

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/11/2024.



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

Brayan Sayed Lopez Castañeda

**“Ação de compostos fenólicos nas propriedades
in vitro de células malignas humanas derivadas
de adenocarcinomas de mama e de próstata”**

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

Orientador: Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira

**Botucatu
2022**

Brayan Sayed Lopez Castañeda

“Ação de compostos fenólicos nas propriedades *in vitro* de células malignas humanas derivadas de adenocarcinomas de mama e de próstata”

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

Orientador: Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira

Botucatu
2022

Ficha catalográfica

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

López-Castañeda, Brayan Sayed.

Ação de compostos fenólicos nas propriedades *in vitro* de células malignas humanas derivadas de adenocarcinomas de mama e de próstata / Brayan Sayed López-Castañeda. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Deilson Elgui de Oliveira
Capes: 40101045

1. Mamas - Câncer. 2. Neoplasias da próstata. 3. Fenóis.
4. Câncer - Tratamento.

Palavras-chave: Ácido cafeico; Câncer de mama; Câncer de próstata; Compostos fenólicos; Tratamento do câncer. |

Agradecimientos

Esta tese de doutorado foi realizada graças à colaboração direta ou indireta de muitos a quem gostaria de expressar meus mais sinceros agradecimentos:

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Deilson Elgui de Oliveira** pela oportunidade de aprendizado e pela confiança depositada durante o desenvolvimento da pesquisa.

À **Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva** pelo acolhimento e ajuda, aprecio profundamente sua generosidade.

A **Nathalia**, meu complemento, meu porto seguro. Seu apoio incondicional, seu amor e paciência, são fundamentais para encarar os desafios pessoais e profissionais.

A **UNESP**, ao **Programa de Pós-Graduação em Patologia**. Em especial a Vânia pela sua paciência frente as inúmeras dúvidas e pedidos.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, N° do processo: 140479/2018-0) pela concessão da bolsa.

A **minha família** por seu apoio durante todo meu processo de formação.

A minha segunda grande família, **os Celeita, os Rodríguez e os Celeita Rodríguez** pelo carinho de sempre e apoio incondicional.

E por fim, aos talentosos membros de grupo VIRICAN, **Bárbara, Beatrice, Brunno, Cesar (Guto), Felipe e Viviana**. Vocês foram fonte de inspiração para dar sempre o meu melhor.

Epígrafe

(...)
Guarda sempre Ítaca em teu pensamento.
É teu destino aí chegar.
Mas não apresses absolutamente tua viagem.
É melhor que dure muitos anos
e que, já velho, ancores na ilha,
rico com tudo que ganhaste no caminho,
sem esperar que Ítaca te dê riqueza.
Ítaca deu-te a bela viagem.
Sem ela não te porias a caminho.
(...)

**Fragmento do poema ÍTACA de Konstatino Kavafis
(Trad. Ísis Borges da Fonseca)**

“Ação de compostos fenólicos nas propriedades *in vitro* de células malignas humanas derivadas de adenocarcinomas de mama e de próstata”

Sumário

RESUMO	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	15
INTRODUÇÃO	16
PRODUTOS NATURAIS EM MEDICINA	16
CÂNCERES: GENERALIDADES.....	17
COMPOSTOS FENÓLICOS	19
ÁCIDO CAFEICO	20
ÁCIDO CINÂMICO.....	22
ÁCIDO FERÚLICO.	23
OBJETIVOS	25
OBJETIVO GERAL	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	26
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2 – MANUSCRITO	36
ABSTRACT.....	37
INTRODUCTION	38
MATERIAL AND METHODS.....	40
Chemicals	40
Cell lines and cell culture conditions.....	40
Preparation of experimental solutions	41

Cell viability assay	41
Assessment of putative synergistic activities	42
Assessment of cell migration and invasion in vitro.....	42
Statistical analysis	43
RESULTS	43
Caffeic acid inhibited the cell viability of breast and prostate cancer cells.	43
CA, CIA, and FA do not show synergistic inhibition on cell viability for breast and prostate cancer cells.	45
The combined exposure to CA and CIA has a greater effect on the migration and invasion in vitro of breast and prostate adenocarcinoma cells.....	47
DISCUSSION.....	50
ACKNOWLEDGMENTS	53
CONFLICT OF INTEREST	53
FUNDING	54
DATA AVAILABILITY STATEMENT.....	54
REFERENCES.....	54
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
CAPÍTULO 4 – APÊNDICES.....	64
APÊNDICE A - RESULTADOS DA ANÁLISE DE SAÚDE CELULAR UTILIZANDO O KIT COMERCIAL	
APOTOX-GLO™- TRIPLEX ASSAY	65
APÊNDICE B - QUADRO COM OS RECURSOS DE PESQUISA.....	66

Lista de abreviaturas

Definições conforme descritores de Ciências da Saúde (DECS; <https://decs.bvsalud.org/>).

Acrônimo	Definição por extenso	Em inglês (quando couber)
ACA	Ácido cafeico	<i>Caffeic acid</i>
ACI	Ácido cinâmico	<i>Cinnamic acid</i>
AFE	Ácido ferúlico	<i>Ferulic acid</i>
CAPE	Éster fenil do ácido cafeico	<i>Caffeic Acid Phenitil Esters</i>
DL50	Dose letal 50	<i>Lethal Dose 50</i>
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetil Sulfoxido	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EMT	Transições epitelial-mesenquimal	<i>Epithelial-Mesenquimal Transitions</i>
FBS	Soro fetal bovino	<i>Fetal Bovine Serum</i>
IC50	Concentração inibitória 50	<i>Half maximal inhibitory concentration</i>
MMP-2	Metaloproteinase da matriz 2	<i>Matrix metalloproteinase-2</i>
MMP-9	Metaloproteinase da matriz 9	<i>Matrix metalloproteinase-2</i>
mRNA	RNA mensageiro	<i>RNA, Messenger</i>
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio	<i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide</i>
PBS	Tampão fosfato salino	<i>phosphate buffered saline</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
STR	Repetições curtas em tandem	<i>Short tandem Repeats</i>

Lista de Figuras

FIGURA 1. Delineamento experimental do estudo.....	26
---	----

Lista de Apêndices

APÊNDICE A - Resultados da análise de saúde celular utilizando o kit comercial ApoTox-Glo™- Triplex Assay.....	65
APÊNDICE B - Quadro com os recursos de pesquisa	66

Resumo

Os cânceres de mama e de próstata são doenças agressivas que constituem um importante problema de saúde pública em todo o mundo. Embora diversas drogas tenham sido desenvolvidas para o tratamento dessas doenças oncológicas, com frequência são observadas baixa seletividade para células neoplásicas, efeitos colaterais relevantes e resistência tumoral à quimioterapia, situações que motivam o desenvolvimento de novos fármacos com ação antineoplásica. Compostos fenólicos tem sido considerados potenciais candidatos a novos agentes antineoplásicos com base em estudos que sugerem ação citotóxica, citostática e antimetastática para essas substâncias. Entretanto, diversos estudos na literatura sobre o potencial efeito antineoplásico de compostos fenólicos apresentam inconsistências relevantes e seus possíveis mecanismo de ação não são adequadamente elucidados. No presente estudo, foi avaliado possíveis efeitos do tratamento de células malignas humanas derivadas de cânceres de mama e próstata com os ácidos cafeico (ACA), cinâmico (ACI) e ferúlico (AFE), compostos fenólicos obtidos de diferentes fontes naturais, tais como a própolis produzida por abelhas. Foram empregadas linhagens de células humanas com níveis diferentes de agressividade biológica, avaliadas quanto a viabilidade celular, taxas de migração e invasão *in vitro*. As células foram incubadas com os compostos fenólicos em concentrações finais de 25 - 800 μ M por 24, 48 e 72h. A viabilidade celular foi estimada pelo ensaio MTT e as taxas de migração e invasão celular foram avaliadas em ensaios com câmara de Boyden. Houve consistente redução da viabilidade celular em todas as linhagens expostas ao ACA (dose e tempo dependente), mas não foram observados efeitos com ACI e AFE nas mesmas condições. Os valores de IC₅₀ para o tratamento com o ACA (72h) foram: 177 \pm 15,3 μ M para células MCF-7 e 260 \pm 45,8 μ M para MDA-MB-231 (ambas derivadas de adenocarcinomas de mama), e 90 \pm 19,4 μ M para LNCaP e 59,29 \pm 5,3 μ M para PC3 (derivadas de adenocarcinomas de próstata). Em concentrações não-citotóxicas, o tratamento com ACA reduziu significativamente a migração das células MCF-7 (p<0.05) e MDA-MB-231 (p<0.0001); ademais, a combinação dos ACA e ACI em concentrações não citotóxicas reduziram significativamente a inibição da migração de células PC3 (p<0.05) e a invasão de células MCF-7 (p<0.05), MDA-MB-231 (p<0.001), LNCaP (p<0.001) e PC3 (p<0.0001). Esses resultados indicam que o emprego de CA, isolado ou combinado com CIA, pode ser promissor para novos protocolos antineoplásicos dirigidos aos cânceres de mama e próstata.

Palavras-chave: tratamento do câncer, câncer de mama, câncer de próstata, compostos fenólicos, ácido cafeico, ácido cinâmico, ácido ferúlico, estudo pré-clínico.

Abstract

Breast and prostate cancers are aggressive diseases that constitute a major public health problem worldwide. Although several drugs have been developed for the treatment of these oncological diseases, low selectivity for neoplastic cells, relevant side effects and tumor resistance to chemotherapy are often observed, situations that motivate the development of new drugs with antineoplastic action. Phenolic compounds have been considered potential candidates for new antineoplastic agents based on studies that suggest cytotoxic, cytostatic and antimetastatic action for these substances. However, several studies in the literature on the potential antineoplastic effect of phenolic compounds present relevant inconsistencies and their possible mechanism of action are not adequately elucidated. The present study evaluated possible effects of the treatment of human malignant cells derived from breast and prostate cancers with caffeic (CA), cinnamic (CIA) and ferulic (FEA) acids, phenolic compounds obtained from different natural sources, such as the propolis produced by bees. Human cell lines with different levels of biological aggressiveness were used, evaluated in terms of cell viability, migration rates and in vitro invasion. Cells were incubated with phenolic compounds at final concentrations of 25 - 800 μ M for 24, 48 and 72h. Cell viability was estimated by the MTT assay and cell migration and invasion rates were evaluated in Boyden chamber assays. There was a consistent reduction in cell viability in all lines exposed to CA (dose and time dependent), but no effects were observed with CIA and FEA under the same conditions. IC₅₀ values for CA treatment (72h) were: $177 \pm 15.3 \mu\text{M}$ for MCF-7 cells and $260 \pm 45.8 \mu\text{M}$ for MDA-MB-231 (both derived from breast adenocarcinomas), and $90 \pm 19.4 \mu\text{M}$ for LNCaP and $59.29 \pm 5.3 \mu\text{M}$ for PC3 (derived from prostate adenocarcinomas). At non-cytotoxic concentrations, CA treatment significantly reduced the migration of MCF-7 ($p < 0.05$) and MDA-MB-231 ($p < 0.0001$) cells; in addition, the combination of CA and CIA at non-cytotoxic concentrations significantly reduced the inhibition of PC3 cell migration ($p < 0.05$) and the invasion of MCF-7 cells ($p < 0.05$), MDA-MB-231 ($p < 0.001$), LNCaP ($p < 0.001$) and PC3 ($p < 0.0001$). These results indicate that the use of CA, alone or combined with CIA, may be promising for new anticancer protocols aimed at breast and prostate cancers.

Keywords: cancer treatment, breast cancer, prostate cancer, phenolic compounds, caffeic acid, cinnamic acid, ferulic acid, pre-clinical study.

Capítulo 1: Revisão de literatura

Introdução

Produtos naturais em medicina

O uso medicinal de produtos naturais para o alívio e cura das doenças é uma prática humana ancestral, perpetuada como tradição popular. Civilizações antigas se valiam do consumo e/ou aplicação de diversos extratos de plantas, produtos derivados de animais e alguns microrganismos para seus cuidados de saúde, sedimentando as bases da medicina e da farmacologia modernas. Com o passar do tempo, diversas propriedades desses produtos foram descobertas, demonstrando seus efeitos curativos ou mesmo revelando propriedades tóxicas ou mortais, dependendo da quantidade do produto administrado (DIAS; URBAN; ROESSNER, 2012a; HARVEY, 2008).

Os produtos naturais são um recurso valioso para o desenvolvimento de fármacos que auxiliam no tratamento de diferentes doenças (ATANASOV et al., 2021), servindo de matéria-prima para medicamentos com efeitos analgésico, antibiótico, antifúngico, antiviral e antineoplásicos (DIAS; URBAN; ROESSNER, 2012a; HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2000). Nesse último caso, é importante ressaltar que os produtos naturais são os principais componentes de pelo menos 75% dos agentes antineoplásicos mais comumente utilizados (DEMAIN; VAISHNAV, 2011; MANN, 2002).

Compostos fenólicos figuram dentre os produtos naturais com maior potencial farmacêutico. Trata-se de um grupo de substâncias bioativas reconhecidas por sua ação antioxidante, além de uma ampla variedade de efeitos biológicos, incluindo efeitos anti-inflamatórios, anti-hipertensivo e antitrombóticos. Ademais, são também relatados resultados satisfatórios no controle da diabetes, efeitos imunomoduladores e antitumorais (GÓMEZ-MAQUEO; ESCOBEDO-AVELLANEDA; WELTI-CHANES, 2020a; KUMAR; GOEL, 2019). Os efeitos antitumorais decorrem de inibição de diversos fenômenos da patogênese dos cânceres, incluindo a proliferação e sobrevivência das células neoplásicas, a regulação da população de células tronco cancerígenas, a modulação de características do microambiente tumoral, inibição da angiogênese e efeitos no remodelamento da matriz extracelular (ANANTHARAJU et al., 2016; CIANCIOSI et al., 2020; LS et al., 2016; MILEO; MICCADEI, 2016; STANIFORTH et al., 2012; SUN; HEILMANN; KÖNIG, 2015). Em termos gerais, admite-se que polifenóis são substâncias

promissoras para o desenvolvimento de fármacos, incluindo novos medicamentos para o tratamento de cânceres (ANNA MASEK; CHRZESCIJANSKA, EWA; LATOS, MALGORZATA, 2016; DAVIDSON; TOUGER-DECKER, 2009; LEE et al., 2006).

Cânceres: generalidades

Câncer é um termo genérico que remete a doenças neoplásicas malignas, que em comum apresentam acúmulo de células que não respondem aos estímulos fisiológicos de diferenciação celular e homeostase tecidual. Essas células tendem a invadir e destruir o tecido onde surgem e – a depender do nível de sua agressividade biológica – podem se disseminar para órgãos distantes e gerar doença sistêmica (“World Health Organization - Cancer - key facts”, 2016).

Denomina-se *carcinogênese* o processo biológico de formação dos cânceres, sendo tipicamente dividido em três etapas sucessivas, conhecidas como iniciação, promoção e progressão. Na etapa de iniciação, células normais de um tecido sofrem alterações irreversíveis em seu genoma (mutações), quer seja por condições hereditárias específicas, induzidas por exposição a agentes físicos ou químicos de natureza genotóxica, ou ainda por mutações de surgimento espontâneo (e.g., por infidelidade de replicação do DNA) (DEVI, 2004). Na etapa de promoção ocorre à expansão clonal das células iniciadas e o acúmulo de novas alterações genéticas e epigenéticas que levam ao surgimento de células com evidências de fenótipo maligno, denominadas de *células transformadas*. Por fim, com o contínuo acúmulo de alterações moleculares genéticas e epigenéticas, na fase de progressão tipicamente são observadas as manifestações clínicas da doença oncológica, incluindo o crescimento tumoral, invasão e disseminação neoplásica por metástase, por exemplo (YOKOTA, 2000).

Dadas as elevadas taxas de morbidade e mortalidade associadas, essas doenças constituem importante problema de saúde pública em todo mundo. Segundo dados da Agência Internacional de pesquisa sobre Câncer (*International Agency for Research on Cancer - IARC*), agência especializada em câncer da Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization - WHO*), apenas em 2020 foram registrados 19.3 milhões de novos casos de cânceres e 10 milhões de óbitos associados a essas doenças. Ainda, estima-se que para o ano de 2040, as cifras de incidência e mortalidade aumentem significativamente, alcançando cerca de 28,4 milhões de novos casos e 16,3 milhões de mortes ao ano, respectivamente (SUNG et al., 2021).

Com base em dados do Observatório Global do Câncer (*Global Cancer Observatory - GCO*), são descritos como cânceres de maior incidência aqueles que ocorrem em mama (2,3 milhões), pulmão (2,2 milhões), colón/reto (1,9 milhões) e próstata (1,4 milhões). Os de maior prevalência entre as mulheres são os de mama e os colorretais, com 7,8 e 2,4 milhões de casos registrados respectivamente. Para os homens, são mais prevalentes os de pulmão e próstata, com 1,5 e aproximadamente 5 milhões de casos, respectivamente (FERLAY J et al., 2020; SUNG et al., 2021; WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE, 2020).

Segundo o ministério da saúde a través do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, estima que no Brasil, entre os anos 2020 e 2022 serão registrados aproximadamente 625 mil novos casos por ano, com incidência de 66 mil novos casos de câncer de mama e o mesmo número de casos de câncer próstata, com distribuição homogênea da incidência calculada em cada região geográfica analisada (“Instituto Nacional de Câncer - INCA”, [s.d.]).

Os cânceres de mama são um grupo heterogêneo de doenças neoplásicas, diferindo tanto em características clínicas e histológicas como no prognóstico e na sua resposta aos tratamentos. Representam aproximadamente 33,7% de todos os cânceres diagnosticados na população feminina, responsáveis por pelo menos 685 mil óbitos anuais em todo mundo (FERLAY J et al., 2020; SUNG et al., 2021; WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE, 2020). A etiologia dos cânceres de mama é multifatorial e inclui fatores endócrinos, reprodutivos, consumo de bebidas alcoólicas, uso de terapia hormonal (contraceptivos e reposição hormonal pós-menopausa), exposição à radiação ionizante, hábitos alimentícios (e.g., dieta hipercalórica), sedentarismo e histórico familiar de câncer de mama (BARNES et al., 2011; HOWELL et al., 2014).

Os cânceres de próstata, por sua vez, são o segundo tipo de câncer mais diagnosticado em homens, com cerca de 1,4 milhões de novos casos anuais. Figuram dentre os cinco cânceres mais letais, responsáveis por cerca de 400 mil óbitos em 2020 (FERLAY J et al., 2020; SUNG et al., 2021). A probabilidade do desenvolvimento do adenocarcinoma prostático está diretamente relacionado à idade dos indivíduos, aumentando significativamente a partir dos 65 anos de idade (CUZICK et al., 2014). Fatores genéticos são preponderantes na etiopatogenia do adenocarcinoma prostático, posto que o risco de desenvolvimento da doença aumenta em até 11 vezes em indivíduos com pai ou irmão que manifestaram esse câncer antes dos 40 anos (CUZICK et al., 2014;

STEWART; WILD, 2014). A etnia também é um fator modificador de risco relevante: em indivíduos afrodescendentes, o risco de desenvolvimento da doença é 1,6 vezes superior ao de caucasianos, principalmente por mutações herdadas, identificadas em 8q24 e 17q21 (CUZICK et al., 2014; HENDERSON et al., 2012).

Como de praxe, o prognóstico de pacientes com câncer de mama ou de próstata é influenciado principalmente pelo estágio da doença ao diagnóstico, sendo mais favorável quando a doença é detectada nas fases iniciais (DEVI, 2004; TALMADGE; FIDLER, 2010). Por outro lado, o prognóstico passa a ser desfavorável nos casos de doença avançada, com disseminação sistêmica de células neoplásicas. Estima-se que 90% dos casos de doença com metástases não respondem satisfatoriamente às terapias convencionais e causam o óbito do paciente (HANAHAN; WEINBERG, 2011a; MEHLEN; PUISIEUX, 2006).

O uso de produtos naturais ou derivados tem se popularizado como possível recurso complementar as diversas estratégias terapêuticas para o tratamento das doenças oncológicas, razão pela qual tem recebido mais atenção dos pesquisadores nas últimas décadas (DIAS; URBAN; ROESSNER, 2012b; MORRIS et al., 2000; TAUTZ et al., 2012; WODE et al., 2019). Entre 1981 e 2014, 136 agentes farmacológicos comumente empregados no tratamento contra o câncer foram aprovados, dos quais aproximadamente 83% são derivados de produtos naturais e 17% eram moléculas sintéticas (AMARAL; SEVERINO; CARVALHO, 2019; NEWMAN; CRAGG, 2016). Ademais, dados experimentais acumulados na literatura sugerem que outros medicamentos derivados de produtos naturais podem surgir, eventualmente a partir de compostos fenólicos, o que será abordado em maiores detalhes a seguir.

Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são fitoquímicos amplamente distribuídos na natureza, constituintes de uma ampla variedade de vegetais. Quimicamente são definidos como polifenóis, pois sua estrutura varia entre uma molécula simples de um anel aromático unido a um ou mais grupos hidroxílicos, até polímeros complexos de alto peso molecular (CHEYNIER, 2005b; HARRIS et al., 2007). São metabólitos secundários essenciais para o crescimento e reprodução das plantas, originados da atividade de vias como a da pentose-fosfato, chiquimato e a fenilpropanóide. Cerca de 8.000 compostos fenólicos são conhecidos, agrupados em quatro categorias principais: 1) ácidos fenólicos; 2) cumarinas; 3) flavonoides; e 4) taninos. A estrutura dessas substâncias é diversa, o

que se relaciona a diferentes atividades biológicas. Por outro lado, em geral se verifica capacidade antioxidante como ação biológica principal dos polifenóis (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006a; TSAO, 2010b).

Os ácidos fenólicos estão distribuídos nos grupos dos ácidos hidroxibenzoicos e dos ácidos hidroxicinâmicos. Ambos os grupos são encontrados *in natura* principalmente em frutas, vegetais, grãos e sementes, quer seja como substâncias livres ou conjugadas. Do ácido hidroxicinâmico são derivados os ácidos p-cumarínico, ferúlico, cafeico e sinápico, que são os fitoquímicos mais comuns e aos que são geralmente atribuídos os diversos efeitos biológicos descritos para esse grupo de substâncias (CHEYNIER, 2005b; GÓMEZ-MAQUEO; ESCOBEDO-AVELLANEDA; WELTI-CHANES, 2020a; HARRIS et al., 2007; KUMAR; GOEL, 2019; MILEO; MICCADEI, 2016).

Em particular, os ácidos fenólicos são um importante grupo de antioxidantes. Dada suas propriedades de alta solubilidade (tanto em lipídios como em água), são compostos bioativos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos que beneficiem à saúde, no entanto, devem ser amplamente estudados para determinar seu potencial farmacológico, assim como os efeitos tóxicos no organismo, promovidos pelo consumo dos ácidos fenólicos. Ações antimicrobianas e anti-inflamatórias são descritas para esses compostos, além de efeitos cardioprotetores e propriedades anticancerígenas (KIOKIAS; PROESTOS; OREOPOULOU, 2020). A seguir, serão sumarizadas as informações relevantes dos efeitos biológicos atribuídos especificamente a três compostos fenólicos, os ácidos cafeico, cinâmico e ferúlico.

Ácido cafeico

O ácido cafeico (ACA), ou 3,4-dihidroxicinâmico, é o composto fenólico mais amplamente distribuído em tecidos vegetais. Sua biossíntese ocorre como metabolito secundário da atividade das vias chiquimato e do ácido mevalônico. O ACA participa ativamente dos mecanismos de defesa contra insetos, fungos e bactérias, contribuindo também na proteção contra a radiação ultravioleta B (SILVA; OLIVEIRA; BORGES, 2014). Suas propriedades biológicas nos organismos é principalmente atribuída a uma potente ação antioxidante (GENARO-MATTOS et al., 2015; SILVA; OLIVEIRA; BORGES, 2014; SON; LEWIS, 2002) por diversos mecanismos, como a captura e eliminação direta de radicais livres, inibição específica de enzimas que induzem a

formação dessas espécies reativas, bem como as capacidades de quelar íons metálicos e a de inibir a peroxidação lipídica (SUGIURA et al., 1989).

O ACA tem sido estudado pela sua ampla variedade de efeitos biológicos, sendo proposto como substância promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos (WANG et al., 2020). Nesse sentido, dados experimentais subsidiam seu uso para o controle de infecções induzidas por vírus, bactérias e fungos, por exemplo (KHAN et al., 2021). Ainda, foram demonstrados efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores do ACA por inibir a ativação de fatores de transcrição NF- κ B de forma específica (NATARAJAN et al., 1996; XIAO et al., 2018; ZIELIŃSKA et al., 2021) e pela sua capacidade de induzir aumento significativos nas interleucinas-2 e -4 em roedores (PARK et al., 2004).

Uma possível atividade antineoplásica desse composto fenólico têm surgido com base em resultados de experimentos com modelos de células cultivadas *in vitro* (OZTURK et al., 2012). Alguns estudos sugerem que o ACA pode reduzir significativamente a viabilidade de células malignas, controlar a proliferação celular e inibir a formação de metástases de cânceres mediante modulação e alteração do ciclo celular e indução de apoptose, bem como reduzir taxas de migração e invasão de células neoplásicas (AKYOL et al., 2013; OZTURK et al., 2012; PELINSON et al., 2019). Dados que dão suporte às propriedades anticancerígenas do ACA indicam que a ação antiproliferativa pode estar associada a regulação direta da fosforilação do gene *TP53* (HGNC:11998) (REZAEI-SERESHT et al., 2019), e/ou por causar disfunção mitocondrial das células neoplásicas (JAGANATHAN, 2012; JIN et al., 2008; RAJENDRA PRASAD et al., 2011). Digno de nota, o ACA aparenta ter atividade antiproliferativa bastante segura e específica, pois as propriedades citotóxicas parecem ser seletivas para células neoplásicas (HERNANDES et al., 2020; SARI; SÜMER; CELEP EYÜPOĞLU, 2020).

Adicionalmente, é descrito que o ACA pode exercer um efeito antimetastático, pois reduz os níveis de expressão das metaloproteinases da matriz (*Matrix Metaloproteinases* - MMPs) nas células neoplásicas, especificamente a MMP-2 e MMP-9 (HWANG et al., 2006; LI et al., 2017; PENG et al., 2012), proteínas que quando expressas, tem a função de degradar a matriz extracelular para favorecer a migração e invasão das células neoplásicas, auxiliando com isso o desenvolvimento das metástases (SHAY; LYNCH; FINGLETON, 2015).

Ácido cinâmico.

O ácido cinâmico (ACI), ou ácido 3-fenil-2-propenóico, é um polifenol sintetizado nas plantas na forma de ácido graxo aromático. Compõe o grupo das auxinas – hormônios vegetais responsáveis pela regulação do crescimento e a diferenciação celular – e como o ACA também cumpre funções de proteção contra microrganismos (BUXTON et al., 2020; STEENACKERS et al., 2019). O ACI é encontrado naturalmente numa ampla variedade de alimentos, incluindo o café, a canela, mel e seus derivados, azeite de oliva, frutos cítricos, cereais e maçãs (NACZK; SHAHIDI, 2006). Possui uma estrutura química nas formas *trans*- e *cis*- e serve como precursor dos ácidos fenólicos, principalmente o ácido cafeico e o ácido ferúlico (PEI et al., 2016; RUWIZHI; ADERIBIGBE, 2020).

São diversas as propriedades biológicas atribuídas ao ACI e seus derivados, sendo que as aparentes atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora o tornam um composto bioativo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos, perspectiva reforçada por suas propriedades benéficas sobre doenças crônicas como a diabetes, hipertensão e neoplasias malignas (RUWIZHI; ADERIBIGBE, 2020).

Acerca dos efeitos antineoplásicos, foi relatado que o ACI exerce ação antiproliferativa *in vitro* sobre células de carcinoma de cólon Caco-2 (RRID:[CVCL_0025](#)), inibindo sua síntese de DNA (EKMEKCIOGLU; FEYERTAG; MARKTL, 1998a), além de atuar como agente pró-apoptótico em células neoplásicas de glioblastoma A172 (RRID:[CVCL_0131](#)) e U251 (RRID:[CVCL_0021](#)) (LIU et al., 1995b), de melanoma HT-144 (RRID:[CVCL_0318](#)) (DE OLIVEIRA NIERO; MACHADO-SANTELLI, 2013), de adenocarcinomas de pulmão A549 (RRID:[CVCL_0023](#)) e de próstata, linhagens PC3(M) (RRID:[CVCL_9555](#)), DU145 (RRID:[CVCL_0105](#)) e LNCaP (RRID:[CVCL_0395](#)) (DE OLIVEIRA NIERO; MACHADO-SANTELLI, 2013; LIU et al., 1995b). O ACI aparenta ter uma atividade segura para o organismo e específica para células neoplásicas, pois demonstra baixa toxicidade em células não-neoplásicas, sendo necessário o aumento das doses em até 20 vezes para gerar a mesma toxicidade (DE OLIVEIRA NIERO; MACHADO-SANTELLI, 2013; LIU et al., 1995b). Em modelos murinos o ACI apresenta baixa toxicidade, com dose letal 50 (LD₅₀) corresponde a aproximadamente 2850mg/kg de peso (PEI et al., 2016).

Ácido ferúlico.

O ácido ferúlico (AFE), também denominado ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico ou ácido coniférico, é um importante derivado do ACI. Encontra-se em abundância no trigo, aveia e arroz, sendo também observado em diversos outros vegetais, incluindo a beterraba, alcachofra e algumas plantas forrageiras, encontrado ligado a polímeros das paredes das células dessas espécies (BARBEROUSSE et al., 2008; BEZERRA et al., 2017). Como outros compostos fenólicos, o AFE possui ação antioxidante, que é atribuída à sua capacidade de neutralizar o peróxido de hidrogênio, o ânion superóxido e o radical hidroxila (SOARES, 2002; ZDUŇSKA et al., 2018). Outra importante ação atribuída ao AFE é a de absorção da radiação UV, com consequente redução dos danos associados a sua exposição (GRAF, 1992).

Algumas evidências experimentais indicam capacidade do AFE de bloquear vias de sinalização intracelular relevantes na carcinogênese, incluindo a via FGFR1/PI3K/AKT, importante reguladora da angiogênese tumoral (YANG; JIANG; LU, 2015a). Um outro estudo determinou que células neoplásicas de bexiga T24 (RRID:[CVCL_0554](#)) apresentaram maiores taxas de apoptose após tratamento com AFE, consequência da inibição da proteína bcl-2 e a indução de bax, (proteínas anti e pró-apoptóticas respectivamente) (PENG et al., 2013). Há ainda dados indicando que células neoplásicas tratadas com AFE sofrem parada do ciclo celular na fase G0/G1, além de uma redução dos níveis de expressão do transcrito para MMP-9 (GAO et al., 2018). Ademais, alguns autores propõem que o AFE inibe a formação de metástases de células neoplásicas de glândula mamária pela regulação de transições epitelial-mesenquimal (*Epithelial-Mesenchymal Transitions* - EMTs) (ZHANG et al., 2016), fenômeno da biologia dos cânceres que favorece a disseminação de células neoplásicas epiteliais e o desenvolvimento de metástases de carcinomas (HANAHAN; WEINBERG, 2011b).

Com base em dados experimentais indicando efeitos inibitórios em fenômenos relevantes da biologia dos cânceres, sugere-se que compostos fenólicos como o ACA, ACI e AFE são promissores para o desenvolvimento de novos fármacos de ação antineoplásica. A reconhecida atividade antioxidante, por exemplo, pode ter papel em diferentes etapas da carcinogênese, prevenindo a formação e acúmulo de espécies reativas de oxigênio e seus consequentes efeitos genotóxicos, que propicia a instabilidade genética crucial para o desenvolvimento dos cânceres (GRAF, 1992; KIOKIAS; PROESTOS; OREOPOULOU, 2020; YIN et al., 2019). Há

também relatos de que esses compostos podem bloquear o ciclo celular, induzir apoptose e a de inibir a migração e invasão de células neoplásicas, o que lhes pode conferir ação moduladora ou mesmo inibitória de fenômenos da progressão tumoral (DE OLIVEIRA NIERO; MACHADO-SANTELLI, 2013; GAO et al., 2018; HUNKE et al., 2018; PELINSON et al., 2019; QI et al., 2016). Por outro lado, diversos estudos publicados sobre esses compostos carecem de rigor experimental (FAEZEH; REZA; MARYAM, 2016; KABAŁA-DZIK et al., 2017, 2018; SERAFIM et al., 2011), o que suscita dúvidas sobre a fidelidade dos resultados. De modo a gerar informações relevantes para melhor entendimento do potencial antineoplásico do ACA, ACI e AFE, o presente estudo buscou avaliar a influência desses compostos fenólicos na viabilidade celular e eventos biológicos de migração e invasão celular avaliados *in vitro* empregando células humanas derivadas de adenocarcinomas de mama e próstata, empregados em tratamentos com agente único ou em combinação.

Referências

- AKYOL, S. et al. In vivo and in vitro antineoplastic actions of caffeic acid phenethyl ester (CAPE): therapeutic perspectives. **Nutrition and Cancer**, v. 65, n. 4, p. 515–526, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1080/01635581.2013.776693>
- AMARAL, R. G.; SEVERINO, P.; CARVALHO, A. A. Natural Products as Treatment against Cancer: A Historical and Current Vision. **Clinics in Oncology**, v. 4, p. 5, 2019.
- ANANTHARAJU, P. G. et al. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. p. 17, 2016.
- ANNA MASEK; CHRZESCIJANSKA, EWA; LATOS, MALGORZATA. Determination of Antioxidant Activity of Caffeic Acid and p- Coumaric Acid by Using Electrochemical and Spectrophotometric Assays. **International Journal of Electrochemical Science**, p. 10644–10658, dez. 2016. DOI: <http://doi.org/10.20964/2016.12.73>
- ATANASOV, A. G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, jan. 2021. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, jan. 2006a. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, jan. 2006b. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- BARBEROUSSE, H. et al. Analytical methodologies for quantification of ferulic acid and its oligomers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 9, p. 1494–1511, jul. 2008. DOI: <http://doi.org/10.1002/jsfa.3242>
- BARNES, B. B. E. et al. Population attributable risk of invasive postmenopausal breast cancer and breast cancer subtypes for modifiable and non-modifiable risk factors. **Cancer Epidemiology**, v. 35, n. 4, p. 345–352, ago. 2011. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.canep.2010.11.003>
- BEZERRA, G. S. N. et al. Compatibility study between ferulic acid and excipients used in cosmetic formulations by TG/DTG, DSC and FTIR. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1683–1691, fev. 2017. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10973-016-5654-9>
- BUSATTO, N. et al. Multifaceted analyses disclose the role of fruit size and skin-russeting in the accumulation pattern of phenolic compounds in apple. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, p. e0219354, jul. 2019. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0219354>
- BUXTON, T. et al. Insecticidal activities of cinnamic acid esters isolated from *Ocimum gratissimum* L. and *Vitellaria paradoxa* Gaertn leaves against *Tribolium castaneum* Hebst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Pest Management Science**, v. 76, n. 1, p. 257–267, jan. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1002/ps.5509>
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1 Suppl, p. 223S-229S, jan. 2005a. DOI: <http://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223S>
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223S-229S, jan. 2005b. DOI: <http://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223S>

CIANCIOSI, D. et al. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 23, n. 9, p. E2322, set. 2018. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules23092322>

CIANCIOSI, D. et al. Phenolic compounds from Mediterranean foods as nutraceutical tools for the prevention of cancer: The effect of honey polyphenols on colorectal cancer stem-like cells from spheroids. **Food Chemistry**, v. 325, p. 126881, set. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126881>

CINEGAGLIA, N. C. et al. Anticancer Effects of Geopropolis Produced by Stingless Bees on Canine Osteosarcoma Cells In Vitro. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2013, p. 737386, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/737386>

CUZICK, J. et al. Prevention and early detection of prostate cancer. **The Lancet Oncology**, v. 15, n. 11, p. e484–e492, 2014.

DAVIDSON, P. G.; TOUGER-DECKER, R. Chemopreventive Role of Fruits and Vegetables in Oropharyngeal Cancer. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 24, n. 2, p. 250–260, abr. 2009. DOI: <http://doi.org/10.1177/0884533609332088>

DE CAMARGO, A. C. et al. Opinion on the Hurdles and Potential Health Benefits in Value-Added Use of Plant Food Processing By-Products as Sources of Phenolic Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3498, nov. 2018. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms19113498>

DE OLIVEIRA NIERO, E. L.; MACHADO-SANTELLI, G. M. Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 32, n. 1, p. 1, 2013.

DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, P. Natural products for cancer chemotherapy. **Microbial Biotechnology**, v. 4, n. 6, p. 687–699, 2011. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00221.x>

DEVEQUI-NUNES, D. et al. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0207676, dez. 2018. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0207676>

DEVI, P. U. Basics of carcinogenesis. **Health Adm**, v. 17, n. 1, p. 16–24, 2004.

DI LORENZO, C. et al. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 273, jan. 2021. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu13010273>

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 4, p. 303–336, 2012a. DOI: <http://doi.org/10.3390/metabo2020303>

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 4, p. 303–336, abr. 2012b. DOI: <http://doi.org/10.3390/metabo2020303>

EKMEKCIOGLU, C.; FEYERTAG, J.; MARKTL, W. Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. **Cancer letters**, v. 128, n. 2, p. 137–144, 1998a.

EKMEKCIOGLU, C.; FEYERTAG, J.; MARKTL, W. Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. **Cancer Letters**, v. 128, n. 2, p. 137–144, jun. 1998b. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0304-3835\(98\)00073-1](http://doi.org/10.1016/s0304-3835(98)00073-1)

FAEZEH, Z.; REZA, T. M.; MARYAM, K. The Effect Of Trans-Cinnamic Acid On Apoptotic Indexes In Cancer Cells MCF7. v. 15, n. 6, p. 663–676, jan. 2016.

FERLAY J et al. **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. . Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today/home>. Acesso em: 8 fev. 2021.

GAO, J. et al. The anticancer effects of ferulic acid is associated with induction of cell cycle arrest and autophagy in cervical cancer cells. **Cancer Cell International**, v. 18, p. 102, 2018. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12935-018-0595-y>

GENARO-MATTOS, T. C. et al. Antioxidant Activity of Caffeic Acid against Iron-Induced Free Radical Generation—A Chemical Approach. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0129963, jun. 2015. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0129963>

GÓMEZ-LÓPEZ, I. et al. Characterization, Stability, and Bioaccessibility of Betalain and Phenolic Compounds from *Opuntia stricta* var. *Dillenii* Fruits and Products of Their Industrialization. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1593, jul. 2021. DOI: <http://doi.org/10.3390/foods10071593>

GÓMEZ-MAQUEO, A.; ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; WELTI-CHANES, J. Phenolic Compounds in Mesoamerican Fruits—Characterization, Health Potential and Processing with Innovative Technologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. 8357, nov. 2020a. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21218357>

GÓMEZ-MAQUEO, A.; ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; WELTI-CHANES, J. Phenolic Compounds in Mesoamerican Fruits—Characterization, Health Potential and Processing with Innovative Technologies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. E8357, nov. 2020b. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21218357>

GRAF, E. Antioxidant potential of ferulic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 13, n. 4, p. 435–448, Outubro 1992. DOI: [http://doi.org/10.1016/0891-5849\(92\)90184-I](http://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90184-I)

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011a. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011b. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

HARRIS, C. S. et al. Plant phenolics regulate neoplastic cell growth and survival: a quantitative structure–activity and biochemical analysis This article is one of a selection of papers published in this special issue (part 2 of 2) on the Safety and Efficacy of Natural Health Products. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 85, n. 11, p. 1124–1138, nov. 2007. DOI: <http://doi.org/10.1139/Y07-101>

HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 19–20, p. 894–901, 2008. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.07.004>

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 2, p. 111–129, fev. 2015. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrd4510>

HENDERSON, B. E. et al. The influence of race and ethnicity on the biology of cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 9, p. 648–653, ago. 2012. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrc3341>

HERNANDES, L. C. et al. Caffeic acid and chlorogenic acid cytotoxicity, genotoxicity and impact on global DNA methylation in human leukemic cell lines. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, jul. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0347>

HOWELL, A. et al. Risk determination and prevention of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 16, n. 5, p. 446, out. 2014. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13058-014-0446-2>

HUNKE, M. et al. Antineoplastic Actions of Cinnamic Acids and Their Dimers in Breast Cancer Cells: A Comparative Study. **Anticancer Research**, v. 38, n. 8, p. 4469–4474, ago. 2018. DOI: <http://doi.org/10.21873/anticancer.12749>

HWANG, H. J. et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, n. 5, p. 356–362, maio 2006. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.08.009>

Instituto Nacional de Câncer - INCA. . Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/instituto-nacional-de-cancer-inca>. Acesso em: 23 nov. 2022.

JAGANATHAN, S. K. Growth Inhibition by Caffeic Acid, One of the Phenolic Constituents of Honey, in HCT 15 Colon Cancer Cells. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 372345, abr. 2012. DOI: <http://doi.org/10.1100/2012/372345>

JIN, U.-H. et al. Caffeic acid phenethyl ester induces mitochondria-mediated apoptosis in human myeloid leukemia U937 cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 310, n. 1–2, p. 43–48, mar. 2008. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11010-007-9663-7>

KABAŁA-DZIK, A. et al. Migration Rate Inhibition of Breast Cancer Cells Treated by Caffeic Acid and Caffeic Acid Phenethyl Ester: An In Vitro Comparison Study. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. E1144, out. 2017. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu9101144>

KABAŁA-DZIK, A. et al. Caffeic Acid Versus Caffeic Acid Phenethyl Ester in the Treatment of Breast Cancer MCF-7 Cells: Migration Rate Inhibition. **Integrative Cancer Therapies**, v. 17, n. 4, p. 1247–1259, set. 2018. DOI: <http://doi.org/10.1177/1534735418801521>

KHAN, F. et al. Caffeic Acid and Its Derivatives: Antimicrobial Drugs toward Microbial Pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, mar. 2021. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07579>

KIOKIAS, S.; PROESTOS, C.; OREOPOULOU, V. Phenolic Acids of Plant Origin—A Review on Their Antioxidant Activity In Vitro (O/W Emulsion Systems) Along with Their in Vivo Health Biochemical Properties. **Foods**, v. 9, n. 4, p. 534, abr. 2020. DOI: <http://doi.org/10.3390/foods9040534>

KISIRIKO, M. et al. Phenolics from Medicinal and Aromatic Plants: Characterisation and Potential as Biostimulants and Bioprotectants. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6343, out. 2021. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules26216343>

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, dez. 2019. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>

LEE, J. E. et al. Intakes of Fruits, Vegetables, Vitamins A, C, and E, and Carotenoids and Risk of Renal Cell Cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 15, n. 12, p. 2445–2452, dez. 2006. DOI: <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0553>

LI, K. et al. PT93, a novel caffeic acid amide derivative, suppresses glioblastoma cells migration, proliferation and MMP-2/-9 expression. **Oncology Letters**, v. 13, n. 3, p. 1990–1996, mar. 2017. DOI: <http://doi.org/10.3892/ol.2017.5663>

LIU, L. et al. Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention. **International Journal of Cancer**, v. 62, n. 3, p. 345–350, 1995a. DOI: <http://doi.org/10.1002/ijc.2910620319>

LIU, L. et al. Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. **International Journal of Cancer**, v. 62, n. 3, p. 345–350, jul. 1995b.

- LS, R. et al. Anticancer Properties of Phenolic Acids in Colon Cancer – A Review. v. 6, n. 2, p. 7, 2016.
- MANN, J. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. **Nat. Rev. Cancer**, v. 2, n. February, p. 143, 2002. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrc723>
- MARCUCCI, M. C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 2, p. 105–112, fev. 2001. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00326-3](http://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00326-3)
- MEHLEN, P.; PUISIEUX, A. Metastasis: a question of life or death. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 6, p. 449–458, jun. 2006. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrc1886>
- MIKLAVČIČ VIŠNJEVEC, A.; SCHWARZKOPF, M. Phenolic Compounds in Poorly Represented Mediterranean Plants in Istria: Health Impacts and Food Authentication. **Molecules**, v. 25, n. 16, p. 3645, ago. 2020. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules25163645>
- MILEO, A. M.; MICCADEI, S. Polyphenols as Modulator of Oxidative Stress in Cancer Disease: New Therapeutic Strategies. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–17, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1155/2016/6475624>
- MORRIS, K. T. et al. A comparison of complementary therapy use between breast cancer patients and patients with other primary tumor sites. **The American Journal of Surgery**, v. 179, n. 5, p. 407–411, 2000.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Nutraceuticals Analysis. v. 41, n. 5, p. 1523–1542, ago. 2006. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>
- NATARAJAN, K. et al. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 17, p. 9090–9095, ago. 1996.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, mar. 2016. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, mar. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural product reports**, v. 17, n. 3, p. 215–234, 2000. DOI: <http://doi.org/10.1039/A902202C>
- NIERO, E. L. DE O.; MACHADO-SANTELLI, G. M. Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells. **Journal of experimental & clinical cancer research: CR**, v. 32, p. 31, maio 2013. DOI: <http://doi.org/10.1186/1756-9966-32-31>
- OKIŃCZYK, P. et al. Impact of Plant Origin on Eurasian Propolis on Phenolic Profile and Classical Antioxidant Activity. **Biomolecules**, v. 11, n. 1, p. 68, jan. 2021. DOI: <http://doi.org/10.3390/biom11010068>
- OZTURK, G. et al. The anticancer mechanism of caffeic acid phenethyl ester (CAPE): review of melanomas, lung and prostate cancers. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 16, n. 15, p. 2064–2068, dez. 2012.

- PARK, J. H. et al. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. **International Immunopharmacology**, v. 4, n. 3, p. 429–436, mar. 2004. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.intimp.2004.01.013>
- PEI, K. et al. p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 2952–2962, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1002/jsfa.7578>
- PELINSON, L. P. et al. Antiproliferative and apoptotic effects of caffeic acid on SK-Mel-28 human melanoma cancer cells. **Molecular Biology Reports**, v. 46, n. 2, p. 2085–2092, abr. 2019. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11033-019-04658-1>
- PENG, C.-C. et al. Cytotoxicity of Ferulic Acid on T24 Cell Line Differentiated by Different Microenvironments. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–7, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/579859>
- PENG, C.-Y. et al. Caffeic Acid phenethyl ester inhibits oral cancer cell metastasis by regulating matrix metalloproteinase-2 and the mitogen-activated protein kinase pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, v. 2012, p. 732578, 2012. DOI: <http://doi.org/10.1155/2012/732578>
- QI, G. et al. Cinnamic Acid (CINN) Induces Apoptosis and Proliferation in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 3–4, p. 589–596, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1159/000452572>
- RAJENDRA PRASAD, N. et al. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 349, n. 1–2, p. 11–19, mar. 2011. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11010-010-0655-7>
- REZAEI-SERESHT, H. et al. Cytotoxic activity of caffeic acid and gallic acid against MCF-7 human breast cancer cells: An in silico and in vitro study. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 9, n. 6, p. 574–586, dez. 2019. DOI: <http://doi.org/10.22038/AJP.2019.13475>
- ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866–2887, maio 2003. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf026182t>
- RODRIGUES, T. et al. Counting on natural products for drug design. **Nature Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 531–541, jun. 2016. DOI: <http://doi.org/10.1038/nchem.2479>
- RUWIZHI, N.; ADERIBIGBE, B. A. Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5712, ago. 2020. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21165712>
- SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**, v. 52, n. 6, p. 1075–1097, 2021. DOI: <http://doi.org/10.1007/s13592-021-00889-z>
- SARI, C.; SÜMER, C.; CELEP EYÜPOĞLU, F. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis in colorectal cancer cells via inhibition of survivin. **Turkish Journal of Biology = Turk Biyoloji Dergisi**, v. 44, n. 5, p. 264–274, 2020. DOI: <http://doi.org/10.3906/biy-2003-18>
- SERAFIM, T. L. et al. Lipophilic caffeic and ferulic acid derivatives presenting cytotoxicity against human breast cancer cells. **Chemical Research in Toxicology**, v. 24, n. 5, p. 763–774, maio 2011. DOI: <http://doi.org/10.1021/tx200126r>
- SFORCIN, J. M. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. **Phytotherapy research: PTR**, v. 30, n. 6, p. 894–905, jun. 2016. DOI: <http://doi.org/10.1002/ptr.5605>

SHAY, G.; LYNCH, C. C.; FINGLETON, B. Moving targets: Emerging roles for MMPs in cancer progression and metastasis. **Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology**, v. 44–46, p. 200–206, jul. 2015. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.019>

SILVA, T.; OLIVEIRA, C.; BORGES, F. Caffeic acid derivatives, analogs and applications: a patent review (2009 – 2013). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 24, n. 11, p. 1257–1270, nov. 2014. DOI: <http://doi.org/10.1517/13543776.2014.959492>

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 71–81, jan. 2002. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1415-52732002000100008>

SON, S.; LEWIS, B. A. Free Radical Scavenging and Antioxidative Activity of Caffeic Acid Amide and Ester Analogues: Structure–Activity Relationship. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 468–472, jan. 2002. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf010830b>

STANFORTH, V. et al. Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteinases in mouse skin via posttranslational mechanisms. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 5, p. 443–451, maio 2012. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.01.009>

STEENACKERS, W. et al. cis-Cinnamic acid is a natural plant growth-promoting compound. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 21, p. 6293–6304, nov. 2019. DOI: <http://doi.org/10.1093/jxb/erz392>

STEWART, B. W.; WILD, C. P. **World Cancer Report 2014**. Lyon: International Agency for Research on Cancer/World Health Organization, 2014.

SUGIURA, M. et al. Inhibitory activities and inhibition specificities of caffeic acid derivatives and related compounds toward 5-lipoxygenase. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 4, p. 1039–1043, abr. 1989. DOI: <http://doi.org/10.1248/cpb.37.1039>

SUN, Q.; HEILMANN, J.; KÖNIG, B. Natural phenolic metabolites with anti-angiogenic properties – a review from the chemical point of view. **Beilstein J. Org. Chem.**, p. 16, 2015.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. DOI: <http://doi.org/10.3322/caac.21660>

TALMADGE, J. E.; FIDLER, I. J. AACR Centennial Series: The Biology of Cancer Metastasis: Historical Perspective. **Cancer Research**, v. 70, n. 14, p. 5649–5669, jul. 2010. DOI: <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1040>

TAUTZ, E. et al. Use of Complementary and Alternative Medicine in breast cancer patients and their experiences: A cross-sectional study. **European Journal of Cancer**, v. 48, n. 17, p. 3133–3139, nov. 2012. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.04.021>

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1231–1246, dez. 2010a. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu2121231>

TSAO, R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1231–1246, dez. 2010b. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu2121231>

TUNGMUNNITHUM, D. et al. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 93, ago. 2018. DOI: <http://doi.org/10.3390/medicines5030093>

UEMORI, T. et al. Amplification of the 16S-23S Spacer Region in rRNA Operons of Mycoplasmas by the Polymerase Chain Reaction. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 181–186, maio 1992. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80089-5](http://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80089-5)

VALANCIENE, E. et al. Advances and Prospects of Phenolic Acids Production, Biorefinery and Analysis. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 874, jun. 2020. DOI: <http://doi.org/10.3390/biom10060874>

WANG, Z. et al. Crystal Engineering Construction of Caffeic Acid Derivatives with Potential Applications in Pharmaceuticals and Degradable Polymeric Materials. **CrystEngComm**, v. 22, n. 45, p. 7847–7857, dez. 2020. DOI: <http://doi.org/10.1039/D0CE01403F>

WODE, K. et al. Cancer patients' use of complementary and alternative medicine in Sweden: a cross-sectional study. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 62, dez. 2019. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12906-019-2452-5>

World Health Organization - Cancer - key facts. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acesso em: 6 out. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE. **WORLD CANCER REPORT: cancer research for cancer development.** Place of publication not identified: IARC, 2020.

XIAO, H.-T. et al. Potential of Plant-sourced Phenols for Inflammatory Bowel Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 38, p. 5191–5217, 2018. DOI: <http://doi.org/10.2174/0929867324666171009100900>

YANG, G.-W.; JIANG, J.-S.; LU, W.-Q. Ferulic Acid Exerts Anti-Angiogenic and Anti-Tumor Activity by Targeting Fibroblast Growth Factor Receptor 1-Mediated Angiogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 24011–24031, out. 2015a. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms161024011>

YANG, G.-W.; JIANG, J.-S.; LU, W.-Q. Ferulic Acid Exerts Anti-Angiogenic and Anti-Tumor Activity by Targeting Fibroblast Growth Factor Receptor 1-Mediated Angiogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 24011–24031, out. 2015b. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms161024011>

YIN, Z. N. et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Capacity of Ferulic Acid Released from Wheat Bran by Solid-state Fermentation of *Aspergillus niger*. **Biomedical and environmental sciences: BES**, v. 32, n. 1, p. 11–21, jan. 2019. DOI: <http://doi.org/10.3967/bes2019.002>

YOKOTA, J. Tumor progression and metastasis. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 3, p. 497–503, 2000.

ZDUŃSKA, K. et al. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 31, n. 6, p. 332–336, 2018. DOI: <http://doi.org/10.1159/000491755>

ZHANG, X. et al. Ferulic acid exerts antitumor activity and inhibits metastasis in breast cancer cells by regulating epithelial to mesenchymal transition. **Oncology Reports**, v. 36, n. 1, p. 271–278, jul. 2016. DOI: <http://doi.org/10.3892/or.2016.4804>

ZIELIŃSKA, D. et al. Caffeic Acid Modulates Processes Associated with Intestinal Inflammation. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 554, fev. 2021. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu13020554>

Capítulo 2 – Manuscrito*

* O manuscrito a seguir será apresentado conforme as recomendações do “International Committee of Medical Journal Editors – ICJME” (normas de Vancouver).