

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 17/08/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Ana Paula Costa Rodrigues Ferraz

**Atividade bioativa do extrato dos frutos de Jurubeba
(*Solanum paniculatum* L.) em linhagens celulares
humanas de adenocarcinoma mamário**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor(a) em Patologia.

Orientador (a): Prof(a). Dr(a). Camila Renata Corrêa
Coorientador(a): Prof(a). Dr(a). Alessandra Sussulini
Dr. Klinsmann Carolo dos Santos
Dr. Igor Otávio Minatel

Ana Paula Costa Rodrigues Ferraz

Atividade bioativa de extratos dos frutos de
Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) em linhagens
humanas de adenocarcinoma mamário

Tese apresentada à Faculdade
de Medicina, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título
de Doutor(a) em Patologia.

Orientador (a): Prof(a).Dr(a). Camila Renata Corrêa
Coorientador(a):Prof(a).Dr(a). Alessandra Sussulini
Dr. Klinsmann Carolo dos Santos
Dr. Igor Otávio Minatel

Botucatu
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRE 8/7500

Ferraz, Ana Paula Costa Rodrigues.

Atividade bioativa do extrato dos frutos de Jurubeba
(*Solanum paniculatum* L.) em linhagens celulares humanas de
adenocarcinoma mamário / Ana Paula Costa Rodrigues Ferraz.
- Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Camila Renata Corrêa
Coorientador: Klinsmann Carolo dos Santos
Coorientador: Alessandra Sussulini
Capes: 40101045

1. Plantas medicinais. 2. Solanácea. 3. Estresse
oxidativo. 4. Espécies reativas de oxigênio.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Jurubeba; ROS; *Solanum
paniculatum* L.

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente ao Deus do meu coração pela oportunidade de fazer do meu ser, veículo de contribuição a humanidade.

Dedico aos meus pais, Arnaldo e Kátia e às minhas irmãs Nathália e Ana Carolina, os quais são a base de sustentação do meu ser, me apoiando na minha trajetória universitária.

Dedico à Prof^a Camila Renata Correa por me auxiliar durante esses quatro anos e contribuir para o meu crescimento profissional, sempre serei grata.

Dedico especialmente este trabalho aos meus amigos e companheiros de laboratório, Klinsmann Carolo dos Santos e Jéssica Leite Garcia, os quais contribuíram de forma ativa e especial para a execução deste trabalho.

Dedico a todos meus amigos que de alguma forma foram expressões de compreensão e apoio ao longo da execução deste trabalho.

Agradecimientos
especiais

Agradeço a Prof^{ta}. Dr^a. Camila Renata Corrêa pela oportunidade, orientação e amizade ao longo destes anos.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. Denise Fecchio por possibilitar que esta pesquisa fosse realizada. Giuseppina Pace Pereira Lima e seu grupo de pesquisa. Gisela Ferreira, pelo auxílio na execução deste trabalho. Daisy Maria Favero Salvadori e Elaine Aparecida de Camargo pela colaboração com esse trabalho.

Ao Centro de Isótopos Estáveis (CEI) e toda a sua equipe em especial, Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, Cibele, Nádia, Evandro e Mariana pelo suporte técnico e a amizade.

Agradeço a todos meus companheiros de laboratório: Fabiane Valentini Francisquetti, Artur Ferron, Fernando Moreto, Mariane Róvero, Carol Vágula, Bismarque Souza Pereira e especialmente à Jéssica Leite Garcia e Klinsmann Carolo dos Santos pela sabedoria compartilhada, amizade e companheirismo.

Agradeço especialmente à Vickeline Namba Androcioli e Ana Paula Dória pelo suporte técnico e amizade.

Agradeço a todos os funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental, dos Departamentos de Patologia, Química e Bioquímica, Centro de Isótopos Estáveis e Botânica que de alguma forma colaboraram neste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Patologia, em especial as professoras Dra. Denise Fecchio e Dra. Márcia Guimarães e a secretária Vânia Soler, por todo suporte técnico-administrativo, assim como toda a equipe da seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa inicial (Processo: 130379/2016-6), A CAPES/DS pela bolsa de doutorado e a FAPESP (Processo: 2018/15294-3), pelo auxílio pesquisa do laboratório.

Epigrafe

“...é verdade que Deus faz o mundo calculando, mas seus cálculos nunca estão corretos, e é mesmo esta injustiça no resultado, esta irreduzível desigualdade, que forma a condição do mundo.”

— Gilles Deleuze

Resumo

Estimativas epidemiológicas mundiais consideram o câncer de mama como a segunda causa de morte na população mundial. Diversos são os fatores que contribuem para o desenvolvimento do câncer, este utiliza o estresse oxidativo para proliferação celular, metástase e angiogênese. *Solanum paniculatum* L. ou popularmente conhecida como Jurubeba, é uma planta medicinal reconhecida pela ANVISA onde suas folhas e raízes são popularmente utilizadas para tratamento gástrico, antibacteriana, antidiarreica e anti-inflamatória, entretanto, pouco se sabe sobre o efeito biológico no câncer bem como o seu perfil fitoquímico de antioxidantes. O objetivo geral desse trabalho foi avaliar a atividade bioativa do extrato dos frutos de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L) em linhagens celulares de adenocarcinoma mamário. Objetivo específico 1: Investigar o perfil fitoquímico da formulação hidroetanólica dos frutos e o seus efeitos na produção de ROS e citocinas em células humanas de câncer de mama e células endoteliais. Objetivo específico 2: Avaliar o efeito biológico do extrato de Jurubeba no Estado Redox em células MCF-7 de câncer de mama. O extrato hidroetanólico foi formulado e caracterizado o perfil de antioxidantes. Células endoteliais e de câncer de mama (HUVEC, MDA-MB-231 e MCF-7) foram utilizadas para estabelecer os parâmetros farmacológicos (doses 1.87, 3.75, 7.5, 15, 30 e 60 µg/mL) e avaliou-se por citometria de fluxo as Espécies Reativas (ROS) e citocinas (interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1-β) por kit ELISA. Posteriormente, em células MCF-7 testou-se na expressão de enzimas antioxidantes endógenas e o estado redox por biomarcadores de proteína carbonilada (PCO), 4 – Hidroxinonenal (4-HNE) e Malonaldeído (MDA). A luteína foi o composto majoritário encontrado no extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L. A dose 3.75 µg/mL diminuiu significativamente a produção de IL-6 e não mostrou-se citotóxica, o estado redox aumentou com a dose de 3.75 µg/mL mostrando-se com um potencial pro-oxidante e a dose 7.5 µg/mL modulou positivamente a produção de ROS. O presente estudo são dados iniciais sobre o efeito do extrato em células de câncer de mama e mostram-se como importantes achados em futuras terapêuticas tumorais.

Palavras-chave: Jurubeba, *Solanácea*, estresse oxidativo, ROS.

Abstract

Worldwide epidemiological estimates consider breast cancer as the second leading cause of death in the world population. There are several factors that contribute to the development of cancer, which uses oxidative stress for cell proliferation, metastasis and angiogenesis. *Solanum paniculatum* L. or popularly known as Jurubeba is an ANVISA-recognized medicinal plant where its leaves and roots are popularly used for gastric, antibacterial, antidiarrheal and anti-inflammatory treatment, however, little is known about the biological effect on cancer as well as its phytochemical profile of antioxidants. The aim of this work was to evaluate the bioactive activity of Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) fruit extract in mammary adenocarcinoma cell lines. Specific Objective Article 1: To investigate the phytochemical profile of fruit hydroethanolic formulation and its effects on the production of ROS and cytokines in human breast cancer cells and endothelial cells. Specific objective Article 2: To evaluate the biological effect of Jurubeba extract in Redox state on MCF-7 breast cancer cells. The hydroethanolic extract was formulated and characterized the antioxidant profile. Endothelial and breast cancer cells (HUVEC, MDA-MB-231 and MCF-7) were used to establish pharmacological parameters (doses 1.87, 3.75, 7.5, 15, 30 and 60 µg / mL) and were evaluated by cytometry. Reactive Oxygen Species (ROS) and cytokines (interleukin 6 (IL-6) and interleukin 1-β) by ELISA kit. Subsequently, MCF-7 cells were tested for expression of endogenous antioxidant enzymes and redox status by biomarkers of carbonylated protein (PCO), 4-hydroxynonenal (4-HNE) and Malonaldehyde (MDA). Lutein was the major compound found in the hydroethanolic extract of *Solanum paniculatum* L. The dose 3.75 µg / mL significantly decreased IL-6 production and was not cytotoxic, the redox state increased with the dose of 3.75 µg / mL with a pro-oxidant potential and the 7.5 µg / mL dose positively modulated ROS production. The present study provides initial data on the effect of the extract on breast cancer cells and is an important finding in future tumor therapies.

Key-words: Jurubeba, *Solanácea*, oxidative stress, ROS

Lista de Ilustrações

Figura 1. Adaptação de Weinberg et al. (1942). Representação de estudos morfológicos teciduais em câncer de mama.

Figura 2. Representação de (A) ductos hiperplásicos mamários (B) invasividade das cavidades luminais. Adaptado de Weinberg et al. (1942).

Figura 3. Sinalização do ROS no câncer. Adaptado de Moloney et al. 2018.

Figura 4. Relação do mecanismo de estresse oxidativo, inflamação e câncer. Elaborada pela autora.

Figura 5. *Solanum paniculatum* L. Adaptado de Ministério da Saúde, 2015.

Lista de abreviaturas e siglas

Classificação de Tumores Malignos	TNM
Instituto Nacional do Câncer	INCA
Agência Internacional de Pesquisa em Câncer	IARC
Marcadores Imunohistoquímicos	IHC
Espécies Reativas	ROS
Superóxido dismutase	SOD
Catalase	CAT
peroxidação lipídica de ácidos poli-insaturados	PUFA
radical lipoperoxil	LOO•
hidroperóxido lipídico	LOOH
Malonaldeído	MDA
4-Hidroxinonenal	4-HNE
Fator de Necrose Tumoral	TNF
Interleucina 6	IL-6
International Union of Pure and Applied Chemistry	IUPAC
Agência Nacional de Vigilância Sanitária	ANVISA
Hydroethanolic Extract of <i>Solanum Paniculatum</i> L.	HESPL
Entrance Potential	EP
Collision Energy	CE
Collision Cell Exit Potential	CXP
Curtain Gas	API
Medium Collision Gas	CAD
Selective Reaction Monitoring	SRM
Radical Sequestration Method	DPPH •
Fetal Bovine Serum	FBS
Dimethyl Sulfoxide	DMSO
Interleukin 1 β	IL- 1 β
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	CAPES
Protein Carbonyl	PCO
Manganese Superoxide Dismutase	MnSOD
Malondialdehyde	MDA
Antioxidant Capacity	AC
Phosphatidylcholine	PC
Standart Deviation	SD
Total Antioxidant Performance	TAP
Chemotherapy-Induced Nausea And Vomiting	CINV
Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy	CIPN

Sumário

Capítulo I – Introdução	19
Introdução	20
Capítulo II – Artigos Científicos	41
Capítulo II – Artigo I – Informações de submissão	44
Capítulo II Hydroethanolic extract of <i>Solanum paniculatum</i> L fruits modulates ROS and cytokine in human cell lines	45
Capítulo III – Artigo II – Informações de submissão	58
Capítulo III – Redox State Profile of the Breast Cancer Cell Line MCF-7 After Treatment with Hydroethanolic Extract of <i>Solanum paniculatum</i> L	59
Conclusão	79

Capitulum II

1. INTRODUÇÃO

1.1. O estudo do câncer de mama : Histórico e definição

Desde a época Mendeliana (1860), as alterações genéticas podiam ser estudadas e analisadas por diversos pesquisadores. Devido as inúmeras alterações no gene, o desenvolvimento de técnicas de seqüenciamento do DNA permitiu os estudos das mutações genéticas, de importante interesse nas pesquisas iniciais de câncer bem como na evolução das espécies, contribuindo com os estudos darwinianos (1). Modificações na expressão gênica e epigenéticas como alterações histonais, e controle de fatores de transcrição mostraram-se como principais áreas em estudos iniciais na investigação fenotípica do câncer conferindo a hereditariedade como primeiro principal fator contribuinte para o desenvolvimento tumoral(2).

“...Quando publiquei os resultados de meus experimentos sobre o desenvolvimento de ovos de ouriço-do-mar com fertilização dupla em 1902, acrescentei a sugestão de que tumores malignos podem ser o resultado de uma determinada condição anormal dos cromossomos, que podem surgir da mitose multipolar. ... Assim Eu tenho continuado por muito tempo o tipo de experimentos que eu sugeri, que são até agora sem sucesso, mas minha convicção permanece inabalável.”
Theodor Boveri, patologista, 1914 (Boveri T apud Weinberg, Robert et al. 1942).

A habilidade da natureza do câncer de desenvolvimento somático e alterações morfológicas atraíram diversos pesquisadores em relação às primeiras classificações morfológicas do câncer (Figura 1). A morfologia dos tecidos tumorais mostra-se com desarranjos das suas células e nos espaços intercelulares com características de anormalidades do núcleo, aumento do espaço tecidual e invasividade em outros tecidos (3).

“O câncer é “um grupo de doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células”, as quais proporcionam uma desequilíbrio na homeostasia biológica e ao formar nódulos ou massas, são chamadas de tumores e posteriormente, são nomeados individualmente após acometer uma parte específica do organismo” (Adaptado de Breast cancer: Facts & Figures 2017-2018. In: American Cancer Society. 2018.)

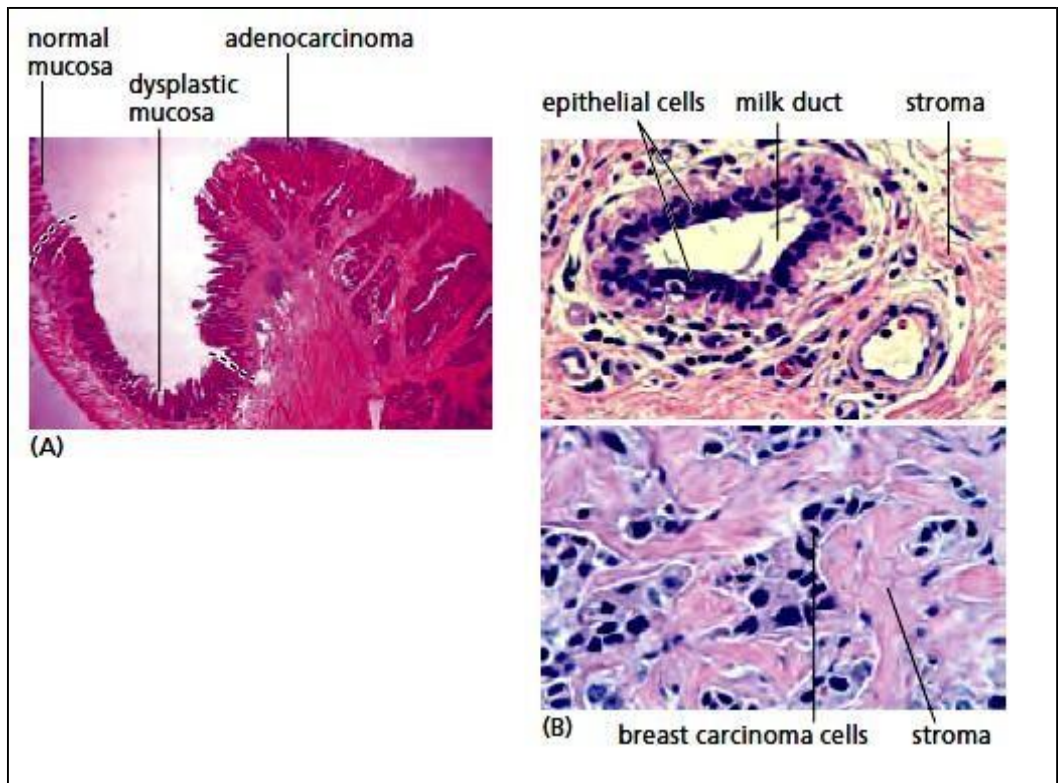


Figura 1. Representação de estudos morfológicos teciduais em câncer de mama. Adaptação de Weinberg et al. (1942).

O estudo histológico do câncer contribuiu para evoluções na prática clínica por meio das suas classificações comumente utilizadas. Dentre as diversas classificações dos cânceres, desenvolveu-se no Brasil, um método de Classificação de Tumores Malignos (TNM) pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) (4). Em situações de invasividade em outros tecidos, o câncer se classifica como maligno e quando há apenas um crescimento local, é um tumor benigno. Em relação à natureza tecidual, quando é de natureza epitelial é classificado como “carcinoma”, e de natureza glandular, possui a abreviação “Adenoma”(4).

Ainda de acordo com o INCA (2004), existem duas terminologias para o câncer de mama: Adenocarcinoma mamário, quando maligno ou “Adenoma” quando benigno. Estes possuem um tipo epitelial de tecido que contém células especializadas em secretar substâncias nos ductos ou cavidades (Lumina) (Figura 2)

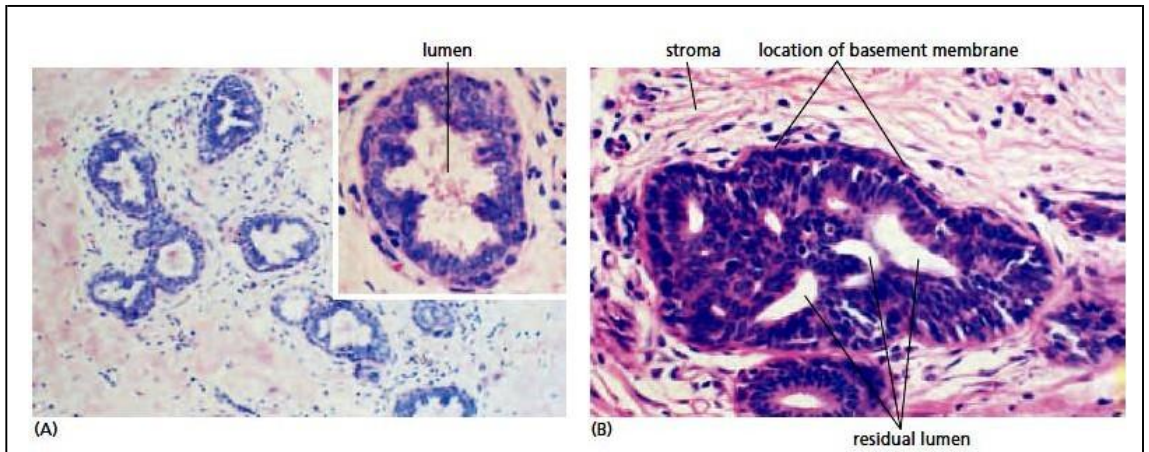


Figura 2. Representação de (A) ductos hiperplásicos mamários (B) invasividade das cavidades luminiais. Adaptado de Weinberg et al. (1942).

Células especializadas no estudo do câncer de mama são comumente utilizadas em pesquisas científicas e estas estão classificadas de acordo com a sua distribuição heterogênea e seus biomarcadores associados. Os distintos subtipos funcionais de câncer de mama são conhecidos como Luminal, células MCF-7, de tumor primário entram nessa subclassificação. Basal A ou B, a MDA-MB-231, por exemplo, é uma célula potencialmente invasiva classificada em Basal B, entre outros tipos celulares (5).

12. Epidemiologia e formação do câncer de mama

Estimativas epidemiológicas mundiais consideram o câncer de mama como a segunda causa de morte na população, atingindo-a de uma forma significativa (6) existindo mais de 18,1 milhões de novos casos de acordo com a IARC and New Global Cancer Data (2018), com 21% nas Américas, 23,4% na Europa, 48,4% na Ásia e 5,8% nas regiões da África, mostrando um perfil heterogêneo de distribuição entre os diversos países que são acometidos (7,8). Essa heterogeneidade se dá principalmente ao acesso ao diagnóstico precoce e a sobrevivência relacionada aos acessos a tratamentos quando detectado (8).

No ano de 2018 foi estimado em torno de 2.088.849 (11.4%) novos casos de câncer de mama (9), acometendo as mulheres nos países desenvolvidos e nos em desenvolvimento (10). Entretanto, quando diagnosticado em seus primeiros estágios, por meio de marcadores imunohistoquímicos (IHC) e variáveis clínico

patológicas como tamanho e grau do tumor, envolvimento nodal, tipos histológicos, margens cirúrgicas e entre outros (11), é um tipo de câncer que possui um bom prognóstico para tratamentos e/ou métodos profiláticos (12).

A formação do câncer, ou o processo de carcinogênese podem ser influenciadas por agentes cancerígenos conhecidos como fatores intrínsecos e extrínsecos (13). As mutações ao DNA relacionados com a susceptibilidade genética que podem ser associados com a hereditariedade e fatores ambientais como radiações (UV, ionizante, eletromagnética), consumo de álcool, uso de tabaco, microorganismos (vírus, bactérias, e parasitas) e agentes químicos são conhecidos como fatores intrínsecos e extrínsecos, respectivamente (14).

O efeito cumulativo dos agentes cancerígenos proporcionam ações genotóxicas no microambiente celular e o processo de formação do câncer é subdividido em iniciação, a qual envolve a formação de mutação genética a partir da genotoxicidade; promoção, com expansão clonal seletiva dose-dependente das células iniciadas para a células malignas e por fim, a progressão caracterizado por irreversibilidade, instabilidade genômica com perturbação da integridade cromossomal e alterações moleculares bem estabelecidas desde o processo inicial da carcinogênese (iniciação) (15,16).

A célula neoplásica possui características biológicas individuais como resistência à morte, ativação de crescimento e metástase, sustentação da sinalização da proliferação celular, imortalidade e indução de angiogênese (11,17,18), as quais sustentam a malignidade do câncer, concomitantemente com fatores como a inflamação crônica e o estresse oxidativo, que auxiliam no aumento da sobrevivência e proliferação celular, ativação de sinalização pré-tumorigênica e conduz a instabilidade genômica em diversos tipos de cânceres (19–21).

Dentre as diversas maneiras de atenuar o desenvolvimento de células tumorais, a prevenção primária se destaca por ser de baixo custo e que possa promover alguma repercussão para diversos tipos de câncer que possuem causas em comum, como a redução do tabagismo, alimentação saudável, práticas de atividades físicas e terapia molecular individualizada (22). Adicionalmente, o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para atenuação e/ou profilaxia aos diversos tipos de cânceres têm se evidenciado em pesquisas científicas na atualidade (23–28).

13. Estresse Oxidativo, Inflamação e Câncer

Durante o metabolismo normal do organismo, substâncias oxidantes conhecidas como radicais livres ou espécies reativas (ROS) são produzidas naturalmente em todos os tipos celulares principalmente por meio da fosforilação mitocondrial (29). As espécies reativas possuem um importante papel fisiológico na biologia celular como defesa imunológica e sinalização (30). Dentro desta condição é estimado que aproximadamente 4 - 5% do oxigênio molecular é convertido em espécies reativas, conjuntamente estas também são produzidas durante o metabolismo da enzima P450, na ativação de processos inflamatórios e na ação de peroxissomos a níveis celulares (31).

O grupo do ROS é contemplado por variedades de espécies reativas como o superóxido ($O_2 \bullet^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila ($OH\bullet$) como os mais comuns encontrados na biologia celular. Dentro desta família o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) destaca-se como um importante sinalizador tumorigênico (32).

Para a homeostase celular, existe um sistema de defesa antioxidante constituído por enzimas na função de neutralizar essas espécies oxidantes. Para a manutenção e integridade de membranas e biomoléculas são necessárias redes de defesa antioxidantes que podem ser realizadas por qualquer substância que previna o processo de oxidação, através da adição de um oxigênio ou a remoção de um hidrogênio ou elétron das espécies reativas (33,34) presentes no microambiente celular. A enzima superóxido dismutase (SOD) atua na dismutação do superóxido $O_2 \bullet^-$ produzindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual é tolerável pelo organismo biológico, passível à sua degradação por peroxissomos e a enzima Catalase (CAT) (21). Adicionalmente, existem antioxidantes exógenos provenientes da alimentação que podem atuar em sinergismo à SOD e a Catalase (35)

Dentro do contexto do câncer, estas espécies são produzidas em maior quantidade em relação a uma célula normal uma vez que a proliferação celular demanda maior atividade da mitocôndria que confere em maior produção de espécies reativas. Em contrapartida, a célula tumoral possui mecanismos compensatórios para que não ocorra um estresse oxidativo por meio do aumento da atividade de enzimas antioxidantes, mantendo assim o equilíbrio redox para a

manutenção da proliferação celular(36).

O uso de quimioterápicos, ativação do sistema imunológico e depleção do sistema antioxidante leva ao aumento da produção de ROS. Este aumento sinaliza apoptose e morte celular (necrose). (32,36).

O mecanismo de ação no ROS na sinalização celular no câncer é bem estabelecido por meio da ativação de vias como a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK)/ERK 1/2, a via fosfoinositido-3-quinase (PI3K/Akt) e proteína quinase D (PKD), por sua vez, ativando fator nuclear kappa B (NF-kB) e aumentando a proliferação celular. Já na morte celular, os principais mecanismos são envolvidos na translocação do citocromo C para o citoplasma conferindo ações na caspase -3 e -7 por meio da atuação da caspase 9 e 8 (21) (Figura 3).

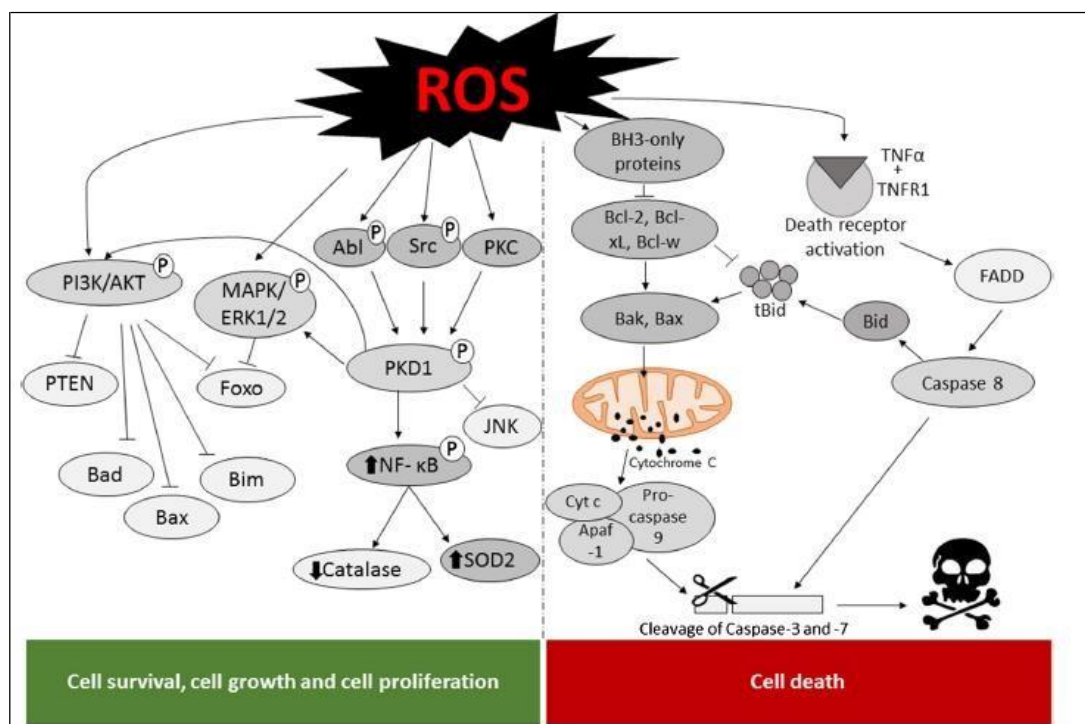


Figura 3. Sinalização do ROS no câncer. ROS ativa vias como PI3K/AKT, MAPK e PKD1 na ativação de diversos mecanismos. Já na morte celular, ativa mecanismos como Bcl-2, Bax e caspase 8. O aumento exarcebado de ROS danifica a membrana mitocondrial, deslocando o citocromo C que atua na clivagem da caspase 3 e 7. Adaptado de Moloney et al. 2018.

As espécies reativas são capazes de quebrar cadeias duplas e ligações

transversais de DNA e modificar as bases nitrogenadas do DNA (37). Ao oxidar as bases do DNA, por exemplo, estas são capazes de induzir mutações comumente observadas nos estágios iniciais de formação do câncer (20). O estresse oxidativo pode produzir produtos intermediários por meio de alterações na homeostase de membranas biológicas via peroxidação lipídica de ácidos poli-insaturados (PUFA), os quais por sua vez, promovem a formação de radical lipoperoxil (LOO•) que reage com hidroperóxido lipídico (LOOH) e visto sua característica molecular susceptível à instabilidade, forma novos produtos derivados de aldeídos, como o MDA, Hexanal, HNE ou Acroleínas (38), uma vez que são biomarcadores de estresse oxidativo utilizados comumente utilizáveis na ciência devido à sua facilidade em detecção e abundância em células e diversos tecidos em organismos celulares à matriz biológica humana (39–41). Dentro deste espectro, o HNE é um importante marcador na carcinogênese regulando o crescimento tumoral (42,43). ROS, por sua vez, pode ativar kinases como a proteína kinase C via metabolização enzimática da fosfolipase C e atuar na regulação da proliferação celular induzindo a carcinogênese conjuntamente com a ativação de diversos fatores de transcrição como NF-kB e entre outros (32).

Ao estimular NF-kB, ocorre a ativação da cascata inflamatória. A inflamação crônica, é outra condição encontrada no câncer que participa principalmente no processo de crescimento neoplásico estimulando a expressão de COX 2 (43). A malignidade da célula tumoral proporciona diversos tipos de condições de inflamação, e em uma situação de proliferação celular descontrolada, alguns oncogenes da família RAS e MYC induzem programas transcricionais que expressam quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral (TNF), IL-6, as quais auxiliam na sobrevivência, angiogênese e proliferação tumoral (45,46) (Figura 4).

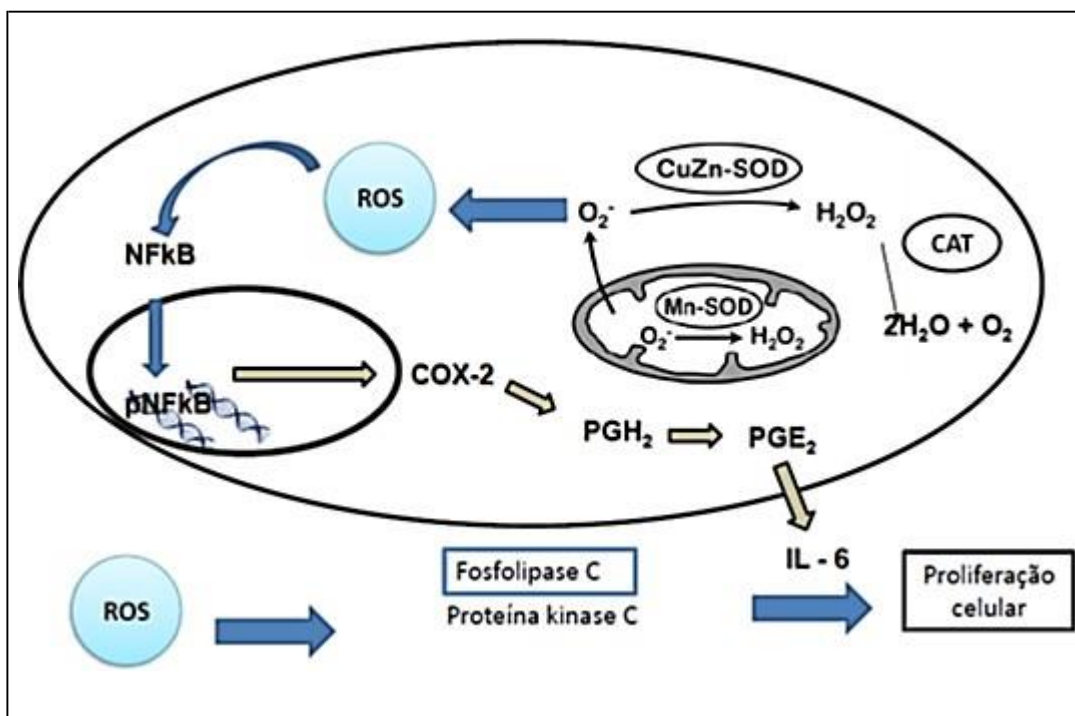


Figura 4. Relação do mecanismo de estresse oxidativo, inflamação e câncer. O aumento da produção de ROS, ativa NF-kB, este fosforilado dentro do núcleo da célula, ativa a via de inflamação COX-2, que ativa prostaglandinas e conseqüentemente, a produção de citocinas. Para conter o ROS, SOD transforma o superóxido ($O_2^{\cdot -}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e estes são transformados em água e oxigênio. Elaborada pela autora.

1.4 A Fitoterapia e sua aplicabilidade biológica

Em uma situação de estresse oxidativo faz-se necessário a complementação de substâncias antioxidantes provenientes da alimentação com afinidades lipo e hidrossolúveis presentes em principalmente frutas, hortaliças e plantas medicinais com evidente atuação na medicina translacional (47,48).

Dietas ricas em frutas e vegetais, assim como o emprego da fitoterapia, têm sido cada vez mais estudados, em função das atividades anti-inflamatórias e antioxidantes de compostos bioativos como polifenóis e carotenoides em diversas doenças e suas adversidades clínico patológicas (49–57) atuando em vias metabólicas favorecendo a prevenção ou atenuação em terapias como fator

complementar e/ou coadjuvante (58–60).

O grupo dos carotenoides possuem afinidades lipofílicas e são adquiridos a partir de alimentos com pigmentações amarelas, laranja e vermelhas (61). A sua estrutura química é composta por 40 cadeias de carbono com destaque para Zeaxantina, β -Criptoxantina, α e β -Caroteno, Licopeno e Vitaminas como A e como os compostos com níveis elevados presentes na matriz biológica humana (62).

Os polifenóis classificados em grupos dos ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas, xantonas e flavonóides possuem propriedades hidrofílicas e lipofílicas, os quais proporcionam uma alta performance antioxidante principalmente porque possuem pelo menos dois anéis fenil com um ou mais substituintes hidroxila e derivados funcionais, tais como ésteres e glicosídeos (63,64) e devido ao seu menor tamanho molecular quando comparado com os carotenoides, interagem mais facilmente e com ação sinérgica nos eventos de desequilíbrio redox em uma matriz biológica (65)

O uso de etanol como solvente em métodos de extrações efetivos foi estabelecido pela Farmacopéia Homeopática Brasileira (66,67) poderia ser uma boa fonte de pesquisa científica com aplicabilidades biológicas e industriais (68,69) pois, é bem estabelecido na literatura os efeitos benéficos de extratos hidroetanólicos formulados de plantas para estudos biológicos em diversas doenças (70–79). Adicionalmente, o uso de etanol proporciona a minimização de depósitos de resíduos químicos no extrato de interesse, abordando os princípios ecológicos da “Química verde”, definida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) como "A invenção, desenvolvimento e aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias perigosas" (68,69,80). Visto que o termo “perigosas” deve ser entendido como substâncias nocivas de algum modo à saúde humana ou ao meio ambiente, os quais são comumente encontrados em solventes orgânicos (clorofórmio, tetraidrofurano (THF), hexano) utilizados em laboratórios científicos, portanto, o uso do etanol como solvente extrator é evidenciado em estudos com sustentabilidade na atualidade (81–83).

1.4.1. *Solanum paniculatum* L. ou “Jurubeba”

Solanum paniculatum L. [Roem. & Schult.], é planta arbustiva, perene e uma hortaliça-fruto não convencional (84), originária da América Tropical, pertencente à família Solanaceae, nativa das regiões Norte e Nordeste do Brasil e encontrada nas regiões do Norte (Pará), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, entre outros), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina) (85). É conhecida popularmente como Jurubeba, Jurupeba, Juripeba, Juvena, Juina ou Juna (86).

Possui em torno de 1 – 1,5 m de altura, tricomatosa revestida de indumento alvo-tomentoso e raiz ramificada em crescimento secundário inicial, com xilema em estrutura hexarca. A raiz é composta por pedaços tortuosos, com diâmetro de até 3 cm, de cor cizento-pardecente clara, levemente sulcada no sentido longitudinal com fendas transversais e várias radículas deixadas em sua queda e, na sua secção transversal é visto uma casca estreita e um lenho bem desenvolvido. O caule, semelhante à raiz, pode atingir até 8 cm, a sua superfície é menos sulcada no sentido longitudinal, não mostrando raízes e com inúmeras lenticelas em forma de pequenas verrugas achatadas. As flores monoclinas e estaminadas, com cálice campanulado, triangular-acuminados com coloração lilás ou alva (85).

Folhas largo-ovaladas a lanceoladas com margens lobadas e acúleos cônicos evidentes e frutos solanídios globulosos de coloração esverdeada a amarela presos em um pendúnculo de acordo com as descrições de Nurit et al. (2007) (87).



Figura 5. *Solanum paniculatum* L. Adaptado de Ministério da Saúde, 2015.

Geralmente é consumida pela população com fins medicinais, sendo suas folhas, caules e raízes preparados por meio de infusões, sucos, chás e extratos alcoólicos que atribuem à Jurubeba o reconhecimento como uma planta medicinal reconhecida pela ANVISA (88) e é um representante de *Solanum* reconhecido como fitoterápico pela Farmacopéia Brasileira, segundo a Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil (1959) (89).

A composição química da Jurubeba é contemplada pela presença de substâncias como neotigogenin, sapogenina nitrogenada esteroidal paniculidina, saponina jurubina e alcalóides como solamargina, solanina e solanidina e nas folhas foram isolados dois glicosídeos espiroestênicos denominados paniculonina A e B, geninas neoclorogenina, paniculogenina. Já nas folhas e flores foi encontrado o alcaloide solanina e esteróides como B-sitosterol, estigmasterol, β -D-xylopyranosyl-(1^{'''} → 3^{'''})- β -D-quinovopyranosyl e diogesnin (85).

Os frutos da Jurubeba, são consumidos popularmente na forma processada, conservas ou em preparações como o arroz com jurubeba e açafrão (*Curcuma longa*

(86) e recentemente, encontramos apenas um estudo da atividade anti-inflamatória dos frutos por meio da ação das propriedades provenientes de fitoesteróis (stigmasterol e β -sitosterol) (91). E diferentemente dos frutos, os extratos aquosos de flores e raízes e folhas da jurubeba já possuem propriedades medicinais bem descritas na atividade inibitória da secreção de ácido gástrico, atuando no tratamento de dispepsia (92,93), antidiarreica (94), ação antibacteriana (95), antiviral (96) e antioxidante (97).

A proteção gástrica das partes das folhas, caules, frutos e raízes desta planta é descrita em diversos trabalhos como o estudo de Mesia-Vela et al. (2002), o qual utilizou camundongos híbridos (C57BL e Balb) para avaliar a atividade antissecretora gástrica e antiúlcera nas concentrações de 0,5 e 2g/kg do extrato aquoso de todas as partes de *S. paniculatum*. O extrato formulado pela raiz mostrou-se com atividade anti-secretora do ácido gástrico mais elevada do que caules e flores, para as folhas, nenhum efeito foi observado e os frutos por sua vez, estimularam a secreção do ácido gástrico. Já no estudo de Botion et al. (2005) com intervenção da Ierobina, a qual é um medicamento formulado com diversas plantas incluindo a *S. paniculatum* e comercializada comumente nas redes de drogarias, esta melhorou a absorção de lipídeos.

No câncer, alguns trabalhos mostram atividade antitumoral de quimioprevenção de *Solanum paniculatum* L. como o estudo de Endringer et al. (2010) com frações clorofórmio e acetato de etila e em células de câncer de fígado (HepG2) (98). De Souza et al. (2019) por sua vez, com um extrato rico em polifenóis, é promissor para efeitos analgésicos da planta (99). A espécie *Solanum paniculatum* também apresentou atividade contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) no estudo de Lôbo et al.(2010) mostrando-se como um potente anti-bacteriano por meio de inibição de crescimento de *E.coli* devido a presença de alcaloides e taninos na composição de *Solanum paniculatum* L. (100).

Com relação à atividade antioxidante, no estudo de Ribeiro et al. (2007) o extrato aquoso bruto das folhas por meio da avaliação do DPPH mostrou-se comparável ao hidroxitolueno butilado (BHT), um antioxidante sintético. Já para atividade anti-inflamatória no estudo de Rios et al. (2017) diminuiu os níveis de

citocinas inflamatórias por meio da redução da expressão de NF-kB e de genes TBET e GATA3.

JUSTIFICATIVA

Considerando a escassez literária sobre os potenciais terapêutico, perfil fitoquímico e potencial antioxidante com enfoque nos compostos bioativos provenientes dos frutos de jurubeba, é de suma importância estabelecer e avaliar estes parâmetros iniciais na ciência básica a fim de contribuir para futuros estudos científicos e possíveis desenvolvimentos de terapias complementares na saúde humana.

HIPÓTESE

A hipótese deste trabalho consiste em que o extrato hidroetanólico de Jurubeba pode melhorar o estado redox de células de câncer de mama por meio do aumento dos marcadores de estresse oxidativo e da produção de ROS bem como diminuir os parâmetros de inflamação.

1. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade bioativa do extrato dos frutos de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L) em linhagens celulares de adenocarcinoma mamário.

Objetivos específicos

- Investigar o perfil fitoquímico da formulação hidroetanólica dos frutos e o seus efeitos na produção de ROS e citocinas em células humanas de câncer de mama e células endoteliais.
- Avaliar o efeito biológico do extrato de Jurubeba no Estado Redox em células MCF-7 de câncer de mama.

Referências Bibliográficas

1. Lande R. Genetics and demography in biological conservation. *Science* (80-). 1988;
2. Weingberg RA. *The biology of Cancer*. Second edition. 2014.
3. Breast cancer: Facts & Figures 2017-2018. In: American Cancer Society. 2018. p. 2018.
4. Ministério da Saúde. TNM: Classificação de Tumores Malignos [Internet]. Uicc. 2004. 254 p. Available from: <http://www1.inca.gov.br/tratamento/tnm/index.asp>
5. Neve RM, Chin K, Fridlyand J, Yeh J, Baehner FL, Fevr T, et al. A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer Cell*. 2006;10:515–27.
6. Cancer incidence, mortality and prevalence world-wide. In: GLOBOCAN. 2012.
7. Vineis P, Wild CP. Global cancer patterns: Causes and prevention. *Lancet*. 2014;383(9916):549–57.
8. Abdel-Wahab M, Bourque JM, Pynda Y, Izewska J, Van der Merwe D, Zubizarreta E, et al. Status of radiotherapy resources in Africa: An International Atomic Energy Agency analysis. *Lancet Oncol*. 2013;14(4):e168–75.
9. Asia S, Asia S, Hdi H. Source: Globocan 2018. Vol. 876. 2019. p. 2018–9.
10. Cancer Country Profiles 2014. World Health Organization. 2015.
11. Dai X, Xiang L, Li T, Bai Z. Cancer hallmarks, biomarkers and breast cancer molecular subtypes. Vol. 7, *Journal of Cancer*. 2016. p. 1281–94.
12. What is breast cancer? In: Canadian Cancer Society. 2017. p. 2017.
13. Wu S, Powers S, Zhu W, Hannun YA. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. *Nature*. 2016;529(7584):43–7.
14. Ashford NA, Bauman P, Brown HS, Clapp RW, Finkel AM, Gee D, et al. Cancer risk : Role of environment. Vol. 347, *Letters- Science*. 2015.
15. Abel EL, DiGiovanni J. Multistage carcinogenesis. *Curr Cancer Res*.

- 2011;6:27–51.
16. Barcellos-Hoff MH, Lyden D, Wang TC. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. Vol. 13, *Nature Reviews Cancer*. 2013. p. 511–8.
 17. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57–70.
 18. Horne SD, Pollick SA, Heng HHQ. Evolutionary mechanism unifies the hallmarks of cancer. Vol. 136, *International Journal of Cancer*. 2015. p. 2012–21.
 19. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? Vol. 49, *Free Radical Biology and Medicine*. 2010. p. 1603–16.
 20. Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress in carcinogenesis. *Curr Opin Toxicol*. 2017;7:IBC-IBC.
 21. Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2017;
 22. Romaguera D, Vergnaud A, Peeters PH, Gils CH Van, Chan DSM, Ferrari P, et al. Is concordance with World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research guidelines for cancer prevention related to subsequent risk of cancer? Results from the EPIC study. *Am J Clin Nutr*. 2012;96:150–63.
 23. Garzon R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: Rationale, strategies and challenges. Vol. 9, *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010. p. 775–89.
 24. Chauhan VP, Jain RK. Strategies for advancing cancer nanomedicine. Vol. 12, *Nature Materials*. 2013. p. 958–62.
 25. Pe'er D, Hacoen N. Principles and Strategies for Developing Network Models in Cancer. *Cell*. 2011;144(6):864–73.
 26. Wheeler HE, Maitland ML, Dolan ME, Cox NJ, Ratain MJ. Cancer pharmacogenomics: Strategies and challenges. Vol. 14, *Nature Reviews Genetics*. 2013. p. 23–34.
 27. Yi L, Li J. CRISPR-Cas9 therapeutics in cancer: promising strategies and

- present challenges. Vol. 1866, *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*. 2016. p. 197–207.
28. Nguyen, D.-D.; Chang S. Development of Novel Therapeutic Agents by Inhibition of Oncogenic MicroRNAs. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):65.
 29. Sullivan LB, Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species and cancer. *Cancer and Metabolism*. 2014.
 30. Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. 2010;
 31. Sies H. *Biochemistry of Oxidative Stress*. Vol. 25, *Angewandte Chemie International Edition in English*. 1986. p. 1058–71.
 32. Reczek CR, Chandel NS. The Two Faces of Reactive Oxygen Species in Cancer. *Rev Adv*. 2017;(August 2016):1–20.
 33. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. Vol. 2014, *BioMed Research International*. 2014.
 34. Stanner S, Weichselbaum E. Antioxidants. In: *Encyclopedia of Human Nutrition*. 2013. p. 88–99.
 35. Bouayed J, Bohn T. Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;
 36. Chio IIC, Tuveson DA. ROS in Cancer: The Burning Question. *Trends in Molecular Medicine*. 2017.
 37. Cadet J, Davies KJA. Oxidative DNA damage & repair: An introduction. *Free Radic Biol Med*. 2017;107:2–12.
 38. Barrera G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *ISRN Oncol*. 2012;2012:1–21.
 39. Niki E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. Vol. 1840, *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2014. p. 809–17.
 40. Niki E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers. *Biofactors*. 2008;34(2):171–80.
 41. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, et al. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal*. 2015;23(14):1144–70.

42. Zhong H, Yin H. Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: Focusing on mitochondria. Vol. 4, Redox Biology. 2015. p. 193–9.
43. Gasparovic AC, Milkovic L, Sunjic SB, Zarkovic N. Cancer growth regulation by 4-hydroxynonenal. Vol. 111, Free Radical Biology and Medicine. 2017. p. 226–34.
44. Isakov N. Protein kinase C (PKC) isoforms in cancer, tumor promotion and tumor suppression. Seminars in Cancer Biology. 2017;
45. Grinberg-Bleyer Y, Ghosh S. A Novel Link between Inflammation and Cancer. Vol. 30, Cancer Cell. 2016. p. 829–30.
46. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. Vol. 140, Cell. 2010. p. 883–99.
47. Schmidt HHHW, Stocker R, Vollbracht C, Paulsen G, Riley D, Daiber A, et al. Antioxidants in Translational Medicine. Antioxid Redox Signal. 2015;23(14):1130–43.
48. Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. Vol. 430, Archives of Biochemistry and Biophysics. 2004. p. 97–103.
49. Lesjak M, Beara I, Simin N, Pintać D, Majkić T, Bekvalac K, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. J Funct Foods. 2018;40:68–75.
50. Limmongkon A, Nopprang P, Chaikandee P, Somboon T, Wongshaya P, Pilaisangsuree V. LC-MS/MS profiles and interrelationships between the anti-inflammatory activity, total phenolic content and antioxidant potential of Kalasin 2 cultivar peanut sprout crude extract. Food Chem. 2018;239:569–78.
51. Ammar I, Ben Salem M, Harrabi B, Mzid M, Bardaa S, Sahnoun Z, et al. Anti-inflammatory activity and phenolic composition of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) flowers. Ind Crops Prod. 2018;112(July 2017):313–9.
52. Sricharoen P, Lamaiphan N, Patthawaro P, Limchoowong N, Techawongstien S, Chanthai S. Phytochemicals in Capsicum oleoresin from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant

- activities due to some phenolic compounds. *Ultrason Sonochem.* 2017;38:629–39.
53. Ndayishimiye J, Lim DJ, Chun BS. Antioxidant and antimicrobial activity of oils obtained from a mixture of citrus by-products using a modified supercritical carbon dioxide. *J Ind Eng Chem.* 2018;57:339–48.
 54. Ndayishimiye J, Chun BS. Optimization of carotenoids and antioxidant activity of oils obtained from a co-extraction of citrus (Yuzu ichandrin) by-products using supercritical carbon dioxide. *Biomass and Bioenergy.* 2017;106:1–7.
 55. Kulczyński B, Gramza-Michałowska A, Kobus-Cisowska J, Kmiecik D. The role of carotenoids in the prevention and treatment of cardiovascular disease – Current state of knowledge. Vol. 38, *Journal of Functional Foods.* 2017. p. 45–65.
 56. Tanumihardjo SA. Carotenoids and human health. *Carotenoids and Human Health.* 2013. 1–331 p.
 57. Jimenez-Garcia SN, Guevara-Gonzalez RG, Miranda-Lopez R, Feregrino-Perez AA, Torres-Pacheco I, Vazquez-Cruz MA. Functional properties and quality characteristics of bioactive compounds in berries: Biochemistry, biotechnology, and genomics. Vol. 54, *Food Research International.* 2013. p. 1195–207.
 58. Rautiainen S, Sesso HD, Manson JE. Large-scale randomized clinical trials of bioactives and nutrients in relation to human health and disease prevention - Lessons from the VITAL and COSMOS trials. *Mol Aspects Med.* 2017;1–6.
 59. Olas B, Bryś M. Is it safe to use *Acorus calamus* as a source of promising bioactive compounds in prevention and treatment of cardiovascular diseases? *Chem Biol Interact.* 2018;281(May 2017):32–6.
 60. Baghernya M, Nobili V, Blesso CN, Sahebkar A. Medicinal plants and bioactive natural compounds in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Pharmacological Research.* Elsevier Ltd; 2017. 1–159 p.
 61. Amaya DBR. *Food Carotenoids: Chemistry, Biology and Technology.* Food

- Carotenoids: Chemistry, Biology and Technology. 2015. 1–310 p.
62. Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, Bolhassani A. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. Vol. 174, British Journal of Pharmacology. 2017. p. 1290–324.
 63. Lattanzio V. Phenolic Compounds: Introduction. In: Natural Products. 2013. p. 1543–80.
 64. Haminiuk CWI, Maciel GM, Plata-Oviedo MSV, Peralta RM. Phenolic compounds in fruits - an overview. Vol. 47, International Journal of Food Science and Technology. 2012. p. 2023–44.
 65. Heleno SA, Martins A, Queiroz MJRP, Ferreira ICFR. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. Vol. 173, Food Chemistry. 2015. p. 501–13.
 66. ANVISA. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. Agência Nac Vigilância Sanitária. 2011;1–126.
 67. Farmacopéia ANDVS. Farmacopeia Brasileira. Farm Bras 5^a edição. 2010;1:1–523.
 68. Koenig SG, Dillon B. Driving toward greener chemistry in the pharmaceutical industry. Vol. 7, Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry. 2017. p. 56–9.
 69. Dunn PJ, Wells AS, Williams MT. Future Trends for Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry. In: Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry. 2010. p. 333–55.
 70. Ahmed OM, Hassan MA, Abdel-Twab SM, Abdel Azeem MN. Navel orange peel hydroethanolic extract, naringin and naringenin have anti-diabetic potentials in type 2 diabetic rats. Biomed Pharmacother. 2017;94:197–205.
 71. Anbukkarasi M, Thomas PA, Sheu JR, Geraldine P. In vitro antioxidant and anticataractogenic potential of silver nanoparticles biosynthesized using an ethanolic extract of *Tabernaemontana divaricata* leaves. Biomed Pharmacother. 2017;91:467–75.
 72. da Rocha CQ, de-Faria FM, Marcourt L, Ebrahimi SN, Kitano BT, Ghilardi AF, et al. Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of *Arrabidaea brachypoda*: Evidences of cytoprotection and isolation of unusual

- glycosylated polyphenols. *Phytochemistry*. 2017;135:93–105.
73. Dos Santos KC, Bueno BG, Pereira LF, Francisqueti FV, Braz MG, Bincoletto LF, et al. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Leaf Extract Attenuates Hyperglycemia and Skeletal Muscle Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Rats. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2017;
 74. Qin R, Zhao Y, Zhao Y, Zhou W, Lv C, Lu J. Polyphenolic compounds with antioxidant potential and neuro-protective effect from *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. *Fitoterapia*. 2016;115:52–6.
 75. Raut NA, Gaikwad NJ. Antidiabetic potential of fractions of hydro-ethanol extract of *Cyperus rotundus* L. (cyperaceae). *Res J Pharm Biol Chem Sci*. 2012;3(4):1014–9.
 76. Bonilla J, Sobral PJA. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. *Food Biosci*. 2016;16:17–25.
 77. Yen GC, Chen CS, Chang WT, Wu MF, Cheng FT, Shiau DK, et al. Antioxidant activity and anticancer effect of ethanolic and aqueous extracts of the roots of *Ficus beecheyana* and their phenolic components. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017;
 78. De Oliveira Carvalho H, Souza BSF, Dos Santos IVF, Resque RL, Keita H, Fernandes CP, et al. Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. *Brazilian J Pharmacogn*. 2016;26(5):634–9.
 79. Baroni S, da Rocha BA, Oliveira de Melo J, Comar JF, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA. Hydroethanolic extract of *Smallanthus sonchifolius* leaves improves hyperglycemia of streptozotocin induced neonatal diabetic rats. *Asian Pac J Trop Med*. 2016;
 80. International Union of Pure and Applied Chemistry [IUPAC]: recommendations for global cooperation on sustainable prospecting for molecular systems and information at the molecular level derived from natural resources. *Chem Biodivers*. 2004;1(4):669–71.
 81. Bodoira R, Velez A, Andreatta AE, Martínez M, Maestri D. Extraction of

- bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L.) defatted seeds using water and ethanol under sub-critical conditions. *Food Chem.* 2017;237:114–20.
82. Ciulu M, Quirantes-Piné R, Spano N, Sanna G, Borrás-Linares I, Segura-Carretero A. Evaluation of new extraction approaches to obtain phenolic compound-rich extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Ind Crops Prod.* 2017;108:106–12.
 83. Chhouk K, Uemori C, Wahyudiono, Kanda H, Goto M. Extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from garlic husk using carbon dioxide expanded ethanol. *Chem Eng Process Process Intensif.* 2017;117:113–9.
 84. Brasil L. Non-Conventional Food Plants [Plantas Alimentícias Não-Convencionais]. *Agriculturas.* 2016;13(2).
 85. Ministério da Saúde MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Solanum paniculatum* (JURUBEBA). Vol. 5. 2015.
 86. Correia P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil, Ed. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, v. 3, p. 545, 1984. Ed. Impren. 1984. 545 p.
 87. Nurit K, Fátima M De, José I, Diniz L. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Solanum paniculatum* L . e *Solanum rhytidoandrum* Sendtn . (Solanaceae). *Advances.* 2007;5(1):243–5.
 88. BRASIL. Consulta Pública nº 73, de 16 de julho de 2010. D.O.U de 20/07/2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010. p. 1–240.
 89. Siqueira EG, editor. *Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil.* 2nd ed. 1959. 543–544 p.
 90. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento B. *Manual de Hortaliças Não-Convencionais.* 2010. 92 p.
 91. Rios R, Silva HBF da, Carneiro NVQ, Pires A de O, Carneiro TCB, Costa R dos S, et al. *Solanum paniculatum* L. decreases levels of inflammatory cytokines by reducing NFκB, TBET and GATA3 gene expression in vitro. *J Ethnopharmacol.* 2017;209:32–40.
 92. Vieira Júnior GM agel., da Rocha CQ, de Souza Rodrigues T, Hiruma-Lima CA, Vilegas W. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum*

- paniculatum L. Food Chem. 2015;186:160–7.
93. Mesia-Vela S, Santos MT, Souccar C, Lima-Landman MTR, Lapa a J. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. *Phytomedicine*. 2002;9(6):508–14.
 94. Tenório JAB, do Monte DS, da Silva TMG, da Silva TG, Ramos CS. *Solanum paniculatum* root extract reduces diarrhea in rats. *Brazilian J Pharmacogn*. 2016;26(3):375–8.
 95. Lôbo KM., Athayde a. C., Silva a. M., Rodrigues FF., Lôbo I., Bezerra D a. ., et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. *Rev Bras Plantas Med*. 2010;12(2):227–35.
 96. Valadares YM, Brandão GC, Kroon EG, Souza Filho JD, Oliveira AB, Braga FC. Antiviral activity of *Solanum paniculatum* extract and constituents. *Zeitschrift fur Naturforsch - Sect C J Biosci*. 2010;64(11–12):813–8.
 97. Ribeiro SR, Fortes carlas C, Oliveira SCC, Castro CF de S. Avaliação da Atividade Antioxidante de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). *Arq Cienc Saude Unipar*. 2007;11(3):179–83.
 98. Endringer DC, Valadares YM, Campana PRV, Campos JJ, Guimarães KG, Pezzuto JM, et al. Evaluation of Brazilian plants on cancer chemoprevention targets in vitro. *Phyther Res*. 2010;
 99. de Souza GR, De-Oliveira ACAX, Soares V, Chagas LF, Barbi NS, Paumgartten FJR, et al. Chemical profile, liver protective effects and analgesic properties of a *Solanum paniculatum* leaf extract. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2019;110(October 2018):129–38. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.036>
 100. Lôbo KM., Athayde AC., Silva AM., Rodrigues FF., Lôbo I., Bezerra DA., et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. *Rev Bras Plantas Med*. 2010;12(2):227–35.