

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

MARCOS VINÍCIUS BARBOSA DE MELO

**EFEITO CITOTÓXICO DO DERIVADO INDÓLICO
NM-01-28-22 EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE
PULMÃO**

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2026

**MARCOS VINICIUS EFETO CITOTÓXICO DO DERIVADO INDÓLICO
BARBOSA DE MELO NM-01-28-22 EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE
PULMÃO**

2026

MARCOS VINICIUS BARBOSA DE MELO

**EFEITO CITOTÓXICO DO DERIVADO INDÓLICO
NM-01-28-22 EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE
PULMÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Bani Correa

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2026

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

M528e Melo, Marcos Vinicius Barbosa de
 Efeito citotóxico do derivado indólico NM-01-28-22 em linhagem
de carcinoma de pulmão / Marcos Vinicius Barbosa de Melo ;
orientadora Cristiane Bani Correa. – São Cristóvão, SE, 2026.
73 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade
Federal de Sergipe, 2026.

I. Indol. 2. Atividade antiproliferativa. 3. Agentes antineoplásicos.
4. Pulmões - Câncer. I. Correa, Cristiane Bani, orient. II. Título.

CDU 616.24-006:615.277.3

MARCOS VINICIUS BARBOSA DE MELO

**EFEITO CITOTÓXICO DO DERIVADO INDÓLICO
NM-01-28-22 EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE
PULMÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Bani Correa

1º Examinador: Profa. Dra. Katty Anne Amador de Lucena Medeiros

2º Examinador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Amaral

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Era dentro de você apenas um sonho
Mas logo o sonho será uma realidade
Agora a sua paixão crescerá
Entre os muitos desafios te guiará
Acredite em si mesmo

Nelle tue mani (Now We Are Free), de Hans Zimmer / Lisa Gerrard / Klaus Badelt.

RESUMO

EFEITO CITOTÓXICO DO DERIVADO INDÓLICO NM-01-28-22 EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE PULMÃO, MARCOS VINICIUS BARBOSA DE MELO, SÃO CRISTÓVÃO, 2026

O câncer de pulmão é uma neoplasia com alta taxa de mortalidade e incidência. Os principais tratamentos do câncer de pulmão são quimioterapia, radioterapia e cirurgia, que depende do grau do câncer no paciente. A quimioterapia é a prática terapêutica mais utilizada e com limitações devido aos efeitos adversos por causa da baixa seletividade a nível sistêmico das células normais, em comparação às células tumorais. Muitos estudos vêm demonstrando a importância dos indóis e seus derivados na pesquisa do câncer. Assim, o indol e os seus derivados possibilitam maior seletividade as células tumorais. Nosso estudo tem como objetivo avaliar o derivado indólico NM-01-28-22 na inibição celular em linhagens tumorais e o seu efeito citotóxico na linhagem de carcinoma de pulmão. Inicialmente o composto foi testado frente às linhagens para determinar a mais suscetível ao derivado. Para isso, foi utilizado o ensaio Sulforrodamina B para avaliar o grau de inibição do derivado NM-01-28-22 nas três linhagens A549 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata) e MCF-7 (câncer de mama). Para os ensaios de citotoxicidade na linhagem A549 foram realizados ensaios de migração celular, formação de clones, alterações morfológicas pela coloração DAPI e Faloidina-Fitc, potencial de membrana mitocondrial pelo corante rodamina 123 e produção de ROS pela sonda DCFH-DA. A toxicidade em eritrócitos humanos foi verificada pelo ensaio de hemólise. Na análise do grau de inibição foram obtidos os valores da concentração inibitória em 50% (CI₅₀) do composto nas linhagens A549 (6,5 µM) MCF-7 (17,5 µM) e PC-3 (16,2 µM). Tendo em vista que o derivado indólico apresentou uma baixa CI₅₀ em células A549 e considerando sua relevância na epidemiologia, essa linhagem foi utilizada nos ensaios posteriores de citotoxicidade. O derivado inibiu a migração celular e formação de clones na célula A549 nas três concentrações. O derivado também induziu a perda do potencial de membrana mitocondrial e a produção de ROS sugerindo morte celular por apoptose. As alterações morfológicas evidenciadas pelo tratamento do derivado também mostram morte celular na linhagem A549. O derivado foi testado em altas concentrações em eritrócitos humanos e não foi observado efeito tóxico. Esses resultados mostram que o derivado inibiu o crescimento celular em três linhagens tumorais distintas. Como também apresentou um alto efeito citotóxico na linhagem A549 sem apresentar efeito tóxico em eritrócitos humanos.

Palavras-chave: Indol; Atividade antiproliferativa; Antitumoral; Derivados.

ABSTRACT

CYTOTOXIC EFFECT OF THE INDOLIC DERIVATIVE NM-01-28-22 IN A LUNG CARCINOMA CELL LINE, MARCOS VINICIUS BARBOSA DE MELO, SÃO CRISTÓVÃO, 2026

Lung cancer is a neoplasm with a high mortality and incidence rate. The main treatments for lung cancer are chemotherapy, radiotherapy, and surgery, depending on the stage of the cancer in the patient. Chemotherapy is the most widely used therapeutic practice, but it has limitations due to adverse effects caused by its low systemic selectivity for normal cells compared to tumor cells. Many studies have demonstrated the importance of indoles and their derivatives in cancer research. Thus, indole and its derivatives allow for greater selectivity for tumor cells. Our study aims to evaluate the indole derivative NM-01-28-22 in cell inhibition in tumor cell lines and its cytotoxic effect on the lung carcinoma cell line. Initially, the compound was tested against cell lines to determine the most susceptible to the derivative. For this purpose, the Sulforhodamine B assay was used to evaluate the degree of inhibition of the NM-01-28-22 derivative in the three cell lines A549 (lung cancer), PC-3 (prostate cancer), and MCF-7 (breast cancer). For cytotoxicity assays in the A549 cell line, cell migration, clone formation, morphological alterations by DAPI and Phalloidin-Fitc staining, mitochondrial membrane potential by rhodamine 123 dye, and ROS production by the DCFH-DA probe were performed. Toxicity in human erythrocytes was verified by the hemolysis assay. In the analysis of the degree of inhibition, the values of the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of the compound were obtained in the A549 (6.5 μ M), MCF-7 (17.5 μ M), and PC-3 (16.2 μ M) cell lines. Given that the indolic derivative showed a low IC₅₀ in A549 cells and considering its relevance in epidemiology, this cell line was used in subsequent cytotoxicity assays. The derivative inhibited cell migration and clone formation in A549 cells at all three concentrations. The derivative also induced loss of mitochondrial membrane potential and ROS production, suggesting cell death by apoptosis. The morphological changes evidenced by treatment with the derivative also show cell death in the A549 cell line. The derivative was tested at high concentrations in human erythrocytes and no toxic effect was observed. These results show that the derivative inhibited cell growth in three distinct tumor cell lines. It also showed a high cytotoxic effect in the A549 cell line without showing a toxic effect in human erythrocytes.

Keywords: Indole; Antiproliferative activity; Antitumor activity; Derivatives.

RESUMO VOLTADO PARA A SOCIEDADE

O câncer é uma doença que afeta pessoas de todas as idades. Dentre os tratamentos do câncer estão a quimioterapia, a radioterapia e a cirurgia. A quimioterapia é eficaz, mas é muito agressiva e gera efeitos colaterais nos pacientes. Por isso, a universidade e indústrias farmacêuticas buscam novos compostos químicos que gerem menores sintomas aos pacientes e que matem efetivamente o tumor. Para que um tratamento seja utilizado pela sociedade, ele passa por etapas na pesquisa. A primeira é chamada de pesquisa *in vitro*, que é tratar as células cancerígenas com o composto químico em laboratório. O intuito é observar se o promissor composto químico mata as células de câncer ou não. Neste trabalho, estudamos o composto químico chamado de derivado do indol NM-01-28-22 em células de câncer. Observamos que o derivado matou as células de câncer de pulmão, mama e próstata, já que as células, quando morrem, mudam de forma. E para confirmar essa morte, visualizamos e registramos fotos em microscópio a mudança da morfologia da célula. Essa morte também afetou a mitocôndria, parte da célula responsável pela respiração celular, e aumentou a produção de substâncias oxidantes, indicando morte de células. Um efeito muito interessante é que o composto químico não matou as células saudáveis do sangue, demonstrando seletividade as células cancerígenas. Outro problema no tratamento do câncer é a metástase, processo que as células cancerígenas saem do tumor e formam novos agrupamentos de células cancerígenas em outros órgãos, processo chamado de colonização. O derivado impediu a formação de metástase e colonização de células de câncer de pulmão. Esses são os resultados da primeira etapa da avaliação *in vitro* da testagem do novo composto químico promissor em células de câncer. A próxima etapa é estudos em animais e a testagem em humanos demora muitos anos, até que cheguem aos hospitais.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estimativa para o triênio de 2022 a 2025 do câncer em homens e mulheres no Brasil.....	16
Figura 2. Variantes da apoptose: via extrínseca e intrínseca.....	22
Figura 3. Mecanismo de morte celular por necrose.....	24
Figura 4. Estrutura molecular do indol.....	28
Figura 5. Fármacos que contém o indol em sua estrutura.....	29
Figura 6. Estrutura molecular do derivado indólico NM-01-28-22.....	34
Figura 7. Mensuração da concentração inibitória de células A549, PC-3 e MCF-7 após tratamento com o derivado indólico NM-01-28-22.....	40
Figura 8. NM-01-28-22 reduz a formação de colônias de células A549, após 72h de tratamento.....	41
Figura 9. NM-01-28-22 reduz a migração de células A549, após 24 e 48 de tratamento..	42
Figura 10. Alterações morfológicas em células A549 são visualizadas após tratamento de 24 horas com o NM-01-28-22.....	44
Figura 11. NM-01-28-22 causa alteração no potencial de membrana mitocondrial de células A549, após 3h de tratamento.....	45
Figura 12. NM-01-28-22 induz produção de ROS em células A549, após 3h de tratamento.....	47
Figura 13. NM-01-28-22 não induz hemólise em eritrócitos a 2%, após 1h de tratamento a temperatura ambiente.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de CI_{50} de NM-01-28-22, indol e doxorrubicina avaliados pelo ensaio de SRB.....	40
Tabela 2. Análise do índice de variação (*IV) e do $\Delta\Psi_m$ de células A549 tratadas com o derivado indólico NM-01-28-22.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALK - Quinase do linfoma anaplásico
ATCC - *American Type Culture Collection*
A549 - Linhagem de carcinoma de pulmão
BCRJ - Banco de Células do Rio de Janeiro
CCCP - Carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona
CCEs - Carcinomas de células escamosas
CDKs - Quinases dependentes de ciclina
CTLs - Linfócitos T citotóxicos
CI₅₀ - Concentração inibitória em 50%
CO₂ - Dióxido de Carbono
Cnt - Controle
DAPI - 4',6-diamidino-2-fenilindol
DCFH-DA - Diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína
DMSO - Dimetilsulfóxido
DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA - Ácido desoxirribonucleico
DOXO - Cloridrato de Doxorrubicina
EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
EMT - Transição epitelial-mesenquimal
FDA - Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA
FGFR - Receptor do fator de crescimento de fibroblastos
FITC - Isotiocianato de Fluoresceína (*Fluorescein isothiocyanate*)
F12K - Nutrient Mixture F12 Ham Kaighn's Modification
GCO - Observatório Global do Câncer
G1 - Gap1
G2 - Gap2
IV - Índice de variação
IAP - Inibidores da apoptose
INCA - Instituto Nacional de Câncer
MCF-7 - Linhagem de Adenocarcinoma de Mama
MCP - Morte celular programada
NF-κB - Fator nuclear-κB

NSCLC - Câncer de pulmão de células não pequenas

PBS - Tampão Fosfato Salina (*Phosphate buffered saline*)

PC-3 - Linhagem de Adenocarcinoma de Próstata

PD-1 - Proteína 1 de morte celular programada

PDGFR - Receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas

PD-L1 - Ligante da morte programada 1

PMEM - permeabilização da membrana externa mitocondrial

PTS - para-toluenosulfonamida

PI - Iodeto de Propídeo

RB - Retinoblastoma

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SCLC - Câncer de pulmão de células pequenas

TNF - Fator de necrose tumoral

RPM - Rotação por minuto

RPMI-1640 - Roswell Park Memorial Institute

SRB - Sulforrodamina B

VEGFR - receptor do fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER.....	15
2.2 BIOLOGIA DO CÂNCER.....	16
2.3 ASPECTOS SOBRE O CÂNCER DE PULMÃO.....	24
2.4 INDOL E SEUS DERIVADOS.....	28
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 MANUTENÇÃO DA CULTURA CELULAR.....	33
4.2 DERIVADO INDÓLICO NM-01-28-22.....	33
4.3 ENSAIO DE INIBIÇÃO CELULAR POR SULFORRODAMINA B.....	34
4.4 ENSAIO DE FORMAÇÃO DE COLÔNIAS.....	34
4.5 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR.....	35
4.6 ENSAIO DE ALTERAÇÃO MORFOLÓGICA.....	35
4.7 ENSAIO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO.....	36
4.8 ENSAIO DE POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL.....	36
4.9 ENSAIO DE HEMÓLISE.....	37
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
5. RESULTADOS.....	39
5.1 O DERIVADO INDÓLICO INIBE O CRESCIMENTO DE DIFERENTES LINHAGENS TUMORAIS.....	39
5.2 NM-01-28-22 INIBE A FORMAÇÃO DE CLONES.....	41
5.3 NM-01-28-22 REDUZ A MIGRAÇÃO CELULAR.....	42
5.4 O DERIVADO INDÓLICO INDUZ MUDANÇA NA MORFOLOGIA DE CÉLULAS A549.....	43
5.5 NM-01-28-22 DESPOLARIZA O POTENCIAL DE MEMBRANA	

MITOCHONDRIAL.....	45
5.6 NM-01-28-22 INDUZ A PRODUÇÃO DE ROS EM CÉLULAS A549.....	47
5.7 NM-01-28-22 NÃO APRESENTA ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	48
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença caracterizada pela desordem proliferativa de células transformadas (Brown *et al.*, 2023). No ano de 2022 foram estimados aproximadamente 19,9 milhões de novos casos e cerca de 9,7 milhões de mortes no mundo. O câncer de pulmão ganha destaque na epidemiologia no ano de 2022, tendo em vista sua alta taxa de mortalidade e incidência, com números absolutos de 1.817.469 e 2.480.675, respectivamente (Ferlay *et al.*, 2024). O câncer de pulmão representa 18,7% das mortes por câncer e cerca de 12,4% dos novos casos no mundo (Bray *et al.*, 2024).

O câncer de pulmão é subdividido em duas formas principais, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), que representa aproximadamente 85% dos casos, e o câncer de células pequenas com 15% dos casos (Alduais *et al.*, 2023). O principal fator de risco associado ao câncer de pulmão é o tabagismo, além dos fatores ambientais e disposição genética (Leiter; Veluswamy; Wisnivesky, 2023). No câncer de pulmão vários tratamentos são utilizados como cirurgia, radioterapia e quimioterapia (Zhong *et al.*, 2024). Apesar dos diferentes tratamentos, ainda não existem fármacos eficientes contra o câncer de pulmão e suas formas resistentes causam alta taxa de mortalidade (Hou *et al.*, 2021).

Nesse contexto, torna-se relevante a busca por novos medicamentos antitumorais promissores (Prakash *et al.*, 2018), para o tratamento do câncer que seja acessível, com baixa toxicidade e eficaz (Zhong *et al.*, 2024). O indol é um composto natural e diversos trabalhos mostram a atividade antitumoral dos seus derivados (Dutta *et al.*, 2022; Mo *et al.*, 2024; Nguyen *et al.*, 2022; Rathi *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2017). A vincristina, vinblastina e vinorelbina são fármacos à base de indol, que atuam na prática clínica contra diversos tipos de câncer, incluindo as formas resistentes neoplásicas (Jia *et al.*, 2020). Isso indica como o indol é importante para o desenvolvimento de novos medicamentos antitumorais (Qin *et al.*, 2022b).

O desenvolvimento de novos fármacos pode ser obtido por meio da alteração da estrutura química da molécula podendo gerar derivados mais potentes (Ottoni *et al.*, 2020). Dados do nosso grupo de pesquisa mostraram que derivados indólicos tiveram um efeito mais citotóxico do que o indol em células de glioma (Andrade *et al.*, 2024). Dando continuidade no estudo de outros derivados indólicos, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito citotóxico do derivado NM-01-28-22 em células de carcinoma de pulmão (A549). Este derivado apresentou alta inibição (>88%) em um screening

farmacológico contra diversas linhagens tumorais: câncer de pulmão (A549), glioma (C6) e melanoma (B16-F10) (Andrade, 2021).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

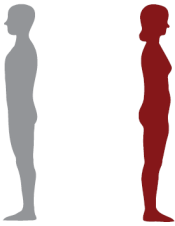
2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer é um conjunto heterogêneo de doenças, com mais de 100 tipos distintos já descritos. É caracterizado pela proliferação anormal de células malignas, com a tendência de invadir órgãos e tecidos adjacentes (INCA, 2020). Aproximadamente 20% da população humana terá câncer como causa de morte (Alberts *et al.*, 2021).

De acordo com o Observatório Global do Câncer (GCO), no ano de 2022 ocorreram cerca de 19,9 milhões de novos casos e aproximadamente 9,7 milhões de mortes em escala global. O câncer de pulmão foi o que apresentou a maior mortalidade entre todas as neoplasias. O segundo câncer com maior mortalidade foi o câncer colorretal, seguido pelo câncer de fígado, o câncer de mama e o câncer de estômago (Ferlay *et al.*, 2024). Quanto à incidência, o câncer de pulmão lidera o ranking com 12,4%, seguido pelo câncer de mama com 11,6%, câncer colorretal com 9,6%, câncer de próstata com 7,3% e câncer de estômago com 4,9% (Bray *et al.*, 2024). A previsão para as duas próximas décadas é preocupante, pois é estimado um aumento de 70% na incidência de novos casos (McGranahan; Swanton, 2017).

No Brasil, a estimativa para o período de 2026 a 2028 indica a ocorrência de 781 mil casos de câncer em todo o território. É estimado que o tipo mais frequente de câncer entre os homens seja o câncer de próstata (30,5%), seguido do câncer de cólon e reto (10,3%), pulmão (7,3%), câncer de estômago (5,4%), e câncer de cavidade oral (4,8%). Para as mulheres, o câncer de mama tem liderança na incidência (30,0%), seguido do câncer de cólon e reto (10,5%), câncer de colo do útero (7,4%), câncer de pulmão (6,4%) e câncer de tireoide (5,1%) (INCA, 2026) (Figura 1).

Em Sergipe, o tipo de câncer mais incidente entre os homens é o câncer de próstata, seguido por câncer de cólon e reto, câncer de traqueia, brônquio e pulmão, câncer de estômago e câncer de cavidade oral. O câncer de mama é o mais predominante nas mulheres, seguido por câncer do colo do útero, câncer de cólon e reto, câncer da glândula tireoide e câncer de traqueia, brônquio e pulmão (INCA, 2026).

Localização primária	Casos	%	Homens	Mulheres	Localização primária	Casos	%
Próstata	77.920	30,5			Mama feminina	78.610	30,0
Cólon e reto	26.270	10,3			Cólon e reto	27.540	10,5
Traqueia, brônquio e pulmão	18.730	7,3			Colo do útero	19.310	7,4
Estômago	13.830	5,4			Traqueia, brônquio e pulmão	16.650	6,4
Cavidade oral	12.260	4,8			Glândula tireoide	13.310	5,1
Bexiga	9.040	3,5			Corpo do útero	9.650	3,7
Esôfago	8.750	3,4			Estômago	8.700	3,3
Fígado	7.340	2,9			Ovário	8.020	3,1
Laringe	7.310	2,9			Pâncreas	6.910	2,6
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,6			Linfoma não Hodgkin	5.980	2,3

Legenda: *Números arredondados para múltiplos de 10.

Figura 1. Estimativa para o triênio de 2026 a 2028 do câncer em homens e mulheres no Brasil. Fonte: INCA, 2026.

2.2 BIOLOGIA DO CÂNCER

A carcinogênese é um processo complexo e a manifestação clínica dos pacientes é tardia, com etapas divididas em iniciação, promoção e progressão. Na etapa de iniciação, os carcinógenos causam alterações e danos ao DNA da célula, que permitem a proliferação autônoma celular. Caso não haja reparo do DNA antes da divisão celular, as células repassam o DNA danificado às células filhas. A etapa da promoção intensifica as propriedades iniciais da carcinogênese das células. Agentes promotores realizam esse processo, tais como drogas, dieta, hormônios e produtos de plantas, que não alteram o DNA, mas potencializam a etapa da iniciação por meio da modulação genética. A última etapa da carcinogênese é a progressão, momento em que as células tumorais tornam-se biologicamente malignas, com características de invasão e metástase (Botelho, 2018).

O câncer tem como característica a proliferação anormal de células e a evasão da morte celular programada (Chowdhury *et al.*, 2017; Feitelson *et al.*, 2015). A perda da funcionalidade e da identidade celular (Yuan; Norgard; Stanger, 2019), além do dano à instabilidade genômica, são outras características da tumorogênese (Jamasbi *et al.*, 2022). Estudos de Hanahan e Weinberg apresentaram as principais características do câncer (Hanahan; Weinberg, 2000, 2011).

Inicialmente, Hanahan e Weinberg (2000) sugeriram seis alterações fisiológicas que norteiam a proliferação maligna da maioria ou de todos os tipos tumorais. As características incluem a independência em sinais proliferativos, resistência a inibidores, evasão da morte celular programada por apoptose, proliferação ilimitada, intensificação da angiogênese e a capacidade de invasão e metástase (Hanahan; Weinberg, 2000). Em seguida, novas propriedades do câncer foram atualizadas: evasão da resposta imunológica e reprogramação do metabolismo, além da instabilidade genômica e

mutação e inflamação (Hanahan; Weinberg, 2011). As novas características relatadas do câncer incluem reprogramação epigenética não mutacional, associação com microbiomas polimórficos, senescência celular e plasticidade fenotípica (Hanahan, 2022).

A desordem contínua na proliferação tumoral tem como resultado o desenvolvimento de tumores e pode levar o indivíduo à morte (Abbas; Rehman, 2018; Chowdhury *et al.*, 2017). As células tumorais recebem estímulos, tais como sinalização de moléculas, ação de agentes terapêuticos, interações com o estroma e variações metabólicas, que ocasiona um microambiente volátil e pode proporcionar mudança fenotípica celular (Yuan; Norgard; Stanger, 2019).

O desenvolvimento do tumor depende da influência de um ambiente altamente dinâmico e complexo, que modulam os processos de proliferação, metástase e invasão (Baghban *et al.*, 2020). As células em alta proliferação podem sair do sítio tumoral e migrar para diferentes localidades do corpo, processo chamado de metástase (Chowdhury *et al.*, 2017; Rose, 2024). O tumor maligno invade tecidos e metastatiza, diferentemente do tumor benigno, que permanece no sítio primário (Kumar *et al.*, 2010; Patel, 2020). As vias de disseminação dos tumores malignos ocorrem por meio dos vasos linfáticos e sanguíneos, além de cavidades corporais como a região peritoneal e pleural (Kumar *et al.*, 2010). A anaplasia, outra característica presente entre os tumores malignos, ocorre principalmente pela indiferenciação celular, sem nenhuma ou pouca similaridade com as células diferenciadas (Botelho, 2018). A maior parte dos tumores malignos proliferam desordenadamente, gerando a metástase, enquanto os tumores benignos apresentam crescimento lento (Kumar *et al.*, 2010; Patel, 2020).

A metástase é um obstáculo no tratamento oncológico (Ganesh; Massagué, 2021). Cerca de 90% dos óbitos por câncer ocorrem em decorrência da metástase (Abbas; Rehman, 2018). A metástase de células tumorais depende do fenômeno Transição epitelial-mesenquimal (EMT) (Huang; Hong; Wei, 2022). A EMT é caracterizada por ser um fenômeno dinâmico, em que as células tumorais apresentam estados parciais, com propriedades epiteliais e mesenquimais, além de retornar sua característica fenotípica para mais epitelial (Boumahdi; de Sauvage, 2020).

A formação do câncer inclui mecanismos de ativação de proto-oncogenes, a inibição de genes supressores de tumores, que desregulam a proliferação, ciclo e morte celular (Botelho, 2018). O ciclo celular é definido como uma sequência de processos moleculares, responsáveis pela replicação de todos os componentes da célula, gerando

duas células a partir de uma célula inicial (Barnum; O'Connell, 2014; Matson; Cook, 2017). A divisão celular compreende uma etapa importante no crescimento de todos os eucariontes (Rose, 2024).

As quinases dependentes de ciclina (CDKs) modulam o ciclo celular (Icard *et al.*, 2019). São responsáveis pela fosforilação de substratos essenciais para que ocorra a progressão mitótica e a síntese de DNA (Barnum; O'Connell, 2014), com atividade em paralelo com as suas ciclinas específicas (Adlung, 2022; Otto; Sicinski, 2017), como D, E, A e B (Kumar *et al.*, 2010). As ciclinas são responsáveis por ativar, regular fases específicas da divisão celular (Rose, 2024) e é aumentada com a progressão do ciclo celular (Matthews; Bertoli; de Bruin, 2022).

As fases do ciclo celular incluem intérfase (G1, S e G2) (Rose, 2024) e mitose (Matthews; Bertoli; de Bruin, 2022). Em indivíduos adultos, é característico que a maior parte das células estejam em uma fase chamada de quiescente ou fase G0 (Riscal *et al.*, 2024). A fase G1 prepara a célula para a duplicação do DNA (Limas; Cook, 2019). O complexo CDK2-ciclina E possibilita a mudança de G1 para a fase S (Kumar *et al.*, 2010). Na fase S, conhecida por fase de síntese, é a etapa que ocorre a replicação do DNA (Barnum; O'Connell, 2014; Rose, 2024). Na fase S, o complexo CDK2-ciclina A permite a passagem da fase G2 para a mitose. O complexo CDK1-ciclina B também induz a mudança de G2/M (Kumar *et al.*, 2010). Na fase da mitose (M), ocorre a formação do fuso mitótico (Icard *et al.*, 2019), separação cromossômica (Barnum; O'Connell, 2014; Icard *et al.*, 2019) e divisão do núcleo da célula (Icard *et al.*, 2019).

O controle do ciclo celular pode ser realizado por proteínas supressoras tumorais, por exemplo, retinoblastoma (RB) e p53, que evitam a progressão de células tumorais. Defeitos nesses supressores causam a proliferação anormal das células e consequentemente afetam o ciclo celular (Engeland, 2022). Em condições normais, a divisão celular passa por pontos de checagem (Adlung, 2022; Novák; Tyson, 2021). Os pontos de checagem da divisão celular compreendem as transições G1/S e G2/mitose (Novák; Tyson, 2021). As células verificam seu progresso e realizam a transição para a próxima etapa da divisão celular, desde que todas as etapas do ciclo sejam executadas de maneira adequada (Adlung, 2022; Novák; Tyson, 2021).

O supressor tumoral p53 é conhecido entre os pesquisadores como o Guardião do Genoma (Rose, 2024), tendo como característica parar o ciclo celular (Engeland, 2018) e reparar o DNA com enzimas, caso apresente algum dano (Rose, 2024). A transição G1/S é controlada pelo RB, que terá como evento essencial o início da síntese

de DNA (Rubin; Sage; Skotheim, 2020).

No câncer ocorre a desregulação do ciclo celular (Riscal *et al.*, 2024), por causa da inativação de proteínas, como p53 e RB, que tem como resultado a proliferação descontrolada (Otto; Sicinski, 2017). Mutações em p53 têm ganho de função celular, que provoca o aumento da proliferação, indução de metástases e resistência à quimioterapia de células (Borrero; El-Deiry, 2021). As células cancerígenas realizam a divisão celular por causa de mutações que possibilitam a progressão do ciclo celular e inibem a sua interrupção (Matthews; Bertoli; de Bruin, 2022). Assim, esse fenômeno do ciclo e da morte celular podem ser utilizados como alvo terapêutico no câncer (Ma; Gurkan-Cavusoglu, 2024; Peng *et al.*, 2022).

A morte celular é importante no desenvolvimento natural, na regulação do crescimento (Eskander *et al.*, 2025) e na homeostase tecidual dos seres vivos (Kist; Vucic, 2021). Diferentemente, o câncer é caracterizado pelo distúrbio nesse processo (Peng *et al.*, 2022). A morte celular é classificada em Morte Celular Programada (MCP) e necrose (Eskander *et al.*, 2025). A apoptose, que é uma MCP, não gera inflamação prejudicial, diferentemente da necrose, que induz resposta inflamatória (Alberts *et al.*, 2021).

A MCP é um processo importante no desenvolvimento e também na homeostase dos organismos, sendo amplamente regulado por sinais (Shen; Shao; Li, 2023). Para cada tipo de morte celular, os mecanismos moleculares de suas vias de sinalização são distintas e independentes. No entanto, podem ser interconectadas e ativadas simultaneamente (Chen; Kang; Fu, 2018a). As principais formas de MCP são apoptose, autofagia, necroptose e piroptose (Bock; Tait, 2020; Shen; Shao; Li, 2023; Yuan; Ofengeim, 2024). A apoptose ocorre principalmente nos animais (Alberts *et al.*, 2021). Essa MCP será o foco de discussão deste tópico.

A morte celular pela via da apoptose é regulada para manter o equilíbrio homeostático celular (Singh; Letai; Sarosiek, 2019). É desencadeado por sinais intracelulares que culminam na ativação das proteínas pró-apoptóticas BAX e BAK quando os mecanismos de sobrevivência celular se tornam insuficientes (Singh; Letai; Sarosiek, 2019; Eskander *et al.*, 2025). O processo apoptótico tem dano mínimo aos tecidos adjacentes (Redza-Dutordoir; Averill-Bates, 2016; Xu; Lai; Hua, 2019). As células tumorais escapam dos mecanismos de morte celular por apoptose, o que representa um grave desafio para intervenções terapêuticas (Ergün *et al.*, 2024).

A apoptose ativa caspases, cisteína-proteases responsáveis por clivar às proteínas

alvo em resíduos de ácido aspártico (Green; Llambi, 2015) e vinculadas a dois papéis na morte celular: iniciadoras e efetoras (Kist; Vucic, 2021). As caspases iniciadoras são representadas pelas isoformas 2, 8, 9 e 10 (Panda *et al.*, 2017). As caspases iniciadoras estimulam em cascatas as caspases efetoras. As caspases efetoras também chamadas de executoras compreendem as caspases 3, 6 e 7 (Sahoo *et al.*, 2023). Em seguida, as caspases efetoras acionam enzimas proteolíticas para fragmentar substratos celulares, como o DNA e as proteínas do citoesqueleto (Brasileiro Filho, 2016). Isso provoca mudanças morfológicas (Ghorbani *et al.*, 2024), que pode ser distinguida por condensação de cromatina, fragmentação do núcleo celular, encolhimento das células e formação de corpos apoptóticos (Alberts *et al.*, 2021; Redza-Dutordoir; Averill-Bates, 2016; Xu; Lai; Hua, 2019). A fagocitose finaliza esse processo pela eliminação das células apoptóticas e seus fragmentos (Ghorbani *et al.*, 2024).

A maior parte das células sintetiza as caspases em suas formas proativas (inativas), cuja ativação desencadeia a ativação subsequente em outras pró-caspases (Panda *et al.*, 2017). As caspases quando ativadas exibem elevada seletividade nos seus locais de ação, pois sua clivagem é específica preferencialmente aos resíduos de ácidos aspártico (Dhani; Zhao; Zhivotovsky, 2021). Os inibidores da apoptose (IAPs) bloqueiam a ação das caspases. Essa inibição possibilita a sobrevivência celular (Mustafa *et al.*, 2024). É importante destacar que a inativação da expressão de caspases promove o desenvolvimento tumoral, que influencia a proliferação, invasão e metástase (Júnior; Lemos; Silva, 2017).

A apoptose é classificada em extrínseca e intrínseca (Figura 2) (Kist; Vucic, 2021; O'Connor, 2011; Tang *et al.*, 2019; Xu; Lai; Hua, 2019), variantes do processo de morte celular regulada (Vitale *et al.*, 2023), determinada pelo tipo de estímulo que foi recebido (Eskander *et al.*, 2025). Os receptores de morte celular ativam a apoptose extrínseca (Yuan; Ofengeim, 2024), mediante interação com ligantes específicos (Peter, 2011) na membrana plasmática (Yuan; Ofengeim, 2024). Os ligantes Fas (FasL) e TNF ativam a via extrínseca, por meio da associação com os seus respectivos receptores de morte celular (Mustafa *et al.*, 2024; O'Connor, 2011).

O fator de necrose tumoral (TNF) induz a apoptose extrínseca (Kist; Vucic, 2021). A ativação extrínseca pelo receptor TNF-1 gera a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), que estimula os processos de caspases e morte apoptótica (Tuli *et al.*, 2023). O estresse oxidativo é um processo de desequilíbrio entre a produção de ROS e sua capacidade de contrabalançar com substâncias antioxidantes (Tang *et al.*, 2019). O

equilíbrio está presente entre a quantidade de ROS e antioxidante, regulados por mecanismos bioquímicos e genéticos nas células. A perturbação desse equilíbrio tem consequências fisiopatológicas (Hayes; Dinkova-Kostova; Tew, 2020) (Figura 2).

Além da via de morte por meio do receptor TNF, os linfócitos T citotóxicos (CTLs) também eliminam as células-alvo por meio da interação entre o FasL dos CTLs e o receptor Fas das células-alvo (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019; Green; Llambi, 2015). Os receptores da via extrínseca estimulam e montam o complexo de sinalização indutor de morte (DISC). Os componentes protéicos do DISC incluem FADD, caspase-8 e FLIP (Peter, 2011). Os receptores de morte ativam a caspase-8 por meio de FADD e TRADD. Em seguida, a caspase-8 cliva as caspases efetoras 3, 6 e 7, que resulta na apoptose (Baig *et al.*, 2016) (Figura 2).

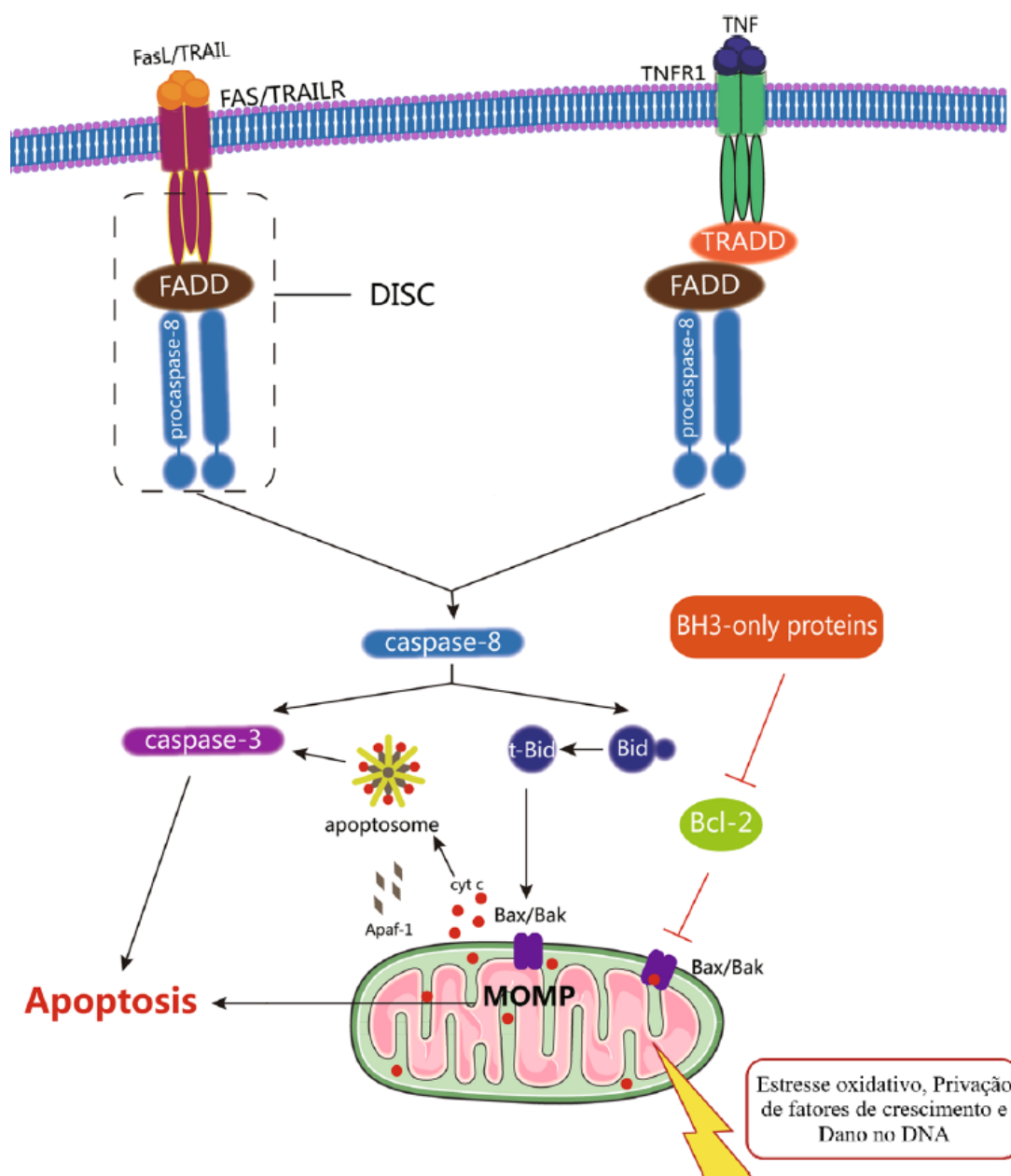


Figura 2. Variantes da apoptose: via extrínseca e intrínseca. Na apoptose extrínseca, os receptores de TNF e Fas recrutam o complexo DISC, que ativam a caspase-8 para a clivagem da caspase-3 e desencadear a apoptose. Na apoptose intrínseca, o estresse oxidativo, a privação de fatores de crescimento e o dano ao DNA causam estresse mitocondrial. Consequentemente, a mitocôndria libera o citocromo c, que interage com o Apaf-1, formando o apoptossomo. O apoptossomo ativa a caspase-9, seguido pela caspase-3, desencadeando a apoptose. Fonte: Adaptado de (Chen; Kang; Fu, 2018).

Diferentemente, a apoptose intrínseca, também denominada mitocondrial (Bock; Tait, 2020), é desencadeada sem a participação de receptores (Yuan; Ofengeim, 2024), e é caracterizada pela perda da integridade de membrana mitocondrial externa (Green; Llambi, 2015). O início dessa apoptose é mediada pela regulação da mitocôndria (Bock; Tait, 2020) (Figura 2).

A via intrínseca da apoptose é regulada e executada pela família de proteínas Bcl-2 (Baig *et al.*, 2016; Kist; Vucic, 2021; Mustafa *et al.*, 2024; Singh; Letai; Sarosiek, 2019), que pode apresentar-se como: pró-apoptótico e anti-apoptótico (Bock; Tait, 2020). O equilíbrio dessas proteínas regulam a célula a entrar em morte ou sobreviver (Singh; Letai; Sarosiek, 2019). O grupo anti-apoptótico compreende as proteínas Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-W, Mcl-1 e A1. O grupo pró-apoptótico abrange os membros Bax e BH3-apenas. O membro Bax inclui Bax, Bak e Box. O grupo BH3-apenas contém as proteínas Bid, Bim, Bik, Bad, Noxa e Puma (Roufayel *et al.*, 2022) (Figura 2).

Após estímulos de estresse, as proteínas BH3-apenas ativam Bax, Bak e Bok (Roufayel *et al.*, 2022), agentes pró-apoptóticos (Baig *et al.*, 2016). Esses agentes induzem poros oligoméricos na membrana externa da mitocôndria. Consequentemente, o citocromo c é liberado da mitocôndria (Roufayel *et al.*, 2022). O citocromo c, presente no citosol, estimula a formação do apoptossomo, um ativador de caspase (Green; Llambi, 2015). Os componentes do complexo apoptossomo incluem caspase-9, Apaf-1 e citocromo c. Este complexo cliva caspases efetoras (3, 6 e 7), que leva a apoptose (Baig *et al.*, 2016) (Figura 2).

A desregulação das proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 está presente no câncer (Vogler *et al.*, 2025). O aumento dos níveis de Bcl-2, que causa essa desregulação, proporciona às células tumorais insensibilidade à apoptose e vantagem proliferativa. Os cânceres de pulmão, mama e próstata têm altos níveis de Bcl-2 (Qian *et al.*, 2022). Assim, Bcl-2 é considerada um potencial alvo terapêutico nas neoplasias (Vogler *et al.*, 2025). Além disso, as células tumorais escapam da apoptose mitocondrial. Os principais mecanismos de escape são os que impedem a permeabilização da membrana externa mitocondrial (PMEM) e inibem a ação de caspases (Lopez; Tait, 2015).

Necrose é um tipo de morte de tecidos ou células em decorrência de uma lesão patológica (Canepa; Ding; Fechner, 2024). Essa morte se difere da apoptose, pois é conhecida por morte celular não programada ou acidental (Eskander *et al.*, 2025). A depleção energética, a perda de gradiente iônicos e os defeitos metabólicos desencadeiam a necrose (Alberts *et al.*, 2021). Estímulos necróticos interrompem funções importantes da célula, como a produção de ATP, síntese celular e retenção de hidrolases nos lisossomos. Nessa etapa, as hidrolases extravasam para o citosol. Os componentes do lisossomo incluem proteases, lipases, glicosidases, ribonucleases e desoxirribonucleases, hidrolases com potencial degradação dos componentes da célula (Brasileiro Filho, 2016).

Na necrose, o retículo endoplasmático libera cálcio para o citoplasma (Favor *et al.*, 2021). O cálcio, altamente presente no citoplasma, ativa as hidrolases, que inicia a autólise. Essas enzimas alteram a morfologia celular (Brasileiro Filho, 2016). Essa morte celular ativa proteínas pró-inflamatórias, como por exemplo, o fator nuclear- κ B (NF- κ B), o que resulta na quebra da membrana plasmática. Isso é seguido pelo extravasamento do conteúdo intracelular no meio extracelular, causando inflamação e dano tecidual (D'Arcy, 2019) (Figura 3). A necrose libera alarminas, como HMGB1, uratos e fosfatos, responsáveis pela resposta inflamatória (Brasileiro Filho, 2016). Muitas células no câncer morrem por necrose, que gera um ambiente altamente inflamatório (Alberts *et al.*, 2021).

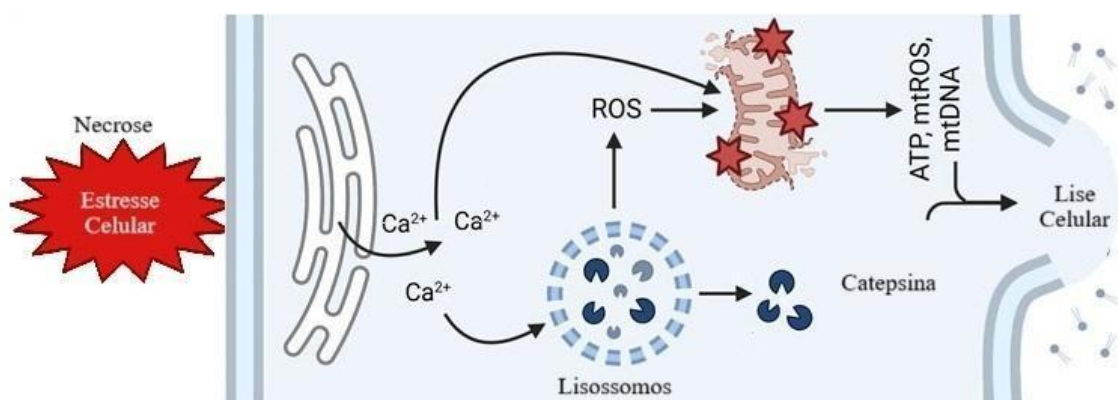


Figura 3. Mecanismo de morte celular por necrose. O estresse celular induz a liberação de cálcio do retículo endoplasmático para o citosol, que então permeabiliza os lisossomos. Consequentemente, ocorre o extravasamento de hidrolases, como a catepsina, além de desencadear disfunção mitocondrial via ROS. A lise celular finaliza a morte por necrose. Fonte: Adaptado de (Favor *et al.*, 2021).

2.3 ASPECTOS SOBRE O CÂNCER DE PULMÃO

O pulmão é um órgão altamente complexo com a função de troca gasosa no corpo humano (Gridelli *et al.*, 2015). O câncer de pulmão é uma das principais causas de óbitos por câncer no mundo (Alduais *et al.*, 2023; Bouchaffra; Ykhlef; Benbelkacem, 2024). A alta taxa de óbitos advém de fatores como diagnóstico tardio, que inviabiliza abordagens curativas locais, como a cirurgia e a radioterapia (Olaussen; Postel-Vinay, 2016). Aproximadamente 70% dos diagnósticos dos pacientes com câncer de pulmão ocorrem em estágios avançados, com chances reduzidas de cura (Altan *et al.*, 2022). O diagnóstico do câncer de pulmão é realizado por meio da avaliação patológica, clínica e radiológica. A classificação dos estágios de câncer de pulmão pode variar de I-II (inicial) e III e IV (avançado) (Mohamed *et al.*, 2023).

Os fatores de risco para o câncer de pulmão são o tabagismo, fatores ambientais

e disposição genética (Leiter; Veluswamy; Wisnivesky, 2023; Wu; Zhang; Yoshida, 2025). A fumaça do tabaco tem carcinógenos, que incluem as N-nitrosaminas e os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. O sistema P450 metaboliza esses produtos químicos, que consequentemente danificam as estruturas do DNA (Altan *et al.*, 2022). Embora o tabagismo seja o principal fator de risco, fatores ambientais como, amianto, arsênico, radônio e poluição no ar também contribuem para a alta taxa de mortalidade e incidência no câncer de pulmão no mundo. Os agentes ambientais e a ocorrência de mutações somáticas, como no gene EGFR, variam conforme a região do mundo (Leiter; Veluswamy; Wisnivesky, 2023).

O câncer de pulmão é dividido em câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) e câncer de pulmão de células pequenas (SCLC), com incidência de 85% e 15%, respectivamente (Alduais *et al.*, 2023). O SCLC está amplamente presente em indivíduos com histórico prolongado de tabagismo. As células tumorais de SCLC têm aparência morfológica menor em comparação às células normais, devido a redução citoplasmática (Tamanna; Egbune, 2023). O SCLC é caracterizado por proliferação exacerbada, fácil disseminação no corpo e alta agressividade com diagnóstico na maioria dos casos em fases avançadas (Newton; Chiang, 2021).

Os tipos histológicos de NSCLCs são o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas e o carcinoma de grandes células (Altan *et al.*, 2022). O adenocarcinoma é o tipo de câncer de pulmão mais incidente, além de estar associado a não fumantes e indivíduos jovens (Tamanna; Egbune, 2023). O carcinoma de células escamosas ocupa a segunda posição entre as formas histológicas predominantes de NSCLC, com 30% e 20% dos casos para homens e mulheres, respectivamente. Diferentemente do adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas está fortemente ligado ao tabagismo. O carcinoma de grandes células constitui cerca de 8% no número de casos, sendo classificado no tipo menos frequente de NSCLCs (Altan *et al.*, 2022). Investigar a biologia do câncer de pulmão é relevante, pois possibilita o desenvolvimento de tratamentos efetivos (Herbst; Morgensztern; Boshoff, 2018).

Os tratamentos utilizados na prática oncológica do câncer de pulmão são determinados a partir do estágio em que a doença se encontra, condição clínica do paciente e o tipo histológico do tumor (Mohamed *et al.*, 2023; Wang; Lei; Han, 2018). A finalidade primária do tratamento do câncer é a erradicação da doença. Entretanto, quando isso não ocorre, o câncer é controlado a nível subclínico, para que o paciente tenha boa qualidade de vida (Wang; Lei; Han, 2018).

Os tratamentos para o câncer de pulmão envolvem alternativas terapêuticas distintas, tais como a cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, seja individual ou em combinações desses tratamentos (Colarusso *et al.*, 2022; Iqbal *et al.*, 2024; Kaur; Bhardwaj; Gupta, 2023). No entanto, a resistência aos fármacos pelas células tumorais é um efeito descrito no tratamento do câncer, que limita o tratamento da doença (Wang; Zhang; Chen, 2019) e possibilita a progressão do câncer de pulmão (Ashrafi *et al.*, 2022).

A resistência aos fármacos pode ser inata, que ocorre antes do tratamento, ou adquirida, desenvolvida ao longo do tratamento (Colarusso *et al.*, 2022). Os mecanismos associados à resistência no câncer de pulmão são a falha no transporte transmembranar do medicamento, além de falha no metabolismo e inativação do fármaco. Outros fatores incluem a inibição da apoptose, maior atividade do microambiente tumoral na secreção de fatores de crescimento e intensificação nas vias de reparo do DNA (Colarusso *et al.*, 2022; Olaussen; Postel-Vinay, 2016).

Inicialmente, os pacientes de câncer de pulmão são classificados na possibilidade de cirurgia, baseando-se em critérios de estágio, tamanho e presença de metástase do tumor (Colarusso *et al.*, 2022). A cirurgia é um tratamento tradicional consolidado e de grande potencial, tanto para tumores benignos, quanto para malignos, tendo em vista que causa menos danos aos tecidos normais em comparação a quimioterapia e a radioterapia (Abbas; Rehman, 2018). No tratamento do NSCLC, a cirurgia é a principal opção terapêutica nos estágios I e II, desde que não haja contraindicações (Altan *et al.*, 2022). As opções de ressecção cirúrgica no NSCLC são a remoção de um dos lobos pulmonares, processo denominado por lobectomia, que apresenta o melhor desfecho clínico. Outra alternativa é a retirada do pulmão, procedimento conhecido por pneumonectomia, recomendada em casos de tumores hilares ou proximais do pulmão. Para pacientes que tenham tumores periféricos, é recomendada a ressecção sublobar (Roskoski Jr., 2024). Entretanto, a cirurgia está associada a recorrência tumoral pós-operatória e baixa sobrevida no NSCLC (Zhong *et al.*, 2024). A cirurgia também pode ser uma opção terapêutica para pacientes com SCLC (Mohamed *et al.*, 2023). A radioterapia é uma opção terapêutica aos pacientes que recusem a cirurgia ou que tenham contraindicação cirúrgica na NSCLC (Altan *et al.*, 2022).

A radioterapia pode ser utilizada em estágio inicial ou avançado no câncer de pulmão (Mohamed *et al.*, 2023). A radioterapia é uma das principais linhas terapêuticas

contra NSCLC (Campbell; Decker, 2021) e SCLC (Hann, 2021). O SCLC são sensíveis aos tratamentos iniciais de quimioterapia e radioterapia (Hann, 2021; Newton; Chiang, 2021) e podem ser utilizados em combinação para melhorar a resposta terapêutica (Hossain; Haldar Neer, 2023). O princípio do tratamento radioterápico é utilizar radiação ionizante para comprometer as células tumorais em escala molecular (Tariq *et al.*, 2023), com resposta local e sem efeitos sistêmicos, mas recruta resposta imunológica (Campbell; Decker, 2021). A radiação emite energia ionizante sobre as partículas dos corpos biológicos, que pode provocar a morte das células tumorais ou induzir mudanças genéticas, levando à morte celular por apoptose (Abbas; Rehman, 2018). A quimiorradioterapia é o tratamento padrão para pacientes com câncer de pulmão em estágio III (Altan *et al.*, 2022).

A quimioterapia é amplamente utilizada para eliminar as células tumorais do paciente e diminuir os sintomas causados pelo câncer (Hossain; Haldar Neer, 2023). Os quimioterápicos utilizados na prática clínica são citotóxicos e atingem o ciclo celular das células tumorais (Was *et al.*, 2022). A utilização de forma única ou combinada dos fármacos quimioterápicos levam em consideração o estágio e o tipo histológico de câncer de pulmão (Zahid *et al.*, 2024). As formas de administração dos quimioterápicos no câncer de pulmão ocorre por via intravenosa ou oral (Movia *et al.*, 2018).

De forma geral, as categorias de fármacos quimioterápicos mais utilizados no tratamento do câncer são agentes alquilantes, inibidores da mitose, antimetabólitos, antibióticos antitumorais e derivados de plantas (Rang *et al.*, 2016; Was *et al.*, 2022). No câncer de pulmão são utilizados inibidores de mitose, agentes alquilantes, inibidores da topoisomerase (Abbas; Rehman, 2018; Was *et al.*, 2022), alcalóides de vinca e taxanos (Emadi; Karp, 2019). Os agentes alquilantes incluem o grupo dos compostos de platina, já os derivados de plantas e compostos relacionados abrangem os taxanos e os alcalóides de vinca (Rang *et al.*, 2016). Compostos baseados em cisplatina originam altos índices de resposta e remissão no SCLC, enquanto estabilizam o NSCLC. A vinorelbina, um alcalóide de vinca, juntamente com a cisplatina, também atuam no tratamento de SCLC. Taxanos, como paclitaxel e docetaxel, participam da prática clínica do tratamento de câncer de pulmão (Emadi; Karp, 2019).

Os fármacos antitumorais apresentam inespecificidade em células normais que estão em alta proliferação celular como da medula óssea e mucosa, e gera alta taxa de efeitos adversos como neurotoxicidade (Was *et al.*, 2022). No contexto dos fármacos para o câncer de pulmão, os compostos de cisplatina causam alta nefrotoxicidade,

acompanhado de náuseas e vômitos, e baixa mielotoxicidade (Rang *et al.*, 2016). De forma semelhante, a vinorelbina, assim como todos os alcalóides de vinca, ocasiona mielossupressão (trombocitopenia, leucopenia) e neurotoxicidade (Emadi; Karp, 2019). Os taxanos provocam neurotoxicidade cumulativa, mielossupressão, hepatotoxicidade, hipersensibilidade aos veículos desses fármacos e síndrome de extravasamento vascular (Emadi; Karp, 2019; Rang *et al.*, 2016). Destaca-se a necessidade de novos fármacos antitumorais, que apresentem baixa toxicidade às células normais e alta eficácia no tratamento de NSCLC (Zhong *et al.*, 2024).

Em 1973, Giard *et al.* relataram o desenvolvimento e o estabelecimento de linhagens a partir de tumores humanos, como câncer de pulmão (A549), câncer de pele (A375) e glioblastoma (A172). Desde então a célula A549 tem sido amplamente utilizada em modelo *in vitro* (Zhao *et al.*, 2017), para avaliar citotoxicidade (Shahzadi *et al.*, 2023). A linhagem A549 é uma NSCLC (Bai *et al.*, 2023).

2.4 INDOL E SEUS DERIVADOS

O indol é uma estrutura heterocíclica (Ziarani *et al.*, 2018) encontrada em vários compostos naturais, como a serotonina e o triptofano (Hassan *et al.*, 2024; Sravanthi; Manju, 2016). O indol é constituído pela fusão de um anel benzênico nas posições 2 e 3 do anel pirrólico (Figura 4) (Joule; Mills, 2011). Os análogos indólicos compreendem os compostos sintetizados em laboratório a partir do indol e os isolados de produtos naturais (Hassan *et al.*, 2024; Sravanthi; Manju, 2016), que estão presentes em diversos fármacos, contendo indol, com diferentes aplicações biomédicas (Kumar; Ritika, 2020).

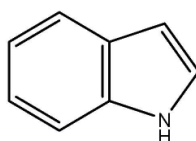


Figura 4. Estrutura molecular do indol. Fonte: Adaptado de (Mo *et al.*, 2024)

Alguns fármacos, que contém o indol em sua estrutura, são utilizados no tratamento clínico contra o câncer e suas formas resistentes, por exemplo, vinblastina, vincristina, vinorelbina, sunitinib e nintedanib (Jia *et al.*, 2020) (Figura 5). Os fármacos vinblastina e vincristina são produtos naturais, obtidos da planta *Catharantus roseus* (Keglevich *et al.*, 2012). Vinorelbina é um produto semissintético (Dhyani *et al.*, 2022), enquanto, sunitinib (AboulMagd; Abdelwahab, 2021) e nintedanib (Roth *et al.*, 2015) são substâncias sintéticas. Assim, o indol é considerado uma molécula promissora para

a descoberta e a produção de novos fármacos contra o câncer e suas formas resistentes à terapia (Jia *et al.*, 2020; Kumar; Ritika, 2020; Mo *et al.*, 2024).

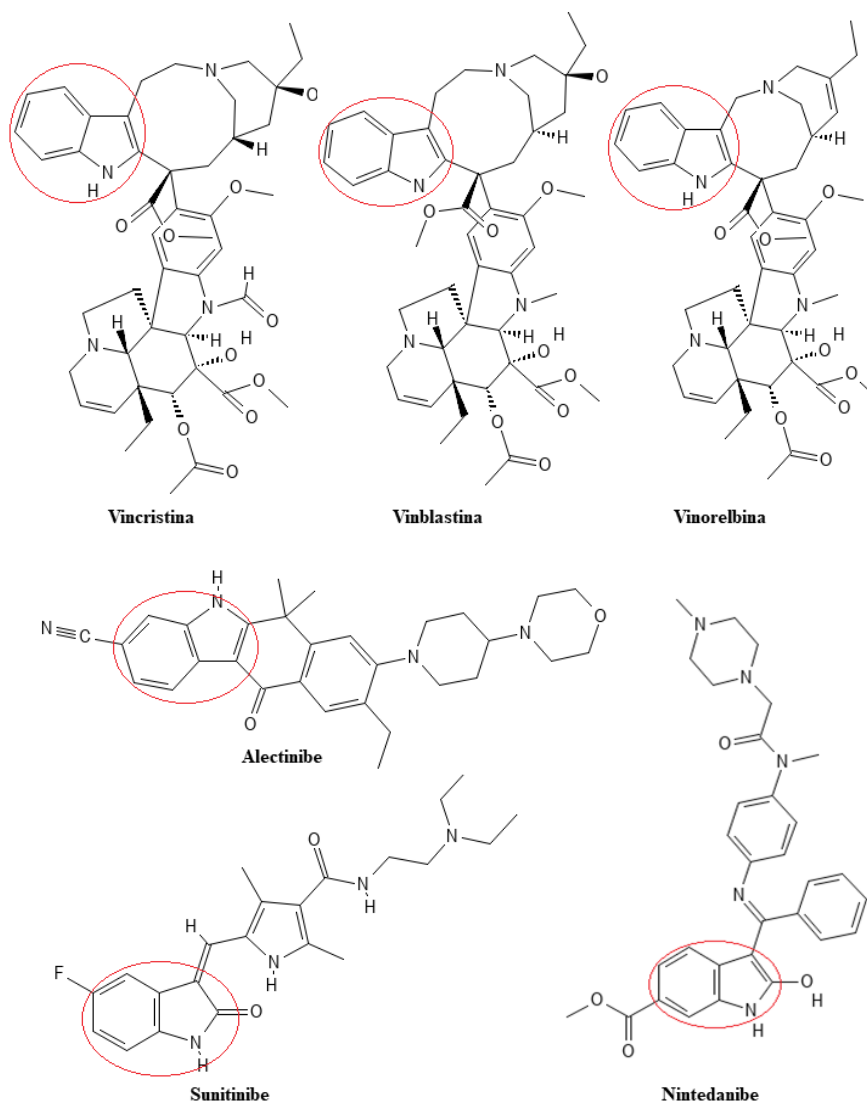


Figura 5. Fármacos que contém o indol em sua estrutura. Fonte: Adaptado de PubChem.

Os derivados do indol apresentam diversas atividades biológicas, como atividade antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, analgésicas, anticonvulsivante, antioxidante, antidiabético, antimicrobiana, antituberculosa, anticolinesterase e antimalárica (Kumar; Ritika, 2020; Kumari; Singh, 2019; Padmapriya; Hakkimane; Gaonkar, 2025). O indol é classificado como uma estrutura versátil. A sua versatilidade biológica permite que os pesquisadores manipulem suas propriedades físico-químicas e adicionem novos grupos funcionais (Mehra; Mittal, 2025). A variação de constituintes nas diferentes porções da molécula indólica resultam em novos compostos com múltiplas atividades biológicas (Sravanthi; Manju, 2016). Essa característica possibilita o desenvolvimento de novos

derivados indólicos com maior seletividade para as células tumorais, somado a diminuição da toxicidade aos tecidos normais (Mo *et al.*, 2024).

A fusão da molécula indol com outros compostos bioativos formando derivados indólicos é muito estudada na pesquisa do câncer e importante para a criação de novos fármacos antitumorais (Han *et al.*, 2020). Por exemplo, Abdelazeem *et al.* (2024) relataram a atividade antitumoral de novos derivados de indol e tiofeno 4g, 4a, 4c na linhagem de câncer de cólon (HCT-116). Zhao *et al.* (2017) evidenciaram derivados indólicos que inibiram a proliferação de células A549 (carcinoma de pulmão).

Além disso, a literatura também relata muitos estudos com fármacos contendo indol, que foram autorizados pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA (FDA), eficazes contra diversos cânceres. Inúmeros fármacos contendo indol estão atualmente em fases clínicas avançadas (Dhiman; Sharma; Singh, 2022; Han *et al.*, 2020). Exemplos de fármacos antitumorais contendo indol aprovados pelo FDA, como nintedanib (Jamadar *et al.*, 2021) e alectinib (Romero, 2024; Tomasini *et al.*, 2019).

Nintedanib é utilizado no tratamento do câncer de pulmão (Landi *et al.*, 2020) e atua como alvo para inibir os receptores de tirosina quinases (Jamadar *et al.*, 2021), são eles: o receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR), receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), e receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) (Landi *et al.*, 2020). O Alectinib age como inibidor altamente seletivo de segunda geração da quinase do linfoma anaplásico (ALK), com eficácia nas diferentes mutações e seus rearranjos. Em 2015, esse medicamento foi aprovado pelo FDA para o tratamento de NSCLC (Tomasini *et al.*, 2019).

Análises biológicas e de seus mecanismos demonstraram que os derivados indólicos atuam sobre múltiplos alvos nas células tumorais, tendo como alvo primário a polimerização da tubulina (Vinod *et al.*, 2024), juntamente com as proteínas quinases (Mo *et al.*, 2024), topoisomerases e histonas desacetilases (Mehra; Mittal, 2025). A maior parte dos fármacos estudados em ensaios clínicos que apresentam a molécula indol em sua constituição química são inibidores de proteínas quinases (Dhiman; Sharma; Singh, 2022). As proteínas quinases, quando ativadas, modulam vias de sinalização das células, como proliferação e crescimento celular, alvos relevantes na pesquisa no desenvolvimento do tratamento do câncer (Dhiman; Sharma; Singh, 2022).

Os estudos com derivados do indol têm demonstrado sua potencialidade terapêutica como agentes antiproliferativos, como alvo o bloqueio do ciclo celular e da síntese do DNA, ativa os mecanismos de morte celular e inibe enzimas importantes para

a proliferação tumoral (Pravin *et al.*, 2025). O potencial efeito antitumoral dos alcalóides indólicos é proveniente da ativação das vias da morte celular regulada, como a apoptose, que se dá por meio das vias da sinalização e os seus alvos, que incluem, os receptores de morte e seus ligantes, as proteínas da família Bcl-2, citocromo c, p53, NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR e MAPK (Qin *et al.*, 2022b).

Considerando a importância do indol e seus derivados indólicos como compostos promissores no efeito antitumoral, é de grande relevância a síntese de novos derivados. Esse trabalho se propõe a avaliar o efeito citotóxico de um novo derivado indólico em linhagem de câncer de pulmão.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a atividade do derivado indólico NM-01-28-22 na inibição em linhagens tumorais e o efeito citotóxico em carcinoma de pulmão (A549).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o grau de inibição do derivado sintético do indol NM-01-28-22 em linhagens tumorais.
- Avaliar a formação de clones e efeito na migração das células A549, após tratamento com o derivado NM-01-28-22.
- Verificar as alterações morfológicas de células A549, após tratamento com o derivado NM-01-28-22.
- Avaliar o efeito de NM-01-28-22 na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e na alteração do potencial de membrana mitocondrial em células A549.
- Avaliar a toxicidade de NM-01-28-22 em eritrócitos humanos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MANUTENÇÃO DA CULTURA CELULAR

As linhagens de carcinoma de pulmão (A549), adenocarcinoma de mama (MCF-7) e adenocarcinoma de próstata (PC-3) (Tabela 1) foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). As células A549, MCF-7 e PC-3 foram cultivadas em meios Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) e Nutrient Mixture F12 Ham Kaighn's Modification (F12K), respectivamente, obtidos da Sigma-Aldrich. Os meios de cultivo foram suplementados com soro fetal bovino (SFB) a 10% e 1% de antibiótico (Gibco, Life Technologies) (penicilina e estreptomicina).

As células foram mantidas em garrafas de cultivo (75 cm²), em uma estufa incubadora (Panasonic®, MCO-18AC-PA, Kadoma, Osaka, Japan) a 37°C e 5% de CO₂. Após a confluência entre 80 e 90% na garrafa, as células foram dissociadas enzimaticamente por meio da solução Trypsina-EDTA (1x) por aproximadamente 10 minutos, a 37 °C. A enzima foi inativada pela adição de meio suplementado. As células foram transferidas para um tubo falcon cônico de 15 mL e levadas a uma centrífuga refrigerada por 10 minutos, 4°C e 259 x g. Após centrifugação, as células foram contadas utilizando a câmara de Neubauer e azul tripan (1:1) e plaqueadas para os experimentos subsequentes.

Tabela 1. Linhagens de células

Célula	Doença	Organismo
A549	Carcinoma de pulmão	<i>Homo sapiens</i>
MCF-7	Adenocarcinoma de mama	<i>Homo sapiens</i>
PC-3	Adenocarcinoma de próstata	<i>Homo sapiens</i>

4.2 DERIVADO INDÓLICO NM-01-28-22

O derivado indólico NM-01-28-22 foi sintetizado pelo professor Dr. Sócrates Cabral de Holanda. Para a solução de estoque, 58 mM do derivado foi diluído em Dimetilsulfóxido (DMSO; pureza >99,9%) e armazenado a - 20 °C (Figura 6).

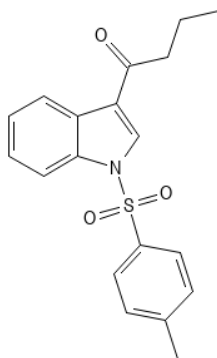


Figura 6. Estrutura molecular do derivado indólico NM-01-28-22.

4.3 ENSAIO DE INIBIÇÃO CELULAR POR SULFORRODAMINA B

O efeito da inibição celular do derivado NM-01-28-22 nas linhagens A549 (carcinoma de pulmão), PC-3 (adenocarcinoma de próstata) e MCF-7 (adenocarcinoma de mama) foi avaliado pelo ensaio Sulforrodamina B (SRB). As células foram semeadas em placas de 96 poços. As linhagens MCF-7 e PC-3 foram semeadas a 2×10^4 . Para a linhagem A549 foi semeado 1×10^4 . Após incubação de 24 horas em estufa, as células foram tratadas com o derivado indólico NM-01-28-22 nas concentrações de 25, 12,5, 6,2, 3,1, 1,6 e 0,8 μM . DMSO, usado para solubilizar o composto, na concentração de 0,04% e cloridrato de doxorrubicina (Doxo) (Rubidox®, Bergamo/Amgen) nas concentrações de 25, 12,5, 6,2, 3,1, 1,6 e 0,8 μM , foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. A Doxo pode ser utilizada no tratamento de câncer de pulmão. No entanto, não é o tratamento padrão (Roskoski Jr., 2024). O indol foi utilizado nas concentrações de 4.000, 2.000, 1.000, 500, 250 e 125 μM . Após 72 horas de tratamento, o sobrenadante das células foi descartado e as células foram fixadas com ácido tricloroacético (Neon, Brasil) na concentração de 30% (v/v) por 1h na temperatura de 4°C, lavadas com água corrente e mantidas à temperatura ambiente para secagem. Quando seca, as células foram coradas com 100 μL de sulforrodamina B (Sigma-Aldrich) em ácido acético 1% (0,057% peso/volume) por 30 minutos e a placa foi lavada com ácido acético 1% (v/v), e mantidas à temperatura ambiente para secagem. Quando seca, as células coradas foram diluídas em 200 μL de TRIS-Base (Inlab Confiança, Brasil) por 30 minutos e levados para leitura em espectrofotômetro (Synergy H1, Biotek, VT, EUA) a 510 nm. A porcentagem do grau de inibição foi mensurada utilizando a seguinte fórmula:

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

4.4 ENSAIO DE FORMAÇÃO DE COLÔNIAS

O efeito do derivado NM-01-28-22 na atividade proliferativa de clones foi visualizado pelo ensaio de formação de colônias. As células A549 foram semeadas em placas de 6 poços na densidade de 300 células por poço e incubadas por 24h em uma estufa incubadora. Em seguida, as células receberam o tratamento do derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. DMSO, na concentração de 0,02% e cloridrato de doxorrubicina a 1,4 μ M foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Após 72h de tratamento, o sobrenadante foi descartado e as células receberam meio DMEM, com 10% de SFB e 1% de antibiótico. Finalizando um tempo de 10 dias, as células foram fixadas com metanol (Vetec, Brasil) e ácido acético (Neon, Brasil) na proporção de 3:1 (v/v) e coradas com cristal violeta 1%. As células foram contadas manualmente e fotos da placa foram registradas. A porcentagem da formação de colônias foi mensurada utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Formação de Colônias} = \left(\frac{\text{Colônias (Tratamento)}}{\text{Colônias (Controle Negativo)}} \right) \times 100$$

4.5 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR

Na avaliação do efeito do derivado NM-01-28-22 sobre a migração de células A549 (carcinoma de pulmão), foi realizado o ensaio de migração celular. As células A549 foram semeadas em placas de 12 poços na densidade de 4×10^5 por poço. Após 24 horas, foi realizado um risco vertical na monocamada utilizando uma ponteira amarela (p200). A placa foi lavada com PBS 1x para remover as células soltas. Os poços foram tratados com o derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. Como controles positivo e negativo foram utilizados o cloridrato de doxorrubicina na concentração de 1,4 μ M e o DMSO na concentração de 0,02%, respectivamente. Todos os poços foram fotografados nos tempos de 0h, 24h e 48h, por meio de um microscópio invertido (IX81, Olympus). A mensuração da área de migração foi realizada pelo programa ImageJ (NIH, USA, imagej.nih.gov/) e convertida em % de migração por meio da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Migração} = \frac{(\text{Ferida formada} - \text{migração da área em cada tempo})}{(\text{Ferida formada})} \times 100\%$$

4.6 ENSAIO DE ALTERAÇÃO MORFOLÓGICA

A fim de analisar possíveis alterações morfológicas em células A549 (carcinoma de pulmão), após tratamento com o derivado NM-01-28-22, as células A549 foram

semeadas em placas de 24 poços na densidade de 2×10^4 células por poço e incubadas por 24h. Em seguida, as células receberam o tratamento do derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. DMSO, na concentração de 0,02% e cloridrato de doxorrubicina a 1,4 μ M foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Após 24 horas de tratamento, o sobrenadante foi descartado. As células foram lavadas com PBS 1x, fixadas com formaldeído (Dinâmica® Química Contemporânea Ltda.) na concentração de 4% em PBS 1x por 15 minutos e lavadas com PBS 1x. As células A549 foram permeabilizadas por 15 minutos com Triton X-100 (Sigma-Aldrich) na concentração de 0,2% em PBS 1x e lavadas com PBS 1x. Em seguida, as células foram coradas com Faloidina-FITC (Sigma-Aldrich) a 4 μ g/mL por 30 minutos e lavadas com PBS 1x. Os núcleos foram contracorados a 1 μ g/mL de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) (Sigma-Aldrich) por 10 minutos, lavadas e armazenadas com PBS 1x. As imagens foram capturadas em cinco campos aleatórios em um microscópio invertido de fluorescência (IX81, Olympus). A sobreposição entre as imagens foi realizada com o software ImageJ (NIH, USA, imagej.nih.gov/).

4.7 ENSAIO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Neste ensaio, a produção de ROS em células A549 (carcinoma de pulmão) foi visualizada em microscópio de fluorescência por meio do corante diacetato de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH-DA), adquirido da Sigma-Aldrich. As células A549 foram semeadas na densidade de 1×10^4 e deixadas em estufa incubadora (Panasonic®, MCO-18AC-PA, Kadoma, Osaka, Japan) a 37°C e 5% de CO₂ no tempo de 24 horas. Após o tempo, as células A549 foram tratadas com o derivado NM-01-28-22 no tempo de 3 horas nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. DMSO, na concentração de 0,02% e cloridrato de doxorrubicina a 1,4 μ M foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Após o tempo de tratamento, os sobrenadantes foram descartados e lavados com PBS 1x. Foi adicionado em cada poço 500 μ L da solução do corante DCFH-DA a 10 μ M por 30 minutos a temperatura ambiente. A solução foi descartada e adicionada em cada poço 500 μ L. Foi realizado registros de fotos em microscópio invertido de fluorescência (IX81, Olympus).

4.8 ENSAIO DE POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL

A alteração mitocondrial de células A549 (carcinoma de pulmão) foi analisada pelo corante rodamina 123 em citometria de fluxo. As células A549 foram semeadas na

densidade de 1×10^5 e incubadas em estufa (Panasonic®, MCO-18AC-PA, Kadoma, Osaka, Japan) a 37°C e 5% de CO₂ no tempo de 24 horas. As células A549 foram tratadas com o derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 µM no tempo de 3 horas. DMSO a 0,02% e CCCP a 40 µM foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Finalizando o tempo de tratamento, os sobrenadantes foram descartados e as células foram lavadas com PBS 1x. As células foram soltas da placa com tripsina 1x, transferido para eppendorf de 1,5 mL e levadas à centrífuga a 950 x g, 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e uma alíquota de 100 µL de rodamina 123 (10 µg/mL) foi adicionada em cada eppendorf por 20 min, à temperatura ambiente, no escuro. Em seguida, 1 mL de PBS 1x, foi adicionado em cada poço e levadas a centrífuga a 950 x g, 5 minutos. O sobrenadante foi descartado, 500 µL de PBS 1x foi adicionado em cada eppendorf e levado a um citômetro de fluxo para obter 10.000 eventos. Os dados foram analisados pelo software Flowjo 10.5.3 (Tree Star, Oregon, USA). Os valores da intensidade média de fluorescência (MFI) foram convertidas para 100% em relação ao controle e também para índice de variação (*IV).

4.9 ENSAIO DE HEMÓLISE

O ensaio de hemólise foi conduzido em eritrócitos a 2% de voluntários. Sangue de voluntários saudáveis foram testados, seguindo a declaração de Helsinki. Este ensaio contou com aprovação em comitê de ética com humanos sobre o número: 55240821.7.0000.5546. Eritrócitos a 2% em PBS 1x com pH 7.4, foram semeadas em uma placa de 96 poços com fundo em U. Foram utilizadas 4 concentrações de 650, 325, 162 e 81 µM do derivado indólico NM-01-28-22. DMSO, na concentração de 1,1% e Triton X-100 a 0,1% foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. Após o tratamento, as células foram mantidas a temperatura ambiente e em repouso por 1h. Finalizando o tempo, a placa de 96 poços foi levada a uma centrífuga a 500 g por 5 minutos. 100 µL do sobrenadante formado foi transferido a uma placa de fundo chato e levado a um espectrofotômetro (Synergy H1, Biotek, VT, EUA) para leitura a 540 nm. Foi feita a conversão dos dados da absorbância do sobrenadante para % hemólise a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Hemólise} = \frac{\text{Abs. Tratamento} - \text{Abs. Controle negativo}}{\text{Abs. Controle positivo} - \text{Abs. Controle negativo}}$$

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Gráficos, análises estatísticas e CI_{50} , foram obtidos do programa estatístico GraphPad Prism na versão 8.0.1 (GraphPad Software, EUA). Os resultados foram expressos como média e desvio padrão de três experimentos independentes. Diferenças significativas foram visualizadas pela comparação entre grupos, utilizando o teste ANOVA de uma via e ANOVA de duas vias. Para múltiplas comparações foi utilizado o teste de Dunnett's.

5. RESULTADOS

5.1 O DERIVADO INDÓLICO INIBE O CRESCIMENTO DE DIFERENTES LINHAGENS TUMORAIS

O indol, seu derivado NM-01-28-22 e cloridrato de doxorrubicina foram utilizados para avaliar o grau de inibição celular nas linhagens A549 (carcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e PC-3 (Adenocarcinoma de Próstata) no tratamento por 72 horas, pelo ensaio de sulforrodamina B (SRB). Os resultados experimentais demonstraram que o derivado NM-01-28-22 foi capaz de inibir o crescimento celular acima de 50% na linhagem A549 nas concentrações de 6,3 a 25 μ M. Para as linhagens PC3 e MCF-7 foi observada uma inibição celular acima de 50% na concentração 25 μ M e na concentração 12,5 e 25 μ M, respectivamente (Figura 7).

A porcentagem do Grau de Inibição foi utilizada para mensurar o valor da CI_{50} do indol, do derivado NM-01-28-22 e doxorrubicina nas linhagens A549, PC-3 e MCF-7. A CI_{50} é a concentração inibitória em 50%, que interfere no crescimento celular (Rang *et al.*, 2016). A CI_{50} do NM-01-28-22 foi mensurada para as linhagens 6,5 μ M (A549), 17,5 μ M (MCF-7) e 16,2 μ M (PC-3). A CI_{50} do indol foi de 1038, 993 e 1214 μ M para as linhagens A549, MCF-7 e PC-3, respectivamente. A doxorrubicina apresentou valor de CI_{50} de 1,4 μ M (A549), 2,6 μ M (MCF-7) e 4,8 μ M (PC-3) (Tabela 1). A CI_{50} foi utilizada como parâmetro para analisar a potência do derivado NM-01-28-22 em células A549. Considerando que o valor da CI_{50} foi menor na linhagem A549 e também por causa da relevância epidemiológica do câncer de pulmão, essa linhagem foi utilizada nos experimentos subsequentes deste estudo.

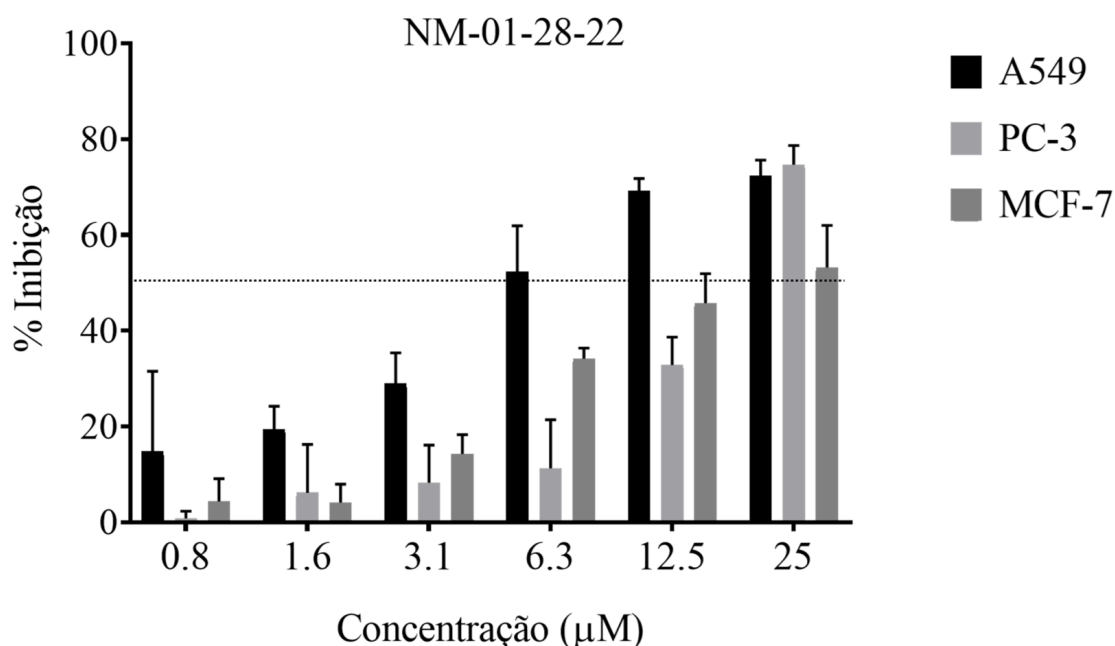


Figura 7. Mensuração da concentração inibitória de células A549, PC-3 e MCF-7 após tratamento com o derivado indólico NM-01-28-22. NM-01-28-22 interfere no grau de inibição de células A549 (Linhagem de Carcinoma de Pulmão), PC-3 (Linhagem de Adenocarcinoma de Próstata) e MCF-7 (Linhagem de Adenocarcinoma de Mama) após 72h de tratamento nas seis concentrações de 0,8 a 25 µM. O ensaio de SRB foi utilizado para mensurar a viabilidade celular. DMSO 0,04% foi utilizado como controle negativo. Os dados são visualizados em gráficos a partir da média e desvio padrão de três experimentos independentes.

Tabela 1. Valores de CI_{50} de NM-01-28-22, indol e doxorrubicina avaliados pelo ensaio de SRB

Linhagem celular	Compostos - (CI_{50}) µM		
	NM-01-28-22	Indol	Doxorrubicina
A549	6,5 (5,4 - 7,8)	1038 (939,9 - 1150)	1,4 (1,1 - 2,3)
MCF-7	17,5 (14,0 - 23,1)	993,7 (810,5 - 1240)	2,6 (2,0 - 3,3)
PC-3	16,2 (14,3 - 18,4)	1214 (1069 - 1501)	4,8 (4,0 - 5,6)

Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95% de pelo menos três experimentos independentes após tratamento com os compostos.

5.2 NM-01-28-22 INIBE A FORMAÇÃO DE CLONES

O ensaio clonogênico foi usado para avaliar a capacidade que uma única célula tem em formar colônias. Nossos resultados mostram que em todas as concentrações do derivado indólico NM-01-28-22 foi observado uma diminuição significativa (****) $p < 0,0001$ no número de colônias de células A549 (carcinoma de pulmão), assim como na doxorrubicina, quando comparado ao controle. O tratamento com NM-01-28-22 nas concentrações de 3,2, 6,5 e 13 μM inibiu 78,68, 98,72 e 100%, respectivamente. Não houve diferença estatística entre a doxorrubicina e os tratamentos (Figura 8).

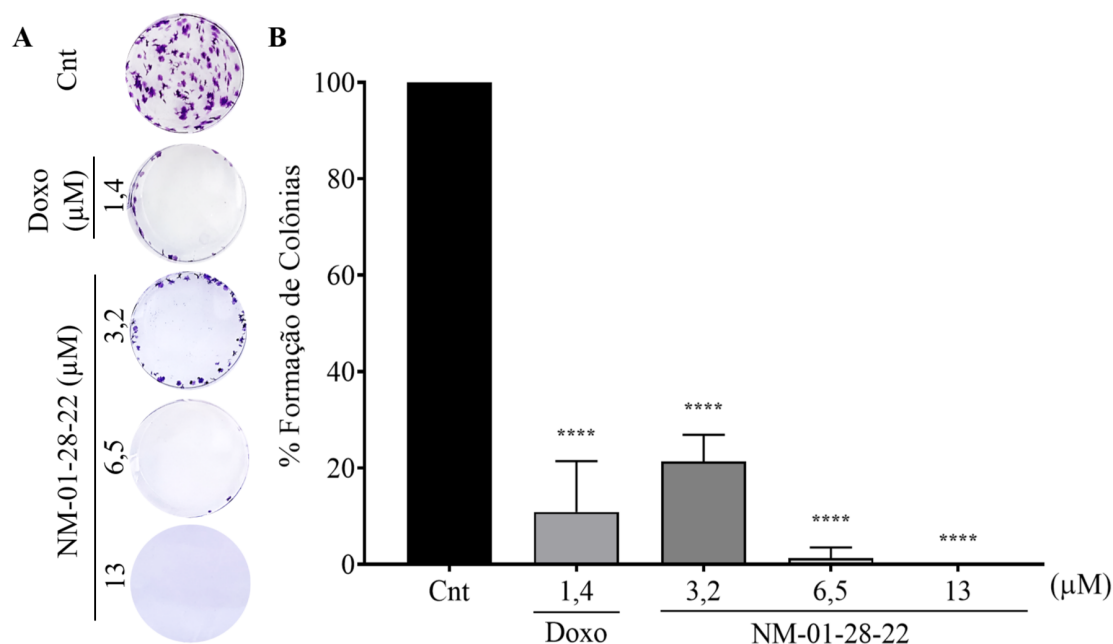


Figura 8. NM-01-28-22 reduz a formação de colônias de células A549, após 72h de tratamento. O efeito na formação de clones A549 após o tratamento com NM-01-28-22 foi analisado pelo ensaio clonogênico. **(A)** Imagens representativas da formação de colônias após tratamento com o NM-01-28-22 a 13, 6,5 e 3,2 μM . DMSO 0,02% e doxorrubicina (1,4 μM) foram utilizados como controle negativo (Cnt) e positivo (Doxo), respectivamente. **(B)** O gráfico demonstra a média e o desvio padrão de três experimentos independentes pela quantificação do número de colônias. Foi utilizado o teste ANOVA e pós teste de Dunnett's, em que foi comparado os tratamentos com o controle negativo, (****) $p < 0,0001$.

5.3 NM-01-28-22 REDUZ A MIGRAÇÃO CELULAR

O ensaio de cicatrização de feridas foi utilizado para mensurar a migração de células A549 (carcinoma de pulmão) após tratamento com o derivado indólico NM-01-28-22. Foi observado inibição significativa da migração celular nas três concentrações do derivado NM-01-28-22 nos tempos de 24 e 48 horas quando comparado ao controle (****) $p < 0,0001$. O tratamento de 24 horas com NM-01-28-22 a 3,2, 6,5 e 13 μM diminuiu em 45,16, 52,23 e 55,50%, respectivamente, a migração celular. Para o tempo de 48 horas, o derivado inibiu a migração das células A549 em 66,18% (3,2 μM), 82,36% (6,5 μM) e 89,43% (13 μM). No tratamento com a doxorrubicina, com redução de 21,17%, houve diferença significativa na inibição da migração em 48 horas em comparação ao controle (*) $p < 0,05$. Houve diferença estatística entre a doxorrubicina e os tratamentos do NM-01-28-22 (####) $p < 0,0001$ (Figura 9).

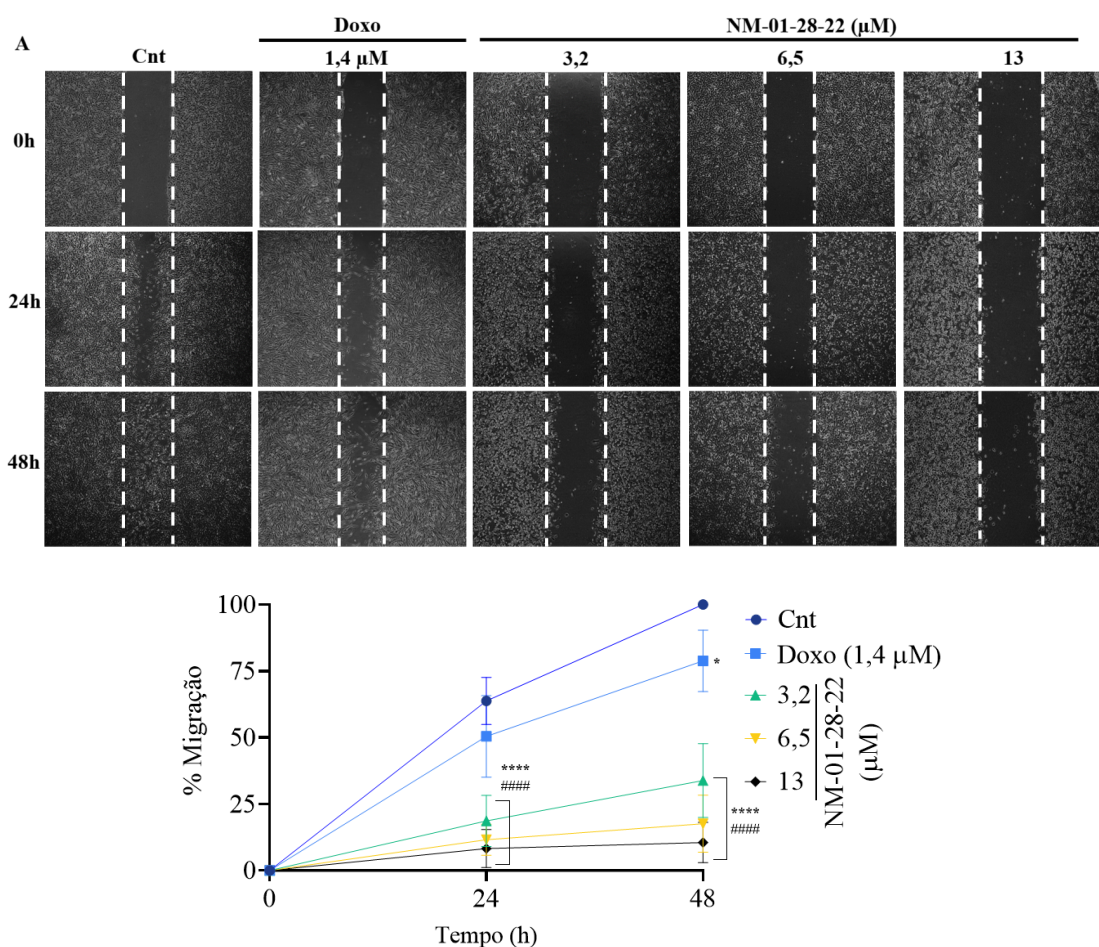


Figura 9. NM-01-28-22 reduz a migração de células A549, após 24 e 48 de tratamento. A migração de células A549 após o tratamento com NM-01-28-22 foi mensurada pelo ensaio de cicatrização de feridas. (A) Imagens representativas da migração de células A549 no campo escuro, após tratamento com o NM-01-28-22 a 13, 6,5 e 3,2 μM .

DMSO 0,02% e doxorrubicina (1,4 μ M) foram utilizados como controle negativo (Cnt) e positivo (Doxo), respectivamente. **(B)** O gráfico demonstra a média e o desvio padrão de três experimentos independentes pela área quantificada da ferida. Foi utilizado teste ANOVA de duas vias e pós teste de Dunnett's. O controle negativo e os tratamentos foram comparados, em que (****) $p < 0,0001$ e (*) $p < 0,05$. A comparação entre Doxo e os tratamentos indica (####) $p < 0,0001$.

5.4 O DERIVADO INDÓLICO INDUZ MUDANÇA NA MORFOLOGIA DE CÉLULAS A549

A análise da morfologia das células após o tratamento com o derivado indólico NM-01-28-22, foi avaliada pelo ensaio de DAPI e Faloidina-FITC, onde o corante DAPI cora o núcleo das células, enquanto o corante Faloidina cora os filamentos de actina do citoesqueleto das células. A análise qualitativa das imagens mostra que as células A549 (carcinoma de pulmão) quando foram submetidas ao tratamento do NM-01-28-22 e doxorrubicina apresentaram alterações em sua morfologia, quando comparadas às células do controle. As alterações vistas foram o arredondamento celular e perda do volume citoplasmático nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. A doxorrubicina apresentou alterações como perda do volume citoplasmático e arredondamento celular na concentração de 1,4 μ M. As alterações vistas sugerem que o NM-01-28-22, pode estar levando as células à morte pela via da apoptose (Figura 10).

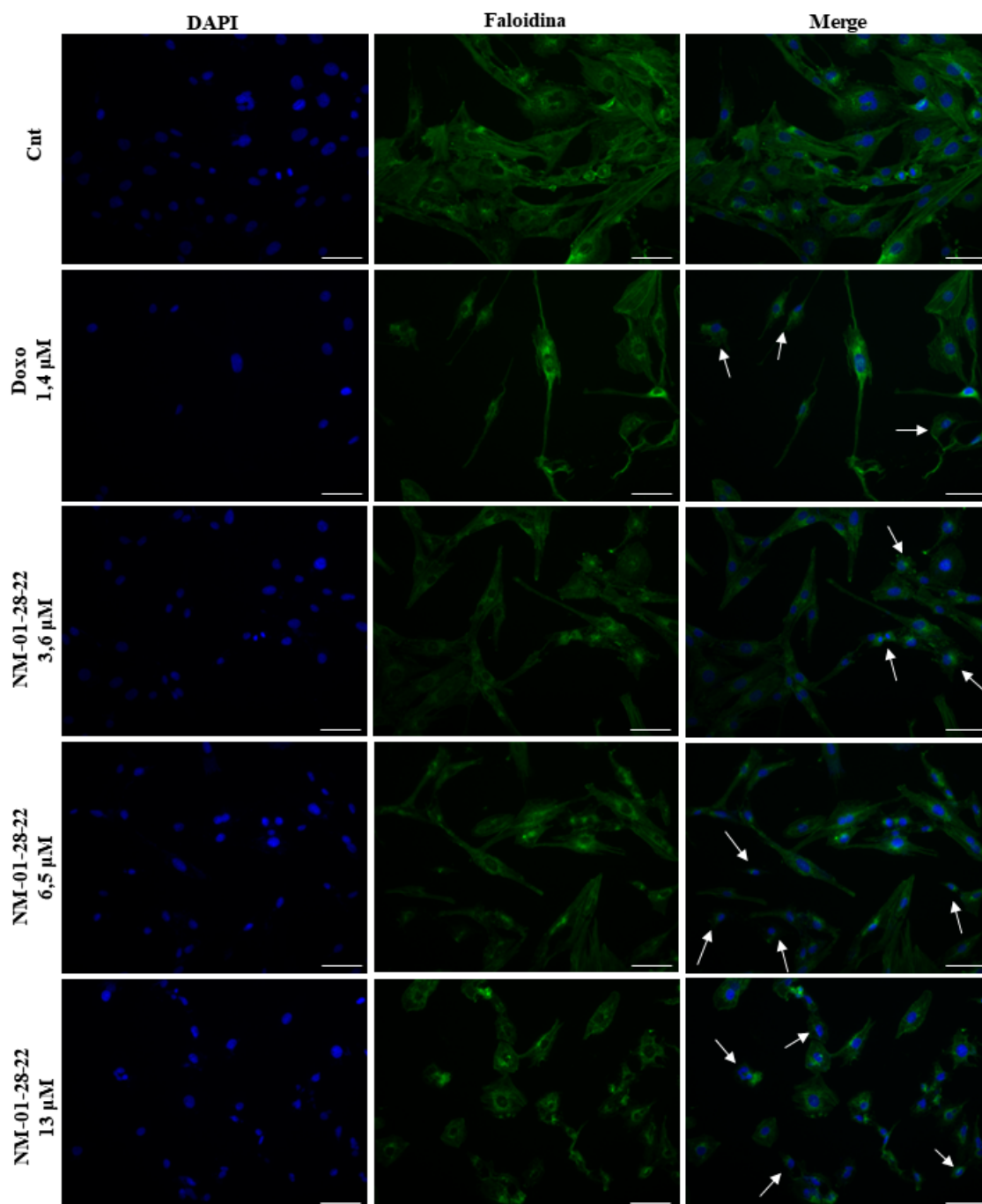


Figura 10. Alterações morfológicas em células A549 são visualizadas após tratamento de 24 horas com o NM-01-28-22. Alterações morfológicas em células A549 são visualizadas após tratamento de 24 horas com o NM-01-28-22. DMSO 0,02% e doxorubicina (1,4 μ M) foram utilizados como controle negativo (Cnt) e positivo (Doxo), respectivamente. A análise morfológica das células foi avaliada pelos corantes DAPI e Faloidina-FITC. As setas finas ($\rightarrow$) indicam a perda do volume citoplasmático e arredondamento celular. Imagens com aumentos de 320x, barra de escala, 50 μ m.

5.5 NM-01-28-22 DESPOLARIZA O POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL

A análise da alteração do potencial de membrana mitocondrial foi feita pelo corante Rodamina 123. Foi realizado o tratamento das células A549 (carcinoma de pulmão) com o derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μM e CCCP a 40 μM no tempo de 3 horas. A despolarização do potencial mitocondrial das células A549 após tratamento com o derivado NM-01-28-22 é evidenciado por meio do gráfico de histograma pelo deslocamento à esquerda da fluorescência dos tratamentos (Figura 11). Os dados da média de intensidade de fluorescência foram convertidos para índice de variação (*IV). O tratamento com o NM-01-28-22 a 3,2, 6,5 e 13 μM diminuiu o índice de variação em -0,32, -0,27 e -0,13 do potencial mitocondrial, respectivamente. O *IV do CCCP foi de -0,24. Assim, os resultados mostram que o derivado NM-01-28-22 a 6,5 e 3,2 μM e CCCP a 40 μM induz alteração do potencial mitocondrial no tempo de 3 horas quando comparado ao controle negativo (Tabela 2), em que (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$.

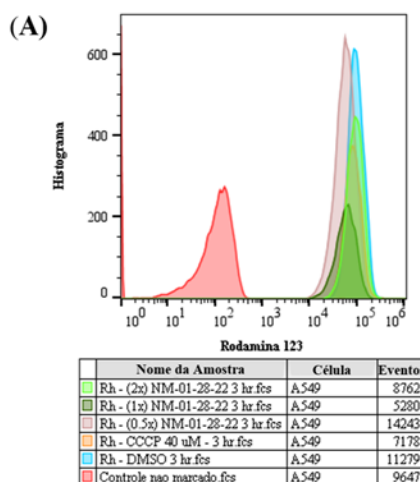


Figura 11. NM-01-28-22 causa alteração no potencial de membrana mitocondrial de células A549, após 3h de tratamento. A alteração do potencial de membrana mitocondrial de células A549 após o tratamento com NM-01-28-22 foi analisada pelo corante rodamina 123 em citometria de fluxo. (A) Gráfico representativo de histograma demonstrando a alteração no potencial de membrana mitocondrial após tratamento com NM-01-28-22 no tempo de 3 horas. CCCP a 40 μM e DMSO a 0,02% foram utilizados como controle positivo (CCCP) e negativo (Cnt), respectivamente.

Tabela 2. Análise do índice de variação (*IV) e do $\Delta\Psi_m$ de células A549 tratadas com o derivado indólico NM-01-28-22.

Amostras	*IV	Média de Intensidade de Fluorescência	$\Delta\Psi_m$ em relação ao controle negativo
Cnt	-	95981	-
CCCP 40 μ M	-0,24 *	70911	76%
NM-01-28-22 13 μ M	-0,13	86038	87%
NM-01-28-22 6,5 μ M	-0,27 *	66191	73%
NM-01-28-22 3,2 μ M	-0,32 **	62388	68%

*IV= $(MT - MC)/MC$, em que MT é a média de fluorescência das células A549 tratadas e MC é a média de fluorescência do controle negativo. As células A549 foram tratadas com o derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μ M. Os resultados de *IV representam a média de 3 experimentos independentes. Foi utilizado o teste ANOVA de uma via e pós teste de Dunnett's. Os tratamentos foram comparados ao controle negativo, (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$.

5.6 NM-01-28-22 INDUZ A PRODUÇÃO DE ROS EM CÉLULAS A549

A produção de ROS por células A549 (carcinoma de pulmão) após tratamento com NM-01-28-22 nas concentrações de 13, 6,5 e 3,2 μM foi analisada por microscopia através da sonda DCFH-DA. A análise qualitativa da imagem demonstra que houve produção de ROS em células A549 após tratamento com NM-01-28-22 e doxorrubicina 1,4 μM quando comparado com o controle (Figura 12).

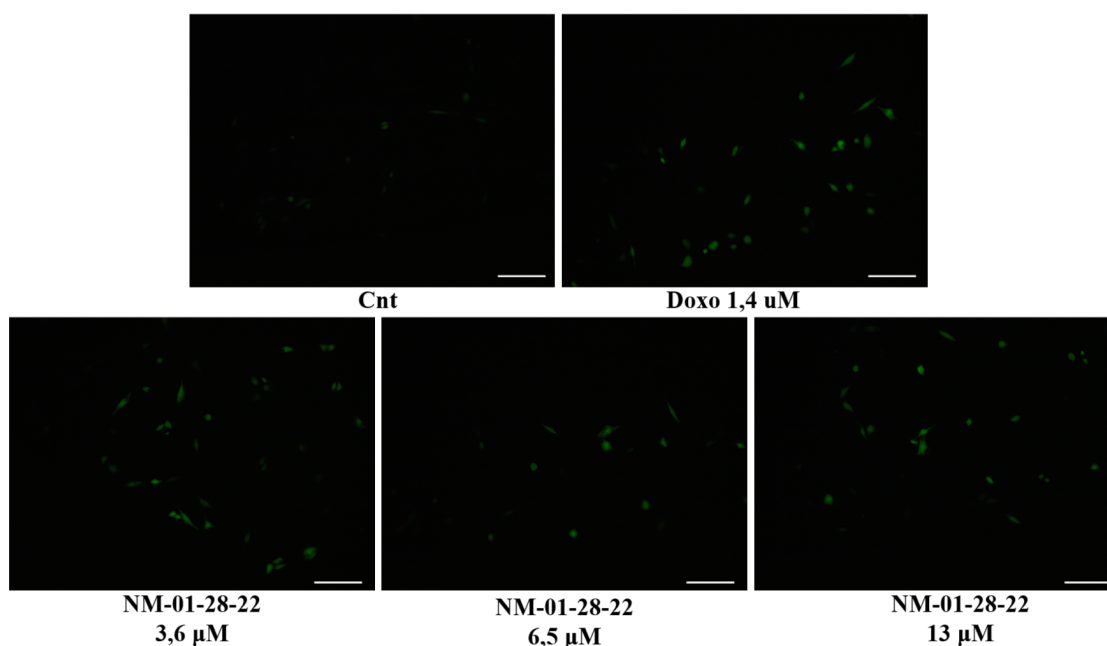


Figura 12. NM-01-28-22 induz produção de ROS em células A549, após 3h de tratamento. A produção de ROS em células A549 são visualizadas após tratamento de 3 horas com o NM-01-28-22. DMSO 0,02% e doxorrubicina (1,4 μM) foram utilizados como controle negativo (Cnt) e positivo (Doxo), respectivamente. A análise da produção de ROS foi avaliada pelo corante DCFH-DA. Imagens com aumentos de 200x, barra de escala, 50 μm .

5.7 NM-01-28-22 NÃO APRESENTA ATIVIDADE HEMOLÍTICA

A citotoxicidade em células normais foi avaliada em eritrócitos pelo ensaio de atividade hemolítica, onde os eritrócitos foram tratados com o derivado NM-01-28-22 nas concentrações de 650, 325, 162 e 81 μM no tempo de 1 hora. Os resultados obtidos indicam que o tratamento com o derivado NM-01-28-22 não provocou atividade hemolítica em eritrócitos humanos (Figura 13), em que (****) $p < 0,0001$.

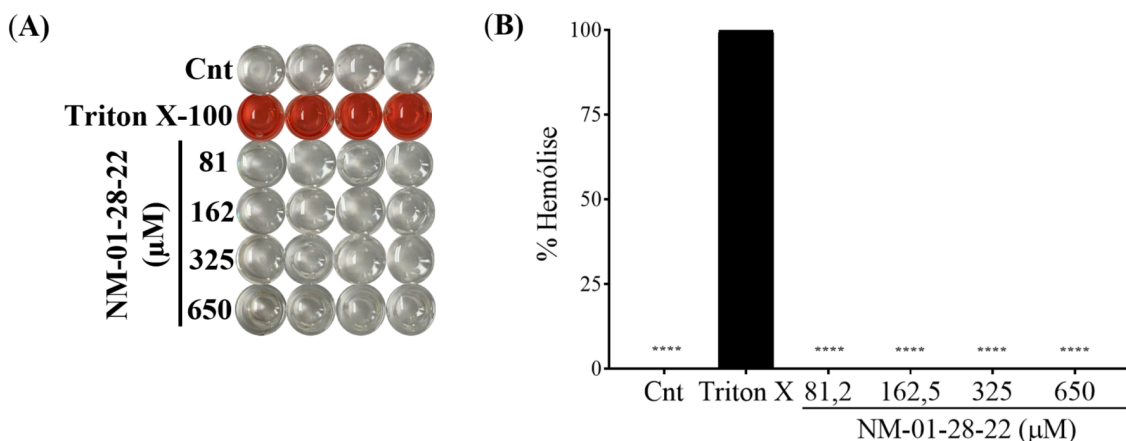


Figura 13. NM-01-28-22 não induz hemólise em eritrócitos a 2%, após 1h de tratamento a temperatura ambiente. O efeito citotóxico do derivado NM-01-28-22 sobre eritrócitos foi analisado pelo ensaio de hemólise. **(A)** Imagens representativas demonstrando a ausência de hemólise após 1h de tratamento com NM-01-28-22 a 650, 325, 162 e 81 μM . DMSO a 1,1% e Triton X-100 a 0,1% foram utilizados como controle negativo (Cnt) e positivo (Triton X-100), respectivamente. **(B)** O gráfico demonstra a média e o desvio padrão de três experimentos independentes para mensuração de hemólise, após tratamento com NM-01-28-22 em eritrócitos 2%. Foi utilizada a ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Dunnett's. Os tratamentos foram comparados ao controle positivo, (****) $p < 0,0001$.

6. DISCUSSÃO

O indol é um composto aromático heterocíclico constituinte de inúmeros medicamentos, um farmacóforo importante que apresenta propriedades antitumorais (Sarkar *et al.*, 2023). Os fármacos que contêm indol e utilizados no tratamento do câncer incluem vinblastina, vincristina, vinorelbina, sunitinib e nintedanib (Jia *et al.*, 2020). A modificação estrutural da molécula indólica para maior atividade biológica tem sido alvo de interesse nos últimos anos na pesquisa em química farmacêutica (Qin *et al.*, 2022a). Sabe-se que a alteração da estrutura química da molécula pode gerar novos derivados mais potentes (Ottoni *et al.*, 2020). Dessa forma, o presente estudo, avaliou o efeito citotóxico de um derivado do indol em células de câncer de pulmão, considerando que ele seria mais potente que o indol.

A SRB é um método utilizado para mensurar a quantidade de proteínas de células viáveis. Isto é, o número de proteínas tem relação direta na medição da proliferação celular (Orellana; Kasinski, 2016). A ISO-10993-5 em seu documento relata que a quantificação da proliferação celular é um método de avaliação na determinação da citotoxicidade (Organização Internacional de Normalização, 2009). Nossos resultados com SRB mostram que o derivado NM-01-28-22 inibiu o crescimento celular de três linhagens com características histológicas distintas: A549 (carcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e PC-3 (Adenocarcinoma de Próstata). Além de inibir o crescimento, os resultados da CI_{50} corroboram com os dados da literatura que mostram que derivados podem possuir uma maior atividade do que seu composto original (de Franca *et al.*, 2021; dos Santos *et al.*, 2023; Ottoni *et al.*, 2020). Observamos que em comparação com o indol o derivado indólico NM-01-28-22 apresentou uma CI_{50} 160 vezes menor na célula A549, 56 vezes menor na MCF-7 e 75 vezes menor na PC-3.

O indol apresentou atividade baixa com valores de concentração efetiva em 50% (CE_{50}) acima de 100 μ M nas linhagens de Caco-2 (adenocarcinoma colorretal humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HepaRG (células hepáticas derivadas de hepatoma) e T47D (carcinoma ductal de mama) (Janiga-MacNelly *et al.*, 2025). Wellington *et al.* (2020) utilizaram três parâmetros relacionados à classificação da CI_{50} na atividade biológica de compostos antitumorais em linhagens de células: atividade potente menor que 10 μ M; atividade moderada entre 10 a 30 μ M e atividade fraca entre 30 a 100 μ M. Nossos resultados mostram que o derivado indólico mostrou atividade moderada nas duas linhagens tumorais PC-3 e MCF-7 e atividade potente na linhagem

A549.

Semelhante aos nossos resultados, outros trabalhos mostram o potencial antitumoral de derivados indólicos. Abdelazeem *et al.* (2024) descobriram que os compostos contendo derivado de indol e tiofeno apresentaram citotoxicidade contra a linhagem de câncer de cólon (HCT-116). Zhao *et al.* (2017) relataram que o derivado 3d contendo indol e chalcona inibiu a proliferação de células A549 (carcinoma de pulmão). Kumar *et al.* (2025) estudaram a citotoxicidade do derivado 9c contendo indol e inonas nas linhagens de câncer de mama MCF-7, 4T1 e MDA-MB-231.

A migração de células é uma etapa fundamental em processos fisiológicos e fisiopatológicos em células leucocitárias (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019) e câncer de pulmão (Zhu *et al.*, 2020). O câncer de pulmão é altamente metastático devido a sua capacidade proliferativa, que possibilita a migração dessas células para diversos órgãos distintos (Zhu *et al.*, 2020).

A maior parte da mortalidade do câncer está associada às metástases e não pelo tumor sólido primário (Lambert; Pattabiraman; Weinberg, 2017). Dessa forma, nas áreas de fisiologia e oncologia, metodologias para o estudo das propriedades de migração, invasão e adesão celular são relevantes devido ao entendimento do efeito de novos fármacos no desenvolvimento metastático (Pijuan *et al.*, 2019). No experimento de migração celular, o princípio metodológico é gerar ausência de células em uma monocamada com ponteira p200 e as células proliferam e migram para o preenchimento dessa lacuna celular (Martinotti; Ranzato, 2020).

Os ensaios de migração celular demonstraram que o derivado NM-01-28-22 tem um alto potencial anti migratório considerando que esse efeito foi evidenciado em todas as concentrações testadas. Esse resultado é relevante, tendo em vista que a sobrevivência das células tumorais é importante no processo migratório a fim de formar microcolônias e consequentemente micrometástase, sobreviver e provocar macrometástases (Wu; Saxena; Singh, 2020).

Nguyen *et al.* (2022) utilizaram os compostos A6 e A15, ambos derivados do indol, no experimento de migração de células. Os resultados demonstraram que nas células MCF-7, apenas o composto A6 conseguiu inibir significativamente a migração. Diferentemente, os derivados A15 e A6 inibiram a migração de células SK-BR-3. Zhang *et al.* (2023) relatam que o composto indólico 10b a 1 μ M inibiu a migração de células A549 (carcinoma de pulmão) nos tempos de 12 e 24h. Yamashita *et al.* (2022) relataram que a camalexina a 25 μ M, uma fitoalexina indólica, conseguiu inibir a

migração de células de câncer de mama (MCF-7 e T47D) por 22h de tratamento, em comparação ao controle DMSO. De forma semelhante, nosso estudo traz que o derivado indólico NM-01-28-22 conseguiu inibir a migração de células A549.

A última etapa do processo migratório das células tumorais é a colonização do novo tecido (Lambert; Pattabiraman; Weinberg, 2017). Além disso, uma única célula com mutações em genes relacionados à proliferação e reparo do DNA, forma a massa tumoral de clones (Botelho, 2018; Kumar *et al.*, 2010). O ensaio de formação de colônias é amplamente utilizado para mensurar a formação de clones *in vitro* após processo de inibição por estímulos citotóxicos, tais como compostos quimioterápicos e radiações (Brix *et al.*, 2020). É um teste que avalia a sobrevivência celular e verifica a capacidade de células em sua autorenovação (cinco ou mais gerações) (Capes-Davis; Freshney, 2021).

Por meio do ensaio clonogênico foi visualizado que o derivado indólico NM-01-28-22 diminuiu a formação de clones da linhagem A549 em todas as concentrações testadas. O estresse mitocondrial regulado por Bax e Bak é uma possível explicação da morte celular clonogênica (Youle; Strasser, 2008). Dutta *et al.* (2022) relatam uma inibição dose dependente após tratar células MCF-7 com derivados indólicos (compostos 3aa, 3 ac, 3ca, 3gc e 3gd) em ensaio clonogênico. Zhou *et al.* (2024) destacam o derivado indólico CV-4-26 que conseguiu inibir em 62,5% as colônias de células de carcinoma hepatocelular humano (Huh7) e em 59,5% as colônias de carcinoma hepatocelular (HepG2) após tratamento com 5 μ M do composto. Jiang *et al.* (2022) relataram que o composto 4o, também um derivado indólico, conseguiu inibir de forma dose dependente a formação de colônias, eficaz nas concentrações de 3 e 10 nM, reduzindo a sobrevivência e crescimento de células de carcinoma colorretal (HCT116).

A morte celular é um processo de dano irreversível no funcionamento vital das células, que gera fragmentos na célula ou induz a permeabilização da membrana celular (Galluzzi *et al.*, 2018). Ela pode ocorrer de duas formas: processo orquestrado a fim de manter a homeostase do sistema biológico conhecido como morte celular programada (MCP). Existe também a morte celular não programada, uma forma agressiva, culminando na necrose por causa de trauma ou lesão (Eskander *et al.*, 2025). Qin *et al.* (2022b) discutem que alcaloides indólicos apresentam atividade antitumoral, devido a ativação da via sinalização de apoptose, autofagia e necroptose.

Compostos indólicos obtidos de produtos naturais como indol-3-carbinol (I3C) e

3,3'-diindolilmetano (DIM) geram apoptose e interrompe o ciclo celular pela inibição da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR/NF- κ B (Ahmad *et al.*, 2013). Wan *et al.* (2019) também destacam a atividade de derivados indólicos como agentes que interferem nas seguintes atividades biológicas das células tumorais: morte celular por apoptose (inibe proteínas Mcl-1), transdução de sinal (inibe Pim) e ciclo celular. A apoptose é explorada na pesquisa biomédica por inferir a resposta de células cancerígenas a partir do tratamento de moléculas pequenas. O tratamento de células com moléculas pequenas possibilita aos pesquisadores desenvolver fármacos com ênfase na apoptose para eliminar as células tumorais (Xu; Lai; Hua, 2019).

A ISO-10993-5 em seu documento relata que a análise da morfologia é um método de avaliação na determinação da citotoxicidade (Organização Internacional de Normalização, 2009). As alterações morfológicas da apoptose são: fragmentação do núcleo, condensação e quebra do material genético, além de, formação de corpos apoptóticos e encolhimento da célula. Essas mudanças estruturais nas células podem ser visualizadas em um microscópio de luz e por microscopia eletrônica (Xu; Lai; Hua, 2019). Na apoptose, as caspases clivam proteínas do citoesqueleto e de adesão célula-célula, que torna a célula arredondada (Alberts *et al.*, 2021). No presente estudo observamos alterações morfológicas no citoesqueleto das células A549, após o tratamento com o derivado NM-01-28-22. As alterações sugerem uma morte do tipo apoptose devido às características de arredondamento e perda do volume citoplasmático celular.

O tratamento de células de leucemia (Jurkat e HL-60) com o composto indólico DHI1 teve como resultado alterações morfológicas como a desorganização da célula e danos às proteínas de actina-F do citoesqueleto, fragmentação de DNA e aparecimento de bolhas na membrana (Majirská *et al.*, 2025). Derivados 3d e 6c contendo indol e chalcona causaram alterações na morfologia das células de carcinoma de pulmão (A549) com encolhimento celular, formação de bolhas na membrana e de corpos apoptóticos (Zhao *et al.*, 2017).

A apoptose pela via mitocondrial tem como eventos biológicos a produção elevada de ROS, a despolarização mitocondrial e o extravasamento mitocondrial da proteína citocromo C para o citosol (Teisseyre *et al.*, 2019). O direcionamento a produção de ROS nas células tumorais pode provocar danos celulares irreversíveis por causa do estresse oxidativo celular, além de inibir a proliferação de células tumorais (Glorieux *et al.*, 2024).

Nossos resultados mostram que o derivado indólico NM-01-28-22 induziu produção de ROS em todas as concentrações utilizadas após 3h de tratamento. Semelhante aos nossos resultados Li *et al.* (2020) descobriram que o composto 5f, um derivado indólico, induz aumento de ROS de maneira dose dependente em células linhagem de hepatocarcinoma (SMMC-7721). Um alcalóide indólico extraído da planta *Bousigonia mekongensis*, induziu um aumento na produção de ROS em células de câncer de bexiga (MB49, T24 e 253J) (Shi *et al.*, 2025). O composto indólico 14b provocou o aumento de ROS intracelular em células de carcinoma de pulmão (A549) de maneira dose dependente, após 12h de tratamento (Liang *et al.*, 2023).

As mitocôndrias desempenham papel importante na regulação da apoptose. A cadeia respiratória mitocondrial é responsável pela geração do potencial transmembrana ($\Delta\Psi_m$). A perda ou diminuição do ($\Delta\Psi_m$) é uma das principais características da disfunção mitocondrial (Tischlerova *et al.*, 2017). A rodamina 123 é um corante catiônico que mede o potencial de membrana mitocondrial (Zorova *et al.*, 2018). A queda do potencial mitocondrial diminui a captação do corante e consequentemente reduz a intensidade de fluorescência (Chazotte, 2011).

Liu *et al.* (2023) relataram que o composto 17a, um derivado indólico-chalcona ligado à platina, induziu forte despolarização da mitocôndria em células de câncer de pulmão A549 resistentes à cisplatina. O composto de fitoalexina indólica K-453 provocou o comprometimento do potencial de membrana mitocondrial em células de carcinoma colorretal (HCT116) (Tischlerova *et al.*, 2017). Um híbrido de indol-matrina, provocou uma perda significativa do potencial de membrana mitocondrial em células de câncer de estômago (SGC-7901), após 24h de tratamento (Li *et al.*, 2023). Semelhante a literatura, o derivado indólico NM-01-28-22 induz o comprometimento do potencial de membrana mitocondrial em células A549 por 3h de tratamento nas concentrações de 6,5 e 3,2 μM .

O teste de hemólise é uma análise inicial da citotoxicidade (Sæbø *et al.*, 2023). No ensaio de hemólise é analisada a liberação de hemoglobina no sobrenadante, após o período de incubação com a amostra analisada, para mensurar a quantidade de eritrócitos lisados (Evans *et al.*, 2013; Sæbø *et al.*, 2023). Os dados experimentais da citotoxicidade e hemólise definem a escolha do composto e o avanço do estudo em modelos *in vivo* (Greco *et al.*, 2020). Existem parâmetros sobre os valores de hemólise em eritrócitos humanos, sendo atividade não hemolítica menor que 10% e atividade hemolítica maior que 25% (Amin; Dannenfelser, 2006).

Aqui demonstramos que o derivado indólico NM-01-28-22 não provocou hemólise em todas as concentrações testadas. De forma semelhante, Long *et al.* (2022) avaliaram os derivados indólicos em eritrócitos de voluntários saudáveis. Eles observaram que a hemólise foi menor que 6% após 1h de tratamento. Babijczuk *et al.* (2025) testaram novos derivados híbridos contendo indol e pirazol em eritrócitos por 1h. Eles observaram que os compostos 2, 3, 6-10, 14 e 15 apresentaram atividade hemolítica menor que 10%.

Em conjunto, nossos resultados mostram que o derivado teve um alto efeito citotóxico na linhagem A549 e não teve efeito tóxico em hemácias.

7. CONCLUSÃO

Os dados mostram que o derivado indólico NM-01-28-22 inibiu a migração celular e a formação de clones de células na linhagem A549. O tratamento também mostrou que o derivado possui um efeito na morte celular característico de apoptose evidenciado pelas alterações morfológicas observadas, alteração do potencial de membrana mitocondrial e produção de ROS. Estes resultados dão base para que o estudo seja translacionado em modelo *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, Abul K; LICHTMAN, Andrew H H; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 9. ed.ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2019.

ABBAS, Zaigham; REHMAN, Sakina. An Overview of Cancer Treatment Modalities. *In: SHAHZAD, Hafiz Naveed (org.). Neoplasm*. [S. l.]: InTech, 2018. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/neoplasm/an-overview-of-cancer-treatment-modalities>. Acesso em: 10 set. 2025.

ABDELAZEEM, Nagwa M. *et al.* Evaluation of newly synthesized 2-(thiophen-2-yl)-1H-indole derivatives as anticancer agents against HCT-116 cell proliferation via cell cycle arrest and down regulation of miR-25. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 20045, 2024.

ABOULMAGD, Asmaa M.; ABDELWAHAB, Nada S. Analysis of sunitinib malate, a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor: A critical review. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 163, p. 105926, 2021.

ADLUNG, Lorenz. Cell Cycle. *In: ADLUNG, Lorenz. Cell and Molecular Biology for Non-Biologists*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2022. p. 75–88. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-662-65357-9_7. Acesso em: 4 set. 2025.

AHMAD, Aamir *et al.* Targeted Regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF-κB Signaling by Indole Compounds and their Derivatives: Mechanistic Details and Biological Implications for Cancer Therapy. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1002–1013, 2013.

ALBERTS, Bruce *et al.* **Biologia molecular da célula**. [S. l.]: Artmed, 2021.

ALDUAIS, Yaser *et al.* Non-small cell lung cancer (NSCLC): A review of risk factors, diagnosis, and treatment. **Medicine**, [s. l.], v. 102, n. 8, p. e32899, 2023.

ALTAN, Mehmet *et al.* **Non–Small Cell Lung Cancer: General Principles, Management of Localized Disease, and Treatment of Metastatic Disease without Oncogene Drivers**. *In: THE MD ANDERSON MANUAL OF MEDICAL ONCOLOGY*. 4th. ed. [S. l.]: Kantarjian, Hagop M; Wolff, Robert A.; Rieber, Alyssa G., 2022.

AMIN, Ketan; DANNENFELSER, Rose-Marie. In vitro hemolysis: Guidance for the pharmaceutical scientist. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 95, n. 6, p. 1173–1176, 2006.

ANDRADE, Ana Karolina de Souza *et al.* Anti-migratory and cytotoxic effect of indole derivative in C6 glioma cells. **Toxicology in Vitro**, [s. l.], v. 96, p. 105786, 2024.

ANDRADE, Ana Karolina de Souza. Avaliação do potencial antitumoral in vitro dos derivados sintéticos do indol. [s. l.], 2021. Disponível em: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/17680>. Acesso em: 21 ago. 2025.

ASHRAFI, Adnin *et al.* Current Landscape of Therapeutic Resistance in Lung Cancer

and Promising Strategies to Overcome Resistance. **Cancers**, [s. l.], v. 14, n. 19, p. 4562, 2022.

BABIJCZUK, Karolina *et al.* Indole–Pyrazole Hybrids: Synthesis, Structure, and Assessment of Their Hemolytic and Cytoprotective Properties. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 26, n. 18, p. 9018, 2025.

BAGHBAN, Roghayyeh *et al.* Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. **Cell Communication and Signaling**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 59, 2020.

BAI, Xue *et al.* P2X7 receptor promotes migration and invasion of non-small cell lung cancer A549 cells through the PI3K/Akt pathways. **Purinergic Signalling**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 685–697, 2023.

BAIG, S. *et al.* Potential of apoptotic pathway-targeted cancer therapeutic research: Where do we stand?. **Cell Death & Disease**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. e2058–e2058, 2016.

BARNUM, Kevin J.; O'CONNELL, Matthew J. Cell Cycle Regulation by Checkpoints. *In*: NOGUCHI, Eishi; GADALETA, Mariana C. (org.). **Cell Cycle Control**. New York, NY: Springer New York, 2014. (Methods in Molecular Biology). v. 1170, p. 29–40. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-0888-2_2. Acesso em: 1 set. 2025.

BOCK, Florian J.; TAIT, Stephen W. G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 85–100, 2020.

BORRERO, Liz J. Hernández; EL-DEIRY, Wafik S. Tumor Suppressor p53: Biology, Signaling Pathways, and Therapeutic Targeting. **Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer**, [s. l.], v. 1876, n. 1, p. 188556, 2021.

BOTELHO, Monica C. Carcinogenesis. *In*: REFERENCE MODULE IN BIOMEDICAL SCIENCES. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. B978012801238311150X. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012801238311150X>. Acesso em: 2 jan. 2026.

BOUCHAFFRA, Djamel; YKHLEF, Faycal; BENBELKACEM, Samir. Advancement in Lung Cancer Diagnosis: A Comprehensive Review of Deep Learning Approaches. *In*: REZAEI, Nima (org.). **Lung Cancer Diagnosis and Treatment: An Interdisciplinary Approach**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2024. (Interdisciplinary Cancer Research). v. 9, p. 15–24. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/16833_2024_302. Acesso em: 12 set. 2025.

BOUMAHDI, Soufiane; DE SAUVAGE, Frederic J. The great escape: tumour cell plasticity in resistance to targeted therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 39–56, 2020.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo. **Bogliolo Patologia**. 9. ed. [S. l.]: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2016.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for**

Clinicians, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 229–263, 2024.

BRIX, Nikko *et al.* The clonogenic assay: robustness of plating efficiency-based analysis is strongly compromised by cellular cooperation. **Radiation Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 248, 2020.

BROWN, Joel S. *et al.* Updating the Definition of Cancer. **Molecular Cancer Research**, [s. l.], v. 21, n. 11, p. 1142–1147, 2023.

CAMPBELL, Allison M.; DECKER, Roy H. Immunotherapy and Radiotherapy: New Strategies. In: CHIANG, Anne C.; HERBST, Roy S. (org.). **Lung Cancer**. Cham: Springer International Publishing, 2021. (Current Cancer Research). p. 213–235. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-74028-3_10. Acesso em: 13 set. 2025.

CANEPA, Mariana; DING, Ann; FECHNER, Carsten. Cell Death: Necrosis, Apoptosis. In: CLAUS, Jessica; HANLEY, Linda Corey; OU, Joyce (org.). **General Pathology Student Guide**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2024. p. 50–64. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-662-67962-3_3. Acesso em: 5 nov. 2025.

CAPES-DAVIS, Amanda; FRESHNEY, R. Ian. **Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications**. 8. ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2021.

CARVALHO, Cristina *et al.* Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 16, n. 25, p. 3267–3285, 2009.

CHAZOTTE, Brad. Labeling Mitochondria with Rhodamine 123. **Cold Spring Harbor Protocols**, [s. l.], v. 2011, n. 7, p. pdb.prot5640, 2011.

CHEN, Hsin-Yuan *et al.* Para-toluenesulfonamide, a novel potent carbonic anhydrase inhibitor, improves hypoxia-induced metastatic breast cancer cell viability and prevents resistance to α PD-1 therapy in triple-negative breast cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 167, p. 115533, 2023.

CHEN, Qi; KANG, Jian; FU, Caiyun. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 18, 2018a.

CHEN, Qi; KANG, Jian; FU, Caiyun. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 18, 2018b.

CHOWDHURY, Animesh *et al.* Protease, an Advance Therapeutic Target in Cancer. In: CHAKRABORTI, Sajal; DHALLA, Naranjan S. (org.). **Pathophysiological Aspects of Proteases**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 297–317. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-6141-7_13. Acesso em: 11 set. 2025.

COHEN, Anita *et al.* Synthesis and Promising in Vitro Antiproliferative Activity of Sulfones of a 5-Nitrothiazole Series. **Molecules**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 97–113, 2012.

COLARUSSO, Chiara *et al.* Drug Resistance in Lung Cancer. *In*: REZAEI, Nima (org.). **Lung Cancer Diagnosis and Treatment: An Interdisciplinary Approach**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2022. (Interdisciplinary Cancer Research). v. 9, p. 277–317. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/16833_2022_62. Acesso em: 12 set. 2025.

D'ARCY, Mark S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. **Cell Biology International**, [s. l.], v. 43, n. 6, p. 582–592, 2019.

DE FRANCA, Mariana Nobre Farias *et al.* Anti-proliferative and pro-apoptotic activity of glycosidic derivatives of lawsone in melanoma cancer cell. **BMC Cancer**, [s. l.], v. 21, p. 662, 2021.

DHANI, Shanel; ZHAO, Yun; ZHIVOTOVSKY, Boris. A long way to go: caspase inhibitors in clinical use. **Cell Death & Disease**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 949, 2021.

DHIMAN, Ashima; SHARMA, Rupam; SINGH, Rajesh K. Target-based anticancer indole derivatives and insight into structure–activity relationship: A mechanistic review update (2018–2021). **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 3006–3027, 2022.

DHYANI, Praveen *et al.* Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. **Cancer Cell International**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 206, 2022.

DOS SANTOS, Edmilson Willian Propheta *et al.* Inhibitory effect of O-propargyllawsone in A549 lung adenocarcinoma cells. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 333, 2023.

DUTTA, Kartik *et al.* Synthesis of novel indole-oxadiazole molecular hybrids by a regioselective C-3 sulfenylation of indole with 1,3,4-oxadiazole-2-thiols using iodine-dimethyl sulfoxide and their anticancer properties. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, [s. l.], v. 59, n. 12, p. 2165–2176, 2022.

EMADI, Ashkan; KARP, Judith E. (org.). **Cancer Pharmacology: An Illustrated Manual of Anticancer Drugs**. 1. ed. New York, NY: Springer Publishing Company, 2019. p. 978-0-8261-6204-5 Disponível em: <http://connect.springerpub.com/lookup/doi/10.1891/9780826162045>. Acesso em: 28 dez. 2025.

ENGELAND, Kurt. Cell cycle arrest through indirect transcriptional repression by p53: I have a DREAM. **Cell Death & Differentiation**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 114–132, 2018.

ENGELAND, Kurt. Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling. **Cell Death & Differentiation**, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 946–960, 2022.

ERGÜN, Sercan *et al.* Beyond Death: Unmasking the Intricacies of Apoptosis Escape. **Molecular Diagnosis & Therapy**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 403–423, 2024.

ESKANDER, Georgette *et al.* Insights on the crosstalk among different cell death mechanisms. **Cell Death Discovery**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–22, 2025.

EVANS, Brian C. *et al.* Ex Vivo Red Blood Cell Hemolysis Assay for the Evaluation of pH-responsive Endosomolytic Agents for Cytosolic Delivery of Biomacromolecular Drugs. **Journal of Visualized Experiments : JoVE**, [s. l.], n. 73, p. 50166, 2013.

FAVOR, Olivia K. *et al.* Centrality of Myeloid-Lineage Phagocytes in Particle-Triggered Inflammation and Autoimmunity. **Frontiers in Toxicology**, [s. l.], v. 3, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/toxicology/articles/10.3389/ftox.2021.777768/full>. Acesso em: 15 jan. 2026.

FEITELSON, Mark A. *et al.* Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. **Seminars in Cancer Biology**, [s. l.], v. 35, A broad-spectrum integrative design for cancer prevention and therapy, p. S25–S54, 2015.

FERLAY, J. *et al.* **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today>. Acesso em: 3 mar. 2025.

GALLUZZI, Lorenzo *et al.* Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. **Cell Death & Differentiation**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 486–541, 2018.

GANESH, Karuna; MASSAGUÉ, Joan. Targeting metastatic cancer. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 34–44, 2021.

GHORBANI, Negar *et al.* How does caspases regulation play role in cell decisions? apoptosis and beyond. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 479, n. 7, p. 1599–1613, 2024.

GIARD, Donald J. *et al.* In Vitro Cultivation of Human Tumors: Establishment of Cell Lines Derived From a Series of Solid Tumors2. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, [s. l.], v. 51, n. 5, p. 1417–1423, 1973.

GLORIEUX, Christophe *et al.* Targeting ROS in cancer: rationale and strategies. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 583–606, 2024.

GRECO, Ines *et al.* Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 13206, 2020.

GREEN, Douglas R.; LLAMBI, Fabien. Cell Death Signaling. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. a006080, 2015.

GRIDELLI, Cesare *et al.* Non-small-cell lung cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 15009, 2015.

HAN, Yu *et al.* The importance of indole and azaindole scaffold in the development of antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 203, p. 112506, 2020.

HANAHAHAN, Douglas. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 31–46, 2022.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, [s. l.], v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, [s. l.], v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

HANN, Christine L. Small Cell Lung Cancer: Biology Advances. In: CHIANG, Anne C.; HERBST, Roy S. (org.). **Lung Cancer**. Cham: Springer International Publishing, 2021. (Current Cancer Research). p. 197–211. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-74028-3_9. Acesso em: 13 set. 2025.

HASSAN, Sara M. *et al.* Indole Compounds in Oncology: Therapeutic Potential and Mechanistic Insights. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 17, n. 7, p. 922, 2024.

HAYES, John D.; DINKOVA-KOSTOVA, Albena T.; TEW, Kenneth D. Oxidative Stress in Cancer. **Cancer Cell**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 167–197, 2020.

HE, Qing *et al.* Puncture injection of para-toluenesulfonamide combined with chemoembolization for advanced hepatocellular carcinoma. **World Journal of Gastroenterology : WJG**, [s. l.], v. 18, n. 46, p. 6861–6864, 2012.

HERBST, Roy S.; MORGENSZTERN, Daniel; BOSHOFF, Chris. The biology and management of non-small cell lung cancer. **Nature**, [s. l.], v. 553, n. 7689, p. 446–454, 2018.

HOSSAIN, Mahabuba Binta; HALDAR NEER, Aahil Hossain. Chemotherapy. In: QAZI, Asma Saleem; TARIQ, Kanwal (org.). **Therapeutic Approaches in Cancer Treatment**. Cham: Springer International Publishing, 2023. (Cancer Treatment and Research). v. 185, p. 49–58. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-27156-4_3. Acesso em: 9 set. 2025.

HOU, Haodong *et al.* Design, Synthesis and Anti-Lung Cancer Evaluation of 1, 2, 3-Triazole Tethered Dihydroartemisinin-Isatin Hybrids. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 12, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2021.801580/full>. Acesso em: 15 fev. 2025.

HSU, Jui-Ling *et al.* Autophagic Activation and Decrease of Plasma Membrane Cholesterol Contribute to Anticancer Activities in Non-Small Cell Lung Cancer. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 19, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/19/5967>. Acesso em: 13 jan. 2026.

HSU, Jui-Ling *et al.* Para-Toluenesulfonamide Induces Anti-tumor Activity Through Akt-Dependent and -Independent mTOR/p70S6K Pathway: Roles of Lipid Raft and Cholesterol Contents. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 9, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2018.01223/full>. Acesso em: 13 jan. 2026.

HUANG, Yuhe; HONG, Weiqi; WEI, Xiawei. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis. **Journal of Hematology & Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 129, 2022.

ICARD, Philippe *et al.* Interconnection between Metabolism and Cell Cycle in Cancer. **Trends in Biochemical Sciences**, [s. l.], v. 44, n. 6, p. 490–501, 2019.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. **ABC do câncer : abordagens básicas para o controle do câncer**. 6. ed.ed. Rio de Janeiro: [s. d.], 2020.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2026: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Nacional De Câncer, 2026.

IQBAL, Muhammad Javed *et al.* Interplay of oxidative stress, cellular communication and signaling pathways in cancer. **Cell Communication and Signaling**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 7, 2024.

JAMADAR, Abeda *et al.* The tyrosine-kinase inhibitor Nintedanib ameliorates autosomal-dominant polycystic kidney disease. **Cell Death & Disease**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 947, 2021.

JAMASBI, Elaheh *et al.* The cell cycle, cancer development and therapy. **Molecular Biology Reports**, [s. l.], v. 49, n. 11, p. 10875–10883, 2022.

JANIGA-MACNELLY, Alisha *et al.* Exploring the biological impact of bacteria-derived indole compounds on human cell health: Cytotoxicity and cell proliferation across six cell lines. **Toxicology Reports**, [s. l.], v. 14, p. 101883, 2025.

JIA, Yanshu *et al.* Current scenario of indole derivatives with potential anti-drug-resistant cancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 200, p. 112359, 2020.

JIANG, Bei-Er *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of indole-based hydroxamic acid derivatives as histone deacetylase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 227, p. 113893, 2022.

JOULE, John A.; MILLS, Keith. **Heterocyclic chemistry**. 5. ed., [Nachdr.]ed. Chichester: Wiley, 2011.

JÚNIOR, Dalton Dittz; LEMOS, Fernanda De Oliveira; SILVA, Ana Candida Araujo e. Endogenous Proteases in Tumoral Progression. In: CHAKRABORTI, Sajal; DHALLA, Naranjan S. (org.). **Pathophysiological Aspects of Proteases**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 119–145. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-6141-7_5. Acesso em: 11 set. 2025.

KAUR, Rasanpreet; BHARDWAJ, Alok; GUPTA, Saurabh. Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers. **Molecular Biology Reports**, [s. l.], v. 50, n. 11, p. 9663–9676, 2023.

KEGLEVICH, Péter *et al.* Modifications on the Basic Skeletons of Vinblastine and Vincristine. **Molecules**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 5893–5914, 2012.

KIST, Matthias; VUCIC, Domagoj. Cell death pathways: intricate connections and disease implications. **The EMBO Journal**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. e106700, 2021.

KUMAR, Mommuleti Pradeep *et al.* Pyrido-indole-one hybrids as potential anticancer

agents against breast carcinoma: development of Ru(ii)-catalyzed annulation of indole-2-carboxamides, biological screening and molecular docking studies. **RSC Advances**, [s. l.], v. 15, n. 42, p. 35445–35459, 2025.

KUMAR, Vinay *et al.* Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças. [s. l.], n. 8, 2010.

KUMAR, Sunil; RITIKA. A brief review of the biological potential of indole derivatives. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 121, 2020.

KUMARI, Archana; SINGH, Rajesh K. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic prospectives. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 89, p. 103021, 2019.

LAMBERT, Arthur W.; PATTABIRAMAN, Diwakar R.; WEINBERG, Robert A. Emerging Biological Principles of Metastasis. **Cell**, [s. l.], v. 168, n. 4, p. 670–691, 2017.

LANDI, Claudia *et al.* Idiopathic Pulmonary Fibrosis Serum proteomic analysis before and after nintedanib therapy. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 9378, 2020.

LEITER, Amanda; VELUSWAMY, Rajwanth R.; WISNIVESKY, Juan P. The global burden of lung cancer: current status and future trends. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], v. 20, n. 9, p. 624–639, 2023.

LI, A.-Liang *et al.* Design, Synthesis, and Anticancer Evaluation of Novel Indole Derivatives of Ursolic Acid as Potential Topoisomerase II Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 2876, 2020.

LI, Lingyu *et al.* SAR-guided development of indole-matine hybrids as potential anticancer agents via mitochondrial stress/cytochrome *c*/caspase 3 signaling pathway. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 134, p. 106341, 2023.

LIANG, Baoxia *et al.* Novel Indole-Containing Hybrids Derived from Millepachine: Synthesis, Biological Evaluation and Antitumor Mechanism Study. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 1481, 2023.

LIMAS, Juanita C.; COOK, Jeanette Gowen. Preparation for DNA replication: the key to a successful S phase. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 593, n. 20, p. 2853–2867, 2019.

LIU, Zhikun *et al.* Novel Indole–Chalcone Derivative-Ligated Platinum(IV) Prodrugs Attenuate Cisplatin Resistance in Lung Cancer through ROS/ER Stress and Mitochondrial Dysfunction. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 66, n. 7, p. 4868–4887, 2023.

LONG, Solida *et al.* Indole-Containing Pyrazino[2,1-b]quinazoline-3,6-diones Active against Plasmodium and Trypanosomatids. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 225–235, 2022.

LOPEZ, J.; TAIT, S. W. G. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 112, n. 6, p. 957–962, 2015.

MA, Chenhui; GURKAN-CAVUSOGLU, Evren. A comprehensive review of computational cell cycle models in guiding cancer treatment strategies. **npj Systems Biology and Applications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 71, 2024.

MAJIRSKÁ, Monika *et al.* Discovery of Anticancer Indole-Based 4,5-Dihydroisoxazole Derivative with Selectivity toward Leukemia Cells. **ACS Pharmacology & Translational Science**, [s. l.], v. 8, n. 8, p. 2507–2525, 2025.

MARTINOTTI, Simona; RANZATO, Elia. Scratch Wound Healing Assay. *In*: TURKSEN, Kursad (org.). **Epidermal Cells: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer US, 2020. p. 225–229. Disponível em: https://doi.org/10.1007/7651_2019_259. Acesso em: 3 maio 2025.

MATSON, Jacob P.; COOK, Jeanette G. Cell cycle proliferation decisions: the impact of single cell analyses. **The FEBS journal**, [s. l.], v. 284, n. 3, p. 362–375, 2017.

MATTHEWS, Helen K.; BERTOLI, Cosetta; DE BRUIN, Robertus A. M. Cell cycle control in cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 74–88, 2022.

MCGRANAHAN, Nicholas; SWANTON, Charles. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future. **Cell**, [s. l.], v. 168, n. 4, p. 613–628, 2017.

MEHRA, Anuradha; MITTAL, Amit. Therapeutic Potential of Indole Derivatives: Analytical Perspectives on Their Role in Drug Discovery. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [s. l.], p. 1–21, 2025.

MO, Xingyou *et al.* Indole Derivatives: A Versatile Scaffold in Modern Drug Discovery—An Updated Review on Their Multifaceted Therapeutic Applications (2020–2024). **Molecules**, [s. l.], v. 29, n. 19, p. 4770, 2024.

MOHAMED, Shehab *et al.* The Multidisciplinary Management of Lung Cancer in the European Community. *In*: REZAEI, Nima (org.). **Lung Cancer Diagnosis and Treatment: An Interdisciplinary Approach**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023. (Interdisciplinary Cancer Research). v. 9, p. 347–362. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/16833_2023_168. Acesso em: 12 set. 2025.

MOVIA, Dania *et al.* Multilayered Cultures of NSCLC cells grown at the Air-Liquid Interface allow the efficacy testing of inhaled anti-cancer drugs. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, p. 12920, 2018.

MUSTAFA, Mohd *et al.* Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. **Cells**, [s. l.], v. 13, n. 22, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/13/22/1838>. Acesso em: 6 jan. 2026.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Summary for CID 7895, 2-Pentanone**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7895>. Acesso em: 11 jan. 2026 a.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Summary for CID 18521, p-Tolyl methyl sulfone**. [S. l.], [s. d.].

Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/18521>. Acesso em: 11 jan. 2026 b.

NEWTON, Benjamin; CHIANG, Anne C. Therapeutic Advances in Small Cell Lung Cancer Management. In: CHIANG, Anne C.; HERBST, Roy S. (org.). **Lung Cancer**. Cham: Springer International Publishing, 2021. (Current Cancer Research). p. 175–195. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-74028-3_8. Acesso em: 13 set. 2025.

NGUYEN, Phuong Linh *et al.* Suppression of Tumor Growth and Cell Migration by Indole-Based Benzenesulfonamides and Their Synergistic Effects in Combination with Doxorubicin. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 17, p. 9903, 2022.

NOVÁK, Béla; TYSON, John J. Mechanisms of signalling-memory governing progression through the eukaryotic cell cycle. **Current Opinion in Cell Biology**, [s. l.], v. 69, Cell Signalling, p. 7–16, 2021.

O'CONNOR, O. A. Apoptosis: from biology to therapeutic targeting*. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 22, 11th International Conference on Malignant Lymphoma 15-18 June 2011, Lugano (Switzerland), p. iv76–iv79, 2011.

OLAUSSEN, K. A.; POSTEL-VINAY, S. Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 27, n. 11, p. 2004–2016, 2016.

ORELLANA, Esteban A.; KASINSKI, Andrea L. Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. **Bio-protocol**, [s. l.], v. 6, n. 21, p. e1984, 2016.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DE NORMALIZAÇÃO. **ISO 10993-1:2009 – Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**. [S. l.]: [s. d.], 2009.

OTTO, Tobias; SICINSKI, Piotr. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 93–115, 2017.

OTTONI, Flaviano M. *et al.* Synthesis and cytotoxicity evaluation of glycosidic derivatives of lawsone against breast cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 126817, 2020.

PADMAPRIYA, M.; HAKKIMANE, Sushruta S.; GAONKAR, Santosh L. Synthetic approaches, emerging applications, and challenges of indole-based five-membered heterocycles in medicinal chemistry. **Discover Applied Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 208, 2025.

PANDA, Abir K. *et al.* Role of Proteases in Tumor Immune Evasion. In: CHAKRABORTI, Sajal; DHALLA, Naranjan S. (org.). **Pathophysiological Aspects of Proteases**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 265–296. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-6141-7_12. Acesso em: 11 set. 2025.

PATEL, Aisha. Benign vs Malignant Tumors. **JAMA Oncology**, [s. l.], v. 6, n. 9, p.

1488, 2020.

PENG, Fu *et al.* Regulated cell death (RCD) in cancer: key pathways and targeted therapies. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 286, 2022.

PETER, Marcus E. Apoptosis meets necrosis. **Nature**, [s. l.], v. 471, n. 7338, p. 310–312, 2011.

PETTERSSON, Jenny *et al.* The Flavouring Phytochemical 2-Pentanone Reduces Prostaglandin Production and COX-2 Expression in Colon Cancer Cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 534–537, 2008.

PIJUAN, Jordi *et al.* In vitro Cell Migration, Invasion, and Adhesion Assays: From Cell Imaging to Data Analysis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 7, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2019.00107/full>. Acesso em: 7 nov. 2024.

PRAKASH, B. *et al.* Novel indole derivatives as potential anticancer agents: Design, synthesis and biological screening. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 321–331, 2018.

PRAVIN, Naik Jui *et al.* Indoles as promising Therapeutics: A review of recent drug discovery efforts. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 154, p. 108092, 2025.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 5978, Vincristine**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5978>.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 13342, Vinblastine**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13342>.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 5311497, Vinorelbine**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5311497>.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 5329102, Sunitinib**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5329102>.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 49806720, Alectinib**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/49806720>.

PUBCHEM, National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for Nintedanib**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nintedanib>.

QIAN, Shanna *et al.* The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 12, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.985363/full>.

Acesso em: 9 jan. 2026.

QIN, Rui *et al.* Indole-Based Small Molecules as Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Fibrosis. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, 2022a. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2022.845892/full>. Acesso em: 12 abr. 2025.

QIN, Rui *et al.* Naturally derived indole alkaloids targeting regulated cell death (RCD) for cancer therapy: from molecular mechanisms to potential therapeutic targets. **Journal of Hematology & Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 133, 2022b.

RANG, H P *et al.* **Rang & Dale's pharmacology**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RATHI, Anuj K. *et al.* Kinase Inhibitor Indole Derivatives as Anticancer Agents: A Patent Review. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 55–72, 2017.

REDZA-DUTORDOIR, Maureen; AVERILL-BATES, Diana A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, [s. l.], v. 1863, n. 12, p. 2977–2992, 2016.

RISCAL, Romain *et al.* Give and Take: The Reciprocal Control of Metabolism and Cell Cycle. In: CASTRO, Anna; LACROIX, Benjamin (org.). **Cell Cycle Control**. New York, NY: Springer US, 2024. (Methods in Molecular Biology). v. 2740, p. 155–168. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-1-0716-3557-5_10. Acesso em: 3 set. 2025.

ROMERO, Diana. Adjuvant alectinib improves outcomes in ALK-mutant NSCLC. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], v. 21, n. 7, p. 484–484, 2024.

ROSE, Ray J. The Cell Division Cycle and the Biology of Cancer. In: ROSE, Ray J. **DNA Know Thyself**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024. p. 55–67. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-981-97-8381-6_6. Acesso em: 7 set. 2025.

ROSKOSKI JR., Robert. Targeted and cytotoxic inhibitors used in the treatment of lung cancers. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 209, p. 107465, 2024.

ROTH, Gerald J. *et al.* Nintedanib: From Discovery to the Clinic. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 3, p. 1053–1063, 2015.

ROUFAYEL, Rabih *et al.* BH3-Only Proteins Noxa and Puma Are Key Regulators of Induced Apoptosis. **Life**, [s. l.], v. 12, n. 2, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-1729/12/2/256>. Acesso em: 5 jan. 2026.

RUBIN, Seth M.; SAGE, Julien; SKOTHEIM, Jan M. Integrating old and new paradigms for G1/S control. **Molecular cell**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 183–192, 2020.

SÆBØ, Ingivill Pedersen *et al.* Optimization of the Hemolysis Assay for the Assessment of Cytotoxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 2914, 2023.

SAHOO, Gayatri *et al.* A Review on Caspases: Key Regulators of Biological Activities and Apoptosis. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 60, n. 10, p. 5805–5837, 2023.

SARKAR, N. *et al.* Insights of Indole: A Novel Target in Medicinal Chemistry (A Review). **Russian Journal of General Chemistry**, [s. l.], v. 93, n. 7, p. 1791–1841, 2023.

SHAHZADI, Chman *et al.* A549 as an In Vitro Model to Evaluate the Impact of Microplastics in the Air. **Biology**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 1243, 2023.

SHEN, Sikou; SHAO, Yina; LI, Chenghua. Different types of cell death and their shift in shaping disease. **Cell Death Discovery**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–12, 2023.

SHI, Kai *et al.* Bousigonine D from Bousigonia mekongensis inhibits bladder cancer growth and overcomes cisplatin resistance. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 16254, 2025.

SINGH, Rumani; LETAI, Anthony; SAROSIEK, Kristopher. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 175–193, 2019.

SRAVANTHI, T.V.; MANJU, S.L. Indoles — A promising scaffold for drug development. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 91, p. 1–10, 2016.

TAMANNA, Mirza Tasnia; EGBUNE, Christopher. Traditional Treatment Approaches and Role of Immunotherapy in Lung Malignancy and Mesothelioma. In: QAZI, Asma Saleem; TARIQ, Kanwal (org.). **Therapeutic Approaches in Cancer Treatment**. Cham: Springer International Publishing, 2023. (Cancer Treatment and Research). v. 185, p. 79–89. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-27156-4_5. Acesso em: 9 set. 2025.

TANG, Daolin *et al.* The molecular machinery of regulated cell death. **Cell Research**, [s. l.], v. 29, n. 5, p. 347–364, 2019.

TARIQ, Muhammad Rizwan *et al.* Radiation Therapies in Cancer. In: QAZI, Asma Saleem; TARIQ, Kanwal (org.). **Therapeutic Approaches in Cancer Treatment**. Cham: Springer International Publishing, 2023. (Cancer Treatment and Research). v. 185, p. 59–77. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-27156-4_4. Acesso em: 9 set. 2025.

TEISSEYRE, Andrzej *et al.* Voltage-Gated Potassium Channel Kv1.3 as a Target in Therapy of Cancer. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 9, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2019.00933/full>. Acesso em: 2 nov. 2025.

TISCHLEROVA, Viera *et al.* Indole phytoalexin derivatives induce mitochondrial-mediated apoptosis in human colorectal carcinoma cells. **World Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 23, n. 24, p. 4341–4353, 2017.

TOMASINI, Pascale *et al.* Alectinib in the treatment of ALK-positive metastatic non-small cell lung cancer: clinical trial evidence and experience with a focus on brain

metastases. **Therapeutic Advances in Respiratory Disease**, [s. l.], v. 13, p. 1753466619831906, 2019.

TULI, Hardeep Singh *et al.* Molecular mechanisms behind ROS regulation in cancer: A balancing act between augmented tumorigenesis and cell apoptosis. **Archives of Toxicology**, [s. l.], v. 97, n. 1, p. 103–120, 2023.

VINOD, Adithya *et al.* Unlocking therapeutic potential: exploring indole scaffolds and their structural insights as pharmacophores in designing anti-breast cancer agents. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 33, n. 7, p. 1100–1132, 2024.

VITALE, Ilio *et al.* Apoptotic cell death in disease—Current understanding of the NCCD 2023. **Cell Death & Differentiation**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 1097–1154, 2023.

VOGLER, Meike *et al.* The BCL2 family: from apoptosis mechanisms to new advances in targeted therapy. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 91, 2025.

WAN, Yichao *et al.* Indole: A privileged scaffold for the design of anti-cancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 183, p. 111691, 2019.

WANG, J.-J.; LEI, K.-F.; HAN, F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. **Tumor microenvironment**, [s. l.], v. 22, p. 3855–3864, 2018.

WANG, Xuan; ZHANG, Haiyun; CHEN, Xiaozhuo. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. **Cancer Drug Resistance**, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://www.oaepublish.com/articles/cdr.2019.10>. Acesso em: 10 set. 2025.

WAS, Halina *et al.* Mechanisms of Chemotherapy-Induced Neurotoxicity. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2022.750507/full>. Acesso em: 10 set. 2025.

WELLINGTON, Kevin W. *et al.* Anticancer activity, apoptosis and a structure–activity analysis of a series of 1,4-naphthoquinone-2,3-bis-sulfides. **Investigational New Drugs**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 274–286, 2020.

WU, Lingyun; SAXENA, Sugandha; SINGH, Rakesh K. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. **Advances in experimental medicine and biology**, [s. l.], v. 1224, p. 1–20, 2020.

WU, Xiu; ZHANG, Jinting; YOSHIDA, Yilin. Disentangling the effects of various risk factors and trends in lung cancer mortality. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 8719, 2025.

XU, Xuebo; LAI, Yueyang; HUA, Zi-Chun. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. **Bioscience Reports**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. BSR20180992, 2019.

YAMASHITA, Naoya *et al.* Camalexin, an indole phytoalexin, inhibits cell proliferation, migration, and mammosphere formation in breast cancer cells via the aryl hydrocarbon receptor. **Journal of Natural Medicines**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 110–118,

2022.

YOULE, Richard J.; STRASSER, Andreas. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 47–59, 2008.

YUAN, Salina; NORGDARD, Robert J.; STANGER, Ben Z. Cellular Plasticity in Cancer. **Cancer Discovery**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 837–851, 2019.

YUAN, Junying; OFENGEIM, Dimitry. A guide to cell death pathways. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 379–395, 2024.

ZAHID, Aqsa *et al.* Emerging Paradigms in Lung Cancer Treatment: Recent Breakthroughs and Innovation. In: REZAEI, Nima (org.). **Lung Cancer Diagnosis and Treatment: An Interdisciplinary Approach**. Cham: Springer Nature Switzerland, 2024. (Interdisciplinary Cancer Research). v. 9, p. 43–81. Disponível em: https://link.springer.com/10.1007/16833_2024_255. Acesso em: 28 dez. 2025.

ZHANG, Guanglong *et al.* Synthesis and biological assessment of indole derivatives containing penta-heterocycles scaffold as novel anticancer agents towards A549 and K562 cells. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 2163393, 2023.

ZHAO, Xuan *et al.* Novel indolyl-chalcone derivatives inhibit A549 lung cancer cell growth through activating Nrf-2/HO-1 and inducing apoptosis in vitro and in vivo. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 3919, 2017.

ZHONG, Jian *et al.* Juglone triggers apoptosis of non-small cell lung cancer through the reactive oxygen species -mediated PI3K/Akt pathway. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. e0299921, 2024.

ZHOU, Chen *et al.* Development of Novel Indole-Based Covalent Inhibitors of TEAD as Potential Antiliver Cancer Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 67, n. 18, p. 16270–16295, 2024.

ZHU, Tianhao *et al.* Mechanisms and Future of Non-Small Cell Lung Cancer Metastasis. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 10, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2020.585284/full>. Acesso em: 28 jan. 2025.

ZIARANI, Ghodsi Mohammadi *et al.* Recent advances in the application of indoles in multicomponent reactions. **RSC Advances**, [s. l.], v. 8, n. 22, p. 12069–12103, 2018.

ZOROVA, Ljubava D. *et al.* Mitochondrial membrane potential. **Analytical biochemistry**, [s. l.], v. 552, p. 50–59, 2018.