



**Faculdades Nova  
Esperança**

De olho no futuro

FACULDADE DE ENFERMAGEM NOVA ESPERANÇA  
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

ESTEPHANY BEATRIZ DE MIRANDA BESERRA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO DERIVADO 5'-OXO-1'-FENIL-1',5'-  
DIIDRO-10H-ESPIRO[ACRIDINA-9,2'-PIRROL]-4'-CARBONITRILA (ACMD) EM  
CÉLULAS NÃO TUMORAIS**

JOÃO PESSOA

2022

ESTEPHANY BEATRIZ DE MIRANDA BESERRA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO DERIVADO 5'-OXO-1'-FENIL-1',5'-  
DIIDRO-10H-ESPIRO[ACRIDINA-9,2'-PIRROL]-4'-CARBONITRILA (ACMD) EM  
CÉLULAS NÃO TUMORAIS**

Trabalho de conclusão de curso entregue à  
Faculdade de Enfermagem Nova Esperança  
como exigência para obtenção do título de  
Bacharel em Farmácia.

Orientadora Profa. Dr<sup>a</sup> Ana Paula Gomes  
Moura Farias

JOÃO PESSOA

2022

B465a

Beserra, Estephany Beatriz de Miranda

Avaliação da citotoxicidade do derivado 5'-oxo-1'-fenil-1',  
5'-diidro-10h-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila (acmd)  
em células não tumorais / Estephany Beatriz de Miranda Beserra .

– João Pessoa, 2022.

29f.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. M<sup>ª</sup>. Ana Paula Gomes Moura Farias.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)

– Faculdade Nova Esperança - FACENE

1. Câncer. 2. Citotoxicidade. 3. Derivados Acridínicos. I.  
Título.

CDU: 615.1:616-006

ESTEPHANY BEATRIZ DE MIRANDA BESERRA

Trabalho de conclusão de curso apresentado pela aluna Estephany Beatriz de Miranda Beserra, do curso de Bacharelado em Farmácia, tendo obtido o conceito de \_\_\_\_\_, conforme a apreciação da Banca Examinadora constituída pelos professores:

Aprovado (a) em: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Orientadora: Ana Paula Gomes Moura Farias (FACENE)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Examinadora: Daiene Martins Beltrão (FACENE)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Examinadora: Tatiana Mota Batista (FACENE)

## AGRADECIMENTOS

O primeiro agradecimento é para **Deus**, por se fazer presente em todos os momentos em que pensei que nada daria certo, mas ele me proporcionou força e coragem para conseguir concluir o meu objetivo.

Agradeço a minha mãe **Edcarla Pereira de Miranda**, que com todo seu amor e apoio fez com que eu não desistisse da caminhada e sempre foi meu suporte durante toda essa jornada, sem ela eu não teria conseguido nada. Te amo.

À minha vó **Ednalva Pereira de Miranda** (*in memoriam*), que enquanto esteve presente me deu todo o suporte e amor que eu pude receber, nos momentos de dificuldade sempre se fez presente e mesmo não estando mais aqui continuou me dando forças para continuar.

Ao meu tio **João Sebastião de Miranda Neto** por todo apoio e disponibilidade dedicada.

À cada **familiar/parente** que me ajudaram nessa caminhada, toda ajuda foi fundamental.

Às minhas amigas que o curso me deu **Elyanne Karine** e **Andreza Alves**, obrigada por toda cumplicidade durante esses 4 anos, vocês foram fundamentais durante essa jornada.

À minha orientadora **Ana Paula Moura** que mesmo diante das dificuldades se mostrou presente e ajudou da melhor forma possível. Gratidão!

Aos **meus amigos e colegas** que me acompanharam desde o começo da caminhada e até os que chegaram no finalzinho, vocês também foram fundamentais para minha conclusão.

Aos membros da minha banca **Daiene Martis** e **Tatiana Mota**, por aceitarem avaliar e contribuir com o presente trabalho. Suas sugestões foram fundamentais.

## RESUMO

O câncer é uma doença que é caracterizada pelo crescimento anormal e desordenado de células que podem invadir órgãos. Os medicamentos utilizados na quimioterapia não são seletivos apenas para células tumorais e como consequência causam efeitos adversos. Os derivados acridínicos têm sido utilizados para fins comerciais há mais de um século, eles são muito utilizados em estudos para o desenvolvimento do tratamento de muitas doenças podendo ser citadas, infecções bacterianas, virais, parasitárias e diversos tipos de câncer. Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos citotóxicos do ACMD (5'-OXO-1'-FENIL-1',5'-DIIDRO-10H-ESPIRO[ACRIDINA-9,2'-PIRROL-4'CARBONITRILA) em linhagens de células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs) não tumorais humana, colaborando com as pesquisas científicas desse promissor composto. Tratou-se de uma pesquisa experimental em laboratório que foi realizada em parceria com o Laboratório de Oncofarmacologia (OncoFar) do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba (CCS/UFPB), que se localiza nas dependências do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPEFarM), com observação a partir de experimentos controlados, com alterações de variáveis e instrumentos de coleta de dados submetidos a testes *in vitro* que asseguraram a sua eficácia, além de análise estatística de resultados. A viabilidade das PBMCs foi reduzida após o tratamento com o composto acridínico ACMD (CI 50 :  $34,11 \pm 1,18 \mu\text{M}$ ) em relação ao grupo controle (100% de viabilidade). O índice de seletividade (IS) foi determinado a partir dos valores de CI 50 da célula não tumoral (PBMC) e da linhagem tumoral HL-60. O ACMD foi seletivo (IS>2) para a linhagem tumoral HL-60 (IS: 3,48). Todavia, a droga padrão doxorrubicina apresentou alta toxicidade em células não tumorais, conforme observado pelo baixo valor de CI 50 em PBMC ( $0,05 \pm 0,002 \mu\text{M}$ ). Baseado nos estudos realizados é possível concluir que o novo derivado espiro-acridínico ACMD apresentou baixa citotoxicidade para células não tumorais humanas *in vitro* e apresentou seletividade para célula tumoral.

**Palavras-chave:** câncer; citotoxicidade; derivados acridínicos.

## ABSTRACT

Cancer is a disease that is characterized by the abnormal and disordered growth of cells that can invade organs. The drugs used in chemotherapy are not selective only for tumor cells and as a consequence cause adverse effects. Acridine derivatives have been used for commercial purposes for more than a century, they are widely used in studies for the development of the treatment of many diseases, bacterial, viral, parasitic infections and various types of cancer. Thus, the present work aims to evaluate the cytotoxic effects of ACMD (5'-OXO-1'-PHENYL-1',5'-DIHYDRO-10H-SPIRO[ACRIDINE-9,2'-PYRROL]-4' CARBONITRILE) in human non-tumor human peripheral blood mononuclear cell (PBMC) lines, collaborating with the scientific research of this promising compound. This was an experimental laboratory research that was carried out in partnership with the Oncopharmacology Laboratory (OncoFar) of the Postgraduate Program in Natural and Synthetic Bioactive Products (PPgPNSB) of the Health Sciences Center, Federal University of Paraíba (CCS/UFPB), which is located on the premises of the Institute for Research in Drugs and Medicines (IPeFarM), with observation from controlled experiments, with changes in variables and data collection instruments submitted to in vitro tests that ensured its effectiveness, in addition to statistical analysis of results. The viability of PBMCs was reduced after treatment with the acridine compound ACMD (IC 50 :  $34.11 \pm 1.18 \mu\text{M}$ ) compared to the control group (100% viability). The selectivity index (SI) was determined from the IC 50 values of the non-tumor cell (PBMC) and the HL-60 tumor line. ACMD was selective (SI>2) for the HL-60 tumor line (SI: 3.48). However, the standard drug doxorubicin showed high toxicity in non-tumor cells, as observed by the low IC 50 value in PBMC ( $0.05 \pm 0.002 \mu\text{M}$ ). for human non-tumor cells in vitro and showed selectivity for tumor cells.

**Keywords:** Cancer; Cytotoxicity; Acridine Derivatives.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Estrutura do 5'-oxo-1'-fenil-1',5'-diidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'carbonitrila (ACMD) 16
- Figura 2** Efeito do tratamento (72 horas) com ACMD\*\* (1,56-100  $\mu$ M) e doxorubicina (DXR\*\*\*) (0,31-20  $\mu$ M) na viabilidade de PBMC. 22



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ACMD</b>	5'-oxo-1'-fenil-1',5'-diidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4' carbonitrila
<b>CL50</b>	Concentração que produz 50% de inibição no crescimento celular
<b>CO2</b>	Dióxido de carbono
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido de sódio
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>HL-60</b>	Células de Leucemia Promielocítica Humana
<b>IPeFarM</b>	Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos
<b>LSVM</b>	Laboratório de Síntese e Vetorização Molecular
<b>MTT</b>	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio
<b>ONCOFAR</b>	Laboratório de Oncofarmacologia
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PBMC</b>	Células mononucleares do sangue periférico humano
<b>PPgPNSB</b>	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
<b>RPMI</b>	Roswell Park Memorial Institute médium
<b>SDS</b>	Dodecil sulfato de sódio
<b>UEPB</b>	Universidade Estadual da Paraíba
<b>UFPB</b>	Universidade Federal da Paraíba

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	10
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	10
2.1 ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER	10
2.2 FARMACOTERAPIA / TOXICOLOGIA DOS FARMACOS ANTINEOPLASICOS	12
2.3 ESTUDO DE VIABILIDADE CELULAR	14
2.4 DERIVADOS ACRIDÍNICOS	15
<b>3 OBJETIVOS</b>	17
3.1 OBJETIVO GERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b>	18
4.1 MATERIAL	18
4.1.1 Substâncias	18
4.1.2 Equipamentos	18
4.1.3 Substância Teste	18
4.1.4 Obtenção das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)	18
4.2 MÉTODO	19
4.2.1 Tipo de pesquisa	19
4.2.2 Local de pesquisa	19
4.2.3 Avaliação da citotoxicidade em células não tumorais	20
4.2.4 Cálculo do Índice de seletividade	20
4.2.5 Análise de Dados	20
4.2.6 Aspectos Éticos	21
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	22
<b>6 CONCLUSÃO</b>	25
<b>REFERENCIAS</b>	26
<b>ANEXO</b>	29

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença que se caracteriza pelo crescimento desordenado de células anormais que podem invadir órgãos, tecidos e ainda se espalhar por diversas partes do corpo (ROCHA, 2018). Os dados atuais do Instituto Nacional do Câncer mostram que no ano de 2020, no Brasil, foram diagnosticados somando todas as neoplasias 309.750 novos casos de câncer em homens. Já nas mulheres no ano de 2020 foram diagnosticados 316.280 novos casos.

Atualmente o tratamento do câncer inclui a utilização de vários fármacos com atividade antineoplásica que é denominado quimioterapia (VASSELEK 2020), o tratamento através da radioterapia que utiliza energia ionizante eletromagnética ou corpuscular, que são capazes de impedir a multiplicação de células neoplásicas (SANTOS, 2020). A cirurgia também é uma das formas de tratamento mais utilizadas onde irá acontecer a retirada do tumor através da remoção total ou parcial deste (INCA 2021), vale ressaltar que as opções de tratamento geralmente são utilizadas em conjunto, a fim de potencializar as chances de cura.

Devido a não-especificidade dos medicamentos utilizados na quimioterapia, que como consequência causam efeitos adversos no paciente, é necessário a busca de novas substâncias para redução dos efeitos tóxicos e aumento de sua eficácia (LISBOA, 2020).

Os derivados acridínicos tem se tornado cada vez mais importantes no desenvolvimento de drogas com potencial antitumoral, pois sua estrutura aromática tricíclica linear de acridina tem poder de intercalação de DNA, interferindo nas funções celulares, e por sofrerem modificações na sua estrutura química podendo gerar diversos compostos com diferentes atividades biológicas (BARROS *et al.*, 2012).

Com a descoberta do novo derivado acridínico ACMD com atividade antitumoral nos estudos pré-clínicos de fase 1 (*in vitro* e *in vivo*) (SOUSA, 2019), abre a necessidade de estudo em células saudáveis com objetivo de avaliar sua especificidade.

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos citotóxicos do ACMD em células saudáveis mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs) colaborando com as pesquisas científicas dessa substância promissora.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER

A palavra câncer atualmente é utilizada para cerca de 100 doenças malignas, que no geral são caracterizadas pelo crescimento desequilibrado de células. As células se dividem de forma rápida e desordenada e por esse motivo as células podem se espalhar por diversas localidades do corpo (INCA 2020).

Existem vários tipos de câncer, e o seu tipo vai se dar pela sua localidade e qual célula está sendo atingida. Os carcinomas, por exemplo, tem sua origem em tecidos epiteliais como: pele e mucosas. Já os sarcomas em tecidos conjuntivos como: ossos, músculo ou cartilagem. (INCA, 2020). As leucemias por sua vez, são um grupo de patologias que atingem as células sanguíneas e que se origina a partir de mutações genéticas das células precursoras na medula óssea (CIMOLIN *et al* ,2019).

Os tumores malignos se apresentam com formas irregulares, com núcleo de diferentes tamanhos e formas. As células cancerígenas têm como uma das principais características a invasão dos tecidos vizinhos o que irá levá-las a outras partes do corpo causando metástase (MUNHOZ, *et al* 2016).

Alguns fatores de risco são atribuídos à doença, sendo eles: estilos de vida, ambientais e culturais. Hábitos não saudáveis aumentam ainda mais o risco de desenvolvimento da neoplasia, os fatores genéticos (cerca de 10%) também contribuem para o surgimento, assim como o envelhecimento populacional ( SANTOS, 2021).

No geral o delineamento total de diagnóstico do câncer será variável mediante a proporção de desenvolvimento do país. Cerca de 57% dos casos estão presentes nos países menos desenvolvidos, além disso 65% das mortes causadas pelo câncer também estão presentes nesses países. Já nos países mais desenvolvidos a incidência maior de casos está relacionada a tipos de câncer específicos como os de mama, pulmão, próstata e colorretal. (ANDRADE, 2019).

No Brasil, pode-se destacar o câncer como uma das maiores causas de morte, ficando atrás somente das patologias cardíacas e cerebrovasculares (BARBOSA, *et al* 2015). Os esforços para o rastreamento e diagnóstico vem crescendo, porém os riscos que causam o desenvolvimento da doença ainda estão muito presentes nos brasileiros. O câncer é observado em maior ocorrência nas áreas mais povoadas e industrializadas do país (PANIS, 2018).

Os tipos de câncer mais frequentes no Brasil em homens são próstata (29,2%) e, traqueia, brônquio e pulmão (9,1%), e em mulheres são mama (29,7%) e, cólon e reto (9,2%). Na estimativa para o Brasil no biênio 2020-2022 apontou a ocorrência de cerca de 625 mil casos novos de câncer para cada ano (INCA, 2020).

A formação do câncer é dividida em três fases: iniciação, promoção e progressão. O primeiro estágio como já citado, vai ser o de iniciação onde as células serão expostas a um agente carcinogênico que vai receber o nome de agente oncoiniciador, após essa exposição ocorrerá uma série de mutações no seu gene. O tumor ainda não será localizado, porém as células atingidas já estão modificadas geneticamente (OLIVEIRA e MORAES, 2021). O segundo estágio é o de promoção, nessa fase as células já se encontram alteradas e vão sofrer o efeito dos agentes cancerígenos que são chamados de oncopromotores, a célula será transformada em maligna de forma demorada e gradual (CARDOSO, 2016). O último estágio é o de progressão onde ocorrerá a multiplicação descontrolada. Neste momento a neoplasia maligna já está formada, e o paciente começará a apresentar sinais e sintomas da doença. (OLIVEIRA, 2016).

Após o diagnóstico do câncer, será necessário a escolha do tratamento, existem alguns tipos de tratamentos disponíveis, e sua determinação vai se dar pelo tipo e estágio. O tratamento através da cirurgia consiste na retirada do tumor ou retirada do tecido acometido através de um procedimento cirúrgico, já o tratamento por quimioterapia consiste em um conjunto de medicamentos que pode ser administrado por diversas vias, incluindo endovenosa e oral, regularmente dependendo do esquema terapêutico. A radioterapia, por sua vez, vai atingir a região onde o tumor estiver localizado utilizando equipamentos e técnicas que fará a irradiação do lugar acometido, existe também a imunoterapia, terapia alvo e terapia hormonal. Por vezes o uso dessas terapias ocorrem de forma concomitante (PEIXOTO, 2021).

Embora algumas vezes as terapias utilizadas no tratamento do câncer sejam eficientes, existem efeitos secundários que são debilitantes para os indivíduos em tratamento e levam a uma redução significativa da sua qualidade de vida (SMITH; PREWETT, 2017). Sendo assim, é fundamental investigar novas moléculas mais eficazes e seguras, que atuem com maior seletividade em alvos moleculares específicos das células tumorais, apresentando baixa toxicidade sistêmica para os indivíduos.

## 2.2 FARMACOTERAPIA / TOXICOLOGIA DOS FARMACOS ANTINEOPLASICOS

No mercado existe uma variedade de quimioterápicos (que é o tratamento através de fármacos), que agem por diferentes mecanismos. As principais classes são: os **agentes alquilantes** (ex. ciclofosfamida e cisplatina) que são agentes não específicos do ciclo celular, que agem inibindo a replicação celular, e geralmente são utilizados em combinação com outros agentes antineoplásicos (GABRIEL, *et al* 2017).

**Os antimetabolitos** (ex. 5-fluorouracil, a mercaptopurina e o metotrexato) que desempenham suas funções através da inibição da biossíntese de processos essenciais, ou pela sua incorporação a macromoléculas, tais como DNA e RNA, inibindo a sua função normal (FIDELES, 2020), **antibióticos** (ex. daunorrubicina e doxorrubicina) que atuam nas enzimas envolvidas na replicação do DNA, bloqueando a proliferação celular.

**E os inibidores mitóticos**, que geralmente são compostos derivados de produtos naturais, como plantas, e atuam impedindo as células de se dividirem, modulando diferentes alvos em todas as fases do ciclo. A vinblastina, vincristina (inibem a polimerização dos microtúbulos) e paclitaxel (inibe a despolimerização dos microtúbulos) são representantes desta classe de quimioterápicos (HUANG *et al.*, 2017).

A quimioterapia tem sido de suma importância para os pacientes oncológicos, que pode ser administrada de forma endovenosa ou oral. No entanto, os fármacos com ação antineoplásica não tem capacidade de diferenciar os tecidos normais dos tecidos acometidos por uma neoplasia (CASARI, *et al* 2021).

Esses medicamentos utilizados no tratamento do câncer apresenta uma alta toxicidade para células normais do organismo e os efeitos adversos podem acontecer de forma aguda ou tardia, isto vai depender do período em que vai ocorrer. Os efeitos adversos agudos ocorrerem quando o paciente está em uso dos quimioterápicos e afetam os tecidos que possuem renovação celular rápida, como as células capilares causando alopecia, as células do trato gastrointestinal causando as náuseas e as células da medula óssea causando anemia. Por outro lado, os eventos adversos tardios podem surgir em meses ou até mesmo anos depois do tratamento, e pode ser encontrado em órgãos de maior especificidade celular (JESUS, *et al* 2016).

Portanto a exposição a esses agentes podem causar eventos adversos, que podem acarretar a suspensão do tratamento ou diminuição da dose devido a toxicidade provocada por estes fármacos. (VALENTIM, *et al* 2021).

Atualmente são utilizados diversos antineoplásicos na clínica, e eles ainda apresentam uma toxicidade significativa, entre eles o paclitaxel e a carboplatina que poderá apresentar, anemia, neutropenia, trombocitopenia e neuropatia periférica (CASTRO, 2019); a doxorubicina que pode causar cardiotoxicidade e a toxicidade no sistema musculoesquelético (FEITOSA, 2019)

Diante disso, torna-se inquestionável a necessidade de pesquisas científicas na área do câncer com a finalidade de encontrar compostos com maior eficácia terapêutica e com maior seletividade (CALIXTO-CAMPOS *et al.*, 2013; SAFARZADEH *et al.*, 2014).

### 2.3 ESTUDO DE VIABILIDADE CELULAR

O uso de animais de laboratório tem recebido um controle cada vez mais rigoroso, por esse motivo, é preciso desenvolver e padronizar testes *in vitro* que detectam a atividade farmacológica e toxicidade de determinada substância para utilização em seres humanos, principalmente os de utilização clínica para que não venha causar danos ao organismo do paciente (BORGES, *et al* 2009).

O cultivo celular é uma técnica que permite manter e estudar o comportamento de células vivas fora do organismo. Dá-se por meio do isolamento de células eucarióticas de um determinado tecido (animal ou vegetal), da manutenção da viabilidade e proliferação dessas células em um sistema *in vitro* constituído de nutrientes e fatores essenciais a sobrevivência, sob condições controladas de temperatura, pH e osmolaridade (BARBOSA *et al.*, 2015).

As PBMCs são células sanguíneas do sistema imunológico caracterizadas por possuírem um núcleo redondo e, incluem linfócitos (70-90%, entre os quais células T, células B e células NK), monócitos (10-30%) e mais raramente células dendríticas (1-2%) (MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ;TAVÁREZ;GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, 2019). As PBMCs representam um alvo importante da toxicidade causada pelos quimioterápicos, são uma população celular que são amplamente investigada nos estudos que acompanham a citotoxicidade de novos compostos com potencial antitumoral (GAJEK *et al.*, 2020; LISBOA *et al.*, 2019; SILVEIRA, 2014; YUAN *et al.*, 2016), as células são facilmente extraídas do sangue total e separadas de outros constituintes celulares principalmente por meio de técnicas de centrifugação em gradiente de densidade (HAMOT *et al.*, 2015; HIGDON *et al.*, 2016).

O ensaio de redução de MTT é o método mais usual no mundo para avaliação de toxicidade e atividade metabólica das células, viabilidade e proliferação celular (SOUSA, 2019). O MTT é um corante de cor amarela, que é reduzido por células mitocondrial a um composto azul que tem o nome de formazan não solúvel em solução aquosa. Após a

solubilização, a quantidade de formazan é aferida espectroscopicamente. A quantidade de formazan que será produzido no teste é proporcional a quantidade de células viáveis presentes, tendo em vista que apenas células viáveis reduzem o MTT (amarelo) para o formaram (azul) (SLATER; SAWYER; STRAULI, 1963; MOSMANN, 1983; DENIZOT; LANG, 1986; VINKEN; BLAAUBOER, 2017).

## 2.4 DERIVADOS ACRIDÍNICOS

Derivados acridínicos têm sido utilizados para fins comerciais há mais de um século (BELMONT *et al.*, 2007; MANGUEIRA *et al.*, 2017). As acridinas são formadas por dois anéis benzeno fundidas a um anel central de piridina (KUMAR; KAUR; KUMARI; 2012). Os derivados da acridina são muito utilizados em estudos para o desenvolvimento do tratamento de muitas doenças podendo ser citadas, infecções bacterianas, virais, parasitárias e diversos tipos de câncer (SILVA *et al.*, 2018)

Os derivados acridínicos tem demonstrado grande atividade biológica, os estudos buscam avaliar sua ação nas atividades antitumorais. O Amsacrina (m-AMSA), o derivado acridínico mais conhecido, é um agente anticancerígeno utilizado na clínica que exibe atividade contra leucemia e linfoma, devido a sua intercalação com o DNA e inibição de topoisomerase II, no entanto, é ineficaz em tumores sólidos (KETRON *et al.*, 2012; ZHOU *et al.*, 2018).

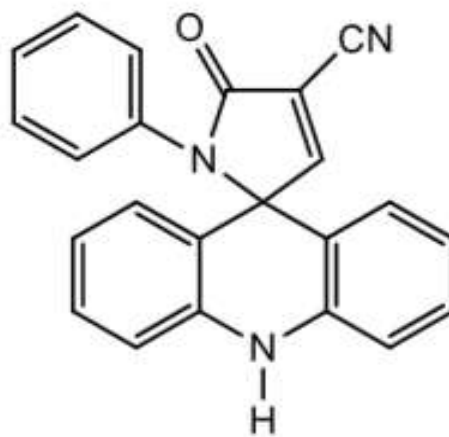
Dependendo da função do substituinte inserido, os derivados da acridina com atividade antitumoral vão agir como agentes intercalantes do DNA, como inibidores específicos da topoisomerase I e/ou II e ainda como inibidores da telomerase (SEGUNDO, 2020).

O derivado acridínico, ACMD, possui um único estudo realizado por Sousa (2019) que demonstrou nos ensaios *in vitro* ter atividade antitumoral para a linhagem HL-60 (leucemia promielocítica humana) com parada do ciclo celular em G2/M e apoptose. Nos ensaio agudo *in vivo* a ACMD apresentou baixa toxicidade quando administrada por via intraperitoneal em camundongos, baixa genotoxicidade, também apresentou atividade antitumoral *in vivo* em modelo de carcinoma ascítico de Ehrlich exercendo nele efeitos imunomoduladores, antioxidantes e antiangiogênicos.

Porém faz-se necessário o estudo desta substância, em células saudáveis, a fim de avaliar sua citotoxicidade para fornecer dados relativos à sua seletividade e segurança.



**Figura 1** Estrutura do 5'-oxo-1'-fenil-1',5'-diidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila (ACMD)



**Fonte:** (SOUSA, 2019)

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliação da citotoxicidade do derivado 5'-Oxo-1'-Fenil-1',5'-Diidro-10h-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila (ACMD) em células não tumorais.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Avaliar a citotoxicidade do ACMD em células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs);
- Determinar o índice de seletividade do ACMD para as células tumorais.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Substâncias

Foram utilizadas soro bovino fetal (SBF) (GIBCO®); Meio de cultura RPMI 1640 e DEMEM (Sigma-Aldrich®); Solução fosfato tamponada (PBS); Dodecil sulfato de sódio (SDS) (Sigma-Aldrich®); Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo (DMSO) (Sigma-Aldrich®); Tripsina (GIBCO®); MTT (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

#### 4.1.2 Equipamentos

Foram utilizados a centrífuga (HETTICH- Zentrifugen- Rotina 380 R); Microscópio invertido (Olympus); Fluxo Laminar (PACHANE 300 ®, Classe IIB2); Leitor de placa (BioTek Instruments, Sinergy HT).

#### 4.1.3 Substância Teste

O composto espiro-acridínico ACMD foi fornecido pelo professor Dr. Ricardo Olímpio de Moura, pertencente ao Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM), da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e sintetizado de acordo com a metodologia descrita por Gouveia e colaboradores (2018). Para a realização dos ensaios *in vitro*, o ACMD foi previamente solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) puro e estéril, posteriormente diluído no meio de cultura específico em cada caso, não ultrapassando a concentração final de 0,4% de DMSO.

#### 4.1.4 Obtenção das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)

Para a realização do ensaio de citotoxicidade em células normais humanas, as células mononucleares do sangue periférico humano (PBMCs) foram isoladas a partir de amostras de sangue humano, cedidas por doadores voluntários sadios. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde, CAAE: 22986519.0.0000.5188, parecer n° 3.935.975.

Para a obtenção destas células, alíquotas de 20 mL de sangue humano contendo o anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) foram homogeneizadas com 20 mL de PBS (tampão fosfato salino), em tubos estéreis. Posteriormente, a mistura obtida foi adicionada em tubos contendo o Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), uma solução estéril específica utilizada na separação do sangue por gradientes de densidade, que permite o isolamento das células mononucleares.

As amostras foram submetidas à centrifugação (400 x g, 20°C, 30 minutos). Em seguida, o plasma foi descartado, o anel contendo as células mononucleares foi cuidadosamente retirado com o auxílio de uma pipeta pasteur estéril e, transferido para um novo tubo do tipo falcon, realizando-se duas centrifugações consecutivas (400 x g, 20°C, por 10 minutos) para lavagem das células com PBS (5-10 mL). Posteriormente, o sobrenadante foi desprezado e o precipitado foi homogeneizado com meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal. A viabilidade celular foi avaliada e os experimentos realizados quando a viabilidade foi igual ou superior a 90%. Para isto, as células foram distribuídas em placas de 96 poços (1x10<sup>6</sup> células/mL) e a proliferação estimulada com 2% de fitohemaglutinina (eBioscience, Thermo Fisher, Rochester, NY), por 24 horas antes do tratamento com as amostras teste.

## 4.2 MÉTODO

### 4.2.1 Tipo de pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental em laboratório, com observação a partir de experimentos controlados, com alterações de variáveis e instrumentos de coleta de dados submetidos a testes que asseguraram a sua eficácia, além de análise estatística de resultados.

### 4.2.2 Local de pesquisa

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas em parceria com o Laboratório de Oncofarmacologia (OncoFar) do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba (CCS/UFPB), que se localiza nas dependências do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IpeFarM).

#### 4.2.3 Avaliação da citotoxicidade em células não tumorais

A avaliação da atividade citotóxica *in vitro* de ACMD frente linhagens de células não tumorais foi realizada por meio do método colorimétrico do MTT (MOSMANN, 1983). As células foram semeadas em placas de 96 poços, em meio RPMI 1640 ou DMEM, numa densidade de  $3,0 \times 10^6$  células/mL. As substâncias testadas foram solubilizadas em DMSO (0,1%). ACMD (0,04 - 21,9 $\mu$ M) incubado durante 72 horas juntamente com a suspensão de células. Doxorubicina (0,007 - 9,19  $\mu$ M) foi utilizada como substância padrão. O controle negativo receberá apenas o veículo (DMSO 0,1%).

Após o período de incubação (72 horas), a placa foi centrifugada (1500 rpm/15 min), e o sobrenadante foi descartado. Cada poço recebeu 200  $\mu$ L da solução de MTT (0.5 mg/mL) e a placa foi reincubada durante três horas, em estufa a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. Após esse período, a placa foi novamente centrifugada (3000 rpm/10 min), o sobrenadante foi desprezado, e o precipitado foi ressuspensionado em 150  $\mu$ L de DMSO. Para a quantificação do sal reduzido nas células metabolicamente viáveis, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 550 nm.

#### 4.2.4 Cálculo do Índice de seletividade

O índice de seletividade (*IS*) representa a seletividade de um determinado composto para as células tumorais em relação às células não tumorais. Este índice foi determinado tomando como base os valores de CI<sub>50</sub> obtidos nos ensaios descritos anteriormente, pela seguinte equação:  $IS = CI_{50} \text{ da linhagem de células não tumorais} / CI_{50} \text{ da linhagem de células tumorais}$ , onde a obtenção de um  $IS \geq 2$  é indicativo de um composto seletivo (PEÑA-MORÁN *et al.*, 2016).

#### 4.2.5 Análise de Dados

Os resultados da viabilidade celular *in vitro* foram analisados segundo suas médias e respectivos erros-padrão. A concentração inibitória capaz de provocar 50% do efeito máximo (CI<sub>50</sub>) e seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) realizado a partir de regressão não-linear no programa GraphPad Prism Software versão 5.0.

#### 4.2.6 Aspectos Éticos

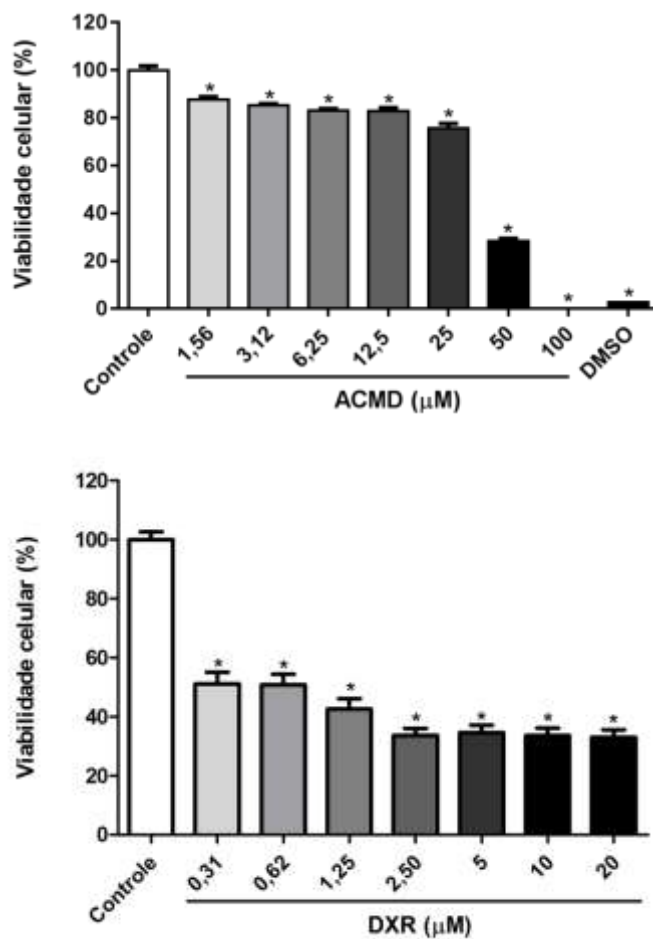
O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde, CAAE: 22986519.0.0000.5188, parecer nº 3.935.975.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Avaliação da citotoxicidade em células não tumorais

A citotoxicidade do derivado acridínico (ACMD) e da droga padrão doxorrubicina (DXR) foi avaliada por meio de diferentes concentrações em células PBMC (Figura 2), obtendo-se os valores de CI 50 e índices de seletividade expressos na Tabela 1.

**Figura 2** Efeito do tratamento (72 horas) com ACMD\*\* (1,56-100  $\mu\text{M}$ ) e doxorrubicina (DXR\*\*\*) (0,31-20  $\mu\text{M}$ ) na viabilidade de PBMC.



Fonte: BESERRA, 2022.

**Legenda:** Dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) de três experimentos independentes em quadruplicata, analisados por ANOVA seguido por Tukey. \*  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle.

\*\* ACMD: 5'-oxo-1'-fenil-1',5'-diidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila

\*\*\* DXR: Doxorrubicina

Tabela 1 Determinação da CI 50 ( $\mu\text{M}$ ) e do índice de seletividade (IS) para o ACMD\*\* e doxorrubicina (DXR\*\*\*), após tratamento (72 horas) em células PBMC. Os valores de CI 50 em células tumorais são apresentados para determinação do IS.

Células	CI <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )		IS	
	ACMD	DXR	ACMD	DXR
HL-60	9,8	NT	3,48	ND
PBMC	34,11 $\pm$ 1,18	0,05 $\pm$ 0,002	-	-

**Fonte:** BESERRA, 2022.

**Legenda:** Dados foram obtidos a partir de três experimentos independentes realizados em quadruplicata, a partir do ensaio do MTT e, apresentados em valores de CI 50 ( $\mu\text{M}$ ). Os valores de CI 50 em células tumorais foram obtidos a partir de estudos prévios (SOUSA, 2019). NT: Não testado. ND: Não Determinado. CI 50 : Concentração que produz 50% de inibição no crescimento celular. IS: Índice de seletividade (CI 50 da célula não tumoral (PBMC)/ CI 50 da célula tumoral (HL-60)).

\*\* ACMD: 5'-oxo-1'-fenil-1',5'-diidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila

\*\*\* DXR: Doxorrubicina

O resultado mostra que como esperando ocorreu redução da viabilidade das PBMCs após o tratamento com o composto acridínico ACMD (CI 50 : 34,11  $\pm$  1,18  $\mu\text{M}$ ) em relação ao grupo controle (100% de viabilidade) (Tabela 1). Porém ao observar o índice de seletividade (IS) que foi determinado a partir dos valores de CI 50 da célula não tumoral (PBMC) e da linhagem tumoral HL-60, pode-se verificar que o ACMD foi seletivo (IS>2) para a linhagem tumoral HL-60 (IS: 3,48). Todavia, a droga padrão doxorrubicina apresentou alta toxicidade em células não tumorais, conforme observado pelo baixo valor de CI 50 em PBMC (0,05  $\pm$  0,002  $\mu\text{M}$ ) (Tabela 1).

Tendo em vista a eficiente atividade citotóxica para HL-60 e baixa citotoxicidade em células sanguíneas saudáveis abre-se a oportunidade de estudos para descoberta de novos compostos seletivos tendo em vista que os fármacos disponíveis atualmente são altamente tóxicos e danosos as células saudáveis.

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo das leucemias mieloides agudas, ela se caracteriza pelo acúmulo de promielocitos no sangue e na medula óssea. Com base na Organização Mundial da Saúde (OMS) a LPA está incluída no grupo de leucemias com anormalidades genéticas recorrentes (SANTANA, 2019). Nesse sentido, é fundamental a descoberta de novos fármacos direcionados para seu tratamento.



Essa seletividade do ACMD difere dos medicamentos que já se encontram em mercado como a doxorrubicina, que foi utilizado como droga padrão e demonstra um grande efeito citotóxico para células não tumorais.

Os fármacos utilizados na quimioterapia citotóxica exibem diversos efeitos colaterais, principalmente por não serem específicos para as células tumorais, causando diferentes ações em células normais que produzem efeitos como alopecia, vômitos, náuseas e mielossupressão, limitando o uso de alguns fármacos disponíveis para o tratamento do câncer (BARRETO et al., 2014; DAVIDSON et al., 2012; YEAGER; OLSEN, 2011).

Buscar novos fármacos seletivos se torna de extrema necessidade, pois quanto maior seu grau de seletividade, menor os danos causados nas células saudáveis, e melhorando também a qualidade de vida do paciente em tratamento.

Levando em consideração todos os dados apresentados, é possível inferir que o composto acridínico ACMD apresenta atividade antitumoral e baixa toxicidade em células saudáveis em estudo *in vitro*. Esses resultados estimulam a continuação dos estudos com esta molécula, visando a contribuição para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para o tratamento do câncer.

## 6 CONCLUSÃO

Baseado nos estudos realizados é possível concluir que o novo derivado espiro-acridínico ACMD:

- Apresentou baixa citotoxicidade para células de PBMC;
- Apresentou seletividade para célula tumoral (HL-60).

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. N. Contribuição dos produtos naturais para o desenvolvimento de tratamentos para o câncer. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 5, n. 2, p. 119, 2019.
- BARBOSA, I. R. et al. Cancer mortality in Brazil: temporal trends and predictions for the year 2030. **Medicine**, v. 94, n. 16, 2015.
- BARROS, F. W. A.; SILVA, T. G.; PITTA, M. G. R.; BEZERRA, D. P.; COSTALOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; MOURA, M. A. F. B.; ABREU, F. C.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; IDA, R. P.; GOULART, M. O. Synthesis and cytotoxic activity of new acridine-thiazolidine derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, Vol. 20, pp. 3533–3539, 2012.
- BARRETO, J. N. et al. Antineoplastic Agents and the Associated Myelosuppressive Effects: A Review. *Journal of Pharmacy Practice*, v. 27, n. 5, p. 440–446, 2014.
- BELMONT, P. et al. Acridine and acridone derivatives, anticancer properties and synthetic methods: where are we now? **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 7, n. 2, p. 139-169, 2007.
- CALIXTO-CAMPOS, C. et al. The Ehrlich tumor induces pain-like behavior in mice: a novel model of cancer pain for pathophysiological studies and pharmacological screening. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.
- CARDOSO, L. D. A. Câncer de mama: Etiopatogenia e tratamentos. 2016.
- CIMOLIN, L. C.; RONSONI, N. F.; JOÃO, P. J. D. M. Leucemias. 2020.
- DAVIDSON, W. et al. Malnutrition and Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting: Implications for Practice. *Oncology Nursing Forum*, v. 39, n. 4, p. E340–E345, 2012.
- DENIZOT, Francois; LANG, Rita. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of immunological methods*, v. 89, n. 2, p. 271-277, 1986.
- DE JESUS, L. G. et al. Repercussões orais de drogas antineoplásicas: uma revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia-UPF**, v. 21, n. 1, 2016.
- DE OLIVEIRA, S. R. B.; MORAES, L. D. L. S. Tipos de tratamento para o câncer de mama.
- DOS SANTOS FERREIRA, T. L. et al. AVALIAÇÃO DA MORBIDADE HOSPITALAR E MORTALIDADE POR NEOPLASIA: 2015-2019. **Revista Ciência Plural**, v. 7, n. 3, p. 235-250, 2021.
- GAJEK, A. et al. Chemical modification of melphalan as a key to improving treatment of haematological malignancies. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–14, 2020.
- GONÇALVES, J. C. R. E SOBRAL M. V. (organizadores). Cultivo de células: da teoria a bancada / – Joao Pessoa : Editora UFPB, 2020.

HAMOT, G. et al. Method validation for automated isolation of viable peripheral blood mononuclear cells. *Biopreservation and Biobanking*, v. 13, n. 3, p.152–163, 2015.

HIGDON, L. E. et al. Virtual Global Transplant Laboratory Standard Operating Procedures for Blood Collection, PBMC Isolation, and Storage. *Transplantation Direct*, v. 2, n. 9, p. e101, 2016.

HUANG, C. Y. et al. A review on the effects of current chemotherapy drugs and natural agents in treating non-small cell lung cancer. **BioMedicine (France)**, v. 7, n. 4, p. 12–23, 2017.

INCA. Ministério da Saúde. **Câncer**. O que é câncer? INCA, Rio de Janeiro,2020.Disponível em <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 29 de set. 2021

INCA. Ministério da Saúde. **Tratamento do Câncer**. O que é cirurgia oncológica? INCA, Rio de Janeiro,2021. Disponível em <https://www.inca.gov.br/tratamento/cirurgia>. Acesso em: 29 de set. 2021

KATT, M. E. et al. In vitro tumor models: advantages, disadvantages, variables, and selecting the right platform. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 4, p. 12, 2016.

KETRON, A. C. et al. Amsacrine as a topoisomerase II poison: importance of drug–DNA interactions. **Biochemistry**, v. 51, n. 8, p. 1730-1739, 2012.

KUMAR, R.; KAUR, M.; KUMARI, M. Acridine: a versatile heterocyclic nucleus. **Acta Pol. Pharm**, v. 69, n. 1, p. 3-9, 2012.

LISBOA, T. et al. Toxicity and Antitumor Activity of a Thiophene-Acridine Hybrid. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n. 1, 2019.

LISBOA, T. M. H. Toxicidade e atividade antitumoral de um híbrido tiofênico-acridínico. 2020.

MANGUEIRA, V. M. et al. A new acridine derivative induces cell cycle arrest and antiangiogenic effect on Ehrlich ascites carcinoma model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 90, p. 253-261, 2017.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, N. L.; TAVÁREZ, S.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, Z. I. In vitro toxicity assessment of zinc and nickel ferrite nanoparticles in human erythrocytes and peripheral blood mononuclear cell. *Toxicology in Vitro*, v. 57, n. January, p. 54–61, 2019.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUNHOZ, M. P. et al. Efeito do exercício físico e da nutrição na prevenção do câncer. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 37, n. 2, p. 09-16, 2016.

PANIS, C. et al. Critical review of cancer mortality using hospital records and potential years of life lost. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, 2018.

PEIXOTO, K. F. A importância do farmacêutico na oncologia: uma revisão. 2021.

PINHEIRO SEGUNDO, M. A. S. Desenvolvimento, avaliação preliminar da atividade antiproliferativa e incremento de solubilidade de novos derivados espiro-acridínicos. 2020.

ROCHA, I. M. G. D. **Toxicidade em pacientes com câncer no trato gastrointestinal durante a quimioterapia: associações com Sarcopenia e Caquexia**. 2018. Brasil

SAFARZADEH, E.; SHOTORBANI, S. S.; BARADARAN, B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 4, n. Suppl 1, p. 421, 2014.

SANTANA, A. Leucemia promielócítica aguda: do diagnóstico precoce ao tratamento. 2019. Centro Universitário de Brasília, Faculdade de Ciências e Saúde (FACES).

SILVA, F. V. D. Síntese, caracterização e avaliação da citotoxicidade de nanopartículas de óxido de níquel em células de fibroblastos e queratinócitos. 2016.

SILVA, M. D. M. et al. Correlation between DNA/HSA-interactions and antimalarial activity of acridine derivatives: Proposing a possible mechanism of action. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 189, p. 165-175, 2018.

SILVEIRA, A. L. Compound A398 , a Novel Podophyllotoxin Analogue: Cytotoxicity and Induction of Apoptosis in Human Leukemia Cells. *PLoS ONE*, v. 9, n. 9, p. 1–9, 2014.

SLATER, T. F.; SAWYER, Barbara; STRÄULI, Ursula. Studies on succinatetetrazolium reductase systems: III. Points of coupling of four different tetrazolium salts III. Points of coupling of four different tetrazolium salts. *Biochimica et biophysica acta*, v. 77, p. 383-393, 1963.

SMITH, S.; PREWETT, S. Principles of chemotherapy and radiotherapy. **Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine**, v. 27, n. 7, p. 206– 212, 2017.

SOUSA, T. K. G. D. Potencial antitumoral e toxicidade do 5'-oxo-1'-fenil-1', 5'-diidro10h-espiro [acridina-9, 2'-pirrol]-4'-carbonitrila (acmd). 2019.

VASSELEK, A. D. J. B. **Estudo da toxicidade de compostos da classe triazenos**. 2020. Universidade Tecnológica Federal do Paraná

VINKEN, Mathieu; BLAAUBOER, Bas J. In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicology in vitro*, v. 39, p. 104-110, 2017.

YEAGER, C. E.; OLSEN, E. A. Treatment of chemotherapy-induced alopecia. *Dermatologic Therapy*, v. 24, p. 432–442, 2011.

YUAN, B. et al. Effects of active bufadienolide compounds on human cancer cells and CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in mitogen-activated human peripheral blood mononuclear cells. *Oncology Reports*, v. 36, n. 3, p. 1377–1384, 2016.

ZHOU, Q. et al. 3-Nitroacridine derivatives arrest cell cycle at G0/G1 phase and induce apoptosis in human breast cancer cells may act as DNA-target anticancer agents. **Life sciences**, v. 206, p. 1-9, 2018.

## ANEXO

**Anexo A – Parecer da Comissão de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde  
(para ensaios com PBMCs)**

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DA TOXICIDADE DE PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS EM CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) DE VOLUNTÁRIOS SADIOS

**Pesquisador:** MARIANNA VIEIRA SOBRAL CASTELLO BRANCO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 22868519.0.0000.5168

**Instituição Proponente:** Centro De Ciências da Saúde

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DA NOTIFICAÇÃO**

**Tipo de Notificação:** Envio de Relatório Parcial

**Detalhe:**

**Justificativa:** O relatório é referente aos dados do trabalho "Toxicidade e potencial antitumoral do

**Data do Envio:** 05/03/2020

**Situação da Notificação:** Parecer Consubstanciado Emitido

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.935.975

**Apresentação da Notificação:**

Bem apresentada

**Objetivo da Notificação:**

Bem definido

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Realizada

**Comentários e Considerações sobre a Notificação:**

Está dentro das normas exigidas

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresentados corretamente pois a sede do estudo também recebeu os resultados parciais aqui

**Endereço:** UNIVERSITÁRIO S/N

**Bairro:** CASTELO BRANCO

**CEP:** 58.051-900

**UF:** PB

**Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (83)3216-7791

**Fax:** (83)3216-7791

**E-mail:** comitodectica@ccs.ufpb.br