



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

ARIELY JUVINO TOMAZ DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, GENOTOXICIDADE E
MUTAGENICIDADE DE NOVOS HÍBRIDOS DE 1,2,3-
TRIAZOL E FTALIMIDA**

Recife
2025

ARIELY JUVINO TOMAZ DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, GENOTOXICIDADE E
MUTAGENICIDADE DE NOVOS HÍBRIDOS DE 1,2,3-
TRIAZOL E FTALIMIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Profa. Dra. Teresinha
Gonçalves da Silva

Coorientador: Me. Jose Rivaldo de Lima

Recife
2025

ARIELY JUVINO TOMAZ DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, GENOTOXICIDADE E
MUTAGENICIDADE DE NOVOS HÍBRIDOS DE 1,2,3-TRIAZOL E
FTALIMIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como pré-
requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^ª. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva
UFPE/ Departamento de Antibióticos

Prof. Me. Rodrigo Ribeiro Alves Caiana
UFPE/ Departamento de Antibióticos

Me. George Torres de Lima
UFPE/ Departamento de Antibióticos

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

Silva, Ariely Juvino Tomaz da .

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, GENOTOXICIDADE E
MUTAGENICIDADE DE NOVOS HÍBRIDOS DE 1,2,3- TRIAZOL E
FTALIMIDA / Ariely Juvino Tomaz da Silva. - Recife, 2025.

45p : il., tab.

Orientador(a): Teresinha Gonçalves da Silva

Cooorientador(a): José Rivaldo de Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, apêndices.

1. Câncer. 2. Antineoplásicos. 3. Anticâncer. 4. Genotóxico. 5. Terapia. I.
Silva, Teresinha Gonçalves da. (Orientação). II. Lima, José Rivaldo de .
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

Dedico este trabalho a minha mãe e a todos aqueles que acreditaram em mim. Obrigada pelo amor, apoio e felicitações sempre.

AGRADECIMENTOS

Quero começar esse momento de agradecimento cheia de gratidão a Deus, que me proporcionou forças, sabedoria e paciência ao longo dessa jornada. Sem as mãos d'Ele sobre a minha vida, nada seria possível.

Agradeço à minha orientadora, a Pr^a. Dr^a Teresinha Gonçalves, por toda a orientação, paciência e conhecimento proporcionado. Sua experiência e apoio foram essenciais para que eu pudesse alcançar esse objetivo. Ao meu coorientador, o Me. José Rivaldo, minha gratidão pela colaboração, pelas ideias assertivas, pelo incentivo e conversas inspiradoras. Agradeço aos meus colegas e amigos do laboratório Biofarmatoxic, que tornaram o ambiente de trabalho mais leve e prazeroso. Cada um de vocês fez essa experiência mais especial. Agradeço também ao Departamento de Antibióticos, por todo o suporte técnico e científico durante minha trajetória acadêmica.

Sou grata aos amigos incríveis que conheci ao longo da faculdade, que se tornaram parte da minha vida, e aos que já estavam nela antes, me oferecendo sempre o apoio, o carinho e a amizade verdadeira. A presença de vocês foi um grande presente na minha vida.

Agradeço ao meu namorado, Givanilson Paz, que me apoiou, me ouviu me deu força nos momentos difíceis e celebrou comigo as minhas conquistas. Seu amor, compreensão e presença me fizeram acreditar ainda mais em mim, obrigada. Amo sua vida.

Quero lembrar com carinho de Bobby (in memoriam), que se foi, mas deixou um amor eterno em meu coração. E também ao meu querido Toby, que chegou trazendo amor e conforto para minha vida.

Por fim, sou grata à minha família, meu alicerce e minha maior inspiração. Em especial, a minha mãe, que sempre foi a base de tudo, a mulher forte que me ensinou a lutar, a acreditar em meus sonhos e a nunca desistir. Mãe, você é minha maior referência, e tudo que sou devo a você.

Agradeço a todos que fizeram parte dessa caminhada. Que cada um de vocês saibam que, de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui.

“Coisas extraordinárias só acontecem a pessoas extraordinárias, vai ver é um sinal que você tem um destino extraordinário, algum destino maior do que você pode ter imaginado.”

- **As Crônicas de Nárnia**

SILVA, Ariely Juvino Tomaz da. **Avaliação da Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade de novos híbridos de 1,2,3-Triazol e Ftalimida**. 2025, Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

O câncer é um dos maiores desafios globais de saúde, e segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), haverá 19,3 milhões de novos casos e 10 milhões de mortes nos próximos anos. Diante desse cenário, existe a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de novas terapias antineoplásicas mais eficazes e seguras, além de serem capazes de reduzir à resistência das células cancerígenas aos tratamentos atuais. Dessa forma, o objetivo deste projeto foi investigar a citotoxicidade e genotoxicidade de compostos híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida. Inicialmente, a citotoxicidade dos compostos **061** 4-fenil-1-[4-(ftalimido-4-il)butil]-1H-1,2,3-triazol e **069** 4-(3-aminofenil)-1-[4-(ftalimido-4-il)butil]-1H-1,2,3-triazol foram avaliadas nas linhagens L929 (fibroblasto murino) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda humana) usando o método do brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). Posteriormente, a genotoxicidade dos compostos foi investigada pelo ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese em três concentrações citotóxicas (IC_{50} , $\frac{1}{2} IC_{50}$ e $\frac{1}{4} IC_{50}$). Os resultados demonstraram que o composto **061** apresentou IC_{50} de $>25 \mu\text{g/mL}$ para L929 e $1,91 \mu\text{g/mL}$ para HL-60, com $IS >6,85$, indicando alta seletividade para células cancerígenas. Por outro lado, o composto **069** apresentou IC_{50} de $17,03 \mu\text{g/mL}$ para HL-60 e $>25 \mu\text{g/mL}$ para L929, com $IS >1,46$. Em relação à genotoxicidade, o composto **061** foi genotóxico para a linhagem L929, contudo não foi genotóxico na IC_{50} em HL-60, mas induziu micronúcleos nas concentrações $\frac{1}{2} IC_{50}$ e $\frac{1}{4} IC_{50}$. O composto **069** não foi genotóxico para L929, mas causou danos genotóxicos em HL-60 em todas as concentrações, mostrando genotoxicidade diferencial. Os compostos híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida apresentaram potencial anticâncer *in vitro*, com alta seletividade para células cancerígenas. Em relação à genotoxicidade diferencial, o composto **069** se mostrou mais seletivo e causando mais danos genotóxicos às células de leucemia. Dessa forma, a genotoxicidade diferencial observada sugere a necessidade de mais estudos para avaliar o mecanismo de ação desses híbridos, como agentes intercalantes ao DNA ou enzimas que estão envolvidas na duplicação do material genético durante a mitose.

Palavras-chave: Câncer. Antineoplásicos. Anticâncer. Genotóxico. Terapia

SILVA, Ariely Juvino Tomaz da. **Avaliação da Citotoxicidade, Genotoxicidade e Mutagenicidade de novos híbridos de 1,2,3-Triazol e Ftalimida**. 2025 Número total de folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Cancer is one of the greatest global health challenges, and according to the World Health Organization (WHO), there will be 19.3 million new cases and 10 million deaths in the coming years. Given this scenario, there is a need for research and development of new, more effective and safe antineoplastic therapies, in addition to being able to reduce the resistance of cancer cells to current treatments. Thus, the objective of this project was to investigate the cytotoxicity and genotoxicity of hybrid compounds of 1,2,3-triazole and phthalimide. Initially, the cytotoxicity of compounds **061** 4-phenyl-1-[4-(phthalimido-4-yl)butyl]-1H-1,2,3-triazole and **069** 4-(3-aminophenyl)-1-[4-(phthalimido-4-yl)butyl]-1H-1,2,3-triazole were evaluated in L929 (murine fibroblast) and HL-60 (human acute promyelocytic leukemia) cell lines using the 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) method. Subsequently, the genotoxicity of the compounds was investigated by cytokinesis-blocking micronucleus assay at three cytotoxic concentrations (IC_{50} , $\frac{1}{2} IC_{50}$, and $\frac{1}{4} IC_{50}$). The results demonstrated that compound **061** presented IC_{50} of $>25 \mu\text{g/mL}$ for L929 and $1.91 \mu\text{g/mL}$ for HL-60, with $IS >6.85$, indicating high selectivity for cancer cells. On the other hand, compound **069** presented IC_{50} of $17.03 \mu\text{g/mL}$ for HL-60 and $>25 \mu\text{g/mL}$ for L929, with $IS >1.46$. Regarding genotoxicity, compound **061** was genotoxic for the L929 cell line; however, it was not genotoxic at the IC_{50} in HL-60 but induced micronuclei at concentrations $\frac{1}{2} IC_{50}$ and $\frac{1}{4} IC_{50}$. Compound **069** was not genotoxic for L929, but caused genotoxic damage in HL-60 at all concentrations, showing differential genotoxicity. The hybrid compounds of 1,2,3-triazole and phthalimide showed anticancer potential *in vitro*, with high selectivity for cancer cells. Regarding differential genotoxicity, compound **069** was more selective and caused more genotoxic damage to leukemia cells. Thus, the observed differential genotoxicity suggests the need for further studies to evaluate the mechanism of action of these hybrids, such as DNA intercalating agents or enzymes that are involved in the duplication of genetic material during mitosis.

Key words: Cancer. Antineoplastic. Anticancer. Genotoxic. Therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fases da Carcinogênese: Iniciação, Promoção e Progressão	16
Figura 2 – Exemplificação das alterações nucleares... ..	27
Figura 3 – Resultados do ensaio do MTT	18
Figura 4 – Resultados do teste de micronúcleo com bloqueio de citocinese nas linhagens L-929 e HL-60 tratadas com diferentes concentrações de 061	20
Figura 5 – Resultados do teste de micronúcleo com bloqueio de citocinese nas linhagens L-929 e HL-60 tratadas com diferentes concentrações de 069	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – As moléculas testadas foram dois compostos híbridos derivados de 1,2,3-triazol e Ftalimida.....	25
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BRCA1	<i>Breast cancer 1, early onset</i> , Gene associado ao reparo de DNA
BRCA2	<i>Breast cancer 2</i> , Gene associado ao reparo de DNA
CO ₂	Dióxido de Carbono
CuAAC	Cicloadição Azida Alcino Catalisada por Cobre
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
H2AX	Histona H2AX fosforilada
HPV	Papilomavírus Humano
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
IC ₅₀	Concentração Inibitória 50 por cento (usada em estudos de citotoxicidade)
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IS	Índice de Seletividade
MNvit	Ensaio de Micronúcleo <i>in vitro</i>
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
OMS	Organização Mundial da Saúde
RNA	Ácido Ribonucleico
RPMI	Meio do Roswell Park Memorial Institute
SCGE	Eletroforese em Gel de Célula Única
SFB	Soro Fetal Bovino

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1.	CÂNCER.....	15
2.2.	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER.....	17
2.3.	TERAPEUTICA DO CÂNCER.....	18
2.3.1.	Terapias de indução de Danos ao DNA no câncer	20
2.4.	POTENCIAL ANTICÂNCER DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZÓIS E FTALIMIDA.....	21
2.5.	GENOTOXICIDADE.....	22
3.	OBJETIVOS	25
3.1.	OBJETIVO GERAL	25
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4.	METODOLOGIA.....	26
4.1.	OBTENÇÃO DO HÍBRIDO DE 1,2,3-TRIAZOL E FTALIMIDA	26
4.2.	CULTURA CELULAR.....	26
4.3.	AValiação DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS NORMAIS E CANCERÍGENAS .	27
4.4.	ENSAIO DE MICRONÚCLEO COM BLOQUEIO DE CITOCINESE	27
4.5.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6.	CONCLUSÃO.....	37
7.	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O câncer continua sendo um dos principais desafios globais de saúde, responsável por cerca de 16,8% das mortes no mundo e 22,8% das mortes por doenças não transmissíveis (GLOBOCAN, 2024). A OMS projeta um aumento significativo nos novos casos de câncer, com estimativa de 35,3 milhões até 2050, um aumento de 77% em relação a 2022, devido a fatores como consumo de álcool, tabagismo e obesidade (WHO, 2024).

Em 2022, a IARC (Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer) registrou cerca de 20 milhões de novos casos e 9,7 milhões de mortes por câncer. A estimativa é que uma em cada cinco pessoas desenvolverá câncer ao longo da vida, com maior mortalidade entre homens (um em cada nove) do que entre mulheres (uma em cada doze) (Bray *et al.*, 2024). No Brasil, estima-se que ocorram cerca de 704 mil novos casos anuais entre 2023 e 2025, sendo os tipos mais comuns o câncer de pele não melanoma, de mama e de próstata (INCA, 2022). Diante desse cenário alarmante, torna-se imprescindível o desenvolvimento de estratégias inovadoras para promover avanços na pesquisa do câncer (Yuzhalin, 2024). Embora fármacos antineoplásicos tenham proporcionado remissões significativas, ainda enfrentam limitações como alta toxicidade, farmacocinética desfavorável e resistência tumoral (Kaur *et al.*, 2022). Dessa forma, há uma necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas que ofereçam maior segurança, eficácia e seletividade no tratamento (Letai, 2015).

A utilização de produtos sintéticos como novos fármacos antineoplásicos tem sido uma estratégia amplamente utilizada (Liu *et al.*, 2018; Sharifi-Rad *et al.*, 2019). Ademais, dois grupos farmacofóricos, os 1,2,3-triazóis e ftalimidas, merecem destaque devido seus potenciais efeitos antineoplásicos demonstrados na literatura (Belluti *et al.*, 2019; Rammohan *et al.*, 2023). Os derivados de 1,2,3-triazóis são compostos muito explorados na química medicinal devido suas características químicas estáveis e atividades biológicas, tais como antivirais, antimaláricos, neuroprotetores e antitumorais (Bozorov *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2021). Por sua vez, a ftalimida se destaca como um farmacóforo presente em diversos medicamentos aprovados mundialmente, incluindo agentes antitumorais, como a pomalidomida e lenalidomida (Galustian *et al.*, 2009; Foroughbakhshfasaei *et al.*, 2022). Esses núcleos têm sido utilizados em abordagens de hibridização molecular com o propósito

de planejar compostos com atividade farmacológica aprimorada, especialmente atividade antineoplásica (Belutti et al., 2019; Gariganti et al., 2023). Destarte, Shankaraiah et al., (2016), realizaram um estudo com diversos híbridos 1,2,3-triazólicos ligados a diferentes grupos funcionais, observando que o híbrido de 1,2,3-triazol com o grupo ftalimida apresentou citotoxicidade elevada (CI₅₀ 3,67 - 26,50 µM) frente às diferentes linhagens de células cancerígenas testadas.

Além disso, conjugados 1,2,3-triazolo-naftalimida-ftalimida apresentaram alta atividade anticâncer em células A549 (linhagem de câncer de pulmão), apresentando CI₅₀ de $7,6 \pm 0,78$ µM. Os autores ainda observaram, por *docking molecular*, que estes derivados apresentaram potencial de interagir com o DNA destas células por intercalação (Shankaraiah et al., 2019). Adicionalmente, uma nova série de ftalimidas ligadas ao anel 1,2,3-triazólico e fragmentos lipofílicos terminais apresentou atividade anticâncer em linhagens de câncer de fígado Humano (HepG2), câncer de mama (MCF-7) e câncer colorretal humano (HCT116), ressaltando-se a atividade em MCF-7 com CI₅₀ de 0,22 µM (Ihmaid et al., 2021). Parte do mecanismo de ação desses derivados inclui danos à membrana celular, indução da apoptose, intercalação com o DNA, fragmentação do DNA e aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Shankaraiah et al., 2019; Ihmaid et al., 2021). Tais apontamentos levantam a hipótese de que híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida apresentam citotoxicidade seletiva para células cancerígenas, induzindo danos genômicos através do estresse oxidativo desencadeado por EROs.

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo investigar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de novos híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida em células normal e tumorais, cooperando para o processo de descoberta de novas terapias anticancerígenas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CÂNCER

O câncer é uma doença causada por alterações genéticas que afetam o funcionamento celular, especificamente os mecanismos de crescimento e divisão das células (NCI, 2021). Nesse mecanismo, há um desenvolvimento de células anormais que se dividem de forma descontrolada e possuem a capacidade de invadir tecidos próximos (WHO, 2021). Assim, o câncer apresenta diversas características biológicas que explicam a sua progressão. As marcas fundamentais do câncer incluem auto-suficiência em sinais de crescimento, insensibilidade a sinais inibidores do crescimento, bloqueio da apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada, invasão tecidual e metástase (Hanahan, 2022).

A carcinogênese, processo de formação do câncer, geralmente desenvolve-se lentamente ao longo de anos, começando com a proliferação de uma célula cancerosa até a formação de um tumor visível (INCA, 2022). Este processo envolve múltiplas etapas de transformação celular, influenciado por diversos fatores, onde mudanças no microambiente celular são os principais iniciadores para que uma célula se torne maligna (Zhang *et al.*, 2024). Fatores de risco associados ao estilo de vida, dieta e predisposição genética contribuem para a carcinogênese (Byrne *et al.*, 2023). Carcinógenos são definidos como substâncias ou misturas que induzem câncer após inalação, ingestão, aplicação dérmica ou injeção (European Commission, 2020). Esses carcinógenos abrangem uma vasta gama de substâncias, incluindo álcool, nitrosaminas, aflatoxinas, fatores físicos como radiações UV e ionizantes, além de infecções virais, bacterianas e parasitárias (Fishbein *et al.*, 2021).

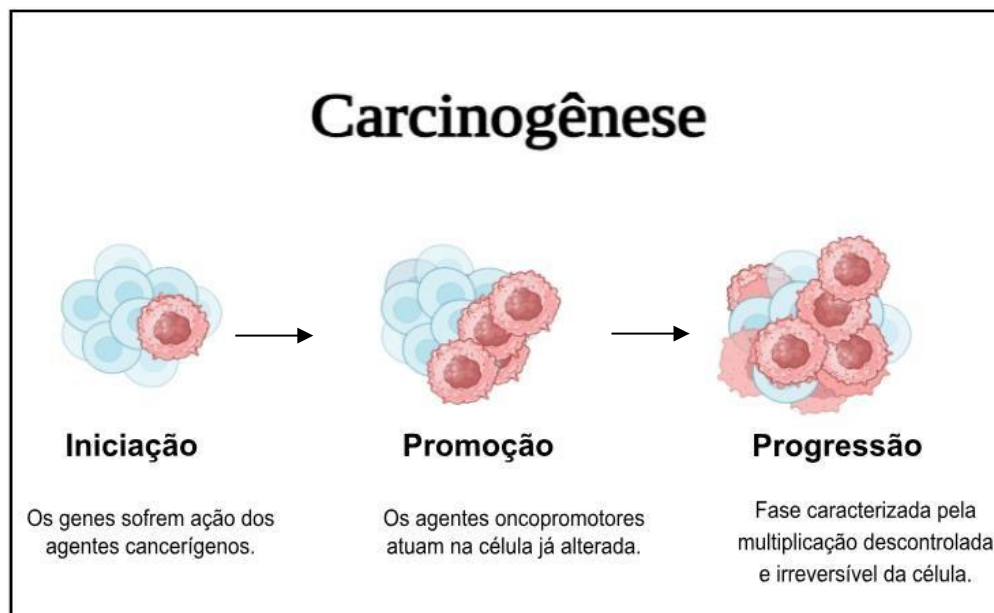
O processo de carcinogênese envolve três etapas: iniciação, promoção e progressão (Maru, 2014). A iniciação do câncer é marcada pelo início de mutações não reparadas do DNA que afetam os mecanismos de apoptose ou reparo ao DNA (Bajaj, 2020). A iniciação concede à célula capacidades proliferativas que podem ou não progredir para o estágio de promoção, dependendo de fatores como a dose de exposição a um agente cancerígeno (Balmain, 2020).

Na fase de promoção, as células previamente iniciadas são incentivadas a se proliferar, o que resulta na expansão clonal das células mutadas. Esse processo eleva a probabilidade de novas mutações e pode, eventualmente, levar à formação de um

tumor benigno ou maligno (Zhu *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2024). A promoção é geralmente reversível e depende da exposição contínua a promotores de tumor, substâncias que, embora não sejam carcinogênicas por si mesmas, favorecem a proliferação das células iniciadas (Chowdhuri, 2018). Durante essa fase, o aumento da proliferação celular elevam as chances de surgirem mutações adicionais, o que pode resultar na perda do controle sobre o crescimento celular (Koya; Ibrahim, 2024).

A etapa final da carcinogênese é a progressão, que envolve a transformação de um tumor benigno em um tumor maligno. Durante essa fase, as células tumorais sofrem mutações adicionais que conferem a elas características mais agressivas, como a capacidade de invadir tecidos adjacentes e de metastatizar para órgãos distantes (Hanahan, 2022; Fares *et al.*, 2020). A progressão é caracterizada por instabilidade genética, resultando em maior heterogeneidade tumoral, com diferentes subpopulações de células tumorais surgindo dentro do mesmo tumor. Essas células podem adquirir habilidades como resistência à apoptose, evasão do sistema imunológico, angiogênese, e capacidade de invasão e metastatização (Bose *et al.*, 2023; Gonzalez *et al.*, 2018). Nesta fase, o tumor maligno adquire as características que o tornam clinicamente perigoso, incluindo crescimento rápido, invasão local e disseminação para outras partes do corpo, que são as principais causas de morbidade e mortalidade no câncer (Welch;Hurst, 2019; Figura 1).

Figura 1: Fases da Carcinogênese: Iniciação, Promoção e Progressão.



Fonte: Autoria própria.

2.2 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2022 foram registrados cerca de 20 milhões de novos casos de câncer e 9,7 milhões de mortes em todo o mundo (WHO, 2024). Globalmente, cerca de 1 em cada 5 pessoas desenvolverá câncer ao longo da vida, e aproximadamente 1 em 9 homens e 1 em 12 mulheres morrerão devido à doença. Tipos como câncer pancreático e colorretal (CCR) frequentemente são diagnosticados apenas em estágios avançados, o que contribui para a alta taxa de mortalidade (WHO, 2024).

A IARC (Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer), projeta que até 2050, o número de pessoas diagnosticadas com câncer anualmente deverá chegar a 35 milhões, um aumento de 77% em comparação com 2022 (Bray, et al., 2024)

O aumento da carga global do câncer é atribuído ao envelhecimento, crescimento populacional e estilos de vida que elevam o risco, como dietas inadequadas, sedentarismo, uso de tabaco e consumo excessivo de álcool (Ngoma;Ngoma, 2021). A distribuição do câncer varia significativamente entre regiões, refletindo fatores genéticos, ambientais e comportamentais. O câncer de mama é o mais comum em todo o mundo, com maior incidência em países desenvolvidos, enquanto o câncer de fígado e o câncer cervical predominam em países em desenvolvimento, devido à exposição mais frequente a agentes infecciosos como o vírus da hepatite B e o papilomavírus humano (HPV) (Bray *et al.*, 2024; sung *et al.*, 2021).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) prevê cerca de 704 mil novos casos para cada ano do triênio 2023-2025 e relata 279 mil óbitos relacionados ao câncer em 2022, tornando-o uma das principais causas de morte no país (INCA, 2022). Os tipos mais comuns variam entre os cânceres de próstata, pulmão e colorretal entre os homens; e câncer de mama, colo do útero e colorretal entre as mulheres (INCA, 2022). Fatores como tabagismo, obesidade e consumo de álcool são relevantes, e hábitos saudáveis podem reduzir o risco (Marino *et al.*, 2024).

A IARC projeta que o Brasil poderá registrar cerca de 554 mil mortes causadas por câncer em 2050, um aumento de 98,6% em relação aos óbitos ocorridos em 2022 (WHO, 2024). Ainda segundo as estimativas da agência, que faz parte da OMS, o país

também registrará 1,15 milhão de novos casos até 2050, um valor 83,5% maior do que a incidência de 2022 (627 mil) (WHO, 2024).

2.3 TERAPÊUTICA DO CÂNCER

A terapêutica do câncer abrange uma variedade de métodos avançados e interdisciplinares para combater a doença de forma eficaz (Ahmadi, 2024). A cirurgia é frequentemente a primeira linha de tratamento para remover tumores localizados, oferecendo uma chance significativa de cura em estágios iniciais (Shams et al., 2023). Entretanto, para os tumores mais avançados ou metastáticos, a imunoterapia se destacou como uma opção terapêutica revolucionária. Esta modalidade utiliza agentes que estimulam o sistema imunológico do paciente a reconhecer e destruir células cancerosas, oferecendo respostas duradouras e potencialmente curativas (Ghemrawi, 2024).

Os fármacos anticâncer são categorizados por seu mecanismo de ação ou os meios pelos quais a terapia foi derivada, estes incluem: Agentes alquilantes, inibidores da topoisomerase, Antimetabólitos, Antibióticos, Derivados de plantas, Hormônios/Antagonistas e Derivados de platina. Cada uma com um mecanismo de ação específica (Lemaire, et al., 2021; Finch; Nass, 2014). Entre os alquilantes, estão, com maior destaque, os fármacos como ciclofosfamida e ifosfamida. Estes agentes atuam por ligar-se covalentemente ao DNA, formando ligações cruzadas que impedem a replicação e transcrição do DNA, levando à morte celular (Singh et al., 2023). Já os inibidores da topoisomerase, geram danos ao DNA e interferem em muitos eventos metabólicos do DNA, como transcrição e replicação (Nitiss et al., 2009). Os agentes antimetabólitos interrompem a síntese de ácidos nucleicos, interferindo na produção de um metabólito principal de nucleotídeo ou substituindo o metabólito natural. Assim como outros agentes anticancerígenos citotóxicos, os antimetabólitos também afetam células normais, especialmente aquelas da medula óssea e do trato gastrointestinal. (Scholar, 2007).

Os antibióticos citotóxicos, incluindo doxorubicina e bleomicina, desempenham seu papel terapêutico ao intercalarem-se com o DNA, o que resulta em quebras nas fitas de DNA ou inibição da síntese de RNA, comprometendo a integridade genética e levando à apoptose celular (Anand et al., 2022; Newton, 2012).

Os derivados de plantas, como a vincristina, atuam como agentes antimicrotúbulos, bloqueando a mitose ao prender as células na metáfase. A interrupção da formação do fuso mitótico causada pela vincristina impede o progresso do ciclo celular, levando à sua paralisação na fase de metáfase. Mais especificamente, outro farmaco derivado de plantas como o paclitaxel liga-se à superfície interna dos microtúbulos, próximo ao sítio de ligação do nucleotídeo na β -tubulina. Essa interação promove a montagem de subunidades de tubulina em microtúbulos estáveis e não dinâmicos, impedindo sua desmontagem ou despolimerização natural. Com isso, esses agentes bloqueiam a mitose e induzem a morte celular em células em divisão ativa (Asma et al., 2022; Awosika et al., 2023).

Já os hormônios e seus antagonistas, como o tamoxifeno e o anastrozol, atuam como moduladores seletivos dos receptores de estrogênio ou inibidores de aromatase, bloqueando ou modulando a sinalização hormonal essencial para o crescimento de determinados cânceres, como o câncer de mama (ACS, 2024). O tamoxifeno compete com o estrogênio pelos receptores nos tecidos mamários, enquanto o anastrozol inibe a enzima aromatase, reduzindo a síntese de estrogênio e, conseqüentemente, a proliferação de células tumorais dependentes desse hormônio (Chumsri et al., 2011).

Os fármacos anticâncer à base de platina, como cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, nedaplatina e lobaplatina, são amplamente utilizados em condução de quimioterapia devido à sua eficácia (Zhang et al., 2022). Os análogos de platina apresentam um mecanismo de ação semelhante ao dos agentes alquilantes, ligando-se ao DNA para formar ligações cruzadas intra e intercadeias. Essas interações interrompem a síntese e a transcrição do DNA, inibindo sua função. Quando o dano ao DNA é severo e irreparável, a célula é levada à apoptose, promovendo a morte celular programada (Gartner, 2007). No entanto, sua aplicação clínica é frequentemente limitada por efeitos colaterais significativos, incluindo falta de seletividade, alta toxicidade sistêmica e resistência aos medicamentos (Zhou et al., 2020; Zhang et al., 2022).

A maioria dos antineoplásicos utilizados na quimioterapia tem como alvo principal o DNA ou o ciclo celular. Esses medicamentos interferem na replicação do DNA, na síntese de RNA ou na formação de microtúbulos, interrompendo o ciclo celular das células cancerosas e promovendo sua morte (Dhyani, et al., 2022). A

complexidade do tratamento do câncer exige uma abordagem multifacetada, que pode incluir quimioterapia, radioterapia, imunoterapia, cirurgia e terapias alvo, dependendo do tipo e estágio do câncer (Miller *et al.*, 2022).

2.3.1 Terapias de indução de Danos ao DNA no câncer

As terapias que induzem danos ao DNA são importantes no tratamento do câncer, pois se trata de uma estratégia onde se pode explorar a vulnerabilidade das células tumorais ao dano genético. Essas abordagens incluem o uso de agentes quimioterápicos e radiação, bem como inibidores de mecanismos de reparo do DNA (Huang; Zhou, 2021). Lo *et al.*, (2020), forneceram uma visão abrangente sobre como essas terapias funcionam e como são aplicadas no tratamento do câncer. Os agentes quimioterápicos são amplamente utilizados para induzir danos ao DNA em células cancerosas (Lo *et al.*, 2020).

A radioterapia utiliza radiação ionizante para induzir quebras de cadeia dupla no DNA das células cancerosas, danos que podem ser letais se não forem eficientemente reparados (Huang; Zhou, 2020). A eficácia do tratamento pode ser potencializada pela combinação com inibidores de reparo do DNA, como os inibidores de PARP (Poliadenosina Difosfato-Ribose Polimerase). A PARP, originalmente, auxilia no reparo de células danificadas. Entretanto, no contexto do câncer, os inibidores de PARP bloqueiam essa função em células tumorais, levando-as à morte celular e aumentando a eficácia terapêutica significativamente (ACS, 2024; Sun *et al.*, 2023). Esses inibidores são amplamente utilizados no tratamento de cânceres que apresentam deficiências na reparação por recombinação homóloga, como os cânceres de mama e ovário associados a mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 (Wang *et al.*, 2023).

A combinação de terapias que induzem danos ao DNA com outras abordagens, como imunoterapia e terapias direcionadas, incluindo anticorpos monoclonais, inibidores do crescimento do câncer, inibidores da angiogênese e inibidores de PARP, tem mostrado grande potencial no tratamento do câncer. Estudos recentes demonstram que a indução de danos ao DNA em células cancerígenas estimula respostas imunes tanto inatas quanto adaptativas. Além disso, a combinação dessa estratégia com inibidores de checkpoint imunológico pode superar o ambiente imunossupressor dos tumores, potencializando a eficácia terapêutica contra o câncer

(Wang *et al.*, 2022; Bian *et al.*, 2023; Irish Cancer Society, 2020). Além disso, novas estratégias também estão sendo desenvolvidas para induzir danos ao DNA de forma mais específica e menos tóxica para células normais. Uma dessas abordagens é a co- inibição de proteínas shelterin com moléculas DDR (Resposta a Danos no DNA), uma estratégia que promove o comprometimento do reparo do DNA de maneira independente de mutação. As proteínas shelterin desempenham um papel essencial na manutenção da estabilidade genômica ao proteger os telômeros de respostas inapropriadas. Quando os telômeros estão desprotegidos, ocorrem DDRs persistentes que levam à inibição do ciclo celular, parada do crescimento e apoptose. Como as células cancerosas dependem de DDR para se proteger contra danos ao DNA e os efeitos da quimioterapia e radioterapia, essa abordagem representa uma nova direção promissora para terapias mais seletivas e eficazes (Jiang *et al.*, 2022; Ng; Akincilar, 2024).

2.4 POTENCIAL ANTICÂNCER DE DERIVADOS 1,2,3-TRIAZÓIS E FTALIMIDA

Os compostos contendo 1,2,3-triazol e ftalimida têm se destacado em estudos de pesquisa e desenvolvimento de novos agentes anticancerígenos devido à sua capacidade de causar danos específicos ao DNA de células tumorais (Liang *et al.*, 2021; Khatab *et al.*, 2023). Em um estudo realizado por Ji *et al.*, (2017) se observou que os compostos, contendo essas estruturas, demonstraram efeitos genotóxicos significativos em células cancerígenas. Esses compostos foram capazes de induzir Quebras de fita dupla de DNA (DSBs), que são as lesões de DNA mais citotóxicas, confirmadas pela fosforilação da histona H2AX (γ H2AX), marcador conhecido de resposta a danos no DNA (Ji *et al.*, 2017). Esse mecanismo é crucial porque a formação de DSBs desencadeia uma cascata de eventos celulares que incluem a parada do ciclo celular ou a indução de apoptose, levando à morte das células cancerígenas (Liu *et al.*, 2017).

Os triazóis causam danos ao DNA principalmente por dois mecanismos interligados. O primeiro envolve a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem oxidar nucleotídeos, lipídios e proteínas essenciais, resultando em quebras na estrutura do DNA e disfunção celular (Aswathanarayanappa *et al.*, 2013;). Esse estresse oxidativo é exacerbado em células cancerígenas, que possuem um metabolismo acelerado e, conseqüentemente, uma maior vulnerabilidade ao acúmulo

de EROs (Guo *et al.*, 2021). As células tumorais desenvolvem um mecanismo onde se ajustam ao alto nível de EROs expressando níveis elevados de proteínas antioxidantes, mantendo a sinalização pró-tumorigênica e a resistência à apoptose. Portanto, a indução seletiva de EROs pode ser um alvo potencial para terapias de câncer (Arfin *et al.*, 2021). O segundo mecanismo está relacionado à capacidade dos compostos híbridos triazóis e ftalimida de inibir enzimas críticas para a manutenção do DNA, como as topoisomerasas I e II, assim como, proteínas envolvidas na polimerização da tubulina, o que impede a progressão normal do ciclo celular e a replicação do DNA (Ji *et al.*, 2017). Como resultado, as células cancerígenas expostas aos compostos de 1,2,3-triazol e ftalimida entram em apoptose devido à incapacidade de reparar os danos extensivos ao DNA e à interrupção de processos vitais para a divisão celular (Bhat, 2024).

Adicionalmente, Mohamed *et al.*, (2023) não observaram danos significativos ao DNA em células normais, sugerindo que os compostos 1,2,3-triazol têm uma ação seletiva contra células tumorais. Essa seletividade é altamente desejável em terapias anticancerígenas, pois minimiza os efeitos colaterais em tecidos saudáveis (Ioel *et al.*, 2022). As células normais, por apresentarem taxas de proliferação mais lentas e mecanismos de reparo de DNA mais eficientes, são menos suscetíveis aos efeitos genotóxicos desses compostos (Andrioli *et al.*, 2023). Assim, enquanto as células cancerígenas sofrem danos acentuados, às células normais permanecem relativamente preservadas (Liang *et al.*, 2021).

Portanto, a combinação de 1,2,3-triazol e ftalimida não só potencializa a capacidade de induzir danos ao DNA em células cancerígenas, como também oferece uma ação seletiva e menos tóxica em células normais (Guo, *et al.*, 2021). Esses resultados indicam que esses compostos possuem potencial para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos contra o câncer, direcionando o tratamento de forma mais eficaz e segura (Mohamed *et al.*, 2023).

2.5 GENOTOXICIDADE

A genotoxicidade refere-se à capacidade de agentes nocivos, sejam eles químicos, físicos ou biológicos, de causar danos à informação genética nas células

(Ren *et al.*, 2017). Essas substâncias genotóxicas promovem alterações no material genético por meio de interações com a sequência e a estrutura do DNA (Seukep *et al.*, 2014). O dano inicial que resulta em efeitos genotóxicos pode afetar diretamente o DNA ou estruturas proteicas, como no caso de lesões no aparelho mitótico ou meiótico (Alenius *et al.*, 2014). Essa característica é uma preocupação central, dado que mutações desempenham um papel fundamental na origem e progressão da carcinogênese (Hartwig *et al.*, 2020).

A genotoxicidade e a mutagenicidade são conceitos relacionados, mas com diferenças importantes (Menz *et al.*, 2021). A genotoxicidade engloba qualquer efeito adverso sobre o material genético, porém, estes efeitos genotóxicos nem sempre resultam em mutações (Khan *et al.*, 2021). A mutagenicidade, por sua vez, é uma manifestação específica da genotoxicidade que se caracteriza pela indução de mutações, ou seja, alterações estruturais ou numéricas hereditárias no DNA que modificam de forma permanente e irreversível seu conteúdo informacional (Albertini *et al.*, 2020). Essas mutações podem envolver desde um único gene ou segmento de gene até blocos de genes ou cromossomos inteiros. A alteração genética em si é chamada de mutação, e o agente responsável por induzir essa mudança é denominado mutagênico (Sundar *et al.*, 2018).

As mutações podem ocorrer em células germinativas ou somáticas, resultando em consequências distintas (Cleveland Clinic, 2022), quando ocorrem em células germinativas, não afetam diretamente o indivíduo, mas são hereditárias e podem ser transmitidas às gerações futuras (Wessel *et al.*, 2021) já as mutações em células somáticas, durante o desenvolvimento celular, podem provocar variações na apresentação fenotípica de uma linhagem celular. A transformação de uma célula normal em cancerosa também está associada a uma sequência de poucas mutações somáticas, o que define o câncer como uma doença genética das células somáticas (Miles; Tadi, 2023; Luzzatto, 2011). Vale ressaltar que, embora todas as substâncias mutagênicas sejam genotóxicas, nem todas as substâncias genotóxicas possuem propriedades mutagênicas (Ren *et al.*, 2017).

A avaliação da genotoxicidade é um passo essencial no desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos, sendo uma exigência de órgãos reguladores, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para assegurar a segurança

farmacotoxicológica dos compostos em desenvolvimento (ANVISA, 2020). A distinção entre carcinógenos genotóxicos e não genotóxicos é tradicionalmente considerada crucial na análise de riscos (Hartwig *et al.*, 2020). Além disso, a capacidade de um composto causar danos genéticos seletivos em células tumorais pode aumentar a eficácia do tratamento, reduzir os efeitos colaterais e preservar as células saudáveis (Garg, 2024). Desse modo, a investigação da genotoxicidade diferencial não apenas ajuda a identificar agentes mais seguros e eficazes, mas também contribui para o desenvolvimento de terapias direcionadas (Turkez *et al.*, 2017).

Os testes de genotoxicidade, utilizados para detectar substâncias que podem provocar alterações genéticas, abrangem métodos que avaliam tanto alterações genéticas irreversíveis, quanto sinais indiretos de danos ao DNA (Luan; Honma, 2021). Esses testes, em geral, empregam uma variedade de ensaios específicos para identificar os principais tipos de danos genéticos, como lesões no DNA, mutações genéticas e aberrações cromossômicas, tanto estruturais quanto numéricas (Alenius *et al.*, 2014). Testes como Ensaio Cometa ou Eletroforese em Gel de Célula Única (SCGE) detectam quebras de fita simples ou dupla medidas no nível de célula individual (Beedanagari, 2017). A eletroforese pode ser realizada em condições neutras para detectar apenas quebras de fita dupla, ou em condições alcalinas para detectar quebras de fita simples e dupla (Dunkenberger *et al.*, 2022).

Para a avaliação da mutagenicidade, o ensaio de Micronúcleo *in vitro* (MNvit) é utilizado. Ele analisa o potencial aneugênico e clastogênico de uma substância com base na sua capacidade de induzir a formação de micronúcleos em célula (Farabaugh *et al.*, 2023), assim como, o teste de Ames é empregado para determinar o potencial mutagênico de compostos, partindo da premissa de que substâncias mutagênicas em bactérias também podem apresentar potencial carcinogênico (Thomas *et al.*, 2024).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de novos híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida células normais e cancerígenas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

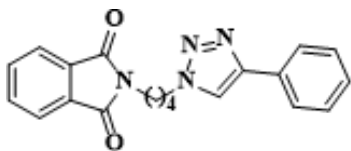
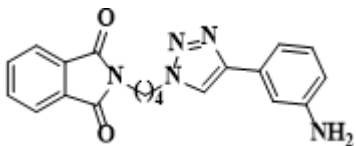
- Avaliar a atividade citotóxica dos híbridos de 1,2,3-triazol e ftalimida (061 e 069) em célula de fibrobalsto murino (L929) e Leucemia Promileocítica Aguda (HL-60);
- Verificar as possíveis ações genotóxica e mutagênica dos compostos 061 e 069 nas linhagens L929 e HL-60.

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DO HÍBRIDO DE 1,2,3-TRIAZOL E FTALIMIDA

Os compostos que foram empregados nos estudos foram sintetizados e caracterizados no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal (LASOQUIM) sob supervisão do Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas, professor do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Os híbridos selecionados foram sintetizados, obtendo-se primeiramente a N-(azidobutil)ftalimida, a qual foi empregada na reação de CuAAC (do inglês *Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*) para a formação dos híbridos finais contendo o núcleo 1,2,3-triazólico. As moléculas testadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Compostos híbridos derivados de 1,2,3-triazol e Ftalimida.

Código	Estrutura química	Nome das estruturas (IUPAC)
061		4-fenil-1-[4-(ftalimido-4-il)butil]-1,2,3- triazol
069		4-(3-aminofenil)-1-[4-(ftalimido-4-il)butil]-1H-1,2,3-triazol

4.2 CULTURA CELULAR

Foram utilizadas células da linhagem HL-60 (Linhagem celular de leucemia promielocítica aguda humana) e L-929 (Linhagem celular de fibroblasto murino). As células de L929 foram cultivadas em frascos de cultura utilizando Meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e o Meio do Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) foi utilizado para a linhagem cancerígena acrescido de 1% de antibióticos e suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e acondicionadas

em estufa nas condições de 37°C em atmosfera com 5% de CO₂. As células foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro e mantidas no Laboratório de Prospecção Farmatocológica de Produtos Bioativos (BIOFARMATOX) do Departamento de Antibióticos – UFPE.

4.3 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS NORMAIS E CANCERÍGENAS

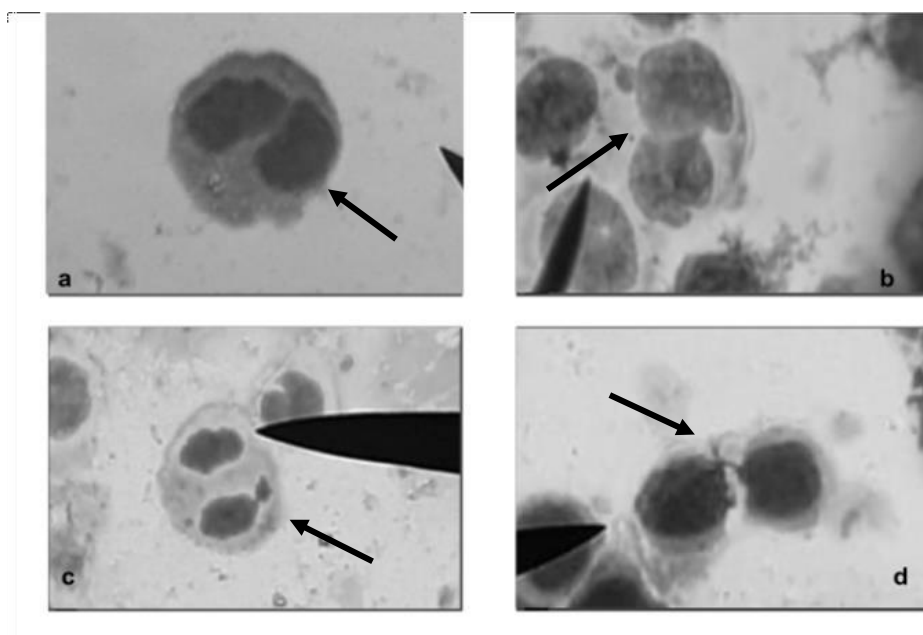
A avaliação do efeito citotóxico das amostras foi realizada pelo teste do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (MOSMANN, 1983; SCUDIERO et al., 1988). As células HL-60 foram semeadas em placas de 96 poços na concentração de 3×10^5 células/mL, e as células L929 foram semeadas na concentração de 2×10^5 e incubadas para aderência e formação da monocamada celular. Após 24h, as amostras foram adicionadas em concentrações seriadas. As placas foram incubadas por 72 h após a exposição aos compostos. Três horas antes de completar 72h, foram adicionados 25 µL de solução do MTT (5 mg/mL). Posteriormente, com o tempo de incubação, o sobrenadante foi aspirado e os cristais de formazan dissolvidos em 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) para a leitura em leitor de microplacas (560 nm) e cálculo dos percentuais de viabilidade celular. Além disso, a CI₅₀ (concentração que inibe 50% do crescimento celular em relação ao controle negativo) foi calculada, para cada linhagem a partir de regressão não linear no *software GraphPad Prism 8.0 (DEMO)*. Os experimentos foram realizados em triplicata em dois experimentos independentes.

4.4 ENSAIO DE MICRONÚCLEO COM BLOQUEIO DE CITOCINESE

Para avaliação da mutagenicidade, foi utilizado o ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese, seguindo o protocolo de Galucio (2014). Para isso, as células L929 foram semeadas em placas de 12 poços na concentração de 5×10^5 células/mL em DMEM e a linhagem HL-60 na concentração de 3×10^5 em RPMI-1640. As células foram tratadas em diferentes concentrações dos compostos a serem testados e a doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. Após 24 h de tratamento com os compostos, as células foram expostas a 3 µg/mL de citocalasina-B para o bloqueio da citocinese por 24 h. Posteriormente, a suspensão celular foi centrifugada a 1200 rpm por 5 min. O sobrenadante foi descartado e foi adicionada uma solução hipotônica gelada. A suspensão celular foi novamente centrifugada a 1200 rpm por 5 min, onde

o sobrenadante foi desprezado e as células foram fixadas com metanol e ácido acético (3:1). As lâminas foram montadas a partir dessa suspensão celular e coradas com Giemsa 5% por 5 min (Fenech; Morley, 1985). Foram contadas 1000 células em cada lamina das concentrações seriadas por linhagem em microscópio de luz, observando a presença ou ausência de micronúcleose e/ou alterações cromossômicas.

Figura 2. Exemplificação das alterações nucleares. (a) Célula binucleada; (b) Micronúcleo; (c) Broto nuclear; (d) Ponte nuclear.



Fonte: Autoria própria.

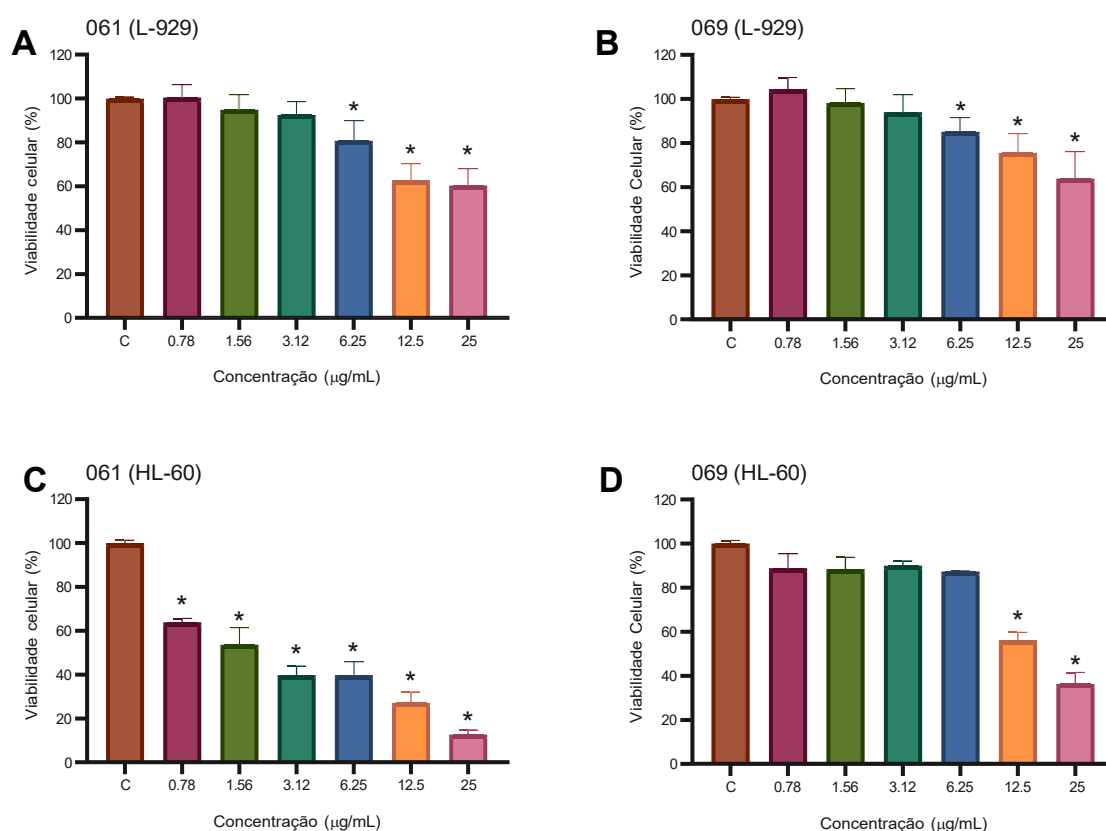
5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados utilizando o teste de normalidade shapiro-wilk seguido de ANOVA e pós-teste adequado para múltiplas comparações. Foi utilizado o software *GraphPad Prism* versão 8.0 para os cálculos estatísticos. Foram considerados estatisticamente significativos as comparações com valor de $p > 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, investigamos a citotoxicidade e genotoxicidade diferencial dos compostos 061 e 069 em células das linhagens L929 e HL-60. Foi observado que o composto 061 foi citotóxico nas concentrações de 6,25 - 25 $\mu\text{g/mL}$ para L929 ($p < 0,05$) e 0,78 - 25 $\mu\text{g/mL}$ em HL-60 ($p < 0,05$). O composto 069 também foi citotóxico nas concentrações de 6,25 - 25 $\mu\text{g/mL}$ para L929 e reduziu a viabilidade celular na linhagem HL-60 nas concentrações de 12,5 - 25 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$).

Figura 3: Resultados do ensaio do MTT. (A e B) Citotoxicidade dos compostos 061 e 069 na linhagem L929. (C e D) Citotoxicidade dos compostos 061 e 069 na linhagem HL60.



Legenda: Os valores estão representados com média e desvio padrão. Os dados foram comparados com o controle negativo através de ANOVA com pós teste de Dunnett . Foi considerado significativo (*) $p < 0,05$.

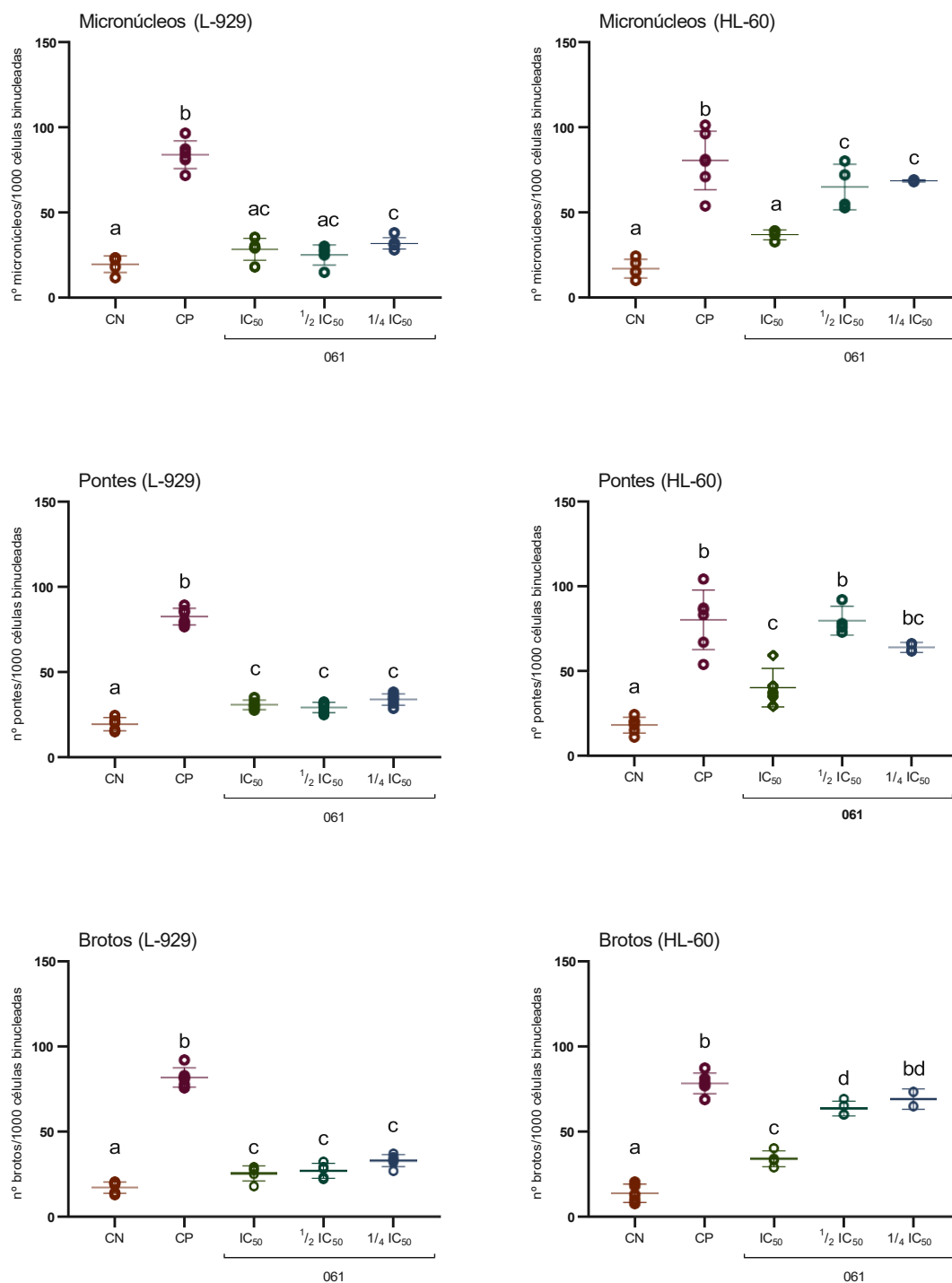
Posteriormente, foi calculado a CI_{50} , onde observou-se que o composto 061 apresentou valores de $CI_{50} > 25 \mu\text{g/mL}$ para L929 e 1,91 (1,31 - 2,59) $\mu\text{g/mL}$ para

HL60, com um índice de seletividade $>6,85$. O composto 069 demonstrou $IC_{50} >25$ $\mu\text{g/mL}$ para L929 e $17,03$ ($14,09 - 21,63$) $\mu\text{g/mL}$ para HL60, com um índice de seletividade $>1,46$ (Tabela 2). Portanto, o composto 061 se revelou o mais promissor devido à sua alta seletividade em relação às linhagens celulares investigadas. Segundo Weerapreeyakul *et al.*, (2012) o índice de seletividade dos compostos que apresentam um valor de $IS > 3$ são considerados altamente seletivos, indicando uma maior toxicidade para células cancerígenas em comparação com células normais.

Na literatura, Shankaraiah *et al.*, (2016) realizaram um estudo com diversos híbridos 1,2,3-triazólicos ligados a diferentes grupos funcionais, observando que o híbrido de 1,2,3-triazol com o grupo ftalimida apresentou citotoxicidade elevada (CI_{50} $3,67 - 26,50$ μM) frente às diferentes linhagens de células cancerígenas testadas. Além disso, conjugados 1,2,3-triazolo-naftalimida-ftalimida apresentaram alta atividade anticâncer em células A549 (linhagem de câncer de pulmão), apresentando CI_{50} de $7,6 \pm 0,78$ μM . Os autores ainda observaram por *docking* molecular que estes derivados apresentaram potencial intercalar com o DNA destas células (Shankaraiah *et al.*, 2019). Outro estudo também mostrou que os derivados de 1,2,3-triazóis e ftalimida apresentaram diferentes níveis de citotoxicidade em linhagens celulares. Para MCF-7, dois compostos destacaram-se com a maior potência, mostrando IC_{50} de $0,22 \pm 0,26$ μM e $0,56 \pm 1,25$ μM , respectivamente, indicando alta citotoxicidade e seletividade (Mohamed *et al.*, 2023). Em relação às células HepG2, linhagem de célula de câncer de fígado humano, os compostos mostraram IC_{50} de $0,12 \pm 1,22$ μM , indicando alta citotoxicidade (Mohamed *et al.*, 2023). Ademais, a presença de ftalimida halogenada e a ligação acetamida parecem influenciar positivamente a citotoxicidade, aumentando a lipofilicidade e a interação com o alvo (Ihmaid *et al.*, 2021). Além disso, parte do mecanismo de ação desses derivados 1,2,3-triazóis e ftalimidas inclui danos à membrana celular, indução da apoptose, intercalação com o DNA, fragmentação do DNA e aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Shankaraiah *et al.*, 2019; Ihmaid *et al.*, 2021).

No nosso trabalho, no intuito de avaliar a genotoxicidade e mutagenicidade diferencial em células normais e cancerosas, foi utilizado o teste de micronúcleo. Os resultados para o composto 061 estão apresentados na figura 4.

Figura 4: Resultados do teste de micronúcleo com bloqueio de citocinese nas linhagens L-929 e HL-60 tratadas com diferentes concentrações de 061.



Legenda: Efeito do composto 061 na indução de danos genotóxicos nas linhagens L-929 e HL-60. Os resultados estão expressos em média e desvio padrão. Para a comparação foi utilizado o teste ANOVA e pós-teste de Tukey, $p < 0,05$ foi considerado significativo. Letras diferentes indicam diferença estatística.

O composto 061 apresentou alterações cromossômicas em todas as

concentrações testadas na linhagem saudável L929. Foi observado que na concentração da IC₅₀ houve apenas aumento de pontes nucleares ($p < 0,05$). As concentrações $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da IC₅₀ apresentaram aumento de pontes e brotos nucleares ($p < 0,05$) (figura 4). As análises estatísticas foram realizadas comparando os grupos tratados e o controle negativo (CN).

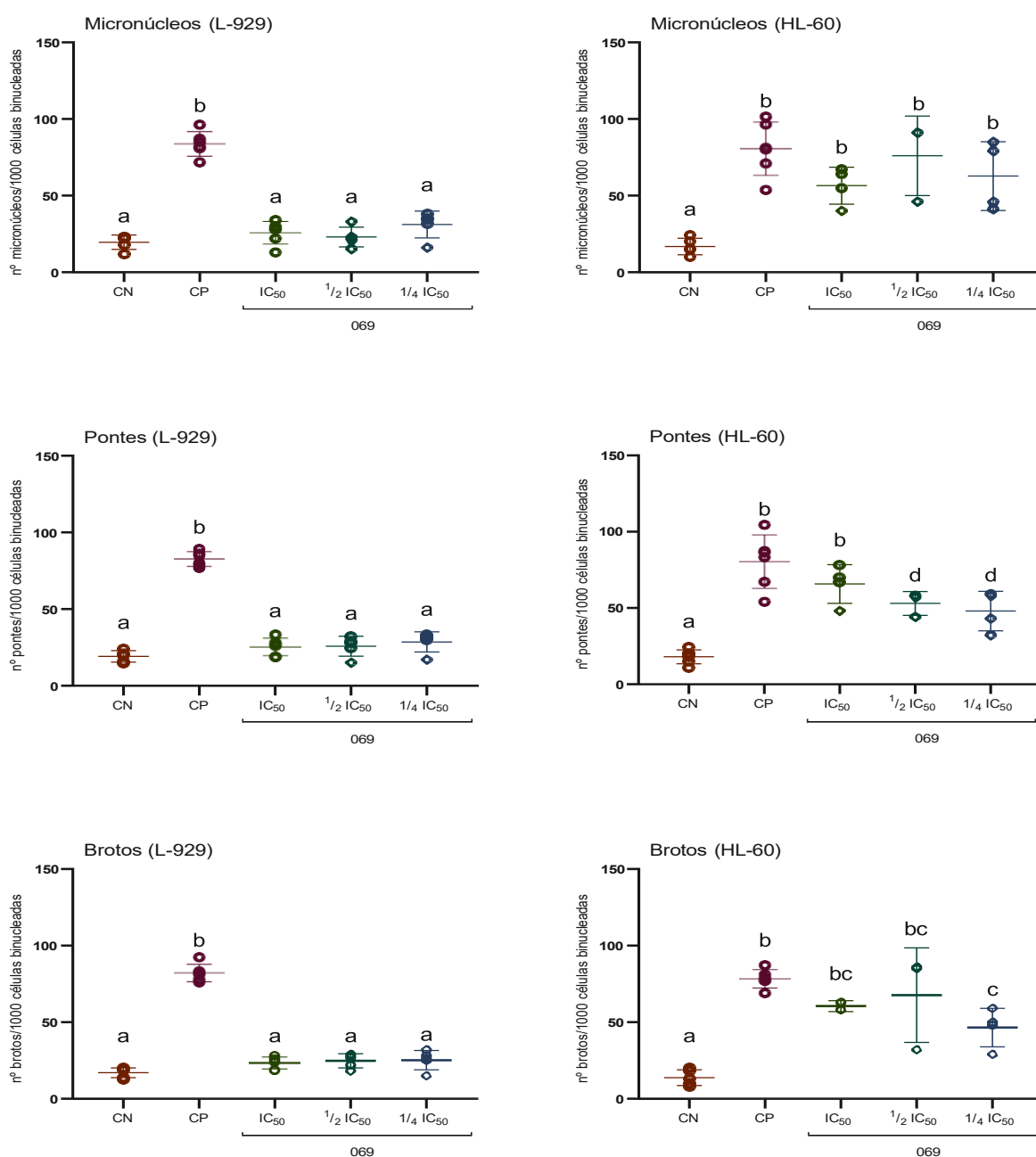
Em relação à genotoxicidade e mutagenicidade do composto 061 na linhagem cancerígena HL- 60, não foi observada genotoxicidade na concentração da IC₅₀. Nas concentrações da $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da IC₅₀ foi observado aumento de micronúcleos, pontes e brotos nucleares ($p < 0,05$) (figura 4). Com relação a esses resultados, foi visto que o composto 061, na concentração da IC₅₀, apresentou genotoxicidade mais acentuada apenas na linhagem normal, L929. Em contrapartida, foi observado que o composto 061, nas concentrações sub- citotóxicas ($\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da IC₅₀), induziu a formação de micronúcleos apenas na linhagem HL-60. Esses resultados corroboram com os achados de Nagy *et al.*, (2021) que sugerem que em concentrações sub-citotóxicas, compostos podem induzir danos ao DNA sem necessariamente causar morte celular imediata. Segundo Ramazi *et al.*, (2023), em concentrações menores que a IC₅₀, as células podem ainda ser viáveis e capazes de se dividir, o que possibilita a detecção de danos ao DNA. As células cancerígenas possuem em sua citofisiologia os mecanismos de reparo de DNA comprometidos e instabilidade genética (Li *et al.*, 2021). Assim, a exposição a concentrações sub-citotóxicas de um composto pode induzir danos genéticos mais significativos ou mais visíveis do que em células saudáveis (Andrioli *et al.*, 2023).

As células de linhagem em concentrações sub-citotóxicas podem ser mais vulneráveis a danos genéticos ou apresentar alterações mais visíveis, como a formação de micronúcleos, devido a deficiências nos mecanismos de reparo do DNA ou maior propensão à instabilidade genética (Alhmoud *et al.*, 2020). Assim, concentrações mais elevadas podem levar a um efeito mais difuso e generalizado, mascarando ou neutralizando a detecção de alterações genéticas específicas no câncer (Herceg; Hainaut, 2007).

Popularmente, diversos compostos são eficazes no ataque às células cancerígenas, mas também causam danos colaterais às células saudáveis (Pradipta *et al.*, 2021). Neste estudo, pode-se inferir que a exposição a concentrações mais altas do composto 061 frente à linhagem L929 pode induzir danos que são detectáveis, pois

essas células têm mecanismos de reparo do DNA mais intactos e são menos propensas à instabilidade genética em comparação com as células cancerígenas (Li *et al.*, 2021). Por outro lado, o composto 069 não apresentou genotoxicidade em L929 nas concentrações testadas (figura 5). Entretanto, foi observado aumento na formação de micronúcleos, pontes e brotos nucleares, em todas as concentrações, na linhagem HL-60 ($p < 0,05$) (figura 5). Dessa forma, o composto 069 apresentou uma genotoxicidade diferencial com danos ao DNA mais evidentes na linhagem tumoral.

Figura 5: Resultados do teste de micronúcleo com bloqueio de citocinese nas linhagens L-929 e HL-60 tratadas com diferentes concentrações de 069.



Legenda: Efeito do composto 061 na indução de danos genotóxicos nas linhagens L-929 e HL-60. Os resultados estão expressos em média e desvio padrão. Para a comparação foi utilizado o teste ANOVA e pós-teste de Tukey, $p < 0,05$ foi considerado significativo. Letras diferentes indicam diferença estatística.

A diferença na genotoxicidade do composto 069 entre as linhagens celulares L929 e HL-60 pode ser atribuída a vários fatores relacionados às características específicas dessas células e ao comportamento do composto. De acordo com Alhmoud et al. (2020), as células de linhagem cancerígena apresentam mecanismos de reparo de DNA frequentemente comprometidos e uma alta instabilidade genética (Alhmoud et al., 2020), portanto, estas características tornam as células cancerígenas mais vulneráveis a danos genéticos e mais propensas a acumular alterações visíveis, como micronúcleos, pontes e brotos nucleares, mesmo em concentrações relativamente baixas da IC_{50} (Ramazi et al., 2023). A incapacidade dessas células de reparar eficazmente os danos induzidos pelo composto pode levar a uma maior formação de alterações genéticas (Torgovnick; Schumacher., 2015). Além disso, as células saudáveis possuem mecanismos de reparo de DNA hierarquizado e estruturado e são capazes de lidar com danos genéticos (Li et al., 2021). Isso pode explicar por que o composto 069 não apresentou efeitos genotóxicos significativos nas concentrações testadas para linhagem L-929. O mesmo acontece em concentrações sub-citotóxicas, o composto 069 pode causar danos genéticos mais evidentes nas células de linhagem cancerígena devido à sua citofisiologia alterada e à capacidade reduzida de reparar o DNA (Andrioli et al 2023), enquanto as células L929 podem reparar esses danos de forma mais eficiente, resultando em menos alterações visíveis (Li et al., 2021).

Os compostos contendo 1,2,3-triazol e ftalimida têm se destacado em estudos de desenvolvimento de novos agentes anticancerígenos devido à sua capacidade de causar danos específicos ao DNA de células tumorais (Liang et al, 2021; Khatab et al., 2023). Em um estudo realizado por Ji et al., 2017 se observou que os compostos, contendo essas estruturas, demonstraram efeitos genotóxicos significativos em células cancerígenas. Esses compostos foram capazes de induzir quebras de fita dupla no DNA (DSBs), confirmadas pela fosforilação da histona H2AX (γ H2AX), marcador conhecido de resposta a danos no DNA (Ji et al., 2017). Este mecanismo é crucial porque a formação de DSBs desencadeia uma cascata de eventos celulares

que incluem a parada do ciclo celular ou a indução de apoptose, levando à morte das células cancerígenas (Liu et al., 2017).

Os compostos causam danos ao DNA principalmente por dois mecanismos interligados. O primeiro envolve a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem oxidar nucleotídeos, lipídios e proteínas essenciais, resultando em quebras na estrutura do DNA e disfunção celular (Aswathanarayanappa et al., 2013). O estresse oxidativo é exacerbado em células cancerígenas, que possuem um metabolismo acelerado e, conseqüentemente, uma maior vulnerabilidade ao acúmulo de EROs (Guo et al., 2021). As células tumorais desenvolvem um mecanismo onde se ajustam ao alto nível de EROs expressando níveis elevados de proteínas antioxidantes, mantendo a sinalização pró-tumorigênica e a resistência à apoptose. Portanto, a indução seletiva de EROs pode ser um alvo potencial para terapias de câncer (Arfin et al., 2021). O segundo mecanismo está relacionado à capacidade dos compostos híbridos triazóis e ftalimida de inibir enzimas críticas para a manutenção do DNA, como as topoisomerasas I e II, assim como proteínas envolvidas na polimerização da tubulina, o que impede a progressão normal do ciclo celular e a replicação do DNA (Ji et al., 2017). Como resultado, as células cancerígenas expostas aos compostos de 1,2,3-triazol e ftalimida entram em apoptose devido à incapacidade de reparar os danos extensivos ao DNA e à interrupção de processos vitais para a divisão celular (Bhat, 2024). Adicionalmente, Mohamed e seus colaboradores (2023) não observaram danos significativos ao DNA em células normais, sugerindo que os compostos 1,2,3-triazol têm uma ação seletiva contra células tumorais. Essa seletividade é altamente desejável em terapias anticancerígenas, pois minimiza os efeitos colaterais em tecidos saudáveis (Ioele et al., 2022). As células normais, por apresentarem taxas de proliferação mais lentas e mecanismos de reparo de DNA mais eficientes, são menos suscetíveis aos efeitos genotóxicos dessa classe de compostos (Andrioli et al 2023). Assim, enquanto as células cancerígenas sofrem danos acentuados, às células normais permanecem relativamente preservadas (Liang et., 2021).

Desse modo, a combinação de 1,2,3-triazol e ftalimida não só potencializa a capacidade de induzir danos ao DNA em células cancerígenas, como também oferece uma ação seletiva e menos tóxica em células normais (Guo, et al., 2021). Esses resultados indicam que esses compostos possuem potencial para o desenvolvimento

de novos agentes terapêuticos contra o câncer, direcionando o tratamento de forma mais eficaz e segura (Mohamed et al., 2023).

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, o estudo avaliou a atividade citotóxica, genotóxica e mutagênica dos compostos híbridos 1,2,3-triazol e ftalimida. Os compostos **061** e **069** foram avaliados em linhagens celulares normais (L929) e cancerígenas (HL-60). O objetivo de avaliar a atividade citotóxica foi atingido, evidenciando a eficácia dos compostos em células cancerígenas, com destaque para o composto **069**, que apresentou maior seletividade. No entanto, a genotoxicidade observada em ambas as linhagens celulares, especialmente em células normais para o composto **061**, sinaliza a necessidade de atenção na avaliação de sua segurança biológica. O objetivo de investigar os efeitos genotóxicos e mutagênicos foi parcialmente atendido, visto que, ambos os compostos induziram alterações genéticas significativas em células cancerígenas, embora com perfis distintos de genotoxicidade entre as linhagens. O composto **069** mostrou maior segurança em células normais, e maior poder mutagenico e genotóxico nas células cancerígenas, mas com seletividade citotóxica reduzida em comparação ao composto **061**. Por fim, os resultados indicam que, embora ambos os compostos tenham potencial antineoplásico, enfrentam desafios específicos relacionados à genotoxicidade e à eficácia. Esses achados ressaltam a importância de estudos adicionais para entender melhor o mecanismo de ação desses híbridos e para otimizar a segurança biológica de futuros tratamentos anticâncer.

REFERÊNCIAS

AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 73, n. 1, p. 17–48, 2023. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>. Acesso em: 23 dez. 2024.

AMERICAN CANCER SOCIETY(ACS). **How Radiation Therapy Is Used to Treat Cancer**. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/radiation/basics.html#:~:text=Your%20cells%20normally%20grow%20and,an d%20cause%20them%20to%20die>. Acesso em: 21 dez. 2024.

AHMADI, H. et al., Metronidazole delivery strategies: Optimizing cancer therapy through novel approaches for enhanced delivery, cytotoxicity, and side effect reduction. **European Journal of Medicinal Chemistry Reports**, v. 12, p. 1–10, 2024

ASMA, S. T. et al., Natural products/bioactive compounds as a source of anticancer drugs. **Cancers**, v. 14, n. 24, p. 1-13, 2022.

ALHMOUD, J. F. et al. DNA Damage/Repair Management in Cancers. **Cancers**, vol. 12, n. 4, p. 1050, 2020.

ALBERTS, B. Biologia molecular da célula. 6 ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2017.

ALBERTINI, R. J., KADEN, D. A. Mutagenicity monitoring in humans: Global versus specific origin of mutations. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, vol. 786, 2020.

ANDRIOLI, N. B., et al. Genotoxic Effects Induced for Sub-cytotoxic Concentrations of Tebuconazole Fungicide in HEp-2 Cell Line. **Chemico-Biological Interactions**, vol. 373, p. 1-6, 2023.

ANAND, U.; DEY, A.; CHANDEL, A. K. S. et al., Cancer chemotherapy and beyond: current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. **Genes & Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1367-1401, 2022.

ALENIUS, H., CATALÁN, J., LINDBERG, H., NORPPA, H., PALOMÄKI, J., SAVOLAINEN, K. Chapter 3 - Nanomaterials and Human Health. In: VOGEL, U., SAVOLAINEN, K., WU, Q., VAN TONGEREN, M., BROUWER, D., BERGES, M. **Handbook of Nanosafety**. Amsterdam: Academic Press, 2014. p. 59-133.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos: versão 2. Brasília, 2024**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/pesquisa-clinica/manuais-e-guias/guia-para-a-conducao-de-estudos-nao-clinicos-de-toxicologia-e-seguranca-farmacologica-necessarios-ao-desenvolvimento-de-medicamentos-versao-2.pdf/view>. Acesso em: 22 dez. 2024.

ARFIN, S. et al., Oxidative Stress in Cancer Cell Metabolism. **Antioxidants**, vol. 10, n. 5, p. 1-28, 2021.

ASWATHANARAYANAPPA, C. et al. Synthesis and Evaluation of Antioxidant Properties of Novel 1,2,4-Triazole-Based Schiff Base Heterocycles. **Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences**, v. 346, n. 11, p. 922–930, 2013.

BALMAIN, A. The critical roles of somatic mutations and environmental tumor-promoting agents in cancer risk. **Nature Genetics**, v. 52, p. 1139–1143, 2020.

BAJAJ, J.; DIAZ, E.; REYA, T. Stem cells in cancer initiation and progression. **Journal of Cell Biology**, , v. 219, n. 1, p. 1-12, 2020.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263, 2024

BHAT, A. A. An Outlook of the Structure Activity Relationship (SAR) of Naphthalimide Derivatives as Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 96–116, 2024.

BELLUTI, S. et al., Potent anti-cancer properties of phthalimide-based curcumin derivatives on prostate tumor cells. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 1, p. 28, 2019.

BEEDANAGARI, S. 4.11 - Genetic Toxicology. In: CHACKALAMANNIL, Samuel, ROTELLA, David, WARD, Simon E. **Comprehensive Medicinal Chemistry III**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 195-203.

BOZOROV, K. et al., 1,2,3-Triazole-containing Hybrids as Leads In Medicinal Chemistry: A recent overview. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 27, n. 16, 2019.

BOSE, A; DATTA, S; MANDAL, R; et al., Increased heterogeneity in expression of genes associated with cancer progression and drug resistance. **Translational Oncology**, v. 41, p. 1-17, 2024.

BYRNE, S. et al., Elina. Lifestyle, genetic risk and incidence of cancer: a prospective cohort study of 13 cancer types. **International Journal of Epidemiology**, v. 52, n. 3, p. 817–826, 2023.

CHUMSRI, S. et al., Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 125, n. 1-2, p. 13-22, 2011.

CHOWDHURI, Supratim; CHANDERBHAN, Ronald; MATTIA, Antonia. **Carcinogenesis: Mechanisms and Models**. In: GUPTA, Ramesh C. (Ed.). *Veterinary Toxicology* (3. ed.). San Diego: Academic Press, 2018. p. 339-354.

DUNKENBERGER, L., REISS, K., DEL VALLE, L. Comet Assay for the Detection of Single and Double-Strand DNA Breaks. In: DEL VALLE, L. (ed.) **Immunohistochemistry and Immunocytochemistry. Methods in Molecular Biology**, vol. 2422. New York: Humana, 2022. p. 263-269.

EUROPEAN COMMISSION. Carcinogenicity: **validated test methods for health effects**. Disponível em: https://joint-research-centre.ec.europa.eu/reference-measurement/european-union-reference-laboratories/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam/alternative-methods-toxicity-testing/validated-test-methods-health-effects/carcinogenicity_en. Acesso em: 21 dez. 2024.

FARABAUGH, C S. et al. In vitro micronucleus assay: Method for assessment of nanomaterials using cytochalasin B. **Frontiers in Toxicology**, vol. 5, p. 1-5, 2023.

FISHBEIN, A. et al., Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 218, p. 1 - 36, 2021.

FINCH, G.L., BURNS-NAAS, L.A. Cancer Chemotherapeutic Agents. In: WEXLER, Philip. *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition). Amsterdam: Academic Press, 2014. p. 630-641.

FOROUGHBAKHSHFASAEI, M. et al., Comparative Chiral Separation Of Thalidomide Class Of Drugs Using Polysaccharide-type Stationary Phases With Emphasis On Elution Order And Hysteresis In Polar Organic Mode. **Molecules**, v. 27, p. 1-14, 2022.

Garg, Pankaj Et Al., Emerging Therapeutic Strategies to Overcome Drug Resistance in Cancer Cells.” **Cancers**, vol. 16, n. 13, 2024,

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, 2021. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>.

GHEMRAWI, R. et al., Revolutionizing cancer treatment: recent advances in immunotherapy. **Biomedicines**, v. 12, n. 9, p. 1-26, 2024.

GUO, H. et al. Application of triazoles in the structural modification of natural products. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, vol. 36, n. 1, p. 1115-1144, 2021.

GÜZEL, E., et al., Low Symmetry Solitaire- and Trans-Functional Porphyrazine/Phthalocyanine Hybrid Complexes: Synthesis, Isolation, Characterization, and Electrochemical and In-Situ Spectroelectrochemical Properties. **Synthetic Metals**, vol. 262, p. 1-11, 2020.

GONZALEZ, H.; HAGERLING, C.; WERB, Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. **Genes & Development**, v. 32, n. 19-20, p. 1267-1284, 2018.

HANAHAN, D. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 2022.

HERCEG, Z., & HAINAUT, P. Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. **Molecular oncology**, n.1. v 1, p. 26–41, 2007.

HUANG, R.; ZHOU, P. K. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. **SIG Transduct Target Ther**, v. 6, p. 254, 2021.

IHMAID, S, K. et al., Design of molecular hybrids of phthalimide-triazole agents with potent selective MCF-7/HepG2 cytotoxicity: Synthesis, EGFR inhibitory effect, and metabolic stability, **Bioorganic Chemistry**, v. 111, p. 1-14, 2021.

IOELE, G. et al. Anticancer Drugs: Recent Strategies to Improve Stability Profile, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties. **Molecules**, vol. 27, n. 17, p. 1-23, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Câncer: **INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>. Acesso em: 12 dez. 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Estatísticas de câncer**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>. Acesso em: 21 dez. 2024.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **New report on global cancer burden in 2022 by world region and human development level**. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/news-events/new-report-on-global-cancer-burden-in-2022-by-world-region-and-human-development-level/>. Acesso em: 12 dez. 2024.

Jl, L. et al. A novel triazolonaphthalimide induces apoptosis and inhibits tumor growth by targeting DNA and DNA-associated processes. **Oncotarget**, vol. 8, n. 23, p. 37394-37408, 2017.

KHATAB, H.A. et al. Synthesis and cytotoxicity evaluation of novel 1,8-acridinedione derivatives bearing phthalimide moiety as potential antitumor agents. **Scientific Reports**, v. 13, p. 1-23, 2023.

LABI, V.; ERLACHER, M. Como a morte celular molda o câncer. **Cell Death & Disease**, v. 6, p. e1675, 2015.

LEMAIRE, V.; SHEMESH, C. S.; ROTTE, A. Pharmacology-based ranking of anti-cancer drugs to guide clinical development of cancer immunotherapy combinations. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 40, p. 1-17, 2021.

LETAI, A Cell death and cancer therapy: don't forget to kill the cancer cell. **Clinical Cancer Research**, v. 21, n. 22, p. 5015-5020, 2015.

LI, L. et al., DNA Repair Pathways in Cancer Therapy and Resistance. **Frontiers in Pharmacology**, vol. 11, p. 1–13, 2021.

LI, Q. et al. A new wave of innovations within the DNA damage response. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 338, p. 1-26, 2023.

LIANG, T., et al., 1,2,3-Triazole-Containing Compounds as Anti-Lung Cancer Agents: Current Developments, Mechanisms of Action, and Structure-Activity Relationship. **Frontiers**, v. 12, p. 1-20, 2021.

LIU, J. et al., 2018. Current research on anti-breast cancer synthetic compounds. **The Royal Society of Chemistry**, v. 8, p. 4386–4416, 2018.

LUZZATTO, L. Somatic mutations in cancer development. **Environmental Health: A Global Access Science Source**, v. 10, p. 1-11, 2011.

MARINO, Pasquale; et al. Healthy lifestyle and cancer risk: modifiable risk factors to prevent cancer. **Nutrients**, [s.l.], v. 16, n. 6, p. 1-28, 11 mar. 2024.

MARU, G.B., KUMAR, G., GHANTASALA, S., TAJPARA, P. Polyphenol-Mediated In Vivo Cellular Responses during Carcinogenesis. In: WATSON, Ronald Ross, PREEDY, Victor R., ZIBADI, Sherma. **Polyphenols in Human Health and Disease**. Amsterdam: Academic Press, 2014. p. 1141-1179.

MILLER, K. D.; NOGUEIRA, Leticia; DEVASIA, Theresa; et al., Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 73, n. 1, p. 17-48, 2022.

MOHAMED, H. H. H. et al. New 1,2,3-triazole linked ciprofloxacin-chalcones induce DNA damage by inhibiting human topoisomerase I& II and tubulin polymerization. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, vol. 37, p. 11346-1363, 2023.

MILES, B & TADI, P. Genetics, **Somatic Mutation**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, vol. 65, p. 1-2, 1983.

NITISS, J. L. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 9, n. 5, p. 338-350, 2009.

NGOMA, T.A., NGOMA, M. . Global Burden of Cancer. In: Kickbusch, I., Ganten, D., Moeti, M. (eds) **Handbook of Global Health**. Springer, Cham, 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS.). **OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>. Acesso em: 12 dez. 2024.

PRADIPTA, A. R., et al. Targeted 1,3-Dipolar Cycloaddition with Acrolein for Cancer Prodrug Activation. **Chemical Science**, vol. 12, p. 5438–5449, 2021.

RAMAZI, S., A. et al. Synergistic cytotoxic effects of an extremely low-frequency electromagnetic field with doxorubicin on MCF-7 cell line. **Scientific Reports**, v. 13, p. 1-13, 2023.

RAMMOHAN, A. et al., Comprehensive review on natural pharmacophore tethered 1, 2, 3-triazoles as active pharmaceuticals. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 101, n. 5, p. 1181-1203, 2023.

SINGH, Ranjit; MALHOTRA, Anjleena; BANSAL, Ranju. Synthetic cytotoxic drugs as cancer chemotherapeutic agents. In: ACHARYA, Pratap Chandra; KUROSU, Michio (Eds.). **Medicinal Chemistry of Chemotherapeutic Agents**. 1. ed. Academic Press, 2023. p. 499-537.

SHANKARAIAH, N. et al, A. Design and synthesis of C3-tethered 1,2,3-triazolo- β -carboline derivatives: Anticancer activity, DNA-binding ability, viscosity, and molecular modeling studies. **Bioorganic chemistry**, v. 64, p. 42-50, 2016.

SHAMS, Muhammad; et al. Oncological horizons: the synergy of medical and surgical innovations in cancer treatment. **Cureus**, v. 15, n. 11, p. 1-7, 2023.

SCUDIERO, D. et al., Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. **Cancer Research**, v. 48, p. 4827–4833, 1988.

SHARIFI-RAD, J. et al., Natural Products and Synthetic Analogs as a Source of Antitumor Drugs. **Biomolecules**, v. 11, n. 1, p. 01-52, 2019.

SCHOLAR, Eric. Antimetabolites. In: ENNA, S. J.; BYLUND, David B. (Eds.). xPharm: **The Comprehensive Pharmacology Reference**. Elsevier, 2007. p. 1-4.

SINGH, Ranjit; MALHOTRA, Anjleena; BANSAL, Ranju. **Synthetic cytotoxic drugs as cancer chemotherapeutic agents**. In: ACHARYA, Pratap Chandra; KUROSU, Michio (Eds.). **Medicinal Chemistry of Chemotherapeutic Agents**. 1. ed. Academic Press, 2023. p. 499-537.

TORGOVNICK, A. & SCHUMACHER, B. DNA Repair Mechanisms in Cancer Development and Therapy. **Frontiers in Genetics**, vol. 6, p. 1–15, 2015.

TURKEZ, H.;ARSLAN, M. E.; OZDEMIR, O. Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v.13, n.10, p.1089–1098, 2017.

WEERAPREEYAKUL, N. et al. Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. **Chinese Medicine**, v. 7, n. 1, p. 15, 2012.

THOMAS, Dean N. et al., Ames test study designs for nitrosamine mutagenicity testing: qualitative and quantitative analysis of key assay parameters. **Mutagenesis**, vol. 39, n. 2, p. 78-95, 2024

HARTWIG, Andrea et al., Mode of action-based risk assessment of genotoxic carcinogens. **Archives of Toxicology**, vol. 94, n. 6, p. 1787-1877, 2020

CHACKALAMANNIL, S, ROTELLA, D, WARD, S. E. 4.11 - Genetic Toxicology. In: **Comprehensive Medicinal Chemistry III**. Amsterdam: Elsevier, p. 195-203, 2017

WESSEL, G.M., MORITA, S., OULHEN, N. Somatic cell conversion to a germ cell lineage: A violation or a revelation? **Journal of Experimental Zoology**, vol. 336, p. 666–679, 2021,

SUNDAR, Rajesh, JAIN, Mukul R., VALANI, Darshan. Chapter Ten - Mutagenicity Testing: Regulatory Guidelines and Current Needs. In: KUMAR, Ashutosh, DOBROVOLSKY, Vasily N., DHAWAN, Alok, SHANKER, Rishi. **Mutagenicity: Assays and Applications**. Amsterdam: Academic Press, 2018, p. 191-228.

SUN, Chen; et al. PARP inhibitors combined with radiotherapy: are we ready? **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1-14, 2023.

REN, N. et al., The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications. **Journal of translational medicine**, vol.15, n.1, p. 1-13, 2017

KOYA, A. I.; IBRAHIM, S. A. **Carcinogenesis**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

SEUKEP, A. J. Genotoxicity and Teratogenicity of African Medicinal Plants. In: Camarões, V. **Toxicological Survey of African Medicinal Plants**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 235-275.

SUNG, H; FERLAY, J; SIEGEL, R. 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, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global cancer burden growing, amidst mounting need for services**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: 12 dez 2024.

WANG, S. S. Y.; JIE, Y. E.; CHENG, S. et al., PARP inhibitors in breast and ovarian cancer. **Cancers**, v. 15, n. 8, p. 2357, 18 abr. 2023.

WYSOCKI, M. et al., Porphyrizine/Phthalocyanine Hybrid Complexes – Antibacterial and Anticancer Photodynamic and Sonodynamic Activity. **Synthetic Metals**, vol. 299, p. 1–11, 2023.

ZHAO, S. et al. Recent updates on 1,2,3-triazole-containing hybrids with in vivo therapeutic potential against cancers: A mini-review. **European journal of medicinal chemistry**, vol. 251, p. 1-10, 2023.

ZHANG, S. et al., Tumor initiation and early tumorigenesis: molecular mechanisms and interventional targets. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 9, p. 1- 36, 2024.

ZHU, Xiao; LI, Shi; XU, Bairui; LUO, Hui. Cancer evolution: A means by which tumors evade treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, 2021.

ZHANG, Chunyu et al. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. **Theranostics**, v. 12, n. 5, p. 2115–2132, 2022.

ZHOU, J.; KANG, Y.; CHEN, L. et al., The drug-resistance mechanisms of five platinum-based antitumor agents. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 1-17, 2020.