



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS

MAGNA MARIA LIMA ARAUJO

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBIÓTICA E ANTIPROLIFERATIVA
TUMORAL DAS FRAÇÕES PURIFICADAS DA URTIGA *Cnidocolus urens*.

SUMÉ - PB
2018

MAGNA MARIA LIMA ARAUJO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBIÓTICA E ANTIPROLIFERATIVA
TUMORAL DAS FRAÇÕES PURIFICADAS DA URTIGA *Cnidocolus urens*.**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz

SUMÉ - PB

2018

A663a Araujo, Magna Maria Lima.
Avaliação das atividades antibiótica e antiproliferativa tumoral das frações purificadas da urtiga *Cnidocolus urens*. / Magna Maria Lima Araujo. - Sumé - PB: [s.n], 2018.

78 f.

Orientador: Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Atividade antibiótica - *Cnidocolus urens*. 2. Atividade antiproliferativa tumoral – urtiga branca. 3. Citotoxicidade in vitro. 4. Cromatografia. I. Título.

CDU: 60(043.1)

Elaboração da Ficha Catalográfica:

Johnny Rodrigues Barbosa
Bibliotecário-Documentalista
CRB-15/626

MAGNA MARIA LIMA ARAUJO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBIÓTICA E ANTIPROLIFERATIVA
TUMORAL DAS FRAÇÕES PURIFICADAS DA URTIGA *Cnidocolus urens***

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Aprovado em: 29/12/2018

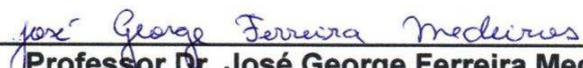
BANCA EXAMINADORA



Professor Dr. Jean César Farias de Queiroz
Orientador – UAEBB/CDSA/UFCG



Professor Dr. Franklin Ferreira de Farias Nóbrega
Examinador –UAEBB/CDSA/UFCG



Professor Dr. José George Ferreira Medeiros
Examinador – UATEC/CDSA/UFCG

SUMÉ-PB

Aos meus queridos pais, Maria da Guia e Deoclecio, pelos exemplos de vida, marcados pelo amor e dedicação aos filhos. DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por brilhar sua proteção todos os dias da minha vida, trazendo a felicidade de encontrar na fé, conformismo para os dias cansados e doloridos. Pois, a fé não é senão um raio puro que faz iluminar a alma.

Aos meus pais, Maria da Guia e Deoclecio, pelo apoio irrestrito em todos os momentos de minha vida.

Um agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. Jean César Farias de Queiroz, pelos ensinamentos, simplicidade, paciência, e dedicação a essa pesquisa. Lembro-me dos dias em que pensei em desistir e você me incentivou a continuar, agradeço pelo excelente profissional, e, também, pelo ser humano excepcional com quem tive a honra de aprender, pelo que, de forma carinhosa posso chama-lo de amigo. O meu mais sincero obrigado!

Ao meu amigo Felipe Douglas Silva, por toda a ajuda, dedicação e carinho, certo de que, sem o seu auxílio nada disso seria possível.

As minhas amigas Jéssica Moreira, Isadora e Camila, pela ajuda incondicional, orientação e amizade durante os dias difíceis enfrentados ao longo desta pesquisa.

A Prof. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento, pela ajuda e incentivo durante minha vida acadêmica, seu carinho e educação ao tratar seus alunos, ficam plantados como sementes de luz, na mente de cada um.

Agradeço, também, aos demais amigos e amigas pelo sustentáculo que firmaram sobre as minhas fraquezas, proporcionando-me forças para concluir, não só esta pesquisa, mas para complementação do meu caráter.

Agradeço de maneira saudosa à minha eterna mestra, Antônia Severina de Lima, professora na disciplina viver, que, tendo cumprido sua missão de ensinar neste mundo, não permaneceu entre nós a ponto de ver este trabalho concluído.

RESUMO

A espécie *Cnidocolus urens* (L). Arthur., conhecida popularmente como “urtiga branca”, é bastante utilizada na medicina popular no tratamento de diversas enfermidades. Este trabalho objetiva avaliar a atividade antibiótica e antiproliferativa tumoral *in vitro*, dos compostos fracionados da urtiga *Cnidocolus urens*. O extrato foi obtido a partir de um processo de extração por solventes orgânicos. O processo de purificação foi realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE-FR), sendo as frações obtidas, classificadas como Fração 1, Fração 2 e Fração 3, selecionadas para os testes. O estudo da atividade antibacteriana foi realizado contra as estirpes bacterianas Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Escherichia coli*), sendo o antibiótico Amoxicilina o controle positivo. A atividade antiproliferativa tumoral *in vitro*, foi avaliada frente a linhagem celular LNCaP de câncer de próstata, a partir do ensaio de citotoxicidade, pelo método do MTS. O cromatograma obtido do processo de purificação revelou aproximadamente dezesseis picos, ou seja, a presença de cerca de 16 compostos diferentes, que podem ser responsáveis pelas atividades antibacteriana e citotóxica, observadas. As Frações 1, 2 e 3, demonstraram potencial antibacteriano, com formação halos de inibição de respectivamente 12, 3 e 10mm contra *E. coli* e halos de inibição de respectivamente 13,33, 6,67 e 8,33mm contra *S. aureus*. Em relação aos resultados obtidos no ensaio de citotoxicidade a Fração 1 apresentou alto efeito citotóxico *in vitro* contra a linhagem de LNCaP, nas concentrações de 855,9, 427,9 e 213,9 mg/mL, causando a morte das células cancerígenas de 100%, 91,9% e 76,5%, respectivamente. A Fração 3 apresentou efeito citotóxico efetivo contra a linhagem de LNCaP nas concentrações de 808,3 e 404,1 mg/mL utilizadas no ensaio, causando a morte das células de câncer de próstata 86,5% e 48,0%, respectivamente. Entretanto, a Fração 2, não apresentou citotoxicidade significativa sobre as células de LNCaP.

PALAVRAS-CHAVE: Antibiograma. Câncer de Próstata. Cromatografia Líquida. Metabólitos Secundários. Citotoxicidade *in vitro*.

ABSTRACT

The species *Cnidocolus urens* (L). Arthur., Popularly known as "white nettle," is widely used in folk medicine for the treatment of various diseases. This work aims to evaluate the antibiotic and antiproliferative activity *in vitro* of the fractionated compounds of the nettle *Cnidocolus urens*. The extract was obtained from a process of extraction by organic solvents. The purification process was performed by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC-FR), and fractions were classified as Fraction 1, Fraction 2 and Fraction 3, selected for the tests. The study of antibacterial activity was performed against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) strains, with the antibiotic Amoxicillin being the positive control. Tumor antiproliferative activity *in vitro* was evaluated against the LNCaP cell line of prostate cancer from the cytotoxicity assay by the MTS method. The chromatogram obtained from the purification process revealed approximately sixteen peaks, i.e. the presence of about 16 different compounds, which may be responsible for the observed antibacterial and cytotoxic activities. Fractions 1, 2 and 3 demonstrated antibacterial potential, with formation inhibition halos of respectively 12, 3 and 10mm against *E. coli* and inhibition halos respectively 13.33, 6.67 and 8.33mm against *S. aureus*. Fraction 1 showed a high *in vitro* cytotoxic effect against the LNCaP line at concentrations of 855.9, 427.9 and 213.9 mg/mL, causing cancer cells to die of 100%, 91.9% and 76.5%, respectively. Fraction 3 showed effective cytotoxic effect against the LNCaP line at concentrations of 808.3 and 404.1 mg/mL used in the assay, causing the death of prostate cancer cells 86.5% and 48.0%, respectively. However, Fraction 2 did not show significant cytotoxicity on LNCaP cells.

KEY WORDS: Antibiograma. Prostate Cancer. Liquid Chromatography. Secondary Metabolites. *in vitro* cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da espécie <i>Cnidoscolus urens</i> (L.) Arthur no Brasil.....	22
Figura 2 - Parâmetros Morfológicos de <i>Cnidoscolus urens</i> (L.) Arthur.....	23
Figura 3 - Estrutura de xochitloldione.....	25
Figura 4 - Estrutura da isoxochitlolone.....	25
Figura 5 - Fases do ciclo celular.....	31
Figura 6 - Vias de Regulação do Ciclo Celular.....	32
Figura 7 - Fase do processo da carcinogênese.....	34
Figura 8 - Estimativa das taxas de incidência padronizadas por idade (Mundial) em 2018, todos os cânceres, ambos os sexos, todas as idades.....	34
Figura 9 - Número de novos casos em 2018, ambos os sexos, todas as Idades.....	36
Figura 10 : Estrutura química das substâncias obtidas de produtos naturais, utilizados como antineoplásicos.....	42
Figura 11 - Equipamento básico da CLAE.....	45
Figura 12 - Localização aérea do CDSA.....	46
Figura 13 - Localização aérea do Sitio Serra Pelada em relação a cidade de Sumé.....	47
Figura 14 - Fluxograma de preparação do material vegetal da <i>Cnidoscolus urens</i>	48
Figura 15 - Extrato etanólico bruto das partes aeras da planta, obtidos após a etapa de fracionamento.....	49
Figura 16 - Extrato na forma de pó, resultante do processo de liofilização.....	50
Figura 17 - Linhagem Celular de Câncer de próstata LNCaP.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estimativas para 2018 do número de novos casos de câncer, por região.....	39
Tabela 2 - Composição do meio de cultura utilizado teste Antibiograma.....	52
Tabela 3 - Número de unidades formadoras de colônias em uma diluição de 10^{-7} obtida por meio de cultivo em meio Ágar Muller-Hinton.....	53
Tabela 4 - Ação antibacteriana das frações purificadas da <i>Cnidoscolus urens</i>	59
Tabela 5 - Concentração das frações purificadas da <i>Cnidoscolus urens</i> utilizadas no ensaio de MTS para cada diluição.....	61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Cromatograma gerado a partir da corrida dos extratos proveniente da <i>Cnidoscolus urens</i>	57
Gráfico 2 - Cromatograma dos extratos da <i>Cnidoscolus urens</i> dividido em suas respectivas frações de purificação.....	58
Gráfico 3 - Efeito citotóxico da Fração 1 do extrato da <i>Cnidoscolus urens</i>	62
Gráfico 4 - Efeito citotóxico da Fração 2 do extrato da <i>Cnidoscolus urens</i>	63
Gráfico 5 - Efeito citotóxico da Fração 3 do extrato da <i>Cnidoscolus urens</i>	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL – Microlitro

μmol – Micromol

μm – Micrometro

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABS – Absorbância

ADCM – Ágar Dextrose Caseína Malte

Atm – Atmosfera

ATP – Trifosfato de Adenosina

BOD – Biochemical Oxygen Demand

CDSA – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido

CLAE-FR – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Fase Reversa

C_n – Número de Carbonos

CO₂ – Dióxido de Carbono

DMAPP – Pirofosfato de dimetilalilo

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo

FDA – Food and Drug Administration

GGPP – Pirofosfato de geranylgeranilo

g – Grama

h – Hora

kg – Quilograma

L – Litro

mg – Miligrama

min – Minuto

mL – Mililitro

mM – Milimolar

nm – Nanômetro

q.s.p – Quantidade suficiente para

RNA – Ácido ribonucleico

UAEB – Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UV – Radiação solar ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Família Euphorbiaceae.....	19
3.2 Gênero <i>Cnidoscolus</i>	20
3.3 Espécie <i>Cnidoscolus urens</i> (L.) Arthur.....	21
3.4 Metabólitos Encontrados na <i>Cnidoscolus urens</i>	24
3.5 Produtos Naturais no Desenvolvimento de Fármacos	26
3.6 Câncer	28
3.6.1 Proliferação Celular e Câncer.....	29
3.7 Incidência do Câncer no Mundo	34
3.7.1 Incidência de Câncer no Brasil.....	37
3.7.2 Gênero <i>Cnidoscolus</i> e Câncer.....	39
3.7.3 Antineoplásicos de Origem Vegetal.....	40
3.8 Considerações sobre a Atividade Antibacteriana	42
3.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	44
4 MATERIAS E METODOS	46
4.1 Local da Realização do Trabalho.....	46
4.2 Matéria Prima.....	47
4.3 Tratamento da Matéria Prima.....	48
4.4 Concentração do Extrato Etanólico da <i>Cnidoscolus urens</i>	49
4.5 Extração por Solventes.....	50
4.6 Purificação dos Extratos por CLAE-FR.....	50
4.7 Concentração das Frações Purificadas.....	51
4.8 Ensaio da Atividade Antimicrobiana	51
4.8.1 Meio de Cultura.....	51
4.8.2 Preparação dos Discos.....	52
4.8.3 Preparo do Inóculo Bacteriano.....	53
4.8.4 Teste Antibiograma.....	53
4.9 Ensaio de Atividade Anticarcinogênica <i>in Vitro</i>	54

4.9.1 Viabilidade Celular.....	55
4.9.2 Ensaio de citotoxicidade das frações da <i>Cnidocolus urens</i> contra LNCaP.....	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1 Purificação dos Compostos Contidos nos Extratos.....	57
5.2 Ensaio Antibacteriano.....	59
5.3 Ensaio de Citotoxicidade <i>In Vitro</i>	61
5.4. Potencial para produção de um Antibiótico.....	66
5.5 Potencial Antineoplásico das Frações.....	66
6 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais, mais precisamente os de origem vegetal é uma das práticas mais antigas usadas no tratamento e cura das enfermidades. Nesse sentido, as plantas são consideradas como um dos primeiros recursos terapêuticos utilizados pela humanidade (PAULA, 2014).

As plantas são importantes fontes e precursores de substâncias com grande potencial terapêutico, não apenas pela grande variedade de espécies vegetais com propriedades medicinais ainda não explorado, mais pela grande variedade de metabólitos primários e secundários por elas sintetizadas (MORAES et al., 2008). Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas, são de natureza química e tem como função a defesa contra herbívoros, microrganismo, proteção contra raios UV (ultravioleta), atração de polinizadores e animais dispersores de sementes, assim como, a produção de substância alopáticas, como nutrientes, dependendo das especificidades de cada planta (SIMÕES et al., 2010).

O Brasil possui umas das maiores biodiversidades do planeta distribuída em toda a sua extensão territorial, cerca de 55 milhões de espécies de plantas superiores e uma farmacopeia com enorme variedade de plantas medicinais (ENGELK, 2003). Um dos grandes desafios da ciência e sociedade é a exploração desse patrimônio químico e biológico de forma sustentável (FEITOSA, 2009). O crescente interesse em drogas de origem vegetal é devido entre outros fatores, a ineficiência da medicina convencional, os efeitos colaterais de algumas drogas sintéticas e, ao fator social, uma vez que, grande parte da população pobre do mundo não tem acesso ao tratamento farmacológico convencional (SILVA, 2016).

A caatinga é um bioma com grande diversidade, sendo exclusivamente brasileiro, é constituído por um patrimônio biológico que, em muitos casos, não se encontra em outro lugar do planeta, apresenta inúmeras plantas medicinais usadas em tratamentos caseiros (MORAIS, 2016). Dentre as espécies vegetais utilizadas pela população destaca-se a *Cnidocolus urens* (L). Arthur., conhecida popularmente como “urtiga branca”, na medicina popular, é utilizada no tratamento de reumatismo, apendicite, inflamação na próstata, hemorragia e câncer (ALBUQUERQUE, 2006; AGRA et al., 2008.)

A *Cnidoscolus urens* (L). Arthur é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, gênero *Cnidoscolus*, é caracterizado como um arbusto ou subarbusto, latescente podendo atingir cerca de 0,5-2,5 m de altura (SÁTIRO; ROQUE, 2008). A espécie é conhecida pela presença de pelos urticantes, chamados de tricomas urticantes, estes quando entram em contato com a pele liberam instantaneamente cristais de oxalato de cálcio promovendo urticárias (MALHEIROS, 2012).

Nas espécies pertencentes ao gênero *Cnidoscolus*, são evidenciados dois tipos de tricomas, urticantes e não urticantes. Os tricomas urticantes são unicelulares, com forma tubular, alongada e, apresentam paredes silicosas, dispostas sobre uma base multicelular e com abertura oblíqua no ápice (THURSTON; LESTERN 1969). Tais estruturas possuem não somente função secretora de exsudatos químicos, mais também constituem base mecânica de resistência (DIMOCK; KENNEDY, 1983). Os tricomas não urticantes, são simples, unicelulares e, formam indumento pubescente, velutino, tomentoso, pubérulo, viloso, revestindo a maioria das espécies, nas partes vegetativas e florais (MELO; SALES, 2008).

Dentro do cenário de utilização de plantas medicinais, como alternativa para o tratamento de doenças, a *Cnidoscolus urens* foi bastante relatada em levantamentos etnofarmacológicos, quanto ao seu uso pela população, como fonte alternativa de tratamento para câncer, sendo essa doença a segunda principal causa de morte no mundo (WHOSIS, 2018). Diante do crescente número de casos de câncer, evidenciados a cada ano, em todo mundo, torna-se necessária a busca por novas moléculas apresentem atividade antitumoral (JUNIOR, 2017).

Em outras áreas os compostos advindos de fontes naturais apresentam bastante relevância, como na área anti-infecciosa, a qual, é dependente dos produtos naturais ou de suas estruturas (NEWMAN; CRAGG, 2016). Nesse sentido, as substâncias produzidas por plantas, representam uma importante fonte para a descoberta de antibióticos mais eficazes.

Perante o exposto, esse trabalho tem por objetivo promover a purificação dos extratos da *Cnidoscolus urens*, por meio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em coluna de Fase Reversa (CLEA-FR), avaliar a atividade antibacteriana e citotóxica *in vitro* das Frações purificadas, com o intuito de assegurar seu uso e futuramente servir de parâmetros para o isolamento de substâncias ativas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a atividade antibiótica e antiproliferativa tumoral *in vitro*, dos compostos fracionados da urtiga *Cnidocolus urens*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar os metabolitos secundários presente no extrato da *Cnidocolus urens* por meio de cromatografia líquida;
- Avaliar a capacidade antibacteriana das frações purificadas da *Cnidocolus urens* contra as cepas bacterianas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*;
- Avaliar o efeito citotóxico *in vitro* das frações purificadas, frente a linhagem celular LNcaP de câncer de próstata.

3 REREFENCIAL TEÓRICO

3.1 Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae é composta por 5 subfamílias, 49 tribos, 317 gêneros, distribuídas nas regiões tropicais e temperadas, é considerada uma das maiores e mais complexas famílias das Angiospermas (WEBSTER, 1994; SECCO et al., 2012). No Brasil, a família Euphorbiaceae é representada por cerca de 1.000 espécies, distribuída em 80 gêneros (BARROSO et al., 1991; CORDEIRO, 1992). No Nordeste brasileiro é caracterizada como uma das famílias mais importantes do semiárido, sendo composta por 211 espécies e 45 gêneros, com ampla distribuição nas áreas da caatinga, onde apresenta grande número de espécies endêmicas (CORDEIRO et al., 2006; SÁTIRO; ROQUE, 2008).

Os representantes dessa família caracterizam-se por apresentar hábitos heterogêneos, os quais incluem espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas (FELIU, 2011). As Euphorbiaceae, geralmente são plantas latescentes, monóicas ou dióicas, com flores diclinas, sendo as flores pistiladas muito características pelo gineceu sincárpico, ovário súpero e geralmente tricarpelar. Em relação ao fruto, em sua grande maioria é capsular com deiscência explosiva, abrindo-se em três mericarpos, sendo conhecido como cápsula tricoica, três mericarpos (SÁTIRO; ROQUE, 2008).

As espécies pertencentes a família Euphorbiaceae, apresentam grande valor econômico, nos diversos setores, como Farmacológico-medicinal, industrial, madeireiro, ornamental e na produção de alimento (ALVES, 1999). Algumas espécies pertencentes a essa família são muito utilizadas na alimentação, principalmente na região Nordeste do Brasil, como a *Manihot esculenta* Crantz, dela é extraído a farinha da mandioca, sendo um dos principais componentes das refeições da população (CORRÊA et al., 2002). Outras espécies que representaram grande influência na economia do país, foram as espécies pertencentes ao gênero *Hevea* (seringueira), pela extração do látex para produção de borracha (RIBEIRO et al., 2004). Além destas, outras espécies possuem grande valor econômico, tais como: mamona (*Ricinus communis* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L.), marmeleiro (*Croton blanchetianus* Baill), quebra-faca (*Croton micans* Müll. Arg.), velame (*Croton*

heliotropiifolius Kunth), urtiga (*Cnidoscolus urens* L. Arthur), flor-de-papagaio (*Euphorbia pulcherrima*), coroa-de-cristo (*Euphorbia milii* Des Moul.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (OLIVEIRA, 2013).

As Euphorbiaceas possuem um alto potencial terapêutico e características específicas que conferem a os membros dessa família uma excelente atividade medicinal. Por possuírem ampla distribuição geográfica em todos os continentes, a família apresenta alta capacidade de sobrevivência, como adaptações climáticas, altas cargas de mutações, além de rápidas respostas, aos estímulos ambientais (SOUZA, 2013). A alta capacidade de adaptação apresentada por esses indivíduos permite a produção de uma grande variedade de metabolitos secundários (WMINE; DAMME, 2011). Diversos compostos tais como fenóis, ésteres, ricina, flavonoides, saponinas, terpenos, alcaloides e taninos são encontrados nos diferentes membros dessa família, como relatados em estudos realizados por NOGUEIRA et al. (2014); RANDAU et al., KIEM et al. (2009); GOEL et al. (2007); LIU et al. (2007); ROSSI et al. (2003).

3.2 Gênero *Cnidoscolus*

O gênero *Cnidoscolus* Pohl compreende cerca de 50 a 75 espécies, especificamente distribuída na América Tropical, mais precisamente, no México e Nordeste do Brasil (WEBSTER, 1994). Uma das características diagnósticas do gênero *Cnidoscolus*, é a presença de pelos urticantes em quase todas as suas partes vegetativas e florais, esses quando tocados, provocam dores localizadas ou urticárias (MUENSCHER, 1958; MELO, SALES, 2008).

No Brasil, o gênero é bem representado (aproximadamente 18 espécies), especialmente na região Nordeste (aproximadamente 10 espécies), sendo classificada como um dos prováveis centros de diversidade do gênero (MACBRIDE, 1951). As espécies pertencentes a esse gênero são empregadas com diferentes finalidades, tais como: forrageira, oleífera, laticífera, medicina popular e ornamentais (MELO; SALES, 2008). Apesar do grande número de espécies, o gênero é pouco estudado no país.

A maioria das espécies pertencentes a esse gênero apresentam-se como arbustos ou subarbustos, no entanto, algumas espécies podem atingir estatura de

árvores, seus caules são consistentes e úmidos, com grande capacidade de armazenamento de água (MAHR, 2009). Apresentam em sua anatomia um único involucre floral, glândulas peciolares e seus estiletes são multífidos e filiformes. Em relação a morfologia do pólen, são porados, com três núcleos. Sobre o pecíolo, possuem sete feixes livres em toda sua extensão. Essas características, entre outras, permitiram distinguir este gênero do gênero *Jatropha*, o qual durante muitos anos foram confundidos (MCVAUGH, 1944; MILLER & WEBSTER 1961; PUNT 1962; WEBSTER & RUPERT 1973; NOWICKE 1994).

Na Caatinga, o gênero *Cnidoscolus* é representado por quatro espécies utilizadas na medicina popular: *Cnidoscolus infestus* Pax e K. Hoffm., *Cnidoscolus pubescens* Poh, *Cnidoscolus quercifolius* Pohl e *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur. Essas espécies são citadas no conhecimento popular para o tratamento de diversas doenças, como agente antitumoral e anti-inflamatório, para o sistema genito-urinário, antisséptico, dermatológicas, lesões oftalmológicas, hematomas, fraturas, feridas, verrugas, disenteria, hemorragia, apendicite e reumatismo (AGRA et al., 2008).

3.3 Espécie *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur

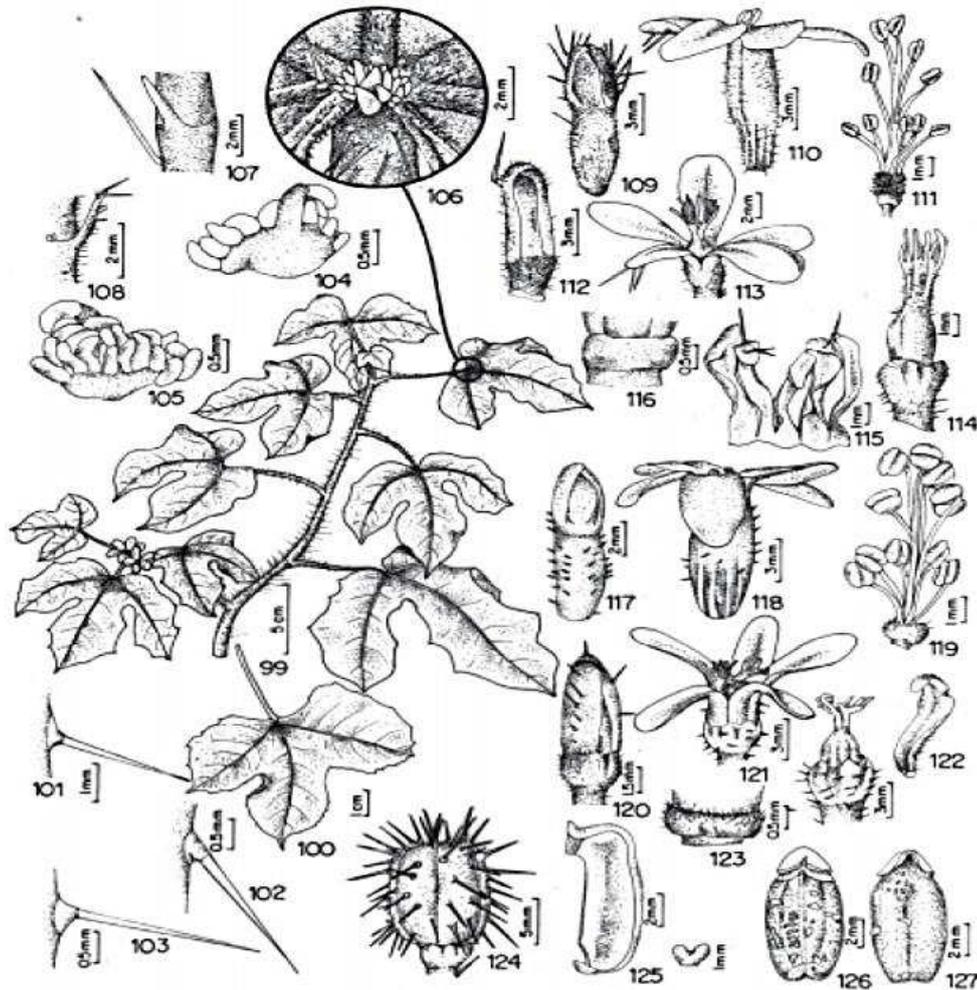
A *Cnidoscolus urens* é a espécie que apresenta maior distribuição dentre as pertencentes ao gênero *Cnidoscolus*, com incidência desde a porção oriental do México até a Argentina (BURGER & HUFT 1995). No Brasil, a espécie é amplamente distribuída, ocorrendo: no Nordeste (AL, BA, PB, PE, PI, RN e SE), Sudeste (ES, MG e RJ) e Centro-Oeste (DF), como apresentado na Figura 1 (MELO; SALES, 2008). É conhecida pela população como cansanção-de-leite, cansanção, arre-diabo, pinha-queimadeira, urtiga, urtiga-de-mamão e urtiga-cansanção, sendo considerada uma planta invasora de pastagens, beira de estrada e terrenos baldios (SÁTIRO; ROQUE, 2008).

Figura 1 - Distribuição geográfica da espécie *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur no Brasil. Áreas coloridas nas cinco regiões (Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul) do Brasil mostram a presença da espécie. Fonte: Cordeiro; Secco, 2012. *Cnidoscolus* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/index?mode=dp&tid=17495>



Esta espécie é um subarbusto ou arbusto com cerca de 0,5-2,5 m de altura (SÁTIRO; ROQUE, 2008). Apresentam caule algumas vezes intumescido na metade superior, tricomas urticantes aciculiformes com 0,8 a 10 mm de comprimento nos ramos, pecíolo, lâmina foliar, inflorescência, perianto e fruto, detalhes graficamente representados na Figura 2 (MELO; SALES, 2008).

Figura 2 - Parâmetros Morfológicos de *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur. 99. Ramo florido; 100. Folha, 101; Tricoma urticante aciculiforme do ramo; 102. Tricoma urticante aciculiforme no pecíolo; 103. Tricoma urticante aciculiforme no fruto; 104. Face externa da estípula; 105. Face interna da estípula 106; Glândulas peciolares; 107. Bráctea em vista lateral; 108. Bráctea em vista frontal; 109. Botão masculino; 110. Flor masculina; 111. Androceu; 112. Botão feminino; 113. Flor feminina; 114. Gineceu; 115. Perianto desprendido da flor feminina; 116. Disco glandular da flor feminina; 117. Botão masculino; 118. Flor masculina; 119. Androceu; 120. Botão feminino; 121. Flor feminina; 122. Desprendimento do perianto da flor feminina; 123. Disco glandular da flor feminina; 124. Fruto; 125. Valva do fruto; 126. Semente face ventral; 127. Semente, face dorsal.



Fonte: MELO; SALES, 2008.

A *Cnidoscolus urens* distingue-se morfológicamente das demais espécies do gênero pelas sépalas livres ou curtamente unidas das flores pistiladas, número de glândulas papiliformes na junção do pecíolo com a lâmina, e pelas flores estaminadas com cálice tubular-hipocrateriforme (MELO; SALES, 2008). Essa espécie é evidenciada durante o ano todo, com maior floração e frutificação nos meses de abril e junho, tal característica atribui a espécie importantes recursos alimentares. Assim, espécies que apresentam longos períodos de floração e frutificação, constituem uma importante fonte de recursos alimentares, pois ofertam estes recursos durante todo

ano, mostrando-se pouco dependentes de precipitações (ARAÚJO; LEAL; QUIRINO, 2012).

3.4 Metabólitos Encontrados na *Cnidocolus urens*

Os metabólitos secundários são compostos químicos de estrutura complexa, produzidos por plantas, e tem função de modular seus próprios metabolismos, variam de acordo com a família, gênero e espécie (FERREIRA; PINTO, 2010). As principais classes de compostos derivados do metabolismo secundário de plantas são: Taninos, Flavonoides, Óleos essenciais, alcaloides, cumarinas, antraquinonas e saponinas (SIMÕES et al., 2010). Devido a sua complexa estrutura química, os metabólitos secundários podem alcançar alvos terapêuticos de doenças humanas (GOMES, 2014). Nesse contexto, diversos compostos com ação específica sobre diversas doenças, podem ser isolados, dentro das classes de metabólitos secundários produzidos pelas plantas.

Em estudos realizados por Dominguez et al. (1992), foi isolado e identificado duas substâncias da *Cnidocolus urens*, pelos métodos de espectrometria de massa, infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^{13}C e ^1H , espectroscopia ultravioleta e cristalografia de raios-X, identificaram a xochitoldione e a isoxochitlolone, Figuras 3 e 4, respectivamente, este último composto apresentou atividade frente *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

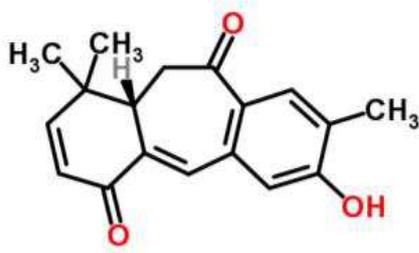


Figura 3 - Estrutura Química da xochitloldione, isolada a partir da *Cnidoscolus urens*. Fonte: SOUZA, 2014.



Figura 4 - Estrutura Química da isoxochitlolone, isolada a partir da *Cnidoscolus urens*. Fonte: SOUZA, 2014.

SOBRINHO et. al. (2012), a partir da extração com metanol das partes aéreas, identificou a presença de antocianinas, derivados de antraquinonas, antraquinonas, cumarinas, flavonoides, taninos, triterpenos, esteroides, mono e diterpenos e xantinas, ainda pelo mesmo método foi possível identificar a presença de derivados de antraquinonas, cumarinas, lignanas, mono e diterpenos, saponinas, triterpenos e esteroides, nas raízes da *Cnidoscolus urens*.

Em pesquisas realizadas por MENEZES et al. (2014), foi isolado uma fração rica em proteínas das folhas de *Cnidoscolus urens*, apresentando grande quantidade de enzimas proteolíticas, as frações foram avaliadas quanto aos efeitos na cascata de coagulação, especificamente a atividade fibrinolítica e pró-coagulante. As frações isoladas mostraram-se promissoras para o uso no tratamento de distúrbios hemorrágicos e trombóticos.

Diante do crescente número de artigos publicados quanto a investigação da atividade biológica exercida pelas plantas, a *Cnidoscolus urens* apresenta-se como uma das espécies mais relata em estudos etnofarmacológicos. Na medicina popular acredita-se que essa espécie possua ação contra cânceres, processos inflamatórios diversos, dores generalizadas, problemas renais, disenteria, hemorragias, apendicite e reumatismo (ALBUQUERQUE, 2006; AGRA et al., 2008).

3.5 Produtos Naturais no Desenvolvimento de Fármacos

O uso dos produtos naturais visando o tratamento e a cura das enfermidades pela humanidade, advém desde de tempos imemoriais. Assim, o consumo de ervas e folhas como recurso terapêutico foi uma das primeiras práticas de uso dos produtos naturais ao longo do desenvolvimento da humanidade. As civilizações Oriental e Ocidental são as que mais apresentaram relatos de uso dos produtos naturais na área da medicina, no controle de praga e em mecanismos de defesa (VIEGAS-JUNIOR et al., 2006).

Dentre os diversos reinos existentes, o reino vegetal é o que mais contribui para produção de substâncias biologicamente ativas. Segundo GOTTLIEB et al. (1996) os metabolitos especiais, hoje conceituados como metabólicos secundários, desempenharam um papel fundamental no desenvolvimento da química orgânica sintética moderna. O desenvolvimento da química orgânica ocorreu paralelamente ao estudo de plantas, especialmente a partir do século XIX, com o registro dos primeiros estudos científicos sobre plantas (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

Até o século XIX, em virtude do desenvolvimento da química analítica, e da existência de uma medicina tradicional fundamentada em farmacopeias estabelecidas ao longo do tempo, a obtenção dos fármacos se dava a partir das plantas medicinais. Nesse contexto, diversos fármacos, ao longo desse século, foram isolados a partir de plantas medicinais, destacando-se: Emetina (1817), Colchicina (1820), Quimina (1820), Salicina (1827), Atropina (1831), Morfina (1832), Quinidina (1833), Codeína (1848) e Efedrina (1887) (FILHO; YUNES, 2001).

Durante o período de 1900 a 1940, os produtos naturais foram considerados sem muito valor para química mundial, no entanto a partir de 1940 os produtos naturais voltaram ao cenário de interesse mundial, pela grande obtenção de antibióticos a partir do isolamento de substâncias advindas fontes naturais, sendo produzindo os seguintes antibióticos: Penicilina (1939), Actinomicina (1942), Estreptomicina (1943), Cloramfenicol (1947), Neomicina (1949), e Eritromicina (1950) e assim, foi considerada a década dos antibióticos (FILHO; YUNES, 2001).

A utilização dos produtos naturais como matéria-prima para a síntese de substâncias bioativas, especificamente para o desenvolvimento de fármacos, tem sido amplamente relatada ao longo dos anos. Um exemplo, foi a enorme contribuição dos trabalhos de Russell E. Marker (1937), em relação a síntese dos hormônios

esteroides, progesterona a partir de saponinas isoladas da planta *Dioscorea macrostachya* Benth, que contém diosgenina (FRAGA et al. 2010).

É evidenciado a relevância dos metabólicos secundários, produzidos pelas plantas, quando, apresentando funções específicas, atingem pontos direcionados no trato terapêutico de enfermidades acometidas nos seres humanos. Com isso, um número de princípios ativos que representam relevância farmacológica, encontrados nos extratos vegetais, é resultante dos metabólitos secundários (FERREIRA; PINTO, 2010).

O interesse nos produtos naturais ou suas estruturas como base para o desenvolvimento de uma entidade farmacêutica final, ainda está bem forte no cenário mundial. Na área do câncer, no período de 1940 a 2014, das 175 moléculas aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA), 131 ou 75%, não são totalmente sintéticas, com 85 ou 49%, sendo advindas de produtos naturais ou derivadas diretamente deles. Em outras áreas os produtos naturais apresentam bastante relevância, como na área anti-infecciosa, sendo dependente de produtos naturais ou de suas estruturas (NEWMAN; CRAGG, 2016).

O Brasil detém uma das maiores biodiversidades do planeta em toda sua extensão territorial, e atrelado a isso, está a forte cultura de utilização de plantas medicinais pela população, sendo caracterizando como um promissor produtor de novos fármacos, diante da infinidade de substâncias que podem se isoladas a partir de suas fontes naturais. Desse modo, o país encontra-se entre os 10 maiores consumidores de fitoterápicos do planeta (OLIVEIRA et al., 2012). No entanto, apenas uma pequena parcela dessa biodiversidade, tem sido pesquisada cientificamente quanto ao seu potencial terapêutico.

Devido a grande importância mundial desempenhada pelos produtos naturais, é notória a necessidade de associação entre a médica tradicional e a medicina alternativa, pois nem sempre é obtido um potencial terapêutico ideal resultante apenas da médica tradicional. Visto isso, vem sendo incentivadas a criação de programas de saúde específicos para cada local, baseados no perfil socioeconômico da região (OLIVEIRA et al., 2012).

Diante da necessidade de garantir a segurança no uso de produtos fitoterápicos e drogas de origem vegetal, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece requisitos e normas direcionados ao registro, produção e

fiscalização. A aprovação depende também da comprovação da ação terapêutica mediante a ensaios não clínicos e clínicos de segurança e eficácia.

Assim, é de grande relevância que o Brasil, diante de seu enorme patrimônio biológico, e seu rico conhecimento na medicina popular, acumulado por gerações, estabeleça programas de políticas públicas eficientes, que visem o desenvolvimento e esclarecimento ao público, englobando a classe médica, sobre o uso e segurança das plantas medicinais, como uma alternativa terapêutico (GOMES, 2014). Outro aspecto de enorme contribuição é que profissionais habilitados, envolvam-se desde o estudo e identificação dos princípios ativos, até o controle de qualidade dos produtos oferecidos a população (FERREIRA; PINTO, 2010).

3. 6 Câncer

O termo “câncer” é empregado de forma genérica, referente ao conjunto de mais de cem doenças, que apresentam em comum, o crescimento celular desordenado e a invasão de tecidos e órgãos vizinhos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Ao longo da história diversos relatos são encontrados sobre a doença, inclusive um dos relatos mais antigo sobre a incidência do câncer, data o ano de 1500 a.C, descrita em papiros como úlcera incurável com resistência a tratamentos. Em 377 a. C., Hipócrates, descreveu enfermidades que apresentavam semelhança aos cânceres de estômago, mama, útero e pele. Assim, o câncer não é uma doença nova, a presença na humanidade é conhecida a milênios (KROEFE, 1946; GARÓFOLO et al., 2004; CARVALHO, 2006).

O câncer era considerado uma doença silenciosa que matava em segredo. Devido à falta de conhecimento sobre a doença, somente no final do século XVIII, o câncer começaria a ser entendido, pela forma como o tumor progrediria levando a destruição dos órgãos. Diante do fato da doença ser extremamente invasiva e progredir rapidamente, atrelado a sua fatalidade, ao câncer foi atribuído um protótipo estigmatizado, pelo qual, a pessoa acometida a essa doença, teria morte precoce e deveria ser afastada do convívio social. Tal rejeição deu-se pela crença do caráter contagioso do câncer, que permaneceu até as duas primeiras décadas do século XX (CARVALHO, 2006).

Atualmente, o termo “câncer” é empregado para referir-se a neoplasia maligna. A neoplasia pode ser definida como sendo, a proliferação desordenada de uma nova massa celular ou tecido do corpo. Uma neoplasia pode ser benigna ou maligna (BOGLIOLO, 1998; MOURA et al., 2001). As células perdem a capacidade de diferenciação, devido a alterações nos genes responsáveis pela regulação do crescimento e diferenciação celular (MESQUITA, 2009).

O câncer é caracterizado pela presença de células heterogêneas, as quais, apresentam mutações e desregulações epigenéticas, sendo capazes de realizarem interações, umas com as outras, e com o microambiente ao seu redor. Tais interações, provocam alterações morfológicas, funcionais e moleculares (HANAHAN & WEINBERG, 2011; SAMPAIO, 2017). As principais características do câncer, estão relacionadas a autossuficiência nos sinais de crescimento, insensibilidade a sinais inibitórios de crescimento e apoptose celular, indução da angiogênese, ativação da invasão e metástase, reprogramação do metabolismo energético e a evasão da destruição imunológica (HANAHAN & WEINBERG, 2011).

Diversos fatores podem ser responsáveis para o desenvolvimento do câncer, sendo externos ou internos ao organismo, ou ainda podem estar inter-relacionados. Os fatores externos, referem-se ao meio ambiente e aos hábitos, relacionados a um ambiente social e cultural. Já os fatores internos, estão ligadas em sua grande maioria, a fatores geneticamente pré-definidos, ou seja, a capacidade do organismo em responder as agressões externas (MARTORANO, 2012). Estes fatores, interagem de várias formas, e assim, podem aumentar a probabilidade de transformações das células normais para células de caráter maligno. Dentre os casos de câncer, cerca de 80%, são associados aos fatores de risco, encontrados no meio ambiente (INCA, 2011). De modo geral, relaciona-se, como ambiente, o meio em geral (água, terra e ar), o ambiente ocupacional (quando a insalubridade), ambiente social e cultural (estilo de vida e hábitos) e o ambiente de consumo (Relacionado a alimentação e medicamentos) (MARTORANO, 2012; INCA, 2011).

3.6.1 Proliferação Celular e Câncer

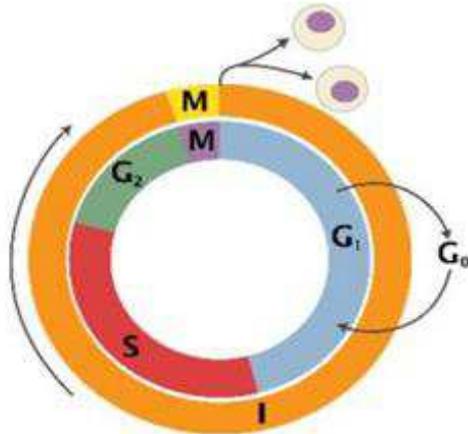
Existem diversos mecanismos envolvidos na evolução de uma célula normal para uma célula potencialmente maligna, em sua grande maioria, interferem na

divisão celular. Desse modo, o conhecimento do ciclo celular e de seus mecanismos, é essencial para a compreensão da etimologia do câncer (ALMEIDA et al., 2005).

O ciclo celular consiste em uma série de eventos responsáveis pela duplicação do DNA e divisão nuclear (mitose), resultando na produção de uma nova célula. Antes de iniciar o ciclo celular as células encontram-se em repouso, conhecida como fase G^0 , nessa fase as células são estimuladas por fatores de crescimento, hormônios, esteroides e citocinas, sintetizados pela própria célula. Tais fatores ligam-se aos receptores da membrana, desencadeando uma série de eventos químicos e fisiológicos, ocorrendo de modo sucessivo e ordenado dentro de cada fase de divisão do ciclo celular (G^1 , S e G^2) (BELIZÁRIO, 2002). A Figura 5 mostra as fases do ciclo celular.

Após a saída da fase G^0 , o ciclo celular inicia-se com a fase G^1 , nessa etapa ocorre o aumento celular e a duplicação de organelas presentes no citoplasma. Em seguida na fase S, ocorre a replicação do DNA. Ao fim desta, a célula entra na fase G^2 , sendo sintetizada as organelas e preparando a célula para a fase M (mitose). Na fase M, ocorre a divisão propriamente dita da célula, onde a célula mãe divide-se ao meio, originando duas células filhas (RIVOIRE et al., 2001).

Figura 5 - Fases do ciclo celular. A G^0 é a fase repouso das células, antes de iniciar o ciclo celular, nessa fase não ocorre a proliferação tecidual. A fase G^1 , representa o início do ciclo celular, ocorre a síntese do RNA e proteínas necessárias para formação do DNA. A fase S é marcada pela etapa de síntese do DNA e duplicação do material genético. Na fase G^2 ocorre a síntese de RNA e de proteínas. A fase M é a última fase do ciclo, ocorre a separação dos cromossomos e duplicação das células. Disponível em: <http://stopcancerportugal.com/2016/06/30/seja-curioso-quimioterapia-nas-celulas-tumorais/>.



O Ciclo celular é positivamente regulado e controlado por vias sinalizadoras. A progressão de uma fase para a outra do ciclo, é determinada por uma série de proteínas chamadas “quinases dependentes de ciclinas” (CDKs). Durante as fases do ciclo há o aumento dos níveis de ciclinas, determinando o momento de ligação às CDKs. Após a formação do complexo CDKs-ciclinas, tais enzimas promovem a fosforilação de uma série de substratos-chave, levando à progressão para a fase seguinte do ciclo (WAR, 2002). Na Figura 6 estão esquematizados o processo de formação do complexo CDKs-ciclinas, com os respectivos reguladores do ciclo celular.

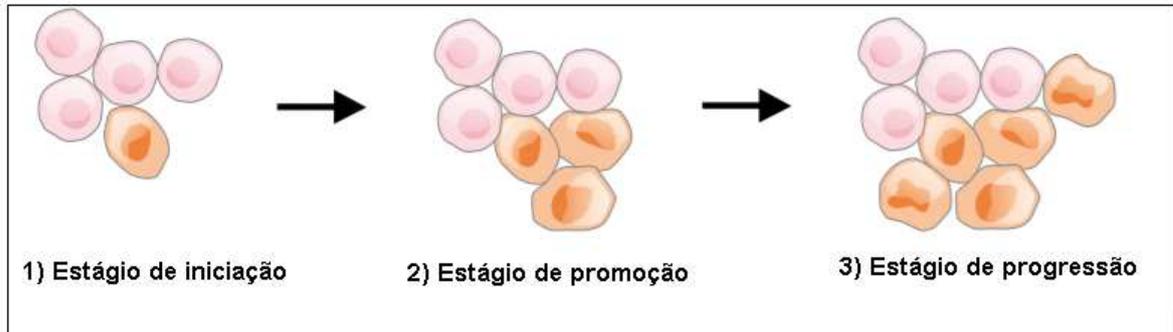
Do mesmo modo que o ciclo celular tem processos que promovem a iniciação da replicação, é necessário sistemas que regulem tais processos, assim, a célula conta com um grupo de inibidores que atuam impedindo ou regulando de forma negativa as vias de progressão do ciclo celular. Os inibidores de CDKs são proteínas que atuam inibindo o ciclo celular, bloqueando o ciclo na fase G^1 que ocorre em células normais que sofrem dano no DNA (THOMAZI, 2010). Distingue-se duas famílias de inibidores (CKIs), baseados no seu mecanismo de ação, homologia e CDK- alvo, Família 1 que engloba as proteínas p21, p27 e p57, e a Família 2 com as proteínas p15, p16, p18 e p19 (WAR, 2002).

desempenhada por genes específicos, envolvidos na regulação direta ou indireta da proliferação ou a sobrevivência das células, conhecidos como proto-oncogenes e genes supressores de tumor (AMENDOLA; VIEIRA, 2000).

Os proto-oncogenes atuam no sentido de estimular a divisão celular, são ativos na fase embrionária e inativos nas células adultas, esses genes quando sofrem mutação transformando-se em oncogenes, permanecendo ativos, gerando amplificação dos sinais de crescimento, e são responsáveis pela marginalização de células normais. Os oncogenes são geneticamente dominantes, a mutação em uma cópia de proto-oncogene é suficiente para produzir o fenótipo. Em relação aos genes supressores de tumor, trata-se de genes que atuam regulando os sinais de crescimento celular, permitindo o reparo do DNA, tais genes exercem função no controle da parada do ciclo celular, e podem induzir a morte celular programada (WAR, 2002; MARTINEZ et. al., 2006).

A carcinogênese é um processo lento, podendo levar anos até a instalação e marginalização das células normais, e conseqüentemente a formação de um tumor clinicamente detectável (INCA, 2011). Tal processo é dividido em três fases, como apresentado na Figura 7. A primeira fase consiste na iniciação, as células sofrem ação dos agentes carcinogênicos, conhecidos como oncoiniciadores, capazes de promover alterações em genes antes inalterados. A fase seguinte a iniciação é conhecida como promoção, nessa fase as células alteradas, sofrem efeito prolongado do agente cancerígeno, induzindo a expressão de proto-oncogenes. As células geneticamente modificadas, ou iniciadas, são transformadas em malignas, sendo um processo lento e gradual. Por fim, o último estágio da carcinogênese é denominado de progressão, é caracterizado pela multiplicação descontrolada, sendo um processo irreversível. Nessa etapa, o tumor maligno já está estalado, com capacidade de evolução até surgimento das primeiras manifestações clínicas (CHABNER & LONGO, 1996; SPENCE & JONHSTON, 2001; KUMAR et al., 2004; JUNG et al., 2006).

Figura 7 - Fases do processo da carcinogênese. 1) Estágio de iniciação, nessa fase os genes sofrem ação dos agentes cancerígenos. 2) Estágio de promoção, os agentes oncopromotores atuam na célula já alterada. 3) Estágio de progressão, esse estágio é caracterizado pela multiplicação desordenada e irreversível da célula.

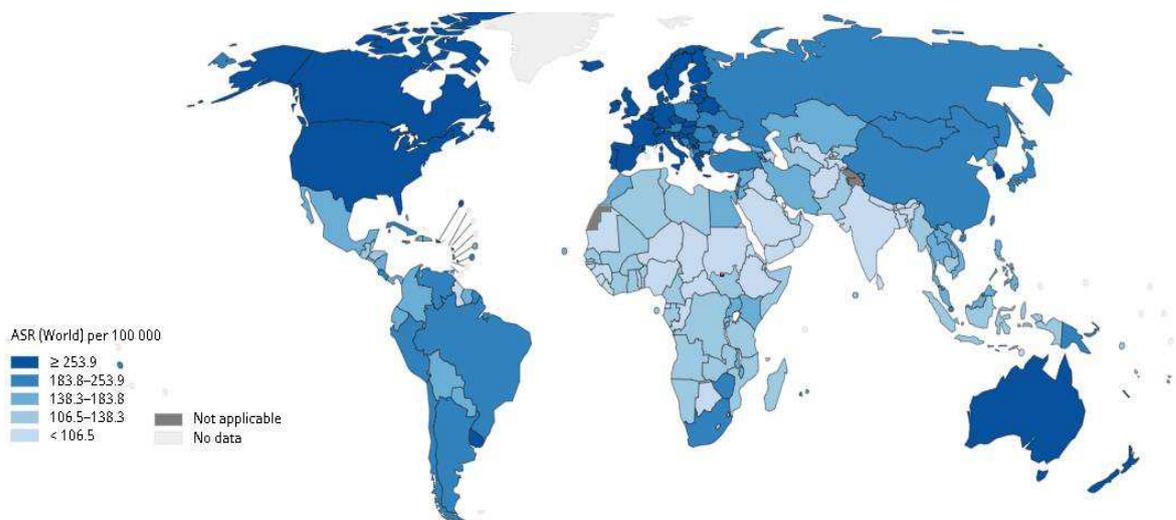


Fonte: INCA, 2011.

3.7 Incidência do Câncer no Mundo

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018. Estima-se que cerca de 1 em 6 mortes é decorrente do câncer, com maior incidência em países de baixa e média renda, graficamente representado na Figura 8 (WHOSIS, 2018).

Figura 8 - Estimativa das taxas de incidência de câncer padronizadas para 2018. Foram considerados todos os tipos de cânceres, que atingem ambos os sexos, sem restrição quanto a faixa etária.

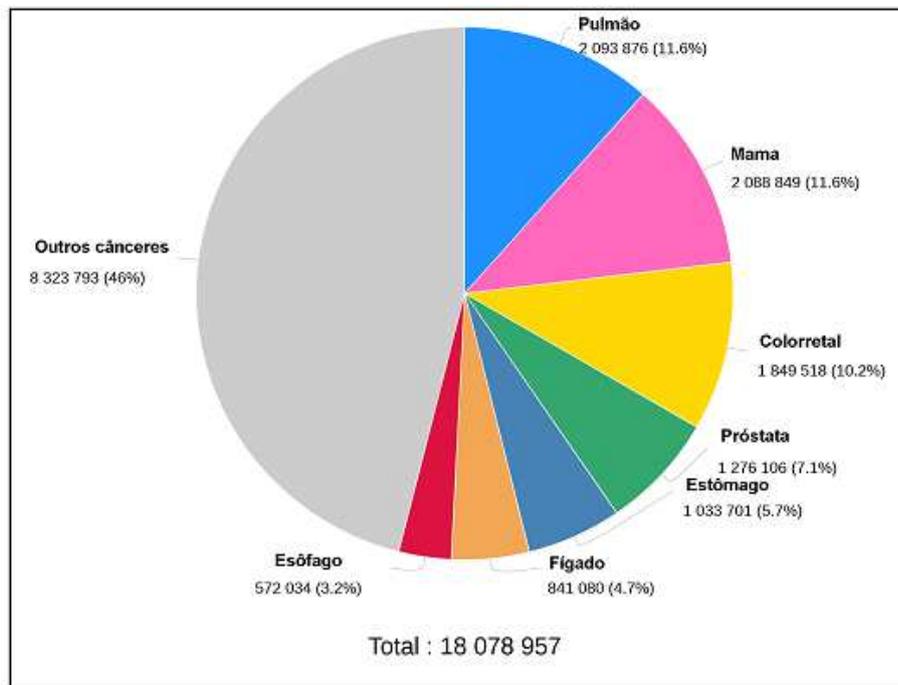


Fonte: GLOBOCAN, 2018

O aumento da carga de câncer é decorrente de vários fatores, incluindo fatores relacionados ao crescimento populacional e envelhecimento, bem como, a causas ligadas ao desenvolvimento econômico e social. Estima-se que metade das mortes por câncer em ambos os sexos, ocorrerá na Ásia, em partes porque a região concentra quase 60% da população global. A Europa detém 23,4% dos casos globais de câncer, com 20,3% dos casos de morte decorrente da doença. Nas Américas a porcentagem de incidência dos casos é de 21,0% e com 14,4% das mortes decorrente de câncer no mundo (IARC, 2018).

O câncer de pulmão e de mama feminino, apresentam-se como os principais tipos de câncer de maior incidência em termos de novos casos diagnosticados a cada ano. Para cada um desses tipos, aproximadamente 2,1 milhões de casos foram diagnosticados em 2018, com cerca de 11,6% da carga total de incidência do câncer no mundo. O câncer colorretal é o terceiro mais diagnosticado, com 1,8 milhões de casos, o quarto tipo de câncer mais evidenciado é o de próstata, com 1,3 milhões de casos, o quinto e último tipo com maior evidência a nível mundial é o câncer de estômago, com cerca de 1,0 milhão dos casos e um percentual de 5,7% do total, Figura 9 (IARC, 2018).

Figura 9 - Número de novos casos de câncer em 2018, que atingem ambos os sexos, em todas as idades.



Fonte: Adaptado GLOBOCAN, 2018

Os principais fatores de risco para o câncer em todo mundo estão relacionados ao consumo de álcool, tabaco e inatividade física, sendo também considerados os quatro fatores de risco para outras doenças não-transmissíveis. Outros fatores de risco para o desenvolvimento da doença, relaciona-se com as infecções crônicas, as quais, apresentam grade relevância em países de baixa e média renda. Em 2012, aproximadamente 15% dos casos diagnosticados, foram decorrentes das infecções carcinogênicas, entre elas *Helicobacter pylori*, papilomavírus humano (HPV), os vírus da Hepatite B e Hepatite C, bem como o vírus Epstein-Barr (OPAS, 2018).

Diversos estudos mostram que os custos com a assistência oncológica têm aumentado considerável nas últimas décadas. Segundo a OMS só em 2010 o custo econômico do câncer foi estimado em 1,16 trilhão de dólares no mundo. Os custos com o câncer para sociedade são divididos em diretos e indiretos, os diretos estão relacionados com o custo utilizados para prevenção e tratamento, já os indiretos referem-se aos recursos relativos a anos de vida perdidos por incapacidade para o

trabalho, incapacidade permanente e obtido antes dos 65 anos. Em diversos países tais custos com o câncer representam cerca de 70% a 85% dos custos totais. No Canadá por exemplo, os custos indiretos são estimados em 83% do total, enquanto nos Estados Unidos esses custos representam 71% (ANS, 2016).

A Organização Mundial da Saúde prever em 2030, um aumento significativo no quadro estatístico do câncer no mundo, cerca de 27 milhões de novos casos incidentes, e 17 milhões de mortes pela doença, com 75 milhões de pessoas vivendo com a câncer (INCA/MS 2011).

3.7.1 Incidência de Câncer no Brasil

No Brasil, estima-se para 2018-2019, que cerca de 600 mil novos casos de câncer serão evidenciados no país, para cada ano. Com exceção do câncer de pele não melanoma, com a incidência de cerca de 170 mil novos casos. Tais estimativas refletem diretamente o perfil do país, que possui os cânceres de próstata, pulmão, mama feminino e reto como sendo os de maior incidência, porém, no país são evidenciadas altas taxas também para os cânceres do colo do útero, estômago e esôfago (INCA, 2018).

A incidência do câncer no país tem aumentado consideravelmente ao longo do tempo e, alguns tipos de cânceres estão associados ao status social (ROSAS et al., 2013). Os cânceres de mama feminino, próstata, pulmão, colón e reto, estão relacionados a urbanização, e são mais evidenciados nos países desenvolvidos. Enquanto, os tipos de cânceres associados a infecções, como o de colo de útero, estômago, esôfago e fígado, apresentam maiores taxas de ocorrência em países de baixo e médio desenvolvimento, porém, mesmo com baixas taxas de incidência, a mortalidade representa cerca de 80% dos casos de óbitos por cânceres no mundo (FERLAY et al., 2013).

As estimativas apresentadas para o Brasil, assemelham-se as previstas para países desenvolvidos, contudo, ainda é evidenciado um grande número de cânceres, associados a infecções, sendo característicos de países em desenvolvimento. Esses dados representam um reflexo das desigualdades regionais existentes no país, associadas as condições socioeconômicas, ao acesso a serviços de saúde para diagnóstico rápido e tratamento adequado (SANTOS, 2018).

Dentre os tipos de câncer existentes no país, o câncer de próstata em homens com cerca de 68 mil novos casos, e o de mama em mulheres, apresentando cerca de 60 mil casos, serão os dois tipos de câncer com maior frequência e números de casos. Os tipos de câncer de maior incidência nos homens serão próstata (31,7%), pulmão (8,7%), intestino (8,1%), estômago (6,3%) e cavidade oral (5,2%). Nas mulheres, os cânceres de mama (29,5%), intestino (9,4%), colo do útero (8,1%), pulmão (6,2%) e tireoide (4,0%) estarão entre os principais (INCA/MS, 2018).

Em relação a incidência da doença por Região geográfica, nota-se uma grande variação na magnitude e nos tipos de câncer entre as diferentes regiões do país. As regiões Sul e Sudeste, concentram 70% da incidência de novos casos, com metade dessa incidência, sendo predominante na Região Sudeste. Nessas Regiões os tipos predominantes são os cânceres de próstata, mama feminino, pulmão e intestino. A Região Centro-Oeste apresenta em seu perfil os cânceres de colo de útero e estômago, como sendo os de maior predominância em números de casos. Nas Regiões Norte e Nordeste, apesar de apresentarem os cânceres de próstata e de mama, como sendo os de maior ocorrência, o aumento nos casos de cânceres de colo de útero e estômago demonstrou forte impacto nessa população. Na Região Norte as taxas de cânceres de mama e colo de útero se equivalem entre as mulheres, dados distribuídos na Tabela 1 (INCA, 2018).

Tabela 1 - Estimativas para 2018 do número de novos casos de câncer, por região.

Localização Primária	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sul	Sudeste
Próstata	2.700	15.820	5.330	14.290	30.080
Mama Feminina	1.730	11.860	4.200	11.030	30.880
Colo de Útero	2.300	6.030	1.490	2.130	4.420
Traqueia, Brônquio e Pulmão	1.340	5.230	2.300	8.460	13.940
Cólon e Reto	1.110	5.060	2.820	6.730	20.640
Estômago	1.630	5.250	1.460	3.870	9.080
Cavidade Oral	500	2.810	1.030	2.820	7.540
Laringe	340	1.770	520	1.760	3.280
Bexiga	270	1.470	640	2.040	5.060
Esôfago	330	2.110	740	3.260	4.350
Ovário	270	1.480	470	1.080	2.850
Linfoma de Hodgkin	180	510	170	560	1.110
Linfoma não Hodgkin	430	1.880	760	1.970	5.140
Glândula Tireoide	350	2.720	550	1.120	4.870
Sistema Nervoso Central	540	2.390	860	2.790	4.740
Leucemias	700	2.470	710	2.260	4.660
Corpo do Útero	200	1.470	460	1.070	3.400
Pele Melanoma	170	730	450	2.00	2.910
Outras Localizações	3.600	17.650	5.620	18.170	32.670
Subtotal	18.690	88.710	30.580	87.410	191.620
Pele não Melanoma	4.670	28.570	13.030	38.320	80.990
Total	23.360	117.280	43.610	125.730	272.610

Fonte: INCA, 2018.

3.7.2 Gênero *Cnidocolus* e Câncer

O Brasil é um país que apresenta uma forte cultura do uso de fitoterápicos para cura e tratamento de diversas doenças, essa prática é repetida a gerações, sendo o conhecimento sobre plantas, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL et al., 2002). O uso de plantas como fonte de tratamento das enfermidades, acometidas pela população, está associado a comprovação de sua eficácia, com o uso popular (SILVA, 2015). Nesse contexto, o uso de plantas medicinais pela população, também se aplicou ao tratamento do câncer.

Diversas espécies pertencentes ao gênero *Cnidocolus*, são relatadas em levantamentos etnofarmacológicos, quanto ao seu uso pela população para o tratamento do câncer. Dentre as espécies pertencentes a esse gênero, a *Cnidocolus obtusifolius Pohl ex Baill* e a *Cnidocolus urnes (L.) Arthur*, foram as mais citadas pela população, como um recurso alternativo para o tratamento do câncer, a forma de uso

dessas espécies, é feita a partir de chás de partes específicas para cada espécie (ALBUQUERQUE et al., 2011).

As espécies pertencentes a esse gênero constituem uma importante fonte de moléculas com atividade terapêutica, sendo evidenciados diversos metabólitos secundários em triagens fitoquímicas realizadas para as espécies, *Cnidoscopus infestus Pax e K. Hoffm.*, *Cnidoscopus pubescens Pohl*, *Cnidoscopus quercifolius Pohl* e *Cnidoscopus urens (L.) Arthur*, tais como, Antocianinas, Derivados antracênicos Antraquinonas, Cumarinas, Flavonoides e Taninos, Liganas, Mono e diterpenos, Naftoquinonas, Saponinas, Triterpenos e esteróides, Xantinas (SOBRINHO et al., 2012).

Dentro das classes de metabólitos mencionados acima, diversos compostos podem ser isolados, e avaliados quanto ao seu possível uso para o desenvolvimento de um fármaco efetivo no combate ao câncer.

3.7.3 Antineoplásicos de Origem Vegetal

As plantas possuem uma longa história, quanto ao seu uso, no tratamento do câncer (HARTWELL, 1982). Os compostos derivados de plantas, apresentam-se, como uma fonte de moléculas clinicamente úteis para o tratamento e combate ao câncer, além disto, possuem diversos mecanismos de atuação (GRAGG; NEWMAN, 2005). A complexidade estrutural dos constituintes químicos produzidos por plantas, confere a estas moléculas, mecanismos de ação inovadores, e em alguns casos, uma única molécula é capaz de atuar em vários alvos diferentes, contribuindo para regressão do tumor, com menor ocorrência de efeitos adversos e em menor tempo (RANJAN et al., 2015; SHANMUGAM et al., 2016).

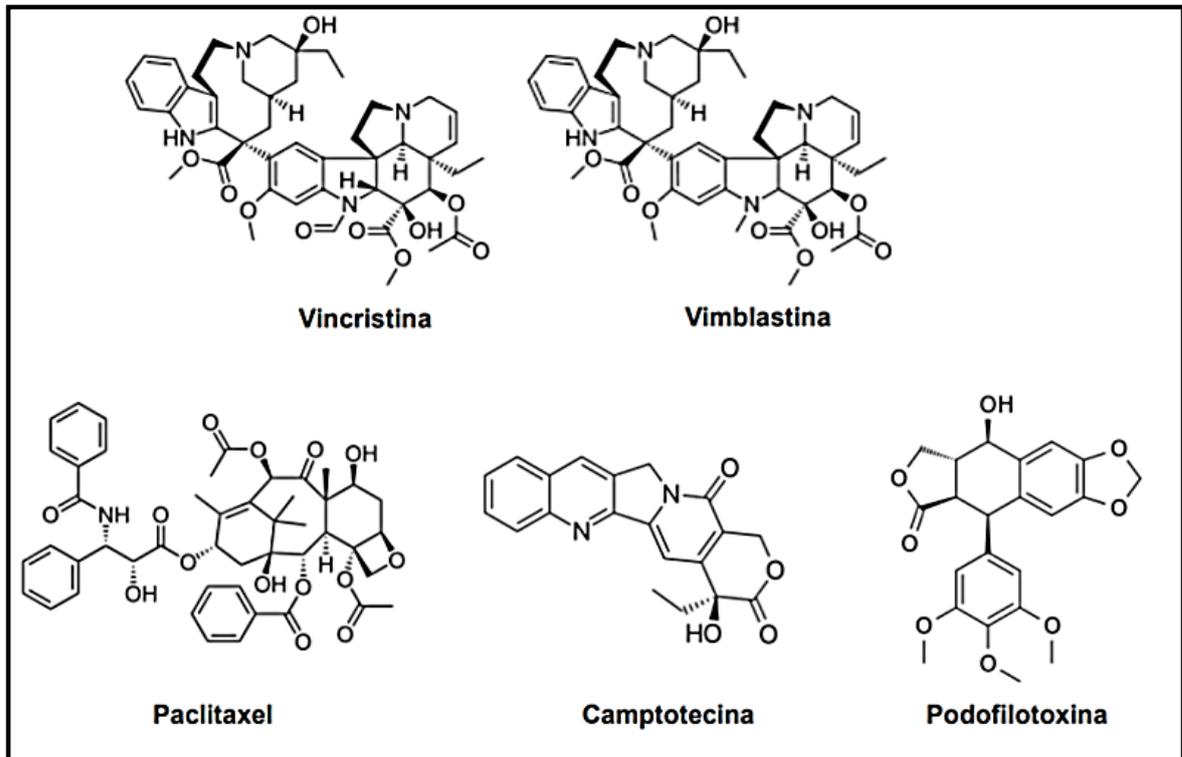
Os primeiros agentes antineoplásicos obtidos de produtos naturais a serem utilizados clinicamente, foram os alcaloides da vinca, isolados a partir da *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), a vinblastina e vincristina. A *Catharanthus roseus*, foi bastante utilizada na medicina popular para o tratamento de Diabetes, sendo os compostos, vinblastina e vincristina, descobertos durante investigações, sobre plantas com potencial hipoglicemiantes (CRAGG; NEWMAN, 2009). A partir da descoberta destes compostos, e seu potencial de ação, no combate ao câncer, a vincristina e vinblastina, passaram a ser utilizadas no tratamento de diversos cânceres, tais como câncer de

pulmão, linfomas, leucemias, câncer de mama, câncer testicular e Sarcoma de Kaposi (LU et al., 2012).

Outros compostos que apresentam relevância no tratamento do câncer, são os compostos derivados da epipodofilotoxina, o etoposídeo e teniposídeo, são derivados semissintéticos que atuam por inibição das Topoisomerasas II, estabilizando o complexo enzima-DNA e impedindo a replicação (PRATT et al., 1994; HUSSON e BECKER, 1995). A epipodofilotoxina é um isômero da podofiloxina, isolado como antitumoral das raízes das espécies do gênero *Podophyllum* (CRAGG; NEWMAN, 2009). O etoposídeo é indicado, principalmente, para cânceres dos brônquios e tumores embrionários de testículos, já o teniposídeo, é utilizado pra alguns linfomas e tumores cerebrais (SCHENKEL et al., 2010).

Os taxanos também constituem um importante grupo de agentes quimioterápicos derivados de espécies do gênero *Taxus*. O principal representante desse grupo é o paclitaxel (Taxol®), é utilizado no tratamento do câncer de mama, de ovário e pulmão. O docetaxel (Taxotere®), é um derivado semissintético do paclitaxel, é utilizado principalmente no tratamento do câncer de mama (CRAGG; NEWMAN, 2009; OLIVEIRA, 2017). Além destes, os compostos derivados da camptotecina, obtido da espécie *Camptotheca acuminata*, são utilizados no tratamento de linfomas, câncer testicular e de colorretal. Os derivados semissintéticos da camptotecina, o topotecano e irinotecano, atuam como inibidores das Topoisomerasas do tipo I (PRAKASH et al., 2013). A Figura 10 mostra a estrutura química dos principais agentes antineoplásicos, obtidos a partir de produtos naturais.

Figura 10 - Estrutura química das substâncias obtidas de produtos naturais, utilizados como antineoplásicos.



Fonte: OLIVEIRA JR, 2017.

3.8 Considerações sobre a Atividade Antibacteriana

Ao longo das últimas décadas, desde do processo de descoberta das penicilinas naturais e, com o avanço da indústria farmacêutica, diversos antibióticos foram produzidos e, com amplo espectro de ação. No entanto, o uso indiscriminado de antibióticos, desencadeia a resistência bacteriana e assim, limita as opções terapêuticas dos processos infecciosos (CUNICO et al., 2004). A emergência de patógenos resistentes, é um fator limitante ao desenvolvimento de novos antibióticos (MOELLERING Jr, 2000). Diante do fator de resistência dos microrganismos, é necessário o desenvolvimento de antibióticos que sejam cada vez mais eficazes, uma vez que, qualquer novo antibiótico, vem acompanhado pela resistência dos microrganismos (ANTUNES et al., 2006).

As propriedades antimicrobianas de substâncias encontradas em extratos e óleos essenciais advindos de plantas, a partir de seu metabolismo, tem despertado

interesse de pesquisadores, em relação aos mecanismos de ação e o possível uso para o desenvolvimento de antibióticos (JANSEN, SCHEFFER, BAERHEIM, 1987).

O interesse dos pesquisadores pelas plantas é devido a grande variedade de substâncias de natureza química, sintetizadas a partir de seu metabolismo, as quais, podem servir de base para produção de fármacos eficientes. Dentro das classes de metabolitos secundários produzidos por plantas, representam grande interesse compostos, tais como, terpenoides, alcaloides, lecitinas, polipeptídios, substâncias fenólicas e polifenóis (RESCHKE; MARQUES; MAYWORM, 2007; HAIDA et al., 2007).

Os compostos isolados a partir de plantas apresentem estruturas diferentes dos antibióticos obtidos a partir de bactérias, leveduras e de fungos (ARAUJO, 2011). Desse modo, podem atuar na inativação dos processos enzimáticos, em nível nuclear ou ribossomal, provocando alterações nas membranas, ou ainda, interferindo no metabolismo secundário (LIMA, 2001).

Dentre as espécies de bactérias com maior relevância em processos tóxicos e infecciosos destacam-se a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (LEVY et al., 2004).

A *Staphylococcus aureus* é uma espécie bacteriana Gram-positivo, pertencente à família Micrococaceae, geralmente envolvida em processos infecciosos humanos, é encontrada, nas fossas nasais, virilha e axilas, como microbiota normal (SARAIVA, 2012). É responsável por causar diferentes tipos de infecções, em sua grande maioria infecções ligeiras da pele e tecidos moles, porém, podem ser responsáveis por graves infecções de pneumonia, sepses e endocardites (MENEGOTTO e PICOLI, 2007).

A *Escherichia coli* é uma espécie de bactéria Gram-negativa, que pertence à família Enterobacteriaceae, presente na microbiota intestinal de animais de sangue quente, torna-se patogênica em localizações extra intestinais ou mesmo intestinais (SARTORI, 2005; SARAIVA, 2012).

Nesse sentido, é notório a importância de pesquisas para o desenvolvimento de antibióticos eficientes, a partir do isolamento de compostos, que atinjam, a nível celular, alvos diferentes dos alcançados, pelos antibióticos conhecidos, que sejam ativos contra patógenos resistentes (DUARTE, 2006).

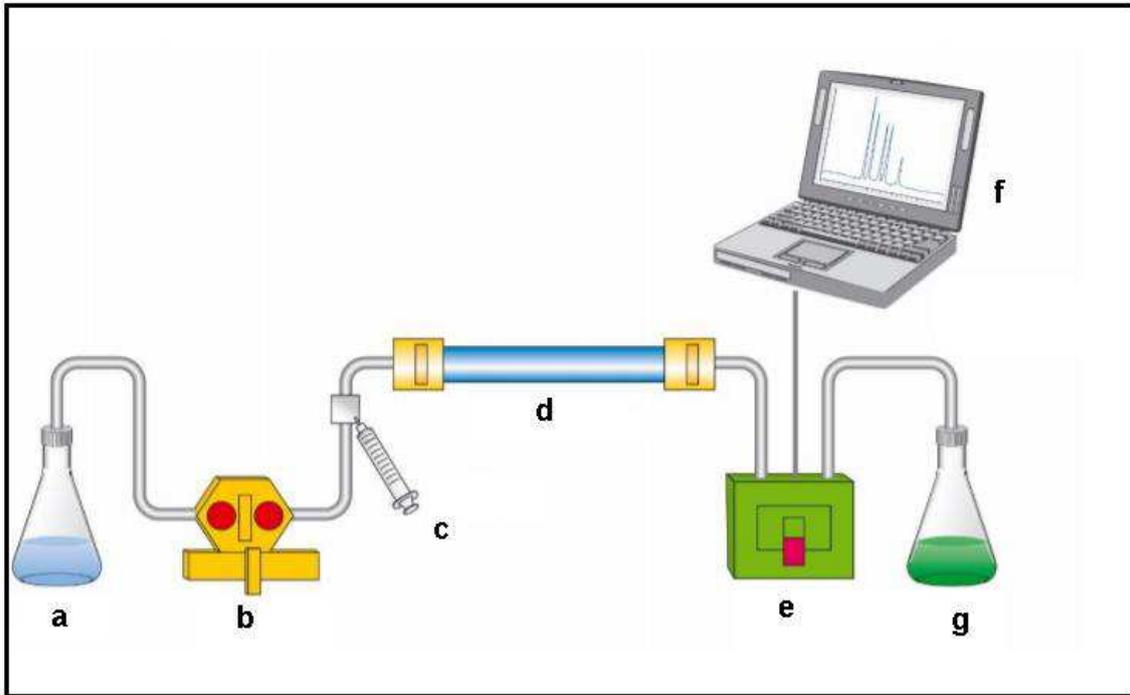
3.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia é um método físico-químico de separação de moléculas, em misturas complexas, realizada através da distribuição dos componentes entre duas fases. Uma das fases permanece estacionária (fase estacionária) e a outra é chamada de fase móvel. A partir da passagem da fase móvel pela fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, e conseqüentemente, cada um dos componentes é seletivamente retido, resultando, na migração diferencial destes componentes (COLLINS, 1997). Os processos cromatográficos podem ser conduzidos por diversos métodos, variando a fase móvel e estacionária (LAMARCA, 2015). Nesse contexto, destaca-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sendo o método cromatográfico utilizado com maior frequência para separação de moléculas de interesse em diversas áreas.

O processo de separação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), pode ser dividido em dois grupos, fase normal (CLEA-FN), e fase reversa (CLAE-FR) (SNYDE et al., 1997; CLEMENTINO, 2014). Na fase normal (CLEA-FN), a fase móvel apresenta caráter hidrofóbico, com menor polaridade, enquanto que a fase estacionária, apresenta caráter hidrofílico (polar). Na separação por fase reversa (CLAE-FR), a fase móvel terá caráter hidrofílico, enquanto que a fase estacionária, apresenta caráter hidrofóbico. Essa mudança de polaridade da fase estacionária ocorre pela composição dos grupos funcionais que compõe as colunas cromatográficas (LAMARCA, 2015). A fase estacionária comumente utilizadas na CLAE-FR é a octadecildimetil (C18) com sílica como suporte sólido.

Um sistema de CLAE é composto por um sistema de reservatório de solvente, uma bomba, um injetor de amostra, uma coluna, um detector e um computador com software, para armazenamento de dados, como esquematizado na Figura 11 (CLEMENTINO, 2014).

Figura 11 - Equipamento básico da CLAE. a) reservatório de solvente; b) bomba de alta pressão; c) válvula de injeção; d) coluna; e) detector; f) registrador; g) descarte.



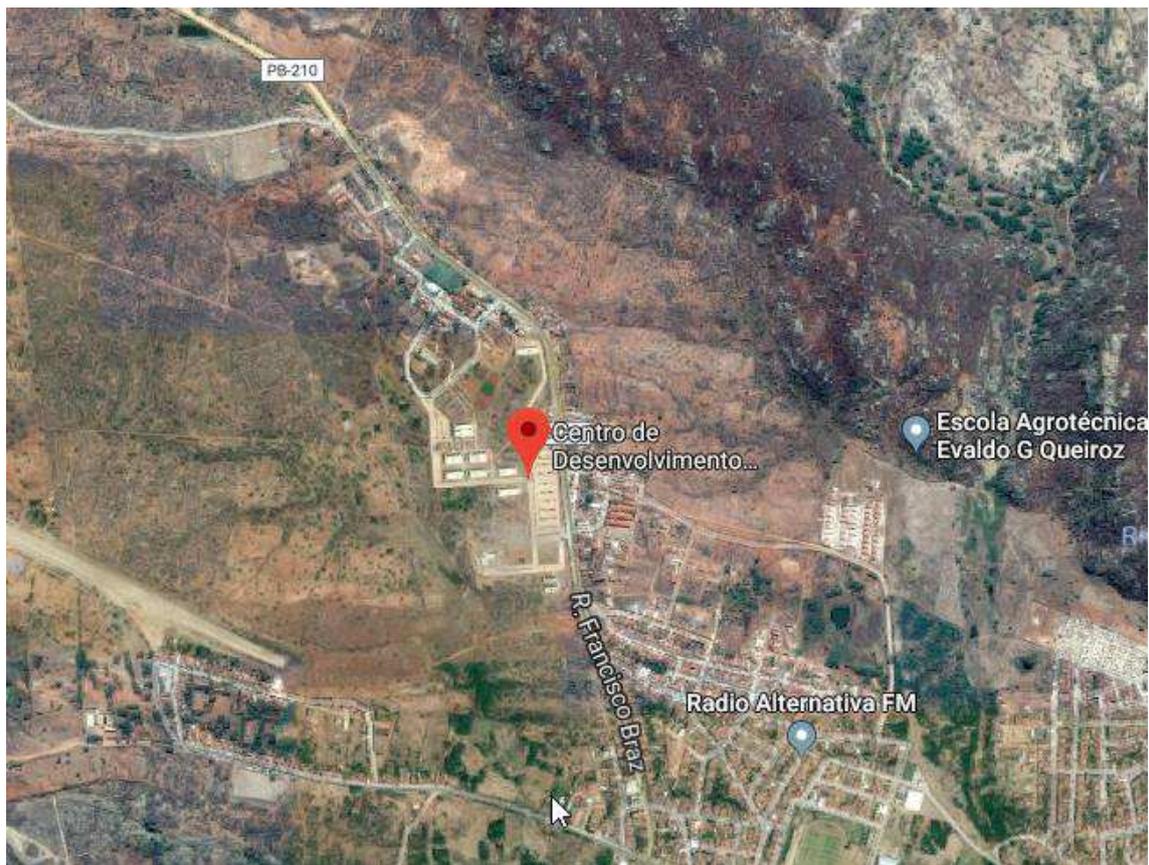
Fonte: adaptado de MIGUES, 2018

4 MATERIAS E METODOS

4.1 Local da Realização do Trabalho

O presente experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos (UAEB), sob as seguintes coordenadas de latitude e longitude: -7.660452455692277 e -36.893180150389135, respectivamente, localizado no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) da Universidade Federal de Campina Grande, na cidade de Sumé-Paraíba. A Figura 12 mostra a localização área do CDSA.

Figura 12: Localização aérea do CDSA.

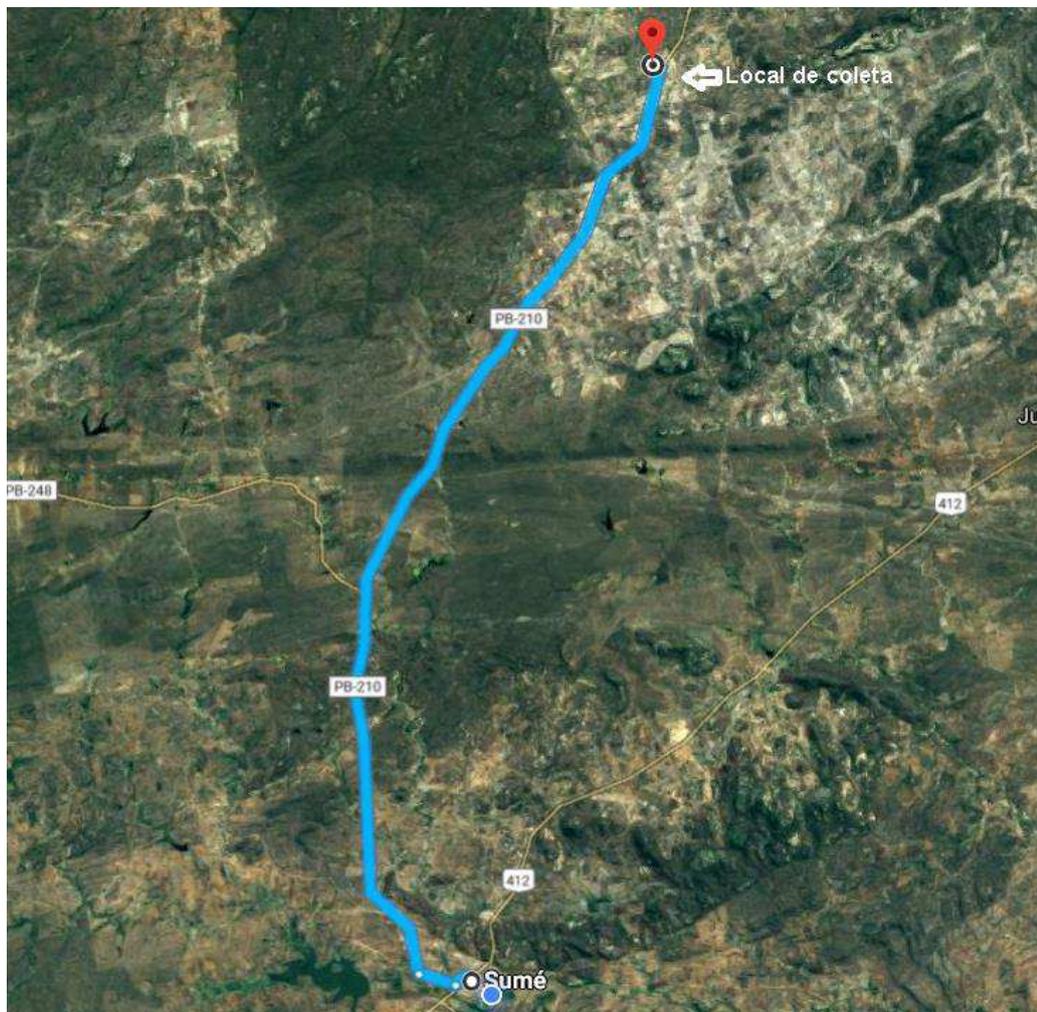


Fonte: GOOGLE MAPS, 2018.

4.2 Matéria Prima

O material vegetal foi coletado no Sítio Serra Pelada, sob as coordenadas geográficas de latitude e longitude: -7,474655, -36,839302, respectivamente, localizado a 25,9 Km da cidade de Sumé, Paraíba. Na Figura 13 está representado, o local de coleta do material vegetal.

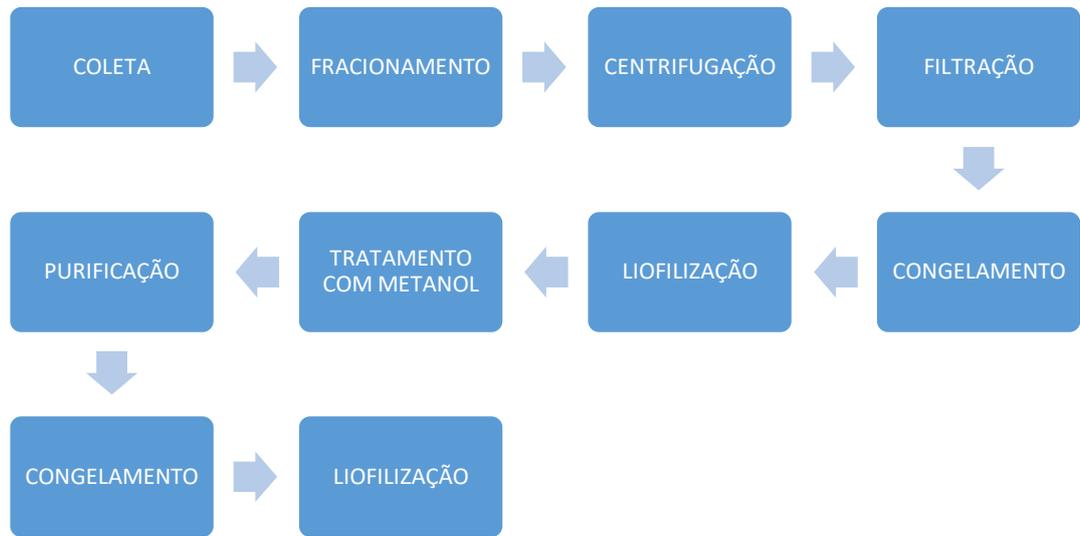
Figura 13: Localização do Sítio Serra Pelada em relação a cidade de Sumé.



Fonte: GOOGLE MAPS, 2018.

O fluxograma da Figura 14 mostra a sequência de etapas que envolveram a preparação do material vegetal desde a coleta até a realização dos testes da atividade antibiótica e antiproliferativa tumoral *in vitro*, após a purificação do mesmo.

Figura 14 - Fluxograma do processo de preparação do material vegetal da *Cnidoscolus urens*.

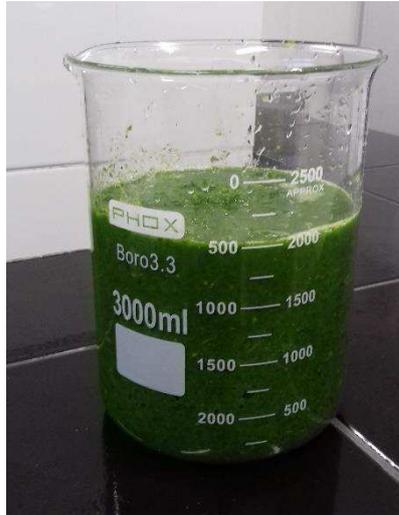


Fonte: Autor, 2018.

4.3 Tratamento da Matéria Prima

O objetivo desta etapa foi promover o fracionamento da planta, com a finalidade de reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos de pequenas dimensões, assim, preparando o material para a etapa seguinte, a extração e, conseqüentemente, o arraste dos metabolitos secundários presentes na *Cnidoscolus urens* (FALKENBEG, 2009). Nessa etapa o material vegetal foi submetido ao tratamento com etanol a 46% e fracionado em um liquidificador por 5 minutos, o processo foi repetido diversas vezes, até que todo o material vegetal fosse fracionado e concentrado. A Figura 16, mostra o extrato etanólico bruto, resultante do processo de fracionamento exaustivo.

Figura 15 - Extrato etanólico bruto das partes aerias da planta, obtidos após a etapa de fracionamento.



Fonte: Autor, 2018.

4.4 Concentração do Extrato Etanólico da *Cnidocolus urens*.

O extrato etanólico bruto foi fracionado e centrifugado, a 1580xG, por 3 minutos, em uma centrífuga (marca Logen, Modelo, LSDTL40B) e depois filtrado em sistema de filtração a vácuo. Após a filtração, o extrato foi distribuído em Béckers e congelado em ultra freezer a -70°C por 48 horas. As amostras resultantes do processo acima mencionado, foram liofilizadas para a obtenção do material em forma de pó, como mostra a Figura 16. O equipamento utilizado para promover a liofilização foi um liofilizador (modelo K 105, marca Liotop).

Figura 16 - Extrato na forma de pó, resultante do processo de liofilização.



Fonte: Autor, 2018.

4.5 Diluição e Filtração do Material Liofilizado

O material liofilizado foi submetido ao tratamento com Metanol até que todo o extrato em pó fosse solubilizado com o solvente, após a extração com o solvente, o material obtido foi filtrado, em um filtro de seringa Nylon com diâmetro de 25 mm, e poro 0,20 μm e armazenado em tubo cônico de 1,5 mL, sendo estocados em geladeira, para posterior purificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em coluna de Fase Reversa (CLAE-FR).

4.6 Purificação dos Extratos por CLAE-FR

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em coluna de Fase Reversa (CLAE-FR), foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido CDSA –UFCG.

Para a purificação das amostras resultante do extrato metanólico, foi utilizado uma Coluna PelkinElmer C18 (150mm x 4,6mm). No processo de purificação foi programado um gradiente de Água (Tampão A) e Metanol (Tampão B), a um fluxo de 1mL/min. Foi mantido um Volume de coluna com 100% do Tampão A, durante 4 minutos, com um gradiente de 0 a 100% do Tampão B, durante 15 minutos, seguido de uma lavagem da coluna com 100% do Tampão B por 3 minutos.

O detector foi ajustado a um comprimento de onda de 254nm e o cromatograma gerado, foi registrado e armazenado em um microcomputador

interligado ao cromatógrafo. Após a avaliação dos cromatogramas gerados e ajuste da técnica de separação, a coleta do material foi realizada manualmente, de acordo com as áreas de interesse representadas no cromatograma gerado. O material purificado foi armazenado em recipientes esterilizados e identificados de acordo com o tempo de retenção na coluna.

4.7 Concentração das Frações Purificadas

As amostras resultantes da etapa de purificação, foram levadas ao ultrafreezer e congeladas a -70°C , por 96 horas. Após a etapa de congelamento, as amostras foram levadas ao liofilizador, em uma temperatura de -90°C até que todo líquido fosse sublimado. Em seguida, as amostras liofilizadas foram ressuspensas em água destilada, congeladas e levadas novamente ao liofilizador com a finalidade de concentrar ao máximo as amostras.

4.8 Ensaio da Atividade Antimicrobiana.

O teste antibiograma é utilizado para identificação de compostos com ação antimicrobiana. Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas bacterianas obtidas no Laboratório de Biotecnologia do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido CDSA – UFCG. Os extratos foram testados contra as cepas *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) e *Escherichia coli* (Gram negativa).

4.8.1 Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado nos testes antibiograma, foi o Ágar Mueller-Hinton, sendo o meio de cultura microbiológico usualmente utilizado nos testes de susceptibilidade antimicrobiana. A Tabela 2, apresenta os componentes que constituem o meio de cultura Ágar Mueller-Hinton, com quantidade suficiente para produzir 1L de meio.

Tabela 2 - Composição do meio de cultura utilizado no teste antibiograma.

COMPONENTE	QUANTIDADE
INFUSÃO DE CARNE	2,0 g/ L
ÁCIDOS CASAMINOS	17,5 g/L
AMIDO	1,5 g/L
ÁGAR	15,0 g/L
PH	7,03 a 25 °C
ÁGUA DESTILADA	q.s.p.* 1 L

(*) q.s.p.= quantidade suficiente para. Fonte: Autor, 2018.

4.8.2 Preparação dos Discos

Os discos de papel foram preparados conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (1988), com algumas adaptações. Os discos foram confeccionados com papel filtro e furador de papel, obtendo discos com 6 mm, em cada disco foi adicionado 20 µL do extrato obtido, aguardando secar, e conseqüentemente, a absorção do material, e repetindo o processo novamente, sendo adicionado mais 20 µL. Os discos foram identificados como 1 (Referente a Fração 1, eluição 1-3 minutos da cromatografia), 2 (10-15 minutos) e 3 (15-20 minutos). O Disco 1 recebeu 92,96 mg, para o Disco 2 foi adicionado 93,68 mg e o Disco 3 recebeu 93,96 mg. Com o intuito de comparar o potencial antibacteriano dos extratos obtidos, foram realizados controles positivos e negativos para cada teste. No controle positivo foram preparados discos contendo Amoxicilina 500 mg, que foi diluído em 2 mL de metanol, sendo adicionados 40 µL por disco, desse modo, cada disco continha 10 mg de Amoxicilina. O controle negativo foi realizado apenas com Metanol, na mesma quantidade por disco.

4.8.3 Preparo do Inóculo Bacteriano

Com o auxílio de uma alça de platina, devidamente flambada, foi retirado uma pequena quantidade de bactérias, e inoculados diretamente em meio Ágar Mueller-Hinton, as placas inoculadas foram incubadas em estufa de cultura bacteriológica modelo SX-DTMC, fabricante Prolab (BOD) por 12 horas a 37°C. Após 12 horas de crescimento das culturas bacterianas, as placas foram lavadas com 1 mL de solução salina (0,9 %), e armazenadas em tubo cônico de 1,5 mL, sendo esta solução rica em bactérias, denominada solução mãe.

A partir da solução mãe, foi realizada uma diluição seriada na ordem de 10^{-7} , e todas as diluições foram inoculadas em meio Ágar Mueller-Hinton, e incubadas em estufa de cultura bacteriológica modelo SX-DTMC (BOD) por 12 horas a 37°C, e as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram contadas. A Tabela 3, representa o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), obtidas da solução inicial, quando inoculadas em meio Ágar Mueller-Hinton, para as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Tabela 3 - Número de unidades formadoras de colônias em uma diluição de 10^{-7} obtida por meio de cultivo em meio Ágar Mueller-Hinton.

CEPAS BACTERIANAS	UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS (UFC/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3,9 \times 10^8$ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	$5,7 \times 10^8$ UFC/mL

Fonte: Autor, 2018.

Para a obtenção de um volume de células igual a 1×10^7 UFC, a partir da solução padrão de bactérias, retirou-se os volumes de 25 μ L para a cepa de *S. aureus*, e 17 μ L para *E. coli*, e foram diluídos em 975 μ L e 983 μ L, respectivamente.

4.8.4 Teste Antibiograma

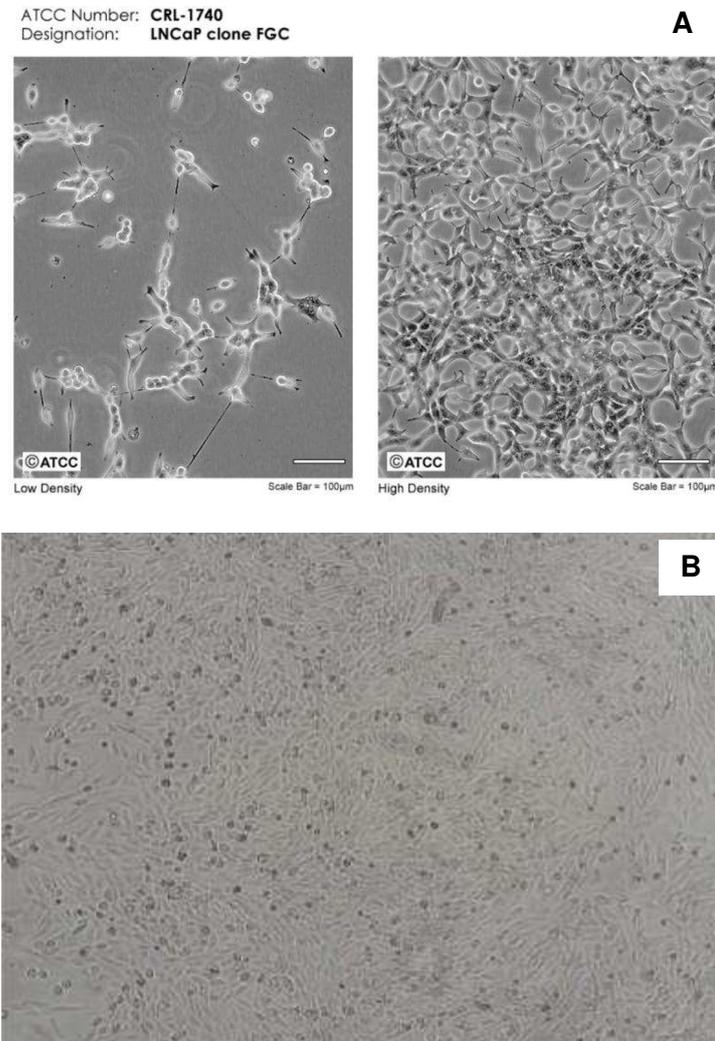
A partir da solução de bactérias estabelecida, foi semeado 1 mL de cada solução padrão de bactérias em placas de Petri contendo o meio Ágar Mueller-Hinton, aguardando secar, em seguida foram adicionados os discos contendo o extrato sobre as placas com o auxílio de uma pinça, devidamente esterilizada. As placas foram

identificadas e incubadas em BOD, a 37°C, por 12 horas. Os respectivos experimentos foram realizados em triplicata.

4.9 Ensaio de Atividade Anticarcinogênica *in vitro*

O ensaio de citotoxicidade foi realizado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – CNEN/SP, Universidade de São Paulo. As linhagens utilizadas no ensaio foram as células de adenocarcinoma de próstata (LNCaP). As células foram mantidas em 10 mL de meio RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, USA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Campinas, Brasil), 1g/L bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) e 1% de solução penicilina/estreptomicina (Gibco, Carlsbad, USA) em frasco plástico estéril para cultura de 75 cm² de área de cultura. A Figura 17 mostra as células de LNCaP, propagadas para o ensaio de citotoxicidade *in vitro*, a foto foi registrada do microscópio.

Figura 17 - Linhagem celular de câncer de próstata LNCaP. A: imagem referencial do site da ATCC, com cultura de células em baixa e alta confluência. B: LNCaP utilizadas na pesquisa, mantidas em cultura aderente com confluência de 90%.



Fonte: Autor, 2018.

4.9.1 Viabilidade Celular

A metodologia utilizada para a avaliação da viabilidade celular, foi o método colorimétrico baseado no ensaio MTS/PMS (Promega Corp, Madison, WI, EUA). Nesse ensaio e realizado a determinação do número de células viáveis por meio da capacidade de converter o sal MTS [3-4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H- tetrazólio] na presença de metanossulfonato de fenazina (PMS; Sigma, St. Louis. MO, EUA), em um composto Formazan púrpura, que é solúvel no meio de cultura, essa conversão ocorre a partir de enzimas mitocondriais presentes apenas em células metabolicamente ativas.

4.9.2 Ensaio de citotoxicidade das frações da *C. urens* contra LNCaP

As amostras foram tratadas com a adição de 1 mL de meio RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, USA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Campinas, Brasil), 1g/L bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) e 1% de solução penicilina/estreptomicina (Gibco, Carlsbad, USA) em cada amostra. Devido ao aparecimento de sedimentos nas Amostras 1 e 2, foi necessário após a solubilização, realizar uma centrifugação a 10.000xG por 5 minutos. O sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa 0,22 µm (Corning™ *Syringe filters*) e o volume final diminuiu de 1 mL para 600 µL.

Para realização do ensaio de citotoxicidade, as células foram tripsinizadas e semeadas em placa de 96 poços, na concentração de 5×10^3 células por poço e mantidas durante 24 horas, a 37°C, com 5% de CO₂. Após esse período as células foram incubadas com diferentes concentrações, por 48 horas. O período de incubação foi estabelecido de acordo com a metodologia usada por MONTEIRO (2015).

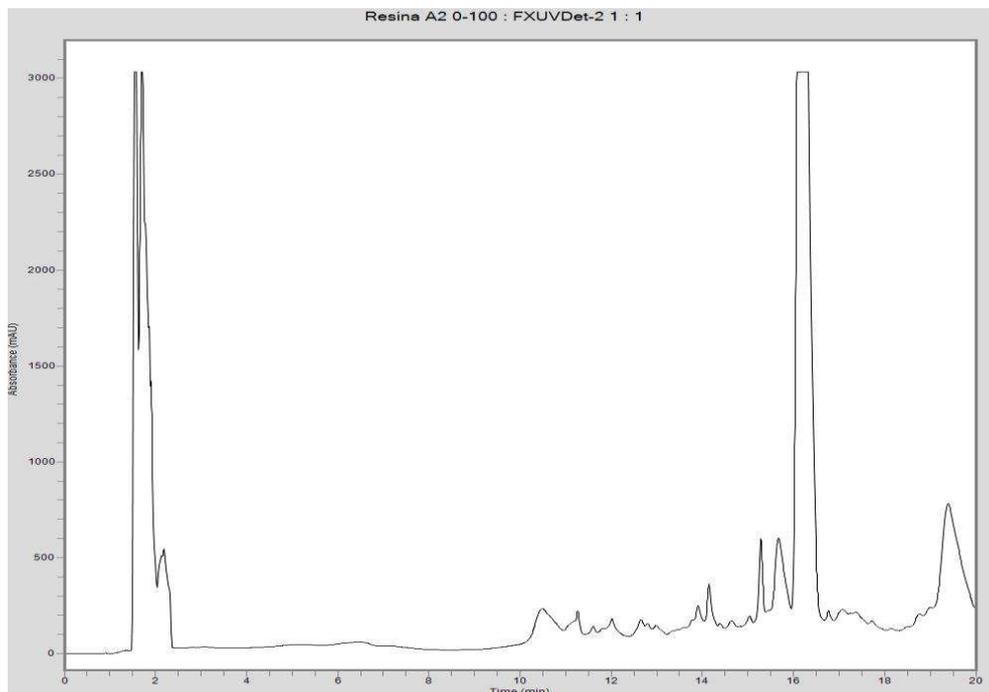
A densidade celular foi verificada por meio da adição de 20 µL/ poço de MTS (2 mg/mL em PBS) e PMS (0,92 mg/mL em PBS) na proporção de 20:1 (vol/vol). Duas horas após a adição da mistura, a placa foi lida num leitor de microplacas (Thermo Scientific Multiskan EX, Thermo Fisher, Vantaa, Finland). A quantificação de Formazan no meio, foi determinada por absorvância a 490 nm. As concentrações das amostras foram testadas em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem de células viáveis, com 100% referente a células controle, sem tratamentos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PURIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS CONTIDOS NOS EXTRATOS

O resultado do CLAE-FR decorrente do composto obtido pela separação das frações em função do tempo do extrato da *Cnidoscolus urens*, revelou aproximadamente dezesseis picos, ou seja, a presença de cerca de 16 compostos diferentes, que podem ser responsáveis pelas atividades antibacteriana e citotóxica, avaliadas nesse trabalho. O Gráfico 1 mostra o cromatograma gerado a partir do processo de purificação do extrato da *Cnidoscolus urens*, com seus respectivos picos gerados, em função do tempo.

Gráfico 1 - Cromatograma gerado a partir da CLAE-FR dos extratos provenientes da *Cnidoscolus urens*.

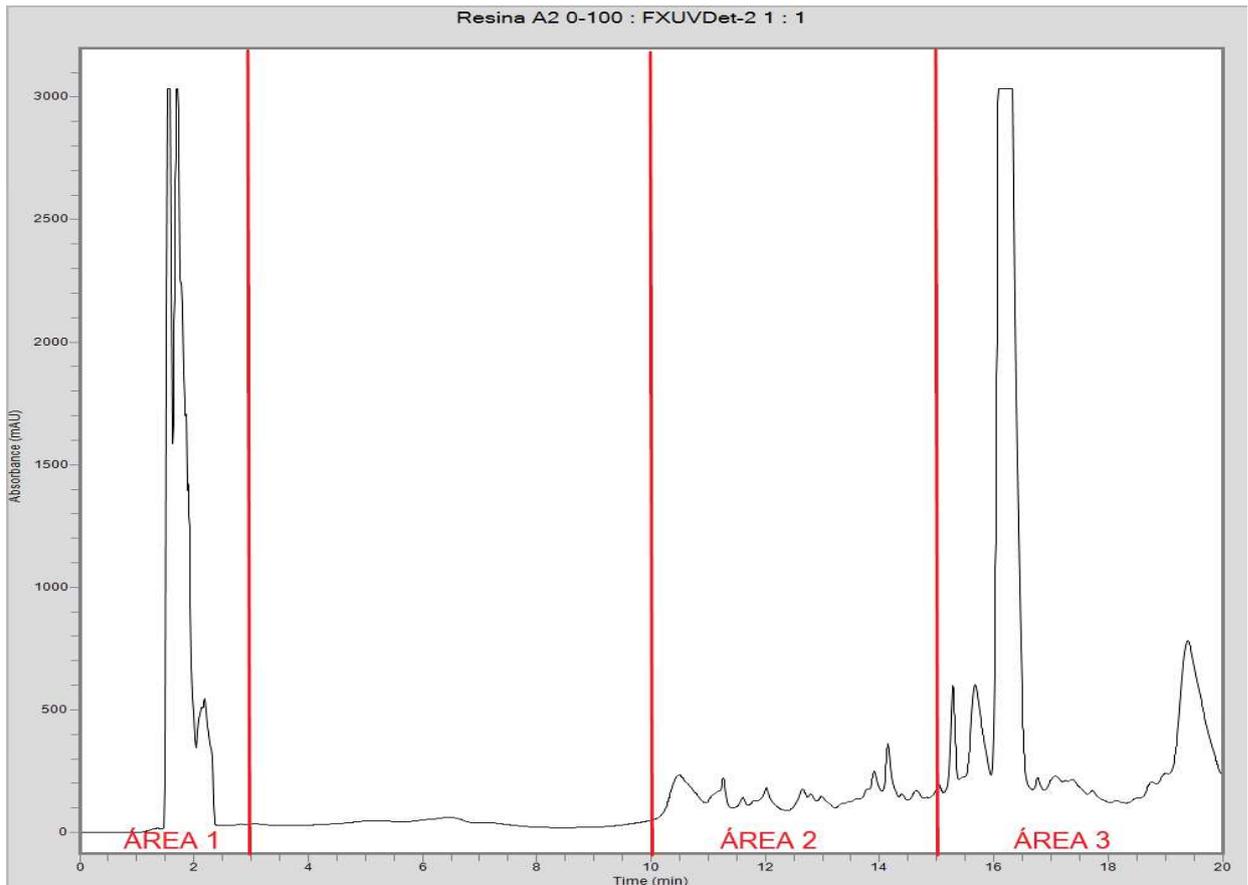


Fonte: Autor, 2018.

A purificação dos extratos foi realizada de acordo com o tempo de retenção na coluna, como mostra o cromatograma acima. Foram testadas as áreas coletadas no período de 1 a 3 minutos, 10 a 15 minutos e 15 a 20 minutos, como mostra o Gráfico 2. Todos os extratos coletados decorrentes das respectivas áreas do

cromatograma gerado, apresentaram atividade biológica para os ensaios realizados nesse trabalho. Os compostos coletados nas Áreas 1 a 3, foram denominados Fração 1, Fração 2 e Fração 3.

Gráfico 2 – Cromatograma dos extratos da *Cnidoscolus urens* dividido em suas respectivas frações de purificação.



Fonte: Autor, 2018.

O cromatograma gerado a partir do processo de purificação do extrato da *Cnidoscolus urens*, foi dividido em Frações, como mostra a Figura 19 e a coleta dos compostos foi realizada em função do tempo de retenção na coluna, correspondente a cada área destacada.

5. 2 ENSAIO ANTIBACTERIANO

Os extratos obtidos, a partir da purificação das áreas destacadas no cromatograma, mencionado anteriormente, foram testados quanto a atividade antibacteriana. Os resultados obtidos do presente estudo, demonstraram que as frações purificadas conferem atividade antibacteriana, inibindo o crescimento das bactérias testes em diferentes zonas de inibição. A atividade antibacteriana foi avaliada contra as estirpes bacterianas Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Escherichia Coli*), adquiridas da coleção ATCC® 25923™ e ATCC® 25922™, respectivamente. Na Tabela 4, estão representados os halos (mm) de inibição, formados a partir da atividade antibacteriana exercida pelas Frações purificadas.

Quando comparado com o antibiótico Amoxicilina, os extratos metanólicos, apresentaram eficiência de inibição, tanto para bactérias Gram-positivas, quanto para Gram-negativas. As bactérias Gram-negativas possuem parede celular rica em lipopolissacarídeos, conferindo-o resistência a ação de antimicrobianos (GOULD, 2009). Bactérias Gram-positivas, não possuem parede celular, sendo mais sensíveis a ação de substâncias antibacterianas, tais substâncias, provocam a destruição da membrana e decorrente coagulação (RUSSELL, 1991; NIKAIDO, 1994; GAO, 1999).

As Frações 1 e 3, apresentaram eficiência para *S. aureus* de 76,9% e 48,0%, respectivamente, e para a espécie bacteriana de *E. coli*, a eficiência da Fração 1 foi de 32,73%, e da Fração 3, 27,2% em relação a eficiência desempenhada pelo antibiótico controle (Amoxicilina), no respectivo ensaio.

Tabela 4 - Ação antibacteriana das frações purificadas da *Cnidocolus urnes*.

ANALITO PURIFICADO	LINHAGENS BACTERIANAS	
	<i>Escherichia Coli</i> (ATCC 25922) – (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) – (mm)
Fração 1	12	13,33
Fração 2	3	6,67
Fração 3	10	8,33
Amoxicilina 10mg	36,67	17,33

Fonte: Autor, 2018.

De acordo com os resultados descritos na Tabela 4, observa-se que os extratos purificados, apresentaram atividade antibacteriana frente as estirpes testadas, com formação de halos de inibição, tanto para *E. coli*, quanto *S. aureus*. As Frações 1 (1-3 min.) e 3 (15-20 min.), demonstraram maior potencial antibacteriano, com formação de maiores halos de inibição. A Fração 2 (10-15 min.), não apresentou atividade antibacteriana, igual ou superior ao evidenciado nas Frações 1 e 3.

Sobrinho (2011), avaliou a atividade antibacteriana de espécies da Caatinga, a partir da medição de halos de inibição, pela técnica de poços e pela concentração inibitória mínima (CIM). Nesse estudo, foi evidenciado que o extrato etanólico da *Cnidocolus urens*, apresentou atividade antibacteriana contra a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativa, na concentração de 10 mg/poço, apresentando halos de inibição de 10 mm.

Em estudos realizados por SOUZA (2014), foi analisado o perfil químico e biológico do extrato etanólico bruto e de suas frações, Hexânica, Acetato de etila (AcEOt) e Hex/AcEOt, obtidas por partição líquido-líquido do extrato etanólico, a partir das partes aeras da *Cnidocolus urens*. Nesse estudo foi identificado a presença de taninos, cumarinas, lignanas, onoterpenos, diterpenos, esteroides e flavonoides. A avaliação antibacteriana foi realizada pelo método de microdiluição. O extrato etanólico e as frações apresentaram efeito antibacteriano para todas as cepas testadas.

O extrato etanólico bruto apresentou melhor ação bacteriostática frente a *Serratia marcescens*, e a melhor ação bactericida foi evidenciada para as cepas *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*. Para a fração Hexânica a melhor ação bactericida foi frente as cepas de *Escherichia coli* *Serratia marcescens* e *Shigella flexneri*. A fase Hex/AcEOt apresentou a melhor ação bactericida frente *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*, e AcEOt apresentou melhor ação contra à cepa *Shigella flexneri* (SOUZA, 2014).

BEZERRA (2015), determinou o perfil fitoquímico e a atividade antibacteriana das espécies *Euphorbia hirta*, *E. hyssopifolia* e *E. thymifolia*, pertencentes a família Euphorbiaceae. Os extratos etanólicos brutos (Eh-EEB), (Ehy-EEB) e (Et-EEB), foram obtidos das partes aeras das plantas, e posteriormente, foram particionados para obtenção das frações hexânicas, clorofórmicas, acetado de etila e metanólicas. A triagem fitoquímica realizada para os extratos brutos e frações, mostraram a presença de terpenos, esteroides e flavonoide. O extrato diclometânico das flores da espécie *Euphorbia hirta*, foi submetido a métodos cromatografia, sendo isolado duas substâncias, o benzoato de lupeolila e Heptacosan-1-ol. A partir do extrato das flores

de *E. hirta*, foi isolado a Quercetina-3- β -Oramnosídeo. A atividade antibacteriana, foi determinada pelos métodos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM). Os extratos etanólicos e metanólicos mostram-se ativos para as cepas bacterianas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, e para bactérias *E. coli* como Gram-Negativa.

Os trabalhos mencionados mostram que a atividade antibacteriana evidenciada nos extratos da espécie *Cnidocolus urens*, corrobora com os resultados obtidos para diversas espécies pertencentes a família Euphorbiaceae.

5.3 Ensaio de Citotoxicidade *In Vitro*

Para avaliar o efeito citotóxico das frações purificadas da *Cnidocolus urens*, foi utilizado a linhagem LNCaP, provenientes das células de adenocarcinoma de próstata. As células foram tratadas por um período de 48h, com diferentes concentrações das frações purificadas da *Cnidocolus urens*, como descrito na Tabela 5, e posteriormente, submetidas ao ensaio de MTS. Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média.

De acordo com os resultados obtidos no ensaio de MTS, as Frações 1 e 3, apresentam alto efeito citotóxico sobre a linhagem testada. Entretanto, a Fração 2 não apresentou citotoxicidade sobre as células de LNCaP.

Tabela 5 - Concentração das frações purificadas da *Cnidocolus urens* utilizadas no ensaio de MTS para cada diluição.

Frações	<i>Cnidocolus urens</i> (mg/mL)				
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%
1	855,9	427,9	213,9	106,9	53,5
2	805,7	402,8	201,4	100,7	50,3
3	808,3	404,1	202,1	101,0	50,5
DMSO	5%	*	*	*	*
Látex	0,2 mg/L	*	*	*	*

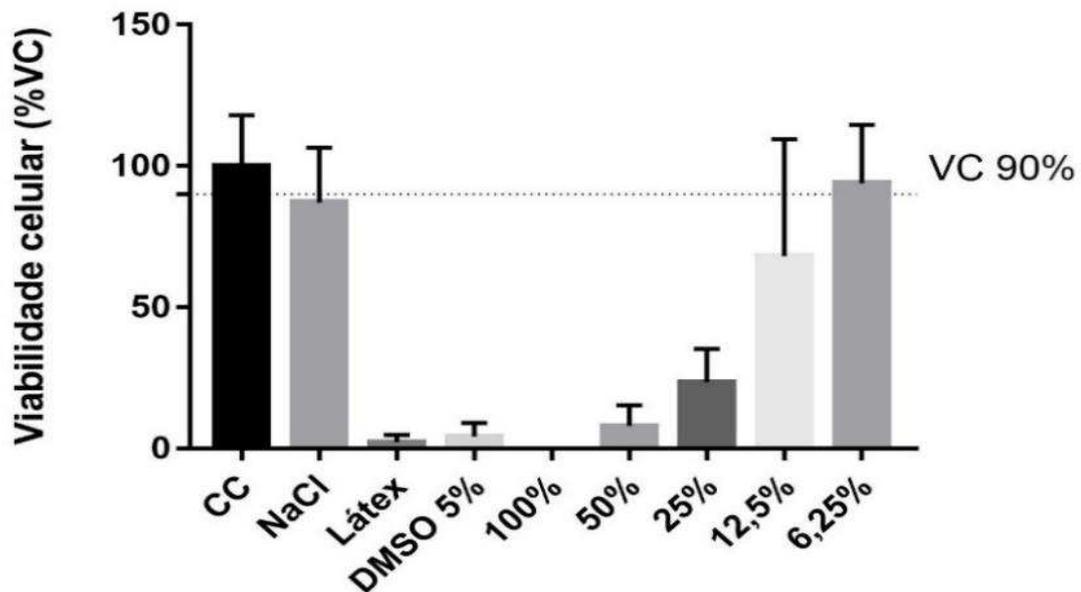
* = Concentração constante

%= porcentagem referente a diluição realizada para cada amostra. A concentração adotada para os controles no ensaio de MTS, foi padrão em todas as repetições utilizadas para validar o ensaio.

Fonte: Autor, 2018.

A Fração 1, quando em contato com as células, apresentou alto efeito citotóxico, influenciando na viabilidade celular para três concentrações analisadas no ensaio de MTS, sendo capaz de provocar a morte de todas as da células de LNCaP, na concentração de 100% (855,9 mg/mL), com 50% (427,9 mg/mL) da concentração foi capaz de causar mortalidade de $91,9\% \pm 7,3$ das células e com 25% (213,9 mg/mL), provocou a mortalidade de $76,5\% \pm 11,8$ das células, como mostrado no Gráfico 3. O índice de viabilidade celular foi menor que 50% em três concentrações, com exceção das concentrações de 12,5% (106,9 mg/mL) e 6,25% (53,5 mg/mL), em que pode ser evidenciado alto índice de viabilidade celular, e assim, as amostras nessas concentrações apresentam, baixo efeito citotóxico sobre a linhagem de LNCaP.

Gráfico 3 - Efeito citotóxico da Fração 1 do extrato da *Cnidocolus urens*, contra a linhagem de LNCaP, após 48 horas de incubação, em diferentes concentrações, através do ensaio de MTS. Os controles são representados por CC (apenas células) e NaCl. A concentração do DMSO foi de 5% e para o Látex foi de 0,2 mg/mL, usados como controle positivo. Fonte: Autor, 2018.

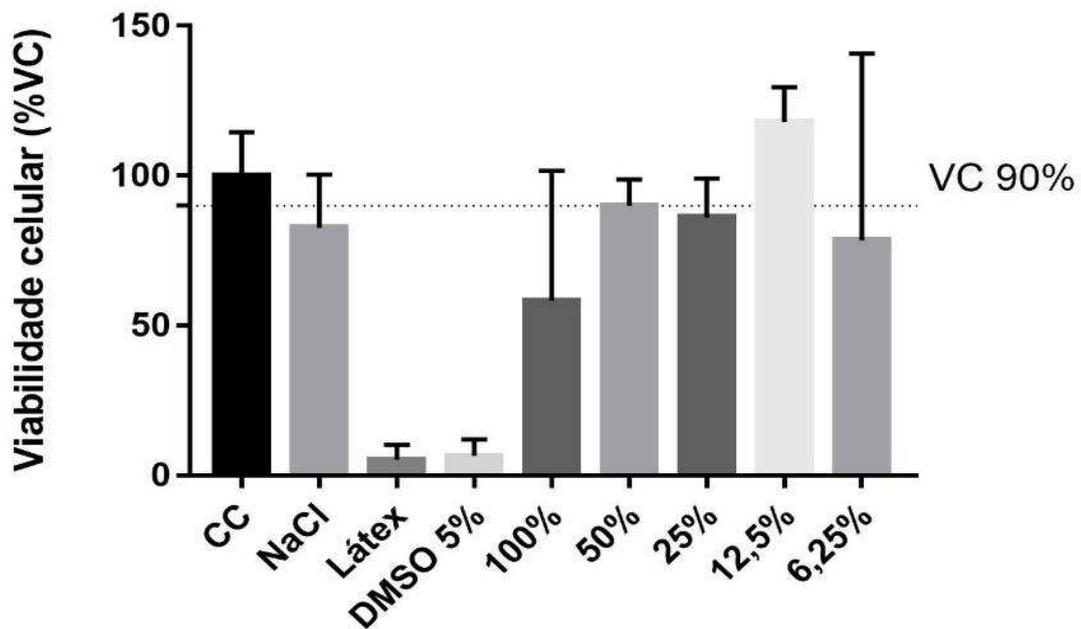


Fonte: Autor, 2018.

A Fração 2, não apresentou efeito citotóxico efetivo em nenhuma das concentrações testadas. Para todas as diluições o índice de viabilidade celular foi maior que 50%, como representado no Gráfico 4, apresentando baixo efeito citotóxico sobre a linhagem de LNCaP. A amostra integral, ou seja, com 100% (805,7 mg/mL) da concentração, não obteve resultado estatisticamente significativo, pois seu desvio padrão foi alto. O baixo efeito citotóxico apresentado pela amostra, pode ser

decorrente da redução do volume, após a filtração, ou seja, os três poços, não apresentavam a mesma quantidade em volume, influenciando assim, o resultado final do teste para a Fração 2.

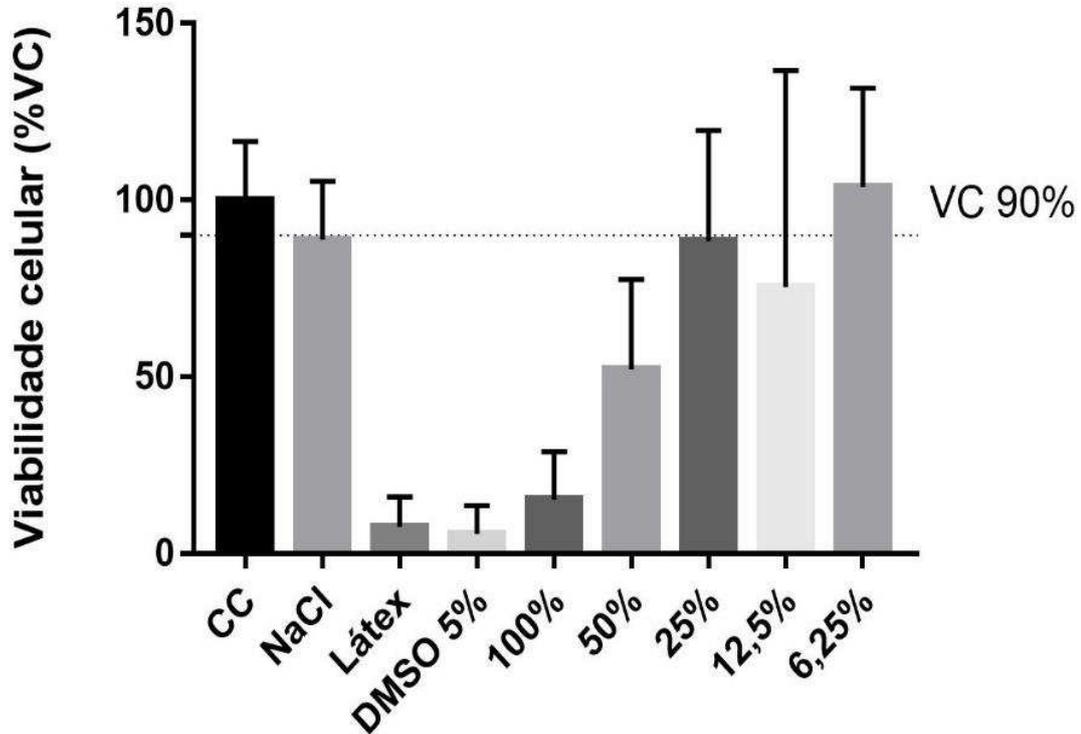
Gráfico 4- Efeito citotóxico da Fração 2 do extrato da *Cnidocolus urens*, contra a linhagem de LNCaP, após 48 horas de incubação, em diferentes concentrações, através do ensaio de MTS. O controle negativo está representado por CC (apenas células), e NaCl. A concentração do DMSO foi de 5% e para o Látex foi de 0,2 mg/mL, usados como controle positivo.



Fonte: Autor, 2018.

A Fração 3, apresentou atividade citotóxica para duas concentrações, com índice de viabilidade celular inferior a 50%, nas demais concentrações das amostras, o índice de viabilidade celular, apresentou valor superior a 50%, demonstrando assim, pouca capacidade citotóxica contra a linhagem de LNCaP. Na concentração de 100% (808,3 mg/mL), do extrato foi evidenciado a mortalidade $86,5\% \pm 16,5$ das células, e para 50% (404,1mg/mL) da concentração da Fração, a mortalidade de $48,0\% \pm 25,5$ das células, como demonstrado no Gráfico 5.

Gráfico 5- Efeito citotóxico da Fração 3 do extrato da *Cnidocolus urens*, contra a linhagem de LNCaP, após 48 horas de incubação, em diferentes concentrações, através do ensaio de MTS. O controle negativo é representado por CC (apenas células) e NaCl, como controle positivo foi utilizado DMSO e Látex.



Fonte: Autor, 2018.

Em estudos realizados por TAVARES et al. (2012), foi avaliado o efeito citotóxico do extrato bruto de espécies do gênero *Cnidocolus*. O estudo revelou que o extrato bruto da *Cnidocolus urens*, apresentou atividade citotóxica frente as linhagens Hep-2 (câncer de laringe), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide pulmonar humano), HT-29 (adenocarcinoma de cólon humano). O potencial de inibição para o extrato das partes aeras da *Cnidocolus urens*, foi de $50\% \pm 8,3$ para HT-29, a inibição contra Hep-2 foi de $88,2\% \pm 2,1$, e de $85,3 \pm 1,8$ para NCI-H292.

SOUZA (2013), avaliou o perfil fitoquímico e a atividade antitumoral *in vivo* dos extratos aquoso, N- butanólico, etanólico e acetato de etila, obtidos das partes aeras da *Cnidocolus urens*. A atividade antitumoral foi avaliada através indução de tumores carcinoma de Ehrlich experimentais em camundongos Swiss. A avaliação dos constituintes metabólitos secundários produzidos por *Cnidocolus urens*, foi realizada através do método de cromatografia de camada delgada (CCD). Para os extratos aquoso, N- butanólico e acetato de etila, foram identificados a presença de

flavonoides, açúcares redutores e terpenoides, além de cumarinas e taninos em menor quantidades. Os extratos aquosos e etanólicos, foram efetivos na inibição do crescimento do tumor sólido de carcinoma de Ehrlich (84,4% e 79,2%, respectivamente), os animais tratados, apresentaram melhora significativa nos parâmetros bioquímicos, e assim, melhora na resposta imunológicas.

OLIVEIRA-JUNIOR (2017), analisou o efeito citotóxico dos extratos e frações obtidas das folhas e do caule de *Cnidoscolus quercifolius* (gênero *Cnidoscolus*), e de seus constituintes isolados, em células de melanoma humano (linhagem A2058). A composição química dos extratos, foi determinada por análises por CG-EM (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) e CLAE-DAD (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de arranjos de diodo). Foi identificado a presença de diterpenos, triterpenos e flavonoides. A fração clorofórmica apresentou o menor valor de CI_{50} ($15,05 \pm 1,04 \mu\text{g/mL}$), nessa fração foi possível identificar triterpenos cinamato de lupeol, diidrocinamato de lupeol e hexanoato de lupeol, além dos diterpenos filacantona e favelanona. Entre as substâncias isoladas, filacantona e favelanona, apresentam alto efeito citotóxico. O extrato clorofórmico (CHCl_3 -Casca), foi capaz de induzir a formação de corpos apoptóticos, podendo o efeito citotóxico dessa fração ser mediante a indução a apoptose.

CORRÊA-PAULA et al (2016), a partir do extrato hexânico do caule de *Cnidoscolus phyllacanthus*, foram isolado os oito compostos a seguir: 3β -O-nanoil-lupeol (1), a mistura de 3β -O-cinamoil-lupeol (2) e 3β -Odiidrocinamoil-lupeol (3), lupeol (4), a mistura de sitosterol (5) e estigmasterol (6), deoxofavelina (7) e favelina metil éter (8). As estruturas dos compostos foram determinadas por técnicas espectrais e por comparação com a literatura. Os compostos isolados, foram testados quanto á atividade citotóxica contra as linhagens celulares HL-60 (leucemia promielocítica humana), NCI-H292 (carcinoma de pulmão humano) e MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano). O estudo revelou que o composto deoxofavelina, apresentou maior atividade citotóxica, dentre todos os compostos testados, com valores de CI_{50} variando de 2,7 a 8,9 $\mu\text{g/mL}$.

O potencial citotóxico relevado no ensaio de MTS, e os trabalhos mencionados sobre a atividade citotóxica dos constituintes isolados e investigados das espécies do pertencentes ao gênero *Cnidoscolus*, mostram que não só a espécie

Cnidoscolus urnes, mais o gênero *Cnidoscolus*, como um todo, pode ser considerado uma fonte promissora para o isolamento de compostos com ação antitumoral.

5.4 Potencial para produção de um Antibiótico

A Fração 2 apresentou efeito antibacteriano para as classes de bactérias: Gram-positiva e Gram-negativa. Apresentou baixo efeito citotóxico celular, demonstrando seu potencial para produção de um antibiótico com ação para as duas classes de bactérias avaliadas, que não apresenta toxicidade para humanos. No perfil biotecnológico a Fração 2, representa uma fonte promissora para produção de um antibiótico efetivo e com menor possibilidade de provocar toxicidade, em relação as demais frações avaliadas.

As Frações 1 e 3 mostraram efetiva atividade para as duas classes de bactérias testadas, porém, apresentaram alto efeito citotóxico. Devido a ausência de testes mais detalhados, que determinem o índice de seletividade das frações, apenas para linhagens tumorais, as frações podem ser tóxicas para humanos.

5.5 Potencial Antineoplásico das Frações

As Frações 1 e 3 apresentaram alto efeito citotóxico frente a linhagem tumoral de adenocarcinoma de próstata, mostrando-se como uma fonte promissora para o isolamento de substâncias que apresentem ação Antineoplásica. É necessário a realização de mais testes para determinação do potencial de seletividade dos compostos presentes nas frações, em relação a células normais, e o índice de citotoxicidade, porém, não podemos descartar seu futuro promissor no que diz respeito a possibilidade de isolar substâncias com ação antitumoral.

6 CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos foi possível concluir:

- A Fração 1, na concentração de 92,96mg/disco, apresentou atividade antibiótica com média de halo de inibição de 12mm contra *Escherichia Coli* e 13,33mm contra *Staphylococcus aureus*.
- A Fração 1 apresentou alto efeito citotóxico *in vitro* contra a linhagem de LNCaP, para as concentrações de 855,9 mg/mL citotoxicidade de 100%; 427,9 mg/mL citotoxicidade de 91,9%; e 213,9 mg/mL citotoxicidade e 76,5%, mostrando-se como uma fonte promissora para o isolamento de compostos com ação antitumoral.
- A Fração 2 mostrou atividade antimicrobiana contra as cepas bacterianas de *Escherichia Coli* e *Staphylococcus aureus*, com média dos halos de inibição de 3mm e 6,67mm, respectivamente. Porém, não apresentou efeito citotóxico frente a linhagem de LNCaP utilizada no ensaio de MTS, em nenhuma das concentrações avaliadas, nesse ensaio.
- A Fração 3, na concentração de 93,96mg/disco, apresentou atividade antibiótica com média de halo de inibição de 10mm contra *Escherichia Coli* e 8,33mm contra *Staphylococcus aureus*.
- A Fração 3 apresentou efeito citotóxico efetivo contra a linhagem de LNCaP para as concentrações de 808,3mg/mL citotoxicidade de 86,5% e 404,1mg/mL citotoxicidade de 48,0%, demonstrando conter composto com atividade antitumoral.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. *et al*/ Medicinal Plants Used as Antitumor Agents in Brazil: An Ethnobotanical Approach. **Evid Based Complement Alternat Med.** v. 2011. p.14, 2011
- ALVES, M. V. Checklist das espécies de Euphorbiaceae Juss. ocorrentes no semi-árido Pernambucano, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, p. 485-495, 199.
- ANTUNES, R.M *et al*. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p. 517-524, 2006.
- AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR. **Projeto Oncorede a (Re)Organização da Rede de Atenção Oncológica na Saúde Suplementar.** Disponível em: <http://www.ans.gov.br/images/stories/Materiais_para_pesquisa/Materiais_por_assunto/FINAL_publicacao_oncorede3.pdf>. Acesso em 16 nov. 2018.
- AGRA, M. F. *et al*/ Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
- ALBUQUERQUE, U. P. Re-examining hypotheses concerning the use and knowledge of medicinal plants: a study in the Caatinga vegetation of NE Brazil. **Journal Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n. 3, p. 1-10, 2006
- AMENDOLA, B. C. L., VIEIRA, R. **A contribuição dos genes BRCA na predisposição hereditária ao câncer de mama.** Revista Brasileira de Cancerologia, 2005.
- ARAUJO, L. D. A.; LEAL, A. S.; QUIRINO, Z. G. M. Fenologia e biologia floral da urtiga cansanção *Cnidoscolus urens* L., Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 2, p. 140-146, 2012.
- ARAUJO, ISABELLA SANTOS. **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS AROMÁTICAS QUE OCORREM NO ESTADO DO PARÁ.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2011.
- BARROSO, G.M. *et al*. **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** v. II. Viçosa, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- BELIZÁRIO, J. E. O próximo desafio: reverter o câncer. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 184, p. 50-7, 2002.
- BEZERRA, GEÓRGIA SUELEY. **ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO IN VITRO DE ESPÉCIES DO GÊNERO Euphorbia: E. hirta, E. hyssopifolia e E. thymifolia L. (EUPHORBIACEAE).** Disertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2015.
- BOGLIOLO, L.; BRASILEIRO FILHO, G. Bogliolo: 7ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan.**, p.1472, 2006.

BURGER, W. & M. HUFT. Family #113 Euphorbiaceae. **Flora Costaricensis. Fieldiana Botany**, New Series n. 36, 1995.

CARVALHO, Alexandre Octavio Ribeiro de. **O Instituto Nacional de Câncer e sua memória: uma contribuição ao estudo da invenção da cancerologia no Brasil**. Fundação Getulio Vargas. Dissertação (Mestrado profissional) – Programa de Pós-graduação em História Política e Bens Culturais, Rio de Janeiro, 2006.

CHABNER, B.A.; LONGO, D.L. **Cancer chemotherapy and biotherapy; 2thedn., Lippincott-Raven**, Philadelphia, 1996.

CLEMENTINO, Leandro da Costa. **Bioprospecção de Antibióticos Produzidos por Fungos da Caatinga**. 2014. 52 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande. 2014.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. e BONATO, P. S. (coordenadores). **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ª ed., Unicamp, Campinas, 1997.

CORDEIRO, I. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Euphorbiaceae**. Boletim De Botânica, 13, p.169-217, 1992.

CORDEIRO, I.; CARNEIRO-TORRES, D.S. Euphorbiaceae. In: BARBOSA, M.R.V. *et al.* Checklist das plantas do Nordeste brasileiro v.1: Angiospermas e Gymnospermas. **Ministério da Ciência e Tecnologia**, Brasília, pp.71-74, 2006.

CORRÊA, A. D.; SANTOS, D.C.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, C. M. P.; XISTO, A. L. R. R.; CARVALHO, V. D. Farinha de folhas de mandioca – efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v.26, p.368-374, 2002.

CORRÊA- PAULA, A. MELO, K. M.; da Silva, A. M.; FERREIRA, D. A.; MONTE, F. J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; LEMOS, T. L. G.* BRAZ-FILHO, R.; MILITÃO, G. C. G.; da SILVA, P. B. N.; DA SILVA, T. G. Constituintes Químicos e Atividade Citotóxica de *Cnidocolus phyllacanthus*. **Revista Virtual de Química**, v.8, 2016.

CUNICO, M. M.¹ ; CARVALHO, J. L. S.¹ ; KERBER, V. A.¹ ; HIGASKINO, C. E. K.² ; CRUZ ALMEIDA, S. C.² ; MIGUEL, M. D.¹ ; MIGUEL, O. G. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 14, n. 2, p.97-103, 2004.

CRAGG, M. G., NEWMAN, D, J. Biodiversidade: Um Componente Essencial na Descoberta de Fármacos. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. p. 53-81, 2 Ed. Univall, 2009.

CRAGG, M. G., NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 72–79, 2005.

DOMINGUEZ, X.A. *et al.* Isolation and identification of xochitoldione and isoxochitlolone from *cnidosculus urens*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n.2, p. 221-224, 1992.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Construindo a história dos produtos naturais. **Multiciência**. v.7, 2006.

EINSPAHR, J.G *et al.* Associations of Kras proto-oncogene mutation and p53 gene overexpression in sporadic colorectal adenomas with demographic and clinicopathologic characteristics. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 2006; p.1443-1450, 2006.

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

FEITOSA, P.L.R; CUNHA J.P.A., Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, 2009.

FELIU, D. A. **Análise de terpenoides de espécies de Croton sect. Lamprocroton (Mull. Arg.) Pax (Euphorbiaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. doi: 10.11606/D.41.2011.tde- 18012012 – 135843. Acesso em: 11 de nov. 2018.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**. Genève, v.136, n.5, p.359-386, 2015.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010.

FRAGA, M. A. C, BARREIRA, J. E., JUNIOR, A. X. J. Uso de Produtos Naturais Vegetais Como Matérias-Primas Vegetais Para a Síntese e Planejamento de Fármacos In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Universidade-UFRGS/Ed. UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, cap. 8, p. 147-211, 2010.

GARÓFOLO *et al.* Diet and cancer: an epidemiological view. **Revista Nutrição**. vol.17, n.4, p. 491-505, Campinas, 2004.

GOEL, G., MAKKAR, H.P.S., FRANCIS, G., BECKER, K. Phorbol esters: Structure, biological activity, and toxicity in animals. **International Journal of Toxicology**, v. 26, p. 279- 288, 2007.

GOMES, LEANDRA MACEDO DE ARAÚJO. **Efeito antinociceptivo e anti-inflamatório de Cnidoscolus quercifolius Pohl (Euphorbiaceae) em roedores**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em em Recursos Naturais, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2014.

HAIDA, K.S. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arq. Cienc. Saude Unipar**, v. 11, p. 185-192, 2007.

HANAHAN, D., and WEINBERG, R.A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Revieww**. Cell144, 646-674, 2011.

HARTWELL, J.L., 1982. Plants Used Against Cancer. Quarterman, Lawrence, MA.

HUSSON, M., C.; BECKER, A. **Médicaments anticancéreux-de la preparation á l'administration**. Paris: EMI, 1995.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Latest global cancer data**: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018., 2018 Disponível em: [:http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2018/gco_globocan2018.php](http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/2018/gco_globocan2018.php). Acesso em: 11 dez. 2018

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Latest global cancer data**: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018, 2018. Disponível em:< <http://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf?ua=1>>. Acesso em: 16 nov. 2018.Acesso em: 16 nov. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA Estimativa 2018: **Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER/ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **ABC do Câncer**, 2011. Disponível em : http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf. Acesso em: 16 nov. 2018.

JANSEN A.M., SCHEFFER J.J.C., BAERHEIM S. A. Antimicrobial activity of essential oils from Greek Sideritis species, **Pharmazie**. v. 45: 70. 1987.

JUNG, A.; BRABLETZ, T.; KIRCHNER, T. **The migrating cancer stem cells model- a conceptual explanation of malignant tumor progression**. **Ernst Schering Foundation Symposium Proceedings**, v.5, p. 109–124, 2006.

KIEM, P.V., THUA, V.K., YEN, P.H., NHIEM, N.X., TUNG, N.H., CUONG, N.X., MINH, C.V., HUONG, H.T., HYUN, J.H., KANG, H.K., KIM, Y.H. New Triterpenoid Saponins from *Glochidion eriocarpum* and Their Cytotoxic Activity. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, p. 102-105, 2009.

KUMAR, V., ABBAS, A. K, FAUSTO, N., ROBBINS, S. L., COTRAN, R. S. **Pathology Basis of Disease**. China: WB Saunders, p. 1552, 2004

LAMARCA, R. S.. **Desenvolvimento de uma Metodologia Analítica para Determinação de Ácidos Fenólicos em Amostras de Azeite de Dendê (*Elaeis guineenses*) por HPLC com Detecção Simultânea no UV e Eletroquímica (homemade)**. Dissertação de Mestrado, Programa de pós-graduação em Química. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.

LEVY, C.E.; VON NOWAKONSKI, A.; MENDES, C.M.F.; OPLUSTIL, C.; ZOCCOLI, C.M.; MAFFEI, C.M.L.; MAMIZUKA, E.M.; CAVASSIN, E.D.; ROSSI, F.; MIMICA, I.; PETRIDIS, H.; MIMICA, L.M.J.; MELHEM, M.S.C.; LOPES, M.C.G.; MARTINO, M.D.V.; LINCOPAN, N.; SILVA, R.A.M. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. In: **Modulo I – Principais Síndromes Infeciosas**. 1ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

LIU, Y., MURAKAMI, N., JI, H., ABREU, P., ZHANG, S. Antimalarial flavonol glycosides from *Euphorbia hirta*. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, p. 278-281, 2007.

LIMA, E.O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos. p. 481501, 2001.

- LU, J. J. *et al.* Alkaloids Isolated from Natural Herbs as the Anticancer Agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-12, 2012.
- MACIEL, M. A. M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MACBRIDE, J.F. 1951. Euphorbiaceae. In: Macbride, J.F. Flora of Peru. **Field Museum of Natural History**. v. 13: 1-200.
- MAHR, D. L. Some Succulent Trees of Bahía and Minas Gerais, Brazil. **Cactos e suculentas Jornal**, v.81, n. 3, p.138-146, 2009.
- MALHEIROS, S. G. M. **Estudo Farmacobotânico de Seis Espécies de Uso Medicinal no Nordeste Brasileiro**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, 2012.
- MARTINEZ M.A.R. *et al.* Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. p.405-19, 2006
- MELO, A. L.; SALES, M. F. O gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoidea e Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta bot. Bras**, v. 22,n. 3, p. 806-827,. 2008.
- MENEZES, Y.A.S. *et al.* **Protein-Rich Fraction of *Cnidoscolus urens* (L.) Arthur Leaves**: Enzymatic Characterization and Procoagulant and Fibrinolytic Activities. **Molecules**, v.19, n.3, p.3552-3569, 2014.
- MENEGOTTO FR, PICOLI SU. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Rev Bras Anal Clin**. p.147-150, 2007.
- MILLER, K.I. & Webster, G.L. 1962. Systematic position of *Cnidoscolus* and *Jatropha*. **Brittonia** 14. p. 174-180.
- MOELLERING Jr R. C. Novos desafios no campo das doenças infecciosas. In: Patógenos emergentes nas doenças infecciosas: Relatório Especial Hospital Práctice. **Euromédice**. Ed. Médicas, 2000.
- MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. da S. Planejamento Racional de Fármacos Baseado em Produtos Naturais. **Química Nova**, v. 24 n. 1, p. 105-111. 2001.
- MORAES, A. M. JUSTO, O. R.; BARRETO, G. P. M.; MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. T. V. **Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico**. **Quím. Nova**, v. 31, p.1699-1705, 2008.
- MORAIS, N.R.L.; OLIVEIRA NETO, F.B.; MELO, A.R.; BERTINI, L.M.; SILVA, F.F.M.; ALVES, L.A. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidoscolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.18, n.1, p.180-185, 2016.
- MONTEIRO, LUANA PEREIRA. **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DO EXTRATO VEGETAL DE *Croton urucurana* Baill EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS**. Dissertação de Mestrado, Programa de PósGraduação em Bioquímica Aplicada, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

MCVAUGH, R. 1944. The genus *Cnidoscolus*: generic limits and intrageneric groups. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** **71**. p.457-474.

MUENSCHER, W.C. Euphorbiaceae. In: MUENSCHER, W.C. (Ed.) **Poisonous plants of the United States**. New York: The Macmillan Company. p. 142-152, 2958

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**. p. 629-661, 2016.

Nowicke, J.W. 1994. A palynological study of Crotonoideae (Euphorbiaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden** **81**: 245-269.

OLIVEIRA, S. G. D. *et al.* An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 428– 437, 2012.

OLIVEIRA Jr, RAIMUNDO GONÇALVES. **ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE *Cnidoscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE) EM CÉLULAS DE MELANOMA HUMANO**. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Folha informativa – Câncer**. 2018. Disponível em: https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=839. Acesso em: 16 nov. 2018.

PAULA, C. A., **CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Cnidoscolus phyllacanthus***. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2014.

PUNT, W. 1962. Pollen morphology in the Euphorbiaceae with special reference to taxonomy. **Wentia** **7**, p 1-116.

PRAKASH, O. *et al.* Anticancer Potential of Plants and Natural Products: **A Review**. **American Journal of Pharmacological Sciences**, v. 1, p. 104-115, 2013.

RANDAU, K.P.; FLORENCIO, D.C.; FERREIRA, C.P.; XAVIER, H.S.; Avaliação preliminar da atividade farmacológica (antiespásmica e antiulcerogênica) do extrato aquoso bruto de *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.14, n.2. 2002.

RANJAN, A NEEL M. FOFARIA, SUNG-HOON KIM, SANJAY K. SRIVASTAVA. Modulation of signal transduction pathways by natural compounds in cancer. **Journal of Natural Medicines**. 2015.

RESCHKE, A.; MARQUES, L.M.; MAYWORM, M.A.S. Atividade antibacteriana de *Ficus benjamina* L. (Moraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 9, n. 2, p. 67-70, 2007.

RIVOIRE, W. A.; CAPP, E.; CORLETA, H. E.; SILVA, I.S.B.; Molecular Basis of Cervical Oncogenesis. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 2, n.47, p. 179-184, 2001.

RIBEIRO, R. N. S.; TOURINHO, M. M.; SANTANA, A. C. Avaliação da sustentabilidade agroambiental de unidades produtivas agroflorestais em várzeas

flúvio marinhas de Cametá - Pará. **Acta Amazonica**, Manaus, Belém, PA. v.34, p. 359-374, 2004.

ROSAS, M. S. L. *et al.* Incidência do Câncer no Brasil e o Potencial Uso dos Derivados de Isatinas na Cancerologia Experimental. **Rev. Virtual Quim.** v.5, n. 2. 2013. Disponível em: <http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v5n2a11.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2018.

ROSSI, D., *et al.* Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of Croton lechleri (Muell. Arg.) latex. **Phytomedcentral**, v. 10, p. 139-144, 2003.

SANTOS. M. O.; Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA. p. 128, 2017. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/rbc/n_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf. Acesso: 11 dez. 2018.

SAMPAIO, MARINA CARVALHO. **Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões à base de óleo de buriti (Mauritia flexuosa) para avaliação de efeitos biológicos em células de câncer de mama in vitro**. Dissertação de Mestrado, Programa de Programa de Pós-graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, Brasília, 2017.

PRATT, W.B.; RUDON, R. W.; ENSMINGER, W. D.; MAYBAUN, J. **The anticâncer drugs**. 2 ed. New York: Oxford University, 1994.

SANTORI, Mara Rúbia Keller. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE FRAÇÕES DE EXTRATOS E COMPOSTOS PUROS OBTIDOS DAS FLORES DE *Acmela brasiliensis* SPRENG (*Wedelia paludosa*) (ASTERACEAE)**. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, 2005.

SARAIVA, Rosa Márcia Corrêa. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINAIS FRENTE À BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES E A SUA INTERAÇÃO COM DROGAS ANTIMICROBIANAS**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

SATIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 99-118, Mar. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062008000100013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 11 dez. 2018

SECCO, R. S. *et al.* An Overview of Recent Taxonomic Studies on Euphorbiaceae s. l. in Brazil. **Rodriguésia**. v. 63, n. 1, p. 227- 242, 2012.

SHANMUGAM, M. K. *et al.* Cancer prevention and therapy through the modulation of transcription factors by bioactive natural compounds. **Seminars in Cancer Biology**, v. 40-41, p. 35-47, 2016.

SILVA M.D.P.; MARINI, F.S.2; MELO, R.S. Levantamento de plantas medicinais cultivadas no município de Solânea, agreste paraibano: reconhecimento e valorização

do saber tradicional. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Campinas, v.17, n.4, supl. II, p.881-890, 2015.

SILVA, Jéssica Moreira Batista. **PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DA RESINA EXSUDATA DE *Albizia lebbbeck***. Monografia (Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) – Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande. 2016.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/ Florianópolis. Ed. UFRGS/ Ed. UFSC. p. 229-615, 2010.

SOUZA, ANILSON JOSÉ DE. **Estudo fitoquímico e atividade biológica in vitro de *Cnidocolus urens* L. (Arthur) (EUPHORBIACEAE)**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2014.

SOUZA, PÂMELLA GRASIELLE VITAL DIAS DE. **AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTITUMORAL DE *Cnidocolus urens* EM CAMUNDONGOS Swiss**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SOBRINHO, T.J.S. P. *et al.* Phytochemical screening and antibacterial activity of four *Cnidocolus* species (Euphorbiaceae) against standard strains and clinical isolates. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 6, n. 21, p.3742-3748, 2012.

SOBRINHO, Tadeu José da Silva Peixoto. **ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Cnidocolus* PRESENTES NO ECOSSISTEMA CAATINGA COM POTENCIL ATIVIDADE TERAPÊUTICA**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SPENCE, R.A.J.; JONHSTON, P. G. **Oncology**, Oxford University Press, Oxford, p.536, 2001.

SCHENKEL, E.P.; SIMÕES, C.M.O.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK. P.R.(Orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.

SNYDER L. R., KIRKLAND, J. J., GLAJCH, J. L., Practical HPLC method development. **John Wiley& Sons Inc**, 2ed. New York, 1997.

TAVARES, E. A.; SOBRINHO, T. S. P.; CASTRO, V. T. N. A.; FILHO, J. V.; MILITÃO, G. C. G.; SILVA, T. G.; AMORIM, E. L.C. Antiproliferative activity of species of the genus *Cnidocolus* against HT-29, Hep-2 and NCI-H292 cells. **Molecular & Clinical Pharmacology**, v. 3, p.55-61, 2012.

THOMAZI, Guilherme. **MUTAÇÕES DO GENE TP53 EM TUMORES CANINOS E SUA RELAÇÃO COM A EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À APOPTOSE, CONTROLE DE CICLO CELULAR E ANGIOGÊNESE**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

VIEGAS JUNIOR, C. *et al.*, Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v.29, n.2, p.326-37, 2006.

WARD, L. S. **Entendendo o Processo Molecular da Tumorigênese. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 46, p.351- 360, 2002.

WEBSTER, G.L. & RUPERT, E.A. 1973. Phyllogenetic significance of pollen nuclear number in the Euphorbiaceae. **Evolution** **27**. p.524-531.

WEBSTER, G. L. Classification of the Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81, n. 1, p. 3-32, 1994.

WMINE, J. T.; DAMME, P. V. Why do Euphorbiaceae tick is medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinais features. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 5, p. 652-662, 2011.

YUNES. A.R., FILHO. C.V. Novas Perspectivas dos Produtos Naturais na Química Medicinal Moderna. **Química de Produtos Naturais, Novos Fármacos e a Moderna Farmacognosia**, 2ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, p.11-36, 2009.