

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA – PIBIC**

**TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* DE DERIVADOS INDÓLICOS EM LINHAGENS
TUMORAIS HUMANAS**

**TÍTULO DO PLANO DE TRABALHO: AVALIAÇÃO DA
CITOTOXICIDADE DOS DERIVADOS INDÓLICOS NM-01-24-19
E NM-01-28-22 EM LINHAGENS TUMORAIS HUMANAS**

Área do conhecimento: Biologia Celular

Relatório Final

Período da bolsa: de agosto de 2022 a agosto de 2023

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica
PIBIC/COPES

Orientadora: Cristiane Bani Correa

Autor: Marcos Vinicius Barbosa de Melo

Co-autores: João Henrique Oliveira Bonifácio; Jileno Ferreira Santos;

Sócrates Cabral De Holanda Cavalcanti

RESUMO

O câncer é um termo usado para um conjunto de doenças que apresentam alterações na proliferação celular, invasividade e metástase. A quimioterapia é o tratamento mais utilizado na prática clínica da doença e a sua baixa seletividade atinge, também, as células normais. Para aumentar essa seletividade há uma busca por novos compostos. Assim, o indol é um exemplo de produto natural que pode ser encontrado em diversos tipos de sistemas biológicos, como por exemplo, algas, plantas e fungos. Nosso estudo deriva de uma investigação que teve como objetivo avaliar o potencial citotóxico dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 em três linhagens de células cancerígenas: células de câncer de pulmão (A549), câncer de mama (MCF-7) e câncer de próstata (PC-3). Para alcançar esse objetivo, foi utilizado o procedimento metodológico Sulforrodamina B (SRB). A SRB é um corante aniônico utilizado para quantificação da viabilidade celular após exposição de fármacos. Esse procedimento é relevante, pois apresenta maior precisão quando comparado aos diversos ensaios convencionais de testes farmacológicos de drogas, tal como o MTT. Os resultados obtidos demonstraram que os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 diminuíram o crescimento das linhagens A549, MCF-7 e PC-3. O derivado NM-01-24-19 apresentou atividade citotóxica potente em todas as linhagens de células tumorais humanas, uma vez que apresentou CI_{50} menor que 10 μ M. Entretanto, o derivado do indol NM-01-28-22 demonstrou atividade potente somente na linhagem celular A549, enquanto as demais apresentaram atividade moderada, com CI_{50} entre 10 - 30 μ M. Dessa forma, os derivados indólicos que foram analisados neste estudo são potenciais fármacos com propriedades citotóxicas em células de câncer, sendo necessário novos estudos para elucidar os mecanismos moleculares dos derivados analisados.

Palavras-chave: derivados indólicos; câncer; produtos naturais.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
3. METODOLOGIA.....	6
3.1 DERIVADOS SINTÉTICO DO INDOL (NM-01-24-19 E NM-01-28-22).....	6
3.2 LINHAGENS E CULTIVO DE CÉLULAS.....	6
3.2.1 OBTENÇÃO DAS LINHAGENS.....	6
3.2.2 MANUTENÇÃO DAS LINHAGENS.....	7
3.3 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE – SRB.....	7
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	9
4.1 AVALIAÇÃO DO GRAU DE INIBIÇÃO EM LINHAGENS TUMORAIS.....	9
4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA.....	12
5. CONCLUSÕES.....	14
6. PERSPECTIVAS DE FUTUROS TRABALHOS.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
OUTRAS ATIVIDADES.....	18

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um termo utilizado para designar uma série de doenças e apresentam como principais características a proliferação descontrolada das células, que agrupam-se para a formação de tumores e podendo invadir outros tecidos (Rang *et al.*, 2016). Essa doença é um grande problema de saúde pública em todo o mundo, sendo uma das principais causas de morte (Sung *et al.*, 2021).

As estimativas indicam que para o ano de 2020 ocorreram aproximadamente 10 milhões de óbitos por câncer no mundo e cerca de 19,3 milhões de casos novos de câncer. O câncer de mama feminino é o que mais ocorre em todo o mundo, apresentando 2,3 milhões de novos casos (11,7%). Seguido pelo câncer de pulmão com 2,2 milhões de novos casos (11,4%); cólon e reto com 1,9 milhão de novos casos (10,0%); o câncer de próstata com 1,4 milhão de novos casos (7,3%). Dentre esses tipos de câncer, o câncer de pulmão é o que apresenta alta taxa de mortalidade, com uma estimativa aproximada de 1,9 milhões de mortes (18%), na sequência o câncer colorretal (9,4%), o câncer de fígado (8,3%), o câncer de estômago (7,7%) e o câncer de mama feminino (6,9%) (Sung *et al.*, 2021).

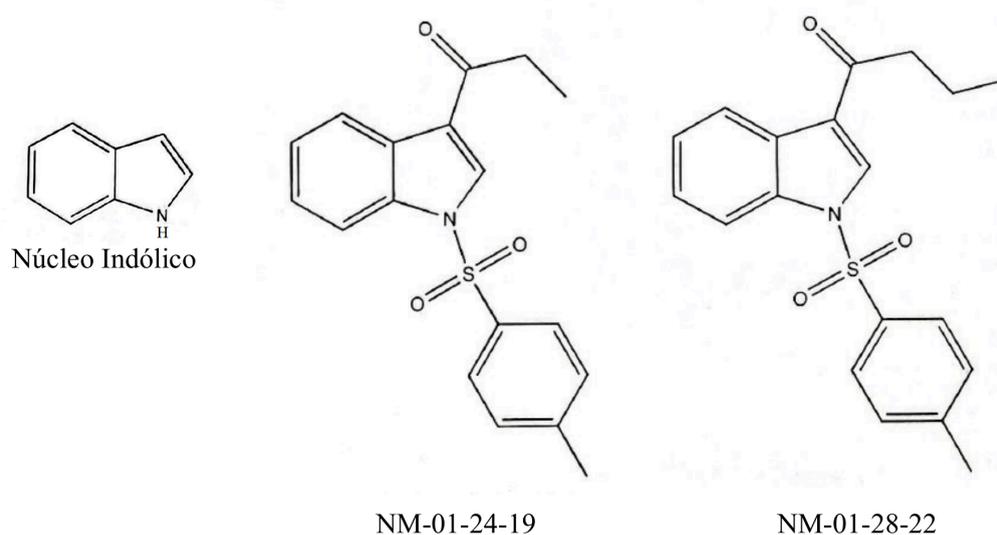
O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima que para o triênio de 2023-2025 haverá cerca de 704 mil novos casos de câncer a cada ano no Brasil. O câncer de pele aparece como o mais incidente, com 220 mil novos casos (31,3%), seguido do câncer de mama com 74 mil novos casos (10,5%); o câncer de próstata com 72 mil novos casos (10,2%); o câncer de cólon e reto com 46 mil novos casos (6,5%); o câncer de pulmão com 32 mil novos casos (4,6%) (INCA, 2022).

Os principais tratamentos para o câncer são a cirurgia, quimioterapia e radioterapia (INCA, 2020). A quimioterapia é bastante utilizada e é de grande importância na prática clínica (Rokhforoz; Jamshidi; Sarvestani, 2017). É o procedimento que tem como objetivo a destruição das células cancerígenas, entretanto, os medicamentos antineoplásicos também atingem grupos de células saudáveis, provocando efeitos adversos nos pacientes. Tendo em vista a realidade atual dos quimioterápicos, há novos direcionamentos na pesquisa do câncer por busca de drogas seletivas (Singh *et al.*, 2016). Sendo os compostos naturais uma alternativa para a pesquisa de novas drogas para o tratamento do câncer (Ahmad *et al.*, 2013).

Um composto muito estudado é o indol que é uma substância que está presente

em muitos produtos naturais (plantas, fungos, etc) (Kaushik *et al.*, 2013). O núcleo indólico é um potencial farmacóforo que pode ser utilizado no preparo de novas drogas, com propriedades anticancerígenas para os vários tipos de câncer (Jia *et al.*, 2020). Além disso, os derivados com núcleo indol apresentam uma ampla diversidade de propriedades biológicas: anticancerígena, antimicrobiana, antiviral, antimalárica, antioxidante, etc (Kumar *et al.*, 2020). Dessa forma, a busca por novos derivados com núcleo indólico, que apresentem propriedades anticancerígenas, é relevante na pesquisa do câncer.

Figura 1 - Núcleo Indólico e seus Derivados que foram utilizados neste estudo:



Portanto, o presente relatório deriva de uma investigação que teve como objetivo avaliar o potencial citotóxico dos derivados sintéticos indólicos, NM-01-24-19 e NM-01-28-22 (Figura 1), nas linhagens de células tumorais de carcinoma de pulmão (A549), adenocarcinoma de próstata (PC-3) e adenocarcinoma de mama (MCF-7). Sendo essas linhagens escolhidas em decorrência das altas taxas de casos e também das estimativas de mortalidade de câncer de pulmão, mama e de próstata.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o potencial citotóxico dos derivados sintéticos indólicos, NM-01-24-19 e NM-01-28-22, nas linhagens de células tumorais de carcinoma de pulmão (A549), adenocarcinoma de próstata (PC-3) e adenocarcinoma de mama (MCF-7).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer a manutenção e o cultivo de linhagens tumorais no laboratório de cultivo celular;
- Avaliar a inibição do crescimento celular pelos derivados sintéticos indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas linhagens A549, PC-3 e MCF-7;
- Determinar a CI_{50} dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas linhagens A549, PC-3 e MCF-7.

3. METODOLOGIA

3.1 DERIVADOS SINTÉTICO DO INDOL (NM-01-24-19 E NM-01-28-22)

Os derivados do indol, NM-01-24-19 e NM-01-28-22, foram obtidos do Laboratório de Química Farmacêutica (LQF) com o professor Dr. Sócrates Cabral De Holanda Cavalcanti, do Departamento de Farmácia, vinculado à Universidade Federal de Sergipe (UFS). Soluções de estoque dos derivados sintéticos do indol, NM-01-24-19 e NM-01-28-22, foram diluídas em DMSO, na concentração de 61.143 μ M e 58.633 μ M, respectivamente.

3.2 LINHAGENS E CULTIVO DE CÉLULAS

3.2.1 OBTENÇÃO DAS LINHAGENS

As linhagens de células tumorais humanas de carcinoma de pulmão (A549), adenocarcinoma de próstata (PC-3), e adenocarcinoma de mama (MCF-7), foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e mantidas no Laboratório de Biologia e Imunologia do Câncer e Leishmania (LaBICeL) do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Para a manutenção dessas linhagens foram utilizadas as recomendações descritas pelos bancos de células - BCRJ e ATCC (American Type Culture Collection)-, assim como estudo abrangente de livros acadêmicos sobre cultivo celular (Peres; Curi, 2005; Freshney, 2015; Alves; Guimarães, 2010).

3.2.2 MANUTENÇÃO DAS LINHAGENS

As linhagens de células A549, MCF-7 e PC-3 foram acondicionadas em recipientes de cultivo (frascos de 75 cm²) e para cada linhagem tumoral foram utilizados, respectivamente, os seguintes meios para cultivo de células: Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) para A549, Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) para MCF-7 e Nutrient Mixture F12 Ham Kaighn's Modification (F12K) para PC-3.

Os meios de cultivo celular DMEM, RPMI-1640 e F12K foram suplementados com 10% de Soro Fetal de Bovino (SBF) e 1% de antibiótico (penicilina 10000 U/mL; estreptomicina 10000 mg/mL). As células foram incubadas em estufa (Panasonic®, MCO-18AC-PA, Kadoma, Osaka, Japan) com as seguintes condições fisiológicas de cultivo: 5% de dióxido de carbono (CO₂), temperatura de 37 °C. Após confluência entre 80 e 90%, as células foram dissociadas enzimaticamente da garrafa através da solução Tripsina-EDTA (Tripsina 0,25%; EDTA 0,53 mM), por cerca de 15 minutos à 37°C. A solução Tripsina-EDTA foi neutralizada com meio de cultivo celular completo (SBF 10%; antibiótico 1%). O conteúdo da garrafa foi transferido para um tubo falcon de 15 mL e centrifugado a 259 x g, na temperatura de 4 °C, por 10 min.

Após a centrifugação, o sobrenadante do tubo foi descartado e o pellet de células foi ressuspenso em 1 mL de meio de cultivo celular completo. Foi realizada a contagem das células com azul de Tripán na proporção de 1:1 na Câmara de Neubauer para determinação da densidade total de células dessa solução. Em seguida, as células foram distribuídas tanto para subcultivo, quanto para a realização dos experimentos posteriores.

3.3 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE – SRB

A viabilidade celular das linhagens A549, MCF-7 e PC-3, foram analisadas através do ensaio de citotoxicidade com Sulforrodamina B, após a exposição dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22. A metodologia utilizada neste estudo foi realizada conforme adaptações do artigo de Vichai e Kirtikara (2006), que será descrita a seguir.

As linhagens das células A549, PC-3 e MCF-7 foram plaqueadas em placas de 96 poços contendo meio de cultivo celular completo. As linhagens celulares PC-3 e

MCF-7 foram semeadas na densidade total de 2×10^4 células/poço e a linhagem celular A549 foi semeada na densidade de 1×10^4 células/poço. Após o plaqueamento, as células foram mantidas em uma estufa incubadora umidificada, nas condições de 37°C e atmosfera de 5% de CO₂, por 24h para a aderência das células. Em seguida, as linhagens foram tratadas com o indol e os seus derivados indólicos, NM-01-24-19 e NM-01-28-22, nas concentrações que variaram de 25 a 0,78 µM por 72h. Os grupos Dimetilsulfóxido 0,04% (DMSO) e Cloridrato de Doxorrubicina (DOXO) foram utilizados como controle negativo e controle positivo de morte celular, respectivamente.

Após o tempo de tratamento de 72h, o sobrenadante contendo os grupos experimentais, controle negativo e controle positivo foram descartados. Em seguida, foi adicionado 100 µL de ácido tricloroacético 30% (vol/vol) gelado e mantido a temperatura de 4° C por uma hora para fixação celular no poço. A placa do experimento foi lavada quatro vezes com água corrente em fluxo lento e mantida em temperatura ambiente para secagem. Os poços foram corados com 100 µL da solução SRB 0,057% (peso/vol) diluída em ácido acético (1%) por 30 minutos e mantida à temperatura ambiente. A placa do experimento foi lavada quatro vezes com ácido acético 1% (vol/vol) e deixada em temperatura ambiente para secagem. Após o período de secagem foram adicionados aos poços 200 µL de TRIS base (10 mM; pH 10,5) para a solubilização do corante por 30 minutos. A placa foi lida em leitor de microplaca (Synergy H1, Biotek, VT, EUA) no comprimento de onda de 510 nm. Os valores foram convertidos, a partir da seguinte fórmula, para obter a porcentagem do Grau de Inibição do Crescimento Celular dos grupos analisados:

$$\% \text{ Grau de Inibição} = \left\{ 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs. (Tratamentos)}}{\text{Abs. (Controle Negativo)}} \right) \times 100 \right] \right\}$$

Após a obtenção da porcentagem do grau de inibição foi realizado o cálculo para a obtenção da CI₅₀ dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22, indol e DOXO.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

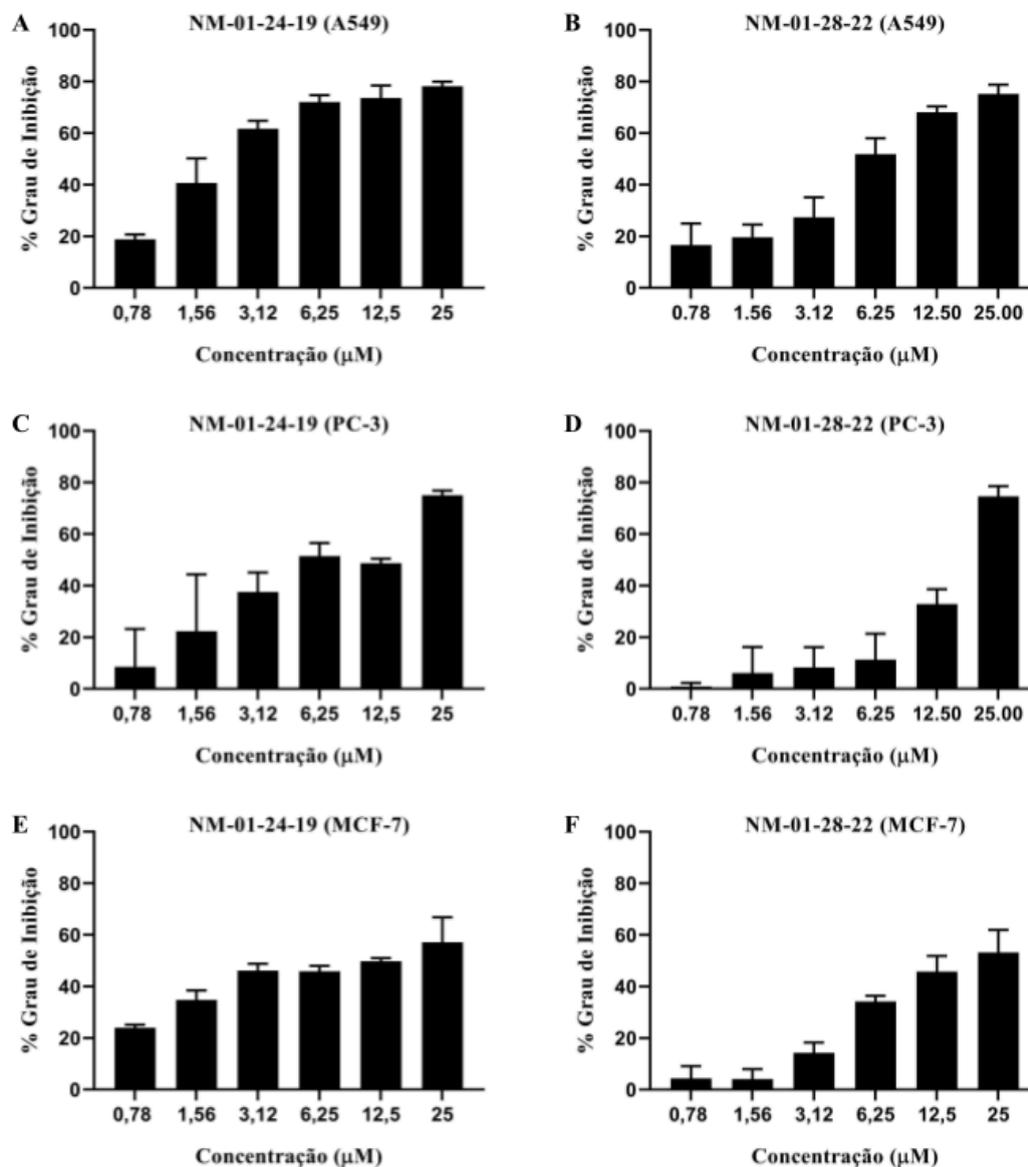
O ensaio de citotoxicidade, foi testado no mínimo sobre três experimentos independentes e para cada foi reproduzido em quadruplicata nas três linhagens tumorais. As análises dos resultados alcançados, assim como a formação de gráficos e geração dos valores da CI₅₀ foram obtidos através do software GraphPad Prism na versão 8.0.2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 AVALIAÇÃO DO GRAU DE INIBIÇÃO EM LINHAGENS TUMORAIS

As células de carcinoma de pulmão (A549), adenocarcinoma de próstata (PC-3) e adenocarcinoma de mama (MCF-7), foram tratadas com os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas concentrações de 0,78 μ M a 25 μ M, no tempo final de 72 horas com a finalidade de calcular o percentual do grau de inibição (Figura 1). Os resultados obtidos demonstram que os tratamentos com os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas linhagens de células A549, MCF-7 e PC-3, diminuíram o crescimento das linhagens quando comparados ao controle (Cnt). Dessa forma, é possível visualizar citotoxicidade dos derivados indólicos nas linhagens analisadas.

Figura 1: Grau de inibição celular nas linhagens de células A549, PC-3 e MCF-7 após a utilização dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22.



Quantificação do grau de inibição nas linhagens de células A549 (A, B), PC-3 (C, D) e MCF-7 (E, F), após tratamento com os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas concentrações crescentes de 0,78 µM a 25 µM no tempo de 72 horas. O gráfico demonstra o desvio padrão e a média de três ensaios independentes, que foram feitos em quadruplicata.

Para avaliar o grau de inibição desses derivados, a metodologia utilizada foi a Sulforrodamina B (SRB) que é um corante (Vichai; Kirtikara, 2006) utilizado para a medição da viabilidade celular baseando-se na propriedade desta em se ligar estequiometricamente às proteínas das células (Orellana; Kasinski, 2017). Ou seja, a viabilidade celular da SRB está associada à medição do teor de proteínas das células viáveis. Esse método é importante pois apresenta mais precisão em comparação a testes

convencionais de testes de drogas farmacológicas, como por exemplo: MTT (Freshney, 2015). A literatura acadêmica demonstra artigos que utilizaram SRB para teste de novas drogas anticancerígenas.

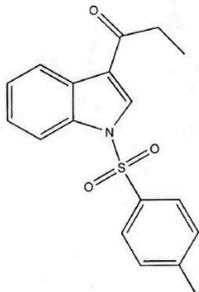
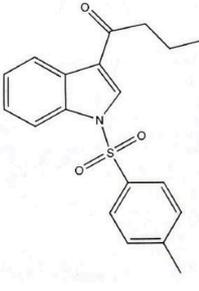
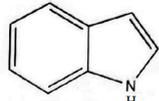
De Franca e colaboradores (2021) descreveram a realização do teste de avaliação de citotoxicidade de derivados da lausona, por meio da Sulforrodamina B, em diversas linhagens cancerígenas, que incluiu B16-F10 (câncer de pele murino), C6 (câncer de glioma) e A549 (câncer de pulmão). No contexto de testes de potenciais fármacos que contenham o núcleo indólico, El-Sharief e colaboradores (2019) utilizaram do teste de viabilidade celular mediante SRB para avaliação da citotoxicidade dos derivados indólicos em células de HepG-2 (carcinoma de fígado), carcinoma de cólon (HCT-116) e adenocarcinoma de mama (MCF-7). É relatado pelos autores que esses compostos apresentaram citotoxicidade nas três linhagens de células utilizadas. Eldehna *et al.*, (2020), também relataram atividade citotóxica de derivados indólicos, que foram obtidos de fontes marinhas, nas linhagens de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231 mediante utilização do procedimento metodológico SRB. Assim, a literatura corrobora com os nossos resultados, pela visualização de trabalhos que demonstram a atividade citotóxica de derivados indólicos em diferentes linhagens celulares tumorais.

4.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA

Após o cálculo da inibição celular, foi calculada a CI_{50} dos derivados indólicos nas linhagens de células A549, PC-3 e MCF-7. A CI_{50} é a determinação da concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular (Rang *et al.*, 2016).

A Tabela 1 evidencia os valores da CI_{50} que foram obtidos a partir dos números do grau de inibição, conforme discutido anteriormente. Os resultados da tabela demonstram que os derivados do indol possuem um alto potencial citotóxico, na linhagem A549, com CI_{50} de 2,61 μ M para o composto NM-01-24-19 e de 6,36 μ M para o composto NM-01-28-22. Nas linhagens de células MCF-7 e PC-3 é visualizado que a CI_{50} dos derivados indólicos está na faixa entre 7 a 17 μ M. Além disso, o derivado indólico NM-01-24-19 apresentou menor concentração inibitória, nas três linhagens de células, quando comparado ao derivado indólico NM-01-28-22. O indol foi utilizado como referência e apresentou um baixo potencial citotóxico quando comparado com seus derivados.

Tabela 1: Valores da concentração inibitória e intervalo de confiança dos derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas linhagens celulares A549, PC-3 e MCF-7.

Moléculas	Linhagem Celular		
	A549	PC-3	MCF-7
	CI ₅₀ μM	CI ₅₀ μM	CI ₅₀ μM
 NM-01-24-19	2,61 (2,03 – 3,32)	7,78 (5,41 - 11,88)	10,03 (7,07 - 16,06)
 NM-01-28-22	6,52 (5,47 - 7,81)	16,23 (14,32 - 18,48)	17,53 (14,06 - 23,18)
 Núcleo Indólico	72,04 (54,37 – 95,51)	43,58 (32,73 - 74,18)	N. D.

Valores da CI₅₀ (μM) apresentados em intervalo de confiança de 95% e média de três experimentos independentes em que foram feitos em quadruplicata após tratamento com os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 nas concentrações crescentes de 0,78 μM a 25 μM no tempo de 72 horas. N. D: Não determinado.

Wellington e colaboradores (2020) relatam três parâmetros quanto à classificação de níveis da atividade de drogas anticancerígenas: Atividade Fraca (30 - 100 μM), Atividade Moderada (10 - 30 μM) e Atividade Potente (< 10 μM). Assim, é visualizado que o derivado indólico NM-01-24-19 apresenta atividade potente nas três linhagens de células. Entretanto, a atividade potente do derivado indólico NM-01-28-22 somente é observada na linhagem A549. Para as demais linhagens de células, o derivado NM-01-28-22 demonstrou atividade moderada.

5. CONCLUSÕES

Os derivados indólicos NM-01-24-19 e NM-01-28-22 apresentaram citotoxicidade nas células tumorais humanas A549, MCF-7 e PC-3. O derivado NM-01-24-19 apresentou atividade citotóxica potente em todas as linhagens, assim como baixa CI_{50} . Já, o derivado indólico NM-01-28-22 apresentou atividade potente somente na linhagem celular A549. Portanto, os derivados do indol utilizados neste estudo são potenciais fármacos para o prosseguimento da realização de novos ensaios, com a finalidade de investigar seus mecanismos de ações em células tumorais.

6. PERSPECTIVAS DE FUTUROS TRABALHOS

Tendo em vista a atividade citotóxica dos derivados indólicos deste estudo, há uma pretensão na realização de estudos *In Vitro* (Ex: Ensaio Clonogênico, Ensaio de Migração Celular e Ensaio de Expressão Gênica), *In Vivo* e *In Silico*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da Biologia Celular**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2011.

ADAN, A.; KIRAZ, Y.; BARAN, Y. Cell proliferation and cytotoxicity assays. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 17, n. 14, p. 1213-1221, 2016.

AHMAD, A.; BIRSACK, B.; LI, Y.; KONG, D.; BAO, B.; SCHOBERT, R.; PADHYE, S. B.; SARKAR, F. H. Targeted regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF- κ B signaling by indole compounds and their derivatives: mechanistic details and biological implications for cancer therapy. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, v. 13, n. 7, p. 1002–1013, 2013. DOI: 10.2174/18715206113139990078.

ALVES, E. A.; GUIMARÃES, A. C. R. Cultivo celular. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (Org.). *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*. v.2. Rio de Janeiro: **EPSJV**, 2010. p. 215-253.

BAKAR, F. et al. The effects of 1, 3, 5-trisubstituted indole derivatives on cell growth, apoptosis and MMP-2/9 mRNA expression of MCF-7 human breast cancer cells. **Anti-Cancer Agents in Medicinal**, 17, n. 5, p. 762-767, 2017.

DE FRANCA, M. N. F. *et al.* Anti-proliferative and pro-apoptotic activity of glycosidic derivatives of lawsone in melanoma cancer cell. **BMC cancer**, v. 21, n. 1, p. 662, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08404-4>.

ELDEHNA, W. M. et al. Marine-inspired bis-indoles possessing antiproliferative activity against breast cancer; design, synthesis, and biological evaluation. **Marine Drugs**, v. 18, n. 4, p. 190, 2020.

EL-SHARIEF, A. M. Sh et al. Design, synthesis, molecular docking and biological activity evaluation of some novel indole derivatives as potent anticancer active agents and apoptosis inducers. **Bioorganic chemistry**, v. 85, p. 399-412, 2019.

GUYTON, Y.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 1176 p.

HAUSMAN, D. M. What is cancer?. **Perspectives in biology and medicine**, v. 62, n. 4, p. 778-784, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA

(INCA). **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. 6. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

JIA, Y. et al. Current scenario of indole derivatives with potential anti-drug-resistant cancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 200, p. 112359, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112359>.

KAUSHIK, N. K. et al. Biomedical importance of indoles. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6620-6662, 2013.

KUMAR, S. et al. A brief review of the biological potential of indole derivatives. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 1, p. 1-19, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00141-y>.

LAMBERT, A. W.; PATTABIRAMAN, D. R.; WEINBERG, R. A. Emerging biological principles of metastasis. **Cell**, v. 168, n. 4, p. 670-691, 2017.

MA, L., ZHANG, M., ZHAO, R., WANG, D., MA, Y., & LI, A. Plant Natural Products: Promising Resources for Cancer Chemoprevention. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 933, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26040933>.

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature protocols**, v. 1, n. 3, p. 1112-1116, 2006.

ORELLANA, E. A.; KASINSKI, A. L. Sulforhodamine B (SRB) assay in cell culture to investigate cell proliferation. **Bio-protocol**, v. 6, n. 21, p. e1984-e1984, 2016.

PERES, C. M.; CURI, R. Como cultivar células. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2005.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Rang & Dale Farmacologia. 8. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2016.

ROKHFOROZ, P.; JAMSHIDI, A. A.; SARVESTANI, N. N. Adaptive robust control of cancer chemotherapy with extended Kalman filter observer. **Informatics in Medicine Unlocked**, v. 8, p. 1-7, 2017.

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

SINGH, S.; SHARMA, B.; KANWAR, S. S.; KUMAR, A. Lead Phytochemicals for Anticancer Drug Development. *Frontiers in plant science*, v. 7, p. 1667, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01667>.

FRESHNEY, R. I. Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications. **John Wiley & Sons**, 2015.

WELLINGTON, K.W., KOLESNIKOVA, N.I., HLATSHWAYO, V. et al. Anticancer activity, apoptosis and a structure–activity analysis of a series of 1,4-naphthoquinone-2,3-bis-sulfides. **Investigational New Drugs**, v. 38, p. 274–286, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00775-7>.

OUTRAS ATIVIDADES

- Leitura Bibliográfica de artigos e livros acadêmicos;
- Discussão de artigos e resultados de experimentos em reuniões do laboratório;
- Participação no 32º Encontro de Iniciação Científica, visualizando a seguinte temática: Redação Científica e Produções Científicas;
- Limpeza do Biotério do Departamento de Morfologia da UFS e acompanhamento de experimentos *In Vivo* de um projeto de mestrado.