



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

ALISON PONTES DA SILVA

**DERIVADOS DA SHIKONINA COM POTENCIAL ANTICÂNCER:
UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

CUITÉ – PB

2022

ALISON PONTES DA SILVA

**DERIVADOS DA SHIKONINA COM POTENCIAL ANTICÂNCER:
UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito obrigatório para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bruna Braga Dantas

CUITÉ – PB

2022

S586d Silva, Alison Pontes da.

Derivados da Shikonina com potencial anticâncer: uma revisão integrativa. / Alison Pontes da Silva. - Cuité, 2022.

33 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2022.

"Orientação: Profa. Dra. Bruna Braga Dantas".

Referências.

1. Oncologia. 2. Câncer. 3. Derivados de Shikonina. 4. Naftoquinona. 5. Câncer - terapia farmacológica. 6. Câncer - tratamento - Shikonina. 7. Shikonina - anticâncer. I. Dantas, Bruna Braga. II. Título.

CDU 616-006(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADEMICA DE SAUDE - CES
Sítio Olho D'água da Bica, - Bairro Zona Rural, Cuité/PB, CEP 58175-000
Telefone: (83) 3372-1900 - Email: uas.ces@setor.ufcg.edu.br

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

FOLHA DE ASSINATURA PARA TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Alison Pontes da Silva

DERIVADOS DA SHIKONINA COM POTENCIAL ANTICÂNCER: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 13/07/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Bruna Braga Dantas (Orientador)

Prof. Me. Francisco Patrício de Andrade Júnior (Avaliador)

Prof. Me. Manoel Oliveira de Moraes Júnior (Avaliador)



Documento assinado eletronicamente por **BRUNA BRAGA DANTAS, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 18/07/2022, às 12:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **FRANCISCO PATRICIO DE ANDRADE JÚNIOR, Usuário Externo**, em 20/07/2022, às 08:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Manoel Oliveira de Moraes Junior, Usuário Externo**, em 23/07/2022, às 14:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **2549640** e o código CRC **1D284E23**.

Referência: Processo nº 23096.044345/2022-72

SEI nº 2549640

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, porque d'Ele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

Aos meus pais, **Antônio Félix** e **Maria do Carmo**.

À minha irmã, **Maricélia Pontes**, a qual desempenhou papel de mãe e pai em diversas áreas da minha vida. Sem os seus sacrifícios e esforços, eu não teria chegado até aqui. Espero um dia poder retribuir ao menos uma parte de tudo o que ela fez por mim.

Às minhas irmãs, **Maria Pontes**, **Marinalva Pontes** e **Marineide Pontes**, e aos meus sobrinhos, **Ana Paula** e **Gabriel**, por todo o apoio e orações que superaram as barreiras da distância.

Aos meus amigos e irmãos em Cristo Jesus, **Daniel Alves**, **Inaldo Cândido**, **Mirilene Cândido**, **Marilene Cândido** e **Ismaldo Cândido**. Vocês têm sido bênçãos de Deus durante a minha trajetória, apoiando não somente a mim, mas a toda a minha família.

À minha orientadora, Professora Dr.^a **Bruna Braga Dantas**, que enxergou potencial e acreditou em mim quando nem mesmo eu acreditava.

Ao Doutorando **Francisco Júnior**, que me ensinou muito na área acadêmica, bem como ao Doutorando **Manoel Oliveira**, por aceitarem avaliar este trabalho e contribuir para o seu aperfeiçoamento.

Aos docentes do curso de Farmácia, em especial à Professora Dr.^a **Júlia Beatriz Pereira de Souza**, por todos os conhecimentos transmitidos e por não medirem esforços para que a minha formação fosse completa.

Aos preceptores de estágio, **Glória Batista**, **Josivan Júnior**, **Helena Emanuely** e **Luana Freire**, por todos os conhecimentos compartilhados durante a vivência nos locais de estágio.

Aos amigos **Igor Vieira**, **Diogo Leonardo**, **Fernando Silva**, **Víctor Lima** e **Gabriel Magno** por fazerem parte da minha trajetória acadêmica.

Aos que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação pessoal e profissional.

A todos, muitíssimo obrigado!

“Mas em todas estas coisas somos mais do que vencedores, por aquele que nos amou”.

(A Bíblia Sagrada, Romanos, 8, 37)

RESUMO

Apesar dos avanços notáveis na terapia farmacológica do câncer, este continua sendo um problema de saúde pública em todo o mundo, haja vista as estatísticas de morbimortalidade atuais, bem como as projeções para o futuro. Posto isso, o objetivo do presente trabalho é recuperar informações na literatura acerca do potencial dos derivados da shikonina no tratamento do câncer. Para tal, realizou-se uma revisão integrativa de artigos publicados no PubMed, BVS, Science Direct e SciELO entre os anos de 2017 e 2021. Foram utilizados os descritores “Agente antineoplásico”, “Agente anticâncer” e “Agente antitumoral” combinados com os termos “Shikonina” e “Derivados da shikonina” utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR”. Das 328 publicações encontradas, 12 foram incluídas na pesquisa após o processo de busca. Ao todo, 195 derivados da shikonina foram avaliados pelos estudos incluídos, e, após a triagem, 13 obtiveram resultados promissores e prosseguiram para serem realizados outros experimentos de elucidação de mecanismo de ação. Em comparação à shikonina, grande parte destes compostos mostrou melhor atividade antiproliferativa contra linhagens celulares cancerígenas, além de serem menos tóxicas para células não cancerígenas, representando assim maior seletividade dos derivados. Em adição a isso, outros experimentos *in vitro* mostraram que todos os derivados da shikonina atuam por um ou mais dos seguintes mecanismos: indução de apoptose, alteração do potencial de membrana mitocondrial, interrupção do ciclo celular na fase G1 ou G2/M, inibição da polimerização da tubulina e da migração celular. Com relação aos resultados *in vivo*, os estudos revelaram que os compostos testados tiveram efeito promissor na redução de tumores, bem como não alteraram parâmetros físicos e bioquímicos nos modelos animais estudados. Com base nessas informações, depreende-se que os compostos derivados da shikonina possuem potencial atividade anticâncer promissora e podem ser alvo de pesquisas visando o desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras-chave: Antineoplásicos; Derivados da Shikonina; Mecanismo de Ação; Naftoquinona.

ABSTRACT

Despite notable advances in pharmacological cancer therapy, this remains a public health problem worldwide, given current morbidity and mortality statistics, as well as projections for the future. That said, the objective of the present work is to retrieve information in the literature about the potential of shikonine derivatives in the treatment of cancer. To this end, an integrative review of articles published in PubMed, VHL, Science Direct and SciELO between 2017 and 2021 was carried out. terms “Shikonin” and “Shikonin derivatives” using the Boolean operators “AND” and “OR”. Of the 328 publications found, 12 were included in the search after the search process. In all, 195 shikonine derivatives were evaluated by the included studies, and, after screening, 13 obtained promising results and proceeded to carry out further experiments to elucidate the mechanism of action. Compared to shikonine, most of these compounds showed better antiproliferative activity against cancer cell lines, in addition to being less toxic to non-cancerous cells, thus representing greater selectivity of the derivatives. In addition to this, other in vitro experiments have shown that all shikonine derivatives act by one or more of the following mechanisms: induction of apoptosis, alteration of mitochondrial membrane potential, interruption of the cell cycle in the G1 or G2/M phase, inhibition of tubulin polymerization and cell migration. Regarding the in vivo results, the studies revealed that the tested compounds had a promising effect on tumor reduction, as well as did not change physical and biochemical parameters in the animal models studied. Based on this information, it appears that shikonine-derived compounds have promising anticancer activity and can be the target of research aimed at the development of new drugs..

Keywords: Antineoplastic Agents; Shikonin Derivatives; Mechanism of Action; Naphthoquinone.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Akt – Proteína quinase B

ALT – Alanina Aminotransferase

AST – Aspartato Aminotransferase

BVS – Biblioteca Virtual em Saúde

CCK-8 – Contagem de Células Kit-8

CC₅₀ – Concentração citotóxica para 50% das células não cancerígenas

CI₅₀ – Concentração inibitória de 50% do efeito máximo

DALY – Anos de vida ajustados pela incapacidade

DeCS – Descritores em Ciências da Saúde

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DP – Desvio Padrão

EGFR – Receptor do fator de crescimento epidérmico

HIF-1 α – Fator 1-alfa induzível por hipóxia

mTOR – Proteína alvo da rapamicina em mamíferos

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

PDH – Piruvato desidrogenase

PDK1 – Piruvato desidrogenase quinase 1

PI3K – Fosfatidilinositol 3-quinase

RNA – Ácido ribonucleico

SciELO – *Scientific Eletronic Library Online*

SD – *Sprague-Dawley*

STAT3 – Transdutor de sinalização e ativador de transcrição 3

XTT – 2,3-bis-(2-metóxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilida

% - Porcentagem

$\mu\text{g/mL}$ – Micrograma por mililitro

μM – Micromolar

nm – Nanômetro

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – <i>Hallmarks</i> do câncer.....	15
FIGURA 2 – Fórmula estrutural da shikonina.....	19
FIGURA 3 – Fluxograma PRISMA para a seleção dos artigos.....	21

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 – Classes, mecanismos de ação e exemplos de quimioterápicos.....	16
QUADRO 2 – Triagem dos derivados da shikonina com potencial anticâncer.....	21
QUADRO 3 – Principais resultados <i>in vitro</i> para os compostos promissores.....	25
TABELA 1 – Valores de CI₅₀ e CC₅₀ dos derivados da shikonina mais promissores e da shikonina.....	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Aspectos gerais do câncer	15
3.2 Terapia farmacológica	16
3.3 Etapas de desenvolvimento de novos fármacos	17
3.4 Shikonina	18
4 METODOLOGIA	20
4.1 Tipo de estudo	20
4.2 Fontes de dados	20
4.3 Estratégias de busca	20
4.4 Critérios de inclusão e exclusão	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que possuem como característica central o crescimento desordenado de células, resultante de alterações em proto-oncogenes, genes supressores de tumor e/ou genes de reparo de DNA. Atualmente, o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, além de ser a enfermidade com maior impacto negativo em termos de anos de vida ajustados pela incapacidade (DALY – do inglês *Disability Adjusted Life Years*), o que reflete na qualidade de vida dos indivíduos e nos gastos em saúde pública em todo o planeta (HANAHAN, 2022; MATTIUZZI, LIPPI, 2019).

A fim de tratar esta enfermidade, pode ser utilizada cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia alvo, entre outras estratégias (WANG; LEI; HAN, 2018). Haja vista as dificuldades inerentes a cada método, investigar novas opções terapêuticas é uma meta para o desenvolvimento da humanidade e, no contexto da quimioterapia, os esforços ganham mais importância considerando a demasiada toxicidade e o desenvolvimento de resistência aos fármacos disponíveis. Nesse contexto, os produtos naturais permanecem sendo uma ampla fonte de pesquisa de novos fármacos, podendo estes serem isolados de plantas, micro-organismos e organismos marinhos, por exemplo (MANSOORI et al., 2017; TAYLOR; JABBARZADEH, 2017).

Em meio a isso, é possível pontuar o potencial biológico das naftoquinonas. Estas são compostos que possuem em sua estrutura uma quinona e um anel naftaleno, podendo ser classificadas, a depender da posição das carbonilas, como 1,2-naftoquinonas e 1,4-naftoquinonas. Dentre as naftoquinonas, pode-se destacar lawsona, plumbagina, lapachol, juglona e shikonina com diversas propriedades biológicas (PEREYRA et al., 2019).

Dentre estas, a shikonina, que pode ser encontrada em raízes de *Lithospermum erythrorhizon*, conhecida popularmente na China como “Zicao”, tem se destacado devido ao seu potencial anticâncer evidenciado em diversos estudos. No entanto, uma questão a ser considerada é sua possível toxicidade, demonstrada em células não cancerígenas, a qual, embora necessite de estudos *in vivo* que empreguem diferentes vias de administração, pode representar um aspecto a ser aperfeiçoado visando o desenvolvimento de um novo fármaco antineoplásico. Em adição a isso, a baixa hidrossolubilidade da shikonina também é um fator que pode ser aprimorado, a fim de melhorar aspectos como absorção, distribuição, potência e eliminação (GUO et al., 2019; WANG et al., 2019; FIGAT et al., 2021; ANDÚJAR et al., 2013; LI, 2019).

Por essa razão, tem sido desenvolvido novos compostos baseados na estrutura química da shikonina com menor toxicidade e atividade anticâncer aprimorada. Posto isso, compilar as informações presentes na literatura sobre o potencial dos derivados da shikonina pode fornecer embasamento para futuras pesquisas com novas terapias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar uma revisão integrativa da literatura sobre o potencial anticâncer de derivados da shikonina.

2.2 Objetivos específicos

- Buscar estudos *in vitro* sobre os derivados da shikonina que avaliem a citotoxicidade em linhagens celulares cancerígenas e não cancerígenas;
- Investigar os possíveis mecanismos de ação destes compostos;
- Avaliar estudos *in vivo* que testem o potencial anticâncer dos derivados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Aspectos gerais do câncer

O câncer é uma doença genética em que as células perdem o controle do mecanismo de divisão e/ou de morte celular, passando a multiplicar-se de forma desordenada. É válido destacar que o câncer pode se desenvolver em qualquer parte do corpo humano, dando origem a uma série de condições patológicas (NIH, 2021). De acordo com Hanahan (2022) é possível elencar algumas características do câncer que possibilitam intervenções terapêuticas, conforme a figura 1.

Figura 1 – *Hallmarks* do câncer



Fonte: adaptado de Hanahan (2022)

No que se refere ao desenvolvimento de um tumor, ocorrem alterações em genes que controlam o funcionamento celular, sendo que tais alterações podem acontecer devido ao acúmulo sucessivo de erros na medida em que as células se dividem, a danos ao DNA por substâncias nocivas e/ou em decorrência da herança genética transmitida de pais para filhos. Os genes que podem sofrer essas alterações podem ser proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo de DNA (BASU, 2018; FOUAD; AANEI, 2017).

Esta doença foi responsável por 18 milhões de novos casos em todo o mundo considerando apenas o ano de 2018, sendo os cânceres de pulmão (2,09 milhões de casos),

mama (2,09 milhões de casos) e próstata (1,28 milhão de casos) os mais predominantes. No tocante à mortalidade, o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo (8,97 milhões de mortes), sendo superada apenas por doença arterial coronariana. No entanto, estimativas apontam que o câncer se tornará a primeira causa de morte até 2060 (MATTIUZZI, LIPPI, 2019).

No Brasil, ocorreram ao todo 449.090 casos novos de neoplasias (exceto pele não melanoma) no ano de 2020, sendo os cânceres de próstata e mama os mais frequentes entre homens e mulheres, respectivamente. Além disso, no referido ano foram registrados 232.030 óbitos por neoplasias (INCA, 2021).

No que se refere ao tratamento do câncer, existem diversas estratégias disponíveis tais como cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia alvo, entre outras. A escolha da opção de tratamento pode ser uma tarefa laboriosa, tendo em vista a probabilidade de falha a depender do tipo de tumor e/ou a necessidade de combinar diferentes métodos. Em um cenário ideal, o principal objetivo do tratamento do câncer é remover completamente o tumor sem causar danos às células adjacentes, o que se torna difícil na prática em função da capacidade que as células cancerígenas têm de se espalharem para locais próximos ou distantes (metástase) (WANG; LEI; HAN, 2018).

3.2 Terapia farmacológica

No contexto do tratamento farmacológico do câncer, a quimioterapia continua sendo um método bastante utilizado nos dias atuais. Apesar da utilização de compostos químicos no tratamento de neoplasias remontar milhares de anos atrás, foi somente na década de 1940, com o emprego da mostarda nitrogenada para tratamento de linfoma, que houve o primeiro uso documentado de um fármaco antineoplásico. Desde então, inúmeros fármacos foram sendo pesquisados e aprovados por agências regulatórias (MATTIONI et al., 2020).

De modo geral, os fármacos quimioterápicos podem ser classificados de acordo com o mecanismo de ação, conforme o quadro 1.

Quadro 1 – Classes, mecanismos de ação e exemplos de quimioterápicos

Classes	Mecanismo de ação	Exemplos
Agentes alquilantes	Formam ligações covalentes com proteínas, DNA e RNA, comprometendo a função celular	Cisplatina, clorambucila, ciclofosfamida
Antimetabólitos	Substituem um metabólito que geralmente é incorporado ao DNA ou RNA ou competem pelo sítio catalítico de uma enzima	5-Fluorouracila, metotrexato

Continua

Conclusão

Classe	Mecanismo de ação	Exemplos
Antibióticos antitumorais	Causam quebra da fita de DNA por meio de radicais livres	Doxorrubicina, bleomicina
Inibidores de topoisomerase	Comprometem a estrutura tridimensional do DNA, visto que as topoisomerasas são responsáveis pelo desenrolamento do DNA durante a replicação	Irinotecan, etoposídeo
Agentes que interagem com a tubulina	Previnem a polimerização da tubulina ou a despolimerização dos microtúbulos	Vincristina, paclitaxel

Fonte: adaptado de Dickens e Ahmed (2018)

Com os grandes avanços na pesquisa, houve uma revolução no desenvolvimento de novas terapias farmacológicas. Dentre os avanços, vale destacar a terapia alvo, a qual consiste no emprego de substâncias sintéticas ou biotecnológicas que atuam em alvos moleculares específicos. Como exemplos pode-se citar os inibidores de tirosina quinase (imatinibe, por exemplo) e os anticorpos monoclonais (o primeiro aprovado em agência regulatória foi o rituximabe). Mais recentemente, foram desenvolvidos inibidores de *checkpoint* imunológico, sendo o ipilimumabe, aprovado em 2011, o primeiro desta classe (FALZONE; SALOMONE; LIBRA, 2018).

3.3 Etapas de desenvolvimento de novos fármacos

O processo de desenvolvimento de novos fármacos envolve uma série de etapas. Inicialmente, são realizados estudos pré-clínicos que podem ser *in vitro*, *in vivo* e/ou *in silico*. Os compostos promissores que passaram por essas etapas seguem para a fase clínica. Nesta fase, o candidato a um novo fármaco é testado em seres humanos, sendo dividida em quatro fases (MAK; PICHKA, 2019).

Na fase I, o composto é administrado em um pequeno número de voluntários saudáveis a fim de avaliar possíveis efeitos tóxicos no organismo e estimar a dose máxima tolerável. Em seguida, o composto passa para a fase II, sendo administrado em um pequeno grupo de voluntários que apresentam a patologia a ser tratada. Dentre os aspectos avaliados nesta fase, pode-se destacar a eficácia, segurança, farmacocinética e farmacodinâmica (WRIGHT, 2017).

Se o candidato obtiver êxito nas etapas anteriores, passará para a fase III, a qual consiste em administrar o composto em centenas ou milhares de indivíduos doentes, a fim de verificar sua eficácia. Cabe destacar que nos testes, é essencial realizar o mascaramento, isto é, os indivíduos envolvidos não devem saber se o que está sendo administrado é o composto estudado

ou um placebo. Em caso de aprovação nesta etapa, segue-se para a fase IV, que consiste na farmacovigilância, ou seja, monitorar reações adversas após a comercialização do novo fármaco (UMSCHEID; MARGOLIS; GROSSMAN, 2011).

Para que um novo fármaco chegue ao mercado, estima-se que sejam gastos de 10 a 15 anos de pesquisa e cerca de 1,5 bilhão a 2 bilhões de dólares. Aproximadamente metade desse montante é investido somente nas fases clínicas, além de que de um total de 5.000 a 10.000 compostos, somente um obtém êxito e chega ao mercado (HARRER et al., 2019).

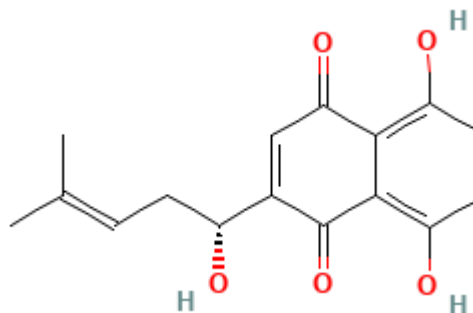
Além desses aspectos, no contexto do tratamento farmacológico do câncer há algumas lacunas que precisam ser investigadas. A princípio, é preciso citar o elevado risco de toxicidade e a extensa quantidade de efeitos adversos associados aos antineoplásicos, o que pode limitar o seu uso a depender do caso. Em adição a isso, é preocupante o desenvolvimento de resistência a um fármaco ou a múltiplos fármacos por parte das células cancerígenas, comprometendo a eficácia terapêutica. Por isso, é fundamental investigar novos candidatos à fármacos antineoplásicos (NEDELJKOVIĆ; DAMJANOVIĆ, 2019; NIKOLAOU et al., 2018; MANSOORI et al., 2017).

Nesse sentido, os produtos naturais têm sido ao longo da história uma fonte de compostos para o tratamento do câncer, sejam originados de plantas, micro-organismos, algas marinhas, entre outros. Dentre os produtos naturais utilizados na atualidade como antineoplásicos, é possível citar a vincristina e o paclitaxel. Embora a química sintética tenha representado um marco para o desenvolvimento de fármacos, a utilização da estrutura química base de produtos naturais continua sendo útil na busca de compostos com atividade antineoplásica promissora (TAYLOR; JABBARZADEH, 2017).

3.4 Shikonina

A shikonina (5,8-dihidroxi-2-[(1R)-1-hidroxi-4-metil-pent-3-enil]naftaleno-1,4-diona) possui massa molecular equivalente a 288,29 g/mol, densidade de 1,373 g/cm³ e ponto de fusão de 147 °C. Além disso, é um composto fenólico, termolábil e suscetível à oxidação que se apresenta como um pó cristalino branco ou levemente amarelo, sendo praticamente insolúvel em soluções aquosas (NCBI, 2022). A estrutura química da shikonina pode ser observada na figura 2.

Figura 2 – Fórmula estrutural da shikonina



Fonte: NCBI, 2022

Este composto ocorre naturalmente em algumas espécies de plantas, como por exemplo em raízes de *Lithospermum erythrorhizon*, uma erva da medicina tradicional chinesa. Dentre as propriedades terapêuticas da shikonina, destaca-se a anticâncer, anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e cicatrizante (ANDÚJAR et al., 2013; GUO et al., 2019).

No tocante ao potencial no tratamento do câncer, a shikonina demonstrou valores de CI_{50} (concentração inibitória de 50% do efeito máximo) que indicam ótima capacidade de inibição de crescimento em diversas linhagens cancerígenas, tais como linhagens de câncer de mama, pulmão, fígado, estômago, próstata, colo do útero, leucemia, entre outros. Tal atividade foi ratificada por experimentos em modelos *in vivo*. Com relação aos mecanismos de ação investigados, é possível citar, além da inibição de crescimento celular, a indução de morte celular por apoptose e/ou necroptose e a inibição de migração e invasão (WANG et al., 2019).

Entretanto, a baixa hidrossolubilidade e sua potencial toxicidade em células não cancerígenas são aspectos que podem ser aprimorados para que a shikonina se torne um fármaco anticâncer (FIGAT et al., 2021; LI, 2019). É necessário pontuar, porém, que são necessários mais estudos *in vivo* com diferentes vias de administração a fim de elucidar esse potencial tóxico (ANDÚJAR et al., 2013). Apesar disso, modificações estruturais na molécula podem ser uma alternativa a fim de reduzir possíveis efeitos tóxicos e otimizar a atividade anticâncer da shikonina.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma revisão de literatura do tipo integrativa, a qual é uma ferramenta de grande importância para pesquisas na área de saúde pois possibilita a síntese do conhecimento sobre determinada temática, bem como a expansão do campo de pesquisa ao gerar novos pontos a serem investigados, assegurando assim a prática baseada em evidências (SOUZA; SILVA; CARVALHO, 2010; SOARES et al., 2014; ANDRADE JÚNIOR et al., 2021).

Com base nisso, foi utilizada a seguinte pergunta norteadora: compostos derivados da shikonina possuem potencial atividade anticâncer?

4.2 Fontes de dados

Foram recuperados artigos no PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Science Direct e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO).

4.3 Estratégias de busca

A busca dos artigos foi realizada entre os dias 03 de março e 28 de abril de 2022. Foram utilizados os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) “Agente antineoplásico”, “Agente anticâncer” e “Agente antitumoral” combinados com os termos “Shikonina” e “Derivados da shikonina” utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR” da seguinte maneira: ((Agente antineoplásico) OR (Agente anticâncer) OR (Agente antitumoral)) AND ((Shikonina) OR (Derivados da shikonina)), ((*Antineoplastic agents*) OR (*Anticancer agents*) OR (*Antitumor agents*)) AND ((*Shikonin*) OR (*Shikonin derivatives*)), ((*Agente antineoplásico*) OR (*Agente anticâncer*) OR (*Agente antitumoral*)) AND ((*Shikonina*) OR (*Derivados de shikonina*)).

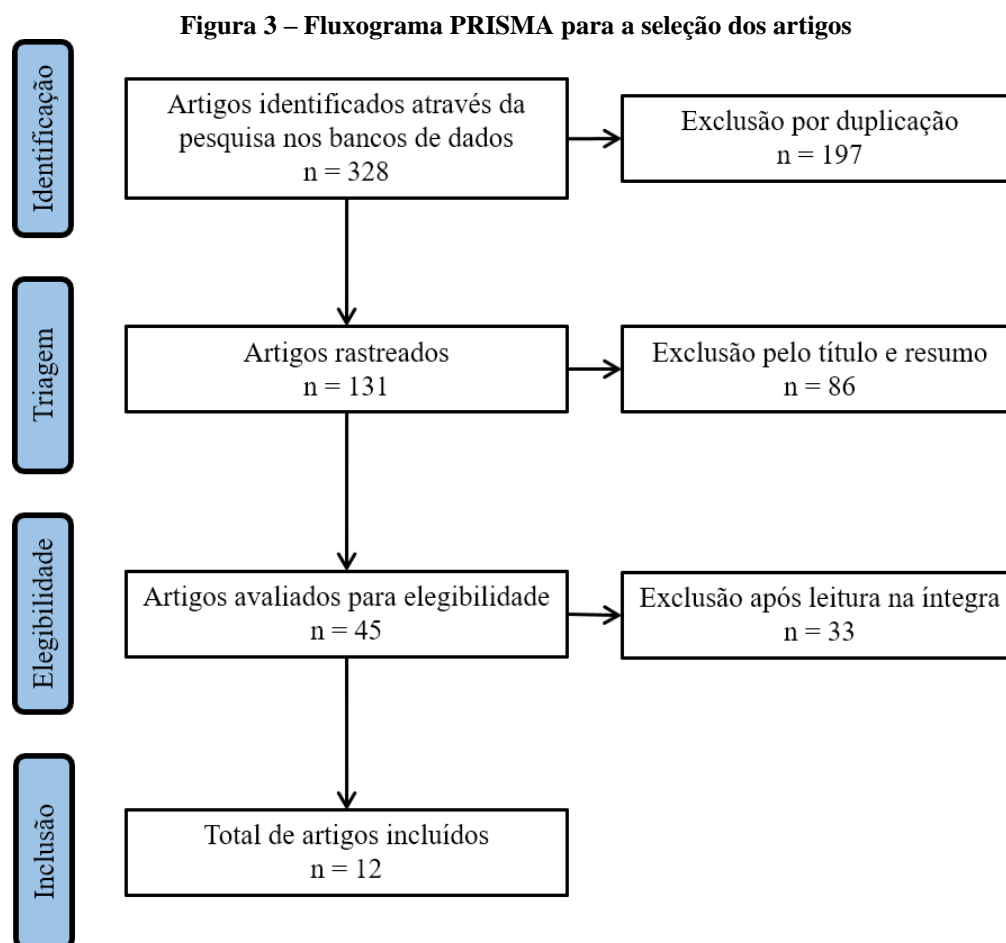
4.4 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos artigos presentes nas fontes de dados supracitadas que tenham sido publicados em português, inglês ou espanhol entre os anos de 2017 e 2021. Tais estudos deveriam ter natureza experimental, a fim de investigar possível atividade anticâncer de derivados da shikonina.

É importante ressaltar que artigos de revisão, capítulos de livros, editoriais, resumos, dissertações e teses, bem como artigos que abordavam a atividade anticâncer da shikonina isoladamente foram excluídos na presente pesquisa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos descritores e termos utilizados, foram recuperadas 328 publicações, das quais 45 foram avaliadas pelo texto completo, restando 12 artigos para serem incluídos nesta revisão (Figura 3).



Fonte: Dados da pesquisa, 2022

As informações coletadas dos artigos incluídos na revisão podem ser observadas no quadro 2.

Quadro 2 – Triagem dos derivados da shikonina com potencial anticâncer

Autor e ano	Periódico	Tipo de Estudo	Total de compostos	Ensaio de viabilidade celular	Composto(s) promissor(es)
Ma et al. (2021)	Bioorganic Chemistry	<i>In vitro</i>	16	CCK-8 ⁽¹⁾	M9
Li et al. (2019)	Chemical and Pharmaceutical Bulletin	<i>In vitro</i>	2	MTT ⁽²⁾	Composto 2
Sun et al. (2019)	Bioorganic & Medicinal Chemistry	<i>In vitro/in vivo</i>	15	MTT	PMMB-317

Continua

Autor e ano	Periódico	Tipo de Estudo	Total de compostos	Ensaio de viabilidade celular	Composto(s) promissor(es)
Todorovic et al. (2021)	Nutrients	<i>In vitro/in vivo</i>	5	MTT	IBS e MBS
Huang et al. (2018)	European Journal of Medicinal Chemistry	<i>In vitro</i>	45	MTT	9m
Qiu et al. (2017a)	Scientific Reports	<i>In vitro</i>	16	MTT	PMM-172
Kretschmer et al. (2021)	International Journal of Molecular Sciences	<i>In vitro</i>	31	XTT ⁽³⁾	Composto 5
Shao et al. (2020)	European Journal of Medicinal Chemistry	<i>In vitro/in vivo</i>	17	MTT	6c
Lin et al. (2018)	European Journal of Medicinal Chemistry	<i>In vitro/in vivo</i>	18	MTT	1c
Qiu et al. (2017b)	Biochemical Pharmacology	<i>In vitro/in vivo</i>	18	MTT	PMMB-187
Qiu et al. (2017c)	ChemMedChem	<i>In vitro</i>	18	MTT	PMMB-259
Han et al. (2018)	Biomedicine & Pharmacotherapy	<i>In vitro</i>	12	MTT	PMMB232

⁽¹⁾Contagem de Células Kit-8; ⁽²⁾Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio; ⁽³⁾3-bis-(2-metóxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H -tetrazólio-5-carboxanilida

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

É possível observar que a maior parte dos artigos incluídos se trata de estudos *in vitro*. Além disso, nota-se que os estudos fizeram triagem de compostos com potencial anticâncer utilizando diferentes ensaios de viabilidade celular, dentre os quais o ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio) foi empregado em 10 dos 12 estudos selecionados.

Basicamente, este ensaio consiste na conversão do MTT em formazan, um composto que absorve energia luminosa no comprimento de onda de 540 nm, sendo a sua absorbância diretamente proporcional ao número de células viáveis. Devido sua simplicidade e eficácia, o ensaio MTT tem sido bastante utilizado para avaliar atividade anticancerígena de compostos (BAHUGUNA et al., 2017).

Nesta etapa de triagem, foram sintetizados e testados 195 compostos nos estudos selecionados, dos quais 13 obtiveram os melhores resultados e foram escolhidos para elucidação de possíveis mecanismos de ação. O fato de menos de 10% dos compostos terem

sido selecionados exemplifica como o processo de desenvolvimento de novos fármacos envolve um grande gargalo que representa elevação dos custos (HARRER et al., 2019).

Ademais, na triagem o parâmetro a ser avaliado é a citotoxicidade dos compostos tanto contra linhagens cancerígenas (CI_{50}), quanto contra linhagens não cancerígenas (CC_{50} – concentração citotóxica para 50% das células não cancerígenas). Com base nisso, a tabela 1 mostra os valores de CI_{50} e CC_{50} dos compostos selecionados pelos estudos como os mais promissores, bem como da própria shikonina.

Tabela 1 – Valores de CI₅₀ e CC₅₀ dos derivados da shikonina mais promissores e da shikonina

Nome do composto	Linhagem cancerígena	Linhagem não cancerígena	Derivados da shikonina		Shikonina		Autor e ano
			CI ₅₀ ⁽¹⁾ ± DP ⁽²⁾ (µM)	CC ₅₀ ⁽³⁾ ± DP (µM)	CI ₅₀ ± DP (µM)	CC ₅₀ ± DP (µM)	
M9	Câncer de mama (MDA-MB-231)	Célula epitelial de mama humana (MCF-10A)	4,52 ± 0,28	> 100	7,62 ± 0,26	20,94 ± 1,1	Ma et al. (2021)
Composto 2	Câncer gástrico (SGC-7901)	ND ⁽⁴⁾	36,10 ± 0,87	ND	1,38 ± 0,04	ND	Li et al. (2019)
PMMB-317	Adenocarcinoma pulmonar (A549)	Célula hepática humana normal (L02)	4,37 ± 0,46	89,2	6,13 ± 1,68	12,2	Sun et al. (2019)
IBS e MBS⁽⁵⁾	Leucemia linfóide crônica murina (BCL1)	ND	0,86 ± 0,16 e 1,07 ± 0,19	ND	ND	ND	Todorovic et al. (2021)
9m	Câncer de cólon (HCT-15)	Fibroblasto da pele humana (HSF)	0,27 ± 0,02	> 50	0,86 ± 0,12	1,25 ± 0,12	Huang et al. (2018)
PMM-172	Câncer de mama (MDA-MB-231)	Células epitelial de mama humana (MCF-10A)	1,98 ± 0,49	95,4 ± 0,62	2,88 ± 0,25	23,5 ± 1,01	Qiu et al. (2017a)
Composto 5	Melanoma (WM9)	Célula epitelial humana (HEK-293)	1,5 ± 0,1	3,4 ± 0,2	ND	ND	Kretschmer et al. (2021)
6c	Câncer de cólon (HT29)	Célula hepática humana (L02)	0,18 ± 0,04	154,76 ± 9,98	2,80 ± 0,26	11,77 ± 0,14	Shao et al. (2020)
1c	Câncer cervical (HeLa)	Célula renal embrionária humana (293 T)	3,14 ± 0,58	88,83 ± 3,37	6,86 ± 1,22	62,76 ± 2,21	Lin et al. (2018)
PMMB-187	Câncer de mama (MDA-MB-231)	Célula epitelial de mama humana (MCF-10A)	1,81 ± 0,32	86,9 ± 5,15	2,88 ± 0,25	23,5 ± 3,01	Qiu et al. (2017b)
PMMB-259	Câncer de mama (MCF-7)	Célula renal embrionária humana (293 T)	2,36 ± 0,32	>100	7,61 ± 0,16	9,27 ± 0,01	Qiu et al. (2017c)
PMMB232	Câncer cervical (HeLa)	Célula hepática humana (L02)	3,25 ± 0,35	35,04 ± 2,80	6,50 ± 1,89	6,22 ± 1,31	Han et al. (2018)

⁽¹⁾Concentração inibitória de 50% do efeito máximo; ⁽²⁾Desvio padrão; ⁽³⁾Concentração citotóxica para 50% das células não cancerígenas; ⁽⁴⁾Não Determinado; ⁽⁵⁾CI₅₀ expressa em µg/ml

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

Ao analisar os dados oriundos dos estudos selecionados, nota-se que todos os compostos tiveram valores menores de CI_{50} e valores maiores de CC_{50} do que a shikonina, sendo o composto 2 a única exceção. Em outras palavras, os derivados mostraram maior citotoxicidade contra células cancerígenas, assim como foram menos citotóxicos contra linhagens não cancerígenas em comparação com a própria shikonina. Tais resultados indicam que os referidos derivados da shikonina mostraram maior seletividade do que seu composto-base. Além disso, alguns dos derivados apresentaram atividade citotóxica contra linhagens cancerígenas na ordem de nanomolar.

A seletividade é um parâmetro relevante no desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos. Isso porque quanto mais seletivo for o composto, melhor será o seu perfil de segurança, contribuindo assim para uma maior adesão ao tratamento e, conseqüentemente, aumentando a probabilidade de eficácia do mesmo (GAVAMUKULYA et al., 2021).

É importante pontuar que alguns dos estudos utilizaram outros compostos como controle positivo, tais como doxorubicina, 5-fluorouracila, colchicina, entre outros (SHAO et al., 2020; HUANG et al., 2018; LIN et al., 2018). O fato de apenas a shikonina ter sido destacada na tabela 1 justifica-se devido à necessidade de simplificar as informações na tabela, bem como a vantagem de padronizar a exposição dos resultados ao utilizar o mesmo controle.

Outro ponto que deve ser destacado é que os estudos testaram os compostos em mais de uma linhagem cancerígena. No entanto, apenas uma linhagem cancerígena foi destacada na tabela 1, o que se explica não só pelas justificativas supracitadas na escolha do controle, mas também pelo fato de que as linhagens cancerígenas destacadas foram as mesmas utilizadas pelos estudos para os demais experimentos de elucidação de mecanismos de ação, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Posto isso, o quadro 3 apresenta os principais resultados *in vitro* para os compostos derivados da shikonina que tiveram o seu mecanismo de ação investigado.

Quadro 3 – Principais resultados *in vitro* para os compostos promissores

Composto(s) promissor(es)	Principais resultados <i>in vitro</i>	Autor e ano
M9	Indução de apoptose de forma dose-dependente; indução de parada do ciclo celular na fase G2/M; inibição de migração de células MDA-MB-231 regulando a via de sinalização Wnt/ β -catenina; infrarregulação da expressão de fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), proteína quinase B (Akt), p-Akt e proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR); inibição da formação de clones	Ma et al. (2021)

Continua

Composto(s) promissor(es)	Principais resultados <i>in vitro</i>	Autor e ano
Composto 2	ND	Li et al. (2019)
PMMB-317	Atividade inibidora do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) superior à shikonina e semelhante ao afatinibe; indução de apoptose de forma dose-dependente; indução de parada do ciclo celular na fase G2/M; inibição da polimerização dos microtúbulos; inibição da migração celular pela via Wnt/ β -catenina; redução dose-dependente da fosforilação de EGFR, ERK e Akt	Sun et al. (2019)
IBS e MBS	Indução de apoptose de forma dose-dependente; atividade anti-proliferativa contra células BCL1; inibição da expressão de genes regulados por transdutor de sinalização e ativador de transcrição 3 (STAT3) e pSTAT3	Todorovic et al. (2021)
9m	Indução da parada do ciclo celular na fase G1; células tratadas mostraram características típicas de apoptose, como fragmentação nuclear e condensação da cromatina, e obtiveram intensidade de fluorescência muito mais forte do que as células de controle não tratadas	Huang et al. (2018)
PMM-172	Redução da atividade da luciferase STAT3 de maneira dose-dependente; indução de apoptose de maneiras dependentes de dose e tempo; redução do potencial transmembranar mitocondrial e redução da ativação constitutiva e induzível de STAT3; supressão da localização nuclear de STAT3, com uma ligeira vantagem sobre Stattic; ausência de supressão da ativação de STAT3 e da viabilidade em células não cancerígenas; inibição da expressão de genes alvo a jusante de STAT3	Qiu et al. (2017a)
Composto 5	Indução de apoptose possivelmente por ativação de caspases; possível indução de necrose e/ou necroptose; alterações no ciclo celular apenas em altas concentrações	Kretschmer et al. (2021)
6c	Inibição da formação de colônias de uma forma dependente da dose; inibição da polimerização da tubulina e possível competição com o sítio de ligação da colchicina; interrupção do ciclo celular em G2/M; aumento da expressão de P21 e Ciclina B1 e diminuição da expressão de Cdc2, p-CDC2 e p-Cdc25c; indução de apoptose e despolarização mitocondrial e colapso dos microtúbulos; inibição da formação de tubos e migração celular	Shao et al. (2020)

Continua

Conclusão

Composto(s) promissor(es)	Principais resultados <i>in vitro</i>	Autor e ano
1c	Indução de parada do ciclo celular na fase G2/M através de inibição da polimerização da tubulina; possível inibição de piruvato desidrogenase quinase 1 (PDK1) e ativação de piruvato desidrogenase (PDH), forçando as células HeLa a processar mais metabolismo aeróbico; perda de potencial mitocondrial; indução de apoptose	Lin et al. (2018)
PMMB-187	Indução de apoptose de modo tempo e dose-dependente; redução do potencial de membrana mitocondrial; produção de espécies reativas de oxigênio; inibição da ativação constitutiva e induzível de STAT3; supressão da localização nuclear de STAT3 e a atividade do repórter STAT3-luciferase; ausência de supressão da atividade de STAT3 e da viabilidade em células não cancerígenas; inibição da infrarregulação de genes alvo STAT3	Qiu et al. (2017b)
PMMB-259	Potente inibição da polimerização de tubulina; indução de apoptose de maneira dependente da dose e do tempo; redução do potencial de membrana mitocondrial; indução de parada do ciclo celular na fase G2/M; diminuição significativa da densidade dos microtúbulos e perturbação da organização radial dos mesmos	Qiu et al. (2017c)
PMMB232	Indução de apoptose; efeito no potencial de membrana mitocondrial melhor que a shikonina; indução de estresse oxidativo e da capacidade de adesão; inibição da expressão de fator 1-alfa induzível por hipóxia (HIF-1 α) e suprarregulação da expressão de E-caderina; aumento da expressão de PDH-E1 α ; diminuição da expressão de PDK1 e p-PDH-E1 α ; aumento da expressão de PARP clivado e sem mudanças evidentes nos níveis de PARP	Han et al. (2018)

ND – Não Determinado

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

De modo geral, nota-se que todos os derivados da shikonina atuam por um ou mais dos seguintes mecanismos: indução de apoptose, alteração do potencial de membrana mitocondrial, interrupção do ciclo celular na fase G1 ou G2/M, inibição da polimerização da tubulina e da migração celular (MA et al., 2021; LI et al., 2019; SUN et al., 2019; TODOROVIC et al., 2021; HUANG et al., 2018; QIU et al., 2017a; KRETSCHMER et al., 2021; SHAO et al., 2020; LIN et al., 2018; QIU et al., 2017b; QIU et al. 2017c; HAN et al., 2018).

Estudos anteriores evidenciaram uma ampla gama de mecanismos que explicam a atividade anticâncer da shikonina, tais como inibição da proliferação celular, indução de apoptose, inibição da migração e invasão e indução de autofagia e necroptose (ANDÚJAR et al., 2013; GUO et al., 2019; WANG et al., 2019). Logo, evidencia-se que os compostos

derivados da shikonina investigados nos estudos selecionados atuam, em geral, por mecanismos semelhantes ao seu composto-base. Considerando que a maior parte dos derivados mostrou maior seletividade, é possível sugerir que os mesmos podem ser ainda mais promissores do que a própria shikonina como potenciais agentes anticâncer.

Com relação aos resultados *in vivo*, Sun e colaboradores (2019) avaliaram o composto PMMB-317 em camundongos nude, nos quais foram inoculadas células de adenocarcinoma pulmonar (A549). Na dose de 4 mg/kg, o composto mostrou uma capacidade de redução tumoral similar ao afatinibe e melhor do que a shikonina, além de que PMMB-317 não teve efeito significativo na massa corporal dos camundongos.

Todorovic e colaboradores (2021) avaliaram os compostos IBS e MBS em camundongos BALB/c que receberam injeções de células BCL1. Os dois compostos em doses de 2 mg/kg e 4 mg/kg reduziram de forma significativa a porcentagem de células com característica de leucemia linfóide crônica no sangue periférico e baço de camundongos. Além disso, os dois compostos não alteraram de forma significativa os níveis séricos de ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase), ureia e creatinina.

Shao e colaboradores (2020) avaliaram parâmetros farmacocinéticos do composto 6c. Para isso, foram injetados em ratos *Sprague-Dawley* (SD) em uma concentração de 1,5 mg/kg. Os resultados indicaram que o composto é relativamente estável.

Lin e colaboradores (2018) avaliaram a atividade antitumoral de 1c em camundongos nude em que foram injetadas células de câncer cervical (HeLa). O composto mostrou efeito similar à shikonina na redução tumoral, mas, diferentemente desta, não alterou significativamente a massa corporal dos camundongos.

Qiu e colaboradores (2017b) avaliaram a atividade antitumoral de PMMB-187 em camundongos em que foram inoculadas células de câncer de mama (MDA-MB-231). O composto reduziu significativamente o crescimento tumoral e não causou alterações na massa corporal. Além disso, as análises moleculares dos tecidos tumorais mostraram que o efeito apoptótico do composto exerce influência no efeito antitumoral *in vivo*.

De modo geral, os resultados dos estudos *in vivo* evidenciaram que os derivados da shikonina testados possuem atividade antitumoral promissora, além de que não demonstraram alterações aparentes em parâmetros físicos e metabólicos nos modelos animais utilizados. Em outras palavras, os compostos se mostraram eficazes e seguros nos modelos experimentais avaliados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos ensaios de viabilidade celular realizados em cada um dos artigos, foram evidenciados alguns compostos com efeito citotóxico contra linhagens cancerígenas superior à própria shikonina, bem como menor citotoxicidade contra células não cancerígenas, o que significa uma maior seletividade por parte dos derivados da shikonina.

Ao explorar melhor os possíveis mecanismos de ação dos derivados, mostrou-se que os mesmos podem induzir apoptose, alterar o potencial de membrana mitocondrial, interromper o ciclo celular na fase G1 ou G2/M e/ou inibir a polimerização da tubulina e da migração celular. Em adição a isso, os estudos *in vivo* mostraram que alguns dos compostos reduziram significativamente o crescimento tumoral, sem alterar parâmetros físicos e bioquímicos.

A partir das informações recuperadas dos estudos analisados, é possível verificar evidências *in vitro* e *in vivo* de que os compostos derivados da shikonina possuem potencial anticâncer e podem ser candidatos a fármacos, sendo necessário, porém, que sejam realizados estudos clínicos a fim de avaliar a segurança e a eficácia dos mesmos em seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE JÚNIOR, F. P. et al. Sobrevivendo na ciência em tempos de pandemia: como lidar? **HOLOS**, v. 4, p. e11599, 2021.
- ANDÚJAR, I. et al. Pharmacological properties of shikonin—a review of literature since 2002. **Planta Medica**, v. 79, n. 18, p. 1685-1697, 2013.
- BAHUGUNA, A. et al. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 115-118, 2017.
- BASU, A. K. DNA damage, mutagenesis and cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 4, 2018.
- A BÍBLIA SAGRADA, N. T. Romanos. In **A Bíblia Sagrada**. Português. Tradução de João Ferreira de Almeida – Edição Revista e Corrigida. 4ª Edição. Barueri, SP: Sociedade Bíblica do Brasil, 2009. p. 1112-1112.
- DICKENS, E.; AHMED, S. Principles of cancer treatment by chemotherapy. **Surgery (Oxford)**, v. 36, n. 3, p. 134-138, 2018.
- FALZONE, L.; SALOMONE, S.; LIBRA, M. Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.
- FIGAT, R. et al. Cytotoxicity and antigenotoxicity evaluation of acetylshikonin and shikonin. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 140-147, 2021.
- FOUAD, Y. A.; AANEI, C. Revisiting the hallmarks of cancer. **American Journal of Cancer Research**, v. 7, n. 5, p. 1016-1036, 2017.
- GAVAMUKULYA, Y. et al. *Annona muricata* silver nanoparticles exhibit strong anticancer activities against cervical and prostate adenocarcinomas through regulation of CASP9 and the CXCL1/CXCR2 genes axis. **Tumor Biology**, v. 43, n. 1, p. 37-55, 2021.
- GUO, C. et al. Pharmacological properties and derivatives of shikonin – A review in recent years. **Pharmacological Research**, v. 149, p. 104463, 2019.
- HAN, H.-W. et al. The evaluation of potent antitumor activities of shikonin coumarin-carboxylic acid, PMMB232 through HIF-1 α -mediated apoptosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 656-666, 2018.
- HANAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022.
- HARRER, S. et al. Artificial intelligence for clinical trial design. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 40, n. 8, p. 577-591, 2019.
- HUANG, G. et al. Synthesis and biological evaluation of sulfur-containing shikonin oxime derivatives as potential antineoplastic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 166-181, 2018.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estatísticas de Câncer**. Rio de Janeiro, RJ: INCA, c2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. Acesso em: 19 fev. 2022.

KRETSCHMER, N. et al. Synthesis and Pharmacological In Vitro Investigations of Novel Shikonin Derivatives with a Special Focus on Cyclopropane Bearing Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 2774, 2021.

LI, B. et al. Biosynthesis of novel shikonin glucosides by enzymatic glycosylation. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 67, n. 10, p. 1072-1075, 2019.

LIN, H-Y. et al. Design and characterization of α -lipoic acyl shikonin ester twin drugs as tubulin and PDK1 dual inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 144, p. 137-150, 2018.

MA, Y et al. Design, synthesis and biological evaluation of anilide (dicarboxylic acid) shikonin esters as antitumor agents through targeting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Bioorganic Chemistry**, v. 111, p. 104872, 2021.

MAK, K-K.; PICHKA, M. R. Artificial intelligence in drug development: present status and future prospects. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 3, p. 773-780, 2019.

MANSOORI, B. et al. The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 7, n. 3, p. 339-348, 2017.

MATTIONI, J. et al. Cancer Chemotherapy: An Overview and Voice Implications. **Journal of Singing**, v. 76, n. 5, p. 559-563, 2020.

MATTIUZZI, C.; LIPPI, G. Current cancer epidemiology. **Journal of Epidemiology and Global Health**, v. 9, n. 4, p. 217-222, 2019.

NCBI - National Center for Biotechnology Information. **PubChem** Compound Summary for CID 479503, Shikonin. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Shikonin>. Acesso em: 12 mar. 2022.

NEDELJKOVIĆ, M.; DAMJANOVIĆ, A. Mechanisms of chemotherapy resistance in triple-negative breast cancer—how we can rise to the challenge. **Cells**, v. 8, n. 9, 2019.

NIKOLAOU, M. et al. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 35, n. 4, p. 309-318, 2018.

NIH – National Institutes of Health. **National Cancer Institute**. Bethesda, MD: NIH, c2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 18 fev. 2022.

PEREYRA, C. E. et al. The diverse mechanisms and anticancer potential of naphthoquinones. **Cancer Cell International**, v. 19, n. 1, p. 1-20, 2019.

QIU, H-Y et al. Identification of new shikonin derivatives as antitumor agents targeting STAT3 SH2 domain. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017a.

QIU, H-Y. et al. Identification of new shikonin derivatives as STAT3 inhibitors. **Biochemical Pharmacology**, v. 146, p. 74-86, 2017b.

QIU, H-Y. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of chalcone-containing shikonin derivatives as inhibitors of tubulin polymerization. **ChemMedChem**, v. 12, n. 5, p. 399-406, 2017c.

SHAO, Y-Y. et al. Synthesis and biological evaluation of novel shikonin-benzo [b] furan derivatives as tubulin polymerization inhibitors targeting the colchicine binding site. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 190, p. 112105, 2020.

SOARES, C. B. et al. Revisão integrativa: conceitos e métodos utilizados na enfermagem. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 48, n. 2, p. 335-345, 2014.

SOUZA, M. T.; SILVA, M. D.; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v. 8, p. 102-106, 2010.

SUN, W-X et al. Design, synthesis and biological evaluation of benzoylacrylic acid shikonin ester derivatives as irreversible dual inhibitors of tubulin and EGFR. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 23, p. 115153, 2019.

TAYLOR, W. F.; JABBARZADEH, E. The use of natural products to target cancer stem cells. **American Journal of Cancer Research**, v. 7, n. 7, p. 1588-1605, 2017.

TODOROVIC, Z. et al. Shikonin derivatives from *Onsoma visianii* decrease expression of phosphorylated STAT3 in leukemia cells and exert antitumor activity. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1147, 2021.

UMSCHEID, C. A.; MARGOLIS, D. J.; GROSSMAN, C. E. Key concepts of clinical trials: a narrative review. **Postgraduate Medicine**, v. 123, n. 5, p. 194-204, 2011.

WANG, F. et al. Synthesis, biological function and evaluation of Shikonin in cancer therapy. **Fitoterapia**, v. 134, p. 329-339, 2019.

WANG, J. J.; LEI, K. F.; HAN, F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, p. 3855-3864, 2018.

WRIGHT, B. Clinical Trial Phases. In: SHAMLEY, D.; WRIGHT, B. (org.). **A Comprehensive and Practical Guide to Clinical Trials**. Cambridge: Academic Press, 2017. cap. 2, p. 11-15.