

# CIÊNCIAS DA SAÚDE



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
(Organizadores)**

**Atena**  
Editora

Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonaly Rocha  
(Organizadores)

## Ciências da Saúde

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Geraldo Alves e Natália Sandrini

**Revisão:** Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 Ciências da saúde [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Ciências da Saúde; v. 1)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia.

ISBN 978-85-7247-126-8

DOI 10.22533/at.ed.268191802

1. Automedicação. 2. Saúde – Ciência. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Série.

CDD 614.4

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

A obra “*As Ciências da Saúde*” aborda uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 15 capítulos do volume I, apresenta a importância da farmacovigilância com o desenvolvimento de estudos relacionados com biomoléculas ativas na melhoria da qualidade de vida de pacientes, numa perspectiva farmacológica por meio do desenvolvimento e utilização de novas terapias farmacêuticas.

A farmacovigilância se relaciona em todos os aspectos com a utilização de medicamentos, desde seu desenvolvimento com estudos preliminares e laboratoriais a sua utilização empírica ou científica, sendo assim, trata-se da ciência que desempenha atividades relativas à identificação, avaliação, compreensão e prevenção de efeitos adversos ou quaisquer problemas relacionados ao uso de medicamentos. Desta forma, cabe a ela identificar, avaliar e monitorar a ocorrência dos eventos adversos relacionados ao uso dos medicamentos comercializados no mercado brasileiro, com o objetivo de garantir que os benefícios relacionados ao uso desses produtos sejam maiores que os riscos por eles causados.

Atualmente, o desenvolvimento de medicamentos no Brasil se baseia majoritariamente na utilização de produtos naturais. As plantas fornecem uma gama de compostos bioativos que podem ser utilizados das mais diversas formas em medicamentos, possuindo, assim, ações antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes, antidiabéticas, entre outros.

A união entre o desenvolvimento e a utilização de medicamentos compõe um viés gigante para o cuidado com o paciente, uma vez que medicamentos, se utilizados de forma incorreta, tem elevado potencial de causar mal.

Colaborando com tais descobertas este volume I é dedicado aos pesquisadores na área da saúde que buscam um melhor entendimento sobre o desenvolvimento e uso de moléculas bioativas. Trazendo artigos que abordam a avaliação da atividade de diversos compostos biologicamente ativos de plantas; do ácido gálico sobre a formação de biofilme por *Candida albicans*; da radiopacidade de cimentos de ionômero de vidro indicados para tratamento restaurador atraumático; da eficiência da síntese de nanopartículas de prata em extrato de *Beta vulgaris* para aplicação em têxteis com atividade antimicrobiana; e a análise do uso de medicamentos já produzidos e os danos causados por eles, bem como a automedicação.

Ademais, esperamos que este livro possa mudar a perspectiva do leitor sobre o uso inadequado de medicamentos, colaborando e instigando pesquisadores a conhecer o desenvolvimento de novas drogas e impacto social e econômico do seu uso pela sociedade.

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO DA AUTOMEDICAÇÃO REALIZADA POR ALUNOS E FUNCIONÁRIOS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS, UNIDADE DE ITUMBIARA	
Stéphanie Naoum Flávia Borges Carapina Santos Bruna Oliveira da Silva Carvalho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2681918021</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
AS CONTRIBUIÇÕES DA PAPAÍNA COMO MÉTODO TERAPÊUTICO: UM ESTUDO DESCRITIVO DOCUMENTAL	
Isabelle Cristine Figueiredo Matozo Elizabeth Amâncio de Souza da Silva Valsecchi Eduardo Felipe Duarte Nunes Jorseli Angela Henriques Coimbra Maria Emília Grassi Busto Miguel Regina Lucia Dalla Torre Silva Cely Cristina Martins Gonçalves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2681918022</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>24</b>
ANÁLISE RETROSPECTIVA DO USO DE ANTIRRETROVIRAIS PARA HIV EM PACIENTES DE UMA UNIDADE DE SAÚDE EM ANÁPOLIS-GO	
Iris Iasmine de Rezende Araújo Chálita Patrícia de Lima	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2681918023</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>38</b>
AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA RADIOPACIDADE DE CIMENTOS DE IONÔMERO DE VIDRO INDICADOS PARA TRATAMENTO RESTAURADOR ATRAUMÁTICO	
Karlla Almeida Vieira Pedro Affonso Ferreira De Menezes Yann Victor Paiva Bastos Saskia de Souza Pordeus Clarissa Moraes Bastos Clóvis Stephano Pereira Bueno	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2681918024</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>51</b>
ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO COMPLEXO ÁCIDO 3,4-CINÂMICO/RUTÊNIO (II) [RU(3,4CIN)(DPPB)(BIPY)]PF6] SOBRE CÉLULAS DERIVADAS DE CARCINOMA DE PULMÃO	
Gabriel Soares Guerra	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2681918025</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 64**

ATIVIDADE CITOTÓXICA E ANTITUMORAL DO COMPLEXO METÁLICO DE COBRE (II) [Cu(Phen)<sub>2</sub>]  
(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

Fernanda Cardoso da Silva  
Françoise Vasconcelos Botelho  
Suelen Fernandes Silva  
Pedro Henrique Alves Machado  
Lorena Polloni  
Elene Cristina Pereira Maia  
Priscila Pereira Silva Caldeira  
Robson José de Oliveira Júnior

**DOI 10.22533/at.ed.2681918026**

**CAPÍTULO 7 ..... 78**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÁCIDO GÁLICO SOBRE A FORMAÇÃO DE BIOFILME POR *Candida albicans*

Chálita Patrícia de Lima  
Iris Iasmine de Rezende Araújo

**DOI 10.22533/at.ed.2681918027**

**CAPÍTULO 8 ..... 89**

COMPOSTOS BIOATIVOS DE PLANTAS: UM POTENCIAL PARA ANTIMICROBIANOS E ANTIOXIDANTES

Deyzi Caroline da Silva Barbosa  
Paloma Maria da Silva  
Bruno Oliveira de Veras  
Fernanda Granja da Silva Oliveira  
Alexandre Gomes da Silva  
Márcia Vanusa da Silva  
Maria Tereza dos Santos Correia

**DOI 10.22533/at.ed.2681918028**

**CAPÍTULO 9 ..... 98**

TREINAMENTO RESISTIDO NA SÍNDROME SAPHO ASSOCIADA AO USO DA ISOTRETINOINA:  
UM ESTUDO DE CASO

Hellen Christina de Belmont Sabino Medeiros  
Rodrigo Ramalho Aniceto  
Vinicius de Gusmão Rocha  
Antônio Meira Neto  
Cybelle de Arruda Navarro Silva

**DOI 10.22533/at.ed.2681918029**

**CAPÍTULO 10 ..... 107**

TRATAMENTO HOMEOPÁTICO DA DENGUE

Hezraita Vieira Cruz dos Santos  
Murilo Ferreira de Carvalho  
Sandra Ribeiro de Moraes

**DOI 10.22533/at.ed.26819180210**

<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>121</b>
USE OF PATCH TEST TO DETERMINE THE PREVALENCE OF NICKEL ALLERGY IN CHILDREN AGED 5–12 YEARS	
Paula Guerino Bruna Torrel Leandro Berni Osório Kivia Linhares Ferrazzo Renésio Armindo Grehs Vilmar Antônio Ferrazzo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.26819180211</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>129</b>
USO DE FÁRMACOS PROMOVE AUMENTO NA CESSAÇÃO DO TABAGISMO	
Miyoko Massago Maria Lúcia Dantas Idalina Diair Regla Carolino Celso Ivam Conegero	
<b>DOI 10.22533/at.ed.26819180212</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>136</b>
USO DO FITOTERÁPICO <i>Phyllanthus niruri</i> L. (QUEBRA-PEDRA) COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA DA LITÍASE RENAL	
Osmaysa Feitoza da Silva Diêla dos Santos Cunha Jose Augusto Nascimento da Silva Karoline da Silva Torres Liriane Andressa Alves da Silva Lucas Barbosa de Araujo Leal Maiana Marques Rocha Maria de Fatima Sousa Barros Vilarinho Tamires da Cunha Soares Ticianne da Cunha Soares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.26819180213</b>	
<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>143</b>
ESTUDO DA EFICIÊNCIA DA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM EXTRATO DE BETA VULGARIS PARA APLICAÇÃO EM TÊXTEIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	
Otávio Augusto Leitão dos Santos Bianca Pizzorno Backx	
<b>DOI 10.22533/at.ed.26819180214</b>	
<b>CAPÍTULO 15</b> .....	<b>158</b>
HEMO MATCH: UM APLICATIVO PARA LOCALIZAÇÃO DE FENÓTIPOS COMPATÍVEIS	
Ana Luiza Costa Bianca Costa de Lima Daniele Freires de Oliveira Verônica Magna de Lima Wesley Fernandes de Carvalho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.26819180215</b>	
<b>SOBRE OS ORGANIZADORES</b> .....	<b>168</b>

## ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO COMPLEXO ÁCIDO 3,4-CINÂMICO/RUTÊNIO (II) [RU(3,4CIN) (DPPB)(BIPY)]PF<sub>6</sub>] SOBRE CÉLULAS DERIVADAS DE CARCINOMA DE PULMÃO

### Gabriel Soares Guerra

Autor Correspondente: Gabriel Soares Guerra,  
e-mail: gabrielguerra1593@gmail.com, Instituto  
de ciências biomédicas, Rua Gabriel Monteiro  
da Silva, 714; Centro, Alfenas, MG, Brasil. CEP  
37130-000.

**RESUMO:** Complexos metálicos têm sido estudados quanto seu potencial antitumoral, uma vez que a cisplatina e derivados contribuíram significativamente para melhorar as propostas terapêuticas no combate ao câncer. Porém, o uso dos compostos a base de platina é limitado, pois apresentam alta toxicidade e, comumente, as células tumorais desenvolvem resistência ao tratamento. Diante desse contexto, os complexos de rutênio representam uma alternativa promissora, sendo mais seletivos e, portanto, apresentando menor toxicidade às células saudáveis. O presente artigo apresenta os efeitos do complexo rutênio(II)/ácido cinâmico [Ru(cinamic)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> sobre células derivadas de câncer de pulmão (A549). Os resultados dos ensaios de MTS mostram que o complexo estudado reduziu significativamente a viabilidade celular em culturas A549 tratadas por 48 horas (IC<sub>50</sub> = 0.16 ± 0.06 μM), sendo também significativamente mais tóxico que a cisplatina (IC<sub>50</sub> = 24.70 ± 4.78 μM) de forma seletiva às células tumorais, além

de inibir drasticamente a capacidade das células em formar colônias, demonstrado por meio de ensaio clonogênico. Por meio de citometria de fluxo mostra-se que houve significativo aumento da população SubG1 após tratamento, a qual é corresponde a população de células mortas, também mostrando redução nas populações G1, S e G2/M. Conclui-se que o complexo de rutênio(II)/ácido cinâmico tem grande atividade citotóxica sobre células A549 e, portanto, suportam a continuidade do estudo quanto a elucidação dos mecanismos moleculares relacionados á ação do mesmo nas células tratadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Câncer de pulmão, Complexo de Rutênio.

**ABSTRACT:** Metallic complexes have been studied about their antitumor potential, since cisplatin and derivatives have contributed significantly to improve the therapeutical proposals against cancer. Still, the use of compounds based in platin is limited for presenting high toxicity and, generally, tumor cells develop resistance against the treatment. In this context, ruthenium complexes represent a promising alternative, since they are more selective and so, present lower toxicity on healthy cells. The present paper shows the effects of the complex ruthenium(II)/cinnamic acid [Ru(cinamic)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> against cells

derived from lung cancer (A549). The results of the MTS assays show that the present complex reduced significantly cell viability on A549 culture treated for 48 hours ( $IC_{50} = 0.16 \pm 0.06 \mu\text{M}$ ), also being significantly more toxic than cisplatin ( $IC_{50} = 24.70 \pm 4.78 \mu\text{M}$ ) selectively against tumor cells, along with inhibiting dramatically the cells capacity to grow colonies, showed by clonogenic assay. By flow cytometry it was observed significant increase of the SubG1 population after treatment, which corresponds to dead cells, it is also shown a reduction in the G1, S and G2/M populations. It is concluded that the ruthenium (II)/cinnamic acid complex has great cytotoxic activity against A549 cells and supports the continuity of the study about the elucidation of the molecular mechanisms related to its effects on the treated cells.

**KEYWORDS:** Lung Cancer, Ruthenium Complex.

## 1 | INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão é a segunda maior causa de morte no Brasil, correspondendo a 16% do total de óbitos perdendo apenas para doenças cardiovasculares que correspondem a 29% (Schuwartsman et al., 2012), sendo o tabagismo isoladamente a principal causa desse câncer no mundo. De acordo com a Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (International Agency for Research on Cancer – IARC), sobem a 20 os tumores malignos associados com o tabagismo, incluindo o câncer de ovário e o de cólon. (Filho et al., 2010), segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) o carcinoma pulmonar é o mais comum de todos os tumores malignos no território nacional, sendo considerado atualmente a segunda maior causa de morte nos Estados Unidos. Estima-se ainda que o número de óbitos advindos de carcinoma pulmonar ultrapasse as doenças cardíacas nos próximos anos (Siegel et al., 2015).

Como mais de 85% dos pacientes com câncer de pulmão vem a óbito nos primeiros cinco anos após o diagnóstico, a importância deste ser feito no estágio inicial da doença deve ser evidenciada. Apesar do tratamento de escolha para carcinoma broncogênico ser a ressecção cirúrgica por ser a modalidade que oferece a maior chance de cura, infelizmente na maioria dos casos o diagnóstico é feito em uma fase tardia, onde o tumor já se espalhou para além dos limites de ressecabilidade. Desse modo, outras formas de tratamento como a quimioterapia tornam-se de grande importância para a diminuição da morbidade e prolongamento da sobrevida (Uehara et al., 1998), sendo importante ressaltar que em relação aos outros cânceres, têm havido poucas mudanças na sobrevida, a despeito de intensa investigação na detecção precoce e de novos métodos de terapia cirúrgica, radiação e novos fármacos (Mountain 1997).

A cisplatina foi introduzida em testes clínicos no início da década de 70 e os resultados demonstraram que essa droga era um dos mais eficazes agentes disponíveis para o tratamento do câncer. A interação da platina com o DNA pode ocorrer em qualquer posição onde exista um par de elétrons livres, contudo, os átomos de nitrogênio da molécula de DNA estão parcialmente bloqueados por estarem envolvidos em ligações

de hidrogênio intermoleculares. Apesar desta ligação parecer improvável, ela pode ocorrer, por exemplo, durante o processo de replicação e transcrição do DNA, onde as ligações de hidrogênio entre diferentes fitas do DNA são momentaneamente desfeitas permitindo a interação em posições antes bloqueadas pela configuração em dupla hélice (Fontes; Almeida., 1996).

A ligação da cisplatina com o DNA distorce sua estrutura, podendo causar interferência no funcionamento normal de eventos fisiológicos importantes da célula como replicação e transcrição do DNA, em que qualquer modificação é extremamente citotóxica. Adutos de Cisplatina-DNA porém são reparados nas células primariamente pela via de excisão de nucleotídeos (NER), um processo que envolve diversas proteínas e é usado para reparar várias lesões no DNA incluindo danos causados por radiação UV (Chu et al., 1994). Células deficientes em mecanismos de reparo são muito mais sensíveis à cisplatina que células proficientes, demonstrando assim a atividade potencial da cisplatina em células tumorais que, em muitos casos, carecem de reparos eficiente no DNA (Jamieson; Lippard.,1999). Evidências comprovam também que a cisplatina induz as células a entrarem no processo de morte celular expondo assim o principal mecanismo pelo qual o tratamento mata a célula tumoral (Sorenson; Eastman, 1988).

Como a maioria dos quimioterápicos, a cisplatina possui vários efeitos indesejados, destacando-se a toxicidade renal, que foi considerada dose limitante, a toxicidade gastrointestinal e a neurotoxicidade. As manifestações de toxicidade renal, decorrentes da administração de doses baixas, são comumente brandas e reversíveis, já a toxicidade gastrointestinal manifesta-se através de náuseas e vômitos intensos tornando difícil o manejo terapêutico. A neurotoxicidade manifesta-se principalmente através da neuropatia periférica, embora seja geralmente de baixa intensidade e raramente limita o uso da droga. A ototoxicidade apresenta-se como perda parcial da capacidade auditiva principalmente em altas frequências e, por ser irreversível, indica que o uso de cisplatina deve ser interrompido. (Fontes; Almeida., et al 1996).

Uma grande variedade de metais e semi-metais tem sido investigados quanto a sua eficiência em termos de atividade antitumoral (Çesme 2015) e dentre eles o rutênio tem atraído um interesse particular principalmente pela possibilidade de formação de complexos com diversos tipos de moléculas orgânicas e inorgânicas (Li et al., 2014) e por driblar efeitos adversos causados pela cisplatina, que ainda é o mais proeminente dentre os complexos metálicos usados no tratamento antitumoral. Metodologias recentes cada vez mais modernas de isolamento e identificação de novos compostos têm propiciado aumento no número de novas estruturas químicas bioativas, metálicas ou não, para inúmeras indicações terapêuticas (Brandão 2010). Com o aprimoramento da metodologia de cultura de células foi possível o desenvolvimento de diversas linhagens celulares oriundas de tumores humanos, que possibilitaram o desenvolvimento de triagem *in vitro*. Atualmente os métodos que utilizam-se da cultura de células tumorais humanas são os mais utilizados para a descoberta e desenvolvimento de novos

agentes com potencial terapêutico (Carvalho 2006).

Os metais têm um lugar estimado na química medicinal, em particular metais de transição por sua capacidade de formar complexos em que um átomo metálico central é ligado a uma gama de moléculas ou ânions. Diversas drogas como a própria cisplatina fazem uso dessa característica, em particular pela interação desse complexo com o DNA (Çesme et al., 2015). Neste contexto, nos últimos anos o estudo acerca do rutênio tem crescido sem precedentes. Complexos de rutênio tem sido usados nas mais diversas áreas como biologia, medicina, biotecnologia e nanociência. Ambos os seus estados de oxidação Ru(II) e Ru(III) acomodam seis configurações octaédricas em que os ligantes axiais ajudam a refinar as propriedades estéricas e eletrônicas dos complexos (Dragutan, Dragutan, Demonceau 2015).

Atualmente o rutênio é considerado entre uma das mais promissoras alternativas aos compostos de platina. Ambos Ru(II) e Ru(III) são estáveis em soluções fisiológicas, sendo os complexos de rutênio geralmente classificados como pro-fármacos ativáveis por oxi-redução (Lippard; Graf, 2012; Lee et al., 2014). Dentre outras características, é investigado que os compostos de rutênio têm a capacidade de mimetizar o ferro, usando assim o transporte natural de ferro, realizado pelas transferrinas, para serem incorporados para dentro das células, resultando em uma menor toxicidade (Antonarakis, Emadi., 2010). Dois complexos de rutênio passaram por testes clínicos, NAMI-A e KP1019. NAMI-A é capaz não só de prevenir a formação de metástase mas também inibir o crescimento do tumor. Após resultados pré-clínicos satisfatórios em murinos acometidos por câncer de pulmão, NAMI-A foi o primeiro fármaco a base de rutênio a atingir testes clínicos, sendo usada em teste de fase I em pacientes com diferentes tipos de tumores sólidos em metástase. KP1019, ativa contra tumores primários nos quais causa apoptose, foi o segundo fármaco baseado em rutênio a atingir testes clínicos, sendo testado em pacientes com diversos tumores sólidos como melanoma e colo-retal, obtendo-se resultados promissores. (Antonarakis, Emadi., 2010).

Investigações intensas se fazem na escolha das moléculas orgânicas que se ligarão ao rutênio para obtenção de um complexo com maior efetividade no combate ao câncer e testes se utilizando de diversos ligantes podem ser encontrados na literatura, Fontana et. al. (2011) Descreve testes *in vitro* de rutênio complexado a açúcares, que apesar de apresentarem baixa citotoxicidade direta mostraram atividade anti-invasiva em células de melanoma. Outra abordagem é utilizar rutênio complexado á anéis puliaromáticos como descrito por Miserachs et. al., (2015) em que cinco compostos foram sintetizados, e um deles, Ru-fenantronina5,6diona, se mostrou mais citotóxico que a cisplatina.

Rutênio complexado à  $\beta$ -carbolina pôde induzir a ativação da via das caspases (sobretudo caspases 7/3 e caspase 9 induzindo a apoptose em células HeLa no estudo de Chen et al (2013) mostrando a ativade desse complexo nos mecanismos de regulação da morte programada. Mondelli et. al (2014) testou um complexo de rutêno

e pirimidina, Ru(II)/4,6dimetil-2-mercaptopirimidina, em ensaios citotóxicos utilizando também a linhagem HeLa na qual este se mostrou moderadamente citotóxico, já em linhagem U251 não houve caráter citotóxico e por fim na linhagem MDA-MB-231, contra a qual se mostrou extremamente citotóxico. Li et. al. (2015) por sua vez descreveu testes utilizando Rutênio complexado a polipirina, se mostrando altamente citotóxico contra a linhagem BEL-7402.

Alguns complexos de rutênio já foram caracterizados especificamente em linhagens de carcinoma pulmonar. Complexos como rutênio (II) conjugado a fenantrolina e rutênio (III) conjugado a aminoácidos ferrocênicos em associação com base de Mannich foram usados por Ramadevi et al (2015) em testes citotóxicos como MTT na linhagem A549 de carcinoma de pulmão na qual demonstrou acentuamento da morte celular. Correa et. al. (2015) descreve um complexo de rutênio e tiouréia usado também contra a linhagem A549 de carcinoma de pulmão obtendo citotoxicidade aceitável quando comparados ao controle usando cisplatina. Lai et al (2015) descreve a síntese de um complexo de rutênio (II) associado à polipiridina, o qual após testes *in vitro* diminuiu a viabilidade celular em várias linhagens celulares, entre elas a A549.

O ácido cinâmico, molécula escolhida para compor o complexo de rutênio no presente estudo, também pode ser chamado de ácido 3-fenil-2-propenóico consistindo de um ácido graxo aromático natural encontrado em folhas de coca e óleos de canela. Pertence ao grupo das auxinas, hormônios vegetais responsáveis pela regulação do crescimento e diferenciação celular (Liu et al., 1995). Na literatura existem trabalhos que descrevem a atividade antiproliferativa do ácido cinâmico, porém por mecanismos pouco conhecidos na inibição do crescimento tumoral (Liu et al., 1995). Foi também demonstrado que o ácido cinâmico tem a capacidade de reduzir a quantidade de AMP cíclico em células de carcinoma de próstata (Bang et al., 1994). Em linhagens de melanoma, o ácido cinâmico foi capaz de aumentar a produção de melanina e reduzir a capacidade invasiva (Li et al., 1995).

O uso conjunto do ácido cinâmico, uma substância natural com propriedade antiproliferativa já demonstrada, em combinação com o rutênio pode significar uma nova estrutura molecular com atividade antitumoral promissora contra o câncer de pulmão. No presente trabalho foi estudado o efeito de um complexo composto por rutênio e ácido cinâmico (ácido 3,4 cinâmico/Rutênio II), sobre a proliferação de células derivadas de carcinoma pulmonar humano. Por meio dos resultados, contribui-se para o entendimento da ação do rutênio e do ácido cinâmico em conjunto no comportamento proliferativo e na indução da morte celular dessa linhagem, demonstrando um método alternativo de tratamento quimioterápico que não o convencional utilizando a cisplatina.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Linhagem celular e condições de cultivo

Foi utilizada neste estudo a linhagem A549 derivado de carcinoma pulmonar humano obtida junto ao banco de células do Rio de Janeiro. As células foram mantidas em meio de cultura DMEM (*Dulbeccos Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) em atmosfera e temperatura controlada a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>.

### 2.2 Esquema de tratamento

Após a adesão celular (24 horas), as culturas foram tratadas com o complexo [Ru(3,4cin)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, denominado CINAM neste estudo. O complexo CINAM foi solubilizado em DMSO e mantido a -20°C em solução estoque de 20mM. A concentração final de DMSO utilizado nos ensaios não ultrapassou 0,1%. As células foram cultivadas em placas de Petri (24 e 96 poços), em diferentes densidades e tempos de tratamento em acordo com a abordagem experimental utilizada.

### 2.3 Viabilidade celular

#### 2.3.1 Ensaio de MTS

Para avaliar o efeito do tratamento sobre a viabilidade celular foi utilizado o ensaio colorimétrico de MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio); (Promega Corporation, Madison, WI, USA), descrito por Cori et. al. (1991). Este ensaio é baseado na conversão enzimática (desidrogenases) do sal tetrazólio em formazano, o qual absorve luz a 490 nanômetro (nm). A taxa de absorbância é diretamente proporcional ao número de células vivas. Os valores de absorbância obtidos nas amostras tratadas foram comparados com os valores de absorbância das amostras que não foram expostas ao tratamento. As células foram inoculadas em placas de 96 poços na densidade de 5x10<sup>3</sup> células por poço. Após aderência (24h) as células foram tratadas por 24 e 48 horas em diferentes concentrações do complexo CINAM (1,25, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 μM). O valor de foi calculado através do programa GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

#### 2.3.2 Ensaio de Exclusão com Azul de Tripiano

As células foram plaqueadas na densidade de 5x10<sup>4</sup> células por poço em placas de cultura de 24 poços. Após adesão (24h) foi realizado tratamento com CINAM nas concentrações de 2μM e 4μM durante 24, 48 e 72 horas. Nos dias de interesse, as células foram contadas em hemocitômetro na presença do corante azul de tripiano

(0,4%). O experimento foi realizado em triplicata e os resultados apresentados correspondem a média  $\pm$  DP de dois experimentos independentes.

## 2.4 Ensaio de Capacidade Clonogênica

Células em baixa densidade (500 células por poço) foram semeadas em placas de 35mm, de forma que 24h após o plaqueamento as culturas exibissem células aderidas, porém isoladas. Posteriormente, as células foram tratadas por 24 horas com 2,0 e 4,0  $\mu$ M de CINAM e mantidas em meio fresco por 15 dias em estufa a 37°C, contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Após o período de incubação as células foram lavadas com PBSA e fixadas por 30 minutos com Metanol P.A (Sigma Aldrich LTDA, Brasil). Após secagem foram coradas com solução Giemsa 1:4 (Sigma Aldrich LTDA, Brasil) por 5 minutos, depois lavadas com água destilada. A contagem do número de colônias foi realizada com auxílio de lupa. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados apresentados correspondem a média  $\pm$  DP.

## 2.5 Quantificação de DNA para análise de progressão do ciclo celular

Células foram semeadas em placas de 24 poços (densidade 5x10<sup>4</sup> células/poço) e após aderência (24h) foram tratadas com 2,0 e 4,0  $\mu$ M de CINAM por 24 e 48 horas. Após tratamento, as células foram coletadas por digestão enzimática (*Trypsin-EDTA solution*/Sigma Aldrich LTDA, Brasil) e transferidas para tubos de 50mL. O precipitado de células foi obtido por centrifugação (5 minutos a 1000 rpm). Na sequência as células foram fixadas com etanol gelado (75% em PBSA-Salina fosfato tamponada) por 30 minutos. Após nova centrifugação, as células foram coradas por 25 minutos em uma solução contendo PBSA, RNase (10 mg/mL) e Iodeto de Propídio (30 mg/mL)(Guava Technologies-Merck Millipore). As amostras foram analisadas por citometria de fluxo (Guava Mini EasyCyte, 8HT) utilizando-se o software GuavaSoft 2.7.

## 2.6 Análise estatística

Os dados quantitativos são apresentados como a média  $\pm$  desvio padrão (DP). Os dados foram submetidos à análise de variância one-way ANOVA, seguido pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey usando o software GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

# 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Presente trabalho iniciou-se investigando a viabilidade celular da linhagem A549 de carcinoma de pulmão frente o tratamento com o composto [Ru(3,4cin)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, denominado CINAM. A figura 1 apresenta que a redução da viabilidade celular desencadeada pelo complexo CINAM foi concentração e tempo dependente, ou seja, aumentando-se a concentração e prolongando-se o tempo entre a leitura

e o tratamento a viabilidade decaiu. Uma resposta semelhante foi observada por Ramadevi et al. (2015) em que após tratamento da linhagem A594 com um complexo de rutênio ligado a ferrocenos a viabilidade celular teve também um comportamento de dependência em relação à concentração. Lai et al. (2015) utilizou-se da mesma linhagem tratada com rutênio complexado a polipiridinas, e, em seus resultados, foi evidenciado que o percentual de células viáveis diminuiu a medida que maiores concentrações do complexo são utilizadas.

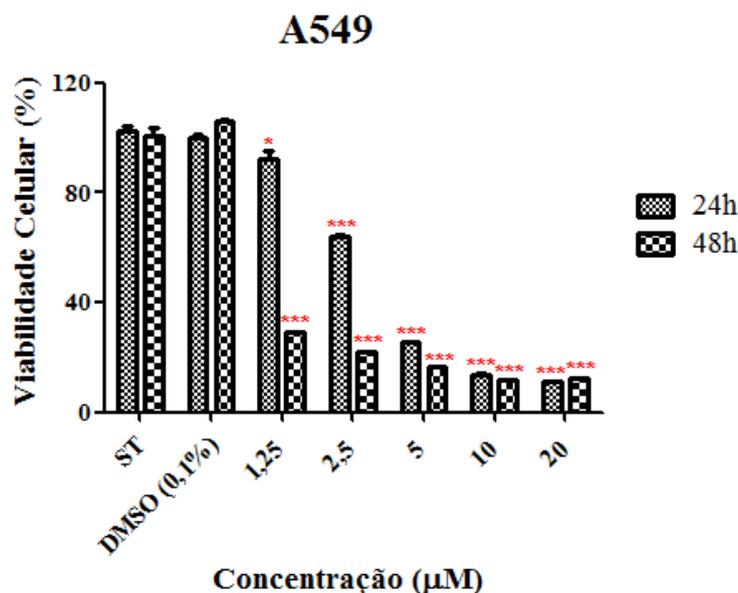


Figura 1. Viabilidade celular determinada por MTS em culturas A549 (carcinoma de pulmão humano). Após tratamento com CINAM em diferentes concentrações ( $\mu\text{M}$ ) por 24 e 48 horas. Os valores de viabilidade celular representados no gráfico referem-se à média das triplicatas obtidas a partir de 2 experimentos independentes. A barra de erros representa o desvio padrão. (ST: sem tratamento DMSO: veículo). \*\*\* $p < 0,001$  e \* $p < 0,05$  de acordo com a análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey.

Com auxílio do software GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) o valor de  $\text{IC}_{50}$  em  $\mu\text{M}$  foi calculado. Comparando com os valores de  $\text{IC}_{50}$  dos precursores do complexo completo (CB e Ac. 3,4-Cinâmico) é possível observar que os componentes do complexo CINAM sozinhos não desempenham atividade citotóxica relevante. Ao comparar-se também o  $\text{IC}_{50}$  do CINAM frente ao controle positivo de Cisplatina (CIS\*) observa-se um valor numérico significativamente menor tanto em 24 quanto em 48 horas de tratamento, o que corrobora para o fato de que o CINAM se mostra mais citotóxico que a cisplatina *in vitro* como mostra a tabela 1.

Composto	24h	48h
CINAM	3.31 ± 0.16	0.16 ± 0.6
Ácido 3,4 cinâmico	n.d	>100
CB	n.d	>100
CIS*	61.84 ± 7.75	24.70 ± 4.78

Tabela 1. Valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos pelo software GraphPad Prism determinados a partir dos

resultados do ensaio de MTS após 24 e 48 horas de tratamento com CINAM, precursores de sua síntese (CB e Ac. 3,4-Cinâmico) e Cisplatina (CIS\*), n.d não determinado.

O índice de seletividade (IS) em relação a linhagem não tumoral também foi calculado e é apresentado na tabela 2. Quando plotados os valores de  $IC_{50}$  após 48 horas de tratamento nas linhagens A549 e CCD-1029Sk (fibroblástica), O complexo CINAM obteve valor 30 de IS se mostrando assim significativamente mais seletivo para as células tumorais que a Cisplatina (CIS\*), que obteve 3,15 de IS *in vitro*.

Composto	Linhagem A549	CCD-1029Sk	IS
CINAM	0.16 ± 0.06	4.80 ± 0.29	<b>30</b>
CIS*	24.70 ± 4.78	77.71 ± 8.22	<b>3,15</b>

Tabela 2: Índices de seletividade do complexo CINAM e da Cisplatina (CIS\*) em linhagem tumoral (A549) e não tumoral (CCD-1029Sk) calculado por meio dos valores de  $IC_{50}$  após o tratamento das duas linhagens no ensaio de MTS.

Os resultados do ensaio de exclusão com azul de tripano são apresentados na figura 2. Quando f tratadas com CINAM na concentração 2  $\mu$ M houve redução acentuada do número de células viáveis nas culturas em todos os tempos de tratamento avaliados, foi possível observar também um aumento do número de células mortas. Já nas culturas tratadas na concentração de 4  $\mu$ M, o número de células mortas correspondiam a 72%, 84% e 94% do total de células contadas, após 24, 48 e 72 horas, respectivamente. O complexo CINAM mostrou assim um caráter mais citotóxico que antiproliferativo nesse ensaio causando a permeabilização da membrana plasmática e consequentemente a morte celular. Fontana et al. (2011) realizou ensaio de exclusão de tripano frente o tratamento de células da linhagem A375 de melanoma em contato com rutênio complexado a derivados de açúcares e apresentou em seus resultados inibição de crescimento celular assim como o obtido no presente trabalho.

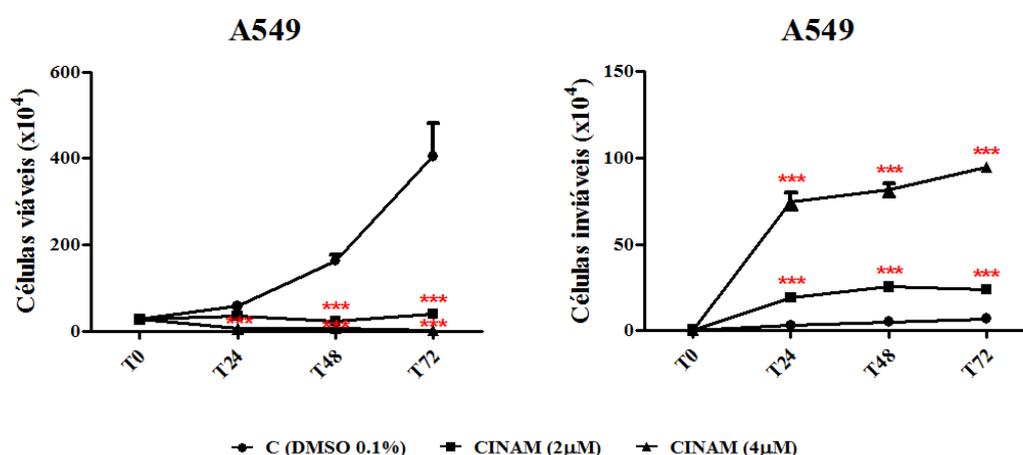


Figura 2. Viabilidade celular determinada pelo ensaio de exclusão com azul de tripano nos tempos 0, 24, 48 e 72 horas após o tratamento da linhagem A549 com o composto CINAM em concentração de 2  $\mu$ M (quadrados) e 4  $\mu$ M (triângulos) e apenas o veículo do mesmo (C, mostrado em círculos) composto de DMSO 0,1%. O experimento foi realizado em triplicata. \*\*\* $p < 0,001$  e \* $p < 0,05$  de acordo com a análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey.

Considerando os dados prévios objetivou-se avaliar a capacidade de CINAM em inibir a proliferação de células A549 por períodos prolongados, e para isso foram realizados ensaios de capacidade clonogênica. O número de colônias obtidas nos tratamentos controle DMSO 0,1% e CINAM nas concentrações de 2  $\mu$ M e 4  $\mu$ M, além de fotografia do aspecto de visual de uma das placas de cada condição de tratamento são apresentados nas Figura 3 e 4. No tratamento de concentração 2  $\mu$ M houve 94% de inibição na formação de colônias ao passo que com 4  $\mu$ M a inibição foi total, não havendo qualquer colônia visível na placa tratada. O ensaio mostra portanto um efeito prolongado do CINAM nas células, que não conseguem reparar os danos causados pelo mesmo resultando em um número de reduzido ou nulo de colônias contabilizadas 15 dias após o tratamento. Sendo assim, o complexo CINAM além citotóxico apresenta caráter antiproliferativo, contendo o crescimento da população celular de A549 após tratamento em diferentes concentrações.

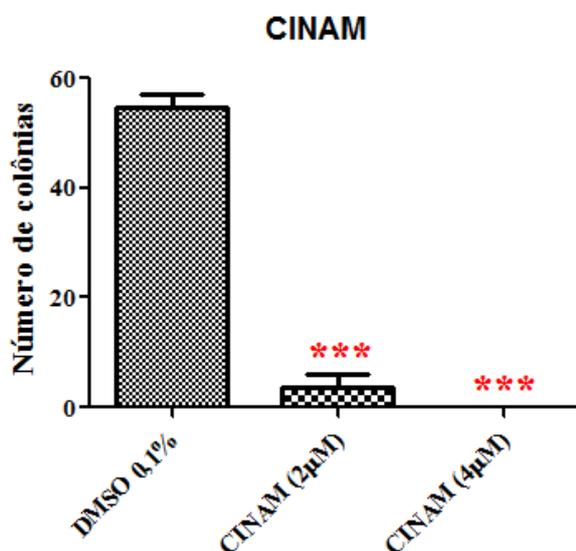


Figura 3. Ensaio de capacidade clonogênica 15 dias após o tratamento com CINAM em concentrações 2  $\mu$ M, 4  $\mu$ M e DMSO 0.1% . Os números de colônias representados no gráfico referem-se à média do experimento realizado em triplicata e a barra de erros representa o desvio padrão. \*\*\* $p < 0,001$  de acordo com a análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey.

É importante ressaltar que, quando tratadas com a concentração de 4 $\mu$ M, as placas não apresentaram qualquer formação de colônias em nenhuma das triplicatas, uma delas mostrada na Figura 4 (C).

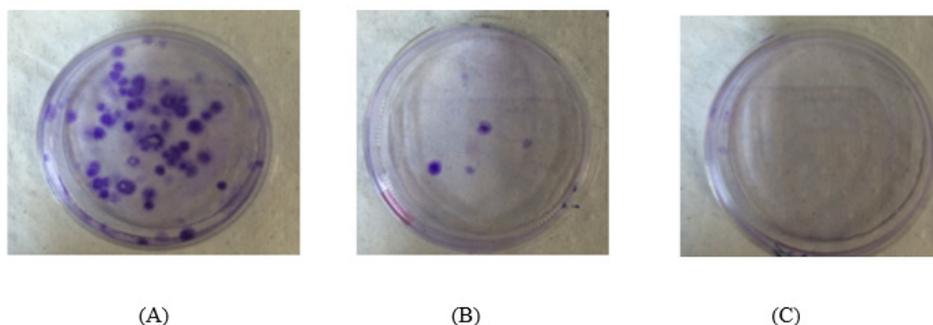


Figura 4. Fotografia das placas de células 15 dias após o tratamento com respectivamente (A) DMSO 0.1%; (B) CINAM 2  $\mu$ M; (C) CINAM 4  $\mu$ M.

Nos presente estudo, também foi realizada análise das diferentes populações distribuídas nas diferentes fases do ciclo celular. De acordo com os resultados obtidos por citometria de fluxo, apresentados na figura 5, houve aumento significativo de células na população SubG1 quando as culturas foram tratadas nas concentrações 2  $\mu$ M e 4  $\mu$ M do complexo CINAM por 24 horas. O mesmo perfil de distribuição foi verificado quando as culturas foram tratadas por 48 horas. O acúmulo de células em SubG1 é um indicativo de citotoxicidade, uma vez que essa população é constituída por células com fragmentação do DNA característica de morte celular (Soares et al 2013). Resultado semelhante de número significativo de células na região SubG1 do ciclo celular foi também apresentado por Li et al (2014) após tratamento da linhagem A549 com rutênio complexado a moléculas de polipiridina.

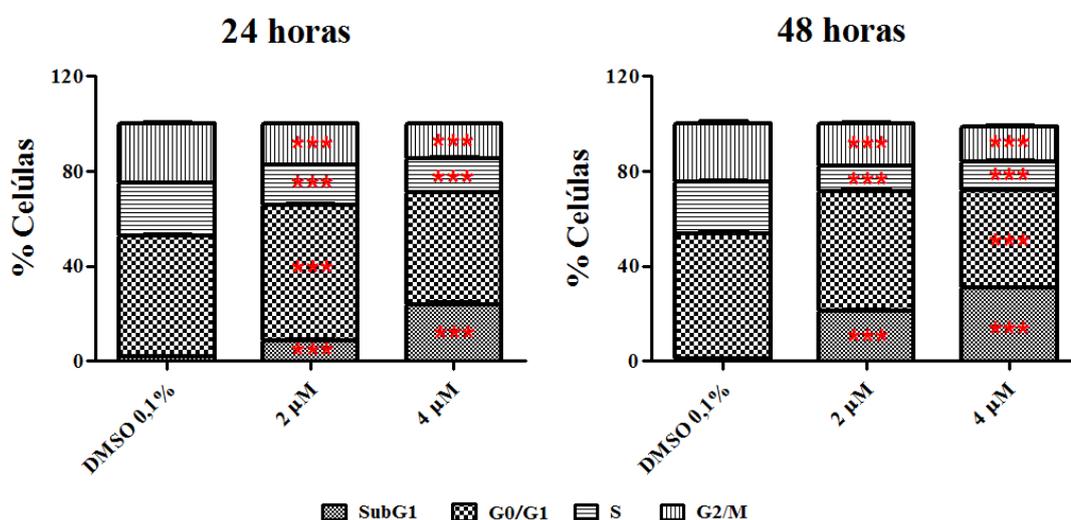


Figura 5. Análise de progressão do ciclo celular da linhagem A549 tratada com o complexo CINAM nas concentrações 2  $\mu$ M e 4  $\mu$ M após 24 e 48 horas de tratamento além de tratamento com controle DMSO 0,1%. \*\*\* $p$ <0,001 de acordo com a análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey.

## 4 | CONCLUSÃO

A busca por compostos igualmente ou mais citotóxicos que a cisplatina porém com maior seletividades às células tumorais é de extrema importância para a medicina atual visto a grande quantidade de efeitos adversos que esse quimioterápico causa ao organismo do paciente em tratamento contra o câncer (Uehara 1998). O Composto CINAM, como demonstrado nos resultados apresentados, se mostrou positivo quanto ao seu efeito citotóxico nas células tratadas, provocando aumento do número de inviáveis após o tratamento. Houve notável seletividade em relação tratamento com células não tumorais, que pôde ser observado pelo elevado valor de IS em relação á cisplatina. O composto apresentou também um caráter antiproliferativo, diminuindo

drasticamente o número de colônias contabilizadas após o tratamento em diferentes concentrações.

Estudos futuros com o CINAM poderão tentar explicar exatamente os mecanismos moleculares envolvidos com os efeitos antiproliferativo e citotóxico do mesmo observados no presente estudo, além da fragmentação de DNA obtida por meio do tratamento com CINAM, que pode ser um indício de indução de morte celular programada.

## REFERÊNCIAS

ANTONARAKIS, E. S.; EMADI, A. Ruthenium based chemotherapeutics: Are they ready for Prime time? *Chemother Pharmacol* (2010) 66:1. p. 1-9. Doi: 10.1007/s00280-010-1293-1, 2010.

BANG, Y. J. et al. **Terminal neuroendocrine differentiation in human prostate carcinoma cells in response to increased intracellular cAMP**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 91 p. 5330-5334, 1994.

BRANDÃO, H. N. **Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas**. *Química Nova*, vol. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

CARVALHO J. E. **Atividade Antiulcerogênica e Anticâncer de Produtos Naturais e de Síntese**. *Multiciência*, vol. 7, p. 1-18, 2006.

ÇESME M. et al. **New metal based drugs: Spectral, electrochemical, DNA-binding, surface morphology and anticancer activity properties**. *Spectrochimica Acta part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 135, p. 887 – 906, 2015.

CHEN, Y. et al. **A Ruthenium(II)  $\beta$  Carboline complex induced p53 mediated apoptosis in cancer cells**. *Biochimie*, vol. 95, p. 2050-2059, 2013.

CHU, G. **Cellular responses to cisplatin** *J. Biol. Chem.* Vol. 269, p. 787-790, 1994.

CORREIA, R. S. **Ru(II) based complexes with N-(-acyl)-N',N'-(disubstitued) thiourea ligands: Synthesis, characterization, BSA and DNA binding studies of new cytotoxic agents against lung and prostate tumor cells**. *Journal of inorganic biochemistry*, vol. 150 p. 63-71, 2015.

DRAGUTAN, I; DRAGUTAN, V; DEMONCEAU, A. **Editorial of Special Issue Ruthenium Complex: The Expanding Chemistry of the Ruthenium Complexes**. *Molecules*, vol. 20, p. 244-274, 2015.

FILHO, V. W. et al. **Tabagismo e câncer no Brasil: evidências e perspectivas**. *Rev Bras Epidemiol*. vol. 13, n. 2, p. 175-187, 2010.

FONTANA, G. et al. **Synthesis, chemical characterization and preliminary in vitro antitumor activity evaluation of new Ru(II) complexes with sugar derivates**. *Polyhedron*, vol. 30, p. 1671-1679, 2011.

FONTES A. P. S, ALMEIDA S. G. **Compostos de platina em quimioterapia do câncer**. *Química nova*, vol. 20 n. 4, p. 398-406, 1996.

JAMIESON, E. R.; LIPPARD S. J. **Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin–DNA Adducts**. *Chem. Rev.* vol. 99 p. 2467–2498, 1999.

LAI, S. H. et al. **Cytotoxic activity, DNA damage, cellular uptake, apoptosis and western blot analysis of Ru(II) polypyridyl complex against human lung decarcinoma A549 cells**. *Journal of*

inorganic biochemistry, n. 152, p. 1-9, 2015.

LEE, H.Z.S. et al. **Oxidative sequence of a ruthenocene-based anticancer drug candidate in a basic environment.** Organometallics, vol. 33, p. 4904-4946, 2014.

LI, W. et al. **Ruthenium (II) complexes: DNA binding, cytotoxicity, apoptosis, cellular localization, cell cycle arrest, reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential and western blot analysis.** Journal of photochemistry and photobiology B: Biology, n. 2. p. 94-104, 2014.

LI W. et al. **Anticancer activity studies of a Ruthenium(II) polypyridyl complex against human hepatocellular (BEL-7402) cells.** Spectrochimica Acta A, vol. 150, p. 127-134, 2015.

LIPPARD, S.J. ;GRAF , N. **Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery.** Adv. Drug Deliv. Vol. 64, p. 993–1004, 2012.

LIU, L. et al. **Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention.** Int J of Cancer, vol. 62 n. 3, p. 355-350, 1995.

MISERACHS, H. G. et al. **Antitumor and Antiparasitic activity of novel ruthenium compounds with polycyclic aromatic compounds.** Journal of inorganic biochemistry, n. 150, p. 38-47, 2015.

MONDELLI, M. A. et al. **Ruthenium(II)4,6/dimethyl-2-mercaptopyrimidine complexes: Synthesis, characterization, X-ray structures and in vitro cytotoxic activities in cancer cell lines.** Polyhedron, vol. 68, p. 312-314, 2014.

MOUNTAIN C. F. **A new international staging system for lung cancer.** Chest, vol. 111, p. 1718-1723, 1997.

RAMADEVI, P. et al. **Ruthenium complexes of ferrocene mannich bases: DNA/BSA interactions and cytotoxicity against A549 cell line.** Journal of photochemistry and photobiology, vol. 305. p. 1-10, 2015.

SCHWARTSMANN, G. et al **Câncer de pulmão no Brasil: Análise em um contexto internacional.** Onco 12.4 p. 22-26, 2012.

SIEGEL, R. L. et al. **Cancer Statistics, 2015.** CA Cancer J Clin, vol. 65, p. 5-29, 2015.

SOARES , N. C. P. et al **Licopeno induz parada de ciclo celular e apoptose em linhagem humana de cancer de colon.** Rev. Ciênc. Méd. Biol., Salvador, v.12, n.2, p.143-148, 2013.

SORENSEN, C. M.; EASTMAN, A. Mechanism of cis-diamminedichloroplatinum(II)-induced cytotoxicity: role of G2 arrest and DNA double-strand breaks. Cancer Res, vol. 48, p. 4484-4488, 1988.

UEHARA, C.; JAMNIK, S.; SANTORO, I. L. **Câncer de pulmão.** Medicina, Ribeirão Preto. v. 31, p. 266-276, 1998.

CORY, A. H. et al. **Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture.** Cancer Commun, , v. 3, p. 207-212, 1991.

## SOBRE OS ORGANIZADORES

**NAYARA ARAÚJO CARDOSO** Graduada com titulação de Bacharel em Farmácia com formação generalista pelo Instituto Superior de Teologia Aplicada – INTA. Especialista em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêuticos pela Escola Superior da Amazônia – ESAMAZ. Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral. Membro do Laboratório de Fisiologia e Neurociência, da Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral, no qual desenvolve pesquisas na área de neurofarmacologia, com ênfase em modelos animais de depressão, ansiedade e convulsão. Atualmente é Farmacêutica Assistente Técnica na empresa Farmácia São João, Sobral – Ceará e Farmacêutica Supervisora no Hospital Regional Norte, Sobral – Ceará.

**RENAN RHONALTY ROCHA** Graduado com titulação de Bacharel em Farmácia com formação generalista pelo Instituto Superior de Teologia Aplicada - INTA. Especialista em Gestão da Assistência Farmacêutica e Gestão de Farmácia Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes. Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas pela Faculdade Farias Brito. Especialista em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêuticos pela Escola Superior da Amazônia - ESAMAZ. Especialista em Micropolítica da Gestão e Trabalho em Saúde do Sistema Único de Saúde pela Universidade Federal Fluminense. Farmacêutico da Farmácia Satélite da Emergência da Santa Casa de Sobral, possuindo experiência também em Farmácia Satélite do Centro Cirúrgico. Membro integrante da Comissão de Farmacovigilância da Santa Casa de Misericórdia de Sobral. Farmacêutico proprietário da Farmácia Unifarma em Morrinhos. Foi coordenador da assistência farmacêutica de Morrinhos por dois anos. Mestrando em Biotecnologia pela Universidade Federal do Ceará.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-126-8



9 788572 471268