



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE NEUROBIOLOGIA E BIOMATERIAIS



VITÓRIA GABRIELA APARECIDA RIBEIRO SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUIMIOTERÁPICO DE DERIVADO DE
PROTEÍNA SERINA/ARGININA (SM22) EM CÉLULAS DE
GLIOBLASTOMA HUMANO (U87MG).**

Ouro Preto, Minas Gerais

2026

VITÓRIA GABRIELA APARECIDA RIBEIRO SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL QUIMIOTERÁPICO DE DERIVADO DE
PROTEÍNA SERINA/ARGININA (SM22) EM CÉLULAS DE
GLIOBLASTOMA HUMANO (U87MG).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Ouro Preto, como
requisito da disciplina Seminário de Pesquisas
e Monografia II (CBI261) para obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Laser Antônio Machado
Oliveira

Coorientadora: MSc. Ramony Gonzaga Vieira

Ouro Preto, Minas Gerais

2026

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586a Silva, Vitória Gabriela Aparecida Ribeiro.

Avaliação do potencial quimioterápico de derivado de proteína serina/arginina (SM22) em células de Glioblastoma Humano (U87MG). [manuscrito] / Vitória Gabriela Aparecida Ribeiro Silva. - 2026. 37 f.: il.: color., gráf..

Orientador: Prof. Dr. Laser Antônio Machado Oliveira.

Coorientadora: Ma. Ramony Gonzaga Vieira.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas .

1. Glioblastoma. 2. Antineoplásicos. 3. Serina Proteases. 4. Proliferação de células. I. Oliveira, Laser Antônio Machado. II. Vieira, Ramony Gonzaga. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616-006.6

Bibliotecário(a) Responsável: Renata Mara de Almeida - CRB-6: 2507



FOLHA DE APROVAÇÃO

Vitória Gabriela Aparecida Ribeiro Silva

Avaliação do potencial quimioterápico de derivado de proteína serina/arginina (SM22) em células de glioblastoma humano (U87MG)

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovada em 10 de julho de 2026

Membros da banca

Dr. Laser Antônio Machado Oliveira - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Amanda Patrícia Gonçalves - Universidade Federal de Ouro Preto
Ms. Andressa Aparecida Batista Cota - Universidade Federal de Ouro Preto

Laser Antônio Machado Oliveira, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 17/07/2026



Documento assinado eletronicamente por **Laser Antonio Machado Oliveira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 20/07/2026, às 10:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1142791** e o código CRC **48A3B058**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar agradecendo a Deus por ser meu refúgio nos momentos mais difíceis. Agradeço também ao universo por ouvir minhas preces e me mostrar o caminho certo nas pequenas coisas.

Agradeço à minha família, em especial a minha mãe Marilcia e à minha tia Meire, pelo apoio. Às minhas gatas, Cherry e Diana, que, mesmo sem saber, foram meu ponto de paz. Agradeço também aos amigos de longa data, especialmente ao Pablo, por se fazerem presentes. Sem vocês, eu não seria nada.

Além de agradecer, dedico este trabalho aos meus avós (*in memoriam*), Dona Elzira e Seu José Hércio, que com toda certeza são a minha maior inspiração na vida. Vô, obrigada por acreditar em mim, mesmo que o senhor não tenha tido a chance de me ver durante esses longos quatro anos, sei que, de onde estiver, teria orgulho da sua neta. Vó, obrigada por tanto zelo, carinho, apoio e incentivo. Te perder no meio dessa caminhada foi uma dor inimaginável, ainda mais para o tema que abordo aqui. Por isso, te dedico com orgulho este trabalho e agradeço por todas as vezes que, em meus sonhos, me mostrou que eu posso ser sempre mais.

Aos amigos que fiz durante essa caminhada, Duda, Lucas e Mariana, pelo companheirismo e apoio. Aos amigos do curso, Nichole e Gustavo, pelos momentos de risadas. À turma 21.2, por poder vivenciar tanto os momentos descontraídos como os de tensão durante as provas.

Às meninas do “Biotec”, Clara, Leandra e Lorena, o fim da faculdade foi mais leve com vocês. Em especial, à Maria Eduarda, que desde o primeiro período esteve ao meu lado e, por muitas vezes, foi meu porto seguro, e à Ana Beatriz, que além de “duplinha” do curso, se fez presente em tudo e se tornou uma das melhores pessoas da minha vida.

Expresso minha sincera gratidão a toda a equipe do Laboratório de Neurobiologia e Biomateriais (LNBIO), professores e alunas da pós-graduação pelo acolhimento e por despertar em mim uma verdadeira paixão pela pesquisa. Em especial Ana Luiza e Andressa pelos conselhos e ensinamentos, e às minhas colegas de iniciação científica, Bianca, Letícia, Izabela e Nicolly, pelo apoio e pelas risadas durante o café. Agradeço especialmente à minha coorientadora Ramony, por me ensinar tudo o que sei e por enxergar potencial em mim, e ao meu orientador Laser, pela oportunidade concedida e por me guiar ao longo dessa trajetória.

Deixo meus agradecimentos à Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) pela oportunidade de desenvolvimento acadêmico e científico ao longo deste percurso e aos órgãos de fomento CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro às pesquisas e pela concessão de bolsas, fundamentais para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço a mim mesma por nunca ter desistido desse sonho. Na verdade, quem mais se alegra por tudo isso é a Vitória de 8 anos de idade, que, com sua curiosidade, sempre quis compreender o mundo e torná-lo um lugar melhor. Foi isso que me levou a encontrar na Biologia um propósito tão significativo.

*“Não fomos feitos para salvar o
mundo, fomos feitos para deixá-lo
melhor.”*

— Interstellar (2014).

RESUMO

O glioblastoma é o tumor cerebral maligno primário mais agressivo do sistema nervoso central, caracterizado por alta capacidade proliferativa, invasiva e resistência às terapias convencionais. Nesse contexto, a busca por novas moléculas com potencial antitumoral tem se tornado uma estratégia importante para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do composto SM22, um derivado sintético relacionado a inibidores de quinases SRPK, sobre parâmetros celulares associados à progressão tumoral em células de glioblastoma humano. Para isso, foram realizados ensaios *in vitro* utilizando a linhagem celular U87MG, incluindo análise de metabolismo celular por meio do ensaio de MTT, capacidade de migração através de ensaio de cicatrização e avaliação da capacidade proliferativa através do ensaio de formação de colônias. Os resultados demonstraram que o tratamento com o composto SM22 promoveu redução da atividade metabólica celular, diminuição da migração celular e redução na formação de colônias, sugerindo um efeito inibitório sobre a proliferação celular. Esses achados indicam que o composto apresenta propriedades farmacológicas promissoras, podendo interferir em processos importantes para a progressão tumoral. Dessa forma, o SM22 se destaca como um potencial candidato para estudos futuros voltados ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o tratamento do glioblastoma.

Palavras-chave: glioblastoma; células U87MG; atividade antitumoral; SRPK; proliferação celular.

ABSTRACT

Glioblastoma is the most aggressive primary malignant brain tumor of the central nervous system, characterized by high proliferative and invasive capacities as well as resistance to conventional therapies. In this context, the search for new molecules with antitumor potential has become an important strategy for the development of more effective therapeutic approaches. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of SM22, a synthetic derivative related to SRPK kinase inhibitors, on cellular parameters associated with tumor progression in human glioblastoma cells. To this end, in vitro assays were performed using the U87MG cell line, including cellular metabolism analysis through the MTT assay, migration capacity assessment using the wound-healing assay, and evaluation of proliferative capacity by the colony formation assay. The results demonstrated that treatment with SM22 reduced cellular metabolic activity, decreased cell migration, and inhibited colony formation, suggesting an inhibitory effect on cell proliferation. These findings indicate that the compound exhibits promising pharmacological properties and may interfere with key processes involved in tumor progression. Thus, SM22 emerges as a potential candidate for future studies aimed at developing novel therapeutic strategies for glioblastoma treatment.

Keywords: glioblastoma; U87MG cells; antitumor activity; SRPK; cell proliferation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tipos de neurônios.....	2
Figura 2 – Tipos de célula da glia.....	3
Figura 3 – Representação esquemática das etapas iniciais da carcinogênese.....	5
Figura 4 – Representação do estágio de progressão da carcinogênese.....	5
Figura 5 – Composto SM22.....	14
Figura 6 – Ensaio de MTT.....	18
Figura 7 – Ensaio de migração celular por fechamento de ferida.....	20
Figura 8 – Ensaio de formação de colônias.....	21
Figura 9 – Ensaio de metabolismo celular em células U87MG.....	23
Figura 10 – Ensaio de migração.....	24
Figura 11 – Migração celular	24
Figura 12 – Ensaio de formação de colônias em células U87MG.....	25
Figura 13 – Ensaio de formação de colônias (aglomerados).....	26

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância (One-Way Analysis of Variance)

ATCC – American Type Culture Collection

CO₂ – Dióxido de carbono

DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO – Dimetilsulfóxido

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EGFR – Receptor do fator de crescimento epidérmico

GBM – Glioblastoma multiforme

IDH1 – Isocitrato desidrogenase 1

INCA – Instituto Nacional de Câncer

LBTM – Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos

LN BIO – Laboratório de Neurobiologia e Biomateriais

MTT – Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

NF1 – Neurofibromina 1

O₂ – Oxigênio

P.A. – Puro para análise

PBS – Tampão fosfato-salino (Phosphate Buffered Saline)

PDGFRA – Receptor alfa do fator de crescimento derivado de plaquetas

SFB – Soro fetal bovino

SM22 – Derivado sintético relacionado a inibidores de SRPK

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Sistema nervoso periférico

SRPIN340 – N-(2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil)isonicotinamida

SRPKs – Quinases serina/arginina

TCGA – The Cancer Genome Atlas

TMZ – Temozolomida

TP53 – Proteína tumoral p53

UFOP – Universidade Federal de Ouro Preto

UFV – Universidade Federal de Viçosa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Sistema Nervoso.....	1
1.2 Câncer.....	3
1.3 Glioblastoma	7
1.4 Tratamentos convencionais	10
1.4.1 Ressecção cirúrgica	10
1.4.2 Radioterapia e Quimioterapia.....	11
1.5 SM 22	12
2. JUSTIFICATIVA.....	15
3. OBJETIVOS.....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
4.2 Equipamentos utilizados	16
4.3 Síntese do Composto.....	16
4.4 Cultivo celular.....	17
4.5 Ensaios experimentais	17
4.5.1 Ensaio de Metabolismo celular.....	17
4.5.2 Ensaio de Migração celular	19
4.5.3 Ensaio de Colônia	20
4.6 Análises estatísticas	21
5. RESULTADOS.....	23
5.1 Metabolismo celular	23
5.2 Migração.....	23
5.3 Colônia.....	25
6. DISCUSSÃO.....	27
7. CONCLUSÃO	30
8. REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sistema Nervoso

O sistema nervoso é dividido em sistema nervoso central e sistema nervoso periférico. Ele é composto por diferentes tipos de células, responsáveis por captar, processar e responder aos estímulos que o organismo recebe do ambiente e do próprio corpo. Entre essas células, os neurônios são o tipo celular mais comum e desempenham papel fundamental na transmissão das informações nervosas (ARIYO; AKTER, 2024).

Os neurônios são as principais células responsáveis pela recepção, processamento e transmissão de informações no sistema nervoso. Sua estrutura básica é composta por um corpo celular, dendritos, que recebem os estímulos provenientes de outros neurônios, e um axônio, responsável pela condução do impulso nervoso até os terminais axonais, onde ocorre a comunicação com outros neurônios. De acordo com a disposição de seus prolongamentos, os neurônios podem ser classificados em bipolares, que apresentam um dendrito e um axônio; multipolares, caracterizados por múltiplos dendritos e um único axônio; e pseudounipolares, que possuem um único prolongamento que se bifurca em ramos periférico e central conforme a figura 1.

Além da classificação morfológica, os neurônios também podem ser classificados de acordo com sua função em neurônios aferentes (sensoriais), interneurônios e neurônios eferentes (motores). Os neurônios aferentes são responsáveis por conduzir informações provenientes dos receptores sensoriais ao sistema nervoso central, enquanto os interneurônios estabelecem conexões entre neurônios aferentes e eferentes, promovendo a integração e o processamento das informações neurais. Por sua vez, os neurônios eferentes transmitem impulsos do sistema nervoso central para órgãos efetores, como músculos e glândulas, desencadeando respostas motoras e secretoras (HILTON *et al.*, 2024; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023).

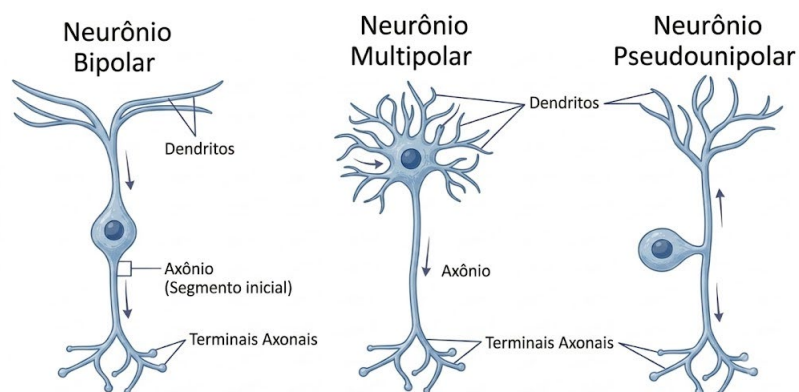


Figura 1. **Tipos de neurônios.** Esquema ilustrativo comparativo dos principais domínios histológicos neuronais, evidenciando as distinções estruturais clássicas entre neurônios multipolares, bipolares e pseudo-unipolares, bem como o direcionamento de propagação dos seus respectivos impulsos nervosos (Adaptado de JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023).

O sistema nervoso também é composto por um conjunto de diferentes tipos de células chamadas glia ou neuroglia. Essas células desempenham um papel fundamental, não apenas fornecendo suporte e energia aos neurônios, mas também participando do controle do metabolismo e do funcionamento do tecido nervoso (TIZABI *et al.*, 2024).

Entre os tipos celulares que compõem a glia estão os astrócitos, que são as maiores e mais abundantes células gliais do sistema nervoso e pela presença de múltiplos prolongamentos citoplasmáticos, que lhes conferem aspecto estrelado conforme demonstrado na figura 2. Já os oligodendrócitos, menores que os astrócitos e com poucos prolongamentos, estão distribuídos tanto na substância cinzenta, região rica em corpos celulares neuronais, quanto na substância branca, composta predominantemente por feixes de axônios, onde desempenham importante papel na formação e manutenção da bainha de mielina. As células da micróglia são as menores células da glia e funcionam como macrófagos especializados, secretando citocinas e removendo restos celulares (Figura 2) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023).

As células endimárias, de formato cúbico e com cílios, são responsáveis pelo transporte de água, íons e proteínas, participando da produção do líquido cerebrospinal. No sistema nervoso periférico (SNP), destacam-se as células satélites e as células de Schwann. As células satélites mantêm um microambiente controlado ao redor do neurônio, permitindo isolamento elétrico e trocas metabólicas, enquanto as células de Schwann são alongadas, envolvendo os axônios e formando fibras nervosas mielínicas (Figura 2) (MONTANARI, 2016).

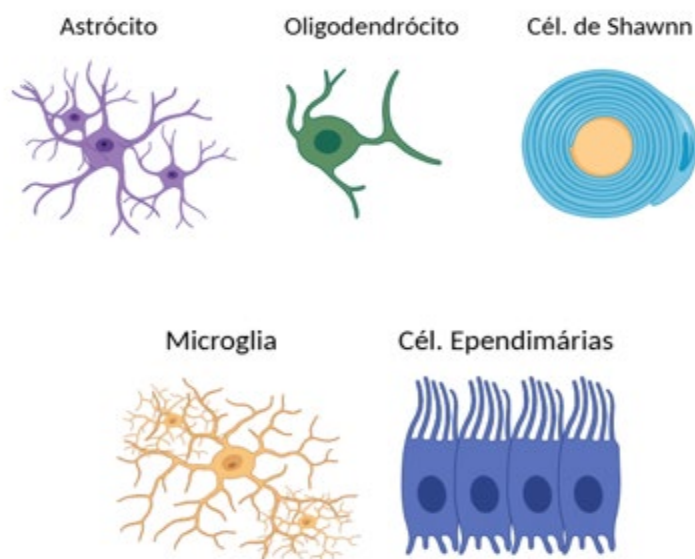


Figura 2. **Tipos de células da glia.** Representação esquemática dos tipos celulares que compõem a neuroglia (Adaptado de JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2023).

As células da glia desempenham um papel fundamental no funcionamento fisiológico do sistema nervoso, contribuindo para que o organismo funcione adequadamente. No entanto, evidências recentes demonstram que alterações na função das células da glia estão diretamente relacionadas à fisiopatologia de diversas doenças neurodegenerativas e de diferentes tipos de câncer, evidenciando sua participação na neuroinflamação, na manutenção da homeostase do sistema nervoso e na progressão tumoral (CROWLEY *et al.*, 2024; ESCARTIN *et al.*, 2021).

1.2 Câncer

O câncer é um conjunto de doenças caracterizadas pela proliferação celular descontrolada, decorrente do acúmulo de alterações moleculares diversas que afetam os mecanismos de regulação do crescimento, da diferenciação e da morte celular. Como consequência, as células adquirem capacidade de invasão tecidual e potencial metastático (BRASIL, 2025). Sob essa ótica, trata-se de uma patologia de natureza essencialmente multifatorial, desencadeada pela complexa interação entre predisposições genéticas do próprio indivíduo e a exposição a fatores de risco.

Visto que o câncer pode ter diferentes causas e se desenvolver por diversas vias, a carcinogênese, processo pelo qual uma célula normal sofre alterações genéticas e epigenéticas que a transformam numa célula cancerosa, descreve o intrincado processo de iniciação, promoção e progressão tumoral, no qual células sadias sofrem transição

fenotípica para um estado maligno sob a influência de desreguladores intrínsecos e extrínsecos (HANAHAHAN, 2022).

Dentre estes, os agentes carcinogênicos desempenham papel crítico, desencadeando danos deletérios ao DNA e reorganizações epigenéticas que ativam oncogenes e silenciam genes supressores de tumor.

Entre os principais desencadeadores estão fatores ambientais, que incluem elementos presentes na água, no solo e no ar, além do ambiente de consumo, como alimentos, medicamentos, tabagismo e álcool, e aspectos do ambiente cultural, relacionados ao estilo de vida, costumes e hábitos. Também estão envolvidos fatores biológicos, como predisposição genética, envelhecimento, mutações hereditárias e alterações nos mecanismos de reparo celular. Além disso, existem fatores químicos, associados ao contato com substâncias como amianto, benzeno, dioxinas, resíduos de agrotóxicos presentes em alimentos e na água, arsênio e outros poluentes (INCA, 2022).

Além disso, substâncias desse tipo são classificadas como agentes mutagênicos, pois possuem a capacidade de provocar danos moleculares permanentes no DNA. Esses danos representam uma etapa inicial da carcinogênese, favorecendo o acúmulo de mutações que podem ativar oncogenes, que são genes envolvidos na promoção do crescimento e da divisão celular quando expressos de forma desregulada, ou na inativação de genes supressores de tumor, responsáveis por controlar a proliferação celular, reparar danos no DNA e induzir a morte de células com alterações genéticas. Como consequência, ocorre o crescimento celular descontrolado, favorecendo o desenvolvimento e a progressão do câncer (HASSANPOUR; DEHGHANI, 2017; KUMARI *et al.*, 2021).

Contudo, a exposição a essas variáveis não determina obrigatoriamente o surgimento da doença. Trata-se de um processo lento e gradual, que pode levar anos desde as primeiras modificações celulares até a proliferação dessas células e a consequente formação de um tumor detectável (HANAHAHAN, 2022; INCA, 2022). Podendo a carcinogênese desenvolver-se por meio de três estágios principais:

Estágio de iniciação: Nessa fase, conforme a figura 3, agentes iniciadores carcinogênicos atuam sobre o DNA celular, provocando mutações e alterações genéticas permanentes. Como resultado, surgem células geneticamente alteradas, que ainda não apresentam crescimento descontrolado nem características tumorais detectáveis, mas tornam-se mais suscetíveis ao desenvolvimento do câncer (INCA,2022).

Estágio de promoção: As células previamente alteradas geneticamente passam a ser estimuladas pelos agentes oncopromotores (substâncias que favorecem o desenvolvimento tumoral) de acordo com a figura 3. Esse estímulo promove a proliferação dessas células, contribuindo para sua progressiva transformação em células malignas (INCA,2022).



Figura 3. **Representação esquemática das etapas iniciais da carcinogênese.** No estágio de iniciação, agentes iniciadores provocam alterações genéticas nas células. No estágio de promoção, agentes oncopromotores estimulam a proliferação dessas células geneticamente. Adaptado de (INCA,2022).

Estágio de progressão: De acordo com a figura 4, essa fase é caracterizada pela proliferação intensa e descontrolada das células alteradas, processo que se torna irreversível. Nesse estágio, o câncer já está estabelecido e o tumor passa a crescer progressivamente, podendo levar ao aparecimento dos primeiros sinais clínicos da doença. (INCA,2022).

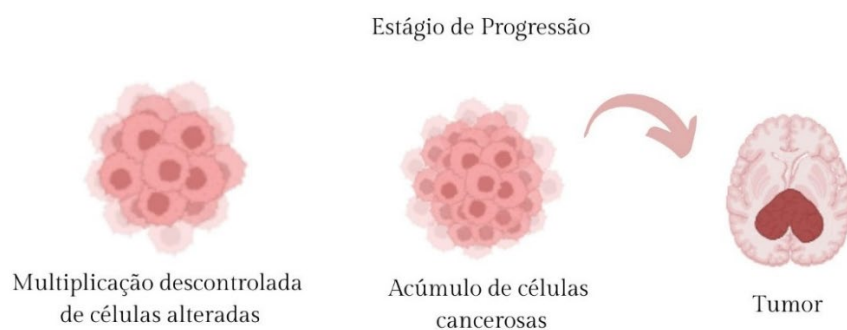


Figura 4. **Representação do estágio de progressão da carcinogênese.** Caracterizado pela multiplicação descontrolada de células alteradas, levando ao acúmulo de células cancerosas e, consequentemente, à formação do tumor. Adaptado de (INCA,2022).

O câncer corresponde à forma maligna de um tumor e pode adquirir a capacidade de realizar metástase, processo no qual células cancerígenas se disseminam e passam a crescer em órgãos ou tecidos distantes do local de origem. A metástase representa uma das manifestações mais avançadas e letais da doença (YANG; SHAH; YANG, 2023).

Esse processo metastático compromete significativamente o prognóstico dos pacientes, afetando de forma direta a qualidade de vida e as taxas de sobrevivência (LI, Y. *et al.*, 2025).

O impacto global do câncer continua aumentando de forma expressiva, configurando um dos principais desafios para os sistemas de saúde. Estimativas recentes apontam milhões de novos diagnósticos e óbitos anuais, refletindo a elevada carga social e econômica associada à doença. Nas últimas décadas, observa-se um aumento significativo nas taxas de incidência da doença, com cerca de 20 milhões de novos casos e 9,7 milhões de mortes registradas globalmente (BRAY *et al.*, 2024). Esses dados evidenciam a gravidade e o crescimento contínuo do câncer em escala mundial.

Estima-se ainda que 53,5 milhões de pessoas tenham sobrevivido por cinco anos após o diagnóstico, o que demonstra a grande quantidade de indivíduos convivendo com a doença em todo o mundo. De acordo com os registros epidemiológicos, aproximadamente uma em cada cinco pessoas desenvolverá câncer ao longo da vida, enquanto um em cada nove homens e uma em cada doze mulheres morrerão em decorrência da doença. As projeções futuras são preocupantes, indicando que o número de casos pode aumentar em até 77% até o ano de 2050, podendo atingir cerca de 35 milhões de novos diagnósticos anuais (OMS, 2024).

À medida que o envelhecimento demográfico vem se intensificando, a população idosa tem uma suscetibilidade aumentada a muitas doenças crônicas e degenerativas, e os efeitos adversos à saúde causados por essas doenças tendem a atingir múltiplos órgãos ou sistemas, acumulando-se ao longo do tempo e impactando de forma significativa a qualidade de vida durante o envelhecimento. Desse modo, estudos analisam fatores que contribuíram para o aumento dos DALYs (*Disability-Adjusted Life Years*) entre 2010 e 2030, no qual o envelhecimento populacional será responsável por 72% (114,5 mil pessoas-ano) do aumento de comorbidades em homens e 47% (81,6 mil pessoas-ano) em mulheres, com destaque para doenças cardiovasculares, neoplasias, doenças respiratórias e diabetes (XI *et al.*, 2025).

O crescimento da incidência dos tumores do SNC nas últimas décadas tem sido particularmente evidente em faixas etárias mais avançadas, sendo relacionado tanto ao envelhecimento da população quanto à ampliação do acesso e à maior sensibilidade das técnicas diagnósticas modernas (OSTROM; FRANCIS; BARNHOLTZ-SLOAN, 2021). Em escala global os tumores do SNC corresponderam a aproximadamente 310 mil novos diagnósticos, representando cerca de 1,6% de todos os casos de câncer.

Sob uma perspectiva global, o ano de 2020 registrou uma carga epidemiológica significativa para os tumores de encéfalo e medula, com aproximadamente 170 mil diagnósticos em indivíduos do sexo masculino e 140 mil no sexo feminino. Essas estimativas equivalem a taxas de incidência de 3,90 e 3,00 casos por 100 mil habitantes para homens e mulheres, respectivamente. Geograficamente, a distribuição dessas neoplasias não se mostrou uniforme, concentrando-se predominantemente em territórios europeus; de modo geral, o Norte, o Sul e a Europa Ocidental figuraram como as regiões de maior taxa de acometimento para ambos os sexos (SUNG *et al.*, 2021). O aumento absoluto desses casos tem sido atribuído principalmente ao crescimento populacional e ao aumento da expectativa de vida, fatores que contribuem para o envelhecimento da população mundial (SUNG *et al.*, 2021).

O panorama epidemiológico das neoplasias do sistema nervoso central (SNC) no Brasil aponta para um impacto expressivo na saúde pública. De acordo com projeções para o triênio de 2023 a 2025, são esperados anualmente cerca de 11.490 novos diagnósticos. Desse total, o público masculino responde por 6.110 casos (risco estimado de 5,80 ocorrências a cada 100 mil homens), enquanto a população feminina apresenta 5.380 novos casos (risco de 4,85 por 100 mil mulheres). Essa prevalência reflete-se na alta letalidade observada historicamente; dados de mortalidade de 2020 registram 9.355 óbitos decorrentes dessas afecções no país, o que equivale a uma taxa de 4,42 perdas para cada 100 mil habitantes. Desse montante de óbitos, observou-se uma distribuição homogênea entre os gêneros, somando 4.787 óbitos masculinos (taxa de 4,62 por 100 mil) e 4.567 femininos (taxa de 4,22 por 100 mil) (INCA, 2023).

1.3 Glioblastoma

Os gliomas correspondem ao principal grupo de tumores primários do sistema nervoso central e têm origem em células gliais ou em seus precursores. De acordo com características histológicas e moleculares, podem apresentar diferentes graus de agressividade, entre os quais o glioblastoma representa a forma mais maligna. Esses tumores podem se desenvolver no encéfalo, na medula espinhal ou, em alguns casos, próximos aos nervos periféricos. Os gliomas são classificados de acordo com suas características celulares fenotípicas, sendo divididos em astrocitomas, ependimomas e oligodendrogliomas. Além disso, também podem ser categorizados conforme o grau de malignidade, em tumores de baixo grau, anaplásicos (ou atípicos) e de alto grau, levando

em consideração aspectos como morfologia celular, índice mitótico e presença de marcadores moleculares específicos (WELLER *et al.*, 2024).

Como um dos tipos mais agressivos de glioma, destaca-se o glioblastoma multiforme (GBM), uma neoplasia maligna do sistema nervoso central classificada como grau 4 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). O GBM caracteriza-se pelo crescimento rápido, elevada capacidade proliferativa, intensa heterogeneidade celular, invasão difusa do tecido cerebral adjacente, angiogênese exacerbada e resistência aos tratamentos convencionais (LOUIS *et al.*, 2021; Essa neoplasia apresenta origem principalmente relacionada às células da linhagem astrocitária, sendo considerada um astrocitoma difuso de alto grau, embora estudos indiquem a participação de células-tronco neurais e células progenitoras gliais na sua origem e manutenção. O diagnóstico dessa neoplasia ocorre, em média, em adultos por volta dos 65 anos de idade. Historicamente, o prognóstico para pacientes com GBM permanece desfavorável, apresentando expectativa média de sobrevida inferior a 15 meses, mesmo diante dos avanços nas estratégias terapêuticas disponíveis (CHEN *et al.*, 2021).

Clinicamente, a equivalência quantitativa entre a incidência e a mortalidade da doença funciona como um indicador direto de sua extrema agressividade. Sob esse aspecto, os índices de sobrevida a longo prazo para portadores de gliomas de alto grau mostram-se persistentemente baixos, flutuando entre restritos 2% e 10%. A agressividade do glioblastoma está associada à sua heterogeneidade molecular, uma vez que o tumor não apresenta características homogêneas, resultando na existência de diferentes subtipos moleculares. Esses subtipos, identificados por meio de análises genômicas e proteômicas, permitem compreender melhor as variações nos padrões de crescimento, invasão e comportamento biológico do tumor. Nesse contexto, o glioblastoma é classificado pelo The Cancer Genome Atlas (TCGA) em quatro subtipos principais: proneural, clássico, mesenquimal e neural (PÖHLMANN *et al.*, 2024; VERHAAK *et al.*, 2010).

O subtipo proneural é caracterizado principalmente por mutações no gene IDH1 (Isocitrato Desidrogenase 1) e pela amplificação do gene PDGFRA (Receptor Alfa do Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas). Esse subtipo pode apresentar, inicialmente, maior resposta a terapias direcionadas, como os inibidores de IDH1. Entretanto, a eficácia dessas abordagens terapêuticas pode ser limitada pelo desenvolvimento de resistência ao tratamento, o que mantém o glioblastoma como uma neoplasia altamente agressiva e potencialmente letal (VERHAAK *et al.*, 2010).

O subtipo clássico do glioblastoma é caracterizado principalmente pela amplificação do gene EGFR (Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico) e pela perda de heterozigosidade no cromossomo 10. Essas alterações moleculares estão associadas a um comportamento tumoral mais agressivo e invasivo. Além disso, esse subtipo costuma apresentar baixa resposta às abordagens terapêuticas, o que contribui para agravar o prognóstico desfavorável da doença (CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK, 2008).

O subtipo mesenquimal é caracterizado principalmente pela presença de mutações nos genes NF1 (Neurofibromina 1) e TP53 (Proteína do Tumor p53), sendo considerado um dos subtipos mais agressivos do glioblastoma. Esse subtipo apresenta elevada capacidade de infiltração no tecido cerebral, além de demonstrar resistência a múltiplas abordagens terapêuticas, o que contribui para a progressão da doença e para o pior prognóstico clínico.

Por outro lado, o subtipo neural apresenta uma relação menos evidente com a agressividade tumoral quando comparado aos subtipos mesenquimal e clássico. Esse subtipo compartilha padrões de expressão gênica semelhantes aos observados em tecidos neurais normais, sugerindo um fenótipo celular mais diferenciado. No entanto, ainda são necessários mais estudos para compreender plenamente suas características moleculares, uma vez que alterações específicas associadas a esses subtipos ainda não foram completamente estabelecidas (VERHAAK *et al.*, 2010).

As células do glioblastoma apresentam elevada capacidade de infiltração no tecido cerebral, migrando preferencialmente para regiões anatômicas com maior afinidade e, em alguns casos, evitando áreas menos favoráveis. Apesar disso, essas células tendem a se disseminar amplamente pelo cérebro, característica que contribui para o padrão de crescimento difuso e altamente invasivo dos tumores de glioma (SEKER-POLAT *et al.*, 2022). Sabendo que o cérebro abriga uma amplitude de células, incluindo astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e neurônios, todas essas células liberam diferentes substâncias ligantes e fatores de crescimento que contribuem para a capacidade invasiva dos glioblastomas (CONIGLIO *et al.*, 2012). Um exemplo disso é a maior invasividade observada quando as células de glioblastoma expressam EGFR e respondem à secreção de EGF pela micróglia (KUNKEL *et al.*, 2001).

Durante o processo de invasão, as células cancerígenas também interagem entre si, comunicando-se e coordenando sua migração por meio de sinais bioquímicos. Essas interações influenciam o ambiente ao redor do tumor, conhecido como microambiente

tumoral, que é composto por vasos sanguíneos, matriz extracelular e diversas moléculas sinalizadoras. Esses componentes podem criar condições favoráveis à migração e disseminação das células cancerígenas para novas regiões do tecido (SEKER-POLAT *et al.*, 2022).

Uma das principais características do microambiente tumoral durante a progressão do câncer é a hipóxia, condição caracterizada por baixos níveis de oxigênio (O₂). No glioblastoma, o rápido crescimento tumoral aumenta a demanda metabólica por oxigênio e nutrientes, levando à ativação da angiogênese. Entretanto, os vasos formados são estruturalmente anormais, desorganizados e altamente permeáveis, o que resulta em uma vascularização pouco eficiente. Embora esses vasos permitam certo suprimento sanguíneo ao tumor, eles não conseguem atender adequadamente às demandas metabólicas das células tumorais, mantendo regiões hipóxicas. Além de representar limitação nutricional, a hipóxia favorece a progressão tumoral ao induzir mecanismos adaptativos mediados, principalmente pelo fator induzido por hipóxia (HIF-1 α), promovendo maior invasividade celular, resistência terapêutica e manutenção do fenótipo agressivo do GBM. Essa condição pode contribuir para o desenvolvimento de trombose intravasculares, hemorragias e áreas de necrose no tecido tumoral (SEBAGH *et al.*, 2014). Desse modo, o microambiente hipóxico contribui para o caráter agressivo das células do GBM e favorece a disseminação das células tumorais para áreas distantes do tecido cerebral dificultando a remoção total do tumor.

1.4 Tratamentos convencionais

1.4.1 Ressecção cirúrgica

O tratamento padrão para pacientes com glioblastoma consiste na remoção cirúrgica do tumor até o limite seguro. Contudo, apesar da formação de metástase a partir de um glioblastoma ser rara, a natureza difusa das células do glioblastoma restringe a eficácia dos tratamentos. Tais como sua capacidade de infiltrar o tecido cerebral saudável adjacente ao tumor, atingindo áreas próximas e comprometendo a estrutura normal do cérebro. Essa característica torna a remoção tumoral por meio de ressecção cirúrgica, procedimento que tem como objetivo eliminar completamente a neoplasia, preservando o tecido saudável e mantendo as funções neurológicas, extremamente desafiadora. Dessa forma, é comum que células tumorais permaneçam no tecido cerebral após a cirurgia, o que aumenta significativamente o risco de recorrência tumoral (STUPP *et al.*, 2009).

1.4.2 Radioterapia e Quimioterapia

Conforme a doença inicialmente seja inoperável ou apresente o retorno de células tumorais, a radioterapia é outro tratamento associado. É uma técnica que utiliza radiações ionizantes, em quantidades calculadas, nas quais destroem ou dificultam a progressão do tumor (KAMEO *et al.*, 2020). Os resultados provenientes da radiação são relativamente satisfatórios, porém estão associados também a inúmeros efeitos desagradáveis, tais como mucosite, trismo, disgeusia, e dentre os mais outros efeitos, a fadiga é o mais frequente (AVELAR *et al.*, 2019).

Esses efeitos podem surgir em períodos variáveis, que podem ir de semanas a meses após o tratamento, sendo influenciados por um fenômeno conhecido como radiosensibilidade, que corresponde à sensibilidade individual do paciente à radiação. Além desse fator, outros aspectos também podem interferir na resposta ao tratamento radioterápico, como idade, estado geral de saúde e presença de comorbidades, os quais podem dificultar ou limitar a eficácia da terapia (KAMEO *et al.*, 2020).

Outra estratégia terapêutica amplamente utilizada é a quimioterapia, que consiste no uso de medicamentos para combater as células tumorais. Em muitos casos, essa abordagem é empregada como quimioterapia adjuvante, sendo administrada após o procedimento cirúrgico e a radioterapia, com o objetivo de eliminar células tumorais remanescentes e reduzir o risco de recidiva da doença (BRASIL, 2014).

Nesse sentido, a quimioterapia tem como objetivo inibir a proliferação das células cancerígenas por meio da administração de agentes quimioterápicos. No entanto, devido à alta toxicidade e à ação pouco específica desses fármacos, o tratamento pode também afetar células saudáveis, resultando em diversos efeitos colaterais (ALVES *et al.*, 2020). Esses efeitos também impactam significativamente a qualidade de vida dos pacientes, provocando o agravamento de sintomas como insônia, náuseas, fadiga, perda de apetite e queda de cabelo ou pelos em diferentes regiões do corpo. Além disso, tais manifestações podem prejudicar o cotidiano, comprometendo aspectos físicos, emocionais e psicológicos, bem como a realização de atividades diárias (AMANDA; FRANCO; VASCONCELOS, 2017).

A temozolomida (TMZ) é um fármaco frequentemente utilizado na quimioterapia, especialmente no tratamento de tumores do sistema nervoso central, incluindo os gliomas. Trata-se de um agente alquilante administrado por via oral, cujo mecanismo de ação

consiste em provocar danos no DNA das células tumorais, impedindo a replicação celular e, consequentemente, inibindo o crescimento do tumor (ORTIZ *et al.*, 2021).

Embora o uso desse fármaco seja amplamente estabelecido, seu papel no tratamento tem sido considerado principalmente paliativo, uma vez que, mesmo quando associado à radioterapia, o tratamento pode prolongar a sobrevida dos pacientes, mas geralmente não impede a recorrência do tumor nem a progressão da doença. Essa limitação está relacionada ao fenômeno conhecido como resistência aos medicamentos, que representa um dos principais desafios associados ao uso da TMZ associado à natureza altamente heterogênea e inclinada a mutações do GBM (ORTIZ *et al.*, 2021; TERAIIYA; PERREAULT; CHEN, 2023).

Assim como outros fármacos utilizados na quimioterapia, a temozolomida também pode provocar efeitos colaterais, entre os quais se destacam náuseas, fadiga, tontura, além de possíveis complicações de natureza psíquica. Além disso, a eficácia do tratamento é limitada em parte dos casos, uma vez que aproximadamente 50% dos pacientes com glioblastoma multiformes tratados com esse fármaco não apresentam resposta terapêutica adequada (ARORA; SOMASUNDARAM, 2019). Dessa forma, torna-se fundamental a investigação de novas abordagens terapêuticas, que sejam não apenas eficazes, mas também mais seguras.

1.5 SM 22

Esse cenário evidencia a necessidade de ampliar estudos voltados ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas capazes de melhorar a resposta ao tratamento. Nesse contexto, investigações recentes têm buscado elucidar mecanismos moleculares e vias de sinalização envolvidos na resistência tumoral.

Estudos têm demonstrado alterações em componentes bioquímicos específicos, como determinadas classes de proteínas, cuja expressão se apresenta desregulada quando comparada a células saudáveis, sugerindo possíveis caminhos para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento (SIQUEIRA *et al.*, 2020; LAN; LI; ZHANG, 2024; TĂȚĂRANU *et al.*, 2024)).

As proteínas quinases constituem uma ampla família de enzimas que desempenham funções fundamentais em diversas vias metabólicas e de sinalização celular. Entre elas, destacam-se as quinases serina/arginina (SRPKs), especialmente as isoformas SRPK1 e SRPK2 por desempenhar papel regulatório crucial em processos celulares essenciais. A presença e, principalmente, a superexpressão dessas proteínas têm

sido amplamente investigadas, uma vez que representam fatores relevantes na promoção e manutenção de condições que favorecem a progressão do câncer (MAGALHÃES *et al.*, 2022; SHI *et al.*, 2024; SIQUEIRA *et al.*, 2020).

No microambiente tumoral, essas enzimas funcionam como reguladoras cruciais do splicing alternativo, um processo pós-transcricional que dita quais isoformas proteicas a célula deve produzir. Sob condições de hiperatividade, a fosforilação exacerbada mediada pelas SRPKs altera o processamento de transcritos de genes reguladores do ciclo celular, promovendo a síntese de isoformas aberrantes que bloqueiam os mecanismos de morte celular programada (apoptose) e auxiliam na proliferação descontrolada característica dos gliomas. Esse fato destaca o potencial terapêutico dos inibidores dessas quinases, considerando que sua presença é frequentemente observada em células com elevada taxa de proliferação (LEE *et al.*, 2020). A inibição dessas proteínas tem sido apontada como uma estratégia terapêutica promissora, com potencial para reduzir a proliferação tumoral e induzir processos de apoptose, conforme demonstrado em estudos prévios.

Efetivamente, derivados de proteína serina/arginina, como o N-(2- (piperidin-1-il) -5-(trifluorometil) fenil) isonicotinamida (SRPIN340) demonstraram afinidade elevada pelas regiões ativas das SRPKs, bloqueando sua atividade biológica ao competir diretamente pelo sítio de ligação com o substrato tornando alvo de estudos atuais que buscam pelos resultados discutidos acima (SIGALA *et al.*, 2021).

A partir da molécula original, investiga-se a ação de seus derivados com o objetivo de ampliar seu potencial terapêutico e melhorar sua eficácia. Neste contexto, o presente estudo apresenta a análise de um novo candidato terapêutico, identificado pelo código SM22, derivado do composto SRPIN340 (Figura 5).

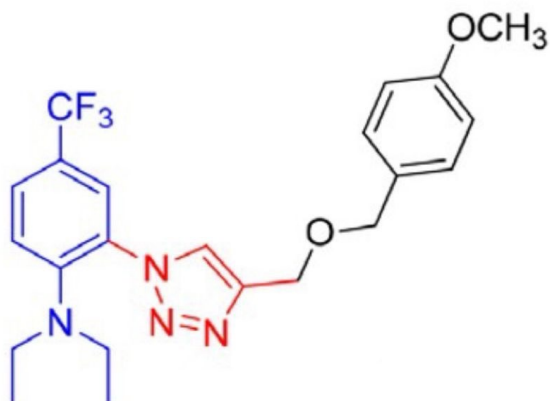


Figura 5. **Composto SM22**. Em azul, porção inspirada no SRPIN340. Em vermelho, porção 1,2,3-triazólica. Em preto, grupamento (4-metoxibenzilóxi)metil). Fonte: SOUSA, S. M. R. DE *et al.*, 2021.

2. JUSTIFICATIVA

Apesar dos avanços obtidos nas últimas décadas, o tratamento do glioblastoma permanece limitado pela elevada taxa de recorrência e pela resistência às terapias disponíveis. Esse tipo de tumor cerebral é conhecido por sua agressividade, alta taxa de recorrência e resistência aos tratamentos convencionais. O impacto do GBM na saúde pública é significativo. De acordo com dados recentes, o número de casos de câncer tem crescido exponencialmente, e os tumores do sistema nervoso central representam uma parcela relevante dessa estatística. No Brasil, as estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA) indicam que milhares de novos casos de câncer são diagnosticados anualmente, com um número considerável de pacientes acometidos por tumores cerebrais de alto grau. A sobrevida média de pacientes diagnosticados com GBM é de aproximadamente 15 meses, mesmo com tratamento intensivo. Isso evidencia a necessidade de pesquisas que busquem tratamentos mais eficazes e menos tóxicos para o combate a essa doença.

Os tratamentos convencionais, como ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia com Temozolomida, apresentam limitações consideráveis. A infiltração das células tumorais no tecido cerebral dificulta a remoção completa do tumor, e a resistência aos quimioterápicos reduz a eficácia do tratamento. Além disso, os efeitos adversos dessas terapias comprometem a qualidade de vida dos pacientes, em conjunto com a complexidade da biologia tumoral do GBM, aliada à sua heterogeneidade celular, torna essencial a investigação de novas moléculas com potencial terapêutico.

Dentre as estratégias recentes, um dos enfoques promissores envolve o estudo de proteínas serina/arginina e seus derivados. Essas proteínas desempenham papéis fundamentais na regulação da expressão gênica e no controle do ciclo celular, sendo alvos potenciais para o desenvolvimento de novas terapias. Nesse sentido, a pesquisa sobre o derivado SM22 visa avaliar sua ação sobre o metabolismo celular e sua capacidade de agir em etapas envolvidas na progressão tumoral. Estudos preliminares indicam que derivados de serina/arginina atuam de maneira assertiva, reduzindo a proliferação de células tumorais sem comprometer células saudáveis. Isso representa um avanço significativo na biotecnologia aplicada ao tratamento do GBM.

Diante disso, essa pesquisa poderá abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de terapias mais eficientes contra o glioblastoma, oferecendo uma alternativa promissora aos tratamentos disponíveis atualmente. E reforça-se a importância

da investigação de novas estratégias terapêuticas que possam impactar positivamente a vida dos pacientes acometidos por esse tumor.

3. OBJETIVOS

Geral: Avaliar o potencial quimioterápico do composto SM22, um derivado sintético do SRPIN340, em células de glioblastoma humano (U87MG).

Específicos:

- Analisar o efeito do composto SM22 sobre o metabolismo celular;
- Analisar o efeito do composto SM22 sobre a migração celular;
- Analisar o efeito do composto SM22 sobre formação de colônias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2 Equipamentos utilizados

A determinação da atividade metabólica celular por MTT foi conduzida em um leitor de microplacas multidetector VICTOR™ X3 (PerkinElmer), pertencente à infraestrutura do Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos (LBTM-ICEB-UFOP). Concomitantemente, o registro de imagem e o monitoramento óptico para os ensaios de migração celular e clonogênico foram efetuados em microscópio invertido MOTIC (modelo AE2000) integrado a uma câmera digital AmScope (modelo MU300), ambos vinculados e alocados no Laboratório de Neurobiologia e Biomateriais (LNBIO-ICEB-UFOP).

4.3 Síntese do Composto

A preparação e caracterização estrutural do derivado SM22 foram efetuadas via síntese orgânica pelo grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Dr. Róbson Ricardo Teixeira no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV), conforme descrito por Souza e colaboradores (2021) e cedido para este estudo em uma colaboração entre as duas instituições.

4.4 Cultivo celular

As células U87MG (glioblastoma humano), provenientes da American Type Culture Collection (ATCC, Arlington, VA), foram gentilmente cedidas pela Profª Drª Cintia Lopes de Brito Magalhães, do Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos (LBTM – ICEB/UFOP). O cultivo celular foi realizado conforme descrito na literatura, utilizando garrafas de cultura (Biofil) contendo meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium – Gibco™), com alta concentração de glicose, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) previamente inativado a 60 °C, 2 mM de L-glutamina e 1% de solução antibiótica composta por penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (0,1 mg/mL) (Sigma-Aldrich). As culturas foram mantidas em incubadora a 37 °C, em atmosfera umidificada com 5% de CO₂, com pH ajustado para 7,2.

As células da linhagem U87MG foram acompanhadas por microscopia de contraste de fase em equipamento invertido MOTIC (AE2000) até que a monocamada atingisse entre 80 e 90% de confluência. O processo de passagem celular foi efetuado utilizando-se uma solução de tripsina a 0,25% (Sigma-Aldrich) associada a EDTA (LGC Biotecnologia) a 0,02% em tampão PBS (Phosphate Buffered Saline) com cloreto de sódio P.A. promovendo a dissociação e o descolamento eficiente das células aderidas para a sequência experimental.

4.5 Ensaios experimentais

4.5.1 Ensaio de Metabolismo celular

A triagem de compostos candidatos a fármacos adota frequentemente metodologias colorimétricas baseadas na clivagem de sais de tetrazólio para mensurar de forma indireta a viabilidade celular (GHASEMI et al., 2021). O principal representante desse método é o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), um composto amarelado e solúvel em água que participa de cascatas redox intracelulares ao interagir com sistemas de desidrogenases.

O ensaio de MTT baseia-se na atividade metabólica de células viáveis, que promovem a redução do sal tetrazólio e levam à formação de cristais insolúveis de formazan conforme ilustrado na figura 6, cuja quantidade produzida é proporcional à atividade celular (MOSMANN, T. 1983). Esses cristais exibem uma coloração roxa que pode ser detectada por espectrofotômetro na faixa de 530 a 570 nm (BERRIDGE; TAN, 1993). Como essa reação depende da atividade de enzimas mitocondriais, a quantidade

de cristais formados é proporcional à atividade metabólica das células viáveis. Dessa forma, a intensidade da coloração produzida fornece uma medida indireta, porém confiável, da viabilidade celular. Os cristais de formazan permanecem depositados no meio intracelular, sendo necessária a utilização de DMSO (dimetilsulfóxido) para sua completa solubilização (GASQUE *et al.*, 2014).

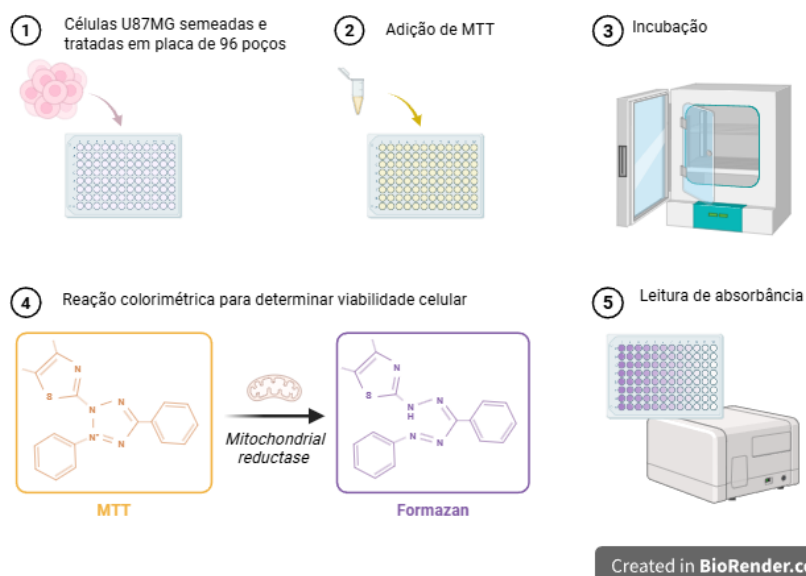


Figura 6. Ensaio de MTT. Representação esquemática do protocolo analítico de metabolismo celular em placa de 96 poços. O diagrama destaca a inoculação de células U87MG sob ação do composto e a reação bioquímica de clivagem intracelular do sal de tetrazólio (MTT) a formazan. A etapa terminal ilustra o processo de quantificação espectrofotométrica da densidade óptica, proporcional ao metabolismo do grupo. Adaptado de MOSMANN, T. 1983 e elaborado no BioRender.

O composto SM22 foi solubilizado em uma solução de 20% de DMSO e água ultrapura para a obtenção de uma solução estoque de 5mM. Para o ensaio biológico, células U87MG foram plaqueadas em três placas de 96 poços na densidade de $1,5 \times 10^4$ células/poço. Decorrido o intervalo de 24 horas da semeadura, as culturas foram submetidas ao tratamento com o SM22 diluído em DMEM suplementado nas concentrações de 50, 100 e 150 μ M. O grupo controle experimental foi constituído de poços contendo apenas meio DMEM acrescido do veículo DMSO na concentração de 0,6% v/v.

Ao término dos tempos de tratamento de 24, 48 e 72 horas retirou-se o meio de cultivo com o composto SM22, adicionando-se em cada poço a solução de MTT 0,5 mg/mL diluída em DMEM. O sistema foi incubado por um período mínimo: 4 horas e tempo máximo: 18 horas (*overnight*). Posteriormente, a solução de MTT foi aspirada e

adicionaram-se 100 μL de DMSO puro por poço para promover a dissolução dos cristais intracelulares de formazan (GASQUE *et al.*, 2014). Mantendo as placas protegidas da luz, cada uma foi colocada em um homogeneizador de placas por 1 hora, sob agitação de 60 rpm, e, em seguida, levada ao espectrofotômetro (leitor de microplacas multidetector) para obtenção dos resultados.

4.5.2 Ensaio de Migração celular

Fisiologicamente, a migração celular é uma característica natural de diferentes componentes celulares humanos. No contexto oncológico, contudo, a agressividade tumoral depende da capacidade dessas células de ultrapassarem os limites do tecido hospedeiro, atuando como o evento precursor para a disseminação metastática. Diante disso, foi realizado um ensaio de cicatrização (Figura 7), seguindo o protocolo de ensaio de ferida (ALMEIDA *et al.*, 2019), o qual foi conduzido em placas de 24 poços, com plaqueamento inicial de 150.000 células U87MG por poço. Uma vez atingida a confluência, a monocamada celular foi riscada mecanicamente com o auxílio de uma ponteira de micropipeta de 200 μL . Para eliminar células “soltas” os poços foram imediatamente lavados com meio DMEM suplementado e aquecido. O tratamento foi realizado utilizando-se o composto SM22 diluído em DMEM contendo 2% de soro, com o objetivo de minimizar a influência dos fatores de crescimento presentes no soro sobre a proliferação celular. aplicando-se as concentrações de 100 e 150 $\mu\text{M L}^{-1}$, selecionadas com base nos resultados previamente obtidos no ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT, no qual essas doses demonstraram redução significativa do metabolismo celular das células U87MG após o tratamento

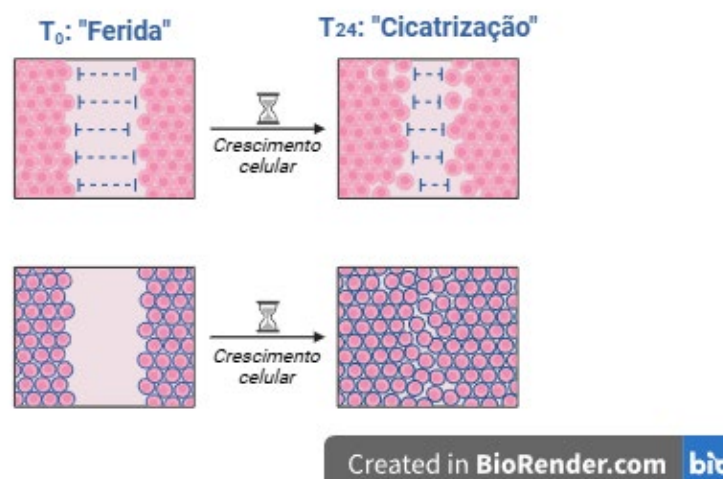


Figura 7. **Ensaio de migração celular por fechamento de ferida.** Após a indução da “ferida” na monocamada celular (T₀), observa-se o espaço livre entre as células. Após 24 horas (T₂₄), avalia-se o fechamento da área por meio da migração celular. Fonte: Elaborado no BioRender.

A condição inicial da ferida foi registrada com um microscópio invertido e uma câmera, e as placas foram incubadas em estufa de CO₂. Após 24 horas de tratamento, novas imagens foram capturadas para avaliação do fechamento da área de lesão. As imagens obtidas foram analisadas utilizando o software ImageJ, permitindo a mensuração da área da ferida ao longo do tempo e o cálculo da porcentagem de fechamento da lesão, utilizado como parâmetro para avaliação da capacidade migratória das células.

4.5.3 Ensaio de Colônia

O tratamento padrão, baseado na ressecção cirúrgica seguida de quimio e radioterapia raramente resulta em cura. Isso se deve, em grande parte, à persistência de células remanescentes na margem cirúrgica, que permanecem viáveis e retomam a proliferação tumoral. Essas células residuais, dotadas de resistência terapêutica, são responsáveis pela recorrência precoce do tumor (PUTAVET; DE KEIZER, 2021).

Com o objetivo de simular tal situação, as células U87MG foram semeadas em placas de seis poços, na densidade de 1×10^3 células por poço. Após 24 horas do plaqueamento, realizou-se o tratamento com o composto diluído em DMEM, nas concentrações de 12,5; 25 e 50 μ M (Figura 8). A escolha dessas concentrações inferiores às utilizadas no ensaio de metabolismo celular (MTT) foi baseada nas características do ensaio de formação de colônia, que avalia a capacidade de sobrevivência e proliferação celular por um período prolongado. Dessa forma, concentrações moderadas foram selecionadas para permitir a observação do efeito do composto sobre a formação de colônias sem promover uma redução imediata e acentuada da população celular,

possibilitando a avaliação do impacto do tratamento sobre o potencial proliferativo das células U87MG.). O grupo controle recebeu DMEM contendo 0,2% (v/v) de DMSO.

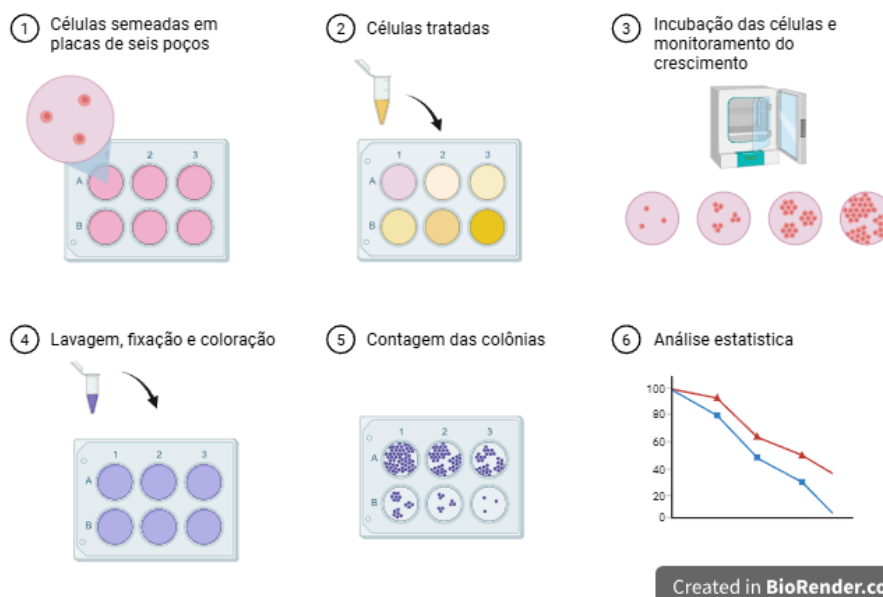


Figura 8. **Execução do ensaio de formação de colônias.** Esquema representativo de uma placa de 6 poços contendo células semeadas em densidade específica, incluindo grupos controle e grupos submetidos a diferentes concentrações do composto avaliado. Ilustração simplificada dos possíveis mecanismos de ação envolvidos. Fonte: Elaborado no BioRender.

Concluído o período de 24 horas de exposição, a solução de tratamento foi removida e substituída por DMEM 10%. As placas foram então mantidas em estufa de CO₂ por 9 dias, com monitoramento contínuo, sendo o meio renovado a cada dois dias para garantir condições adequadas de crescimento celular.

Finalizado o ensaio, o sobrenadante foi removido para a fixação celular com paraformaldeído a 4% durante 40 minutos sob temperatura ambiente. Em seguida, as colônias foram coradas com azul de toluidina-borato. O experimento foi executado em dois ensaios independentes em triplicata, e as imagens representativas dos clones foram capturadas em uma lupa estereoscópica (SPDTP) integrada a uma câmera digital (AmScope modelo MU300).

4.6 Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em triplicata técnica, sendo cada condição experimental avaliada em três poços independentes dentro de cada placa. Além disso, os ensaios foram repetidos em três experimentos independentes realizados em

diferentes momentos, utilizando novas preparações celulares e placas de cultivo. Os dados obtidos foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 5.0.3, empregando a análise de variância One-Way ANOVA, seguida do teste de comparação múltipla de Dunnett (quando aplicável), considerando valores de $P < 0,05$ como estatisticamente significativos. Utilizando a Análise de Variância One-Way ANOVA, considerando significativos valores de $P < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Metabolismo celular

As células da linhagem foram submetidas a ensaios de metabolismo celular por 24, 48 e 72 horas, conforme descrito anteriormente. Os tempos e concentrações utilizados foram estabelecidos com base nos estudos prévios descritos por Sousa e colaboradores (2021) e a partir disto foram obtidos resultados, apresentados na Figura 9.

No intervalo de 24 horas foi visto que as concentrações de 100 e 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ promoveram redução significativa do metabolismo celular em comparação ao controle. Na concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, foi observada uma taxa de metabolismo celular de 84%, indicando redução de 16% em relação ao controle.

No intervalo de 48 horas, as concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ reduziram a taxa metabólica celular em relação ao grupo controle. A maior redução foi observada na concentração de 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$, correspondente a 35,7%.

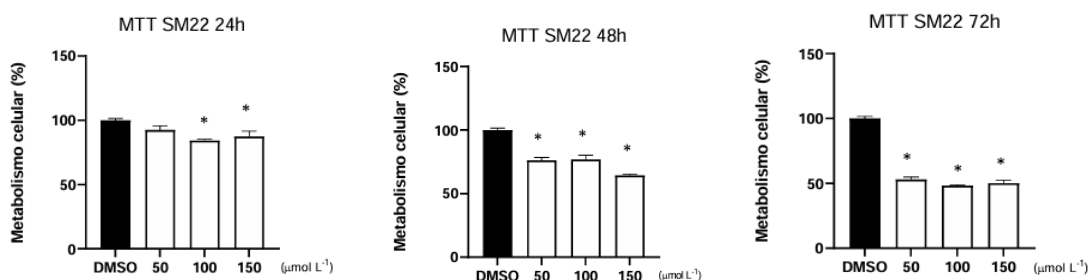


Figura 9. Ensaio de metabolismo celular de U87MG. Foram aplicados tratamentos nas concentrações de 50; 100 e 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ durante 24, 48 e 72 horas de exposição ao composto SM22. Os experimentos foram realizados em triplicata técnica e repetidos em três experimentos independentes. Análise gráfica pelo Software GraphPad Prism. Os dados foram analisados por One-Way ANOVA seguido do pós-teste de Dunnett. * Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$).

No período de 72 horas mostra que comparado ao controle, todas as concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ reduziram o metabolismo celular em cerca de 50%, indicando um efeito inibitório do composto.

5.2 Migração

A área da ferida nas células U87MG foi registrada imediatamente após sua realização (T_0) e após 24 horas de exposição ao composto SM22, a fim de avaliar a migração celular. Os resultados apresentados na Figura 10 indicam que o tratamento promoveu uma redução significativa na motilidade celular em comparação às células não

tratadas, com diminuições estatisticamente relevantes de aproximadamente 44% na menor concentração testada e 73% na mais elevada.

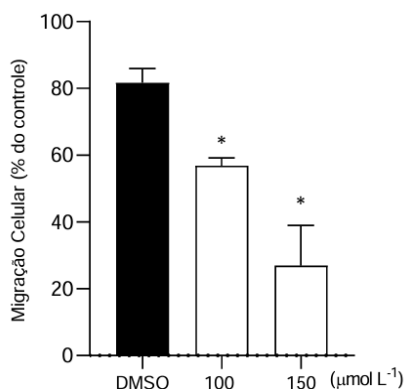


Figura 10. Ensaio de migração. A migração celular quantificada com base na área remanescente da fenda após 24 horas de tratamento com SM22 nas concentrações de 100 e 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Os experimentos foram realizados em triplicata técnica e repetidos em três experimentos independentes. Os dados foram analisados graficamente utilizando o GraphPad Prism e submetidos ao teste One-Way ANOVA e pós teste de Dunnett, considerando-se como estatisticamente significativos os valores de $P < 0,05$.

As imagens exibidas na Figura 11 ilustram a evolução da fenda realizada manualmente com ponteira, comparando o grupo controle e o tratamento com 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de SM22. No tempo inicial (0 horas), ambos os grupos apresentavam áreas de fenda semelhantes. Após 24 horas, o fechamento da fenda foi mais pronunciado no grupo controle, enquanto nos poços tratados a área remanescente permaneceu maior, indicando inibição da migração celular. Dessa forma, quanto menor o fechamento da fenda, menor a capacidade migratória das células, evidenciando o efeito do composto sobre o deslocamento celular.

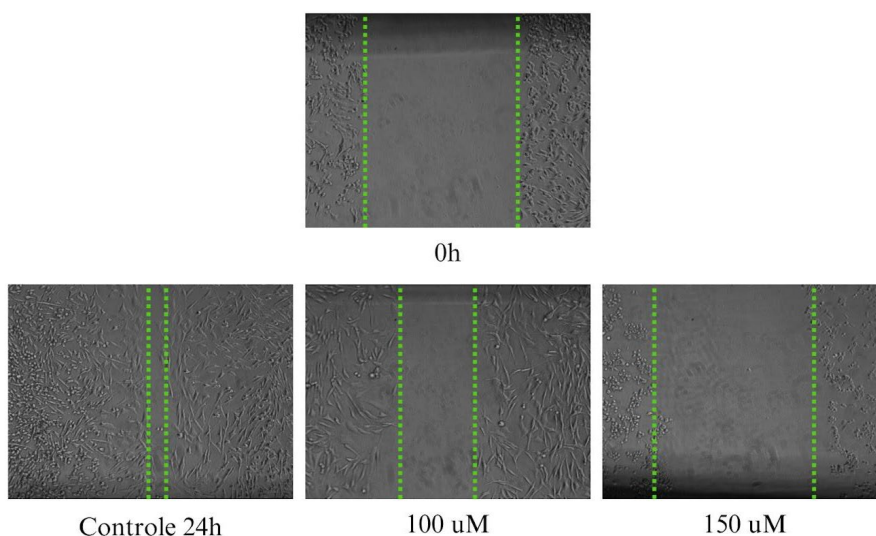


Figura 11. Migração celular. No tempo 0 (início do ensaio), a área delimitada pelas linhas tracejadas indica a ranhura inicial. Após 24 horas, a mesma delimitação representa a área remanescente, após o deslocamento das células. As imagens foram adquiridas em microscópio MOTIC, modelo AE200, associado a uma câmera (AMSCOPE, modelo MU300) em objetiva de 10X.

5.3 Formação de Colônia

O ensaio de formação de colônias foi utilizado para avaliar a formação de colônia com enfoque na mimetização do tratamento com ressecção cirúrgica. Nove dias, após o tratamento, as células foram analisadas conforme descrito anteriormente, permitindo investigar o efeito do composto em condições de isolamento parcial celular. A Figura 12 demonstra que, na menor concentração de SM22 ($12,5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), a formação de colônias atingiu 77%.

Já com o aumento das concentrações para 25 e $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, observou-se uma redução significativa, de 48% e 26% respectivamente, na formação de colônias, evidenciada na Figura 13, que mostra a redução de aglomerados celulares em comparação ao controle.

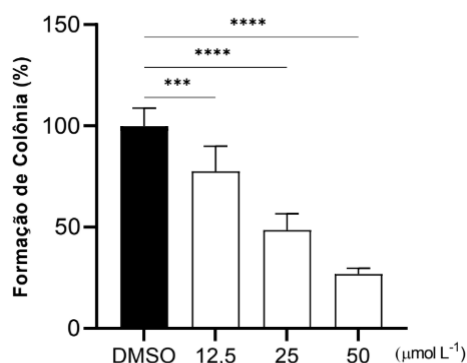


Figura 12. Ensaio de formação de colônia em U87MG. Porcentagem do número de colônias formadas sob ação do composto SM22 em relação ao controle. As células U87MG foram expostas às concentrações de 12,5; 25 e $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ por 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata técnica e repetidos em três experimentos independentes. A avaliação quantitativa do crescimento clonal residual foi realizada no 9º dia pós-tratamento no software ImageJ. As representações estatísticas e as curvas de variação foram processadas no GraphPad Prism, adotando-se a análise de variância de uma via (ANOVA one-way) com pós-teste comparativo de Dunnett. Valores significativos **** $P < 0,0001$.

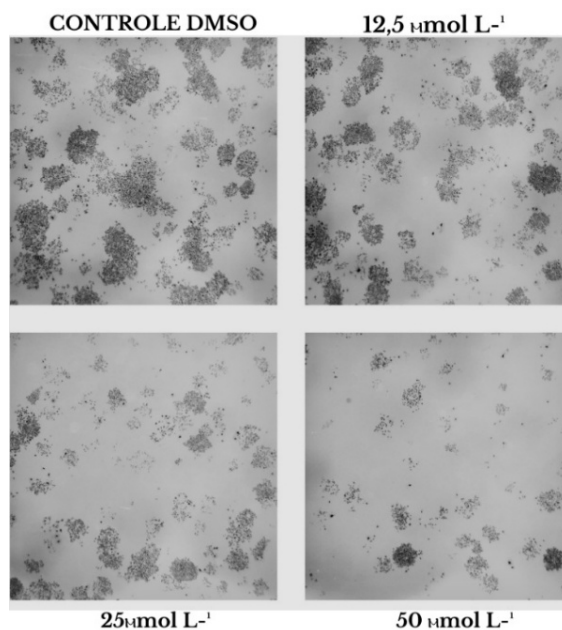


Figura 13. Ensaio de formação de colônia (aglomerados). Perfil visual da sobrevivência reprodutiva de células U87MG submetidas a doses de 12,5; 25 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do derivado SM22 por um intervalo de 24 horas. As imagens, registradas em lupa estereoscópica, evidenciam o comprometimento dose-dependente na proliferação residual e no diâmetro dos aglomerados clonais no 9º dia pós-tratamento. Imagens obtidas em lupa estereoscópica.

6. DISCUSSÃO

Considerando que a molécula SM22 preserva elementos estruturais presentes no SRPIN340, sugere-se um possível potencial de interação com proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular. Dessa forma, o presente estudo buscou avaliar a atividade antitumoral do composto SM22 em células de glioblastoma multiforme, investigando seus efeitos sobre processos celulares relacionados à progressão tumoral.

A escolha das concentrações utilizadas nos ensaios foi baseada tanto em estudos prévios (SOUSA, S. M. R. DE *et al.*, 2021) envolvendo derivados do SRPIN340 quanto na necessidade de avaliar diferentes faixas de resposta celular ao composto SM22. Essa estratégia foi importante para identificar concentrações capazes de interferir no metabolismo celular e proliferação celular sem provocar uma resposta imediata extremamente citotóxica, permitindo melhor compreensão do comportamento biológico do composto.

Da mesma forma, os períodos de exposição de 24, 48 e 72 horas foram definidos com o objetivo de investigar não apenas efeitos imediatos, mas também alterações progressivas decorrentes da permanência do composto em contato com as células tumorais. O intervalo de 24 horas possibilitou avaliar respostas iniciais ao tratamento, enquanto os tempos de 48 e 72 horas permitiram verificar se os efeitos do SM22 seriam mantidos ou potencializados ao longo do tempo. Os resultados indicam que a redução da atividade metabólica foi mais acentuada nos maiores tempos de exposição ao SM22, embora não tenha sido realizada comparação estatística entre os diferentes períodos de tratamento.

O impacto do composto SM22 sobre o metabolismo das células U87MG foi investigado por meio do ensaio de MTT, amplamente utilizado para avaliação da citotoxicidade e viabilidade celular (GHASEMI *et al.*, 2023). Os resultados demonstraram que o tratamento com SM22 reduziu significativamente a atividade metabólica das células U87MG em comparação ao grupo controle. Esse efeito foi observado nas maiores concentrações após 24 horas e em todas as concentrações nos períodos de 48 e 72 horas. Esses achados corroboraram com os resultados descritos por Sousa e colaboradores (2021), que também observaram efeitos antiproliferativos em derivados relacionados ao SRPIN340.

Estudos realizados por HÁ, HIMALI GUJRATI & WANG (2023) demonstraram que o SRPIN340 apresenta potencial antitumoral em diferentes linhagens celulares,

incluindo tumores resistentes a fármacos, como câncer de próstata, mama, pulmão e cólon. Segundo os autores, esta molécula tem efeito sinérgico significativo na inibição do crescimento e viabilidade de tumores endócrinos e sólidos, sugerindo um potencial a ser explorado pelos seus derivados.

Ademais a migração celular é fundamental em processos fisiológicos, como a embriogênese, no entanto quando desregulada está implicada em processos patológicos, como metástase e fibrose do câncer (POURJAFAR; TIWARI, 2024). Esse movimento celular, mediado por múltiplas vias de sinalização e componentes da matriz extracelular, está diretamente associado à capacidade invasiva dos tumores, contribuindo decisivamente para a malignidade (HE; LEE; JIANG, 2022). O composto SM22 demonstrou potencial inibitório na análise de migração celular, conforme ilustrado nas Figuras 10 e 11.

Essa metodologia foi aplicada a outros tipos de câncer, como demonstrado por Moreira e colaboradores (2018) em um estudo envolvendo SRPIN340 e três derivados dessa molécula. Os autores observaram que alguns derivados apresentaram maior capacidade de inibir a migração celular em comparação tanto com o controle quanto com o SRPIN340, sugerindo que a interação desses compostos com as células tumorais é mais eficaz na supressão da migração. Além disso, verificou-se que a dosagem do composto SM22 é um fator crítico, sendo que a concentração de 150 uM se mostrou particularmente eficaz no controle da migração coletiva das células U87MG.

Apesar de alguns autores apresentarem que o SRPIN340 não é tão eficaz em concentrações menores sobre a formação de colônias (MOREIRA *et al.*, 2018), estudos recentes têm demonstrado que determinadas estruturas químicas podem potencializar a atividade antitumoral de compostos candidatos. Nesse contexto, a presença da porção 1,2,3-triazol tem recebido destaque devido à sua elevada estabilidade química e à capacidade de estabelecer interações com resíduos presentes no sítio ativo de proteínas, contribuindo para sua atividade biológica. Além disso, derivados contendo esse núcleo estrutural têm demonstrado atividade significativa contra diferentes tipos de neoplasias, incluindo câncer de mama, melanoma, cólon, próstata e leucemia, promovendo inibição da proliferação celular, indução de apoptose e modulação de vias associadas à sobrevivência tumoral (HAMIDULLAH *et al.*, 2015; POKHODYLO, 2013).

Moléculas contendo anéis triazólicos têm sido então associadas a efeitos antiproliferativos em diferentes modelos tumorais, incluindo indução de apoptose e redução da viabilidade celular (KHASAWNEH *et al.*, 2025; WANG *et al.*, 2025). Assim,

há um expressivo potencial biológico documentado para os anéis triazólicos justificando o interesse em moléculas que apresentam essa característica estrutural, como observado no composto SM22.

Inicialmente, esperava-se que o composto apresentasse algum grau de atividade antitumoral devido à sua relação estrutural com derivados do SRPIN340 já descritos na literatura. Na prática, os ensaios confirmaram essa expectativa, revelando um efeito inibitório expressivo sobre a motilidade e a formação de colônias das células tratadas. Esses achados sugerem que o SM22 representa uma molécula promissora para a continuidade de investigações voltadas ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo demonstram que o composto SM22 apresenta atividade antitumoral em linhagem de glioblastoma humano *in vitro*. De modo geral, os dados obtidos reforçam o potencial do composto SM22 como candidato para futuras investigações no tratamento do glioblastoma. Embora sua semelhança estrutural com o SRPIN340 sugira a possibilidade de interação com quinases da família SRPKs, não foram realizadas análises mecanísticas específicas neste estudo para confirmar esse mecanismo de ação. Ainda assim, a associação entre a estrutura química e a atividade biológica identificada no composto SM22 confirma sua capacidade de modular processos celulares determinantes para o avanço da doença, incluindo proliferação, migração e sobrevivência tumoral.

Diante disso, estas evidências, aliadas aos dados já descritos na literatura, reiteram a importância de se dar continuidade à investigação deste composto, direcionando os estudos subsequentes para a identificação da via celular exata pela qual o composto atua, à confirmação de sua interação com possíveis alvos moleculares, como as quinases da família SRPKs e à avaliação de seus efeitos em células não tumorais, visando determinar seu perfil de seletividade e segurança.

8. REFERÊNCIAS

1. ALVES, E. A.; TAVARES, G. G.; BORGES, L. L. Importância da atenção farmacêutica para a quimioterapia antitumoral. *Revista Brasileira Militar de Ciências*, v. 6, n. 15, 2020. DOI: 10.36414/rbmc.v6i15.35.
2. ALMEIDA, V. M. et al. Anticancer drug screening: standardization of in vitro wound healing assay. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 55, n. 6, 2019. DOI: 10.5935/1676-2444.20190054
3. AMANDA, S.; FRANCO,; VASCONCELOS,. Associação entre o estado nutricional e alterações psicológicas em pacientes portadores de câncer gastrointestinal. *Braspen J*, p. 362–368, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.37111/braspenj.2017.32.4.11>
4. ARIYO, O.; AKTER, F. Anatomy and physiology of the neuron. In: AKTER, F. *et al.* (ed.). **Neuroscience for Neurosurgeons**. Cambridge: Cambridge University Press, 2024. cap. 5. DOI: 10.1017/9781009157620.005.
5. ARORA, A.; SOMASUNDARAM, K. Glioblastoma vs temozolomide: can the red queen race be won? *Cancer Biology and Therapy*, v. 20, n. 8, p. 1083-1090, 2019. DOI: 10.1080/15384047.2019.1599662
6. AVELAR, J. M. P.; NICOLUSSI, A. C.; TONETI, B. F.; SONOBE, H. M.; SAWADA, N. O. Fatigue in patients with head and neck cancer undergoing radiation therapy: a prospective study. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 27, 2019. DOI: 10.1590/1518-8345.2813-3168
7. BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S. Characterization of the cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 303, n. 2, p. 474-482, 1993. DOI: 10.1006/abbi.1993.1311
8. BRASIL. Ministério da Saúde. *Câncer*. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/cancer>. Acesso em: 12 dezembro 2025.

9. BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC). Temozolomida para o tratamento adjuvante de pacientes portadores de gliomas de alto grau. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/artigos_publicacoes/temozolomida_final.pdf. Acesso em: 20 fevereiro 2026.
10. 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. DOI: 10.3322/caac.21834
11. CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*, v. 455, p. 1061-1068, 2008. DOI: 10.1038/nature07385
12. CHEN, B. et al. Recent incidence trend of elderly patients with glioblastoma in the United States. *BMC Cancer*, v. 21, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07778-1>
13. CONIGLIO, S. J. et al. Microglial stimulation of glioblastoma invasion involves epidermal growth factor receptor and colony stimulating factor-1 receptor signaling. *Molecular Medicine*, v. 18, p. 519-527, 2012. DOI: 10.2119/molmed.2011.00217
14. CROWLEY, G. et al. **Glia in neurodegenerative disease**. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 17, n. 11, 2024. DOI: 10.1101/cshperspect.a041375.
15. GASQUE, K. C. DA S. et al. Cell density and solvent are critical parameters affecting formazan evaluation in MTT assay. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 57, n. 3, p. 381–385, 25 fev. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132014005000007>
16. GHASEMI, M. et al. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 23, p. 12827, 26 nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>

17. GHASEMI, M. et al. The MTT Assay: A Method for Error Minimization and Interpretation in Measuring Cytotoxicity and Estimating Cell Viability. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), v. 2644, p. 15–33, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3052-5_2

18. HAMIDULLAH, et al. Triazole analog induces autophagic mediated apoptosis in human breast cancer cells through ROS dependent activation of p38 MAPK. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, [S.l.], v. 65, p. 275–287, 2015. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.06.016

19. HANAHAN, D. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 2022. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.

20. HA, S.; HIMALI GUJRATI; WANG, B.-D. Aberrant PI3K δ splice isoform as a potential biomarker and novel therapeutic target for endocrine cancers. *Frontiers in endocrinology*, v. 14, 21 ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1190479>

21. HASSANPOUR, S. H.; DEHGHANI, M. Review of cancer from molecular perspective: pathogenesis and treatment strategies. *Journal of Cancer Research and Practice*, v. 4, n. 4, p. 127-129, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>

22. HE, X.; LEE, B.; JIANG, Y. Extracellular matrix in cancer progression and therapy. *MedComm*, v. 2, n. 2, p. 125-139, 2022. DOI: 10.1515/mr-2021-0028

23. HILTON, B. J. *et al.* Neuronal maturation and axon regeneration: unfixing circuitry to enable repair. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 25, p. 649–667, 2024. DOI: 10.1038/s41583-024-00849-3.

24. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Como surge o câncer? Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>

25. JUNQUEIRA, Luiz Carlos U.; CARNEIRO, José. *Histologia Básica: Texto e Atlas*. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

26. KAMEO, S. Y. et al. Adverse reactions in oncological patients after radiotherapy treatment. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, v. 92, n. 30, 29 jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.31011/reaid-2020-v.92-n.30-art.698>

27. KHASAWNEH, H. E. N. et al. Current progress of 1,2,3-triazole hybrids as EGFR inhibitors for cancer therapy: a literature review. *RSC Advances*, v. 15, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1039/D5RA03819G>

28. KUNKEL, P. et al. Expression and localization of scatter factor/hepatocyte growth factor in human astrocytomas. *Neuro-Oncology*, v. 3, n. 2, p. 82-88, 2001. DOI: 10.1093/neuonc/3.2.82

29. KUMARI, S. et al. Combinatorial therapy in tumor microenvironment: Where do we stand? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, v. 1876, n. 2, p. 188585–188585, 1 dez. 2021. DOI: 10.1016/j.bbcan.2021.188585

30. LAN, Z.; LI, X.; ZHANG, X. Glioblastoma: An update in pathology, molecular mechanisms and biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 5, art. 3040, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25053040>

31. LEE, A. et al. Anti-epidermal growth factor receptor therapy for glioblastoma in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013238.pub2>

32. LI, Y. et al. Invasion and metastasis in cancer: molecular insights and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 10, n. 1, 20 fev. 2025. DOI: 10.1038/s41392-025-02148-4

33. 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, 2021. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.

34. MAGALHÃES, M. et al. Impaired expression of serine/arginine protein kinase 2 (SRPK2) affects melanoma progression. v. 13, 23 set. 2022. DOI:10.3389/fgene.2022.979735

35. MONTANARI, T. Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 3.ed. Porto Alegre: Ed. da autora, 2016. 229 p. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/livrodehisto>
36. MOREIRA, G. A. et al. Pharmacological inhibition of serine/arginine-rich protein kinases and its effects in tumor cells. 2018. DOI: 10.1016/j.taap.2018.08.012
37. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, p. 55-63, 1983.
38. OSTROM, Q. T.; FRANCIS, S. S.; BARNHOLTZ-SLOAN, J. S. Epidemiology of Brain and Other CNS Tumors. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, v. 21, n. 12, 24 nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11910-021-01152-9>
39. 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, 2020. DOI: 10.2174/1570159X18666200626204005
40. PÖHLMANN, J. et al. High costs, low quality of life, reduced survival, and room for improving treatment: an analysis of burden and unmet needs in glioma. *Frontiers in Oncology*, v. 14, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1368606>
41. POKHODYLO, Nazariy; SHYYKA, Olga; MATIYCHUK, Vasyl. Synthesis of 1,2,3-triazole derivatives and evaluation of their anticancer activity. *Scientia Pharmaceutica*, Vienna, v. 81, n. 3, p. 663–676, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3797/scipharm.1302-04>
42. POURJAFAR, M.; TIWARI, V. K. Plasticity in cell migration modes across development, physiology, and disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 12, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1363361>
43. PUTAVET, D. A.; DE KEIZER, P. L. J. Residual disease in glioma recurrence: a dangerous liaison with senescence. *Cancers*, v. 13, n. 7, 2021. DOI: 10.3390/cancers13071560

44. SEBAGH, M. et al. A proposed new method for assessing the pathological response to chemotherapy in resected colorectal liver metastases. **British Journal of Cancer**, v. 111, n. 3, p. 470–476, jul. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.299>

45. SEKER-POLAT, F. et al. Tumor cell infiltration into the brain in glioblastoma: from mechanisms to clinical perspectives. *Cancers*, v. 14, n. 2, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14020443>

46. SHI, M. et al. SRPK1 promotes glioma proliferation, migration and invasion through activation of Wnt/ β -catenin and JAK2/STAT3 signaling pathways. *Biomedicines*, v. 12, 2024. DOI: 10.3390/biomedicines12020378

47. SIGALA, I. et al. Nuclear translocation of SRPKs is associated with 5-FU and cisplatin sensitivity in cancer cells. *Cells*, v. 10, 2021. DOI: DOI: 10.3390/cells10040759

48. SIQUEIRA, R. P. et al. Combined SRPK and AKT pharmacological inhibition is synergistic in T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. *Toxicology in Vitro*, v. 65, 2020. DOI: 10.1016/j.tiv.2020.104777

49. SOUSA, S. M. R. DE et al. Síntese de novos 1,2,3-triazóis inspirados no SRPIN340 e avaliação de seus efeitos em linhagem celular de glioblastoma humano. *Química Nova*, v. 44, p. 1268–1279, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170793>

50. STUPP, R. et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma. *Lancet Oncology*, 2009. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7)

51. SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

52. TĂȚĂRANU, L. G. et al. A synopsis of biomarkers in glioblastoma: Past and present. *Current Issues in Molecular Biology*, v. 46, n. 7, p. 6903–6939, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/cimb46070412>

53. TERAIIYA, M.; PERREAULT, H.; CHEN, V. C. An overview of glioblastoma multiforme and temozolomide resistance: can LC-MS-based proteomics reveal the fundamental mechanism of temozolomide resistance? *Frontiers in Oncology*, v. 13, 26 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1166207>
54. TIZABI, Y. et al. Role of Glial Cells in Neuronal Function, Mood Disorders, and Drug Addiction. *Brain Sciences*, v. 14, n. 6, p. 558, 30 maio 2024. DOI: 10.3390/brainsci14060558
55. VERHAAK, R. G. W. et al. Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell*, v. 17, n. 1, p. 98–110, jan. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.12.020>
56. WANG, L. et al. Design, synthesis and anti-cancer activity of novel 1,2,3-triazole hybrids of erlotinib against cervical cancer via MAPK signaling pathway. *Scientific Reports*, v. 15, n. 1, 9 jul. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-09168-8>
57. WELLER, M. et al. Glioma. *Nature reviews. Disease primers*, v. 10, n. 1, 9 maio 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00516-y>
58. YANG, W.; SHAH, K.; YANG, R. Editorial: Cell signaling in cancer metastasis and lineage plasticity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 11, 13 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1302659>