



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

**Investigação dos efeitos citotóxicos e mecanismos de ação de
metalocomplexos em células tumorais: Uma busca por novos
quimioterápicos mais eficazes e seguros**

Discente: Clara Maria Faria Silva

Orientador: Robson José de Oliveira Júnior

UBERLÂNDIA - MG
2023



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

**Investigação dos efeitos citotóxicos e mecanismos de ação de
metalocomplexos em células tumorais: Uma busca por novos
quimioterápicos mais eficazes e seguros**

Discente: Clara Maria Faria Silva

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 (Área
Genética).**

UBERLÂNDIA - MG

2023

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

S586
2023

Silva, Clara Maria Faria, 1999-
Investigação dos efeitos citotóxicos e mecanismos de
ação de metalocomplexos em células tumorais [recurso
eletrônico] : Uma busca por novos quimioterápicos mais
eficazes e seguros / Clara Maria Faria Silva. - 2023.

Orientadora: Robson José de Oliveira Júnior.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Genética e Bioquímica.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.659>
Inclui bibliografia.

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
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**Investigação dos efeitos citotóxicos e mecanismos de ação de
metalocomplexos em células tumorais: Uma busca por novos
quimioterápicos mais eficazes e seguros**

DISCENTE: CLARA MARIA FARIA SILVA

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Robson José de Oliveira Júnior (Orientador)

Examinadores:

Prof.^a Dr.^a Anna Paula de Sá Borges

Prof.^a Dr.^a Ligia Nunes de Moraes Ribeiro

Data da Defesa: 28 /12 /2023

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas do PPGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

(Prof. Dr. Robson José de Oliveira Júnior)



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:	Dissertação de Mestrado Acadêmico/PPGGB				
Data:	Vinte e oito de dezembro de dois mil e vinte e três	Hora de início:	09:01h	Hora de encerramento:	09:31h
Matrícula do Discente:	12122GBI001				
Nome do Discente:	Clara Maria Faria Silva				
Título do Trabalho:	Investigação dos efeitos citotóxicos e mecanismos de ação de metalocomplexos em células tumorais: Uma busca por novos quimioterápicos mais eficazes e seguros.				
Área de concentração:	Genética				
Linha de pesquisa:	Estrutura, função, caracterização de biomoléculas e compostos bioativos e suas aplicações.				
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 (III) bioativos.				

Aos vinte e oito dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e três, às 09:01h, 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 (Orientador), Anna Paula de Sá Borges e Ligia Nunes de Moraes Ribeiro. 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 **Lígia Nunes de Moraes Ribeiro, Usuário Externo**, em 28/12/2023, às 10:53, 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 **Robson José de Oliveira Junior, Presidente**, em 28/12/2023, às 11:12, 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 **Anna Paula de Sá Borges, Usuário Externo**, em 28/12/2023, às 11:13, 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, informando o código verificador **5042337** e o código CRC **172D2059**.

Dedico este trabalho a mim e a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, para seu acontecimento.

*"As palavras são, na minha não tão humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia. Capazes de ferir e de curar."
Alvo Dumbledore, em "Harry Potter e a Câmara Secreta".*

Agradecimentos

Observando e analisando toda a minha trajetória e deste trabalho até chegar aqui, tenho que agradecer a muitas pessoas que foram importantes durante todo esse processo.

Primeiramente, agradeço minha família, principalmente meus pais Claudia e Valério, e à minha irmã Vitória, que me apoiaram ao longo de todo o processo da minha dissertação e do mestrado.

Aos meus amigos, que não correrei o perigo de citar nomes com medo de esquecer alguém, porém estiveram comigo me incentivando, apoiando e colaborando para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao Prof. Dr. Robson José de Oliveira Júnior que me acolheu em seu laboratório desde o primeiro momento, contribuindo e colaborando para o meu crescimento e desenvolvimento no meio acadêmico. Além de me proporcionar inúmeras experiências e oportunidades como discente e profissional.

A todos do LABCITOGEN, que acompanharam todo o meu processo nestes últimos dois anos e que se tornaram meus amigos e companheiros de jornada. Em especial, aos mestres Ricardo e Pedro, que me ensinaram muito durante este tempo, e à mestre Mariana que me acompanhou em todos os experimentos.

A UFU e aos órgãos CAPES, CNPq e FAPEMIG por manterem e fomentarem o laboratório e o programa PPGGB dos quais faço parte.

Aos laboratórios parceiros (Nanos, LABITOX, LABIFIR, LABIBI e LASFAR) que disponibilizaram o uso de equipamentos e reagentes necessários na execução deste estudo.

Por último, e não menos importante, a todos aqueles que de alguma maneira me ajudaram e estiveram ao meu lado, os meus sinceros agradecimentos!

Resumo

O câncer se tornou uma das enfermidades que mais acomete pessoas em todo mundo. Uma alternativa de tratamento amplamente utilizada é o uso de quimioterápicos, contudo, estes medicamentos possuem vários efeitos colaterais, o que incentiva a busca por novas moléculas com maior eficácia e mais seguras para o indivíduo. Deste modo, a utilização de metalocomplexos parece ser bem promissora, assim como, desvendar seus mecanismos de ação. O objetivo deste trabalho, foi investigar as características de ligação e efeitos citotóxicos de vários metalocomplexos e analisar os mecanismos de ação do complexo CUDOPHEN. Para isso utilizou, testes *in silico* como *docking* molecular e ensaios *in vitro* como citotoxicidade, análise de ciclo celular, quantificação de espécies reativas de oxigênio e bolsões autofágicos e ensaio de apoptose e necrose. Os resultados obtidos, mostraram uma baixa citotoxicidade de vários metalocomplexos e um índice de seletividade não desejável, contudo o complexo CUDOPHEN demonstrou moderada citotoxicidade para vários tipos tumorais. Além disso, tal composto mostra uma significativa taxa de produção de espécies reativas de oxigênio e de bolsões autofágicos à medida que se aumenta a concentração do tratamento. Também é visto que o CUDOPHEN possui a capacidade de reduzir o crescimento de células tumorais e aprisionar as mesmas na fase G0-G1 do ciclo celular. Os resultados negativos da maioria dos compostos testados mostram a dificuldade em encontrar moléculas com capacidade antineoplásica, porém os resultados do CUDOPHEN se mostram promissores para a utilização do mesmo como um quimioterápico, embora, para estudos futuros deve-se melhorar a seletividade do metalocomplexo ou analisar uma possível forma de *delivery* capaz de auxiliar no aumento de sua seletividade.

Palavras-chave: *Docking* molecular, autofagia, espécies reativas de oxigênio, antitumoral, metais de transição.

Abstract

Cancer has become one of the diseases that most affects people around the world. A widely used treatment alternative is the use of chemotherapy drugs, however, these medications have several side effects, which encourages the search for new molecules that are more effective and safer for the individual. Therefore, the use of metallocomplexes appears to be very promising, as well as unveiling their mechanisms of action. The objective of this work was to investigate the binding characteristics and cytotoxic effects of various metallocomplexes and analyze the mechanisms of action of the CUDOXPHEN complex. For this purpose, *in silico* tests such as molecular docking and *in vitro* tests such as cytotoxicity, cell cycle analysis, quantification of reactive oxygen species and autophagic pockets and apoptosis and necrosis assay were used. The results obtained showed a low cytotoxicity of several metallocomplexes and an undesirable selectivity index, however the CUDOXPHEN complex demonstrated moderate cytotoxicity for several tumor types. Furthermore, this compound shows a significant production rate of reactive oxygen species and autophagic pockets as the treatment concentration increases. It is also seen that CUDOXPHEN has the ability to reduce the growth of tumor cells and trap them in the G0-G1 phase of the cell cycle. The negative results of most of the compounds tested show the difficulty in finding molecules with antineoplastic capacity, however the results from CUDOXPHEN show promise for its use as a chemotherapy drug, although for future studies the selectivity of the metallocomplex must be improved or analyzed a possible form of delivery capable of helping to increase your selectivity.

Keywords: Molecular docking, autophagy, reactive oxygen species, antitumor, transition metals.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Porcentagem de acometimento e mortes dos principais tipos de câncer no mundo em ambos os sexos. (GLOBOCAN, 2020). Editada pelo autor. 3
- Figura 2** – Distribuição de casos e mortes dos principais tipos de câncer em todo o mundo em ambos os sexos por continentes e suas regiões (SUNG et al., 2021). Editada pelo autor. 4
- Figura 3** – Representação esquemática de possíveis modos de interações complexos-DNA (BARRA & NETTO, 2015)..... 17
- Figura 4** – Estrutura química e tridimensional dos complexos ML33, ML34, ML42, ML44 e ML52, respectivamente da letra “a” até letra “e”. 26
- Figura 5** – Estrutura química e tridimensional dos ligantes dos complexos ML33, ML34, ML42, ML44 e ML52, respectivamente da letra “a” até letra “e”. 27
- Figura 6** – Estrutura química e tridimensional dos complexos [Pd(CPL)Cl₂] na letra “a” e composto [Pd(OFL)Cl₂] na letra “b”. 28
- Figura 7** – Estrutura química e tridimensional dos ligantes Ciprofloxacina (CPL) letra “a”, e Ofloxacina (OFL) letra “b”. 28
- Figura 8** – Estrutura química e tridimensional dos ligantes dos complexos cis-[PtCl₂(4NH)₂], cis-[PtCl₂(4TF)₂], cis-[PtCl₂(BH)₂], respectivamente da letra “a” até “c”. 29
- Figura 9** – Estrutura química e tridimensional dos complexos cis-[PtCl₂(4NH)₂], cis-[PtCl₂(4TF)₂], cis-[PtCl₂(BH)₂], respectivamente da letra “a” até “c”. 30
- Figura 10** – Complexo ML57: Letra “a” representa a estrutura química e tridimensional do complexo ML57, letra “b” representa a estrutura química e tridimensional do ligante do complexo ML57..... 30

Figura 11 – Complexo VH01: Letra “a” representa a estrutura química e tridimensional do complexo VH01, letra “b” representa a estrutura química e tridimensional do ligante do complexo VH01.....	31
Figura 12 – Complexo CUDOXPHEN: Letra “a” representa a estrutura química e letra “b” estrutura tridimensional.	32
Figura 13 – Interação entre ML33 com a molécula de DNA.	39
Figura 14 – Interação entre ML34 com a molécula de DNA.	39
Figura 15 – Interação entre ML42 com a molécula de DNA.	39
Figura 16 – Interação entre ML44 com a molécula de DNA.	40
Figura 17 – Interação entre ML52 com a molécula de DNA.	40
Figura 18 – Interação entre ML57 com a molécula de DNA.	40
Figura 19 – Interação entre CPL com a molécula de DNA.	41
Figura 20 – Interação entre OFL com a molécula de DNA.	41
Figura 21 – Interação entre VH01 com a molécula de DNA.	41
Figura 22 – Interação entre PT4NH com a molécula de DNA.	42
Figura 23 – Interação entre PT4TF com a molécula de DNA.	42
Figura 24 – Interação entre PTBH com a molécula de DNA.	42
Figura 25 – Interação entre CUDOXPHEN com a molécula de DNA.	43
Figura 26 – Ampliação da interação entre CUDOXPHEN-DNA mostrando as ligações de hidrogênio como esferas verdes.....	43
Figura 27 – Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação de espécies reativas de oxigênio com H2DCF-DA na linhagem tumorigênica MDA-MB-231.....	46

Figura 28 – Histogramas representativos das fases do ciclo celular de células tumorigênicas MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações de CUDOXPHEN (4 μ M, 8 μ M e 16 μ M).....	47
Figura 29 – Micrografia de epifluorescência, porcentagem de células MDA-MB-231 apoptóticas medidas por citometria de fluxo e histograma representativo do tipo de morte celular induzida pelos tratamentos na linha celular tumoral MDA-MB-231 com 4 μ M, 8 μ M e 16 μ M de CUDOXPHEN.....	48
Figura 30 – Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação dos vacúolos autofágicos com MDC na linhagem tumorigênica MDA-MB-231.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Energia das interações entre metalocomplexos e a molécula de DNA, número de ligações de hidrogênio entre as interações, tipo de intercalação e sulco de interação..... 38

Tabela 2 – IC₅₀ e Índice de seletividade (IS) dos metalocomplexos nas linhagens utilizadas..... 44

Tabela 3 – IC₅₀ e Índice de seletividade (IS) do metalocomplexo CUDOXPHEN nas linhagens utilizadas. 45

LISTA DE ABREVIATURAS

B16-F10 – Melanoma murino

CPL – Ciprofloxacina

DMEN – Meio Eagle modificado por Dulbecco

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DOX – Doxíciclina

DRE – Exame digital retal

EGF – Fator de crescimento epidérmico

EMT – Transição epitélio mesenquima

FEMAMA – Federação Brasileira de Instituições Filantrópicas de Apoio a Saúde da Mama

FEN ou PHEN – Fenantrolina

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics

GBM – Glioblastoma multiforme

HeLa – Tumor epitelial de colo de útero

HFF – Fibroblasto humano

HPV – Papiloma vírus humano

IAP – Proteína inibidora apoptótica

IDH 1 – Isocitrato desidrogenase 1

IC₅₀ – Dose de 50% da viabilidade celular

INCA – Instituto Nacional do Câncer

PI ou IP – Iodeto de propídeo

IS – Índice de seletividade

MCF-10A – Tecido epitelial de mama

MDA-MB-231 – Tumor epitelial de mama

MDC – monodansilcadaverina

NIH-3T3 – Fibroblasto murino

OFL – Ofloxacina

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

PC-3- Tumor epitelial de próstata

PDB – Base de dados de proteínas

PNT-2 – Tecido epitelial de próstata
PSA – Antígeno prostático específico
RNA – Ácido ribonucleico
ROS – Espécies reativas de oxigênio
RPMI 1640 – Roswell Park Memorial Institute
SFB – Soro fetal bovino
U-87 – Glioblastoma
UICC – União Internacional Contra o Câncer
TNM – Tumor, nódulos linfáticos e metástases
VEGF – Fatores de crescimento endotelial vascular
VH01 – cis-[Pt(hidrazona)₂Cl₂]

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Câncer: Conceito e Formação.....	1
1.2 Câncer: Epidemiologia, diagnóstico e tratamentos	2
1.2.1 Câncer de pele: Melanoma	8
1.2.2 Câncer de Mama	10
1.2.3 Câncer de Próstata	11
1.2.4 Câncer de Colo de Útero	12
1.2.5 Glioblastoma	13
1.2.6 Quimioterapia e Quimioterápicos.....	14
1.3 Compostos Metálicos: Metalocomplexos	17
1.3.1 Complexos de Platina.....	18
1.3.2 Complexos de Paládio.....	19
1.3.3 Complexos de Cobre	20
1.4 Aplicação de antibióticos no tratamento do câncer.....	21
1.5 Modelagem molecular	22
1.5.1 Docking Molecular	23
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral.....	24
2.2 Objetivos específicos.....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 Metalocomplexos	25
3.1.1 Complexos de paládio (ML 33, ML 34, ML 42, ML44, ML 52)	25
3.1.2. Complexos de paládio com antibióticos: $[Pd(CPL)Cl_2]$ e $[Pd(OFL)Cl_2]$	27
3.1.3. Complexo de Platina: $cis-[PtCl_2(4NH)_2]$, $cis-[PtCl_2(4TF)_2]$, $cis-[PtCl_2(BH)_2]$	28
3.1.4. Complexo de platina ML 57	30
3.1.5. Complexo de platina $cis-[Pt(hidrazona)_2Cl_2]$ ou VH01	31

3.2 Síntese e caracterização do [Cu (doxiciclina)(1,10-fenantrolina).....	31
(H ₂ O)(ClO ₄)](ClO ₄)	31
3.3 <i>Docking</i> molecular	32
3.4 Manutenção das linhagens celulares	33
3.5 Ensaio de redução da resazurina.....	34
3.5.1 <i>Índice de seletividade (IS)</i>	34
3.6 Ensaio de Apoptose e Necrose	35
3.7 Ensaio de análise do ciclo celular	35
3.8 Ensaio de Autofagia	36
3.9 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS).....	37
3.10 Tratamento de dados	37
4. RESULTADOS	38
4.1 <i>Docking</i> Molecular.....	38
4.2 Ensaio de redução da resazurina.....	43
4.3 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS).....	45
4.4 Análise do ciclo celular.....	46
4.5 Ensaio de Apoptose e Necrose	47
4.6 Ensaio de Autofagia	48
5. DISCUSSÃO	49
5.1 <i>Docking</i> Molecular.....	49
5.2 Ensaio de redução da resazurina.....	50

5.3 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS).....	51
5.4 Análise do ciclo celular.....	52
5.5 Ensaio de Apoptose e Necrose	52
6. CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer: conceito e formação

Segundo o Instituto Nacional do Câncer - INCA, o câncer é “um termo que abrange mais de cem diferentes tipos de doenças malignas que têm em comum o crescimento desordenado de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos a distância ” (INCA, 2022). Desta forma, o câncer é caracterizado por duas características principais: o seu poder de crescimento e capacidade de invasão.

As células tumorais apresentam características distintivas que as diferenciam das células normais, sendo conhecidas como "hallmarks" do câncer. Essas características incluem proliferação celular descontrolada, invasão tecidual e capacidade de metastatização, resistência à apoptose, indução de angiogênese para garantir suprimento sanguíneo, capacidade de evitar o sistema imunológico, instabilidade genômica e propensão a acumular mutações, além da resistência a sinais inibidores de crescimento (ROMERO *et al.*, 2021). Esses traços são adquiridos ao longo do desenvolvimento do câncer, contribuindo para a complexidade e heterogeneidade dessa doença.

As causas do câncer são diversas e complexas, e muitas vezes envolvem uma combinação de fatores genéticos e ambientais. Alguns dos fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento do câncer incluem idade avançada, tabagismo, exposição à radiação e substâncias químicas tóxicas, história familiar de câncer, dieta pouco saudável e falta de atividade física (CARVALHO *et al.*, 2021). Além destes, a exposição excessiva e prolongada a hormônios (estrógeno e progesterona) são exemplos de fatores que promovem a transformação de células pró-tumorais em tumorais (SALVADORI *et al.*, 2021).

Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Ou seja, quando se iniciam em tecidos epiteliais (pele ou mucosas), são denominados carcinomas. Porém, se o ponto de partida são os tecidos conjuntivos (osso, músculo ou cartilagem), são chamados sarcomas (WALDUM *et al.*, 2021).

O câncer pode ter início a partir de uma mutação genética provinda de uma alteração no DNA da célula. Esta alteração pode acontecer em genes denominados proto-oncogenes, que a princípio são inativos nas células normais. Contudo,

quando ativados, os proto-oncogenes tornam-se oncogenes, ocasionando na transformação das células saudáveis em células cancerosas (BROWN *et al.*, 2021).

O processo de carcinogênese ocorre em três estágios. O primeiro é o estágio de iniciação, onde o DNA sofre ação dos agentes cancerígenos, que provocam modificações em alguns de seus genes. Nessa fase, as células se encontram geneticamente alteradas, contudo, ainda não é possível detectar um tumor clinicamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O segundo estágio é o da promoção: as células mutadas sofrem o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores. Com isso, a célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Um ponto a ser observado neste estágio, é que para ocorrer essa transformação, é necessário um longo contato com o agente cancerígeno, e a suspensão do contato com agentes promotores muitas vezes interrompe o processo nesse estágio (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Por fim, o terceiro estágio é o da progressão: que se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Nesse estágio, o câncer já está instalado e continua evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Deste modo, carcinogênese ou oncogênese é o processo da formação do câncer, que acontece lentamente, podendo levar anos para que uma célula cancerosa se prolifere dando origem a um tumor visível. Além disso, este processo é determinado pela exposição a agentes carcinogênicos, levando-se em conta o tempo e a frequência desta exposição (RAMU *et al.*, 2021).

1.2 Câncer: epidemiologia, diagnóstico e tratamentos

O câncer é uma das doenças mais presente na sociedade atual, sendo capaz de ocasionar ampla variação de quadros, além de prejudicar diferentes órgãos e tecidos. Ele refere-se a um grupo de condições fisiopatológicas mais diagnosticadas e mortais em todo o mundo (PEREIRA-SILVA *et al.*, 2020).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2021 apontou que atualmente, uma em cada cinco pessoas em todo o mundo desenvolverá câncer durante a vida. As projeções sugerem que o número de pessoas diagnosticadas com câncer aumentará ainda mais nos próximos anos, e será quase 50% maior em 2040 do

que em 2020. O número de mortes por câncer também aumentou, de 6,2 milhões no ano de 2000 para 10 milhões em 2020 (OMS, 2021).

Nos últimos 20 anos, o número global de casos de câncer praticamente dobrou, saiu da marca de 10 milhões em 2000 e atingiu 19,3 milhões em 2020 (OMS, 2021). De acordo com as estimativas GLOBOCAN do ano de 2020 da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, aproximadamente 10 milhões de pessoas perderam a vida devido a essa enfermidade (Figura 1).

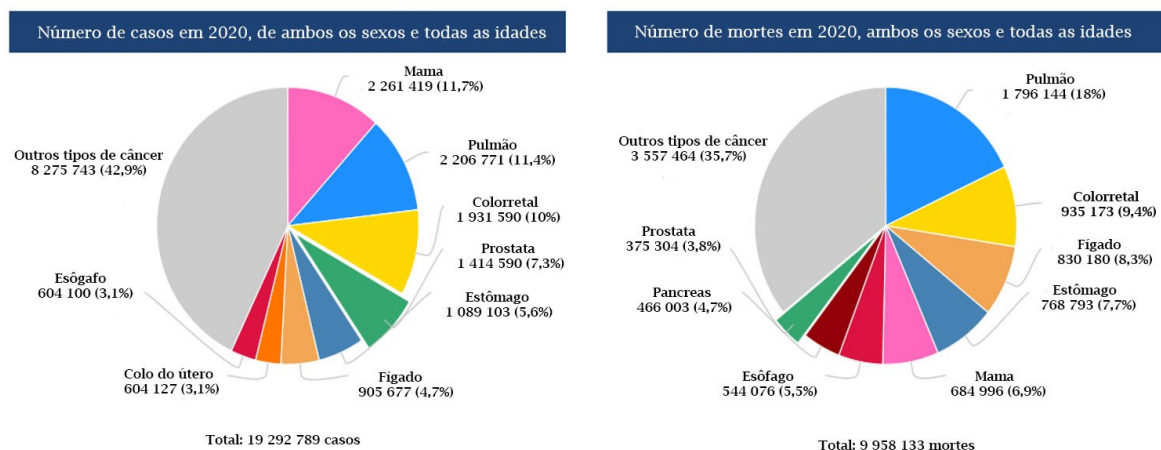


Figura 1 - Porcentagem de acometimento e mortes dos principais tipos de câncer no mundo em ambos os sexos. (GLOBOCAN, 2020). Editada pelo autor.

Estima-se que em 2020 metade de todos os novos casos e 58,3% das mortes por câncer ocorram na Ásia. Já a Europa responde por 22,8% do total de casos novos de câncer e 19,6% das mortes. As Américas ficam com 20,9% de incidência e 14,2% de mortalidade mundial. A África possui 5,7% dos novos casos de câncer no mundo e 7,2% de mortes. Por fim, a Oceania fica com o menor número de casos novos com 1,3% e uma mortalidade de 0,7%. Contudo, tais valores são dispostos deste modo, por causa da densidade populacional de cada continente. (Figura 2).

A cirurgia oncológica é um tipo de tratamento do câncer que consiste na retirada do tumor no corpo do paciente. O ato cirúrgico pode ter finalidade curativa, quando há detecção precoce do tumor e sendo possível sua retirada total, ou finalidade paliativa, quando o objetivo é de reduzir a quantidade de células tumorais ou de controlar sintomas que comprometam a qualidade de vida do paciente. Além disso, a cirurgia oncológica também é uma forma de avaliar a extensão da doença, podendo confirmar um prognóstico mais exato. Deste modo, em alguns casos, o estadiamento do câncer só é possível de ser certificado durante o ato cirúrgico (CHOW *et al.*, 2022).

O procedimento cirúrgico deve ser realizado sempre sob anestesia, em ambiente adequado e com material e equipe devidamente preparados para a intervenção. Além disso deve considerar simultaneamente aspectos técnicos, como o conhecimento sobre a doença e seu estágio de desenvolvimento, a retirada integral do tumor juntamente com uma margem de segurança para não deixar que a doença se espalhe durante o ato ou tenha uma recidiva, a retirada de todos os locais para onde a doença possa ter se espalhado (gânglios e outros órgãos); bem como aspectos relacionados ao adequado preparo do paciente e seus familiares sobre as alterações fisiológicas e/ou mutilações que poderão ocorrer por causa do tratamento cirúrgico (BIGNOLD *et al.*, 2020).

A radioterapia é o tratamento no qual se utilizam radiações ionizantes para destruir as células do tumor ou impedir que se multipliquem. Essas radiações não são vistas durante a aplicação e o paciente não sente desconforto durante o processo. A maioria dos pacientes com câncer é tratada com radiações e o resultado costuma ser muito positivo. O tumor pode desaparecer e a doença ficar controlada, ou, até mesmo, curada (VAIDYA *et al.*, 2021).

Quando não é possível obter a cura, a radioterapia pode contribuir para melhoria da qualidade de vida. Isso porque as aplicações diminuem o tamanho do tumor, o que alivia a pressão, reduz hemorragias, dores e outros sintomas, proporcionando alívio aos pacientes (SIAFAKA *et al.*, 2021).

Durante o tratamento, efeitos colaterais como descamação, escurecimento e vermelhidão da pele são comuns, especialmente em áreas de dobras, como pescoço e virilha. Para minimizar esses efeitos, médicos e enfermeiros orientam os pacientes sobre cuidados de higiene e o uso de cremes na área tratada. A queda

de pelos na região de tratamento é outro efeito temporário, com a recuperação da aparência normal da pele no período de um ou dois meses após o término do tratamento (GANDOLFI *et al.*, 2021).

O número de aplicações necessárias da radioterapia pode variar de acordo com a extensão e a localização do tumor, dos resultados dos exames e do estado de saúde do paciente. De acordo com a localização do tumor, a radioterapia pode ser feita de duas formas, o primeiro tipo é a radioterapia externa ou teleterapia, que é emitida por um aparelho, afastado do paciente, direcionado ao local a ser tratado, com o paciente deitado. As aplicações são geralmente diárias (INCA, 2023).

O segundo tipo é a braquiterapia: onde aplicadores são colocados em contato com o local a ser tratado. A fonte de radiação sai do aparelho, percorre cateteres que são ligados aos aplicadores e irradia próximo à área a ser tratada. Depois, a fonte retorna ao aparelho fazendo o mesmo trajeto. Esse tratamento é feito no ambulatório (podendo necessitar de anestesia), geralmente ocorre uma vez por semana, durante três semanas (TOWITHELERTKUL *et al.*, 2021).

O transplante de medula óssea é um tipo de tratamento proposto para algumas doenças que afetam as células do sangue, como as leucemias e os linfomas e consiste na substituição de uma medula óssea doente ou deficitária por células normais de medula óssea, com o objetivo de reconstituição de uma medula saudável (FIDA *et al.*, 2021).

O transplante pode ser autogênico, quando a medula é provinda do próprio paciente, ou alogênico, onde a medula é transplantada de um doador. Tal tratamento também pode ser feito a partir de células precursoras de medula óssea, obtidas do sangue circulante de um doador ou do sangue de cordão umbilical (GLUCKMAN *et al.*, 2021).

O processo de transplante tem início com testes específicos de compatibilidade, onde são analisadas amostras do sangue do receptor e do doador, buscando a melhor compatibilidade possível a fim de evitar processos de rejeição da medula pelo receptor, bem como outras complicações como a agressão de células do doador contra órgãos do receptor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

A partir disto, o doador é submetido a um procedimento feito em centro cirúrgico, sob anestesia, e tem duração de aproximadamente duas horas. São realizadas múltiplas punções, com agulhas, nos ossos posteriores da bacia e é

aspirada a medula. Esta coleta não causa qualquer comprometimento à saúde. Para receber o transplante, o paciente é submetido a um tratamento que ataca as células doentes e destrói a própria medula. Então, ele recebe a medula sadia como se fosse uma transfusão de sangue. Uma vez na corrente sanguínea, as células da nova medula circulam e vão se alojar na medula óssea, onde se desenvolvem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Os principais riscos para o paciente se relacionam às infecções e aos quimioterápicos utilizados durante o tratamento. Com a recuperação da medula, as novas células crescem com uma nova 'memória' e, por serem células da defesa do organismo, podem reconhecer alguns órgãos do indivíduo como estranhos. Esta complicação, chamada de doença enxerto contra hospedeiro, é relativamente comum, de intensidade variável e pode ser controlada com medicamentos adequados. No transplante de medula, a rejeição é relativamente rara, mas pode acontecer. Por isso, existe a preocupação com a seleção do doador adequado e o preparo do paciente (SHIOTA *et al.*, 2022).

Outro método utilizado é a imunoterapia, desenvolvida com base na descoberta de que as células cancerígenas se utilizam de moléculas reguladoras para reduzir a atividade das células de defesa e assim, impedir sua destruição. Portanto medicamentos imunoterápicos, pretendem bloquear a ação dessas moléculas, permitindo a atuação do sistema imunológico (DMITRIEVSKAYA *et al.*, 2022).

Os principais tipos de imunoterápicos são os anticorpos monoclonais, transferência de células adotivas, citocinas, vacinas e os imunomoduladores. Além disso, a imunoterapia possui dois objetivos: fortalecer o corpo para combater as células doentes ou marcá-las para que o corpo as identifique como ameaças. (KULKARNI *et al.*, 2022).

Existem diversos tipos de imunoterapia e sua classificação varia a partir de sua atuação no organismo ou dos medicamentos utilizados. Sendo assim, a imunoterapia pode ser classificada como ativa, passiva, específica ou inespecífica e é regulada por interações celulares e moleculares para otimizar a eficácia e minimizar a toxicidade relacionada ao tratamento (MELIEF *et al.*, 2020).

A imunoterapia ativa, foi projetada para atuar no próprio sistema imune com substâncias estimulantes e restauradoras da função imunológica (imunoterapia

inespecífica) ou com vacinas de células tumorais (imunoterapia específica). Já a imunoterapia passiva ou adaptativa, foi projetada para atuar no tumor com anticorpos antitumorais ou células mononucleares exógenas, com o objetivo de proporcionar capacidade imunológica de combate à doença (MELIEF *et al.*, 2020).

Levando em conta os fatos abordados, o câncer se tornou um problema grave que ameaça a saúde pública. Embora grandes avanços tenham sido obtidos para o tratamento do câncer nos últimos anos, a busca pela conversão dessa doença potencialmente fatal em uma condição crônica controlável nunca parou (MARKHAM *et al.*, 2020).

1.2.1 Câncer de pele: Melanoma

O câncer de pele possui algumas divisões. Dentre eles se encontram: Carcinoma Basocelular, o qual se inicia nas células basais (camada mais profunda da epiderme). Carcinoma espinocelular, o qual começa com o crescimento descontrolado das células escamosas da epiderme. Por fim, um outro tipo é o melanoma, este é o mais grave dentre o grupo de câncer de pele e será o tipo abordado neste estudo (ROSE *et al.*, 2021).

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), do Ministério da Saúde, no ano de 2022, o câncer de pele é o mais frequente no Brasil e no mundo, e corresponde entre 27% e 30% de todos os tumores malignos do país. Além disso, os tipos não melanoma ocorre com maior frequência, tem baixa mortalidade, mas pode causar deformações, sendo responsável por 177 mil novos casos da doença por ano e apresenta alto percentual de cura se for detectado e tratado precocemente. Já o melanoma, anualmente, é responsável por 8,4 mil casos novos no Brasil (INCA, 2022; INCA, 2020).

No Brasil, o número de casos novos de câncer de pele não melanoma esperados, para cada ano do triênio 2020-2022, foi de 83.770 em homens e de 93.170 em mulheres, correspondendo a um risco estimado de 80,12 casos novos a cada 100 mil homens e 86,66 casos novos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2020).

O câncer de pele não melanoma em homens é mais incidente nas regiões Sul, Centro-Oeste e Sudeste, com um risco estimado de 123,67/100 mil, 89,68/100 mil e 85,55/100 mil, respectivamente. Nas Regiões Nordeste e Norte, ocupa a segunda posição, com um risco estimado de 65,59/100 mil e 21,28/100 mil,

respectivamente. No que diz respeito às mulheres, existe um risco estimado de 125,13/100 mil na região Centro-Oeste, 100,85/100 mil no Sudeste, 98,49/100 mil no Sul, 63,02/100 mil na região Nordeste e 39,29/100 mil na região Norte (INCA, 2020).

O melanoma tem origem nos melanócitos (células produtoras de melanina, substância que determina a cor da pele), sendo assim, pode aparecer em determinadas partes do corpo (pele ou mucosas), na forma de manchas, pintas ou sinais (PRABHU *et al.*, 2020). Essas lesões costumam ter formato assimétrico, bordas irregulares, em diversas cores e podem mudar de tamanho rapidamente. Apesar de mais raro, é um tipo de câncer bastante agressivo, podendo levar à morte.

Embora o câncer de pele seja o mais frequente no Brasil, o melanoma representa apenas 3% das neoplasias malignas do órgão. Porém, o prognóstico desse tipo de câncer pode ser considerado bom se detectado em sua fase inicial. Nos últimos anos, houve grande melhora na sobrevida dos pacientes com melanoma, principalmente devido à detecção precoce do tumor e à introdução dos novos medicamentos e terapias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A prevenção do câncer de pele envolve a adoção de hábitos saudáveis de exposição ao sol, como usar protetor solar com fator de proteção solar (FPS) adequado, evitar a exposição ao sol em horários de pico, usar roupas protetoras e óculos de sol, e evitar o uso de lâmpadas de bronzamento artificial (KOSTRZEWSKA *et al.*, 2020).

O diagnóstico normalmente é feito pelo dermatologista ou cirurgião, por meio de exame clínico. Em algumas situações, é necessário o exame que permite visualizar algumas camadas da pele não vistas a olho nu, nestes casos exigem um exame invasivo, que é a biópsia (AGARWAL *et al.*, 2022). Além disso, o Manual de Estadiamento do Câncer AJCC, 8ª edição, é um método confiável e amplamente utilizado para avaliar a progressão do câncer de pele (LEFEVRE *et al.*, 2021).

A cirurgia é o tratamento mais indicado para o câncer de pele. A radioterapia e a quimioterapia também podem ser utilizadas dependendo do estágio da doença. Quando há metástase, o melanoma é tratado com novos medicamentos, a estratégia de tratamento para a doença avançada deve ter como objetivo postergar

a evolução, oferecendo chance de sobrevida mais longa aos pacientes que anteriormente possuíam um prognóstico negativo (CRIVELLARI *et al.*, 2022).

1.2.2 Câncer de Mama

O câncer de mama é um tipo comum de câncer afetando principalmente as mulheres, embora também possa ocorrer em homens. Vários fatores de risco estão associados ao câncer de mama, incluindo sexo e idade, histórico familiar e genética, exposição a estrogênio, história reprodutiva e exposição prévia à radiação (KASHYAP *et al.*, 2022).

Este tipo de câncer é considerado uma doença clinicamente heterogênea, possuindo várias formas de ser categorizado, porém uma classificação muito utilizada é a classificação molecular, a qual é dividida em quatro categorias, de acordo com a presença ou ausência, de proteínas chamadas receptores hormonais (estrogênio e/ou progesterona) e da proteína HER2 (DOBRUCH-SOBCZAK *et al.*, 2022).

Com isso o câncer da mama pode ser classificado de forma molecular em: Luminal A, tumores que apresentam receptores de estrógeno e progesterona positivos, contudo não apresentam a expressão da proteína HER2 e possuem crescimento mais lento das células. Luminal B: também possuem receptores estrogênio e/ou progesterona positivos, não expressam a proteína HER2 e apresentam um nível mais acelerado de proliferação celular. HER2: não apresentam expressão dos receptores hormonais, mas têm a expressão da proteína HER2. Por fim, o triplo negativo: em que as células tumorais não possuem nem expressam os receptores hormonais, nem a proteína HER2, sendo negativo para estrogênio, progesterona e HER2 (FEMAMA, 2019).

Os sintomas do câncer de mama incluem a presença de um nódulo ou espessamento no seio ou na axila, alterações no bico do peito, forma ou aparência do seio, secreção mamilar, às vezes com sangue, e dor persistente no seio ou mamilo (ROY *et al.*, 2020). Já o diagnóstico do câncer de mama geralmente envolve mamografias para a detecção precoce, seguidas por biópsias para confirmar a presença de células cancerosas (RANJAN *et al.*, 2020).

O escore de prognóstico patológico AJCC, que combina o estadiamento TNM e biomarcadores histológicos/moleculares, melhora o valor prognóstico em

pacientes com câncer de mama (DESHMUKH *et al.*, 2020). Deste modo, o tratamento varia com base no estágio e tipo do câncer, podendo incluir cirurgia (mastectomia ou lumpectomia), radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal ou imunoterapia (BARZAMAN *et al.*, 2020).

A prevenção do câncer de mama envolve autoexames regulares, mamografias periódicas de acordo com as orientações médicas, e a adoção de um estilo de vida saudável, incluindo uma dieta equilibrada, exercícios regulares e evitar o consumo excessivo de álcool (BRITT *et al.*, 2020). A detecção precoce desempenha um papel crucial no tratamento bem-sucedido do câncer de mama, por isso é fundamental que as pessoas estejam cientes de seus corpos e discutam quaisquer preocupações com um médico (PATIL *et al.*, 2020).

1.2.3 Câncer de Próstata

A próstata é uma glândula pequena do sistema reprodutor masculino, responsável pela produção do líquido seminal, que ajuda a transportar os espermatozoides durante a ejaculação. No Brasil, o câncer de próstata é o segundo mais comum entre os homens (atrás apenas do câncer de pele não melanoma) (INCA, 2023).

A causa exata do câncer de próstata ainda não é completamente compreendida, mas vários fatores podem aumentar o risco de desenvolver essa doença, incluindo idade avançada, histórico familiar de câncer de próstata, alterações genéticas e raça. Além disso, estudos sugerem que uma dieta rica em gordura, obesidade, tabagismo, falta de atividade física, medicamentos específicos e fatores ocupacionais também podem desempenhar um papel significativo no desenvolvimento do câncer de próstata (BERGENGREN *et al.*, 2023).

O câncer de próstata é classificado usando um sistema de estadiamento, criado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC) chamado Tumor, nódulos linfáticos e metástases (TNM). Este sistema avalia três fatores: o tamanho do tumor (T), o envolvimento dos gânglios linfáticos (N) e a presença de metástases (M) (ROSARIO *et al.*, 2023).

É importante notar que muitos homens com câncer de próstata não apresentam sintomas nos estágios iniciais da doença. Quando os sintomas se manifestam, a doença geralmente já está em um quadro mais avançado. Na

verdade, uma das apresentações mais comuns do câncer de próstata antes do advento do rastreio era a paralisia, relacionada com metástases medulares (CARLSSON *et al.*, 2020).

O diagnóstico do câncer de próstata geralmente envolve um exame de sangue para verificar o nível de antígeno específico da próstata (PSA) e um exame digital retal (DRE). Se houver suspeita de câncer, podem ser realizados exames adicionais, como biópsia da próstata para confirmar o diagnóstico e determinar a extensão da doença (SEKHOACHA *et al.*, 2022).

O tratamento do câncer de próstata varia com base no estágio da doença e na saúde geral do paciente. As opções de tratamento podem incluir vigilância ativa (monitoramento cuidadoso da progressão do câncer sem tratamento imediato), cirurgia para remover a próstata (prostatectomia), radioterapia, terapia hormonal, quimioterapia ou imunoterapia. O médico oncologista ajudará a determinar o plano de tratamento mais adequado para cada paciente (SEKHOACHA *et al.*, 2022).

1.2.4 Câncer de Colo de Útero

O câncer de colo do útero, também conhecido como câncer cervical, é uma condição grave que afeta as células do colo do útero, a parte inferior do útero que se conecta à vagina. A principal causa desse tipo de câncer é a infecção persistente pelo vírus do papiloma humano (HPV). Embora nem todas as infecções por HPV levem ao câncer, algumas cepas do vírus aumentam significativamente o risco de desenvolver a doença (PERKINS *et al.*, 2023).

Existem vários fatores de risco associados ao câncer cervical. A infecção pelo HPV é o mais crucial, porém, a desregulação da enzima caspase, expressão elevada da proteína inibidora apoptótica (IAP), superexpressão de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF), tabagismo ativo/passivo e disfunção do sistema imunológico também são pontos a serem analisados no quadro do câncer de colo de útero (SHARMA *et al.*, 2020).

A fim de promover uma abordagem globalmente uniforme, o estadiamento do câncer do colo do útero no passado baseava-se em exames generalizados, como exame sob anestesia, histologia de conização ou biópsia cervical. Já atualmente o sistema de estadiamento International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) é usado com frequência para o câncer de colo do útero, o qual

permite que técnicas de imagem transversais e resultados patológicos sejam incorporados no estadiamento da doença ou que um estágio já existente seja adaptado com base em resultados radiológicos (MERZ *et al.*, 2020).

Os sintomas de tal condição oncológica incluem sangramento vaginal anormal, dor durante o sexo, dor pélvica e descarga vaginal anormal com odor desagradável. Para prevenir essa condição, a vacinação contra o HPV é fundamental. Além disso, exames de papanicolau regulares são essenciais, pois ajudam a detectar alterações nas células cervicais antes que se tornem cancerígenas (BEDELL *et al.*, 2019). O uso consistente de preservativos durante o sexo também pode proteger contra a transmissão do HPV, reduzindo assim o risco de câncer cervical. Parar de fumar é outra medida preventiva importante, pois reduz não apenas o risco de câncer cervical, mas também melhora a saúde geral.

No caso de diagnóstico, o tratamento para o câncer de colo do útero varia de acordo com o estágio da doença, a saúde geral da paciente e outros fatores. Opções de tratamento incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou uma combinação dessas terapias (CHARGARI *et al.*, 2022). Portanto, é fundamental a detecção precoce para um tratamento bem-sucedido.

1.2.5 Glioblastoma

O glioblastoma multiforme (GBM) é um câncer cerebral altamente agressivo que se forma nos astrócitos, que são células gliais responsáveis pelo suporte aos neurônios no cérebro. Esse tipo de câncer, conhecido como glioma de alto grau, é mais comum em indivíduos com a idade avançada no momento do diagnóstico e do sexo masculino, além de estar associado a alguns fatores de risco, incluindo exposição prévia à radiação e predisposição genética (WEN *et al.*, 2020).

Os sintomas do glioblastoma variam, mas frequentemente incluem dores de cabeça persistentes e intensas, convulsões, comprometimento neurocognitivo, déficits neurológicos focais, náuseas, vômitos, alterações na visão, dificuldade na fala, fraqueza ou dormência em partes do corpo e mudanças no comportamento ou estado mental (SCHAFF *et al.*, 2023). O diagnóstico envolve uma série de testes, como ressonância magnética, tomografia computadorizada e biópsia cerebral, para confirmar a presença do tumor e determinar seu grau de agressividade (SCHAFF *et al.*, 2023).

O glioblastoma não é categorizado por estágios. Os cânceres cerebrais são "classificados" por notas, as quais variam de 1 a 4. Quanto maior a nota, mais agressivo é o câncer. No entanto, os mesmos são sempre classificados como câncer cerebral de grau 4. Isso porque esse tipo de câncer é uma forma agressiva de astrocitoma. Os estágios não são atribuídos aos tumores de glioblastoma porque todos esses tumores apresentam características consistentes com o câncer cerebral em estágio 4 (LOUIS *et al.*, 2021).

Além disso, GBM é um tipo de glioma de alto grau, e são frequentemente classificados com base em características genéticas específicas. Existem dois principais subtipos de glioblastoma: Glioblastoma Primário e Glioblastoma Secundário (ZHANG *et al.*, 2020).

O Glioblastoma Primário tipo mais comum, geralmente se desenvolve rapidamente sem evidência de uma lesão cerebral pré-existente de menor grau. É agressivo e de crescimento rápido, causando sintomas que levam à busca de assistência médica. Já o Glioblastoma secundário evolui a partir de um glioma de grau inferior e, ao longo do tempo, se transforma em um glioblastoma (ZHANG *et al.*, 2020). É frequentemente associado a alterações genéticas específicas, como mutações no gene isocitrato desidrogenase 1 (IDH1) e perda de vários genes localizados no 1p/19q (BERGER *et al.*, 2022). Essas características genéticas são usadas para diferenciar o glioblastoma secundário do glioblastoma primário.

O tratamento do glioblastoma geralmente começa com cirurgia para remover o máximo possível do tumor, seguida por radioterapia e quimioterapia para eliminar as células cancerosas remanescentes (HUANG *et al.*, 2021). No entanto, devido à sua agressividade e à dificuldade em erradicar completamente as células cancerosas, o glioblastoma apresenta um prognóstico desafiador. A sobrevida média após o diagnóstico é geralmente curta, média de 2 anos, dependendo de fatores como localização do tumor, extensão da cirurgia e resposta ao tratamento (TAN *et al.*, 2020).

1.2.6 Quimioterapia e Quimioterápicos

O termo "quimioterapia" foi cunhado pelo químico alemão Paul Ehrlich, que investigou o uso de medicamentos para tratar doenças infecciosas. Ele também foi o primeiro cientista a estudar modelos animais para rastrear uma série de produtos

químicos em relação à sua atividade potencial contra doenças (WITTLIN *et al.*, 2021).

O princípio da quimioterapia é inibir a proliferação celular e o crescimento tumoral, evitando os processos de invasão e metástase. Entretanto, isso resulta em efeitos tóxicos, pois afeta também as células saudáveis (LIU *et al.*, 2022).

A quimioterapia pode ser administrada por seis vias diferentes. A via oral, que são os remédios em forma de comprimidos, cápsulas e líquidos, que podem ser administrados em casa. Já a via intravenosa, pode ser feita por punção venosa, cateter ou por meio de soro. Na via intramuscular, a medicação é administrada por meio de injeções no músculo. Em casos que é necessário a via subcutânea, o medicamento é aplicado por meio de injeção no tecido gorduroso acima do músculo. A via intratecal é pouco comum, sendo aplicada no líquido (líquido da espinha dorsal), administrada pelo médico, em uma sala própria ou no centro cirúrgico. Por fim, tem a via tópica, que é o medicamento, pode ser líquido ou pomada, aplicado na pele (INCA, 2023).

No Brasil, após a consulta médica e a liberação dos exames laboratoriais, a quimioterapia é marcada e o paciente recebe do enfermeiro da central de quimioterapia, orientações sobre o seu tratamento, de acordo com a prescrição médica. O tratamento, que será administrado por profissionais capacitados, pode ser feito de duas formas: ambulatorial, na qual o paciente vai até a central de quimioterapia, recebe o tratamento e é liberado para voltar para casa. Ou a segunda forma sendo internado, neste processo o paciente precisa ser internado durante todo o período de tratamento (INCA, 2023).

No processo da quimioterapia o paciente não sente dor, porém, algumas vezes, certos medicamentos podem causar uma sensação de desconforto, ardência, queimação, flebite e coceira. Nestes cenários, o paciente deve avisar imediatamente ao profissional que estiver acompanhando o processo, para que sejam tomadas as medidas cabíveis (BROWN *et al.*, 2021).

Assim como em outros tipos de tratamentos do câncer, a quimioterapia possui efeitos colaterais. A queda do cabelo pode ser total ou parcial e leva geralmente de 14 a 21 dias. Além disso, podem ocorrer outros efeitos colaterais, como prisão de ventre e diarreia, feridas semelhantes a aftas na boca, estômago e intestino, e irritação nas paredes do estômago e intestino, causando náuseas e/ou

vômitos. Alguns medicamentos podem escurecer a pele quando exposta ao sol, especialmente em dobras articulares, unhas e trajeto das veias. A destruição de células saudáveis pelo tratamento pode levar a condições como anemia, leucopênia e trombocitopenia (PARCHAMI *et al.*, 2022).

Estes quadros acontecem, pois, as células mais afetadas são as do sangue, como os glóbulos brancos, que defendem o organismo de infecções, os glóbulos vermelhos, que transportam oxigênio para todas as partes do nosso corpo, e as plaquetas, que atuam na coagulação do sangue. Quando as taxas sanguíneas diminuem, podem aparecer sintomas como cansaço, falta de ar, palidez, febre, pintas avermelhadas na pele, manchas roxas e vermelhas e sangramentos (INCA, 2023).

Os medicamentos utilizados na quimioterapia são chamados de quimioterápicos, estes são classificados de acordo com duas características, a ação celular e a estrutura química. Em relação à ação celular, os quimioterápicos podem ser divididos em ciclo celular-específicos, os quais desempenham sua função em uma fase específica da divisão celular, ou ciclo celular-inespecíficos, onde atuam em mais de uma fase do ciclo celular. Quanto à estrutura química, os quimioterápicos podem ser classificados em antimetabólicos, alquilantes, alcaloídes, antibióticos antitumorais, antimitóticos e topoisomerase-interativos (MOLLAEI *et al.*, 2021).

Outro ponto a ser ressaltado é a relação dos quimioterápicos com a molécula de DNA, pois os ácidos nucleicos são moléculas que carregam e transmitem a informação genética das células, modulando a expressão de proteínas de acordo com suas necessidades, estas por sua vez, regulam as funções celulares modulando a expressão gênica e a replicação celular (HOCEK *et al.*, 2019).

Tendo em vista a importância do DNA para uma célula, os quimioterápicos podem utilizar esta relação ao seu favor, tornando o material genético um alvo de sua ação (TRENNER & SARTORI, 2019). Sendo assim, é interessante conhecer quais são os tipos de interações possíveis entre um complexo/quimioterápico e o DNA. Estas interações podem ser feitas de cinco formas possíveis, duas delas fazendo ligações covalentes e as outras três envolvendo interações não covalentes. (Figura 3).

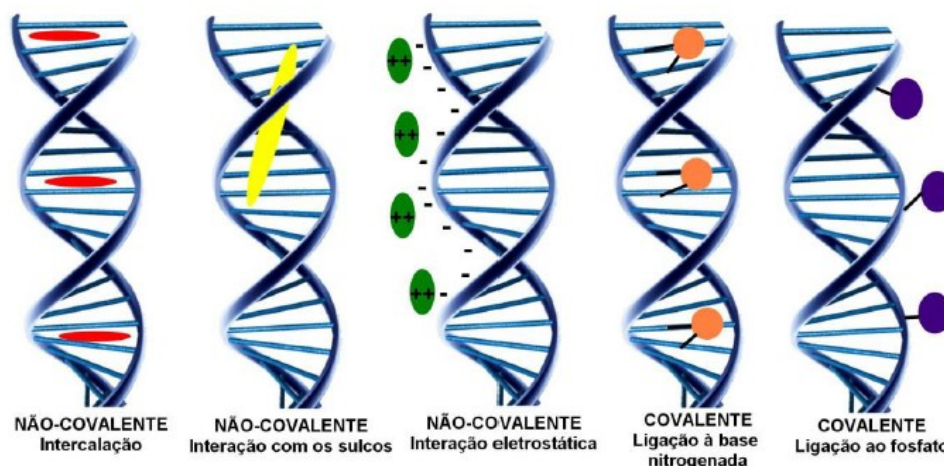


Figura 3 – Representação esquemática de possíveis modos de interações complexos-DNA (BARRA & NETTO, 2015).

Os nucleotídeos são covalentemente ligados entre si em uma corrente por meio dos açúcares e fosfatos, que formam assim uma "espinha dorsal". Essa estrutura possibilita uma grande quantidade de possíveis interações, como ligações direta do fármaco ao DNA por meios de suas bases nitrogenadas ou ainda pelo grupo fosfato. Apresenta também interações de forma não-covalente, como interações eletrostática e hidrofóbicas no sulco menor ou mesmo por meio de intercalação (BARRA & NETTO, 2015).

Observando todos estes pontos, os quimioterápicos padrões ouro para os tipos de tumores estudados neste trabalho são: a adriamicina para o melanoma (FAN *et al.*, 2022), doxorubicina para câncer de mama (PRAJAPATI *et al.*, 2021), doxetacel para câncer de próstata (REPP *et al.*, 2021), cisplatina e carboplatina para câncer de colo de útero (SUWENDAR *et al.*, 2020) e por fim, temozolomida para o glioblastoma (MIRABDALY *et al.*, 2020).

Sendo uma das mais principais estratégias de tratamento do câncer, a quimioterapia convencional tem efeitos colaterais substanciais como mencionado anteriormente. Portanto, explorar e desenvolver métodos mais eficientes para melhorar a quimioterapia é um problema importante que deve ser resolvido (GAO, *et al.*, 2021).

1.3 Compostos metálicos: metalocomplexos

Os metais são componentes celulares essenciais, selecionados pela natureza para atuar em diversos processos bioquímicos indispensáveis aos

organismos vivos. Sendo assim, os complexos que possuem metais de transição em sua composição são importantes nos processos de catálise, síntese de materiais, fotoquímica e sistemas biológicos (RAVINDERPAL & SATYA, 2019).

Os metalocomplexos nada mais são que complexos de coordenação formados por uma interação ácido-base de Lewis. Sendo que, na formação do complexo, o íon metálico age como um ácido de Lewis, recebendo o par de elétrons, e a espécie que os fornece, ou seja, o ligante, age como uma base de Lewis (OHMATSU *et al.*, 2019).

Sendo assim, quando o átomo de um metal perde os seus elétrons de valência, transformando-se em um íon, pode ligar-se a outro íon formando ligações de natureza iônica. Porém, seus orbitais vazios podem receber pares de elétrons de uma outra espécie, que os tenha disponíveis, resultando em uma ligação covalente. Assim, a formação de um complexo se dá pelo compartilhamento de pares de elétrons entre um íon metálico e uma espécie capaz de fornecer esses elétrons (WADSWORTH *et al.*, 2019).

Os complexos metálicos na terapia do câncer têm atraído muito interesse, principalmente porque os metais exibem características únicas, como atividade redox e interação metal-ligante (SINGH, *et al.*, 2023). Além disso, como dito anteriormente a característica de ser essencial para o metabolismo das células, principalmente de células tumorais, funciona a favor dos metalocomplexos na quimioterapia, uma vez que, são utilizados como “cavalo-de-troia”, ou seja, a célula incorpora o metal que precisa e juntamente com o mesmo vai o “ligante/quimioterápico” matando a célula tumoral (ANTHONY *et al.*, 2020).

1.3.1 Complexos de Platina

A platina é um elemento químico pertencente ao grupo dos metais de transição, com o símbolo “Pt” e número atômico 78. É um metal denso, maleável e dúctil, de cor branca prateada, que pode ser trabalhado e soldado a quente. Quando combinada exibe vários estados de oxidação que vão de 0 a +6, embora os estados +2 e +4 sejam os mais comuns (LUITZ *et al.*, 2021).

Com a descoberta da cisplatina por Barnett Rosenberg em 1960, a platina ganhou um novo mercado de interesse, essa descoberta foi um marco na história dos compostos à base de metais usados no tratamento de cânceres. Este evento

constitui a base para a era moderna dos fármacos anticancerígenas à base de metal. Com isso, medicamentos à base de platina, como cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, são os pilares dos compostos metálicos no tratamento de diversos tipos de câncer, como por exemplo: testicular, ovariano, cabeça e pescoço, bexiga, pulmão, câncer cervical, melanoma e linfomas (GHOSH *et al.*, 2019).

A cisplatina é um agente alquilante que age de diferentes formas, uma delas é atuando diretamente no DNA das células cancerosas, impedindo a sua replicação e, conseqüentemente, sua capacidade de crescimento. Isso se deve a sua capacidade de reticular as purinas, interferindo assim nos mecanismos de reparo do DNA nas células cancerígenas. Em última análise, essa interferência causa danos ao DNA e leva à apoptose celular (ROMANI *et al.*, 2022). Sendo assim, atualmente a cisplatina é utilizada como quimioterápico no tratamento de vários tipos de câncer (EGEA *et al.*, 2022). É administrada por via intravenosa e é geralmente combinada com outros quimioterápicos para aumentar a sua eficácia (BROWN *et al.*, 2019).

Embora a cisplatina seja eficaz no tratamento de cânceres específicos, ela pode causar danos às células saudáveis, bem como a mutações genéticas em células normais, o que pode levar a complicações de saúde a longo prazo (ROMANI *et al.*, 2022). Devido a isso, é importante o estudo de mais compostos envolvendo tal metal para aprimorar este quimioterápico, reduzindo seus efeitos colaterais.

1.3.2 Complexos de Paládio

O paládio é um elemento químico pertencente ao grupo dos metais de transição, com o símbolo “Pd” e número atômico 46. É um metal prateado, maleável e dúctil, com propriedades químicas semelhantes às da platina e ao níquel. É pouco reativo e bastante resistente à corrosão. Quando combinado, o paládio exibe os estados de oxidação 0, +1, +2 e +4 embora o estado +2 seja o estável (FARIA *et al.*, 2019).

Com a descoberta de quimioterápicos a base de platina, surgiram tentativas de desenvolver medicamentos utilizando outros metais de transição, entre eles está o paládio. Esse interesse se deve ao fato de que os complexos que contêm paládio em suas estruturas estão relacionados aos seus análogos de platina, uma vez que, as propriedades químicas e físicas da platina e do paládio são comparáveis entre si (CZARNOMYSY *et al.*, 2021).

Alguns compostos de paládio podem inibir o crescimento de células cancerosas e induzir a apoptose, morte programada das células. Esses compostos podem atuar em diferentes mecanismos no corpo, como inibição de enzimas que ajudam as células cancerosas a se dividirem e crescerem, além de serem capazes de ajudar no combate à resistência ao tratamento (CHURUSOVA *et al.*, 2021).

Deste modo, os complexos organopaládios mais estudados como potenciais agentes anticancerígenos, são as espécies palladacíclicas. Esses compostos, devido à presença de múltiplos ligantes e pelo menos uma ligação paládio-carbono, são geralmente estáveis tanto em solventes orgânicos comuns quanto em meio fisiológico (SCATTOLIN *et al.*, 2021).

1.3.3 Complexos de Cobre

O cobre cujo símbolo definido na tabela periódica é “Cu” possui o número atômico 29, pertence à categoria dos metais de transição. Este metal exibe uma coloração laranja-avermelhada quando puro (ABCOBRE, 2021). O cobre é conhecido por suas excelentes propriedades condutoras, tanto em eletricidade quanto em calor. Além disso, apresenta boa resistência à corrosão, especialmente quando exposto ao ar, tornando-o valioso em uma variedade de aplicações industriais, tecnológicas e farmacêutica (ABCOBRE, 2021).

Compostos de cobre, especificamente quelatos de cobre, têm sido objeto de estudos na área de tratamento do câncer (GAO *et al.*, 2021). Alguns estudos exploraram o potencial terapêutico desses compostos como agentes quimioterápicos (BALSA *et al.*, 2023). O cobre é considerado um oligoelemento essencial, mas em excesso, pode ser tóxico para as células (KAHLSON & DIXON, 2022). Isso levou à investigação de como os compostos de cobre podem ser direcionados às células cancerosas para induzir a apoptose e inibir o crescimento tumoral.

Quelatos de cobre, como tetratiomolibdato de cobre, foram estudados por sua capacidade de interferir em processos metabólicos nas células cancerosas (DENOYER *et al.*, 2018). Estes têm sido investigados como potenciais inibidores de angiogênese, um processo pelo qual novos vasos sanguíneos são formados, essencial para o crescimento tumoral (DENOYER *et al.*, 2018). Inibir a angiogênese

é uma estratégia para impedir o fornecimento de nutrientes ao tumor, inibindo seu crescimento.

Já as nanopartículas de cobre têm sido objeto de estudos devido às suas propriedades únicas, incluindo alta superfície específica e atividade biológica (NAIKOO *et al.*, 2021). Pesquisadores estão explorando seu potencial no campo da terapia foto-ativada, onde essas nanopartículas poderiam ser direcionadas para células cancerosas e, em seguida, ativadas por luz para destruir seletivamente as células malignas (ZHOU *et al.*, 2023). No entanto, essas pesquisas ainda estão em estágios iniciais e são principalmente realizadas em modelos de laboratório.

Além disso, complexos de cobre (II) com ligantes específicos foram estudados (VAUGHN *et al.*, 2020). Alguns desses complexos mostraram atividade citotóxica significativa em linhagens cancerosas, inibindo enzimas essenciais para o metabolismo celular ou interagindo com ácidos nucleicos (SILVA *et al.*, 2022).

Por fim, um último grupo ligado aos complexos de cobre são as casiopeínas, as quais tem demonstrado propriedades promissoras para o tratamento do câncer (MARTÍNEZ-VALENCIA *et al.*, 2020). Estas têm demonstrado resultados promissores como alternativas às atuais terapias contra o câncer devido às suas propriedades intercalantes com o DNA (CORONA-MOTOLINIA *et al.*, 2020). Um exemplo deste grupo é a casiopeína CasIII-ia, a qual possui ação citotóxica e antineoplásica *in vitro* e *in vivo*, e entrou na Fase I do ensaio clínico (AGUILAR-JIMÉNEZ *et al.*, 2022).

1.4 Aplicação de antibióticos no tratamento do câncer

Os antibióticos são compostos que possuem a capacidade de matar ou inibir o crescimento de bactérias. No entanto, possuem efeitos sobre outras células do corpo, incluindo as células cancerígenas. Vários antibióticos têm sido utilizados no tratamento de cânceres, devido suas capacidades antiproliferativas, pró-apoptóticas e anti-transição epitelial-mesenquimal (EMT) (GAO *et al.*, 2020).

Uma prova da utilização dos antibióticos além da sua função principal é a ofloxacina, antibiótico da classe das fluoroquinolonas, que possui grande espectro de ação, atua sobre a enzima DNA girase impedindo a etapa de replicação do DNA (SAYED *et al.*, 2023). Este antibiótico, conjugado com outros compostos e até com metalocomplexos e nanocarreadores está sendo testada para várias doenças (SAYED *et al.*, 2023; GALHANO *et al.*, 2022). Alguns estudos sugerem que certos

antibióticos podem ter efeitos anticancerígenos diretos. Por exemplo, a tetraciclina e a doxiciclina têm sido estudadas como possíveis tratamentos para alguns tipos de câncer, incluindo câncer de mama e melanoma (TRIALONI *et al.*, 2022; ROK *et al.*, 2023).

Outro antibiótico usado no tratamento de diversos tipos de câncer é a ciprofloxacina (CHRZANOWSKA *et al.*, 2020; FAN *et al.*, 2020). É um antibiótico da classe das fluoroquinolonas, de amplo espectro, amplamente utilizado no tratamento de infecções bacterianas, incluindo infecções do trato urinário, respiratório, gastrointestinal, cutâneo e osteoarticular (THAI *et al.*, 2023). A ciprofloxacina é administrada por via oral ou intravenosa, e sua ação é inibindo a atividade da enzima DNA girase, que é essencial para a replicação do DNA (THAI *et al.*, 2023).

No entanto, é importante ressaltar que o uso de antibióticos no tratamento do câncer é limitado e geralmente é feito em combinação com outros tratamentos, como quimioterapia e radioterapia. Além disso, os antibióticos também podem induzir a geração de câncer ao interromper a microbiota intestinal, que promove ainda mais a inflamação crônica, altera o metabolismo normal do tecido, leva à genotoxicidade e enfraquece a resposta imune à desnutrição bacteriana, afetando adversamente o tratamento do câncer (GAO *et al.*, 2020). Portanto, o uso de antibióticos no tratamento do câncer deve ser sempre realizado sob orientação médica e com cautela.

1.5 Modelagem molecular

A modelagem molecular é uma técnica *in silico*, ou seja, feita de modo computacional, utilizada em química e biologia para estudar a estrutura e as propriedades de moléculas e materiais a nível molecular e atômico. Essa técnica permite a criação de modelos computacionais que simulam a estrutura, as propriedades e o comportamento de moléculas e materiais, fornecendo informações importantes sobre sua função biológica ou atividade química (AMINPOUR *et al.*, 2019).

Esta técnica é um ramo da bioinformática, que é amplamente utilizada em várias áreas da ciência, incluindo a química medicinal e biologia estrutural. Na química medicinal, a modelagem molecular é usada para identificar moléculas que possam ser eficazes como fármacos e para otimizar suas propriedades

farmacêuticas, como a afinidade por um receptor ou sua capacidade de atravessar as barreiras biológicas (FISCHER *et al.*, 2021). Já na área relacionada a biologia estrutural, concentra os estudos relacionados a conformações de proteínas e estruturas de materiais genéticos, como o DNA e os vários tipos de RNA (ADELUSI *et al.*, 2022).

A modelagem molecular é baseada em algoritmos matemáticos, capazes de descreverem: a relação entre a estrutura molecular e suas propriedades, quantificar a energia de ligação, classificar os tipos de interação, denominar a polaridade e a solubilidade (TUNJIC *et al.*, 2023). Com isso, estes modelos matemáticos executados por computadores podem ser aplicados para entender melhor vários tipos de processos biológicos.

Os resultados da modelagem molecular podem ser usados para prever a atividade biológica de um composto, projetar novos compostos com propriedades específicas, observar interações entre compostos e moléculas biológicas, ou para entender a relação entre a estrutura molecular e a atividade biológica de uma molécula já conhecida. Deste modo, a modelagem molecular é uma ferramenta poderosa e importante na pesquisa de novos fármacos e na compreensão dos processos biológicos (LIN *et al.*, 2020).

1.5.1 Docking Molecular

Dockagem molecular, atracamento, ancoragem, acoplamento ou *docking* molecular é uma metodologia *in silico* essencial, uma vez que fornece o prognóstico dos modos de ligação de micromoléculas ou macromoléculas ao interagirem com um sítio receptor. As poses (conformações e orientações) do ligante são encontradas por algoritmos de busca, enquanto a classificação dessas soluções é conduzida em termos de afinidade pelo sítio de ligação via funções de pontuação (ou funções de score) (BATISTA *et al.*, 2022).

Desde que o *docking* molecular foi desenvolvido na década de 1980, os avanços técnicos de desempenho dos hardwares e a facilidade de acesso a estruturas e composições de pequenas moléculas, proteínas, ligantes, DNA e RNAs, contribuíram para o desenvolvimento de métodos aprimorados, tornando o *docking* mais popular em ambientes industriais e acadêmicos (STANZIONE *et al.*, 2021).

Os métodos de *docking* molecular são usados para determinar a interação metabólica entre duas moléculas e encontrar a melhor orientação de um ligante para seu alvo molecular com o mínimo de energia livre na formação de um complexo estável (ARJMAND *et al.*, 2022). Além disso, pode ser usado para realizar triagem virtual em grandes bibliotecas de compostos, classificar os resultados e propor hipóteses estruturais de como os ligantes inibem o alvo (PINZI *et al.*, 2019).

Como uma abordagem abrangente, esse método computacional de design de medicamentos possui alguns pontos vantajosos, um deles é sua capacidade de economia, tanto em relação ao tempo quando se compara com outros métodos convencionais no tratamento do câncer, quanto na economia de reagentes que seriam gastos de modo desnecessário se tivessem feitos na bancada. Outra vantagem é o aumento da produtividade e da qualidade na pesquisa farmacêutica (ARJMAND *et al.*, 2022). Portanto, nos últimos anos, pode-se concluir que o *docking* molecular pode ser considerado uma das novas estratégias na batalha contra o câncer.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a citotoxicidade *in vitro* e *in silico* de complexos metálicos a base de platina, paládio e cobre como possíveis agentes antineoplásicos para desenvolvimento de fármacos, e caracterizar os mecanismos de ação *in vitro* e *in silico* do melhor metalocomplexo.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o modo de ligação e interações entre metalocomplexos com a molécula de DNA utilizando *Docking* molecular;
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* de metalocomplexos utilizando a linhagem tumoral murina melanoma (B16-F10) e fibroblastos (NIH/3T3);
- Definir a concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC₅₀) e índice de seletividade (IS) *in vitro* de metalocomplexos em diferentes linhagens celulares;

- Selecionar um metalocomplexo promissor para aprofundar estudos relacionados a seu mecanismo de ação;
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* do complexo promissor utilizando as linhagens humanas de câncer de próstata (PC3) e a não tumoral (PNT2), nas linhagens humanas de câncer de mama (MDA- MB-231) e não tumoral (MCF-10A), na linhagem humana de câncer de colo de útero (HeLa), linhagem de fibroblasto humano (HFF) e glioblastoma (U-87); por intermédio dos ensaios de citotoxicidade Alamar *Blue*;
- Definir a concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC₅₀) *in vitro* do composto promissor nas diversas linhagens citadas;
- Avaliar a capacidade do composto promissor em desencadear processos de apoptose e necrose, utilizando citometria de fluxo;
- Analisar alterações nas fases de ciclo celular frente ao tratamento das células com o composto promissor;
- Testar a capacidade do composto promissor em induzir autofagia por meio de análises de vacúolos autofágicos marcados com monodansilcadaverina;
- Verificar a capacidade do composto promissor em induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) por marcação com sonda diacetato de diclorofluoresceína.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Metalocomplexos

Os complexos metálicos de platina e paládio foram sintetizados e caracterizados pelo laboratório do professor Dr. Wendel Guerra do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Já o complexo de cobre CUDOXPHEN foi sintetizado e caracterizado pelo laboratório da professora Dr.^a Elene Cristina Pereira Maia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.1.1 Complexos de paládio (ML 33, ML 34, ML 42, ML44, ML 52)

Os complexos do tipo ML (Figura 4) foram obtidos utilizando uma reação que envolve o precursor [Pd(en)Cl₂] com o respectivo ligante (Figura 5), na

estequiometria 1:2, ou seja, M:L. Mais especificamente, uma solução metanólica (5 mL) contendo 0,125 mmol do precursor metálico foi adicionada gota a gota em uma solução contendo 0,250 mmol dos respectivos ligantes, previamente dissolvidos em metanol (MeOH). Após adição da solução de cada ligante de interesse, seis gotas de trietilamina foram adicionadas. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente e na ausência de luz por 96h. Os precipitados de cada reação foram lavados com metanol e secos sob pressão reduzida.

Porém, o complexo ML52 (Figura 4e) foi obtido de maneira distinta. Este foi sintetizado através da reação entre o precursor $[Pd(en)Cl_2]$ e seu ligante (Figura 5e), com estequiometria 1:1, ou seja, M:L. Em uma solução metanólica (5 mL) contendo 0,125 mmol (0,0298g) do precursor metálico foi gotejada uma solução contendo 0,125 mmol do ligante respectivo (0,0224g) previamente dissolvidos em MeOH. Após adição do ligante, seis gotas de trietilamina foram adicionadas. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente e na ausência de luz por 96h. O precipitado da reação foi lavado com metanol e seco sob pressão reduzida.

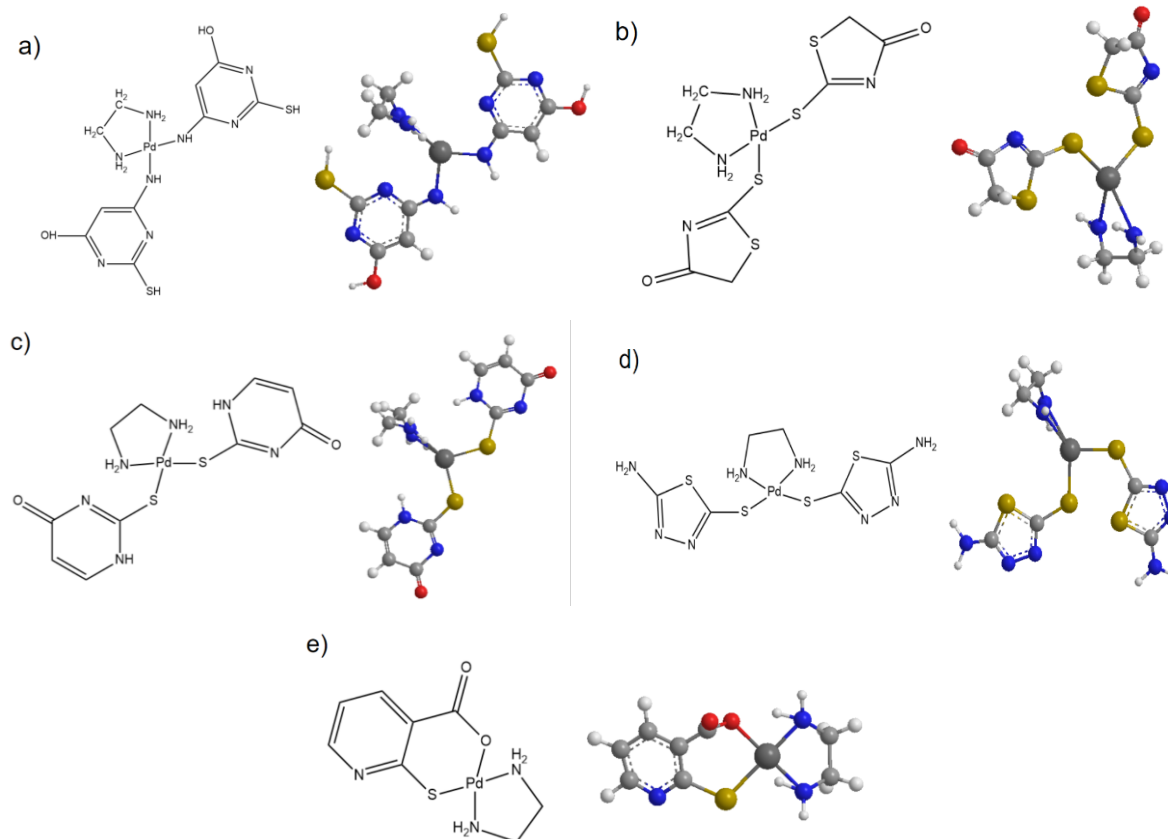


Figura 4 – Estrutura química e tridimensional dos complexos ML33, ML34, ML42, ML44 e ML52, respectivamente da letra “a” até letra “e”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

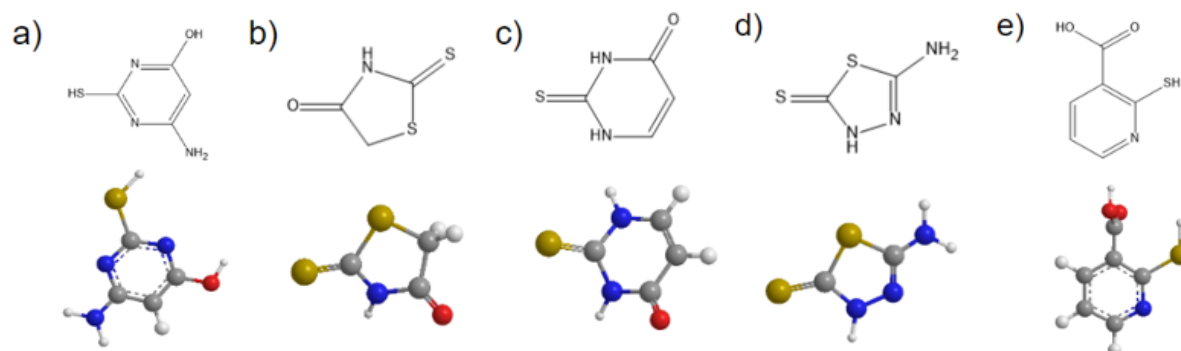


Figura 5 – Estrutura química e tridimensional dos ligantes dos complexos ML33, ML34, ML42, ML44 e ML52, respectivamente da letra “a” até letra “e”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.1.2. Complexos de paládio com antibióticos: [Pd(CPL)Cl₂] e [Pd(OFL)Cl₂]

A ciprofloxacina (CPL) (Figura 7a) é um antibiótico do grupo das quinolonas, e foi utilizado como ligante no processo de síntese do composto [Pd(CPL)Cl₂] (Figura 6a). Nesta síntese, 0,25 mmol do sal K₂[PdCl₄] foi solubilizado em 5mL de água destilada, sendo adicionado 0,25 mmol de DMSO. Após 1 hora, foi adicionado lentamente uma suspensão metálica do ligante. O precipitado obtido foi filtrado, lavado com metanol e éter etílico, e seco sob pressão reduzida.

O processo de síntese do [Pd(OFL)Cl₂] (Figura 6b) foi o mesmo que o do composto [Pd(CPL)Cl₂], a diferença entre eles é que o ligante do [Pd(OFL)Cl₂] é uma suspensão metálica de paládio com a Ofloxacina (OFL) (Figura 7b), a qual como mencionado na seção de introdução é um antibiótico da classe fluoroquinolona.

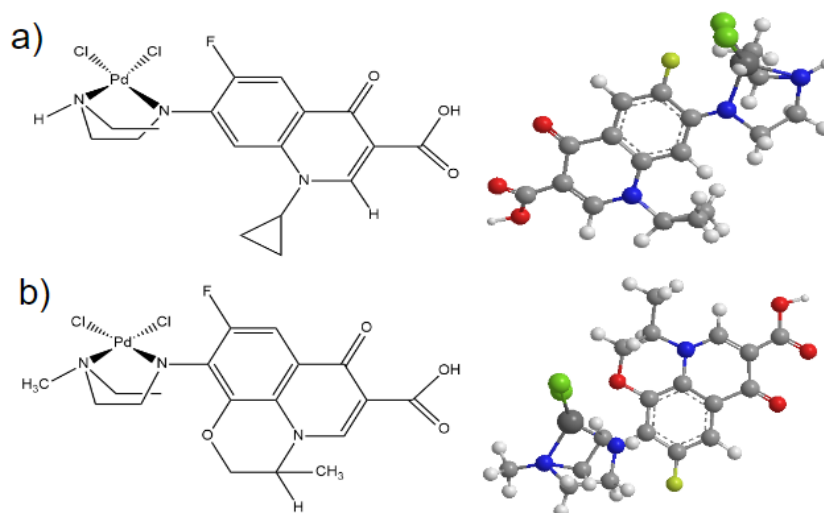


Figura 6 – Estrutura química e tridimensional dos complexos [Pd(CPL)Cl₂] na letra “a” e composto [Pd(OFL)Cl₂] na letra “b”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

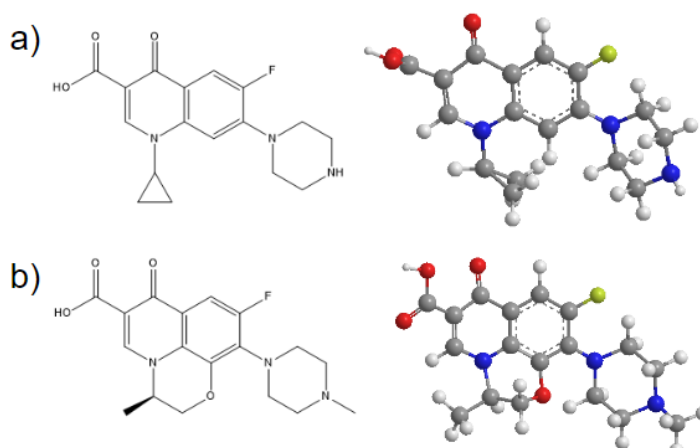


Figura 7 – Estrutura química e tridimensional dos ligantes Ciprofloxacin (CPL) letra “a”, e Ofloxacin (OFL) letra “b”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.1.3. Complexo de Platina: *cis*-[PtCl₂(4NH)₂], *cis*-[PtCl₂(4TF)₂], *cis*-[PtCl₂(BH)₂]

Este grupo de complexos a base de platina foi sintetizados utilizando como precursor o K₂ [PtCl₄] em uma reação com outros três ligantes (Figura 8) diferentes, cada um resultando em um composto único (Figura 9). Para uma solução aquosa contendo 0,125 mmol de [PtCl₄], foi adicionado 0,25 mmol de hidrazida em metanol. A mistura foi agitada por 48 h, quando um precipitado foi gerado, este passou por um processo de separação por filtração, em seguida, foi lavado com água destilada e metanol e seco sob pressão reduzida.

Estes complexos como dito anteriormente foram sintetizados pelo Instituto de química da Universidade Federal de Uberlândia. A análise elementar que foi empregada para verificar a pureza dos compostos e sua caracterização está na publicação de OLIVEIRA (2019).

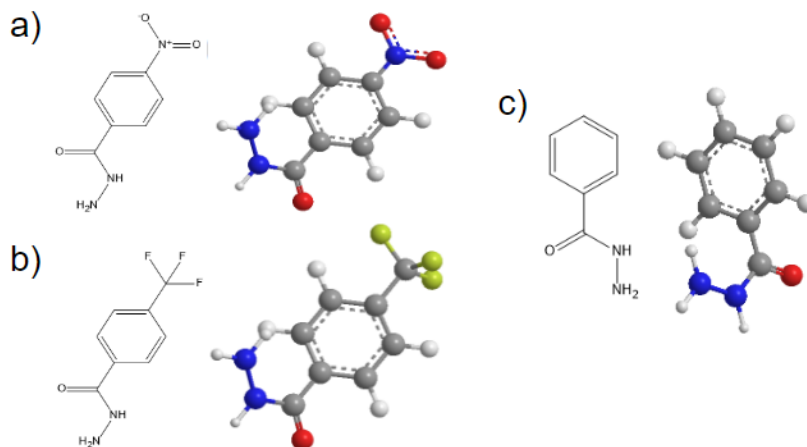
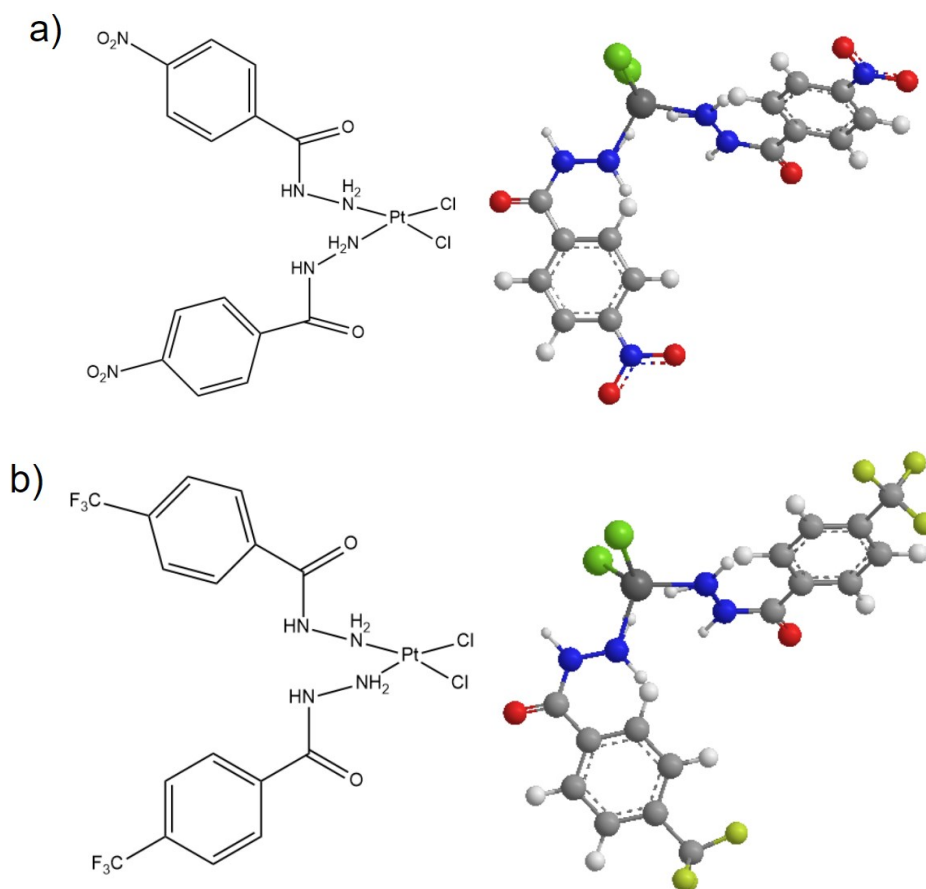


Figura 8 – Estrutura química e tridimensional dos ligantes dos complexos cis-[PtCl₂(4NH)₂], cis-[PtCl₂(4TF)₂], cis-[PtCl₂(BH)₂], respectivamente da letra “a” até “c”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.



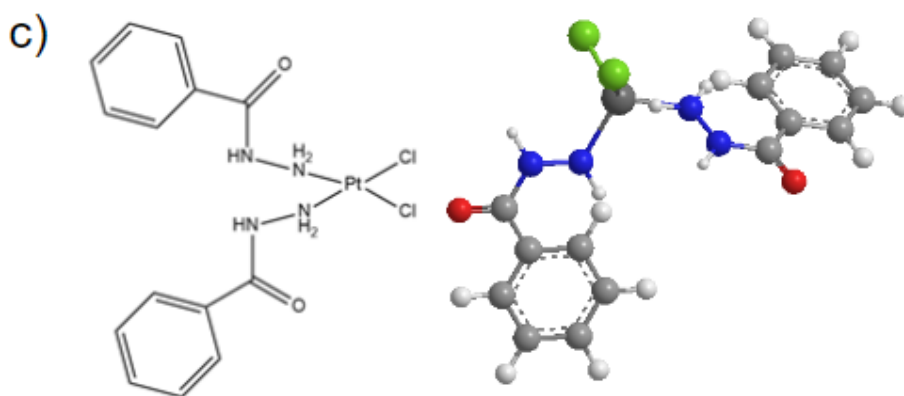


Figura 9 – Estrutura química e tridimensional dos complexos cis-[PtCl₂(4NH)₂], cis-[PtCl₂(4TF)₂], cis-[PtCl₂(BH)₂], respectivamente da letra “a” até “c”.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.1.4. Complexo de platina ML 57

O complexo ML7 (Figura 10a) foi obtido pela reação do precursor [Pt(en)I₂] e seu respectivo ligante (Figura 10b), com estequiometria 1:2, ou seja, M:L. Em uma solução metanólica (5 mL) contendo 0,125 mmol (0,0636g) do precursor metálico foi gotejada uma solução contendo 0,250 mmol de ligante previamente dissolvidos em MeOH. Após isso, seis gotas de trietilamina foram adicionadas. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente e na ausência de luz por 120h. Os precipitados de cada reação foram lavados com metanol, filtrados e secos sob pressão reduzida.

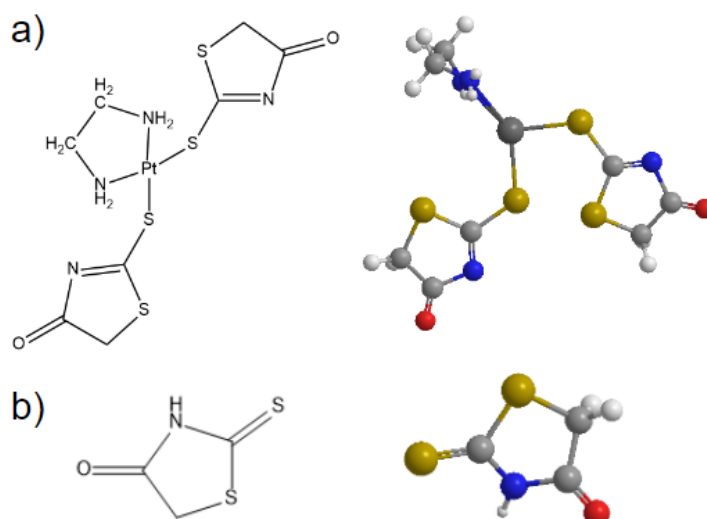


Figura 10 – Complexo ML57: Letra “a” representa a estrutura química e tridimensional do complexo ML57, letra “b” representa a estrutura química e tridimensional do ligante do complexo ML57.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.1.5. Complexo de platina cis-[Pt(hidrazona)2Cl2] ou VH01

Primeiramente o ligante hidrazona de benzofenona (Figura 11b) foi dissolvido em metanol, dessa solução foi usado 0,50 mmol, que foi adicionado gota por gota na solução de 0,25 mmol do sal o $K_2 [PtCl_4]$ solubilizado em uma quantidade mínima de água destilada. Terminada a adição, a reação prosseguiu no escuro e sob agitação por 48 horas. O precipitado foi filtrado, lavado com uma mistura de água destilada e metanol, e seco sob pressão reduzida. Ao final deste processo temos o composto VH01 (Figura 11a).

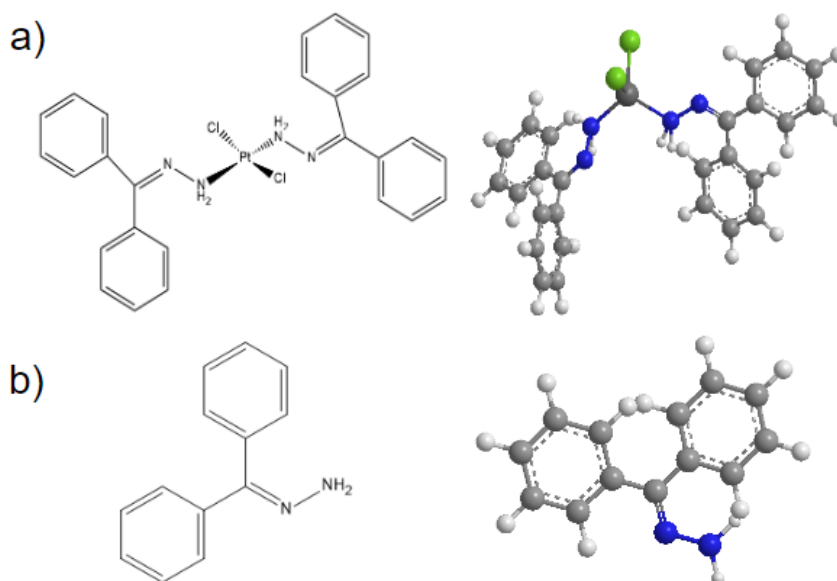


Figura 11 – Complexo VH01: Letra a representa “a” estrutura química e tridimensional do complexo VH01, letra “b” representa a estrutura química e tridimensional do ligante do complexo VH01.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.2 Síntese e caracterização do [Cu (doxiciclina)(1,10-fenantrolina) (H₂O)(ClO₄)](ClO₄)

O cloridrato de doxiciclina (dox) foi adquirido da empresa Sigma Co. A solução estoque foi preparadas imediatamente antes do uso para evitar a degradação do ligante causada pelo oxigênio e pela luz. O Hexa-hidrato de perclorato de cobre(II) e mono-hidrato de 1,10-fenantrolina foram adquiridos das empresas Aldrich e Synth, respectivamente.

O Complexo CUDOPHEN foi preparado pela reação de $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (0,1853 g, 0,5 mmol) com doxiciclina (0,2405 g, 0,5 mmol) em água (10 mL). A mistura foi agitada por 40 min, seguido pela adição de uma solução metanólica (5

mL) de 1,10-fenantrolina monohidratada (0,0996 g, 0,5 mmol), e a mistura foi agitada por mais três hora. O precipitado verde foi filtrado, lavado com água e seco sob vácuo. Suas estruturas estão na Figura 12.

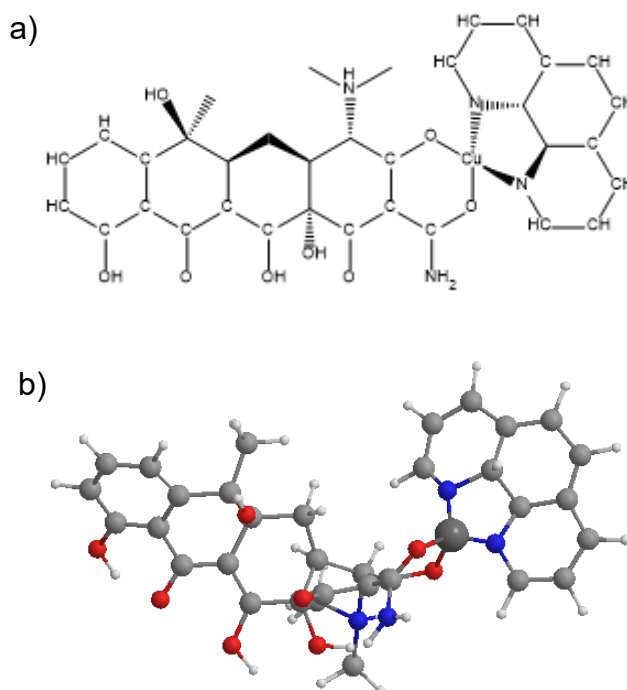


Figura 12 – Complexo CUDOXPHEN: Letra “a” representa a estrutura química e letra “b” estrutura tridimensional.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando os softwares *ChemDraw* e *ChemDraw 3D*, 2023.

3.3 Docking molecular

As estruturas dos metalocomplexos foram primeiramente usando os softwares *ChemDraw* versão 12.0 e *ChemBio3D* versão 12.0, *CambridgeSoft Corporation*, Cambridge, MA, USA. Onde foram otimizadas para obter maior estabilidade, com o recurso de minimização de energia de conformação.

As ferramentas *MGLTools* versão 1.5.7, *Autogrid4* e *Autodock4* foram utilizadas para realizar os cálculos de encaixe entre os compostos e uma molécula de DNA obtida a partir do *Protein Data Bank*, PDB DOI: 10.2210/pdb126D/pdb, NDB: BDJ051 (<http://www.rcsb.org>).

A molécula de DNA foi selecionada como uma molécula de estrutura rígida, enquanto os ligantes, foram tratados como moléculas de estrutura flexível, o que mantém todas as torções da sua cadeia. Os arquivos relativos ao DNA e aos

complexos metálicos foram gerados por meio da interface do programa (JANSON & PAIARDINI, 2021).

Átomos diferentes das estruturas dos ligantes e do receptor, foram removidos, inclusive moléculas de água. A adição de hidrogênios polares foi realizada na molécula de DNA, e as cargas foram calculadas pelos métodos *Kollman* e *Gasteiger* para cada uma das moléculas e complexos (GÜNGÖR et al., 2021).

O DNA foi selecionado por uma caixa de varredura (*grid box*) com coordenadas atômicas, 60 x 64 x 96 e espaçamento de -0,528 Angstrom. 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).

Para cada uma das interações avaliadas, o Autodock classificou em um *ranking* de conformação do primeiro ao último lugar, respectivamente as conformações que possuíam menor energia para o de maior energia. Conformações que exigem menos energia são mais favoráveis e espontâneas.

3.4 Manutenção das linhagens celulares

As linhagens celulares, B16-F10, NIH/3T3, PC-3, PNT-2, HFF e HeLa, foram cultivadas *in vitro*, utilizando meio RPMI-1640 (Gibco®, Paisley, UK). Já as linhagens MDA e U-87 foram cultivadas *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).

A linhagem MCF-10A foi cultivada *in vitro*, utilizando meio DMEN-F12 (Gibco®, Paisley, UK) suplementado com: 10 µg/mL de Insulina, 0,5 µg/mL de hidrocortisona, 20 ng/mL de fator de crescimento epidérmico (EGF) e 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 cm² e 75 cm² e foram mantidas em incubadora de CO₂ a 5% em temperatura de 37°C.

3.5 Ensaio de redução da resazurina

Para estimar o potencial citotóxico dos metalocomplexos foram realizados testes de viabilidade pela redução da resazurina à resorufina, nas linhagens descritas no tópico anterior. Foi utilizada microplacas estéreis de 96 poços, com uma concentração de 1×10^5 células por poço. Os complexos metálicos foram diluídos, em concentrações de 1 a 100 μM , e foram testados nas linhagens celulares.

Para os ensaios, armazenou-se as microplacas em incubadora de CO_2 a 5% e temperatura de 37°C por 20 horas. Após este período de tratamento, a cada poço da microplaca foi adicionado 20 μL do reagente colorimétrico, Alamar *Blue*, com intuito de realizar a leitura em um espectrofotômetro de microplaca, ao completar 24 horas, e foi utilizado os comprimentos de onda de 570 e 600 nm.

A viabilidade celular foi calculada usando a seguinte fórmula:

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

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.

3.5.1 Índice de seletividade (IS)

Para verificar a seletividade da formulação frente às células tumorais, foi necessário calcular o índice de seletividade (IS), que é dado pela relação entre as concentrações necessárias para reduzir 50% da viabilidade celular (IC_{50}) das células não tumorais em relação as tumorais. Utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{IS} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ da linhagem não tumoral}}{\text{IC}_{50} \text{ da linhagem tumoral}}$$

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.

3.6 Ensaio de Apoptose e Necrose

Para desenvolver este teste foi utilizado kit de apoptose e morte celular (FITC Annexin V/ Dead Cell Apoptosis Kit) (Invitrogen), que por intermédio da marcação utilizando anexina V e Iodeto de Propídeo (PI) e da utilização de citometria de fluxo é possível fazer a análise do percentual de apoptose e necrose causado pelo composto CUDOPHEN.

Previamente foi preparado as soluções de uso de anexina V e PI, a partir da solução estoque presentes no kit. Com estas soluções prontas, foi utilizado uma placa de 24 poços, com uma concentração de 2×10^5 de células por poço, o experimento foi desenvolvido em triplicata, a linhagem utilizada neste experimento foi a MDA-MB 231 com o composto CUDOPHEN.

Estas células foram incubadas em uma estufa de CO₂ com o tratamento nas concentrações de 4, 8, 16 μ M durante um período de 24h. Além disso, foi feito também grupos controle positivo utilizando cisplatina na concentração de 100 μ g/mL e grupos controle negativo.

Após a etapa do tratamento, as células foram retiradas da placa passadas para tubos de 1,5 mL, centrifugadas por 10 minutos a 1.000 rpm e lavadas com PBS 1X, em seguida, foi centrifugado novamente, descartado o sobrenadante e ressuspensionado o *pellet* em 50 μ L do tampão de ligação à anexina V.

Depois foi adicionado os marcadores anexina V e PI nos tubos e incubados a temperatura ambiente no escuro por 15 minutos. Passado o tempo foi adicionado 200 μ L do tampão de ligação à anexina V e colocado os tubos no gelo até a leitura no citômetro de fluxo. Os dados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

3.7 Ensaio de análise do ciclo celular

No experimento de análise do ciclo celular, uma placa de 24 poços foi utilizada, cada poço contendo uma concentração de 2×10^5 células. O experimento

foi realizado em triplicata, empregando a linhagem MDA-MB-231 e o composto CUDOXPHEN. As células foram incubadas em uma estufa de CO₂ com tratamentos variando entre 4, 8 e 16 µM, ao longo de 24 horas.

Adicionalmente, foram criados grupos de controle positivo, nos quais foi utilizado cisplatina na concentração de 100 µg/mL, e grupos de 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 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 µL de PBS 1X e 700 µL 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 10 minutos, porém desta vez a 500g, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado 2 vezes com PBS 1X, o sedimento celular foi ressuspensionado em 250 µL de PBS 1X.

Nesta solução foi adicionado 12,5 µL de RNase e 12,5 µL de Iodeto de propideo, 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 de Autofagia

No ensaio de autofagia foi utilizado uma placa de 24 poços, contendo uma concentração de 2×10^5 células por poço. O estudo foi conduzido em triplicata, utilizando a linhagem MDA-MB-231 e o composto CUDOXPHEN. As células foram incubadas em uma estufa de CO₂ com diferentes concentrações de tratamento: 4, 8 e 16 µg/mL, ao longo de 24 horas.

Além disso, foi feito também grupos controle positivo utilizando cisplatina na concentração de 100 µg/mL e grupos controle negativo. Após a etapa do tratamento, as células foram lavadas com PBS 1X, e adicionou-se na placa uma solução de 0,05 mmol L⁻¹ de monodansilcadaverina (MDC), com isso foi feita uma incubação na estufa de CO₂ por 15 minutos.

Em seguida, as células foram retiradas da placa passadas para tubos de 1,5 mL, centrifugadas por 10 minutos a 1.000 rpm e lavadas 2 vezes com PBS 1X, em

seguida, foi executada uma nova centrifugação de 10 minutos a 1.000 rpm para obter o *pellet*. O qual foi ressuspensionado em uma solução de PBS-Glicina com uma concentração de 0,1 M.

Estas suspensões de amostras foram colocadas em outra placa de 24 poços, e levadas para o microscópio de fluorescência, nele foi retirado fotos de cada poço e as imagens foram analisadas no software ImageJ versão 1.53k (Java 1.8.0_172).

3.9 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)

Para conduzir este teste, utilizou-se uma placa preta com fundo transparente de 96 poços. Em cada poço, foi adicionada a linhagem MDA-MB-231, numa concentração celular de 10^4 . Os grupos testados no experimento incluíram um controle negativo, um controle positivo (com cisplatina numa concentração de 100 µg/mL) e diferentes concentrações de CUDOXPHEN (4, 8 e 16 µM).

Após o processo de plaqueamento, foi aguardado um intervalo de 3 horas antes de iniciar o tratamento. Depois do tratamento, a placa foi incubada por 24 horas numa estufa de CO₂ a uma concentração de 5% e a uma temperatura de 37°C. Passado esse período, adicionou-se a sonda H₂DCF-DA (2',7'- diacetato de diclorofluoresceína) (Invitrogen) e a placa foi novamente incubada por 30 minutos. Concluído esta etapa, a placa foi levada ao fluorímetro e lida no espectro do verde (excitação 475nm e emissão 500nm). Os dados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

3.10 Tratamento de dados

As análises das melhores estruturas dos compostos metálicos foram feitas utilizando o *ChemDraw* e *ChemDraw* 3D, já as análises de *docking* molecular foram avaliadas usando o programa AutoDock Tools versão 1.5.7.

No que tange às análises do IC₅₀ (concentração que inibe 50% do crescimento celular) foi utilizado o programa GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, Califórnia, EUA), a partir de uma regressão não linear, em que a porcentagem da viabilidade celular foi determinada como uma função logarítmica de base 10 das concentrações testadas, assumindo um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Docking Molecular

Os resultados obtidos por intermédio desta análise *in silico* constam na Tabela 1.

Metalocomplexos	Energia da ligação (Kcal/mol)	Ligações de hidrogênio	Intercalação	Interação com sulco do DNA
ML 33	-8,31	6	NI	Menor
ML 34	-8,75	3	Intercalante	Menor
ML 42	-8,16	4	Intercalante	Menor
ML 44	-9,10	4	NI	Menor
ML 52	-9,22	3	NI	Maior
ML 57	-8,55	4	Intercalante	Menor
CPL	-6,93	2	NI	Menor
OFL	-6,39	2	NI	Menor
VH01	-9,99	2	NI	Menor
PT4NH	-9,02	5	Intercalante	Menor
PT4TF	-8,70	2	NI	Menor
PTBH	-6,20	2	NI	Menor
CUDOPHEN	-6,38	5	Intercalante	Maior

*NI - Não intercalante

Tabela 1 – Energia das interações entre metalocomplexos e a molécula de DNA, número de ligações de hidrogênio entre as interações, tipo de intercalação e sulco de interação.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Além dos valores obtidos, foi possível construir as figuras abaixo demonstram como os metalocomplexos interagem com a molécula de DNA, ressaltando as ligações de hidrogênio que se encontram como esferas na cor verde (Figura 13 – Figura 25).



Figura 13 – Interação entre ML33 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

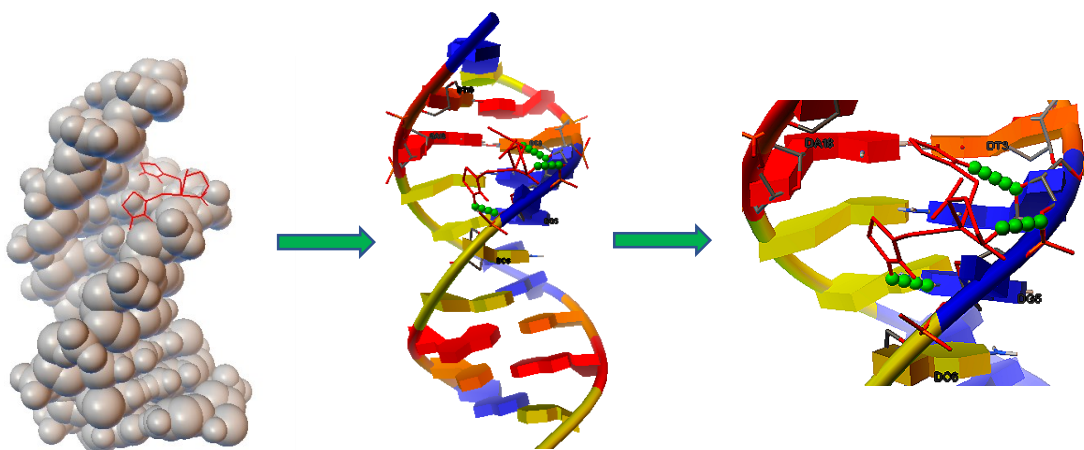


Figura 14 – Interação entre ML34 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

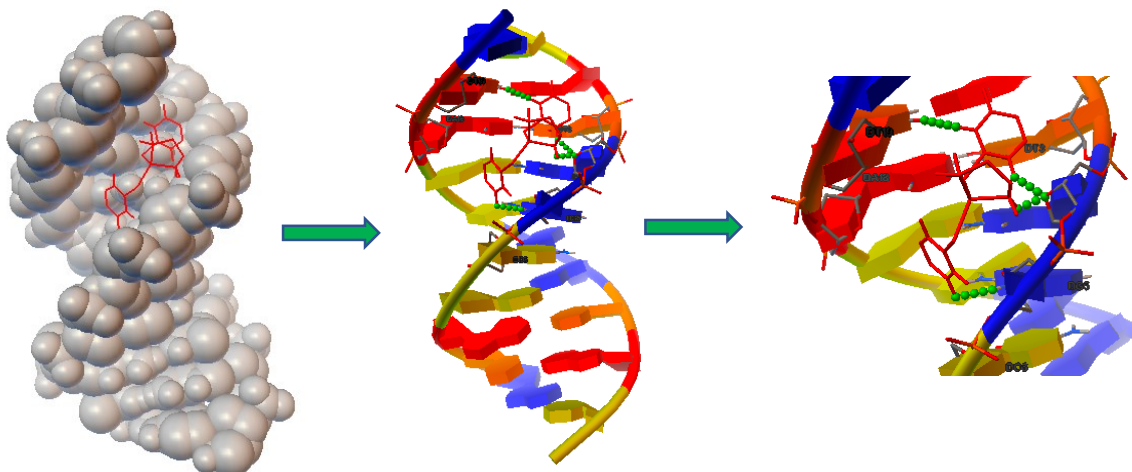


Figura 15 – Interação entre ML42 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

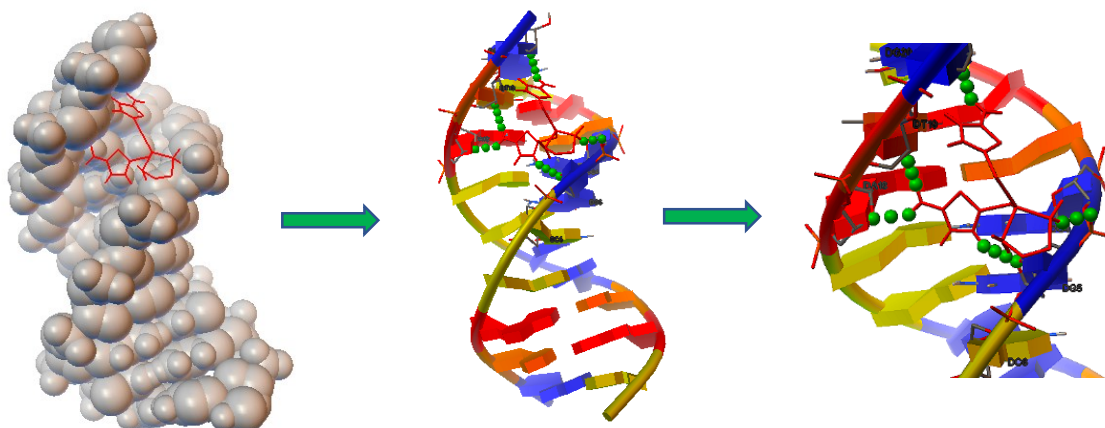


Figura 16 – Interação entre ML44 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

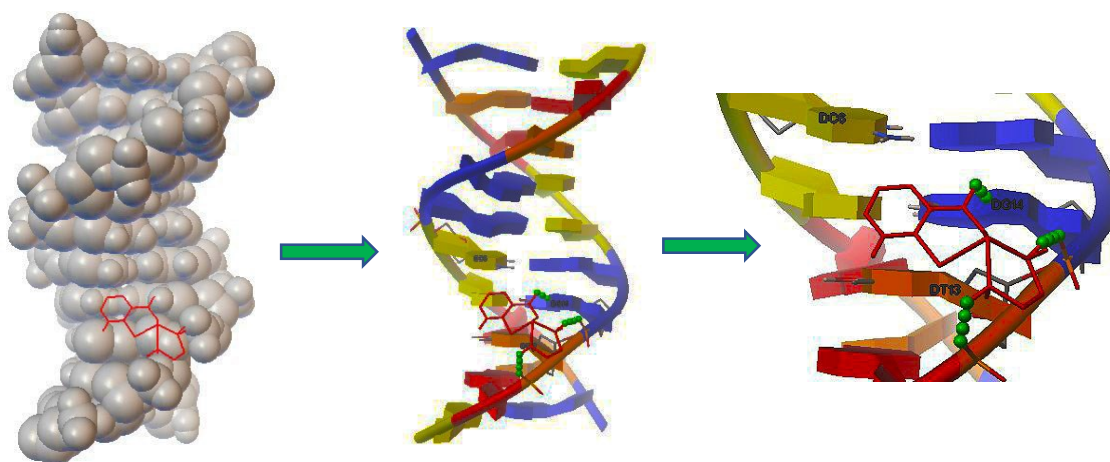


Figura 17 – Interação entre ML52 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

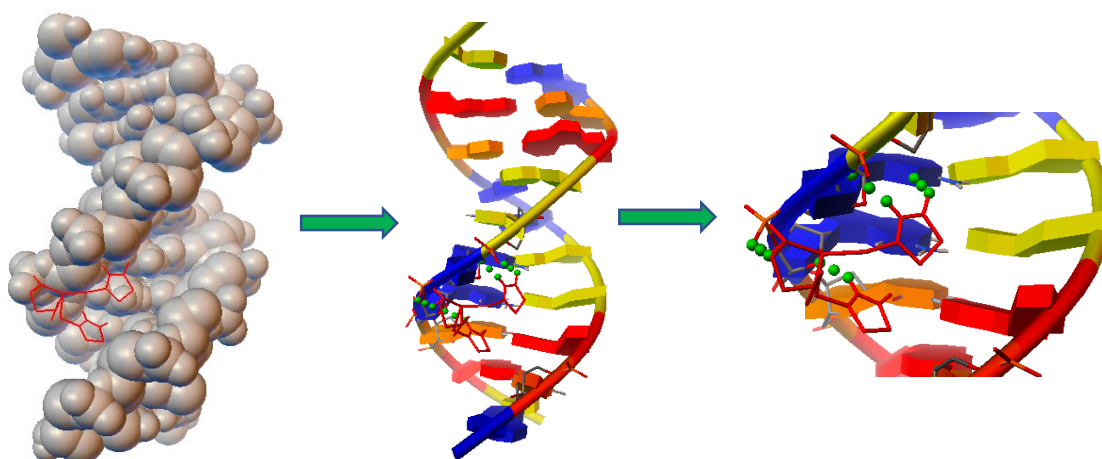


Figura 18 – Interação entre ML57 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

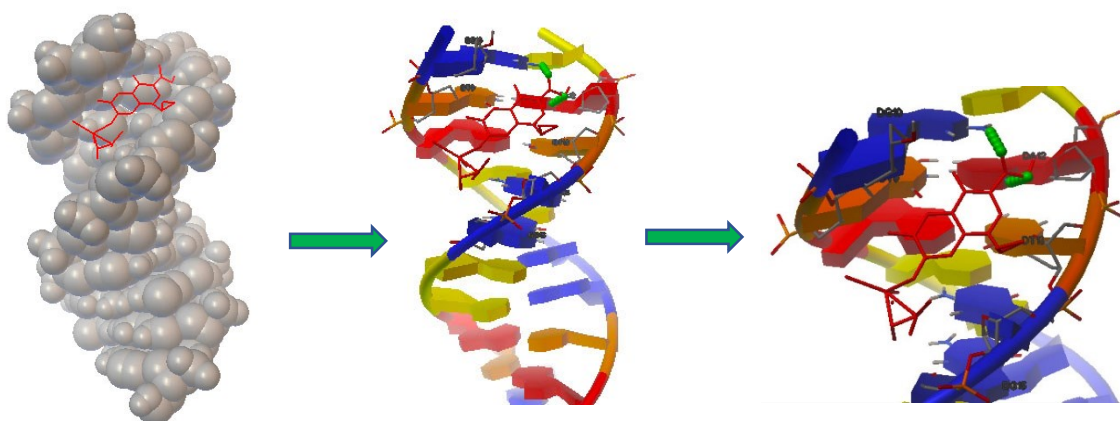


Figura 19 – Interação entre CPL com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

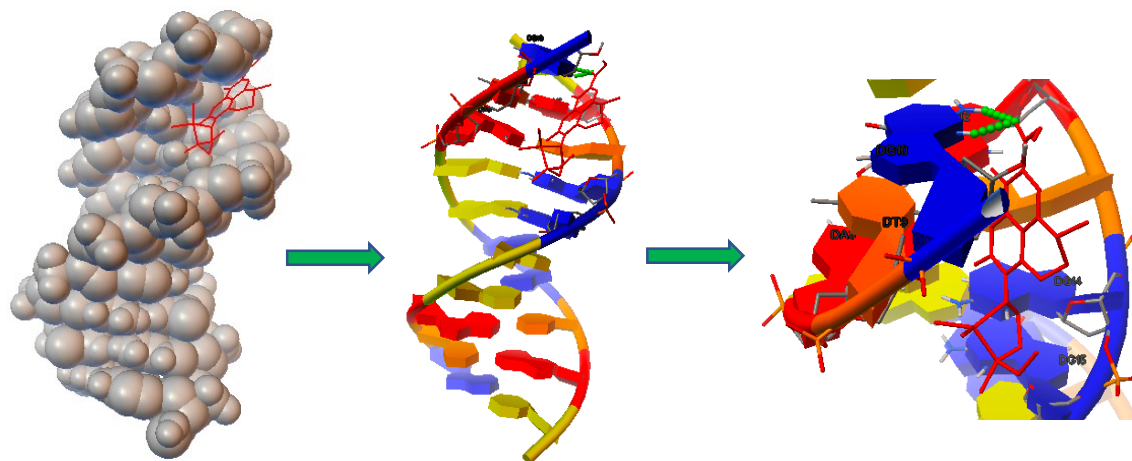


Figura 20 – Interação entre OFL com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

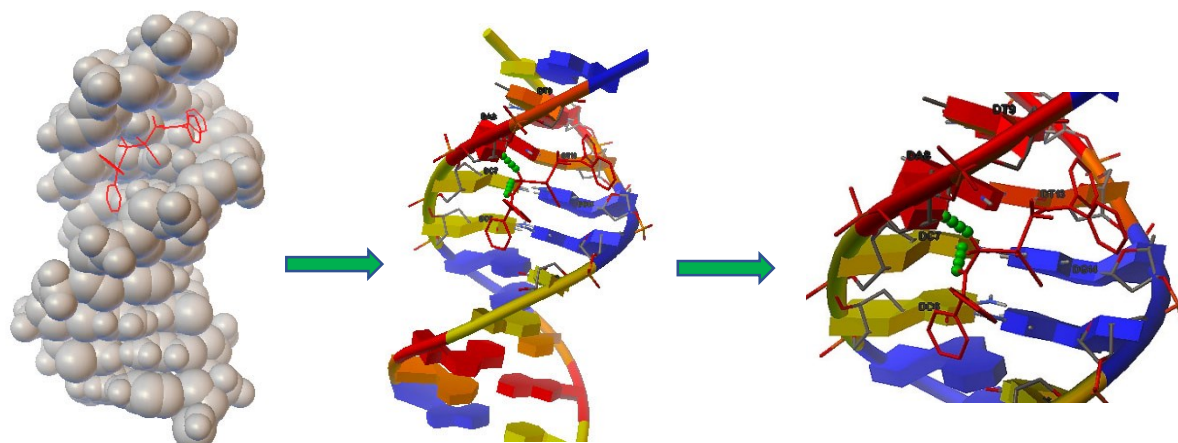


Figura 21 – Interação entre VH01 com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

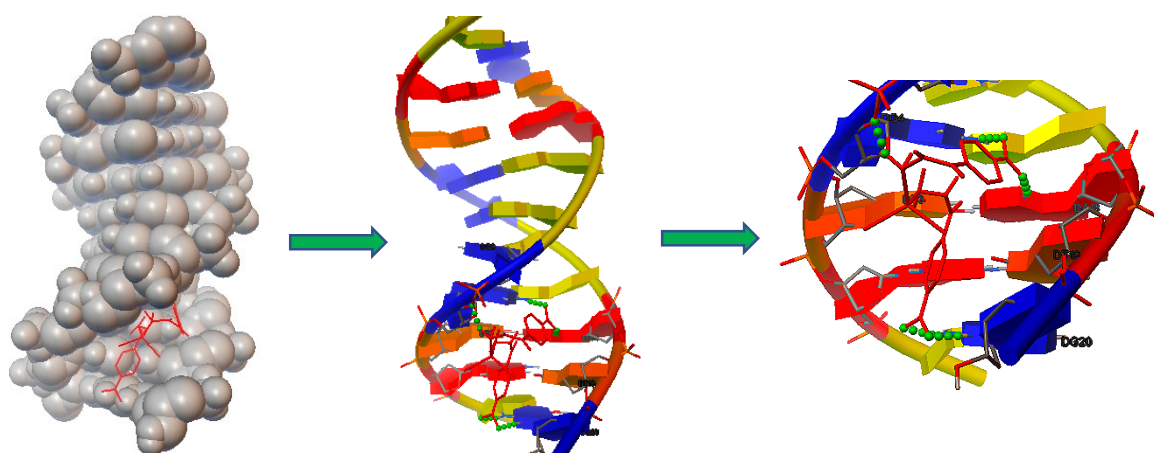


Figura 22 – Interação entre PT4NH com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

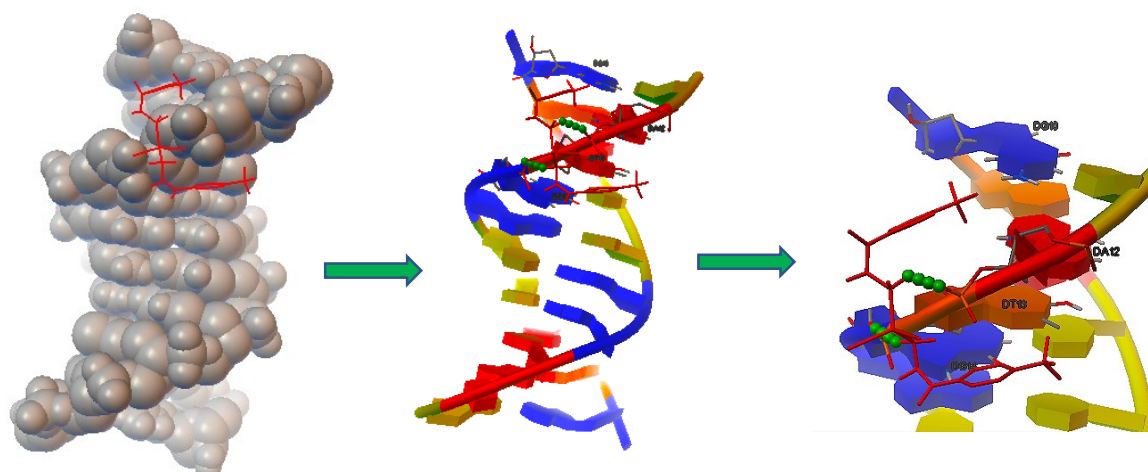


Figura 23 – Interação entre PT4TF com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

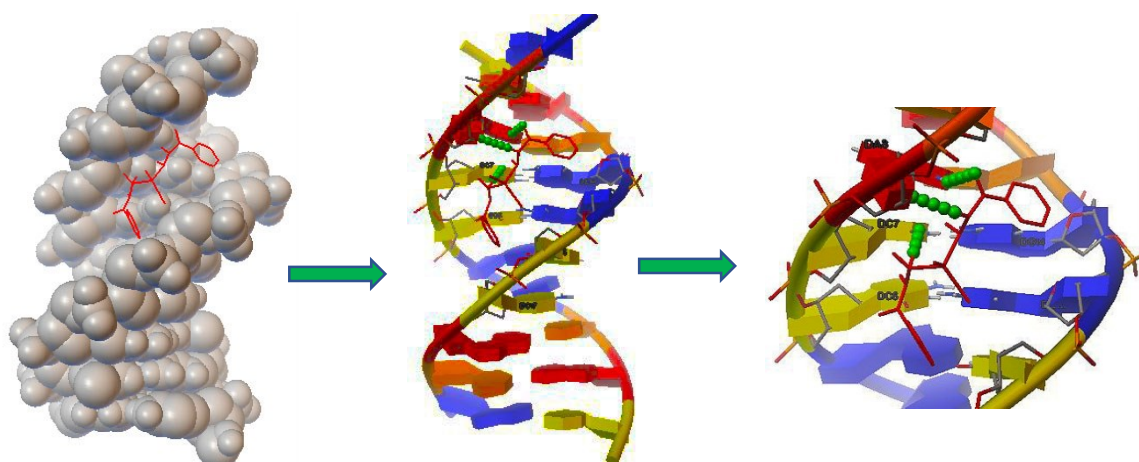


Figura 24 – Interação entre PTBH com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

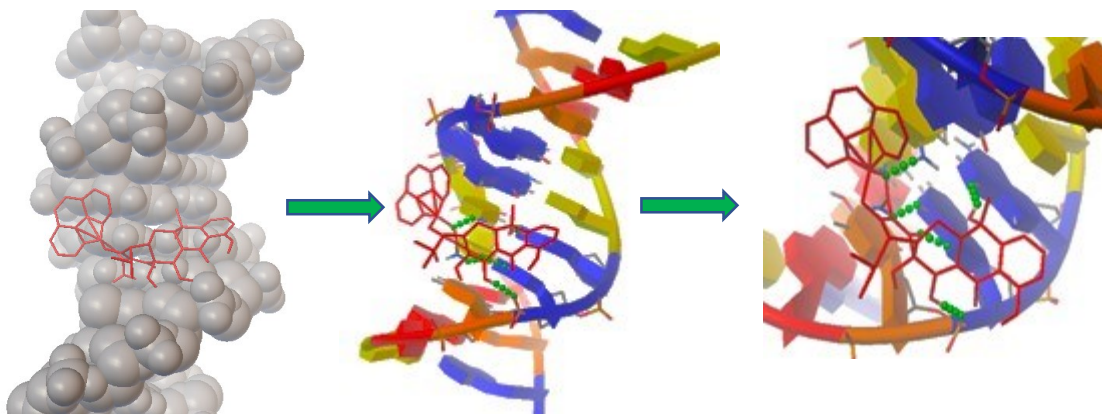


Figura 25 – Interação entre CUDOXPHEN com a molécula de DNA.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

Neste último caso, de forma mais contundente, a intercalação ocorre preferencialmente no sulco maior por meio de ligações de hidrogênio entre hidrogênio 41 e citosina 6 na cadeia A e entre o hidrogênio 7 com guanina 14 na cadeia B, conforme pode ser visto na Figura 26, onde tais ligações estão destacadas por meio das esferas verdes.

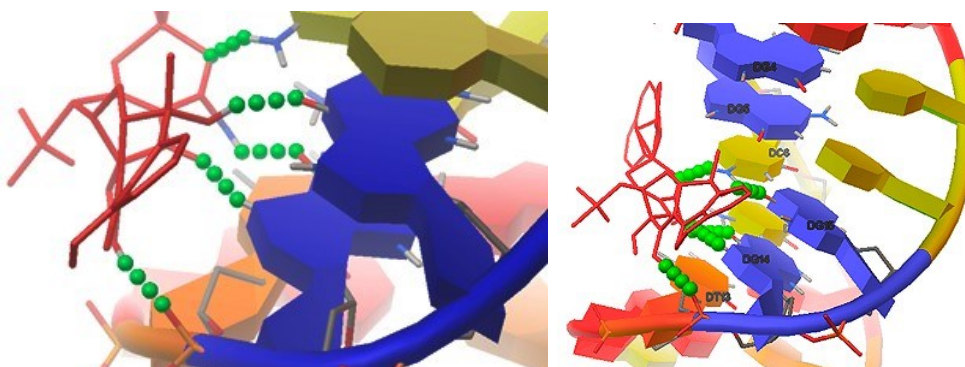


Figura 26 – Ampliação da interação entre CUDOXPHEN-DNA mostrando as ligações de hidrogênio como esferas verdes.

Fonte: Elaborado pelo autor utilizando o programa AutoDock Tools, 2023.

4.2 Ensaio de redução da resazurina

Este ensaio teve como objetivo mensurar a citotoxicidade do metalocomplexo na linhagem tumoral (B16F10) e controle (NIH-3T3). Neste sentido as doses encontradas para viabilidade celular (IC_{50}) em todos os compostos se mostraram altas, logo todos os compostos da Tabela 2 foram enquadrados como não citotóxicos. Além disso, todos os valores do índice de seletividade (IS) foram

inferiores ou próximos de 1, valor este que não é interessante para um quimioterápico.

Compostos	IC₅₀ NIH/3T3 (μM)	IC₅₀ B16-F10 (μM)	IS
ML 33	141,9	208,0	0,68
ML 34	137,3	208,0	0,66
ML 42	209,2	230,4	0,91
ML 44	229,1	217,9	1,05
ML 52	216,6	272,1	0,80
ML 57	188,9	233,5	0,81
CPL	212,6	229,9	0,92
OFL	228,3	240,2	0,95
VH01	213,0	210,6	1,01
PT4NH	242,0	239,0	1,01
PT4TF	223,7	223,1	1,00
PTBH	274,1	260,7	1,05

Tabela 2 – IC₅₀ e Índice de seletividade (IS) dos metalocomplexos nas linhagens utilizadas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Para o composto CUDOPHEN as doses encontradas que reduzem em 50% a viabilidade celular (IC₅₀) de todas as linhagens testadas e o valor do índice de seletividade (IS), se encontram na Tabela 3. Os valores de IC₅₀ mostraram uma boa dose de citotoxicidade, porém uma baixa seletividade, já que os valores próximos a 1, significa que para cada célula tumoral morta pela ação do composto uma célula saudável também morre.

CUDOXPHEN		
Linhagens celulares	IC ₅₀ μM	IS
HeLa	7,2	1,09
HFF	7,9	
MDA – MB 231	7,9	1,0
MCF-10A	7,9	
PC-3	6,6	0,85
PNT-2	5,6	
U-87	15,7	0,36
Epitelial	5,6	

*IS – Índice de seletividade

Tabela 3 – IC₅₀ e Índice de seletividade (IS) do metalocomplexo CUDOXPHEN nas linhagens utilizadas.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

4.3 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)

O ensaio em questão visa quantificar e observar se o composto CUDOXPHEN é capaz de induzir a formação de ROS em células tumorais de mama. De acordo com os dados obtidos e ao serem comparados com o controle negativo pode ser observado que ocorre um aumento na produção de ROS à medida que a concentração de composto também aumenta (Figura 27).

Entre o grupo controle negativo e a concentração de 4 μM o valor de “p” não foi significativo. Contudo, entre as demais concentrações (8 μM e 16 μM) o tratamento se mostrou eficiente na produção de ROS, possuindo um valor de “p” inferior a 0,01. Por fim, o que se mostrou como maior produtor de ROS foi a cisplatina, quando comparado ao controle negativo.

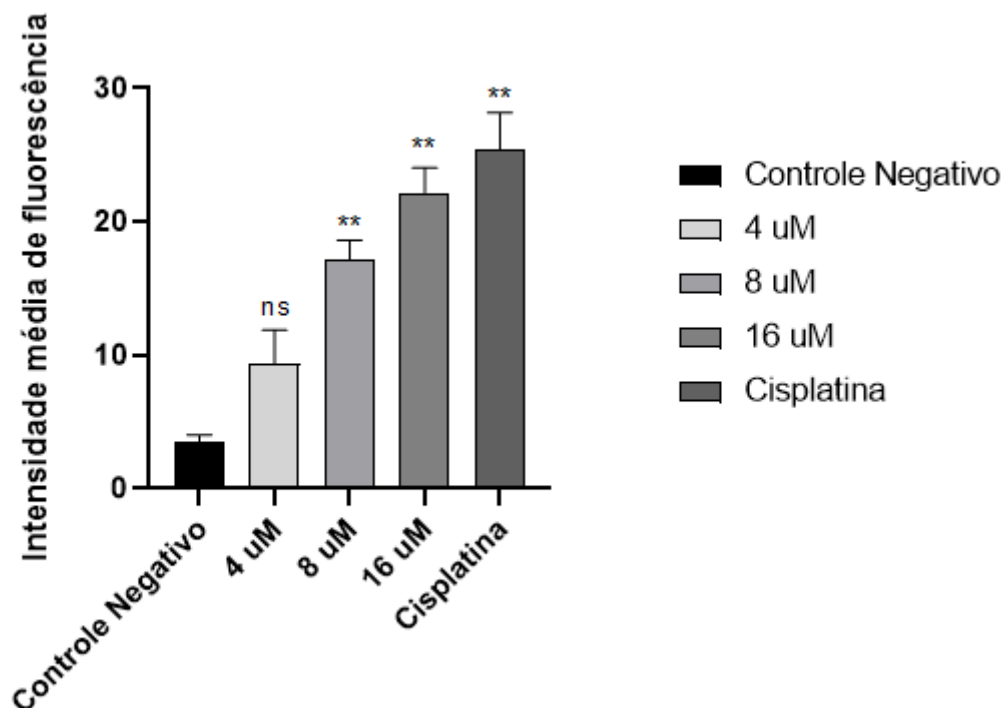


Figura 27 – Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação de espécies reativas de oxigênio com H2DCF-DA na linhagem tumorigênica MDA-MB-231. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. ** equivalente a $p < 0.01$ e “ns” sendo não significativo, comparando com o controle negativo por one-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.

4.4 Análise do ciclo celular

Como resultado para este ensaio pode-se perceber que no controle positivo e nas concentrações de 8 μ M e 16 μ M quando comparados com o grupo sem tratamento, foi observado um aumento significativo ($p < 0,0001$) de células na fase G0-G1 do ciclo celular e uma diminuição significativa ($p < 0,0001$) na fase G2 para os tratamentos com o CUDOXPHEN e de $p < 0,001$ para cisplatina.

Com relação ao tratamento na concentração 4 μ M, em G0-G1 a diferença significativa “p” para o controle negativo foi de 0,1. Já na fase de G2 não houve diferença significativa com o grupo sem tratamento.

Por fim, na fase S não ocorreu diferença significativa da concentração 4 μ M e do controle positivo para o grupo sem tratamento. Já para as concentrações de 8 μ M e 16 μ M houve uma diminuição significativa ($p < 0,0001$) na porcentagem de células nesta fase (Figura 28).

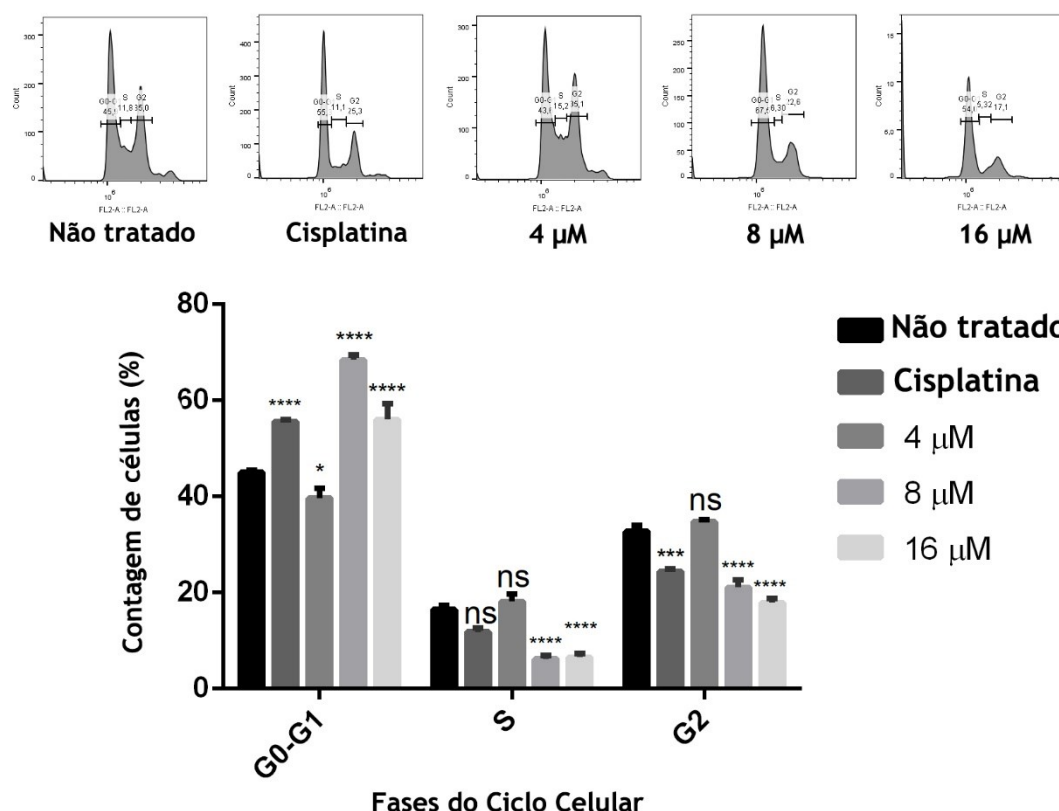


Figura 28 – Histogramas representativos das fases do ciclo celular de células tumorigênicas MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações de CUDOXPHEN (4 µM, 8 µM e 16 µM). Para o gráfico de barras, os dados representam a média ± erro padrão. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ (em comparação com o controle negativo) por one-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.

4.5 Ensaio de Apoptose e Necrose

Com os resultados deste teste, pode-se observar que os tratamentos em todas as suas concentrações juntamente com o controle positivo reduzem de modo significativo ($p < 0,0001$) a porcentagem de células viáveis quando se compara com o controle negativo.

Além disso, em todos os grupos quando comparados com o grupo sem tratamento foi visto um aumento significativo ($p < 0,0001$) na porcentagem de células em apoptose inicial. No cenário de apoptose tardia observou-se alteração significativa ($p < 0,01$ e $p < 0,1$) apenas nas concentrações de 8 µM e 16 µM respectivamente, quando comparado ao grupo negativo. Por fim, é visto que em nenhum dos grupos aconteceu o processo de necrose (Figura 29).

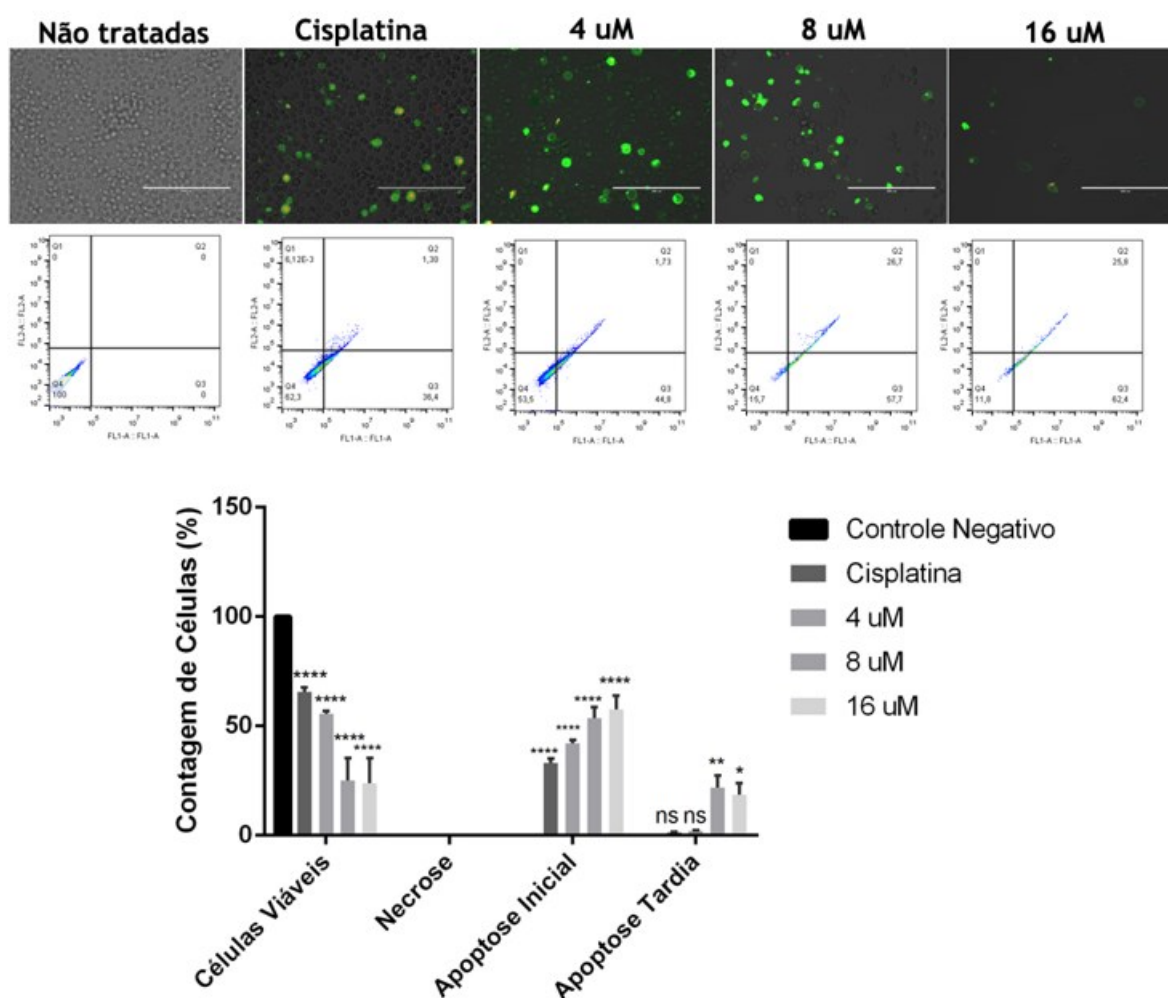


Figura 29 – Micrografia de epifluorescência, porcentagem de células MDA-MB-231 apoptóticas medidas por citometria de fluxo e histograma representativo do tipo de morte celular induzida pelos tratamentos na linha celular tumoral MDA-MB-231 com 4 μM, 8 μM e 16 μM de CUDOXPHEN. Para o gráfico de barras, os dados são apresentados como média ± erro padrão. * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 e **** p < 0,0001 (em comparação com o controle negativo) por two-way ANOVA seguido de pós-teste de Bonferroni.

4.6 Ensaio de Autofagia

Os resultados deste experimento mostraram-se muito satisfatórios, no sentido de evidenciar que, o tratamento das células MDA-MB-231 com o composto CUDOXPHEN induz a formação de vesículas autofágicas, e este aumento inclusive é maior que o ocasionado pelo controle positivo. Tal observação pode ser feita analisando o gráfico na Figura 30.

É possível notar que com o aumento da concentração de CUDOXPHEN houve aumento na produção de “bolsões” autofágicos. E este aumento em todas as concentrações utilizadas se mostrou significativo (p<0,0001).

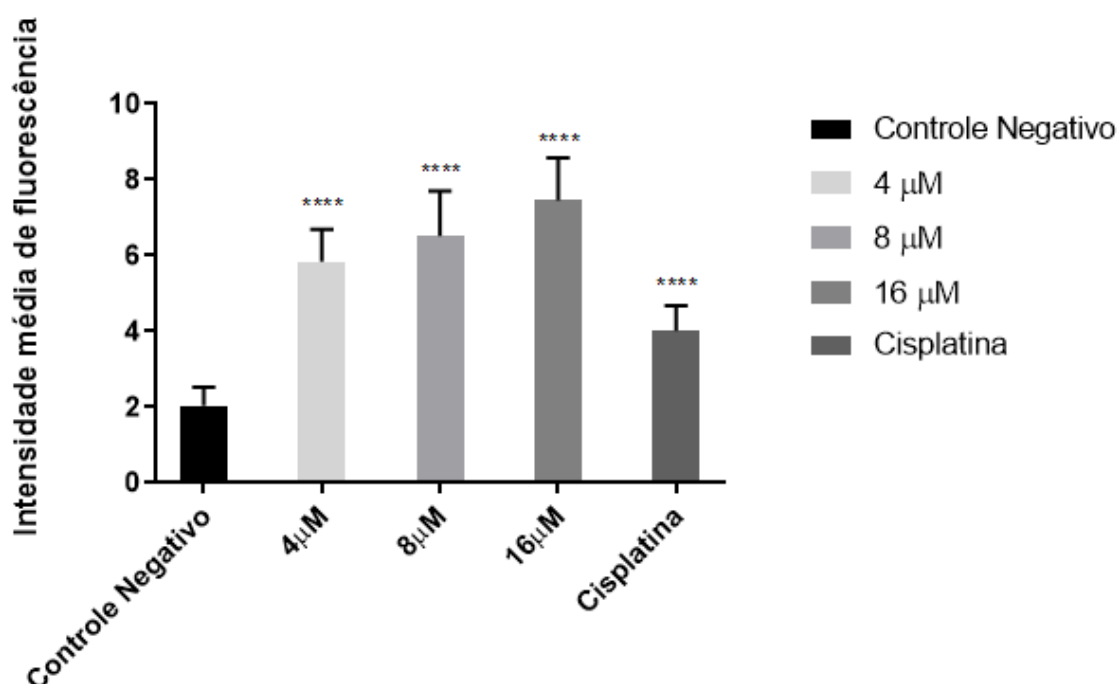


Figura 30 – Gráfico representativo da intensidade média de fluorescência da marcação dos vacúolos autofágicos com MDC na linhagem tumorigênica MDA-MB-231. Os dados representam a média $\pm$ o erro padrão. **** equivalente a $p < 0.0001$, comparando com o controle negativo por one-way ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.

5. DISCUSSÃO

5.1 Docking Molecular

A identificação da intercalação como modo de interação entre os compostos ML34, ML42, ML57, PT4NH e CUDOXPHEN com a molécula de DNA é um tipo de observação vista entre outros metalocomplexos e o DNA (FANTONI *et al.*, 2021). A intercalação é um fenômeno bem documentado em estudos de ligantes de DNA, e sua relevância biológica é notável, isso é devido a inserção do complexo entre as bases nitrogenadas da dupla hélice do DNA poder afetar processos biológicos essenciais, como replicação e transcrição do DNA (HU *et al.*, 2021), o que para um quimioterápico é uma característica excelente.

Além disso, os valores negativos de energia de interação obtidos por todos os compostos observados neste estudo estão dentro da faixa típica relatada para interações de compostos metálicos com o DNA (JOAQUI-JOAQUI *et al.*, 2022).

Esta energia negativa sugere uma forte afinidade entre o metalocomplexo e o DNA, corroborando com a estabilidade da interação.

A capacidade dos metalocomplexos ML52 e CUDOXPHEN de formar ligações de hidrogênio no sulco maior do DNA é digna de nota, pois esse local é conhecido por ser um sítio preferencial para interações específicas com moléculas orgânicas (ELLEUCHI *et al.*, 2020). Além disso, a interação por meio de ligações de hidrogênio pode influenciar a conformação do DNA, alterando sua estrutura tridimensional (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2022). Isso pode ter implicações na regulação e expressão gênica, dificultando o processo de desenvolvimento da célula tumoral.

5.2 Ensaio de redução da resazurina

A demonstração de uma baixa citotoxicidade da maioria dos compostos utilizados, é um indicativo da dificuldade de se obter moléculas com o potencial quimioterápico, já a constatação de uma citotoxicidade moderada a alta do composto CUDOXPHEN está em concordância com estudos anteriores que investigaram este agente citotóxico (LOPES *et al.*, 2020).

No entanto, a baixa dose requerida para atingir esse efeito pode ser tanto promissora quanto preocupante. Por um lado, a eficácia a baixas concentrações pode ser vantajosa para minimizar reações adversas em aplicações terapêuticas. Por outro lado, a rápida citotoxicidade pode apresentar desafios relacionados à seletividade e segurança (NODA *et al.*, 2021).

O índice de seletividade de 1 ou próximo a este valor, obtido por todos os metalocomplexos utilizados neste estudo, embora não seja favorável, é um parâmetro crucial a ser considerado. Este valor indica que a toxicidade dos compostos metálicos em questão não é discriminatória entre células tumorais e saudáveis, tal valor de índice também é um obstáculo em outros trabalhos (HAMOUDA *et al.*, 2021), o que representa uma limitação significativa para seu potencial terapêutico.

Contudo, considera-se o binômio Risco–Benefício na tomada de decisão para uma terapia farmacológica (RAJU *et al.*, 2017). Por exemplo, dependendo do grau de letalidade de um dado tipo de câncer, mesmo que um ativo seja citotóxico para células saudáveis, o tratamento farmacológico poderá ser adotado se ele for

bastante eficiente contra células tumorais. Ou seja, quando o benefício superar o risco o fármaco pode ser utilizado no tratamento. Tal ponto serve de consideração, uma vez que o composto CUDOPHEN em algumas linhagens não possui seletividade, porém, apresenta excelente citotoxicidade nas linhagens tumorais.

Estratégias futuras de bioisosterismo serão consideradas para induzir modificações na estrutura do CUDOPHEN, o qual apresentou melhor IC₅₀, e desenvolver estratégias de entrega direcionada para melhorar a seletividade, mantendo sua eficácia citotóxica.

5.3 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)

A observação de um aumento na produção de ROS em resposta ao aumento da concentração do composto está em conformidade com estudos anteriores que exploraram os efeitos de agentes químicos na geração de ROS (WANG *et al.*, 2021). Essa resposta pode estar relacionada a processos de estresse oxidativo desencadeados pelo composto, indicando uma potencial atividade pró-oxidativa, característica desejada para um quimioterápico (LIU *et al.*, 2020).

No entanto, a falta de significância estatística ao comparar a menor concentração do tratamento com o controle negativo levanta questões importantes sobre a dose-dependência dessa resposta. Pode-se especular que, em concentrações mais baixas, o composto pode não desencadear alterações significativas na produção de ROS, sugerindo um possível limiar de resposta.

O entendimento da dinâmica da resposta oxidativa induzida por compostos, é crucial para avaliar seu potencial terapêutico (SHAW *et al.*, 2022). Um exemplo disso é que o excesso de cobre pode causar estresse oxidativo, danificando o DNA e outras biomoléculas (lipídios e proteínas) através das reações de Fenton (MALEKIRAD *et al.*, 2021).

Além disso, ensaios de clivagem de DNA plasmidial com o complexo CUDOPHEN na presença de necrófagos de ROS, mostraram resultados que relacionam o mecanismo de clivagem de DNA com a formação de ROS (SILVA *et al.*, 2011). Deste modo, pesquisas futuras podem explorar mais a fundo os mecanismos moleculares subjacentes a essa resposta e investigar estratégias para modular seletivamente a produção de ROS em diferentes concentrações do composto.

5.4 Análise do ciclo celular

A constatação de que os tratamentos com CUDOXPHEN nas concentrações de 8 μ M e 16 μ M induzem o aprisionamento das células na fase G0-G1 é consistente com os efeitos conhecidos de agentes antiproliferativos (CROZIER *et al.*, 2022). Essa parada no ciclo celular é frequentemente associada a estratégias terapêuticas eficazes, uma vez que a redução na divisão celular pode resultar na inibição do crescimento tumoral (SUSKI *et al.*, 2021). A similaridade desse efeito com a cisplatina reforça o potencial do CUDOXPHEN como agente antineoplásico.

A redução significativa de células na fase S nos grupos tratados com CUDOXPHEN destaca um impacto adicional na replicação do DNA. A diminuição da fase S sugere que o metalocomplexo pode interferir no processo de replicação, comprometendo a capacidade das células cancerosas de proliferar, sugerindo também problemas na replicação do DNA. Tal informação vai de encontro com os resultados dos ensaios de clivagem de DNA plasmidial feitos por (SILVA *et al.*, 2011) e das análises feitas por este presente estudo com os ensaios de ROS e *docking* molecular, onde em todos os casos é possível ter cenários de danos no DNA, sejam eles quebra de fita dupla, simples e intercalação.

A capacidade do CUDOXPHEN de modular o ciclo celular, reduzindo tanto a divisão celular quanto a replicação do DNA, sugere um potencial terapêutico considerável. Esse efeito pode ser particularmente relevante em tumores com uma taxa de replicação elevada, comuns em muitos tipos de câncer (GALIANA *et al.*, 2020). Deste modo, compreender que esse metalocomplexo modula o ciclo celular e interfere na replicação do DNA pode auxiliar o desenvolvimento de terapias contra o câncer.

5.5 Ensaio de apoptose e necrose

A redução na porcentagem de células viáveis para todas as concentrações de tratamento, em comparação com o controle negativo, é um indicativo consistente da eficácia do tratamento. Esse efeito, compartilhado com o controle positivo, sugere que o composto em estudo possui propriedades antiproliferativas, promovendo a diminuição da viabilidade celular. Essa observação é fundamental, pois a inibição do crescimento celular é um objetivo primordial em estratégias

terapêuticas contra o câncer, e outros metalocomplexos foram vistos tendo capacidade similar de redução da viabilidade celular (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

A correlação entre a concentração do tratamento e a porcentagem de células em apoptose inicial sugere uma resposta dose-dependente. A crescente indução da apoptose inicial em concentrações mais elevadas do tratamento é um achado relevante, indicando que o composto pode ativar mecanismos apoptóticos nas células cancerosas. Isso é particularmente encorajador, pois a apoptose é um processo natural de eliminação de células danificadas ou indesejadas e um mecanismo buscado para tratamentos de câncer (CARNEIRO *et al.*, 2020).

A ocorrência de apoptose tardia especificamente nas concentrações de 8 μ M e 16 μ M do tratamento é uma descoberta significativa. Isso sugere que essas concentrações podem desencadear eventos específicos que prolongam ou intensificam o processo apoptótico. Compreender os mecanismos moleculares subjacentes a esse fenômeno pode abrir caminho para otimizar a eficácia terapêutica e melhorar a seletividade do tratamento.

A ausência de necrose em todos os casos, incluindo o controle positivo, é uma informação relevante para a segurança do tratamento. A necrose, um tipo de morte celular não programada, muitas vezes está associada a danos extensos e indiscriminados (ZAPLETAL *et al.*, 2023). A falta desse efeito sugere que o composto em estudo pode induzir a morte celular de maneira controlada, através dos processos apoptóticos, minimizando danos colaterais.

5.6 Ensaio de autofagia

A autofagia, é um mecanismo celular de autodigestão e reciclagem, tem sido cada vez mais reconhecida como um alvo terapêutico relevante no câncer (YANG *et al.*, 2020). A evidência de que o tratamento com o composto CUDOPHEN induz a formação de vesículas autofágicas é interessante, uma vez que, a modulação da autofagia é uma importante área de interesse na melhoria da eficácia antineoplásica (GĄSIORKIEWICZ *et al.*, 2020).

A observação de que o aumento na formação de vesículas autofágicas é mais pronunciado com o CUDOPHEN em comparação ao controle positivo sugere que este composto pode ter uma influência mais significativa na ativação da autofagia. Este resultado é particularmente interessante, uma vez que a autofagia

excessiva pode levar à morte celular programada, proporcionando uma via potencialmente eficaz para a eliminação de células cancerosas (LI *et al.*, 2021).

A relação dose-resposta entre a concentração de CUDOXPHEN e a produção de vesículas autofágicas é um achado importante. Sendo que, o aumento significativo em todas as concentrações usadas indica uma resposta consistente e robusta do CUDOXPHEN na ativação da autofagia.

6. CONCLUSÃO

Os metalocomplexos investigados neste estudo demonstraram uma interação substancial com o DNA nos testes *in silico*, evidenciando ligações de hidrogênio e intercalação, o que ressalta o potencial dos mesmos como agentes quimioterápicos. No entanto, a baixa citotoxicidade demonstrada por muitos compostos compromete sua utilização nesta área da quimioterapia. Contudo, dando um destaque para o composto CUDOXPHEN que apresentou uma citotoxicidade moderada/alta em baixas concentrações levanta desafios quanto à seletividade, porém se mostra um composto a ser melhor analisado e com um bom potencial quimioterápico.

Deste modo, a análise das ROS revela uma resposta complexa, proporcional à concentração do composto. Embora a menor concentração não tenha significância em comparação com o controle negativo, a maior produção de ROS no controle positivo destaca a complexidade das respostas celulares, sublinhando a importância de considerações cuidadosas de dose e seletividade.

O tratamento com o composto CUDOXPHEN, especialmente nas concentrações de 8 μ M e 16 μ M, demonstrou efetivamente a inibição da divisão celular e redução na replicação do DNA. A eficácia na redução da viabilidade celular e a indução de apoptose em concentrações mais elevadas indicam um potencial terapêutico significativo, enquanto a ausência de necrose contribui para a segurança do tratamento.

A formação de vesículas autofágicas em resposta ao tratamento com CUDOXPHEN reforça a versatilidade desse composto na modulação de processos celulares. Esses resultados abrangentes respaldam a aplicabilidade promissora do CUDOXPHEN como agente antineoplásico, enfatizando a necessidade contínua de

pesquisa para otimizar sua eficácia, seletividade e segurança em aplicações clínicas futuras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELUSI, Temitope Isaac *et al.* Molecular modeling in drug discovery. **Informatics In Medicine Unlocked**, [S.L.], v. 29, 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.imu.2022.100880>

AGARWAL, Nidhi *et al.* Semi-Supervised Learning with GANs for Melanoma Detection. **2022 6Th International Conference On Intelligent Computing And Control Systems (Iciccs)**, [S.L.], 25 maio 2022. IEEE.

<http://dx.doi.org/10.1109/iciccs53718.2022.9787990>

AGÊNCIA NACIONAL DE MINERAÇÃO (ANM). Série Estatísticas e Economia Mineral: 5.2 Platina. Disponível em: <https://www.gov.br/anm/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/serie-estatisticas-e-economia-mineral/outras-publicacoes-1/5-2-platina>. Acesso em: 19 abr. 2023.

AGUILAR-JIMÉNEZ, Zenayda *et al.* Development and In Vitro and In Vivo Evaluation of an Antineoplastic Copper(II) Compound (Casiopaina III-ia) Loaded in Nonionic Vesicles Using Quality by Design. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 21, p. 12756, 22 out. 2022. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms232112756>

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>

ANTHONY, Elizabeth J. *et al.* Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. **Chemical Science**, [S.L.], v. 11, n. 48, p. 12888-12917, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC)

<http://dx.doi.org/10.1039/d0sc04082g>

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: 19 abr. 2023.

BALSA, Lucia M. *et al.* Copper Complexes as Antitumor Agents: in vitro and in vivo evidence. *Current Medicinal Chemistry*, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 510-557, fev. 2023. Bentham Science Publishers Ltd..

<http://dx.doi.org/10.2174/0929867328666211117094550>

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998–2016, 2015.

<https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>

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>

BATISTA, Victor *et al.* Construção, otimização e ancoragem molecular de substâncias bioativas em biomacromoléculas: um tutorial prático. **Química Nova**, [S.L.], 2022.

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170821>

BEDELL, Sarah L. *et al.* Cervical Cancer Screening: past, present, and future. **Sexual Medicine Reviews**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 28-37, 29 nov. 2019. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.sxmr.2019.09.005>

BERGENGREN, Oskar *et al.* 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors—A Systematic Review. **European Urology**, [S.L.], v. 84, n. 2, p. 191-206, ago. 2023. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2023.04.021>

BERGER, Tamar R. *et al.* World Health Organization 2021 Classification of Central Nervous System Tumors and Implications for Therapy for Adult-Type Gliomas. **Jama Oncology**, [S.L.], v. 8, n. 10, p. 1493, 1 out. 2022. American Medical Association (AMA).

<http://dx.doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.2844>

BIGNOLD, Leon P. *et al.* Typing, grading, and staging of cases of tumor. **Principles Of Tumors**, [S.L.], p. 279-315, 2020. Elsevier.

<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-816920-9.00010-9>

BRITT, Kara L. *et al.* Key steps for effective breast cancer prevention. **Nature Reviews Cancer**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 417-436, 11 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41568-020-0266-x>

BROWN, A.; KUMAR, S.; TCHOUNWOU, PB Cisplatin-Based Chemotherapy of Human Cancers. **J Cancer Sci Ther**, v. 11, n. 4, p. 97, 8 abr. 2019. PMID: 32148661; PMCID: PMC7059781.

BROWN, Geoffrey *et al.* Oncogenes, Proto-Oncogenes, and Lineage Restriction of Cancer Stem Cells. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 18, p. 9667, 7 set. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms22189667>

BROWN, Taurean *et al.* Implications of Breast Cancer Chemotherapy-Induced Inflammation on the Gut, Liver, and Central Nervous System. **Biomedicines**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 189, 13 fev. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines9020189>

CARLSSON, Sigrid V. *et al.* Screening for Prostate Cancer. **Medical Clinics Of North America**, [S.L.], v. 104, n. 6, p. 1051-1062, nov. 2020. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2020.08.007>

CARNEIRO, Benedito A. *et al.* Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 395-417, 23 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41571-020-0341-y>

CARVALHO, Adrienne Moura *et al.* Physiotherapeutic performance in mastectomy after breast cancer: a literature review. *Journal Of Cancer Prevention & Current Research*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 48-52, 21 abr. 2021. MedCrave Group, LLC.

<http://dx.doi.org/10.15406/jcpcr.2021.12.00453>

CHARGARI, C. *et al.* Radiotherapy of cervical cancer. **Cancer/Radiothérapie**, [S.L.], v. 26, n. 1-2, p. 298-308, fev. 2022. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.canrad.2021.11.009>

CHOW, Kit Mun *et al.* The role of surgery for loco-regional and advanced urological cancers. **Current Opinion In Urology**, [S.L.], v. 32, n. 6, p. 634-642, 13 set. 2022. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

<http://dx.doi.org/10.1097/mou.0000000000001036>

CHRZANOWSKA, Alicja *et al.* Anticancer and antimicrobial effects of novel ciprofloxacin fatty acids conjugates. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 185, jan. 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111810>

CHURUSOVA, Svetlana G. *et al.* Palladium(II) Pincer Complexes of Functionalized Amides with S-Modified Cysteine and Homocysteine Residues: cytotoxic activity and different aspects of their biological effect on living cells. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 60, n. 13, p. 9880-9898, 15 jun. 2021. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c01138>

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.

<http://dx.doi.org/10.3390/molecules25204679>

CRIVELLARI, Stefania *et al.* The management of brain metastases in melanoma patients. **Working Paper Of Public Health**, [S.L.], v. 10, 16 maio 2022. PAGEPress Publications.

<http://dx.doi.org/10.4081/wpph.2022.9489>

CZARNOMYSY, Robert *et al.* Platinum and Palladium Complexes as Promising Sources for Antitumor Treatments. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 15, p. 8271, 31 jul. 2021.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms22158271>

DENOYER, Delphine *et al.* 16. Copper Complexes in Cancer Therapy. **Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents**, [S.L.], p. 469-506, 5 fev. 2018. De Gruyter.

<http://dx.doi.org/10.1515/9783110470734-022>

DESHMUKH, P. R. *et al.* "Detecção de estágio de câncer TNM a partir de relatórios patológicos não estruturados de pacientes com câncer de mama.". p. 411-418. 2020.

https://doi.org/10.1007/978-981-15-0790-8_40

DMITRIEVSKAYA, M. *et al.* The role of immune checkpoint inhibitors in antitumoral immunity. **Crimea Journal Of Experimental And Clinical Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 93-99, 8 nov. 2022. RIOR Publishing Center.

<http://dx.doi.org/10.29039/2224-6444-2021-11-3-93-99>

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>

EGEA, Javier *et al.* Alkylating Agent-Induced Toxicity and Melatonin-Based Therapies. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1663-9812, 23 mar. 2022.

<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.873197>

ELLEUCHI, Sawssen *et al.* Computational Studies on the Binding Preferences of Molybdenum(II) Phenanthroline Complexes with Duplex DNA. The Important Role of the Ancillary Ligands. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 59, n. 17, p. 12711-12721, 7 ago. 2020.

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c01793>

FAN, Kui *et al.* Doxorubicin loaded gold nanoparticle for chemo and photothermal combination therapy of melanoma cancer. **International Conference On Biomedical And Intelligent Systems** (Ic-Bis 2022), [S.L.], p. 1, 6 dez. 2022. SPIE.

<http://dx.doi.org/10.1117/12.2660545>

FAN, Mengtian *et al.* Ciprofloxacin promotes polarization of CD86+CD206 - macrophages to suppress liver cancer. **Oncology Reports**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 91-102, 29 abr. 2020.

<http://dx.doi.org/10.3892/or.2020.7602>

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.

<http://dx.doi.org/10.1002/cbic.202000838>

FARIA, Luciano; FILGUEIRAS, Carlos. A contribuição do brasil para a descoberta de um novo elemento químico – o paládio. **Química Nova**, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 580-594, 2019.

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170349>

FEMAMA (Federação Brasileira de Instituições Filantrópicas de apoio a saúde da mama). Tipos de cancer de mama. Disponível em: <<https://femama.org.br/site/blog-da-femama/tipos-de-cancer-de-mama/>>. Acesso em: 17 abr. 2023.

FIDA, Mariam *et al.* A Family of Matched Parent-Child HLA Haplotypes: a case study from bahrain. **Journal Of Clinical Case Studies, Reviews & Reports**, [S.L.], p. 1-3, 31 out. 2021. Scientific Research and Community Ltd.

[http://dx.doi.org/10.47363/jccsr/2021\(3\)184](http://dx.doi.org/10.47363/jccsr/2021(3)184)

FISCHER, André *et al.* Decision Making in Structure-Based Drug Discovery: visual inspection of docking results. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 64, n. 5, p. 2489-2500, 22 fev. 2021. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c02227>

GALHANO, Joana *et al.* Ofloxacin@Doxorubicin-Epirubicin functionalized MCM-41 mesoporous silica-based nanocarriers as synergistic drug delivery tools for cancer related bacterial infections. **Bioorganic Chemistry**, [S.L.], v. 118, jan. 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105470>

GALIANA, Irene *et al.* Preclinical antitumor efficacy of senescence-inducing chemotherapy combined with a nanoSenolytic. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 323, p. 624-634, jul. 2020. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.04.045>

GANDOLFI, S. *et al.* Radiation-induced bullous pemphigoid after surgery for soft tissue sarcoma: about a rare case. **Annales de Chirurgie Plastique Esthétique**, [S.L.], v. 66, n. 5, p. 410-412, out. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anplas.2021.04.001>

GAO, Wei *et al.* Elesclomol induces copper-dependent ferroptosis in colorectal cancer cells via degradation of ATP7A. **Molecular Oncology**, [S.L.], v. 15, n. 12, p. 3527-3544, 15 set. 2021. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/1878-0261.13079>

GAO, Yuan *et al.* Antibiotics for cancer treatment: a double-edged sword. **Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 11, n. 17, p. 5135-5149, 2020.

<http://dx.doi.org/10.7150/jca.47470>

GąSIORKIEWICZ, Bartosz Mateusz *et al.* Autophagy modulating agents as chemosensitizers for cisplatin therapy in cancer. **Investigational New Drugs**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 538-563, 7 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10637-020-01032-y>

GHOSH, Sumit. Cisplatin: the first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, [S.L.], v. 88, p. 102925, jul. 2019.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>

GLOBOCAN. Prostate Source: Globocan 2020. Disponível em:

<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/27-Prostate-fact-sheet.pdf> .

Acesso em: 19 abr. 2023.

GLUCKMAN, Éliane *et al.* La greffe de cellules souches hématopoïétiques hier et aujourd'hui. **Soins**, [S.L.], v. 66, n. 854, p. 26-31, abr. 2021. Elsevier BV.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0814\(21\)00096-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0814(21)00096-7)

GÜNGÖR, S. A. *et al.* Structural characterization, DNA binding properties and molecular docking studies of imine compounds derived from Disperse black 9. **Journal of Molecular Structure**, v. 1243, p. 130776, nov. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130776>

HAMOUDA, Ragaa A. *et al.* Characterization and Anticancer Activity of Biosynthesized Au/Cellulose Nanocomposite from *Chlorella vulgaris*. **Polymers**, [S.L.], v. 13, n. 19, p. 3340, 29 set. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/polym13193340>

HOCEK, M. Enzymatic Synthesis of Base-Functionalized Nucleic Acids for Sensing, Cross-linking, and Modulation of Protein–DNA Binding and Transcription. **Accounts of Chemical Research**, v. 52, n. 6, p. 1730–1737, 18 jun. 2019.

<https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00195>

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>

HUANG, Boyuan *et al.* Current Immunotherapies for Glioblastoma Multiforme. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 11, 9 mar. 2021. Frontiers Media SA.

<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.603911>

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.

<http://dx.doi.org/10.3390/cancers14061524>

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. Acesso em: 16 abr. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer de pele não melanoma. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pele-nao-melanoma>. Acesso em: 15 abr. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Câncer de pele: saiba como prevenir, diagnosticar e tratar. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/cancer-de-pele-saiba-como-prevenir-diagnosticar-e-tratar>. Acesso em: 13 abr. 2023.

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: 25 out. 2023.

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: 14 abr. 2023.

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. Acesso em: 15 abr. 2023.

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#:~:text=C%C3%A2ncer%20%C3%A9%20um%20termo%20que,adjacentes%20ou%20%C3%B3rg%C3%A3os%20a%20dist%C3%A2ncia>. Acesso em: 13 abr. 2023.

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: 14 abr. 2023.

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: 13 abr. 2023.

JANSON, G.; PAIARDINI, A. PyMod 3: a complete suite for structural bioinformatics in PyMOL. **Bioinformatics**, v. 37, n. 10, p. 1471–1472, 16 jun. 2021.

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa849>

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>

KAHLSON, Martha A.; DIXON, Scott J.. Copper-induced cell death. **Science**, [S.L.], v. 375, n. 6586, p. 1231-1232, 18 mar. 2022. American Association for the Advancement of Science (AAAS).

<http://dx.doi.org/10.1126/science.abo3959>

KASHYAP, Dharambir *et al.* Global Increase in Breast Cancer Incidence: risk factors and preventive measures. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2022, p. 1-16, 18 abr. 2022. Hindawi Limited.

<http://dx.doi.org/10.1155/2022/9605439>

KHEIRDOOSH, F. *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://doi.org/10.1080/15257770.2019.1680999>

KNEZEVIC, Claire E. *et al.* Cancer Chemotherapy: the case for therapeutic drug monitoring. **Therapeutic Drug Monitoring**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 6-19, fev. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

<http://dx.doi.org/10.1097/ftd.0000000000000701>

KOSTRZEWSKA, Paulina *et al.* Sunscreens as a prevention of the photoaging. **Journal Of Education, Health And Sport**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 11-16, 30 jul. 2020. Uniwersytet Mikolaja Kopernika/Nicolaus Copernicus University.

<http://dx.doi.org/10.12775/jehs.2020.10.08.001>

KULKARNI, Preeti D *et al.* Immunotherapy in cancer: a review. **International Journal Of Comprehensive And Advanced Pharmacology**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 27-29, 15 mar. 2022. IP Innovative Publication Pvt Ltd.

<http://dx.doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.005>

LEFEVRE, Marine-Alexia *et al.* Dermopath and Clinic: how to manage adverse reactions to biological agents. **European Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 426-427, jun. 2021. John Libbey Eurotext.

<http://dx.doi.org/10.1684/ejd.2021.4070>

LI, Can *et al.* TFEB-dependent autophagy is involved in scavenger receptor OLR1/LOX-1-mediated tumor progression. *Autophagy*, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 462-464, 22 dez. 2021. Informa UK Limited.

<http://dx.doi.org/10.1080/15548627.2021.2012970>

LIN, Xiaoqian; LI, Xiu; LIN, Xubo. A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 1375, 18 mar. 2020.

<http://dx.doi.org/10.3390/molecules25061375>

LIU, Xin-Yuan *et al.* The Role of Circular RNAs in the Drug Resistance of Cancers. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 11, p. 1, 5 jan. 2022. Frontiers Media SA.

<http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2021.790589>

LIU, Yang *et al.* Na₂S₂O₈ Nanoparticles Trigger Antitumor Immunotherapy through Reactive Oxygen Species Storm and Surge of Tumor Osmolarity. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 142, n. 52, p. 21751-21757, 18 dez. 2020. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/jacs.0c09482>

LOUIS, David N *et al.* The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Neuro-Oncology**, [S.L.], v. 23, n. 8, p. 1231-1251, 29 jun. 2021. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1093/neuonc/noab106>

LUITZ, Manuel *et al.* High Resolution Patterning of an Organic–Inorganic Photoresin for the Fabrication of Platinum Microstructures. **Advanced Materials**, [S.L.], v. 33, n. 37, ago. 2021. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/adma.202101992>

MACHADO, P. 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://doi.org/10.1038/s41598-021-03909-1>

MAJIDPOOR, Jamal *et al.* Steps in metastasis: an updated review. **Medical Oncology**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1, jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s12032-020-01447-w>

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

<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-819092-0.00013-3>

MARKHAM, Merry Jennifer *et al.* Clinical Cancer Advances 2020: annual report on progress against cancer from the american society of clinical oncology. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 38, n. 10, p. 1081, 1 abr. 2020. American Society of Clinical Oncology (ASCO).

<http://dx.doi.org/10.1200/jco.19.03141>

MARTÍNEZ-VALENCIA, Beatriz *et al.* Cyclo-tetranadate bridged copper complexes as potential double bullet pro-metallodrugs for cancer treatment. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 208, p. 111081, jul. 2020. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111081>

MELIEF, Cornelis J M *et al.* Special Review: the future of immunotherapy. **Immunotherapy Advances**, [S.L.], v. 1, n. 1, 25 nov. 2020. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1093/immadv/ltaa005>

MERZ, Johanna *et al.* Revised FIGO Staging for Cervical Cancer – A New Role for MRI. **Röfo - Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Röntgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren**, [S.L.], v. 192, n. 10, p. 937-944, 30 jul. 2020. Georg Thieme Verlag KG.

<http://dx.doi.org/10.1055/a-1198-5729>

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: 13 abr. 2023.

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: 13 abr. 2023.

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: 14 abr. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Tratamento do câncer. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento#:~:text=O%20tratamento%20do%20c%C3%A2ncer%20pode,combinar%20mais%20de%20>

[20uma%20modalidade.&text=Veja%20tamb%C3%A9m%3A%20Cuidados%20paliativos](#) . Acesso em: 14 abr. 2023.

MIRABDALY, Seyedsaber *et al.* Effects of temozolomide on U87MG glioblastoma cell expression of CXCR4, MMP2, MMP9, VEGF, anti-proliferatory cytotoxic and apoptotic properties. **Molecular Biology Reports**, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 1187-1197, 2 jan. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11033-019-05219-2>

MOLLAEI, Mojtaba *et al.* Chemotherapeutic drugs: cell death- and resistance-related signaling pathways. are they really as smart as the tumor cells?. **Translational Oncology**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 101056, maio 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101056>

NASCIMENTO, Maria L.L. Barreto do *et al.* Antiproliferative and Genotoxic Action of an Underexploited Organoteluran Derivative on Sarcoma 180 Cells. **Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 21, n. 8, p. 1019-1026, maio 2021. Bentham Science Publishers Ltd.

<http://dx.doi.org/10.2174/1871520620666200918110152>

NAIKOO, Gowhar *et al.* An Overview of Copper Nanoparticles: synthesis, characterisation and anticancer activity. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 27, n. 43, p. 4416-4432, dez. 2021. Bentham Science Publishers Ltd.

<http://dx.doi.org/10.2174/1381612827666210804100303>

NAJAFI, Masoud *et al.* The current knowledge concerning solid cancer and therapy. **Journal Of Biochemical And Molecular Toxicology**, [S.L.], v. 35, n. 11, p. 1, 31 ago. 2021. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/jbt.22900>

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>

OHMATSU, Kohsuke; OOI, Takashi. Cationic Organic Catalysts or Ligands in Concert with Metal Catalysts. **Topics In Current Chemistry**, [S.L.], v. 377, n. 6, 25 out. 2019.

<http://dx.doi.org/10.1007/s41061-019-0256-1>

OLIVEIRA, Leticia P.*et. al.* Pt(II) complexes of the type trans-[PtCl₂(DMSO)(hydrazide)] and cis-[PtCl₂(hydrazide)₂]: solvolysis and cytotoxic activity. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1192, p. 76-81, set. 2019.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.04.134>

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-taking-action](#). Acesso em: 15 abr. 2023

PANCU, Daniel Florin *et al.* Assessment of the In Vitro Cytotoxic Profile of Two Broad-Spectrum Antibiotics—Tetracycline and Ampicillin—On Pharyngeal Carcinoma Cells. **Medicina**, [S.L.], v. 58, n. 9, p. 1289, 16 set. 2022.

<http://dx.doi.org/10.3390/medicina58091289>

PARCHAMI, Ghazaee *et al.* A review of the anticancer natural products: alkaloids, flavonoids. **Grail Of Science**, [S.L.], n. 18-19, p. 391-393, 5 set. 2022. European Scientific Platform (Publications).

<http://dx.doi.org/10.36074/grail-of-science.26.08.2022.62>

PATIL, Rakesh M. *et al.* Nanomedicine for early diagnosis of breast cancer. **Nanomedicines For Breast Cancer Theranostics**, [S.L.], p. 153-173, 2020. Elsevier.

<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-820016-2.00008-2>

PEREIRA-SILVA, Miguel *et al.* Biomimetic cancer cell membrane-coated nanosystems as next-generation cancer therapies. **Expert Opinion On Drug Delivery**, [S.L.], v. 17, n. 11, p. 1515-1518, 29 set. 2020. Informa UK Limited.

<http://dx.doi.org/10.1080/17425247.2020.1813109>

PERKINS, Rebecca B. *et al.* Cervical Cancer Screening. **Jama**, [S.L.], v. 330, n. 6, p. 547, 8 ago. 2023. American Medical Association (AMA).

<http://dx.doi.org/10.1001/jama.2023.13174>

PINZI, Luca; RASTELLI, Giulio. Molecular Docking: shifting paradigms in drug discovery. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 18, p. 4331, 4 set. 2019.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms20184331>

PRABHU, Sathyen A. *et al.* The MNK1/2-eIF4E Axis as a Potential Therapeutic Target in Melanoma. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 11, p. 4055, 5 jun. 2020. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms21114055>

PRAJAPATI, Rama *et al.* Albumin-Based Nanoparticles for the Delivery of Doxorubicin in Breast Cancer. **Cancers**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 3011, 16 jun. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/cancers13123011>

RAJU, G.K. *et al.* A Benefit–Risk Analysis Approach to Capture Regulatory Decision-Making: multiple myeloma. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, [S.L.], v. 103, n. 1, p. 67-76, 20 nov. 2017. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/cpt.871>

RANJAN, Pushpesh *et al.* Biosensor-based diagnostic approaches for various cellular biomarkers of breast cancer: a comprehensive review. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 610, p. 113996, dez. 2020. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2020.113996>

RAMU, Deepika *et al.* Cellular senescence: silent operator and therapeutic target in cancer. **Iubmb Life**, [S.L.], v. 73, n. 3, p. 530-542, mar. 2021. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/iub.2460>

RAVINDERPAL, Kour Sodhi & SATYA Paul. Metal Complexes in Medicine An Overview and Update from Drug Design Perspective , Cancer Therapy & Oncology International Journal , **Juniper Publishers** Inc., vol. 14(1), páginas 25-32, junho 2019.

<https://doi.org/10.19080/CTOIJ.2019.14.555883>

REPP, Lauren *et al.* Oligo (Lactic Acid)8-Docetaxel Prodrug-Loaded PEG-b-PLA Micelles for Prostate Cancer. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 2745, 17 out. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/nano11102745>

ROK, Jakub *et al.* The Assessment of the Phototoxic Action of Chlortetracycline and Doxycycline as a Potential Treatment of Melanotic Melanoma—Biochemical and Molecular Studies on COLO 829 and G-361 Cell Lines. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 2353, 25 jan. 2023.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms24032353>

ROMANI, Andrea M.P. Cisplatin in cancer treatment. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 206, p. 115323, dez. 2022. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115323>

ROMERO, Laura Romero *et al.* Qué es el cáncer? **Ra Rió Guendaruyubi**, [S.L.], v. 5, n. 13, p. 6-22, 9 set. 2021. Universidad Autonoma "Benito Juarez" de Oaxaca.

<http://dx.doi.org/10.53331/rar.v5i13.2041>

ROSARIO, E., Rosario DJ. Localized Prostate Cancer. 2022 Sep 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan—. PMID: 33085395.

ROSE, Anna *et al.* Three skin cancers in one: an extremely rare collision tumour. **Bmj Case Reports**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 240271, jun. 2021. BMJ.

<http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2020-240271>

ROY, Madhuchhanda *et al.* Male Mammary Paget Disease: a tale of 2 contrasting cases. **The American Journal Of Dermatopathology**, [S.L.], v. 42, n. 12, p. 981-985, 22 set. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).

<http://dx.doi.org/10.1097/dad.0000000000001799>

SALVADORI, Giulia *et al.* Intermittent and Periodic Fasting, Hormones, and Cancer Prevention. **Cancers**, [S.L.], v. 13, n. 18, p. 4587, 13 set. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/cancers13184587>

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>

SAYED, Fatma N. *et al.* Design, spectroscopic characterization, DFT, molecular docking, and different applications: anti-corrosion and antioxidant of novel metal complexes derived from ofloxacin-based schiff base. **Journal Of Organometallic Chemistry**, [S.L.], v. 993, p. 122698, jul. 2023.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2023.122698>

SCATTOLIN, Thomas *et al.* A critical review of palladium organometallic anticancer agents. **Cell Reports Physical Science**, [S.L.], v. 2, n. 6, p. 100446, jun. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.xcrp.2021.100446>

SCHAFF, Lauren R. *et al.* Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults. **Jama**, [S.L.], v. 329, n. 7, p. 574, 21 fev. 2023. American Medical Association (AMA).

<http://dx.doi.org/10.1001/jama.2023.0023>

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.

<http://dx.doi.org/10.3390/molecules27175730>

SHARMA, Sombeer *et al.* Current Treatment for Cervical Cancer: an update. **Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 20, n. 15, p. 1768-1779, 27 out. 2020. Bentham Science Publishers Ltd..

<http://dx.doi.org/10.2174/1871520620666200224093301>

SHAW, Priyanka *et al.* Modulating the Antioxidant Response for Better Oxidative Stress-Inducing Therapies: how to take advantage of two sides of the same medal?. **Biomedicines**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 823, 31 mar. 2022. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10040823>

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.

<http://doi.org/10.1016/j.saa.2014.09.056>

SHIOTA, Tomo *et al.* Pathological features of inflammatory myopathy as a manifestation of chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. **Neuropathology**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 309-314, 4 maio 2022. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1111/neup.12816>

SIAFAKA, Vassiliki *et al.* Illness Perceptions, Psychological Distress and Coping Strategies as Predictors of Quality of Life After Radiotherapy in Head and Neck Cancer Patients. **Archives Of Otorhinolaryngology-Head & Neck Surgery**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1, 2021. SciTeMed Publishing Group.

<http://dx.doi.org/10.24983/scitemed.aohns.2021.00143>

SILVA, Daniela Almeida da *et al.* Copper in tumors and the use of copper-based compounds in cancer treatment. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 226, p. 111634, jan. 2022. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111634>

SILVA, Priscila P. *et al.* Two New Ternary Complexes of Copper(II) with Tetracycline or Doxycycline and 1,10-Phenanthroline and Their Potential as Antitumoral: cytotoxicity and dna cleavage. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 50, n. 14, p. 6414-6424, 21 jun. 2011. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/ic101791r>

SINGH, Ankit Kumar *et al.* Metal Complexes in Cancer Treatment: journey so far. **Chemistry & Biodiversity**, [S.L.], v. 20, n. 4, 13 mar. 2023.

<http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.202300061>

STANZIONE, Francesca; GIANGRECO, Ilenia; COLE, Jason C.. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. **Progress In Medicinal Chemistry**, [S.L.], p. 273-343, 2021.

<http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmch.2021.01.004>

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.

<http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>

SUWENDAR, Suwendar *et al.* Evaluasi Kualitas Hidup Pasien Kanker Serviks yang Mendapat Regimen Kemoterapi Cisplatin-Vinkristin-Bleomisin dan Carboplatin-Paklitaksel. **Jurnal Manajemen Dan Pelayanan Farmasi (Journal Of Management And Pharmacy Practice)**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 167, 30 set. 2020. Universitas Gadjah Mada.

<http://dx.doi.org/10.22146/jmpf.44475>

TAN, Aaron C. *et al.* Management of glioblastoma: state of the art and future directions. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.L.], v. 70, n. 4, p. 299-312, jun. 2020. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.3322/caac.21613>

THAI, T., Salisbury BH, Zito PM. Ciprofloxacin. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454/>. Acesso em: 14 abr. 2023.

TRENNER, A.; SARTORI, A. A. Harnessing DNA Double-Strand Break Repair for Cancer Treatment. **Frontiers in Oncology**, v. 9, 10 dez. 2019. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01388>

TRIALONI, Paraskevi Z. *et al.* Conjugation of tetracycline and penicillin with Sb(v) and Ag(i) against breast cancer cells. **Main Group Metal Chemistry**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 152-168, 1 jan. 2022.

<http://dx.doi.org/10.1515/mgmc-2022-0016>

TOWITHELERTKUL, Cheewin *et al.* A custom-made brachytherapy applicator for recurrent endometrial and vaginal cancer: a dental technique for prosthesis fabrication. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [S.L.], v. 126, n. 5, p. 711-714, nov. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.06.019>

TUNJIC, Tin M. *et al.* Computer aided drug design in the development of proteolysis targeting chimeras. **Computational And Structural Biotechnology Journal**, [S.L.], v. 21, p. 2058-2067, 2023.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.csbj.2023.02.042>

VAIDYA, Jayant S. *et al.* Principles of cancer treatment by radiotherapy. **Surgery (Oxford)**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 193-201, abr. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2021.02.002>

VAUGHN, Brett A. *et al.* Is Less More? Influence of the Coordination Geometry of Copper(II) Picolinate Chelate Complexes on Metabolic Stability. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 59, n. 22, p. 16095-16108, 28 out. 2020. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c02314>

WADSWORTH, Brian L. *et al.* Expanding the Redox Range of Surface-Immobilized Metallocomplexes Using Molecular Interfaces. **Acs Applied Materials & Interfaces**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 3903-3911, 4 nov. 2019. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/acsami.9b15286>

WALDUM, Helge *et al.* Time to Classify Tumours of the Stomach and the Kidneys According to Cell of Origin. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 24, p. 13386, 13 dez. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms222413386>

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>

WEN, Patrick y *et al.* Glioblastoma in adults: a society for neuro-oncology (sno) and european society of neuro-oncology (eano) consensus review on current management and future directions. **Neuro-Oncology**, [S.L.], v. 22, n. 8, p. 1073-1113, 24 abr. 2020. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1093/neuonc/noaa106>

WITTLIN, Sergio *et al.* From Magic Bullet to Magic Bomb: reductive bioactivation of antiparasitic agents. **Acs Infectious Diseases**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 2777-2786, 2 set. 2021. American Chemical Society (ACS).

<http://dx.doi.org/10.1021/acsinfecdis.1c00118>

WONG, Felix Wu Shun *et al.* Are we ready to endorse new multiple cancer early-detection tests? **World Journal Of Advanced Research And Reviews**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 800-802, 28 fev. 2023. GSC Online Press.

<http://dx.doi.org/10.30574/wjarr.2023.17.2.0325>

YANG, Bowen *et al.* Augmenting Tumor-Starvation Therapy by Cancer Cell Autophagy Inhibition. **Advanced Science**, [S.L.], v. 7, n. 6, 27 jan. 2020. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/advs.201902847>

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, Pei *et al.* Current Opinion on Molecular Characterization for GBM Classification in Guiding Clinical Diagnosis, Prognosis, and Therapy. **Frontiers In Molecular Biosciences**, [S.L.], v. 7, 8 set. 2020. Frontiers Media SA.

<http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2020.562798>

ZHANG, Tingrui *et al.* Nano-engineered immune cells as “guided missiles” for cancer therapy. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 341, p. 60-79, jan. 2022.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.11.016>

ZHOU, Jie *et al.* Photothermally Triggered Copper Payload Release for Cuproptosis-Promoted Cancer Synergistic Therapy. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.L.], v. 62, n. 12, p. 1, 10 fev. 2023. Wiley.

<https://doi.org/10.1002/anie.202213922>