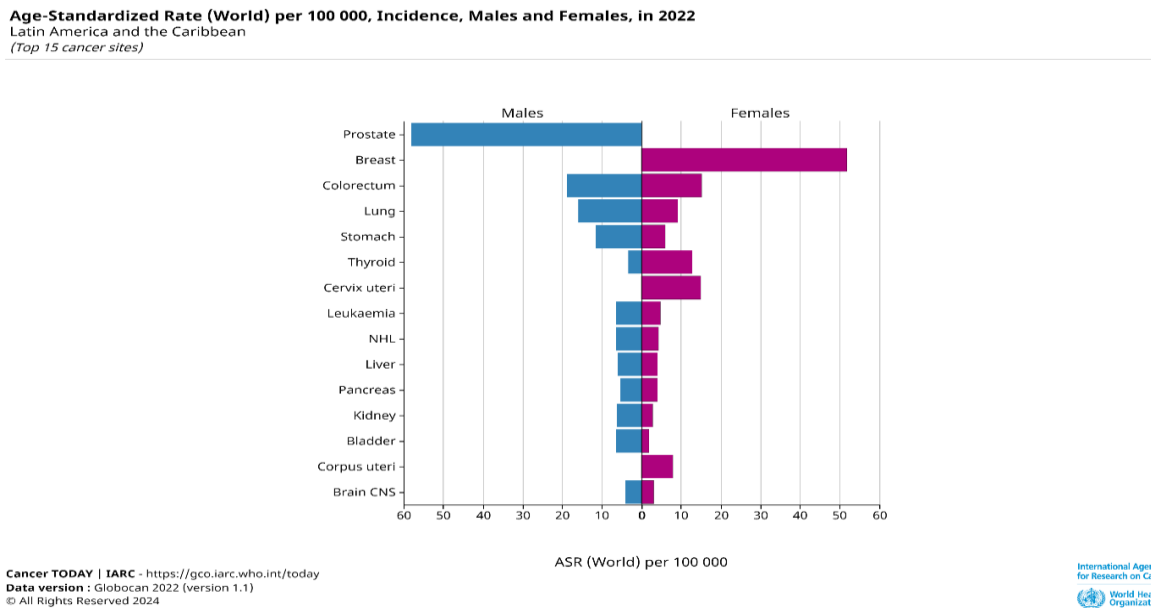
**Figura 3.** Números absolutos da incidência de todos os cânceres em ambos os sexos em 2022 por continente. Disponível em: [https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group\\_populations=0](https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group_populations=0)

Observando os padrões globais do câncer, alguns tipos de câncer são mais frequentemente diagnosticados e dados como principal causa de morte. Nos homens o principal tipo diagnosticado é o câncer de próstata em 112 países, o próximo é o câncer de pulmão em 36 países, seguido pelo câncer colorretal e câncer de fígado em 11 países cada um. O câncer de pulmão é o responsável pela maior taxa de mortalidade de câncer em homens, seguido pelo câncer de próstata e fígado. Nas mulheres, o tipo de câncer mais comumente diagnosticado é o de

mama, em 159 países, e o de colo de útero, sendo estes também responsáveis pela maior taxa de mortalidade neste grupo. Nas figuras abaixo, é possível observar a taxa de incidência do câncer padronizada por idade em ambos os sexos no ano de 2022 (GLOBOCAN, 2024).



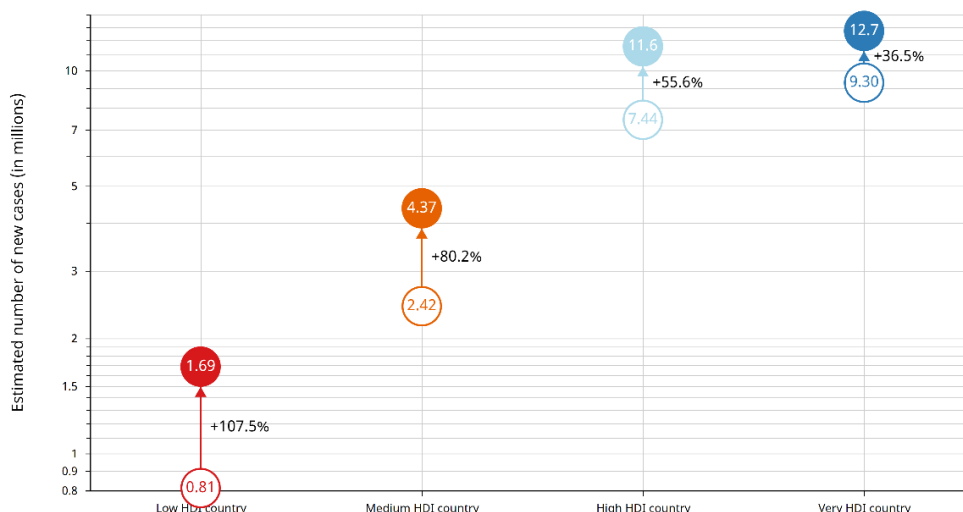
**Figura 4.** Taxa de incidência de alguns tipos de câncer padronizada por idade em ambos os sexos no ano de 2022 na América Latina e Caribe em comparação com a Europa.



**Figura 5.** Taxa de incidência de alguns tipos de câncer padronizada por idade no ano de 2022 comparando homens e mulheres.

Segundo a OMS, as projeções de casos de câncer chegarão a dobrar seu número de 2020 até 2040, sendo necessário um olhar atento para esse número para a busca de soluções efetivas e duradoras contra a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Estimated number of new cases from 2022 to 2045, Both sexes, age [0-85+]  
All cancers



Cancer Tomorrow | IARC - <https://gco.iarc.who.int/tomorrow>  
Data version : Globocan 2022 (version 1.1)  
© All Rights Reserved 2024



**Figura 6.** Estimativa do número de novos casos de 2022 até 2045 para ambos os sexos.

No Brasil, são esperados 704 mil casos novos de câncer para cada ano do triênio 2023-2025, sendo que as regiões Sul e Sudeste tem sua incidência concentrada em 70% dos casos (INCA, 2022).

O câncer de pele não melanoma é o tumor maligno mais incidente no país (31,3% do total de casos), seguido pelos de mama feminina (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago (3,1%) (INCA, 2022).

Como também já evidenciado em outros países, no Brasil, em homens, o câncer de próstata é predominante em todas as regiões, totalizando 72 mil casos novos estimados a cada ano do próximo triênio, atrás apenas do câncer de pele não melanoma. Nas regiões de maior Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), os tumores malignos de cólon e reto ocupam a segunda ou a terceira posição, sendo que, nas de menor IDH, o câncer de estômago é o segundo ou o terceiro mais frequente entre a população masculina (INCA, 2022).

Já nas mulheres, o câncer de mama é o mais incidente (depois do de pele não melanoma), com 74 mil casos novos previstos por ano até 2025, nas regiões mais desenvolvidas, e em seguida vem o câncer colorretal. Nas regiões de menor IDH, o câncer do colo do útero ocupa essa posição (INCA, 2022).

No Brasil já é possível observar uma grande melhoria na última década em relação a disponibilidade de informações sobre o câncer, tanto nos números referentes à incidência, tanto nos referentes a mortalidade. Além disso, as informações tem chegado na população de forma mais simples e objetiva, o que colabora para uma melhor ação da Vigilância Sanitária, atuando nas necessidades referentes à doença fornecendo subsídios para os gestores trabalharem mais direcionados e com mais eficiência. Mas ainda é um processo muito lento que precisa de muita atenção e pesquisa na área para melhoria dos números alarmantes (INCA, 2022).

## **1.2 Câncer: conceito, diagnóstico e tratamento**

O termo “câncer” tem origem grega derivando da palavra “karkinos” que significa caranguejo. Esse termo foi originalmente usado por Hipócrates por volta de 400 a.C. para descrever os tumores com seus vasos sanguíneos por ele encontrados que se assemelhavam a um caranguejo com suas patas espalhadas na areia da praia (INCA, 2024).

O câncer é um termo designado para um conjunto de mais de 100 doenças que possuem como característica principal o crescimento desordenado de células, capacidade de invasão de tecidos e capacidade de deslocamento para outros órgãos não adjacentes, evasão do sistema imune e perda de resposta da função celular originária. Esta malignidade é causada por mutações genéticas, que mudam a estrutura do DNA celular, e consequentemente estas alterações mudam o comportamento celular, perdendo a função original e a capacidade de respostas. As mutações genéticas podem ter origens diversas, como agentes externos, tabagismo, mal hábito alimentar, exposição ao sol ou à agentes químicos, sedentarismo, entre outros, como também fatores não modificáveis de genes herdados hereditariamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

Os mais de 100 tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células presentes no corpo, como também sua localização, capacidade de multiplicação e de invadir tecidos e órgãos vizinhos e distantes. O câncer quando tem seu processo iniciado em células como pele ou mucosas é chamado carcinoma. E quando é iniciado em tecidos conjuntivos, como ossos, cartilagem e músculos, é chamado de sarcoma (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). Agora, quando sua origem é em células sanguíneas ou tecidos de formação do sangue ou células do sistema imunológico, são chamados leucemias ou linfoma. As leucemias não são consideradas doenças metastáticas por serem inatas da função leucocitária a motilidade celular, porém quando um leucócito maligno sem diferenciação aparece no sistema imunológico, ocorre a preservação da capacidade de mobilização na corrente sanguínea enquanto se prolifera desordenadamente (WHITELEY *et al.*, 2021).

A formação do câncer é dada por meio de um processo chamado oncogênese e/ou carcinogênese. Esse processo pode ser de forma bem lenta ou rápida até o aparecimento do tumor visível. A célula cancerígena pode levar anos sendo exposta a fatores carcinogênicos até que ocorra a proliferação. Podendo esse processo também ser interrompido se a exposição for interrompida (INCA, 2022).

A mutação genética decorrente desses processos ocorre em genes especiais no DNA da célula, que são denominados como proto-oncogenes, inativos em células normais. Quando ocorre sua ativação, eles tornam-se oncogenes responsáveis por transformar células normais em células cancerosas por meio das alterações no DNA que passam a sinalizar informações deletérias para suas funções (INCA, 2022).

Além da mutação genética, hoje é possível compreender que o câncer engloba muitas outras interações e que deve ser considerado um ecossistema complexo, uma vez, que levando em consideração o microambiente tumoral, é possível perceber que além das células cancerígenas, um tumor também possui células não cancerosas, como as células imunes, fibroblastos, células endoteliais que possuem inúmeras interações dentro do tumor, influenciando a patogênese do câncer (VISSER *et al.*, 2023).

O diagnóstico do câncer pode ser dado de muitas maneiras, sendo de extrema importância o diagnóstico precoce, visto que, para alguns grupos de tumores, a sobrevivência do paciente é muito maior quando descoberto em estágio inicial e o tratamento se torna mais eficaz. A Organização Mundial da Saúde (OMS) já tornou esta ação como prioridade fundamental em relação ao câncer (HUNTER, 2022). Triagem com análise da sintomatologia, exames de sangue, citopatologia, biópsia, exames de imagem, podendo ser, raio X, ultrassom, tomografia, ressonância magnética, são as ferramentas que possibilitam o diagnóstico e estadiamento do câncer (WANG *et al.*, 2021).

A partir do diagnóstico, a terapêutica do câncer vai depender do estágio no qual a doença se encontra e o tipo de tumor encontrado, assim como o estado geral do paciente que mostra se ele é capaz de suportar certo tipo de tratamento. Algumas abordagens mais comuns de tratamento são, a cirurgia, imunoterapia, radioterapia, transplante de medula e quimioterapia. Muitas vezes é necessário combinar esses métodos para um tratamento mais eficaz (INCA, 2024).

A cirurgia oncológica, consiste na retirada do tumor total ou parcial dependendo da extensão e profundidade, podendo ser com margem ou sem margem, que consiste na retirada ou não da região próxima ao tumor para garantia de extração de todas as células cancerosas. A intervenção cirúrgica pode ter finalidade curativa, quando é possível a retirada total, ou paliativa, quando o objetivo é reduzir a massa tumoral e a sintomatologia resultante da doença. A cirurgia é uma das principais escolhas de tratamento para câncer, juntamente com a radioterapia e quimioterapia. A escolha destas modalidades já tem se mostrado bastante eficaz no tratamento da doença (INCA, 2023).

A imunoterapia consiste no tratamento por meio da estimulação do sistema imunológico e tem como principal foco os tumores malignos. As terapias baseadas neste tipo de tratamento são imunomoduladoras utilizadas para mudar a resposta imunológica, conhecidas como inibidores de checkpoint imunológico, transferência de células adotivas, anticorpos monoclonais e vacinas preventivas. A imunoterapia começou a ganhar destaque a partir do conhecimento mais explorado sobre as células do sistema imune que são capazes de reconhecer e erradicar células cancerígenas, porém muitas células cancerígenas são capazes de evadir do

sistema imune. Apesar do poder de evasão do sistema imune, a imunoterapia é um tratamento bem promissor na atualidade, porém ainda com custos muito onerosos para atingir grande parte da população (RUI, ZHOU, HE, 2023).

A radioterapia consiste no tratamento utilizando radiações ionizantes para impedir a multiplicação ou destruir as células cancerígenas. As radiações ionizantes causam danos ao DNA, quebrando as fitas, interferindo no ciclo celular e causando danos cumulativos. O tratamento é multidisciplinar, com resultados muito positivos, pode curar totalmente o tumor ou ser realizado de forma paliativa aliviando a sintomatologia da doença, por exemplo, reduzindo hemorragias, aliviando a pressão e dores, permitindo maior qualidade de vida aos pacientes. Ela pode ser feita de duas formas, radioterapia externa ou teleterapia que consiste no recebimento de radiações com o paciente longe do aparelho responsável pela emissão. Ou pode ser feita por braquiterapia que consiste na colocação de cateteres ou outros condutores da radiação diretamente no tumor, esse último é mais invasivo muitas vezes sendo necessário a sedação do paciente para redução do incômodo na realização do procedimento (INCA, 2023).

O transplante de medula é o tratamento proposto para as leucemias e os linfomas e outros tipos de doenças no sangue também. Consiste na substituição da medula óssea deficitária ou doente por células normais da medula óssea, com a intenção da restauração da medula óssea saudável. O transplante pode ser autogênico ou alogênico, o primeiro refere-se quando a medula é extraída do próprio paciente e o segundo quando a medula transplantada vem de um doador externo. Ele também pode vir de células precursoras advindas do sangue circulante de um doador ou do sangue do cordão umbilical (INCA, 2023).

Quando o transplante é o tratamento escolhido, o processo começa com testes específicos de compatibilidade afim de evitar a rejeição da medula pelo receptor. O ideal é que seja o mais compatível possível, evitando também outras complicações, como agressão das células do doador contra órgãos do receptor. Para inicialização do transplante, o receptor é submetido a um tratamento que destrói as células tumorais e a própria medula para então poder receber as células saudáveis. Esse tratamento compromete muito o sistema imune, mas é bem eficaz para esses tipos de cânceres (INCA, 2023).

A quimioterapia é o tipo de tratamento mais conhecido quando se fala em tratamento para câncer. Consiste no uso de substâncias químicas, que são fármacos citotóxicos ou citostáticos, para combater as células cancerígenas (INCA, 2023)

Os quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer são fármacos antineoplásicos que interferem em processos celulares impedindo o crescimento e/ou a multiplicação celular. Quando estes agentes atuam matando diretamente a célula são chamados citotóxicos e quando são capazes de impedir a multiplicação celular são chamados citostáticos. Esta atuação pode se dar por meio da interferência na replicação do DNA, por meio da intervenção no funcionamento do fuso mitótico, por meio das alterações no metabolismo celular, etc (GOODMAN E GILMAN, 2018).

As principais classes de quimioterápicos são: alquilantes, antimetabólitos, antibióticos antitumorais, alcaloides vegetais, inibidores da topoisomerase, entre outros. Os alquilantes atuam ligando-se ao DNA causando quebras e inibindo sua replicação. Os antimetabólitos atuam imitando metabólitos naturais, como as bases nitrogenadas, interferindo na síntese de RNA e DNA. Os antibióticos antitumorais atuam por meio da intercalação com o DNA e/ou induzindo a produção de radicais livres que danificam o DNA. Os alcaloides vegetais atuam impedindo a formação ou funcionamento do fuso mitótico. Os inibidores da topoisomerase atuam bloqueando enzimas que controlam a tensão torcional do DNA. Entre as outras classes temos o medicamento cisplatina, um metalocomplexo, que atua por meio da ligação ao DNA formando ligações cruzadas (cross-links) que causam distorções na dupla hélice do DNA (MOLLAEI *et al.*, 2021).

Os fármacos antineoplásicos são levados pela corrente sanguínea a todas as partes do corpo combatendo as células doentes e/ou impedindo seu crescimento. Podem ser administrados por via oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, intratecal e tópica (INCA, 2023). A administração também pode ser intratumoral durante a cirurgia oncológica (RIVERA-BUCETA, 2024).

A quimioterapia pode ser realizada de forma ambulatorial ou com o paciente internado, a depender do tipo e estágio da doença e das condições físicas do



paciente (INCA, 2023). E também durante a cirurgia oncológica de forma intratumoral, esta modalidade é escolhida quando a eficácia terapêutica do medicamento é comprometida devido sua alta toxicidade sistêmica (RIVERA-BUCETA, 2024). Não causa dor, mas pode gerar incômodos ao paciente durante a aplicação de alguns medicamentos (INCA, 2023).

As infusões medicamentosas são preparadas por farmacêuticos especializados de acordo a prescrição médica e administradas por enfermeiros também especializados na área de oncologia (SOBRAFO, 2014).

Os efeitos colaterais são diversos, e incluem perda de cabelo, prisão de ventre, diarreia, feridas na boca, enjoo e vômito, hiperpigmentação da pele, anemia, leucopenia e trombocitopenia (INCA, 2023).

Os diversos efeitos colaterais oriundos do tratamento com quimioterápicos anticancerígenos são devido a pouca seletividade desta classe medicamentosa, muitas vezes, seu mecanismo de ação atua destruindo as células doentes e as saudáveis (INCA,2023).

Apesar dos pontos negativos mencionados acima referente a quimioterapia, ela ainda merece uma atenção muito especial e por isso é objeto de estudo deste trabalho, pois consiste em um tratamento eficaz, menos oneroso e, portanto, mais acessível a população. Além do mais, com pesquisas cada vez mais abrangentes a descoberta de novos quimioterápicos com menos efeitos colaterais e mais efetivos para o tratamento do câncer pode ser uma realidade muito próxima de se concretizar.

### **1.2.1 Câncer de mama**

O câncer de mama, conforme já mencionado, é o segundo tipo de câncer mais incidente entre as mulheres, já nos homens é pouco comum, mas também pode ocorrer (INCA, 2023). Consiste num grupo de doenças diversas devido ao seu comportamento distinto. A diversidade deste câncer é marcada pela presença ou ausência de proteínas que são receptores hormonais (de estrogênio e progesterona) e também pela presença ou ausência da proteína HER 2. Essas proteínas caracterizam o câncer de mama a nível molecular, distinguindo a

proliferação rápida ou lenta das células tumorais auxiliando na determinação da agressividade e na definição do estadiamento do câncer (DOBRUCH-SOBCZAK *et al.*, 2022; BARZAMAN *et al.*, 2020).

Os sintomas desta doença consistem em aparecimento de nódulo indolor ou não, duro e irregular, mas existem tumores em que o nódulo pode estar bem definido, globoso e com a consistência mais tenra. Outras características da sintomatologia incluem, edema cutâneo na mama com aspecto parecido à casca de laranja, secreção espontânea unilateral ou não, encolhimento da pele, descamação ou ulceração do mamilo, dor, inversão do mamilo e aumento da temperatura na mama. Além disto, podem aparecer linfonodos tateáveis na axila (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O câncer de mama pode ser originado por diversos fatores, entre eles, idade, a história reprodutiva da mulher, fatores endócrinos, comportamento, ambiente, genética e hereditariedade. A partir dos 50 anos de idade as mulheres têm maior risco de desenvolver a doença devido ao acúmulo de exposições ao longo da vida, que causam danos ao DNA, assim como, as alterações biológicas inerentes ao processo de envelhecimento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Os fatores endócrinos e a história reprodutiva da mulher incluem primeira menstruação precoce, menopausa tardia, nuliparidade, primeira gravidez após os 30 anos, uso de contraceptivos orais, reposição hormonal pós menopausa. Todos esses fatores estão diretamente relacionados com a estimulação hormonal do estrogênio favorecendo a predisposição ao desenvolvimento da doença (OMS, 2018; IARC 2021).

Outro fator curioso quanto ao maior risco de desenvolvimento do câncer de mama é a composição mamária. Mulheres com mamas densas com tecido fibroglandular de forma predominante são mais propensas à doença pois há mais células que podem se tornar cancerosas e além disso, a presença de nódulos pode ser mascarada dificultando assim a descoberta precoce (INCA, 2024).

Já os fatores ambientais e comportamentais estão diretamente relacionados com o estilo de vida da mulher e já estão bem estabelecidos segundo a OMS, entre eles estão a ingestão de bebida alcoólica, sedentarismo, sobrepeso e obesidade e

exposição à radiação ionizante (OMS, 2018; INCA, 2020, IARC, 2021). O risco deste câncer também aumenta com a exposição a certos ambientes e substâncias que contenham benzeno, agrotóxicos, campos eletromagnéticos, compostos orgânicos voláteis, etc. E em relação à radiação ionizante, o risco é proporcional à frequência e à dose em que se é exposto (INCA, 2023).

Esse tipo de câncer é explorado neste trabalho devido ao impacto causado na população mundial como um todo e a necessidade de novas abordagens e terapêuticas.

### **1.2.2 Câncer de colo de útero**

O câncer do colo do útero, no ranking mundial, é o terceiro mais incidente na população feminina e uma das principais causas de morte entre as mulheres (OLUSOLA *et al.*, 2019). Ele é causado pela infecção persistente por tipos oncogênicos do Papiloma Vírus Humano (HPV) principalmente o HPV-16 e o HPV-18 responsáveis por 70% dos casos (LÓPEZ-CODONY *et al.*, 2024). A presença desses vírus permite a replicação desordenada das células de revestimento do órgão, comprometendo seu tecido e podendo invadir órgãos próximos ou à distância. Os vírus são agentes carcinogênicos, pois inserem seu material genético ao DNA do paciente aumentando as mutações genéticas, que geram mutações deletérias, que favorecem a carcinogênese. O câncer do colo do útero é dividido em duas categorias principais, carcinoma epidermoide e adenocarcinoma, o primeiro é o mais frequente, representando 90% dos casos e acomete o epitélio escamoso. Já o segundo é mais raro, representando apenas 10% dos casos e acomete o epitélio glandular (INCA, 2023).

O câncer do colo do útero é uma doença que inicialmente pode não apresentar sintomas devido ao seu lento desenvolvimento, mas pode evoluir para quadros mais graves que incluem sangramento vaginal irregular ou após a relação sexual, dor abdominal com queixas urinárias, secreção vaginal anormal e até mesmo dor abdominal com queixa intestinal nos casos mais avançados (INCA, 2021).

A infecção pelo HPV é muito comum principalmente nos países em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 80% das mulheres sexualmente ativas irão adquiri-la ao longo de suas vidas. Na maioria das vezes a infecção cervical pelo HPV é transitória e regride espontaneamente, entre seis meses a dois anos após a exposição (OMS, 2008).

Nos casos em que a doença progride, existem alguns aspectos que são mais determinantes para o seu desenvolvimento, entre eles o próprio subtipo e carga viral do HPV, genética, imunidade da mulher, e seu comportamento sexual. Até mesmo o uso de contraceptivos orais, assim como no câncer de mama, é considerado fator de risco para o desenvolvimento deste tipo de câncer (ABU-RUSTUM *et al.*, 2023)

Diante de tal exposto, e do número elevado de mulheres acometidas por este tipo de câncer, as autoridades já estão atentas e subsidiam muitos programas visando a prevenção do câncer do colo do útero. Uma destas maneiras foi a inserção de vacinas no Sistema Único de Saúde (SUS) contra o HPV para meninas e meninos e em 2022, já houve uma ampliação do público-alvo aumentando a faixa etária em que essas vacinas podem ser tomadas (meninas e meninos entre 9 e 14 anos) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Outro grande avanço na área constou no ano de 2024, em que o Ministério da Saúde incorporou a testagem molecular para detecção do vírus HPV e rastreamento do câncer do colo do útero no SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

Esse tipo de câncer também é explorado neste trabalho devido ao impacto causado na população mundial, o impacto da doença no Brasil e a necessidade de novas abordagens terapêuticas.

### **1.2.3 Câncer de próstata**

O câncer de próstata é o segundo mais incidente entre os homens e sua taxa de incidência é maior em países desenvolvidos quando comparado aos outros, devido ao diagnóstico ser mais acessível (OMS, 2022; IARC, 2022).

Ele acontece devido a proliferação desordenada das células da próstata. A próstata é uma glândula localizada na parte inferior do abdômen masculino, sendo um órgão pequeno, situado abaixo da bexiga e à frente do reto. Ela envolve a porção inicial da uretra e é responsável pela produção de parte do sêmen. Normalmente, este câncer, acomete homens a partir dos 65 anos, correspondendo a cerca de 75% dos casos (WASIM *et al.*, 2022).

Sua origem pode ser multifatorial, entre elas os fatores de risco mais citados são histórico familiar, etnia, idade, obesidade e fatores ambientais. Os fatores ambientais já bem elucidados na literatura incluem exposição a aminas aromáticas, arsênio, produtos de petróleo, etc (SEKHOACHA *et al.*, 2022).

O diagnóstico de câncer de próstata pode ser dado pelos exames de pesquisa do antígeno prostático específico (PSA), que consiste em um biomarcador para o câncer de próstata e outras anormalidades que possam estar ocorrendo com o órgão, seu valor é considerado normal quando está abaixo de 4ng/mL. Quando este valor está acima do esperado exige uma complementação dos exames para o diagnóstico do câncer, como o exame digital retal e a biópsia da próstata para confirmação e estadiamento da doença (SEKHOACHA *et al.*, 2022).

O tratamento do câncer de próstata leva em consideração o estadiamento da doença, a idade e o estado geral de saúde do paciente, mas incluem de forma geral, a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, podendo ser combinados ou isolados. Os efeitos colaterais destes tratamentos ainda são enormes, causam muita resistência por parte do paciente aos tratamentos (INCA, 2023).

E devido a esses fatores, este tipo de câncer é explorado neste trabalho devido à necessidade de novas descobertas de tratamento, para novas abordagens e terapêuticas, mais efetivas e eficazes e com menos efeitos colaterais.

### **1.3 Complexos metálicos**

Complexos metálicos consistem em compostos sintetizados que possuem algum metal na sua composição, sua introdução nos tratamentos clínicos, devido à sua diversidade e versatilidade química, tem beneficiado a medicina principalmente em suas aplicações promissoras no tratamento para o câncer (RICCARDI, C.,

PICCOLO, M., 2023). Um dos compostos já muito conhecido e aplicado com esta finalidade é complexo cis-diaminodicloroplatina (II), mais conhecido como cisplatina. Este composto e seus análogos têm sido estudados e aplicados com sucesso no tratamento de diversos tipos de cânceres, como de mama, cabeça e pescoço, testicular, linfomas, etc. Apesar da sua boa aplicação para estas doenças, estes compostos ainda apresentam limitações em seu uso, já que os pacientes apresentam muitos efeitos colaterais durante o uso destes, a exemplo disto observa-se a mielosupressão, trombocitopenia, nefrotoxicidade, neurotoxicidade e sangramento intra-abdominal (SINGH *et al*,2023).

Diante desta realidade, muitas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de buscar novos compostos com atividade antitumoral que sejam mais efetivos e seguros, com alta seletividade, apresentando predileção por toxicidade direcionada às células tumorais (RICCARDI, C., PICCOLO, M., 2023).

Os metalocomplexos têm sido amplamente estudados por possuírem propriedades redox e espectroscópicas únicas, alta estabilidade e boa versatilidade estrutural. Sua interação com o DNA celular marca seu mecanismo de ação (SINGH *et al*,2023). As propriedades redox apresentadas pelos metalocomplexos acontecem pela capacidade do metal central mudar de estado de oxidação e seus ligantes também participarem da transferência de elétrons. Esta atividade gera um ambiente oxidante quando presente na célula, pois ocorrerão reações do tipo Fenton/Fenton-like produzindo radicais hidroxilas e outras espécies reativas de oxigênio. Este estresse oxidativo elevado ultrapassa o limite tolerado pela célula desencadeando a apoptose. Este mecanismo impacta diretamente a tumorigênese e pode ser utilizado potencialmente contra o câncer (LIU *et al*,2022).

#### **1.3.1. Metalocomplexo à base de cobre**

O cobre, metal de escolha para a composição do complexo do presente estudo, é um metal de transição, muito abundante no organismo humano, cerca de 100 mg em um indivíduo médio. Ele é responsável por diversas funções biológicas, incluindo participação no metabolismo energético, transporte de ferro, pigmentação de pele e cabelo, manutenção dos tecidos conjuntivos, neovascularização, elasticidade pulmonar, entre outros (GANCI *et al*,2025).

Além disso o cobre é um elemento abundante na natureza, encontrado em diversas fontes minerais, sendo a principal fonte a calcopirita. Dentre as suas propriedades destaca-se sua boa estabilidade, condutividade elétrica, resistência a corrosão e sua pouca reatividade sendo assim, muito atrativo e valioso para aplicações industriais, pesquisas tecnológicas e farmacêuticas (ABCOBRE, 2021).

Muitas pesquisas já tem sido realizadas com compostos à base de cobre devido às suas propriedades químicas e também por ser um metal que em altas concentrações pode causar intoxicação no ser humano (GE *et al.*, 2022)

Os tumores normalmente apresentam concentrações elevadas de cobre quando comparadas às células normais, o que pode ser justificado pelo cobre desempenhar uma função de cofator na angiogênese (GE *et al.*, 2022). Quando este metal está de forma desbalanceada no organismo a interação do metal com o DNA da célula ocorre de forma não covalente e intercalante com o DNA, de forma que ocorre o bloqueio da replicação e interrupção do ciclo celular (CORONA-MOTOLINIA *et al.*, 2020). Na literatura encontramos diversos estudos que mostram como essa homeostase desequilibrada do cobre afeta o crescimento tumoral, podendo induzir muitas formas de morte celular, entre elas a apoptose e autofagia (JIANG *et al.*, 2022). Essas características tornaram este metal muito promissor nos estudos para descobertas de novos agentes antineoplásicos (CORONA-MOTOLINIA *et al.*, 2020).

#### **1.4 Modelagem e docking molecular**

A modelagem molecular consiste em sistema computacional que permite a experimentação virtual *in silico* como ferramenta para interpolação de experimentos de bancadas. Ela permite analisar a estrutura molecular e atômica das moléculas para melhor definição dos processos de ancoragem e melhor interação entre elas. Essa metodologia de trabalho é muito importante, porque direciona o trabalho e prediz as estruturas com maior possibilidade de dar certo, definindo seu mecanismo de ação. O docking molecular poupa tempo e recursos devido ao direcionamento, sendo um recurso interessante antes dos estudos *in vitro* e *in vivo*. Por isso é considerado uma promessa no direcionamento de compostos no combate das

células cancerígenas e na ajuda para descoberta de novos fármacos (AMINPOUR *et al.*, 2019; ARJMAND *et al.*, 2022).

A docagem, docking, ancoramento molecular é uma subdivisão do processo de modelagem molecular, é utilizada para determinar a interação metabólica entre duas moléculas de forma a encontrar a melhor orientação entre os ligantes com menor energia de formação e que seja estável. Por ser um método *in silico*, a economia de tempo, de recursos, e de estratégias são muito consideráveis diante desta metodologia, aumentando a eficiência e produtividade nas indústrias farmacêuticas, químicas e até mesmo nos laboratórios de pesquisa (ARJMAND *et al.*, 2022).

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar e caracterizar a atividade citotóxica do metalocomplexo **[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>)** *in vitro* e *in silico* para verificação de possível atividade antineoplásica em células tumorais humanas.

### 2.2 Objetivos específicos

- Verificar por meio do Docking molecular a interação e o modo de ligação entre o metalocomplexo e o DNA.
- Avaliar a atividade citotóxica do metalocomplexo **[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>)** *in vitro* pelo teste *Alamar Blue* em células das linhagens tumorigênicas humanas HeLa (câncer de colo de útero), MDA-MB-231 (câncer de mama), PC-3 (câncer de próstata). E como controle, células da linhagem não tumorigênica PNT-2 (controle negativo para o câncer de próstata).
- Determinar a viabilidade celular (IC<sub>50</sub>) do metalocomplexo para cada linhagem celular e a dose inibitória de 50% das células.
- Definir o Índice de Seletividade (IS) do metalocomplexo pra cada linhagem estudada.



- Verificar qual linhagem possui melhor resposta frente ao tratamento com o metalocomplexo
- Avaliar se o metalocomplexo tem capacidade de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) por meio de marcação por sonda de diacetato de diclorofluoresceína.
- Avaliar se o metalocomplexo é capaz de provocar alterações nas fases do ciclo celular
- Verificar qual via de morte celular é induzida mediante o tratamento com o metalocomplexo.

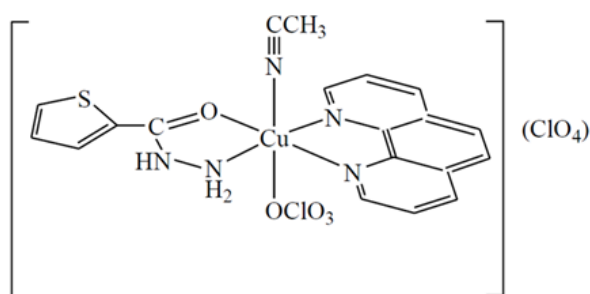
### **3 Metodologia**

#### **3.1 Metalocomplexo**

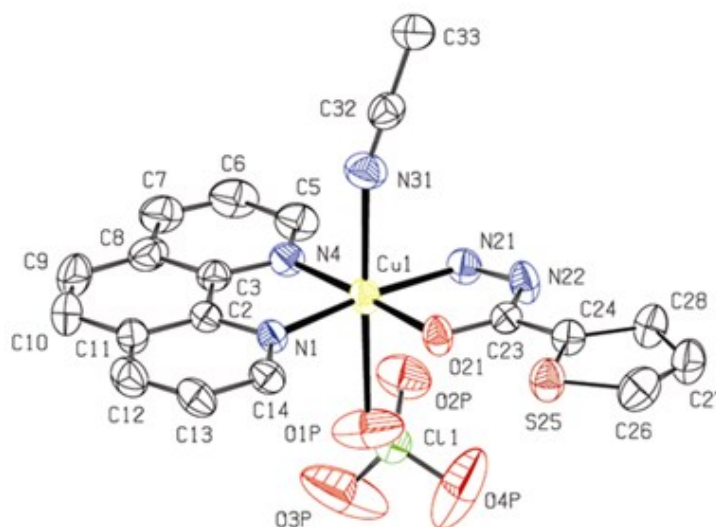
O complexo foi primariamente sintetizado e caracterizado no Departamento de Química, no Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais por Priscila Pereira Silva e colaboradores (2013) como parte da sua tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

#### **3.2 Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) – síntese e caracterização**

Segundo Silva e colaboradores (2014), responsável pela síntese do composto, o complexo foi preparado pela reação de Cu(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0,185 g, 0,5 mmol) com a hidrazida do ácido 2-tiofenecarboxílico (0,071 g, 0,5 mmol) em 8,0 mL de acetonitrila. À mistura adicionaram-se 2,0 mL de solução de 1,10-fenantrolina monohidratada (0,099 g, 0,5 mmol) também dissolvida em acetonitrila. A solução resultante de coloração verde foi deixada em temperatura ambiente para evaporação lenta do solvente. Depois de alguns dias, ocorreu a formação de cristais azuis escuros. Esses cristais foram filtrados, lavados com acetonitrila fria e reservados para análises posteriores. Rendimento: 19%. A figura abaixo apresenta a estrutura do complexo ternário de cobre II que foi preparado como descrito acima. Esse composto contém como um dos ligantes a hidrazida do ácido 2-tiofenecarboxílico e como segundo ligante o composto 1,10-fenantrolina (SILVA *et al.*, 2014).



**Figura7.** Estrutura química do complexo ternário de cobre  $\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$ . Fonte: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014>.



**Figura 8.** Representação da estrutura cristalina do complexo  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  utilizando o programa Ortep. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização. Fonte: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014>.

### 3.3 Docking molecular e preparação dos ligantes

Os ligantes foram desenhados no software Avogadro versão 1.1.1 e salvos no formato.mol2, após otimização estrutural. Os arquivos foram posteriormente configurados no software de Avogadro, por meio da ferramenta Extensions, para obter uma geometria otimizada no campo da força UFF (Universal Force Field). No software Auto Dock 1.5.7 os ligantes foram preparados, deletando possíveis moléculas de água e foram adicionados hidrogênios polares e carga de Gasteiger.

Os estudos de docking molecular do complexo de cobre foi realizado usando software Auto Dock 1.5.7 com a macromolécula DNA. A estrutura cristalina do DNA (126D), na sequência CATGGCCATG, com resolução de 2 Å, foi obtida a partir da Protein Data Bank ([www. Rcsb.org](http://www.Rcsb.org)). Todas as moléculas de água ao redor do DNA

foram removidas e os átomos de hidrogênio polares adicionados na estrutura assim como as cargas de Kollman. Para estudar o estado de ligação, em um docking as cegas, o DNA foi analisado em uma caixa de varredura (grid box) medindo 65x58x96 para o complexo.

Para realização dos cálculos de ligações, entre ligante e receptor, foram utilizados algoritmos genéticos lamarkianos, e o número de algoritmos genéticos executados foi definido para 100 e o número de avaliações foi definido para 2,5 milhões (KHEIRDOOSH *et al.*, 2020; SHI *et al.*, 2015). As imagens das interações DNA foram produzidas pelo Auto Dock 1.5.7.

### **3.4 Cultura de células: manutenção das linhagens celulares**

As linhagens celulares trabalhadas, HeLa, PNT-2 e PC-3, foram cultivadas *in vitro*, utilizando meio RPMI-1640 (Gibco®, Paisley, UK). Já a linhagem MDA-MB-231 foi cultivada *in vitro*, utilizando meio DMEN baixa glicose (Gibco®, Paisley, UK). Ambos foram suplementados com 100 µL/mL de penicilina, (Sigma Chemical Co.®, St. Louis, USA), 10% de volume de soro fetal bovino inativado por aquecimento (Cultilab®, Campinas, Brasil). Todas as garrafas possuíam um volume de 25 cm<sup>2</sup> e 75 cm<sup>2</sup> e foram mantidas em incubadora de CO<sub>2</sub> a 5% em temperatura de 37°C.

### **3.5 Ensaio de citotoxicidade Alamar Blue**

Para avaliação do potencial citotóxico do complexo metálico [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>), foi realizado o teste de viabilidade celular pela redução da resazurina, mais conhecido como Alamar Blue. Para cada linhagem trabalhada, foi utilizada uma microplaca estéril de 96 poços, a densidade de células utilizadas foi de 1x10<sup>5</sup>cells/poço sendo cultivadas em 100µL de meio de cultura específico para a linhagem (RPMI 1640 ou DMEN) e suplementado com 10% soro fetal bovino (SFB). O complexo metálico em questão foi diluído de modo seriado e foram testados nas células em concentrações variando de 1 a 100 µM.

As microplacas foram armazenadas na incubadora de CO<sub>2</sub> (5%) a 37 °C por 24 horas. Após 21 horas de tratamento, cada poço da microplaca foi acrescido com 20µL do reagente colorimétrico Alamar Blue, depois foi necessário aguardar o tempo de metabolização da resazurina pelas células ocasionando a mudança de

cor azul para rosa, sendo a sinalização detectada pelo controle negativo, para que fosse realizado a leitura em uma leitora de placa. Foram utilizados os comprimentos de onda 570 e 600 nm.

A viabilidade celular foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\%viabilidade\ celular = \frac{(O2 \times A1) - (O1 \times A2)}{(O2 \times P1) - (O1 \times P2)} \times 100$$

Na qual:

A1 = absorbância das células tratadas à 570nm;

A2 = absorbância das células tratadas à 600nm;

O1 = coeficiente de extinção molar (E) de Alamar *Blue* oxidado a 570nm (pré-determinado em 117216);

O2 = valor de coeficiente de extinção molar (E) de Alamar *Blue* oxidado a 600nm (pré-determinado em 80586);

P1 = valores de absorbância do controle negativo à 570nm;

P2 = valores de absorbância do controle negativo à 600nm.

### 3.6 Índice de seletividade (IS)

Para determinar se o composto trabalhado é seletivo diante células tumorais, foi necessário calcular o índice de seletividade (IS), que é dado pela razão entre as concentrações necessárias para reduzir 50% da viabilidade celular (IC50), tanto da célula não tumoral e quanto da linhagem tumoral.

Utilizou-se a seguinte fórmula:

$$IS = \frac{IC50\ da\ linhagem\ não\ tumoral}{IC50\ da\ linhagem\ tumoral}$$

Onde,  $IS \geq 2$  qualificam o composto como mais seletivo para as linhagens tumorais, ou seja, mata o dobro de células neoplásicas frente às células saudáveis e serão considerados promissores.

### **3.7 Ensaio de análise de ciclo celular**

Para a realização da análise de ciclo celular foi utilizada uma placa de 24 poços, onde foram semeadas a concentração  $2 \times 10^5$  de células por poço, a linhagem mais promissora escolhida para continuação das análises foi a PC-3. O experimento foi realizado em triplicata, e as células foram dispostas em uma incubadora de  $CO_2$  por 24 horas com os tratamentos na concentração de 10  $\mu M$ , 6  $\mu M$  e 3  $\mu M$ . Para melhor interpretação dos resultados, foram criados o grupo controle utilizando a cisplatina na concentração de 400  $\mu M$  e também o grupo controle negativo. Após a etapa de tratamento, as células foram removidas da placa e transferidas para tubos de 1,5 mL. Em seguida, foram centrifugadas a 1.000 rpm por 10 minutos e lavadas com Tampão Fosfato (PBS 1X). Posteriormente, uma nova centrifugação de 10 minutos a 1.000 rpm foi realizada para obter o *pellet*, este por sua vez, foi ressuspensionado em 300  $\mu L$  de PBS 1X e 700  $\mu L$  de álcool absoluto, que serviu para fixar as células.

Após esta etapa de fixação, foi feita a incubação por 30 minutos, em seguida, foi feita a centrifugação de 5 minutos a 2000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado 2 vezes com PBS 1X, o sedimento celular foi ressuspensionado em 250  $\mu L$  de PBS 1X.

Nesta solução foi adicionado 12,5  $\mu L$  de RNase e 12,5  $\mu L$  de Iodeto de propídeo (IP), esperou-se um período de incubação de 30 minutos na temperatura ambiente no escuro, em seguida as amostras foram lidas no citômetro de fluxo. Os dados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

### **3.8 Ensaio para detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)**

Para a realização deste experimento foi utilizada uma placa de 96 poços escura. Foram semeadas  $3 \times 10^4$  células PC-3 por poço. A placa com as células foi disposta na incubadora de  $CO_2$  por 3 horas para aderência celular. Após este

tempo, foi adicionado o tratamento nas concentrações de 3  $\mu\text{M}$ , 6  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$ . O branco utilizado consistia em uma solução de PBS 1X. Um controle negativo somente com células. Outro controle negativo com células e sonda de marcação das espécies reativas de oxigênio. Um controle positivo com células e cisplatina na concentração de 400  $\mu\text{M}$ . E um controle positivo com células e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) na concentração de 3%. Após montagem da placa, esta foi disposta por 24 horas na incubadora de  $\text{CO}_2$ , sendo que, o peróxido de hidrogênio (3%) foi adicionado no controle positivo apenas 30 minutos antes de completar as 24 horas de incubação. Após este período, foi adicionado 150  $\mu\text{L}$  de H2DCF-DA (2,7 diacetato de diclorofluoresceína), a sonda de marcação, em todos os poços com exceção do controle positivo. A placa foi novamente incubada por 45 minutos e levada ao fluorímetro. Foram realizadas as leituras no espectro do verde, na excitação de 475 nm e emissão de 500 nm. Os dados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

### 3.9 Ensaio de Apoptose e Necrose

Para a realização deste experimento, foi utilizado o Kit para detecção de apoptose/necrose anexina V-FITC/Iodeto de Propídeo (PI) da Quatro G Biotecnologia®.

Foi realizado o plaqueamento de  $2 \times 10^5$  de células PC-3 por poço, numa placa de 24 poços, realizado em triplicata. As células foram dispostas em incubadora de  $\text{CO}_2$  por 3 horas para que aderissem a placa. Logo após este período foi adicionado o tratamento com  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$ , o composto em questão, nas concentrações de 3  $\mu\text{M}$ , 6  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  e 15  $\mu\text{M}$  e encubadas por 24 horas. Foram feitos os grupos controle positivo com cisplatina na concentração de 400  $\mu\text{M}$  e grupos controle negativo. Após esta etapa, as células foram colocadas em tubos de 1,5 mL centrifugadas por 10 minutos e lavadas duas vezes com PBS 1X. Após descarte do sobrenadante o *pellet* foi ressuspensionado em 100  $\mu\text{L}$  do tampão de ligação (0,1M de HEPES/NaOH pH 7,4, 1,4M de NaCl e 25mM de  $\text{CaCl}_2$ ) previamente diluído.

Depois foram adicionados os marcadores, 2,5 µL de anexina e 5 µL de PI e incubados por 15 minutos a temperatura ambiente, protegido da luz. Após este tempo, foi adicionado 1mL de PBS 1X e centrifugado por 10 minutos a 1000 rpm. Após esta execução, foi desprezado o sobrenadante e adicionado 100 µL do tampão de ligação (0,1M de HEPES/NaOH pH 7,4, 1,4M de NaCl e 25mM de CaCl<sub>2</sub>) e analisado no citômetro de fluxo. Os dados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

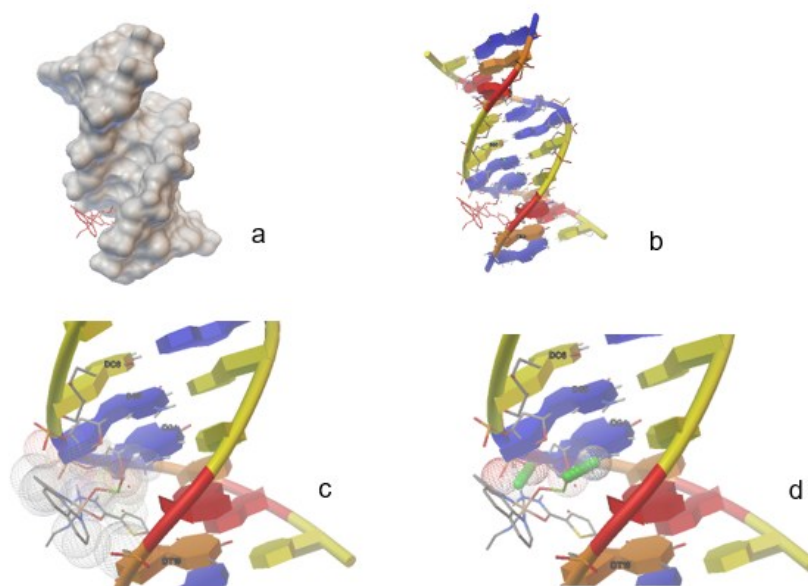
Após a análise destes dados, também foram capturadas imagens utilizando microscópio de fluorescência (EVOS) para melhor visualização dos resultados.

## **4 Resultados e Discussão**

### **4.1 Docking molecular**

A molécula em sua estrutura tridimensional foi exportada para o autodock para interação individual com o DNA. Foram analisadas as conformações de estabilidade, uma a uma, e os valores negativos de energia mostram que a ligação entre o metalocomplexo e a molécula alvo são favoráveis. Para cada uma das interações avaliadas, o Autodock classificou em um ranking de conformação de menor energia, do primeiro, para o de maior energia, o último. Conformações que exigem menos energia são mais favoráveis e espontâneas.

O complexo de cobre [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) interage por ligações de hidrogênio apenas com uma fita do DNA, por meio dos sulcos menores. A interação molecular demonstrou, em sua conformação mais estável e, portanto, com menor energia, -9,43 Kcal/mol, formação de duas ligações de hidrogênio com a fita A, conforme pode ser visto na figura 1a e 1b. Uma ligação entre hidrogênio 1 do complexo e o grupo fosfato do DNA e a outra ligação entre hidrogênio 22 do complexo e guanina 4 da macromolécula, conforme demonstrado pela figura 1d representadas na forma de esferas verdes. Lembrando que o complexo interage com todo o sulco do DNA por meio de outras forças de interação em ambas as fitas, conforme pode ser visto por meio das esferas transparentes da figura 1c.



**Figura 9.** Interação entre  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  e DNA com destaque ao encaixe, a. Interação entre  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  e DNA com destaque as cadeias de DNA, b. Ampliação da interação  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  e DNA com ênfase nas interações de contato, c. Ampliação da interação  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  e DNA com ênfase nas ligações de hidrogênio, d.

A interação com o DNA se apresenta como provável mecanismo de ação deste metalocomplexo. Demonstrando interações não covalentes, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações iônicas e de Van der Waals. Com preferência para o sulco menor, interagindo diretamente com as bases nitrogenadas, suas pentoses e seus grupamentos fosfato (Figura 9). Compostos com anéis aromáticos apresentam uma afinidade por intercalação, pois esta interação por empilhamento  $\pi$ - $\pi$  apresenta-se mais estável, no entanto o complexo não apresentou este comportamento.

No composto metálico em estudo, a energia de interação molecular foi negativa, sendo compatível com outros complexos metálicos e suas ligações com o DNA (JOAQUI-JOAQUI *et al.*, 2022). Quanto mais negativa for a energia de ligação, mais espontânea e estável será a interação. O valor de - 9,43 Kcal/mol mostra uma interação fármaco-alvo eficaz.



No estudo conduzido por Fantoni e colaboradores (2021), eles demonstraram que metalocomplexos que são capazes de interagir com o DNA, são sinônimos de descoberta de novos fármacos, neste trabalho, o complexo em estudo demonstrou interação do tipo não covalente com o DNA, sendo assim capaz de mudar a conformação do DNA e consequente alteração na sua transcrição e replicação.

Sánchez-González e colaboradores (2022) demonstraram em seus estudos que a 1,10 fenantrolina atua como um importante ligante do complexo favorecendo a intercalação com o DNA. Neste estudo o complexo metálico utilizado também possui a fenantrolina como ligante, porém, por meio do estudo da docagem molecular, a intercalação não foi observada e sim, ligações de hidrogênio que são capazes de mudar a estrutura tridimensional do DNA, influenciando na sua conformação.

A docagem molecular utilizada neste e em tantos outros estudos para descoberta de novos fármacos é essencial diante dos desafios e complexidades da pesquisa, uma vez que, por meio desta análise, é possível identificar a melhor estrutura e os melhores ligantes antes mesmo de ir para as bancadas, economizando tempo e reagente, tornando a pesquisa mais eficaz e precisa (HU *et al.*, 2021).

## 4.2 Ensaio de resazurina

O potencial citotóxico do composto  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  foi avaliado inicialmente com a determinação dos valores de IC<sub>50</sub> e do índice de seletividade, e os resultados são apresentados na tabela 1.

<b><math>[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)</math></b>		
<b>Linhagens celulares</b>	<b>IC<sub>50</sub> (μM)</b>	<b>Índice de Seletividade (IS)</b>
<b>HeLa</b>	7,92	0,74
<b>MDA-MB-231</b>	8,42	0,70

<b>PC- 3</b>	5,67	1,04
<b>PNT-2</b>	5,92	-

**Tabela 1.** IC<sub>50</sub> e Índice de seletividade (IS) do metalocomplexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) nas linhagens utilizadas tratadas com o metalocomplexo.

Os valores encontrados para as doses do complexo metálico que reduzem 50% da viabilidade mostraram-se bastante satisfatórios, visto que foram valores baixos, ou seja, é necessária uma pequena concentração do composto para que a atividade celular fosse comprometida. Sendo assim, é possível concluir que o composto é capaz de matar células tumorais de linhagem humana. Mas, o resultado obtido por meio do índice de seletividade (IS) nos mostra que o composto é pouco seletivo para células tumorais, uma vez que o resultado é próximo de 1. Para cada célula tumoral morta, uma célula saudável também morre. Essa falta de distinção entre células saudáveis e células tumorais é um grande desafio para que este complexo venha se tornar um fármaco em potencial. Porém, diante da dificuldade de encontrar novos compostos e compostos que pelo menos tenham alguma atividade citotóxica (NODA *et al.*, 2021), pode-se considerar que o composto trabalhado neste estudo tem resultados promissores que merecem estudos subsequentes.

No trabalho conduzido por Silva e colaboradores (2014), foram realizados estudos sobre a citotoxicidade dos complexos de cobre sintetizados pelo grupo. Entre eles, o complexo utilizado no presente estudo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>), foi testado em células da linhagem de leucemia mieloide crônica (K562). Como resultado, constatarem o IC<sub>50</sub> nestas células de 1,5 µM após 72 horas de tratamento e IC<sub>50</sub> de 2,6 µM após 4 horas de tratamento. Os valores encontrados mostram uma alta toxicidade para células frente ao tratamento e foi um resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, onde o IC<sub>50</sub> foi de 5,67µM para as células do câncer de próstata (PC-3), revelando assim a efetividade do composto para vários tipos de câncer. Os outros complexos de cobre sintetizados e relatados no trabalho de Silva e colaboradores, também apresentaram atividade citotóxica para as células K562, porém, o composto com melhor atividade relatada é o composto também objeto de estudo deste trabalho

[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>). Além disso, foi demonstrado por eles que a maior atividade citotóxica estava diretamente relacionada ao aumento do nível de cobre intracelular, indicando que o complexo atua na inibição da proliferação celular.

No trabalho de Lopes e colaboradores (2020), usando um composto de cobre semelhante, porém com os ligantes sendo doxíciclina e fenantrolina ([Cu(dox)(1,10-phen)(H<sub>2</sub>O)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>)), obtiveram resultados favoráveis para as linhagens murinas testadas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. O IC<sub>50</sub> encontrado para as células B16F10 de 1,4µM, para as células TG180 o IC<sub>50</sub> foi de 6,2µM e para as células de sarcoma 180 o IC<sub>50</sub> encontrado foi de 13,3µM. Com esses resultados, o composto estudado por eles, mostrou maior índice de seletividade ( $\geq 2$ ) quando comparado com o composto deste estudo, porém as células em que foram realizados os testes são células murinas.

No trabalho de Souza e colaboradores (2019) foram avaliados dois complexos de cobre contendo 4-aminoantipirina como ligante comum. Para o complexo 1, o segundo ligante utilizado foi a fenantrolina e enquanto para o complexo 2 empregou-se a bipyridina.

Os resultados obtidos por este grupo de estudo mostraram que os complexos estudados apresentavam citotoxicidade em leucemia mieloide crônica (K562) para ambos complexos. Porém o complexo 1, que continha a fenantrolina como ligante, apresentou maior citotoxicidade quando comparado com o complexo 2. O IC<sub>50</sub> para o complexo 1 foi de 1,8 µM, e para o complexo 2 o IC<sub>50</sub> foi de 26 µM. A fenantrolina, mostrou-se um excelente ligante para formação e atuação do complexo frente a células tumorais, assim como o composto estudado neste trabalho que também possui a fenantrolina como ligante.

Lima e colaboradores (2024), também mostraram um resultado interessante em relação ao complexo de cobre [Cu(bta)(1,10-phen)ClO<sub>4</sub>] e sua atividade anticancerígena em *Drosophila melanogaster*. O composto apresentava a butadiona e a fenantrolina como ligantes. E por meio deste estudo, mostraram que o composto foi capaz de modular a genotoxicidade da cisplatina e da carboplatina

(medicamentos já utilizados no tratamento do câncer) evidenciando-se um composto potencialmente promissor.

Como demonstrado acima, na literatura é possível encontrar muitos trabalhos que demonstram os complexos de cobre como uma classe promissora para medicamentos antitumorais (BONTEMPO *et al.*, 2022). Mas, diante do exposto, existem muitos desafios a serem superados, até mesmo para o complexo do presente estudo. Uma das alternativas seria trabalhar com a molécula para torná-la mais seletiva, podendo alterar a apresentação, conformação ou por meio de nanotecnologia como estratégia de melhor entrega ao local onde se encontra o tumor.

### **4.3 Ensaio ciclo celular**

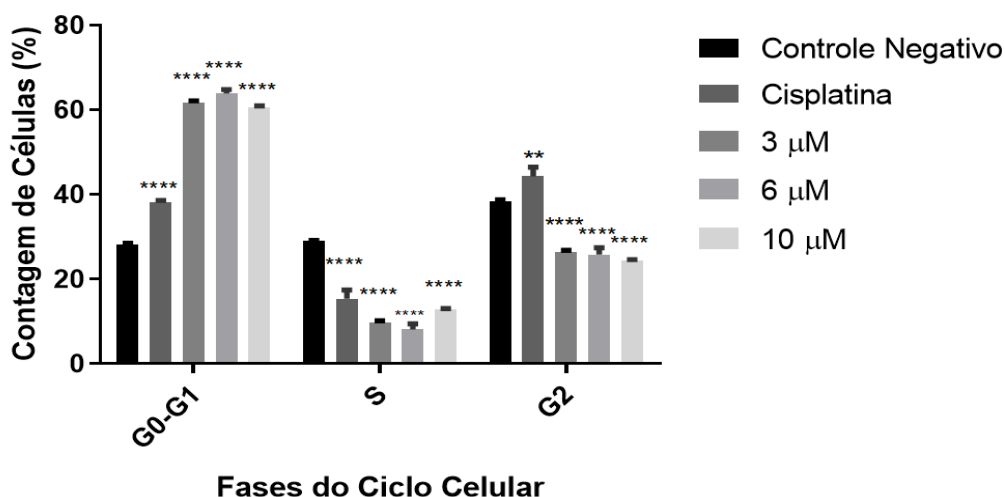
O ciclo celular pode ser definido como o processo necessário à célula para que ocorra a divisão celular gerando novas células filhas (WANG, 2022). Este ciclo, em células eucariotas, é compreendido pelas fases interfase, mitose e citocinese. A interfase é composta pelos períodos G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>, S e G<sub>2</sub>. Na fase G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> (primeiro intervalo) a célula cresce, sintetiza proteínas e RNA e se prepara para a divisão celular. Na fase S, a célula sintetiza uma cópia completa do DNA e na fase G<sub>2</sub> a célula se prepara para a divisão celular (WANG, WANG, 2022).

A mitose é a fase de divisão celular, onde ocorre o alinhamento e a separação dos cromossomos e a divisão gerando novas células filhas. E, a última fase do ciclo celular, corresponde a citocinese, onde acontece a divisão do citoplasma para completar a divisão celular (WANG, 2022).

O ciclo celular tem importância fundamental para manutenção e funcionamento celular. A divisão celular exerce grande importância na progressão do câncer, já que erros durante este processo e a segregação cromossômica influenciam o aparecimento de células mutadas que podem influenciar diretamente o desenvolvimento dessa doença (JAMASBI *et al.*, 2022).

Diante do exposto, este trabalho realizou este teste com a intenção de verificar se o metalocomplexo possui a capacidade de agir em alguma fase específica do ciclo celular e como seria seu mecanismo de ação.

Como resultado observamos que na fase G0-G1 do ciclo celular, em todas as concentrações utilizadas do metalocômplexo (3  $\mu$ M, 6  $\mu$ M e 10  $\mu$ M) o aprisionamento de células foi maior que 60%, mostrando-se muito significativo quando comparado ao controle negativo ( $p \leq 0,0001$ ). A interrupção da progressão do processo do ciclo celular refere-se ao dano causado no DNA. Por meio deste dano a proteína supressora de tumor (p53) é ativada induzindo a parada do ciclo. Na fase S do ciclo celular, que corresponde a fase de síntese de proteínas, observamos um resultado significativo quando comparado ao controle negativo. Menos de 20% das células tratadas com todas as concentrações propostas encontravam-se nessa fase do ciclo. Fato condizente com o resultado anterior, pois poucas células avançaram para a fase de síntese, visto que, ficaram presas na primeira parte do ciclo celular quando tratadas com o metalocômplexo. Na fase G2 do ciclo celular, o resultado foi significativo quando comparado ao controle negativo ( $p \leq 0,0001$ ). Apenas um pouco mais de 20% das células chegaram até esta fase, mostrando-nos que o composto também é capaz de reter as células no início do processo de divisão celular. Estes resultados atestam a alta eficácia de bloqueio do complexo de cobre em questão. Os dados obtidos podem ser observados na figura 10.



**Figura10.** Gráfico de barras representativo das células tumorigênicas PC-3 tratadas com o metalocômplexo nas concentrações 3  $\mu$ M, 6  $\mu$ M e 10 $\mu$ M. Os dados representam a média  $\pm$  erro

padrão. \*  $p < 0,05$ . \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  e \*\*\*\*  $p < 0,0001$  em comparação com o controle negativo por one-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.

Polloni e colaboradores (2019), em seus estudos com uma molécula de cobre contendo como ligantes dicetonas e a fenantrolina, que também foi utilizada para o complexo deste estudo, obteve elevada atividade citotóxica em células murinas. O IC<sub>50</sub> encontrado pelo grupo foi de 7,4µM para Sarcoma 180 e de 26,4µM para células mioblásticas murinas (C6C12), revelando um índice de seletividade de 3,7. Além deste resultado, eles observaram por meio da análise do ciclo celular, que 36,3% das células tratadas na concentração de 10 µM ficam aprisionadas na fase G0-G1. Um nível bastante inferior quando comparado com o observado neste estudo, pois quando as células do câncer de próstata foram tratadas mais de 60% das células foram aprisionadas nesta fase do ciclo celular.

No trabalho de Machado e colaboradores (2021) foram testados dois metalocomplexos a base de cobre. Os ligantes utilizados por eles para o complexo 1 foi a hidrazida do ácido fluorofenoxiacético e também a fenantrolina e para o complexo 2 foram utilizados a hidrazida 4-nitrobenzóica e também a fenantrolina. Este grupo de estudo obteve melhor resultado com o complexo 1, onde encontraram o IC<sub>50</sub> de 4,16µM para as células de Sarcoma 180 tratadas com o complexo em estudo e o IC<sub>50</sub> de 19,85µM para mioblastos murinos C2C12, obtendo um IS igual a 4,77. Neste trabalho, eles mostraram também que as células ficam aprisionadas na fase G0-G1 do ciclo celular, demonstrando seu potencial antiproliferativo e consequentemente a apoptose, o que é também correspondente ao achado neste estudo, respaldando assim a importância do cobre em estudos de *drug design*. O aprisionamento das células na fase G0-G1 impede as células de completar a replicação do DNA. Esse resultado corrobora com o encontrado no presente trabalho, ressaltando o quanto o complexo metálico em estudo tem potencial citostático, capaz de inibir o ciclo celular demonstrando ser uma estratégia terapêutica eficaz.

Shao e colaboradores (2019) sintetizaram um novo composto de cobre contendo trifetilfosfina, os testes realizados com este complexo em células de hepatoma celular (SMMC-7721) demonstraram por meio de análise em citômetro de fluxo sua capacidade de aprisionamento das células na fase G0-G1 do ciclo

celular de forma dose-dependente. Na maior concentração utilizada por eles (4  $\mu\text{M}$ ) mais de 60 % das células ficaram retidas. Resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, porém com diferença no nível de significância, uma vez que para o complexo de cobre  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  obtivemos  $p \leq 0,0001$ .

Arikrishnan e colaboradores (2022) estudaram um derivado do complexo ternário de cobre (II) incorporado com 1-10-fenantrolina e aminoácido tirosina,  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{L-tyr})\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$  em células de câncer colorretal (HT-29) e por meio da análise do ciclo celular verificaram que aproximadamente 61% das células tratadas com composto ficam retidas na fase S após 48 horas. Resultado este um pouco diferente ao encontrado no presente estudo. O ligante fenantrolina também foi utilizado mas, as células ficaram retidas na primeira fase do ciclo celular ( $\text{G}_0\text{-G}_1$ ) quando tratadas com o complexo de cobre  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$ , sugerindo assim, maior capacidade de bloqueio por meio do tratamento com este metalocomplexo.

Galczyńska e colaboradores (2024) investigaram o mecanismo de ação do complexo de cobre(II) com 1-alilimidazol  $[\text{Cu}(\text{1-allim})_4(\text{NO}_3)_2]$  em células de câncer de pulmão (A549). Em seus estudos puderam comprovar a citotoxicidade do complexo de várias maneiras, entre elas, a análise do ciclo celular. Por meio deste teste, observaram a interrupção do ciclo celular na fase  $\text{G}_2/\text{M}$ , retendo aproximadamente 63% das células e uma diminuição da quantidade de células na fase  $\text{G}_0\text{-G}_1$  quando comparadas ao controle. Este resultado corrobora com o presente estudo mostrando a capacidade dos complexos de cobre de interrupção do ciclo celular, apesar de serem em fases distintas. Esta capacidade de metalocomplexo à base de cobre ser redox-ativo, gera um ambiente oxidante, com formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) oxidando as bases, levando a danos irreparáveis no DNA, consequentemente apoptose.

Biswas e colaboradores (2023), sintetizaram o complexo de cobre  $[\text{Cu}(\text{L})(\text{NCS})]$  com base de Schiff. Estas bases são o resultado da junção de uma amina primária e um aldeído ou cetona, formando uma imina ( $\text{R-C=NH-R}$ ). Estas bases são capazes de interagir com íons metálicos formando complexos com diferentes tipos de nuclearidades. Estas bases juntamente com um íon metálico são capazes de gerar um desbalanço oxidativo devido sua atividade redox,

causando danos em várias estruturas celulares. Foram realizados diversos testes com tal composto, entre eles, análise do ciclo celular em células do câncer de próstata (PC-3), como o do presente estudo. Como resultado eles constataram o aprisionamento de células na fase G2/M. Capacidade de bloqueio menor quando comparado ao composto do presente estudo que reteve as células na primeira fase do ciclo celular.

#### **4.4 Formação de espécies reativas de oxigênio**

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são moléculas capazes de controlar diversos aspectos dentro de uma célula eucariótica por meio de sistemas complexos que controlam sua produção e resposta. Sabe-se que diferentes ROS são capazes de alterar o comportamento celular, os processos de sinalização para apoptose e até mesmo desregular o processo de produção das ROS, muitas destas características são comuns em células tumorais desenvolvendo um papel importante na tumorigênese (CHEUNG, 2022).

Neste trabalho, verificamos se o metalocomplexo  $[\text{Cu}(\text{Shyd})(\text{phen})(\text{acn})(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)$  possui a capacidade de produzir ROS nas concentrações 3  $\mu\text{M}$ , 6  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$  por 24 horas nas células do câncer de próstata (PC-3). Ao término do tratamento as células foram marcadas com sonda apropriada conforme descrito na metodologia e analisadas em citômetro de fluxo. Os resultados obtidos nos mostraram que o metalocomplexo é capaz de induzir a produção de ROS, porém com significância apenas para a maior concentração testada (10  $\mu\text{M}$ ), como observado na Figura 11. Nas concentrações de 3  $\mu\text{M}$  e 6  $\mu\text{M}$  a produção mostrou “p” como não significativo.

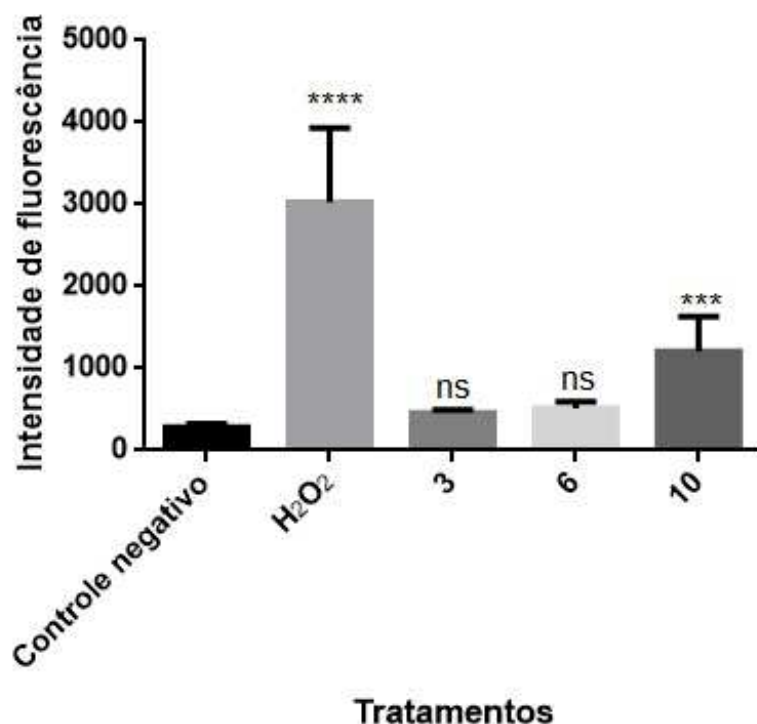
Apesar do resultado ser observado somente na maior concentração, podemos vê-lo como positivo, diante da dificuldade de encontrar compostos que possuem atividade antitumoral (LOPES *et al.*, 2020) e além disso estudos futuros envolvendo nanotecnologia associada ao composto poderia nos mostrar um resultado ainda mais promissor diante desta molécula, com maior seletividade e menos toxicidade diminuindo muito os possíveis efeitos adversos. Outro ponto a ser considerado é sobre as concentrações utilizadas, que foram muito baixas já que o IC 50 da célula foi próximo de 6  $\mu\text{M}$ , observado no teste de redução da resazurina.



A utilização de concentrações maiores em testes futuros provavelmente nos mostraria um consequente aumento na produção de ROS.

De acordo com Malekirad (2021), o cobre possui muitos benefícios para o corpo humano, entre eles, a manutenção da saúde de ossos, vasos sanguíneos, nervos e função imunológica, mas em excesso a quantidade de cobre cria estresse oxidativo, catalisando oxigênio molecular transformando-os em radicais livres causando assim danos no DNA das células e outras biomoléculas. Esta formação de ROS induzida pelo complexo metálico é corroborada por este conceito e mostra como tem sido eficaz mesmo que na maior concentração do composto.

O Cobre, como já citado anteriormente, é um metal oxidante, que por meio dos seus íons é capaz de gerar estresse oxidativo ao efetuar as reações de Fenton. Essas reações criam radicais livres por meio da catálise do oxigênio molecular causando danos no DNA e em outras biomoléculas (MALEKIRAD, 2021). Estes danos causados são desejáveis quando se pensa em um possível fármaco, como é o caso do composto metálico em estudo, pois este dano celular levaria a célula cancerígena ao processo de apoptose.



**Figura11.** Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação de espécies reativas de oxigênio com H2DCF-DA na linhagem tumorigênica PC-3. Os dados representam a média  $\pm$  o erro padrão. \*\*\*\*equivalente a  $p < 0.0001$  e, \*\*\* equivalente a  $p < 0.001$  e “ns” sendo não significante, comparando com o controle negativo por one-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.

No trabalho realizado por Machado e colaboradores (2021), também foi realizado o teste para análise da indução de ROS e assim como no presente estudo, foi constatada a indução de ROS nas maiores concentrações dos tratamentos e consequente apoptose das células. No trabalho realizado por Polloni e colaboradores (2019), também foi possível verificar que o composto a base de cobre trabalhado por eles foi capaz de induzir a produção de ROS em excesso causando danos ao DNA quando as células foram tratadas na concentração de 10 $\mu$ M do complexo metálico, corroborando com o presente estudo.

Um estudo muito interessante, demonstrado por Figueroa-Depaz e colaboradores (2022) é sobre as Casiopeínas®, que são uma família de complexos de cobre que possuem uma excelente atividade antineoplásica com baixa citotoxicidade. As casiopeínas foram sintetizadas pela primeira vez em 1987 e tem como fórmula molecular geral  $[Cu(NN)(OO)]NO_3$  e  $[Cu(NN)(NO)]NO_3$ , sendo NN correspondente a 2,2 bipyridinas ou 1,10 fenantrolina e OO acetilacetato ou salisaldeídos e NO correspondente a aminoácidos ou peptídeos. Um dos mecanismos de ação proposto para estas moléculas foi a alta produção de ROS mediada por redutores endógenos e alterações mitocondriais. Os resultados referentes a esta família de metalocomplexos de cobre foram tão representativos que uma das moléculas já está na fase I de estudo clínico no México. Além disso, estes resultados despertaram o interesse em muitos grupos de pesquisa para a síntese de várias moléculas contendo cobre, como o do presente estudo, para avaliação da atividade antineoplásica em vários tipos de câncer.

Zhang e colaboradores (2019) sintetizaram 7 complexos de cobre contendo derivados de 5-piridin-2-il-[1,3]dioxolo[4,5-*g*]isoquinolina e diferentes ligantes. Dentre eles o complexo 1 ( $[Cu_2(L^1)_2Cl_4]$ ) e o complexo 3 ( $[Cu(L^1)(NO_3)_2]$ ), onde,  $L^1$ = 9-nitro-5-piridin-2-il-[1,3]dioxolo[4,5-*g*]isoquinolina. Estes complexos apresentaram melhor resultado quando comparado aos outros e uma melhor

resposta para as células tumorais HeLa com o IC<sub>50</sub> de 5,03 µM e 10,05 µM para os complexos 1 e 3 respectivamente. Neste estudo eles comprovaram o desequilíbrio oxidativo causado pelo tratamento, aumentando significativamente as ROS, este aumento causa danos ao DNA, por meio de mutações, quebra de fitas simples e dupla, ativando a p53, forçando a parada do ciclo celular e levando as células a apoptose.

Ganci e colaboradores (2025) sintetizaram um complexo de cobre (II) com base de Schiff, CuL<sup>2+</sup> sendo L = N,N'-(1,2-fenileno)bis(1-(1 *H* -imidazol-4-il)metanimina), e neste estudo eles observaram ao tratar células de hepatocarcinoma (HepG2) com o complexo, que a produção de ROS foi na ordem de três vezes mais quando comparada ao controle negativo, induzindo as células a apoptose. Eles obtiveram o IC<sub>50</sub> igual a 0,078µM, valor muito abaixo quando comparado a composto que contém fenantrolina (NIU, 2023), como o do presente estudo. Podendo haver uma dualidade nesta resposta, complexo muito potente ou muito tóxico.

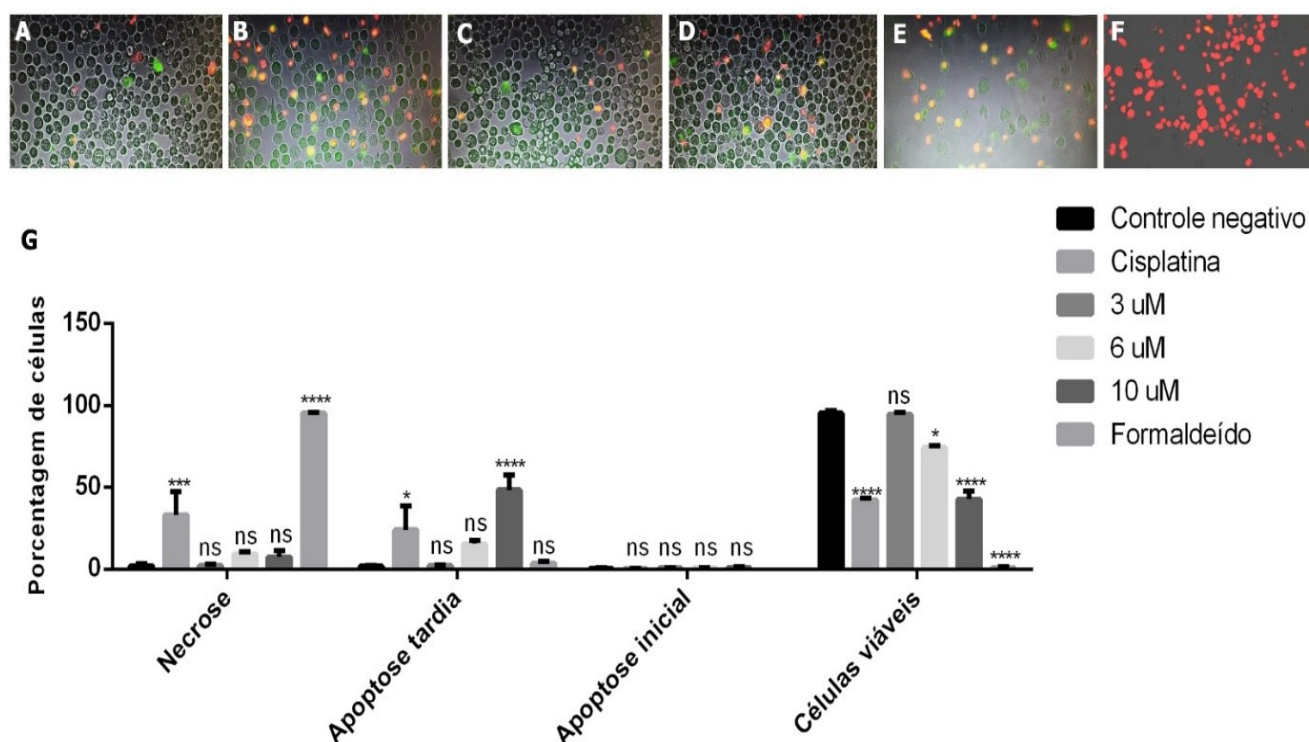
Guo e colaboradores (2021) realizaram um estudo com cobre e dissulfiram complexado para analisar sua atividade citotóxica. Neste estudo eles puderam observar que o complexo induz a produção de ROS em células de osteossarcoma humano (143B), a quantidade de ROS aumentada de forma significativa, foi observada pelo teste de fluorescência utilizando a sonda DCFH-DA. O resultado foi revertido ao utilizarem N-acetilcisteína como sequestrador, comprovando assim a formação de ROS mitocondrial.

#### **4.5 Ensaio de apoptose e necrose**

A apoptose pode ser definida como um conjunto de processos bioquímicos enzimáticos que geram uma sequência de mudanças morfológicas inerentes da estrutura celular, resultando na eliminação dessas células sem prejuízo aos tecidos adjacentes. Já a necrose é definida como a morte descontrolada da célula podendo haver o extravasamento do líquido intracelular causando danos aos tecidos adjacentes. A falha nestes processos de morte celular pode desencadear diversos tipos de câncer (D'ARCY 2019), além de sua ativação ser o mecanismo de ação de diversos tratamentos de câncer. Para verificar se metalocomplexo

[Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) possui também como mecanismo de ação a indução de morte celular por meio dos processos de apoptose ou necrose foi realizado o teste com anexina e iodeto de propídeo como descrito na metodologia.

Os dados obtidos nos mostram que o metalocomplexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>) induz de forma mais concisa a apoptose tardia (Figura 12). Observamos também que para a necrose não houve uma resposta significativa para as concentrações utilizadas no teste (3 µM, 6 µM e 10µM), somente nos controles positivos, cisplatina (p<0,001) e formaldeído (p<0,0001) foi possível observar uma alta percentagem de células necrosadas.



**Figura 12.** Micrografia de epifluorescência e porcentagem de células PC-3 apoptóticas medidas por citometria de fluxo após tratamento e marcação com Anexina V e Iodeto de Propídeo, sendo A: controle negativo; B: cisplatina; C: concentração de 3µM; D: concentração de 6µM; E:concentração de 10µM; F: formaldeído. Para o gráfico de barras, os dados são apresentados como média ± erro padrão. \* equivalente a  $p < 0,05$ , \*\*\*equivalente a  $p < 0,001$ , \*\*\*\* equivalente a  $p < 0,0001$  e “ns” equivalente a não significativo, em comparação com o controle negativo por two-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.

O fato de não ser encontrado células necrosadas por meio do tratamento com o metalocomplexo nas concentrações descritas, revela a importância deste

composto, pois a necrose celular poderia desencadear o derramamento do conteúdo intracelular e causar danos nos tecidos e órgãos adjacentes. Assim, o tratamento utilizado pode ser considerado mais seguro quando comparado aos controles positivos já que houve um alto percentual de células necrosadas, quando comparadas ao controle negativo (ZAPLETAL *et al.*, 2023). Na apoptose tardia, observamos que na concentração de 10 $\mu$ M temos um resultado significativo ( $p < 0,0001$ ), mais de 50% morreram por meio deste processo com este tratamento, resultado maior que o controle positivo, a cisplatina, que já é um quimioterápico, revelando-se um metalocomplexo promissor para continuação dos estudos.

O percentual de células viáveis observado graficamente é condizente com todos os outros dados observados. No controle positivo (cisplatina), na concentração maior e na concentração média do tratamento com o metalocomplexo em estudo, houve uma redução significativa da quantidade de células viáveis. Atestando assim, que as células morreram por apoptose, podendo ser em decorrência dos danos causados no DNA que podem estar associados a parada do ciclo celular na fase G0-G1, como demonstrado nos testes de análise do ciclo celular e também como resposta a indução de formação de espécies reativas de oxigênio que este composto é capaz de gerar. Este resultado atesta a eficácia do tratamento utilizado mostrando que o composto possui atividade citotóxica que inibe a proliferação celular.

No estudo conduzido por Zhang e colaboradores (2019), como citado anteriormente, eles também analisaram a indução de apoptose e necrose nas células HeLa. E após o tratamento com o complexo, eles utilizaram o teste de Western blot para verificar a expressão de proteínas envolvidas na apoptose via mitocondrial, sendo elas, citocromo c, apaf-1 e bcl-2. Foi possível observar que os níveis de bcl-2 (responsável por codificar uma proteína que atua como inibidor da apoptose) foram diminuídos e as outras proteínas, apaf-1 e citocromo c, tiveram seus níveis aumentados, comprovando assim a morte induzida por apoptose. Além disso, eles avaliaram a indução de caspase-3 e caspase-9 comprovando a morte via apoptose. Apesar de os ligantes serem diferentes do composto estudado neste trabalho, quando comparamos os resultados, percebemos que o cobre complexado tanto do presente estudo quanto ao do relatado por Zhang, apresentam excelente

atividade antineoplásica com diferentes respostas em relação as mudanças dos ligantes, como também em relação aos tipos celulares testados fazendo com que as células tumorais sofram apoptose.

Já no trabalho executado por Shao e colaboradores (2019), como dito anteriormente, eles sintetizaram um composto de cobre contendo trifenilfosfina, e os testes foram realizados em células de hepatoma celular. Por meio destes testes foi comprovado o desencadeamento da via apoptótica mitocondrial por via intrínseca, já que houve perda do potencial de membrana mitocondrial, e também foi comprovada a ativação de caspases 3 e 9 e diminuição da bcl-2. Além disso foi validada a superprodução de ROS que provavelmente desencadeou o processo de apoptose, como foi perceptível no presente estudo.

Hu e colaboradores (2021), sintetizaram e caracterizaram três complexos de cobre com aroíhidrazona, dentre eles o complexo 3 apresentou melhor resultado para as células do câncer de mama MCF-7, com o IC50 de 0,54µM. No ensaio para análise da indução de apoptose, o percentual de células na apoptose inicial atingiu 15% na maior concentração do tratamento (1µM) e 34,2% na apoptose tardia, também na maior concentração do tratamento. No presente estudo somente apoptose tardia foi detectada, mas o percentual encontrado foi maior que 50% das células tratadas, porém a concentração utilizada foi de 10µM.

Nos trabalhos de Poloni e colaboradores (2019), e Machado e colaboradores (2021) as células também sofreram apoptose após o tratamento com os complexos metálicos a base de cobre. Uma das maneiras de explicar este resultado é devido ao fato dos compostos serem capazes de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio e o aprisionamento das células na primeira fase do ciclo celular. No trabalho de Machado e colaboradores (2021), a indução de apoptose foi avaliada por meio de PCR em tempo real dos genes da via apoptótica, bcl-2 e Caspase 3. E para as células B16F10 obtiveram a regulação negativa de bcl-2 (responsável por codificar uma proteína que atua como inibidor da apoptose) e a regulação positiva de Caspase-3 (Proteína iniciadora e executora da apoptose), indicando assim, que as células passaram pela via apoptótica após o tratamento com o complexo. No trabalho de Poloni e colaboradores (2019), assim como no presente trabalho, a detecção da apoptose foi realizada por meio do teste de coração com anexina e

iodeto de propídeo (IP) e como resultado, descobriram que o composto também é capaz de induzir a apoptose tardia, mostrando-se dependente da concentração utilizada, sendo que, nas concentrações de 10µM foi de 90,5% e na concentração de 50µM foi de 96,1%, corroborando com os resultados obtidos com o complexo [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>).

De acordo com Silva e colaboradores (2025), ligantes heterocíclicos tornam os compostos de cobre mais ativos, como a fenantrolina utilizada como ligante neste estudo, sendo assim, exibe uma ação antitumoral mais efetiva contra diversas linhagens tumorais por meio da indução de ROS e consequente apoptose.

## **Conclusão**

A partir dos dados obtidos concluímos que o [Cu(Shyd)(phen)(acn)(ClO<sub>4</sub>)](ClO<sub>4</sub>), apresentou atividade antitumoral frente as células cancerígenas humanas investigadas, sobretudo a PC-3 (células do câncer de próstata) onde obteve maior citotoxicidade (IC<sub>50</sub> = 5,97 µM) e consequente prosseguimento dos testes. Este trabalho nos mostra que apesar da baixa seletividade (1:1) este composto é muito promissor já que estudos posteriores poderiam trabalhar com a molécula utilizando ferramentas de química medicinal como o bioisosterismo para alteração de seus ligantes ou modificando sua liberação (como entrega por nanotecnologia). Além disso, este composto mostrou-se capaz de agir de várias formas na célula tumoral, acarretando sua morte por aprisionamento das células na fase G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> do ciclo celular, induzindo produção de ROS e consequente apoptose tardia. Portanto, este composto pode ser considerado propício para um futuro candidato a agente quimioterápico, porém são necessários mais testes para melhoria dos resultados e da sua eficácia frente células tumorais.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADELUSI, Temitope Isaac *et al.* Molecular modeling in drug discovery. **Informatics In Medicine Unlocked**, [S.L.], v. 29, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100880>
- ABU-RUSTUM, Nadeem R *et al.* "NCCN Guidelines® Insights: Cervical Cancer, Version 1. 2024." **Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN** vol. 21,12 (2023): 1224-1233. doi:10.6004/jnccn.2023.0062 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38081139/>
- AMINPOUR, Maral *et al.* An Overview of Molecular Modeling for Drug Discovery with Specific Illustrative Examples of Applications. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 9, p. 1693, 30 abr. 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24091693>
- ARIKRISHNAN, Sathiavani *et al.* Ternary Copper (II) Complex Induced Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Colorectal Cancer Cells. **Anticancer Agents Med Chem.** 2022;22(5):999-1011.doi:10.2174/1871520621666210708100019. <https://www.eurekaselect.com/article/116556>
- ARJMAND, Babak *et al.* Molecular Docking as a Therapeutic Approach for Targeting Cancer Stem Cell Metabolic Processes. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, 21 fev. 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.768556>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COBRE (ABCOBRE). Entenda as principais características e aplicações do cobre. Disponível em: <https://abcobre.org.br/entenda-as-principais-caracteristicas-e-aplicacoes-do-cobre/>. Acesso em: Dezembro, 2024.
- BARZAMAN, Khadijeh *et al.* Breast cancer: biology, biomarkers, and treatments. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 84, p. 106535, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106535>



BISWAS, Samik *et al.* A mononuclear N,N,N,O donor schiff base Cu(II) complex inhibits bacterial biofilm formation and promotes apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer cells. **J Inorg Biochem.** 2023;247:112314. doi:10.1016/j.jinorgbio.2023.112314

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013423001964?via%3Dihub>

BONTEMPO, Nayara J. S *et al.* Copper(II) Complex Containing 4-Fluorophenoxyacetic Acid Hydrazide and 1,10-Phenanthroline: A Prostate Cancer Cell-Selective and Low-Toxic Copper(II) Compound. **Molecules** 2022, 27, 7097. <https://doi.org/10.3390/molecules27207097>

CHEUNG, Eric C., VOUSDEN, Karen H. The role of ROS in tumour development and progression. **Nat Rev Cancer.** 2022 May;22(5):280-297. PMID: 35102280. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00435-0>

CORONA-MOTOLINIA, Nidia D. *et al.* Synthesis, Crystal Structure, and Computational Methods of Vanadium and Copper Compounds as Potential Drugs for Cancer Treatment. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 20, p. 4679, 14 out. 2020. MDPI AG. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/20/4679>

CROZIER, Lisa *et al.* CDK4/6 inhibitors induce replication stress to cause long-term cell cycle withdrawal. **EMBO J.** 2022; 41(6):e108599. doi:10.15252/embj.2021108599 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35037284>

D'ARCY, Mark S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. **Cell Biol Int.** 2019;43(6):582-592. doi:10.1002/cbin.11137 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30958602>

DOBRUCH-SOBCZAK, Katarzyna *et al.* Immunohistochemical subtypes of the breast cancer in the ultrasound and clinical aspect – literature review. **Journal Of Ultrasonography**, [S.L.], v. 22, n. 89, p. 93-99, 13 abr. 2022. <http://dx.doi.org/10.15557/jou.2022.0016>

FANTONI, Nicolò Zuin *et al.* DNA-Targeted Metallodrugs: an untapped source of artificial gene editing technology. *Chembiochem*, [S.L.], v. 22, n. 13, p. 2184-2205, 9 abr. 2021. Wiley. <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbic.202000838>

FIGUEROA-DEPAZ, Yeshenia *et al.* "Casiopéinas of Third Generations: Synthesis, Characterization, Cytotoxic Activity and Structure-Activity Relationships of Mixed Chelate Compounds with Bioactive Secondary Ligands." **Molecules** (Basel, Switzerland) vol. 27,11 3504. 30 May. 2022, doi:10.3390/molecules27113504 <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9182210/>

GAŁCZYŃSKA, Katarzyna *et al.* Copper(II) complex with 1-allylimidazole induces G2/M cell cycle arrest and suppresses A549 cancer cell growth by attenuating Wnt, JAK-STAT, and TGF- $\beta$  signaling pathways. **J Inorg Biochem.** 2025;264:112791. doi:10.1016/j.jinorgbio.2024.112791. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013424003167>

GANCI, Daniela *et al.* Harnessing redox reactions for anticancer effects: A copper(II) Schiff base complex induces apoptosis in HepG2 liver cancer cells via ROS generation. **J Inorg Biochem.** 2025;270:112938. doi:10.1016/j.jinorgbio.2025.112938 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013425001187?via%3Dihub>

GLOBAL CANCER OBSERVATORY (GLOBOCAN). Cancer today. Globocan 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-heatmap?mode=population>. Acesso: 23/06/2025

GE, Eva J. *et al.* Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia. **Nat Rev Cancer.** 2022;22(2):102-113. doi:10.1038/s41568-021-00417-2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34764459/>

GOODMAN, Louis Sanford; GILMAN, Alfred. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 13. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2018 <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3191&sectionid=269307218>

GUO, Weihong *et al.* The disulfiram/copper complex induces apoptosis and inhibits tumour growth in human osteosarcoma by activating the ROS/JNK signalling pathway. **J Biochem.** 2021;170(2):275-287. doi:10.1093/jb/mvab045 <https://academic.oup.com/jb/article/170/2/275/6207973?login=true>

HU, Xia *et al.* Photoinduced DNA Cleavage and Photocytotoxic of Phenanthroline-Based Ligand Ruthenium Compounds. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 11, p. 3471, 7 jun. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26113471>

HUNTER, Benjamin; HINDOCHA, Sumeet; LEE, Richard W. The Role of Artificial Intelligence in Early Cancer Diagnosis. **Cancers**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 1524, 16 mar. 2022. <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/6/1524>

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer de mama: vamos falar sobre isso?. Disponível em: [https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/14911/1/Cartilha\\_c%C3%A2ncer\\_de\\_mama\\_2023\\_8\\_ed.pdf](https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/14911/1/Cartilha_c%C3%A2ncer_de_mama_2023_8_ed.pdf). Acesso em: ago.2024

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer de próstata. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/prostata>. Acesso em: maio 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Cirurgia no tratamento do câncer. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento/cirurgia>. Acesso em: ago. 2024

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Manual de Oncologia - 29ª edição. Disponível em: [https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//manual\\_oncologia\\_29a\\_edicao\\_-\\_junho\\_2022.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//manual_oncologia_29a_edicao_-_junho_2022.pdf). Acesso em: maio 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). O que é câncer?. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>. Acesso em: junho 2024

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Radioterapia no tratamento do câncer. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento/radioterapia>. Acesso em: junho 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Tratamento: Quimioterapia. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento/quimioterapia>. Acesso em: maio 2025.

JAMASBI, Elaheh *et al.* The cell cycle, cancer development and therapy. **Mol Biol Rep** **49**, 10875–10883 (2022). <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-022-07788-1>

JIANG, Yicheng *et al.* Copper-induced tumor cell death mechanisms and antitumor theragnostic applications of copper complexes. **Nanomedicine (Lond)**. 2022;17(5):303-324.doi:10.2217/nnm-2021-0374  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35060391/>

JOAQUI-JOAQUI, M. Andrey *et al.* Metallointercalators-DNA Tetrahedron Supramolecular Self-Assemblies with Increased Serum Stability. **Acs Nano**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 2928-2941, 8 fev. 2022.  
<http://dx.doi.org/10.1021/acsnano.1c10084>

KHEIRDOOSH, Fahimeh *et al.* Multi-spectroscopic and molecular docking studies on the interaction of neotame with calf thymus DNA. **Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids**, v. 39, n. 5, p. 699–714, 3 maio 2020.  
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15257770.2019.1680999>

LIMA, Paula M. A. P. *et al.* Cu(bta)(1,10-phen)ClO<sub>4</sub> copper complex modulates the carcinogenicity of carboplatin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Genetics and Molecular Biology (online version)**, v. 47, p. 1-12, 2024  
<https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2023-0366>

LOPES, Jeyson C. *et al.* In vitro and in vivo antitumoral activity of a ternary copper (II) complex. **Biochem Biophys Res Commun.** 2020;533(4):1021-1026. doi:10.1016/j.bbrc.2020.09.104

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33012510>

LÓPEZ-CODONY, Victoria *et al.* Assessing the reduction of viral infectivity in HPV16/18-positive women after one, two, and three doses of Gardasil-9 (RIFT): Study protocol. **PLoS One.** 2024;19(5):e0304080. Published 2024 May 20. doi:10.1371/journal.pone.0304080

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38768231/>

MACHADO, Pedro H. A. *et al.* A selective Cull complex with 4-fluorophenoxyacetic acid hydrazide and phenanthroline displays DNA-cleaving and pro-apoptotic properties in cancer cells. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 24450, 27 dez. 2021.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34961767/>

MALEKIRAD, Ali Akbar *et al.* Oxidative stress and copper smelter workers. **Toxicology**, [S.L.], p. 119-126, 2021. Elsevier

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128190920000133?via%3Dihub>

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Como se comportam como células cancerosas?. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer/como-se-comportam-as-celulas-cancerosas>. Acesso em: 13 abr. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Como surge o câncer?. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>. Acesso em: agosto 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Tipos de câncer: Pelé - Melanoma. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pele-melanoma>.

Acesso em: agosto 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Transplante de Medula Óssea no tratamento do câncer. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento/transplante-de-medula-ossea> . Acesso em: agosto 2024

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas e Agravos não Transmissíveis no Brasil 2021-2030. Brasília : Ministério da Saúde, 2021. [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt/09-plano-de-dant-2022\\_2030.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt/09-plano-de-dant-2022_2030.pdf)

MOLLAEI, Mojtaba *et al.* Chemotherapeutic drugs: Cell death- and resistance-related signaling pathways. Are they really as smart as the tumor cells?. **Transl Oncol.** 2021;14(5):101056. doi:10.1016/j.tranon.2021.101056

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1936523321000486?via%3Dihub>

NODA, Yuko *et al.* High risk of hazardous drug exposure in caregivers of pediatric cancer patients. **Pediatric Blood & Cancer**, [S.L.], v. 68, n. 6, 25 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pbc.29019>

NIU, Dongqin *et al.* The copper (II) complex of salicylate phenanthroline inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. **Environ Toxicol.** 2023;38(6):1384-1394. doi:10.1002/tox.23771

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/tox.23771>

OLUSOLA, Patti *et al.* Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer and Health Disparities. **Cells.** 2019;8(6):622. Published 2019 Jun 21. doi:10.3390/cells8060622 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31234354>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Breast cancer now most common form of cancer: WHO taking action. Disponível em: [https://www.who.int/pt/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-takingaction#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20de%20mama%20ultrapassou,IARC\)%20em%20dezembro%20de%202020](https://www.who.int/pt/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-takingaction#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20de%20mama%20ultrapassou,IARC)%20em%20dezembro%20de%202020). Acesso em: 10 de ago. 2024

POLLONI, Lorena *et al.* Action of copper(II) complex with  $\beta$ -diketone and 1,10-phenanthroline (CBP-01) on sarcoma cells and biological effects under cell death. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 112, p. 108586, 2019. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30784909/>

RICCARDI Claudia, PICCOLO Marialuisa. Metal-Based Complexes in Cancer. **Int J Mol Sci**. 2023;24(8):7289. Published 2023 Apr 14. doi:10.3390/ijms24087289 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37108457/>

RIVERO-BUCETA, Eva *et al.* Prostate cancer chemotherapy by intratumoral administration of Docetaxel-Mesoporous silica nanomedicines, **International Journal of Pharmaceutics**, Volume 664, 2024,124623, ISSN 0378-5173, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124623>.

RUI Rui, ZHOU Liqun, HE Shiming. Cancer immunotherapies: advances and bottlenecks. **Front Immunol**. 2023;14:1212476. Published 2023 Aug 24. doi:10.3389/fimmu.2023.1212476 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37691932/>

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Ángel *et al.* Influence of conventional hydrogen bonds in the intercalation of phenanthroline derivatives with DNA: the important role of the sugar and phosphate backbone. **Journal Of Computational Chemistry**, [S.L.], v. 43, n. 11, p. 804-821, 17 mar. 2022. <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.26836>

SEKHOACHA, Mamello *et al.* Prostate Cancer Review: genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 17, p. 5730, 5 set. 2022. MDPI AG. <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/17/5730>

SHAO, Jiangjuan *et al.* TPP-related mitochondrial targeting copper (II) complex induces p53-dependent apoptosis in hepatoma cells through ROS-mediated activation of Drp1. **Cell Commun. Signal** 2019, 17, 149.

<https://link.springer.com/article/10.1186/s12964-019-0468-6>

SHI, J. H. *et al.* Binding interaction between sorafenib and calf thymus DNA: Spectroscopic methodology, viscosity measurement and molecular docking.

**Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, n. PB, p. 443–450, 5 fev. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.09.056>

SILVA, Clara M.F. *et al.* Innovative Approaches in the Synthesis and Optimization of Copper Complexes for Antitumor Therapies: A Comprehensive Review. **MOLECULES**, v. 30, p. 2104, 2025. <https://www.mdpi.com/1420-3049/30/10/2104>

SILVA, Priscila P. *et al.* Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper(II) with N-donor heterocyclic ligands. **J Inorg Biochem.** 2014;132:67-76. doi:10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24144484/>

SINGH, Ankit Kumar *et al.* Metal Complexes in Cancer Treatment: journey so far. **Chemistry & Biodiversity**, [S.L.], v. 20, n. 4, 13 mar. 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36824028/>

SOBRAFO, Sociedade Brasileira de Farmacêuticos em Oncologia. I Consenso Brasileiro para Boas Práticas de Preparo da Terapia Antineoplásica / Sociedade Brasileira de Farmacêuticos em Oncologia – Sobrafo. – São Paulo: Segmento Farma, 2014. 60 p. ISBN 978-85-7900-079-9. [https://sobrafo.org.br/publicacao\\_sobrafo/i-consenso-brasileiro-para-boas-praticas-de-preparo-da-terapia-antineoplasica-sobrafo](https://sobrafo.org.br/publicacao_sobrafo/i-consenso-brasileiro-para-boas-praticas-de-preparo-da-terapia-antineoplasica-sobrafo)

SOUZA, Ivínia P. de *et al.* Exploring the DNA binding, oxidative cleavage, and cytotoxic properties of new ternary copper(II) compounds containing 4-aminoantipyrine and N,N-heterocyclic co-ligands. **Journal of Molecular Structure**, Volume 1178, 2019, Pages 18-28, ISSN 0022-2860, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286018311815>



SUNG, Hyuna *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**, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021. <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>

VISSER Karin E., JOYCE Johanna A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. **Cancer Cell**. 2023;41(3):374-403. doi:10.1016/j.ccell.2023.02.016 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36917948>

WANG, Ling *et al.* Reactive oxygen species in immune cells: a new antitumor target. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 133, p. 110978, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110978>

WANG Richard C. WANG Zhixiang. Synchronization of Cultured Cells to G1, S, G2, and M Phases by Double Thymidine Block. **Methods Mol Biol**. 2022;2579:61-71. doi: 10.1007/978-1-0716-2736-5\_5. PMID: 36045198. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36045198/>

WANG, Zhixiang. Cell Cycle Progression and Synchronization: An Overview. **Methods Mol Biol**. 2022;2579:3-23. doi: 10.1007/978-1-0716-2736-5\_1. PMID: 36045194. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36045194>

WASIM Sobia, LEE Sang-Yoon, KIM Jaehong. Complexities of Prostate Cancer. **Int J Mol Sci**. 2022;23(22):14257. Published 2022 Nov 17. doi:10.3390/ijms232214257 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36430730/>

WILD Christopher P., WEIDERPASS Elisabete, STEWART Bernard W., eds. *World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention*. Lyon (FR): **International Agency for Research on Cancer**; 2020. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39432694>

WHITELEY, Andrew E., *et al.* Leukaemia: a model metastatic disease. **Nat Rev Cancer**. 2021;21(7):461-475. doi:10.1038/s41568-021-00355-z. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8722462/>. Acesso em 23 abril 2025.

ZAPLETAL, Emilija *et al.* Dialog beyond the Grave: necrosis in the tumor microenvironment and its contribution to tumor growth. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 5278, 9 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24065278>

ZHANG, Yun-Liang *et al.* Synthesis and in vitro antitumor activity evaluation of copper(II) complexes with 5-pyridin-2-yl-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinoline derivatives. **J Inorg Biochem.** 2019;201:110820. doi:10.1016/j.jinorgbio.2019.110820 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013419303356?via%3Dihub>