

Potencial anticancerígeno das bases de Mannich em neoplasias hematológicas - uma revisão de escopo

Anticancer potential of Mannich bases in hematologic neoplasms - A scope review

José Armando Leite Neto¹, Gabriele Gomes Fenício¹, Diogo Teixeira Carvalho¹, Raquel Tognon Ribeiro¹

1. Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF), Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) – Alfenas, MG, Brasil.

Neto, J. A. L.

jose.neto@sou.unifal-mg.edu.br
<https://orcid.org/0000-0002-1915-1170>

Fenício, G. G.

gabriele.fenicio@sou.unifal-mg.edu.br
<https://orcid.org/0000-0002-1646-6644>

Carvalho, D. T.

diogo.carvalho@unifal-mg.edu.br
<https://orcid.org/0000-0002-6362-2822>

Ribeiro, R. T.*

raquel.ribeiro@unifal-mg.edu.br
<https://orcid.org/0000-0002-4184-706X>

* **Autora correspondente:** Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro. Alfenas-MG. CEP: 37130-001. Tel.: (35) 3701-9503

Resumo: As doenças oncológicas constituem um evidente problema de saúde pública mundial. As neoplasias hematológicas são doenças clonais da célula tronco hematopoética, que comprometem a produção das células sanguíneas normais e, estão entre os 15 tipos de câncer com maior incidência no mundo. As bases de Mannich são moléculas que podem atuar como importantes farmacóforos, reconhecidos pelos estudos em química medicinal para potenciais atividades biológicas, inclusive antitumorais. Esta revisão de escopo tem como objetivo identificar e mapear os dados disponíveis na literatura a respeito da ação citotóxica de moléculas classificadas como bases de Mannich, compostos aminometilados, originados a partir da reação de Mannich, frente às neoplasias hematológicas. Para a seleção dos artigos, foram realizadas buscas nas bases de dados MEDLINE e Science Direct, sem restrição de tempo, obtendo-se 163 artigos. Como critérios de inclusão, foram considerados artigos originais, que utilizaram linhagens celulares, modelos animais ou pacientes portadores de neoplasias hematológicas e investigaram o potencial anticancerígeno de bases de Mannich, por meio de ensaios celulares, pré-clínicos ou clínicos. Foram excluídos artigos de revisão, artigos em outros idiomas sem ser português ou inglês, artigos que não tinham resumo disponível, e artigos não disponíveis gratuitamente ou por meio do Periódicos Capes. A seleção foi realizada por dois pesquisadores, às cegas e os conflitos resolvidos por meio de discussão. Foram incluídos nesta revisão 20 artigos e os dados foram extraídos para uma planilha. Para discussão, os trabalhos foram agrupados com relação ao tipo de molécula precursora utilizada para a síntese da respectiva base de Mannich. Foi notável a evidência de que, na maioria dos casos, as bases de Mannich se mostraram mais citotóxicas quando comparadas aos seus análogos precursores, especialmente quando estas possuem aminas cíclicas e bases bis-Mannich. No geral, o mecanismo de ação esteve associado à interação das mesmas com tióis intracelulares e indução de apoptose.

Palavras-chave: Antineoplásicos; Bases de Mannich; Neoplasias Hematológicas.

Abstract: Oncological diseases are a global public health problem. Hematological neoplasms are clonal diseases of the hematopoietic stem cell, which compromise the production of normal blood cells, and are among the 15 types of cancer with the highest incidence in the world. Mannich bases are molecules that can act as important pharmacophores, recognized by studies in medicinal chemistry for potential biological activities, including anticancer potential. This scoping review aims to identify and map the data available in the literature regarding the cytotoxic activity of molecules classified as Mannich bases, aminomethylated compounds derived from the Mannich reaction, against hematologic neoplasms. For the selection of the articles, the MEDLINE and Science Direct databases were searched without time limitation, and 163 articles were obtained. Inclusion criteria were original articles using cell lines, animal models or patients with hematological neoplasms and investigating the anticancer potential of Mannich bases using cellular, preclinical or clinical assays. We excluded review articles, articles written in languages other than Portuguese or English, articles that did not have an abstract available, and articles that were not available on open access or through Periódicos Capes. Two researchers, blinded, performed the selection and conflicts were resolved through discussion. Twenty articles were included in this review and the data were extracted into a spreadsheet. For the discussion, the papers were grouped according to the type of precursor molecule used for the synthesis of each Mannich base. It was noteworthy that in most cases, the Mannich bases were more cytotoxic than their precursor analogues, especially when the latter were cyclic amines and bis-Mannich bases. In general, the mechanism of action was related to their interaction with intracellular thiols and induction of apoptosis.

Keywords: Antineoplastic Agents; Hematologic Neoplasms; Mannich Bases.

INTRODUÇÃO

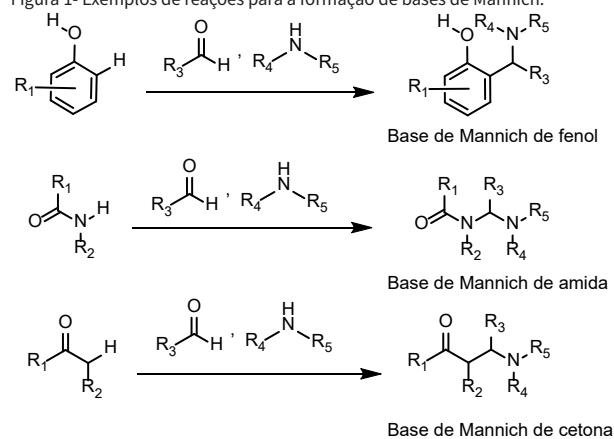
Anualmente, a dimensão do crescimento alcançado pelas doenças oncológicas vem causando cada vez mais preocupação, tornando-se um evidente problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que até 2030 sejam notificados cerca de 27 milhões de novos casos e 17 milhões de mortes em decorrência do câncer (Silva *et al.*, 2021). As neoplasias hematológicas são doenças resultantes de distúrbios malignos clonais da célula tronco hematopoética, que levam ao comprometimento da produção das células sanguíneas normais (Instituto Nacional de Câncer [INCA], 2022) e estão entre os 15 tipos de câncer com maior incidência no mundo (Bray *et al.*, 2022). No Brasil, a estimativa de casos novos de leucemia, para cada ano do triênio de 2023 a 2025, é de 11.540 casos, o que corresponde a um risco calculado de 5,33 por 100 mil habitantes, sendo 6.250 em homens e 5.290 em mulheres (INCA, 2023).

Os desfechos clínicos dos cânceres hematológicos no geral estão associados à uma multiplicação celular exacerbada das células tronco leucêmicas, com perda de diferenciação e invasão da medula óssea, suprimindo a produção normal de células maduras (Choi *et al.*, 2024). A causa etiológica está associada à desregulação de moléculas envolvidas nas vias de sinalizações celulares que controlam a apoptose e a proliferação celular, gerada em decorrência de alterações genéticas e epigenéticas (Paiva; Sarandini; Silva, 2021).

Durante os últimos anos, o avanço tecnológico contribuiu para o conhecimento de diversos aspectos da fisiologia celular. O estudo das células neoplásicas, tanto de cunho estrutural, molecular, metabólico e genético, permitiu melhorar significativamente o entendimento sobre os distintos aspectos desta doença, como o crescimento tumoral, diferenciação e resistência ao tratamento. Sendo assim, conhecer os mecanismos envolvidos na fisiopatologia de cada neoplasia hematológica é fundamental para possibilitar a identificação de novos biomarcadores, novos alvos terapêuticos e manejar o surgimento de resistência à terapia (López-López *et al.*, 2015).

As bases de Mannich são moléculas que podem atuar como importantes farmacóforos, reconhecidos pelos estudos em química medicinal para potenciais atividades biológicas, como anti-inflamatórios, antioxidantes, antiparasitários, antiulcerogênico, analgésicos, antiagregantes plaquetários, anticonvulsivantes, hipotensores, antimaláricos, antimicrobianos, antivirais e, inclusive, antitumorais (Bhilare *et al.*, 2022, Bala *et al.*, 2014). Em geral, tais adutos de Mannich podem ser preparados através da adição de um carbono nucleofílico (estabilizado por ressonância) a um eletrófilo, que pode ser um sal de imínio, uma imina, um aminal ou um azacetil, conforme demonstrado na Figura 1. Os compostos de partida empregados possuem um grupo metileno ativo (CH- α ativada) e usualmente podem ser um aldeído ou uma cetona aromática ou alifática, ácidos carboxílicos, compostos β -dicarbonilados, nitroalcanos, compostos aromáticos com alta densidade eletrônica, alquinos terminais dentre outros (Filho *et al.*, 2023).

Figura 1- Exemplos de reações para a formação de bases de Mannich.



Dessa forma, a presente revisão de escopo teve como objetivo identificar e mapear as evidências científicas existentes acerca do potencial anticancerígeno das bases de Mannich em neoplasias hematológicas.

MÉTODOS

A revisão de escopo foi realizada de acordo com o guia para revisão adaptado, denominado PRISMA^{ScR} (“Reporting

Items for Systematic reviews and Meta-Analyses extension for Scoping Reviews”), o qual estabelece uma lista com um conjunto de itens que norteiam a redação de revisões, disponível no site do Prisma (<https://www.prisma-statement.org/scoping>), atuando como guia para o autor pesquisador (Tricco *et al.*, 2018).

Primeiramente, foram realizadas buscas em duas bases de dados que comportam plataformas de informações relacionadas ao tema pesquisado, fornecendo evidências de qualidade. Para a base MEDLINE, foi utilizado o PubMed. No campo de pesquisa foram considerados os seguintes descritores: (“mannich”) AND (“leukemia” OR “hematologic neoplasms”) AND (“anticancer” OR “antiproliferative” OR “antineoplastic”). Já para a Science Direct, as palavras-chaves foram: (“mannich base”) AND (“leukemia” OR “hematologic neoplasms”) AND (“anticancer” OR “antiproliferative” OR “antineoplastic”). Para esta seleção inicial de artigos, não foi considerado nenhum filtro de ano de publicação, idioma ou gênero textual a fim de encontrar o maior número de artigos de interesse possível para o tema delimitado. As buscas pelos artigos foram realizadas no dia 5 de maio de 2023.

Os critérios de elegibilidade foram estabelecidos de acordo com a metodologia PCC (População, Conceito, Contexto), de forma que foram incluídos artigos originais, que utilizaram linhagens celulares, modelos animais ou pacientes com neoplasias hematológicas, e investigaram o potencial anticancerígeno de bases de Mannich por meio de ensaios celulares, pré-clínicos ou clínicos.

Como critérios de exclusão, estabeleceu-se artigos de revisão, artigos em outros idiomas sem ser português ou inglês, artigos que não tinham resumo disponível, e artigos não disponíveis gratuitamente ou por meio do Periódicos Capes.

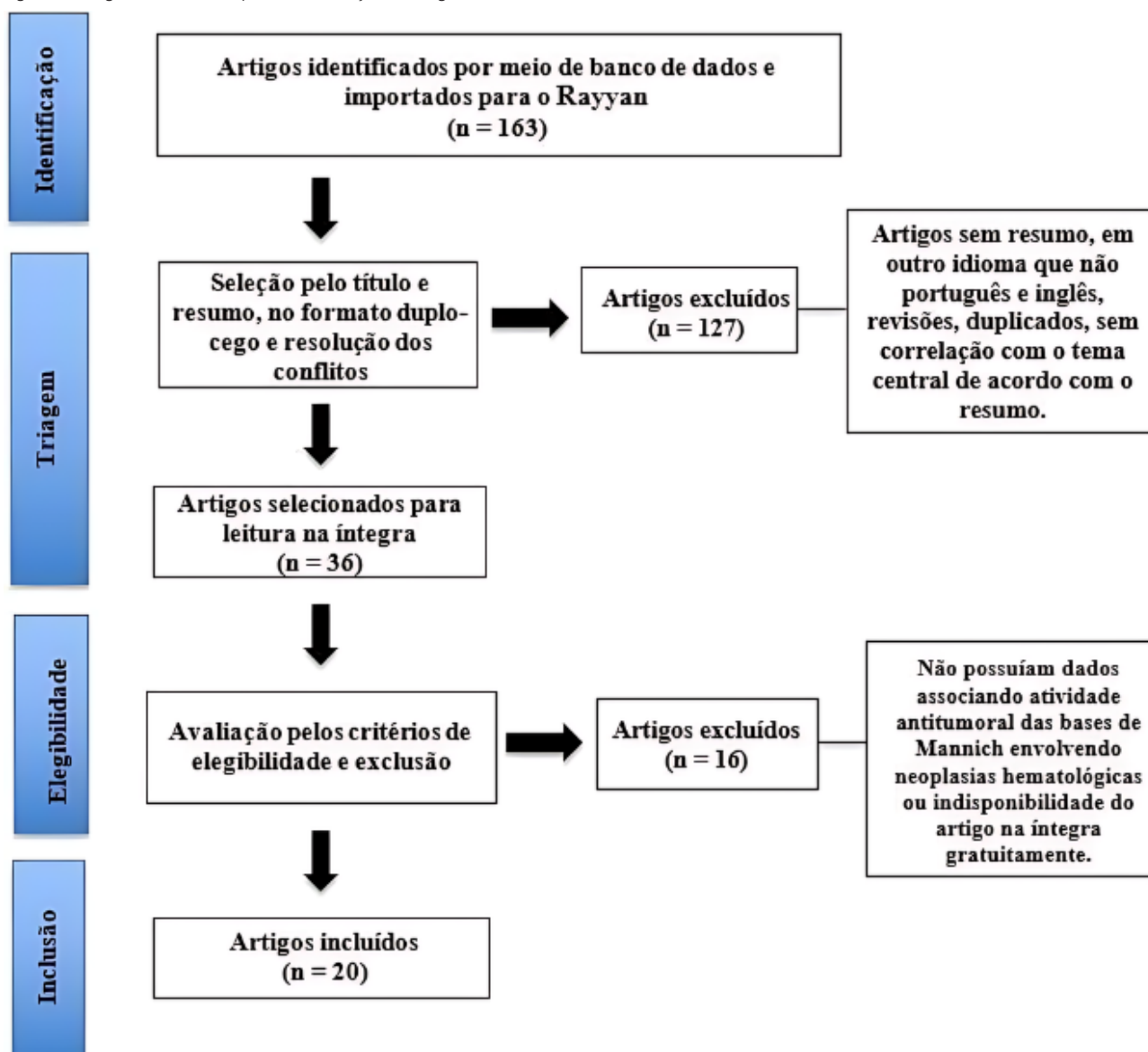
A seleção foi realizada com o auxílio da plataforma Rayyan (Ouzzani *et al.*, 2016). Os artigos levantados na busca foram importados no Rayyan, os duplicados foram identificados e a primeira etapa de seleção foi realizada pela leitura do título e do resumo por dois pesquisadores, às cegas. Após a resolução dos conflitos, foi realizada a leitura na íntegra dos trabalhos para se verificar a elegibilidade e os critérios de exclusão.

Por fim, os trabalhos selecionados foram lidos e analisados para a extração dos dados, com o preenchimento de uma planilha contendo as seguintes informações: ano de publicação, nome do primeiro autor, linhagens celulares/ modelo animal/pacientes utilizados no estudo, classificação estrutural de compostos do tipo base de mannich, informações sobre as moléculas estudadas (quais foram as moléculas precursoras das bases, principais características estruturais), tipo de ensaio utilizado para se verificar o potencial antitumoral e, principais resultados (resultados quantitativos e qualitativos dos testes, controles positivos utilizados em experimentos de viabilidade celular, bem como abordagens de mecanismos celulares envolvidos e conclusões relevantes dos autores com base em seus experimentos realizados).

RESULTADOS

Inicialmente, obteve-se um total de 163 publicações das bases de dados escolhidas. Após a detecção dos duplicados e a seleção pelo título e resumo às cegas, houveram 31 conflitos. Após discutí-los e resolvê-los, foram selecionados 36 artigos tendo sido, portanto, excluídos 127 artigos. Em seguida, após leitura na íntegra dos trabalhos e nova seleção, foram incluídas 20 publicações neste artigo de revisão. Os principais motivos de exclusão nesta etapa foram: inexistência de dados associando atividade antitumoral das bases de Mannich propriamente ditas nos experimentos envolvendo neoplasias hematológicas que o estudo do artigo realizou ou indisponibilidade do artigo na íntegra gratuitamente. O fluxograma a seguir (Fig. 2) apresenta um resumo do processamento e seleção dos artigos:

Figura 2: Fluxograma referente ao processo de seleção dos artigos.



Os trabalhos incluídos nesta revisão de escopo descrevem a síntese de diversas bases de Mannich derivadas de diversos compostos de interesse e analisam a relação estrutura-atividade após ensaios com diversas linhagens tumorais. Os compostos utilizados como controle positivo também variaram e se encontram descritos na Tabela 1, assim como os demais dados extraídos dos 20 artigos incluídos nesta revisão, apresentados em ordem cronológica na tabela.

Tabela 1. Estudos incluídos na presente revisão e principais dados extraídos.

Ano	Autores	Precursor da Base de Mannich	Linhagens celulares	Ensaio de viabilidade celular para os compostos testados	Controle positivo	Ensaio de viabilidade celular para os controles positivos
1991	Fillion et al.	5-hidroxi-naftaleno-1,8-carbolactona	L1210	0,35 - 4,27 µM	mitomicina C	0,0925 µM
			P388	6,55-26,9 µM		0,22 µM
			L1210	29,1-247,7 µM		2,13 µM
1997	Dimmock et al.	Azobenzenos fenólicos	MOLT-4/C8 cells	10,1-314,5 µM	melfalano	3,24 µM
			CEM	9,7 - >181 µM		2,47 µM
1998a	Dimmock et al.	4-(Arlvinil)-3-(arilvinilceto)-1-etil-4-piperidinóis	P-388	0,3-8,6 µM	melfalano	0,22 µM
			L1210	5,3-62,2 µM		2,13 µM
1998b	Dimmock et al.	1,3-diaril-2-propen-1-onas	P388	0,564 - >50 µM	melfalano	0,22 µM
			L1210	3,83 - 265 µM		2,13 µM
			MOLT-4/C8 cells	4,82 - 220 µM		3,24 µM
			CEM	1,36 - 45,3 µM		2,47 µM
2000	Gul et al.	Acetofenona	JURKAT	Mono: 1,88 - 36,49 µM	melfalano	0,46 µM
				Bis: 1,0 - 30,7 µM	5-fluoracil	33,21 µM
2000	Dimmock et al.	2,6-bis(arilideno)ciclohexanonas	P388	0,161-581 µM	melfalano 5-fluoracil	0,22 µM 0,49 µM
			L1210	2,60-318 µM	melfalano 5-fluoracil	2,13 µM 0,28 µM
			MOLT-4/C8	5,80-498 µM	melfalano 5fluoracil	3,24 µM 23 µM
			CEM	3,85-316 µM	melfalano 5fluoracil	2,47 µM 8,9 µM
			P388	0,04-3,27 µM		0,22 µM
2002	Dimmock et al.	1,4-bis(2-L1210 oxo-1-cicloalquilmetileno)benzenos	L1210	1,08-10,13 µM	melfalano	2,13 µM
			MOLT-4/C8	1,72 -7,44 µM		3,24 µM
			CEM	1,48-7,30 µM		2,47 µM
			P388	0,085 - 0,355 µM		0,22 µM
2003	Dimmock et al.	1-Arilideno-2-tetralonas	L1210	5,89 - 10,4 µM	melfalano	2,13 µM
			MOLT-4/C8	1,67 - 40,0 µM		3,24 µM
			CEM	1,70 - 15,8 µM		2,47 µM
2003	Holla et al.	1,2,4- triazóis	CCRF-CEM	16,4 - >100 µM	não houve	..
			HL-60(TB)	14,5 -> 100 µM		..
			K 562	11,6 ->100 µM		..
2004	Vashishtha et al.	Arlloxiarila	L1210	6,94 - 165 µM	melfalano	2,13 µM
			MOLT-4/C8	8,58 - 104 µM		3,24 µM
			CEM	7,33 - 108 µM		2,47 µM
2005	Shchekotikhin et al.	3- aminometil de 4,11-dihidroxi-nafto [2,3-F] indol-5,10-diona	K562	1,0 - 20 µM	doxorubicina	0,2 µM
			K562i/S9	1,2 - 20 µM		1,5 µM

Ano	Autores	Precursor da Base de Mannich	Linhagens celulares	Ensaio de viabilidade celular para os compostos testados	Controle positivo	Ensaio de viabilidade celular para os controles positivos
2007	Ivanova et al.	6-(3-aryl-2-propenyl)-2(3H)-benzoxazolonas	BV173	4,7 - 17,7 µM	etoposídeo	0,9 µM
					cisplatina	7,9 µM
			K562	12,4 - 38,3 µM	etoposídeo	3,1 µM
					cisplatina	29,2 µM
2009	Chen et al.	9-Alquil-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-onas	K562	2,56 - >150 µM	taxol	1,16 µM
2012	Hu et al.	Fluoroquinolona	L1210	6,2 - 15,3 µM	não houve	..
			HL60	0,14 - 12,4 µM		..
2014	Yang et al.	Glaucocalixina A	HL60	5,70 - 23,24 µM	glaucocalixina	2,52 µM
					5-fluoracil	27,01 µM
2015	Nagy et al.	Curcumina	HL60	1 µM: 25% * 0,5 µM: 40%* 0,1 µM: 94% * 0,05 µM: 116% *	curcumina	50 µM: 34% *
						25 µM: 26% *
						10 µM: 48% *
						5 µM: 0,48 % *
						50 nM: 0,35 % *
						50 nM: 35% *
						12,5 nM: 45% *
						3,125 nM: 126% *
						0,78 nM: 134%*
						30 µM: 20,8 a 91,1 % **
50 µM: 31,8 a 94,4 % **	50 µM: 92,4 %**					
2017	Sun et al.	Ricardina D	K 562	0,19 - >20 µM	doxorrubicina	0,61 µM
			HL-60	32,16- >200 µM	doxorrubicina	2,05
2022	Venturini et al.	Polifenóis de naftoquinona	HL-60 (TB)	100 µM : 4,83-82,55**	não houve	..
			CCRF-CEM	100 µM : 2,3-79,9%8**		..
			MOLT-4	100 µM: 2,17-81,8 % **		..
			K-562	100 µM: 0,55-79,11%**		..
			RPMI-8226	100 µM: 2,45-73,57% **		..

Intervalo máximo e mínimo de CI50, *porcentagem de viabilidade celular ou ** porcentagem de inibição do crescimento celular considerando-se todas as bases de Mannich testadas e controles positivos no estudo de cada artigo.

Alguns trabalhos investigaram o aumento da seletividade da atividade citotóxica para a célula tumoral e alguns investigaram os possíveis mecanismos celulares e moleculares envolvidos na atividade dos compostos.

Com relação aos modelos experimentais utilizados, todos os artigos incluídos investigaram o potencial antitumoral em linhagens celulares de neoplasias hematológicas. Um dos artigos analisou os efeitos do composto modelo animal (Nagy *et al.*, 2015), um analisou apenas a toxicidade em modelo animal (Vashishtha *et al.*, 2004) e nenhum estudou os compostos em pacientes. Com relação às linhagens, os trabalhos incluídos nesse estudo utilizaram linhagens celulares associadas a diferentes neoplasias hematológicas, sendo elas a HL- 60, BV-173, K-562, P-388, L1210, MOLT-4, CEM, Jurkat, CCRF-CEM, e RPMI 8226, conforme detalhado na tabela 2.

Tabela 2. Linhagens de neoplasias hematológicas estudadas nos trabalhos incluídos na presente revisão.

Linhagem	Neoplasias Hematológica
HL-60	Leucemia promielocítica aguda (LPA) (Collins <i>et al.</i> , 1977).
BV-173	Leucemia Mieloide Crônica (Pegoraro <i>et al.</i> , 2019)
K-562	Leucemia Mieloide Crônica blásticas (Lozio <i>et al.</i> , 1975).
P-388 e L1210	Leucemia linfoblástica aguda (Moore <i>et al.</i> , 1966).
MOLT-4	Leucemia linfoblástica aguda tipo T (adulto) (Minowada <i>et al.</i> , 1972).
CEM, Jurkat, CCRF-CEM	Leucemia linfoblástica T aguda (infantil)
RPMI 8226	Linfócito B de paciente com plasmocitoma (Moore & Kitamura, 1968).

Com relação aos métodos experimentais para avaliação de citotoxicidade nos trabalhos incluídos nesta revisão, a grande maioria utilizou o método de MTT ou MTS, mas alguns utilizaram luminescência (Nagy *et al.*, 2015) e exclusão do corante Azul de Tripán (Gul *et al.*, 2005). Para avaliação da apoptose, foram utilizados marcação com Anexina-V/PI e ensaio de ciclo celular por citometria de fluxo (Hassan *et al.*, 2023; Sun *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2014), DNA laddering (Ivanova *et al.*, 2007). Também foram realizados ensaios mais específicos na tentativa de desvendar os mecanismos moleculares, como ensaio de inibição de NF-kB (Nagy *et al.*, 2015), análises de expressão gênica (Nagy *et al.*, 2015), ensaios

de ruptura de lisossomos (Sun *et al.*, 2017), microscopia de fluorescência (Sun *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2015), ensaio de polimerização de microtúbulos (Chen *et al.*, 2009), avaliação de potencial de membrana mitocondrial (Kumar *et al.*, 2015).

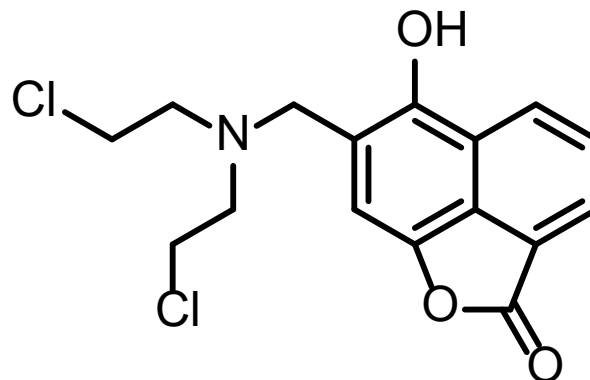
DISCUSSÃO

A fim de facilitar a apresentação e discussão dos dados, os trabalhos foram agrupados de acordo com o tipo de molécula precursora utilizada para a síntese da respectiva base de Mannich.

BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 5-HIDROXINAFTALENO-1,8-CARBOLACTONA

Fillion *et al.* (1991) e seus colegas sintetizaram e avaliaram bases de Mannich derivadas de 5-hidroxi-naftaleno-1,8-carbolactona (mitomicina c) contra a linhagem L-1210. Alguns derivados apresentaram valores de concentração inibitória para redução de 50% da viabilidade celular (CI50) relativamente potentes, pois apresentaram as mesmas concentrações em comparação com a mitomicina C (controle positivo) para diminuir a viabilidade celular (Fig. 3). Porém, nenhuma substância superou o potencial citotóxico dela. Os valores obtidos foram menores ou iguais a 4µg/mL e a citotoxicidade parece aumentar em razão da presença do grupo funcional mostarda nitrogenada, que possui poder alquilante.

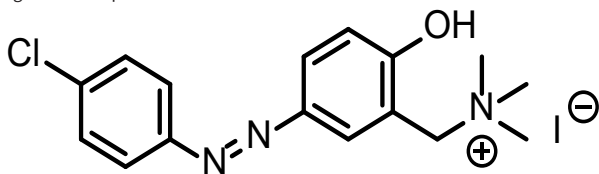
Figura 3. Exemplo de base de Mannich derivada de 5-hidroxi-naftaleno-1,8-carbolactona.



BASES DE MANNICH DERIVADAS DE AZOBENZENOS FENÓLICOS

Dimmock *et al.* (1997) conduziram a síntese e a avaliação do potencial citotóxico de diversas bases de Mannich derivadas de azobenzenos fenólicos contra linhagens celulares P-388, L-1210, MOLT-4/C8 e CEM, utilizando como controle positivo o melfalano. As substâncias mais promissoras demonstraram citotoxicidade e foram estabelecidas correlações significativas entre a bioatividade dessas substâncias e suas características estruturais. Notadamente, as moléculas que receberam substituintes halogenados clorados no anel A das bases azobenzenicas fenólicas, juntamente com um grupamento amina terciária na posição meta do anel B, exibiram um aumento da citotoxicidade quando comparada aos seus análogos precursores (Fig. 4). Além disso, observou-se que as células da linhagem L-1210, que apresentam um crescimento mais rápido em comparação às células da linhagem P388, eram, em média, cerca de 11 vezes mais resistentes às substâncias testadas.

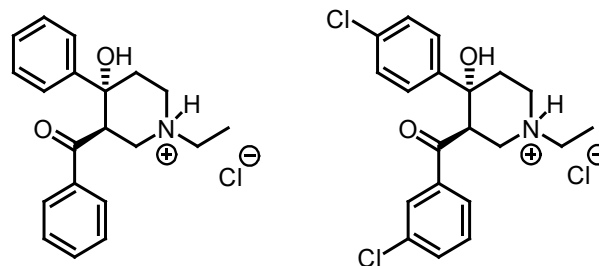
Figura 4. Exemplo de base de Mannich derivada de azobenzenos fenólicos.



BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 4-(ARILVINIL)-3-(ARILVINILCETO)-1-ETIL-4-PIPERIDINÓIS

Dimmock *et al.* (1998) e seus colaboradores sintetizaram e avaliaram o potencial citotóxico de uma série de derivados do tipo base de Mannich de 4-(arilvinil)-3-(arilvinilceto)-1-etil-4-piperidinóis (Fig. 5) contra diversas linhagens celulares, inclusive P-388 e L-1210.

Figura 5. Exemplos de bases de Mannich derivadas de 4-(arilvinil)-3-(arilvinilceto)-1-etil-4-piperidinóis.



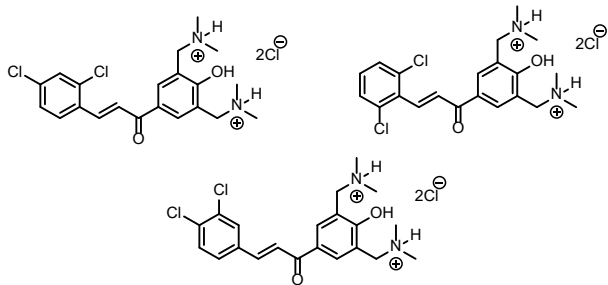
Para a linhagem P388, os derivados apresentaram valores de CI50 inferiores a 10 μM e, para 27% deles, esses valores eram inferiores a 1 μM . Para o derivado mais potente, foram obtidos valores de CI50 muito próximos ao do melfalano, que foi usado como controle positivo. A atividade das substâncias testadas para L1210 variou de 5,3 a 61,2 μM . Em todos os casos, as substâncias foram menos ativas para as células L-1210 de crescimento mais rápido do que para a linhagem celular de leucemia P-388 de crescimento mais lento. Estudos *in silico* foram realizados para avaliação da relação estrutura-atividade e três características estruturais dos análogos derivados foram consideradas fundamentais, sendo elas: álcool alílico, grupo β -arilvinílico e base de Mannich contendo piperidina. Tais características pareciam permitir a ocorrência de interações com tíois celulares, sendo portanto um dos principais contribuintes para o efeito da bioatividade esperada.

BASES DE MANNICH DERIVADAS DE CHALCONAS

No mesmo ano, Dimmock *et al.* (1998b) sintetizaram e avaliaram o potencial citotóxico de uma série de derivados do tipo base de Mannich de 1,3-diaril-2-propen-1-onas contra as linhagens L-1210, P-388, MOLT-4/C8 cells e CEM. Entretanto, no geral, a conversão das chalconas em suas bases correspondentes geraram potenciais de inibição do crescimento celular menores quando comparados aos precursores. As únicas moléculas com atividades promissoras foram as bases de Mannich bischalconas contendo o grupo cinamida e as chalconas dicloradas (Fig. 6). Estas últimas em especial foram equipotentes ao controle positivo

melfalano para as linhagens L-1210 e CEM. Tais diferenças estruturais influenciam em vários parâmetros físico-químicos, incluindo as constantes π e σ dos anéis arílicos e potenciais de oxirredução. A ausência de propriedades mutagênicas foi comprovada pela avaliação da porcentagem de sobreviventes de *S. cerevisiae*, sendo um indicador adicional de que o desenvolvimento e aprimoramento dos estudos de elucidação das vias de sinalização envolvidas seria conveniente. Porém, em um estudo de seletividade para efeito citotóxico em células tumorais, considerando o índice terapêutico calculado, nenhuma destas moléculas com maior potencial de inibição apresentaram quimiossensibilidade tumoral útil em termos de capacidade seletiva entre células normais e células neoplásicas. A partir dos dados experimentais obtidos, foi sugerido que o potencial de oxirredução e a alquilação de tióis celulares pode ser o mecanismo pelo qual a citotoxicidade foi exercida *in vitro*.

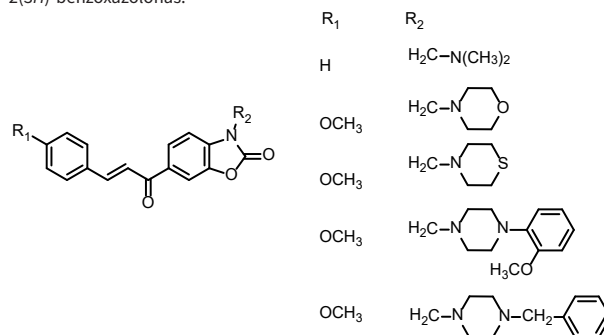
Figura 6. Exemplos de bases de Mannich derivadas de 1,3-diaril-2-propen-1-onas.



A equipe de Ivanova *et al.* (2007) sintetizou e avaliou o potencial antineoplásico de bases de Mannich derivadas de 6-(3-*aril*-2-propenoil)-2(3H)-benzoxazonas contra as linhagens BV-173 e K-562. As substâncias testadas exerceram efeitos citotóxicos nas células linfóides BV-173 de maneira dependente da concentração. A maior redução do crescimento desta linhagem foi 50% do valor obtido, considerando que as bases derivadas foram mais potentes do que seus precursores. Os derivados mais potentes, que apresentaram valores de CI50 menores do que o controle positivo cisplatina, foram 3-(dimetilaminometil)-6-(3-fenil-2-propenoil)-2(3H)-benzoxazona; 6-(3-(4-metoxifenil)-2-propenoil)-3-(4-morfolinilmetil)-2(3H)-benzoxazona; 6-(3-(4-metoxifenil)-2-propenoil)-3-(4-tiomorfolinilmetil)-2(3H)-benzoxazona; 3-((4-(2-metoxifenil)-1piperazinil

metil)-6-(3-(4-metoxifenil)-2-propenoil)-2(3H)-benzoxazona e 3-((4-benzil-1-piperazinil)metil)-6-(3-(4-metoxifenil)-2-propenoil)-2(3H)-benzoxazona, entretanto, nenhum desses compostos foi mais potente do o outro controle positivo etoposídeo (Fig. 7).

Figura 7. Exemplos de bases de Mannich derivadas de 6-(3-*aril*-2-propenoil)-2(3H)-benzoxazonas.



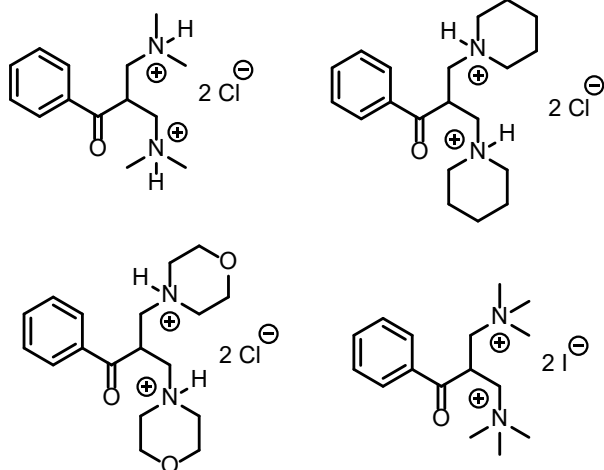
Apesar do fato do mecanismos de ação e os alvos moleculares não terem sido determinados, houve uma indicação de que estes compostos induzem apoptose, pelo menos parcialmente, uma vez que o estudo observou fragmentação do DNA pelo teste de DNA-laddering após tratamento com algumas bases de Mannich em concentrações inferiores ao seu CI50. Para algumas bases, o CI50 foi maior para para a linhagem K-562 em comparação ao CI50 para as células BV-173. Apesar de ambas linhagens serem procedentes de pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (LMC) e serem, portanto, positivas para o gene de fusão *BCR::ABL*, essa diferença pode ser devido à maior expressão do gene de fusão *BCR::ABL* em K-562 em comparação com BV-173. Este gene codifica uma proteína quinase de mesmo nome, ativa constitutivamente, responsável pelas alterações celulares e moleculares na LMC (Chereda *et al.*, 2015). Os testes de viabilidade celular indicaram que para a linhagem K-562, as moléculas estudadas não apresentaram atividade citotóxica interessante. Analisando e comparando os valores de CI50, os autores notaram que existia uma relação entre a estrutura e o aumento da potência das bases. Por exemplo, a inserção de um grupo 4-metoxi no anel B da chalcona proporcionou um aumento de duas vezes da citotoxicidade. Além disso, as bases de Mannich contendo substituintes básicos volumosos

no nitrogênio do anel oxazol eram mais potentes do que aquelas que não continham tal substituinte.

BASES MONO E BIS MANNICH DERIVADAS DE ACETOFENONA

Gul *et al.* (2000), conduziram um estudo no qual sintetizaram mono bases de Mannich derivadas de acetofenona e avaliaram suas atividades citotóxicas contra células Jurkat, utilizando 5- fluorouracil e melfalano como controle positivo. De maneira geral, observou-se que derivados de bases de mono Mannich, que foram convertidos em bases bis Mannich, apresentaram um aumento notável na atividade citotóxica, chegando a ser de 4 a 11 vezes superior contra às células Jurkat (Fig. 8). Esse aumento na citotoxicidade, proveniente da conversão em bases bis Mannich, é possivelmente atribuível à decomposição dos mesmos em intermediários mais reativos. Vale mencionar que o procedimento de quaternização também resultou em uma melhoria na atividade citotóxica dos derivados mono, embora não tenha surtido o mesmo efeito nos derivados bis. Portanto, as bases de Mannich derivadas de acetofenona que foram sintetizadas demonstraram ser citotóxicas em células T Jurkat humanas e, os resultados sugerem que, especialmente no caso das bases denominadas bis Mannich, podem ser consideradas como potenciais líderes em estudos subsequentes, devido à sua altamente potente atividade citotóxica.

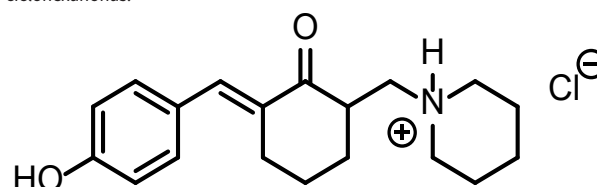
Figura 8. Exemplos de bases de Mannich derivadas de acetofenona.



BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 2,6- BIS (ARILIDENO) CICLOHEXANONAS

Dimmock *et al.* (2000) conduziram a síntese e a avaliação do potencial citotóxico de uma série de bases de Mannich derivadas de 2,6-bis(arilideno)ciclohexanonas em diversas linhagens celulares, sendo elas P388, L1210, Molt 4/C8 e CEM, utilizando como controle positivo o melfalano e 5-fluorouracil. O derivado mais notável, quando comparado ao melfalano e à 5-fluorouracil, foi o 2-(4-hidroxifenilmetileno)-6-(1-piperidinilmetil)-ciclohexanona, demonstrando citotoxicidade superior ao controle 5-fluorouracil para três das quatro linhagens celulares testadas (Fig. 9). Todos as substâncias tiveram aumento da atividade citotóxica quando comparadas aos seus precursores. O estudo dos mecanismos de ação atribuídos à atividade do composto mais potente verificou a indução de apoptose e a interferência na síntese de RNA e de proteínas pois, de acordo com os experimentos realizados, a base de Mannich reage muito mais rapidamente com tióis celulares do que o análogo precursor de cetona insaturada, provavelmente condicionada à existência do grupo piperidil nesta base.

Figura 9. Exemplo de base de Mannich derivada de 2,6-bis(arilideno) ciclohexanonas.

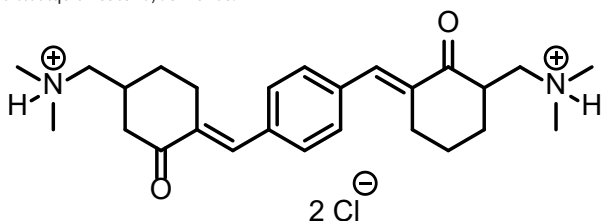


BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 1,4-BIS(2-OXO-1-CICLOALQUILMETILENO) BENZENOS

Dimmock *et al.* (2002) e seu grupo sintetizaram e investigaram Bases de Mannich derivadas de 1,4-bis(2-oxo-1-cicloalquilmetileno)benzenos em linhagens leucêmicas P388, L1210, MOLT-4/C8 E CEM. A reação das cetonas insaturadas

com cloreto de *N,N*-dimetilmetilenoamônio levou à formação das bases de Mannich mais citotóxicas. Portanto, a inserção de grandes grupos lipofílicos foi associada ao aumento da potência das bases de Mannich correspondentes. Os valores de CI50 dessas bases foram inferiores ao melfalano, usado como controle positivo, em especial para a base 1,4-bis(3-dimetilaminometil-2-oxo-1-ciclohexilmetileno)benzeno, sendo portanto, mais potentes que ele (Fig. 10). Além disso, realizaram um estudo baseado no índice de seletividade e as substâncias desta série mais citotóxicas demonstraram seletividade mais significativa para células leucêmicas em comparação ao melfalano.

Figura 10. Exemplo de base de Mannich derivada de 1,4-bis(2-oxo-1-cicloalquilmetileno)benzenos.

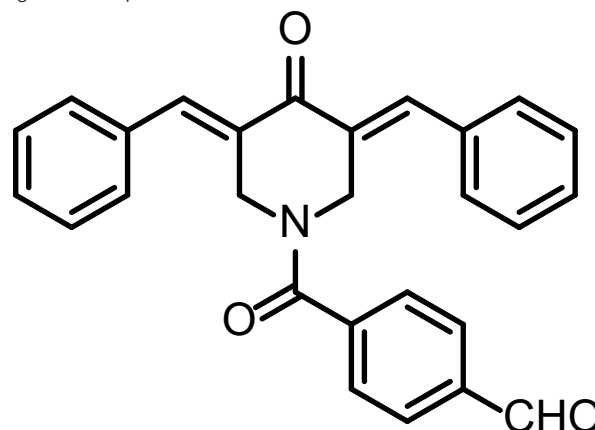


BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 1-ARILIDENO-2-TETRALONAS

Dimmock *et al.* (2003) avaliaram bases de Mannich derivadas de 1-*arilideno-2-tetralonas*. Tais substâncias possuem dois grupamentos químicos nomeados de 2-*arilidenociclohexanonas* e *estilbenos*, associados a efeitos antineoplásicos relatados em experimentos anteriores. Além disso, bases de Mannich com cetonas insaturadas assim como as derivadas de 1-*arilideno-2-tetralonas* podem sofrer ataque eletrofílico sob condições presentes na enzima *miristoil-CoA*, responsável por catalizar a ligação do resíduo de glicina presente na extremidade *N*-terminal de polipeptídeos. O estudo foi realizado frente a uma série de linhagens tumorais, sendo algumas leucêmicas como L-1210, P-388, MOLT-4/C8 cells e CEM. As investigações constataram que a conversão de cada tetralona em sua base de Mannich correspondente levou a uma maior citotoxicidade em comparação com seus análogos precursores para as quatro linhagens leucêmicas estudadas, com ênfase para a base na qual foi incorporada

com o grupo 3-(1-piperidilmetila) no anel ciclohexeno da 1-*arilideno-2-tetralona*, resultando em uma base de Mannich cíclica (Fig. 11). Esta molécula apresentou, em média, potência de inibição do crescimento celular até quatro vezes maior do que o melfalano (controle positivo). Ademais, houve destaque para a base que recebeu incorporação da cisteamina (associada a efeitos citoprotetores sem interferir no efeito antineoplásico), que apresentou potência de inibição e índice de seletividade para célula neoplásica ainda maior em comparação com seu análogo precursor que não recebeu tal modificação estrutural.

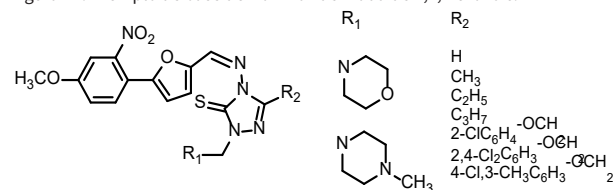
Figura 11. Exemplo de base de Mannich derivada de 1-*arilideno-2-tetralonas*.



BASES DE MANNICH DERIVADAS DE 1,2,4-TRIAZÓIS

Shivarama *et al.* (2003) sintetizaram e avaliaram um grupo de bases de Mannich investigando seu potencial antitumoral em várias linhagens celulares, inclusive L1210, MOLT-4/C 8 cells e CEM (Fig. 12). Entretanto, as substâncias apresentaram potência muito fraca, com CI50 na faixa de 10 a 100 μ M.

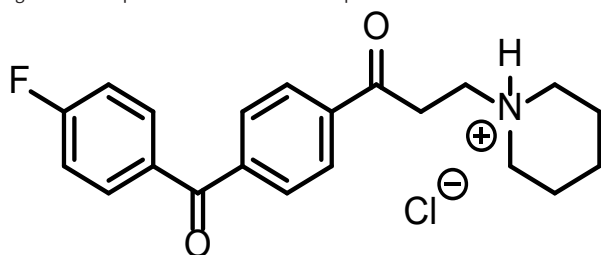
Figura 12. Exemplo de base de Mannich derivada de 1,2,4-triazóis.



BASES DE MANNICH DE COMPOSTO ARILOXIARILA

Vashishtha *et al.* (2004) conduziram um estudo no qual procederam à síntese de bases de Mannich ariloxiarílicas e avaliaram o impacto citotóxico desses derivados em células leucêmicas murinas L1210, bem como em células humanas Molt 4/C8 e linfócitos T CEM, utilizando o melfalano como controle positivo. As bases derivadas apresentaram atividade citotóxica, com destaque para a série contendo substituintes piperidinas (Fig. 13). Isso sugere que a interação efetiva dessas substâncias com alvos moleculares relevantes pode estar condicionada à presença de um grupo básico ou espécies protonadas relacionadas em relação a algum sítio de ligação.

Figura 13. Exemplo de base de Mannich do tipo ariloxarila.

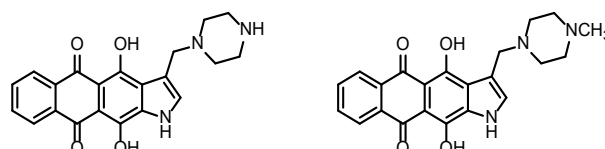


BASES DE MANNICH DERIVADAS 3-AMINOMETIL DE 4,11-DIHIIDROXINAFTO[2,3-F]INDOL-5,10-DIONA

Os pesquisadores do grupo de Shchekotikhin *et al.* (2005) sintetizaram e avaliaram uma série de bases de Mannich derivadas de 3-aminometil da 4,11-dihidroxi-nafto[2,3-F]indol-5,10-diona contra linhagens celulares tumorais (Fig. 14). Concluiu-se que a introdução estrutural de diaminas cíclicas, como a piperazina na cadeia lateral dos derivados, aumentou a citotoxicidade das moléculas que apresentaram CI50 em concentrações próximas ou iguais a 1 μ M, tanto para K-562 quanto para sua linhagem celular resistente K-562i/S9, que expressa um transportador transmembrana glicoproteína P (Pgp) e não expressão gene p53, um gene

supressor tumoral, sendo assim um modelo de resistência à drogas citotóxicas. Os derivados que continham diaminas cíclicas apresentaram maior citotoxicidade para a linhagem celular resistente K-562i/S9 em relação à doxorubicina, que foi usada como controle positivo.

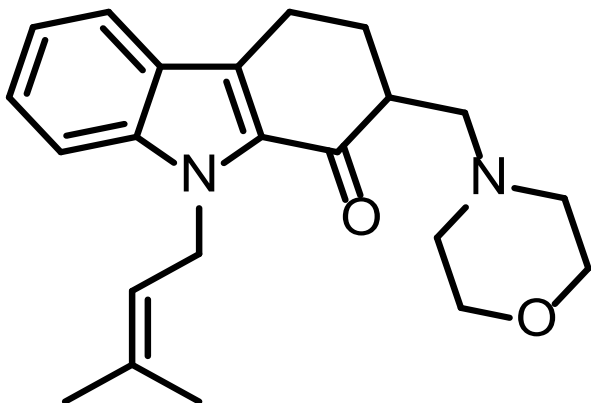
Figura 14. Exemplos de bases de Mannich derivadas de 3-aminometil da 4,11-dihidroxi-nafto[2,3-F]indol-5,10-diona.



BASES DE MANNICH DE 9-ALQUIL-1,2,3,4-TETRAHIDROCARBAZOL-1-ONA

Chen *et al.* (2009) sintetizaram e avaliaram a atividade citotóxica de derivados do tipobase de Mannich de 9-alkil-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-1-onas contra uma série de linhagens tumorais, incluindo a K-562. A partir da comparação e avaliação dos ensaios realizados, eles concluíram que o derivado que obteve destaque em atividade citotóxica foi o que possuía um grupo isoprenil em sua estrutura denominado 2-morfolinmetil-9-isoprenil-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-1-ona, apresentando valor de CI50 próximo ao do taxol, que foi utilizado como controle positivo (Fig. 15). A pesquisa acerca do mecanismo de ação de inibição do crescimento envolvido indicou que os compostos sintetizados possuíam um potencial efeito inibitório contra os microtúbulos, pois atuavam despolimerizando as tubulinas evidenciado por um ensaio de polimerização da tubulina *in vitro*. A estabilidade dos microtúbulos é essencial para muitas funções celulares. Substâncias que interferem na polimerização da proteína tubulina, responsável pela formação dos microtúbulos, interferem no equilíbrio da polimerização e na estabilidade dos microtúbulos. Os ensaios de polimerização *in vitro* são de baixo custo, podendo ser colorimétricos ou fluorescente, possibilitando se determinar a concentração da substância testada que altera a estabilidade do microtúbulo (Zhu *et al.*, 2021).

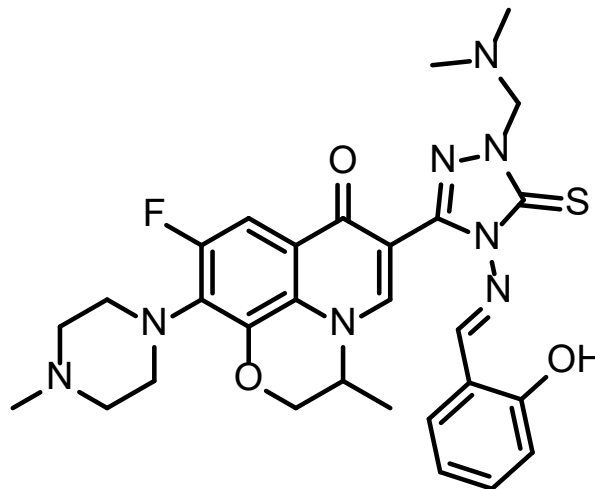
Figura 15. Exemplo de base de Mannich derivada de 9-alkil-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-ona.



FLUOROQUINOLONAS CONTENDO CADEIAS LATERAIS FUNCIONALIZADAS COM BASES DE SCHIFF-MANNICH

Hu *et al.* (2012) sintetizaram uma série de fluoroquinolonas derivadas da ofloxacin e investigaram o potencial antitumoral, utilizando linhagens L1210 e HL60. Das novas moléculas sintetizadas, as que possuíam a o ácido carboxílico substituído por *S*-triazóis e em seguida, funcionalizadas como bases de Schiff e finalmente modificadas em bases de Schiff-Mannich foram significativamente mais citotóxicas, tanto em relação à ofloxacin de origem, quanto com relação às moléculas que foram funcionalizadas apenas até a etapa para formação das bases de Schiff (Fig. 16). Ademais, percebeu-se que os derivados contendo grupo fenol livre exibiram atividade mais potente do que os demais. Portanto, a combinação dos dois farmacóforos funcionalizados (neste caso bases de Schiff e bases de Mannich) é uma estratégia promissora para o futuro desenvolvimento de fluoroquinolonas com potencial antitumoral.

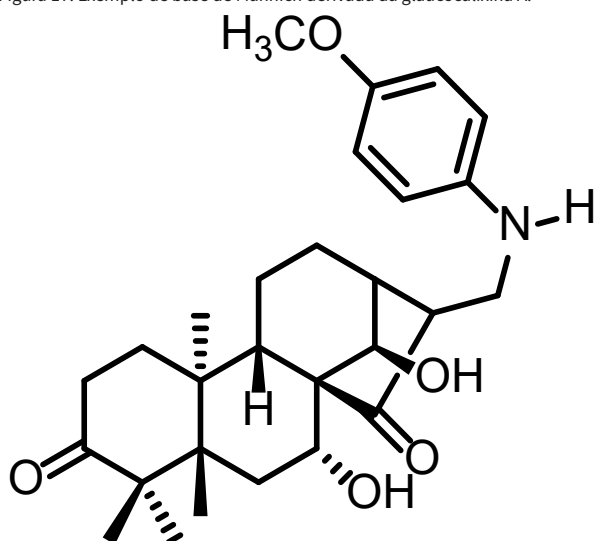
Figura 16. Exemplo de base de Mannich derivada de fluorquinolona.



BASE DE MANNICH DERIVADAS DA GLAUCOCALIXINA A

Yang *et al.* (2014) realizaram uma investigação abrangente que envolveu a síntese e avaliação de dezesseis bases de Mannich derivados da glaucocalixina A (GLA), analisando a capacidade antiproliferativa desses em relação a seis linhagens de células tumorais, incluindo a linhagem celular HL-60, utilizando como controle positivo a GLA e o 5-fluorouracil (5-FU). De maneira notável, todas as bases de Mannich derivados da GLA demonstraram uma potência antiproliferativa superior àquela observada no controle positivo 5-FU. Dentre eles, o derivado 7,14-dihidroxicaur-17-(4-metil)anilina 3,15-diona destacou-se como o mais eficaz em comparação com os demais derivados da GLA, exibindo uma notável atividade inibitória contra a maioria das linhagens decélulas cancerígenas (Fig. 17).

Figura 17. Exemplo de base de Mannich derivada da glaucocalixina A.



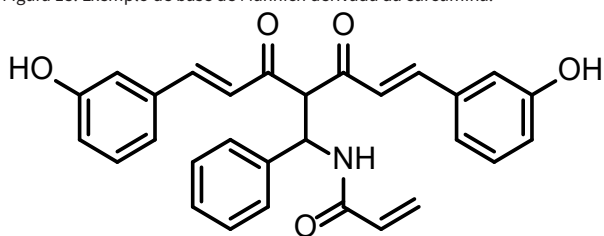
A análise da relação estrutura-atividade, determinada com base nos valores de CI50, revelou que a porção amina desempenhou um papel significativo na potência inibitória dos derivados. A adição de anilinas substituídas na porção amina da GLA mostrou-se um fator crítico para o aumento da capacidade de inibição, indicando que grupos doadores estavam diretamente associados à potência inibitória. Além disso, os resultados também evidenciaram que os derivados que continham grupos adicionais na posição para na anilina apresentaram uma atividade superior em relação à posição orto, embora essa conclusão não tenha se aplicado quando o grupo substituído era um átomo de flúor. Nesse contexto, a citotoxicidade do derivado 7,14- dihidroxikaur-17-(4-metil) anilina 3,15-diona, que continha uma anilina substituída na porção amino da GLA com um grupo na posição para da anilina, foi avaliada por meio do ensaio de MTT. O ensaio de MTT se baseia na atividade da enzima desidrogenase mitocondrial, que, quando ativa, metaboliza o reagente MTT, reduzindo-o em cristais de formazan colorido (E,Z-1-(4,5-dimetiltiazol- 2-il)-1,3-difenilformazan). O MTT, inicialmente amarelo, torna-se púrpura após a metabolização, tornando o método colorimétrico (Rabelo *et al.*, 2002). Quanto maior a ação citotóxica da substância, menor a intensidade da coloração obtida. Dessa forma, à partir dos seus resultados, é possível calcular a viabilidade celular e determinar as concentrações inibitórias. Para a substância em questão, foi obtido um valor de CI50 de 8,92 μM , inferior aos valores

obtidos para os controles positivos (GLA e 5- FU) no ensaio MTT, indicando uma potência inibitória superior. Em virtude desses resultados promissores, os autores demonstraram que o derivado em questão foi capaz de induzir apoptose celular, de modo dose dependente, utilizando o ensaio de marcação com Anexina-V, detectada por citometria de fluxo. A Anexina-V é uma proteína que se liga à fosfatidilserina, molécula esta que é exposta na membrana celular durante do processo de apoptose. Realizando-se a marcação com a Anexina-V ligada a um fluoróforo e com iodeto de propídeo, é possível se distinguir a população celular em apoptose e em necrose (Crowley *et al.*, 2016). Também investigaram sua estabilidade química *in vitro*, em plasma de ratos e, sua reatividade com tiol nucleófilo. Concluiu-se que o derivado de GLA em questão apresentou menor toxicidade e maior estabilidade em comparação com ao precursor GLA. Ademais, a análise de espectro de massa de alta resolução sustentou a lógica de design de pró-fármaco, sugerindo que as bases de Mannich derivadas da GLA poderiam liberar a molécula de GLA no meio intracelular. Esses resultados destacam a promissora eficácia dos derivados de Mannich da GLA como agentes antitumorais e justificam futuras investigações para entender completamente os mecanismos moleculares subjacentes a essas atividades.

BASES DE MANNICH DERIVADAS DA CURCUMINA

Nagy *et al.* (2015) estudaram os mecanismos celulares envolvidos na citotoxicidade gerada pelo derivado de curcumina do tipo Mannich, denominado C-150, que possui cadeias laterais metahidroxifenil e uma ramificação central 3-fenil-3-acrilamido (Fig. 18). O C-150 exibiu um efeito dose-dependente nas células HL-60, com potência 27 a 60 vezes maior que o controle positivo a curcumina.

Figura 18. Exemplo de base de Mannich derivada da curcumina.



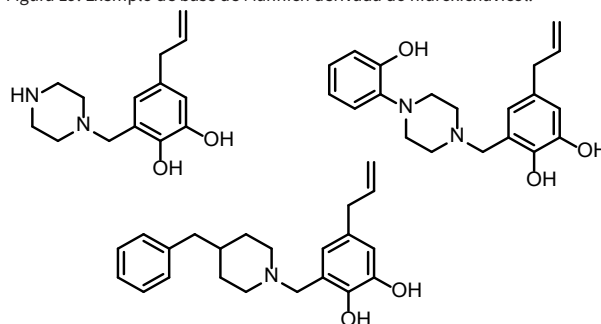
Além disso, o análogo de curcumina C-150 apresentou efeito, *in vitro* na sinalização do NF- κ B. O NF- κ B é um fator de transcrição que participa em diversos processos celulares, como proliferação, diferenciação e apoptose. Ele participa da regulação da inflamação, angiogênese, apoptose e migração, estando envolvido na fisiopatologia do câncer, inclusive das neoplasias hematológicas (Pakjoo et al., 2024). Assim, o grupo demonstrou que a modulação dessa via pode ser um possível mecanismo de ação para a atividade citotóxica do derivado em questão. Ademais, o estudo também realizou uma análise da expressão de genes relacionados à apoptose e ao ciclo celular usando QPCR de alto rendimento, e foi observada menor expressão dos genes das ciclinas D1 e D2 e maior expressão dos genes *CASP4* (relacionado à indução da apoptose). Ademais, de acordo com a análise por citometria de fluxo, o derivado C-150 induziu uma taxa semelhante de apoptose em concentração 50 vezes menor que a curcumina. Ainda, revelou-se que houve efeitos positivos quando tal derivado foi formulado com lipossoma, exibindo atividade antitumoral em camundongos portadores de SCID (Severe combined immunodeficiency) com xenoinxerto HL-60. A vista disso, todos esses resultados tornaram essa molécula um potente candidato clínico contra a leucemia isoladamente ou em combinação com outros agentes antineoplásicos.

BASES DE MANNICH DERIVADAS DO HIDROXICHAVICOL

Kumar et al. (2015) conduziram a síntese de Bases de Mannich derivadas do hidroxichavicol e avaliaram seu potencial citotóxico em células da linhagem HL-60, utilizando o próprio precursor como controle positivo. Os derivados mais promissores foram 5-alil-3-[(4-(2-hidroxifenil) piperazin-1-il)metil]benzeno-1,2-diol (substância 6), 5-alil-

3-[(4-benzilpiperidin-1-il)metil]benzeno-1,2-diol e 5-alil-3-(piperazin-1-ilmetil)benzeno-1,2-diol (Fig. 19). Dessa forma, os derivados da reação de Mannich, contendo anéis aromáticos ligados à piperazina e ao derivado de piperidina, foram correlacionados com uma maior atividade citotóxica, enquanto os derivados triazólicos perderam sua potencialidade. O estudo propôs que o mecanismo de ação envolve a redução do potencial de membrana mitocondrial e indução de apoptose nas células HL-60. A redução do potencial de membrana mitocondrial, com liberação do citocromo c, é uma característica do processo de apoptose (Gottlieb et al., 2003) e foi detectada por citometria de fluxo. Já a indução da apoptose, neste trabalho, foi detectada utilizando-se o corante Hoechst 33342, para visualização da condensação nuclear (Crowley et al., 2016).

Figura 19. Exemplo de base de Mannich derivada do hidroxichavicol.

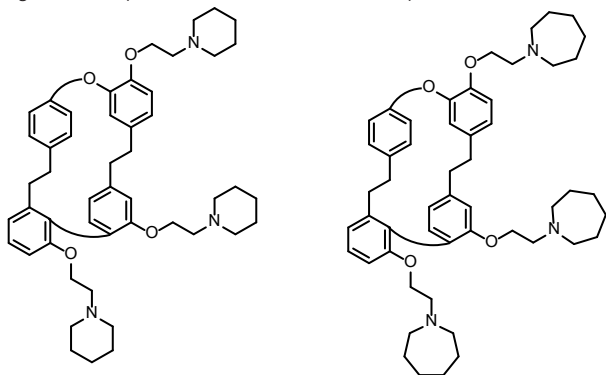


BASES DE MANNICH DERIVADAS DE RICARDINA D

Bin Sun et al. (2017) conduziram uma pesquisa focando na síntese e avaliação de uma série de novos derivados da ricardina D, avaliando sua atividade antiproliferativa e citotóxica em relação a três linhagens celulares, incluindo a linhagem K562, utilizando como controle positivo a adriamicina (ADR). Os derivados foram sintetizados introduzindo grupos básicos, especialmente grupos que continham átomos de nitrogênio à ricardina D, a fim de potencializar a atividade anticancerígena, visto que em estudos anteriores comprovou-se que tal modificação estrutural resultava no acúmulo destas moléculas dentro da organela, o que acarreta no aumento da osmolaridade e consequente ruptura da membrana lisossomal, induzindo à

morte celular apoptótica ou necrótica. Dentre os derivados sintetizados, o 13,40-bis((pirrolidin-1-il)metil)-ricardina D tri-O-alkilado e o 3,12,30-tri(2-(dimetilamino)etoxi)-ricardina D, foram os que geraram os menores valores de CI50, com destaque para o último, sendo três vezes mais potente que ADR, no que diz respeito à atividade citotóxica contra a linhagem celular K562 (Fig 20). Com base nos resultados obtidos, tornou-se evidente que os derivados de ricardina D, quando substituídos por cadeias laterais de Mannich menos volumosas, como grupos etilamino, pirrolidinil, piperidinil, 4-hidroxipiperidinil e 4-metilpiperazinil, exibiram atividades citotóxicas superiores em comparação com a ricardina D. O derivado que se destacou foi aquele que continha dois grupos pirrolidinil, sendo o mais potente entre todos os derivados. Nesse contexto, foi observada uma relação entre a atividade citotóxica e o tamanho das cadeias laterais de Mannich, com os grupos pirrolidinil demonstrando a maior eficácia, seguidos por piperidinil, etilamino, 4-metilpiperazinil, 4-hidroxipiperidinil, (2-hidroxi-etil)(metil)amino, tiomorfolino e morfolino. Ademais, os derivados promissores foram submetidos a estudos para avaliar a integridade lisossômica. Os resultados indicaram que os derivados Mannich podem afetar o lisossomo, pelo mesmo mecanismo envolvido na atividade do precursor, induzindo apoptose e necrose.

Figura 20. Exemplo de base de Mannich derivada de polifenóis de ricardina. D.

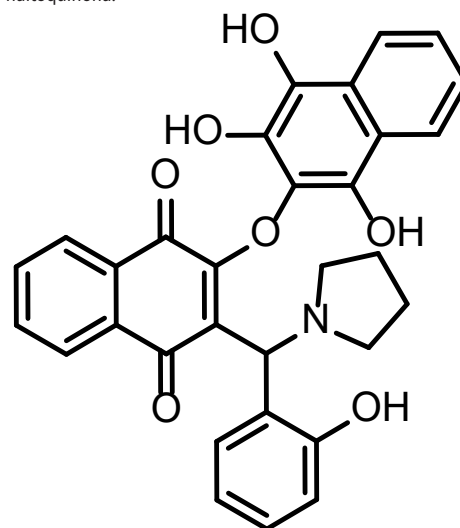


BASES DE MANNICH DERIVADAS DE POLIFENÓIS DE NAFTOQUINONA

Venturni *et al.* (2022) pesquisaram e sintetizaram uma série de Bases de Mannich derivadas de polifenóis de naftoquinona e avaliaram o potencial antiproliferativo e

antioxidante dessas moléculas em células HL60 (Fig. 21). Os pesquisadores concluíram que a atividade biológica desses naftoquinonas-polifenóis está associada tanto à sua atividade pró-oxidativa, que gera espécies reativas de oxigênio (ROS), quanto à sua atividade antioxidante, que elimina ROS por intermédio do grupo polifenol presente nessas moléculas. A associação do grupo salicílico com a base de Mannich foi relacionada ao aumento da inibição do crescimento das células tumorais *in vitro*.

Figura 21. Exemplo de base de Mannich derivada de polifenóis de naftoquinona.

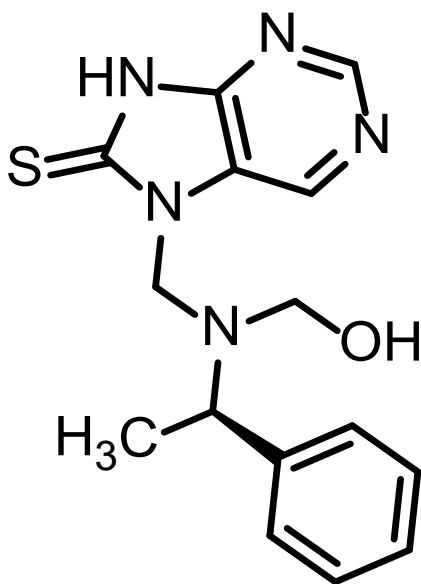


BASES DE MANNICH DERIVADAS DE ANÁLOGOS QUIRAIS DE PIRIMIDINA

Bases de Mannich derivadas de análogos quirais de pirimidina foram sintetizadas e avaliadas acerca de seu potencial antitumoral por Hassan *et al.* (2023), testando em linhagens celulares leucêmicas CCRF-CEM, MOLT4, K562, RPMI8226 e HL-60, com destaque e resultados mais detalhadas para esta última. De acordo com os pesquisadores, os derivados que possuíam a purina como núcleo central foram os mais potentes. O derivado 7-[[hidroximetil-((R)-1-feniletil)-amino]-metil]-7,9-di-hidropurina-8-tiona, que é uma base de Mannich que contém uma purina com uma ramificação central e uma cadeia metilamina como um núcleo linear no N2 da porção derivada de pirimidina, mostrou-se o derivado mais promissor (Fig. 22). Ele foi o que apresentou maior

atividade anticancerígena, uma vez que apresentou maior toxicidade e maior índice de seletividade para células HL-60 em relação ao controle positivo doxorrubicina. Esse derivado também foi estudado em termos de características físico-químicas *in silico* e de perfil farmacocinético, utilizando o software online Swiss ADME. Os resultados foram que este derivado mais potente era absorvido no trato gastrointestinal de maneira similar ao 5-fluorouracil e não promovia a inibição das diferentes isoformas das enzimas P-450. Ademais, em virtude do seu peso molecular ser menor do que 500Da, esta substância poderia se difundir facilmente pela membrana celular e ser absorvida. Também vale considerar a presença das três ligações rotativas, cada uma da qual ligada a um átomo pesado, implicando em boa flexibilidade molecular. Em conclusão, de acordo com os pesquisadores, as bases de Mannich possuem uma cadeia aminometil responsável por alterar as propriedades físico-químicas das substâncias e reduzir sua toxicidade. Foi demonstrado que a aminometilação de protótipos pode melhorar a biodisponibilidade de fármacos, uma vez que aumentam as suas propriedades hidrofílicas, inserindo uma função polar na sua estrutura e tornando-os mais potentes do que o seu análogo estrutural doxorrubicina.

Figura 22. Exemplo de base de Mannich derivada de análogos quirais de pirimidina.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos *in vitro*, amplamente realizados pelo professor JR Dimmock e colaboradores, corroboram que bases de Mannich, especialmente de natureza amina cíclicas (pirrolidinas, piridinas, piperidinas) e, as bases bis-Mannich, mostram-se mais citotóxicas quando comparadas aos seus análogos precursores. Os mecanismos celulares e moleculares envolvidos dependem do tipo de molécula precursora, mas a maioria dos trabalhos que investigou possíveis mecanismos identificou a indução de apoptose. Alguns estudos sugeriram que a porção estrutural derivada da reação de Mannich é capaz de gerar alquilação dos tióis celulares e, conseqüentemente, induzir apoptose. Outros estudos propuseram que a introdução da porção aminometil facilita a entrada das substâncias no meio intracelular e, liberando a outra porção da molécula, fica livre para exercer efeito citotóxico intracelular. Um aspecto a ser observado é que a maioria dos artigos não explorou a seletividade dos compostos frente às células saudáveis. Assim, esta revisão evidencia o potencial anticancerígeno das bases de Mannich diante de linhagens celulares de neoplasias hematológicas. Novos estudos que avaliem esses compostos e estudem os mecanismos celulares, moleculares e farmacocinéticos envolvidos, em modelos *in vitro* e *in vivo*, podem contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos para as neoplasias hematológicas.

REFERÊNCIAS

- Bala, S., Sharma, N., Kajal, A., Kamboj, S., & Saini, V. (2014). Mannich bases: an important pharmacophore in present scenario. *International journal of medicinal chemistry*, 2014, 191072.
- Bhilare, N. V., Marulkar, V. S., Shirote, P. J., Dombe, S. A., Pise, V. J., Salve, P. L., Biradar, S. M., Yadav, V. D., Jadhav, P. D., Bodhe, A. A., Borkar, S. P., Ghadge, P. M., Shelar, P. A., Jadhav, A. V., & Godse, K. C. (2022). Mannich Bases: Centrality in Cytotoxic Drug Design. *Medicinal Chemistry*, 18(7), 735-756.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 74(3), 229-263.

- Chen, J., Lou, J., Liu, T., Wu, R., Dong, X., He, Q., Yang, B., & Hu, Y. (2009). Synthesis and In-Vitro Antitumor Activities of Some Mannich Bases of 9-Alkyl-1, 2, 3, 4-tetrahydrocarbazole-1-ones. *Archiv der Pharmazie: An International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 342(3), 165-172. DOI: 10.1002/ardp.200800179.
- Chereda, B., & Melo, J. V. (2015). Natural course and biology of CML. *Annals of hematology*, 94 Suppl 2, S107–S121.
- Choi, H.S., Kim, B.S., Yoon, S., Oh, S.O., Lee, D. (2024). Leukemic Stem Cells and Hematological Malignancies. *Int J Mol Sci*, 25(12):6639. DOI: 10.3390/ijms25126639.
- Collins, S. J., Gallo, R. C., & Gallagher, R. E. (1977). Continuous growth and differentiation of human myeloid leukaemic cells in suspension culture. *Nature*, 270(5635), 347-349. DOI: 10.1038/270347a0.
- Crowley, L. C., Marfell, B. J., Scott, A. P., & Waterhouse, N. J. (2016). Quantitation of Apoptosis and Necrosis by Annexin V Binding, Propidium Iodide Uptake, and Flow Cytometry. *Cold Spring Harbor protocols*, 2016(11), 10.1101/pdb.prot087288.
- Crowley, L. C., Marfell, B. J., & Waterhouse, N. J. (2016). Analyzing Cell Death by Nuclear Staining with Hoechst 33342. *Cold Spring Harbor protocols*, 2016(9), 10.1101/pdb.prot087205.
- Dimmock, J. R., Padmanilayam, M. P., Das, U., Zello, G. A., Sharma, R. K., Shrivastav, A., Selvakumar, P., Pasha, M. K., Nienaber, K. H., Lee, J. S., Allen, T. M., Santos, C. L., Balzarini, J., & De Clercq, E. (2003). Cytotoxic Mannich bases of 1-arylidene-2-tetralones. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 18(4), 313-324. DOI: 10.1080/1475636031000121929
- Dimmock, J. R., Erciyas, E., Kumar, P., Hetherington, M., Quail, J. W., Pugazhenti, U., Arpin, S. A., Hayes, S. J., Allen, T. M., Halleran, De Clercq, E., Balzarini, J., & Stables, J. P (1997). Mannich bases of phenolic azobenzenes possessing cytotoxic activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 32(7-8), 583-594. DOI: 10.1016/S0223-5234(97)83284-9
- Dimmock, J. R., Vashishtha, S. C., Quail, J. W., Pugazhenti, U., Zimpel, Z., Sudom, A. M., Allen, T. M., Kao, G. Y., Balzarini, J., & De Clercq, E. (1998). 4-(β-Arylvinyloxy)-3-(β-arylvinyloxy)-1-ethyl-4-piperidinols and Related Compounds: A Novel Class of Cytotoxic and Anticancer Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(21), 4012-4020. DOI: 10.1021/jm980145
- Dimmock, J. R., Jha, A., Kumar, P., Zello, G. A., Quail, J. W., Oloo, E. O., Oucharek, J. J., Pasha, M. K., Seitz, D., Sharma, R. K., Allen, T. M., Santos, C. L., Manavathu, E. K., De Clercq, E., Balzarini, J., & Stables, J. P (2002). Cytotoxic 1, 4-bis (2-oxo-1-cycloalkylmethylene) benzenes and related compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37(1), 35-44. DOI:10.1016/S0223-5234(01)01294-6
- Dimmock, J. R., Kumar, P., Nazarali, A. J., Motaganahalli, N. L., Kowalchuk, T. P., Beazely, M. A., Quail, J. W., Oloo, E. O., Allen, T. M., Szydowski, J., De Clercq, E., & Balzarini, J. (2000). Cytotoxic 2, 6-bis (arylidene) cyclohexanones and related compounds. *European journal of medicinal chemistry*, 35(11), 967-977. DOI: 10.1016/S0223-5234(00)01173-9
- Dimmock, J. R., Kandepu, N. M., Hetherington, M., Quail, J. W., Pugazhenti, U., Sudom, A.M., Chamankhah, M., Rosa, P., Pass, E., Allen, T. M., Halleran, S., Szydowski, J., Mutus, B., Tannous, M., Manavathu, E. K., Myers, T. G., De Clercq, E., & Balzarini, J. (1998). Cytotoxic activities of Mannich bases of chalcones and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(7), 1014-1026. DOI: 10.1021/jm970432t
- Filho, J. F. A., Fiorot, R. G., Delarmelina, M., Lacerda, Jr, V., Dos Santos, R. B., & Greco, S. J.(2013). Reação de Mannich: Metodologia Clássica na Formação de Ligação Carbono- Carbono. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 5(2), 96-142.
- Fillion, H., Porte, M., Bartoli, M. H., Bouaziz, Z., Berlion, M., & Villard, J. (1991). Synthesis of Mannich bases of 5-hydroxynaphthalene-1, 8-carbolactone as potential antifungal or antitumor agents. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39(2), 493-495. DOI: 10.1248/cpb.39.493
- Foley, G. E., Lazarus, H., Farber, S., Uzman, B. G., Boone, B. A., & McCarthy, R. E. (1965). Continuous culture of human lymphoblasts from peripheral blood of a child with acute leukemia. *Cancer*, 18(4), 522-529. DOI: 10.1002/1097-0142(196504)18:4<522::aid-cncr2820180418>3.0.co;2-j.
- Gottlieb, E., Armour, S. M., Harris, M. H., & Thompson, C. B. (2003). Mitochondrial membrane potential regulates matrix configuration and cytochrome c release during apoptosis. *Cell death and differentiation*, 10(6), 709–717.
- Gul, H. I., Vepsäläinen, J., Gul, M., Erciyas, E., & Hanninen, O. (2000). Cytotoxic activities of mono and bis Mannich bases derived from acetophenone against Renca and Jurkat cells. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 74(4), 393-398. DOI:10.1016/S0031-6865(00)00022-4
- Hassan, A. Y., Abou-Amra, E. S., & El-Sebaey, S. A (2023). Design and synthesis of new series of chiral pyrimidine and purine analogs as COX-2 inhibitors: Anticancer screening, molecular modeling, and in silico studies. *Journal of Molecular Structure*, 1278, 134930. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.134930
- Holla, B. S., Veerendra, B., Shivananda, M. K., & Poojary, B. (2003). Synthesis characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1, 2, 4-triazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(7-8), 759-767. DOI: 10.1016/S0223-5234(03)00128-4
- Hu, G., Wang, G., Duan, N., Wen, X., Cao, T., Xie, S., & Huang, W. (2012). Design, synthesis and antitumor activities of fluoroquinolone C-3 heterocycles (IV): s-triazole Schiff–Mannich bases derived from ofloxacin. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(3), 312-317. DOI: 10.1016/j.apsb.2011.11.003
- Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes Da Silva (2022). Leucemias: taxas brutas. <https://www.gov.br/inca/ptbr/assuntos/cancer/numeros/estimativa/por-neoplasia-taxas-brutas/leucemias>.
- Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes Da Silva (2023). Estimativa de 2023: Incidência de Câncer no Brasil. <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>.

- Ivanova, Y., Momekov, G., Petrov, O., Karaivanova, M., & Kalcheva, V. (2007). Cytotoxic Mannich bases of 6-(3-aryl-2-propenyl)-2-(3H)-benzoxazolones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42(11-12), 1382-1387. DOI: 10.1016/j.ejmech.2007.02.019
- Jadus, M. R., Natividad, J., Mai, A., Ouyang, Y., Lambrecht, N., Szabo, S., Ge, L., Hoa, N., & Dacosta-Iyer, M. G. (2012). Lung Cancer: a classic example of tumor escape and progression while providing opportunities for immunologic intervention. *Clinical And Developmental Immunology*, 2012, 1-21.
- Klein, E., Vánky, F., Ben-Bassat, H., Neumann, H., Ralph, P., Zeuthen, J., & Polliack, A. (1976). Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *International Journal of Cancer*, 18(4), 421-431. DOI:10.1002/ijc.2910180405
- Kumar, S., Pathania, A. S., Satti, N. K., Dutt, P., Sharma, N., Mallik, F. A., & Ali, A. (2015). Synthetic modification of hydroxychavicol by Mannich reaction and alkyne-azide cycloaddition derivatives depicting cytotoxic potential. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 236-245. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.12.047
- López-López, J., Omaña-Cepeda, C., & Jané-Salas, E. (2015). Pré câncer e câncer bucal. *Medicina Clínica*, 145(9), 404-408.
- Lozzio C.B. and Lozzio B.B. (1975) Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. *Blood*, 45(3): 321-334
- Minowada J., Onuma T. and Moore G.E. (1972) Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *Journal of the National Cancer Institute* 49(3): 891-895.
- Moore, G. E., Sandberg, A. A., & Ulrich, K. (1966). Suspension cell culture and in vivo and invitro chromosome constitution of mouse leukemia L1210. *Journal of the National Cancer Institute*, 36(3), 405-421.
- Moore, G. E., & Kitamura, H. (1968). Cell line derived from a patient with myeloma. *The New York Medical Journal*, 68(15), 2054-2060.
- Nagy, L. I., Fehér, L. Z., Szebeni, G. J., Gyuris, M., Sipos, P., Alföldi, R., Hackler, L., Balázs, A., Batár, P., Kanizsai, I., & Puskás, L. G. (2015). Curcumin and its analogue induce apoptosis in leukemia cells and have additive effects with bortezomib in cellular and xenograft models. *BioMed Research International*, 2015. DOI: 10.1155/2015/968891
- Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., & Elmagarmid, A. (2016). Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*, 5, 1-10. DOI: 10.1186/s13643-016-0384-4.
- Paiva, B. K. R.; Sarandini, Y. M.; Silva, A. E. da. (2021). Sintomas de Fadiga e Força Muscular Respiratória de Pacientes Onco-hematológicos em Quimioterapia. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 67(3), e-12130. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2021v67n3.1309.
- Pakjoo, M., Ahmadi, S. E., Zahedi, M., Jaafari, N., Khademi, R., Amini, A., & Safa, M. (2024). Interplay between proteasome inhibitors and NF-κB pathway in leukemia and lymphoma: a comprehensive review on challenges ahead of proteasome inhibitors. *Cell communication and signaling : CCS*, 22(1), 105.
- Pegoraro L., Matera L., Ritz J., Levis A., Palumbo A. and Biagini G. (1983) Establishment of a Ph1-positive human cell line (BV173). *Journal of the National Cancer Institute*, 70(3), 447-453.
- PRISMA for Scoping Reviews (PRISMA-ScR). <https://www.prisma-statement.org/scoping>. Acesso em 10 de abril de 2025. Acesso em 10 de abril de 2025.
- Shchekotikhin, A. E., Shtil, A. A., Luzikov, Y. N., Bobrysheva, T. V., Buyanov, V. N., & Preobrazhenskaya, M. N. (2005). 3-Aminomethyl derivatives of 4, 11-dihydroxynaphtho [2, 3- f] indole-5, 10-dione for circumvention of anticancer drug resistance. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(6), 2285-2291. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.12.044
- Silva, J. L. S., Contrera, L., Campos, E. V., & Carvalho, A. M. A. (2021). Perfil das notificações de câncer relacionado ao trabalho em um hospital referência em oncologia no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Multitemas*, 137-157.
- Sun, B., Liu, J., Gao, Y., Zheng, H. B., Li, L., Hu, Q. W., Yuan, H., & Lou, H. X. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing macrocyclic bisbibenzyl derivatives as potent anticancer agents by targeting the lysosome. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 136, 603-618. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.05.050
- Tricco, A. C., Lillie, E., Zarin, W., O'Brien, K. K., Colquhoun, H., Levac, D., Moher, D., Peters, M. D. J., Horsley, T., Semanas, L., Hempel, S., Elie, A., Chang, C., McGowan, J., Stewart, L., Hartling, L., Aldcroft, A. B. A., Wilson, M. G., Garrity, C., et al. (2018). PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. *Annals of Internal Medicine*, 169(7), 467-473. DOI: 10.7326/M18-0850.
- Vashishtha, S. C., Zello, G. A., Nienaber, K. H., Balzarini, J., De Clercq, E., Stables, J. P., & Dimmock, J. R. (2004). Cytotoxic and anticonvulsant aryloxyaryl Mannich bases and related compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(1), 27-35. DOI: 10.1016/j.ejmech.2003.09.011
- Venturini, F. E., Antoniazzi, M. K., Ferreira, R. Q., dos Santos, G. F., Pessoa, C., Guimarães, C. J., Neto, J. B. V., Silva, A. M. S., & Greco, S. J. (2022). A Green Multicomponent Domino Mannich-Michael Reaction to Synthesize Novel Naphthoquinone-Polyphenols with Antiproliferative and Antioxidant Activities. *European Journal of Organic Chemistry*, 2022(39), e202200442. DOI: doi.org/10.1002/ejoc.202200442
- Zhu, T., Wang, S.-H., Li, D., Wang, S.-Y., Liu, X., Song, J., Wang, Y.-T., & Zhang, S.-Y. (2021). Progress of tubulin polymerization activity detection methods. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 37, 127698.
- Yang, J., Liu, Y., Xue, C., Yu, W., Zhang, J., & Qiao, C. (2014). Synthesis and biological evaluation of glaucocalyxin A derivatives as potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 86, 235-241. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.08.061