



**Universidade Federal de Alagoas  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DE PLANTAS MEDICINAIS  
UTILIZADAS COMO COADJUVANTES NO TRATAMENTO DO CÂNCER  
PELOS PACIENTES DO CACON / UFAL**

**Círia Vieira Barbosa**

**Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em  
Ciência da Saúde da Universidade  
Federal de Alagoas, como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
Mestre em Ciências da Saúde.**

**Orientador: Prof. Dr. João Xavier de  
Araújo Júnior**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Magna  
Suzana Alexandre Moreira**

**Maceió – AL, março de 2009**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

**Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale**

- B238a    Barbosa, Círia Vieira.  
          Avaliação do potencial antineoplásico de plantas medicinais como  
          coadjuvantes no tratamento do câncer pelos pacientes do CACON/UFAL / Círia  
          Vieira Barbosa, 2009.  
          viii, 98 f. : il.
- Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.  
          Co-Orientadora: Magna Suzana Alexandre Moreira.  
          Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal  
          de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2009.
- Bibliografia: f. 69-88.  
          Anexos: f. 89-98.
1. Câncer. 2. Antineoplásicos. 3. Plantas medicinais. 4. Toxicidade.  
          5. Etnofarmacologia. I. Título.

CDU: 615.89



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna Círia Vieira Barbosa, intitulada:  
"Avaliação do potencial antineoplástico de plantas medicinais utilizadas como coadjuvantes  
no tratamento da câncer pelos pacientes do CACON/UFAL", orientada pelo Prof. Dr.  
João Xavier de Araújo Júnior, apresentada ao Programa de Pós Graduação em  
Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 13 de março de 2009.

Os membros da Banca Examinadora, consideraram a candidata APROVADA

**Banca Examinadora:**

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Eurica Adélia Nogueira Ribeiro - (Titular)  
Escola de Enfermagem e Farmácia - ESENFAR/UFAL

Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto - (Titular)  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS/UFAL

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Teresinha Gonçalves da Silva - (Titular)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior - (Orientador)  
Escola de Enfermagem e Farmácia - ESENFAR/UFAL

**Dedico este trabalho aos usuários do Setor de Oncologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Alagoas, que muito gentilmente, forneceram as informações iniciais para este trabalho.**

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

A Deus que me mostra sempre o melhor caminho;

À minha mãe Marta Izabel (*in memoriam*) que sempre me estimulou a estudar e a persistir em meus objetivos e, ao meu pai José Vieira (*in memoriam*) pelo carinho e pelas frutas deixadas em minha cama nas manhãs de minha infância;

Ao meu marido Tadeu pelo companheirismo, compreensão e amor;

Aos meus filhos Davi e Clara pela alegria de ser mãe;

Aos meus irmãos Francisco, José, Carlos e Marcos pelo carinho sempre;

Aos meus cunhados e cunhadas pela amizade e carinho;

À minha querida sogra Laura, pelo carinho incondicional;

A todos os meus sobrinhos pelo carinho e pelas folias;

Aos meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior pelos ensinamentos, incentivos e pela grande amizade;

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva, por ter me recebido tão gentilmente no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para a elaboração dos ensaios *in vivo*;

Ao Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará (UFCE), em especial à Prof<sup>a</sup>. Dra. Cláudia do Ó Pessoa pela realização dos ensaios *in vitro*;

Ao Professor Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana pelo apoio e por ter me recebido no Laboratório de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL);

Ao Prof. Dr. Ricardo Luís Simões Houly, da Faculdade de Medicina/UFAL, pela boa vontade e pelo estudo histopatológico;

Ao doutorando Karlos Lisboa pela paciência, dedicação e pela prestimosa colaboração nos ensaios de toxicidade;

À doutoranda Jaciana Santos Aguiar e Sílvia Rafaelli Ramos (Iniciação Científica) pela prestimosa ajuda nos ensaios *in vivo*;

Aos estagiários e bolsistas do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco;

Ao meu amigo mestrando José Roberto de Oliveira Ferreira, do Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, pela realização dos ensaios *in vitro*;

Ao doutorando João Donato e à bolsista Beatriz (Bia) pela ajuda na utilização do programa estatístico PROBIT;

A todos os colegas, funcionários e bolsistas do Laboratório de Química e Biotecnologia/UFAL, em especial a Aldy dos Santos pela simpatia e pela obtenção e tratamento das espécies vegetais.

A Benedito Santos Braz pelas informações e coleta de algumas espécies vegetais.

Aos meus colegas mestrandos do ICBS, pela amizade, companheirismo e solidariedade.

Aos meus companheiros de docência pelo apoio e compreensão, em especial, a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sâmia Andrícia Souza da Silva e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Éurica Adélia Nogueira Ribeiro pelas sugestões e correções;

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	iv
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS</b>	v
<b>RESUMO</b>	vi
<b>ABSTRACT</b>	vii
<b>CAPÍTULO I PARTE I - INTRODUÇÃO</b>	1
<b>CAPÍTULO I PARTE II - OBJETIVOS</b>	4
<b>2. OBJETIVOS</b>	5
<b>2.1. Geral</b>	5
<b>2.2. Específicos</b>	5
<b>CAPÍTULO II PARTE I - NEOPLASIAS E INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL</b>	6
<b>1- Considerações sobre Neoplasias</b>	7
<b>2 - Terapias Antineoplásicas</b>	11
<b>2.1 - Tipos de quimioterapias</b>	13
<b>2.1.1 - Monoquimioterapia</b>	13
<b>2.1.2 - Poliquimioterapia</b>	13
<b>2.1.3 - Principais drogas utilizadas no tratamento do câncer</b>	14
<b>2.1.3.1 - Alquilantes</b>	14
<b>2.1.3.2 - Antimetabólitos</b>	14
<b>2.1.3.3 - Antibióticos</b>	14
<b>2.1.3.4 - Inibidores mitóticos</b>	14
<b>2.2 - Agentes antineoplásicos oriundos de plantas medicinais</b>	15
<b>CAPÍTULO II - PARTE II - ASPECTOS BOTÂNICOS, QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DAS ESPÉCIES ESTUDADAS</b>	17
<b>1 - <i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.</b>	18
<b>2 - <i>Annona muricata</i> L.</b>	19
<b>3 - <i>Cnidioscolus urens</i> (L.) Arthur</b>	20
<b>4 - <i>Euphorbia tirucalli</i> L.</b>	21
<b>5 - <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit</b>	22
<b>6 - <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville</b>	23
<b>7 - <i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.</b>	24
<b>8 - <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi</b>	25
	27
<b>CAPÍTULO III - EXPERIMENTAL</b>	
<b>1 - Materiais, métodos e instrumentos</b>	28
<b>1.1 - Formulário de coleta de dados</b>	28
<b>1.2 - Material botânico</b>	28
<b>1.3 - Material biológico</b>	29
<b>1.4 - Solventes, reagentes e equipamentos</b>	29
<b>1.5 - Obtenção dos extratos e sucos das espécies coletadas</b>	31
<b>1.6 - Testes de toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> (BST)</b>	32
<b>2 - Prospecção fitoquímica das espécies vegetais</b>	32
<b>2.1 - Teste para fenóis e taninos</b>	32
<b>2.2 - Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides</b>	33
<b>2.3 - Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas</b>	33

2.4 - Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas	34
2.5 - Teste para esteróides e triterpenóides	34
2.6 - Teste para saponinas	34
2.7 - Teste para alcalóides	34
2.8 - Teste para antraquinonas, antronas e cumarinas	35
<b>3 - Teste de citotoxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> (BST)</b>	<b>35</b>
<b>4 - Citotoxicidade <i>in vitro</i></b>	<b>36</b>
4.1 - Amostras	36
4.2 - Material	37
4.3 - Método	37
<b>4.4 - Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos de camundongos <i>Mus musculus Swiss</i></b>	<b>38</b>
4.4.1 - Material	38
4.4.2 - Método	38
<b>4.5 - Atividade citotóxica em células de linhagens tumorais</b>	<b>39</b>
<b>4.6 - Ensaio do Alamar Blue</b>	<b>40</b>
4.6.1 - Princípio do método	40
<b>4.7- Atividade citotóxica em Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC)</b>	<b>41</b>
<b>5 - Ensaio de atividade antitumoral <i>in vivo</i></b>	<b>42</b>
<b>CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>1- COLETA DE DADOS NO CACON / HUPAA / UFAL</b>	<b>45</b>
<b>2- PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA</b>	<b>47</b>
<b>3 - Testes de toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach (BST)</b>	<b>50</b>
<b>4 - Citotoxicidade <i>in vitro</i></b>	<b>51</b>
4.1 - Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos de camundongos <i>Mus musculus Swiss</i>	59
4.2 - Atividade citotóxica em Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC)	59
<b>5 - Avaliação da atividade antitumoral <i>in vivo</i> utilizando Sarcoma 180</b>	<b>60</b>
<b>6 - Análise histopatológica</b>	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO V - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b>	<b>67</b>
<b>Referências bibliográficas</b>	<b>69</b>
<b>Anexos</b>	

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		p.
1	Ciclo de replicação celular esquemático para célula em mitose	12
2	(1) Vincristina, (2) Vinblastina, (3) Etoposida, (4) Teniposida, (5) Paclitaxel.	16
3	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f	19
4	<i>Annona muricata</i> L	20
5	<i>Cnidosculus urens</i> (L.) Arthur	21
6	<i>Euphorbia tirucalli</i> L	22
7	<i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit	23
8	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	24
9	<i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb	25
10	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	26
11	Foto ilustrativa de larva de <i>Artemia salina</i>	36
12	Ensaio de citotoxicidade pelo método MTT	38
13	Ensaio de Alamar Blue	41
14	Esquema de atividade citotóxica em PBMC	42
15	Implantação s.c. de Sarcoma 180 camundongo albino suíço	43
16	Tumor axilar em animal-controle (8 dias após implantação)	43
17	Tipos de câncer dos pacientes entrevistados no CACON / HUPAA	47
18	Representação gráfica das médias de % de inibição de crescimento tumoral das amostras	61
19	Aspecto geral dos tumores (Sarcoma 180)	62
20	Histopatologia dos fígados de camundongos transplantados com Sarcoma 180	63
21	Histopatologia dos baços de camundongos transplantados com Sarcoma 180	64
22	Histopatologia dos rins de camundongos transplantados com Sarcoma 180	65

## LISTA DE TABELAS

TABELA		p.
1	Estimativa do número de novos casos e mortes para cada tipo comum de câncer (AMERICAN CANCER SOCIETY, (2008)	8
2	Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos novos por câncer, em homens, segundo localização primária	9
3	Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos novos por câncer, em mulheres, segundo localização primária.	10
4	Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos novos por câncer, em homens em Alagoas, segundo localização primária.	10
5	Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e número de casos novos por câncer em Alagoas, em mulheres, segundo localização primária.	10
6	Números de registro das exsicatas das espécies coletadas e depositadas no Herbário MUFAL/Ufal.	28
7	Preparação dos extratos das espécies estudadas	31
8	Plantas usadas pelos portadores de câncer do CACON / HUPAA	45
9	Espécies com maior freqüência de citações e/ou com relatos de toxicidade	46
10	Prospecção fitoquímica	47
11	Valores de CL <sub>50</sub> ( mg/mL) calculados a partir do bioensaio com <i>Artemia salina</i> .	50
12	Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 50 µg/mL. Valores são média ± DPM.	52
13	Concentração inibitória do crescimento celular (CI <sub>50</sub> ) dos extratos de <i>A. muricata</i> e <i>H. pectinata</i> em quatro linhagens tumorais e em PBMC, e seus respectivos intervalos de confiança.	59
14	Efeito antitumoral dos extratos administrados por via i.p em camundongos infiltrados com o Sarcoma 180.	61

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

ADN	Ácido desoxirribonucléico
ARN	Ácido ribonucléico
NAPRALERT	Natural Products Alert Database
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal para 50% do organismo alvo
PBS	Tampão Fosfato Salino
HEPES	(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfônico ácido )
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium
MDA-MB435	Tumor de mama humano
HCT-8	Tumor de cólon humano
SF-295	Glioblastoma humano
PBMC	Células Mononucleares do Sangue Periférico
IC%	Inibição do Crescimento Celular
CACON	Centro de Alta Complexidade em Oncologia

## RESUMO

Plantas têm sido usadas como fonte de medicamentos há milênios. Extratos de plantas e princípios derivados ativos têm servido como a maior fonte de novos fármacos para tratamento de tumores malignos. Neste trabalho, descrevemos as plantas mais utilizadas como agentes anticancerígenos, pela população tratada no Centro de Oncologia do Hospital Universitário/UFAL (Maceió-AL). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos toxicológicos destas plantas e analisar a ação de seus extratos e sucos sobre células tumorais em modelos *in vitro* e em neoplasias *in vivo*. Inicialmente, as plantas foram coletadas, identificadas, e os extratos hidroetanólicos e sucos de *Aloe vera* e *Euphorbia tirucalli* foram preparados. Na investigação farmacológica, os seguintes ensaios foram feitos: Toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, teste *in vitro* contra células de linhagem tumoral humana e avaliação *in vivo* utilizando Sarcoma 180 em camundongos. As plantas foram: *Annona muricata*, *Aloe vera*, *Schinus terebinthifolius*, *Hyptis pectinata*, *Stryphnodendron adstringens*, *Euphorbia tirucalli*, *Caesalpinia bonduc* e *Cnidiosculus urens*. O screening fitoquímico mostrou a presença de flavonóides, taninos, saponinas e esteróides. O ensaio de *Artemia salina* sugeriu alta toxicidade de *Stryphnodendron adstringens*, *Annona muricata* e *Euphorbia tirucalli*; *Hyptis pectinata* foi considerada atóxica. No ensaio preliminar *in vitro*, apenas duas espécies exibiram moderada citotoxicidade: *Annona muricata* (82%, 86% e 71% de inibição) contra as linhagens celulares SF295, HCT-8 e MDA-MB435, respectivamente e *Hyptis pectinata* (62% de inibição) contra a linhagem celular HCT-8. Ambas as plantas apresentaram nenhum efeito hemolítico e na avaliação da atividade citotóxica em células mononucleares do sangue periférico (PBMC), *Annona muricata* exibiu maior atividade, embora tenha apresentado maior toxicidade que *Hyptis pectinata* para PBMC. Nos testes *in vivo*, *Hyptis pectinata*, *Schinus terebinthifolius*, *Euphorbia tirucalli* e *Annona muricata* e inibiram o Sarcoma 180 (70,5% - 67,1% - 58,9% e 57,5%). A análise histopatológica de fígado, rins e baço dos animais tratados, informou ausência de lesões. Em conjunto estes resultados sugerem que apenas duas plantas (*Hyptis pectinata* e *Annona muricata*) usadas pela população mostraram potencial atividade antitumoral, pelo menos nos modelos farmacológicos *in vitro* e *in vivo* utilizados.

## ABSTRACT

Plants have been used as sources of medicinal agents for millennia. Plant extracts and derived active principles have served as a major source for new pharmaceuticals for treatment of malignant tumors. In this work, we described the plants most used as anticancer agents, by the population treated on the Oncology Service of the University Hospital (Maceió-AL). The aim of this work was evaluate the toxicological effects of those plants and to value the antitumoral activity of the extracts and juices against human tumor cell lines and in neoplastic assays *in vivo*. Initially, the plants were collected, identified, and the hydroethanolic extracts and juices of *Aloe vera* and *Euphorbia tirucalli* were prepared. In the pharmacological approach, the follow assays were done: toxicity against brine shrimp *Artemia salina*, *in vitro* test against human tumor cell lines and *in vivo* evaluation using sarcoma 180 in mice. The plants were *Annona muricata*, *Aloe vera*, *Schinus terebenthifolius*, *Hyptis pectinata*, *Stryphnodendron adstringens*, *Euphorbia tirucalli*, *Caesalpinia bonduc* and *Cnidoscylus urens*. The phytochemical screening showed the presence of flavonoids, tanins, saponins and sterols. The *Artemia salina* essay suggested moderate toxicity of the *Stryphnodendron adstringens*, *Annona muricata* e *Euphorbia tirucalli*. *Hyptis pectinata* was considered atoxic. In the preliminary *in vitro* assay only two species showed moderate cytotoxicity: *Annona muricata* (82%, 86% and 71% of inhibition) against SF295, HCT-8 and MDA-MB435 line cells, respectively and *Hyptis pectinata* (62% of inhibition) against HCT-8.line cells. Both plants presented no hemolytic effect and in the evaluation of the cytotoxicity activities against peripheral blood mononuclear cells, *Annona muricata* showed the biggest activity, although had shown bigger toxicity than *Hyptis pectinata* to PBMC. In the *in vivo* tests, *Hyptis pectinata*, *Schinus terebinthifolius*, *Annona muricata* and *Euphorbia tirucalli* inhibited the sarcoma 180 (70,5% - 67,1% - 58,9% and 57,5%). The histopathological analysis of the liver, kidneys and spleen of animals which was treated showed absence of lesions. Take together these results suggest that only two plants (*Hyptis pectinata* and *Annona muricata*) used by the population showed potential anti-tumor activity, at least in the used pharmacological models *in vitro* and *in vivo*.

**CAPÍTULO I**  
**PARTE I - INTRODUÇÃO**

Em muitas comunidades e grupos étnicos, o conhecimento sobre plantas medicinais é transmitido entre as gerações e representa, muitas vezes, o único recurso terapêutico ao seu alcance. No Brasil, plantas medicinais são vendidas em mercados públicos e feiras populares ou, encontradas em cultivo doméstico (MACIEL *et al.*, 2002). Segundo Engelke (2003) o Brasil possui a maior diversidade vegetal do planeta, cerca de 55 mil espécies de plantas superiores e uma farmacopéia popular com uma grande variedade de plantas medicinais, graças a uma miscigenação cultural envolvendo africanos, europeus e indígenas, com introdução de espécies exóticas pelos colonizadores e escravos (MELO *et al.*, 2007).

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993). No Brasil, a grande extensão territorial e as dificuldades de acesso decorrentes dela, têm promovido o isolamento geográfico de muitas comunidades. Neste contexto, a dificuldade de acesso aos serviços de saúde pública e o surgimento de novas doenças nestas comunidades, têm incentivado o uso dos conhecimentos da medicina tradicional como também têm sido adicionados novos conhecimentos e usos medicinais da flora (RODRIGUES & CARLINI, 2002).

Os efeitos adversos de fármacos sintéticos, a preferência dos consumidores por tratamentos "naturais", o maior conhecimento científico acerca da eficácia e segurança de espécies vegetais, o aprimoramento de novos métodos de controle de qualidade, de novas formas farmacêuticas e administrações de produtos fitoterápicos, além do menor valor de compra em comparação com os fármacos sintéticos têm estimulado o crescimento da fitoterapia (CAÑIGUERAL *et al.* 2003; VIEIRA, 2001; MELO *et al.*, 2007).

A segurança e a eficácia terapêutica de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes dependem de diversos fatores, dentre estes pode-se destacar a qualidade do produto comercializado. Os estudos sobre plantas medicinais envolvem esforços de equipes multidisciplinares das áreas de Química, Botânica e Farmacologia a fim de verificar a existência de características desejáveis das plantas medicinais como eficácia, baixa toxicidade para o homem, assim como padrão de qualidade das espécies estudadas para que sejam manipuladas e incluídas, de forma segura, na terapêutica médica (ARNOUS *et al.*, 2005).

O câncer é uma das patologias que são alvo de pesquisas para desenvolvimento ou descoberta de novos fármacos, e é responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito do mundo representando, assim, um problema de saúde pública mundial. Segundo a União Internacional Contra o Câncer (UICC), a incidência da doença, estimada em 2002 em 11 milhões de casos novos, alcançará quase 20 milhões em 2020.

Muitas substâncias cujas origens se encontram nas plantas têm hoje, papel de grande importância na terapia antineoplásica, dentre elas o diterpeno anticancerígeno Taxol<sup>®</sup>, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que após sua síntese, em escala industrial, é comercializado no mercado farmacêutico como medicamento promissor no tratamento de tumores de ovários e pulmões (KINGSTON, 1991; CORRÊA, 1995; CECHINEL-FILHO, V. & YUNES, A.R., 1998).

Cerca de 75% dos compostos puros naturais utilizados pela indústria farmacêutica foram obtidos a partir de informações da medicina popular (SILVA JUNIOR, 1996; CECHINEL-FILHO, V. & YUNES, A.R., 1998) daí a importância da consulta à população como marco inicial deste trabalho, definindo a seleção de espécies a serem estudadas e colaborando com informações acerca da indicação e formas de uso das plantas medicinais.

Tendo em vista a grande preocupação dos órgãos de fomento e dos organismos de saúde, como secretarias e Ministério da Saúde em se utilizar conhecimentos já existentes que tragam retorno à população, este trabalho propõe o resgate do conhecimento popular aliado aos dados científicos existentes na literatura e a utilização de técnicas experimentais que possam trazer algum resultado que corrobore ou refute, o uso de plantas medicinais, particularmente contra o câncer.

**CAPÍTULO I**  
**PARTE II - OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Avaliar a ação tóxica de extratos de plantas medicinais utilizados pelos usuários do Centro de Alta Complexidade em Oncologia (CACON) do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes (HUPAA) / UFAL, em modelos *in vivo* e *in vitro*..

### **2.2. Específicos**

- Realizar o levantamento de plantas medicinais usadas como coadjuvantes no tratamento de neoplasias pelos usuários do CACON/HUPAA/UFAL;
  - Preparar os extratos de plantas utilizadas pela população e fazer triagem de prospecção química;
- Avaliar a toxicidade dos extratos selecionados frente ao microcrustáceo *Artemia salina*;
- Avaliar a ação dos extratos sobre células tumorais, através de modelos *in vitro*;
- Avaliar a ação dos extratos em modelos de neoplasias *in vivo*;
- Possibilitar o retorno à população dos resultados obtidos, para a utilização de uma terapia eficaz.

**CAPÍTULO II**  
**PARTE I - NEOPLASIAS E INCIDÊNCIA DE CÂNCER NO BRASIL**

## 1- Considerações sobre Neoplasias

O termo neoplasia refere-se a todos os tumores benignos e malignos, enquanto a terminologia câncer (BOGLIOLO, 1987) refere-se especificamente a tumores malignos (MOURA *et al*, 2001).

O câncer é uma doença definida por uma história clínico-patológica caracterizada pelo crescimento descontrolado de um tecido com a capacidade de difundir-se para outros órgãos. Responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito do mundo, o câncer representa um problema de saúde pública mundial e várias causas são apontadas como responsáveis pelo seu desenvolvimento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Hoje são conhecidos muitos fatores que aumentam o risco de câncer e a natureza destas causas são heterogêneas: as de origem química como as exposições ao asbesto (amianto), as de origem viral como as decorrentes de infecções pelo Papiloma vírus Humano (HPV) ou até as de origem hormonal (PARKIN *et al.*, 2002).

Acredita-se que o aumento da incidência dessa doença deva-se à maior exposição dos indivíduos aos fatores de risco e, ao aumento da expectativa de vida da população, resultando em maior incidência de doenças crônico-degenerativas como as cardiovasculares e o câncer (ALVES *et al.*, 2007).

Nos Estados Unidos, o *National Cancer Institute* organizou dados da *American Cancer Society* e outras instituições, e divulgou uma lista com os mais comuns tipos de câncer, inclusive os que são diagnosticados com maior frequência na população americana. Segundo a lista, o mais comum é o não-melanoma de pele com uma expectativa de mais de milhão de novos casos em 2008, representando cerca de metade de todos os cânceres diagnosticados no país. A lista aponta o câncer de tireóide como o de menor incidência, com um número estimado de 37,4 novos casos no ano de 2008 (Tabela 1, p.8).

**Tabela 1.** Estimativa do número de novos casos e mortes para cada tipo comum de câncer nos EUA (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2008).

<b>Tipos de Câncer</b>	<b>Estimativas de Novos Casos</b>	<b>Mortes Estimadas</b>
Bexiga	68.810	14.100
Mama (masc. E fem.)	182.460-1.990	40.480 – 450
Colon e reto combinados)	148.810	49.960
Endometrial	40.100	7.470
Rins	46.232	11.059
Leucemia (todas)	44.270	21.710
Pulmão (Incluindo Brônquios)	215.020	161.840
Melanoma	62.480	8.420
Linfoma Não-Hodgkin	66.120	19.160
Pâncreas	37.680	34.290
Próstata	186.320	28.660
Pele (Não-melanoma)	>1.000.000	<1.000
Tireóide	37.340	1.590

No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) publicou uma síntese das estimativas de incidência de câncer, em homens e mulheres, para o ano de 2008 no país (Tabelas 2 e 3, p. 9). Segundo este resumo, o câncer de mama ocupa o primeiro lugar em incidência em todas as regiões do Brasil com exceção da região norte, onde é o segundo tumor mais incidente (16/100.000), ficando o câncer de colo do útero em primeiro lugar.

**Tabela 2.** Estimativa para o ano de 2008 das taxas brutas de incidência por 100.000 de número de casos novos por câncer, em homens, segundo localização primária.

<b>Estimativa de Novos Casos em homens</b>				
<b>Localização Primária</b>	<b>Estado</b>		<b>Capital</b>	
	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>
Próstata	49.530	52,43	13.990	67,81
Traquéia, Brônquios e Pulmão	17.810	18,86	5.150	24,91
Estômago	14.080	14,92	3.590	17,42
Cólon e Reto	12.490	13,23	4.360	20,99
Cavidade Oral	10.380	11,00	3.000	14,45
Esôfago	7.900	8,35	1.640	7,84
Leucemias	5.220	5,52	1.460	7,06
Pele Melanoma	2.950	3,09	830	3,80
Outras Localizações	55.610	58,87	17.010	82,32
<b>Subtotal</b>	<b>175.970</b>	<b>186,29</b>	<b>51.030</b>	<b>246,97</b>
Pele Não Melanoma	55.890	59,16	13.230	64,02
Todas as Neoplasias	231.860	245,47	64.260	310,93

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

**Tabela 3.** Estimativa para o ano de 2008 das taxas brutas de incidência por 100.000 de número de casos novos por câncer, em mulheres, segundo localização primária.

<b>Estimativa de Novos Casos em mulheres</b>				
<b>Localização Primária</b>	<b>Estado</b>		<b>Capital</b>	
	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>
Mama Feminina	49.400	50,71	17.400	76,04
Colo de Útero	18.680	19,18	5.620	24,49
Cólon e Reto	14.500	14,88	5.450	23,80
Traquéia, Brônquio e Pulmão	9.460	9,72	3.070	13,49
Estômago	7.720	7,93	2.380	10,30
Leucemias	4.320	4,44	1.340	5,89
Cavidade Oral	3.780	3,88	1.140	4,83
Pele, Melanoma	2.970	3,03	930	3,69
Esôfago	2.650	2,72	620	2,30
Outras localizações	62.270	63,93	22.530	98,39
<b>Subtotal</b>	<b>175.750</b>	<b>180,43</b>	<b>60.480</b>	<b>264,11</b>
Pele Não Melanomas	59.120	60,70	14.140	61,73
Todas as Neoplasias	234.870	241,09	74.620	325,77

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

Faz parte da síntese divulgada pelo INCA, a estimativa de novos casos para o ano de 2008 no Estado de Alagoas – Brasil para homens e mulheres (Tabelas 4 e 5, p. 10).

**Tabela 4.** Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos novos por câncer, em homens em Alagoas, segundo localização primária.\*

<b>Estimativa de Novos Casos</b>				
<b>Localização Primária</b>	<b>Estado</b>		<b>Capital</b>	
	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>
<b>Neoplasia maligna</b>				
Próstata	370	24,51	170	42,15
Traquéia, Brônquios e Pulmão	90	5,99	50	11,47
Estômago	70	4,92	30	8,51
Cólon e Reto	30	2,25	**	2,89
Cavidade Oral	70	4,65	30	6,67
Esôfago	40	2,40	20	4,42
Leucemias	60	4,06	20	5,07
Pele Melanoma	**	0,70	**	1,43
Outras Localizações	410	26,91	230	55,27
<b>Subtotal</b>	<b>1.150</b>	<b>75,47</b>	<b>570</b>	<b>136,98</b>
Pele Não Melanoma	360	23,88	160	38,28
Todas as Neoplasias	1.510	99,42	730	174,45

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

**Tabela 5.** Estimativas, para o ano 2008, das taxas brutas de incidência por 100 mil e de número de casos novos por câncer em Alagoas, em mulheres, segundo localização primária.\*

<b>Estimativa de Novos Casos em mulheres</b>				
<b>Localização Primária</b>	<b>Estado</b>		<b>Capital</b>	
	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>	<b>Casos</b>	<b>Taxa Bruta</b>
<b>Neoplasia maligna</b>				
Mama Feminina	330	20,50	160	35,55
Colo de Útero	270	16,68	110	24,02
Cólon e Reto	60	3,77	40	7,67
Traquéia, Brônquio e Pulmão	80	4,96	50	10,26
Estômago	50	3,3	30	5,56
Leucemias	50	2,90	20	4,20
Cavidade Oral	40	2,72	20	3,77
Pele, Melanoma	**	0,97	**	0,70
Esôfago	**	0,90	**	1,32
Outras localizações	480	30,09	350	75,20
<b>Subtotal</b>	<b>1.380</b>	<b>86,50</b>	<b>800</b>	<b>171,88</b>
Pele Não Melanomas	630	39,71	210	43,99
Todas as Neoplasias	2.010	125,59	1.010	217,65

\*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

Comparando os dados das tabelas dos EUA e Brasil, observa-se que a incidência por tipo de câncer é diferente, quando no Brasil, o câncer de mama ocupa o 1º lugar e, nos Estados Unidos, o 4º lugar. Segundo Ravdin (2007), a incidência do câncer de mama nos EUA caiu 8,6% a partir da metade de 2002, o que pode ser fruto de uma diminuição do uso de terapia de reposição hormonal em todo o país a partir daquela data.

Entre os fatores de risco conhecidos, o envelhecimento da população, antecipação da menarca, diminuição no número de gestações e no tempo de

amamentação, uso de anticoncepcionais e de terapia de reposição hormonal, aumento do sedentarismo e da obesidade, mudança de hábitos alimentares e maior consumo de álcool pelas mulheres parecem ser os responsáveis pelo aumento da incidência dessa morbidade (PASCALICCHIO *et al.*, 2001) no Brasil e em outros países.

## 2 – Terapias Antineoplásicas

O primeiro quimioterápico antineoplásico ou antitumoral foi o gás de mostarda que foi utilizado como arma química nas duas Guerras Mundiais. Soldados expostos a esse gás desenvolveram hipoplasia medular e linfóide, a partir desta constatação, iniciou-se seu uso no tratamento de linfomas malignos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1993).

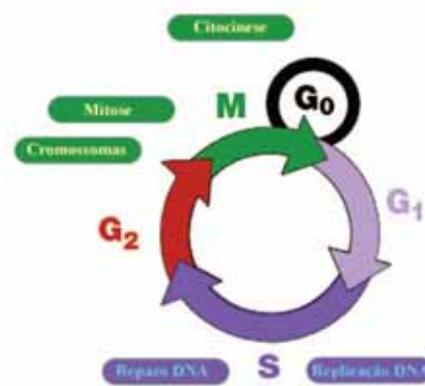
Os fármacos utilizados no tratamento dos diversos tipos de câncer atingem tanto as células neoplásicas como as não afetadas pelo câncer, só que devido às diferenças de processos metabólicos dessas populações celulares, estes fármacos causam maior dano às células malignas (MURAD & KATZ, 1996; SALMONM, 1998).

O Ácido desoxirribonucléico (DNA) age modelando a produção de Ácido ribonucleico (RNA) transportador, RNA ribossômico e RNA mensageiro determinando assim, qual a enzima que será sintetizada pela célula de acordo com as necessidades de proliferação desta célula.

A proliferação ou replicação celular dá-se em fases ou ciclos metabólicos representados na Figura 1 (p. 12) (ALMEIDA *et al.*, 2005), a saber:

- Fase G<sub>0</sub> não há replicação celular, pois certas células recebem sinais externos que as estimulam a se retirar do ciclo celular (INFANTE, 2008);
- Fase G<sub>1</sub> inicia-se a preparação para a replicação, com elaboração de substâncias necessárias à nova célula;
- Fase S quando se dá a síntese de DNA e atuam os elementos ativadores de multiplicação celular como os fatores de crescimento e produtos de oncogenes. Por outro lado, também atuam os inibidores como genes supressores tumorais, interleucinas e a apoptose ou morte programada da célula (SALMONM, 1998; ZHOU & ELLEDGE, 2000).
- Fase G<sub>2</sub> onde ocorre a síntese de componentes para a mitose;

- Fase M é a última etapa do ciclo de replicação celular, onde ocorre a divisão do material nuclear e separação da célula mãe e duas células filhas (ALMEIDA *et al.*, 2005).



**Figura 1.** Ciclo de replicação celular esquemático para célula em mitose.

A partir desse conhecimento, Bruce e cols. (1969), classificaram os quimioterápicos conforme sua atuação no ciclo celular em:

- **Ciclo-inespecíficos** - Aqueles que atuam nas células que estão ou não no ciclo proliferativo, como, por exemplo, a mostarda nitrogenada.
- **Ciclo-específicos** - Os quimioterápicos que atuam somente nas células que se encontram em proliferação, como é o caso da ciclofosfamida.
- **Fase-específicos** - Aqueles que atuam em determinadas fases do ciclo celular, como, por exemplo, o metotrexato (fase S), o etoposídeo (fase G2) e a vincristina (fase M).

A quimioterapia pode ser utilizada em combinação com a cirurgia e a radioterapia (AZEVEDO, 1989; MURAD & KATZ, 1996; CASEIRO *et al.*, 1997; BONASSA, 1998) e, de acordo com a finalidade, pode ser classificada em:

- **Curativa** - quando é usada com o objetivo de se conseguir o controle completo do tumor, como nos casos de doença de Hodgkin, leucemias agudas, carcinomas de testículo, coriocarcinoma gestacional e outros tumores.

- **Adjuvante** - quando se segue à cirurgia curativa, tendo o objetivo de esterilizar células residuais locais ou circulantes, diminuindo a incidência de metástases à distância. Exemplo: quimioterapia adjuvante aplicada em caso de câncer de mama operado em estágio II.
- **Neoadjuvante ou prévia** - quando indicada para se obter a redução parcial do tumor, visando permitir uma complementação terapêutica com a cirurgia e/ou radioterapia. Exemplo: quimioterapia pré-operatória aplicada em caso de sarcomas de partes moles e ósseos.
- **Paliativa** - não tem finalidade curativa. Usada com a finalidade de melhorar a qualidade da sobrevivência do paciente. É o caso da quimioterapia indicada para carcinoma indiferenciado de células pequenas do pulmão.

## 2.1 - Tipos de quimioterapias

A quimioterapia pode ser feita com a utilização de um ou mais quimioterápicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1993), dividindo-se por isso em:

### 2.1.1 – Monoquimioterapia

Possui ação muito limitada produzindo respostas ineficazes na maioria dos tumores. É de uso bastante restrito nos dias de hoje.

### 2.1.2 – Poliquimioterapia

Devido ao sinergismo dos diversos fármacos utilizados conjuntamente, tem-se mostrado eficaz, atingindo diversas populações celulares em várias fases proliferativas, além de atingir o objetivo de diminuir o desenvolvimento de resistência às drogas e promover maior resposta por dose administrada.

### **2.1.3 - Principais fármacos utilizados no tratamento do câncer**

Segundo dados do Ministério da Saúde (2008), os principais fármacos utilizados no tratamento do câncer dividem-se em:

#### **2.1.3.1 – Alquilantes**

São compostos capazes de substituir em outra molécula um átomo de hidrogênio por um grupamento alquil. Os alquilantes afetam as células em todas as fases de modo inespecífico. Apesar de, isoladamente, apresentar boa atividade terapêutica, raramente produzem efeito clínico ótimo sem a combinação com outros agentes fase-específicos do ciclo celular.

#### **2.1.3.2 – Antimetabólitos**

Afetam as células inibindo a biossíntese dos componentes essenciais do DNA e do RNA, assim, impedem a multiplicação e a função normal das células.

#### **2.1.3.3 – Antibióticos**

Não atuam especificamente sobre uma determinada fase do ciclo celular, mas possuem anéis insaturados que permitem a incorporação de excesso de elétrons e a conseqüente produção de radicais livres reativos. Além destes, os antibióticos apresentam outros mecanismos como alquilação, inibição enzimática ou inibição da função do DNA por intercalação.

#### **2.1.3.4 – Inibidores mitóticos**

Paralisam a mitose na metáfase, devido à sua ação sobre a proteína tubulina, responsável pela formação dos microtúbulos que constituem o fuso espiralar, por onde migram os cromossomos. Impedindo os cromossomos de migrar, durante a metáfase, promovem a interrupção da divisão celular.

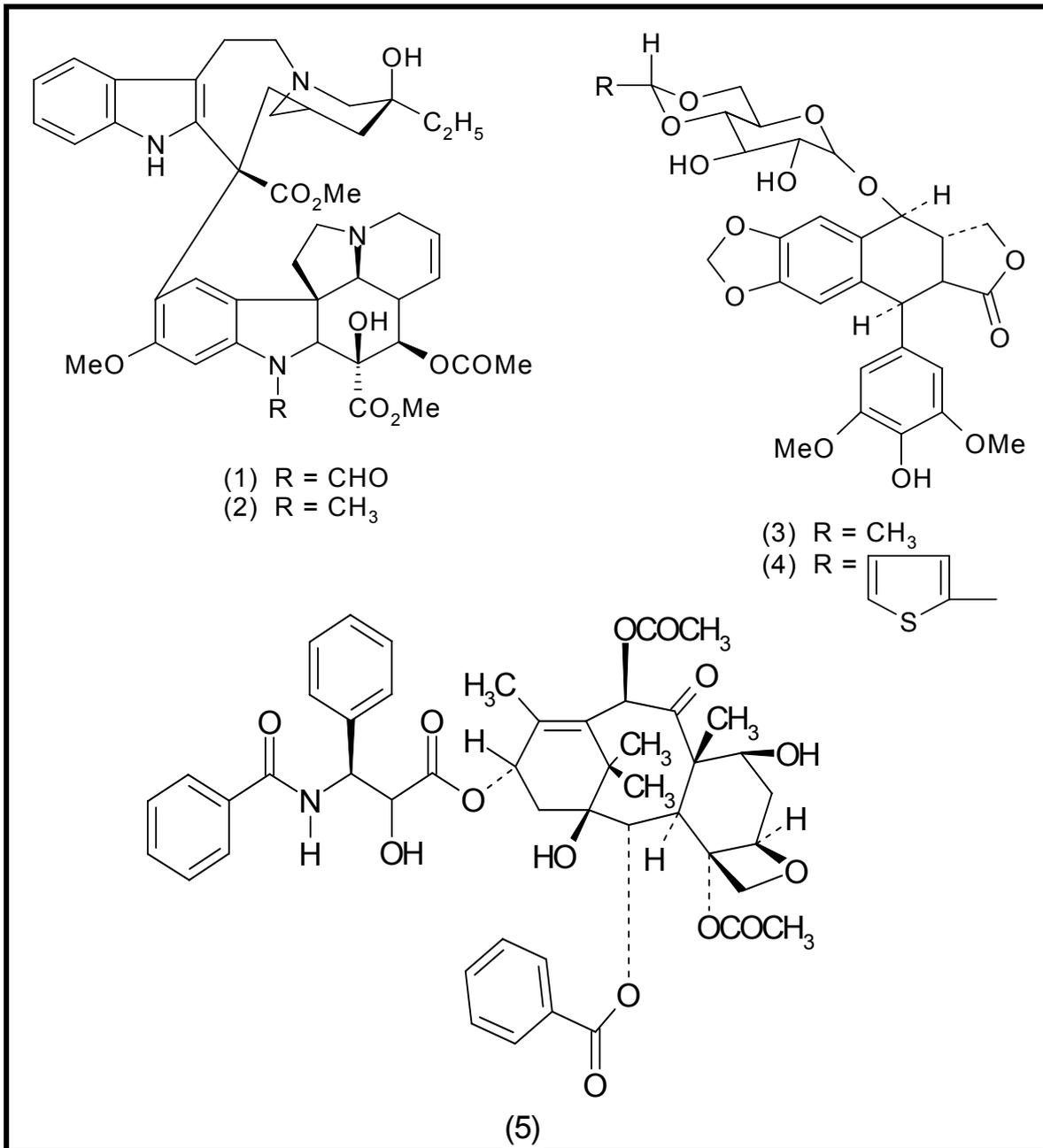
## 2.2 – Agentes antineoplásicos oriundos de plantas medicinais

Nos últimos vinte anos o interesse da indústria farmacêutica voltou-se para os produtos naturais, principalmente a partir da introdução na terapêutica, da vimblastina e da vincristina (extraídas de *Catharrantus roseus*), o etoposídeo, o teniposídeo e o Taxol<sup>®</sup> (VIEGAS JR. *et al.*, 2006).

O Taxol<sup>®</sup>, isolado das cascas de *Taxus brevifolia*, mostrou-se pouco viável à inclusão no processo industrial e na clínica médica, devido à sua complexidade estrutural e a escassez de sua fonte natural. Hoje, o Taxol<sup>®</sup> disponível no mercado farmacêutico é originário da semi-síntese via *N*-acil- $\beta$ -lactamas (CORRÊA, 1995).

Produtos naturais ciclo-específicos são agentes antineoplásicos eficientes e que originalmente não são compostos sintéticos. Dentre estes, temos (Figura 2, p.16): Alcalóides da vinca (vimblastina (1) e vincristina (2)) classificados como inibidores mitóticos pois interrompem a divisão celular na metáfase (OLIVEIRA & ALVES, 2002). Derivados semi-sintéticos da podofilotoxina – Etoposídeo (VP - 16) (3) e Teniposídeo (VM – 26) (4) ao ligar-se ao complexo DNA-Topoisomerase II, induzem quebras da fita dupla de DNA, impedem o seu reparo pela ligação com a topoisomerase II e interrompem o ciclo celular nas fases S e G2 (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Éster alcalóide derivado do teixo oriental (*Taxus brevifolia*) – Taxol<sup>®</sup> atua promovendo a polimerização das tubulinas em microtúbulos que são extremamente estáveis e disfuncionais. Desse modo, há um deslocamento no equilíbrio dinâmico entre a formação dos microtúbulos e a sua dissociação em tubulinas, comprometendo as fases, M e G2 da mitose, bloqueando a divisão celular e provocando a morte das células tumorais.



**Figura 2.** (1) Vincristina, (2) Vimblastina, (3) Etoposídeo, (4) Teniposídeo, (5) Paclitaxel.

**CAPÍTULO II**

**PARTE II – ASPECTOS QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DAS ESPÉCIES  
ESTUDADAS**

Diante dos dados obtidos com relação às plantas mais utilizadas pela população, foram selecionadas as oito plantas de maior frequência de citação ou que possuíssem relatos de toxicidade na literatura. A seguir, estão descritos os aspectos químicos e farmacológicos das espécies estudadas neste trabalho. Os aspectos botânicos das espécies analisadas neste estudo se encontram em forma de Anexo.

## **1 – *Aloe vera* (L.) Burm.f. (Liliaceae)**

### **Aspectos químicos**

O conteúdo de suas folhas pode ser separado em gel e látex. A fase gel contém glucomanan, acemanan, magnésio, glucose, ácido linolênico, saponinas, esteróis, cálcio e colesterol. O látex contém heterosídeos antraquinônicos como a aloína, emodina e barbaloína (TYLER, 1994). *Aloe vera* (babosa) tem alta concentração de vitaminas A, C e E (ATHERTON, 1998); zinco (SHELTON, 1991) e aminoácidos que são responsáveis por seu uso em várias condições patológicas.

### **Aspectos farmacológicos**

A *Aloe vera* L. tem ação cicatrizante, antibacteriana, antifúngica e antivirótica pela presença das antraquinonas como aloenina, barbaloína e isobarbaloína em sua composição química (KUZUYA *et al.*, 2001; STEINERT *et al.*, 1996). Tanaka e cols. (2006) isolaram 5 fitoesteróis de *Aloe vera* gel (lofenol, 24-metil-lofenol, 24-etil-lofenol, cicloartanol, e 24-metileno-cicloartanol) que apresentaram atividade anti-hiperglicemiante sobre diabetes tipo 2 em camundongos.

O acemanan, maior fração de carboidratos de *Aloe vera* gel, é conhecido pelas suas atividades como antiviral e antitumoral através da estimulação da resposta imune (LEE *et al.*, 2001) e tem sido usado em tratamento tópico de mucosas, queimaduras e irritações da pele e seu suco é comumente usado como cicatrizante de feridas (CHITHRA *et al.*, 1998).

Tais propriedades parecem justificar seu uso popular, mas devido à sua ação nefrotóxica em doses altas, não deve ser usada como lambedor, pois nessa preparação o teor de seu princípio predominante é aumentado e pode causar severa crise de nefrite aguda (MATOS, 2000). Tendo grande capacidade de regenerar

tecidos lesados, o gel que a planta contém, onde estão presentes alguns tipos de glicoproteínas e polissacarídeos, pode ser usado seguramente sobre a pele na forma de emplastro (REYNOLDS & DWECK, 1999; MORAIS *et al.*, 2005).



**Figura 3.** Folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f.  
Foto: Círia Vieira Barbosa

## **2 - *Annona muricata* L. (Annonaceae)**

### **Aspectos químicos**

Desde o isolamento da primeira acetogenina em 1982, o gênero *Annona* tem se mostrado como o que mais contribui em número de acetogeninas isoladas, com 536 acetogeninas em 20 espécies estudadas. Um levantamento realizado no NAPRALERT em 2005 mostra que das folhas de *A. muricata* (graviola), foram isoladas 35 acetogeninas, das cascas do caule (04), do pericarpo (02), da raiz (24) e das sementes (74).

### **Aspectos farmacológicos**

O extrato bruto em acetato de etila de *A. muricata* mostrou maior atividade que o fármaco antimonial pentavalente Glucantime® contra formas promastigotas de *Leishmania* (JARAMILLO *et al.*, 2000). Outras atividades do extrato bruto de *A. muricata*, como potencial anti-herpético sobre o herpes simples vírus -1 (HSV-1) (PADMA *et al.*, 1998) e atividade antifúngica (DAMICO *et al.*, 2003) têm sido

reportadas na literatura além de atividade antitumoral (WU *et al.*, 1995; CAVÉ *et al.*, 1997; KIM *et al.*, 1998). □



**Figura 4.** Partes aéreas de *Annona muricata* L.

Foto: Círia Vieira Barbosa

### **3 - *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur (Euphorbiaceae)**

#### **Aspectos químicos**

Os estudos feitos no Brasil, México, Venezuela e Nicarágua sobre os constituintes químicos de *Cnidoscolus urens* (urtiga branca) relatam a existência de di e triterpenos, e alcalóides nas diversas partes desta planta (OLIVEIRA *et al.*, 1959, DOMINGUEZ *et al.*, 1992, VILLALOBOS *et al.*, 1974, COE & ANDERSON, 1996, BHATTACHARYYA & BARROS, 1986).

#### **Aspectos farmacológicos**

O decoto das folhas é utilizado, via oral, para infecções e tratamento de cortes em humanos adultos, recém-natos e gestantes e o decoto de folhas secas e raízes é utilizado via oral, por humanos adultos, para tratamento de cortes e hemorragias (COE & ANDERSON, 1996). Estudos relatam a atividade antitumoral de uma fração flavonoídica de *C. urens* (GONÇALVES & MACHADO, 1958).



**Figura 5.** Partes aéreas de *Cnidoscylus urens* (L.) Arthur  
Fonte: Círia Vieira Barbosa

#### **4 - *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae)**

##### **Aspectos químicos**

*Euphorbia tirucalli* (avelós) apresenta polifenóis, flavonóides e taninos (MACHADO *et al.*, 2007); apresenta uma grande quantidade de terpenos e esteróis entre seus constituintes e as seguintes substâncias foram isoladas: álcool eufol,  $\alpha$ -euforbol (MACDONALD & WARREN, 1944), taraxterol e tirucalol (COSTA, 2002; ALMEIDA, 1993). OS principais constituintes do látex dos ramos de *E. tirucalli* são água (53,8–79,9%), tigliane (ésteres de forbol) e ingenane (ésteres de ingenol). O látex fresco contém álcool terpênico, taraxsterol e tirucalol (CATALUNA & TAXA, 1999; PASSILONGO-SILVA *et al.*, 2007).

##### **Aspectos farmacológicos**

O látex de *E. tirucalli* apresenta atividades farmacológicas como antibacteriano (LIRIO *et al.*, 1998), anti-herpético (BETANCUR-GALVIS *et al.*, 2002) e anti-mutagênico (REZENDE *et al.*, 2004). Relata-se atividade co-carcinogênica (GSCWHENOT e HECKER, 1969) e anticarcinogênica (HECKER, 1968) e é utilizado na medicina popular, como coadjuvante no tratamento de tumores cancerosos e pré-cancerosos (LYMANN *et al.*, 1988). No nordeste do Brasil, o látex de *E. tirucalli* é usado popularmente contra sífilis, como antimicrobiano, laxante, contra parasitas intestinais, no tratamento de asma, tosse, reumatismo, verrugas, câncer

(PASSILONGO SILVA *et al.*, 2007); epiteloma, sarcoma e tumores de pele (CORRÊA, 1995; BETANCUR-GALVIS *et al.*, 2002).



**Figura 6.** Partes aéreas de *Euphorbia tirucalli* L.

Foto: Círia Vieira Barbosa

## 5 - *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Lamiaceae)

### Aspectos químicos

O óleo essencial de *Hyptis pectinata* (L.) Poit (sambacaitá) contém 33 compostos, com predominância de monoterpenos (95,8%). Os principais constituintes são – cimeno, timol e  $\beta$ -terpineno, correspondendo ao todo, a 68% do total da planta (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993).

### Aspectos farmacológicos

Na medicina tradicional, tem diversos usos: nas rinofaringites, congestão nasal e doenças da pele, distúrbios gástricos, estados febris e infecções bacterianas e fúngicas. Além desses usos, no Estado de Sergipe, é utilizada na dor, inflamação e cicatrização de feridas. Seus efeitos antiedematogênico, antinociceptivo e hepatoprotetor já foram comprovados em estudos anteriores (BISPO *et al.*, 2001;

MELO *et al.*, 2001; ALBUQUERQUE & ALMEIDA, 2002) e é provável que a atividade antisséptica seja atribuída ao timol (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993).



**Figura 7.** Partes aéreas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Photo by Forest & Kim Starr.)

## 6 - *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae- Mimosoideae)

### Aspectos químicos

A Farmacopéia Brasileira informa que a casca de *S. adstringens* (barbatimão) contém cerca de 20% de taninos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1959). Além de taninos, a presença de flavonóides confere, a esta espécie, grande potencial farmacológico (SANTOS *et al.*, 2002).

### Aspectos farmacológicos

*Stryphnodendron adstringens*, Martius. Coville, é utilizado popularmente no tratamento de diarreia, problemas ginecológicos e na cicatrização de feridas (SANTOS *et al.*, 2002). Além disso, estudos com extrato bruto da casca desta espécie, confirmaram suas propriedades cicatrizantes PANIZZA *et al.*, 1988; J. NETO

*et al.*, 1996), antiinflamatória (LIMA *et al.*, 1998) e anti-ulcerogênica gástrica (AUDI *et al.*, 1999).



**Figura 8.** Partes aéreas de *Stryphnodendron adstringens*, Martius. Coville  
Foto: Círia Vieira Barbosa

## **7 - *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. (Fabaceae)**

### **Aspectos químicos**

Relatam-se a presença de triterpenóides, ácidos graxos, triglicérides, e esteróis isolados das sementes de *C. bonduc* (unha-de-gato) (ALI *et al.*, 1997; RASTOGI *et al.*, 1996).

### **Aspectos farmacológicos**

Preparações das sementes e de outras partes da planta são usadas para tratar uma grande variedade de doenças (BURKILL, 1995; PARROTTA, 2001). Triterpenóides, ácidos graxos, triglicérides e esteróis isolados das sementes podem possivelmente explicar algumas destas atividades (ALI *et al.*, 1997; RASTOGI *et al.*, 1996). Os extratos da semente comprovaram baixar a glicose sanguínea em animais de laboratório (BISWAS *et al.*, 1997; SHARMA *et al.*, 1997) e suprime de maneira eficaz ou cura infecções causadas por diversas espécies de vermes cilíndricos (AMARSINGHE *et al.*, 1993; RASTOGI *et al.*, 1996).



**Figura 9.** Partes aéreas de *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.  
Foto: Círia Vieira Barbosa

## **8 - *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**

### **Aspectos químicos**

Segundo Matos (2000), embora o uso tradicional da aroeira seja muito freqüente, são apenas hidrocarbonetos terpênicos e ácido pirogálico os constituintes químicos dessa espécie divulgados na literatura, além de taninos (DINIZ *et al.*, 1997).

### **Aspectos farmacológicos**

A casca do caule é utilizada popularmente no tratamento de feridas da pele e de vulvovaginites (SANTOS *et al.*, 1988), há comprovação de sua atividade antialérgica (CAVALHER-MACHADO, 2008). Conhecida popularmente por sua ação antiinflamatória, a casca da aroeira é depurativa, febrífuga, eficaz sobre as hemoptises e o tratamento de cervicites e vaginites crônicas. Em estudo com tampões intravaginais impregnados de solução hidroalcoólica de aroeira por 24 horas, verificou-se sua atividade antiinflamatória, bem como bactericida contra *Staphilococcus aureus*. Além dos usos já citados, é utilizado empiricamente para tratar tumores (ARAÚJO *et al.*, 2007)



**Figura 10.** *Schinus terebinthifolius* Raddi  
Foto: Círia Vieira Barbosa

**CAPÍTULO III**  
**EXPERIMENTAL**

## 1 - Material, métodos e instrumentos

### 1.1 – Formulário de coleta de dados

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas do processo nº 014868/2006-31 (ANEXO 1), este estudo foi iniciado com a aplicação do formulário (APÊNDICE 1) aos usuários do Centro de Oncologia (CACON) do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes (HUPAA) / Ufal. Este formulário foi elaborado visando coletar dados sobre o uso de plantas medicinais ou fitoterápicos no tratamento de câncer, quais as plantas e partes usadas, a forma de preparo e qual o tipo de câncer do usuário (dado obtido através de consulta aos prontuários).

### 1.2 – Coleta e identificação do material botânico

As partes das espécies vegetais estudadas, cujo uso foi indicado pela consulta aos usuários do CACON, *Annona muricata* (folhas), *Hyptis pectinata* (casca do caule e folhas), *Schinus terebinthifolium* (casca do caule), *Stryphnodendron adstringens* (casca do caule) foram coletadas no campus Ufal / Maceió, *Cnidocolus urens* (raiz) e *Caesalpinia bonduc* (caule) foram coletadas no município do Pontal da Barra em Alagoas e, *Aloe vera* e *Euphorbia tirucalli* no campus da UFPE / Recife, nos meses de agosto de 2007 e janeiro de 2008. A identificação das plantas foi realizada pela Profª Drª Flávia de Barros Prado Moura do Museu de História Natural da Universidade Federal de Alagoas (Ufal), onde as exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário Professor Honório Monteiro (MUFAL), sob os números de registro presentes na Tabela 6.

**Tabela 6** – Números de registro das exsiccatas das espécies coletadas e depositadas no Herbário MUFAL/Ufal.

Nome científico	Nome popular	Número
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.	Babosa	4070
<i>Annona muricata</i> L.	Graviola	4076
<i>Caesalpinia bonduc</i> (L.) Roxb.	Unha-de-gato	4069
<i>Cnidocolus urens</i> (L.) Arthur	Urtiga branca	4073
<i>Euphorbia tirucalli</i> L.	Avelós	4075
<i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit	Sambacaitá	4071
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Aroeira-de-praia	4072
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Barbatimão	4074

### 1.3 – Material biológico

- Ovos de *Artemia salina* Leach (adquiridos da Sea Word Comercial Ltda, Maceió / AL)
- Linhagens tumorais MDA-MB435 (mama - humano), HCT-8 (cólon - humano) e SF-295 (glioblastoma - humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA).
- Tumor Sarcoma 180 proveniente do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.
- Camundongos machos adultos albinos Swiss (*Mus musculus*) com cerca de 60 dias de nascidos, pesando entre 25 e 30 g – provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### 1.4 – Solventes, reagentes e equipamentos

Os solventes utilizados foram previamente destilados no laboratório de destilação da Unidade Acadêmica de Química da Universidade Federal de Alagoas, a partir de solventes de grau comercial da marca Herzog e os solventes de grau PA, foram adquiridos da Sigma, Merck e VETEC.

#### Solventes

- Etanol
- Metanol
- Dimetilsulfóxido
- Cremophor®

#### Reagentes

- Cloreto de ferro III ( $\text{FeCl}_3$ )
- Ácido clorídrico (HCl)
- Hidróxido de sódio (NaOH)
- Magnésio (Mg)
- Clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ )
- Sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- Anidrido acético ( $\text{CH}_3\text{CO}$ )<sub>2</sub>O
- Hidróxido de potássio (KOH)

- Cloreto de sódio (NaCl)
- Cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>)
- Triton X -100

### **Fármacos**

- Doxorrubicina (Zodiac)
- Penicilina (Cultilab)
- Estreptomicina (Cultilab)

### **Materiais e equipamentos**

- Percolador da marca Permution
- Evaporadores rotatórios, da marca BUCHI (modelo RE-114V);
- Mixer Wallita handy.
- Lupa LP600
- Microplacas de 12 e de 96 orifícios de fundo chato com tampa em poliestireno (TPP<sup>®</sup> Techno Plastic Products AG)
- Cubas plásticas (12 x 8 cm)
- Luminárias (Force Line Indústria e Comércio Ltda)
- Incubadora de células (CO<sub>2</sub> Water-Jacket Incubator) NUAIRE TS Antoflow
- Centrífuga Centimicro modelo FANEM 212
- Espectrofotômetro de placas Packard Spectra Count
- Deionizador de água Mili-Q
- Fluxo laminar VECO
- Frasco para cultura de células Corning (25 cm<sup>3</sup> e volume de 50 mL e 75 cm<sup>3</sup> e volume de 250 mL)
- Pipetas automáticas de 200 e 1000 µL
- Microscópio óptico Metrimpex Hungary / P20 – Labimex modelo Studar Lab.
- Microscópio óptico de inversão Nikon Diaphot
- Ponteira de polietileno
- Seringas descartáveis tuberculina (IBRAS-CBO)
- Balança analítica (E. METTLER)

### 1.5 - Obtenção dos extratos e sucos das espécies coletadas

Os extratos e sucos das plantas descritas na tabela 7, foram preparados de acordo com as informações coletadas no formulário etnofarmacológico deste estudo. As respectivas partes das plantas utilizadas foram secas à temperatura ambiente (com exceção de *A. muricata*, *Aloe vera* e *Euphorbia tirucalli*), trituradas e submetidas à extração a frio em etanol a 90% em percolador. Foram realizadas três extrações. Após a evaporação do solvente em rotaevaporador, foi obtido o extrato bruto de cada planta.

**Tabela 7** – Preparação dos extratos das espécies estudadas

Espécie	Parte usada	Peso (g)	Volume de Etanol 90% (L)	Peso do extrato bruto obtido (g)	Rendimento (%)
<i>Annona muricata</i>	Folhas	735,0	6,0	49,6	6,7
<i>Hypsis pectinata</i>	Casca do caule e folhas	270,0	3,5	50,0	18,5
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Casca do caule	298,0	1,5	83,0	27,8
<i>Cnidocolus urens</i>	raízes	62,0	1,0	3,0	4,8
<i>Caesalpinia bonduc</i>	caules	100,0	1,0	4,6	4,6
<i>Schinus terebinthifolius</i>	casca	276,0	4,5	85,9	31,1

Para *Aloe vera* L. e *Euphorbia tirucalli* L., o procedimento foi realizado como descrito abaixo:

Os sucos de folhas frescas de *Aloe vera* L. e do látex do caule de *Euphorbia tirucalli* L. foram obtidos, através de trituração da polpa da folha e do látex respectivamente, em gral com pistilo, completado o volume com água destilada, adicionada de 0,1% de Cremophor® e filtrada em algodão hidrófilo; de modo a se obter uma solução estoque na concentração final de 3000 ppm.

Os extratos e sucos foram posteriormente submetidos aos ensaios de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, ensaios *in vitro* com linhagens de células tumorais e *in vivo* em camundongos albinos suíços.

## **- Preparo das soluções diluídas**

Foram utilizados oito frascos, em cada um foram solubilizados 30 mg de uma amostra (extrato) em 0,1% de Cremophor<sup>®</sup> e o volume foi completado para 10 mL com água destilada, obtendo assim, uma concentração de 3000 ppm.

## **2 - Prospecção fitoquímica das espécies vegetais**

A metodologia clássica de preparação de extratos, utilizando-se percolação com etanol, e posterior prospecção fitoquímica para indicação dos constituintes presentes, foi utilizada segundo metodologia descrita por Matos (1997). Os métodos utilizados são apenas qualitativos, e a presença de um constituinte pode mascarar a cor indicativa do outro. Para os testes de 1.7.1 a 1.7.4, tubos de ensaio numerados de 1 a 7 receberam 3 a 4 mL de cada extrato ou suco dissolvidos em etanol na concentração final de 1 mg/mL.

### **2.1 - Teste para fenóis e taninos**

Nos tubos de ensaio de número 1, foram adicionadas três gotas de  $\text{FeCl}_3$  1,0 mol/L. Agitou-se bem e observou-se qualquer variação de cor e/ou formação de precipitado escuro abundante. O resultado foi comparado com um teste em branco, usando-se água e  $\text{FeCl}_3$ . A coloração variando entre azul e vermelho é um indicativo da presença de fenóis, a formação de precipitado azul escuro indica a presença de taninos hidrolisáveis e de precipitado verde, de taninos condensados ou catéquicos. A solução de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foi preparada adicionando-se 9,0 g deste reagente em 50 mL de água destilada contendo 2,0 mL de ácido clorídrico 3 mol/L. Em seguida, completou-se o volume para 100 mL com etanol em um balão volumétrico. A solução de HCl 3 mol/L foi obtida através da adição de 33,3 mL do ácido concentrado em água destilada suficiente para 100 mL de solução em um balão volumétrico.

## 2.2 – Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

O tubo de número 2 foi acidulado a pH 3 com HCl 3 mol/L e os tubos 3 e 4 foram alcalinizados a pH 8,5 e 11 respectivamente, com NaOH 1 mol/L. Qualquer mudança de coloração da solução foi interpretada como:

Constituintes	Cor em meio		
	Ácido pH 3	Alcalino pH 8,5	alcalino pH 11
Antocianinas e antocianidinas	Vermelha	lilás	azul-púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	vermelho-púrpura
Flavanonóis	-	-	vermelho laranja

A solução de NaOH 1 mol/L foi preparada dissolvendo-se 4,0 g deste reagente em água destilada em um volume de 100 mL de solução em balão volumétrico.

## 2.3 – Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

No tubo 5 adicionou-se HCl 3 mol/L acidulando até pH 1- 3 e alcalinizou-se o tubo 6 com NaOH 1 mol/L até pH 11. Os tubos foram aquecidos cuidadosamente. As observações de modificação na coloração foram feitas por comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior. A interpretação foi feita da seguinte forma:

Constituintes	Cor em meio	
	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas (Taninos catéquicos)	Pardo-amarelada	-
Flavanonas	-	vermelho-laranja

## **2.4 – Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas**

Nos tubos de número 7, foram adicionados 31,5 mg de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado. O término da reação foi indicado pelo fim da efervescência. O aparecimento ou intensificação da cor vermelha foi indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

## **2.5 – Teste para esteróides e triterpenóides**

Adicionou-se 10 mL da solução etanólica de cada extrato ou suco em béqueres e deixou-se secar em banho-maria. Procedeu-se a extração do resíduo seco de cada béquer três vezes com porções de 1,0 a 2,0 mL de  $\text{CHCl}_3$ . Filtrou-se a solução clorofórmica em um pequeno funil fechado com um chumaço de algodão, coberta com miligramas de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, para um tubo de ensaio bem seco. Adicionou-se 1 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Foram adicionadas cuidadosamente três gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Agitou-se suavemente e observou-se o rápido desenvolvimento de cores. A coloração azul seguida da verde permanente é um indicativo da presença de esteróides livres. Coloração parda até vermelha indica triterpenóides pentacíclicos livres.

## **2.6 – Teste para saponinas**

Tomaram-se os resíduos insolúveis em clorofórmio, separados no teste anterior, solubilizou-se em água destilada e filtrou-se a solução para um tubo de ensaio. Agitou-se fortemente o tubo com a solução, por dois a três minutos e observou-se a formação de espuma.

Uma espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponinas.

## **2.7 – Teste para alcalóides**

Os extratos e sucos foram separados em tubos diferentes, solubilizados com metanol e submetidos à cromatografia em camada delgada. Após eluição, o

cromatograma foi revelado com reagente de Dragendorff. O surgimento de manchas de cor alaranjada sugere a presença de alcalóides.

## 2.8 – Teste para antraquinonas, antronas e cumarinas

Foram marcados os pontos com os extratos-teste e sucos-teste em placas cromatográficas que foram eluídas em clorofórmio. As placas foram borrifadas com solução de KOH a 10% e observou-se a presença de cores indicativas em luz UV 365 nm.

A cor vermelha indica antraquinona, a amarela indica antrona e a azul indica cumarina.

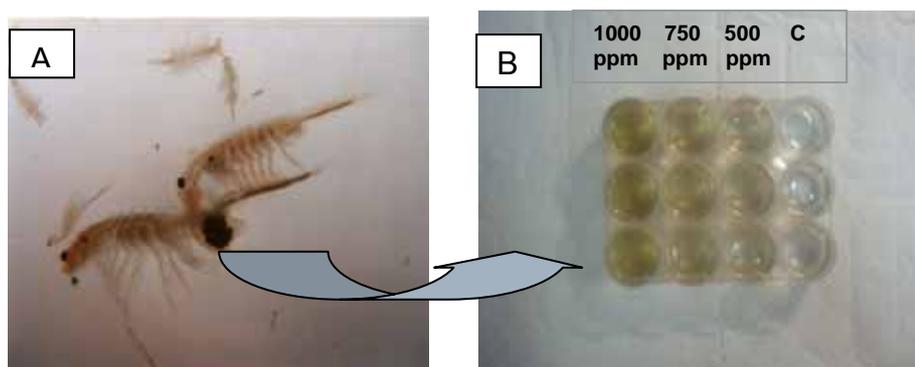
## 3 – Teste de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* (BST) (MEYER *et al.*, 1982).

(*Artemia salina* é um micro crustáceo conhecido popularmente como camarão de água salgada (Figura 11 A, p. 36) (MEYER *et al.*, 1982; MCLAUGHLIN, 1991; SOLIS *et al.*, 1992; GUERRA, 2001)) utilizado como indicador de toxicidade de substâncias químicas, pesticidas, poluentes e outros (LOPES *et al.*, 2002). A análise é feita através do cálculo da Concentração Letal Média (CL<sub>50</sub>), ou seja, a concentração que promove a morte da metade de uma população estudada (DOLABELA, 1987). Este teste é bastante utilizado devido ao seu baixo custo, ter boa reprodutibilidade, ser uma técnica não asséptica, de fácil execução e por fornecer resultados rapidamente (SIQUEIRA *et al.*, 2001).

O grau de toxicidade dos extratos estudados foi determinado segundo Déciga-Campos e cols. (2007) que consideram atóxicos extratos que possuem CL<sub>50</sub> ≥ 1000 µg/mL, baixa toxicidade se a CL<sub>50</sub> ≥ 500 e ≤ 1000 µg/mL e altamente tóxico quando a CL<sub>50</sub> < 500 µg/mL.

Na realização deste teste, foi utilizada água do mar, obtida semanalmente e filtrada em algodão hidrófilo, para a eclosão dos ovos de *Artemia salina* e para o preparo do controle e das diluições dos extratos e sucos. Ovos de *A. salina* foram postos para eclodir em cubas contendo água do mar, por 48 horas, com aeração constante e expostos à luz artificial indireta.

As soluções obtidas com os extratos e as soluções estoque de *A. vera* e *E. tirucalli*, foram diluídas em quatro diferentes concentrações e distribuídas em triplicata em placa acrílica de 12 poços. Em seguida, 10 larvas de *A. salina* foram adicionadas a cada poço e ao controle (Figura 11 B, p. 36). O controle negativo consistiu em água do mar contendo 0,1% de Cremophor®.



**Figura 11.** Foto ilustrativa de larva de *Artemia salina* (A) e de placa contendo as diluições das amostras e controle (B)

As placas foram mantidas sob iluminação e, as larvas sobreviventes foram contadas após 24 horas com auxílio de uma lupa. As percentagens de mortos a cada dose e controle foram determinadas. O cálculo da  $CL_{50}$  foi feito utilizando o método Probitos de análise (FINNEY, 1974).

#### 4 – Citotoxicidade *in vitro*

Essa análise faz parte de uma triagem inicial para determinação do potencial antitumoral, *in vitro*, de extratos em três linhagens tumorais humanas (HL-60, HCT-8 e MDAMB-435) já que foi constatado que estas três linhagens são capazes de detectar mais de 95% dos compostos ativos nas 60 linhagens utilizadas na triagem desenvolvida pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (CRAGG & NEWMAN, 2000; MILITÃO, 2005).

##### 4.1 – Amostras

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril. Extratos e frações foram testados na concentração final de 50  $\mu\text{g/mL}$ .

## 4.2 – Material

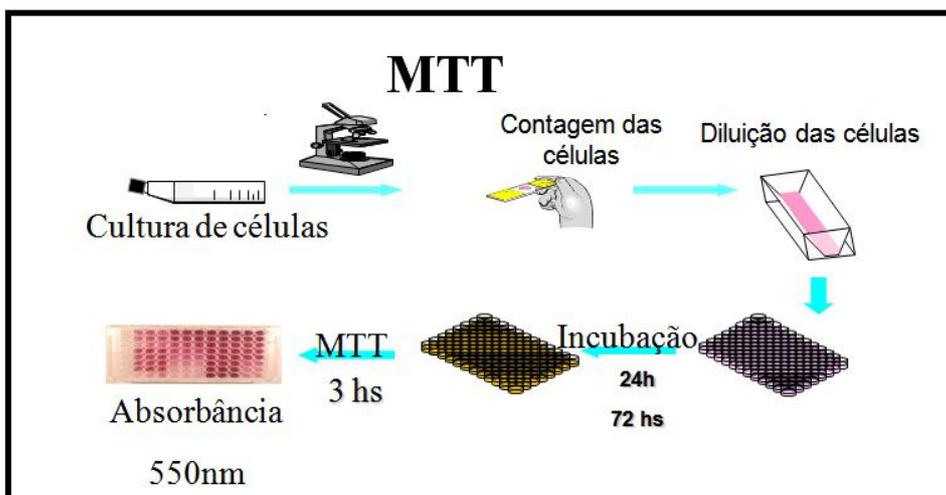
**Células:** As linhagens tumorais utilizadas, MDA-MB435 (mama - humano), HCT-8 (côlon - humano) e SF-295 (glioblastoma - humano), foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), sendo cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino, 1% de glutamina, 1% de antibióticos, 1% de bicarbonato de sódio (0,75%) e 25 mM de HEPES, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

## 4.3 – Método

Análise de citotoxicidade pelo método do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil tetrazolium - MTT (GERAN *et al.*, 1972; MOSMANN, 1983 modificado por ALLEY *et al.*, 1988) vem sendo utilizada no programa de triagem do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato que visa analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. Consiste de uma análise colorimétrica baseada na conversão do MTT em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas, que permite dessa maneira, quantificar a porcentagem de células vivas. São considerados citotóxicos extratos com concentração maior que 30 µg/mL (VIEIRA, 2007).

O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As células foram plaqueadas na concentração de  $0,1 \times 10^6$  células/mL para as linhagens MDA/MB-435 e SF-295 e  $0,7 \times 10^5$  cel/mL para a linhagem HCT-8. Em seguida, foram adicionadas as amostras na concentração final de 50 µg/mL. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm (Figura 12, p. 38). Os experimentos foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*.



**Figura 12.** Ensaio de citotoxicidade pelo método MTT

#### 4.4 – Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos de camundongos *Mus musculus Swiss*

Esta metodologia, segundo descrita por Costa-Lotufo e cols. (2002); Dresch e cols. (2005), permite avaliar o potencial das substâncias teste em causar lesões na membrana plasmática da célula, seja pela formação de poros ou pela ruptura total.

##### 4.4.1 – Material

**Eritrócitos de Camundongos:** Obtidos através do plexo orbital após anestesia dos animais.

**Amostras:** as amostras foram diluídas em DMSO na concentração estoque de 2000 mg/mL e plaqueadas em placa de 96 poços, onde foi montada uma curva de concentração com as substâncias nas concentrações de 7,8 a 1000 µg/mL.

##### 4.4.2 – Método

Coletou-se o sangue de três camundongos através do plexo orbital, que em seguida foi diluído em 30 volumes de solução salina (NaCl 0,85% + CaCl<sub>2</sub> 10 mM). Os eritrócitos foram lavados duas vezes em solução salina por centrifugação (1500 rpm/3min) para redução da contaminação plasmática e ressuspensos em solução salina para obtenção de uma suspensão de eritrócitos (SE) a 2%. Os ensaios foram

realizados em multiplacas com 96 cavidades. Cada poço da 1ª fileira recebeu 100 µL da solução salina. Na 2ª, os poços receberam 50 µL da solução salina e 50 µL do veículo de diluição das substâncias teste, neste caso, DMSO a 10%. Aos poços da 3ª fileira, foram adicionados 100 µL de solução salina e 100 µL das substâncias teste em solução. Da 4ª fileira em diante os poços receberam 100 µL da solução salina, excetuando-se os da última fileira, que receberam 80µL de solução salina e 20µL de Triton X – 100 1% (controle positivo). As diluições foram feitas da 3ª à 11ª cavidade, retirando-se 100 µL da solução da cavidade anterior e transferindo para a seguinte de modo que as concentrações fossem sempre diluídas pela metade, variando de 3,9 a 200 µg/mL. Em seguida, 100 µL da suspensão de eritrócitos foram plaqueados em todos os poços. Após incubação de 1 h, sob agitação constante à temperatura ambiente ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ), as amostras foram centrifugadas (5000rpm/3 min.) e o sobrenadante transferido para uma outra placa para a leitura da absorbância no espectrofotômetro de placas a 540 nm. A atividade dos extratos foi determinada de maneira relativa ao valor dos controles positivo e negativo. Os dados são analisados a partir da média e do erro padrão da média de n experimentos. Para verificação da ocorrência de diferenças significativas entre os diferentes grupos, os dados foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida de Student Newman Keuls, com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

#### **4.5 – Atividade citotóxica em linhagens de células tumorais**

As linhagens tumorais foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (NCI), sendo HL-60 (leucemia), HCT-8 (carcinoma de cólon), SF-295 (sistema nervoso central) e MDA-MB-435 (mama), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico, e mantidas em estufa a 37°C, contendo CO<sub>2</sub>. As células em suspensão ou monocamadas foram distribuídas em multiplacas de 96 cavidades numa densidade de  $0,3 \times 10^6$  células/mL, para células suspensas,  $0,7 \times 10^5$  células/mL para as aderidas. As substâncias teste foram diluídas e plaqueadas juntamente com as células, e incubadas por um período de 72 h. Quatro horas do fim do período de incubação adicionou-se 10 µL de Alamar Blue (0,312 mg/mL) a cada poço. No fim das 72 h as placas foram lidas em espectrofotômetro de placa, nas absorbâncias de 570 nm e 595

nm. Posteriormente, as leituras foram convertidas de acordo com a percentagem de Alamar blue reduzido, e assim a  $CI_{50}$  foi calculada. Os valores de  $CI_{50}$  com intervalo de confiança de 95% foram obtidos por regressão não linear usando o programa Graphpad.

## 4.6 – ENSAIO DO ALAMAR BLUE

### 4.6.1 - Princípio do método

A técnica do Alamar blue (resazurina, Sigma-Aldrich Co) faz uso de um indicador de óxi-redução (redox), o Alamar Blue ou resazurina (azul e não fluorescente) que é reduzido por células viáveis à resorufina (róseo e altamente fluorescente) (ZHI-JUN *et al.*, 1997). No ensaio do Alamar blue (figura 13, p. 41) é quantificado apenas a redução da resazurina à resorufina. O Alamar blue é um indicador sensível da função mitocondrial (SPRINGER *et al.*, 1998). A cada poço é adicionado 10  $\mu$ L de Alamar Blue (0,312 mg/mL). A absorbância é determinada nos comprimentos de onda de 570 nm (estado oxidado) e 595 nm (estado reduzido), utilizando um leitor multiplaca (DTX 880 Multimode Detector, Beckman Coulter). A percentagem de Alamar blue reduzido é calculada segundo a fórmula: % reduzido =  $A_{LW} - (A_{HW} \times R_O) \times 100$ , onde:  $A_{LW}$  = representa a leitura do estado oxidado

$A_{HW}$  = representa a leitura do estado reduzido

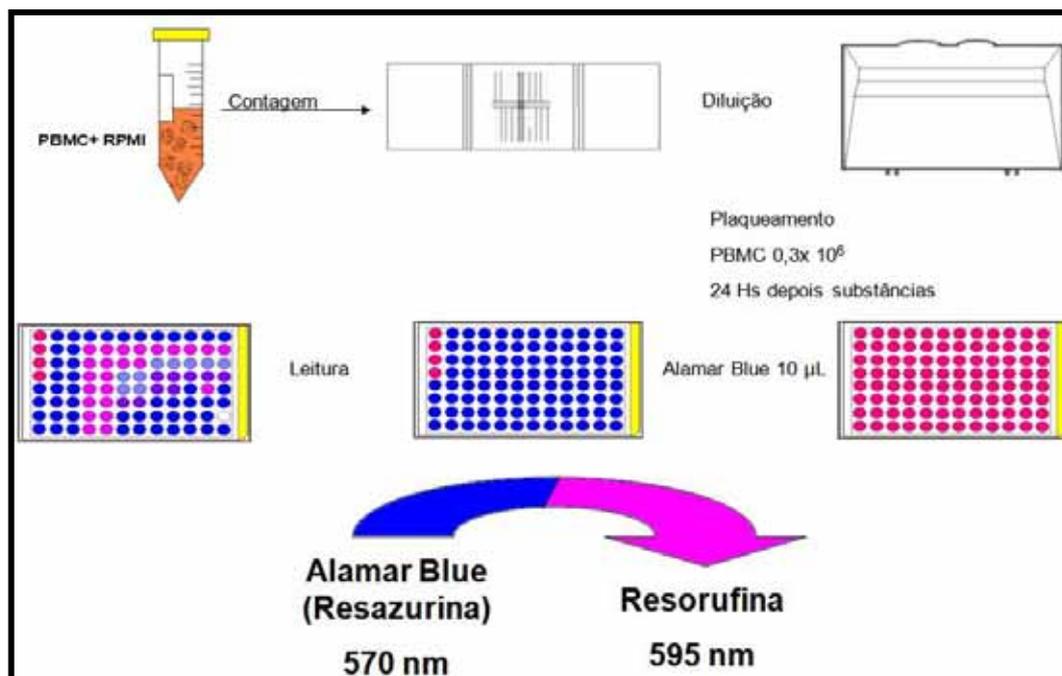
$R_O$  = representa a divisão  $AO_{LW} / AO_{HW}$ .

$AO_{LW}$  = representa a absorbância do meio sozinho subtraído da absorbância do meio com Alamar blue em baixo comprimento de onda.

$AO_{HW}$  = representa a absorbância do meio sozinho subtraído da absorbância do meio com Alamar blue em alto comprimento de onda.

#### Amostras:

Os extratos foram solubilizados em DMSO estéril na concentração estoque de 10 mg/mL, e testados em diluição seriada (0,78 – 50  $\mu$ g/mL).



**Figura 13.** Ensaio de Alamar Blue

#### 4.7 – Atividade citotóxica em Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC)

Com intuito de investigar a sensibilidade da proliferação e citotoxicidade em células normais, as amostras foram testadas em células mononucleares do sangue periférico (PBMC) durante 72h de exposição. Sangue heparinizado foi coletado de voluntários sadios (com idade entre 18 e 25 anos, boa saúde e que não estavam usando medicamentos) e o PBMC isolado segundo gradiente de centrifugação de Ficoll-Hypaque. Após o isolamento, o PBMC foi ressuspensão em meio RPMI 1640 suplementado com 20% de soro fetal bovino, 100 U/mL, 100 µg/mL de estreptomicina e 4% de fitohemaglutinina (Figura 14). As células foram plaqueadas na concentração de  $0,3 \times 10^6$  células/ml. Após 24h de incubação, adicionou-se a substância teste a cada poço. Doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. Vinte e quatro horas antes do fim do período de incubação de 72 h, 10 µL de solução estoque (0,312 mg/mL) de Alamar blue foram adicionados a cada poço (Figura 14, p. 42).

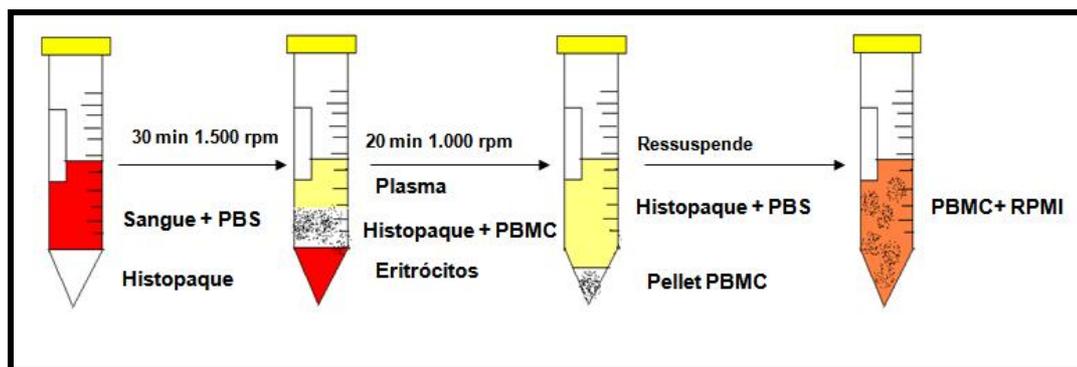


Figura 14. Esquema de atividade citotóxica em PBMC

## 5 - Ensaio de atividade antitumoral *in vivo*

A atividade antitumoral dos extratos das oito espécies, no sarcoma 180 foi observada em camundongo albino suíço jovem, com faixa etária de 60 dias, pesando 25–30 g, separados em grupos de 6 animais por gaiola. Os testes foram feitos observando o efeito no crescimento do tumor na forma de ascite de uma dose de 0,20 mL (cerca de  $3 \times 10^6$  células) implantadas subcutaneamente na axila direita (Figura 15. p. 43) (NISHIKAWA *et al.*, 1974). Após 24 h da implantação do tumor, a quimioterapia foi iniciada com o extrato dissolvido em água destilada estéril e injetada intraperitonealmente em doses diárias de 100 mg/Kg, durante 7 dias. O grupo controle foi tratado com solução salina, aplicada pela mesma via de administração do grupo tratado, pelo período de 7 dias. A dose estipulada para os sucos de *A. vera* e *E. tirucalli*, bem como para os extratos de *C. urens*, *S. adstringens*, *C. bonduc* e *H. pectinata* foi de 100 mg/Kg obtida a partir de testes de efeitos gerais como etapa inicial do protocolo experimental. As doses estipuladas dos extratos de *A. muricata* e *S. terebinthifolius*, foram de 30 mg/Kg e 2,5 mg/Kg respectivamente, devido à toxicidade verificada em testes de efeitos gerais. Os experimentos foram realizados com grupos de seis animais para cada amostra testada. Os camundongos foram alimentados com dieta padrão e água. Depois de 8 dias, os animais-controle (Figura 16, p. 43) e os tratados foram mortos e os tumores dissecados e pesados; também foram dissecados fígado, baço e rins e fixados para análise histopatológica. O raio de inibição do crescimento tumoral foi calculado usando a fórmula:

$$TW\% = [(C - T) / C] \times 100$$

onde C é a média dos pesos dos tumores do grupo controle não tratado e T

corresponde a media dos pesos dos tumores do grupo tratado, conforme procedimento adotado para screening de drogas no protocolo de novas substâncias do Instituto Nacional do Câncer - NCI (NISHIKAWA *et al.*, 1974; MACHÓN *et al.*, 1981). A relação T/C deve ser considerada como atividade significativa da droga, correspondendo a uma inibição de 58% (GERAN *et al.*, 1972). Para a análise estatística, considerou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com oito tratamentos e diferentes números de repetições por tratamentos (quatro a seis). Fez-se a análise de variância, com a aplicação do teste F para verificar se as amostras tinham iguais médias de % de inibição. Nas comparações das médias duas a duas, aplicou-se o procedimento de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.



**Figura 15** – implantação s.c. de Sarcoma 180 camundongo albino suíço



**Figura 16** – Tumor axilar em animal-controle (8 dias após implantação)

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 1. COLETA DE DADOS ETNOFARMACOLÓGICOS NO CACON / HUPAA / UFAL

**Tabela 8** - Plantas usadas pelos portadores de câncer do CACON / HUPAA (n = 43)

Planta/Fitoterápico	Nº de citações	Parte utilizada	Forma de uso	Posologia
Barbatimão	3	Cascas do caule	Creme vaginal	1x ao dia
Graviola	26	Folhas	chá	1x ao dia
Jiló + uva	1	Fruto	chá	1x ao dia
Sambacaitá	6	Folhas	Banho de assento	2x ao dia
Guajuru	1	Folhas	chá	Ingestão constante
Chá verde	1	Folhas	chá	1x ao dia
Romã	1	Cascas do caule	gargarejo	2x ao dia
Babosa	21	Folhas	garrafada	1x ao dia
Aroeira	9	Entrecasca	Garrafada, chá e lambedor	3x ao dia
Nogueira	1	Folhas	chá	1 litro/dia
Linhaça	1	Semente	suco	3x ao dia
Couve e brócolis, acelga, agrião, espinafre e rúcula	1	Caule e folhas	suco	1x ao dia
Melancia	1	Fruto	suco	2x ao dia
Tomate	1	Fruto	suco	2x ao dia
Maconha	1	Folhas	garrafada	3x ao dia
Urtiga branca	3	Raiz	Chá	3x ao dia
Pra tudo	1	Raiz e folhas verdes	chá	3x ao dia
Unha-de-gato	1	Caule ou semente	chá	2x ao dia
Confrei	1	Folhas	chá	3x ao dia
Couve + laranja	1	Folha + fruto	suco	1x ao dia
Agrião + espinafre + laranja	1	Folhas + fruto	suco	1x ao dia
Avelós	2	Caule	4 gts em água	2x ao dia
Cajueiro brabo	1	Raiz	chá	Ingestão constante
Pinha + genipapo	1	Frutos e folhas	fruta e chá	3x ao dia
Palma + gengibre	1	Caule e folhas	chá	4 a 5x ao dia
Melão de São Caetano	1	Folha ou fruto	Chá, suco	2x ao dia

Através da avaliação dos dados (Tabela 8, p. 45), foram selecionadas para esse estudo, as espécies mais frequentemente citadas e ou aquelas que, mesmo com pequeno número de citações pelos entrevistados, possuem relatos de toxicidade como Urtiga branca, Barbatimão, Avelós e Unha-de-gato, (Tabela 9).

**Tabela 9.** Espécies com maior frequência de citações e/ou com relatos de toxicidade

Planta	Nº Citações	Parte utilizada	Forma de uso	Posologia
Graviola	26	Folhas	chá	1xdia
Babosa	21	Folhas	Garrafada	1xdia
Aroeira	9	entrecasca	Garrafada, chá e lambedor	3xdia
Sambacaitá	6	Folhas	Banho de assento	2xdia
Urtiga branca	3	Raiz	chá	3xdia
Barbatimão	3		Creme vaginal	1xdia
Avelós	2	Caule (látex)	4 gt. em água	2xdia
Unha-de-gato	1	caule/semente	chá	2xdia

Dentre os tipos de câncer dos pacientes entrevistados no CACON/HUPAA, o câncer de mama é o de maior incidência (53,7%) seguido pelo câncer de cólon e o linfoma de Hodgking ambos com incidência de 7,3% (Figura 17, p. 47). Estes dados confirmam as informações do INCA que apontam o câncer de mama e o de cólon como representantes do primeiro e segundo lugar, respectivamente, em incidência em quase todas as regiões do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

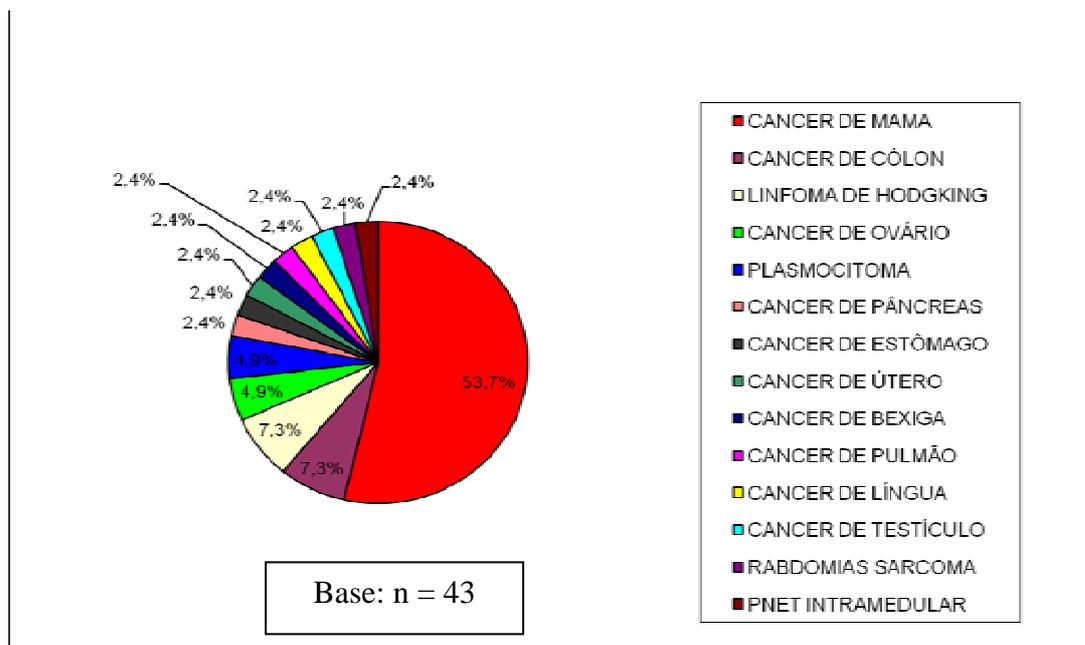


Figura 17 - Tipos de câncer dos pacientes entrevistados no CACON / HUPAA

## 2- PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Os resultados obtidos foram descritos para cada espécie estudada (Tabela 10).

Tabela 10. Prospecção fitoquímica (MATOS, 1997)

Constituintes (*)	ARO	AVE	BAB	BAR	GRA	SAM	UNH	URT
Fenóis	+			+				
Taninos				+				
Antocianinas	+							
Antocianidinas	+							
Flavonóides				+			+	+
Flavonas	+		+					
Flavonóis	+		+	+				
Xantonas	+		+	+				
Chalconas								
Auronas								
Flavanonóis	+		+	+				
Leucoantocianidinas								
Catequinas					+			
Flavanonas	+		+	+				
Esteróides		+	+		+	+	+	+
Triterpenóides		+		+				
Saponinas			+	+	+	+	+	+
Alcalóides								
Antraquinonas								
Antronas								
Cumarinas								+

(\*) Os nomes populares das espécies estudadas estão representados por abreviaturas.

### **- *Aloe vera* L. Burm.f. (suco)**

Os grupos químicos apresentados foram flavonóis, flavanonas, flavanonóis, xantonas, esteróides livres e saponinas.

Os dados de prospecção supracitados diferem dos dados obtidos na literatura, principalmente por se apresentarem negativos para antraquinonas, já que grande parte dos estudos farmacológicos atribui as diversas atividades de *A. vera* aos seus derivados antracênicos como: aloína, barbaloina e isobarbaloina (KUZUYA *et al.*, 2001; STEINERT *et al.*, 1996), aloe-emodina, aloenina (SOUSA *et al.*, 1991). Este fato se deve provavelmente, à forma de preparação do extrato que, neste estudo, foi feita de acordo com as informações da população entrevistada e nos relatos encontrados em literatura, os sucos de folhas frescas eram liofilizados ou tinham seus princípios isolados e purificados.

### **- *Annona muricata* L. (extrato hidroetanólico)**

Neste estudo, observou-se presença de catequinas, esteróides livres e saponinas. Sobre o gênero *Annona*, os estudos fitoquímicos referidos em literatura, relatam diversos tipos de classes estruturais encontradas (MAAS *et al.*, 2001; ANDRADE *et al.*, 2003; PONTES *et al.*, 2004), tais como: acetogeninas, alcalóides, amidas, flavonóides, diterpenos e esteróides (LIMA, 2005), destes citados, apenas esteróides foram confirmados neste estudo fitoquímico.

### **- *Cnidoscopus urens* (L.) Arthur (extrato hidroetanólico)**

Presença de flavonóides, esteróides livres, saponinas e cumarinas.

Diferentemente dos resultados deste estudo, Lima e cols. (1958), apontam diterpenos, triterpenos e alcalóides como classes estruturais presentes em estudos fitoquímicos realizados com *C. urens*.

### **- *Euphorbia tirucalli* L. (suco)**

Observados esteróides livres e triterpenóides.

Em estudo fitoquímico recente, Passilongo-Silva (2007) verificou a presença de grande quantidade de terpenos e esteróis entre os constituintes de *Euphorbia tirucalli*, confirmando os dados fitoquímicos deste estudo.

#### **- *Hyptis pectinata* L (Poit) (extrato hidroetanólico)**

Presença de esteróides livres e saponinas.

Em relação a esta espécie são poucos os estudos acerca de seus constituintes; encontrando-se relatados na literatura a presença de pectinolídeos e timol (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993; BOALINO *et al.*, 2003).

#### **- *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (extrato hidroetanólico)**

Observados fenóis, taninos, flavonóides, flavonóis, flavononas, flavanonóis, xantonas, triterpenóides e saponinas.

Os resultados positivos para taninos e flavonóides com extratos das folhas de *S. adstringens* (SILVA & FIGUEIREDO, 2007; SANTOS *et al.*, 2002) são coincidentes com os resultados obtidos neste estudo com extrato hidroetanólico da casca do caule.

#### **- *Caesalpinia bonduc* (L) Roxb. (extrato hidroetanólico)**

Presença de flavonóides, esteróides livres e saponinas.

Quanto à espécie *Caesalpinia bonduc*, vários são os constituintes verificados através de estudo fitoquímico, a saber: flavonóides, terpenos, alcalóides (OSAWA *et al.*, 1990; DI CARLO *et al.*, 1999; KEITH *et al.*, 1990) triterpenóides, ácidos graxos e esteróis (ALI *et al.*, 1997; RASTOGI *et al.*, 1996), confirmando em parte, nossos resultados.

#### **- *Schinus terebinthifolius* Raddi (extrato hidroetanólico)**

O estudo fitoquímico, do gênero *Schinus*, revelou a presença de terpenóides e ácidos graxos (POZZO *et al.*, 1978; TERHUNE *et al.*, 1974; JAIN *et al.*, 1995); a análise fitoquímica realizada por Jorge e cols. (1996), das folhas e cascas de *Schinus terebinthifolius* mostrou a presença de taninos e óleos essenciais, além disso,

verificou que as saponinas são restritas às cascas e que os compostos fenólicos das cascas são diferentes dos presentes nas folhas, o que não foi verificado em nosso estudo com as cascas, onde foi obtido resultado negativo para saponinas.

### 3. Testes de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach (BST) (MEYER *et al.*, 1982).

A análise destes resultados (Tabela 11, p. 50), feita segundo os critérios de toxicidade estabelecidos por Déciga-Campos e cols. (2007), evidenciou que as espécies *A. vera*, *C. urens*, *H. pectinata* e *C. bonduc* apresentaram  $CL_{50} \geq 1000 \mu\text{g/mL}$  sendo portanto, consideradas atóxicas. Destas espécies citadas, *H. pectinata* foi a que apresentou maior  $CL_{50}$  (10,7424 mg/mL), verificou-se ausência de dados na literatura que informem a  $CL_{50}$  das espécie *C. urens*, *H. pectinata* e *C. bonduc*.

**Tabela 11** – Valores de  $CL_{50}$  (mg/mL) calculados a partir do bioensaio com *Artemia salina*.

Nome científico/Código	Parte usada	IC95%		$CL_{50}$ (mg/mL)
		MÍN.	MÁX.	
<i>Aloe vera</i> L. (BAB)	folha	20,3680	2,369	4,2619
<i>Annona muricata</i> (GRA)	folha	0,0016	0,0019	0,0017
<i>Cnidioscolus urens</i> L.(URT)	raiz	1,9943	4,4316	2,7496
<i>Euphorbia tirucalli</i> (AVE)	caule	0,0077	0,0092	0,0085
<i>Hyptis pectinata</i> (SAM)	folha	1,0410	*****	10,7424
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (BAR)	Casca do caule	0,4186	0,6097	0,4971
<i>Caesalpinia bonduc</i> (UNH)	raiz	0,9986	1,3396	1,1379
<i>Schinus terebinthifolius</i> (ARO)	Casca do caule	0,4701	0,5677	0,5151

Quanto à *A. vera*, Parra e cols. (2001) relatam para o extrato etanólico de *A. vera* uma  $CL_{50} = 3.59 \mu\text{g/mL}$ , valor este inferior ao do nosso estudo (4,2619 mg/mL).

A espécie *S. terebinthifolius* apresentou  $CL_{50} = 0,5151 \text{ mg/mL}$  ( $CL_{50} \geq 500$  e  $\leq 1000 \mu\text{g/mL}$ ) foi considerada de baixa toxicidade e, embora esta seja uma espécie

bastante utilizada pela medicina tradicional e vendida em feiras livres, não há relatos sobre sua  $CL_{50}$  na literatura consultada. Por fim, *S. adstringens*, *A. muricata* e *E. tirucalli* foram classificadas como de alta toxicidade, principalmente o extrato de *A. muricata*. A espécie *E. tirucalli*, teve sua toxicidade confirmada em estudo feito por Brasileiro e cols. (2006), que aponta, segundo classificação de Meyer (1982), esta espécie como tóxica por apresentar  $CL_{50} < 1000$  ppm.

Embora o extrato de *S. adstringens* tenha sido classificado como altamente tóxico (0,4971 mg/mL) neste estudo, em estudo anterior realizado por Alves e cols. (2000) os extratos metanólicos e aquosos da casca de Barbatimão não exerceram quaisquer efeitos tóxicos sobre *Artemia salina*.

A toxicidade do extrato etanólico de *A. muricata*, também se encontra elevada no trabalho de Luna e cols. (2006), onde  $CL_{50}$  do extrato frente *Artemia salina* foi de 0,49 µg/mL (0,00049 mg/mL), embora este seja um valor inferior ao encontrado em nosso estudo (0,0017 mg/mL). Apenas no trabalho de Pisutthanan e cols. (2004), que avaliou a toxicidade de extrato metanólico obtido de casca, folhas e sementes de *A. squamosa* obteve-se uma  $CL_{50}$  de 0,00149 mg/mL, valor bem próximo ao obtido em nosso estudo (0,0017 mg/mL) com a espécie *A. muricata*.

Nos estudos relatados na literatura, foram encontrados valores representativos de alta toxicidade do látex extraído dos ramos de *E. tirucalli* frente a *A. salina*. Brasileiro e cols. (2006), trabalhando com extrato etanólico de partes aéreas de *E. tirucalli*, encontrou uma  $CL_{50}$  de 0,0231 mg/mL, valor acima do encontrado no presente estudo (0,0085 mg/mL). Investigando a toxicidade de *Euphorbia conspicua*, Santos e cols. (2007) encontraram valores de  $CL_{50}$  menores que 0,01 mg/mL, valores estes próximos aos relatados em nosso estudo (0,0085 mg/mL), embora Guerrero e Guzmán (2004) tenham encontrado um valor de  $CL_{50}$  de 0,0767 mg/mL para os estudos de toxicidade com o látex de *E. tirucalli*.

#### **4. Citotoxicidade *in vitro***

Antineoplásicos ideais seriam aqueles que fossem tóxicos apenas às células cancerosas preservando as células normais, porém a grande maioria destes fármacos são indiscriminadamente lesivos justificando, portanto, os ensaios de citotoxicidade como triagem preliminar (FÁVARO *et al.*, 1990). Na continuidade deste estudo com ensaios mais específicos de atividade antitumoral, decidiu-se pela inclusão de todas

as amostras, as atóxicas e também as muito tóxicas, como *A. muricata*, no ensaio de *A. salina*, no intuito de se identificar efeitos tóxicos sobre células de linhagens tumorais humanas.

A atividade citotóxica de todas as amostras está apresentada na tabela 12 (p. 52), com seus respectivos percentuais de inibição sobre as linhagens tumorais SF-295 (glioblastoma), HCT-8 (côlon) e MDA-MB-435 (mama). As substâncias assinaladas em negrito na tabela 12, foram escolhidas para avaliações subseqüentes. *A. muricata* por apresentar valores de inibição  $\geq 75\%$  em pelo menos duas linhagens tumorais testadas, valor esse considerado como *cut-off* para a triagem de novas substâncias com potencial antitumoral e a amostra de *H. pectinata* porque, embora seu percentual de atividade tenha-se mostrado inferior a 75%, apresentou certa especificidade para as células de linhagem tumoral de cólon humano (HCT-8).

**Tabela 12** - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 50 µg/mL Valores são média  $\pm$  DPM.

Amostra	SF295	GI%	HCT-8	GI%	MDA-MB435	GI%
	média	DPM	média	DPM	média	DPM
<i>A. muricata</i> (graviola)	<b>81,27</b>	2,79	<b>86,31</b>	0,29	<b>70,55</b>	2,24
<i>S. terebinthifolius</i> (aroeira)	25,20	2,77	31,36	0,55	20,27	2,66
<i>Hyptis pectinata</i> (sambacaitá)	49,56	8,15	<b>61,57</b>	1,19	49,59	1,56
<i>C. urens</i> (urtiga)	-29,16	6,13	8,74	0,01	10,29	2,79
<i>S. adstringens</i> (barbatimão)	23,30	6,34	30,34	3,74	46,93	7,12
<i>C. bonduc</i> (unha-de-gato)	5,53	0,45	16,70	5,80	19,16	11,64
<i>Euphorbia tirucalli</i> L. (Avelós)	23,50	5,39	-20,19	5,00	40,89	5,14
<i>Aloe vera</i> L. Burm.f. (Babosa)	-39,56	7,34	19,56	4,50	19,23	1,78
DOXORRUBICINA	<b>87,38</b>	5,50	<b>97,33</b>	3,78	<b>99,88</b>	1,34

### ***Annona muricata* L.**

O elevado potencial citotóxico do extrato de graviola (*A. muricata*) para as três linhagens tumorais (Tabela 12, p. 52) corrobora as informações acerca dos estudos realizados com as substâncias ativas, isoladas desta espécie, denominadas acetogeninas, que têm sido estudadas quanto às suas atividades citotóxicas sobre linhagens tumorais. De acordo com levantamento da literatura, verificamos que tanto a linhagem de câncer de cólon (HCT-8) quanto à linhagem de câncer de mama (MDA-MB435) foram selecionadas para estudos de atividade anti-tumoral. Entretanto, para a linhagem de glioblastoma SF295, não foi encontrado nenhum estudo relacionando a atividade de acetogeninas ou mesmo do extrato de *A. muricata*.

Acetogeninas isoladas das folhas de *A. muricata* (anomuricina C 111 e muricatocina C 121) demonstraram citotoxicidade sobre linhagens tumorais em ensaios *in vitro* (WU *et al.*, 1995). A muricatacina (5-hidróxi-4-heptadecanolido) isolada das sementes de *A. muricata* mostrou promissora atividade citotóxica nas células de linhagens tumorais de pulmão, de mama e de cólon (CAVÉ *et al.*, 1997) e as acetogeninas anomuricina e muricapentocina, quando testadas para linhagens de carcinoma pancreático e adenocarcinoma de cólon, mostraram seletividade (KIM *et al.*, 1998). Três novas acetogeninas (muricina H, muricina I e cis-anomontacina) isoladas das sementes de *A. muricata* exibiram significativa atividade citotóxica em ensaios *in vitro*, contra duas linhagens celulares de hepatoma humano (LIAW *et al.*, 2002). Chang e Wu (2001) relataram a atividade significativamente seletiva das acetogeninas (muricinas A-G, muricatetrocina A e muricatetrocina B, longifolicina, corossolina, e corossolona) extraídas de sementes de *A. muricata*, sobre linhagens celulares de hepatoma humano.

Outras linhagens tumorais têm sido utilizadas em ensaios *in vitro* com intuito de verificar atividade citotóxica das acetogeninas, a exemplo de estudo realizado por Kim e cols. (1998), onde anomuricina e muricapentocina isoladas do extrato das folhas de *A. muricata*, apresentaram atividade citotóxica contra seis tipos de tumores humanos, com seletividade para as linhagens celulares de carcinoma pancreático (PACA-2) e adenocarcinoma de cólon (HT-29).

Quanto à avaliação de citotoxicidade em linhagens de células tumorais sólidas humanas, a fração cis-anonicina, acetogenina extraída das sementes de *A. muricata*, mostrou atividade citotóxica seletiva para células de adenocarcinoma de cólon (HT-

29), onde teve 10.000 vezes a potência da adriamicina (GU *et al.*, 1996; ZENG *et al.*, 1996).

### ***Hyptis pectinata* (L.) Poit (Sambacaitá - SAM)**

Apesar de plantas do gênero *Hyptis* serem alvo de diversos estudos fitoquímicos, poucos estudos dessa espécie vegetal têm sido realizados utilizando modelos biológicos à procura de princípios citotóxicos (PEREDA-MIRANDA, 1995), por este motivo, a atividade citotóxica apresentada pelos diversos tipos de extratos de *H. pectinata* e outras espécies desse gênero encontra-se relatada em poucos trabalhos na literatura.

Em estudo de citotoxicidade com extrato clorofórmico das folhas de *H. pectinata* testado contra leucemia linfocítica murina, verificou-se atividade citotóxica com Dose Efetiva Média (ED<sub>50</sub>) = 2,2 µg/mL. Em continuidade a este mesmo estudo, foram isolados pectinolídeos deste extrato clorofórmico e testados quanto à sua toxicidade, apresentando significativa efetividade (ED<sub>50</sub> < 4 µg/mL) contra várias linhagens de células tumorais (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993).

Estudando o extrato clorofórmico das partes subterrâneas de *H. emoryi* Torr. , Sheth (1972) demonstrou atividade citotóxica dessa espécie sobre o carcinoma de Walker 256 e o ácido betúlico foi identificado como princípio ativo, apresentando percentual de inibição de 52% em dose de 300 mg/Kg. O ácido betúlico é um ácido triterpênico isolado das raízes de *H. suaveolens* e tem sido encontrado também, nas partes aéreas de *H. albida* e de *H. pectinata* (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993).

Pereda-Miranda (1995) realizou triagem de citotoxicidade de extratos metanólicos de diversas espécies de *Hyptis*. Todos os extratos apresentaram atividade citotóxica não específica contra um painel de linhagens celulares formadas por células cancerosas humanas de diversos tipos (mama, cólon, fibrosarcoma, pulmão, melanoma, KB e KB-VI, e P-388). Falcão (2003) em seus estudos sobre algumas espécies do gênero *Hyptis*, atribui, principalmente aos metabólicos terpenoídicos, a responsabilidade pelas atividades citotóxica e anti-HIV verificada em alguns estudos.

Embora os dados deste estudo (Tabela 12, p. 52) sugiram certa especificidade do extrato etanólico de *H. pectinata* sobre a linhagem de células tumorais de cólon (HCT-8), não há, até o momento, relatos na literatura sobre citotoxicidade específica de extrato ou fração de *H. pectinata* sobre esta linhagem tumoral. Este fato é bastante

interessante, visto que *H. pectinata* é uma planta encontrada geralmente em pastos, campos, muitas vezes reconhecida como erva daninha, mostrou-se atóxica no ensaio sobre *A. salina* e especificidade sobre HCT-8. Ademais, os únicos dados na literatura, evidenciando o isolamento e identificação estrutural de seus princípios ativos, são os que relatam pectinolídeos e pironas.

Neste estudo, as espécies abaixo relacionadas não apresentaram valores de (IC%) significativos nas linhagens testadas, embora se encontrem na literatura acerca dessas espécies, estudos que comprovam a atividade antitumoral de algumas delas.

### ***S. terebinthifolius* Raddi (Aroeira)**

*S. terebinthifolius* foi estudado por Queires e cols. (2006), que avaliaram os efeitos antiproliferativos de polifenóis purificados desta espécie contra a linhagem celular de carcinoma prostático humano (DU145) e verificou uma atividade 30 vezes maior comparada a do extrato bruto, capaz de interromper o crescimento celular e induzir a apoptose das células.

### ***S. adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão)**

No Brasil, *S. adstringens* tem sido tradicionalmente utilizada na forma de decotos e infusões no tratamento de leucorréia, diarreia e como antiinflamatório (SIQUEIRA, 1982; SANTOS *et al.*, 1988). Estas atividades estão relacionadas à presença de certos compostos existentes na casca de *S. adstringens*, como proantocianidinas que têm efeito antidiarréico (GALVEZ *et al.*, 1991; HOR *et al.*, 1995) e antiinflamatório (TITS *et al.*, 1992). Felipe e cols. (2006) relatam efeito antiviral sobre Polivírus e Herpesvírus bovino. O efeito antiviral de *S. adstringens* é atribuído por Kakiuchi e cols. (1991) às proantocinidinas com unidades de pirogalol. Apesar de suas diversas atividades terapêuticas, não foram encontrados dados na literatura sobre atividade inibitória de crescimento tumoral exercida por extrato ou frações de *S. adstringens*.

### ***Cnidoscolus urens* (L.) Arthur (Urtiga-branca)**

Os estudos sobre *Cnidoscolus urens* apontam a urensina como seu princípio ativo responsável pela atividade antitumoral verificada contra o Sarcoma 180 e o Carcinoma de Erlich em camundongos, como também sobre o Carcinoma de Walker 256 e o Sarcoma de Yoshida em ratos albinos (SANTOS, 1998; ARAÚJO *et al.*, 2007).

Em levantamento feito no banco de dados NAPRALERT, foram encontradas 38 citações do gênero *Cnidoscolus*, com as mais diversas atividades (anti-hemorrágica, citotóxica, antimicrobiana, antifúngica, anti-hiperglicemiante, antioxidante, moluscicida, antiviral e inseticida). As espécies seguintes foram testadas quanto à atividade antitumoral sobre diversas linhagens, a saber: *C. obtusifolius* (ativo sobre a linhagem CA-9KB), *C. tepiquensis* (ativo sobre Leuk-P388), *C. peruvianus* (ativo sobre tumor "crown gall"), *C. angustidens* (inativo sobre as linhagens C-755, Sarcoma 180, Leuk-L1210), *C. elasticus* (inativo sobre Leuk-P388 e CA-9KB), *C. phyllacanthus* (ativo sobre Leuk-P388) (FERRIGNI *et al.*, 1982; MEYER *et al.*, 1982; LIMA & ALBUQUERQUE, 1958; MACRAE *et al.*, 1988; NASCIMENTO *et al.*, 1990; ABBOTT *et al.*, 1966; ENDO *et al.*, 1991).

Especificamente sobre *C. urens*, há sete estudos feitos por Gonçalves e cols. (1958), realizados com ratos, onde verificou atividade antitumoral de fração flavonóide nas doses de 500, 200 e 100 mg/Kg SC contra Sarcoma WM256. Em continuação, o mesmo autor utilizou a mesma fração flavonóide na dose de 50 mg/Kg, administrada nos ratos por gavagem, e verificou atividade antitumoral sobre o mesmo Sarcoma estudado anteriormente. Esses resultados contrastam com os obtidos em nosso estudo e, não foram encontrados dados na literatura de ensaios de atividade antitumoral dessa espécie nas mesmas linhagens utilizadas em nosso trabalho.

### ***Aloe vera* (L.) Burm.f. (Babosa)**

O gênero *Aloe* possui cerca de 360 espécies, dentre estas, 26 apresentaram atividades antitumorais nos estudos realizados (ARAÚJO *et al.*, 2007). Vários estudos têm sido realizados com *A. vera* tanto na forma de extrato como de suas frações. Têm sido demonstrado efeitos inibitórios diretos de extrato de aloe e aloe gel na formação

e promoção de tumores. Uma fração polissacarídica de aloe gel e aloe extrato inibiu a ligação de benzopireno a hepatócito de ratos prevenindo assim, a formação de adutos do benzopireno ao DNA como potencial inicializador de câncer (KIM, 1997) e em estudo mais recente, verificou-se que o aloe gel é capaz de causar indução de glutathione-S-transferase e inibição de efeitos promotores tumorais do acetato de forbol mirístico (KIM, 1999).

As investigações sobre atividades dos heterosídeos antraquinônicos presentes no látex das folhas de *Aloe vera*, apontam para a existência de um potencial antitumoral de algumas frações. Os estudos de Duncan e cols. (2004) demonstram a atividade, devido a apoptose, da *Aloe emodina* (1,8-diidroxi-3-[hidroximetil]-antraquinona) como agente antitumoral, regulando o ciclo celular, a proliferação celular e a proteína quinase C (PKC) durante o desenvolvimento e o crescimento de um glioma e, em estudo recente, verificou-se a ação indutora de apoptose da *Aloe emodina* em células cancerígenas T24 de bexiga humana (LIN *et al.*, 2006).

Os trabalhos de Pecere e cols. (2000) relatam atividade específica, *in vitro* e *in vivo*, de aloe emodina contra tumores neuroectodérmicos humanos implantados em camundongos com severa imunodeficiência e a ausência de efeitos tóxicos sobre os animais. No referido estudo, o mecanismo de citotoxicidade consistiu também na indução da apoptose.

Poucos são os ensaios realizados com extratos de *A. vera*, a maior parte deles é feita com frações obtidas desta espécie. Em um dos estudos envolvendo extratos, Chaudhary (2007) testa a atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas (1000 mg/Kg) e de aloe gel (1 mL/9cm<sup>2</sup>) em camundongos albinos Swiss, com carcinogênese de pele estágio-2 induzido. Os resultados obtidos mostram que tanto o extrato como o aloe gel, em uso tópico ou oral, foram efetivos em diminuir o número e o tamanho dos papilomas.

Os resultados sobre estudos da atividade antitumoral da *A. vera* diferem dos obtidos neste estudo. Este fato induz a algumas hipóteses:

- A maior parte dos estudos realizados com essa espécie são feitos com frações ou extratos etanólicos, onde a concentração de princípios ativos torna-se maior ou pelo maior poder extrator do solvente ou devido à eliminação do alto teor de água no processo de secagem da planta; enquanto o nosso estudo foi realizado com o suco da folha.

- O outro aspecto a ser levado em conta, é o fato dos ensaios antitumorais relatados pela literatura, terem sido realizados contra linhagens tumorais diferentes das utilizadas neste estudo.

### ***Euphorbia tirucalli* L. (Avelós)**

A *Euphorbia tirucalli* produz um suco leitoso branco e cáustico, muito irritante para a pele e para os olhos onde pode provocar conjuntivite grave (SCHVARTSMAN, 1979). O componente irritante do látex é do tipo ingenane e tiglane que são ésteres diterpênicos derivados de álcoois engenol e forbol (FURSTENBERGER & HECKER, 1977). *E. tirucalli* tem ainda como principais componentes irritantes o 12, 13 acetatos isoméricos acilatos de forbol e 3 acilatos do engenol (FURSTENBERGER & HECKER, 1986). O éster irritante promotor de tumores é o 4-deoxiforbol (FURSTENBERGER & HECKER, 1985).

No nordeste do Brasil, seu látex é usado popularmente como antimicrobiano, antiparasitário, no tratamento de tosse, reumatismo, câncer e outras doenças (PASSILONGO SILVA *et al.*, 2006). Há relatos de que *E. tirucalli* estimula a mielopoiese em camundongos (VALADARES *et al.*, 2006) e de sua atividade imunomoduladora por supressão de células T CD4 e CD8, inibição de interleucina-2 intracelular e interferon-gama (SAGRAWAT & KHAN, 2007).

Apesar de ser popularmente utilizada com diversos fins terapêuticos, inclusive como anticancerígeno, *E. tirucalli* tem sido apontada como promotora de tumores devido a seu elevado poder irritante (FURSTENBERGER E HECKER, 1986). Cataluña e Rates (2001) apontam os ésteres de forbol constituintes de *E. tirucalli*, como capazes de induzir o desenvolvimento de Linfoma de Burkitt e o carcinoma nasofaríngeo, tipos de câncer endêmicos em regiões com vastas plantações desta espécie vegetal.

O uso tradicional como anticancerígeno parece ser justificado pelo potencial antimutagênico verificado quando látex de *E. tirucalli* nas concentrações de 0,1% e 0,2% (v/v) foi utilizado no tratamento de conídios dormentes, no sistema metionina em *Aspergillus nidulans* (REZENDE *et al.*, 2004).

Alves (2000), em estudo de atividade antitumoral de *E. tirucalli* contra tumores de Walker 256, observaram que o látex em água em dosagens de 100 mg/Kg a 400

mg/Kg, não reduziu os tamanhos das massas tumorais e, em dosagens de 1000 mg/Kg, estimulou o crescimento dos tumores, além disto, verificaram que, quando administrada por via parenteral, a solução se mostrou muito tóxica e, atóxica quando administrada por via oral. Isto corrobora a observação de Passilongo-Silva e cols. (2007), acerca da baixa embriotoxicidade da solução aquosa do látex de *E. tirucalli* administrada via oral em ratas Wistar prenhas. Diante do exposto, pode-se sugerir que a atividade antitumoral de *E. tirucalli* é dose e via de administração dependente.

#### 4.1 - Avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos de camundongos *Mus musculus* Swiss

Como as espécies *A. muricata* e *H. pectinata* mostraram-se mais ativas no ensaio de citotoxicidade, foram selecionadas para os ensaios de avaliação da atividade hemolítica em eritrócitos de camundongos *Mus musculus* Swiss, visando determinar se esta atividade se dá por lise de membrana. Os resultados mostraram ausência de atividade hemolítica das duas substâncias nas concentrações testadas na curva (> 1000 µg/mL). Isso demonstra que a atividade citotóxica destes extratos foi independente da lise de membrana.

O próximo ensaio com os extratos de *A. muricata* e *H. pectinata* visa averiguar a atividade tóxica em células normais do sangue humano.

#### 4.2 - Atividade citotóxica em Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC)

**Tabela 13** – Concentração inibitória do crescimento celular (CI<sub>50</sub>) dos extratos de *A. muricata* e *H. pectinata* em quatro linhagens tumorais e em PBMC, e seus respectivos intervalos de confiança. Doxorrubicina foi utilizada como controle positivo.

Amostra	HL-60	HCT-8	SF-295	MDAMB-435	PBMC
<i>Annona muricata</i> (graviola)	19,17 (14,06 – 26,12)	28,30 (23,32 – 34,34)	16,46 (12,20 – 22,21)	12,80 (7,93 – 20,64)	18,40 (8,88- 38,09)
<i>Hyptis pectinata</i> (sambacaitá)	41,75 (38,04 – 45,82)	26,92 (18,83 – 38,49)	25,56 (17,55 – 37,23)	> 50	>50
Doxorrubicina	0,04 (0,03-0,05)	0,02 (0,02-0,03)	0,48 (0,34-0,72)	0,96 (0,68-1,32)	0,96 (0,51-1,71)

Os dados presentes (tabela 13, p. 59) demonstram que as linhagens de SF-295 (SNC) e MDA-MB-435 (mama) foram as mais sensíveis à ação inibitória das amostras testadas. Dentre os extratos, *A. muricata* demonstrou ser o de maior atividade, embora tenha apresentado maior citotoxicidade que *H. pectinata* para PBMC, no modelo de toxicidade para células normais. Embora *H. pectinata* tenha apresentado menor toxicidade, sobre células normais do sangue periférico, não demonstrou seletividade por qualquer das linhagens tumorais utilizadas.

## **5 - Avaliação da atividade antitumoral *in vivo* utilizando o sarcoma 180 em camundongos**

Os dados de atividade antitumoral (Tabela 14, p. 61) apresentam as amostras e seus respectivos percentuais de inibição de crescimento tumoral. *H. pectinata* apresentou a maior atividade (70,5%) com a dose de 100 mg/Kg, *S. terebinthifolius* apresentou o segundo maior percentual de inibição (67,1%) com a menor dose (2,5 mg/Kg), visto que nas dosagens de 100 e 30 mg/Kg, mostrou-se muito tóxica eliminando quase a totalidade dos camundongos.

O terceiro maior percentual de inibição (58,9%) foi apresentado pelo extrato de *E. tirucalli* na dose de 100 mg/Kg. É importante ressaltar que nesta dose este extrato provocou em alguns animais tratados sintomas de toxicidade como estiramento, contorções abdominais e diarreia.

Quanto às outras espécies avaliadas neste estudo, *A. muricata* apresentou o quarto maior percentual de inibição (57,5%) com uma dose de 30 mg/Kg. Na dose inicial de 100 mg/Kg, este extrato provocou contorções e morte de cerca de 80% dos camundongos. *S. adstrigens*, *A. vera*, *C. bonduc* e *C. urens* não promoveram sinais de toxicidade aparente nos camundongos.

**Tabela 14** – Efeito antitumoral dos extratos administrados por via i.p em camundongos infiltrados com o Sarcoma 180. Amostras: 1- *H. pectinata*, 2- *S. terebinthifolius*, 3- *E. tirucalli*, 4- *A. muricata*, 5- *A. vera*, 6- *S. adstringens*, 7- *C. urens*, 8- *C. bonduc*.

Amostras	Dose mg/Kg	Média (% de inibição)	N	DP	EP	Min	Max
1	100	70,5	6	11,3	4,6	56,8	87,3
2	2,5	67,1	6	15,3	6,2	44,5	87,8
3	100	58,9	5	17,0	7,6	38,1	79,1
4	30	57,5	5	13,2	5,9	41,4	73,9
5	100	54,7	5	7,03	3,1	45,5	64,8
6	100	51,5	6	19,3	7,9	23,3	65,8
7	100	45,1	5	17,7	7,9	25,0	70,0
8	100	25,5	5	21,6	9,6	3,1	56,7

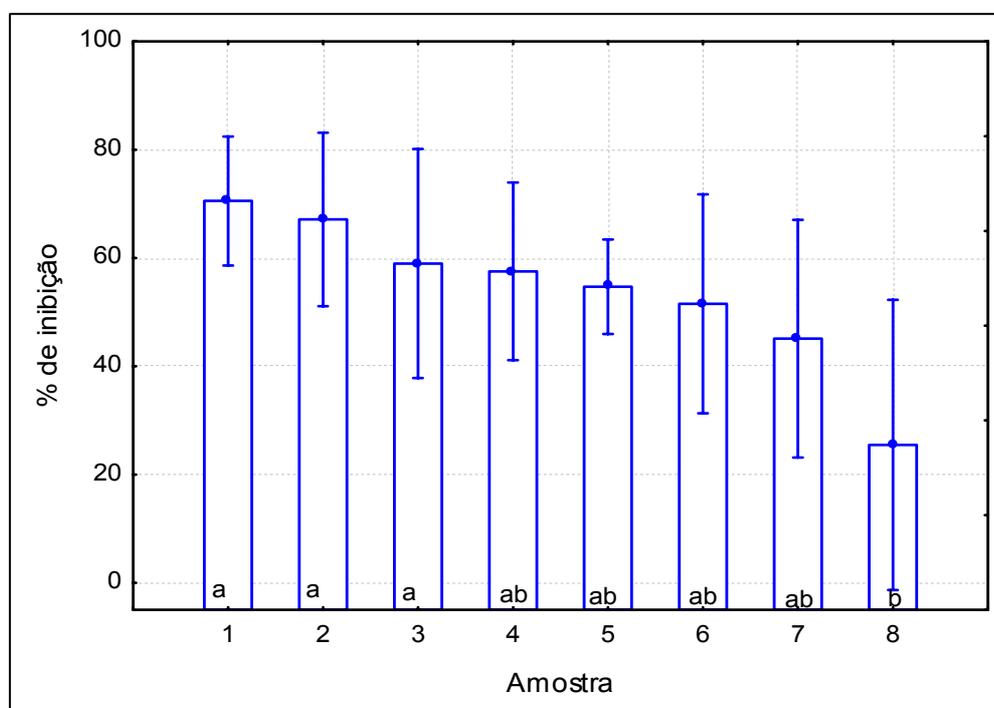
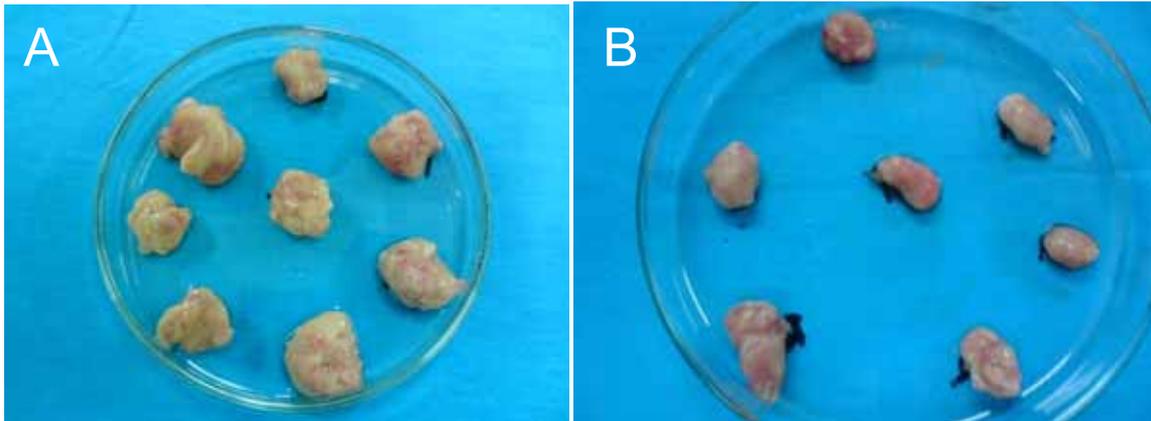


Figura 18 – Representação gráfica das médias de % de inibição de crescimento tumoral das amostras, intervalos com 95% de confiança, resultado da análise de variância do ensaio ( $F = 4,16$  ;  $p < 0,002$ ) e aplicação do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro para as comparações das médias. Médias de % de inibição das amostras com as mesmas letras não diferem entre si.

Os aspectos gerais dos parâmetros tumorais (Sarcoma 180) em camundongos controle que receberam solução salina e nos tratados durante sete dias com o extrato de *H. pectinata* na dose de 100 mg/Kg, encontram-se registrados na Figura 19 (p. 62).

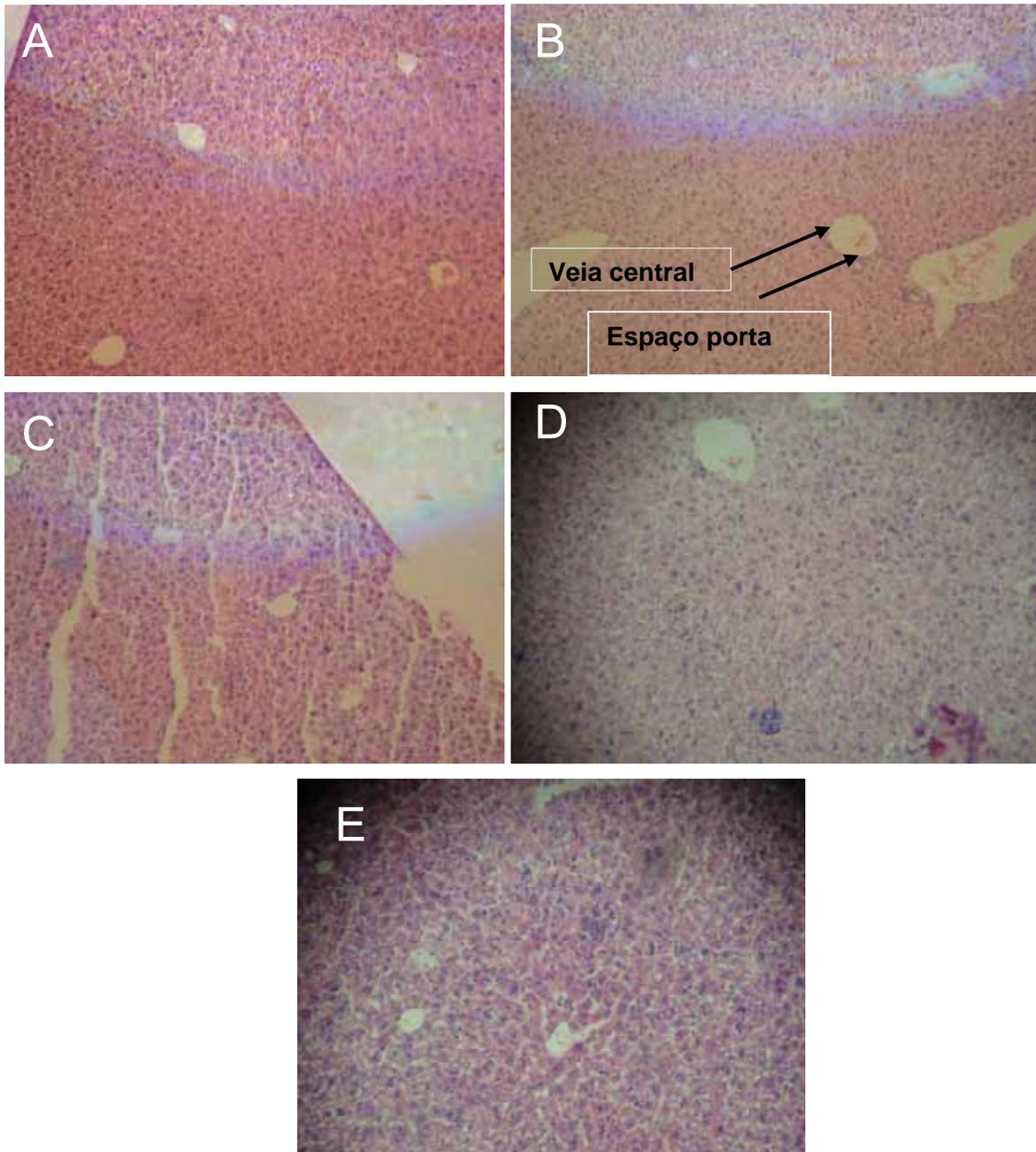


**Figura 19.** Aspecto geral dos tumores (Sarcoma 180) após sete dias de tratamento com salina em animais controle (A) e em animais tratados com extrato de *H. pectinata* (B).

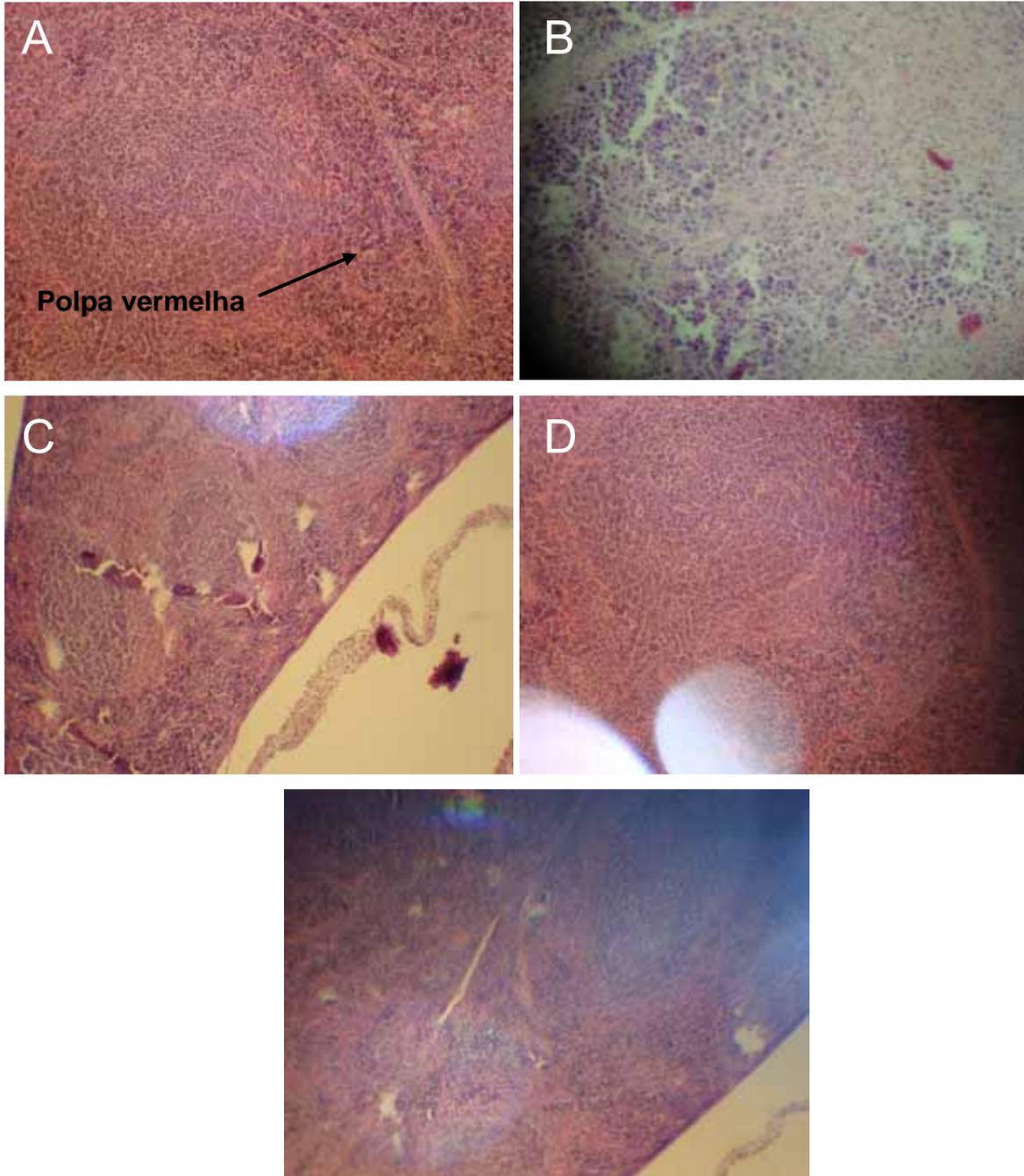
## 6 - Análise histopatológica

O laudo da análise histopatológica, realizada pelo Dr. Ricardo Houly, do Hospital Universitário da UFAL, atesta ausência de alterações histológicas significativas em fígado (Figura 20, p. 63), e baço (Figura 21, p. 64) dos animais tratados. Os rins dos animais tratados com *A. muricata* (Figura 22-B, p. 65) apresentaram algumas áreas de microhemorragias. As áreas de congestão verificadas nos rins dos animais tratados com *S. terebinthifolius* (Figura 22-C, p. 65), não são atribuídas à toxicidade, são interpretadas como congestão *post mortem*. Os órgãos tratados com *E. tirucalli* (Figuras 20-E, 21-E e 22-E) não apresentaram alterações significativas.

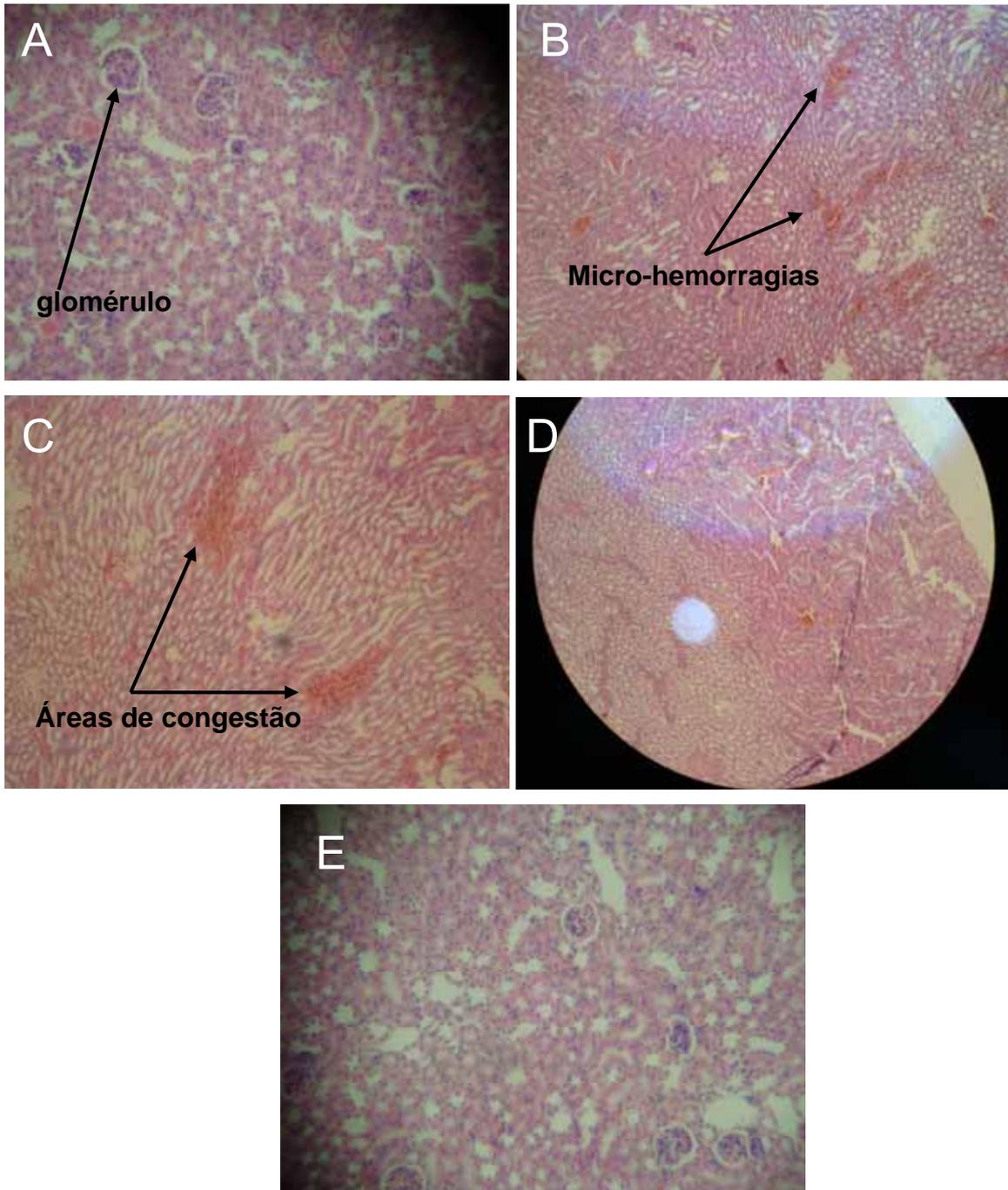
No geral, o laudo sugere que a maior parte dos sinais de toxicidade observados nos animais durante o tratamento com estes extratos e sucos nas doses presentes na Tabela 14 (p. 61), tinham caráter reversível e não lesional, pelo menos durante o tempo de tratamento a que foram submetidos os camundongos neste estudo.



**Figura 20.** Histopatologia dos fígados de camundongos transplantados com Sarcoma 180. A – Controle negativo (tratado com solução salina), B – tratados com extrato de *A. muricata*, C- tratados com *S. terebinthifolius*, D – tratados com *H. pectinata*, E – tratados com *E. tirucalli*. Aumento de 100X.



**Figura 21.** Histopatologia dos baços de camundongos transplantados com Sarcoma 180. A – Controle negativo (tratado com solução salina), B – tratados com extrato de *A. muricata*, C- tratados com *S. terebinthifolius*, D – tratados com *H. pectinata*. E - tratados com *E. tirucalli*. Aumento de 100X.



**Figura 22.** Histopatologia dos rins de camundongos transplantados com Sarcoma 180. A - Controle negativo (tratados com solução salina), B – tratados com *A. muricata*, C – tratados com *S. terebinthifolius*, D – tratados com *H. pectinata*, E - tratados com *E. tirucalli*. Aumento de 100X.

Entre as espécies estudadas que se mostraram ativas, verificou-se que *Annona muricata* possui vários estudos fitoquímicos e, assim como *E. tirucalli*, alguns estudos etnofarmacológicos e sobre as atividades biológicas, enquanto sobre as outras plantas há poucos dados disponíveis. Diante dos resultados obtidos e do levantamento bibliográfico, pode-se concluir que há algum fundamento na utilização popular destas plantas (*H. pectinata*, *S. terebinthifolius*, *E. tirucalli* e *A. muricata*) no tratamento de alguns tumores. Estes resultados, ainda que preliminares, revelam que se deve ter bastante cautela na utilização de plantas medicinais de forma indiscriminada. Vale citar o exemplo do confrei (*Symphytum officinale* L.), que teve seu uso proibido para administração oral, devido aos casos de tumor de fígado descobertos após sua ingestão (OLIVEIRA & GONÇALVES, 2006).

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

Com este trabalho, podemos concluir que:

- Nos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina*, das oito plantas selecionadas, *Annona muricata* apresentou maior toxicidade ( $CL_{50} = 0,0017$  mg/mL), seguida de *E. tirucalli* ( $CL_{50} = 0,0085$  mg/mL) e *S. adstringens* ( $CL_{50} = 0,4971$  mg/mL). A espécie *Hyptis pectinata* foi considerada atóxica.

- Duas plantas apresentaram atividade citotóxica nas linhagens tumorais utilizadas: *Annona muricata* e *Hyptis pectinata*. *Annona muricata* (Graviola) apesar de ter apresentado potente efeito inibitório sobre as três linhagens testadas, não apresentou seletividade. *Hyptis pectinata* (Sambacaitá) apresentou especificidade para linhagem tumoral de cólon HCT-8;

- No modelo de inibição de tumor *in vivo*, quatro plantas apresentaram atividade: *Hyptis pectinata*, *Schinus terebenthifolius*, *E. tirucalli* e *Annona muricata* e;

- Apesar de não ter apresentado citotoxicidade, a atividade inibitória de tumor *in vivo* de *Schinus terebenthifolius* foi observada com uma dose muito baixa devido a sua alta toxicidade *in vivo*;

- No modelo de viabilidade celular, *Annona muricata* nem *Hyptis pectinata* promoveram lise celular, sendo *Hyptis pectinata* a menos tóxica.

Diante do exposto, conclui-se que das oito plantas estudadas, três apresentaram atividade antitumoral em modelos *in vitro* e quatro em modelos *in vivo* em animais. Apesar de dados na literatura atribuírem atividade antitumoral a outras das espécies estudadas, contrapondo-se aos nossos resultados, este fato pode estar associado a fatores como variedade, sazonalidade, local de coleta e até condições de plantio, que podem interferir nas concentrações de substâncias ativas presentes nas amostras.

Este trabalho teve como contribuição verificar, nos ensaios preliminares, se há algum fundamento no uso popular das plantas medicinais, apontadas pela população consultada no formulário etnofarmacológico, como anticancerígenas como também, verificar a necessidade de mais estudos que confirmem ou refutem tal uso, visando a fornecer subsídios para o uso racional de plantas medicinais. Ademais, o fato de *Hyptis pectinata* ter apresentado seletividade em uma das três linhagens utilizadas como *screening*, sem toxicidade para células normais e ter ainda inibido tumor *in vivo*, isso nos revela tratar-se de uma planta bastante promissora para estudos fitoquímicos e farmacológicos mais avançados, no intuito de isolarmos o(s) princípio(s) ativos(s) responsável (eis) pelas atividades observadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, B.J.; LEITER, J.; HARTWELL, J.L.; CALDWELL, M.E.; BEAL, J.L.; PERDUE JR, R.E.; SCHEPARTZ, S.A. Screening data from the cancer chemotherapy national service center screening laboratories.xxxiv.plant extracts. **Cancer Research** v. 26, p. 761-935.

AJIWE, V.I.E., C.A. OKEKE, H.U. AGBO, G.A. OGUNLEYE, AND S.C. EKWUOZOR. Extraction, characterization and industrial uses of velvet tamarind, physic-nut and nicker-nut seed oils. **Bioresource Technology**. v. 57, n. 3, p. 297-299, 1996.

AKERELE, O. As plantas medicinais: Um tesouro que não devemos desperdiçar. **Foro Mundial de Saúde**, v.14, p. 390-395, 1993.

ALBUQUERQUE, U. P.; ALMEIDA, C.F.C.B.R. Check-list of the family Lamiaceae in Pernambuco, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n.3, p. 343-353, 2002.

ALI, M.S., S. SHAMEEL, V.U. AHMAD, AND K.USMANGHANIM. Chemical constituents of *Caesalpinia bonduc*.. **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**. v. 40, n. 1-4, p. 20-22, 1997.

ALLEY, M.C.; SCUDIERO, D.A.; MONKS, A.; HURSEY, M.L.; CZERWINSKI, M.J.; FINE, D.L.; ABBOTT, B.J.; MAYO, J.G.; SHOEMAKER, R.H.; BOYD, M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589–601, 1988.

ALMEIDA, E.R. **Plantas medicinais brasileiras**: Conhecimentos populares e científicos. Rio de Janeiro: Hermus Editora, p. 70–71,1993.

ALMEIDA, V. A., LEITÃO, A., REINA, L.C.B., MONTANARI, C.A., DONNICI, C. L., LOPES, M. T.P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova** v. 8, n.1, 2005.

ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C.L.; Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000.

ALVES, L.C.; LEIMANN, B.C.Q.; VACONCELOS, M.E.L.; CARVALHO, M.S.; VASCONCELOS, A.G.G.; FONSECA, T.C.O.; LEBRÃO, M.L.; LAURENTI, R. A influência das doenças crônicas na capacidade funcional dos idosos do Município de São Paulo, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 8, p. 1924-1930, 2007.

AMARSINGHE, A.P.G.; SHARMA, R.D.; CHATURVEDI, C.; AGARWAL D.K. Anthelmintic effect of Ayurvedic recipe Kuberakshadi yoga in intestinal worms among children. **Journal of Research and Education in Indian Medicine**. v.12, n. 1, p. 27-31, 1993.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Disponível em [www.cancer.org](http://www.cancer.org) Acesso em 17 mar. 2008.

ANDRADE, N.C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; CUNHA, E.M.L.; SILVA, M.S. Terpenoids of Annonaceae: Distribution and compilation <sup>13</sup>C NMR data. **Recent Research Development Phytochemistry** v. 7, n. 1, p. 1-85, 2003.

ARAÚJO, E.C.; OLIVEIRA, R.A.G.; CORIOLANO, A.T.; ARAÚJO, E.C. Uso de plantas medicinais pelos pacientes com câncer de hospitais da rede pública de saúde em João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v. 8, n.2, p.44-52, jun.2007.

ARNOUS, A.H.; SANTOS, A.S.; BEINNER, R.P.C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**. v. 6, n.2, p.1-6, 2005

ARRUDA, E. R. O barbatimão. **Arquivos do Serviço Florestal**, v. 4, p.101-117. 1950.

ATHERTON, P. *Aloe vera* revisited. **Brazilian Journal Phytotherapy** v. 4, p. 76-83, 1998

AUDI, E.A.; TOLEDO, D.P.; PERES, P.G. **Phytotherapy Research** v.13, n. 264. 1999.

AZEVEDO, Maria Cândida – **Noções gerais de Quimioterapia: 2ª parte**. "Oncologia". Porto, 1989, p.5-14;

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiosperma do Brasil**. Rio de Janeiro, livros

Técnicos e Científicos, São Paulo. Edusp, v. 1. 1978.

BHATTACHARYYA, J.; BARROS, C.B. Triterpenoids of *Cnidosculus urens*. **Phytochemistry**, v. 25, n.1, p. 274-276, 1986.

BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**. v.4, p. 14-19, 1996.

BETANCUR-GALVIS, L.A., MORALES, G.E., FORERO, J.E., ROLDAN, J., Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the Euphorbia genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 97, 541–546, 2002.

BISPO, M.D.; MOURÃO, R.H.V.; FRANZOTTI, E.M.; BOMFIM, K.B.R.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; MORENO, M.P.N.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A.R. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, n.1, p.:81-86, 2001.

BISWAS, T.K., BANDYOPADHYAY, S.; BISWAPATI-MUKHERJEE; BHASWAR-MUKHERJEE; SANGUPTA, B.R.; MUKHERJEE, B. Oral hypoglycemic effect of *Caesalpinia bonducella*. **International Journal of Pharmacognosy**. v. 35, n. 4, p. 261-264, 1997.

BOALINO, D.M.; CONNOLLY, J.D.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W.F.; W.F. TINTO.  $\alpha$ -Pyrone and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 1303–1307, 2003.

BOGLIOLO, L. **Patologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.

BONASSA, E. **Enfermagem em quimioterapia**. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Atheneu Ed., 1998.

BORDIGNON, S. A. L. O Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) no Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul. 1990. 123 p.

BRASILEIRO, B.G.; PIZIOLO, V.R.; RASLAN, D.S.; JAMAL, C.M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas - Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 2,

2006.

BURKILL, H.M. **The useful plants of West Tropical Africa**. v. 3. p. 857. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. , 1995.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E. & BANDONI, A.L. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿ indicadores de dependência o factores de desarrollo? **Acta Farmacéutica Bonaerense** v. 22, n. 3, p. 265-278, 2003.

CARVALHO, P.E.R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **EMBRAPA – SP**, Brasília, Brasil, 1994.

CASEIRO, A. **Cadernos de Oncologia 1- Agentes antineoplásicos**, 3ª ed. Lisboa, Novartis Farma, 1997.

CATALUNA, P., TAXA, S.M.K.. **The traditional use of the latex from *Euphorbia tirucalli* Linnaeus (Euphorbiaceae) in the treatment of cancer in South Brazil**. In: II. Wocmap Congress Medicinal, Aromatic Plants, 1999.

CATALUÑA, P.; RATES, S.M.K. The traditional use of the latex from *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae) in the treatment of cancer in south Brazil. **Toxicon**, v.39, n. 5, p. 603-613, 2001.

CAVALHER-MACHADO, S.C.; ROSAS, E.C.; BRITO, F.A. HERINGE, A.P.; OLIVEIRA, R.R.; KAPLAN, M.A.C.; FIGUEIREDO, M.R.; HENRIQUES, M.G.M.O. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology**. v. 8, p. 1552-1560, 2008.

CAVÉ, A.; FIGADERE, B.; LAURENS, A.; CORTES, D. Progress in the Chemistry of Organic. **Natural Products**; Herz, W., Kirby, G. W., Moore, R. E., Steglich, W., Tamm, Ch., Eds.; Springer-Verlag: NewYork, v.l. 70, p. 81-288. 1997.

CHANG, F.R., WU, Y.C. Novel Cytotoxic Annonaceous Acetogenins from *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**. v. 22, n. 64, p.925-931, 2001.

CHAUDHARY, G.; SAINI, M.R.; GOYAL, P.K. Chemopreventive potential of *Aloe vera* against 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-Induced Skin Papillomagenesis in Mice. **Integrative Cancer Therapies** v. 6, n. 4, p. 405-412, 2007.

CECHINEL-FILHO, V., YUNES, A.R. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 101, 1998.

CHITHRA, P., SAJITHALAL, G.B, CHANDRAKASAN, G. Influence of *Aloe vera* on collagen turnover in healing of dermal wounds in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 36, n. 9, p. 896-901, 1998.

COEE, F.G: ANDERSON, G.J. Ethnobotany of the garifuna of eastern nicaragua. folklore, ethnomedical, no scientific evidence. **Econ Bot.** v. 50, n. 1, p. 71-107, 1996.

CORRÊA, A. G.; Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. **Química Nova**, v. 18, n. 460, 1995

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**, v.1, p. 496, Imprensa Nacional, Rio de Janeiro. 1926.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1978.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian., p. 788–790. 2002.

COSTA-LOTUFO, L.V., CUNHA, G.M.A, FARIAS, P.A.M., VIANA, G.S.B, CUNHA, K.M.A., PESSOA, C., MORAES, M.O., SILVEIRA, E.R., GRAMOSA, N.V., RAO, V.S.N. The Cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. **Toxicon**. v. 40, p.1231-1234, 2002.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J. Antineoplastic agents from natural sources: achievements and future directions. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 9, n. 12, p. 1-15, 2000.

DAMICO, D. C. S., FREIRE, M. G. M., GOMES, V. M., TOYAMA, M. H., MARANGONI, S., NOVELLO, J. C., MACEDO, M. L. R. Isolation and Characterization of a Lectin from *Annona muricata* Seeds. **Journal of Protein Chemistry**, v. 22, n. 7/8, 2003.

DÉCIGA-CAMPOS, M.; MONTIEL-RUIZ, R.M.; NAVARRETE-VÁZQUEZ, G.;

LÓPEZ-MUÑOZ, F.J.. Palmitic acid analogues exhibiting antinociceptive activity in mice. **Proc. West. Pharmacol. Soc.** V. 50, p. 75-7, 2007.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSAO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Science**, v. 65, p. 337–353, 1999.

DIMITRI, M. J. **Enciclopédia argentina de agricultura y jardineria**. v. I, 3. ed. Buenos Aires : Editorial ACME S. A.C.I., 1978. 651 p. il.

DINIZ, M.F.F.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; MEDEIROS, A.C.D.; MALTA JÚNIOR, A. **Memento fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica, conhecimentos populares e científicos**. João Pessoa: Ed. Universitária, 1997.

DOLABELA, M.E. **Triagem *in vitro* para atividade antitumoral e anti *T. cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais. BH/MG, 198 p. 1987.

DOMINGUEZ, X.A., SANCHEZ, H., GARCIA, S., ESPINOSA, G., WILLIAMS, H.J., ORTIZ, C., SCOTT, A.I., REIBENSPIES, J.H. Isolation and identification of xochitoldione and isoxochitlolone from *Cnidosculus urens*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 2, p. 221-224, 1992.

DRESCH, R.R., HAESER, A.S., LERNER, C., MOTHE, B., VOZÁRI-HAMPE, M.M., HENRIQUES, A.T. Detecção de atividade lectínica e atividade hemolítica em extratos de esponjas (Porífera) nativas da Costa Atlântica do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.16-22, 2005.

DUNCAN, M.A.; RUSSELL, C; PATEL, S.; PATEL, R. Aloe–emodin modulates PKC isozymes, inhibits proliferation, and induces apoptosis in U-373MG glioma cells. **International Immunopharmacology**, v. 4, p.1775–1784, 2004.

ENDO, Y; OHTA, T.; NOZOE, S.; Favelines, novel tricyclic benzocycloheptenes with cytotoxic activities from brazilian plant, *Cnidosculus phyllacanthus*. **Tetrahedron Letters**, v. 32, n. 26, p. 3082-3086, 1991.

ENGELKE, F. Fitoterápicos e Legislação. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 1, n.1, p. 10-15, 2003.

FALCÃO, D.Q. **Estudo químico e farmacológico de quatro espécies de *Hyptis***

**do estado do Rio Grande do Sul.** Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2 ed., Ed. Siqueira, São Paulo, 1959, p. 126.

FÁVARO, O.C.N.; OLIVEIRA, M.M.; ROSSINI, M.A.A.; KAMAKURA, C.R.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R. Seleção por meio de células KB de substâncias e extratos potencialmente ativos em quimioterapia do câncer. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 62, n. 3, 1990.

FELIPE, A.M.M.; RINCÃO, V.P.; BENATI, F.J.; LINHARES, R.E.C.; GALINA, K.J.; TOLEDO, C.E.M.; LOPES, G.C.; MELLO, J.C.P.; NOZAWA, C. Antiviral Effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on Poliovirus and Bovine Herpesvirus. **Biol. Pharm. Bull.** v. 29, n. 6, p. 1092—1095, 2006.

FINNEY, D.L. Probit Analysis; 3<sup>o</sup> ed., Cambridge University Press: Cambridge, p. 76-80, 1971.

PAULINELLI, P.P.; FREITAS JÚNIOR, R.; CURADO, M.P.; ALMEIDA E SOUZA, A. A situação do câncer de mama em Goiás, no Brasil e no mundo: tendências atuais para a incidência e a mortalidade. **Revista Brasileira Saúde Materno Infantil**, Recife, v.3, n. 1, p. 17-24, 2003.

FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; ANDERSON, B.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MOORE, D.S.; MC LAUGHLIN, J.L.; POWELL, R.G.; SMITH, J.R. Modification and evaluation of the potato disc assay and antitumor screening of Euphorbiaceae seeds. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 6, p. 679-686, 1982.

FINNEY, D.J. **Probi analysis, a statical treatment of sigmoid response curve.** 3. ed. Cambrige: Cambrige University Press, 1974. 333 p.

FURSTEMBERGER, G.; HECKER, E. New highly irritant Euphorbia factors from latex of *E. tirucalli* L. **Experientia**, v. 33, n. 8, p. 235-239, 1977.

FURSTEMBERGER, G.; HECKER, E. On the active principles of the Euphorbiaceae, XII. Highly unsaturated irritant diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* L. originating from Madagascar. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 3, p. 386-397, 1986.

FURSTEMBERGER, G.; HECKER, E. On the active principles of the spurge family (Euphorbiaceae) XI. The skin irritant and tumor promoting of diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* L. originating from South Africa. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C. Journal of Bioscience*, v. 9, n. 10, p. 631-646, 1985.

GALVEZ, J.; ZARZUELO, A.; CRESPO, M.E.; UTRILLA, M.P.; JIMENEZ, J.; SPISENS, C.; WITTE, P. *Phytotherapy Research*. v. 5, n. 276, 1991.

GERAN, R.I.; GREENBERG, N.H.; MACDONALD, M.M.; SCHUMACHER, A.M.; ABBOTT, B.J. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. *Cancer Chemother. Rep.* ed. 3, v.3, n.1, 1972.

GONÇALVES, L.O; MACHADO, A.M.; Primary observations about an antibiotic with acid-base indicator properties isolated from *Cnidocolus urens* Euphorbiaceae. *Revista do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, Recife*, v.1, p. 125-129, 1958.

GSCWHENOT, M., HECKER, E. Tumor promoting compounds from *E. triangularis*. *Tetrahedron Letters*, v. 40, p. 3509–3512, 1969.

GU, Z.M.; FANG, X.P.; ZENG, L., WOOD, K.V.; MCLAUGHLIN, J.L. Five Novel Mono-tetrahydrofuran Ring Acetogenins from the Seeds of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, v. 59, p. 100-108, 1996.

GUERRA, R.; Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. *Chemosphere*, v. 44, p. 1737-1747, 2001.

GUERRERO, R.O.; GUSMÁN, A.L. Bioactivities of latexes from selected tropical plants. *VER. CUBANA. PLANT MED.* v. 9, n. 1, 2004.

GUPTA, M.; MAZUMDER, U.K.; KUMAR, R.S.; SIVAKUMAR, T.; VAMSI, M.L. Antitumor activity and antioxidant status of *Caesalpinia bonducella* against Ehrlich ascites carcinoma in swiss albino mice. *Journal of Pharmacology Science*, v. 94, p. 177–184, 2004.

HECKER, E. Co-carcinogenic principles from seed oil of *Croton tiglium* and other *Euphorbiaceae*. **Cancer Research**. v. 28, p. 2338–2349, 1968.

HÖR M, RIMPLER H, HEINRICH M. Inhibition of intestinal chloride secretion by proanthocyanidins from *Guazuma ulmifolia*. **Planta Medica**, v. 61, p. 208–212, 1995.

HOWARD R.A. **Flora of the Lesser Antilles, Leeward and Windward Islands. Dicotyledoneae**. v. 4, Part 1, p. 673. Arnold Arboretum, Harvard University, Jamaica Plain, MA. 1988.

INFANTE, A.; LARESGOITI, U.; FERNANDEZ-RUEDA, J.; FULLAONDO, A.; GALÁN, J.; DIAZ-URIARTE, R.; MALUMBRESM.; FIELD, S.J.; ZUBIAGA, A.M. **Cell Cycle**, v. 7, n. 24, p.3915-3927; 2008; ©2008 Landes Bioscience

JANKOWSKI, L., BAZZANO, D., SÁENZ, A. TOURN, M. Y ROITMAN, G. **Biota Rioplatense 5. Plantas trepadoras nativas y exóticas**. L.O.L.A (Literature of Latin America). Buenos Aires, Argentina, p. 264, 2000.

NETO, J. V.S.N., N.V., RAO, J.J.; FRACASSO, J.F.; NEVES, M.C.L.C.; SANTOS, L.E.; BANUTH, V.L.; The Cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.17, n. 181. 1996.

JARAMILLO, M.C., ARANGO, G.J., GONZALEZ, M.C., ROBLEDO, S.M., VELEZ, I.D. Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. **Fitoterapia**, v. 71, p. 183-186, 2000.

JAIN, M. K.; YU, B. Z.; ROGERS, J. M.; SMITH, A. E.; BOGER, E. T. A.; OSTRANDER, R. L.; RHEINGOLD, A. L.; Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A<sub>2</sub> from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, 39, 537, 1995.

JOLY, A.B. **Botânica**: Introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Ed. Nacional, 1966.

JORGE, L.I.F.; MARKMANN, B.E.O. Exame químico e microscópico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira). **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 17, p. 139-145, 1996.

JURBERG, P., CABRAL NETO, J.B., SCHALL, V.T., Molluscicide activity of the KAKIUCHI, N.; KUSUMOTO, I.T.; HATTORI, M.; NAMBA, T. **Phytoterapy**

**Research** v. 5, n. 270, 1991.

KAKIUCHI, N.; KUSUMOTO, I.; HATTORI, M.; NAMBA, T. **Phytotherapy Research**, v. 5, p. 270, 1991.

KEITH, M.W.; SALLY, A.L.; MICHAEL, W.S.; THOMAS, J.G.; GARRY, M.M. Taxus Spp. Needles contain amounts of taxol comparable to the stem bark of *Taxus brevifolia*: analysis and isolation. **Journal of Natural Products**, v. 53, p.1249–1255, 1990.

KIM, H.; KECEW, S.; LEE, B.M. *In vitro* chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis* Miller, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, and *Coriolus versicolor*). **Carcinogenesis**. v. 20, n. 8, p.1637-1640, 1999.

KIM, G.S.; ZENG, L.; ALALI, F.; ROGERS, L.L.; WU, F.E.; MCLAUGHLIN, J.L.; SASTRODIHARDJO, S. Two New Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetogenins, Annomuricin E and Muricapentocin, from the Leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 432-436, 1997.

KINGSTON, D. G. I.; The chemistry of taxol. **Pharmaceutical Therapy**. v. 52, n. 1. 1991.

KUZUYA, H., TAMAI, I., BEPPU, H., SHIMPO, K., CHIHARA, T. Determination of aloenin, barbaloin and isobarbaloin in *Aloe* species by micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography**. n. 752, p. 91-97. 2001.

LEE, J.K., LEE, M.K., YUN, Y.P., KIM, Y., KIM, J.S., KIM, Y.S., KIM, K., HAN, S.S., LEE, C.K. Acemannan purified from *Aloe vera* induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. **International Immunopharmacology**. n. 1, p.1275–1284. 2001.

LIAW, C.C.; CHANG, F.R.; LIN, C.Y.; CHOU, C.J.; CHIU, H.F.; WU, M.J. New cytotoxic monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 4, p. 470-75, 2002.

LIMA, J.C.S.; MARTINS, D.T.O.; DE SOUZA, J.R.P.T. **Phytotherapy Research** v.12, n.218.1998.

LIMA, M.R.F. **Contribuição para o conhecimento fitoquímico e da atividade biológica de *Annona crassiflora* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi.**

Maceió, 2005. Tese (Doutorado em Química), Curso de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas.

LIMA, G.O.; ALBUQUERQUE, M.M.; Primary observations about an antibiotic with acid-base indicator properties isolated from *Cnidocolus urens* (Euphorbiaceae). *Revista do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco*, Recife, v. 1, p. 125-129, 1958.

LIN, J.G.; CHEN, G.W.; LI, T.M.; CHOUH, S.T.; TAN, T.W.; CHUNG, J.G. Aloe-Emodin induces apoptosis in T24 human bladder cancer cells through the p. 53 dependent apoptotic pathway. **The Journal of Urology**. v. 175, p. 343-347, 2006.

LIOGIER, H.A. Descriptive flora of Puerto Rico and adjacent islands, **Spermatophyta**. v. 2, p. 481. Editorial de la Universidad de Puerto Rico, 1988.

LIRIO, L.G., HERMANO, M.L., FONTANILLA, M.Q.,. Antibacterial activity of medicinal plants from the Philippines. **Pharmaceutical Biology**. v. 36, p. 357–359. 1998.

LOPES, W.B.; MORONI, F.T.; BRANDEMBURGO, M.I.H.; HAMAGUCHI, A. **Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais** Disponível: [www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2002/B/Desenvolvimento](http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2002/B/Desenvolvimento). Acesso em ago. 2008.

LYMANN, B.S.; ROBERT, J.D.; ROBERTO, M.K. **Flora ilustrada catarinense (Euforbiaceas)**. Santa Catarina: Ed. Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária S.A., 1988.

LUNA J.S.; CARVALHO, J.M.; LIMA, M.R.F.; BIEBER, L.W.; BENTO, E.S.; FRANCK, X.; SANT'ANA, A.E.G. Acetogenins in *Annona muricata* L. (annonaceae) leaves are potent molluscicides. **Natural Product Research**, v. 20, n. 3, p. 253-257, 2006.

MAAS, P.J.M.; KAMER, H.M.V.; JUNIKKA, L.; SILVA, R.M.; REINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**. v.52, n. 80, p. 65-98, 2001.

MACDONALD, A.D.; WARREN, F.L. The Euphorbia resins. Part I. Euphol. The isolation of Euphol an alfa-Euphorbol from Euphorbium. **Journal of Chemical Society**. 1944.

MACHADO, M.M.; BOLIGON, A.A.; SOARES, D.S.; ATHAYDE, M.L. Avaliação preliminar da *Euphorbia tirucalli*: screening, concentração de polifenóis, taninos e atividade antioxidante **I Congresso de Farmácia de Maringá**. 2006. Arq Mudi. Resumos n. 11, supl. 1, 2007.

MACHON, Z.; KUCZYNSKI, L.; GIELDANOWSKI, J.; WIECZOREK, Z.; ZIMECKI, M.; BLASZCZYK, B.; MORDARSKI, M.; WIECZOREK, J.; FISZER-MALISZEWSKA, L. **Arch Immun Ther Exp**. 29: 217–33, 1981.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JR, V.F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MACRAE, W.D.; HUDSON, J.B.; TOWERS, G.H.N. Studies on the pharmacological activity of amazonian Euphorbiaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 143-172, 1988.

MARTINS, S.A.A. Taxol: **Sua História e isolamento a partir da árvore de "Yem"** no âmbito da disciplina de Documentação e Informação Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa, 2004.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais – Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**, 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 2000.

MATOS, F. J. A.; **Introdução à Fitoquímica Experimental**, 2 ed., Edições UFC: Fortaleza, 1997.

McLAUGHLIN, J.M. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractionation. In K Hostettmann, Assays for Bioactivity, **Academic Press**, San Diego, p. 2-32, 1991.

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf ) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasileira**. v. 21, n.1, 2007.

MELO, G.B.; SILVA, R.L., ANTONIOLLI, A.R.; MELO, V.A.; LIMA, S.O.; SILVA, P.; CASTRO E SILVA JÚNIOR, O. Efeitos do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a regeneração hepática após hepatectomia parcial de 70%. Resultados

preliminares. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.16 (supl 1), p. 13-5, 2001.

MEYER, B.N.; FERRIGNI N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine shrimp, a convenient general bioassay for active-plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MILITÃO, G.C.G. Potencial antitumoral de flavonóides isolados de plantas do Nordeste brasileiro: estudos preliminares da relação estrutura-atividade citotóxica. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Instituto Nacional do Câncer (INCA). A estimativa de novos casos para o ano de 2008 no Estado de Alagoas – Brasil, Disponível em: [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=101](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101). Acesso em: 17 mar. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, INCA. Controle do Câncer: **uma proposta de integração ensino-serviço**. 2 ed. rev. atual. - Rio de Janeiro: Pro-Onco. 1993.

MORAIS, S.M.; DANTAS, J.D.P.; SILVA, A.R.A.; MAGALHÃES, E.F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 15, n.2, p.169-177. 2005.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p. 55-63, 1983.

MOURA, M.D., TORRES, A.R., OLIVEIRA, R.A.G. , DINIZ, M.F.F.M., BARBOSA-FILHO, J.M. Natural products inhibitors of models of mammary neoplasia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 5, n.3, p.124-145, 2001.

MURAD, A.M.; KATZ, A. **Oncologia bases clinicas do tratamento**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996.

NASCIMENTO, S.C.; CHIAPPETA, A.A. LIMA,,R.M.O.C. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**. v. 61, n. 4, p. 353-355, 1990.

NISHIKAWA, Y.; OKKI, R.; TAKAHASHI, K.; KURONO, G.; FUKUOKA, F.; EMORI, M. **Chem Pharm Bull**; v. 22, p. 2692–702, 1974.

OLIVEIRA, R.B.; ALVES, R.J.; Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, p.976, 2002.

OLIVEIRA, L.L.; SILVA, E.; BISPO, S. M.; LYRA, D.A.F. New data about urensin, an antibiotic complex isolated from the stem bark of *Cnidocolus urens* L. (Euphorbiaceae). *Revista do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, Recife*, v. 2, p. 69-75, 1959.

OLIVEIRA, F.Q.; GONÇALVES, L.A. Conhecimento sobre plantas medicinais e fitoterápicos e potencial de toxicidade por usuários de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 36-41, 2006.

OSAWA, T., KAWAKISHI, S.; NAMIKI, M. in: KURODA, Y., SHANKEL, D.M.; WATERS, M.D. editors. *Antitumorigenesis and anticarcinogenesis mechanism II*. New York: Plenum; 1990. p. 139–153.

PACIFIC ISLAND ECOSYSTEMS AT RICK. ***Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Fabaceae**. p. 2, 2002. Disponível em: <http://www.hear.org/pier3/cabon.htm>.

PADMA, P., PRAMOD, N.P., THYAGARAJAN, S.P., KHOSA, R.L. Effect of the extract of *Annona muricata* and *Petunia nyctaginiflora* on Herpes simplex virus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 81–83, 1998.

PANIZZA, S.; ROCHA, A.B.; GECCHI, R.; SILVA, R.A.P.S. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.10, n. 101. 1988.

PARKIN DM, WHELAN SL, FERLAY J, TEPPLO L, THOMAS DB. Cancer Incidence in Five Continents v. VIII, n. 155, **IARC Scientific Publications**, Lyon: 2002.

PARRA, A.L. Comparative study of the assay of and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395 – 400, 2001.

PARROTTA, J.A. **Healing plants of Pininsular India**. CABI Publishing, Wellingford, UK and New York. p. 917, 2001.

PASCALICCHIO, J.; FRISTACHI, C.; BARACAT, F. Câncer da mama: fatores de risco, prognósticos e preditivos. **Revista Brasileira de Mastologia**, v.11, p. 71-84,

2001.

PASSILONGO-SILVA, A.C.; FARIA, D.E.P.; BORGES, N.B.E.S.; SOUZA, I.A.; PETERS, V.M.; GUERRA, M.O. Toxicological screening of *Euphorbia tirucalli* L.: Developmental toxicity studies in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 154–159, 2007.

PECERE, T.; GAZZOLA, M.V.; MUCIGNAT, C.; PAROLIN, C.; VECCHIA, F.D.; CAVAGGIONI, A.; BASSO, G.; DIASPRO, A.; SALVATO, B.; CARLI, M.; PALÙ, G. Aloe-emodin Is a New Type of Anticancer Agent with Selective Activity against Neuroectodermal Tumors. **Cancer Research**. v. 60, p. 2800-2804, 2000.

PEREDA-MIRANDA, R. Bioactive natural product from traditionally used Mexican plants. *Phytochemistry of medicinal plants: recent advances*. **Phytochemistry**, v. 29. Amazon, Mata, Romeo. 1995.

PEREDA-MIRANDA, R.; HERNANDEZ, L.; VILLAVICENCIO, M.J.; NOVELO, M.; IBARRA, P. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro- $\alpha$ -pyrones from *Hyptis pectinata*. **Journal of Natural Products**. v. 56, n. 4, p. 583-593, 1993.

PISUTTHANAN, S.; PLIANBANGCHANG, .P.; PISUTTHANAN, N.; RUANRUAY, S.; MUANRIT, O. Brine Shrimp Lethality Activity of Thai Medicinal Plants in the Family Meliaceae. **Naresuan University Journal**, v. 12, n. 2, p.: 13-18, 2004.

POGIANI, F. **Estudo do crescimento e da atividade AIA-oxidásica em algumas espécies de cerrado**. In: Ferri, M. G. (ed). III Simpósio sobre o cerrado. São Paulo: Ed. Edgard Blucher e EDUSP, p. 201-211. 1971.

PONTES, A.F., BARBOSA, M.R.V., MAAS, P.J.M. Flora Paraibana: Annonaceae Juss. **Acta botânica brasileira**, v. 18, n. 2, p. 281-293. 2004.

POZZO-BALBI, T.; NOBILE, L.; SCAPINI, G.; CINI, M. The triterpenoid acids of *Schinus molle*. **Phytochemistry**, v. 17, p. 2107-2110, 1978.

QUEIRES, L.C.S.; FAUVEL-LAFEVE, F.; TERRY, S.; DE LA TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J.C.; CHOPIN, D.K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L.E.A. CREIN, M. Polyphenols purified from the brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer research**. v. 26, n. 1A, p. 379-387, 2006.

RASTOGI, S.; SHAW, A.K.; KULSHRESHTHA, D.K. Characterization of fatty acids of antifilarial triglyceride fraction from *Caesalpinia bonduc*. **Fitoterapia**. v. 67, n. 1, p. 63-64, 1996.

REYNOLDS, T., DWECK, A.C., Aloe vera leaf gel: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, n.68, p.3-37. 1999.

REZENDE, J.R., RODRIGUES, S.B., JABOR, I.A.S., PAMPHILE, J.A., ROCHA, C.L.M.S.C. Efeito antimutagênico do látex de *Euphorbia tirucalli* no sistema metionina em *Aspergillus nidulans*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 26, p. 481–484, 2004.

RAVDIN, M.; CRONIN, K.A.; HOWLADER, N.; BERG, C.D.; CHLEBOWSKI, R.T.; FEUER, E.J.; EDWARDS, B.K.; BERRY, D.A. The Decrease in Breast Cancer Incidence in 2003 in the United States. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, n.16, 2007.

RODRIGUES, Eliana; CARLINI, Elisaldo L. de Araújo. A importância dos levantamentos etnofarmacológicos no desenvolvimento de fitomedicamentos. **Revista Racine**, São Paulo, n.70, p.30-35, 2002.

SAGRAWAT, H.; KHAN, Y. Immunomodulatory Plants: A Phytopharmacological Review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 2, 2007.

SALMONM, S.E. **Farmacologia Básica & Clínica**, Katzung, B.G., ed.; Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 1998, p. 629-655.

SANTOS, A.F.; AZEVEDO, D.P.; SANTOS, C.; MENDONÇA, D.I.; SANT'ANA A.E. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. **Bioresour. Technol.**; 98(1):135-9, 2007.

SANTOS, M.C. Câncer: metamorfose de uma vida. **50º Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, Natal, Brasil; 1998.

SANTOS, S.C.; COSTA, W.F.; RIBEIRO, J.P.; GUIMARÃES, D.O.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D. & SERAPHIN, J.C.. Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**. v. 73: 292-299, 2002

SANTOS, C.A.M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: Herbarium**

**flora et scientia**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1988, p. 43.

SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas**. São Paulo, p. 81-83, 1979.

SEAGRI - Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do Governo da Bahia, Brasil. **Cultura da Graviola**. Disponível em: [www.seagri.ba.gov.br/graviola.html](http://www.seagri.ba.gov.br/graviola.html). Acesso em: 17 mar. 2008.

SHARMA, S.R., S.K. DWIVEDI, AND D. SWARUP. Hypoglycaemic, antihyperglycaemic and hypolipidemic activities of *Caesalpinia bonducella* seeds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 58, n. 1, p. 39-44, 1997.

SHELTON, M. Aloe vera, its chemical and therapeutic properties. **International Journal of Dermatology**.;n.30, p.679-683. 1991.

SHETH, K.; JOLAD, S.; WIEDOPF, R.; COLE, J.R. Tumor-inhibitory agent from *Hyptis emoryi* (Labiatae). **J. Pharm. Sci.** 61:1819, 1972.

SILVA JÚNIOR, A. A.; VIZZOTTO, V.; **Agropecuária Catarinense**. V. 9, n.5, 1996.

SILVA OLIVEIRA, A.L.; FIGUEIREDO, A.D.L. Prospecção Fitoquímica das Folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 384-386, jul. 2007.

SILVA, R.L.; MELO, G.B.; ANTONIOLLI, A.R.; LIMA, S.O.; MELO, V.A.; RAMALHO, F.S.; Z.RAMALHO, L.N.Z.; ZUCOLOTO, S.; CASTRO E SILVA JÚNIOR, S. Efeito do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a proliferação de hepatócitos após hepatectomia parcial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 101, 2002.

SIQUEIRA, J.M.; ZIMINIANI, M.G.; RESENDE, U.A.; BOAVENTURA, M.A.D. Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Anguetia glabriúscula* Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach. **Ver. Brás, Farmacog.** v. 24, p. 185-187, 2001.

SIQUEIRA, J.C. Plantas do cerrado na medicina popular. **Spectrum- J. Bras. Ci.**, v.2, p.41, 1982.

SKEHAN, p.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; McMABON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J.T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M.R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Câncer Inst.** v. 82, p. 1107-1112, 1990.

SOLIS, P.N.; WRIGHT, C.W.; ANDERSON, M.M.; GUPTA, M.P.; PHILLIPSON, D. A microwell cytotoxicity using *Artemia salina* (Brine shrimp). **Planta Med.** v. 59, p. 250-252, 1992.

SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: UFC: Lab. de Produtos Naturais, 1991.

SPRINGER, J. E.; AZBILL, R. D.; CARLSON, S. L.. A rapid and sensitive assay for measuring mitochondrial metabolic activity in isolated neural tissue. **Brain Research Protocols** 2, 259-263, 1998.

STEINERT, J.; KHALAJ, S.; RIMPLER, M. High-performance liquid chromatographic separation of some naturally occurring naphthoquinones and anthraquinones. **Journal of Chromatography, A** 723, p. 206-209, 1996.

TANAKA, M., MISAWA, E., ITO, Y., HABARA, N., NOMAGUCHI, K., YAMADA, M., TOIDA, T., HAYASAWA, H., TAKASE, M., INAGAKI, M., HIGUCHI. Identification of five phytosterols from *Aloe Vera* gel as anti-diabetic compounds. **Biological and Pharmaceutical Bulletin.** v.29, n.7, p.1418-422, 2006.

TERHUNE, S. J.; HOGG, J. W.; LAWRENCE, B. M. Beta-spathulene: a new sesquiterpene in *Schinus molle* oil. **Phytochemistry**, v. 13, p. 865-866, 1974.

TITS, M.; ANGENOT, L.; POUKENS, P.; WARIN, R.; DIERCKXSENS, Y. **Phytochemistry.** v. 31, n. 971, 1992.

TYLER, V. E. **Herbs of Choice** – The therapeutic use of phytomedicinals. Binghamton, NY: The Haworth Press, 1994

VALADARES, M.C.; CARRUCHA, S.G.; ACCORSI, W.; QUEIROZ, M.L.S. *Euphorbia tirucalli* L. modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour-bearing mice. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 294-299, 2006.

VERMILLION, W.G.. *Caesalpinia bonduc* (Fabaceae) new to Louisiana. *Sida* v. 19, n. 4, p.181-182, 2001.

VIEGAS JR.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, J.R.C. **Indigofera suffruticosa Mill: Um meio terapêutico alternativo anti-câncer.** Recife, 2007. Dissertação (Mestrado em Patologia) Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Pernambuco.

VIEIRA, R.A. Validação científica de plantas medicinais como fator catalisador no desenvolvimento da indústria farmacêutica nacional. *Revista Saúde e Ambiente* 2. v.1, n. 2, p. 57- 64, 2001.

VILLALOBOS, J., RAMIREZ, F., MOUSATCHE, H. Acetylcholine and histamine in plants. *Ciência e Cultura*, v. 26, p. 690, 1974.

WU, F.E.; LU, Z.; GU,Z.M.; ZHAO, G.X.; ZHANG, Y.; SCHWEDLER, J.T.; MCLAUGHLIN, J.L. New bioactive monotetrahydrofuran annonaceous Acetogenins, anomuricin c and muricatocin c, from the leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, v. 58, n. 6, p. 909-915,1995.

ZENG, L.; WU, F.E.; OBERLIES, N.H.; MCLAUGHLIN, J.L. Five New Monotetrahydrofuran Ring Acetogenins from the Leaves of *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*, v. 59, 1035-1042, 1996.

ZHI-JUN, Y.; SRIRANGANATHAN, N.; VAUGHT, T.; ARASTU, S.K.; ANSAR AHMED, S.. A dye-based lymphocyte proliferation assay that permits multiple immunological analyses: mRNA, cytogenetic, apoptosis, and immunophenotyping studies. *Journal of Immunological Methods*. v. 210, p. 25-39, 1997.

ZHOU, B.B.S.; ELLEDGE, S.J.; The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*, v. 408, p. 433-9, 2000.

**ANEXOS**

**ANEXO I**

**ANEXO II**

**ANEXO III**

## DESCRIÇÃO BOTÂNICA DAS ESPÉCIES ESTUDADAS

### 1 – *Aloe vera* (L.) Burm.f.

#### Aspectos botânicos

**Nomes vulgares:** babosa-verdadeira, aloe-de-barbados, aloe-de-curaçau.

**Origem:** região mediterrânea.

É uma planta com caule curto e estolonífero, e raízes abundantes, longas e carnosas pertencente à família *Liliaceae*.

As folhas são grossas, carnosas, rosuladas, eretas, ensiformes, têm de 30 a 60 cm de comprimento, verde-brancas, com manchas claras quando novas, lanceoladas, agudas e com margens de dentes espinhosos e apartados. A face ventral é plana, e a dorsal convexa, lisa e cerosa. As folhas são muito suculentas, têm odor pouco agradável e sabor amargo, tornando-se o suco, após colhida a folha, de cor violácea e aroma muito forte e desagradável. As flores são cilíndricas e subcilíndricas, branco-amareladas, têm de 2,0 a 3,0 cm de comprimento, com segmentos coniventes ou coerentes com as pontas estendidas. Têm seis estames aproximadamente do tamanho do tubo, filetes delgados e anteras oblongas. O ovário é séssil, triangular, trilocular, e o estilete é mais longo que o perianto, com um pequeno estigma, sendo os óvulos abundantes nos lóculos. A inflorescência é central, ereta e tem de 1,0 a 1,50 m de altura. O escapo tem de 10,0 a 15,0 cm, com escamas largas, o racimo é denso (1,0 – 3,0 cm), com brácteas lanceoladas mais longas que os pedicelos. O florescimento ocorre na primavera (setembro-outubro).

Os frutos são constituídos de cápsulas ovóides-oblongas, cônicas, curtas (20,0 mm), de deiscência loculicida, triloculares, mas com septos dando a impressão de 6 lóculos. As sementes são numerosas, pardo-escuras, achatadas e reniformes (DIMITRI, 1978).

## 2 - *Annona muricata*

**Nomes vulgares:** guanábano (língua espanhola), soursop (língua inglesa) e corossolier (língua francesa).

**Origem:** terras baixas da América Tropical e vales peruanos; é fruta tropical importante nos mercados da América Tropical sendo a Venezuela o maior produtor sul-americano. A sua importância comercial no Brasil é pequena apesar da demanda crescente pela polpa do fruto no país, no Oriente Médio e na Europa (Alemanha e Espanha). No Nordeste brasileiro o município cearense de Trairi mantém plantios organizados dessa fruteira.

Pertencente à família Annonaceae, suas árvores possuem ramos jovens pubescentes, tricomas simples, ferrugíneos; ramos adultos glabros, lenticelados, acinzentados quando herborizados. Folhas com pecíolo cilíndrico, cerca de 0,5 cm de comprimento, tricomas esparsos, simples, curtos, hialinos ou ferrugíneos; lâmina oblonga ou oblongo-lanceolada, 6,5 -14,5×35,0 cm, membranácea a cartácea, base aguda, ápice agudo, margem plana, 1013 pares de nervuras secundárias, glabra na face ventral, tricomas esparsos, simples, curtos, adpressos e ferrugíneos principalmente na nervura principal da face dorsal; domácias presentes na junção das nervuras secundárias com a nervura principal na face dorsal. Flores isoladas, terminais, cerca de 4,0 cm de comprimento, pedicelo cilíndrico, com cerca de 2,0 cm de comprimento, tricomas simples, adpressos. Bráctea triangular, com cerca de 0,2×0,3 cm, tricomas simples e adpressos. Sépalas levemente concrecidas na base, triangulares, ápice agudo, 0,4×0,6 cm, com pêlos simples, adpressos. Pétalas em número de 6, bi-seriadas, livres; pétalas externas ovadas a cordadas, cerca de 3,5×3,0 cm, tricomas simples, adpressos, ferrugíneos na face externa, pubescentes na face interna; pétalas internas ovadas, base estreitada, cerca de 3,0×2,5 cm, pubescentes. Estames com 0,4 cm comprimento, glabros. Carpelos numerosos, com 0,4 cm de comprimento, ovário densamente piloso, 1 óvulo basal, estilete curto, constrito. Fruto sincárpico, muricado, principalmente quando jovem, com 8,5×4,0 cm, tricomas simples, ferrugíneos (PONTES *et al.*, 2004). As sementes com 1,0 a 2,0 cm. de comprimento, peso 0,59 g. (170 sementes/100 g.) são pretas na sua retirada do fruto passando a marrom dias após; de ordinário encontram-se 100 sementes por fruto ([WWW.SEAGRI.BA.GOV.BR/GRAVIOLA.HTML](http://WWW.SEAGRI.BA.GOV.BR/GRAVIOLA.HTML)).

### 3 - *Cnidosculus urens*

#### Aspectos botânicos

**Nomes vulgares:** na região sul do Brasil: - Arre Diabo, Pinha Queimadeira; no Pará, Urtiga; no Ceará, Urtiga de Mamão, Urtiga Cansação (CORRÊA, 1926).

**Origem:** nativa de regiões tropicais e subtropicais da América.

Pertencente a família das Euphorbiaceas, é um arbusto urticante e lactescente; folhas alternas longo-pecioladas, palmadas, cordiformes, 3-5-lobadas ou fendidas ou partidas, lobos angulosos-dentados ou sinuados; flores hypocrateriformes, apétalas, brancas, dispostas em cymeiras; ovário acuminado, sulcado, pubescente; fruto cápsula 3-locular revestidas de pêlos urticantes e contendo três sementes.

### 4 - *Euphorbia tirucalli*

**Nomes vulgares:** Conhecida popularmente como árvore-do-lápis devido a seus ramos cilíndricos, a *Euphorbia tirucalli* também é conhecida no nordeste como labirinto, dedo-do-cão e avelós (LYMANN *et al.*, 1988).

**Origem:** nativa do sul do continente africano, aclimatou-se bem em todas as regiões tropicais do planeta, em especial no nordeste brasileiro (CORRÊA, 1978).

#### Aspectos botânicos

Planta arbustiva utilizada como cerca-viva, o avelós alcança até 6 metros de altura (JOLY, 1966).

### 5 – *Hyptis pectinata*

**Nomes vulgares:** *Hyptis pectinata* (L.) Poit é uma erva da família *Lamiaceae*, popularmente conhecida no Brasil como "sambacaitá" ou "canudinho" (SILVA *et al.*,

2002). Em Pernambuco, é conhecida como Alfazema-brava ou alfazema-de-caboclo (ALBUQUERQUE & ALMEIDA, 2002).

**Origem:** Pertencente à família Lamiaceae, o gênero *Hyptis* é composto por cerca de 350 espécies exclusivamente neotropicais, sua distribuição ocorre desde o sul dos Estados Unidos e Caribe até a Argentina, excetuando-se apenas o extremo sul. Algumas espécies invasoras são bem estabelecidas na Ásia, África e norte da Austrália. O centro da diversidade do gênero se encontra nos campos cerrados do Brasil Central, mais especificamente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (BORDIGNON, 1990; FALCÃO, 2003).

## 6 – *Stryphnodendron adstringens*

**Nomes vulgares:** barbatimão, barba-de-timan, barba-de-timão, abaremotemo, cascada-virgindade, paricarana, chorãozinho roxo, verna, barbatimão alumbark (inglês) ([www.plantamed.com.br](http://www.plantamed.com.br)).

**Origem:** ocorre desde o Estado do Para até o Paraná.

O *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, tem como sinonímia botânica *Acácia adstringens* Mart., *Stryphnodendron barbatiman* M., e *Mimosa barbatiman* Vell., e uma espécie pertencente a família *Leguminosae* e caracteriza-se como uma das plantas úteis do cerrado por seu uso farmacológico, em madeiras, indústria de curtumes, dentre outros. A espécie é descrita como um arbusto, ou árvore pequena, com caule e ramos tortuosos, revestida de pouca folhagem, copa rala e irregular, casca rugosa, folhas bipinadas, folíolos, ovados, pequenos, glabros, flores creme ou quase brancas, dispostas em espigas cilíndricas, axilares densas. O fruto é uma vagem grossa, um pouco carnosa, quase cilíndrica, séssil, com aproximadamente 10cm de comprimento (CORRÊA, 1926).

O barbatimão, uma espécie decídua, perde suas folhas durante os meses de junho e julho e, volta a brotar em fins de agosto. Sua floração inicia-se em setembro e a frutificação em novembro. A raiz é pivotante, tendo seu desenvolvimento, na planta jovem, mais rápido que o do caule (ARRUDA, 1950; POGIANI, 1971).

## 7 – *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

**Nomes vulgares:** feijão moeda cinzento, também conhecido como grão-de-moeda, espere-um-pouco, grão-de-febre, erva-de-Santo-Antônio.

**Origem:** ocorre espontaneamente na costa tropical, incluindo a Flórida, Louisiana, Porto Rico, Havaí, Ilhas Virgínicas e Samoa Americana (HOWARD, 1988; LIOGIER, 1988; PACIFIC ISLAND ECOSYSTEMS AT RISK, 2002; VERMILLION, 2001). Sua ampla área de ocorrência se deve, provavelmente, a mecanismos naturais de dispersão, uma vez que suas sementes são carregadas pela água do mar. É possível que tenha havido introdução intencional ou acidental em algumas dessas áreas.

É um arbusto espinhento trepador, chegando a 1,5 m de altura (sem suporte) e mais de 6 m de extensão. O diâmetro do caule pode atingir mais de 5 cm. As plantas geralmente têm um caule principal nítido, mas ocorrem ramificações com muita frequência já nas partes baixas do caule. Plantas jovens formam uma raiz principal que pode ser mantida, embora raízes laterais sejam bem visíveis. Os caules crescem eretos cerca de 75 a 100 cm, quando se curvam no sentido horizontal. Caules, ramos laterais e raques foliares são cobertos por espinhos retos ou curvados. Possui folhas com cerca de 80 cm, compostas, paripenadas, com 4 a 8 pares de folíolos, variando de oblongos à elípticos. As flores são dispostas em racemos laterais ou terminais. Os legumes são achatados lateralmente, com 5 a 10 cm de comprimento, castanhos quando maduros, com uma a três sementes (geralmente duas) dentro de cada vagem. Os legumes são persistentes, permanecendo na planta mãe até a completa secagem; quando secos se abrem parcialmente liberando as sementes (AJIWE *et al.*, 1996).

## 8 - *Schinus terebinthifolius* Raddi

**Nomes vulgares:** aroeira vermelha, abacaíba, aguaraíba, araguaraíba, aroeira, aroeira braba, aroeira branca, aroeira comum, aroeira corneíba, aroeira legítima, aroeira mansa, aroeira negra, aroeira pimenteira, aroeira precoce, aroeira preta, aroeira rasteira, aroeira da praia, aroeira de minas, aroeira de remédio, aroeira de sabiá, aroeira do brejo, aroeira do campo, aroeira do paraná, aroeira do sertão, aroeirinha, aroeirinha do campo, árvore da pimenta, arundeúva, bálsamo, cabuí,

cabuí, cambui, coração de bugre, corneiba, falsa aroeira, fruta de cutia, fruta de sabiá, fruto de raposa, fruto de sabiá, jejuíra, lentisco, pimenteira do peru.

### **Aspectos botânicos**

Pertencente a família Anarcadiaceae, a aroeira é uma árvore de ocorrência em floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila densa, floresta de araucária e restinga. Distribuição geográfica nos Estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Mato Grosso, Pernambuco, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sergipe e São Paulo. Sua floração se dá nos meses de setembro, outubro, novembro, dezembro e janeiro. A frutificação, de janeiro a julho. Utilizada na produção de Carvão e resina, na arborização urbana, na medicina e no paisagismo. Possui copa globosa, caule com casca externa cinza escuro, muitas vezes preta. Casca interna avermelhada, com textura fibrosa, odor característico e com exudação de terebentina. Um pigmento, utilizado para fortalecer redes de pesca é extraído da casca; da casca também é extraída uma resina terebintácea aromática, conhecida como mastique. A casca é rica em substâncias tanantes. Flores de cor branca, as folhas são compostas, de forma oblonga, tamanho 3x15mm, inserção alterna, consistência: coriácea, contêm pilosidades e apresentam de 9 a 11 folíolos membranáceos, glabros, verde a verde escuro, de ápice agudo e base obtusa, margem serreada. As primeiras folhas são trifolioladas e apresentam como característica principal para identificação, a ráquis com ala estreita entre os pares de folíolos. Os brotos jovens são avermelhados. Os fruto são vermelhos, produzidos anualmente, de estrutura carnosa, drupas esféricas, medindo de 4,0 a 5,5 mm de diâmetro, levemente achatada no comprimento. O endocarpo contém óleo e, á semelhança do mesocarpo quando macerado maturo exala um odor do fruto manga. Cada fruto pode apresentar uma ou várias sementes reniformes, com tamanho de 0,2 mm e de polpa oleosa (CARVALHO, 1994; JANKOWSKY, 1990; ENGELS *et al.*, 1984; BARROSO, 1978).