

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de **11/03/2027**.

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DE
COMPOSTOS PURIFICADOS DA ALGA VERMELHA
Laurencia aldingensis EM GLIOBLASTOMA**

DIOGO CHERNIESKI

SÃO VICENTE – SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO* DE
COMPOSTOS PURIFICADOS DA ALGA VERMELHA
Laurencia aldingensis EM GLIOBLASTOMA**

DIOGO CHERNIESKI

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ FELIPE DOMINGUES PASSERO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus do Litoral Paulista, UNESP, para obtenção
do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Biodiversidade de Ambientes Costeiros.

São Vicente - SP
2025

C521a Chernieski, Diogo
Avaliação da atividade antitumoral in vitro de compostos purificados da alga vermelha *Laurencia aldingensis* em glioblastoma / Diogo Chernieski. -- São Vicente, 2025
60 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente
Orientador: Luiz Felipe Domingues Passero

1. Glioblastoma multiforme. 2. Laurencia. 3. Produtos naturais. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha companheira, Dáfini Letícia Bruno, pelo apoio emocional, carinho e incentivo. Nossas conversas contribuíram imensamente para meu crescimento pessoal e intelectual ao longo destes anos.

Aos meus pais, sou profundamente grato pelo amor incondicional, pelos valores transmitidos e pelo apoio em todas as etapas da minha vida. A educação que recebi em casa foi o alicerce que sustentou minha trajetória e tornou esta conquista possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Felipe Domingues Passero, expressei meu sincero agradecimento pelos ensinamentos, orientações e, sobretudo, pela paciência, amizade e dedicação demonstradas durante todo o desenvolvimento deste projeto.

Aos colegas e amigos do IEAMar – UNESP, deixo minha mais sincera gratidão. Em especial, à Profa. Dra. Gabriela Hurtado, sou profundamente grato pela confiança depositada e pelo incentivo à execução deste projeto. Também expressei meu agradecimento à Profa. Dra. Patrícia Santiago, Gisele Fernandes, Michel Severo, Dona Lourdes e Dona Paula, cuja parceria, amizade e apoio incondicional foram fundamentais ao longo desta trajetória.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), agradeço ao apoio financeiro concedido por meio do processo nº 2023/01641-1. Tal suporte foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa, permitindo a condução dos experimentos e a obtenção dos resultados apresentados neste trabalho.

RESUMO

Os glioblastomas são tumores cerebrais agressivos e invasivos, com baixa taxa de resposta às terapias convencionais. A necessidade de novas abordagens terapêuticas tem impulsionado a pesquisa com produtos naturais, incluindo metabólitos secundários de algas marinhas. Neste estudo, foi avaliada a atividade antitumoral *in vitro* dos sesquiterpenos bromados 5-(S)-hidroxicaespitol (C1), hemiacetal (C2) e caespitol (C3), isolados da alga vermelha *Laurencia aldingensis*, em linhagens de glioblastoma. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada nas linhagens A172, U251 e U87-MG, além da linhagem não tumoral de fibroblastos L-929. O composto C1 foi citotóxico a todas as linhagens tumorais, com os menores valores de CC_{50} : $16,63 \pm 2,53 \mu\text{g/mL}$ (U87-MG, 24h), $19,80 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$ (A172, 24h) e $20,68 \pm 7,27 \mu\text{g/mL}$ (U251, 48h). Os compostos C2 e C3 demonstraram atividade preferencial na linhagem U251, com CC_{50} de $22,29 \pm 1,70 \mu\text{g/mL}$ (24h) e $13,62 \pm 4,88 \mu\text{g/mL}$ (24h), respectivamente. Nenhum dos compostos apresentou toxicidade significativa para fibroblastos ($CC_{50} > 40 \mu\text{g/mL}$), resultando em índices de seletividade acima de 1,8 (IS $> 2,41$ para C1 em U87-MG, $>1,80$ para C2 em U251 e $>2,94$ para C3 em U251). Ensaio funcionais indicaram que C1 inibiu significativamente a recolonização celular da linhagem U87-MG e reduziu o potencial de membrana mitocondrial sem causar danos diretos à membrana plasmática ou fragmentação de DNA, sugerindo um mecanismo de morte celular via disfunção mitocondrial. O composto C2 demonstrou citotoxicidade na linhagem U251. Já o C3 apresentou maior ação citotóxica na linhagem U251 e um alto índice de seletividade, sugerindo um mecanismo alternativo de morte celular além dos testados neste estudo. Os achados reforçam o potencial de *Laurencia aldingensis* como fonte de novos agentes citotóxicos seletivos para glioblastomas, com o composto C1 se destacando como um candidato promissor para terapias alternativas, enquanto C2 e C3 apresentam potencial para aplicações específicas em subtipos tumorais altamente invasivos.

Palavras-chave: Glioblastoma multiforme. *Laurencia*. Produtos naturais.

ABSTRACT

Glioblastomas are aggressive and invasive brain tumors with limited response rates to conventional therapies. The search for new therapeutic approaches has led to investigations of natural products, including marine algae-derived secondary metabolites. In this study, we evaluated the *in vitro* antitumor activity of the brominated sesquiterpenes 5-(S)-hydroxycaespitol (C1), hemiacetal (C2), and caespitol (C3), isolated from the red alga *Laurencia aldingensis*, against glioblastoma cell lines. Cytotoxicity assays were conducted on A172, U251, and U87-MG glioblastoma cells, as well as on non-tumoral fibroblasts (L-929). C1 exhibited the highest cytotoxic activity, with CC_{50} values of $16.63 \pm 2.53 \mu\text{g/mL}$ (U87-MG, 24h), $19.80 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$ (A172, 24h), and $20.68 \pm 7.27 \mu\text{g/mL}$ (U251, 48h). C2 and C3 selectively targeted U251 cells, with CC_{50} values of $22.29 \pm 1.70 \mu\text{g/mL}$ (C2, 24h) and $13.62 \pm 4.88 \mu\text{g/mL}$ (C3, 24h). None of the compounds exhibited significant toxicity to fibroblasts ($CC_{50} > 40 \mu\text{g/mL}$), resulting in high selectivity indices (SI > 2.41 for C1 in U87-MG, >1.80 for C2 in U251, and >2.94 for C3 in U251). Functional assays demonstrated that C1 significantly inhibited cell recolonization in U87-MG and reduced mitochondrial membrane potential without causing direct plasma membrane damage or DNA fragmentation, suggesting a mitochondria-mediated cytotoxic mechanism. C2 and C3 exhibited selective cytotoxicity against U251 cells, with C3 showing the highest selectivity index, suggesting an alternative cell death mechanism beyond those tested in this study. These findings highlight *Laurencia aldingensis* as a promising source of selective cytotoxic agents for glioblastoma treatment, with C1 emerging as a strong candidate for alternative therapies, while C2 and C3 show potential for targeting highly invasive tumor subtypes.

Palavras-chave: Glioblastoma multiforme. *Laurencia*. Natural products.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação esquemática do mecanismo de ação da TMZ, quimioterápico utilizado na terapia de glioblastoma. A hidrolização da TMZ leva a formação do íon metildiazônio que é responsável por metilar as posições N7 da guanina (N7 – MeG), N3 da adenina (N3 – MeA) e O6 da guanina (O6 – MeG). Apenas a metilação da posição O6 da guanina é considerada a etapa letal e mediadora da ação citotóxica da TMZ. Figura adaptada de (ORTIZ et al., 2020). 4
- Figura 2 – Estimativas de sobrevivência geral pelo método de Kaplan-Meier em relação ao grupo de tratamento. Adaptado de STUPP et al. (2005). 5
- Figura 3 – Exemplos de plantas terrestres que são fontes de compostos com propriedades antitumorais. *Taxus brevifolia* (Taxaceae), fonte do paclitaxel. *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), planta que produz vincristina e vimblastina. *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), fonte da camptotecina. Abaixo, estão representadas as estruturas químicas dos compostos paclitaxel, vincristina, vimblastina e camptotecina. Fonte: Adaptadas de <https://www.worldfloraonline.org/>, <https://powo.science.kew.org/> e <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. 7
- Figura 4 – Alga vermelha *Laurencia aldingensis*. Escala 1 cm. Adaptada de CASSANO et al. (2009). 11
- Figura 5 – Estruturas químicas dos compostos isolados da alga vermelha *Laurencia aldingensis*: (1) Aldingenina A (5-(S)-hydroxycaespitol), (2) Aldingenina B (hemiacetal) e (3) Aldingenina C (caespitol). Adaptada de MUKHINA et al. (2015). 12
- Figura 6 – Radar de biodisponibilidade para os compostos 1, 2 e 3. A área rosa representa os intervalos ideais para propriedades físico-químicas de fármacos (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017a; LIPINSKI et al., 2001). Esses parâmetros englobam: lipofilicidade (“LIPO”, XLOGP3 entre -0,7 e +5,0), tamanho (“SIZE”, massa molecular entre 150 e 500 g/mol), polaridade (“POLAR”, TPSA entre 20 e 130 Å²), solubilidade (“INSOLU”, LogS entre 0 e -6), saturação (“INSATU”, fração de carbonos em hibridização sp³ de pelo menos 0,25) e flexibilidade (“FLEX”, no máximo 9 ligações rotacionais). Os gráficos demonstram que os compostos 1, 2 e 3 atendem aos critérios de biodisponibilidade oral. 21
- Figura 7 – Representação gráfica BOILED-Egg apresentada pelo software SwissADME na qual os pontos vermelhos representam os compostos 1, 2 e 3. A área branca do gráfico (“clara”)

corresponde à região de alta probabilidade de absorção passiva pelo trato gastrointestinal (HIA - *High Intestinal Absorption*), enquanto a região amarela (“gema”) representa uma alta probabilidade de penetração na barreira hemato encefálica (BBB – *Blood-Brain Barrier*) Os círculos em vermelho (PGP-) indicativo de compostos que não são reconhecidos ou transportados pela P-glicoproteína. 22

Figura 8 – Curvas da atividade dose-resposta induzidas pelos compostos 1, 2, 3 na linhagem celular A172 após 24 (A), 48 (B) e 72 horas (C) de incubação. Todas as linhagens celulares foram plaqueadas a 5×10^4 células/mL em placas de 96 poços e incubadas com sete diferentes concentrações dos compostos 1, 2 e 3 (0,625 a 40 $\mu\text{g/mL}$). As linhagens celulares também foram tratadas com a TMZ (6,07 a 388,30 $\mu\text{g/mL}$) a 24 (D), 48 (E) e 72 horas (F) como um controle de tratamento. A viabilidade celular foi mensurada utilizando resazurina (5%) e a fluorescência analisada em 544 nm (excitação) e 590-10 nm (emissão). Os resultados foram repetidos três vezes em triplicata. expressa em média e erro padrão, resultantes da avaliação da viabilidade celular após tratamento com compostos 1, 2 e 3 e Temozolomida (TMZ). 24

Figura 9 – Curvas da atividade dose-resposta induzidas pelos compostos 1, 2, 3 na linhagem celular U251 após 24 (A), 48 (B) e 72 horas (C) de incubação. Todas as linhagens celulares foram plaqueadas a 5×10^4 células/mL em placas de 96 poços e incubadas com sete diferentes concentrações dos compostos 1, 2 e 3 (0,625 a 40 $\mu\text{g/mL}$). As linhagens celulares também foram tratadas com a TMZ (6,07 a 388,30 $\mu\text{g/mL}$) a 24 (D), 48 (E) e 72 horas (F) como um controle de tratamento. A viabilidade celular foi mensurada utilizando resazurina (5%) e a fluorescência analisada em 544 nm (excitação) e 590-10 nm (emissão). Os resultados foram repetidos três vezes em triplicata. expressa em média e erro padrão, resultantes da avaliação da viabilidade celular após tratamento com compostos 1, 2 e 3 e Temozolomida (TMZ). 26

Figura 10 – Curvas da atividade dose-resposta induzidas pelos compostos 1, 2, 3 na linhagem celular U87- MG após 24 (A), 48 (B) e 72 horas(C) de incubação. Todas as linhagens celulares foram plaqueadas a 5×10^4 células/mL em placas de 96 poços e incubadas com sete diferentes concentrações dos compostos 1, 2 e 3 (0,625 a 40 $\mu\text{g/mL}$). As linhagens celulares também foram tratadas com a TMZ (6,07 a 388,30 $\mu\text{g/mL}$) a 24 (D), 48 (E) e 72 horas (F) como um controle de tratamento. A viabilidade celular foi mensurada utilizando resazurina (5%) e a fluorescência analisada em 544 nm (excitação) e 590-10 nm (emissão). Os resultados foram repetidos três vezes em triplicata. expressa em média e erro padrão, resultantes da avaliação da viabilidade celular após tratamento com compostos 1, 2 e 3 e Temozolomida (TMZ). 29

Figura 11 – Curvas da atividade dose-resposta induzidas pelos compostos 1, 2, 3 na linhagem celular de fibroblasto após 24 (A), 48 (B) e 72 horas (C) de incubação. Todas as linhagens celulares foram plaqueadas a 5×10^4 células/mL em placas de 96 poços e incubadas com sete diferentes concentrações dos compostos 1, 2 e 3 (0,625 a 40 $\mu\text{g/mL}$). As linhagens celulares também foram tratadas com o TMZ (6,07 a 388,30 $\mu\text{g/mL}$) a 24 (D), 48 (E) e 72 horas (F) como um controle de tratamento. A viabilidade celular foi mensurada utilizando resazurina (5%) e a fluorescência analisada em 544 nm (excitação) e 590-10 nm (emissão). Os resultados foram repetidos três vezes em triplicata. expressa em média e erro padrão, resultantes da avaliação da viabilidade celular após tratamento com compostos 1, 2 e 3 e Temozolomida (TMZ). 31

Figura 12 – Análise da recolonização das células da linhagem U87-MG após tratamento com o composto 1 (C1) e temozolomida (TMZ). O gráfico em (A) representa a distância média entre as células ao longo de 72 horas de tratamento. As imagens (B-D) mostram as células controle em 24, 48 e 72 horas, respectivamente, evidenciando uma progressiva recolonização da área lesada. As imagens (F-H) ilustram as células tratadas com C1 nas mesmas condições de tempo, destacando a inibição da recolonização ao longo das 72 horas. Nas imagens (J-L), observa-se o efeito inibitório da TMZ sobre a recolonização celular. Por fim, as imagens fluorescentes (E, I, M), utilizando o corante Hoechst após 72 horas, confirmam a menor densidade celular nos grupos tratados com C1 e TMZ em comparação ao controle..... 40

Figura 13 – Efeito do composto 1 (C1) e do FCCP (fluorocarbonil-cianeto fenilhidrazona) no potencial de transmembrana mitocondrial em células de glioblastoma U87-MG ao longo do tempo. As barras representam a fluorescência relativa ao controle, expressa em porcentagem, após 90 minutos, 180 minutos e 360 minutos de exposição. Os tratamentos incluíram o controle, FCCP (40 μM) e o composto 1. Os valores são expressos como média \pm desvio padrão. Asteriscos representam ($p < 0,05$). 41

Figura 14 – Efeito do composto 2 (C2), Temozolomida (TMZ) e do FCCP (fluorocarbonil-cianeto fenilhidrazona) no potencial de transmembrana mitocondrial em células de glioblastoma U251 ao longo do tempo. As barras representam a fluorescência relativa ao controle, expressa em porcentagem, após 5, 15, 30, 60 minutos de exposição. Os tratamentos incluíram o controle, FCCP (40 μM) e o composto 2 e TMZ (fármaco padrão). Os valores são expressos como média \pm desvio padrão. Asteriscos representam ($p < 0,05$) em relação ao controle. 42

Figura 15 – Efeito do composto 3 (C3), Temozolomida (TMZ) e do FCCP (fluorocarbonil-cianeto fenilhidrazona) no potencial de transmembrana mitocondrial em células de

glioblastoma U251 ao longo do tempo. As barras representam a fluorescência relativa ao controle, expressa em porcentagem, após 5, 15, 30, 60 minutos de exposição. Os tratamentos incluíram o controle, FCCP (40 μ M) e o composto 3 e TMZ (fármaco padrão). Os valores são expressos como média \pm desvio padrão. Asteriscos representam ($p < 0,05$) em relação ao controle.43

Figura 16 – Avaliação da integridade da membrana plasmática de células de glioblastoma U87-MG após tratamento com o composto 1 (C1) e Triton X-100. As células foram expostas à concentração de $2 \times CC_{50}$ do composto 1 e ao Triton X-100 (1:200) por períodos de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas. O aumento da fluorescência do SYTOX Green® relativa ao controle indica permeabilização da membrana plasmática. Asteriscos representam ($P < 0,05$).46

Figura 17 – Avaliação da integridade da membrana plasmática de células de glioblastoma U251 após tratamento com os compostos 2 (C2), TMZ e Triton X-100. As células foram expostas à concentração CC_{50} do compostos 2 e 3 e ao Triton X-100 (1:200) por períodos de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 120 minutos. O aumento da fluorescência do SYTOX Green® relativa ao controle indica permeabilização da membrana plasmática. Asteriscos representam ($P < 0,05$).47

Figura 18 – Avaliação da integridade da membrana plasmática de células de glioblastoma U251 após tratamento com os compostos 3 (C3), TMZ e Triton X-100. As células foram expostas à concentração CC_{50} do compostos 2 e 3 e ao Triton X-100 (1:200) por períodos de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos e 120 minutos. O aumento da fluorescência do SYTOX Green® relativa ao controle indica permeabilização da membrana plasmática. Asteriscos representam ($P < 0,05$).48

Figura 19 – Análise da fragmentação de DNA em células tumorais da linhagem U87-MG tratadas com C1 e TMZ por 24, 48 e 72 horas. MM: marcador de massa molecular; CTL: controle; C1: composto 1; TMZ: Temozolomida.49

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – A tabela apresenta as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, *druglikeness* e química medicinal avaliadas para os compostos 1, 2 e 3 utilizando a ferramenta SwissADME. As propriedades físico-químicas incluem fórmula química, massa molecular, fração de carbonos sp³, número de ligações rotacionais, área de superfície polar (TPSA), solubilidade (modelo ESOL) e lipofilicidade (LogP – modelo XLOGP3). As propriedades farmacocinéticas englobam absorção gastrointestinal (alta), permeabilidade à barreira hematoencefálica (BBB) e interação com a P-glicoproteína (Pgp). Os critérios de *druglikeness* consideram as regras de Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge, enquanto os parâmetros de química medicinal incluem alertas de PAINS e Brenk, violações de leadlikeness e acessibilidade sintética. 20
- Tabela 2 – Valores de CC₅₀ foram calculados para a linhagem tumoral A172 incubada com os compostos 1, 2, 3 e TMZ por 24, 48 e 72 horas. A concentração citotóxica 50% (CC₅₀) foi estimada e expressa como a média ± desvio padrão. 25
- Tabela 3 – Valores de CC₅₀ foram calculados para a linhagem tumoral U251 incubada com os compostos 1, 2, 3 e TMZ por 24, 48 e 72 horas. A concentração citotóxica 50% (CC₅₀) foi estimada e expressa como a média ± desvio padrão. 27
- Tabela 4 – Valores de CC₅₀ foram calculados para a linhagem tumoral U87-MG incubada com os compostos 1, 2, 3 e TMZ por 24, 48 e 72 horas. A concentração citotóxica 50% (CC₅₀) foi estimada e expressa como a média ± desvio. 30
- Tabela 5 – Valores de CC₅₀ foram calculados para a linhagem normal de fibroblasto incubada com os compostos 1, 2, 3 e TMZ por 24, 48 e 72 horas. A concentração citotóxica 50% (CC₅₀) foi estimada e expressa como a média ± desvio. 32
- Tabela 6 – Linhagens tumorais (A172, U87-MG, U251) e normais (fibroblastos) foram incubados com os compostos 1, 2 e 3, por 24, 48 e 72 horas. O Índice de Seletividade (IS) foi calculado para a TMZ, C1, C2 e C3, para as diferentes linhagens tumorais A172, U87-MG, U251. Temozolomida (TMZ) é um medicamento padrão usado no tratamento do glioblastoma. Os índices de seletividade (IS) foram calculados usando a razão entre CC₅₀ para fibroblasto e CC₅₀ da linhagem tumoral. Não foi possível calcular a CC₅₀ exata dos compostos 1, 2 e 3 para o fibroblasto, pois não foi obtido viabilidade menor que 50%. Portanto, o IS foi calculado utilizando a concentração máxima testada para cada composto (40 µg/mL) e por isso o IS foi considerado maior que o valor calculado. N/D foi utilizado quando a CC₅₀ não foi atingida.. 34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Aspectos gerais do glioblastoma	1
1.2	Terapias empregadas em glioblastomas	3
1.3	Produtos naturais	6
1.4	Algas marinhas	8
1.5	<i>Laurencia aldingensis</i> SAITO, 1974.....	10
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1	Compostos utilizados.....	14
3.1.1	Isolamento e purificação dos compostos.....	14
3.1	Análise <i>in silico</i> de potencial farmacológico.....	15
3.2	Linhagens celulares	15
3.3	Análise da inibição do crescimento das células tumorais.....	16
3.4	Ensaio funcionais	16
3.4.1	Ensaio de recolonização.....	16
3.4.2	Avaliação dos danos na membrana plasmática	17
3.4.3	Avaliação de alteração do potencial de transmembrana mitocondrial	18
3.4.4	Análise da fragmentação de material genético	18
3.5	Análise estatística	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1	Análise <i>in silico</i> de potencial farmacológico.....	20
4.2	Análise da inibição do crescimento das células tumorais das linhagens A172, U251, U87-MG e de fibroblastos L-929.	23

4.3	Análise da recolonização de células tumorais da linhagem U87-MG.....	37
4.4	Avaliação de alteração do potencial de transmembrana mitocondrial	41
4.5	Avaliação dos danos na membrana plasmática	45
4.6	Análise da fragmentação de material genético	48
5	CONCLUSÕES	51
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais do glioblastoma

Câncer é um termo genérico utilizado para dar nome a um grupo de doenças que podem afetar qualquer tecido do organismo. Também chamado de tumor maligno ou neoplasma maligno, é uma doença caracterizada pela proliferação descontrolada de células transformadas, que evoluem por seleção natural, adquirindo características que favorecem sua sobrevivência e disseminação no organismo (BROWN et al., 2023). O câncer é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Em 2022, ocorreram cerca de vinte milhões de novos casos e dez milhões de mortes, ou seja, uma a cada seis mortes causadas por doenças não transmissíveis no mundo, representando um desafio significativo para a saúde pública mundial (BRAY et al., 2024).

O processo de desenvolvimento do câncer envolve uma série complexa de eventos que podem ser influenciados por fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida (BRAY et al., 2024). As alterações genéticas são majoritárias nesse processo, como as mutações em genes supressores de tumor, como TP53, e em genes reguladores de crescimento celular, como EGFR. Essas mutações levam a uma proliferação celular descontrolada e à resistência à morte celular programada (apoptose), comprometendo mecanismos naturais de supressão tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Adicionalmente, tais células têm grande capacidade de metastatizar, ou seja, de espalhar-se e invadir tecidos saudáveis em outras partes do organismo via sistema circulatório ou linfático. Durante esse processo, as células cancerígenas se despreendem do tumor primário, invadindo vasos sanguíneos ou linfáticos e estabelecendo colônias em locais distantes do corpo, formando metástases e comprometendo o funcionamento normal dos órgãos, esse processo torna o tratamento mais complexo, e reduz significativamente a chance de cura (SAN JUAN et al., 2019).

As diferentes alterações genéticas contribuem para a ampla variedade de tipos e subtipos de câncer, cada um com suas características próprias e que representam desafios únicos. Alguns dos tipos mais comuns incluem câncer de pulmão, responsável por 12,4% de todos os casos diagnosticados no mundo, seguido pelo câncer de mama (11,6%), colorretal (9,6%), próstata (7,3%) e estômago (5,7%). No entanto, existem muitos outros tipos que podem afetar diferentes órgãos e tecidos do corpo humano como pele, ovário e cérebro (BRAY et al., 2024).

Entre esses, os cânceres cerebrais são particularmente desafiadores devido à sua localização no sistema nervoso central (SNC) e à complexidade do tecido cerebral. Embora

menos frequentes, estão entre os dez tipos de câncer que mais matam no mundo, representando cerca de 3% das mortes por câncer. No Brasil, os tumores cerebrais são responsáveis anualmente por cerca de 10 mil casos e 9 mil mortes (PATEL et al., 2019; SIEGEL et al., 2023).

Os cânceres cerebrais podem ser classificados em tumores primários ou secundários. Os tumores primários têm origem no sistema nervoso central, enquanto os tumores secundários, também conhecidos como metástases cerebrais, resultam da disseminação de células tumorais provenientes de outros órgãos, sendo mais frequentemente associados a cânceres de pulmão, mama e colorretal (SAN JUAN et al., 2019; WEN; KESARI, 2008). Por outro lado, os tumores cerebrais primários, como os gliomas, podem se originar de células-tronco neurais indiferenciadas ou progenitores gliais que sofreram mutações genéticas ou epigenéticas. As alterações nos genes TP53 e RB1, que regulam o ciclo celular, e nos genes TERT, EGFR e PTEN, envolvidos na apoptose e crescimento celular, estão associadas a tumores altamente agressivos como os glioblastomas, ao passo que as mutações nos genes IDH1 e IDH2, envolvidos no metabolismo celular, são características de gliomas menos agressivos, associados a um melhor prognóstico (ALDAPE et al., 2015; BATISTA et al., 2014).

Alguns dos tipos mais comuns de tumores cerebrais primários incluem glioblastomas, meningiomas e outros gliomas. Os gliomas são um grupo de tumores cerebrais que se originam das células gliais (astrócitos, oligodendrócitos ou células endoteliais), que desempenham um papel de suporte e proteção no sistema nervoso central. O glioblastoma é o tipo mais comum de tumor cerebral maligno primário, representando aproximadamente 50,9% dos casos (BRAY et al., 2024; OSTROM et al., 2023).

De acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), o glioblastoma é um tumor de grau 4, sendo caracterizado por um crescimento rápido e invasivo, apresentando uma alta taxa de recorrência e um prognóstico desfavorável (JIN; JIN-LEE; JOHNSON, 2021; TORP; SOLHEIM; SKJULSVIK, 2022). A principal característica do glioblastoma é sua capacidade de infiltrar o tecido cerebral circundante, tornando-o difícil de ser completamente removido por meio de cirurgia. Além disso, o glioblastoma apresenta alta resistência aos tratamentos convencionais, como a radioterapia e a quimioterapia. Essa resistência contribui para a alta taxa de recorrência e a baixa sobrevida média dos pacientes, que varia entre 12 e 15 meses após o diagnóstico (LOUIS et al., 2021; TORP; SOLHEIM; SKJULSVIK, 2022).

Os sintomas relacionados ao glioblastoma podem variar dependendo da localização e do tamanho do tumor, mas frequentemente incluem dores de cabeça persistentes, convulsões, alterações na visão, problemas de equilíbrio, dificuldades de fala e mudanças de personalidade.

O diagnóstico de glioblastoma geralmente envolve exames de imagem, como ressonância magnética nuclear (RMN) e tomografia computadorizada (TC), além de biópsia para análise das células tumorais (LOUIS et al., 2021; WELLER et al., 2017).

1.2 Terapias empregadas em glioblastomas

As opções terapêuticas empregadas em pacientes com glioblastoma podem incluir cirurgia, radioterapia e quimioterapia (HANAHAN; WEINBERG, 2011; OSTROM et al., 2023).

No que tange à cirurgia, seu objetivo primordial é a remoção da maior quantidade possível da massa tumoral, contudo, este procedimento pode trazer complicações graves aos pacientes, como danos neurológicos, motores, sensitivos ou cognitivos, a depender da localização do tumor, infecções intracranianas, hematomas e hemorragias, além de epilepsia pós-cirúrgica que podem impactar a recuperação do paciente (BRZOZOWSKA; TORUŃ; MAZURKIEWICZ, 2015).

Já a radioterapia, que é essencial para o controle local do tumor, tem como efeitos adversos a necrose de tecidos saudáveis pela radiação, comprometimento cognitivo, como a perda de memória e atenção, principalmente em tratamentos prolongados, e fadiga severa durante e após o tratamento (DIECKMANN, 2010).

Em relação à quimioterapia, entre os quimioterápicos utilizados em glioblastoma, destaca-se a temozolomida (TMZ), que é um fármaco ministrado pela via oral e que vem sendo amplamente utilizado, inclusive em combinação com radioterapia (HERBENER et al., 2020; STUPP et al., 2005). A temozolomida é um agente alquilante que ao ser absorvida pelo organismo, sofre hidrólise espontânea em condições fisiológicas de pH neutro ou básico, gerando a molécula 5-(3-metil-1-triazen-1-il)imidazol-4-carboxamida (MTIC). Essa molécula é instável e se converte em 4-amino-5-imidazolcarboxamida (AIC) e no íon metildiazônio, sendo este último o responsável por causar danos ao DNA por meio da metilação (**Figura 1**). As metilações causadas pelo íon metildiazônio ocorrem principalmente nas posições N7 da guanina (N7 – MeG), N3 da adenina (N3 – MeA) e O6 da guanina (O6 – MeG), sendo que a metilação do DNA na posição O6 da guanina nas células cancerígenas é considerada a principal responsável por levar a célula tumoral a senescência, autofagia ou apoptose. Assim, esses mecanismos inibem a capacidade das células tumorais de se dividir e crescer (HEGI et al., 2005; ORTIZ et al., 2020; WELLER et al., 2017).

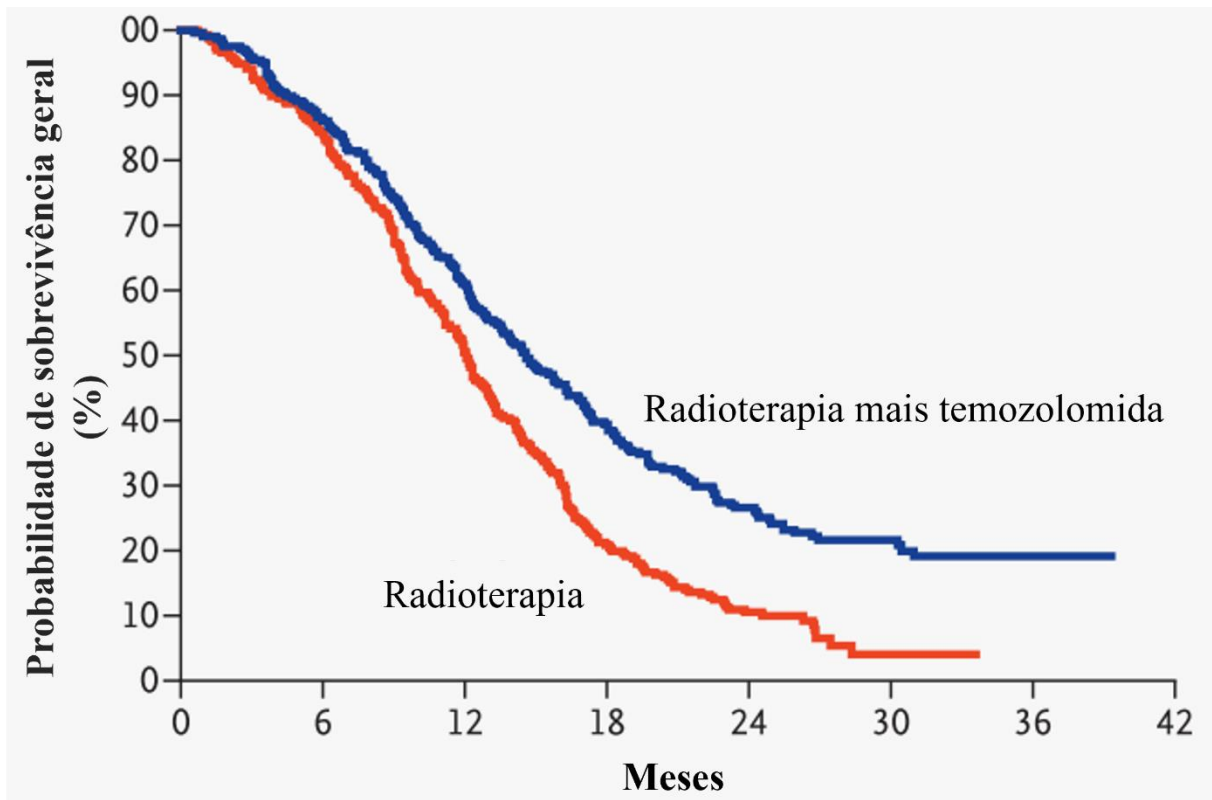


Figura 2 – Estimativas de sobrevivência geral pelo método de Kaplan-Meier em relação ao grupo de tratamento. Adaptado de STUPP et al. (2005).

Essa combinação pode ser usada em casos específicos de glioblastoma, geralmente após a ressecção cirúrgica total ou parcial do tumor, para prolongar a sobrevida (STUPP et al., 2005). Neste sentido, tem sido demonstrado em estudos clínicos que a combinação da quimioterapia com radioterapia aumentou a mediana de sobrevida de 12,1 meses (apenas radioterapia) para 14,6 meses (radioterapia mais temozolomida) (STUPP et al., 2005). Apesar disso, a associação da quimioterapia com temozolomida com radioterapia causa efeitos secundários significativos aos pacientes, como mielossupressão, náuseas, vômitos, fadiga e aumento do risco de infecções oportunistas devido a linfopenia (HEGI et al., 2005; ORTIZ et al., 2020; STUPP et al., 2005).

A ressecção cirúrgica é frequentemente utilizada como etapa inicial para remover o máximo possível da massa tumoral, com o objetivo de aliviar os sintomas, reduzir a pressão intracraniana e aumentar a eficácia das terapias complementares, mas é um método arriscado, já que a ressecção agressiva pode causar déficits neurológicos permanentes. Embora haja riscos, a máxima remoção cirúrgica de grandes volumes tumorais está associada a uma maior sobrevida, pois reduz a carga tumoral inicial, facilitando a ação de terapias subsequentes como a quimioterapia e a radioterapia. As terapias complementares visam tratar células residuais e prevenir a recorrência local do glioblastoma (JANJUA et al., 2021).

Apesar dessas possibilidades terapêuticas (cirurgia, radioterapia e quimioterapia), os efeitos colaterais relacionados às modalidades terapêuticas disponíveis ainda se mostram bastante desafiadores aos pacientes (STUPP et al., 2005). Isso evidencia a necessidade de se desenvolver novas estratégias terapêuticas e novos quimioterápicos que supram as limitações das terapias atuais, assim como o prognóstico após terapia (ANGOM; NAKKA; BHATTACHARYA, 2023; TANAKA et al., 2013; WELLER et al., 2017). Neste contexto, observa-se que há uma necessidade significativa de se caracterizar compostos biologicamente ativos e que tenham a capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica para uso em glioblastomas.

1.3 Produtos naturais

A diversidade molecular presente nos organismos terrestres e marinhos é uma fonte imensa, mas ainda pouco explorada, de moléculas bioativas com potencial terapêutico. Organismos terrestres e marinhos, como plantas, anfíbios, serpentes, algas, esponjas, tunicados e microrganismos são fontes de compostos únicos, que atuam como antibacterianos, antivirais, antiparasitários e antitumorais (NEWMAN, 2022; NEWMAN; CRAGG, 2020). Entre 1981 e 2019, mais de 30% de todos os medicamentos aprovados e mais de 60% dos medicamentos anticâncer foram diretamente ou indiretamente derivados de compostos naturais. Por exemplo, plantas terrestres como *Taxus brevifolia* (Taxaceae), cujos estudos fitoquímicos levaram a caracterização do paclitaxel, utilizado no tratamento de câncer de pulmão; *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), que sintetiza vincristina e vimblastina, utilizadas no tratamento de linfomas; e *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), fonte da camptotecina, utilizada no tratamento de câncer de mama e ovário, têm desempenhado um papel crucial no desenvolvimento de fármacos (**Figura 3**) (NEWMAN; CRAGG, 2020; WINK et al., 2005).

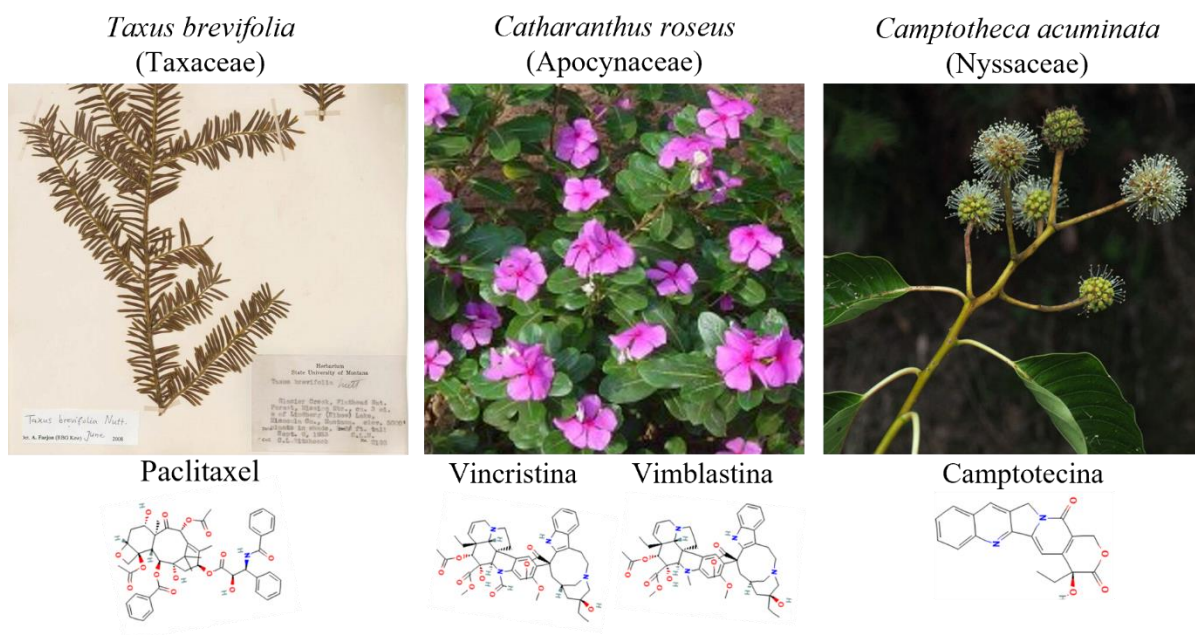


Figura 3 – Exemplos de plantas terrestres que são fontes de compostos com propriedades antitumorais. *Taxus brevifolia* (Taxaceae), fonte do paclitaxel. *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), planta que produz vincristina e vimblastina. *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), fonte da camptotecina. Abaixo, estão representadas as estruturas químicas dos compostos paclitaxel, vincristina, vimblastina e camptotecina. Fonte: Adaptadas de <https://www.worldfloraonline.org/>, <https://powo.science.kew.org/> e <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Ao mesmo tempo em que a biodiversidade terrestre vem nos proporcionando uma variedade de compostos bioativos, ainda há uma vasta e praticamente inexplorada diversidade molecular nos oceanos. Estima-se que mais de 90% das espécies marinhas permanecem desconhecidas e que menos de 5% do oceano profundo tenha sido estudado (JIMÉNEZ, 2018; MORA et al., 2011). Essa lacuna de conhecimento ressalta a necessidade de intensificar os esforços em bioprospecção marinha para identificar novos agentes terapêuticos capazes de enfrentar doenças complexas, como o câncer. Evidências do potencial da biodiversidade marinha podem ser confirmadas por compostos já identificados em organismos marinhos, como o ecteinascidina 743, derivado do tunicado *Ecteinascidia turbinata*, aprovado e comercializado como trabectedina (Yondelis®) para o tratamento de sarcomas de tecidos moles, e a salinosporamida A (Marizomib®), isolado da bactéria marinha *Salinispora tropica*, atualmente em testes de fase III para tratar o glioblastomas (JIMÉNEZ, 2018; ROTH et al., 2024).

O Brasil, com sua extensa linha de costa de 8000 km e uma imensa área marinha apelidada de “Amazônia Azul”, que cobre aproximadamente 3,5 milhões de km², abriga uma grande biodiversidade de organismos marinhos como algas, poríferos, cnidários, tunicados e microorganismos, cujo potencial farmacológico é pouco explorado (WILKE et al., 2021).

Apesar disso, entre 1980 e 2020, cerca de 61 moléculas com potencial anticâncer foram isoladas de espécies marinhas nativas do Brasil. Por exemplo, a ptilocaulina, encontrada na esponja *Monanchora arbuscula*, que apresentou citotoxicidade em células de leucemia, e a molécula Bc2, obtida a partir da anêmona *Bunodosoma caissarum*, que demonstrou ser citotóxica a glioblastoma das linhagens U87 e A172, em testes *in vitro* (SOLETTI et al., 2008; WILKE et al., 2021).

Esses dados reforçam o potencial da biodiversidade marinha brasileira como de importância estratégica para a descoberta de novas moléculas bioativas e, em consequente, evidenciam a necessidade de sua proteção.

1.4 Algas marinhas

Dentre os organismos marinhos, as macroalgas são organismos fotossintetizantes amplamente distribuídos nos oceanos que desempenham papel crucial na sustentação dos ecossistemas marinhos e destacam-se como fonte promissora de compostos bioativos. As macroalgas marinhas pertencem a três filos distintos: *Chlorophyta* (algas verdes), *Ochrophyta* (algas marrons) e *Rhodophyta* (algas vermelhas), cada um com características químicas distintas e fonte de diversos compostos como polissacarídeos, polifenóis, terpenóides e peptídeos (PEREIRA; VALADO, 2023).

As algas verdes (*Chlorophyta*), como as pertencentes aos gêneros *Caulerpa* e *Ulva*, têm ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, destacam-se pela produção de terpenóides e polifenóis, compostos que são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, antibióticas e antitumorais. No Brasil, a alga verde *Caulerpa sertularioides* mostrou-se ser uma fonte de metabólitos bioativos como os polissacarídeos sulfatados que podem apresentar atividades antioxidantes, anticoagulantes e antitumorais (DOS SANTOS et al., 2023; PEREIRA; VALADO, 2023).

Já as algas marrons (*Ochrophyta*), como *Sargassum*, *Laminaria* e *Dictyota*, geralmente reconhecidas pelas formações Kelps, predominam em regiões frias e temperadas, sendo ricas em polissacarídeos sulfatados e carotenoides. Por exemplo, o metabólito secundário fucoxantina, que pertence ao grupo dos carotenoides, é um dos pigmentos mais abundantes e característicos das algas marrons dos gêneros *Undaria*, *Sargassum*, *Laminaria*, *Eisenia*, *Alaria*, *Cystoseira* e *Hijikia*, e tem sido associado a efeitos citotóxicos e células de glioblastoma das linhagens U87 e U251 em testes *in vitro*, por meio da indução de apoptose, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) e inibição de vias de sinalização proliferativa, como

PI3K/Akt/mTOR (LIU et al., 2016; LOURENÇO-LOPES et al., 2021; PEREIRA; VALADO, 2023). No Brasil, espécies como *Sargassum vulgare* e *Dictyota menstrualis* têm tido seus extratos estudados em relação às suas propriedades antivirais e antiparasitárias (DOS SANTOS et al., 2023; PEREIRA; VALADO, 2023).

Finalmente, as algas vermelhas (*Rhodophyta*), como *Gracilaria*, *Porphyra* e *Laurencia*, são encontradas principalmente em áreas tropicais e temperadas, acumulando compostos halogenados, sesquiterpenos e diterpenos, conhecidos por suas ações antimicrobianas, anti-inflamatórias e citotóxicas. Atividades antitumorais foram relatadas, por exemplo, para a macroalga vermelha *Gracilaria edulis* em tumores de Ehrlich. Nesse caso, foi verificado em experimentos *in vitro* que o extrato bruto etanólico eliminam as células tumorais isoladas de tumor ascítico de animais experimentais e o mecanismo associado foi a morte por apoptose (PATRA; MUTHURAMAN, 2013; PEREIRA; VALADO, 2023).

De maneira similar, foi observado que algas vermelhas dos gêneros *Laurencia* e *Palisada* acumulam metabólitos apolares, obtidos a partir de extratos hexânicos, que conferem propriedades citotóxicas em células de sarcoma humano das linhagens ATCC CRL-1976, MES-SA/Dx5 e ATCC CRL-1977. Até o momento, não foram determinadas as moléculas puras bioativas responsáveis por essa atividade. Contudo, presume-se que os extratos hexânicos contenham compostos apolares, como terpenos e outros produtos naturais hidrofóbicos (STEIN et al., 2011).

O gênero *Laurencia* (*Rhodophyta*, *Rhodomelaceae*) compreende cerca de 130 espécies reconhecidas taxonomicamente no mundo. No Brasil, ocorrem 7 espécies deste gênero, distribuídas entre os estados do Ceará e de Santa Catarina (*Laurencia caraibicada*, *Laurencia dendroidea*, *Laurencia intricata*, *L. aldingensis*, *L. catarinenses*, *L. oliveirana* e *L. translucida*) sendo 4 delas endêmicas (*L. aldingensis*, *L. catarinenses*, *L. oliveirana* e *L. translucida*) (HERNÁNDEZ CERVANTES, 2017). Esse gênero em particular, é reconhecido pela produção de uma ampla variedade de metabólitos halogenados, como sesquiterpenos, diterpenos e acetogeninas (HARIZANI; IOANNOU; ROUSSIS, 2016; STEIN et al., 2011). Espécies desse gênero, como *Laurencia dendroidea*, *Laurencia obtusa* e *Laurencia majuscula*, tem sido estudada por serem fontes de compostos com potencial antitumoral.

Neste sentido, observou-se que o sesquiterpeno halogenado elatol, purificado de *Laurencia dendroidea* e *L. microcladia*, causou efeitos citotóxicos em linhagens tumorais de melanoma e câncer de mama. Adicionalmente, observou-se que os sesquiterpenos halogenados como o obtusol purificados de *Laurencia obtusa*, também eliminaram linhagens celulares de câncer de mama, de pulmão e melanoma. Além de tais compostos, observou-se que o

laurenceno de *Laurencia majuscula*, eliminou células de melanoma devido à inibição de vias de sinalização associadas à proliferação tumoral e à indução de apoptose (BARCELLOS MARINI et al., 2018; CAMPOS et al., 2012; HARIZANI; IOANNOU; ROUSSIS, 2016; STEIN et al., 2011). Esses metabólitos produzidos pelas algas, desempenham funções ecológicas importantes, como defesa química contra predadores e radiação solar, e destacam-se na bioprospecção por sua capacidade de interagir com alvos específicos em linhagens tumorais, como câncer de mama, de pulmão, o melanoma e o glioblastoma. Estudos recentes ampliaram o entendimento sobre o potencial do gênero, com novas espécies sendo identificadas como fontes de compostos bioativos de interesse farmacológico, reforçando a relevância de *Laurencia* na bioprospecção de compostos anticâncer (HARIZANI; IOANNOU; ROUSSIS, 2016).

1.5 *Laurencia aldingensis* SAITO, 1974

Dentre as espécies do gênero *Laurencia*, a alga vermelha *Laurencia aldingensis* (**Figura 4**) destaca-se como uma fonte promissora de metabólitos secundários, ao passo que espécies do mesmo gênero são capazes de produzir diversos compostos, incluindo acetogeninas, sesquiterpenos e diterpenos, dentre os quais alguns já evidenciaram bioatividade em humanos (FUJII et al., 2011). Essa espécie, distribuída nas regiões costeiras do Brasil, nos estados do Ceará, Espírito Santo e Rio de Janeiro, tem atraído o interesse científico devido à diversidade de compostos halogenados que acumula, principalmente sesquiterpenos (DE CARVALHO et al., 2003, 2006; DE PAULA et al., 2020; PEREIRA SOARES et al., 2018; STEIN et al., 2011; VIEIRA et al., 2016).



Figura 4 – Alga vermelha *Laurencia aldingensis*. Escala 1 cm. Adaptada de CASSANO et al. (2009).

Recentemente, foram isolados desta alga três sesquiterpenos bromados denominados como aldingenina A, aldingenina B e aldingenina C (DE CARVALHO et al., 2003, 2006). Posteriormente, as estruturas desses compostos foram reavaliadas e os nomes retificados para 5-(S)-hidroxicaespitol, hemiacetal e caespitol, respectivamente (CRIMMINS; HUGHES, 2012; MUKHINA et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2014).

Cada um desses compostos apresenta características estruturais únicas que contribuem para suas atividades biológicas (**Figura 5**). A aldingenina A (5-(S) -hidroxicaespitol) é um sesquiterpeno halogenado contendo uma hidroxila na posição 5, derivado do ácido bisabolano. Este composto apresenta na sua estrutura um éter oxacíclico, átomos de bromo e cloro, contribuindo para sua reatividade química e bioatividade. (CRIMMINS; HUGHES, 2012; DE CARVALHO et al., 2003, 2006; MUKHINA et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2014).

Aldingenina B (hemiacetal): um sesquiterpeno halogenado caracterizado pela presença de um grupo hemiacetal, o que contribui para sua reatividade química (CRIMMINS; HUGHES, 2012; DE CARVALHO et al., 2003, 2006; MUKHINA et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2014).

Aldingenina C (caespitol): Este sesquiterpeno halogenado se diferencia da aldingenina A pela ausência da hidroxila na posição 5, essa variação estrutural pode implicar diferenças significativas nas propriedades físicas, químicas e biológicas do composto. (CRIMMINS;

HUGHES, 2012; DE CARVALHO et al., 2003, 2006; MUKHINA et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2014).

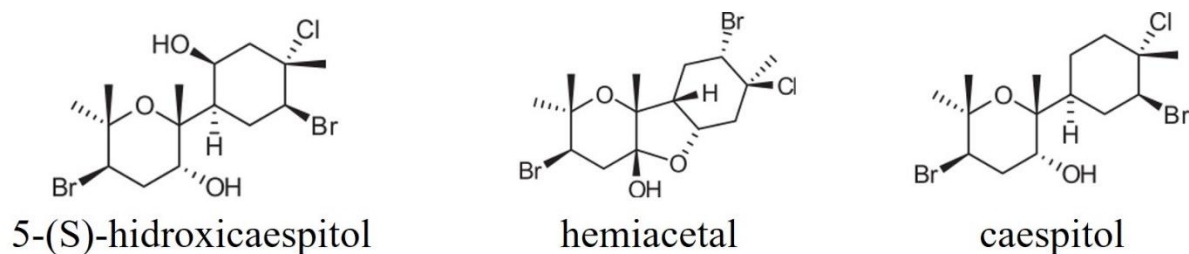


Figura 5 – Estruturas químicas dos compostos isolados da alga vermelha *Laurencia aldingensis*: (1) Aldingenina A (5-(S)-hydroxycaespitol), (2) Aldingenina B (hemiacetal) e (3) Aldingenina C (caespitol). Adaptada de MUKHINA et al. (2015).

Embora outros sesquiterpenos similares tenham sido identificados em outras espécies de *Laurencia* e que sugerem potencial para inibir o crescimento de células tumorais por mecanismos que incluem a modulação de vias de sinalização do ciclo celular e a indução de apoptose, a composição específica de *L. aldingensis* parece ser única, reforçando sua importância no contexto da bioprospecção marinha (CRIMMINS; HUGHES, 2012; MUKHINA et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2014).

Portanto, considerando a toxicidade dos quimioterápicos atuais e a necessidade de novas abordagens terapêuticas para glioblastoma — um tipo de câncer que ainda não tem um tratamento eficaz e cuja sobrevivência média é de apenas 15 meses — este trabalho tem como objetivo avaliar, pela primeira vez, por meio de ensaios *in vitro*, a atividade antitumoral de três compostos naturais marinhos: aldingenina A (5-(S)-hidroxicaespitol), aldingenina B (hemiacetal) e aldingenina C (caespitol), purificados da alga vermelha *L. aldingensis* em glioblastoma.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a ação antitumoral *in vitro* dos compostos aldingenina A (5-(S)-hidroxicaespitol), aldingenina B (hemiacetal) e aldingenina C (caespitol) purificados da alga vermelha *L. aldingensis*, em linhagens tumorais de glioblastomas.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar a concentração citotóxica a 50% (CC₅₀) dos compostos aldingenina A (5-(S)-hidroxicaespitol), aldingenina B (hemiacetal) e aldingenina C (caespitol) em glioblastoma e comparar os resultados com a CC₅₀ do quimioterápico padrão, a temozolomida (TMZ);
- Comparar os efeitos citotóxicos dos compostos em glioblastoma e em fibroblastos (linhagem não tumoral) e calcular o índice de seletividade (IS) de cada composto;
- Avaliar as alterações no potencial de membrana mitocondrial em glioblastoma incubadas com os compostos;
- Analisar os danos à membrana plasmática causados pelos compostos aldingenina A, B e C em glioblastoma;
- Determinar se os compostos induzem fragmentação de DNA em glioblastoma.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados, os compostos estudados representam potenciais candidatos para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas contra o glioblastoma.

De acordo com a análise *in silico*, os compostos 1, 2 e 3 apresentaram alta absorção gastrointestinal e capacidade de atravessar à barreira hematoencefálica. Além disso, os parâmetros de *drug-likeness* indicaram que todos os compostos possuem propriedades físico-químicas compatíveis com o perfil desejável para o desenvolvimento de fármacos administrados via oral.

Os resultados demonstraram que os compostos 5-(S)-hidroxicaespitol (C1), hemiacetal (C2) e caespitol (C3), isolados da alga vermelha *Laurencia aldingensis*, apresentam atividade antitumoral *in vitro* contra linhagens de glioblastoma, com C1 destacando-se por sua maior citotoxicidade e seletividade em comparação à temozolomida (TMZ).

Os compostos C2 e C3 também exibiram atividade citotóxica sobretudo na linhagem U251, sugerindo seus potenciais terapêuticos para certas linhagens de glioblastoma.

Estudos funcionais indicaram que C1 reduziu o potencial de membrana mitocondrial de glioblastoma da linhagem U87-MG e inibiu a recolonização desta linhagem celular, uma característica importante para impedir a progressão tumoral. Por outro lado, os compostos 2 e 3 apresentaram alterações transitórias no potencial de membrana mitocondrial sugerindo mecanismos de ação distintos.

Nenhum dos compostos comprometeu a integridade da membrana plasmática.

O C1 não induziu fragmentação de DNA na linhagem de glioblastoma avaliada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASLAND, D. et al. Temozolomide Induces Senescence and Repression of DNA Repair Pathways in Glioblastoma Cells via Activation of ATR–CHK1, p21, and NF-κB. *Cancer Research*, v. 79, n. 1, p. 99–113, 1 jan. 2019.

AGOSTI, E. et al. Glioma Stem Cells as Promoter of Glioma Progression: A Systematic Review of Molecular Pathways and Targeted Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 14, p. 7979, 22 jul. 2024.

ALDAPE, K. et al. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathologica*. Springer. Verlag, , 26 jun. 2015.

ANGOM, R. S.; NAKKA, N. M. R.; BHATTACHARYA, S. Advances in Glioblastoma Therapy: An Update on Current Approaches. *Brain Sciences* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 nov. 2023.

ARCELLA, A.; SANCHEZ, M. Natural substances to potentiate canonical glioblastoma chemotherapy. *Journal of Chemotherapy*, v. 33, n. 5, p. 276–287, 4 jul. 2021.

BARCELLOS MARINI, M. et al. Cytotoxic activity of halogenated sesquiterpenes from *Laurencia dendroidea*. *Phytotherapy Research*, v. 32, n. 6, p. 1119–1125, 1 jun. 2018.

BATISTA, C. M. et al. Adult Neurogenesis and Glial Oncogenesis: When the Process Fails. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1–10, 2014.

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, maio 2024.

BRENK, R. et al. Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. *ChemMedChem*, v. 3, p. 435–444, mar. 2008.

BROWN, J. S. et al. Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, v. 21, p. 1142–1147, 2023.

BRZOZOWSKA, A.; TORUŃ, A.; MAZURKIEWICZ, M. The impact of surgery on the efficacy of adjuvant therapy in glioblastoma multiforme. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, v. 24, p. 279–287, mar. 2015.

CAMPOS, A. et al. Anti-tumour effects of elatol, a marine derivative compound obtained from red algae *Laurencia microcladia*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 64, n. 8, p. 1146–1154, ago. 2012.

CASSANO, V. et al. Phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) from the Atlantic based on *rbcL*, *rbcL-S* and *cox1*. https://www.researchgate.net/publication/280939467_Phylogeny_of_the_Laurencia_complex_Rhodophyta_from_the_Atlantic_based_on_rbcL_rbcL-S_and_cox1. *Anais...Phycologia*, 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/280939467_Phylogeny_of_the_Laurencia_complex_Rhodophyta_from_the_Atlantic_based_on_rbcL_rbcL-S_and_cox1>. Acesso em: 30 jan. 2025

CHO, M. L. et al. Glioblastoma-specific anticancer activity of pheophorbide a from the edible red seaweed *Grateloupia elliptica*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 24, n. 3, p. 346–353, 2014.

CRIMMINS, M. T.; HUGHES, C. O. Total Synthesis of the Proposed Structure of Aldingenin B. *Organic Letters*, v. 14, n. 8, p. 2168–2171, 20 abr. 2012.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules OPEN. 2017a.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, v. 7, 3 mar. 2017b.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, p. 1117–1121, 2016.

DE CARVALHO, L. R. et al. Aldingenin A, new brominated sesquiterpene from red algae *Laurencia aldingensis*. *Tetrahedron Letters*, v. 44, n. 13, p. 2637–2640, 24 mar. 2003.

DE CARVALHO, L. R. et al. Aldingenin derivatives from the red alga *Laurencia aldingensis*. *Phytochemistry*, v. 67, n. 13, p. 1331–1335, 1 jul. 2006.

DE PAULA, J. C. et al. Diversity and turnover in a rocky shore intertidal community of an upwelling region (Arraial do Cabo, Brazil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 92, n. 2, p. e20181096, 5 jun. 2020.

DEMIRCAN, T. et al. Cellular and Molecular Comparison of Glioblastoma Multiform Cell Lines. *Cureus*, 29 jun. 2021.

DERIEPPE, M. et al. Real-time assessment of ultrasound-mediated drug delivery using fibered confocal fluorescence microscopy. *Molecular Imaging and Biology*, v. 15, n. 1, p. 3–11, fev. 2013.

DIECKMANN, K. U. Radiotherapy of glioblastoma. *Memo - Magazine of European Medical Oncology*. Anais...jul. 2010.

DOS SANTOS, G. S. et al. Seaweeds and Corals from the Brazilian Coast: Review on Biotechnological Potential and Environmental Aspects. *MoleculesMDPI*, , jun. 2023.

ESSELIN, H. et al. Chemical composition of *Laurencia obtusa* extract and isolation of a new C15-acetogenin. *Molecules*, v. 22, n. 5, 1 maio 2017.

FUJII, M. T. et al. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the *Laurencia* complex (Cerámiales, Rhodophyta) from Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 2, p. 268–282, abr. 2011.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, v. 1, p. 55–68, 1999.

GONG, A. et al. Aplysin induces apoptosis in glioma cells through HSP90/AKT pathway. *Experimental Biology and Medicine*, v. 240, n. 5, p. 639–644, 6 maio 2015.

GROOTJANS, S. et al. A real-time fluorometric method for the simultaneous detection of cell death type and rate. *Nature Protocols*, v. 11, n. 8, p. 1444–1454, 1 ago. 2016.

GUNTUKU, L.; NAIDU, V. G. M.; GANESH YERRA, V. Mitochondrial Dysfunction in Gliomas: Pharmacotherapeutic Potential of Natural Compounds. *Current Neuropharmacology*, v. 14, n. 6, p. 567–583, 27 jun. 2016.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 4 mar. 2011.

HARIZANI, M.; IOANNOU, E.; ROUSSIS, V. The Laurencia Paradox: An Endless Source of Chemodiversity. Em: *Progress in the chemistry of organic natural products*. [s.l: s.n.]. v. 102p. 91–252.

HEGI, M. E. et al. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 10, p. 997–1003, 10 mar. 2005.

HERBENER, V. J. et al. Considering the experimental use of Temozolomide in glioblastoma research. *Biomedicine*, v. 8, n. 6, 1 jun. 2020.

HERNÁNDEZ CERVANTES, O. E. Species diversity and biogeographical patterns of *Laurencia sensu stricto* (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean. *Hidrobiológica*, v. 27, n. 3, p. 301–314, 15 dez. 2017.

JANJUA, T. I. et al. Frontiers in the treatment of glioblastoma: Past, present and emerging. *Advanced Drug Delivery Reviews Elsevier B.V.*, , 1 abr. 2021.

JIMÉNEZ, C. Marine Natural Products in Medicinal Chemistry. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, v. 9, n. 10, p. 959–961, 11 out. 2018.

JIN, F.; JIN-LEE, H. J.; JOHNSON, A. J. Mouse Models of Experimental Glioblastoma. Em: DEBINSKI, W. (Ed.). *Gliomas*. [s.l.] Exon Publications, 2021. p. 15–46.

KIM, M. M.; MENDIS, E.; KIM, S. K. Laurencia okamurai extract containing laurinterol induces apoptosis in melanoma cells. *Journal of Medicinal Food*, v. 11, n. 2, p. 260–266, 1 jun. 2008.

KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; BRENNER, C. Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death. *Physiological Reviews*, v. 87, n. 1, p. 99–163, jan. 2007.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 46, p. 3–26, mar. 2001.

LIU, Y. et al. Fucoxanthin Activates Apoptosis via Inhibition of PI3K/Akt/mTOR Pathway and Suppresses Invasion and Migration by Restriction of p38-MMP-2/9 Pathway in Human Glioblastoma Cells. *Neurochemical Research*, v. 41, n. 10, p. 2728–2751, 1 out. 2016.

LOUIS, D. N. et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro-Oncology*, v. 23, n. 8, p. 1231–1251, 1 ago. 2021.

LOURENÇO-LOPES, C. et al. Biological action mechanisms of fucoxanthin extracted from algae for application in food and cosmetic industries. *Trends in Food Science & Technology*, v. 117, p. 163–181, 1 nov. 2021.

MACHADO, F. L. DA S. et al. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero Laurencia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 3, p. 441–452, jul. 2010.

MONTEIRO, J. R. B. et al. In Vitro and In Silico Evaluation of Red Algae *Laurencia obtusa* Anticancer Activity. *Marine Drugs*, v. 21, n. 6, 1 jun. 2023.

MORA, C. et al. How many species are there on earth and in the ocean? *PLoS Biology*, v. 9, ago. 2011.

MUKHINA, O. A. et al. Computationally driven reassignment of the structures of aldingenins A and B. *Tetrahedron Letters*, v. 56, n. 34, p. 4900–4903, 20 jul. 2015.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem*. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 15 set. 2024.

NEWMAN, D. J. Natural products and drug discovery. *National Science Review*, v. 9, n. 11, 9 nov. 2022.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products* American Chemical Society, , mar. 2020.

OLIVIER, C. et al. Drug Resistance in Glioblastoma: The Two Faces of Oxidative Stress. *Frontiers in Molecular Biosciences* Frontiers Media S.A., , jan. 2021.

ORTIZ, R. et al. Temozolomide: An Updated Overview of Resistance Mechanisms, Nanotechnology Advances and Clinical Applications. *Current Neuropharmacology*, v. 19, n. 4, p. 513–537, 26 jun. 2020.

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016-2020. *Neuro-Oncology* Oxford University Press, , 1 out. 2023.

PATEL, A. P. et al. Global, regional, and national burden of brain and other CNS cancer, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, v. 18, n. 4, p. 376–393, 1 abr. 2019.

PATRA, S.; MUTHURAMAN, M. S. Gracilaria edulis extract induces apoptosis and inhibits tumor in Ehrlich Ascites tumor cells in vivo. BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 13, n. 1, p. 331, 25 dez. 2013.

PEREIRA, L.; VALADO, A. Harnessing the power of seaweed: unveiling the potential of marine algae in drug discovery. Exploration of Drug Science, p. 475–496, 28 dez. 2023.

PEREIRA SOARES, L. et al. New records of red seaweeds to the coast of Ceará State, northeastern Brazil. Hoehnea, v. 45, n. 2, p. 323–348, jun. 2018.

POWO – PLANTS OF THE WORLD ONLINE. *Plants of the World Online*. Facilitado por Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <https://powo.science.kew.org>. Acesso em: 15 set. 2024.

PUROHIT SHRUTI et al. In vitro single-strand DNA damage and cancer cell cytotoxicity of temozolomide. Cancer Medicine, v. 9, n. 20, p. 7793–7793, 30 out. 2020.

ROTH, B. L. et al. Bacterial viability and antibiotic susceptibility testing with SYTOX green nucleic acid stain. Applied and Environmental Microbiology, v. 63, n. 6, p. 2421–2431, jun. 1997.

ROTH, P. et al. Marizomib for patients with newly diagnosed glioblastoma: A randomized phase 3 trial. Neuro-Oncology, v. 26, p. 1670–1682, set. 2024.

SAITO, Y.; WOMERSLEY, H. The southern Australian species of Laurencia (Ceramiales: Rhodophyta). Australian Journal of Botany, v. 22, n. 4, p. 815, 1974.

SAN JUAN, B. P. et al. The complexities of metastasis. CancersMDPI AG, , 1 out. 2019.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer statistics, 2023. CA: A Cancer Journal for Clinicians, v. 73, n. 1, p. 17–48, jan. 2023.

SOLETTI, R. C. et al. Potentiation of anticancer-drug cytotoxicity by sea anemone pore-forming proteins in human glioblastoma cells. *Anti-Cancer Drugs*, v. 19, n. 5, p. 517–525, jun. 2008.

STEIN, E. M. et al. Search for cytotoxic agents in multiple *Laurencia* complex seaweed species (Ceramiales, Rhodophyta) harvested from the Atlantic Ocean with emphasis on the Brazilian State of Espírito Santo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 2, p. 239–243, 2011.

STUPP, R. et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 10, p. 987–996, 10 mar. 2005.

TAKAHASHI, S. et al. Synthesis and structural revision of a brominated sesquiterpenoid, aldingenin C. *Journal of Organic Chemistry*, v. 79, n. 19, p. 9373–9380, 3 out. 2014.

TANAKA, S. et al. Diagnostic and therapeutic avenues for glioblastoma: No longer a dead end? *Nature Reviews Clinical Oncology*, jan. 2013.

TANNOURY, M. Y. et al. In vitro cytotoxic activity of *Laurencia papillosa*, marine red algae from the Lebanese coast. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 7, p. 175–179, mar. 2017.

TORP, S. H.; SOLHEIM, O.; SKJULSVIK, A. J. The WHO 2021 Classification of Central Nervous System tumours: a practical update on what neurosurgeons need to know—a minireview. *Acta Neurochirurgica*, v. 164, n. 9, p. 2453–2464, 1 set. 2022.

TSUJI, S. et al. Antitumour Effects of Astaxanthin and Adonixanthin on Glioblastoma. *Marine Drugs*, v. 18, n. 9, p. 474, 18 set. 2020.

VIEIRA, A. P. et al. Preparation of silver nanoparticles using aqueous extracts of the red algae *Laurencia aldingensis* and *Laurenciella* sp. And their cytotoxic activities. *Journal of Applied Phycology*, v. 28, n. 4, p. 2615–2622, 1 ago. 2016.

WANG, C.; YOULE, R. J. The role of mitochondria in apoptosis. *Annual Review of Genetics*, 1 dez. 2009.

WELLER, M. et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *The Lancet Oncology*, v. 18, n. 6, p. e315–e329, jun. 2017.

WEN, P. Y.; KESARI, S. Malignant Gliomas in Adults. *New England Journal of Medicine*, v. 359, n. 5, p. 492–507, 31 jul. 2008.

WFO – WORLD FLORA ONLINE. *World Flora Online*. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org>. Acesso em: 15 set. 2024.

WICK, W. et al. MGMT testing - The challenges for biomarker-based glioma treatment. *Nature Reviews Neurology* Nature Publishing Group, , 2014.

WILKE, D. V. et al. Anticancer Potential of Compounds from the Brazilian Blue Amazon. *Planta Medica* Georg Thieme Verlag, , 1 fev. 2021.

WLODKOWIC, D. et al. Chip-based dynamic real-time quantification of drug-induced cytotoxicity in human tumor cells. *Analytical Chemistry*, v. 81, n. 16, p. 6952–6959, 15 ago. 2009.

YAO, Y. et al. Grincamycin B Functions as a Potent Inhibitor for Glioblastoma Stem Cell via Targeting RHOA and PI3K/AKT. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 11, n. 15, p. 2256–2265, 5 ago. 2020.

ZALETA-PINET, D. A. et al. Cytotoxic compounds from *Laurencia pacifica*. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 4, n. 1, p. 8, 20 dez. 2014.