

MARCELA DE SÁ HAUCK

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E ANTIVIRAL DE
DERIVADOS DE DIBENZOILMETANOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Marisa Alves Nogueira Diaz

Coorientadores: Anésia Aparecida dos Santos

Sérgio Oliveira de Paula

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

H368s Hauck, Marcela de Sá, 1996-
2024 Síntese e avaliação da atividade antitumoral e antiviral de
derivados de dibenzoilmetanos / Marcela de Sá Hauck. – Viçosa,
MG, 2024.

1 tese eletrônica (119 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Marisa Alves Nogueira Diaz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.485>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Agentes antineoplásicos. 2. Dibenzoilmetanos - Síntese .
3. Virucidas. 4. Pinças ópticas. I. Diaz, Marisa Alves Nogueira,
1960-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós-Graduação
em Bioquímica Aplicada. III. Título.

CDD 22. ed. 616.994061


MARCELA DE SÁ HAUCK

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E ANTIVIRAL DE
DERIVADOS DE DIBENZOILMETANOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


Aprovada em: 12 de abril de 2024

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **MARCELA DE SA HAUCK**
Data: 15/08/2024 16:58:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Marcela de Sá Hauck

Autora

Documento assinado digitalmente
 **MARISA ALVES NOGUEIRA DIAZ**
Data: 14/08/2024 16:06:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Marisa Alves Nogueira Diaz

Orientadora

“Aceitar as coisas que eu não posso mudar, coragem para mudar as coisas que eu possa, e sabedoria para saber a diferença.”

(Meg Cabot)

RESUMO

HAUCK, Marcela de Sá, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2024. **Síntese e avaliação da atividade antitumoral e antiviral dos derivados de dibenzoilmetanos.** Orientadora: Marisa Alves Nogueira Diaz. Coorientadora: Anésia Aparecida dos Santos

O vírus Mayaro (MAYV), pertencente à família Togaviridae e ao gênero Alphavirus, causador de uma zoonose que nenhuma vacina ou terapia antiviral existente contra MAYV e a pesquisa de antivirais torna-se relevante na saúde pública. Em paralelo, o câncer é o nome dado a um conjunto de doenças caracterizado pelo crescimento desordenado de células, podendo atingir diversos órgãos e tecidos. Os dibenzoilmetanos, compostos de origem natural, apresentam atividades farmacológicas de grande importância, tais como atividade antitumoral e antiviral. Dessa forma, o presente trabalho consistiu na síntese de três derivados ABB, EBB e DPBP, e do derivado comercial denominado DBHOH₆, para avaliação do potencial antitumoral e antiviral. Para encontrar a concentração citotóxica (IC₅₀), ensaios de MTT foram realizados com a linhagem VERO, com as linhagens murinas B16F10, 4T1 e melan-a, e com as linhagens humanas HEK-293, HT29, SW480, MV3 e MCF-7. Para o composto ABB encontrou-se o IC₅₀ de 149,6; 63,45; 223,6; 370,4 e 122,8 µg/mL para as linhagens VERO, melan-a, HEK-293, B16F10 e 4T1, respectivamente. Para o composto EBB, encontrou-se os valores de IC₅₀ de 1670; 266,3; 833,1; 295,1; 499; 346,9; 40,44 e 8,893 µg/mL para as linhagens VERO, melan-a, HEK-293, HT29, SW480, MV3, MCF-7 e 4T1. Já para o composto DPBP os valores de IC₅₀ foram de 149,6 e 13,95 µg/mL para as linhagens VERO e 4T1. O derivado comercial DBHOH₆ apresentou valores de IC₅₀ de 14,79; 72,38; 31,78 e 31,54 µg/mL para as linhagens VERO, BGM, MCF-7 e MV3, respectivamente. Dessa forma foi possível obter o índice de seletividade (IS), que consiste na razão entre o IC_{50normal}/IC_{50tumoral}. O composto ABB não apresentou seletividade para os cânceres aqui testados. Já o composto DPBP apresentou IS de 10,72 para a linhagem de carcinoma mamário. O composto EBB apresentou alta seletividade para a linhagem mamária, obtendo-se IS de 187,78 para a linhagem murina e para a humana de 41,29 e para o melanoma humano de 4,28. Já o DBHOH₆ apresentou seletividade maior que 2 para os cânceres de pele (tipo melanoma) e mama. No experimento de cicatrização de feridas demonstraram que os compostos DPBP e EBB apresentam atividade antimetastática para células de câncer de mama. Com o experimento de interação de compostos com DNA foi

realizado e obteve-se que a interação entre o EBB e o DNA se dá por meio da fenda menor. Ainda, após obtenção do IC_{50} , realizou-se o teste de atividade virucida. Para o composto EBB obteve-se a estimativa da concentração protetora para 50% das partículas virais (EC_{50}), encontrando o valor de 6,755 $\mu\text{g/mL}$ e obteve-se o índice de seletividade de 247,22. Tais resultados sugerem a possibilidade do emprego destes compostos como potenciais quimioterápicos frente aos cânceres abordados e como antivirais no combate ao MAYV.

Palavras-chave: Antitumoral, Antiviral, virucida, pinça óptica.

ABSTRACT

HAUCK, Marcela de Sá, D.Sc., Federal University of Viçosa, April 2024. **Synthesis and evaluation of antitumor and antiviral activity of dibenzoylmethane derivatives.** Adviser: Marisa Alves Nogueira Diaz. Co-adviser: Anésia Aparecida dos Santos

Mayaro virus (MAYV), belonging to the Togaviridae family and the Alphavirus genus, causes a zoonosis for which there is no vaccine or antiviral therapy against MAYV, and research into antivirals has become relevant in public health. In parallel, cancer is the name given to a group of diseases characterized by disordered cell growth, which can affect various organs and tissues. Dibenzoylmethanes, compounds of natural origin, have highly important pharmacological activities, such as antitumor and antiviral activity. Thus, the present work consisted of the synthesis of three derivatives ABB, EBB and DPBP, and of the commercial derivative called DBHOH₆, to evaluate their antitumor and antiviral potential. To find the cytotoxic concentration (IC₅₀), MTT assays were performed with the VERO cell line, with the murine cell lines B16F10, 4T1 and melan-a, and with the human cell lines HEK-293, HT29, SW480, MV3 and MCF-7. For the compound ABB, the IC₅₀ values were 149.6; 63.45; 223.6; 370.4 and 122.8 µg/mL for the VERO, melan-a, HEK-293, B16F10 and 4T1 cell lines, respectively. For the compound EBB, the IC₅₀ values were 1670; 266.3; 833.1; 295.1; 499; 346.9; 40.44 and 8.893 µg/mL for the VERO, melan-a, HEK-293, HT29, SW480, MV3, MCF-7 and 4T1 cell lines. For the DPBP compound, the IC₅₀ values were 149.6 and 13.95 µg/mL for the VERO and 4T1 cell lines. The commercial derivative DBHOH₆ presented IC₅₀ values of 14.79; 72.38; 31.78 and 31.54 µg/mL for the VERO, BGM, MCF-7 and MV3 cell lines, respectively. In this way, it was possible to obtain the selectivity index (SI), which consists of the ratio between the normal IC₅₀/tumor IC₅₀. The ABB compound did not show selectivity for the cancers tested here. The compound DPBP presented an IS of 10.72 for the mammary carcinoma cell line. The compound EBB presented high selectivity for the mammary cell line, obtaining an IS of 187.78 for the murine cell line and 41.29 for the human cell line and 4.28 for human melanoma. DBHOH₆ presented selectivity greater than 2 for skin cancers (melanoma type) and breast cancer. In the wound healing experiment, it was demonstrated that the compounds DPBP and EBB present antimetastatic activity for breast cancer cells. The experiment of interaction of compounds with DNA was carried out and it was obtained that the

interaction between EBB and DNA occurs through the smaller cleft. Furthermore, after obtaining the IC_{50} , the virucidal activity test was performed. For the EBB compound, the estimate of the protective concentration for 50% of viral particles (EC_{50}) was obtained, finding the value of 6.755 $\mu\text{g/mL}$ and obtaining the selectivity index of 247.22. These results suggest the possibility of using these compounds as potential chemotherapeutics against the cancers addressed and as antivirals in the fight against MAYV.

Keywords: Antitumoral, antiviral, virucidal, optical tweezers.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
Referências bibliográficas	17
DIBENZOILMETANOS E ATIVIDADE CONTRA O CÂNCER DE MAMA: UMA POTENCIAL APLICAÇÃO ANTITUMORAL E ANTI MIGRATÓRIA	27
1. Introdução	28
2. Material e métodos.....	29
2.1. Identificação e seleção dos estudos	29
2.2. Critérios de elegibilidade	30
2.3. Extração dos dados dos artigos	30
3. Resultados e discussão	32
3.1. Descrição dos estudos	32
3.2. Dibenzoilmetano e seus derivados sintéticos	32
3.3. Atividade antitumoral	34
4. Conclusão	39
5. Referências bibliográficas	39
Síntese e avaliação in vitro da atividade antitumoral de derivados de dibenzoilmetano	45
CAPÍTULO 2	46
1. Introdução	46
2. Objetivo	50
2.1. Objetivo geral	50
2.2. Objetivos específicos.....	50
3. Metodologia.....	51
3.1. Cultivo celular	51
3.1.1. Linhagens celulares	51
3.2. Síntese, purificação e caracterização	51

3.2.1.	Síntese do composto EBB	52
3.2.2.	Síntese do composto ABB	53
3.2.3.	Síntese do composto DPBP	53
3.2.4.	Composto DBMOH ₆	54
3.3.	Ensaio citotóxico	54
3.4.	Ensaio de migração celular	55
3.5.	Ensaio de interação com DNA por meio de pinçamento óptico	55
3.6.	Avaliação do ciclo celular	56
4.	Resultados e discussão	57
4.1.	Síntese e purificação do 1-[(4- <i>tert</i> -butil)fenil]-2-benzil-3-(4-metoxifenil)-1,3-propanodiona (ABB)	57
4.2.	Síntese e purificação do 1-[(4- <i>iso</i> -propil)fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3 propanodiona (EBB) 64	
4.3.	Síntese e purificação do 1,3-difenil-2-benzil-1,3-propanodiona (DPBP)	72
4.4.	Atividade citotóxica	74
4.4.1.	Composto EBB	75
4.4.2.	Composto ABB	77
4.4.3.	Composto DPBP	79
4.4.4.	Composto DBMOH ₆	81
4.5.	Ensaio de migração	89
4.6.	Ensaio de interação com DNA	91
4.7.	Avaliação de interferência no ciclo celular	95
5.	Conclusão	97
6.	Referências	98
	Atividade antiviral do dibenzoilmetano 1-[(4- <i>iso</i> -propil)fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3-propanodiona em MAYARO VIRUS	109
	CAPÍTULO 3	110
1.	Introdução	110

2. Objetivo.....	113
2.1. Objetivo geral	113
2.2. Objetivos específicos.....	113
3. Material e métodos.....	113
3.1. Síntese do derivado EBB.....	113
3.2. Cultivo celular	113
3.3. Mayaro virus	114
3.4. Ensaio de atividade virucida	114
4. Resultados e discussão	114
5. Perspectivas futuras.....	116
6. Conclusão	116
7. Referências	117

INTRODUÇÃO GERAL

Uma classe de compostos com alta atividade biológica descrita na literatura é a dos dibenzoilmetanos (DBM). Esse composto e seus derivados, pertencem a um pequeno grupo de β -dicetonas que apresentam diversas atividades farmacológicas elucidadas, sendo elas: atividade antitumoral, antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, fotoprotiva entre outras. Outro fator interessante é a presença do DBM em grande número de famílias de plantas, dentre elas a *Annoceas*, *Astraceas*, *Menispermaceae*, *Rosaceae*, *Salicaceae* e *Leguminaceae*, sendo que a última apresenta elevada abundância (NETO et al., 2006).

Presentes na composição do filtro solar, os derivados de DBM Eusolex® 8020 e Parsol® 1789 (figura 1) são capazes de proteger a pele da radiação UVA, bloqueando a entrada da radiação nas células e impedindo a produção de espécies reativas de oxigênio (NOGUEIRA et al., 2003a). Nogueira e colaboradores (2003) também puderam determinar a fotoestabilidade dos compostos com atividade biológica, resultando em uma estabilidade protetiva frente a radiação UV por até nove horas.

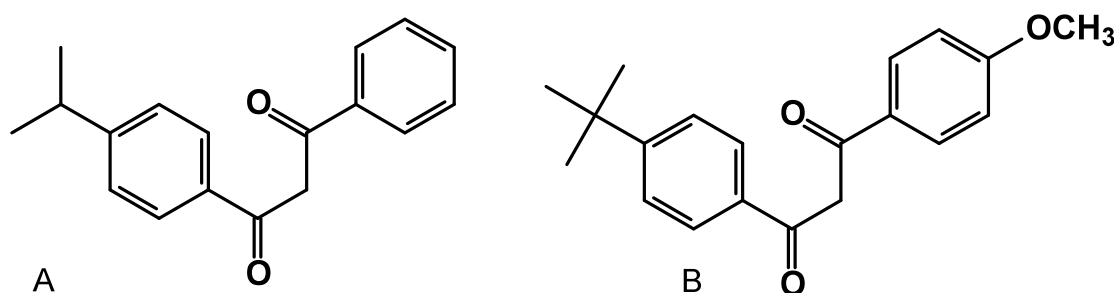


Figura 1: Compostos (A) Eusolex® 8020 e (B) Parsol® 1789 (NOGUEIRA et al., 2003a).

Além disso, dezenove derivados desses compostos foram sintetizados e oito deles apresentaram atividade antitumoral frente aos cânceres de mama, melanoma e pulmão (NOGUEIRA et al., 2003b). Nascimento e colaboradores (2018) sintetizaram e avaliaram também derivados de DBM que apresentaram atividade antimelanoma murino e puderam determinar que o novo composto foi capaz de interagir com o DNA, desencadeando morte celular via apoptose. Outros derivados do DBM mostraram *in silico*, *in vitro* e *in vivo* resultados promissores contra melanoma murino (BAETA,

2019). Tafuri (2011) observou a atividade antiviral de flavonoides e de derivado de DBM frente ao Herpesvirus bovino 1.

A busca de compostos naturais ou compostos baseados em compostos naturais, tem ganhado destaque, devido a sua alta complexidade química e baixa toxicidade, tornando-se mais efetivo para o alvo e dificultando o desenvolvimento de resistência terapêutica (NEWMAN; CRAGG, 2012). Neste trabalho duas atividades biológicas ganham destaque, a atividade antitumoral e a atividade antiviral. Nos dois primeiros capítulos desta tese serão abordados a atividade antitumoral dos derivados de DBM.

O câncer, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), é o nome dado a mais de 100 patologias malignas cujo ponto em comum é o crescimento desordenado de células. Além disso, esse crescimento desordenado, rápido e agressivo leva à formação de tumores secundários, que se instalam em órgãos e tecidos diferentes daqueles da origem do tumor. Tal fato é conhecido como metástase (“O que é câncer? | INCA - Instituto Nacional de Câncer”, 2022). Trata-se de uma doença de ocorrência mundial, dado que, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022), em 2018, estimou-se que 9,6 milhões de mortes ocorreram devido ao câncer, cerca de um sexto das mortes no mundo. Além disso, é considerada a segunda maior causadora de óbitos mundialmente (FIOROT et al., 2019).

Dentre os tipos de câncer mais frequentes no Brasil, temos o câncer de mama, cólon e reto, pulmão e traqueia e colo do útero (INCA, 2020). De acordo com a estimativa para o triênio 2020-2022 do INCA, no Brasil, são previstos cerca de 625 mil novos casos de câncer. Dentre esses, temos como os mais incidentes o câncer de pele não melanoma, cânceres de mama e próstata, cólon e reto, pulmão e estômago (INCA, 2020).

Dentre os tratamentos prescritos contra o câncer temos primeiramente procedimentos cirúrgicos com a finalidade de remoção do tecido canceroso. A quimioterapia também é utilizada como forma de tratamento para cânceres avançados com ou sem metástase (“Câncer da pele - Sociedade Brasileira de Dermatologia”). Alguns dos principais quimioterápicos hoje utilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) são a dacarbazina e doxorubicina (figura 2), que foram aprovadas pelo *Food and Drugs Administration* (FDA).

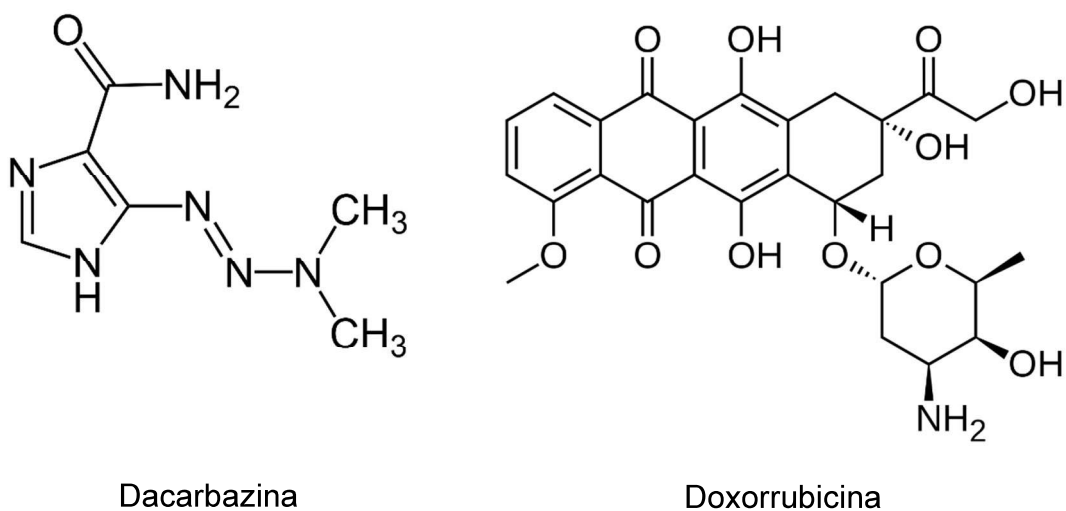


Figura 2: Estrutura química dos quimioterápicos dacarbazina e doxorubicina.

Essas drogas apresentam diversos efeitos colaterais, dentre eles náusea, vômito, mialgias, parestesias, queda de cabelo e outros, o que torna o tratamento muito debilitante para o paciente. Tais efeitos colaterais são justificados pela baixa seletividade do fármaco às células tumorais, ou seja, pode atuar tanto em células saudáveis, quanto em células cancerosas. O emprego de tais drogas é alto e o principal fator que o justifica é o baixo custo (PASQUALI et al., 2018; POIZEAU et al., 2020; REZENDE et al., 2019; WILSON; SCHUCHTER, 2016). Outro fator relevante a ser levantado sobre os quimioterápicos, é o desenvolvimento de resistência ao fármaco pelas células, resultado de uma terapia de droga única por longos períodos ou mesmo pela combinação de fármacos (MDR -*multi-drug-resistance*) (WILSON; SCHUCHTER, 2016). Dessa forma, a busca por novos quimioterápicos com atividade seletiva para o câncer torna-se imprescindível, uma vez que minimizaria os efeitos colaterais atuando diretamente nas células tumorais.

No terceiro capítulo desta tese será abordada a atividade antiviral. Essa atividade foi descrita por Tafuri (2011) para os derivados de dibenzoilmetano DPBP contra o herpesvirus 1 (figura 3). Porém, ainda não há relatos de ação antiviral contra *Alphavirus*. Pertencendo a esse gênero, o vírus Mayaro (*Mayaro virus* - MAYV), causador da Febre Mayaro, família *Togaviridae*, também é conhecido como Arbovírus (*Arthropod-born virus*), devido ao seu ciclo na natureza que envolve vetores artrópodes hematófagos. Primeiramente relatado apenas em comunidades

ribeirinhas, o vírus é transmitido pelo *Haemagogus* sp. de hábito silvestre. Nos últimos anos, foram relatados surtos de casos de Febre Mayaro em comunidades urbanas, o que implica na classificação desse vírus como emergente e na possível adaptação do mesmo para mudança de vetor (DA SILVA PESSOA VIEIRA et al., 2015; ZUCHI et al., 2014).

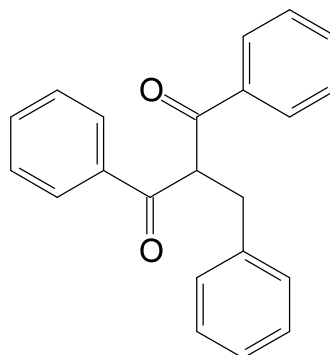


Figura 3. Composto DPBP testado contra o herpesvirus 1. (TAFURI, 2011)

O fato que teve grande repercussão em um estudo que mostrou, em 2011, que o *Aedes aegypti*, vetor de transmissão urbano e vetor do vírus Dengue, vírus Zika e vírus Chikungunya é potencialmente transmissor do Mayaro em centros urbanos o que significa que a transmissão deste deixou de estar restrita ao mosquito *Haemmagogus* sp. de hábito silvestre. Em outro trabalho Zuchi e colaboradores (2014), evidenciaram que a febre Mayaro está circulando silenciosamente durante os surtos de Dengue no Brasil. A observação veio do fato de que 2,5% dos indivíduos urbanos avaliados com supostos casos de Dengue estavam, na verdade, infectados pelo vírus Mayaro.

A infecção pelo MAYV possui sintomas comuns entre as infecções dos vírus da Dengue, Zika e Chikungunya, sendo eles: febre, mialgia, artralgia, cefaleia, erupções cutâneas e vômitos. Devido a tal similaridade entre os sintomas, o diagnóstico se torna difícil, e muitas vezes incorreto. Dessa forma, o tratamento é realizado de forma sintomática, devido à inexistência de antivirais contra tais arboviroses (COIMBRA et al., 2007a; RECEVEUR et al., 2010; ZUCHI et al., 2014). A busca por novas drogas constitui uma estratégia promissora, uma vez que possibilita a prospecção de novas classes de moléculas naturais e/ou sintéticas capazes de neutralizar ou de minimizar a ação de patógenos-alvo ou sem nenhuma opção de tratamento, como se tem observado para a maioria dos vírus.

Diante da falta de fármacos específicos para tratamentos antivirais e da baixa seletividade de quimioterápicos para o tratamento de câncer, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os derivados inéditos de dibenzoilmetano frente à diferentes linhagens de câncer e ao *alphavirus* Mayaro.

Referências bibliográficas

4T1 | ATCC. Disponível em: <<https://www.atcc.org/products/crl-2539>>. Acesso em: 12 nov. 2021.

AMALRAJ, A. et al. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, p. 205, 1 abr. 2017.

AN, J.; HERSHBERGER, P. E.; FERRANS, C. E. Delayed Presentation, Diagnosis, and Treatment of Breast Cancer Among Chinese Women: An Integrative Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 46, n. 3, p. 217–232, 1 maio 2023.

ANAND, P. et al. Suppression of pro-inflammatory and proliferative pathways by diferuloylmethane (curcumin) and its analogues dibenzoylmethane, dibenzoylpropane, and dibenzylideneacetone: role of Michael acceptors and Michael donors. **Biochem Pharmacol**, v. 82, n. 12, p. 1901–1909, 2011.

ARAÚJO, P. B. et al. Influência da neoplasia mamária na concentração sérica de hormônios e na expressão de receptores de estrógeno e progesterona em cadelas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 949–956, 1 maio 2018.

ATCC. **MCF 10F (CLR-10318)**, 1997.

ATCC. **MCF-7 (HTB22)**, 2003a.

ATCC. **MDA-MB 231(HTB-26)**, 2003b.

BAETA, J. V. P. B. et al. Allyl Dibenzoylmethane Derivative: Antimelanoma Activity and Study of Its Molecular Mechanism of Interaction with DNA. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 7, p. 1491–1497, 2021.

BALAKRISHNAN, B.; LAI, K. Modulation of SARS-CoV-2 Spike-induced Unfolded Protein Response (UPR) in HEK293T cells by selected small chemical molecules. **bioRxiv**, p. 2021.02.04.429769, 4 fev. 2021.

BALFOUR, H. H. J. Antiviral Drugs. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 16, p. 1255–1268, 22 abr. 1999.

BARROWS, N. J. et al. A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. **Cell host & microbe**, v. 20, n. 2, p. 259–270, 10 ago. 2016.

BETTEGA, J. M. P. R. Avaliação da atividade antiviral de extratos nebulizados de *Achyrocline satureioides*(LAM.) DC., Asteraceae - marcela. 2000.

BLUMBERG2, P. M. Special Lecture Protein Kinase C as the Receptor for the Phorbol Ester Tumor Promoters: Sixth Rhoads Memorial Award Lecture1. 1988.

CAMINI, F. C. et al. Oxidative stress in Mayaro virus infection. **Virus Research**, v. 236, p. 1–8, 15 maio 2017.

Câncer da pele - Sociedade Brasileira de Dermatologia. Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/cancer-da-pele/64/>>. Acesso em: 30 jan. 2021.

CENTER, M. M. et al. Worldwide Variations in Colorectal Cancer. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 59, n. 6, p. 366–378, 1 nov. 2009.

COIMBRA, T. L. M. et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007a.

COIMBRA, T. L. M. et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007b.

DA SILVA PESSOA VIEIRA, C. J. et al. Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. **Acta Tropica**, v. 147, p. 12–16, 1 jul. 2015.

DAABOUL, H. E. et al. β -2-Himachalen-6-ol inhibits 4T1 cells-induced metastatic triple negative breast carcinoma in murine model. **Chemico-Biological Interactions**, v. 309, p. 108703, 25 ago. 2019.

DAS, D. et al. **Visible light-induced cytotoxicity studies on Co(II) complexes having an anthracene-based curcuminoid ligand**. Dalton Transactions. **Anais...Dalton Trans**, 2019Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31393480/>>. Acesso em: 7 jan. 2024

DE CLERCQ, E. Strategies in the design of antiviral drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 1, n. 1, p. 13–25, 2002.

DE FIGUEIREDO, M. L. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. Emerging alphaviruses in the

Americas: Chikungunya and Mayaro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 677–683, 2014.

DEL CARMEN, S. et al. Anti-cancer effect of lactic acid bacteria expressing antioxidant enzymes or IL-10 in a colorectal cancer mouse model. **International Immunopharmacology**, v. 42, p. 122–129, 1 jan. 2017.

EBERT, B.; SEIDEL, A.; LAMPEN, A. Phytochemicals induce breast cancer resistance protein in Caco-2 cells and enhance the transport of benzo[a]pyrene-3-sulfate. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 96, n. 2, p. 227–236, abr. 2007.

ELSAYED, S. A. et al. Experimental and computational studies of silver(I) dibenzoylmethane-based complexes, interaction with DNA/RNA/BSA biomolecules, and in vitro cytotoxic activity. **J Inorg Biochem**, v. 241, p. 112132, 2023.

FERNANDES, L. S. et al. Evaluation of Antiviral Activity of Cyclic Ketones against Mayaro Virus. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2123, 2021.

FERREIRA, F. L. et al. Zika Virus Activity of the Leaf and Branch Extracts of *Tontelea micrantha* and Its Hexane Extracts Phytochemical Study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 4, 2019.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224–229, 2007.

FIOROT, R. et al. Synthesis, Molecular Modelling and Anticancer Activities of New Molecular Hybrids Containing 1,4-Naphthoquinone, 7-Chloroquinoline, 1,3,5-Triazine and Morpholine Cores as PI3K and AMPK Inhibitors in the Metastatic Melanoma Cells. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 9, p. 1860–1873, 2019.

GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 123–128, 13 jan. 2006.

GUO, L. et al. GDF15 expression in glioma is associated with malignant progression, immune microenvironment, and serves as a prognostic factor. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 00, p. 1–14, 25 out. 2021.

HAMMADI, N. I. et al. Evaluation of in vitro efficacy of docetaxel-loaded calcium carbonate aragonite nanoparticles (DTX-CaCO₃NP) on 4T1 mouse breast cancer cell line. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal**, v. 53, n. 10, p. 896–907, 1 dez. 2017.

HAO, M. et al. Autophagy Blockade Limits HER2+ Breast Cancer Tumorigenesis by Perturbing HER2 Trafficking and Promoting Release Via Small Extracellular Vesicles. **Developmental Cell**, v. 56, n. 3, p. 341- 355.e5, 8 fev. 2021.

HARBECK, N.; GNANT, M. Breast cancer. **The Lancet**, v. 389, n. 10074, p. 1134–1150, 18 mar. 2017.

HUANG, M. T. et al. Effect of dietary curcumin and dibenzoylmethane on formation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors and lymphomas/leukemias in Sencar mice. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 9, p. 1697–1700, 1998.

INCA. **Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil**. [s.l: s.n.].

IŞERI, Ö. D. et al. Drug resistant MCF-7 cells exhibit epithelial-mesenchymal transition gene expression pattern. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 1, p. 40–45, 1 fev. 2011.

JACKSON, K. M. et al. Dibenzoylmethane induces cell cycle deregulation in human prostate cancer cells. **Cancer Letters**, v. 178, n. 2, p. 161–165, 2002.

JOBIM, F. C. et al. Expressão da MMP-9 e do VEGF no câncer de mama: Correlação com outros indicadores de prognóstico. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v. 30, n. 6, p. 287–293, 2008.

LASHBROOK, M. P. et al. Coping Strategies Used by Breast, Prostate, and Colorectal Cancer Survivors: A Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 41, n. 5, p. E23–E39, 1 set. 2018.

LEE, J.-H. et al. Different prognostic impact of glucose uptake in visceral adipose tissue according to sex in patients with colorectal cancer. **Scientific Reports 2021 11:1**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 3 nov. 2021.

LEITAO, R. C. F. et al. Gallium and indium complexes with isoniazid-derived ligands:

Interaction with biomolecules and biological activity against cancer cells and *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 240, p. 112091, mar. 2023.

LEU, T.-H.; MAA, M.-C. The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. **Current medicinal chemistry. Anti-cancer agents**, v. 2, n. 3, p. 357–370, maio 2002.

LIAO, Y. F. et al. Dibenzoylmethane, hydroxydibenzoylmethane and hydroxymethyldibenzoylmethane inhibit phorbol-12-myristate 13-acetate-induced breast carcinoma cell invasion. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 6, p. 4597–4604, 2015a.

LIAO, Y. F. et al. Dibenzoylmethane, hydroxydibenzoylmethane and hydroxymethyldibenzoylmethane inhibit phorbol-12-myristate 13-acetate-induced breast carcinoma cell invasion. **Molecular medicine reports**, v. 11, n. 6, p. 4597–4604, 1 jun. 2015b.

LIN, C.-C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 131–136, 2006a.

LIN, C. C. et al. Inhibition by dietary dibenzoylmethane of mammary gland proliferation, formation of DMBA-DNA adducts in mammary glands, and mammary tumorigenesis in Sencar mice. **Cancer Lett**, v. 168, n. 2, p. 125–132, 2001.

LIN, C. C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 131–136, jan. 2006b.

LIN, C. C.; HO, C. T.; HUANG, M. T. Mechanistic studies on the inhibitory action of dietary dibenzoylmethane, a beta-diketone analogue of curcumin, on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumorigenesis. **Proc Natl Sci Counc Repub China B**, v. 25, n. 3, p. 158–165, 2001.

LIN, C. W. et al. Quercetin inhibition of tumor invasion via suppressing PKC δ /ERK/AP-1-dependent matrix metalloproteinase-9 activation in breast carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 9, p. 1807–1815, 2008.

LISCOVITCH, M.; RAVID, D. A case study in misidentification of cancer cell lines: MCF-7/AdrR cells (re-designated NCI/ADR-RES) are derived from OVCAR-8 human ovarian carcinoma cells. **Cancer Letters**, v. 245, n. 1–2, p. 350–352, 8 jan. 2007.

LIU, R. et al. The role of extracellular matrix on unfavorable maternal–fetal interface: focusing on the function of collagen in human fertility. **Journal of Leather Science and Engineering**, v. 4, n. 1, 1 dez. 2022.

LIU, Y. et al. The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: Results from the Nurses' Health Study. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 129, n. 1, p. 175–184, ago. 2011.

LONG, M. et al. Nuclear Factor- κ B Modulates Regulatory T Cell Development by Directly Regulating Expression of Foxp3 Transcription Factor. **Immunity**, v. 31, n. 6, p. 921–931, 18 dez. 2009.

LOPES, N. et al. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil General features and epidemiology of emerging arboviruses in Brazil Características generales y epidemiología de los arbovirus emergentes en Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 5, n. 3, p. 55–64, 2014.

MAGALHÃES, A. F. et al. Three dibenzoylmethane derivatives from Lonchocarpus species. **Phytochemistry**, v. 46, n. 6, p. 1029–1033, 1997.

MÁRMOL, I. et al. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. **International Journal of Molecular Sciences 2017, Vol. 18, Page 197**, v. 18, n. 1, p. 197, 19 jan. 2017.

MEURER, S. K. et al. Differential regulation of Lipocalin 2 (LCN2) in doxorubicin-resistant 4T1 triple negative breast cancer cells. **Cellular Signalling**, v. 74, p. 109731, 1 out. 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MOUSAZADEH, R. et al. Anticancer tendency of aflatoxin B1 in 4T1 breast cancer cell line. **Gene Reports**, v. 16, p. 100442, 1 set. 2019.

MUNIR, H. et al. Stromal-driven and Amyloid β -dependent induction of neutrophil extracellular traps modulates tumor growth. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 683, 29 dez. 2021.

NASCIMENTO, F. R. et al. New antineoplastic agent based on a dibenzoylmethane derivative: Cytotoxic effect and direct interaction with DNA. **Biophysical Chemistry**, v. 239, p. 1–6, 2018.

NASCIMENTO, F. R. et al. Dibenzoylmethane derivative inhibits melanoma cancer in vitro and in vivo through induction of intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109734, 5 jan. 2022.

NETO, Q. A. DA L. et al. Estudo da relação estrutura-atividade quantitativa de dibenzoilmetanos α -substituídos quanto à atividade anticâncer da mama (linhagem celular MCF7). **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 4, n. 54, p. 345–357, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010** *Journal of Natural Products* American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, , 23 mar. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np200906s>>. Acesso em: 31 jan. 2021

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003a.

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco (Societa chimica italiana : 1989)**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003b.

O que é câncer? | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 28 jan. 2021.

OLIVEIRA, M. R. DE. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMELANOMA DE FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA DE UM DERIVADO SINTÉTICO DE DIBENZOILMETANO.** [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2017.

OLIVEIRA, M. A. B. R. E. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL IN VITRO DO DERIVADO DE DIBENZOILMETANO, 1-[(4'-ISO-PROPILO)FENIL]-2-PROPANO-3-FENIL-1,3-PROPANODIONA (IP 2-DBM), EM LINHAGENS DE MELANOMA, GLIOMA E ADENOCARCINOMA DO COLORRETAL.** [s.l.: s.n.].

PARK, S. K. et al. Kalopanaxsaponin A inhibits PMA-induced invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 via PI3K/Akt- and PKC δ -mediated signaling in MCF-7 human breast cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 7, p. 1225–1233, 2009.

PASQUALI, S. et al. **Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma** *Cochrane Database of Systematic Reviews* John Wiley and Sons Ltd, , 6 fev. 2018. Disponível em: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36491081/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36491081/). Acesso em: 2 fev. 2021

PIRES, B. R. B. **O PAPEL REGULATÓRIO DE NF- κ B E TWIST1 NO CÂNCER DE MAMA**. [s.l: s.n.].

POIZEAU, F. et al. Patients with metastatic melanoma receiving anticancer drugs: changes in overall survival, 2010-2017. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 0, n. 0, out. 2020.

POPOLIM, C. P. **Efeitos antitumorais e antimetastáticos de novos complexos de rutênio em células de câncer de mama**. [s.l: s.n.].

Psychological and psychosocial aspects of breast cancer and...: Cancer Nursing. Disponível em: https://journals.lww.com/cancernursingonline/abstract/1994/10000/psychological_and_psychosocial_aspects_of_breast.7.aspx. Acesso em: 2 mar. 2024.

QUASSINTI, L. et al. Exploring new applications of tulip tree (*Liriodendron tulipifera* L.): leaf essential oil as apoptotic agent for human glioblastoma. **Environmental Science and Pollution Research**, n. Keeler 1902, 2019.

RAJALAKSHMI, T. R. et al. DNA adducts-chemical addons. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 7, n. Suppl 1, p. S197, 1 abr. 2015.

RECEVEUR, M. C. et al. Infection with Mayaro virus in a French traveller returning from the Amazon region, Brazil, January, 2010. **Eurosurveillance**, v. 15, n. 18, p. 1–3, 6 maio 2010.

REDMER, T. Deciphering mechanisms of brain metastasis in melanoma - the gist of the matter. **Molecular Cancer**, v. 17, n. 1, p. 1–17, 2018.

REZENDE, H. D. et al. Study of skin neoplasms in a university hospital: Integration of

anatomopathological records and its interface with the literature. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 94, n. 1, p. 42–46, 1 jan. 2019.

RIBEIRO-FILHO, H. V. et al. Cryo-EM structure of the mature and infective Mayaro virus at 4.4 Å resolution reveals features of arthritogenic alphaviruses. **Nature Communications** 2021 12:1, v. 12, n. 1, p. 1–13, 24 maio 2021.

SÁNCHEZ, I. et al. Antiviral Effect of Flavonoids on the Dengue Virus. 2000.

SCHADENDORF, D.; HAUSCHILD, A. Melanoma—the run of success continues. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 11, n. 2, p. 75–76, fev. 2014.

SHAIN, A. H.; BASTIAN, B. C. From melanocytes to melanomas. **Nature Publishing Group**, v. 16, p. 345–358, 2016.

SILVA, V. L. et al. Selection of Novel Peptides Homing the 4T1 CELL Line: Exploring Alternative Targets for Triple Negative Breast Cancer. **PLOS ONE**, v. 11, n. 8, p. e0161290, 1 ago. 2016.

SISTEMA, S.; SAÚDE, Ú. DE. SUS-ONCO. p. 22–23, 2019.

SUKUMARI-RAMESH, S. et al. Dietary phytochemicals induce p53- and caspase-independent cell death in human neuroblastoma cells. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 7, p. 701–710, 1 nov. 2011.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

TAFURI, N. F. **Atividade antiviral de extratos vegetais e flavonoides contra o Bovine herpesvirus 1 (BOHV1)**. [s.l: s.n.].

Taxa de incidência de diabetes cresceu 61,8% nos últimos 10 anos. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/taxa-de-incidencia-de-diabetes-cresceu-618-nos-ultimos-10-anos>>. Acesso em: 8 nov. 2021.

THIMMULAPPA, R. K. et al. Antiviral and immunomodulatory activity of curcumin: A case for prophylactic therapy for COVID-19. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06350, 1 fev. 2021.

TIAN, J. M. et al. Estrogen and progesterone promote breast cancer cell proliferation by inducing cyclin G1 expression. **Brazilian Journal of Medical and Biological**

Research, v. 51, n. 3, p. 1–7, 2018.

Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>>. Acesso em: 8 nov. 2021a.

Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-intestino/profissional-de-saude>>. Acesso em: 8 nov. 2021b.

TURLEY, S. J.; CREMASCO, V.; ASTARITA, J. L. Immunological hallmarks of stromal cells in the tumour microenvironment. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 11, p. 669–682, 1 nov. 2015.

UHR, J. G. Z.; SCHMECHEL, M.; UHR, D. DE A. P. Relação entre saneamento básico no Brasil e saúde da população sob a ótica das internações hospitalares por doenças de veiculação hídrica. **Revista de Administração, Contabilidade e Economia da Fundace**, v. 7, n. 2, 18 mar. 2016.

VIKTOR PAULA BARROS BAETA, J. DE. **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMELANOMA IN VITRO, IN SILICO E IN VIVO DO 2-ALIL-1,3-DIFENIL-1,3-PROPANODIONA.** [s.l: s.n.].

WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA**, v. 321, n. 3, p. 288–300, 22 jan. 2019.

WHO. **Cancer.** Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 29 jan. 2021.

WILSON, M. A.; SCHUCHTER, L. M. Chemotherapy for melanoma. **Cancer Treatment and Research**, v. 167, p. 209–229, 2016.

YIU, A. et al. Circulating uric acid levels and subsequent development of cancer in 493,281 individuals: Findings from the AMORIS Study. **Oncotarget**, v. 8, n. 26, p. 42332–42342, 2017.

ZBYTEK, B. et al. Current concepts of metastasis in melanoma. **Expert Review of Dermatology**, v. 3, n. 5, p. 569–585, 2008.

**DIBENZOILMETANOS E ATIVIDADE CONTRA O CÂNCER DE MAMA: UMA
POTENCIAL APLICAÇÃO ANTITUMORAL E ANTI MIGRATÓRIA**

1. Introdução

O câncer é a doença que tem maior incidência no mundo, acometendo pessoas de diferentes idades, sexo e região (SUNG et al., 2021). Tal doença caracteriza-se pelo crescimento descontrolado de células de um dado tecido, que pode ser ávido e ofensivo ocasionando possíveis infiltrações de tumores secundários. Tais tumores secundários tem como característica a colonização de um novo tecido que é diferente do tecido de origem das células, sendo mais conhecido como processo de metástase. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que a doença tenha levado a óbito aproximadamente 10 milhões de pessoas e o câncer de mama foi o que mais apresentou novos diagnósticos, com aproximadamente 2,6 milhões de casos em 2020 (FIOROT et al., 2019).

Ao diagnosticar a doença, as principais formas de tratamento consistem em remoção cirúrgica do tumor, quimioterapias, imunoquimioterapias e radioterapias. No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) hoje contempla o tratamento quimioterápico para seus pacientes, sendo os principais fármacos hoje empregados a doxorrubicina, dacarbazina e ciclofosfamida (SISTEMA; SAÚDE, 2019). Tais quimioterápicos hoje apresentam uma baixa seletividade às células tumorais, ou seja, atua danificando células saudáveis na mesma proporção que as células cancerosas. Diante de tal fato, as drogas quimioterápicas são responsáveis em acometer aos pacientes uma série de efeitos colaterais desconfortáveis, tais como vômitos, parestesias, queda de cabelo, cardiopatias, mialgias entre outros. A utilização de tais drogas pelo SUS hoje é alto pelo seu baixo custo de obtenção de distribuição como tratamento (PASQUALI et al., 2018; POIZEAU et al., 2020; REZENDE et al., 2019).

O câncer de mama é o tipo de câncer mais incidente em mulheres, sendo também diagnosticado em homens com cerca de 1% dos casos de cânceres em homens, e é o causador de muitos transtornos psicológicos pós diagnósticos e durante o tratamento (AN; HERSHBERGER; FERRANS, 2023; LASHBROOK et al., 2018; "Psychological and psychosocial aspects of breast cancer and... : Cancer Nursing", [s.d.]). Seu tratamento envolve a remoção cirúrgica do tumor, tratamentos quimioterápicos, podendo ser hormonais ou não dependendo de sua classificação, e radioterapias.

O dibenzoilmetano (DBM) é um composto químico isolado primeiramente em extrato de plantas e que pertence à classe das beta-dicetonas (MAGALHÃES et al., 1997; NOGUEIRA et al., 2003b). Com atividades fotoprotetoras e antitumorais para câncer de pele do tipo melanoma descritas, o DBM e seus derivados ganham destaque na investigação frente à outros tipos de cânceres e outras atividades biológicas tais como anti-inflamatória e antioxidante (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006; LIU et al., 2022; NASCIMENTO et al., 2018, 2022; NOGUEIRA et al., 2003b). Diante aos fatos, até o presente momento não há revisões que tenham focado a atividade antitumoral contra o câncer de mama do dibenzoilmetano ou quaisquer de seus derivados sintéticos. Dessa forma, a presente revisão sistemática teve como objetivo agregar evidências de atividades antitumoral contra o câncer de mama do dibenzoilmetano e seus derivados sintéticos.

2. Material e métodos

2.1. Identificação e seleção dos estudos

Para o desenvolvimento desta revisão sistemática, o questionamento: “Existem atividades antitumorais descritas para dibenzoilmetanos e seus derivados, porém essas atividades englobam o câncer de mama?”. Este presente artigo foi desenhado no período de dezembro de 2023 a março de 2024, seguindo critérios estabelecidos pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (MOHER et al., 2015) e encontra-se em processo de registro no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO).

Optou-se pela busca nas bases de dados Pubmed, Scielo, Lilacs e Medline. Utilizou-se como critérios a combinação dos descritores “*β-diketone*” e “*dibenzoylmethane*” com os descritores “*breast cancer*”; “*mammary cancer*” e “*anticancer*” e não houve restrição para as datas de publicação dos artigos. Outro critério de seleção foi estar redigido em língua inglesa.

Um protocolo de identificação e seleção dos artigos originais foi estabelecido pelos autores conforme figura 1 e as publicações foram analisadas e selecionadas manualmente e de maneira independente por dois autores de acordo com os critérios de elegibilidade, além de retirarem possíveis duplicatas. Quaisquer dúvidas ou discrepâncias sobre os artigos foram discutidas e avaliadas criteriosamente entre os

autores, que decidiram sobre o critério de inclusão. A busca resultou, portanto, em um total de 121 artigos, que após leitura do título e resumo e a avaliação dos critérios de elegibilidade, nove (9) foram incluídos nesta revisão.

2.2. Critérios de elegibilidade

Como critérios de inclusão, definiu-se: artigos originais e escritos em inglês já publicados; modelo experimental *in vitro*; e que avaliasse a atividade antitumoral contra o câncer de mama do dibenzoilmetano ou qualquer de seus derivados sintéticos.

Como critérios de exclusão, definiu-se: modelo experimental *in vivo*; resumos; capítulos de livros; livros; estudos conduzidos em humanos; artigos não publicados; artigos duplicados; artigos de revisão; monografias; dissertações; teses; e estudos que não abordasse atividade contra o câncer de mama do dibenzoilmetano e/ou seus derivados.

2.3. Extração dos dados dos artigos

Os dados obtidos dos estudos e avaliados pelos autores foram: autores; ano de publicação; modelo experimental (tipo celular, tratamento, doses utilizadas, período de tratamento); mecanismos de ação e efeito dos tratamentos.

Capítulo 1

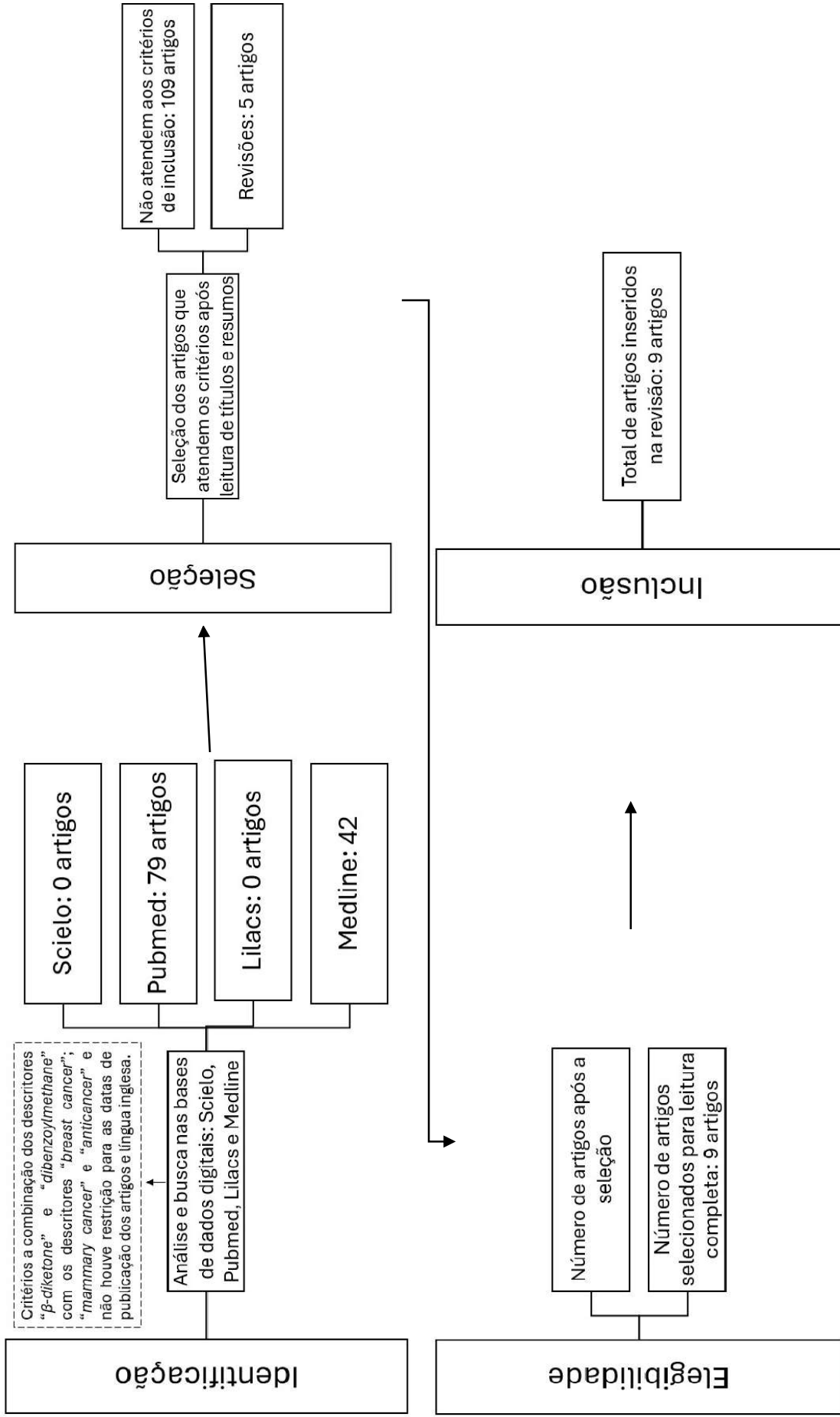


Figura 1: Fluxograma de busca e seleção dos artigos desta revisão

3. Resultados e discussão

3.1. Descrição dos estudos

Realizada as etapas de identificação, seleção e elegibilidade, nesta revisão incluiu-se 9 artigos publicados compreendem entre os anos de 2001 e 2023. Os artigos utilizaram modelo *in vitro* para avaliação da atividade antitumoral contra o câncer de mama do dibenzoilmetano e/ou seus derivados.

Para os estudos experimentais *in vitro*, foram utilizadas as seguintes linhagens celulares: MCF-7 (n=8), MBA-MB 231 (n=4), MCF-10 (n=1), NCI ADR (n=1) e MCF-7R (n=1). Tais linhagens foram tratadas com concentrações do dibenzoilmetano e/ou seus derivados em concentrações variando de 0,25 a 250 µg/mL em um período de 5 a 48 horas.

3.2. Dibenzoilmetano e seus derivados sintéticos

A classe das β-dicetonas engloba muitos compostos cuja estrutura e funcionalidade são bem descritas e conhecidas. A exemplo, temos a curcumina, composto majoritário presente no rizoma da *Curcuma longa*, popularmente conhecido como açafrão, possui diversas atividades antioxidantes, antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória descritas (AMALRAJ et al., 2017; SUKUMARI-RAMESH et al., 2011). O dibenzoilmetano também pertence à esta classe e de maneira semelhante possui diferentes atividades também já elucidadas tais como antitumoral, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória. Seus derivados sintéticos também estão sendo investigados, uma vez que modificações em sua estrutura pode contribuir para melhor desempenho em suas atividades.

Nesta revisão, além do dibenzoilmetano, alguns de seus derivados sintéticos também foram avaliados frente às células tumorais de mama. Nota-se que em relação as alterações estruturais acometidas, pode-se ressaltar que as principais adições em sua estrutura foram compostas de grupamentos benzila, propil, acetilenometil, metoxil e butil, como observado na **figura 2**.

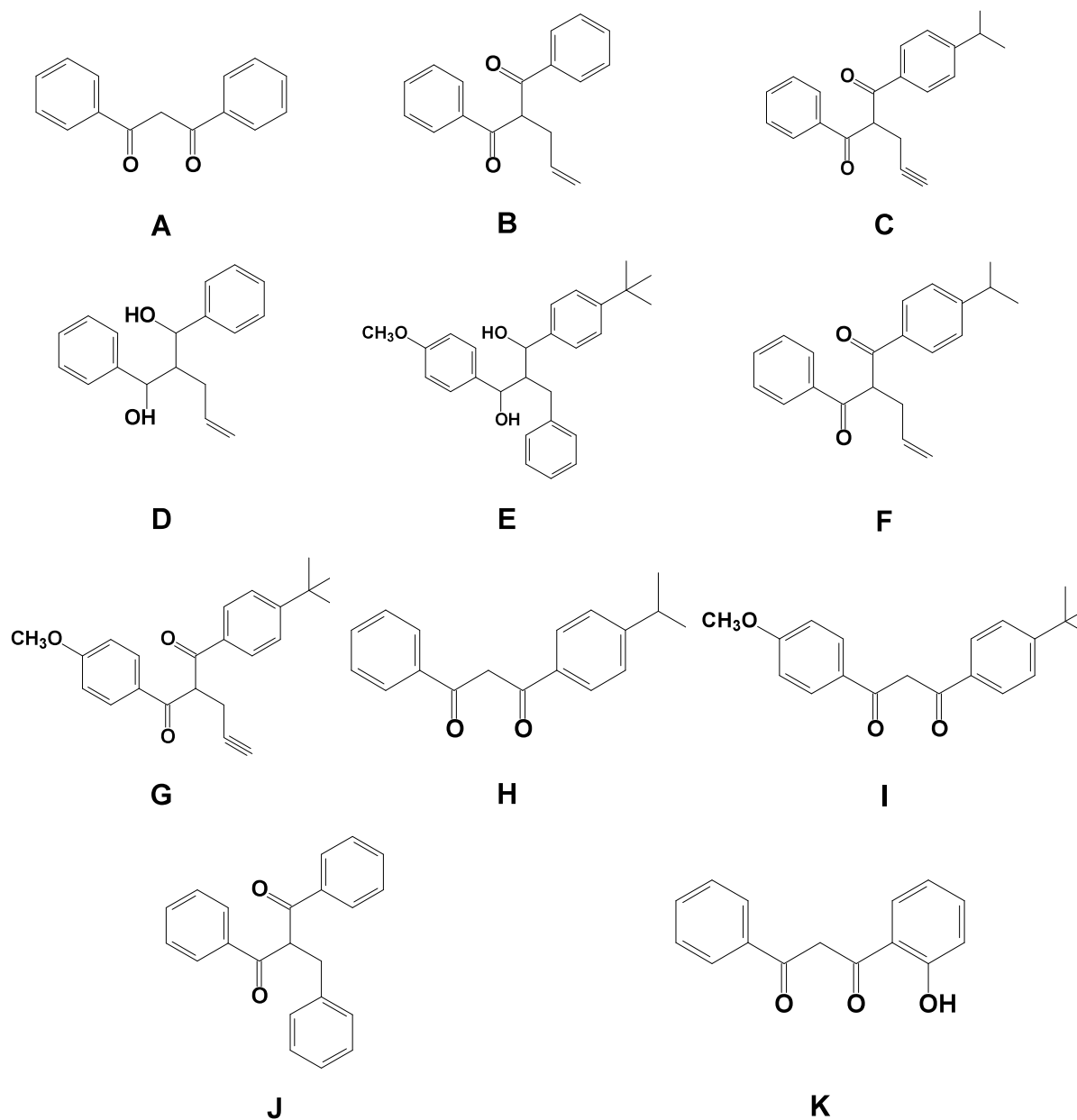


Figura 2: Dibenzoilmetano e seus derivados estudados nos artigos selecionados nesta revisão

3.3. Atividade antitumoral

Um composto que possua atividade antitumoral deve ser capaz de inibir o crescimento de células cancerosas e, de preferência, não inibir o de células normais. Os quimioterápicos hoje utilizados apresentam a capacidade de inibir ou induzir a morte em células independente de sua característica (HAO et al., 2021; HARBECK; GNANT, 2017; LEU; MAA, 2002). Os ensaios aqui tratados consistiram em ensaios de viabilidade celular por meio da redução do sal de tetrazólio amarelo ou MTT. As células expostas com diferentes concentrações do composto são avaliadas posteriormente quanto à sua viabilidade mitocondrial (MOSMANN, 1983).

Os artigos abordaram diferentes tipos celulares, sendo eles a MCF-7, MDA-MB 231, MCF-7R, NCI ADR e MCF-10F. A MCF-7 é uma linhagem de células humana isolada de uma paciente de 69 anos tendo sua característica ser uma linhagem obtida de metástase pleural e expressar receptores de estrogênio (ATCC, 2003a). De maneira similar, a MCF-7R é a mesma linhagem que foi submetida a processos de exposição à drogas e, portanto, adquiriu-se resistência a quimioterápicos utilizados. Já a linhagem MDA-MB 231 foi obtida de uma paciente de 51 anos e apresenta (ATCC, 2003b). A linhagem NCI ADR foi originalmente classificada como uma linhagem tumoral de mama, porém em estudos posteriores foi possível identificá-la como uma linhagem de câncer de ovário, sendo aplicada em estudos de resistência à drogas quimioterápicas (LISCOVITCH; RAVID, 2007). Por fim, a linhagem MCF-10F é uma linhagem normal de mama, derivada de um fibrócito, é aplicada em estudos cujo objetivo é o estudo de culturas em três dimensões devida a sua característica de formação de tumores quando estimulada (ATCC, 1997).

O processo de formação de uma célula cancerosa advém do acúmulo de mutações a qual ela é submetida, sendo a causa da mutação variável, podendo ser genético ou por fatores externos tais como exposição à radiação, estilo de vida, alimentação, entre outros. Uma das mutações que podem ocorrer são as chamadas formação de aduto de DNA, que consiste na formação de uma ligação covalente entre um DNA e um produto químico, resultando na inviabilização de daquela região e a replicação incorreta do DNA (HUANG et al., 1998; RAJALAKSHMI et al., 2015; SUKUMARI-RAMESH et al., 2011; ZHENG et al., 2000). Lin e colaboradores (2001) puderam estudar que dibenzoilmetano e alguns de seus derivados são capazes de inibir a

formação, visto que submeteram as células a fármacos carcinogênicos formadores de adutos de DNA e as trataram com derivados de DBM. Observou-se que foi capaz de reduzir a formação de adutos de DNA em, no mínimo 60%.

Um ponto a se destacar seria sobre o processo migracional das células, no qual consiste em uma célula ter a capacidade de se deslocar e colonizar novos ambientes. Esse processo invasivo pode ocorrer de maneira local, na qual as células tumorais invadem tecidos vizinhos ao de origem, ou mesmo de maneira periférica, na qual a célula maligna pode adentrar a corrente sanguínea e assim migrar para colonização de novos tecidos distantes do ponto de origem (REDMER, 2018)(REDMER, 2018). Essa colonização é conhecida como metástase, e em sua maioria das vezes está associada a um prognóstico ruim. Algumas vias de sinalização são necessárias para inicialização do processo migratório e a resposta celular frente às moléculas são de suma importância.

O processo migratório depende primeiramente da quebra ou remodelação da matriz extracelular de maneira que facilite a permeabilidade das células e que seja possível recrutar a modelação de novos vasos. Algumas proteinases são de grande importância para que esse processo possa ocorrer, sendo o grupo das metaloproteinases da matriz (MMPs) o principal responsável por degradar uma série de constituintes da membrana basal e da matriz extracelular. Uma das MMPs de grande importância na degradação da matriz extracelular é a MMP-9, que é superexpressada em células neoplásicas com caráter invasivo (JOBIM et al., 2008; LIN et al., 2008; LONG et al., 2009). Derivados do DBM e o próprio DBM foi capaz de inibir o processo migratório das células tumorais bloqueando a via de ativação de expressão da MMP-9, o que resultou na diminuição da migração destas *in vitro*.

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é um dos fatores que desencadeiam respostas significativas para o crescimento e suprimento do tumor, uma vez que o mesmo irá recrutar células para desenvolvimento de seu sistema de vascularização e assim suprir as necessidades metabólicas das células (ANAND et al., 2011; LIU et al., 2011; MÁRMOL et al., 2017). Ao produzir e excretar o VEGF, as células tumorais induzem as células endoteliais à proliferação e em paralelo aumentam a permeabilidade capilar (JOBIM et al., 2008). Em conjunto com a expressão das MMPs para degradação da matriz extracelular o ambiente perfeito para

as mesmas possa migrar para os vasos recém produzidos e assim entrarem em circulação para futuras colonizações.

Entre as vias de ativação da resposta celular proliferativa, tem-se a via dependente da NF- κ B, ou fator nuclear kappa B. Esse complexo proteico desempenha funções importantes no quesito transcrição, e está presente em ativações de vias como resposta diante de estresse, oxidação de lipídeos, antígenos virais e bacterianos, radiação UV e citocinas. Como um agente fundamental da resposta imune, a (GUO et al., 2021; THIMMULAPPA et al., 2021) atua como ativadora de genes para transcrição de citocinas inflamatórias, quimiocinas e moléculas de importante papel na adesão, apoptose, proliferação, morfogênese e diferenciação celular (PARK et al., 2009; PIRES, 2018).

Anand e colaboradores (2011) verificaram que o dibenzoilmetano, a curcumina e outros análogos, foram capazes de inibir a proliferação celular de maneira dose-dependente. Com diferentes respostas em suas diferentes moléculas, notou-se que a resposta de inibição da NF- κ B e, conseqüentemente da proliferação, é dependente da estrutura molecular do composto.

Tratando-se de um tecido que responde à hormônios sexuais, o câncer de mama tem como diferencial sua resposta aos hormônios do ciclo feminino (IŞERI et al., 2011; WAKS; WINER, 2019). O tecido mamário irá responder aos hormônios estradiol e progesterona, presentes no ciclo reprodutivo e, muitas vezes, sendo usados como reposição hormonal em pacientes na menopausa ou como forma contraceptiva, sendo esta a responsável pela inibição da ovulação (ARAÚJO et al., 2018; TIAN et al., 2018). O estradiol atua como um indutor de proliferação em linhagens tumorais de mama, sendo um dos responsáveis pelo rápido desenvolvimento e possíveis invasões das células cancerosas. Lin e colaboradores (2006b) avaliaram se o DBM seria capaz de inibir a via de sinalização dependente de estradiol. Nota-se que o DBM inibiu o crescimento das células por esta via e inibiu também a expressão de oncogenes de grande importância oncológica, sendo eles telomerase, *c-myc*, *Ha-ras* e *bcl-2*.

Ao realizar a presente revisão, pode-se averiguar a presença de estudos do dibenzoilmetano e/ou seus derivados em diferentes bases de dados digitais. A tabela

1 traz um compilado de informações obtidas nesta revisão, sendo dados de relevância para mapear e compreender as atividades já descritas de tais moléculas.

Capítulo 1

Tabela 1: Evidências dos ensaios in vitro do dibenzoilmetano e suas respectivas ações

Autor/ano	Dibenzoilmetanos estudados	Linagem celular	Achados
ANAND et al., 2011	A	MDA-MB 231	Inibição da proliferação celular via NF-KB
DAS et al., 2019	A	MCF-7 e MDA-MB 231	Atividade citotóxica somente em células tumorais
EBERT; SEIDEL; LAMPEN, 2007	A	MCF-7	Atividade citotóxica somente em células tumorais
ELSAYED et al., 2023	A	MCF-7 e MDA-MB 231	Atividade citotóxica em células normais e tumorais
LEITAO et al., 2023	A	MCF-7	Atividade citotóxica em células tumorais e atividade antibacteriana
LIAO et al., 2015	A, K e I	MCF-7	Atividade citotóxica somente em células tumorais; atividade antimigracional
LIN; HO; HUANG, 2001	A	MCF-7, MCF-10	Atividade citotóxica e inibição da formação de adutos de DNA
LIN et al., 2006	A	MCF-7	Atividade citotóxica somente em linhagem tumoral e interferência na expressão de oncogenes
NOGUEIRA et al., 2003	A, B, C, D, E, F, G, H, I e J	MCF-7 e NCI ADR	Atividade citotóxica somente em células tumorais e atividade protetora a radiação UV

4. Conclusão

Nesta revisão, a maioria dos artigos aqui aprofundados não avaliaram a citotoxicidade do dibenzoilmetano e seus derivados em células normais, o que implica em uma possível não-seletividade deles quando reavaliá-los. Porém, diante das evidências, nota-se que o dibenzoilmetano e seus derivados possuem potencial atividade antitumoral contra o câncer de mama, visto que apresentou a capacidade de inibir o crescimento de diferentes células de tal neoplasia.

Ainda no contexto de atividade antitumoral, nota-se que a capacidade de inibir processos migratórios do dibenzoilmetano e seus derivados foi de suma importância, visto que mesmo na presença de um indutor de migração e proliferação o mesmo bloqueou tais processos. Além disso, a determinação da inibição da via de sinalização da proteinase MMP-9 via proteína cinase C (PKC) δ foi fundamental para compreender o porquê do impedimento do processo migratório.

De maneira paralela, observou-se que o DBM e seus derivados inibiu processos proliferativos ao interferir em vias dependentes da ativação da NF- κ B, e, além disso, torna-se um potencial agente anti-inflamatório, visto que tal via é capaz de ativar a transcrição de citocinas pró-inflamatórias.

Por fim, nota-se que o dibenzoilmetano e seus derivados possuem potencial ação antitumoral frente ao câncer de mama, sendo necessário apenas averiguar sua ação sobre células normais.

5. Referências bibliográficas

AMALRAJ, A. et al. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, p. 205, 1 abr. 2017.

AN, J.; HERSHBERGER, P. E.; FERRANS, C. E. Delayed Presentation, Diagnosis, and Treatment of Breast Cancer Among Chinese Women: An Integrative Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 46, n. 3, p. 217–232, 1 maio 2023.

ANAND, P. et al. Suppression of pro-inflammatory and proliferative pathways by diferuloylmethane (curcumin) and its analogues dibenzoylmethane, dibenzoylpropane, and dibenzylideneacetone: role of Michael acceptors and Michael donors. **Biochem**

Pharmacol, v. 82, n. 12, p. 1901–1909, 2011.

ARAÚJO, P. B. et al. Influência da neoplasia mamária na concentração sérica de hormônios e na expressão de receptores de estrógeno e progesterona em cadelas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 949–956, 1 maio 2018.

ATCC. **MCF 10F (CLR-10318)**, 1997.

ATCC. **MCF-7 (HTB22)**, 2003a.

ATCC. **MDA-MB 231(HTB-26)**, 2003b.

DAS, D. et al. **Visible light-induced cytotoxicity studies on Co(II) complexes having an anthracene-based curcuminoid ligand**. Dalton Transactions. **Anais...Dalton Trans**, 2019Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31393480/>>. Acesso em: 7 jan. 2024

EBERT, B.; SEIDEL, A.; LAMPEN, A. Phytochemicals induce breast cancer resistance protein in Caco-2 cells and enhance the transport of benzo[a]pyrene-3-sulfate. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 96, n. 2, p. 227–236, abr. 2007.

ELSAYED, S. A. et al. Experimental and computational studies of silver(I) dibenzoylmethane-based complexes, interaction with DNA/RNA/BSA biomolecules, and in vitro cytotoxic activity. **J Inorg Biochem**, v. 241, p. 112132, 2023.

FIOROT, R. et al. Synthesis, Molecular Modelling and Anticancer Activities of New Molecular Hybrids Containing 1,4-Naphthoquinone, 7-Chloroquinoline, 1,3,5-Triazine and Morpholine Cores as PI3K and AMPK Inhibitors in the Metastatic Melanoma Cells. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 9, p. 1860–1873, 2019.

GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 123–128, 13 jan. 2006.

GUO, L. et al. GDF15 expression in glioma is associated with malignant progression, immune microenvironment, and serves as a prognostic factor. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 00, p. 1–14, 25 out. 2021.

HAO, M. et al. Autophagy Blockade Limits HER2+ Breast Cancer Tumorigenesis by

Perturbing HER2 Trafficking and Promoting Release Via Small Extracellular Vesicles. **Developmental Cell**, v. 56, n. 3, p. 341- 355.e5, 8 fev. 2021.

HARBECK, N.; GNANT, M. Breast cancer. **The Lancet**, v. 389, n. 10074, p. 1134–1150, 18 mar. 2017.

HUANG, M. T. et al. Effect of dietary curcumin and dibenzoylmethane on formation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors and lymphomas/leukemias in Sencar mice. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 9, p. 1697–1700, 1998.

IŞERI, Ö. D. et al. Drug resistant MCF-7 cells exhibit epithelial-mesenchymal transition gene expression pattern. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 1, p. 40–45, 1 fev. 2011.

JOBIM, F. C. et al. Expressão da MMP-9 e do VEGF no câncer de mama: Correlação com outros indicadores de prognóstico. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 30, n. 6, p. 287–293, 2008.

LASHBROOK, M. P. et al. Coping Strategies Used by Breast, Prostate, and Colorectal Cancer Survivors: A Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 41, n. 5, p. E23–E39, 1 set. 2018.

LEITAO, R. C. F. et al. Gallium and indium complexes with isoniazid-derived ligands: Interaction with biomolecules and biological activity against cancer cells and Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 240, p. 112091, mar. 2023.

LEU, T.-H.; MAA, M.-C. The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. **Current medicinal chemistry. Anti-cancer agents**, v. 2, n. 3, p. 357–370, maio 2002.

LIAO, Y. F. et al. Dibenzoylmethane, hydroxydibenzoylmethane and hydroxymethyldibenzoylmethane inhibit phorbol-12-myristate 13-acetate-induced breast carcinoma cell invasion. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 6, p. 4597–4604, 2015.

LIN, C.-C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v.

27, n. 1, p. 131–136, 2006a.

LIN, C. C. et al. Inhibition by dietary dibenzoylmethane of mammary gland proliferation, formation of DMBA-DNA adducts in mammary glands, and mammary tumorigenesis in Sencar mice. **Cancer Lett**, v. 168, n. 2, p. 125–132, 2001.

LIN, C. C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 131–136, jan. 2006b.

LIN, C. C.; HO, C. T.; HUANG, M. T. Mechanistic studies on the inhibitory action of dietary dibenzoylmethane, a beta-diketone analogue of curcumin, on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumorigenesis. **Proc Natl Sci Council Repub China B**, v. 25, n. 3, p. 158–165, 2001.

LIN, C. W. et al. Quercetin inhibition of tumor invasion via suppressing PKC δ /ERK/ AP-1-dependent matrix metalloproteinase-9 activation in breast carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 9, p. 1807–1815, 2008.

LISCOVITCH, M.; RAVID, D. A case study in misidentification of cancer cell lines: MCF-7/AdrR cells (re-designated NCI/ADR-RES) are derived from OVCAR-8 human ovarian carcinoma cells. **Cancer Letters**, v. 245, n. 1–2, p. 350–352, 8 jan. 2007.

LIU, R. et al. The role of extracellular matrix on unfavorable maternal–fetal interface: focusing on the function of collagen in human fertility. **Journal of Leather Science and Engineering**, v. 4, n. 1, 1 dez. 2022.

LIU, Y. et al. The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: Results from the Nurses' Health Study. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 129, n. 1, p. 175–184, ago. 2011.

LONG, M. et al. Nuclear Factor- κ B Modulates Regulatory T Cell Development by Directly Regulating Expression of Foxp3 Transcription Factor. **Immunity**, v. 31, n. 6, p. 921–931, 18 dez. 2009.

MAGALHÃES, A. F. et al. Three dibenzoylmethane derivatives from Lonchocarpus species. **Phytochemistry**, v. 46, n. 6, p. 1029–1033, 1997.

MÁRMOL, I. et al. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. **International Journal of Molecular Sciences** 2017, Vol. 18, Page 197, v. 18, n. 1, p. 197, 19 jan. 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

NASCIMENTO, F. R. et al. New antineoplastic agent based on a dibenzoylmethane derivative: Cytotoxic effect and direct interaction with DNA. **Biophysical Chemistry**, v. 239, p. 1–6, 2018.

NASCIMENTO, F. R. et al. Dibenzoylmethane derivative inhibits melanoma cancer in vitro and in vivo through induction of intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109734, 5 jan. 2022.

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco (Societa chimica italiana : 1989)**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003a.

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003b.

PARK, S. K. et al. Kalopanaxsaponin A inhibits PMA-induced invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 via PI3K/Akt- and PKC δ -mediated signaling in MCF-7 human breast cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 7, p. 1225–1233, 2009.

PASQUALI, S. et al. **Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma** *Cochrane Database of Systematic Reviews* John Wiley and Sons Ltd, , 6 fev. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36491081/>?report=abstract. Acesso em: 2 fev. 2021

PIRES, B. R. B. **O PAPEL REGULATÓRIO DE NF- κ B E TWIST1 NO CÂNCER DE MAMA**. [s.l: s.n.].

POIZEAU, F. et al. Patients with metastatic melanoma receiving anticancer drugs: changes in overall survival, 2010-2017. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 0, n. 0, out. 2020.

Psychological and psychosocial aspects of breast cancer and...: Cancer

- Nursing.** Disponível em: <https://journals.lww.com/cancernursingonline/abstract/1994/10000/psychological_and_psychosocial_aspects_of_breast.7.aspx>. Acesso em: 2 mar. 2024.
- RAJALAKSHMI, T. R. et al. DNA adducts-chemical addons. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 7, n. Suppl 1, p. S197, 1 abr. 2015.
- REDMER, T. Deciphering mechanisms of brain metastasis in melanoma - the gist of the matter. **Molecular Cancer**, v. 17, n. 1, p. 1–17, 2018.
- REZENDE, H. D. et al. Study of skin neoplasms in a university hospital: Integration of anatomopathological records and its interface with the literature. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 94, n. 1, p. 42–46, 1 jan. 2019.
- SISTEMA, S.; SAÚDE, Ú. DE. SUS-ONCO. p. 22–23, 2019.
- SUKUMARI-RAMESH, S. et al. Dietary phytochemicals induce p53- and caspase-independent cell death in human neuroblastoma cells. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 7, p. 701–710, 1 nov. 2011.
- SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.
- THIMMULAPPA, R. K. et al. Antiviral and immunomodulatory activity of curcumin: A case for prophylactic therapy for COVID-19. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06350, 1 fev. 2021.
- TIAN, J. M. et al. Estrogen and progesterone promote breast cancer cell proliferation by inducing cyclin G1 expression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 3, p. 1–7, 2018.
- WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA**, v. 321, n. 3, p. 288–300, 22 jan. 2019.
- ZHENG, L. et al. Lessons learned from BRCA1 and BRCA2. **Oncogene 2000 19:53**, v. 19, n. 53, p. 6159–6175, 11 dez. 2000.

**Síntese e avaliação in vitro da atividade antitumoral de derivados de
dibenzoilmetano**

CAPÍTULO 2

1. Introdução

O processo de urbanização e o desenvolvimento social no Brasil e no mundo trouxe melhorias para o bem-estar populacional, diminuindo assim doenças infectocontagiosas decorrentes da má estrutura e do saneamento básico precário (UHR; SCHMECHEL; UHR, 2016). Dessa forma, com melhorias na qualidade de vida da população, houve uma alteração no perfil de morbidade, uma vez que ocorreu a diminuição das doenças decorrentes da falta de saneamento básico e ocorreu elevação da ocorrência das doenças de desordens metabólicas, como por exemplo diabetes e o câncer (INCA, 2020; Fiocruz, 2018).

O microambiente tumoral é composto por um conjunto de células normais associadas a células tumorais, sendo conhecido como estroma. Nesse estroma, é possível identificar a presença de leucócitos, fibroblastos associados ao câncer (CAF), pericitos (células de estabilização associadas aos vasos sanguíneos), vasos sanguíneos (responsáveis pela nutrição do tumor) e os vasos linfáticos. O surgimento do tumor influencia também o aparecimento de alterações fenotípicas dos constituintes do estroma, uma vez que as células tumorais secretam citocinas que moldam e regulam as células em seu entorno, fazendo com que haja um mascaramento do surgimento do tumor (MUNIR et al., 2021; TURLEY; CREMASCO; ASTARITA, 2015).

O melanoma, um tipo de câncer de pele, apesar de possuir baixa incidência (cerca de 3% dos cânceres de pele diagnosticados) é um dos cânceres que possui maior potencial metastático induzindo alta mortalidade (“Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer”). Sua origem se deve a mutações dos melanócitos (células que constituem a porção inferior da epiderme) que acarretam um crescimento desordenado das células e alteração de coloração da região, denominada nevos. Essa alteração é observada por meio da hiperprodução de melanina, proteína que possui coloração marrom e tem capacidade proteger o núcleo celular da radiação UV (SHAIN; BASTIAN, 2016). A principal forma de detecção inicial dessa doença é por meio de exame dermatoscópico visando analisar a forma e coloração de nevos (**Figura 1**). De acordo com a Sociedade Brasileira de Dermatologia, o melanoma tem 90% de chances de cura quando detectado precocemente.



Figura 1. Dermatoscopia forma e coloração de nevus (Foto domínio público)

Por ser uma doença silenciosa e de rápido desenvolvimento, muitas vezes o diagnóstico é feito tardiamente e, conseqüentemente, as chances de se desenvolver metástases são elevadas (SHAIN; BASTIAN, 2016; ZBYTEK et al., 2008). Pode-se observar ainda que o melanoma metastático, ou invasivo, deixa de habitar a epiderme e inicia o seu processo de invasão a outros tecidos e órgãos, sendo apenas detectável com exames mais específicos para encontrar as metástases. Cerca de 40% dos casos de metástases diagnosticadas são encontrados no cérebro e ainda as lesões causadas por elas são de 70 a 90% maiores do que o esperado, indicando, portanto, que o diagnóstico de doença metastática quase sempre é tardio (REDMER, 2018; SHAIN; BASTIAN, 2016).

Uma das mutações mais conhecidas e comuns, abrangendo cerca de 90% dos melanomas em estágio avançado, é a mutação no gene *BRAF*, sendo a mutação V600E, a mais recorrente. Essa mutação contribui para a multiplicação das células melanocíticas malignas de forma acelerada e descontrolada, levando a um aumento do tumor de maneira rápida (SCHADENDORF; HAUSCHILD, 2014; SHAIN; BASTIAN, 2016). A realização de exame de biópsia seguida de análise de mutações genéticas do melanoma é imprescindível para permitir a escolha do melhor tratamento.

O câncer de cólon-retal ou colorretal, segundo INCA (2021) corresponde a todas as neoplasias presentes no intestino grosso e reto. É o segundo tipo de câncer mais incidente no Brasil, um dos mais incidentes no mundo e possui um prognóstico positivo quando detectado precocemente. Seu desenvolvimento está relacionado com o estilo de vida do paciente, sendo de suma importância o tipo de alimentação,

práticas de atividades físicas, idade, presença de doenças intestinais crônicas e a mutação em genes específicos (DEL CARMEN et al., 2017; LEE et al., 2021).

O adenocarcinoma colorretal é a manifestação mais comum de câncer colorretal, o qual se origina da modificação de criptas normais a adenomas (OLIVEIRA, 2019). Na grande maioria das vezes, o câncer colorretal surge de maneira silenciosa, e o processo se inicia por meio da mutação no gene da polipose adenomatosa coli (APC), gene responsável pela supressão de tumor. Com essa mutação, há um aumento da multiplicação das células, gerando um pólipó que pode se tornar maligno numa probabilidade de 15% num período de 10 anos (CENTER et al., 2009; MÁRMOL et al., 2017; YIU et al., 2017).

O câncer ou neoplasia de mama é um dos três mais incidentes, juntamente com pulmão e cólon, e o mais frequente em mulheres no mundo, além disso apresenta alta heterogeneidade clínica, morfológica e biológica (HAMMADI et al., 2017; QUASSINTI et al., 2019). A **figura 2** ilustra a mama feminina que é composta por lóbulos, ou glândulas que são responsáveis pela produção do leite; ductos, pequenos canais responsáveis pelo transporte do leite das glândulas até o mamilo e pelo estroma, que é composto pela presença do tecido adiposo e conjuntivo que envolve os ductos, lóbulos, vasos linfáticos e sanguíneos (HAMMADI et al., 2017; HARBECK; GNANT, 2017; POPOLIM, 2016).

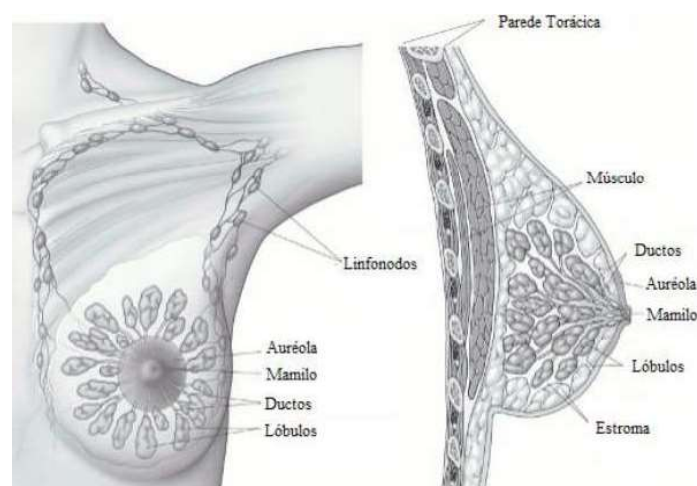


Figura 2. Anatomia da mama feminina. Adaptado de Popolim (2016).

O diagnóstico do câncer de mama hoje é feito por meio da mamografia, seguido de biópsia do tumor. O diagnóstico mais comum é o carcinoma ductal invasivo, correspondendo até 75% dos casos, seguido pelo carcinoma lobular invasivo (WAKS;

WINER, 2019). Sua etiologia é variada, dependendo do estilo de vida como alimentação, prática de atividade física, tabagismo, uso de contraceptivos, e principalmente histórico familiar em mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2*.

A neoplasia mamária pode ser classificada em quatro grupos dependendo das mutações nela presente, descritos na **tabela 1**. As classificações são baseadas em receptores específicos de células mamárias, sendo eles os receptores hormonais (progesterona e estrógeno) e os receptores HER2. Os grupos luminal A e luminal B apresentam receptores hormonais, podendo ser de estrógeno ou progesterona ou ambos, porém não apresentam o receptor HER2. O receptor HER2, receptor tipo 1 do fator de crescimento epidérmico humano, está fortemente relacionado com o crescimento tumoral, uma vez que sua expressão aumentada induz ao crescimento (HARBECK; GNANT, 2017; WAKS; WINER, 2019; ZHENG et al., 2000).

Tabela 1. Perfil molecular para determinação do grupo de câncer de mama. Adaptado de HARBECK & GNANT (2017).

Classificação/Receptores	Progesterona	Estrógeno	HER2	Proliferação
Luminal A	+/-	+/-	-	Baixa
Luminal B	+/-	+/-	-	Alta
HER2 enriquecido	-	-	+	*
Triplo Negativo	-	-	-	*

*Parâmetro não avaliado para a classificação

O uso de combinações de quimioterápicos ou mesmo quimioterápicos com imunoterapia tem sido de grande sucesso nos últimos anos, sendo este último conhecido também como bioquimioterapia. A associação de terapias visa um tratamento mais específico para as células cancerígenas e aumentar, portanto, a seletividade dos fármacos (PASQUALI et al., 2018).

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo a avaliação de compostos derivados de dibenzoilmetano e suas atividades antitumoral *in vitro* em células tumorais de diferentes linhagens.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar a síntese dos compostos derivados de dibenzoilmetano;
- Purificar os compostos sintetizados por meio de cromatografia em camada delgada;
- Caracterizar quimicamente os novos compostos via ressonância magnética nuclear;
- Cultivar as linhagens celulares normais e de câncer;
- Realizar testes de citotoxicidade a fim de encontrar a concentração citotóxica e avaliar a seletividade (IS) dos compostos;

- Realizar e desenvolver ensaios de migração a fim de avaliar a atividade antimetastática dos compostos de interesse;
- Avaliar a interação dos compostos promissores com DNA
- Avaliação de interferentes do ciclo celular.

3. Metodologia

3.1. Cultivo celular

3.1.1. Linhagens celulares

As linhagens tumorais utilizadas foram murinas B16F10 (melanoma), 4T1 (carcinoma mamário), e humanas HT29 (adenocarcinoma de cólon retal), MCF-7 (adenocarcinoma mamário), HEPG2 (carcinoma hepático), MV3 (melanoma) e SW480 (adenocarcinoma de cólon retal). As linhagens normais HEK-293 (epitélio humano de rim), BGM (epitélio de rim de macaco), VERO (epitélio de rim de macaco) e melan-a (melanócito murino). Todas as linhagens foram cultivadas no Laboratório de Pesquisas Aplicadas ao Câncer (LAPAC), na Universidade Federal de Viçosa. As células VERO, BGM, HEPG2, HEK-293, B16F10, SW480, e HT29 foram mantidas em meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) (Sigma-Aldrich) e as células MCF-7, MV3, melan-a e 4T1 foram mantidas em meio RPMI1640 (Roswell Park Memorial Institute) (Sigma-Aldrich), ambos os meios com um coquetel de antibióticos e antifúngico contendo penicilina 100 U/mL, estreptomicina 0,1 mg/mL e suplementados com 10 % de soro fetal bovino (SFB - todos Sigma-Aldrich). As garrafas de cultivo celular de poliestireno de cada linhagem, anteriormente citadas, foram mantidas em incubadora (MCO-18AC Panasonic, U.S. Canada) a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade relativa.

3.2. Síntese, purificação e caracterização

As sínteses foram realizadas no Laboratório de Química e Bioquímica de Produtos Naturais (BIONAT) da Universidade Federal de Viçosa, e seguindo as especificações da patente PI0006583-8. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C, DEPT, foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance de 400 e 100 MHz no LAREMAR, Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. Os solventes utilizados foram clorofórmio deuterado (CDCl₃), usando-se como referência interna o tetrametilsilano

(TMS) para espectros de RMN ^1H . As cromatografias em camada preparativa (CCP) foram feitas em sílica gel G e sílica gel GF₂₅₄ Merck na proporção de 2:1, sobre suporte de vidro (espessura de 1mm). As cromatografias em camada delgada foram feitas em cromatofolhas de alumínio sílica gel G F₂₅₄ 0,2 nm Art. 1.05554 Merck. A revelação das cromatografias foi por meio da câmara com lâmpada de UV nos comprimentos de onda 254 e 366 nm.

3.2.1. Síntese do composto EBB

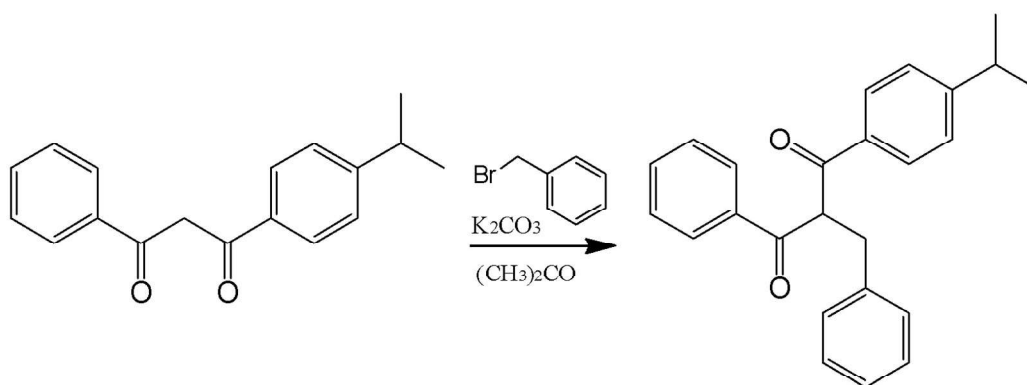


Figura 3. Reação de alquilação para síntese do composto EBB.

Para a síntese do EBB, utilizou-se o material de partida propildibenzoilmetano (1 equiv.) e carbonato de potássio (3,0 equiv.) suspensos em acetona (20mL) e agitados por 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se o reagente de alquilação brometo de benzila (1,0 equiv.) e a mistura permaneceu em agitação por 72 horas, sendo monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD). Transcorrido o tempo, a reação foi finalizada filtrando-a e evaporando-se o solvente com auxílio de um rotaevaporador. A purificação ocorreu em cromatografia de camada delgada de sílica (CCD) e o produto purificado obtido foi enviado para caracterização por ressonância magnética nuclear.

3.2.2. Síntese do composto ABB

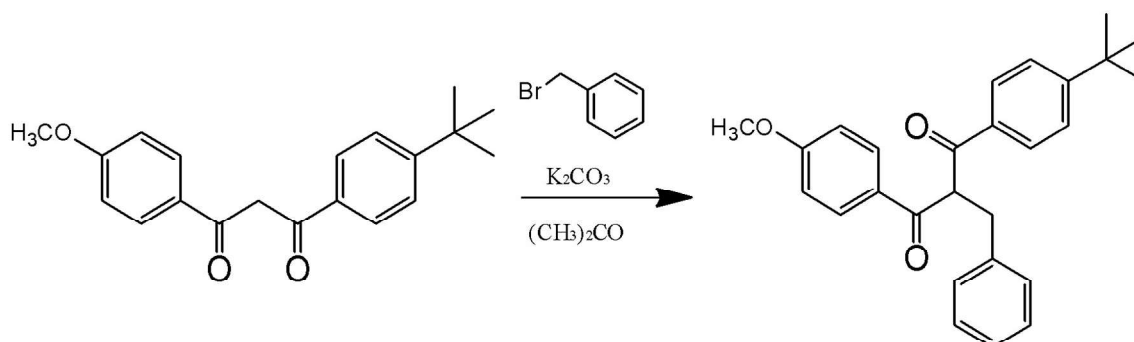


Figura 4. Reação de alquilação para síntese do composto ABB.

Para a síntese do ABB, utilizou-se o material de partida butil metoxidibenzoilmetano (1 equiv.) e carbonato de potássio (3,0 equiv.) suspensos em acetona (20mL) e agitados por 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se o reagente de alquilação brometo de benzila (1,0 equiv.) e a mistura permaneceu em agitação por 72 horas, sendo monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD). Transcorrido o tempo, a reação foi finalizada filtrando-a e evaporando-se o solvente com auxílio de um rotaevaporador. A purificação ocorreu em cromatografia de camada delgada de sílica (CCD) e o produto purificado obtido foi enviado para caracterização por ressonância magnética nuclear.

3.2.3. Síntese do composto DPBP

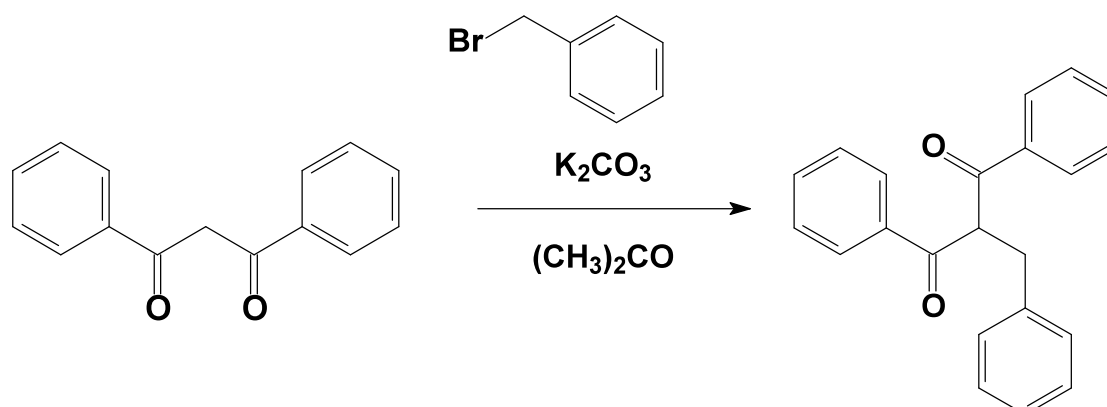


Figura 5. Reação de alquilação para síntese do composto DPBP

Para a síntese do DPBP, utilizou-se o material de partida dibenzoilmetano (1,34 mmol) adicionou-se K_2CO_3 (4,02 mmol) e acetona (20 mL), deixou-se sob agitação por 30 minutos. Após este tempo, adicionou-se lentamente uma solução do brometo

de benzila (1,34 mmol), em acetona (10 mL). A mistura reacional foi agitada vigorosamente por 72h e, então, filtrada para remoção dos sólidos em suspensão. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna cromatográfica (CC, hexano/acetato de etila 95:5), fornecendo o produto alquilado desejado. A reação foi acompanhada através de cromatografia de camada delgada (CCD).

3.2.4. Composto DBMOH₆

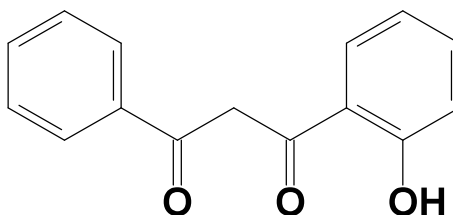


Figura 6: Composto comercial 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1,3-diona (DBMOH₆)

O composto sintético 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpropano-1,3-diona (DBMOH₆) foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich® e foi utilizado para avaliação da sua atividade antitumoral.

3.3. Ensaio citotóxico

Os compostos foram utilizados em teste de citotoxicidade, o qual determina a concentração trabalho, citotóxica para 50% das células (CC₅₀ = IC₅₀). As células foram distribuídas em microplacas de 96 poços (1x10⁴ células/100 µL/poço) e incubadas a 37°C por 24h. Em seguida, adicionou-se 100 µL/poço de meio completo e diferentes concentrações dos compostos e em triplicatas. Incubou-se por 48h e, após, retirou-se o meio contendo as diluições dos compostos e adicionou-se um novo meio de cultura 10% (v/v) da solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (5 mg/mL em PBS), incubando-as a 37°C por 180 min. Removeu-se o meio e em seguida adicionou-se 100µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO) por poço para dissolver os cristais de farmazan, mantendo as culturas sob agitação a 150 rpm por 5 minutos. As absorbâncias em cada poço foram obtidas em espectrofotômetro de ELISA (λ= 570 nm).

As concentrações inibitórias de 50% das células (IC_{50}) para cada composto foram calculadas por meio de uma regressão não-linear de $\log[Dose]$ versus % de células viáveis, sendo o cálculo realizado pelos softwares GraphPad Prism® 8.0 e Microsoft Office Excel 2013®.

3.4. Ensaio de migração celular

O ensaio de cicatrização de feridas (*Wound healing* ou *Fence assay*) foi utilizado para avaliar o efeito dos derivados de dibenzoilmetano sobre a capacidade migratória não-direcional das células tumorais de mama murino (4T1). Para o desenvolvimento destes experimentos semeou-se 5×10^4 células nos poços de placas de 24 poços. As placas foram mantidas em condições padrão de cultivo celular até atingirem 80-90% de confluência. Decorrido este período realizou-se, em cada poço, uma fenda ou “ferida” na monocamada celular através da delicada passagem da ponta de uma ponteira de micropipeta. Os poços da placa foram lavados duas vezes com PBS (solução fosfato salino) e acrescidos de meio de cultivo isento de SFB, juntamente com o tratamento nas respectivas concentrações de IC_{50} . As células foram fotografadas com o auxílio de um microscópio invertido em diferentes tempos após o ferimento (0, 6, 12, 24, 48 e 72h). O comprimento da lacuna de migração foi medido usando o software ImageJ. Concomitantemente, calculou-se a taxa de migração celular utilizando a equação abaixo.

$$\text{Porcentagem de fechamento da lacuna} = \frac{\text{Área da lacuna no tempo 0} - \text{Área da lacuna no tempo } n}{\text{Área da lacuna no tempo 0}} \times 100$$

3.5. Ensaio de interação com DNA por meio de pinçamento óptico

As amostras de λ -DNA (48.502 pares de bases, comprimento de contorno de $\sim 16,5 \mu\text{m}$) foram marcadas na extremidade com biotina ligada por uma extremidade a uma esfera de poliestireno revestida com estreptavidina de $3 \mu\text{m}$ de diâmetro e, na outra extremidade, uma lamela revestida com estreptavidina previamente preparada. Todas as medições foram realizadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,4 e cloreto de sódio 140 mM. A concentração de cada composto na amostra foi variada durante os experimentos.

A configuração da pinça óptica é composta por um laser de fibra dopada com itérbio de 1.064 nm (IPG Photonics) montada em um microscópio invertido Nikon Ti-S

com uma objetiva 100X N.A. 1.4. As moléculas de DNA foram alongadas movimentando a platina do microscópio e, conseqüentemente, a lamínula, sob velocidade controlada por meio de um dispositivo piezoelétrico (PINano P-545, Physik Instrument).

O experimento inicialmente se sucedeu com moléculas de DNA pura (0,0 μM de derivado de dibenzoilmetano). Primeiro, foi escolhido aleatoriamente uma esfera e realizou-se o teste para verificar a presença de um DNA ligado a ela movendo o estágio do microscópio. Se o comprimento do contorno medido concordasse com o valor esperado para λ -DNA (16–17 μm), mais cinco medidas de alongamento foram feitas e os valores médios de persistência e comprimentos de contorno obtidos (NASCIMENTO et al., 2018b). Esses dois parâmetros mecânicos obtidos por dados brutos e determinados pelo ajuste das curvas experimentais de força-extensão, medidas no regime entrópico de baixa força ($F < 3 \text{ pN}$), ao modelo de cadeia semelhante a verme (WLC) de Marko-Siggia. Em seguida, alterou-se a solução tampão circundante, introduzindo os compostos sintéticos na concentração escolhida. Cerca de 1 hora após, repetiram-se os experimentos de alongamento, a fim de atingir o equilíbrio químico da reação de ligação. Em seguida, realizou-se um novo conjunto de cinco medições, e os valores médios e os erros padrão das propriedades mecânicas em cada concentração calculados (NASCIMENTO et al., 2018). Por fim, propõe-se um modelo para determinar os parâmetros de ligação derivado-DNA proposto conforme realizado por Nascimento e colaboradores (2018).

3.6. Avaliação do ciclo celular

Para avaliar se os compostos testados interferiam no ciclo celular, as células foram plaqueadas em placas de 6 poços (5×10^6 células/poço) e tratadas com a concentração citotóxica para 50% (IC_{50}) por 48 horas. Em seguida, as células foram retiradas da placa e ressuspensas em etanol 70% (1mL) e centrifugadas. Descartou-se o sobrenadante e o pellet foi ressuspendido em 200 μL de solução tampão contendo PBS, RNase A (20mg/mL – Invitrogen®) e iodeto de propídio (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ – Sigma-Aldrich®) e incubou-se por 1 hora antes da contagem e posterior análise no citômetro de fluxo (ZHU; HUANG; WU, 2015). Transcorrido o tempo, a suspensão celular foi transferida para um microtubo (Eppendorf®) e levados à refrigeração até a análise no citômetro de fluxo BD FACS Verse®, sendo analisados 10000 eventos por amostra.

Para melhor análise, a quantidade de DNA presente em cada célula indica em qual fase do ciclo a mesma se encontra, e neste trabalho as fases foram segmentadas da seguinte forma: G0-G1 (conteúdo de DNA 2n); S (conteúdo de DNA em duplicação), G2-M (conteúdo de DNA=4n) e DNA fragmentado (conteúdo de DNA inferior a 2n).

4. Resultados e discussão

4.1. Síntese e purificação do 1-[(4-*tert*-butil)fenil]-2-benzil-3-(4-metoxifenil)-1,3-propanodiona (ABB)

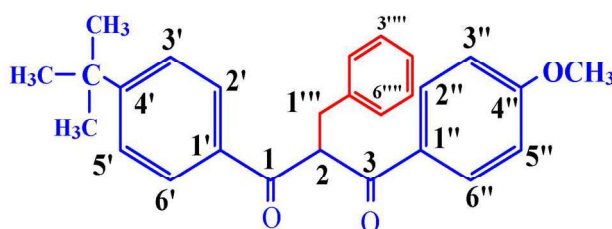


Figura 7: Estrutura do composto sintetizado ABB, em vermelho o substituinte adicionado na reação de alquilação.

A reação de alquilação do butilmetoxidibenzoilmetano com brometo de benzila levou a síntese do composto alquilado que foi obtido como um sólido amorfo incolor. Após o final da reação, realizou-se a purificação em cromatografia em camada preparativa de sílica utilizando-se a fase móvel hexano e acetato de etila (95:5), levando à obtenção do produto alquilado. As absorções em **5,43** (1H, t, $J = 7$ Hz, H-2) no RMN¹H e C-2 (**59,0** C-H) no RMN ¹³C corroboram com a estrutura proposta mostrado a adição do substituinte no material de partida. Para o composto ABB, as **figuras 8 a 19** mostram o espectro de RMN de ¹H e ¹³C, confirmando a pureza e a estrutura do composto sintetizado.

Aspecto Físico: Sólido amorfo incolor

<p>RMN ¹H δ: 7,90 (2H, <i>dd</i>, $J = 10$; 2Hz, H-2', H-6''), 6,88 (2H, <i>dd</i>, $J = 10$; 2Hz, H-3'', H-5''), 5,43 (1H, t, $J = 7$ Hz, H-2), 7,86 (2H, <i>dd</i>, $J = 10$; 2Hz, H-2', H-6') 7,41 (2H, <i>dd</i>, $J = 10$; 2Hz, H-3', H-5') 7,12-7,26 (5H, <i>m</i>, H-2''', 3''', 4''', 5''', 6'''), 3,44 (2H, <i>dd</i>, $J = 14$; 7, H-1'''), 1,30 (9H, s, CH₃) 3,83 (OCH₃).</p>	<p>RMN ¹³C δ: C-1''-C-1' (139,4 C_O), C-2'-C-6'-C-2''-C-6'' (129,0 C-H), C-3''-C-5'' (114,0 C-H), C-4'' (163,4 C_O), C-3'-C-5' (125,8 C-H) C-4' (155,2 C_O), C-3 (194,1 C = O), C-2 (59,0 C-H). C-1 (195,0 C = O), C-1''' (35,2 CH₂), C-1''' (133,4 C_O), C-2'''-C-6''' (128,6 C-H), C-3'''-C-5''' (128,9 C-H), C-4''' (126,5</p>
--	--

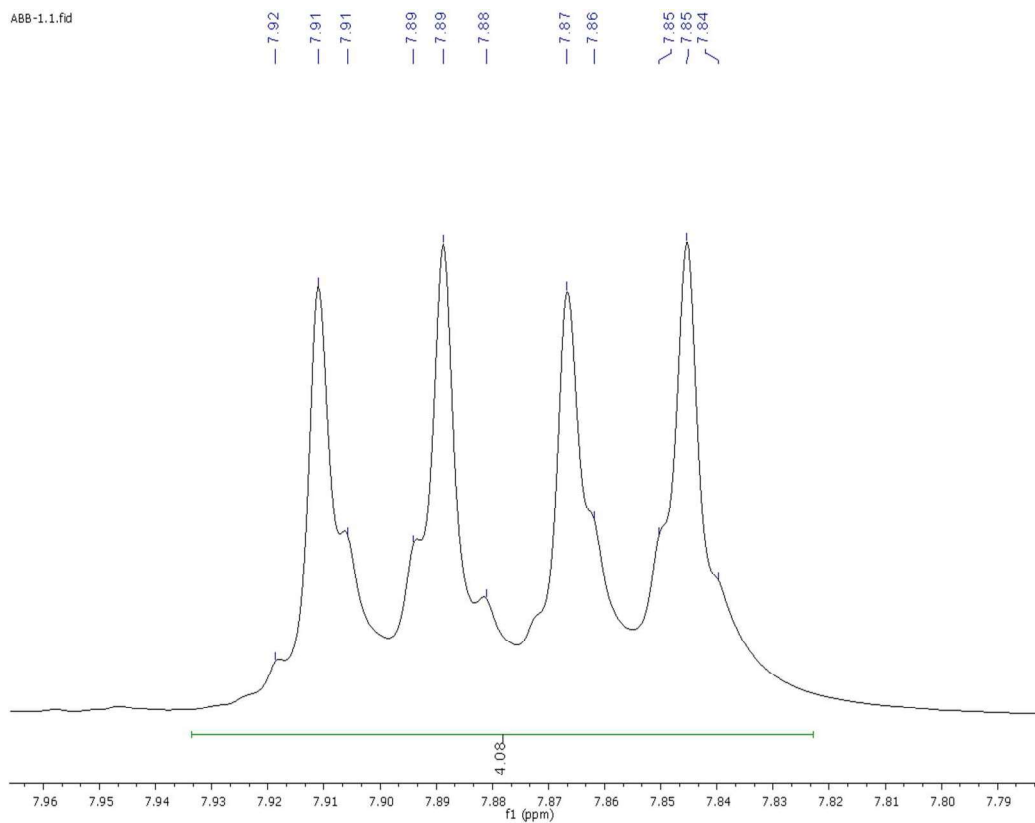


Figura 9. Espectro de RMN-1H (400 MHz, CDCl₃) do ABB.

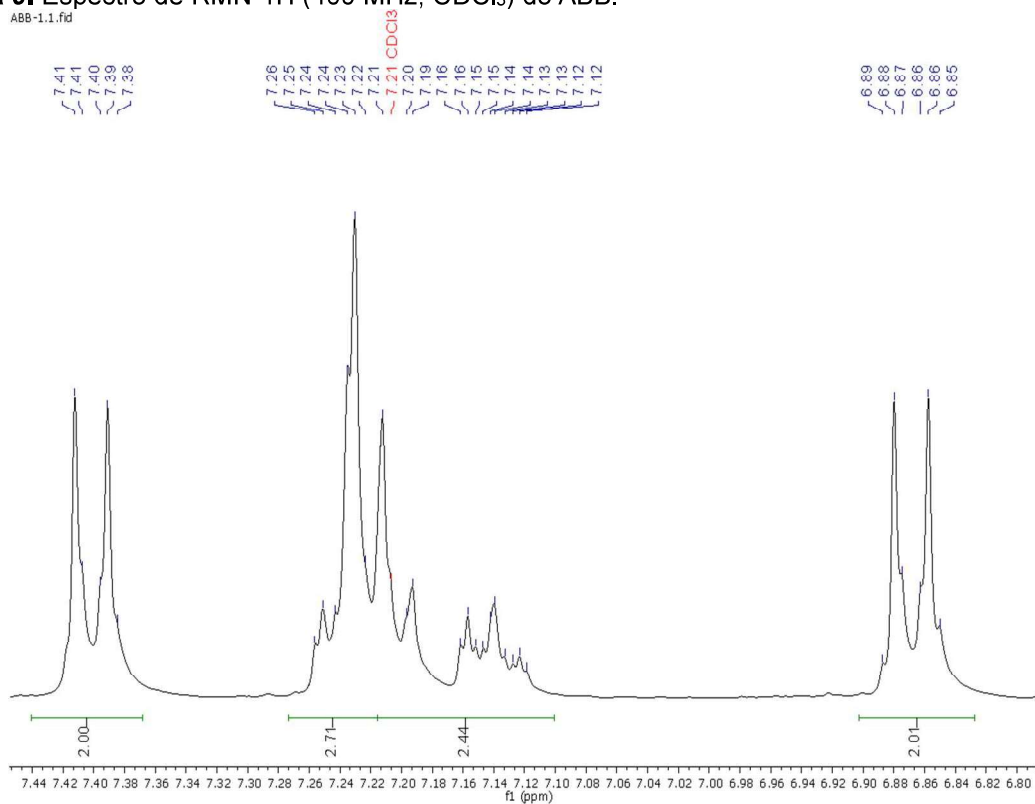


Figura 10. Espectro de RMN-1H (400 MHz, CDCl₃) do ABB.

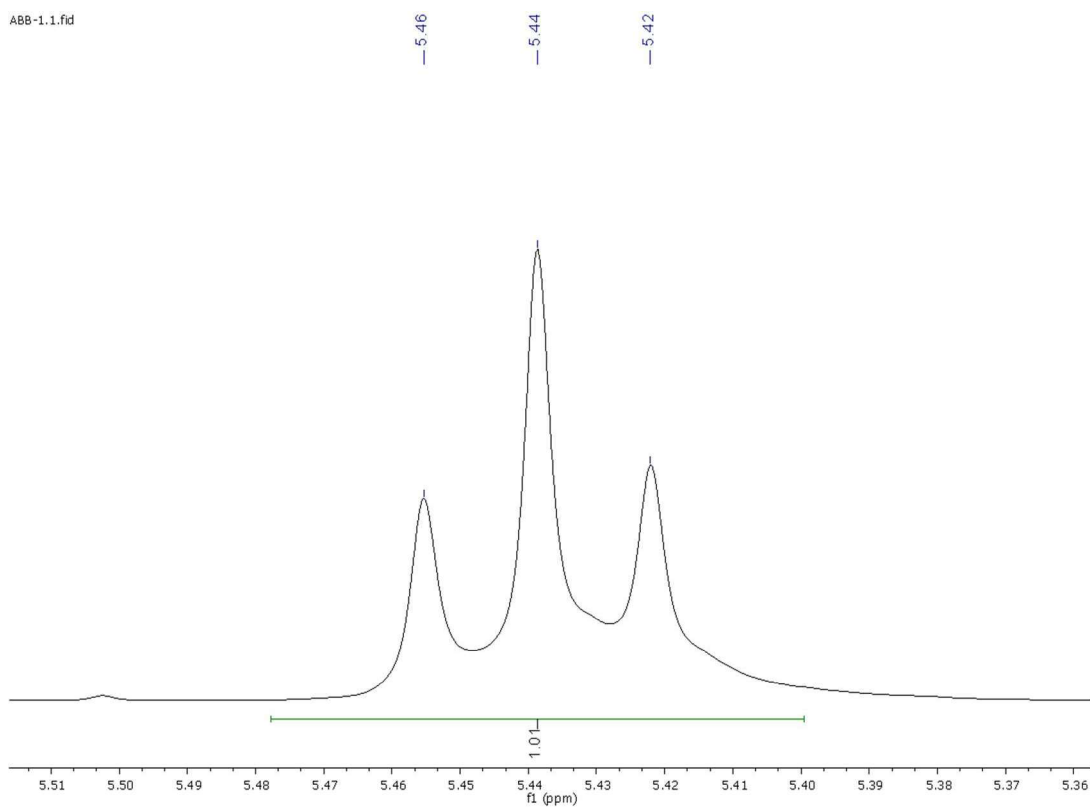


Figura 11. Espectro de RMN-1H (400 MHz, CDCl₃) do ABB.

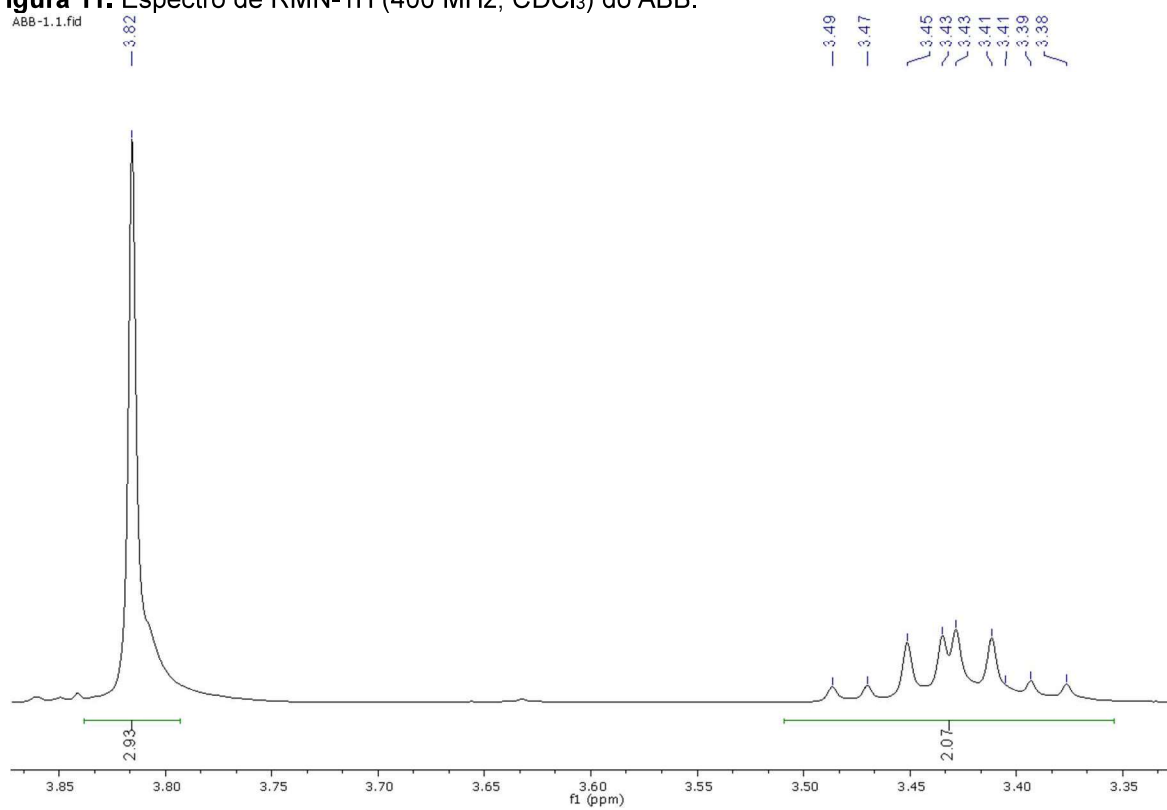


Figura 12. Espectro de RMN-1H (400 MHz, CDCl₃) do ABB

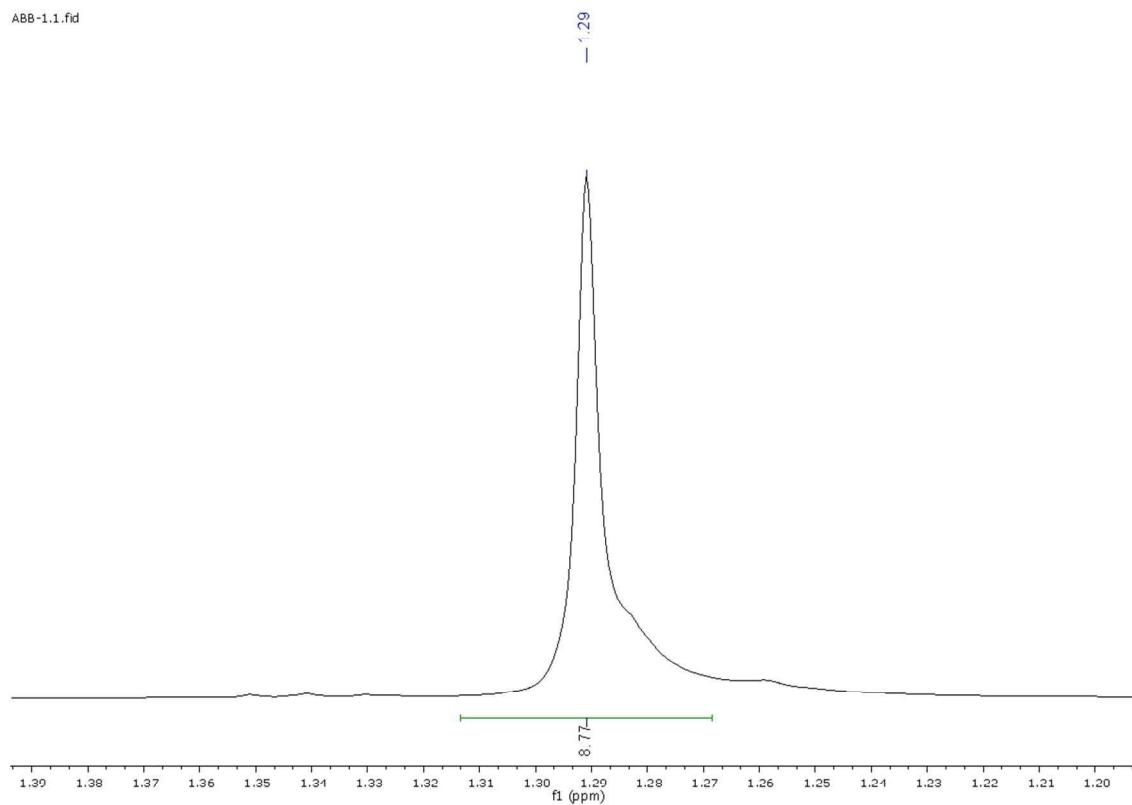


Figura 13. Espectro de RMN-1H (400 MHz, CDCl₃) do ABB.

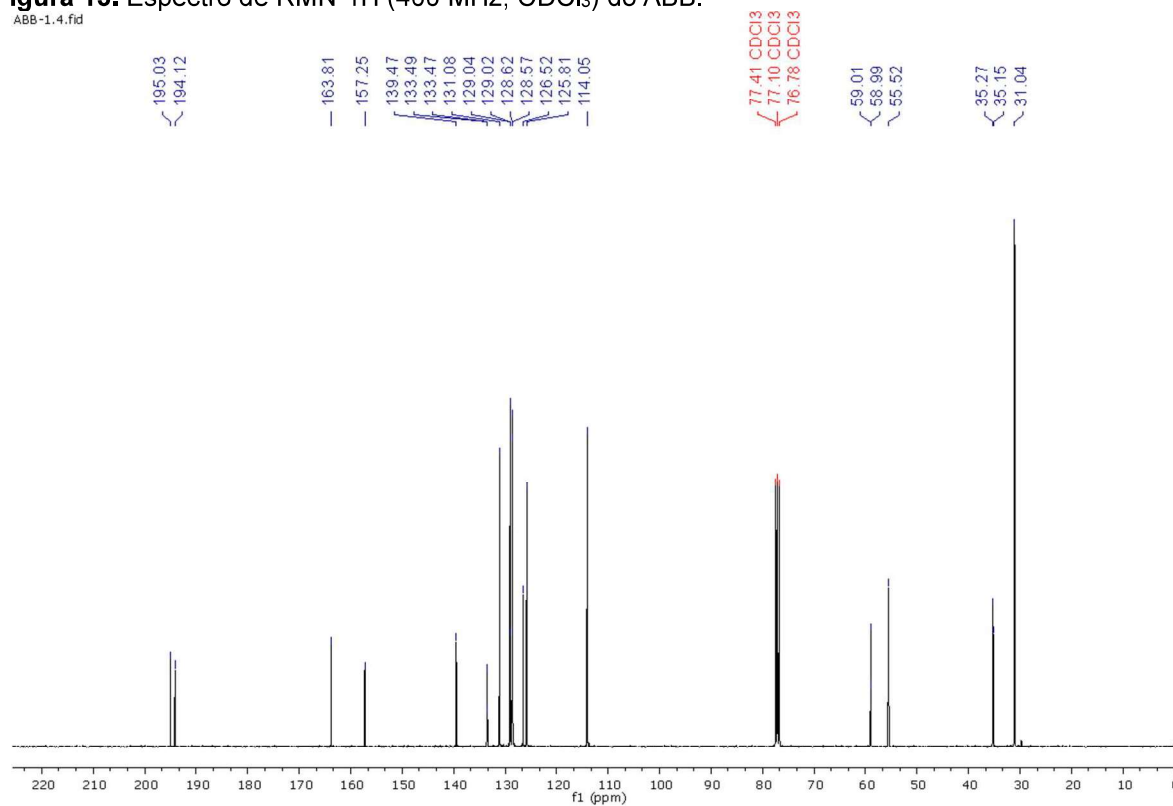


Figura 14. Espectro de RMN-13C (100 MHz, CDCl₃) do ABB.

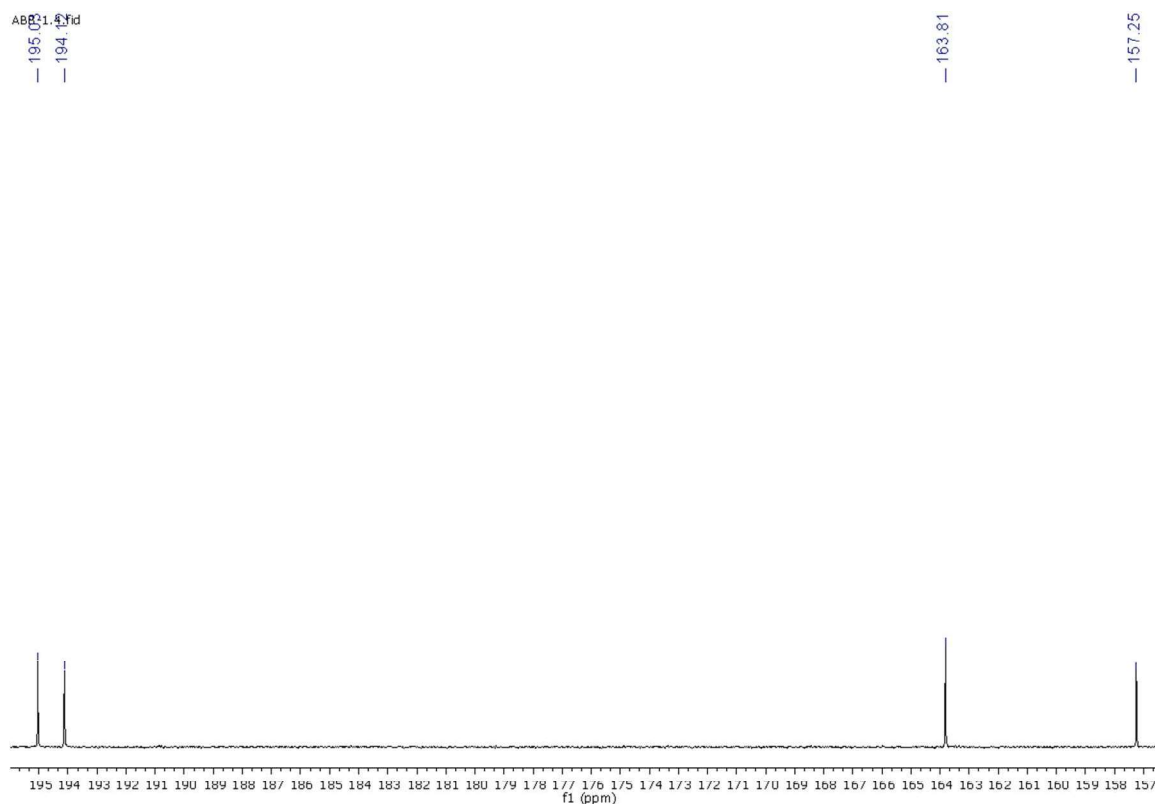


Figura 15. Espectro de RMN-13C (100 MHz, CDCl₃) do ABB.

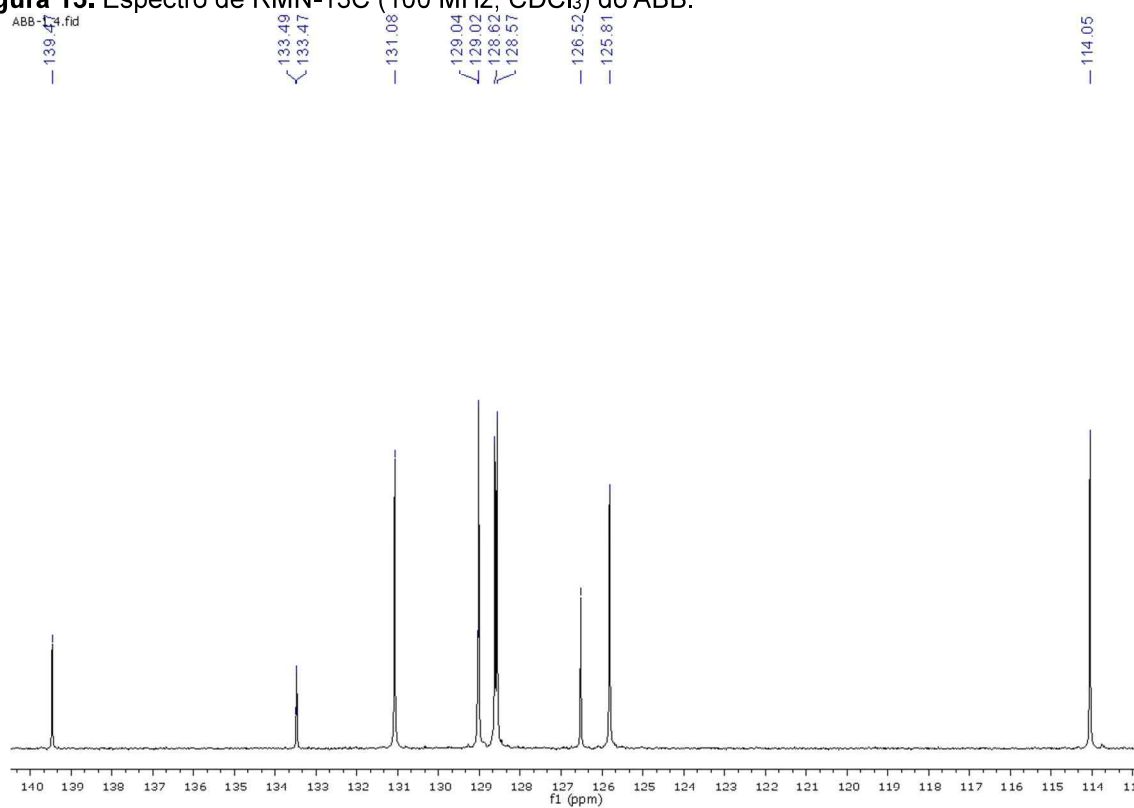


Figura 16. Espectro de RMN-13C (100 MHz, CDCl₃) do ABB.

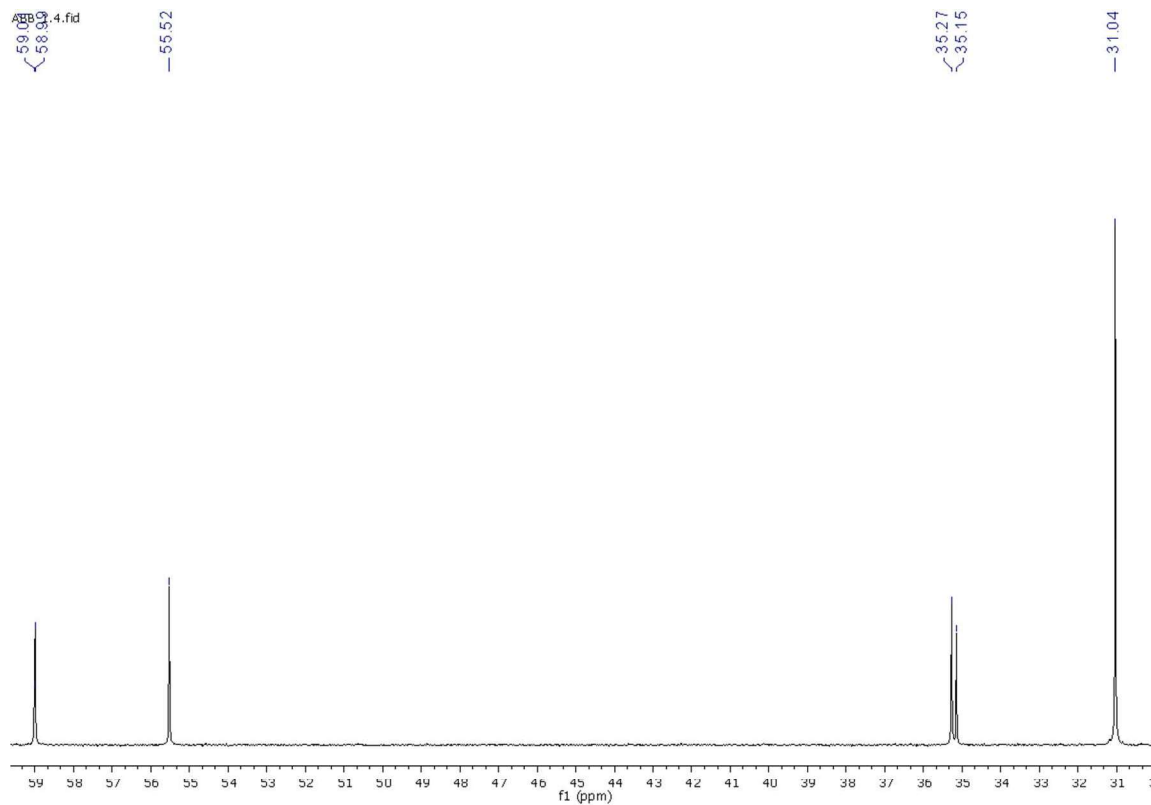


Figura 17. Espectro de RMN-13C (100 MHz, CDCl₃) do ABB.

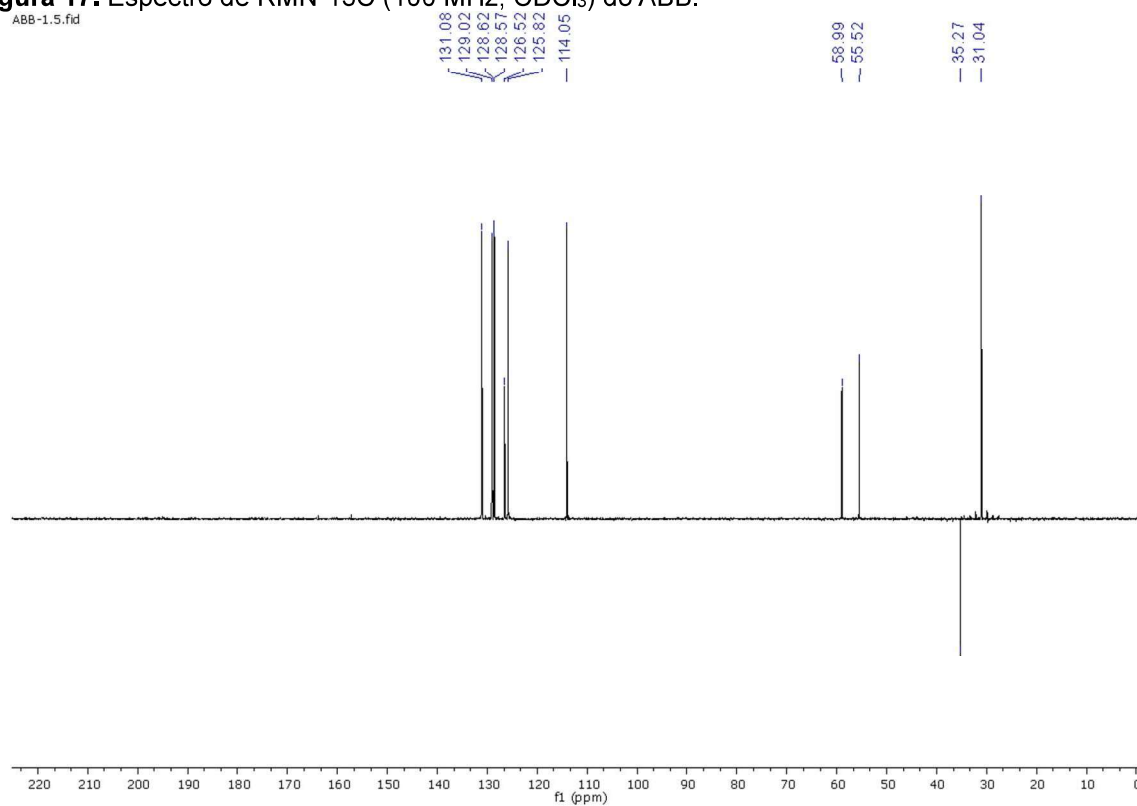


Figura 18. Espectro de DEPT (100 MHz, CDCl₃) do ABB.

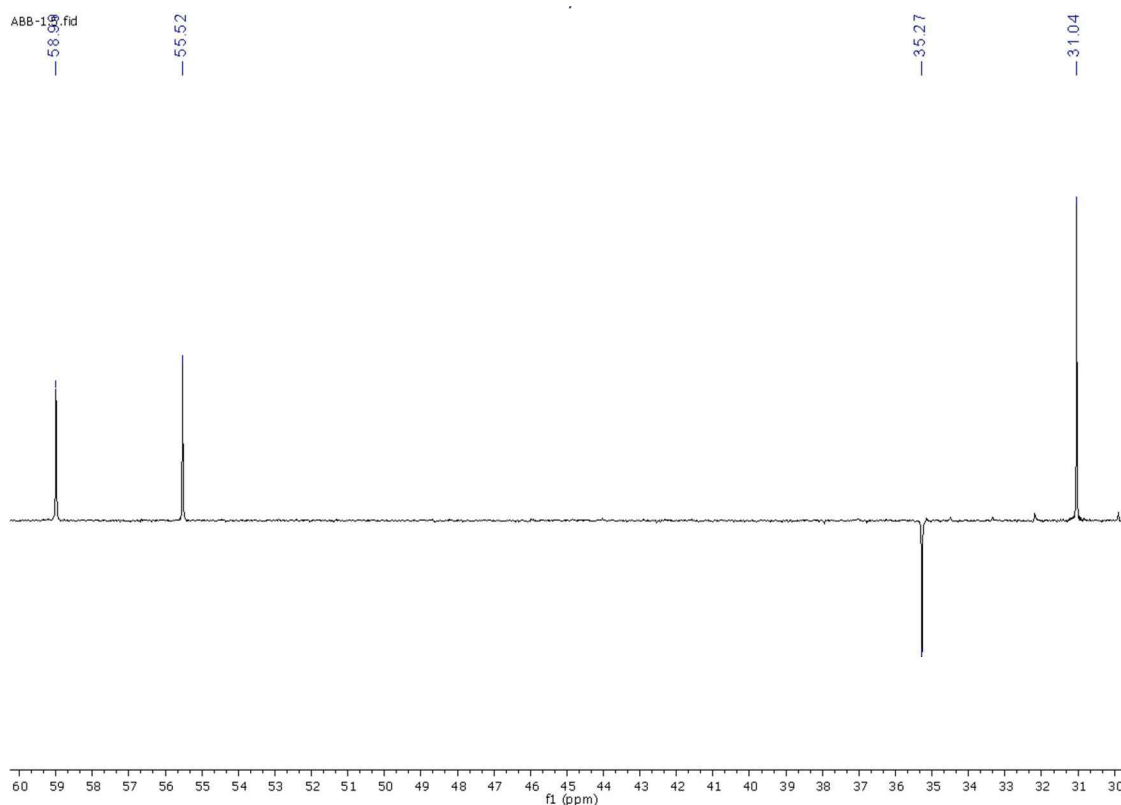


Figura 19. Espectro de DEPT (100 MHz, CDCl_3) do ABB.

4.2. Síntese e purificação do 1-[(4-*iso*-propil)fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3 propanodiona (EBB)

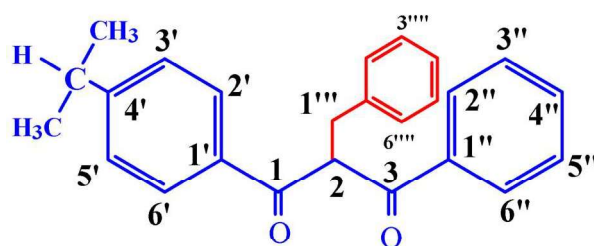


Figura 20: Estrutura do composto sintetizado EBB, em vermelho o substituinte adicionado na reação de alquilação.

A reação de alquilação do propildibenzoilmetano com brometo de benzila levou a produção do composto alquilado que foi obtido como um sólido amorfo incolor. Após o final da reação, realizou-se a purificação em cromatografia em camada preparativa de sílica eluída com fase móvel hexano e acetato de etila (95:5). As absorções em 5,5 (1H, t, $J = 7$ Hz, H-2) no RMN¹H e C-2 (59,0 C-H) no RMN ¹³C corroboram com a

estrutura proposta mostrando a adição do substituinte no material de partida. As figuras 21 a 32 mostram o espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do composto sintetizado.

Aspecto Físico: Sólido amorfo incolor

RMN ^1H δ : 7,85 (2H, *dd*, $J = 10$; 2Hz, H-2'', H-6''), 7,40 (2H, *dd*, $J = 10$; 2Hz, H-3'', H-5''), 7,89 (2H, *dd*, $J = 10$; 2Hz, H-2', H-6'), 7,14-7,52 (8H, *m*, H-3', 4', 5', 2''', 3''', 4''', 5''', 6'''), 5,5 (1H, *t*, $J = 7$ Hz, H-2), 3,44 (2H, *dd*, $J = 14$, 7 Hz, H-1'''), 2,90 (1H, *hepteto*, $J = 7$ Hz, C-H), 1,2 (6H, *d* CH₃).

RMN ^{13}C δ : C-1-C-1'' (139,2 C_O), C-2''-C-6'' (129,0 C-H), C-3''-C-5'' (128,6 C-H), C-3'' (133,4 C-H), C-2'-C-6' (129,0 C-H), C-3'-C-5' (127,0 C-H), C-4'' (155,1 C-H), C-3 (195,0 C = O), C-2 (59,0 C-H). C-1 (196,0 C = O), C-1''' (35,2 CH₂), C-1'''' (136,1 C_O), C-2''''-C-6'''' (128,6 C-H), C-3''''-C-5'''' (128,9 C-H), C-4'''' (126,5 C-H), C-H (23,6), CH₃ (34,2).

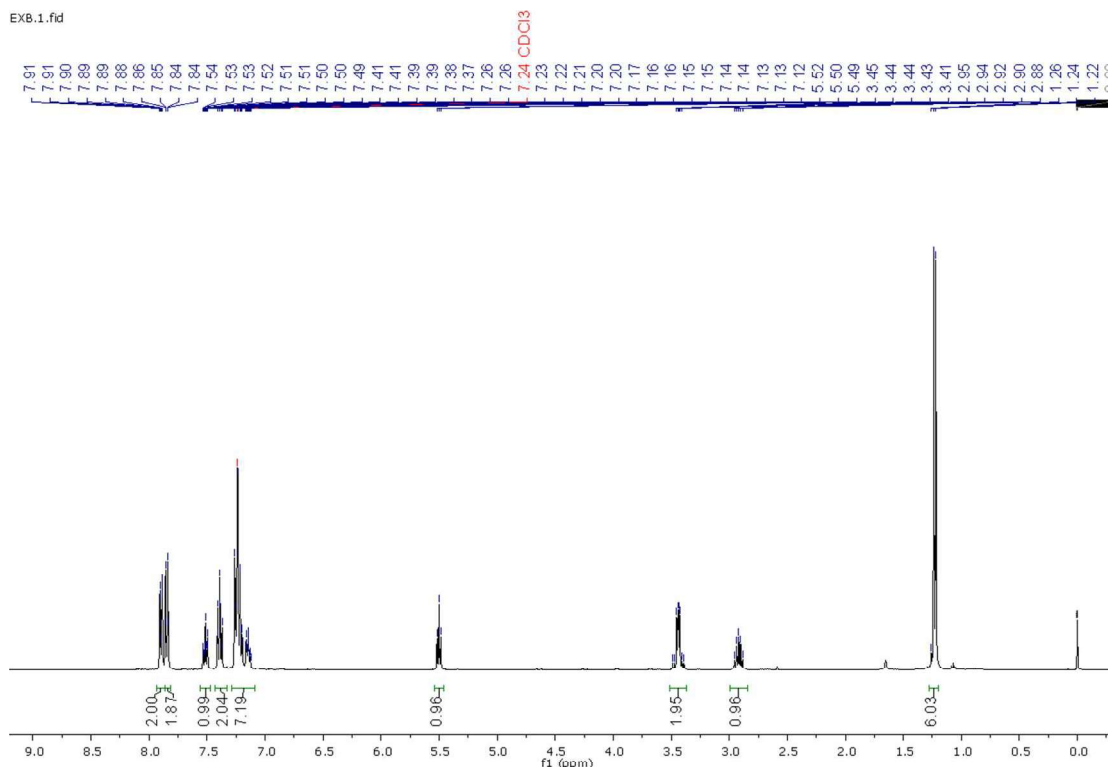


Figura 21. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) do EBB.

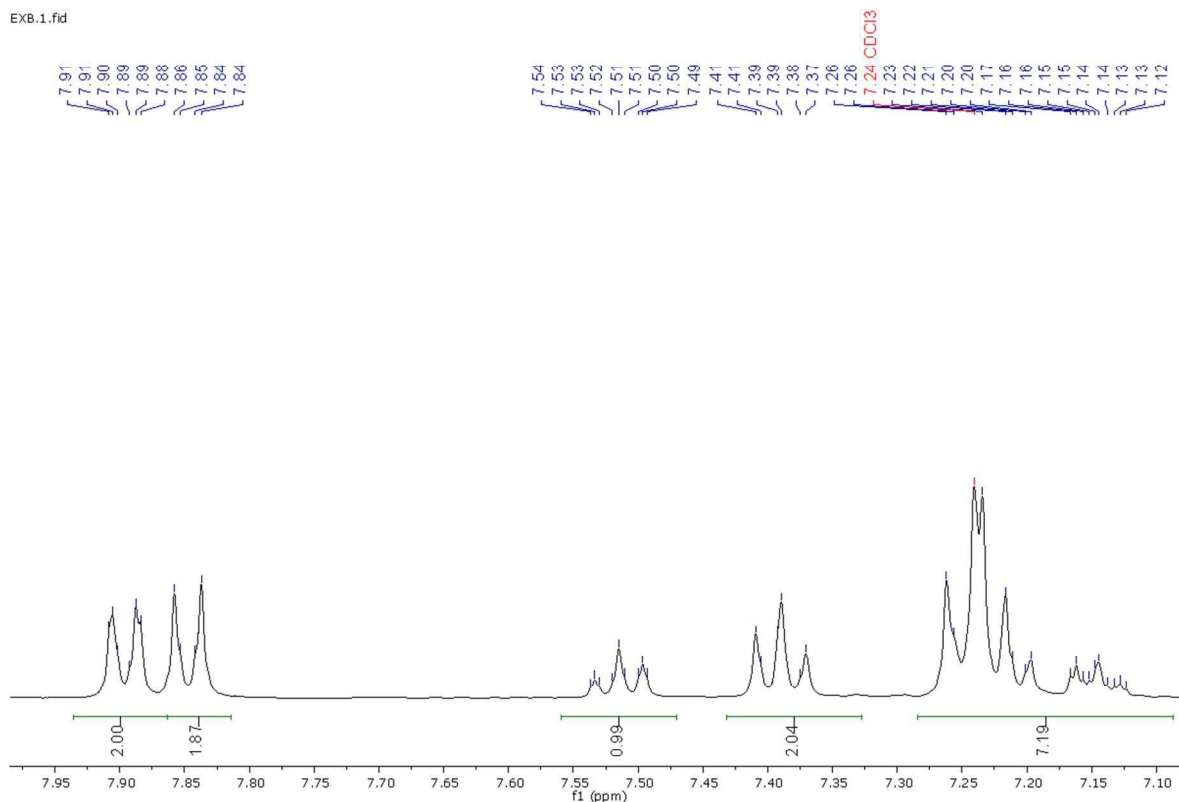


Figura 22. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) do EBB.

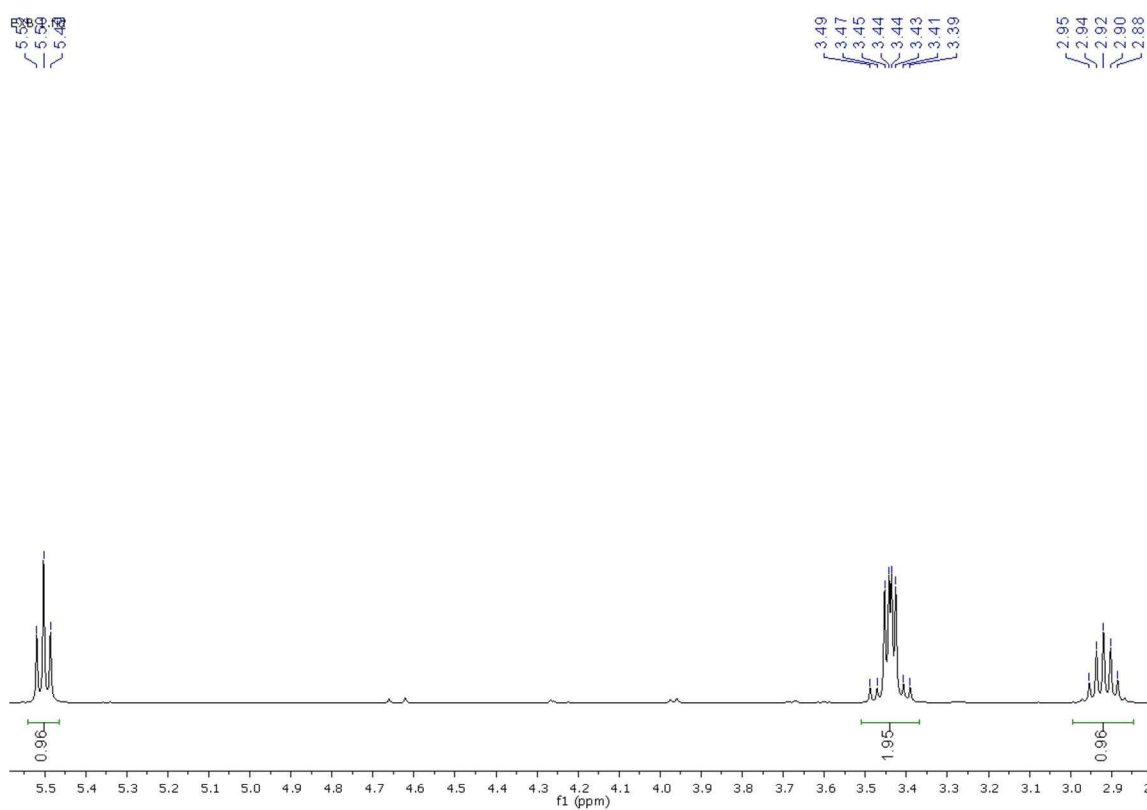


Figura 23. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) do EBB.

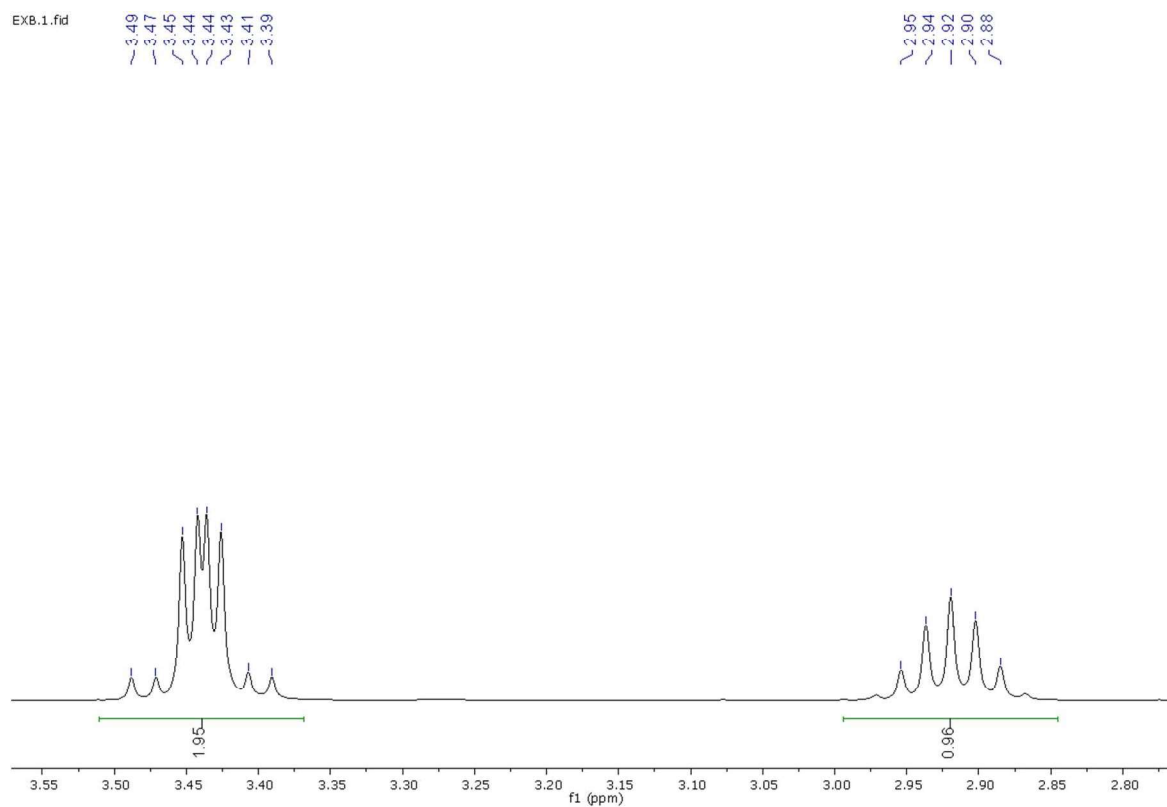


Figura 24. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) do EBB.

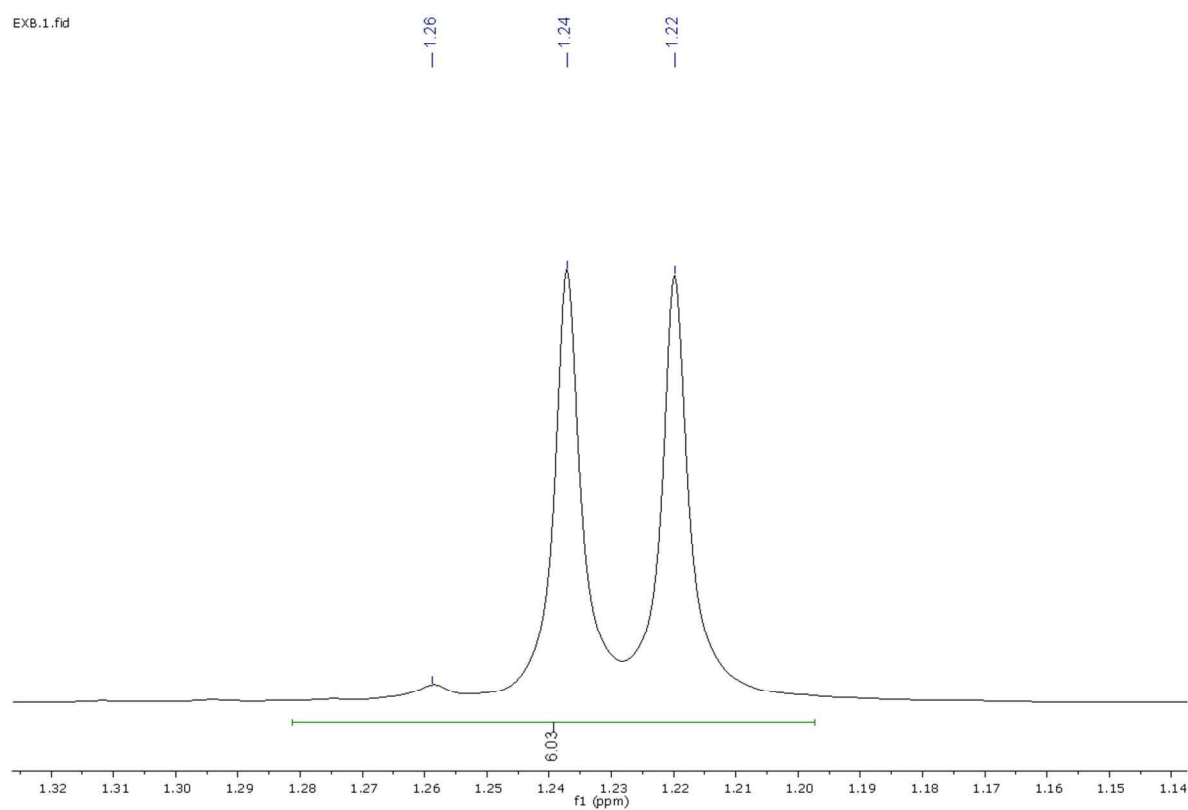


Figura 25. Espectro de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) do EBB.

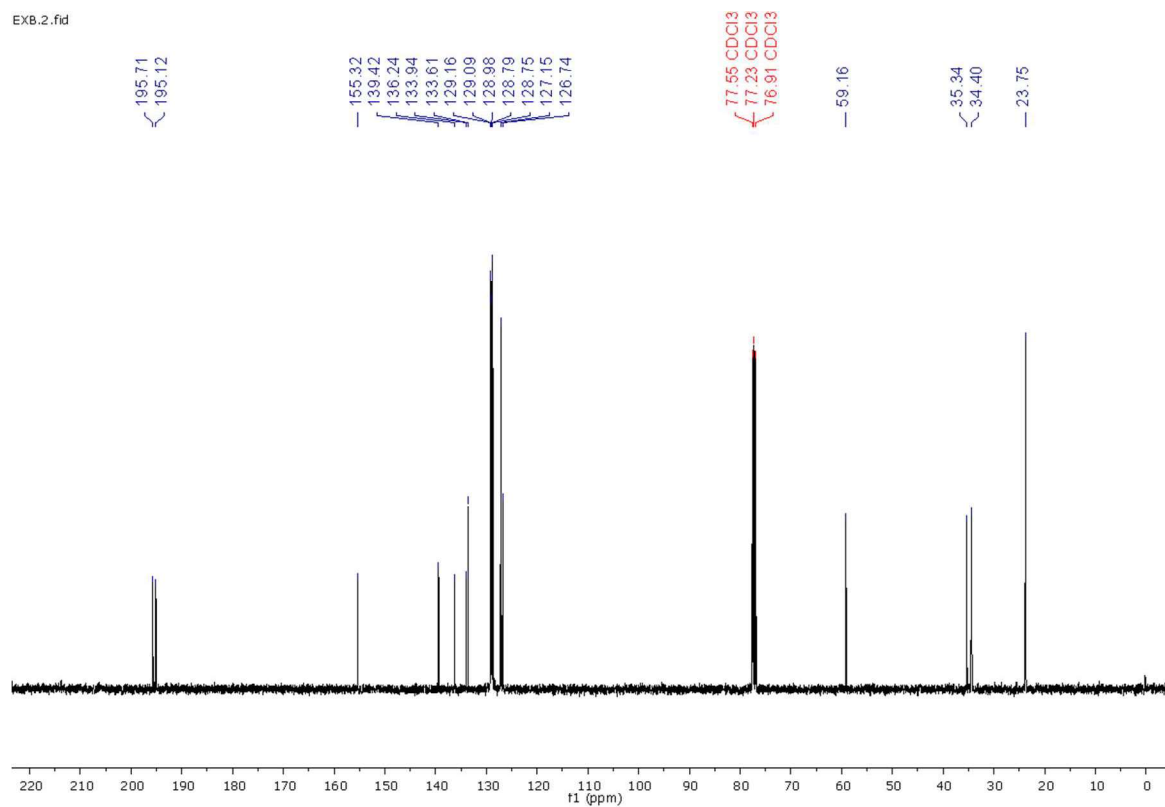


Figura 26. Espectro de RMN 13C (100 MHz, CDCl₃) do EBB.

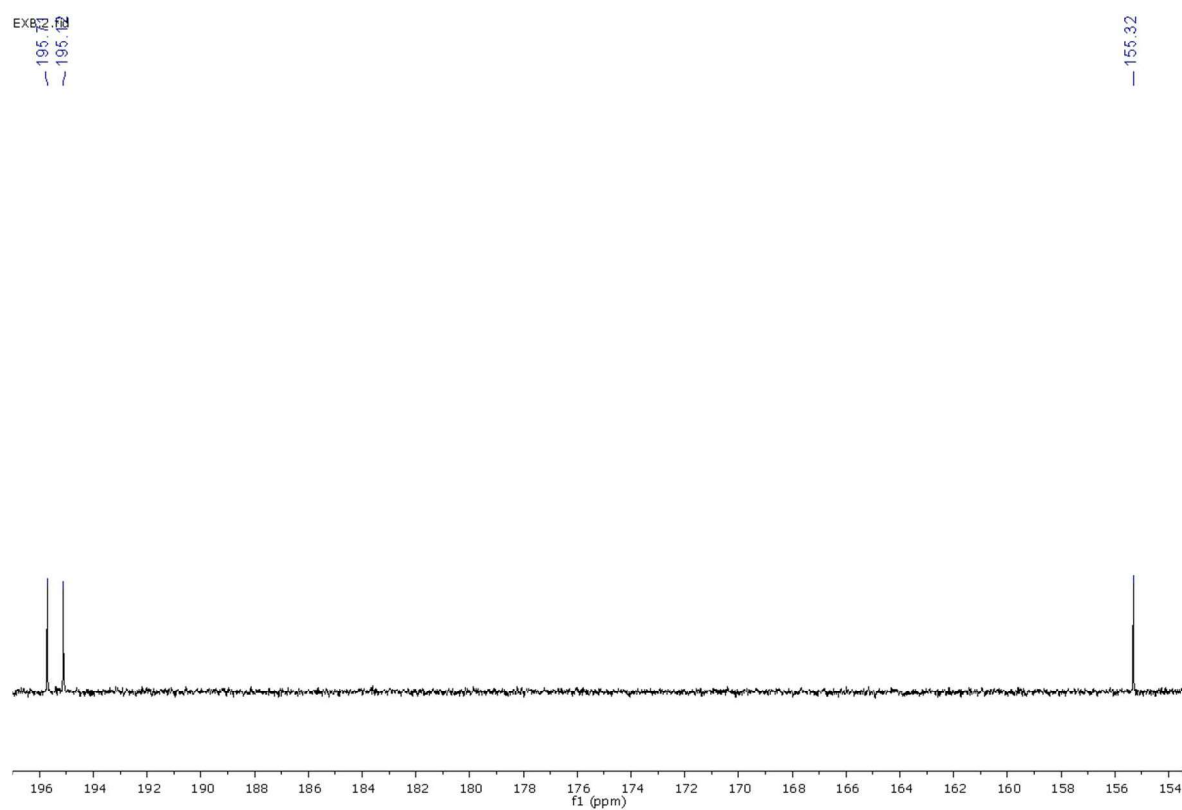


Figura 27 Espectro de RMN 13C (100 MHz, CDCl₃) do EBB.

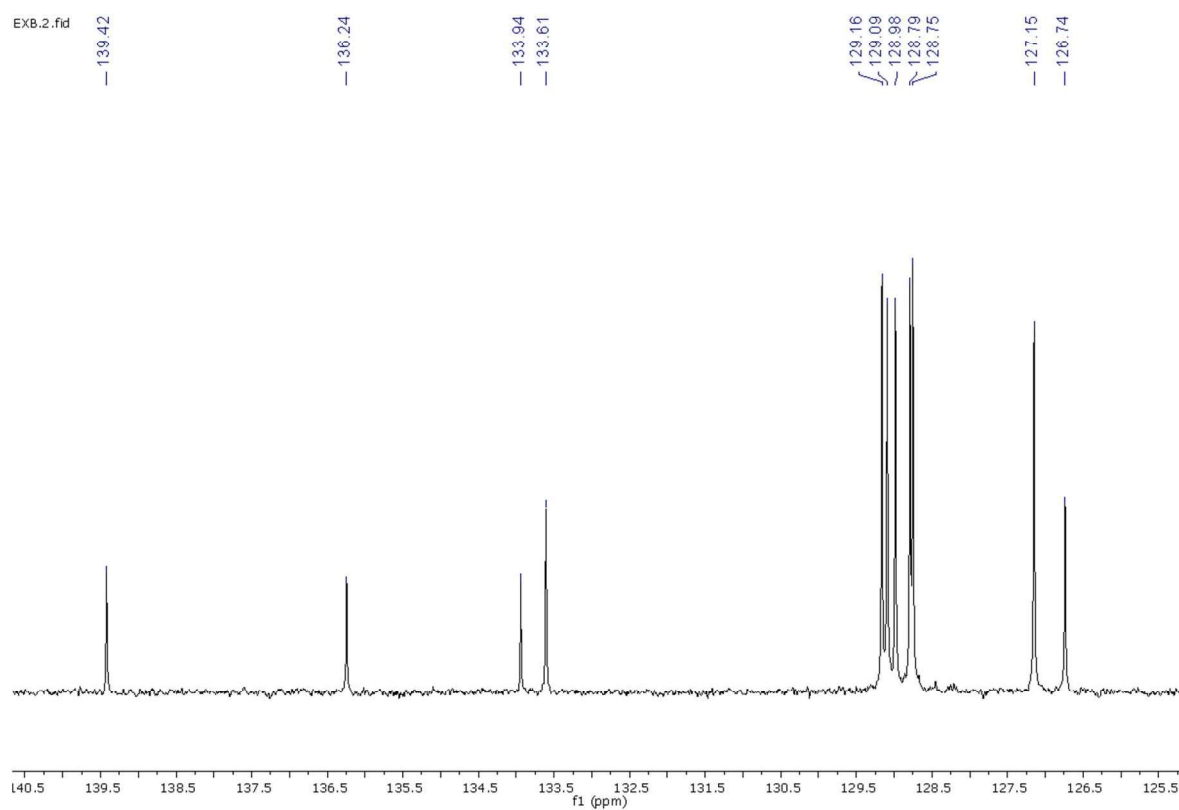


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do EBB.

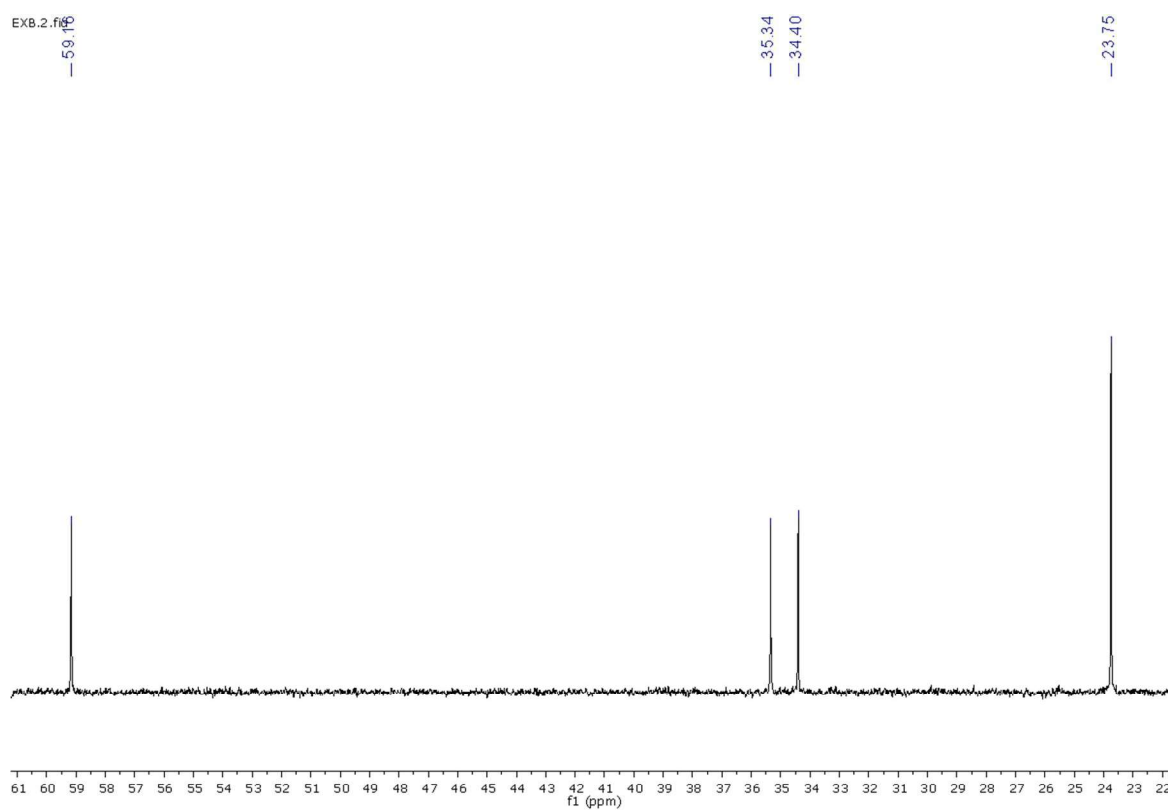


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do EBB.

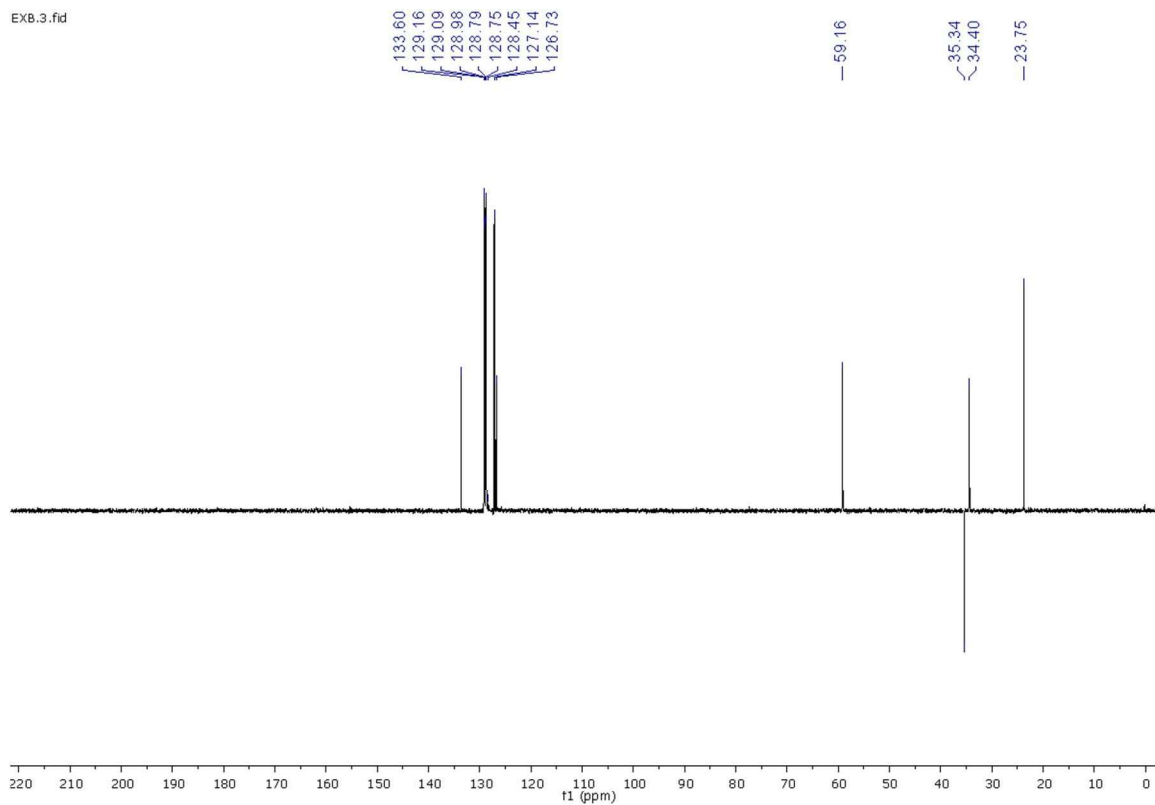


Figura 30 Espectro de DEPT 135 (100 MHz, CDCl_3) do EBB.

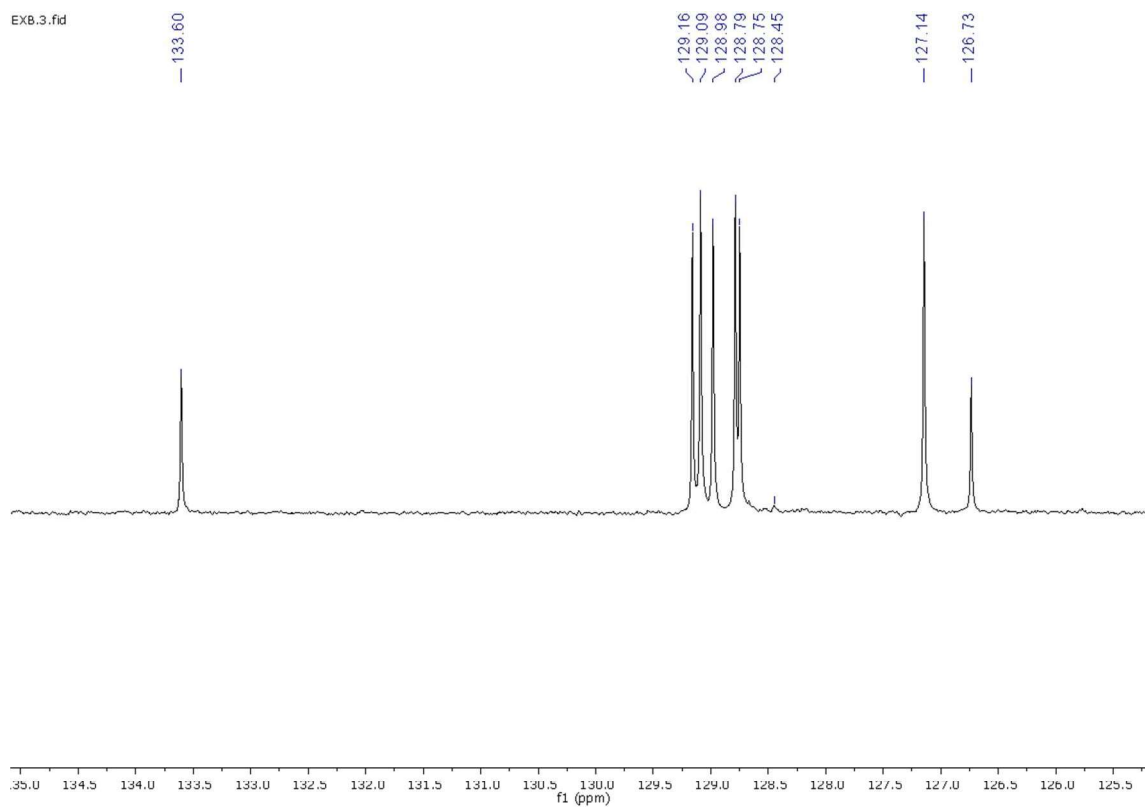


Figura 31. Espectro de DEPT 135 (100 MHz, CDCl₃) do EBB.

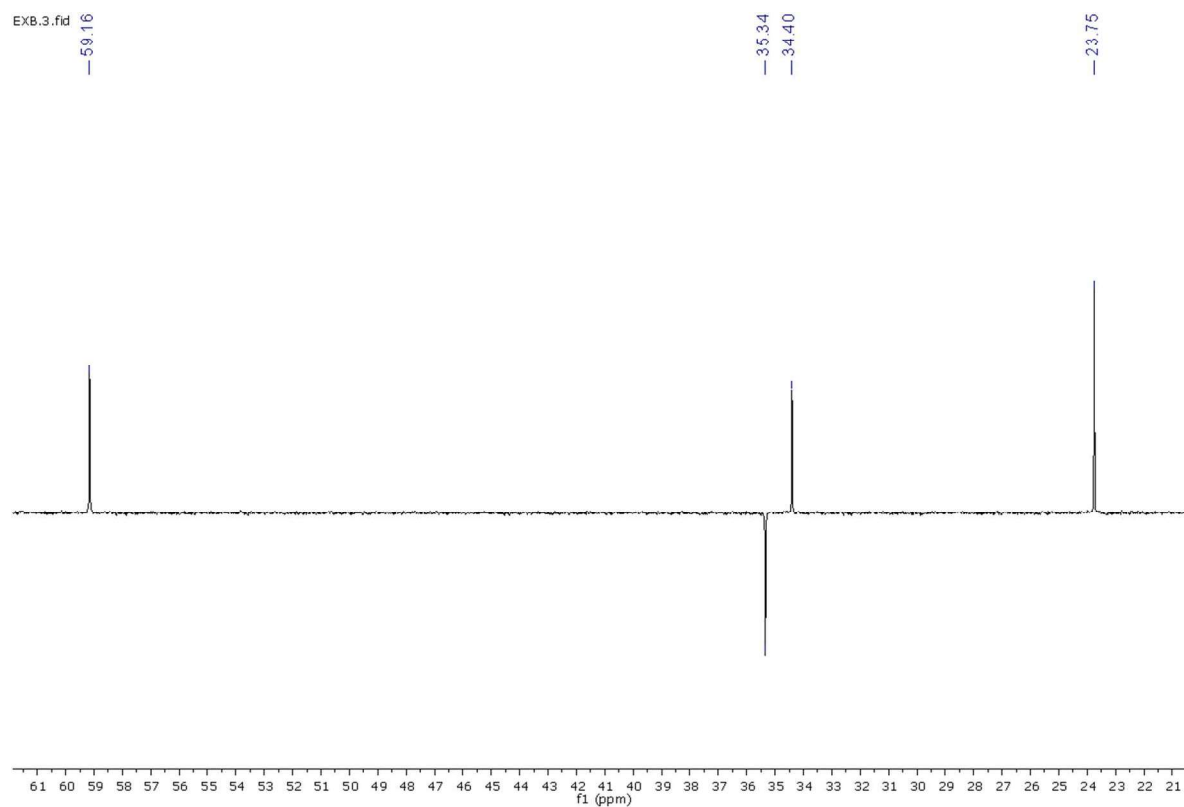


Figura 32. Espectro de DEPT 135 (100 MHz, CDCl₃) do EBB.

4.3. Síntese e purificação do 1,3-difenil-2-benzil-1,3-propanodiona (DPBP)

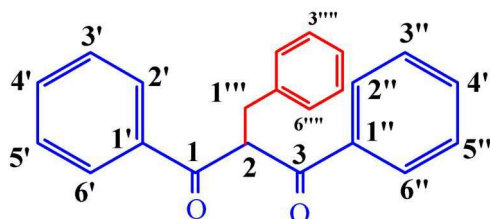


Figura 33. Estrutura do composto sintetizado DPBP, em vermelho o substituinte adicionado na reação de alquilação.

A reação de alquilação do dibenzoilmetano com brometo de benzila levou a produção do composto alquilado que foi obtido como cristais brancos. Após o final da reação, realizou-se a purificação por recristalização em metanol. As absorções em **5,43** (1H, t, $J = 7$ Hz, H-2) no RMN¹H e C-2 (**59,0** C-H) no RMN ¹³C corroboram com a estrutura proposta mostrado a adição do substituinte no material de partida. As **figuras 34 a 37** mostram o espectro de RMN de ¹H e ¹³C do composto sintetizado.

Aspecto Físico: Sólido cristalino

RMN ¹H δ : 7,88 (4H, dd, $J = 10; 2$ Hz, H-2', H-6', H-2'', H-6''), 7,12-7,56 (11H, m, H-3', 4', 5', 3'', 4'', 5'', H-2'''-H-6'''), 5,43 (1H, t, $J = 7$ Hz, H-2), 3,44 (1H, dd, $J = 14, 7$ Hz, H-1''')

RMN ¹³C δ : C-1'-C-1'' (139,1 C=O), C-2'-C-6'-C-2''-C-6'' (128,9 C-H), C-3'-C-5'-C-3''-C-5'' (128,6 C-H), C-4 (133,5 C-H), C-3-C-1 (195,4 C=O), C-2 (59,0 C-H), C-1''' (135,98), C-2'''-C-6''' (128,6 C-H), C-3'''-C-5''' (128,8 C-H) C-4''' (126,6 C-H).

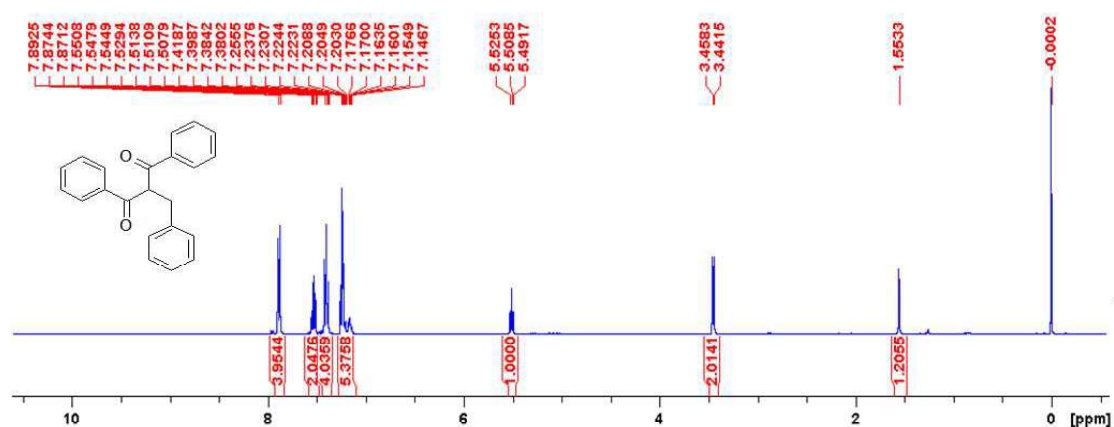


Figura 34. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)

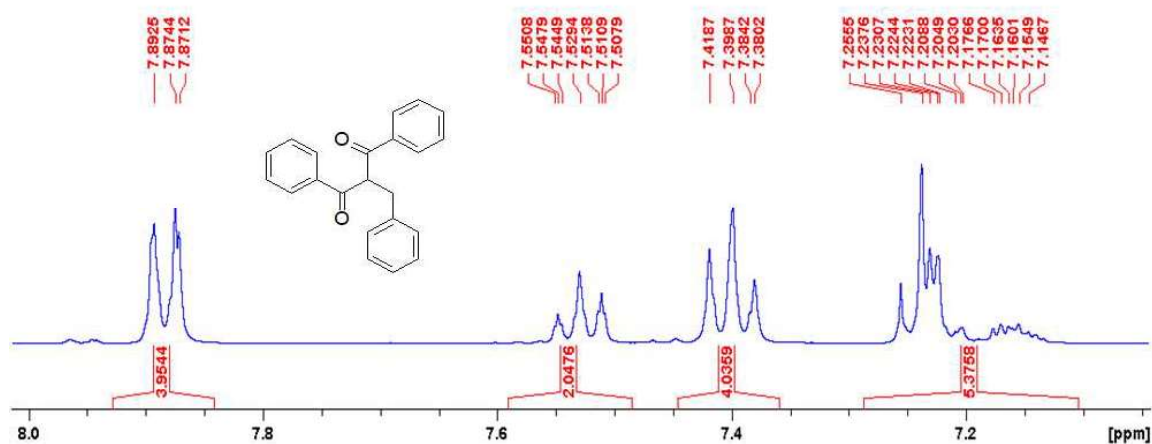


Figura 35. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expansão

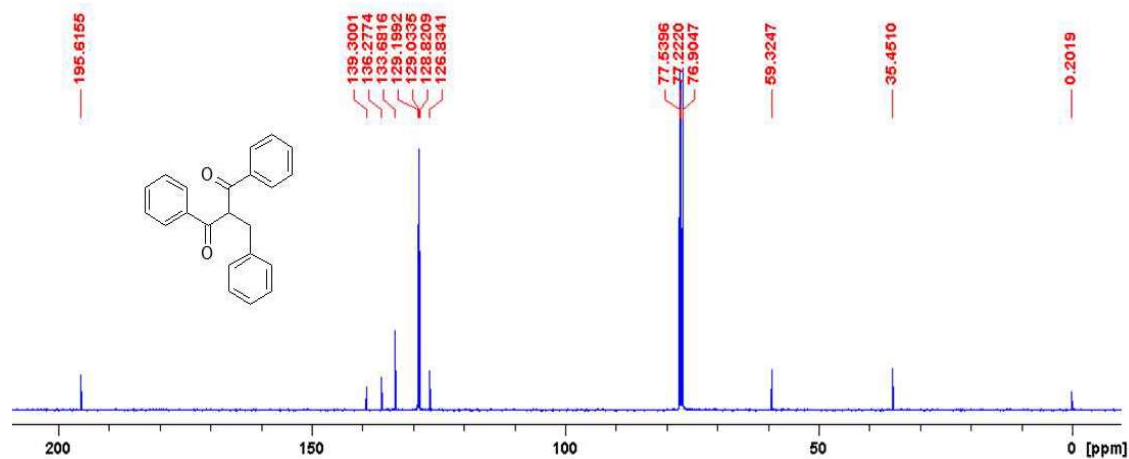


Figura 36. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3)

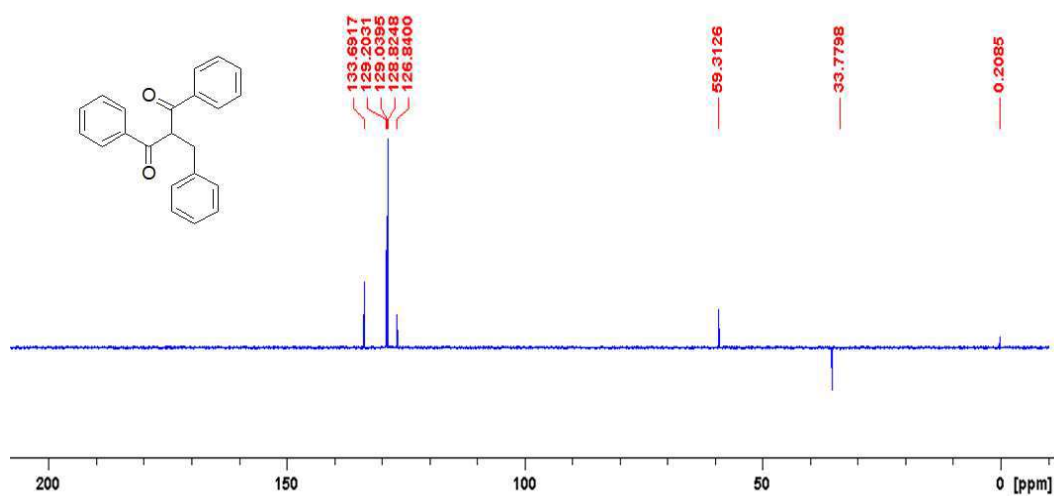


Figura 37 Espectro de DEPT (100 MHz, CDCl_3)

Após a etapa de purificação, foi possível determinar o rendimento da reação para cada composto. Para determinar o rendimento, utilizou-se a equação abaixo:

$$\% \text{ de rendimento} = \frac{\text{Produto final (g)}}{\text{Composto de partida (g)}} \times 100$$

Assim, para o composto **ABB**, partiu-se de 200 mg ($0,644 \times 10^{-3}$ mol) e obteve-se 130 mg ($0,418 \times 10^{-3}$ mol) do composto ABB, totalizando 65% de rendimento na reação. Já para o composto **EBB**, iniciou-se com 250 mg ($0,94 \times 10^{-3}$ mol) e obteve-se 158 mg ($0,59 \times 10^{-3}$ mol), totalizando 63,2% de rendimento na reação. Pode-se correlacionar os produtos devido a equivalência molar (1:1) regente na reação. Para o composto **DPBP**, partiu-se de 200 mg ($1,34 \times 10^{-3}$ mol) e obteve-se 170 mg ($1,14 \times 10^{-3}$ mol) do composto DPBP, totalizando 85% de rendimento. Tais valores foram semelhantes ao encontrado por Baeta (2019), Nascimento e colaboradores (2018) e Oliveira (2019), o que expressa que a reação ocorreu de maneira eficiente.

4.4. Atividade citotóxica

O ensaio de citotoxicidade, utilizando MTT, possibilitou a obtenção da viabilidade celular das linhagens normais melan-a, VERO, BGM e HEK-293 e das linhagens tumorais B16F10, 4T1, MCF-7, HEPG-2, MV3, SW480 e HT29 após a exposição à diferentes concentrações dos compostos ABB, DPBP E EBB. Para obtenção da concentração citotóxica a 50% das células, foi realizada uma regressão não linear (log da concentração do composto em $\mu\text{g/mL}$) *versus* porcentagem (%) de vida e os valores encontrados expostos nas **tabelas 2, 3, 4, 5 e 6**.

Ao realizar a regressão não linear, uma equação foi obtida como modelo matemático daquela curva gerada, e para cada gráfico existe uma equação específica com alguns coeficientes de variação. Neste caso, temos a equação 1 que representa o modelo matemático da curva de estudo, e nela temos o coeficiente *HillSlope*. Com tal coeficiente em mãos, pode-se, portanto, estimar as concentrações citotóxicas para diferentes percentuais de morte celular, sendo eles o IC_{10} , concentração na qual 10% das células morrem, e o IC_{90} , onde 90% das células morreram.

$$Y = \frac{100}{1 + 10^{(\log \text{IC}_{50} - X) \times \text{HillSlope}}} \quad \text{Equação 1}$$

4.4.1. Composto EBB

Durante o tratamento com EBB por 48 horas nas linhagens normais, pode-se observar que para melan-a houve uma relação de dose dependência, uma vez que quanto maior a concentração testada, menor a viabilidade celular. Já para a linhagem VERO e HEK-293, tal efeito pode ser observado em menor intensidade, uma vez que apenas em concentrações muito elevadas houve diminuição da viabilidade celular conforme ilustra a **figura 38, Tabela 2**.

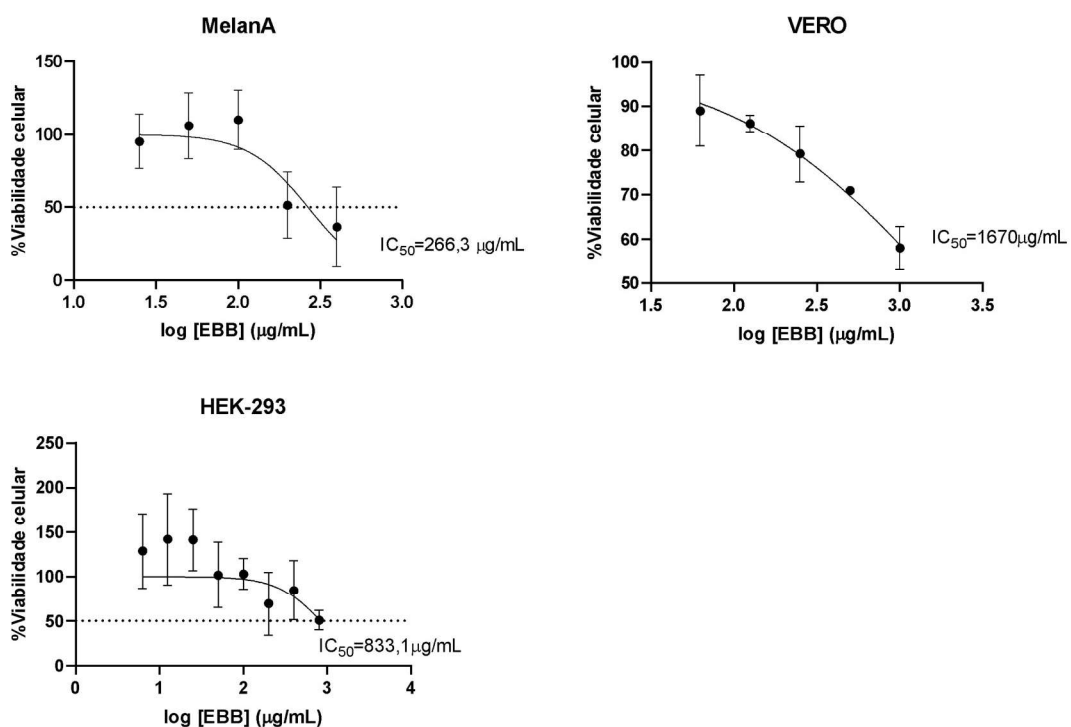


Figura 38. Viabilidade celular em função da concentração do composto EBB para linhagens normais após 48 horas de tratamento.

As linhagens tumorais, avaliadas após o tratamento com EBB por 48 horas não mostraram sofrer qualquer alteração na viabilidade celular (MV3, HT29 e SW480). Já para as linhagens MCF-7 e 4T1, além da maior sensibilidade ao composto, mostrada na figura 39 e Tabela 3, pode-se observar uma relação de dose dependência, uma vez que quanto maior a concentração avaliada, menor se tornava a viabilidade celular. Pode-se dizer que para a linhagem de mama houve uma seletividade do composto, uma vez que a concentração citotóxica encontrada foi menor do que a encontrada

para as linhagens normais, portanto, o composto EBB se mostrou um potencial candidato à quimioterápico, minimizando os possíveis efeitos colaterais do quimioterápicos hoje existentes.

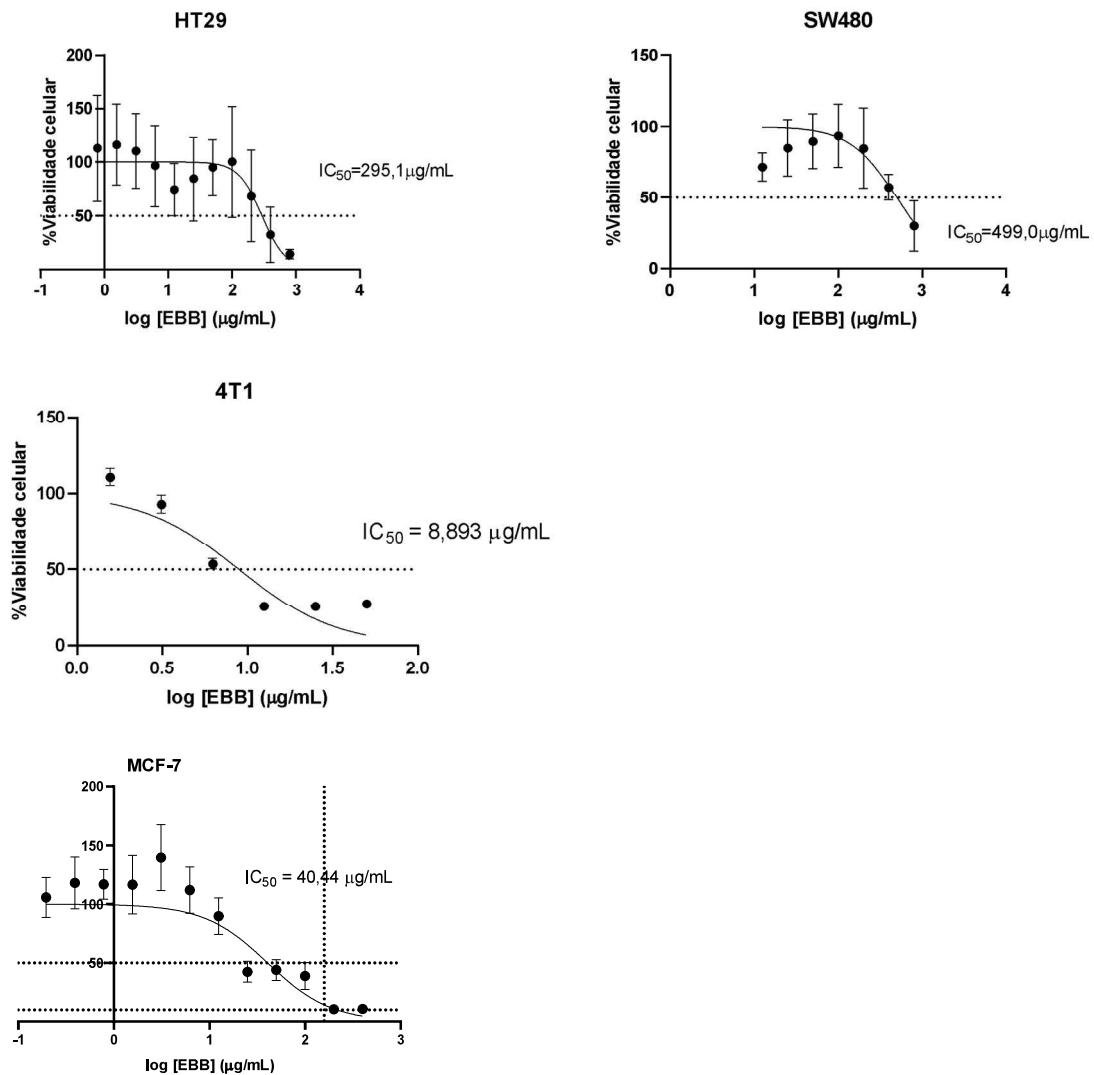


Figura 39. Viabilidade celular em função da concentração do composto EBB para linhagens tumorais após 48 horas de tratamento.

Tabela 2. Concentrações citotóxicas encontradas para as linhagens normais VERO, melan-a e HEK-293 após tratamento com **EBB**.

Linhagem celular			
	VERO	melan-a	HEK-293
Log IC₅₀	3,223	2,425	2,921
IC₅₀ (µg/mL)	1670±18,14	266,3±48,25	833,1
R²	0,8830	0,5457	0,1818
HillSlope	-0,6939	-2,387	-1,648
IC₁₀ (µg/mL)	70,43891	105,9824	219,7705
IC₉₀ (µg/mL)	39644,9	667,9846	3162,501

Tabela 3. Concentrações citotóxicas encontradas para as linhagens tumorais HT29, SW480, 4T1, MCF-7 e MV3 após tratamento com **EBB**.

Linhagem celular					
	HT29	SW480	4T1	MCF-7	MV3
Log IC₅₀	2,470	2,698	0,9490	1,607	2,540
IC₅₀ (µg/mL)	295,1	499,0	8,893±2,01	40,44	346,9
R²	0,3129	0,3827	0,8326	0,7198	0,8270
HillSlope	-2,327	-1,545	-1,524	-1,316	-4,274
IC₁₀ (µg/mL)	114,7958	120,3282	2,103084	4,79	199,53
IC₉₀ (µg/mL)	758,7071	2068,391	37,59615	158,49	457,09

4.4.2. Composto ABB

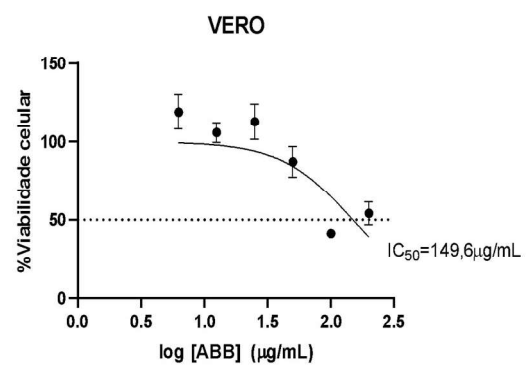
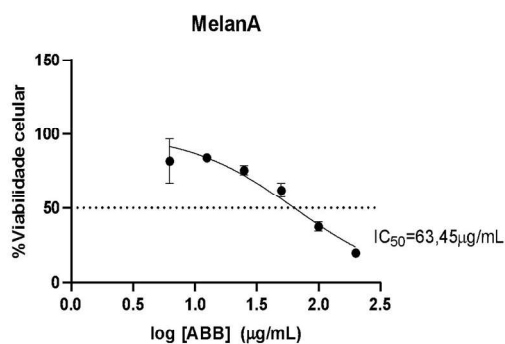
Para o composto ABB, pode-se observar que com o tratamento por 48 horas as linhagens normais melan-a, VERO e HEK-293 demonstraram uma relação de dose dependência, uma vez que quanto maior a concentração testada, menor a viabilidade celular conforme ilustrados na figura 40, tabela 4 e 5. Diferentemente do composto EBB, o composto ABB apresentou maior citotoxicidade para as linhagens normais.

Tabela 4. Concentrações citotóxicas encontradas para as linhagens normais VERO, melan-a e HEK-293 após tratamento com **ABB**.

Linhagem Celular			
	VERO	melan-a	HEK-293
Log IC ₅₀	2,175	1,802	2,349
IC ₅₀ (µg/mL)	149,6	63,45	223,6
R ²	0,6439	0,8961	0,3567
HillSlope	-1,537	-1,014	-0,5137
IC ₁₀ (µg/mL)	35,82223	7,25993	3,100365
IC ₉₀ (µg/mL)	624,9531	553,4362	16091,15

Tabela 5. Concentrações citotóxicas encontradas para as linhagens tumorais B16F10 e 4T1 após tratamento com **ABB**.

Linhagem celular		
	B16F10	4T1
Log IC ₅₀	2,569	2,089
IC ₅₀ (µg/mL)	370,4	122,8
R ²	0,9028	0,7342
HillSlope	-1,537	-0,7890
IC ₁₀ (µg/mL)	88,74677	7,578219
IC ₉₀ (µg/mL)	1548,273	1988,075



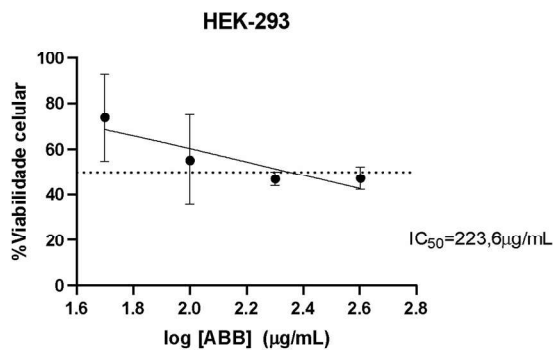


Figura 40. Viabilidade celular em função da concentração do composto ABB para linhagens normais após 48 horas de tratamento.

Em relação às linhagens tumorais, o composto ABB apresentou uma relação de dose-dependência, uma vez que a viabilidade e a concentração apresentam relação inversa conforme presente na figura 41. Apesar de ser capaz de acarretar a morte celular, este composto apresenta baixa ou inexistente seletividade, visto que os valores encontrados de IC₅₀ foram superiores ou próximos aos valores encontrados para as linhagens normais. Dessa forma, o composto ABB não apresenta a seletividade elevada para as linhagens tumorais, sendo tal seletividade o objetivo principal da busca de novos quimioterápicos.

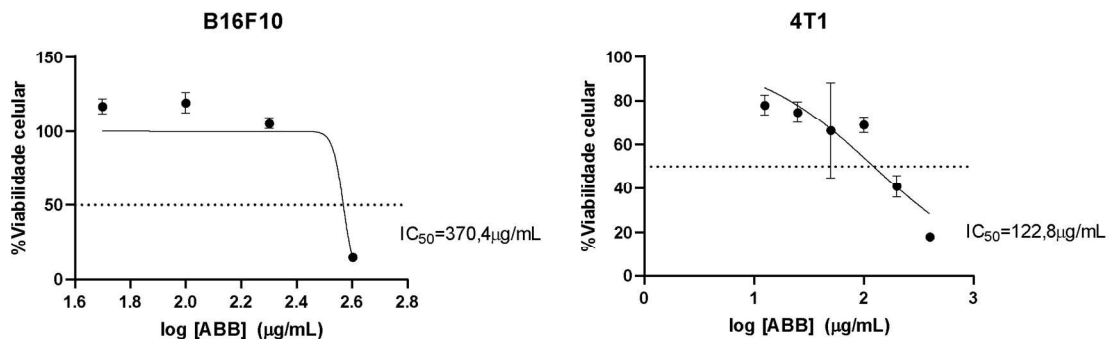


Figura 41. Viabilidade celular em função da concentração do composto ABB para linhagens tumorais após 48 horas de tratamento.

4.4.3. Composto DPBP

O composto **DPBP**, sintetizado e com atividade anti-melanoma descrita por Nascimento e colaboradores (2018), foi utilizado com a finalidade de busca de atividade antitumoral para outros cânceres. Para tal, a concentração citotóxica foi calculada para a linhagem normal VERO, e a linhagem tumoral murina 4T1 (câncer de mama) e humanas MV3. Conforme disposto na tabela 6, podemos observar que

os valores da concentração citotóxica para a linhagem VERO foi superior àquele para a linhagem tumoral 4T1, o que indica um potencial de seletividade desse composto. Nas figuras 42 e 43 pode-se observar que à medida que aumenta a concentração, tem-se a diminuição da viabilidade celular.

Tabela 6. Concentrações citotóxicas encontradas para a linhagem normal VERO e para as linhagens tumorais MV3, MCF-7 e 4T1 após tratamento com **DPBP**.

Linhagem Celular				
	VERO	4T1	MCF-7	MV3
Log IC₅₀	2,175	1,144	1,671	2,079
IC₅₀ (µg/mL)	149,6	13,95	46,88	119,9
R²	0,6439	0,5971	0,6309	0,8551
HillSlope	-1,537	-0,5860	-1,179	-2,039
IC₁₀ (µg/mL)	35,82223	0,327793	5,25	48,98
IC₉₀ (µg/mL)	624,9531	592,107	275,42	346,74

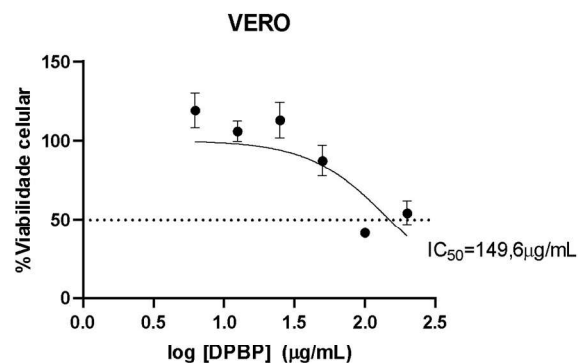


Figura 42. Viabilidade celular em função da concentração do composto DPBP para linhagem normal VERO após 48 horas de tratamento.

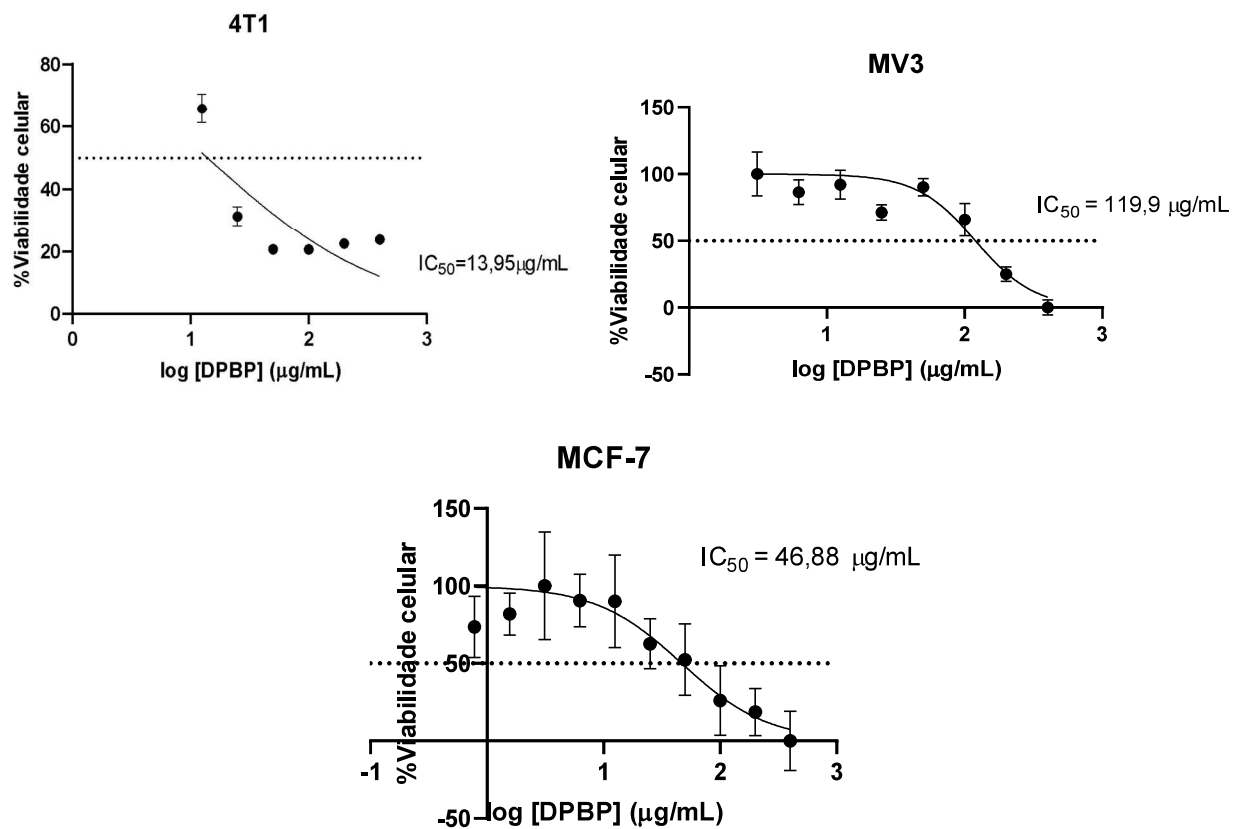


Figura 43. Viabilidade celular em função da concentração do composto DPBP para linhagem tumoral 4T1 após 48 horas de tratamento.

4.4.4. Composto DBMOH₆

O composto **DBMOH₆**, foi estudado como um derivado de dibenzoilmetano sintético comercial. A concentração citotóxica foi calculada para as linhagens normais VERO e BGM, e para as linhagens tumorais humanas MCF-7 de câncer de mama e MV3 de melanoma. Conforme disposto na tabela 7, podemos observar que os valores da concentração citotóxica para a linhagem BGM foi superior àquele encontrado para as linhagens tumorais, o que infere na seletividade do composto para os cânceres aqui testados. Nas figuras 44 e 45 pode-se observar que à medida que aumenta a concentração, tem-se a diminuição da viabilidade celular.

Tabela 7. Concentrações citotóxicas encontradas para as linhagens normais VERO e BGM e para as linhagens tumorais MCF-7 e MV3 após tratamento com **DMBOH₆**.

Linhagem Celular				
	VERO	BGM	MCF-7	MV3
Log IC ₅₀	1,170	1,860	1,502	1,499
IC ₅₀ (µg/mL)	14,79	72,38	31,78	31,54
R ²	0,7496	0,8804	0,9306	0,9913
HillSlope	-7,268	-1,124	-2,725	-2,786

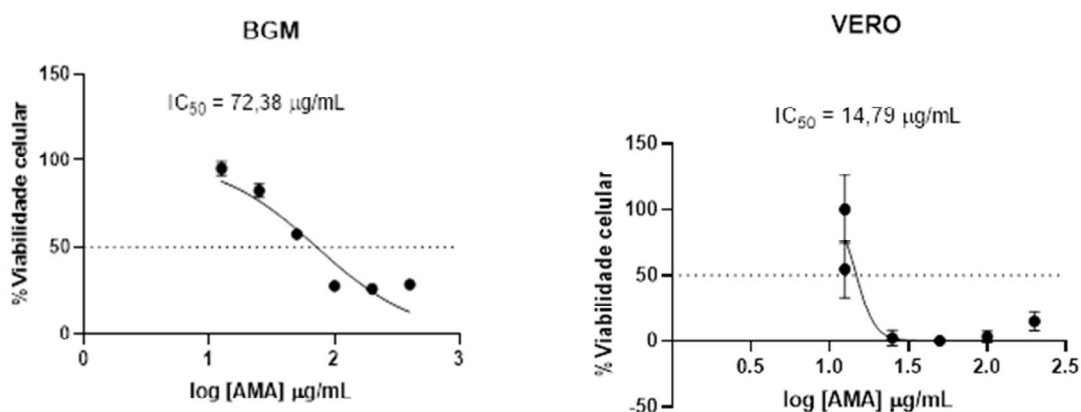


Figura 44. Viabilidade celular em função da concentração do composto **DMBOH₆** para as linhagens normais BGM e VERO após 48 horas de tratamento.

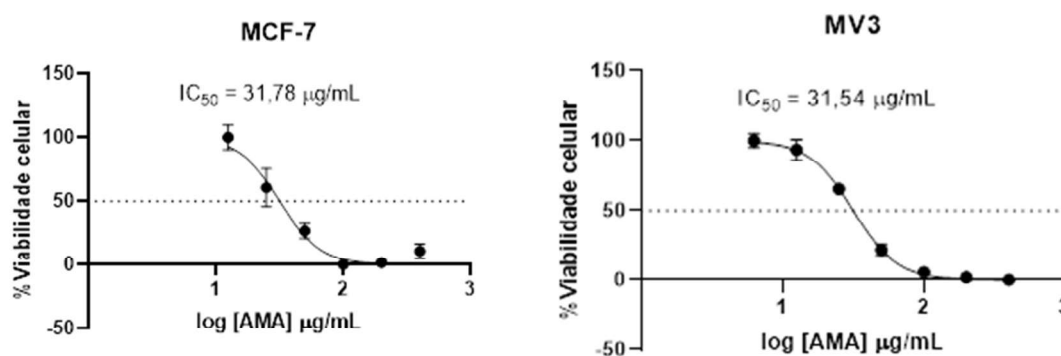


Figura 45. Viabilidade celular em função da concentração do composto **DMBOH₆** para as linhagens tumorais MCF-7 e MV3 após 48 horas de tratamento.

Os compostos aqui avaliados para seguirem um desenho de fármacos seguros para o desenvolvimento de quimioterápicos, devem apresentar elevada seletividade,

ou seja, causarem danos às células cancerígenas e preservarem na melhor maneira possível às células normais. Dessa forma o uso deles evitaria o desenvolvimento de efeitos colaterais indesejados como é o caso dos quimioterápicos atualmente empregados. Para melhor avaliar essa seletividade, deve-se calcular o Índice de Seletividade (IS) do composto, que consiste na razão das concentrações citotóxicas da linhagem normal pela linhagem tumoral.

Os índices de seletividade dos compostos foram calculados e estão descritos nas tabelas 8, 9 e 10. Para que seja considerado um fármaco seletivo, este deve apresentar um IS maior que 2, o que indica que a concentração tóxica para as células normais é pelo menos duas vezes maior do que para as células tumorais. Com base nisso, podemos observar que os compostos DPBP e EBB foram seletivos às linhagens tumorais.

O composto **ABB** não apresentou seletividade, conforme disposto na tabela 8, visto que para todas as linhagens tumorais e todas as linhagens normais, o seu índice de seletividade foi inferior a 2. Tal fato poderia ser justificado pela sua diferença estrutural aos outros compostos, uma vez que ele possui grupos hidrofóbicos presentes nos anéis aromáticos das extremidades

O composto **EBB** (Tabela 9) apresentou resultados satisfatórios com base no índice de seletividade, e, portanto, para algumas linhagens ele pode ser considerado seletivo. Comparando-se à linhagem controle VERO, o composto apresenta IS superior a 2 para todas as linhagens tumorais testadas, com destaque para as linhagens MV3 (IS = 4,87), MCF-7 (IS = 41,29) e 4T1 apresentando índice superior a 100. No caso da linhagem de câncer de mama murino, vale a pena ressaltar que, quando comparado à sua contrapartida normal murina o IS do composto EBB é 29,96, o que o qualifica como um promissor antitumoral.

O composto **DPBP** (Tabela 10) apresentou IS de 10,72 comparando a linhagem 4T1 com a linhagem normal VERO e IS de 18,79 quando comparado a linhagem de mama com a normal murina (melan-a). Tal fato o classifica também como um composto de alta seletividade com potencial promissor para estudos clínicos e desenvolvimento de quimioterápico.

O composto **DMBOH₆** (Tabela 11) apresentou IS de 2,29 comparando a linhagem MV3 com a linhagem normal BGM. Ao ser utilizado na linhagem de câncer de mama humano MCF-7 o IS encontrado foi de 2,277. Tais resultados refletem a existência de

aceitável seletividade com potencial promissor para estudos clínicos e desenvolvimento de quimioterápico quando comparado aos quimioterápicos hoje empregados no mercado que possuem seletividade inferior ou igual a 1.

Tabela 8. Cálculo de Índice de Seletividade (IS) para as linhagens tumorais com o composto **ABB**

Composto ABB	
Células	
IC₅₀ VERO (µg/mL)	149,6
IC₅₀ melan-a (µg/mL)	63,45
IC₅₀ HEK-293 (µg/mL)	223,6
IC₅₀ B16F10 (µg/mL)	370,4
IC₅₀ 4T1 (µg/mL)	122,8
IS (VERO/B16F10)	0,403888
IS (VERO/4T1)	1,218241
IS (melan-a/B16F10)	0,171301
IS (melan-a/4T1)	0,516694
IS (HEK-293/B16F10)	0,603672
IS (HEK-293/4T1)	1,820847

Tabela 9. Cálculo de Índice de Seletividade (IS) para as linhagens tumorais com o composto **EBB**

Composto EBB	
Células	
IC₅₀ VERO (µg/mL)	1670
IC₅₀ melan-a (µg/mL)	266,3
IC₅₀ HEK-293 (µg/mL)	833,1
IC₅₀ HT29 (µg/mL)	295,1
IC₅₀ SW480 (µg/mL)	499
IC₅₀ MCF-7 (µg/mL)	40,44
IC₅₀ MV3 (µg/mL)	346,9
IC₅₀ 4T1 (µg/mL)	8,893
IS (VERO/HT29)	5,659099
IS (VERO/SW480)	3,346693
IS (VERO/MCF-7)	41,29575
IS (VERO/MV3)	4,874067
IS (VERO/4T1)	187,7881
IS (melan-a/HT29)	0,902406
IS (melan-a/SW480)	0,533667
IS (melan-a/MCF-7)	6,58506
IS (melan-a/MV3)	0,767656
IS (melan-a/4T1)	29,9449
IS (HEK-293/HT29)	2,823111
IS (HEK-293/SW480)	1,669539
IS (HEK-293/MCF-7)	20,60089
IS (HEK-293/MV3)	2,395791
IS (HEK-293/4T1)	93,68042

Tabela 10. Cálculo de Índice de Seletividade (IS) para as linhagens tumorais com o composto **DPBP**.

Composto DPBP	
Células	IS
IC₅₀ VERO (µg/mL)	149,6
IC₅₀ MCF-7 (µg/mL)	46,88
IC₅₀ MV3 (µg/mL)	119,9
IC₅₀ 4T1 (µg/mL)	13,95
IS (VERO/4T1)	10,72
IS (VERO/MCF-7)	3,19
IS (VERO/MV3)	1,25

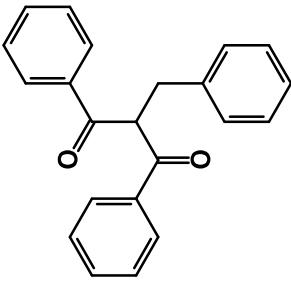
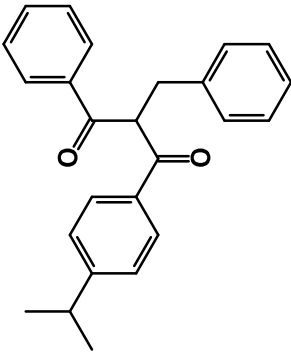
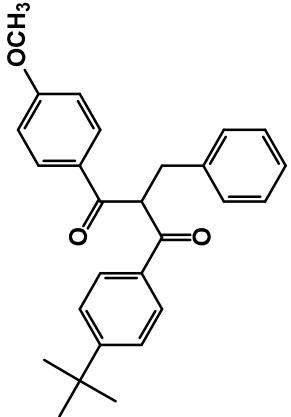
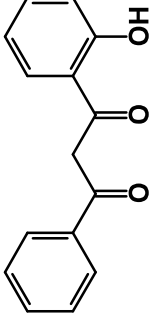
Tabela 11. Cálculo de Índice de Seletividade (IS) para as linhagens tumorais com o composto **DBMOH₆**.

Composto DBMOH₆	
Células	IS
IC₅₀ VERO (µg/mL)	14,39
IC₅₀ BGM (µg/mL)	72,38
IC₅₀ MCF-7 (µg/mL)	31,78
IC₅₀ MV3 (µg/mL)	31,54
IS (VERO/MCF-7)	0,4528
IS (VERO/MV3)	0,4562
IS (BGM/MCF-7)	2,2775
IS (BGM/MV3)	2,2949

A tabela 12 descreve o índice de seletividade dos compostos para cada célula testada.

Capítulo 2

Tabela 12: Índice de seletividade dos compostos **DPBP**, **EBB**, **ABB** e **DBMOH₆** analisados. *Não avaliados para a célula em questão.

Células	Compostos			
	 <p style="text-align: center;">DPBP</p>	 <p style="text-align: center;">EBB</p>	 <p style="text-align: center;">ABB</p>	 <p style="text-align: center;">DBMOH₆</p>
HT29	*	IS (VERO/HT29) = 5,66 IS (melan-a/HT29) = 0,902 IS (HEK-293/HT29) = 2,82	*	*
MV3	*	IS (VERO/MV3) = 4,874067 IS (melan-a/MV3) = 0,767656 IS (HEK-293/MV3) = 2,395791	*	IS (VERO/MV3) = 0,4562 IS (BGM/MV3) = 2,2949
MCF-7	*	IS (VERO/MCF-7) = 41,29575 IS (melan-a/MCF-7) = 6,58506 IS (HEK-293/MCF-7) = 20,60089	*	IS (VERO/MCF-7) = 0,4528 IS (BGM/MCF-7) = 2,2775
SW480	*	IS (VERO/SW480) = 3,35 IS (melan-a/SW480) = 0,53 IS (HEK-293/SW480) = 1,76	*	*
4T1	IS (VERO/4T1) = 23,94	IS (VERO/4T1) = 187,79 IS (melan-a/4T1) = 29,95 IS (HEK-293/4T1) = 93,68	IS (VERO/4T1) = 1,22 IS (melan-a/4T1) = 0,56 IS (HEK-293/4T1) = 1,82	*
B16F10	IS (VERO/B16F10) = 10,74	*	IS (VERO/B16F10) = 0,40 IS (melan-a/B16F10) = 1,71 IS (HEK-293/B16F10) = 0,60	*

Oliveira (2019) utilizou quimioterápicos convencionais hoje empregados pelo Sistema Único de Saúde, sendo eles a dacarbazina, a cisplatina e a doxorubicina com a finalidade de encontrar suas concentrações citotóxicas e o IS. Testando a dacarbazina em células B16F10, VERO e melan-A (sendo esse quimioterápico o mais utilizado para tratamento de melanoma), obteve-se um IS inferior a 1, ou seja, o composto necessita de uma concentração muito maior para atuar nas células tumorais, porém nessa faixa, ele ocasiona a morte de células normais. Tal fato pode explicar, pelo menos em parte, os seus inúmeros efeitos colaterais. De forma semelhante, os fármacos cisplatina e doxorubicina, testados para os mesmos cânceres aqui estudados (exceto câncer de mama) e para glioma (não utilizado neste estudo), também apresentaram valores de IS inferiores a 2.

Em estudos semelhantes, com derivados de dibenzoilmetano com atividade antitumoral, Baêta (2019) mostrou que um derivado de dibenzoilmetano possui atividade antimelanoma, além de Nascimento e colaboradores (2022) também demonstrarem atividade antimelanoma e em ambos *in vitro* e *in vivo*. Oliveira(2017) em um derivado inédito de dibenzoilmetano encontrou atividade antitumoral para melanoma murino, encontrando índice de seletividade de 2,7, mostrando que os compostos aqui testados possuem semelhança estrutural e farmacológica.

A linhagem 4T1 é oriunda de ratos Balb/c e é classificada como triplo negativa e apresenta resistência à 6-tioguanina (fármaco utilizado para tratamento de leucemia mieloide aguda). Além disso, tal linhagem fora isolada de metástases e, portanto, apresenta uma característica de migração interessante para a pesquisa (4T1 | ATCC; SILVA et al., 2016). Para ela, os compostos DPBP e EBB apresentaram seletividade alta e uma das possíveis justificativas de tal seletividade seria a presença de receptores hormonais presentes em células mamárias quando comparados aos outros cânceres aqui analisados. A importância de atuar em um carcinoma triplo negativo indica um potencial quimioterápico dos compostos, visto que hoje a quimioterapia para tal grupo ainda é um desafio, uma vez que ele não responde ao tratamento hormonal e facilmente desenvolve resistência às drogas (DAABOUL et al., 2019; MEURER et al., 2020; MOUSAZADEH et al., 2019).

4.5. Ensaio de migração

O 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (PMA), é um fármaco de origem vegetal e que possui potencial indução tumoral e migracional (BLUMBERG2, 1988). Para determinar se os compostos de interesse são capazes de atuarem na inibição da migração induzida por PMA, as células 4T1 foram tratadas com PMA e/ou DPBP ou EBB e a migração foi avaliada usando um ensaio de cicatrização de feridas. Os tratamentos com ambos compostos inibiram significativamente a migração celular induzida por PMA (Figura 46), durante 24h.

Os resultados dos ensaios de cicatrização de feridas são apresentados na Figura 46. A área que as células migraram em 24 h (em direção à linha média inicialmente arranhada, a partir da linha de fronteira) foi medida. As células incubadas com x de PMA migraram através de uma área que era maior do que a das células incubadas com o meio de controle, indicando que o tratamento com PMA estimulou a migração das células 4T1.

Após 24 h de tratamento, o DPBP e EBB não apenas inibiram a migração intensificada por PMA, como também inibiram a migração basal das células na ausência de PMA. O DPBP diminuiu 56,99% da taxa de migração na ausência de PMA e de 42,90% na presença de PMA. Já o EBB apresentou um efeito maior na migração das células, cujo tratamento inibiu 57,55% da taxa de migração na ausência de PMA e de 49,27% na presença de PMA (Figura 47).

Capítulo 2

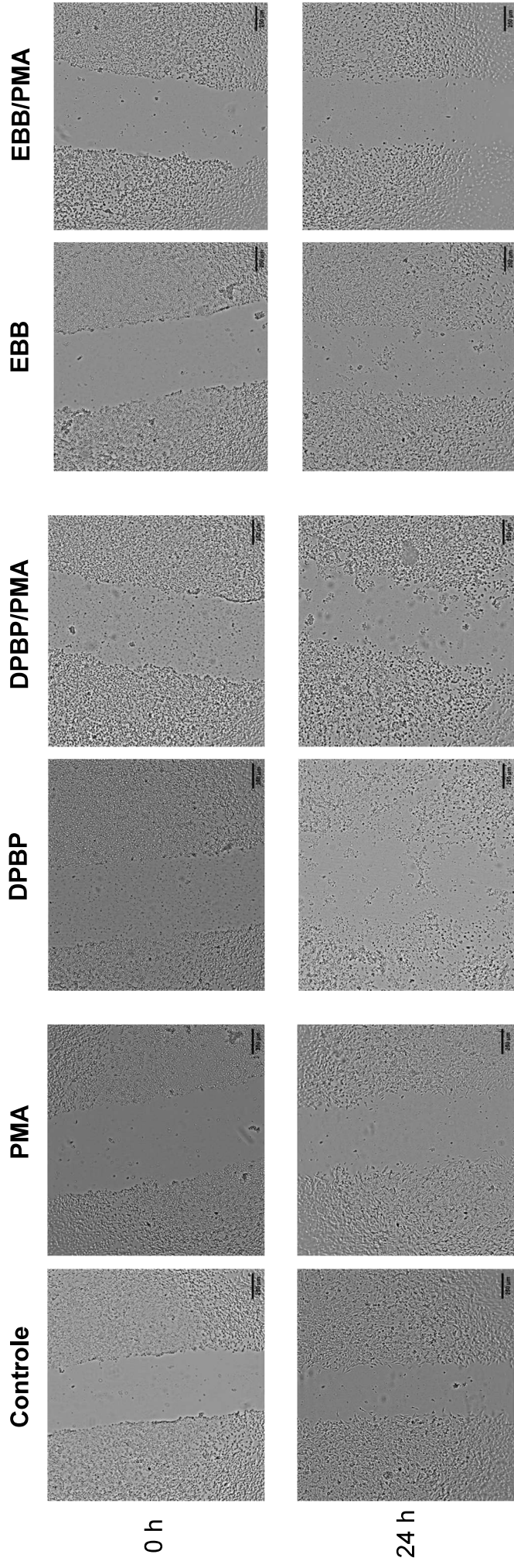


Figura 46: Ensaio de migração para os compostos DPBP e EBB tratados com o IC_{50} de cada composto.

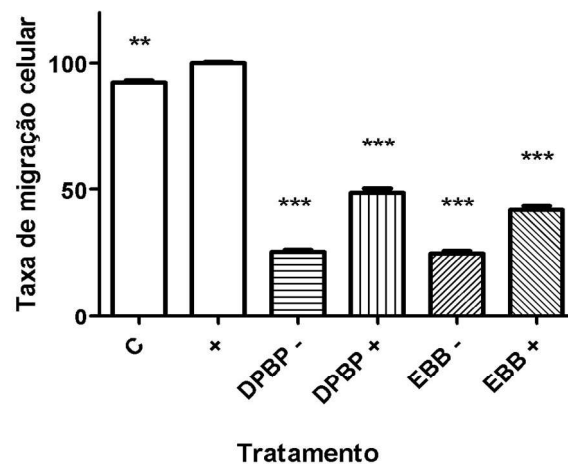


Figura 47. O tratamento com DPBP e EBB inibe a migração intensificada por PMA em células 4T1. A taxa de migração resumida (%) dentro de 24 h medida por ensaio de cicatrização de feridas. C: controle, sem tratamento; +: 0,1% PMA; DPBP-: IC₅₀ DPBP; DPBP+: IC₅₀ DPBP + 0,1% P PMA; EBB-: IC₅₀ EBB; EBB+: IC₅₀ EBB + 0,1% PMA. Cada coluna representa a média ± SEM. *** P <0,05 e ** P <0,01, vs. PMA

Liao e colaboradores (2015), em um estudo de atividade antitumoral do dibenzoilmetano e alguns derivados contra a linhagem humana de carcinoma de mama MCF-7, mostraram que o DBM era capaz de reduzir a capacidade de migração celular em quase 100% com a presença do indutor de migração celular (PMA), o que indica seu potencial de ação antitumoral e antimetastática. Dessa forma, os compostos aqui avaliados possuem potencial quimioterápico e antimetastático.

4.6. Ensaio de interação com DNA

Para o composto EBB, cuja seletividade foi maior para o câncer de mama, realizou-se o ensaio de interação com DNA. Neste ensaio, o principal objetivo é verificar se os compostos são capazes de interagir com a molécula de DNA, seja por ligações covalentes ou por meio de intercalação. Dessa forma, pode-se obter as curvas de força x extensão do DNA características dos complexos formados por composto e DNA, ilustrado na figura 48.

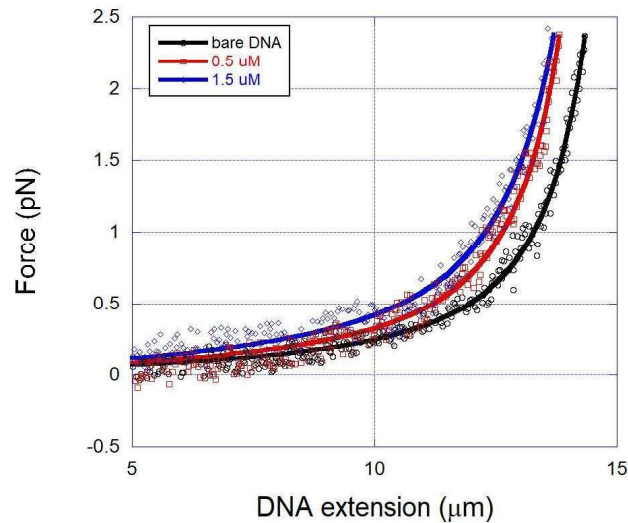


Figura 48. Curvas de força x extensão do DNA com o composto EBB. Curva preta: DNA puro, Curva vermelha: DNA com composto a 0.5 μM ; Curva azul: DNA com composto a 1.5 μM .

As curvas foram ajustadas em comparação ao modelo *Worm-like Chain* (WLC). Na equação 1, temos o modelo de equação WLC de “força x extensão”. A partir de tais curvas é possível extrair os parâmetros mecânicos de persistência e contorno do DNA.

$$F = \frac{k_B T}{A} \left[\frac{R}{L} + \frac{1}{4 \left(1 - \frac{R}{L}\right)^2} - \frac{1}{4} \right]$$

Onde: **R** = extensão do DNA

L = comprimento de contorno

A = comprimento de persistência

Equação 1. Modelo de Worm-Like Chain (WLC)

Para avaliação do comprimento de contorno dos complexos formados pelo DNA e EBB, na figura 49 pode-se observar que não houve variação significativa deste parâmetro. Tal fato indica que a interação para a formação do complexo DNA-EBB ocorre sem alterar o espaçamento médio entre os pares de base da dupla-hélice. Devido a constância desse parâmetro pode-se sugerir que o mecanismo de ligação do composto com o DNA é por meio de ligação na fenda menor da dupla hélice, principalmente devido ao seu tamanho.

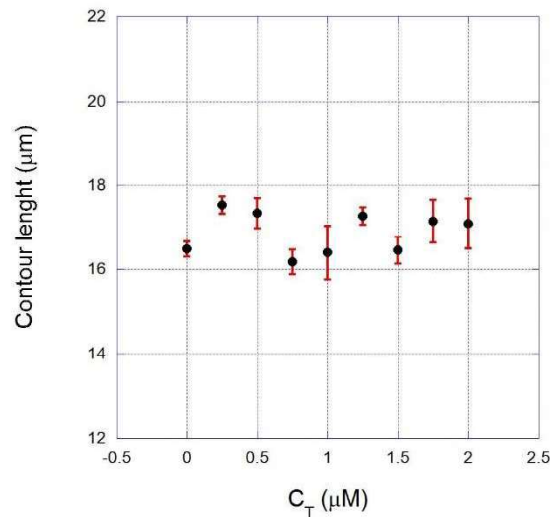


Figura 49. Comprimento de contorno dos complexos formados (DNA-EBB) em função da concentração do composto.

Para o comprimento de persistência, é possível notar que houve uma queda monotônica. Tal queda, ilustrada na figura 50, afirma a existência da interação e que os complexos formados se tornam mais flexíveis à medida que se aumenta a concentração do EBB. Portanto, com o aumento da flexibilidade, a dupla-hélice do DNA apresenta mais dobras em solução.

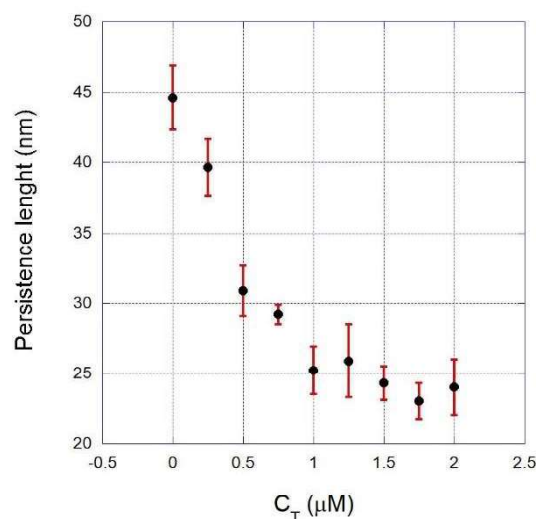


Figura 50. Comprimento de persistência dos complexos formados em função da concentração do composto.

A fim de se determinar os parâmetros físico-químicos da interação DNA-EBB, utilizou-se o modelo *quenched-disorder* de um sítio, acoplado com a isoterma de McGhee-von Hippel, ajustando-se os dados do comprimento de persistência. O conjunto de equações na figura 51 representa quais foram utilizadas.

$$\frac{1}{A} = \frac{1-x}{A_0} + \frac{x}{A_1}, \quad x = r/r_{max}$$

$$N = 1/r_{max}$$

$$\frac{r}{C_f} = K(1 - Nr) \left[\frac{1 - Nr}{1 - (N-1)r} \right]^{N-1}$$

$$C_T = C_f + C_b$$

Figura 51 Conjunto de equações utilizadas para determinação dos parâmetros físico-químicos da interação DNA-EBB

A partir do conjunto de equações descritas acima na figura 51, sabe-se que A é o comprimento de persistência efetivo, A_0 é o comprimento de persistência do DNA puro e A_1 o valor de saturação desse parâmetro. r é a fração de pares de base ligados e o r_{max} seu valor de saturação. As concentrações de compostos livres em solução, ligados ao DNA e total são dadas por C_f , C_b e C_T , respectivamente. A constante de equilíbrio de associação é dada por K e o tamanho do sítio de ligação em pares de base (pb) é dada por N .

Realizando os devidos ajustes, na figura 51, tem-se o ajuste do modelo com os dados obtidos na figura 50 por meio da linha azul sólida. Nota-se que os dados experimentais são bem explicados pelo modelo, o que, portanto, permitiu-se determinar precisamente os parâmetros físico-químicos.

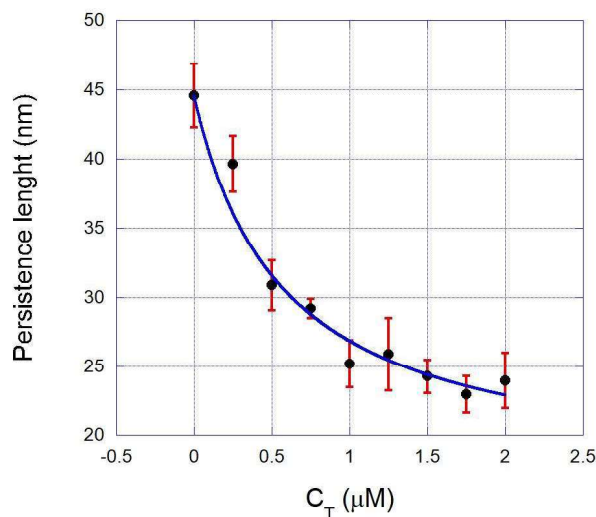


Figura 52. Ajuste do modelo *quenched-disorder* aos dados da figura 53 (linha azul sólida), de onde os parâmetros físico-químicos são extraídos.

Foi determinado do ajuste:

$$K = 7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$$

$$N = 1 \text{ bp};$$

$$A_1 = 17 \text{ nm}$$

Esses parâmetros estão de acordo com o que é reportado na literatura para ligantes de fenda menor típicos (K da ordem de 10^6 M^{-1} e $N < 2 \text{ bp}$). A compreensão do comportamento de interação entre um composto e o DNA é de grande importância para explicar e justificar possíveis atuações do mesmo em uma célula ou organismo vivo. O quimioterápico doxorrubicina age no DNA por meio da intercalação entre os pares de base, o que danifica sua estrutura original, alterando o parâmetro de comprimento de contorno, o deixando maior e mais rígido.

Nascimento e colaboradores (2018) avaliaram a atividade antitumoral do composto DPBP, aqui também estudado, e comprovaram que há interação com o DNA, porém o modo de interação é diferente. Em concentrações menores que $20 \mu\text{M}$, o DPBP interage como ligante de fenda menor do DNA, mecanismo equivalente ao encontrado para o EBB. Baeta e colaboradores (2021) avaliando um derivado de dibenzoilmetano, o DPAP, com a interação com DNA observou que ele se comporta como um ligante de fenda menor. Tais dados corroboram com as propriedades encontradas para o EBB.

4.7. Avaliação de interferência no ciclo celular

Na avaliação do ciclo celular, fixou-se as células com etanol e corou-se com iodeto de propídio, sendo posteriormente levadas para análise no citômetro de fluxo BD FACS Verse®. Para tal, um controle foi feito para servir de base nas análises posteriores dos tratamentos empregados, e utilizando-se o controle foi possível calcular os valores esperados para cada fase do ciclo celular, visando manter as proporções deste grupo.

As células de câncer de mama murino (4T1) foram tratadas com o IC₉₀ dos compostos DPBP e EBB (Figura 53), que apresentam as melhores seletividades para tal linhagem e o grupo controle foi submetido às mesmas condições, porém ausente de tratamentos. Para o controle, o ciclo celular do grupo apresentou 49,4% das células na fase G0-G1, na fase S 25% e 17,4% na fase G2, apresentando 8,2% de DNA fragmentado.

Para o DPBP, observou-se um pequeno aumento do número de células na fase G0-G1 com 55,7%, sendo esperado 23,18 % na fase S, 19,61% na fase G2 e 9,2% de DNA fragmentado. Porém, observou-se 22,1% na fase S e 16,2% na fase G2, contendo 6% de DNA fragmentado, o que indica uma possível parada do ciclo na etapa G0-G1, a qual é crucial para checagem do DNA e prosseguimento da divisão.

Já para o composto EBB, nota-se que houve um pequeno aumento das células na fase G0-G1 51,7% sendo esperado encontrar 26,16% na fase S, 18,21% na fase G2-M e 3,9% de DNA fragmentado. Foi observado que 23,7% estavam na fase S, 21% na fase G2-M e 3,6% de DNA fragmentado, o que indica uma possível parada no ciclo na fase G2-M, sendo nela realizado a última checagem para que ocorra a divisão celular.

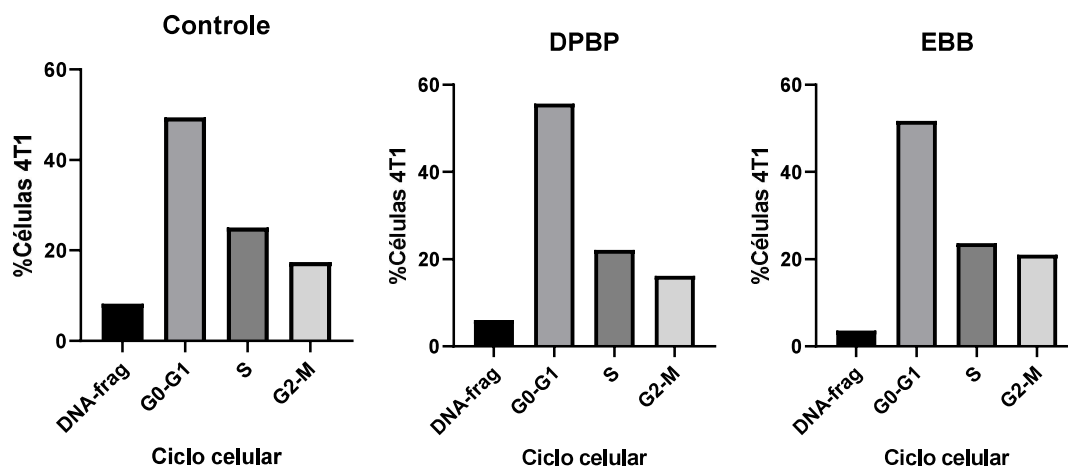


Figura 53. Análise por citometria de fluxo do ciclo celular da linhagem 4T1.

Para o composto EBB, pode-se observar que o tratamento pelo qual as células foram submetidas, indicou que na última etapa de *check* da integridade do DNA para que ocorra a divisão, algo ocorreu de maneira incoerente, sendo as células

possivelmente marcadas para a morte celular. Para confirmar tal fato, seria necessário avaliar o tipo de morte celular que o composto induz.

Durante o ciclo celular, uma série de eventos ocorre para que ocorra a divisão celular e os *checkpoints* da divisão são essenciais. Em algumas etapas, como por exemplo entre a transição entre a fase G₁ para a fase S, que gera uma carga de checagem e tomadas de decisão elevadas. Caso a célula apresente algum dano cujo reparo seja viável, tem-se uma pausa no ciclo em fase G₁, e posterior reparos, retomase ao seguimento do ciclo. Pode ocorrer também danos que sejam irreparáveis, sendo mais vantajoso para a célula parar o ciclo e entrar em processos apoptótico (ALBERTS, et al., 2017).

5. Conclusão

DPBP e EBB apresentaram resultados que são promissores candidatos à quimioterápicos, uma vez que apresentaram seletividade superior a 2, tendo o composto EBB um índice de seletividade superior a 100 para o câncer de mama. Além disso, os resultados obtidos foram superiores aos fármacos quimioterápicos hoje empregados, o que implica numa possível substituição aos de hoje empregados trazendo mais conforto aos pacientes, visto que a sua seletividade ao câncer diminuiria os efeitos colaterais indesejados.

Para a atividade antimetastática, pode-se observar que os compostos DPBP e EBB foram capazes de reduzir cerca de 50% da capacidade migratória com o indutor PMA, e na ausência dele reduziu mais de 50%. Dessa forma, pode-se observar que os compostos possuem ação antimetastática e seu mecanismo ainda deve ser investigado.

Para o composto EBB, pode-se confirmar sua interação com o DNA por meio de ligação de fenda menor, o que implica em um possível mecanismo de ação da sua atividade citotóxica.

Os compostos mais seletivos EBB e DPBP apresentaram pequenas alterações no ciclo celular, o que indica sua ação citotóxica correlacionada com o ensaio de interação com o DNA. Uma vez que o DNA é de alguma forma alterado, há um atraso ou interrupção do ciclo, induzindo as células à morte.

6. Referências

4T1 | ATCC. Disponível em: <<https://www.atcc.org/products/crl-2539>>. Acesso em: 12 nov. 2021.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Fundamentos da **Biologia Celular**. 6ª Edição. 2017

AMALRAJ, A. et al. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 7, n. 2, p. 205, 1 abr. 2017.

AN, J.; HERSHBERGER, P. E.; FERRANS, C. E. Delayed Presentation, Diagnosis, and Treatment of Breast Cancer Among Chinese Women: An Integrative Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 46, n. 3, p. 217–232, 1 maio 2023.

ANAND, P. et al. Suppression of pro-inflammatory and proliferative pathways by diferuloylmethane (curcumin) and its analogues dibenzoylmethane, dibenzoylpropane, and dibenzylideneacetone: role of Michael acceptors and Michael donors. **Biochem Pharmacol**, v. 82, n. 12, p. 1901–1909, 2011.

ARAÚJO, P. B. et al. Influência da neoplasia mamária na concentração sérica de hormônios e na expressão de receptores de estrógeno e progesterona em cadelas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 949–956, 1 maio 2018.

ATCC. **MCF 10F (CLR-10318)**, 1997.

ATCC. **MCF-7 (HTB22)**, 2003a.

ATCC. **MDA-MB 231(HTB-26)**, 2003b.

BAETA, J. V. P. B. et al. Allyl Dibenzoylmethane Derivative: Antimelanoma Activity and Study of Its Molecular Mechanism of Interaction with DNA. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 7, p. 1491–1497, 2021.

BALAKRISHNAN, B.; LAI, K. Modulation of SARS-CoV-2 Spike-induced Unfolded Protein Response (UPR) in HEK293T cells by selected small chemical molecules. **bioRxiv**, p. 2021.02.04.429769, 4 fev. 2021.

BALFOUR, H. H. J. Antiviral Drugs. **New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 16, p. 1255–1268, 22 abr. 1999.

BARROWS, N. J. et al. A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. **Cell host & microbe**, v. 20, n. 2, p. 259–270, 10 ago. 2016.

BETTEGA, J. M. P. R. Avaliação da atividade antiviral de extratos nebulizados de *Achyrocline satureioides*(LAM.) DC., Asteraceae - marcela. 2000.

BLUMBERG2, P. M. Special Lecture Protein Kinase C as the Receptor for the Phorbol Ester Tumor Promoters: Sixth Rhoads Memorial Award Lecture1. 1988.

CAMINI, F. C. et al. Oxidative stress in Mayaro virus infection. **Virus Research**, v. 236, p. 1–8, 15 maio 2017.

Câncer da pele - Sociedade Brasileira de Dermatologia. Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/cancer-da-pele/64/>>. Acesso em: 30 jan. 2021.

CENTER, M. M. et al. Worldwide Variations in Colorectal Cancer. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 59, n. 6, p. 366–378, 1 nov. 2009.

COIMBRA, T. L. M. et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007a.

COIMBRA, T. L. M. et al. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007b.

DA SILVA PESSOA VIEIRA, C. J. et al. Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. **Acta Tropica**, v. 147, p. 12–16, 1 jul. 2015.

DAABOUL, H. E. et al. β -2-Himachalen-6-ol inhibits 4T1 cells-induced metastatic triple negative breast carcinoma in murine model. **Chemico-Biological Interactions**, v. 309, p. 108703, 25 ago. 2019.

DAS, D. et al. **Visible light-induced cytotoxicity studies on Co(II) complexes having an anthracene-based curcuminoid ligand**. Dalton Transactions. **Anais...Dalton Trans**, 2019Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31393480/>>. Acesso em: 7 jan. 2024

DE CLERCQ, E. Strategies in the design of antiviral drugs. **Nature Reviews Drug**

Discovery, v. 1, n. 1, p. 13–25, 2002.

DE FIGUEIREDO, M. L. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 677–683, 2014.

DEL CARMEN, S. et al. Anti-cancer effect of lactic acid bacteria expressing antioxidant enzymes or IL-10 in a colorectal cancer mouse model. **International Immunopharmacology**, v. 42, p. 122–129, 1 jan. 2017.

EBERT, B.; SEIDEL, A.; LAMPEN, A. Phytochemicals induce breast cancer resistance protein in Caco-2 cells and enhance the transport of benzo[a]pyrene-3-sulfate. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 96, n. 2, p. 227–236, abr. 2007.

ELSAYED, S. A. et al. Experimental and computational studies of silver(I) dibenzoylmethane-based complexes, interaction with DNA/RNA/BSA biomolecules, and in vitro cytotoxic activity. **J Inorg Biochem**, v. 241, p. 112132, 2023.

FERNANDES, L. S. et al. Evaluation of Antiviral Activity of Cyclic Ketones against Mayaro Virus. **Viruses**, v. 13, n. 11, p. 2123, 2021.

FERREIRA, F. L. et al. Zika Virus Activity of the Leaf and Branch Extracts of *Tontelea micrantha* and Its Hexane Extracts Phytochemical Study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 4, 2019.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224–229, 2007.

FIOROT, R. et al. Synthesis, Molecular Modelling and Anticancer Activities of New Molecular Hybrids Containing 1,4-Naphthoquinone, 7-Chloroquinoline, 1,3,5-Triazine and Morpholine Cores as PI3K and AMPK Inhibitors in the Metastatic Melanoma Cells. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 9, p. 1860–1873, 2019.

GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 123–128, 13 jan. 2006.

GUO, L. et al. GDF15 expression in glioma is associated with malignant progression,

immune microenvironment, and serves as a prognostic factor. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 00, p. 1–14, 25 out. 2021.

HAMMADI, N. I. et al. Evaluation of in vitro efficacy of docetaxel-loaded calcium carbonate aragonite nanoparticles (DTX-CaCO₃NP) on 4T1 mouse breast cancer cell line. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal**, v. 53, n. 10, p. 896–907, 1 dez. 2017.

HAO, M. et al. Autophagy Blockade Limits HER2+ Breast Cancer Tumorigenesis by Perturbing HER2 Trafficking and Promoting Release Via Small Extracellular Vesicles. **Developmental Cell**, v. 56, n. 3, p. 341- 355.e5, 8 fev. 2021.

HARBECK, N.; GNANT, M. Breast cancer. **The Lancet**, v. 389, n. 10074, p. 1134–1150, 18 mar. 2017.

HUANG, M. T. et al. Effect of dietary curcumin and dibenzoylmethane on formation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumors and lymphomas/leukemias in Sencar mice. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 9, p. 1697–1700, 1998.

INCA. **Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil**. [s.l: s.n.].

IŞERI, Ö. D. et al. Drug resistant MCF-7 cells exhibit epithelial-mesenchymal transition gene expression pattern. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 1, p. 40–45, 1 fev. 2011.

JACKSON, K. M. et al. Dibenzoylmethane induces cell cycle deregulation in human prostate cancer cells. **Cancer Letters**, v. 178, n. 2, p. 161–165, 2002.

JOBIM, F. C. et al. Expressão da MMP-9 e do VEGF no câncer de mama: Correlação com outros indicadores de prognóstico. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v. 30, n. 6, p. 287–293, 2008.

LASHBROOK, M. P. et al. Coping Strategies Used by Breast, Prostate, and Colorectal Cancer Survivors: A Literature Review. **Cancer Nursing**, v. 41, n. 5, p. E23–E39, 1 set. 2018.

LEE, J.-H. et al. Different prognostic impact of glucose uptake in visceral adipose tissue according to sex in patients with colorectal cancer. **Scientific Reports 2021 11:1**, v.

11, n. 1, p. 1–11, 3 nov. 2021.

LEITAO, R. C. F. et al. Gallium and indium complexes with isoniazid-derived ligands: Interaction with biomolecules and biological activity against cancer cells and Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 240, p. 112091, mar. 2023.

LEU, T.-H.; MAA, M.-C. The molecular mechanisms for the antitumorigenic effect of curcumin. **Current medicinal chemistry. Anti-cancer agents**, v. 2, n. 3, p. 357–370, maio 2002.

LIAO, Y. F. et al. Dibenzoylmethane, hydroxydibenzoylmethane and hydroxymethyldibenzoylmethane inhibit phorbol-12-myristate 13-acetate-induced breast carcinoma cell invasion. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 6, p. 4597–4604, 2015a.

LIAO, Y. F. et al. Dibenzoylmethane, hydroxydibenzoylmethane and hydroxymethyldibenzoylmethane inhibit phorbol-12-myristate 13-acetate-induced breast carcinoma cell invasion. **Molecular medicine reports**, v. 11, n. 6, p. 4597–4604, 1 jun. 2015b.

LIN, C.-C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 131–136, 2006a.

LIN, C. C. et al. Inhibition by dietary dibenzoylmethane of mammary gland proliferation, formation of DMBA-DNA adducts in mammary glands, and mammary tumorigenesis in Sencar mice. **Cancer Lett**, v. 168, n. 2, p. 125–132, 2001.

LIN, C. C. et al. Inhibition of estradiol-induced mammary proliferation by dibenzoylmethane through the E2-ER-ERE-dependent pathway. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 1, p. 131–136, jan. 2006b.

LIN, C. C.; HO, C. T.; HUANG, M. T. Mechanistic studies on the inhibitory action of dietary dibenzoylmethane, a beta-diketone analogue of curcumin, on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumorigenesis. **Proc Natl Sci Counc Repub China B**, v. 25, n. 3, p. 158–165, 2001.

LIN, C. W. et al. Quercetin inhibition of tumor invasion via suppressing PKC δ /ERK/ AP-

1-dependent matrix metalloproteinase-9 activation in breast carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 9, p. 1807–1815, 2008.

LISCOVITCH, M.; RAVID, D. A case study in misidentification of cancer cell lines: MCF-7/AdrR cells (re-designated NCI/ADR-RES) are derived from OVCAR-8 human ovarian carcinoma cells. **Cancer Letters**, v. 245, n. 1–2, p. 350–352, 8 jan. 2007.

LIU, R. et al. The role of extracellular matrix on unfavorable maternal–fetal interface: focusing on the function of collagen in human fertility. **Journal of Leather Science and Engineering**, v. 4, n. 1, 1 dez. 2022.

LIU, Y. et al. The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: Results from the Nurses' Health Study. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 129, n. 1, p. 175–184, ago. 2011.

LONG, M. et al. Nuclear Factor- κ B Modulates Regulatory T Cell Development by Directly Regulating Expression of Foxp3 Transcription Factor. **Immunity**, v. 31, n. 6, p. 921–931, 18 dez. 2009.

LOPES, N. et al. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil General features and epidemiology of emerging arboviruses in Brazil Características generales y epidemiología de los arbovirus emergentes en Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 5, n. 3, p. 55–64, 2014.

MAGALHÃES, A. F. et al. Three dibenzoylmethane derivatives from Lonchocarpus species. **Phytochemistry**, v. 46, n. 6, p. 1029–1033, 1997.

MÁRMOL, I. et al. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. **International Journal of Molecular Sciences 2017, Vol. 18, Page 197**, v. 18, n. 1, p. 197, 19 jan. 2017.

MEURER, S. K. et al. Differential regulation of Lipocalin 2 (LCN2) in doxorubicin-resistant 4T1 triple negative breast cancer cells. **Cellular Signalling**, v. 74, p. 109731, 1 out. 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MOUSAZADEH, R. et al. Anticancer tendency of aflatoxin B1 in 4T1 breast cancer cell line. **Gene Reports**, v. 16, p. 100442, 1 set. 2019.

MUNIR, H. et al. Stromal-driven and Amyloid β -dependent induction of neutrophil extracellular traps modulates tumor growth. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 683, 29 dez. 2021.

NASCIMENTO, F. R. et al. New antineoplastic agent based on a dibenzoylmethane derivative: Cytotoxic effect and direct interaction with DNA. **Biophysical Chemistry**, v. 239, p. 1–6, 2018.

NASCIMENTO, F. R. et al. Dibenzoylmethane derivative inhibits melanoma cancer in vitro and in vivo through induction of intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109734, 5 jan. 2022.

NETO, Q. A. DA L. et al. Estudo da relação estrutura-atividade quantitativa de dibenzoilmetanos α -substituídos quanto à atividade anticâncer da mama (linhagem celular MCF7). **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 4, n. 54, p. 345–357, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010** *Journal of Natural Products* American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, , 23 mar. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np200906s>>. Acesso em: 31 jan. 2021

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003a.

NOGUEIRA, M. A. et al. A novel sunscreen agent having antimelanoma activity. **Farmaco (Societa chimica italiana : 1989)**, v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003b.

O que é câncer? | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 28 jan. 2021.

OLIVEIRA, M. R. DE. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMELANOMA DE FORMULAÇÃO TRANSDÉRMICA DE UM DERIVADO SINTÉTICO DE DIBENZOILMETANO.** [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2017.

OLIVEIRA, M. A. B. R. E. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL IN VITRO DO DERIVADO DE DIBENZOILMETANO, 1-[(4'-ISO-PROPILO)FENIL]-2-PROPANO-**

3-FENIL-1,3-PROPANODIONA (IP 2-DBM), EM LINHAGENS DE MELANOMA, GLIOMA E ADENOCARCINOMA DO COLORRETAL. [s.l: s.n.].

PARK, S. K. et al. Kalopanaxsaponin A inhibits PMA-induced invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 via PI3K/Akt- and PKC δ -mediated signaling in MCF-7 human breast cancer cells. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 7, p. 1225–1233, 2009.

PASQUALI, S. et al. **Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma** *Cochrane Database of Systematic Reviews* John Wiley and Sons Ltd, , 6 fev. 2018. Disponível em: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36491081/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36491081/). Acesso em: 2 fev. 2021

PIRES, B. R. B. **O PAPEL REGULATÓRIO DE NF- κ B E TWIST1 NO CÂNCER DE MAMA.** [s.l: s.n.].

POIZEAU, F. et al. Patients with metastatic melanoma receiving anticancer drugs: changes in overall survival, 2010-2017. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 0, n. 0, out. 2020.

POPOLIM, C. P. **Efeitos antitumorais e antimetastáticos de novos complexos de rutênio em células de câncer de mama.** [s.l: s.n.].

Psychological and psychosocial aspects of breast cancer and...: Cancer Nursing. Disponível em: https://journals.lww.com/cancernursingonline/abstract/1994/10000/psychological_and_psychosocial_aspects_of_breast.7.aspx. Acesso em: 2 mar. 2024.

QUASSINTI, L. et al. Exploring new applications of tulip tree (*Liriodendron tulipifera* L.): leaf essential oil as apoptotic agent for human glioblastoma. **Environmental Science and Pollution Research**, n. Keeler 1902, 2019.

RAJALAKSHMI, T. R. et al. DNA adducts-chemical addons. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 7, n. Suppl 1, p. S197, 1 abr. 2015.

RECEVEUR, M. C. et al. Infection with Mayaro virus in a French traveller returning from the Amazon region, Brazil, January, 2010. **Eurosurveillance**, v. 15, n. 18, p. 1–3, 6 maio 2010.

REDMER, T. Deciphering mechanisms of brain metastasis in melanoma - the gist of

the matter. **Molecular Cancer**, v. 17, n. 1, p. 1–17, 2018.

REZENDE, H. D. et al. Study of skin neoplasms in a university hospital: Integration of anatomopathological records and its interface with the literature. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 94, n. 1, p. 42–46, 1 jan. 2019.

RIBEIRO-FILHO, H. V. et al. Cryo-EM structure of the mature and infective Mayaro virus at 4.4 Å resolution reveals features of arthritogenic alphaviruses. **Nature Communications 2021 12:1**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 24 maio 2021.

SÁNCHEZ, I. et al. Antiviral Effect of Flavonoids on the Dengue Virus. 2000.

SCHADENDORF, D.; HAUSCHILD, A. Melanoma—the run of success continues. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 11, n. 2, p. 75–76, fev. 2014.

SHAIN, A. H.; BASTIAN, B. C. From melanocytes to melanomas. **Nature Publishing Group**, v. 16, p. 345–358, 2016.

SILVA, V. L. et al. Selection of Novel Peptides Homing the 4T1 CELL Line: Exploring Alternative Targets for Triple Negative Breast Cancer. **PLOS ONE**, v. 11, n. 8, p. e0161290, 1 ago. 2016.

SISTEMA, S.; SAÚDE, Ú. DE. SUS-ONCO. p. 22–23, 2019.

SUKUMARI-RAMESH, S. et al. Dietary phytochemicals induce p53- and caspase-independent cell death in human neuroblastoma cells. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 7, p. 701–710, 1 nov. 2011.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

TAFURI, N. F. **Atividade antiviral de extratos vegetais e flavonoides contra o Bovine herpesvirus 1 (BOHV1)**. [s.l: s.n.].

Taxa de incidência de diabetes cresceu 61,8% nos últimos 10 anos. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/taxa-de-incidencia-de-diabetes-cresceu-618-nos-ultimos-10-anos>>. Acesso em: 8 nov. 2021.

THIMMULAPPA, R. K. et al. Antiviral and immunomodulatory activity of curcumin: A case for prophylactic therapy for COVID-19. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06350, 1 fev. 2021.

TIAN, J. M. et al. Estrogen and progesterone promote breast cancer cell proliferation by inducing cyclin G1 expression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 3, p. 1–7, 2018.

Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>>. Acesso em: 8 nov. 2021a.

Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-intestino/profissional-de-saude>>. Acesso em: 8 nov. 2021b.

TURLEY, S. J.; CREMASCO, V.; ASTARITA, J. L. Immunological hallmarks of stromal cells in the tumour microenvironment. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 11, p. 669–682, 1 nov. 2015.

UHR, J. G. Z.; SCHMECHEL, M.; UHR, D. DE A. P. Relação entre saneamento básico no Brasil e saúde da população sob a ótica das internações hospitalares por doenças de veiculação hídrica. **Revista de Administração, Contabilidade e Economia da Fundace**, v. 7, n. 2, 18 mar. 2016.

VIKTOR PAULA BARROS BAETA, J. DE. **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMELANOMA IN VITRO, IN SILICO E IN VIVO DO 2-ALIL-1,3-DIFENIL-1,3-PROPANODIONA**. [s.l.: s.n.].

WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA**, v. 321, n. 3, p. 288–300, 22 jan. 2019.

WHO. **Cancer**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 29 jan. 2021.

WILSON, M. A.; SCHUCHTER, L. M. Chemotherapy for melanoma. **Cancer Treatment and Research**, v. 167, p. 209–229, 2016.

YIU, A. et al. Circulating uric acid levels and subsequent development of cancer in 493,281 individuals: Findings from the AMORIS Study. **Oncotarget**, v. 8, n. 26, p. 42332–42342, 2017.

ZBYTEK, B. et al. Current concepts of metastasis in melanoma. **Expert Review of**

Dermatology, v. 3, n. 5, p. 569–585, 2008.

ZHENG, L. et al. Lessons learned from BRCA1 and BRCA2. **Oncogene** 2000 **19:53**, v. 19, n. 53, p. 6159–6175, 11 dez. 2000.

ZHU, Y. Y.; HUANG, H. Y.; WU, Y. L. Anticancer and apoptotic activities of oleanolic acid are mediated through cell cycle arrest and disruption of mitochondrial membrane potential in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. **Molecular Medicine Reports**, v. 12, n. 4, p. 5012–5018, 2015.

ZUCHI, N. et al. Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 6, p. 820–823, 19 ago. 2014.

Atividade antiviral do dibenzoilmetano 1-[(4-iso-propil)fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3-propanodiona em MAYARO VIRUS

CAPÍTULO 3**1. Introdução**

Os vírus, parasitas intracelulares obrigatórios, necessitam infectar células vivas para que ocorra sua multiplicação, havendo total dependência dos processos metabólicos celulares para sua multiplicação e sobrevivência. Tal dependência ocorre devido à sua estrutura simples e sistema enzimático muito restrito. Devido a tais fatos, o desenvolvimento de compostos antivirais torna-se difícil, pois na maioria das vezes, os agentes antivirais que inibem ou cessam a multiplicação viral provavelmente são tóxicos às células hospedeiras, o que implica em um número limitado de fármacos antivirais. O avanço na virologia, desencadeado pelas descobertas de vacinas, até o momento não propiciou a descoberta de fármacos ou vacinas para a febre Mayaro, e o tratamento é feito de forma sintomática, empregando-se analgésicos e/ou anti-inflamatórios não esteroides a fim de proporcionar aos pacientes o alívio dos sintomas. Contudo, a busca por produtos naturais como novas fontes de substâncias antivirais de baixa toxicidade e alta seletividade têm obtido espaço no meio científico (BETTEGA, 2000; NEWMAN; CRAGG, 2012).

O vírus Mayaro (MAYV), típico de áreas ribeirinhas e rurais, possui como um dos principais os mosquitos do gênero *Haemagogus* e os vertebrados (principalmente mamíferos), entre eles o homem. Apesar do vírus ser transmitido por mosquitos típicos de regiões rurais, ele também pode ser disseminado para os centros urbanos pelos mosquitos infectados ou humanos. Os arbovírus recebem esse nome devido ao fato de parte de seu ciclo de multiplicação ocorrer nos insetos e serem transmitidos por meio da picada de artrópodes hematófagos. Esses vírus podem ser transmitidos aos seres humanos e outros animais, ou seja, o ciclo de transmissão é mantido entre os artrópodes (vetores) e reservatórios vertebrados como principais hospedeiros amplificadores. A febre Mayaro não é letal, porém caracteriza-se por dores de cabeça frontais, dor epigástrica, mialgias, artralguas incapacitantes, levando a dores nas articulações, erupção cutânea maculopapular, calafrios, náuseas, fotofobia e vertigem (CAMINI et al., 2017; COIMBRA et al., 2007b; LOPES et al., 2014).

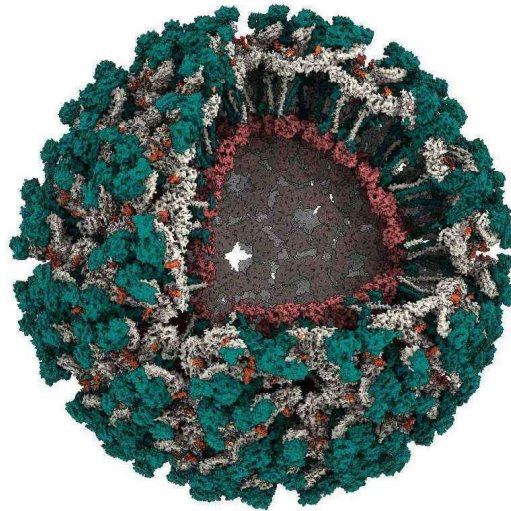


Figura 1. Mayaro vírus parte aberta para possibilitar a visualização das proteínas. (RIBEIRO-FILHO et al., 2021)

Até o presente não há um tratamento efetivo ou vacinas contra o MAYV, fazendo-se necessária a descoberta de compostos antivirais altamente seletivos contra o vírus, e não tóxico para a célula, ou seja, o composto deve interferir diretamente no ciclo de multiplicação do vírus, e não na célula hospedeira. A maioria das drogas disponíveis no mercado ainda é direcionada apenas a alguns vírus como acontece com HIV e Herpes, algo que não acontece para o Mayaro virus (MAYV) e o Chikungunya virus (CHIKV). Para esses, estão disponíveis apenas tratamentos sintomáticos, sendo empregado apenas analgésicos e anti-inflamatórios para amenizar os sintomas dos pacientes (DE FIGUEIREDO; FIGUEIREDO, 2014; FIGUEIREDO, 2007; SÁNCHEZ et al., 2000).

Os dibenzoilmetanos (DBM) (figura 2), pertencentes ao grupo de β -dicetonas, são compostos naturais pertencentes principalmente à família das *Annoceas*, *Astraceas*, *Menispermaceae*, *Rosaceae*, *Salicaceae* e principalmente da *Leguminaceae*.

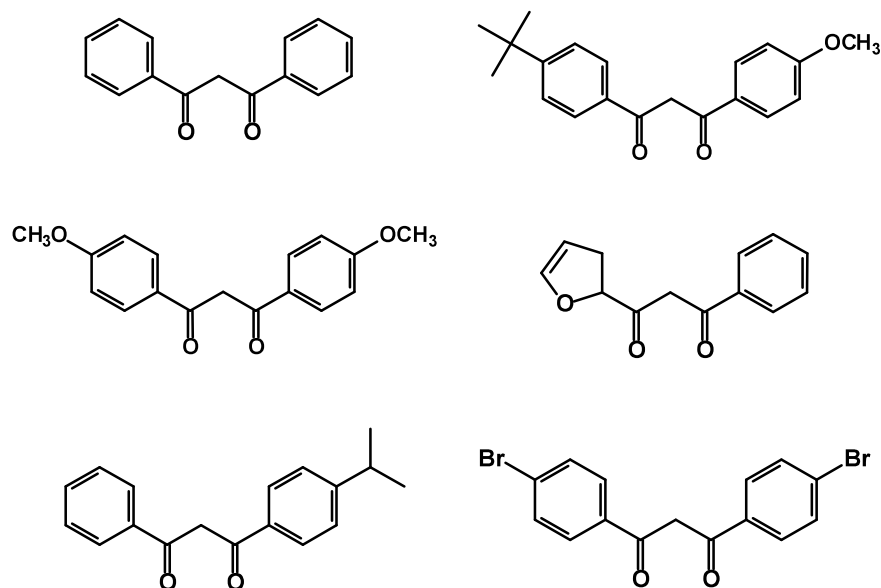


Figura 2. Estrutura dos dibenzoilmetanos. Adaptado de Nogueira et al. (2003b)

As atividades biológicas de alguns derivados de DBM já foram descritas na literatura como atividade antitumoral, antifúngica e antiviral. Como antiviral, o DBM já foi descrito com atividade contra o herpes vírus bovino, atuando como um excelente composto. Outra atividade antiviral descrita foi o ensaio *in silico* do DBM contra o Sars-Cov2, tendo resultados satisfatórios contra tal vírus (BALAKRISHNAN; LAI, 2021; JACKSON et al., 2002; NETO et al., 2006; TAFURI, 2011). Diante disso, o presente trabalho visa buscar e avaliar a atividade antiviral contra o arbovírus Mayaro (MAYV) do derivado de dibenzoilmetanos EBB (1-[(4-iso-propil) fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3-propanodiona) figura 3.

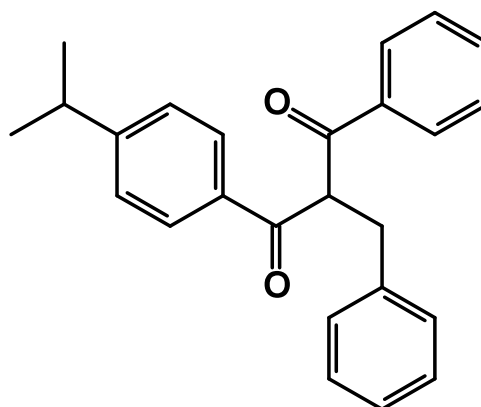


Figura 3. EBB (1-[(4-iso-propil) fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3-propanodiona)

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

Analisar, *in vitro*, utilizando cultura de células, a atividade antiviral do derivado de dibenzoilmetano 1-[(4-iso-propil) fenil]-2-benzil-3-fenil-1,3-propanodiona (EBB) contra o Mayaro virus (MAYV).

2.2. Objetivos específicos

Determinar a concentração citotóxica para 50% das células;

Avaliar a presença de efeito virucida dos compostos e

Determinar a concentração protetora.

3. Material e métodos

3.1. Síntese do derivado EBB

O composto EBB, derivado de dibenzoilmetano, foi sintetizado por reação de alquilação do propildibenzoilmetano com brometo de benzila, purificado em cromatografia em camada preparativa de sílica no Laboratório de Química e Bioquímica de Produtos Naturais (BIONAT) da Universidade Federal de Viçosa, e segundo a patente PI0006583-8 e caracterizado por ressonância magnética e nuclear. Quantidade suficiente encontra-se disponível no laboratório para realização dos testes.

3.2. Cultivo celular

A linhagem VERO (epitélio de rim de macaco) foi cultivada no Laboratório de Imunovirologia Molecular (LIVM), na Universidade Federal de Viçosa. As células foram mantidas em meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) (Sigma-Aldrich) com um coquetel de antibióticos e antifúngico contendo penicilina 100 U/mL, estreptomicina 0,1 mg/mL e suplementados com 10 % de soro fetal bovino (todos Sigma-Aldrich). As garrafas de cultivo celular foram mantidas em incubadora (MCO-18AC Panasonic, U.S. Canada) a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade relativa.

3.3. Mayaro virus

Uma amostra do Mayaro virus (MAUV - ATCC VR 66, linhagem TR 4675) foi multiplicado utilizando-se culturas de células de mosquito *Aedes albopictus*, C6/36. Culturas semiconfluentes dessas células foram inoculadas com uma alíquota viral em garrafas de 50 cm² as quais foram monitoradas quanto ao aparecimento de efeito citopático (ECP) desencadeado pelo vírus, comparando-se com uma garrafa controle (não infectada). Por se tratar de um vírus que ocasiona lise celular e é liberado no sobrenadante das culturas, o meio foi coletado e centrifugado a 10.000 rpm por 20 minutos a 4°C na centrífuga Hettich, com o rotor 320R. O sobrenadante foi recolhido, aliquotado e armazenado em freezer -80°C, conforme metodologia descrita em Fernandes e colaboradores (2021) até o momento dos ensaios.

3.4. Ensaio de atividade virucida

Para a avaliação da capacidade virucida de um composto é feita através do contato primário do vírus com a molécula virucida de interesse, observando se ela seria capaz de interagir com a partícula viral e impedi-lo de infectar as células. Para o ensaio virucida, células Vero foram distribuídas em placas de 24 poços e incubadas por 24 horas. Brevemente, uma suspensão contendo 6×10^5 UFP/mL de MAYV foi incubada com igual volume de meio mínimo, contendo diferentes concentrações dos compostos. Em paralelo, a mesma quantidade de vírus, adicionada de meio sem soro, sem adição do composto, foi mantida como controle. Após 1 hora de incubação a 37°C, as amostras foram transferidas para a placa com células e a infectividade viral remanescente analisada por meio de ensaio de redução do nº de placas de lise em células VERO, sendo a revelação feita 48 horas após a infecção (hpi). Para a revelação, descartou-se o meio e adicionou-se tampão fosfato (PBS) 10% formaldeído e aguardou-se 60 minutos. Em seguida, descartou-se o PBS 10% formaldeído e corou-se com cristal violeta durante 30 minutos. A concentração virucida para 50% (VC50) foi definida como aquela necessária para inibir 50% dos vírus maduros ou placas de lise.

4. Resultados e discussão

Nesta abordagem, foi avaliada a capacidade do composto EBB inibir o ciclo de multiplicação viral previamente à infecção. Dessa forma, antes de infectar as células,

a suspensão viral preparada foi pré-tratada com o composto EBB em faixas de concentração variando de 100 a 3,15 µg/mL.

Conforme observa-se na figura 4, nas maiores concentrações testadas o composto EBB inibiu quase 100% das células da infecção viral, e nas concentrações inferiores seguintes protegeu parcialmente. Na menor concentração testada (3,15 µg/mL) ele não foi capaz de proteger a infecção.

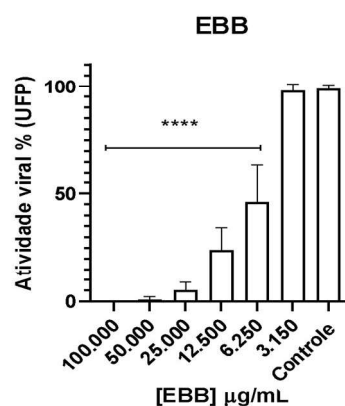


Figura 4. Efeito do composto EBB na redução da atividade do MAYV realizando o ensaio virucida. **** P <0,01

Dessa forma, pode-se encontrar a concentração efetiva/protetora para 50% da infecção (EC₅₀), sendo ela 6,755 µg/mL. Diante disso, pode-se inferir que o composto EBB atua principalmente sobre a partícula viral. A concentração citotóxica para 50% das células da linhagem VERO foi obtida permitindo o cálculo do Índice de Seletividade (IS) disposto na tabela 1.

Tabela 1. Concentrações citotóxica e efetiva para a partícula viral do composto EBB. Por meio da razão entre as concentrações citotóxicas e efetiva obteve-se o Índice de Seletividade.

Concentração Citotóxica (IC₅₀ µg/mL)	1670
Concentração efetiva (EC₅₀ µg/mL)	6,755
Índice de Seletividade (IS)	247,22

Segundo Barrows e colaboradores (2016), índices de seletividade maiores que 4 implicam que a ação inibitória do vírus acontece de forma pelo menos duas vezes mais baixa que a ação citotóxica, o que indica que o extrato age de maneira eficaz sem a geração de resultados falso-positivos. O composto EBB apresentou um

excelente índice de seletividade (IS), mostrando que, possivelmente, seu mecanismo de ação sobre o vírus não causará danos às células.

De maneira semelhante, Ferreira e colaboradores (2019) encontraram atividade antiviral e virucida em extratos de *Tontelea Micrantha* contra o arbovírus Zika. Obtendo índices variando entre 2 e 9, os extratos mostraram potencial antiviral além disso, tais extratos protegeram 100% da infecção viral até na menor concentração avaliada, de 15,6 µg/mL. Fernandes e colaboradores (2021) testaram um grupo de cetonas cíclicas contra o MAYV, encontrando índice de seletividade de 15,8.

A maior parte de fármacos empregados para tratamentos antivirais possuem a especificidade em atuar nas enzimas de replicação do DNA. A exemplo tem-se o aciclovir, composto utilizado contra o herpes-vírus e que tem como característica se tornar um análogo de nucleotídeo que é inserido durante a replicação viral. Tal inserção impede que a DNA polimerase continue polimerizando o DNA viral, e assim cessando o processo de replicação (BALFOUR, 1999; DE CLERCQ, 2002).

5. Perspectivas futuras

O emprego de fármacos que visam a parada do ciclo multiplicativo de vírus sem que haja danos para a célula é de suma importância, uma vez que indivíduos infectados tendem a ter suas células danificadas pela infecção. Uma série de fármacos antivirais hoje já são empregados, sendo eles atuantes em específico em alguma etapa do ciclo viral multiplicativo. Dessa forma, torna-se necessário o estudo futuro de caracterização do mecanismo de ação do composto EBB com o MAYV, visando compreender as vias de atuação no ciclo de infecção.

6. Conclusão

O potencial antiviral de dibenzoilmetanos é relatado na literatura e a falta de compostos antivirais específicos visaram o composto EBB como um candidato fármaco promissor. O resultado indica um excelente potencial farmacológico do composto contra o arbovírus Mayaro, uma vez que apresentou seletividade superior a 200. Para melhor compreensão do seu potencial, deve-se realizar ainda a caracterização do mecanismo de ação entre a partícula viral e o composto.

7. Referências

- BALAKRISHNAN, B.; LAI, K. **Modulation of SARS-CoV-2 Spike-induced Unfolded Protein Response (UPR) in HEK293T cells by selected small chemical molecules.** bioRxiv, p. 2021.02.04.429769, 4 fev. 2021.
- BALFOUR, H. H. J. **Antiviral Drugs.** New England Journal of Medicine, v. 340, n. 16, p. 1255–1268, 22 abr. 1999.
- BARROWS, N. J. et al. **A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection.** Cell host & microbe, v. 20, n. 2, p. 259–270, 10 ago. 2016.
- BETTEGA, J. M. P. R. **Avaliação da atividade antiviral de extratos nebulizados de Achyrocline satureioides(LAM.) DC., Asteraceae - marcela.** 2000.
- CAMINI, F. C. et al. **Oxidative stress in Mayaro virus infection.** Virus Research, v. 236, p. 1–8, 15 maio 2017.
- COIMBRA, T. L. M. et al. **Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007.
- DE CLERCQ, E. **Strategies in the design of antiviral drugs.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 1, n. 1, p. 13–25, 2002.
- DE FIGUEIREDO, M. L. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. **Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 47, n. 6, p. 677–683, 2014.
- FERNANDES, L. S. et al. **Evaluation of Antiviral Activity of Cyclic Ketones against Mayaro Virus.** Viruses, v. 13, n. 11, p. 2123, 2021.
- FERREIRA, F. L. et al. **Zika Virus Activity of the Leaf and Branch Extracts of Tontelea micrantha and Its Hexane Extracts Phytochemical Study.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 30, n. 4, 2019.
- FIGUEIREDO, L. T. M. **Emergent arboviruses in Brazil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 40, n. 2, p. 224–229, 2007.
- JACKSON, K. M. et al. **Dibenzoylmethane induces cell cycle deregulation in human prostate cancer cells.** Cancer Letters, v. 178, n. 2, p. 161–165, 2002.

LOPES, N. et al. **General features and epidemiology of emerging arboviruses in Brazil** Rev Pan-Amaz Saude, v. 5, n. 3, p. 55–64, 2014.

NETO, Q. A. DA L. et al. **Estudo da relação estrutura-atividade quantitativa de dibenzoilmetanos α -substituídos quanto à atividade anticâncer da mama (linhagem celular MCF7).** Revista Brasileira de Cancerologia, v. 4, n. 54, p. 345–357, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010.** Journal of Natural Products American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy, , 23 mar. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np200906s>>. Acesso em: 31 jan. 2021

NOGUEIRA, M. A. et al. **A novel sunscreen agent having antimelanoma activity.** Farmaco (Societa chimica italiana : 1989), v. 58, n. 11, p. 1163–1169, 2003.

RIBEIRO-FILHO, H. V. et al. **Cryo-EM structure of the mature and infective Mayaro virus at 4.4 Å resolution reveals features of arthritogenic alphaviruses.** Nature Communications 2021 12:1, v. 12, n. 1, p. 1–13, 24 maio 2021.

SÁNCHEZ, I. et al. **Antiviral Effect of Flavonoids on the Dengue Virus.** 2000.

TAFURI, N. F. **Atividade antiviral de extratos vegetais e flavonoides contra o Bovine herpesvirus 1 (BOHV1).** [s.l: s.n.].

Anexo



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA



Campus/UFV – Viçosa/MG – CEP: 36570-900 - Tel.: (31) 3612-2396 - E-mail: nit.coordena@ufv.br/nit.patente@ufv.br

Declaração

A Comissão Permanente de Propriedade Intelectual (CPPI), Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), instituída pela Portaria nº 0769/99, Ato nº 00021/2019/PPG, por meio da sua Presidente Professora Andréa de Oliveira Barros Ribon, declara, para os devidos fins, que a Professora Marisa Alves Nogueira Diaz, vinculada ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, solicitou o auxílio do NIT no processo de depósito de pedido de patente inicialmente intitulado “**Composto para tratamento dos cânceres tipo mama composições e usos**” junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI).


O comunicado de invenção veio acompanhado dos seguintes documentos:

- 1) Relatório descritivo com a busca de anterioridades;
- 2) Figuras;
- 3) Reivindicações.

Constam com inventores do pedido os seguintes pesquisadores: Anésia Aparecida dos Santos, Gaspar Diaz Muñoz, Marcela de Sá Hauck, Marisa Alves Nogueira Diaz, Mariá Aparecida Braga Rocha e Oliveira, Márcio Santos Rocha e Rayane Maria de Oliveira.

No momento o processo irá passar pelo crivo dos analistas do NIT para eventuais correções e assim, dar início ao depósito junto ao INPI.

Viçosa 19 de março de 2024.

 Documento assinado digitalmente
ANDREA DE OLIVEIRA BARROS RIBON
Data: 2024.03.19 10:12:59 -0200
Verifique em <https://validar.ti.gov.br>

ANDREA DE OLIVEIRA BARROS RIBON
PRESIDENTE NIT/CPPI -UFV