

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO - PPGAN
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Thuane Oliveira do Amaral Muxfeldt Paim

**INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE MURICI E TAPEREBÁ EM LINHAGEM
CELULAR HUMANA DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA PC-3**

Rio de janeiro

2019

Thuane Oliveira do Amaral Muxfeldt Paim

**INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE MURICI E TAPEREBÁ EM LINHAGEM
CELULAR HUMANA DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA PC-3**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Dr. Anderson Junger Teodoro

Rio de Janeiro

2019

P142 Paim, Thuane Oliveira do Amaral Muxfeldt
Influência de extratos de murici e taperebá em
linhagem celular humana de adenocarcinoma de
próstata PC-3 / Thuane Oliveira do Amaral Muxfeldt
Paim. -- Rio de Janeiro, 2019.
100 f

Orientador: Anderson Junger Teodoro.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição, 2019.

1. frutas amazônicas. 2. murici. 3. taperebá. 4.
câncer de próstata. 5. compostos bioativos. I.
Teodoro, Anderson Junger , orient. II. Título.

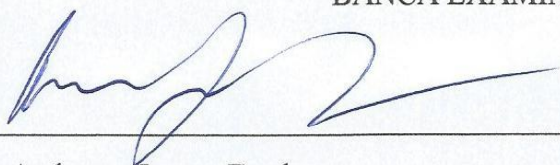
Thuane Oliveira do Amaral Muxfeldt Paim

**INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE MURICI E TAPEREBÁ EM
LINHAGEM CELULAR HUMANA DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA
PC-3**

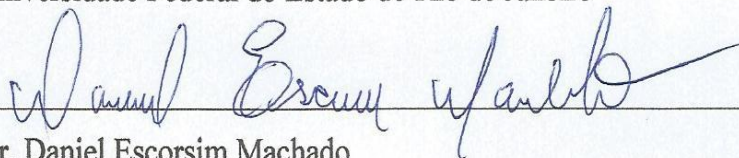
Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Aprovado em: 28/03/2019

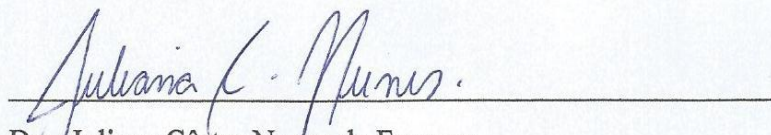
BANCA EXAMINADORA



Dr. Anderson Junger Teodoro
Orientador
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro



Dr. Daniel Escorsim Machado
Membro titular externo
Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste



Dra. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca
Membro titular interno
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

DEDICATÓRIAS

Primeiramente a Jesus, que me sustenta.
Ao meu esposo e família que me
incentivaram em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, que com sua infinita graça colocou no meu caminho pessoas que me ajudaram durante esta jornada. Por ouvir minhas orações, realizar milagres para êxito em todos os experimentos realizados, me fortalecendo dia após dia e sustentar para alcançar essa vitória.

Meu esposo Diogo Paim, por estar ao meu lado, por cada oração e pela paciência durante este período.

Aos meus pais Selma e José Carlos, que me deram a base para que pudesse chegar até aqui. Me ensinando a sonhar, sempre acreditando em mim e que podia ir além de suas histórias.

Aos meus sogros, Glória e Assis Paim que me acolheram e se orgulham de cada conquista.

Ao Prof. Dr. Anderson Junger Teodoro, por se disponibilizar na orientação deste projeto e apoio em todos os momentos marcantes na minha vida profissional, desde a graduação a pós-graduação. Obrigado por todos os ensinamentos nestes anos de vida acadêmica.

Aos meus bispos Ricardo e Roberta, pelas orações e inspiração para crescimento em todas as áreas de nossas vidas.

A minha amiga Nayara Frauches que me incentivou desde o início, da abertura do edital ao fim desta jornada.

Aos parceiros de laboratório e amigos, Joel Pimentel, Lana Rosa e Larissa Lima, pelos ensinamentos e companheirismo durante este período. Agradeço a Deus por ter colocado vocês no meu caminho. Vocês foram essenciais para completar essa etapa em minha vida.

Aos amigos de classe, laboratório e funcionários da UNIRIO.

Ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN).

E a todos que acreditaram e contribuíram para a realização desse projeto.

EPÍGRAFE

Por isso não tema, pois estou com você; não tenha medo, pois sou o seu Deus. Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o segurarei com a minha mão direita vitoriosa.

Isaías 41:10

RESUMO

O câncer de próstata é o tumor maligno mais comum em homens e a segunda causa de mortalidade relacionada ao câncer em homens no mundo. Estratégias de quimioprevenção tem emergido na área de pesquisa, a prevenção do câncer com foco em fitoquímicos, compostos quimiopreventivos em frutas, vegetais e outras plantas. Frutos exóticas amazônicas, como o murici (MU) e o taperebá (TAP), possuem características sensoriais únicas e com alta concentração de nutrientes e compostos bioativos, com grande potencial antioxidante expresso na literatura, contudo estudos dos efeitos anticarcinogênicos sobre a adenocarcinoma prostático humano são escassos. O objetivo geral deste trabalho foi investigar o efeito dos extratos bioativos liofilizados, obtidos a partir das polpas de murici e taperebá, sobre a proliferação, ciclo celular e apoptose sobre a linhagem de adenocarcinoma de próstata humano (PC-3). No presente estudo houve a caracterização físico-química das polpas comerciais de murici e taperebá e avaliação dos compostos fenólicos totais e identificação e quantificação dos carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) dos extratos bioativos produzidos. Os extratos de murici apresentaram maior atividade antioxidante quando comparados aos extratos de taperebá, mensurada pelos ensaios de DPPH, FRAP, ABTS e ORAC. As análises de viabilidade celular, ciclo celular e apoptose foram realizadas através do método MTT e por citometria de fluxo. Os resultados de MTT evidenciaram uma redução da viabilidade celular com redução máxima de 39,19% quando incubado com o extrato aquoso de murici liofilizado (MA) (20mg/mL), redução máxima média de 70,41% com o extrato etanólico de murici liofilizado (ME) (5 e 10mg/mL) e 38,17 para extrato aquoso de taperebá liofilizado (TA) (10 e 20mg/mL), e redução máxima de 17,49% com tratamento com extrato etanólico de taperebá liofilizado (TE) (20mg/mL). A análise do ciclo celular revelou, que o MA (10mg/mL) diminuiu a porcentagem de células na fase G_0/G_1 e aumentou nas fases S e G_2/M , sendo capaz de induzir apoptose nas células prostáticas. Foi observado aumento da taxa de células apoptóticas em todos os extratos estudados, com incremento máximo de 10,25 vezes na taxa de células apoptóticas para TE (20mg/mL). Neste sentido, os extratos bioativos mostraram-se como potentes inibidores do crescimento celular, promotores de modulação de ciclo celular e capazes de aumentar a morte em células de carcinoma de próstata (PC-3); sugerindo um efeito regulador nessa linhagem, dependente do tipo de extrato e dose utilizada. Desta forma, os dados obtidos abrem uma série de perspectivas sobre a utilização dos extratos bioativos de murici e taperebá na prevenção e tratamento do câncer de próstata.

Palavras-chave: frutas amazônicas; murici; taperebá; câncer de próstata; compostos bioativos.

ABSTRACT

Prostate cancer is the most common malignant tumor in men and the second most prevalent type of cancer in the male population worldwide. The strategy of chemoprevention emerges in the field of cancer prevention, focusing on phytochemicals, chemopreventive compounds in fruits, vegetables and other plants. Exotic Amazonian species like murici and taperebá have unique sensory characteristics and high concentration of nutrients and bioactive compounds, with greater antioxidant potential expressed in the literature, but studies focus on their anticarcinogenic effects on human prostate adenocarcinoma are still scarce. The objective of this work was to investigate the effect of the lyophilized extracts obtained from the murici and taperebá pulps, on the proliferation, cell cycle and apoptosis on human prostate adenocarcinoma (PC-3) lineage. In the present study, the physical-chemical characterization of commercial pulps of murici and taperebá and evaluation of total phenolic compounds and identification and quantification of carotenoids by HPLC of the bioactive extracts produced were performed. The extracts of murici presented higher antioxidant activity when compared to the extracts of taperebá, measured by the DPPH, FRAP, ABTS and ORAC assays. The assays of cell viability, cell cycle and apoptosis analyzes were performed using the MTT method and flow cytometry. The MTT results showed a reduction in cell viability with a maximum reduction of 39.19% when incubated with MA (20mg / mL), mean maximum reduction of 70.41% with ME (5 and 10mg/mL) and 38,17 for TA (10 and 20mg/ mL), and a maximum reduction of 17.49% with treatment with TE (20mg/mL). Cell cycle analysis revealed that MA (10mg/mL) decreased the percentage of cells in G₀/G₁ phase and increased in S and G₂/M phases and still capable of inducing apoptosis in prostate carcinoma cells. All extracts promoted an increase in the percentage of apoptotic cells, with a maximum increase of 10.25 times in the rate of apoptotic cells for TE (20mg/mL). Accordingly, murici and taperebá extracts proved to be inhibitors of cell growth, modulation of cell cycle promoters and capable of enhancing the death in prostate carcinoma cells PC-3; suggesting a regulatory effect in this lineage, depending on type of extract and dose used. These results open a series of perspectives on the use of these bioactive extracts in the prevention and treatment of prostate cancer.

Keywords: amazonian fruits, murici, taperebá, prostate cancer, bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Representações da localização anatômica da próstata (A e B)
- Figura 2 Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018, exceto pelo não melanoma
- Figura 3 Esquema de gradação do escore de Gleason
- Figura 4 Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano: PC-3
- Figura 5 Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)
- Figura 6 Taperebá (*Spondia mombin* L.)
- Figura 7 Efeito do MA (A), ME (B), TA (C) e TE (D) sobre a viabilidade celular da linhagem PC-3 após 24 horas de tratamento. Fotos de poços com concentrações de controle, 10 e 20 mg/mL.
- Figura 8 Efeito do MA sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito MA sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).
- Figura 9 Efeito do ME sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito ME sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).
- Figura 10 Efeito do TA sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito TA sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).
- Figura 11 Efeito do extrato aquoso TE sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito TE sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).
- Figura 11 Efeitos dos MA, ME, TA e TE sobre o processo de morte programada em células PC-3 24h após a incubação. As análises por citometria de fluxo das células não tratadas (CT) estão ilustradas em A e das células tratadas em B (10mg/mL) e C (20mg/mL). A taxa de aumento relativo de apoptose na linhagem PC-3 tratadas com extratos de murici e taperebá nas concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL após 24 horas estão ilustrados nos gráficos (D).

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Sistema de estadiamento TNM para o câncer de próstata
- Tabela 2 Composição nutricional e físico-química do murici e taperebá
- Tabela 3 Características físico-químicas e análise colorimétrica de polpas de murici e taperebá
- Tabela 4 Atividade antioxidante total determinada pelos ensaios DPPH, ABTS, FRAP e ORAC por água nas polpas *in natura* (I) e nos extratos aquoso (II) e etanólico (III) liofilizados de murici e taperebá.
- Tabela 5 Composição de carotenóides dos extratos de murici e taperebá ($\mu\text{g/g}$)
- Tabela 6 Efeito dos extratos aquoso e etanólico de murici e taperebá em diferentes concentrações (10mg/mL e 20mg/mL) sobre o processo de morte celular por apoptose nas células de adenocarcinoma de próstata humana (PC-3) 24h após a incubação

LISTA DE SIGLAS

CaP – Câncer de próstata

CIE – *International Commission on Illumination/ Commission internationale de l'éclairage*

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPPH – (1,1-difenil-2picrilidrazil)

ABTS – (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico)

FRAP – Capacidade ferri-redutora

GAE – Acido gálico equivalente

G₀ – Estado de quiescência das células durante o ciclo celular

G₁ – Primeira fase do ciclo celular

G₂ – Segunda fase do ciclo celular

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IC50 – Concentração necessária para inibir 50% da atividade de um composto

M – Mitose

MA – Extrato aquoso de murici liofilizado

ME – Extrato etanólico de murici liofilizado

MU – Murici

MTT – (brometo de 3-[4,5dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio)

ORAC – Capacidade de absorção de radical de oxigênio

PARs – Receptores ativados por proteases

PBS – Solução salina tamponada (do inglês, phosphate buffered saline)

PC-3 – Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano

pH – Potencial de hidrogênio

PSA – antígeno prostático específico

S – Fase de replicação do DNA durante o ciclo celular

TA – Extrato aquoso de taperebá liofilizado

TAP- Taperebá

TE – Extrato etanólico de taperebá liofilizado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 PRÓSTATA	16
2.2 CÂNCER DE PRÓSTATA	17
2.2.1 Fatores de risco	18
2.2.2 Sinais e sintomas do câncer de próstata	19
2.2.3 Diagnóstico e tratamento	20
2.2.4 Estadiamento da doença	22
2.2.5 Metástase óssea	23
2.2.6 Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano: PC-3	24
2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS E CÂNCER DE PRÓSTATA	25
2.3.1 Carotenóides e câncer de próstata	27
2.4 POTENCIAL BIOATIVO DO MURICI E TAPEREBÁ	28
2.4.1 Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth e <i>verbascifolia</i> (L.) DC)	29
2.4.2 Taperebá (<i>Spondia mombin</i> L.)	32
3 JUSTIFICATIVA	36
4 OBJETIVOS	37
4.1 Objetivos gerais	37
4.2 Objetivos específicos	37
5 MATERIAL E MÉTODOS	38
5.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA	38
5.2 PREPARO DAS EXTRATOS	38
5.2.1 Extração das polpas congeladas comerciais	38
5.2.2 Preparo dos extratos aquoso liofilizados	38
5.2.3 Preparo dos extratos etanólicos liofilizados	39
5.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E FÍSICO-QUÍMICA	39
5.3.1 Análise colorimétrica	39
5.4 ANÁLISE DE CAROTENÓIDES	40
5.5 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	40
5.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	41
5.6.1 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH	41
5.6.2 Análise de atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+	41
5.6.3 Análise determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do Ferro (FRAP)	42
5.6.4 Ensaio ORAC	42
5.7 ENSAIOS IN VITRO	43
5.7.1 Cultura de células e protocolo de tratamento	43

5.7.2 Ensaio de viabilidade e proliferação celular (MTT)	44
5.7.3 Análise de ciclo celular	44
5.7.4 Avaliação da indução da apoptose	45
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
6 RESULTADOS	46
6.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANÁLISE COLARIMÉTRICA DE POLPAS DE MURICI E TAPEREBÁ	46
6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DAS POLPAS E EXTRATOS BIOATIVOS DE MURICI E TAPEREBÁ	47
6.3 QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENÓIDES DOS EXTRATOS BIOATIVOS DE MURICI E TAPEREBÁ	50
6.4 EFEITOS DOS EXTRATOS DE MURICI E TAPEREBÁ EM LINHAGEM DE CÉLULA DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA (PC-	50
6.4.1 Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá na viabilidade celular	50
6.4.2. Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá sobre a progressão do ciclo celular	53
6.4.3 Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá sobre a taxa de apoptose celular	57
7 DISCUSSÃO	61
8 CONCLUSÃO	75
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui em seu território uma vasta biodiversidade, com cerca de 55 mil espécies de plantas superiores, o que equivale a cerca de 22% do total das existentes no mundo (BRASIL, 2002). Diante da biodiversidade brasileira, destaca-se a grande variedade de frutas produzidas em todas as regiões do país, sendo o Brasil o terceiro maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas de China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira e potencial de crescimento (IBGE, 2013; REETZ et al., 2015; SEBRAE, 2016).

As espécies frutíferas têm elevado valor econômico, tanto no comércio de frutas frescas, como na produção de matérias-primas para a agroindústria (ROGEZ et al., 2004). A região Amazônica contém uma gama de variedades de frutas com diversos aromas e sabores exóticos, que apresentam potencialidade econômica e uma perspectiva de valorização importante para a região (BRAGA et al., 2010). Destaca-se ainda além de ornamental e agroindustrial o grande potencial medicinal das frutas (CARVALHO NETO, 2009).

Entre as principais estratégias preventivas para a saúde surge como opção terapêutica a quimioprevenção, a qual consiste no uso de agentes químicos naturais ou sintéticos para prevenir, interromper, estabilizar ou reverter a gênese do câncer (SPORN, 1976; OLIVEIRA; ALDRIGHI; RINALDI, 2006). Neste contexto, entre as prioridades desta área de pesquisa emergem a prevenção do câncer com foco em fitoquímicos, compostos quimiopreventivos em frutas, vegetais e outras plantas (KUCUK, 2002; KAPINOVA et al., 2019; FORESTIER-ROMÁN et al., 2019).

Muitas espécies de plantas nativas do bioma da Amazônia brasileira produzem frutas com características sensoriais únicas e com alta concentração de nutrientes e compostos bioativos, como o Murici (MU) (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth e *verbascifolia* (L.) DC.) e o Taperebá (TAP) (*Spondias mombin* L.). Estes frutos vêm ganhando destaque em pesquisas sobre avaliação dos seus valores nutricionais, especialmente em relação à sua atividade antioxidante (BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009; SOUZA et al., 2012; MURILLO et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011; FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012; RUFINO et al., 2009). Entretanto,

maiores investigações de seus valores nutricionais e medicinais são necessárias para avaliação de seus efeitos na quimioprevenção.

Entre os diferentes tipos de câncer destaca-se o câncer de próstata (CaP), o qual devido à maior prevalência em idosos constitui uma preocupação de saúde muito importante, inclusive a nível socioeconômico, quando se considera o significativo aumento da expectativa de vida da população acompanhada com novas incidências (DINI; KOFF, 2006; RHODEN; AVERBECK, 2010). Embora a etiologia do câncer de próstata ainda não é claro, os fatores de risco bem conhecidos para o câncer de próstata são a idade, raça, níveis de andrógenos da próstata (dihidrotestosterona; DHT) e também os hábitos alimentares (CRAWFORD, 2009; RODDAM, 2008). Há evidências de que uma dieta rica em frutas, verduras, legumes, grãos e cereais integrais e pobre em gordura, principalmente as de origem animal, não só ajuda a diminuir o risco de câncer, como também o risco de outras doenças crônicas não transmissíveis (BRASIL, 2002a; GUSMÃO; CARVALHO; PARDINHO, 2017).

Portanto, fazem-se necessários mais estudos sobre a determinação de compostos bioativos presentes no MU e TAP, que forneçam a população em geral informações sobre a utilização desses frutos na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, tais como o câncer. Ademais, destaca-se que seus efeitos no controle e prevenção do desenvolvimento do câncer prostático são escassos na literatura, havendo a necessidade de mais explicações a respeito do papel desses compostos bioativos antes de serem recomendados como agentes anticancerígenos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRÓSTATA

A próstata é uma glândula do sistema produtor masculino que se localiza na parte abaixo da bexiga e à frente do reto (Figura 1). Além de produzir, armazena o líquido prostático, que junto com o líquido seminal produzido pelas vesículas seminais e os espermatozoides produzidos nos testículos formam o sêmen, líquido espesso liberado durante o ato sexual. A próstata envolve parte da uretra sendo responsável em carrear o sêmen e urina produzida para ser eliminada do organismo (BRASIL, 2017b).

A próstata pode ser dividida em lobos, um lobo anterior, um posterior e um lobo médio e dois lobos laterais (direito e esquerdo). O lobo anterior não possui tecido glandular e é constituído apenas por tecido fibromuscular. O lobo posterior é o lobo que é palpado durante a realização do exame retal digital e o lobo médio é a porção da glândula situada entre os ductos ejaculatórios e a uretra. Os lobos laterais formam a massa principal da glândula, são contínuos posteriormente, mas separados anatomicamente pela uretra prostática. A próstata é envolvida por uma cápsula fibromuscular, que é considerada um limite anatômico para o estadiamento e prognóstico do câncer de próstata (FILHO; JÚNIOR; REIS, 2010).

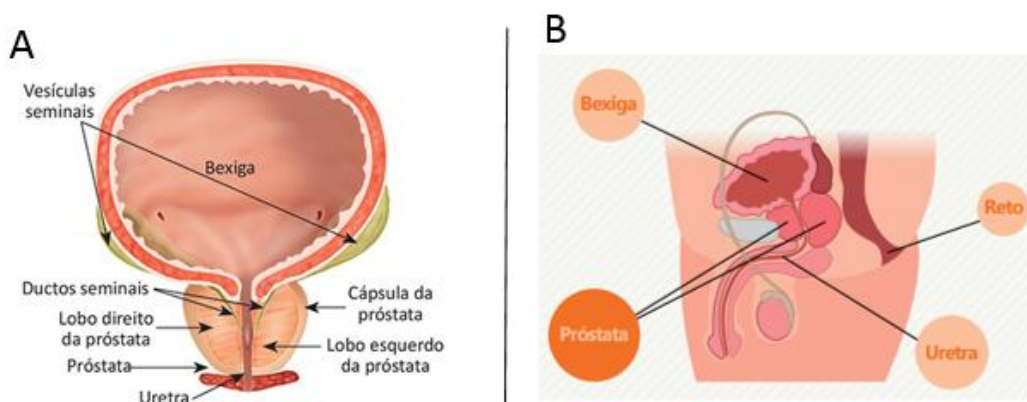


Figura 3. Representações da localização anatômica da próstata (A e B)

Fontes: Modificado de INSTITUTO VENCER O CÂNCER, SD e BRASIL, 2017b.

2.2 CÂNCER DE PRÓSTATA

O CaP é uma enfermidade que quando se inicia nas células glandulares secretoras de sêmen recebe o nome de adenocarcinoma ou câncer glandular por se desenvolver em uma glândula do aparelho reprodutor masculino, a próstata. Assim os genes das células glandulares sofrem mutações e ocorre uma proliferação anormal dessas células, que começam a se multiplicar de maneira desordenada, originando o tumor (GONÇALVES; PADOVANI; POPIM, 2008), podendo este ser classificado como benigno ou maligno.

Segundo Srougi e Simon (1996), a próstata pode ser sede desses dois processos: o crescimento benigno, chamado de hiperplasia prostática benigna, e o maligno, denominado CaP, podendo este último surgir associado ou não ao crescimento benigno. Os andrógenos desempenham um importante papel durante a diferenciação e o desenvolvimento da próstata normal, mas são também responsáveis pela iniciação e pela manutenção da hiperplasia benigna e do câncer prostático (GRIFFITHS; MORTON; NICHOLSON, 1997; ATTARD et al., 2016).

Dentre os diferentes tipos de câncer, o CaP constitui hoje um problema de saúde em nível mundial, representando cerca de 6% do total de mortes masculinas no mundo. O câncer de próstata é considerado o segundo mais comum na população masculina em todo o mundo e o mais incidente entre os homens em todas as regiões do Brasil, sem considerar os tumores de pele não melanoma. O número de casos novos de câncer de próstata estimado para o Brasil, para cada ano do biênio 2018-2019, foi de 68.220 (Figura 2). Estes valores correspondem a um risco estimado de 66,12 casos novos a cada 100 mil homens (BRASIL, 2017a).

Localização primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%
Cólon e Reto	17.380	8,1%
Estômago	13.540	6,3%
Cavidade Oral	11.200	5,2%
Esôfago	8.240	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%
Laringe	6.390	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%



Figura 4. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018, exceto pelo não melanoma.

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2017a

No Brasil, observa-se um aumento das taxas de incidência de CaP ao longo dos anos. Isso se deve ao aumento da expectativa de vida da população, à melhoria da qualidade dos sistemas de informação, à maior disponibilidade dos métodos de diagnóstico e ao aumento do sobrediagnóstico associado à disseminação do rastreamento (BRASIL, 2014). A idade média na qual o CaP é mais comumente diagnosticado se situa em torno dos 72-74 anos (AUS et al., 2001).

2.2.1 Fatores de risco

A etiologia do câncer de próstata é desconhecida, embora alguns fatores de risco tenham sido identificados (fatores genéticos, raciais, dietéticos) (RHODEN; AVERBEC, 2010). O avanço da idade compreende um fator de risco bem estabelecido, visto que tanto a incidência como a mortalidade aumentam após os 50 anos (HOWLADER et al., 2017).

Os fatores genéticos e ambientais são alvo de investigação. Fumaça de automóveis, cigarros, fertilizantes e outros produtos químicos estão sob suspeita (BANDEIRAS et al., 2003). Estudos genéticos sugerem uma forte predisposição familiar, podendo ser responsável por 5-10% dos cânceres de próstata (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017). O histórico familiar em primeiro grau (pai, irmãos ou

filhos) apresenta associação positiva para aumento no risco de desenvolvimento dessa neoplasia, assim como a ascendência africana (SARRIS et al., 2018; BRASIL, 2017a).

Padrões alimentares saudáveis em combinação com atividade física regular são necessários para manter um corpo saudável e reduzir o risco de câncer (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017). Evidências científicas sugerem um papel potencial para a ingestão dietética na incidência e progressão do câncer de próstata. Uma maior ingestão de gordura saturada pode aumentar o risco desta neoplasia, enquanto ingestão de proteína de soja, gordura ômega-3 (w-3), chás verdes, tomate e produtos de tomate e baixa ingestão de carboidrato mostraram-se promissores na redução do risco ou progressão da CaP (LIN; ARONSON; FREEDLAND, 2015).

2.2.2 Sinais e sintomas do câncer de próstata

A evolução do câncer de próstata em sua fase inicial é considerada silenciosa, sendo uma fase assintomática em muitos pacientes e se apresentar sintomas é semelhante aos sintomas de tumores benignos da próstata como a dificuldade de urinar, necessidade de urinar mais vezes durante o dia ou à noite (BRASIL, 2008). Os sintomas de disfunção miccional (polaciúria, disúria, redução da força e calibre do jato urinário, noctúria, hesitação, sensação de repleção miccional) são historicamente mencionados como os sintomas mais comumente relacionados ao CaP (BARNES, 1940).

Na fase avançada, pode provocar sintomas urinários ou, quando mais grave, infecção generalizada ou insuficiência renal (BRASIL, 2008). Sinais e sintomas relacionados à invasão local, tais como hematúria (invasão da bexiga) ou mesmo obstrução ureteral, com conseqüente hidronefrose e uremia ou, menos frequentemente, sangramento retal decorrente de invasão retal pode ser observado (RHODEN; AVERBEC, 2010). Com o avançar do CaP a doença se espalha para outras partes do corpo, sendo um sintoma comum a dor óssea, geralmente atingindo as vertebrae, pelve ou costelas (BRASIL, 2008).

Com a disseminação da doença, o local mais provável são os linfonodos, e, em seguida, os ossos e com menos frequência atinge fígado ou outros órgãos. A metástase

óssea encontra-se as principais consequências dos tumores de próstata (RODRIGUES; FERREIRA, 2010). A metástase óssea com dor não controlada é uma condição devastadora, propiciada pelo ambiente ósseo favorável à disseminação da doença prostática e pela relativa resistência à terapia (BRASIL, 2002a).

2.2.3 Diagnóstico e tratamento

Os principais instrumentos de rastreamento do câncer de próstata incluem toque retal, antígeno prostático específico (PSA) e o exames complementares como ultrassom (via abdominal e transretal) e ressonância magnética, sendo o diagnóstico confirmatório de câncer de próstata feito a partir da biópsia prostática transrectal (GERBER; CHODAK, 1991; BRASIL, 2009; SARRIS et al., 2018).

O estudo histopatológico do tecido obtido pela biópsia leva em consideração o padrão glandular e a relação entre as glândulas e o estroma prostático, determinando o grau de diferenciação das células tumorais. O relatório anátomo-patológico deve fornecer a graduação histológica do sistema de Gleason, cujo objetivo é informar sobre a provável taxa de crescimento do tumor e sua tendência à disseminação, além de ajudar na determinação do melhor tratamento e do prognóstico do doente (BRASIL, 2002a; SEPÚLVEDA, et al. 2014).

A escala de graduação do câncer da próstata varia de 1 a 5, com o grau 1 sendo a forma menos agressiva. Quanto mais diferentes das células normais forem as células do câncer, mais agressivo será o tumor e mais rápida será sua disseminação (BRASIL, 2002a) (Figura 3).

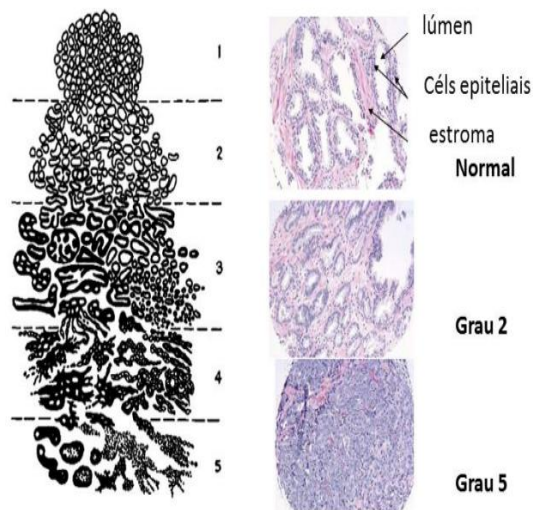


Figura 3. Esquema de gradação do escore de Gleason
 Fonte: CARVALHO, 2016.

Para se obter o escore total da classificação de Gleason, que varia de 2 a 10, o patologista gradua de 1 a 5 as duas áreas mais frequentes do tumor e soma os resultados. Quanto mais baixo o escore de Gleason, melhor será o prognóstico do paciente. Escores entre 2 e 4 significam que o câncer provavelmente terá um crescimento lento. Escores intermediários, entre 5 e 7, podem significar um câncer de crescimento lento ou rápido e este crescimento vai depender de uma série de outros fatores, incluindo o tempo durante o qual o paciente tem o câncer. Escores do final da escala, entre 8 e 10, significam um câncer de crescimento muito rápido (PINSKY et al., 2007; BRASIL, 2002a).

Na fase inicial, o câncer de próstata é hormônio dependente, em que há a multiplicação a partir, principalmente, da ação dos hormônios testosterona e hidrostestorona no receptor andrógeno, levando à multiplicação celular. Sendo assim, a terapia inicial para o tratamento do câncer de próstata pode consistir na prostatectomia radical ou parcial, seguida da terapia de deprivação do andrógeno (ATTARD et al., 2016).

A terapia de deprivação do andrógeno possui como objetivo reduzir a atividade da testosterona a níveis de castração, devido ao fato crítico que os andrógenos desempenham no crescimento do CaP. Essa supressão de andrógenos testiculares pode-se conseguir mediante a castração cirúrgica ou química. Contudo essa terapia não é curativa, e após um período de dois a três anos de tratamento, as células de CaP

reativam a sinalização do receptor andrógeno, voltando para a proliferação celular de níveis baixos de testosterona circulante. Nesta fase, tem-se a denominação CaP resistente à castração ou CaP andrógeno independente (KNUDSEN; SCHER, 2009).

Destaca-se dentre os tratamentos para o tumor prostático localizado a cirurgia ou a radioterapia (TONON; SCHOFFEN, 2009). O tratamento monoterápico geralmente é ineficaz na doença localmente avançada, sendo as melhores opções de tratamento nestas situações a combinação de bloqueio hormonal e cirurgia radical ou radioterapia externa, ou cirurgia radical seguida de radioterapia (BRASIL, 2002a). Porém, se a doença se expandiu para outros órgãos, a cura é improvável e o tratamento está baseado na supressão androgênica, sendo a castração ou bloqueio hormonal são os tratamentos mais adequados (BRASIL, 2002a; TONON; SCHOFFEN, 2009).

2.2.4 Estadiamento da doença

Após o diagnóstico, realiza-se o estadiamento, que consiste em identificar o grau de crescimento do tumor e sua disseminação. A evolução dos pacientes com câncer está intimamente relacionada com a extensão da neoplasia e, por isso, foram introduzidos na clínica sistemas de estadiamento do tumor com a finalidade de caracterizar sua extensão e padronizar a classificação dos pacientes com a doença.

O método mais comum de estadiamento do câncer de próstata é a utilização de um sistema denominado sistema de estadiamento TNM (Tabela 1). É um método internacional desenvolvido pelo *The American Joint Committee on Cancer* que adota a classificação conforme extensão do tumor primário (T), a presença ou ausência de acometimento linfonodal locorregional (N) e a presença ou ausência de metástases (M) (BRASIL, 2004a).

Tabela 1. Sistema de estadiamento TNM para o câncer de próstata

Sistema TNM – Classificação clínica	
T – Tumor primário	
TX	Tumor não avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
T1	Tumor não diagnosticado clinicamente, não palpável ou visível por exame de imagem
T1a	Achado incidental ocupando $\leq 5\%$ do tecido ressecado
T1b	Achado incidental ocupando $> 5\%$ do tecido ressecado
T1c	Achado por biópsia realizada devido à elevação no PSA
T2	Tumor confinado à próstata
T2a	Ocupa a metade ou menos de um dos lobos
T2b	Ocupa mais da metade de um dos lobos
T2c	Comprometimento de ambos os lobos
T3	Tumor que se estende através da cápsula prostática
T3a	Extensão extracapsular (uni ou bilateral)
T3b	Invasão da vesícula seminal
T4	Tumor fixo ou invadindo estruturas pélvicas
N – Linfonodos regionais	
NX	Linfonodos regionais não localizados
N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais
N1	Presença de metástase em linfonodos regionais
M – Metástase à distância	
MX	Metástase à distância não avaliada
M0	Ausência de metástase à distância
M1	Presença de metástase à distância
M1a	Em linfonodo(s) não regional(ais)
M1b	Ossos(s)
M1c	Outras localizações

Fonte: BRASIL, 2004a.

2.2.5 Metastase óssea

Os principais sítios primários das metástases ósseas são: mama, pulmão, próstata, tireoide e rim. Em geral, o acometimento ósseo nessas neoplasias sugere doença disseminada, com outros órgãos provavelmente acometidos (KIM et al., 2018).

A maior parte da morbidade e mortalidade no câncer de próstata avançado deve-se direta ou indiretamente ao envolvimento ósseo, incluindo questões relacionadas à dor, fraturas, imobilidade, substituição da medula óssea, hipoventilação e inanição

(BERRUTI et al. 2000). A metástase óssea está presente em 90% dos pacientes com câncer de próstata avançado (FURITSU et al., 1993).

Há predileção do câncer de próstata metastatizar para o esqueleto axial, embora o envolvimento em outros locais do esqueleto não seja incomum. Essa predileção torna os homens com câncer de próstata metastático particularmente suscetíveis às consequências potencialmente devastadoras da compressão da medula espinhal e subsequente paralisia se não forem tratados rapidamente (CLARK; TORTI, 2003).

A doença prostática metastática resistente à castração é incurável e o tratamento quimioterápico paliativo é a escolha. A terapia de privação de andrógeno é o padrão ouro para a terapia de primeira linha no câncer de próstata avançado. Embora não seja curativo, demonstrou prolongar a sobrevivência de homens com câncer de próstata avançado. Este tratamento coloca os pacientes em risco aumentado de fraturas causadas pela perda progressiva de densidade mineral óssea e osteoporose (CLARK; TORTI, 2003).

Os bisfosfonatos ou o denosumabe também são utilizados em pacientes com metástase óssea para reduzir a dor e o crescimento do tumor. A radioterapia é utilizada para tratar a dor óssea localizada. Os radiofármacos muitas vezes podem reduzir a dor e retardar a progressão da doença (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2016).

A metástases ósseas é um fator de mau prognóstico. O prognóstico é de que 50% dos pacientes com câncer de próstata que desenvolvem metástase morrem dentro de 30 meses (RIGAUD et al. 2002). Como há muitos homens com câncer de próstata avançado que apresentam metástases ósseas, seu tratamento é um problema significativo de saúde pública.

2.2.6 Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano: PC-3

A linhagem celular PC-3 foi estabelecida em 1979 a partir de metástase óssea de grau IV de CaP em um homem caucasiano de 62 anos de idade. As células PC-3 não expressam o receptor de andrógeno e o PSA e são independentes de androgênio. Não

responde a andrógenos, glicocorticóides ou fatores de crescimento de epitélio ou fibroblasto (KAIGHN et al., 1979; VAN BOKHOVEN et al., 2003).

Essa linhagem mostra um comportamento altamente agressivo, devido principalmente à alta capacidade de migração e invasão tecidual desempenhada por aquelas células com metástase em osso, que é diferente da maioria dos casos clínicos de CaP, além de representar tumores resistentes à castração (TAI et al. 2011; PINA et al., 2008).

No presente estudo foi escolhida a linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano PC-3 (figura 4) por suas características de agressividade, resistência a tratamentos e a escassez de trabalhos em relação a mesma com os frutos de murici e taperebá. O estudo do efeito de extratos de murici e taperebá sobre a linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humana PC-3 possui o intuito de avaliar a implicação desses extratos sobre o controle e prevenção do desenvolvimento do CaP.

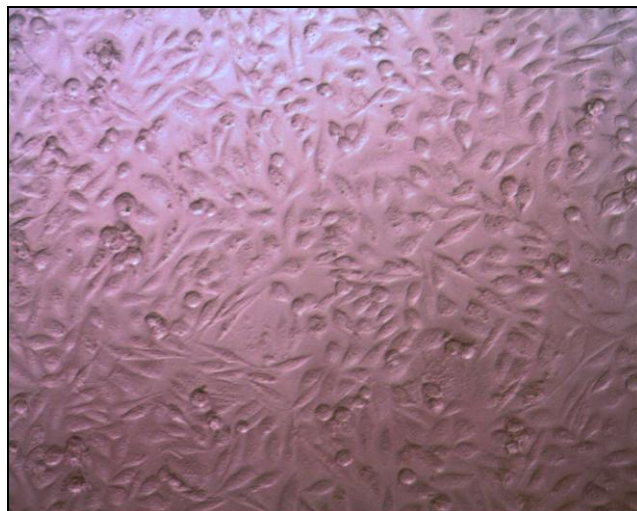


Figura 4. Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano: PC-3
Fonte: Imagem obtida de microscópio óptico. Barra = 100 μ m.

2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS E CÂNCER DE PRÓSTATA

Os efeitos antitumorais dos alimentos quimiopreventivos consistem em sua ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-hormonais e antiangiogênica. Estes efeitos estão

associados não só com a presença de antioxidantes como as vitaminas A, C e E, mas também com outras substâncias naturais, como o carotenóides, flavonóides e outros compostos fenólicos, captadores de radicais livres e com atividade de remoção do oxigênio singlete ou que são capazes de quelar metais, bloqueando as espécies reativas de oxigênio. Além de outros efeitos como a promoção de apoptose de células tumorais, inibição da angiogênese e como antagonistas de fatores de crescimento neoplásico (PADILHA; PINHEIRO, 2004; FERRARI; TORRES, 2002; BARRETO; BENASSI. MERCADANTE, 2009).

Alguns estudos com análise de ácido ascórbico e atividade antioxidante em frutas mostram uma correlação positiva entre o teor de ácido ascórbico e a atividade antioxidante (CONTRERÁS-CALDERÓN et al., 2011; RUFINO et al., 2010) e outros não encontraram correlação (ALMEIDA et al., 2011; BARRETO; BENASSI; MERCADANTE, 2009).

Em estudo de meta-análise a ingestão de vitamina C dos alimentos foi inversamente associada ao risco de câncer de próstata (BAI et al., 2015). Demonstrou-se que a vitamina C tem efeito de prevenção do câncer, reduzindo o dano oxidativo ao DNA, incluindo as mutações do DNA, protegendo contra os efeitos nocivos dos carcinógenos (LEE et al., 2003; HAN et al., 2013). Apresenta importante papel em evitar a formação de carcinógenos a partir de compostos precursores, podendo inibir a carcinogênese pelos seguintes mecanismos: alteração na estrutura do carcinógeno, inibição competitiva e prevenção de acesso do carcinógeno ao tecido-alvo por estabilidade crescente da membrana (ANTHONY; SCHORAN, 1982).

Estudos mostram que os fitoquímicos (como os carotenóides e as antocianinas), especialmente os fenólicos, em frutas e vegetais são os principais compostos bioativos com benefício na saúde humana (XING; WHITE, 1996; SHAHIDI; YEO, 2018; CHAUDHARY et al. 2018). Alguns componentes da dieta tais como selênio, zinco, isoflavonas, licopeno e outros carotenóides e vitaminas E e D foram listados como fatores protetores no câncer de próstata (SHIRAI et al., 2002; SARRIS et al., 2018). Pesquisas científicas sobre ação de compostos bioativos no câncer de próstata vêm sendo realizadas a fim de verificar seus alvos fisiológicos e mecanismos de ação na quimioprevenção.

A quercetina é um composto bioativo presente em frutas e vegetais, também encontrado nos chás, sendo o principal representante da família de flavonóis (MARQUES; NEVES, 2013; LÖW et al., 2007). Temesgen et al. (2010), demonstraram os efeitos quimiopreventivos da quercetina isolada e em combinação com dois quimioterápicos em tumores de próstata, demonstrando que a quercetina isoladamente é capaz de gerar uma indução de apoptose celular, obtendo uma bioatividade um pouco maior nas células tumorais da próstata.

Estudo de Pitchakarn et al. (2013), investigaram efeitos anti-invasivos do ácido elágico (EA) em linhagens celulares de câncer de próstata humano independente de andrógeno (PC-3) e de rato (PLS10) *in vitro*, e demonstram que concentrações não-tóxicas de EA inibiram significativamente a motilidade e invasão de células examinadas em ensaios de migração e invasão.

Outros compostos bioativos descritos que possuem ação sobre câncer de próstata são as antocianinas, ellagitaninos, taninos, glicosídeos kaempferol e luteolínicos, atuando como inibidores de crescimento e proliferação do tumor da próstata, induzindo a apoptose e diminuição dos níveis séricos de PSA, tanto em neoplasias hormônio-dependentes como nas independentes (TORTAJADA et al., 2012).

2.3.1 Carotenóides e câncer de próstata

Evidências epidemiológicas indicam que a utilização de alimentos funcionais e compostos quimiopreventivos, parece contribuir muito na prevenção e tratamento do câncer, atuando com mecanismos de ação antioxidante, antiinflamatória, anti-hormonal e antiangiogênica (KIM et al., 2011). Os carotenóides, juntamente com as vitaminas, são as substâncias mais investigadas como agentes quimiopreventivos, funcionando como antioxidantes em sistemas biológicos (DONKENA; KARNES; YOUNG, 2010; CHAUDHARY et al. 2018)

Carotenóides são um grupo de pigmentos vegetais lipossolúveis que são amplamente distribuídos na natureza, ocorrem naturalmente em grandes quantidades e são conhecidos por sua diversidade estrutural e as várias funções biológicas, atuando

como precursores da vitamina A e antioxidantes eficientes. (OTLES; ÇAGINDI, 2007; SKIBSTED, 2012; HASKELL, 2013). Frutas e vegetais são a principal fonte de carotenóides e desempenham um papel importante na dieta devido à atividade da vitamina A (HASKELL, 2013). No entanto, um número muito restrito de carotenóides é encontrado no sangue e tecidos humanos, sendo os principais: α -caroteno, β -caroteno, luteína, zeaxantina, criptoxantina e licopeno (LEE et al., 1999 ; SU et al., 2002).

Os efeitos biológicos dos caratonóides tem sido alvo de investigações, sendo descrito como algumas de suas atividades biológicas a capacidade de alguns destes compostos serem convertidos aos retinóides, modulação da atividade enzimática, promoção da atividade antioxidante, e ativação da expressão de genes que codificam a produção de conexina 43, um componente necessário para a comunicação intracelular (PAIVA; RUSSELL, 1999; PALOZZA et al., 2002; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Os carotenóides mais comumente estudados com potencial benefício protetor contra o câncer de próstata são: licopeno, α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina. Contudo, dados são escassos na relação entre a ingestão de carotenóides e a agressividade do CaP (em oposição à incidência total de CaP) (ANTWI et al. 2016).

Existem vários mecanismos que podem estar envolvidos na bioatividade desses compostos em relação ao desenvolvimento do câncer de próstata, incluindo a proteção do DNA dos radicais livres (KRINSKY, 1998) e a modulação da expressão gênica (RAFI et al., 2013). Os mecanismos propostos pelos quais os carotenóides podem influenciar na agressividade do CaP incluem além da modulação da expressão gênica, a indução de apoptose, a supressão da angiogênese e o aumento das respostas imunológicas antitumorais (STAHL; SIES, 2005; GERSTER, 1993).

2.4 POTENCIAL BIOATIVO DO MURICI E TAPEREBÁ

O território brasileiro é constituído de seis biomas continentais: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata atlântica, Pantanal e Pampa (BRASIL, 2002), destacando-se a biodiversidade frutíferas. O Brasil é o terceiro maior produtor de frutos (6% da

produção mundial) (ANDRIGUETO; NASSER; TEIXEIRA et al., 2010), mas a fruticultura Amazônica representa menos do que 0,2 % desse total (ROMERO, 2009).

Espécies frutíferas exóticas, pouco conhecidas pelos consumidores, aumenta a perspectiva de produtos mais rentáveis que agregam valor às matérias primas local. Estes alimentos também atuam na diversificação e crescimento econômico de países em desenvolvimento, que buscam alternativas agrícolas que atendam as inovações mercadológicas e produtos mais saudáveis (INFANTE, 2013).

De acordo com Guedes e Seehusen (2011), a biodiversidade é a chave para a bioprospecção de novos compostos bioativos capazes de serem aplicados em formulações medicamentosas e, pesquisas envolvendo essa perspectiva podem aumentar o valor econômico, através do desenvolvimento de novos produtos. Estudos recentes com frutíferas encontradas na Amazônia têm gerado resultados otimistas quanto à possível aplicação em benefício à saúde humana.

2.4.1 Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth e *verbascifolia* (L.) DC)

A família Malpighiaceae possui 66 gêneros e 1200 espécies. No Brasil ocorrem 38 gêneros e aproximadamente 300 espécies. O Gênero *Byrsonima*, mais estudado da família, possui 150 espécies (CASTRO; LORENZI, 2005; JUDD et al., 1999). O murici pertence ao gênero *Byrsonima*, encontrada em diversos biomas brasileiros, na Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata atlântica (SILVA, 2011).

O murici está distribuído por toda a Amazônia brasileira, atingindo os Estados de Mato Grosso e Minas Gerais. Ocorre espontaneamente ou é cultivado em todos os países limítrofes com a Amazônia brasileira, América Central e Caribe. Contudo, os muricis não são exclusivos da floresta, sendo, alguns deles, frequentes nas regiões serranas do sudeste, nos cerrados do Mato Grosso e Goiás e no litoral do norte e do nordeste do país (EMBRAPA, 2005).

Algumas espécies conhecidas pelo nome de murici são: *Byrsonima crassifolia* (L.) Rich. – murici-do-cerrado ou murici-do-campo, *Byrsonima crispa* Juss. - murici-da-mata, *Byrsonima lancifolia* Juss. - murici-miúdo ou murici-guaçu, *Byrsonima*

verbascifolia (L.) Rich – murici-rasteiro ou murici-da-serra ou murici-de-tabuleiro, *Byrsonima amazônica* Gris. – murici vermelho, *Brysonima intermedia* L. – sara-tudo, *Byrsonima chrysophylla* Kunth – murici-pitanga, *Brysonima sericea* DC. – murici-da-praia ou murici da mata; distinguindo-se pela variedade, cores e locais de ocorrência (EMBRAPA, 2005; SILVA, 2011).

Dentre as espécies o murici mais comum encontrado em todo o Brasil é a *Byrsonima crassifolia* (SILVA, 2013). Além de *Byrsonima intermedia* A. Juss. e *Brysonima sericea* (PEREIRA; ALVEZ, 2007). Outra espécie que se destaca é a *Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich, com ampla distribuição nos cerrados brasileiros, principalmente no Cerrado *sensu stricto* e Campos Cerrados (VIEIRA et al., 2006;).

O porte e a forma da árvore variam conforme o ambiente. No cerrado ela é tortuosa com folhas largas, pilosas e grandes. Nas matas ciliares, ralas, e em campo aberto, é bastante ramificada, com copa piramidal e folhas menores e coriáceas. Apesar de serem consideradas espécies diferentes, todas as árvores apresentam frutos comestíveis do mesmo sabor (SILVA, 2013). Os frutos do murici surgem de janeiro a março e são pequenos e globosos, tendo em média 1,5 a 2 cm de diâmetro, e exocarpo delgado de cor amarela quando maduros. O mesocarpo (parte comestível) é pastoso, amarelo, medindo 5mm de espessura, de cheiro e sabor muito característicos; sua polpa também é amarelada e tem um gosto bem particular que agrada uns e desagradam outros, possui aroma frutal e semelhante a queijo rançoso (SILVA, 2013; EMBRAPA, 2005; REZENDE; FRAGA, 2003).



Figura 5. Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)
Fonte: SiBBr, SD.

Dentre os minerais, é um alimento rico em cálcio, fósforo (SILVA; TASSARA, 2001) e cobre, e fonte de magnésio e ferro (MARIN, 2006). Os teores de minerais do fruto são demonstrados na tabela 1. O murici é um alimento fonte de vitamina C (FINCO; SILVA; OLIVEIRA, 2012), fornecendo a recomendação diária dessa vitamina, além de outras, como as vitaminas A e E (HAMACEK et al., 2014), vitaminas estas relacionadas com efeitos anticarcinogênicas (CHAN; LOK; WOO, 2009), como atividades antioxidantes, ativadores de fatores de transcrição ou fatores que influenciam os eventos epigenéticos (DONKENA; KARNES; YOUNG, C. Y.F, 2010).

O murici é uma boa fonte de antioxidantes, com quantidades elevadas de compostos fenólicos (159,9 mg ácido gálico equivalente (GAE)/100g) (ALMEIDA et al., 2011), destacando-se pelo conteúdo de flavonoides amarelos (VIRGOLIN, 2015). Alimentos ricos em antioxidantes desempenham um papel essencial na prevenção de doenças (ALMEIDA et al., 2011).

Estudo de Malta et al. (2013), revelou o fruto de murici como uma fonte natural de agentes antioxidante e antiproliferativa, ressaltando tais propriedades com aplicabilidade em alimento e na indústria farmacêutica. Alguns dos compostos identificados no fruto foram catequina, ácido 3-O-cafeoilquinico, ácido cafeico, derivado do ácido caféico, cafeoil hexose, ácido diferuloilquínicos, ácido férulico, derivado de hexose de ácido férulico, ácido gálico, kaempferol, ácido málico H, quercetina hexoside e xantoxilina.

Em outros estudos foram identificados aproximadamente 19 compostos polifenólicos no murici, entre eles se destacam galotaninos, ácido quínico galatos, os proantocianidenos, derivados de quercetina e derivados galoil, substâncias raramente encontrados em frutas (GORDON et al., 2011; MARIUTTI et al., 2014; MALDINI; MONTORO; PIZZA, 2011). Drago et al. (2008) também relataram altos teores de quercetina no fruto.

Autores encontraram correlações fortes entre compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em vários tipos de frutos, entre eles o murici (MALTA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2011).

Destaca-se ainda entre os compostos bioativos a presença de carotenóides, que tem ganhado destaque nas pesquisas relacionados com câncer prostático (ANTWI et al,

2016). O murici contém também quantidades consideráveis de luteína e zeaxantina (MARIUTTI; RODRIGUES; MERCADANTE, 2013; MURILLO et al., 2010), além de β -caroteno (HAMACEK; MARTINO; PINHEIRO-SANT'ANA, 2014; SOUZA et al., 2012).

2.4.2 TAPEREBÁ (*Spondias mombin* L.)

A família Anacardiaceae contém cerca de 60 a 75 gêneros e 600 espécies, apenas o gênero *Spondias* tem cerca de 14 espécies globalmente. (DUVALL, 2006; SILVA et al., 2014). Neste gênero, as espécies que merecem destaque são *Spondias mombin* L., conhecida em certas regiões brasileiras como cajá, cajá-mirim ou taperebá, e em língua inglesa como *yellow mombin*; ciriguela ou *red mombin* (*S. purpurea* L.), umbu ou imbu (*S. tuberosa* Arr. Câmara); ambarella, golden apple, cajarana ou cajá-manga (*S. dulcis* ou *S. cytherea* Parkinson) e duas espécies taxonomicamente indefinidas, mas considera dos híbridos naturais, cajá-umbu ou umbu-cajá (*S. mombin* \times *S. tuberosa*) e umbuguela (*S. tuberosa* \times *S. purpurea*) (apud SILVA et al., 2014).

Quanto à origem, existem algumas versões divergentes, apesar da mais difundida ser que a mesma é procedente do continente americano, sendo amplamente disseminada pela América tropical. No Brasil, a cajazeira é largamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, vegetando espontaneamente em grupos ou isoladas na Amazônia Ocidental e Mata Atlântica. (MOREIRA et al., 2002).

No Brasil, dentre as espécies do gênero *Spondias*, podemos destacar a importância comercial do taperebá (*S. mombin*), umbu (*S. tuberosa*) e taperebá-umbu (*S. mombin* \times *S. tuberosa*). Seus frutos são comercializados *in natura* ou processados na forma de polpas, doces, geleias, sucos, sorvetes e compotas (SILVA et al., 2014; SACRAMENTO; SOUZA, 2000).

O fruto é uma drupa que apresenta de 3 a 4 cm de comprimento, ovoide ou oblongo, achatado na base e de cor variando do amarelo ao alaranjado, de sabor ácido-adocicado e muito agradável (MOREIRA et al., 2002).



Figura 6. Taperebá (*Spondia mombin* L.)
Fonte: SiBBr, SD.

Dentre os compostos presentes no fruto do taperebá, destacam-se os carotenóides, entre os quais a luteína está presente em quantidades mais elevadas do que as zeaxantinas, além de conter outros tipos de carotenóides como criptoxantina β e α , β caroteno (MURILLO et al., 2010; TIBURSKI et al., 2011). Esses compostos são responsáveis pela coloração alaranjada ou amarela, e por diversas atividades biológicas, tais como: remoção do oxigênio singlete; remoção de radicais peroxila; modulação do metabolismo de carcinógenos; inibição da proliferação celular; aumento da diferenciação celular (retinóides); estimulação da comunicação intercelular e aumento da resposta imunológica (OLSON, 1999).

Em estudo de Carvalho et al. (2011), notou-se correlação significativa entre carotenóides totais e atividade antioxidante para a polpa das 30 matrizes de frutos de cajazeira estudadas.

Outra classe de compostos bioativos encontrado no taperebá são os compostos fenólicos. Já foram identificados entre eles as saponinas, taninos, flavonas, flavonóides, leucoantocianidinas, alcalóides e glicosídeos. (AROMOLARAN; BADEJO, 2014; SILVA et al., 2011). Entre os taninos hidrolisáveis, foi identificado o ácido elágico na composição do taperebá (SILVA et al., 2011) e entre os flavonóides, destacam-se a presença de quercetina, miricetina e rutina (SILVA et al., 2011; DRAGO et al., 2008).

Drago et al. (2008), encontraram altos teores de quercetina no fruto (92 $\mu\text{g/g}$ parte comestível), inclusive maiores que os teores encontrados em maçã, fruta reconhecida internacionalmente como uma rica fonte deste composto (HUBER;

RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). A quercetina possui um excelente potencial antioxidante *in vitro*, sendo o flavonóide com o maior poder sequestrador de espécies reativas de oxigênio, devido à presença do grupo catecol no anel B e do grupo hidroxila na posição 3 do anel C (HEIJNEN et al., 2002). Além disso, a rutina e quercetina encontrados no extrato contém atividade antiviral relevante contra o vírus da dengue (SILVA et al., 2011). O taperebá também é fonte de vários micronutrientes, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Composição nutricional e físico química do murici e taperebá

	Murici (*)	Taperebá (**)
Umidade (g/100g)	76,18	86,87
Proteína (g/100g)	1,33	0,71
Cinzas (g/100g)	0,81	0,58
Carboidratos (g/100g)	12,98	13,90
Lipídios (g/100g)	4,27	0,44
Fibra Alimentar (g/100g)	9,43	1,38
Sódio (g/100g)	45,43	4,28
Potássio (g/100g)	346,73	214,14
Cálcio (g/100g)	83,38	20,88
Magnésio (g/100g)	43,70	13,55
Manganês (g/100 g)	0,08	0,02
Fósforo (g/100g)	7,69	26,40
Zinco (g/100g)	0,37	0,17
Cobre (g/100g)	0,09	0,07
Ferro (g/100g)	1,00	0,76
Selênio (g/100g)	2,36	-
Cobalto (g/100g)	27,24	-
Níquel (g/100g)	26,41	-
Sólidos Solúveis (° Brix)	8,89	12,24
Ph	3,93	2,91
Açúcares totais (g/100g)	-	5,07
Sólidos Totais (g/100g)	-	-
Acidez (%)	0,47	1,68
Açúcares redutores (g/100g)	2,97	4,80

Fonte: ANICETO, 2015.

(*) Valores médios - ALMEIDA et al., 2011; SOUZA et al., 2012; DIAS et al., 2012; GUIMARÃES; SILVA, 2008; MOO-HUCHIN et al., 2014; MORZELLE et al., 2015; HAMACEK; et al., 2014; SILVA et al., 2008

(**) Valores médios – MATTIETTO; LOPES; MENEZES, 2010; BORA et al., 1991; LETERME et al., 2006; TIBURSKI et al., 2011.

Estudo de Ghate et al. (2014), avaliaram o extrato de espécie do gênero *Spondias* (*Spondias pinnata*), os resultados demonstraram promoção de apoptose e significativa citotoxicidade em linhagens de célula de adenocarcinoma de pulmão (A549) e mama (MCF-7). Em estudo de Villasmil e colaboradores (2006), sobre a atividade em 5 linhagens de células tumorais, a espécie *B. crassifolia* demonstrou inibição do crescimento celular em todas as linhagens estudadas. Outros estudos avaliaram efeitos anticarcinogênicos *in vitro* e *in vivo* dos extratos de diferentes partes da planta de espécie do gênero *Spondias* e *Byrsonima* (POMPEU et al., 2011; MESQUITA et al., 2009; CATES et al., 2014; IDU et al., 2002).

3 JUSTIFICATIVA

A qualidade biofuncional das frutas exóticas pode ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos, agregando valor e contribuindo para o desenvolvimento sustentável e agrícola, visto a importância econômica da fruticultura brasileira.

Diferentes compostos bioativos já foram descritos para as espécies de murici e taperebá, dentre eles com grande potencial antioxidante, contudo pouco ainda é conhecido sobre sua ação no câncer. Estudos envolvendo linhagens celulares de próstata são ainda escassos na literatura científica.

Os resultados decorrentes do estudo poderão contribuir para o esclarecimento do processo de modificação no ciclo celular, morte celular e a relação da atividade antioxidante desses frutos com o desenvolvimento do câncer de próstata, especialmente entre os mais agressivos, de metástase óssea. Consequentemente, este trabalho tem por finalidade fornecer dados para a comunidade científica, com o intuito de auxiliar na elucidação do papel dos compostos do murici e taperebá sobre o controle e prevenção do desenvolvimento do câncer prostático.

4 OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos dos extratos de murici e taperebá sobre a linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano (PC-3).

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização físico-química de polpas de murici e taperebá;
- Produzir extratos bioativos de polpas de murici e taperebá;
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos e polpas de murici e taperebá;
- Caracterizar os carotenóides dos extratos de murici e taperebá;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais das polpas e extratos de murici e taperebá;
- Avaliar o efeito dos extratos de murici e taperebá sobre a viabilidade celular de linhagem de células de adenocarcinoma de próstata;
- Avaliar os efeitos dos extratos bioativos sobre as modificações no ciclo celular e no processo de morte celular em linhagem de células de adenocarcinoma de próstata.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA

Amostras de polpas comerciais congeladas pasteurizadas de frutas da Amazônia, de murici (MU) e taperabá (TAP), foram obtidas a partir de produtor de Belém-PA. Todas da mesma marca comercial, mesmo lote e dentro do prazo de validade. As amostras foram mantidas em embalagem original e sob refrigeração à -18°C até o momento da análise no Laboratório de Análise de Alimentos Funcionais da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

5.2 PREPARO DOS EXTRATOS

5.2.1 Extração das polpas congeladas comerciais

A extração das polpas para análise da atividade antioxidante e determinação dos teores de compostos fenólicos totais foram realizadas com a solução extratora aquosa (VIZZOTTO; PEREIRA, 2011). Foi utilizado banho de ultrassom por 10 minutos e após, o extrato foi filtrado e avolumado com água destilada.

5.2.2 Preparo dos extratos aquosos liofilizados

Para o preparo dos extratos aquosos de MU e TAP, foi pesado 250g das amostras (polpas) em um bécher e em seguida, adicionado 80 mL da solução extratora. Após 15 minutos de repouso, a solução foi colocada no ultrassom (Brandon 2210) por

período de 10 minutos. O resíduo foi coletado para três novas extrações. A solução foi filtrada e avolumada em um balão volumétrico de vidro de 1L. Após a extração, os extratos foram congelados em recipientes apropriados no ultrafreezer – 86°C (Indrel® Ultrafreezer) e em seguida liofilizados em liofilizador (LD300 Terroni®) por 24 horas. As amostras liofilizadas foram armazenadas em tubo falcon no freezer a -18°C até o momento das análises.

5.2.3 Preparo dos extratos etanólicos liofilizados

O processo empregado para desenvolver os extratos etanólicos liofilizados de MU e TAP, incluiu os mesmas etapas de extração que o extrato aquoso liofilizado. A solução extraída, foi filtrada no papel de filtro Whatman number 1 e o resíduo de etanol secundário foi evaporado sob baixa pressão a 45°C, para que em seguida, fossem liofilizados e então armazenados em tubo falcon no freezer a -18°C até o momento das análises (GUIMARÃES et al., 2017).

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

A caracterização da composição físico-química das polpas de MU e TAP constitui-se das seguintes análises: acidez total titulável, açúcares redutores, °Brix, pH e vitamina C segundo metodologia oficial (ADOLF LUTZ, 2005).

5.3.1 Análise de colorimetria

A determinação da cor das polpas de MU e TAP foi realizada em colorímetro digital (*Konica Minolta CM-5*) usando CIE-Lab (Commission internationale de l'éclairage). Os valores de L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b*

(componente amarelo-azul) foram obtidos diretamente do colorímetro e utilizados para calcular tonalidade cromatográfica ($H^*=b^*/a^*$) e croma ($C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$). A escala de luminosidade (L^*) foi de 0 a 100, onde 0 indica preto (ou cor escura) e 100 branco (ou cor clara). As análises foram realizadas em triplicata, o equipamento foi calibrado seguindo o manual de instruções do fabricante, utilizou-se amostra previamente homogeneizada (LIMA et al., 2015).

5.4 ANÁLISE DE CAROTENÓIDES

A composição e o teor de carotenóides das polpas (MU e TAP) foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo Rodríguez-Amaya (2001). A saponificação foi realizada para remover substâncias interferentes e o extrato saponificado foi filtrado e analisado por espectrofotometria para quantificar o teor total de carotenóides. Após a quantificação, o extrato foi concentrado para realizar a separação. A separação foi realizada numa coluna C30 (Carotenóide YMC 3 μ m (4,6 x 250 mm), com 80% de MeOH, 20% de éter metil-t-butílico como a fase móvel e a temperatura da coluna foi ajustada a 33°C. β -criptoxantina, luteína, zeinoxantina, α caroteno, β caroteno e zeaxantina foram quantificados.

5.5 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A análise de compostos fenólicos totais das polpas e extratos liofilizados foram realizadas de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999), utilizando o ácido gálico como padrão. A determinação foi realizada usando três volumes diferentes das amostras, que foram transferidas para tubos de ensaio e adicionado 2,5mL do reagente Folin Ciocalteu, diluído em água 1:10. A mistura permaneceu em repouso de 3 a 8 minutos. Em seguida foi adicionado 2 mL

de carbonato de sódio 4% e os tubos foram deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 750 nm.

5.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.6.1 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH das polpas e extratos liofilizados foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). O DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) é um radical livre estável que aceita um elétron ou um radical de hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética estável e, desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante. Para avaliação da atividade antioxidante, às amostras foram adicionadas, para reação com o radical estável DPPH, em uma solução de metanol. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 515 nm, a qual desaparece após a redução pelo hidrogênio arrancado de um composto antioxidante. A redução do radical do DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm em 30 min de reação. Uma curva padrão com soluções de trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) foi produzida. As leituras foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente em μmol de trolox por grama de amostra.

5.6.2 Análise de atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+

A atividade antioxidante das polpas e extratos liofilizados pelo método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) foi realizado como descrito por Rufino et al. (2007). O radical ABTS•+ é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado, o

radical ABTS^{•+} é diluído em etanol até obter uma medida de absorvância de 0,70 (± 0,02) a um comprimento de onda de 734 nm. Alíquotas com três diferentes volumes das amostras foram utilizadas de modo a restar um volume final de 3mL em cada leitura. As leituras foram realizadas em triplicata. Uma curva padrão com solução de trolox foi produzida. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao trolox em µmol de trolox por grama de amostra.

5.6.3 Análise determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do Ferro (FRAP)

A atividade antioxidante das polpas e extratos liofilizados foi determinada pelo método de FRAP de acordo com Rufino et al. (2006). Este método baseia-se na quantificação da capacidade de redução do complexo Fe⁺³ - TPTZ (cor azul clara) para o complexo Fe⁺² - TPTZ (cor azul escura) em meio ácido, reação esta que é desencadeada pelo antioxidante presente na amostra. O método consiste em adicionar três volumes diferentes das amostras, e quantificar, em 2,7mL de reagente FRAP somado a 270µl de água destilada. Após 30 minutos em banho-maria é efetuada a leitura de absorvância a 595nm. As leituras foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em µmol de sulfato ferroso equivalente por grama de amostra. A curva padrão foi produzida com uma solução de sulfato ferroso com concentrações conhecidas.

5.6.4 Ensaio ORAC

Foi determinada a atividade antioxidante das polpas e extratos liofilizados através do método de ORAC, o qual mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil que são gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37°C. O radical peroxil, gerado pela reação com

oxigênio atmosférico, reage com o indicador fluorescente para formar um produto não fluorescente, que pode ser medido por espectrofotometria com máxima emissão de fluorescência em 575nm e 578nm. Este ensaio avalia a atividade antioxidante através da inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxil, por transferência de átomos de hidrogênio. A atividade antioxidante das substâncias foi determinada através da diferença entre a área da amostra subtraída pela área do branco, mensurada pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo. Todas as análises foram feitas em triplicata.

Usando-se trolox de concentrações conhecidas, uma curva padrão foi gerada e a atividade ORAC da amostra foi calculada. O resultado foi expresso em μmol equivalentes de trolox por grama, o qual corresponde à quantidade de antioxidante presente em um grama de amostra que possui a mesma atividade do padrão trolox.

5.7 ENSAIOS EM *IN VITRO*

5.7.1 Cultura de células e protocolo de tratamento

A linhagem celular de adenocarcinoma de próstata PC-3 foi obtida a partir do Banco de células da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A linhagem de próstata foi cultivada em meio DMEM High Glicose suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina, 2g/L tampão HEPES, pH 7,4, sob atmosfera de 5% de CO_2 . As células quando em confluência de 70-80%, sofriam processo de tripsinização, cerca de duas vezes por semana.

Para cada experimento, as células foram semeadas em concentrações de 10^4 células/ cm^2 , em placas de 6 poços durante as análises de ciclo celular e apoptose e 96 poços durante a análise de viabilidade celular. Foi incluído um grupo controle para todas as amostras analisadas, sendo tratadas somente com próprio meio de manutenção da cultura, isento das amostras. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

5.7.2 Ensaio de viabilidade e proliferação celular (MTT)

A viabilidade celular foi determinada conforme descrito por Mosmann (1983) pelos ensaios de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil- tetrazólio).

Após serem tratadas com os extratos de MU e TAP nas diferentes concentrações (de 0,05mg/mL a 20mg/mL) e incubadas por 24 horas, foram adicionados à cada poço 10 µL de MTT (5 g/L). Após 4 horas de incubação, o meio foi removido e 50 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados para dissolver o formazan produzido. A leitura foi feita em leitor de ELISA no comprimento de onda de 570 nm. A taxa de inibição da proliferação celular (CPIR) foi expressa em percentual e calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{CPIR} = \frac{1 - \text{valor médio do grupo experimental}}{\text{valor médio do grupo controle}} \times 100$$

5.7.3 Análise de ciclo celular

Após as células de próstata serem incubadas por 24 horas na presença e ausência dos extratos em diferentes concentrações, os meios foram retirados e os poços lavados rapidamente com solução salina tamponada (PBS) livre de cálcio e magnésio. As células foram então destacadas com auxílio de tripsina em temperatura ambiente. A análise de ciclo celular foi realizada utilizando ensaio com iodeto de propídio. As células foram ressuspendidas em 500 µL de solução fria de Vindelov (VINDELOV, 1977), contendo 0,1% de Triton X-100, 0,1% de RNase e 50 µg/mL iodeto de propídio (Sigma). Após incubação por 15 minutos, a suspensão celular foi analisada para conteúdo de DNA em citômetro de fluxo (FACScalibur BD Biosciences), após a aquisição de 20000 eventos. As proporções relativas de células com conteúdo de DNA indicativo de apoptose (< 2n), fase G₀-G₁ (2n), fase S (fase > 2n, porém < 4n), e fase G₂/M (4n) foram adquiridos e analisados utilizando FlowJo. A porcentagem de

população de células em uma fase específica foi estimada com FlowJo software de análise versão 1.2.

5.7.4 Avaliação da indução da apoptose

As células de próstata foram incubadas na presença e ausência dos extratos em diferentes concentrações pelo período de 24 horas. Após o período de incubação o meio foi descartado e as células foram lavadas rapidamente com PBS livre de cálcio e magnésio, sendo utilizado tripsina em temperatura ambiente para auxiliar a destacar as células dos poços. Para avaliação da apoptose, as células em estudo foram submetidas a marcação com anexina V conjugada a FITC (BD Pharmigen, San Diego, EUA). As células foram ressuspensas em 400 μ L de solução tampão do kit II de detecção de apoptose (BD Pharmigen), 5 μ L de anexina V FITC e 5 μ L de iodeto de propídio por 15 minutos em temperatura ambiente. A leitura foi realizada em citômetro de fluxo (FACScalibur BD Biosciences), após a aquisição de 20000 eventos. Os dados foram analisados em software FlowJo versão 1.2.

5.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram apresentados como médias \pm desvio padrão dos experimentos independentes feitos em triplicata (n=6). Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através dos testes de Tukey e t-student ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa GraphPad Prism 4.0 e Statistica 6.0.

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANÁLISE COLORIMÉTRICA DE POLPAS DE MURICI E TAPEREBÁ

As características físico-químicas e análise colorimétrica de polpas de murici (MU) e taperebá (TAP) estão apresentadas na Tabela 3.

Os resultados de pH e acidez titulável para polpa de taperebá foram de $2,60 \pm 0,01$ e $1,74 \pm 0,05$ g/100g, respectivamente. A polpa de MU apresentou maior pH ($3,36 \pm 0,01$) e menor acidez ($0,75 \pm 0,03$ g/100g) quando comparada a polpa de taperebá ($p < 0,05$).

Em relação ao açúcar redutor, observou-se que polpa de TAP apresentou maior teor ($9,90 \pm 0,43$ g/100g), bem como valor de sólidos solúveis ($9,80 \pm 0,10$ °brix), quando comparado a polpa de MU ($4,20 \pm 0,01$ g/100g e $3,79 \pm 0,14$, respectivamente) ($p < 0,05$).

A polpa de MU destacou-se com maior teor de vitamina C ($58,88$ mg/100g) em comparação a polpa de TAP ($25,93$ mg/100g) ($p < 0,05$).

A análise colorimétrica demonstrou que, a polpa de MU apresenta coloração mais amarelada que a polpa de TAP ($b^* = 12,17 \pm 0,02$ e $b^* = 4,11 \pm 0,01$), variando a tonalidade até a laranja ($h^* = 0,90 \pm 0,31$ e $h^* = 0,53 \pm 0,01$). Em relação ao Chroma (C^*), a polpa de MU mostrou uma coloração mais vívida ($C^* = 165,68 \pm 0,01$) e a polpa de TAP coloração mais opaca ($C^* = 38,93 \pm 0,33$). A polpa de MU possui coloração mais clara ($L^* = 18,40 \pm 0,03$) e a polpa de TAP mais escura ($L^* = 6,41 \pm 0,03$) ($p < 0,05$).

Tabela 3. Características físico-químicas e análise colorimétrica de polpas de murici e taperebá.

Parâmetro	Murici	Taperebá
Acidez (g/100g)	0,75±0,03 ^b	1,74±0,05 ^a
Açúcar redutor (g/100g)	3,79±0,14 ^b	9,90±0,43 ^a
Vitamina C (mg/100g)	58,88±1,63 ^a	25,93±1,65 ^b
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	4,20±0,01 ^b	9,80±0,10 ^a
pH	3,36±0,01 ^a	2,60±0,01 ^b
L* (lightness)	18,40±0,03 ^a	6,41±0,03 ^b
a* (a axis)	13,54±0,02 ^a	7,81±0,04 ^b
b* (b axis)	12,17±0,02 ^a	4,11±0,01 ^b
C* (chroma)	165,68±0,01 ^a	38,93±0,33 ^b
h* (matriz angle)	0,90±0,31 ^a	0,53±0,00 ^b

Resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa. Os resultados foram comparados pelo teste t-student ($p < 0,05$).

6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DAS POLPAS E EXTRATOS BIOATIVOS DE MURICI E TAPEREBÁ

A atividade antioxidante das polpas e extratos bioativos liofilizados de murici e taperebá foi avaliada por quatro diferentes métodos (DPPH, ORAC, FRAP e ABTS). Os resultados da atividade antioxidante e da determinação dos compostos fenólicos totais são mostrados na Tabela 4.

Entre as amostras analisadas, o ME apresentou a maior atividade antioxidante segundo a análise de DPPH ($1084,83 \pm 96,97 \mu\text{mol trolox g}^{-1}$), ABTS ($3750,65 \pm 175,38$

$\mu\text{mol trolox g}^{-1}$) e FRAP ($4471,77 \pm 560,87 \mu\text{mol sulfato ferroso/g}$) ($p < 0,05$). Para a análise de ORAC não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre MA ($102039,31 \pm 8843,45 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) e ME ($98972,03 \pm 7925,54 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$), os quais apresentaram maior capacidade antioxidante segundo o referido ensaio, bem como maiores teores de compostos fenólicos totais ($1866,30 \pm 427,62 \text{ mg ácido gálico/100g}$ e $1634,05 \pm 278,19 \text{ mg ácido gálico/100g}$, respectivamente) entre as amostras analisadas ($p < 0,05$).

Ao avaliar a atividade antioxidante dos extratos liofilizados de taperebá (TA e TE), maiores atividades foram encontrados para o TE nos ensaios de ABTS ($2079,58 \pm 125,86$) e FRAP ($837,38 \pm 79,34 \mu\text{mol sulfato ferroso/g}$) ($p < 0,05$), enquanto nos ensaios de DPPH ($644,57 \pm 69,89$ e $601,72 \pm 24,02 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) e ORAC ($62372,27 \pm 3875,5$ e $69524,90 \pm 8696,18 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) não houve diferença estatística ($p > 0,05$).

As polpas *in natura* de MU e taperebá apresentaram valor de redução do radical DPPH médio de $26,64 \pm 3,10$ e $34,35 \pm 0,21 \mu\text{mol trolox g}^{-1}$ e para captura de radical ABTS de $30,43 \pm 0,31$ e $59,58 \pm 1,51 \mu\text{mol trolox g}^{-1}$, respectivamente. Para os ensaios de FRAP e ORAC, os valores médios encontrados foram $3,77 \pm 0,89 \mu\text{mol sulfato ferroso/g}$ e $312,54 \pm 88,9 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$, para polpa de MU e $6,17 \pm 0,47 \mu\text{mol sulfato ferroso/g}$ e $332,43 \pm 86,82 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$, para polpa de taperebá, respectivamente. Em todos os ensaios realizados, as amostras que não passaram pelo processo de liofilização apresentaram menores valores médios de atividade antioxidante, não apresentando diferença estatística entre as polpas de MU e TAP ($p > 0,05$). Resultados semelhantes foram encontrados na determinação de compostos fenólicos totais, em que os menores teores foram encontrados para as polpas de MU ($86,74 \pm 8,24 \text{ mg ácido gálico/100g}$) e taperebá ($165,57 \pm 5,76 \text{ mg ácido gálico/100g}$), não diferindo estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4. Atividade antioxidante total determinada pelos ensaios DPPH, ABTS, FRAP e ORAC por água nas polpas (I) e nos extratos aquoso (II) e etanólico (III) liofilizados de Murici e Taperebá.

Ensaio	Murici			Taperebá		
	I	II	III	I	II	III
DPPH ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$)	26,64 \pm 3,10 ^c	731,75 \pm 15,53 ^b	1084,83 \pm 96,97 ^a	34,35 \pm 0,21 ^c	644,57 \pm 69,89 ^b	601,72 \pm 24,02 ^b
ABTS ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$)	30,43 \pm 0,31 ^e	1620,96 \pm 114,65 ^c	3750,65 \pm 175,38 ^a	59,58 \pm 1,51 ^e	1090,91 \pm 296,05 ^d	2079,58 \pm 125,86 ^b
ORAC ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$)	312,54 \pm 88,95 ^c	102039,31 \pm 8843,45 ^a	98972,03 \pm 7925,54 ^a	332,43 \pm 86,82 ^c	62372,27 \pm 3875,50 ^b	69524,90 \pm 8696,18 ^b
FRAP ($\mu\text{mol sulfato ferroso/g}$)	3,77 \pm 0,89 ^e	1014,72 \pm 2,08 ^{b,c,d}	4471,77 \pm 560,87 ^a	6,17 \pm 0,47 ^e	644,56 \pm 10,90 ^d	837,38 \pm 79,34 ^c
Compostos fenólicos (mg ácido gálico/100g)	86,74 \pm 8,24 ^c	1634,05 \pm 278,19 ^a	1866,30 \pm 427,62 ^a	165,57 \pm 5,76 ^c	1049,09 \pm 95,68 ^b	1276,08 \pm 148,60 ^b

Resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa. Os resultados foram comparados pelo teste One way ANOVA, com pós teste de Tukey ($p < 0,05$).

6.3 QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENÓIDES DOS EXTRATOS BIOATIVOS DE MURICI E TAPEREBÁ

No presente estudo, foram identificados seis carotenóides por CLAE, nos extratos de murici e taperebá: β -criptoxantina, luteína, zeinoxantina, α -caroteno, β -caroteno e zeaxantina. O extrato de taperebá apresentou maiores teores de carotenóides totais ($185,92 \pm 12,16 \mu\text{g/g}$) quando comparado ao extrato de murici ($86,30 \pm 8,82 \mu\text{g/g}$). A β -criptoxantina ($89,81 \pm 4,58 \mu\text{g/g}$) foi o carotenóide majoritário identificado no extrato de taperebá e a luteína na polpa de murici ($23,39 \pm 1,41 \mu\text{g/g}$). Menores níveis foram encontrados para zeinoxantina ($1,91 \pm 0,21 \mu\text{g/g}$), α -caroteno ($0,48 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$) e β -criptoxantina ($1,32 \pm 0,34 \mu\text{g/g}$) no extrato de murici, enquanto para o extrato de taperebá o carotenóide minoritário foi a zeaxantina ($1,25 \pm 0,10 \mu\text{g/g}$) (Tabela 5).

Tabela 5. Composição de carotenóides dos extratos bioativos de Murici e Taperebá ($\mu\text{g/g}$).

Amostra	Carotenóides Totais	Luteína	Zeaxantina	Zeinoxantina	B-criptoxantina	α -caroteno	β -caroteno
Murici	$86,30 \pm 8,82^b$	$23,39 \pm 1,41^a$	$5,20 \pm 1,02^a$	$1,92 \pm 0,21^b$	$1,32 \pm 0,34^b$	$0,48 \pm 0,11^b$	$4,61 \pm 1,62^b$
Taperebá	$185,92 \pm 12,16^a$	$11,96 \pm 0,07^b$	$1,25 \pm 0,10^b$	$45,72 \pm 2,92^a$	$89,81 \pm 4,58^a$	$18,25 \pm 2,99^a$	$17,45 \pm 3,57^a$

Resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa. Os resultados foram comparados pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey ($p < 0,05$).

6.4 EFEITOS DOS EXTRATOS DE MURICI E TAPEREBÁ EM LINHAGEM DE CÉLULA DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA

6.4.1 Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá na viabilidade celular

Para análise de viabilidade celular, as células de adenocarcinoma de próstata (PC 3) foram incubadas com concentrações de 0,05 mg/mL a 20mg/mL com as amostras de extrato aquoso liofilizado de murici (MA), extrato etanólico liofilizado de murici (ME),

extrato aquoso liofilizado de taperebá (TA) e extrato etanólico liofilizado de taperebá (TE) e analisadas 24h após o início da incubação.

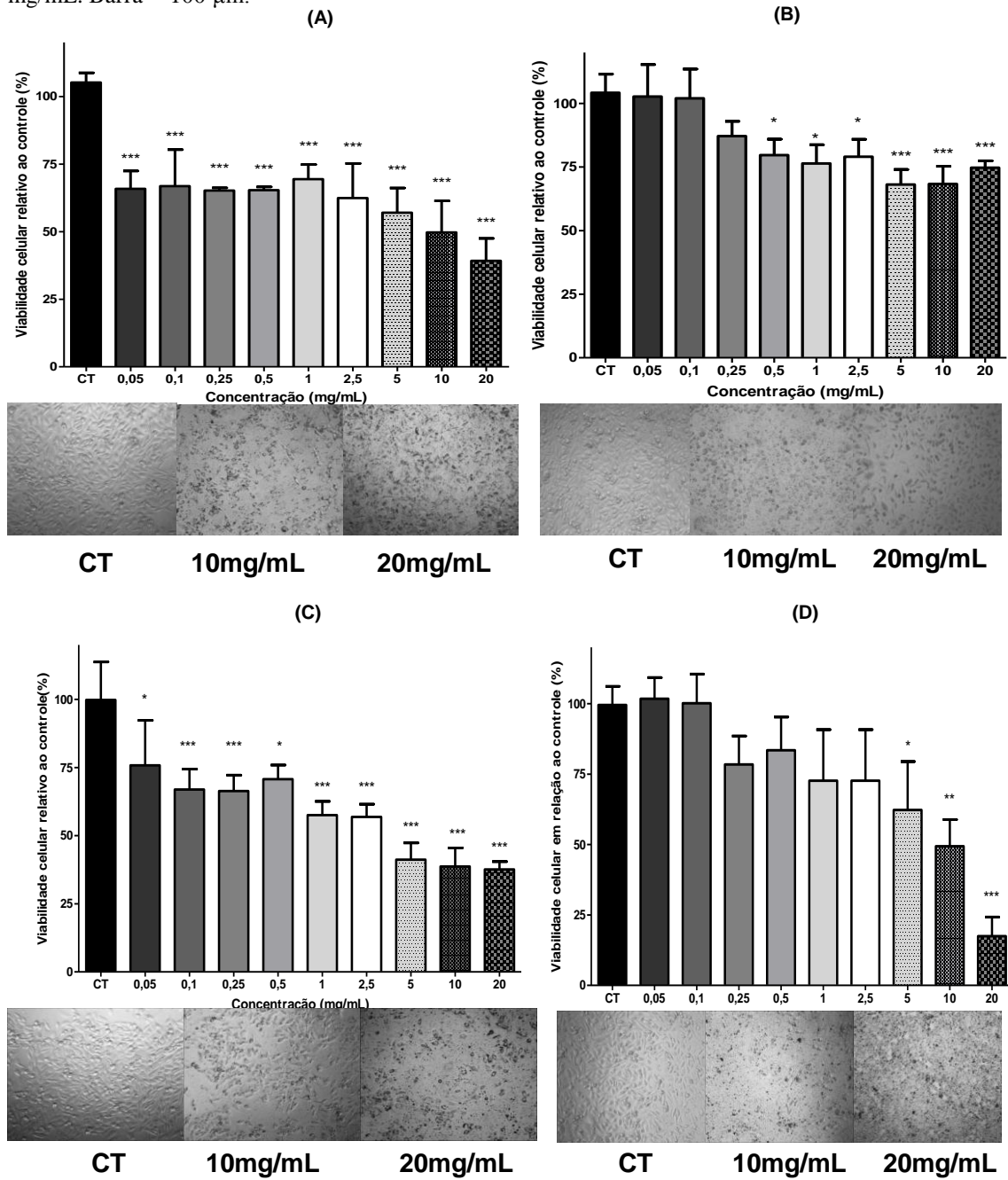
O ensaio de MTT foi utilizado para monitorar a viabilidade celular. Quando as células da linhagem PC-3 foram incubadas com MA foi observada uma redução significativa no número de células em todas as concentrações estudadas em relação ao controle ($p < 0,001$) (Figura 7 A). O MA exibiu redução máxima de 39,19% na concentração de 20mg/mL quando comparada ao controle ($p < 0,001$).

Na linhagem celular PC-3, foi possível observar que inicialmente nas concentrações de 0,05mg/mL a 0,25 mg/mL o ME não modificou o perfil de células viáveis, quando comparado ao controle. Após a concentração de 0,5mg/mL, constatou-se uma redução significativa no percentual destas células quando comparado ao grupo controle (Figura 7 B) ($p < 0,05$), com redução média máxima (70,41%) notada nas concentrações 5 e 10mg/mL ($p < 0,001$).

Para as células incubadas com TA, foi observado comportamento semelhante ao MA, no qual observou-se redução significativa ($p < 0,05$) da viabilidade celular em todas as concentrações analisadas em relação ao controle. Foi observada uma redução significativa ($p < 0,001$) do percentual de células viáveis, com média de 38,15% quando as células foram incubadas nas concentrações 10mg/mL e 20mg/mL e quando comparadas ao controle (Figura 7 C).

Foi possível observar que nas concentrações de 0,05 mg/mL a 2,5mg/mL, a amostra de TE não modificou o perfil de células viáveis quando comparado ao controle, somente o tratamento com as maiores concentrações estudadas (5mg/mL a 20mg/mL) evidenciou-se redução significativa no percentual de viabilidade das células tumorais de próstata quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). A maior concentração utilizada deste extrato (20mg/mL), foi capaz de promover a máxima redução de percentual de células viáveis (17,49%), com diferença significativa ($p < 0,001$) em relação ao controle (Figura 7 D).

Figura 7. Efeito do MA (A), ME (B), TA (C) e TE (D) sobre a viabilidade celular da linhagem PC-3 após 24 horas de tratamento. Imagens do microscópio óptico de poços do controle e das concentrações 10 e 20 mg/mL. Barra = 100 μ m.



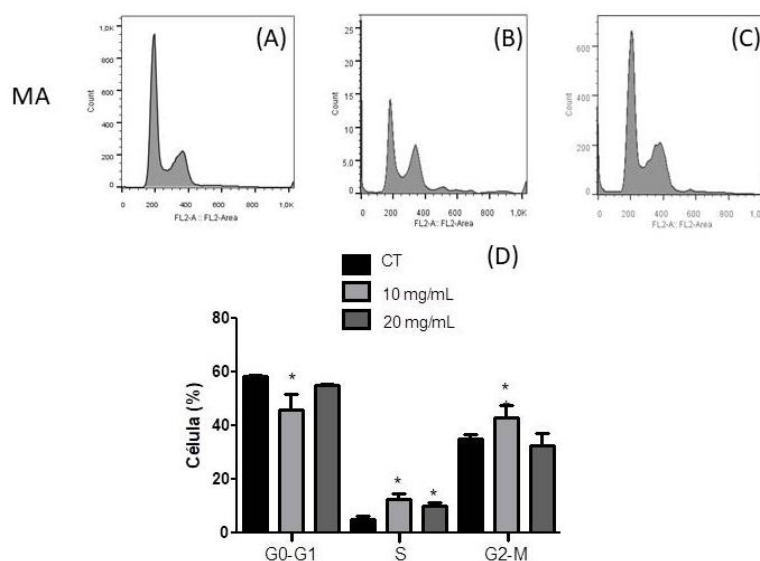
Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as incubadas com os respectivos extratos (0,05mg/mL a 20mg/mL) foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

6.4.2. Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá sobre a progressão do ciclo celular

Com o objetivo de avaliar a influência do MA, ME, TA e TE, sobre a progressão do ciclo celular da linhagem de células de adenocarcinoma de próstata humana PC-3, foram incubadas com concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL de cada amostra, uma vez que estas concentrações apresentaram um maior percentual de redução na análise de MTT. Após 24 horas, as células em estudo foram analisadas nas diferentes fases do ciclo celular.

Foi observado que a linhagem PC-3, quando incubadas com MA, apresentou uma redução no percentual de células na fase G₀-G₁ ($p < 0,05$), seguido por um aumento no percentual de células presentes nas fases G₂-M e S, 24 h após a incubação na concentração de 10mg/mL ($p < 0,05$), promovendo acúmulo de células nas fases S e G₂-M do ciclo celular. Estes resultados são indicativos de inibição da proliferação celular. Foi também possível observar um aumento significativo no percentual de células na fase S, na concentração de 20mg/mL quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$) (Figura 8).

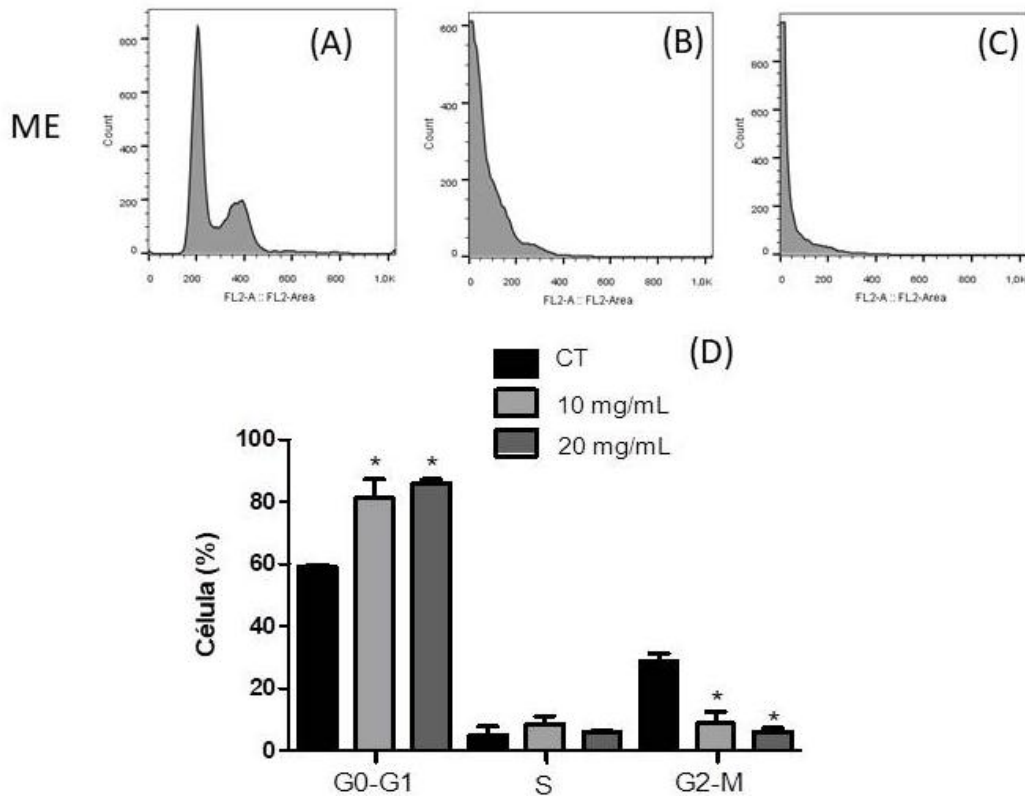
Figura 8. Efeito do extrato aquoso de murici (MA) sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito MA sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).



Os resultados são expressos com média \pm desvio padrão. Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as tratadas (10mg/mL e 20mg/mL) foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$).

Quando as células PC-3 foram incubadas com ME, observou-se mesmo padrão de modificação em ambas as concentrações estudadas (10 e 20mg/mL) (Figura 9). Houve um aumento significativa no percentual de células na fase G₀-G₁ e redução significativa no percentual de células na fase G₂-M ($p < 0,05$), não havendo diferença estatística entre as concentrações ($p < 0,05$). Estaticamente, não houve modificação do padrão da fase S em ambas as concentrações quando comparadas ao grupamento controle ($p < 0,05$).

Figura 9. Efeito do extrato etanólico de murici (ME) sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20 mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito ME sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).

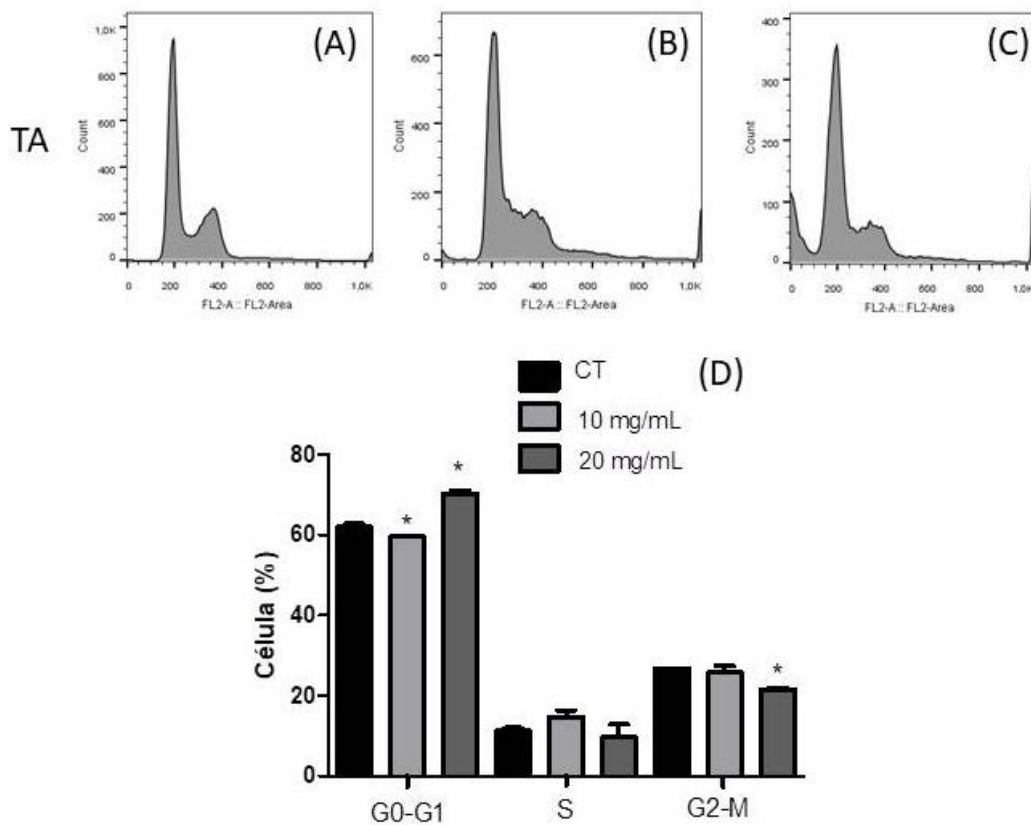


Os resultados são expressos com média \pm desvio padrão. Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as tratadas (10mg/mL e 20mg/mL) foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$).

Ao incubar as células PC-3 com 10mg/mL de TA, foi observado uma redução significativa no percentual de células na fase G₀-G₁, enquanto ao incubar com 20mg/mL de TA foi observada um aumento significativo no percentual de células na fase G₀/G₁,

demonstrado diferentes padrões de modificação nesta fase do ciclo celular dependente da dose de tratamento. O percentual de células na fase G₂-M aumentou significativamente somente na incubação com 20mg/mL de TA, enquanto não foi observado estatisticamente modificações na fase G₂-M na concentração de 10mg/mL, bem como na fase S em ambas as concentrações estudadas quando comparado ao controle (Figura 10).

Figura 10. Efeito do extrato aquoso de taperebá (TA) sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito TA sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).

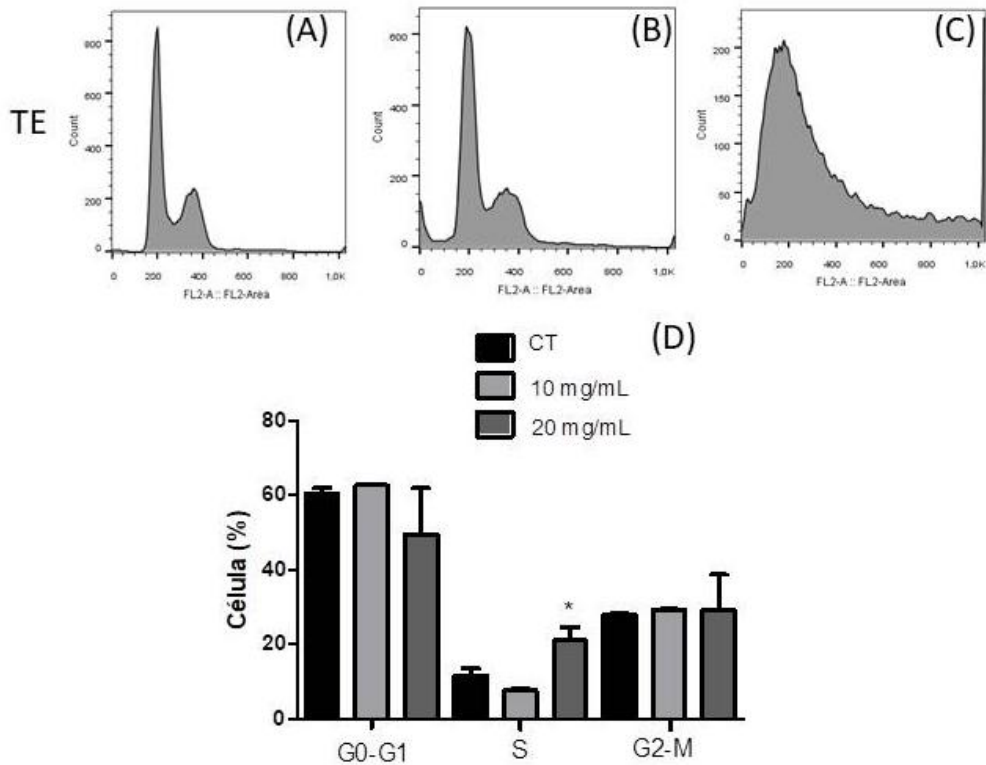


Os resultados são expressos com média \pm desvio padrão. Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as tratadas (10mg/mL e 20mg/mL) foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$).

Ao realizar o tratamento da linhagem de células PC-3 com TE, não pôde ser observado modificações significativas no padrão do ciclo celular ($p < 0,05$), com exceção do tratamento com 20mg/mL de TE na fase S, no qual houve um aumento

significativo quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$) (Figura 11). No entanto, observou-se redução do percentual de células na fase G_0 - G_1 ao utilizar a 20mg/mL de TE e redução do percentual de células na fase S ao incubar com 10mg/mL de TE.

Figura 11. Efeito do extrato etanólico de taperebá (TE) sobre a progressão do ciclo celular em células PC-3 24 horas após a incubação. As fases do ciclo celular estão ilustradas em A (CT), B (10mg/mL) e C (20mg/mL). Os resultados quantitativos do efeito TE sobre esta linhagem celular estão ilustrados no gráfico (D).



Os resultados são expressos com média \pm desvio padrão. Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as tratadas (10mg/mL e 20mg/mL) foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$).

6.4.3 Efeito dos extratos bioativos de murici e taperebá sobre a taxa de apoptose celular

A quantificação do número de células em processo apoptótico, pode ser uma medida útil para avaliar a cinética de células cancerosas. Neste ensaio de avaliação da indução de apoptose, as células em estudo foram incubadas com MA, ME, TA e TE nas concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL.

Após a incubação com MA nas concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL, foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,05$), no percentual de células viáveis e um aumento significativo ($p < 0,05$), do percentual de células em apoptose tardia na concentração de 20mg/mL e um aumento significativo ($p < 0,05$), do percentual de células em apoptose inicial na concentração de 10mg/mL quando comparadas ao grupo controle. Não foi observado alteração no percentual de células não apoptóticas ($p > 0,05$), quando comparadas as células não tratadas (controle), em ambas as concentrações, bem como do percentual de células viáveis ($p > 0,05$) com tratamento na concentração de 10mg/mL quando comparada ao controle (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito dos extratos aquoso e etanólico de Murici e Taperebá em diferentes concentrações (10mg/mL e 20mg/mL) sobre o processo de morte celular por apoptose nas células de adenocarcinoma de próstata humana (PC-3) 24h após a incubação.

Extrato	Fases	Controle	10mg/mL	20mg/mL
MA	Células viáveis (Anexina V- PI-)	99,08±0,35 ^a	95,88±0,32 ^b	82,53±2,97 ^c
	Apoptose inicial (Anexina V+ PI-)	0,27±0,09 ^a	1,28±0,65 ^b	0,35±0,23 ^a
	Apoptose tardia (Anexina V+ PI+)	1,10±0,15 ^b	1,07±0,49 ^{b,c}	11,96±4,39 ^{a,c}
	Células não apoptóticas (Anexina V- PI+)	0,32±0,17 ^a	0,90±0,42 ^a	1,86±1,46 ^a
ME	Células viáveis (Anexina V- PI-)	98,20±0,42 ^a	95,40±0,56 ^b	94,31±1,28 ^b
	Apoptose inicial (Anexina V+ PI-)	0,21±0,04 ^a	0,20±0,03 ^a	0,20±0,06 ^a

Extrato	Fase	Controle	10mg/mL	20mg/mL
ME	Apoptose tardia (Anexina V+ PI+)	1,07±0,49 ^c	3,64±0,45 ^{b,d}	4,47±1,16 ^{a,d}
	Células não apoptóticas (Anexina V- PI+)	0,52±0,13 ^b	0,76±0,19 ^b	0,99±0,19 ^a
TA	Células viáveis (Anexina V- PI-)	98,43±0,40 ^a	96,06±1,00 ^a	91,98±3,20 ^b
	Apoptose inicial (Anexina V+ PI-)	0,10±0,04 ^b	0,93±0,31 ^a	0,64±0,34 ^a
	Apoptose tardia (Anexina V+ PI+)	1,19±0,40 ^b	2,61±0,71 ^b	6,91±2,83 ^a
	Células não apoptóticas (Anexina V- PI+)	0,35±0,16 ^a	0,37±0,18 ^a	0,51±0,15 ^a
TE	Células viáveis (Anexina V- PI-)	98,40±0,57 ^a	89,05±1,01 ^a	85,98±6,10 ^b
	Apoptose inicial (Anexina V+ PI-)	0,23±0,16 ^b	2,68±1,50 ^a	0,41±0,15 ^b
	Apoptose tardia (Anexina V+ PI+)	1,01±0,64 ^b	7,83±1,27 ^a	12,56±5,62 ^a
	Células não apoptóticas (Anexina V- PI+)	0,34±0,25 ^a	0,43±0,21 ^a	1,05±0,63 ^a

Os resultados foram comparados pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey. Letras diferentes na mesma linha se diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Ao ser incubada com as concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL de ME, a linhagem celular PC-3 apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no percentual de células viáveis e um aumento no percentual de células em apoptose tardia, quando comparadas as células não tratadas (controle) em ambas as concentrações. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) no percentual de células não apoptóticas na concentração de 20mg/mL. Não foi observado alteração no percentual em apoptose inicial ($p > 0,05$) quando comparadas as células não tratadas (controle) em ambas as concentrações, bem como no percentual de células não apoptóticas no tratamento com 10mg/mL de ME quando comparada ao grupo controle (Tabela 6).

Após incubação com 10mg/mL e 20mg/mL de TA, a linhagem celular PC-3 apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$), no percentual de células viáveis e aumento no percentual de células em apoptose inicial quando comparadas as células do grupo controle. Na concentração de 20mg/mL, foi ainda observado um

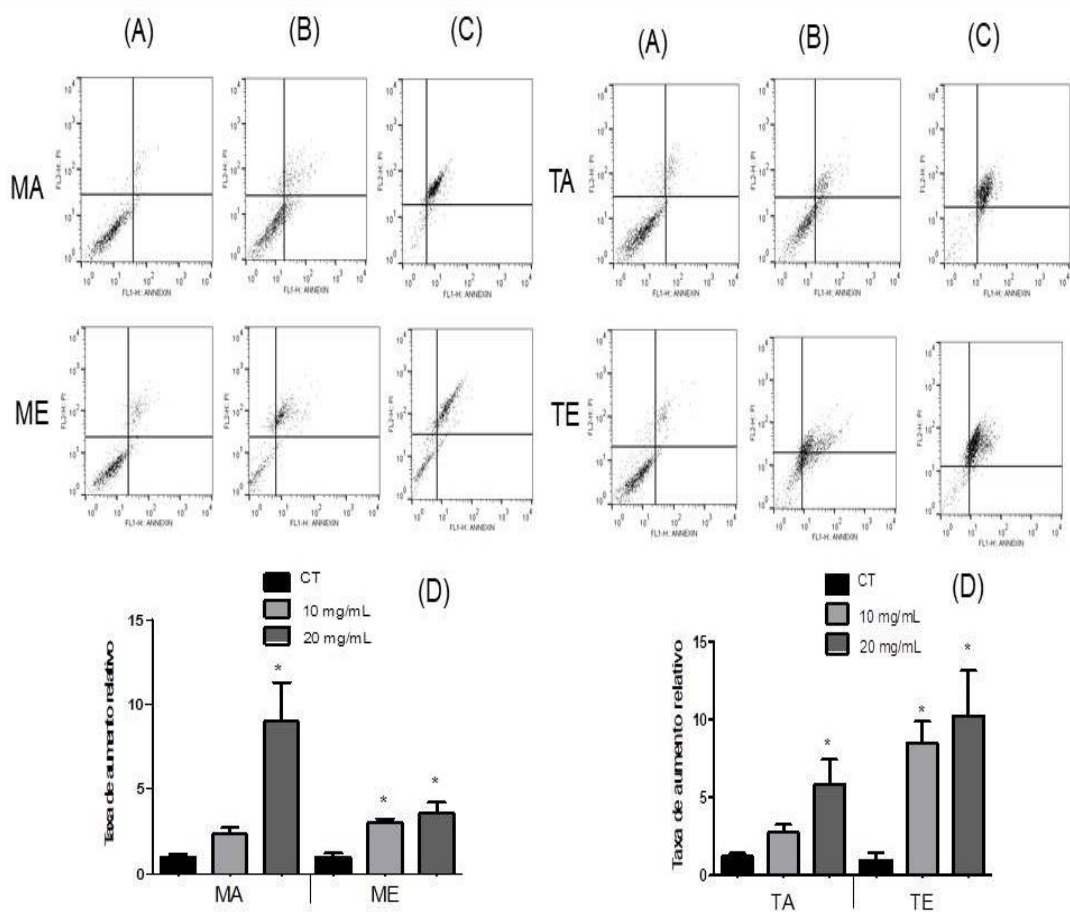
aumento significativo ($p < 0,05$), no percentual de células em apoptose tardia quando comparadas as células não tratadas (controle). Não foi observado alteração no percentual de células não apoptóticas ($p > 0,05$) quando comparadas as células não tratadas (controle) em ambas as concentrações (Tabela 6).

Após a incubação com 20mg/mL de TE, foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,05$), no percentual de células viáveis, já o tratamento com 10mg/mL de TE, não houve alteração significativa no percentual de células viáveis quando comparadas as células não tratadas (controle). Foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) do percentual de células em apoptose tardia em ambas as concentrações (10mg/mL e 20mg/mL) e aumento no percentual de células em apoptose inicial na concentração de 10mg/mL quando comparadas as células não tratadas (controle). Assim como no tratamento com MA e TA, não foi observado alteração no percentual de células não apoptóticas ($p > 0,05$) quando comparadas as células não tratadas (controle) em ambas as concentrações após a incubação com TE (Tabela 6).

Na figura 12, estão ilustradas os efeitos dos MA, ME, TA e TE sobre o processo de morte programada em células PC-3 24h após a incubação. A análise por citometria de fluxo, das células não tratadas (CT) estão ilustradas em A e das células tratadas em B (10mg/mL) e C (20mg/mL). A taxa de aumento relativo de apoptose na linhagem PC-3 tratadas com extratos de murici e taperebá nas concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL estão ilustrados nos gráficos (Figura 12 D).

Na linhagem PC-3, observou-se para o tratamento com MA e TA, um aumento significativo ($p < 0,05$), de $8,99 \pm 2,31$ e de $5,82 \pm 1,58$ vezes, respectivamente, na taxa de células apoptóticas na concentração de 20mg/mL quando comparados ao controle. Após incubação com ME e TE, foi observado aumento significativo ($p < 0,05$), em ambas as concentrações (10mg/mL e 20mg/mL). Para a concentração de 10mg/mL, houve aumento significativo ($p < 0,05$), na taxa de células apoptóticas de $3,0 \pm 0,24$ e $8,48 \pm 1,38$ vezes com tratamento ME e TE, respectivamente. O efeito foi pronunciado com a concentração de 20mg/mL, havendo aumento significativo ($p < 0,05$) de $3,6 \pm 0,61$ vezes na taxa de células apoptóticas para ME e taxa de aumento máximo de $10,25 \pm 2,88$ vezes para TE quando comparadas as células não tratadas (controle) (Figura 12 D).

Figura 12. Efeitos dos MA, ME, TA e TE sobre o processo de morte programada em células PC-3 24h após a incubação. As análises por citometria de fluxo das células não tratadas (CT) estão ilustradas em A e das células tratadas em B (10mg/mL) e C (20mg/mL). A taxa de aumento relativo de apoptose na linhagem PC-3 tratadas com extratos de murici e taperebá nas concentrações de 10mg/mL e 20mg/mL após 24 horas estão ilustrados nos gráficos (D).



Diferenças significativas entre as células não tratadas (CT) e as tratadas (10mg/mL e 20mg/mL) quanto a taxa de aumento relativo foram comparadas pelo teste One-way ANOVA, com pós-teste de Tukey (* $p < 0,05$).

7 DISCUSSÃO

A região amazônica do Brasil é conhecida por sua enorme biodiversidade, que possui uma variedade de frutas exóticas nativas com aromas e sabores diversificados. Os frutos oriundos da amazônia, como murici e taperebá, são frutos exóticos e pouco presentes no perfil alimentar da população brasileira. Estes frutos, são fontes de uma ampla gama de compostos bioativos que conferem inúmeros benefícios a saúde (CANUTO et al. 2010). Atualmente, existe uma carência de estudos na literatura que ressaltem a importância do consumo de frutos exóticos provenientes da região amazônica, como murici e taperebá e seu relevante papel na prevenção e no tratamento de doenças crônicas, como câncer.

Dessa forma, com intuito de fornecer dados que ressaltem o papel destes frutos como potentes antioxidantes, inicialmente, o presente estudo caracterizou as polpas e extratos de murici e taperebá através de ensaios físico-químicos e mensuração da atividade antioxidante das polpas e extratos aquoso e etanólico de MU e TAP. Ademais, houve a identificação e quantificação do perfil de compostos bioativos e avaliação do potencial antiproliferativo dos extratos bioativos produzidos.

As primeiras análises realizadas foram a caracterização físico-química das polpas. Foi observado que os resultados de pH, acidez titulável e teores de sólidos solúveis encontram-se dentro dos teores estabelecido pela legislação através do padrão de identidade e qualidade de polpa de cajá e murici, com exceção da acidez da polpa de murici, que encontra-se abaixo do mínimo estabelecido (BRASIL, 2018).

Canuto et al. (2010), avaliaram polpa *in natura* de frutos da Amazônia, e encontraram valores de pH ($3,7 \pm 0,00$; $2,9 \pm 0,4$) e acidez total ($1,0 \pm 0,0$; $1,3 \pm 0,1$ g/100g) para murici e cajá semelhantes ao encontrados no presente estudo.

Maiores valores de sólidos solúveis totais foram encontrados em nosso estudo em polpas pasteurizadas quando comparados ao encontrado por Canuto et al. (2010) ($1,5 \pm 0,0$ e $6,0 \pm 0,7$ °brix para murici e cajá, respectivamente). O aumento dos sólidos solúveis pode ser explicado pela evaporação de água durante o processo de pasteurização (SALES; WAUGHON, 2012). O teor de sólidos solúveis totais apresenta correlação com teores açúcares e ácidos orgânicos, característica de interesse pois o mercado consumidor prefere frutos doces (SILVA et al. 2002).

Tiburshi et al. (2011), encontraram valores de pH ($2,83\pm 0,01$), acidez titulável ($1,46\pm 0,01\text{g}/100\text{g}$) e sólidos solúveis ($10,2\pm 0,1^\circ\text{brix}$) semelhantes aos encontrados em nosso estudo para a polpa de taperebá. Em estudo de Carvalho et al. (2011) polpas oriundas de 30 matrizes de cajazeiras do Estado do Pará revelou valores de pH, acidez titulável ($\text{g}/100\text{g}$) e sólidos solúveis ($^\circ\text{brix}$) que variou de 2,31 a 2,82, 1,20 a 1,93 e 7,80 a 12,87, respectivamente.

Em estudo de Morzelle et al. (2015), que analisou frutos da região do cerrado, dentre eles o murici, foram encontrados valor de pH de $4,74\pm 0,02$, valor de acidez de $0,17\pm 0,01\%$ e açúcar redutor de $2,97\pm 0,09\text{g}/100\text{g}$ para o fruto de murici.

A acidez é um dos critérios que afetam a classificação dos frutos com base no sabor; frutas com níveis de ácido cítrico variando de 0,08% a 1,95% podem ser classificadas como de sabor leve e são bem aceitas para consumo na forma de frutas frescas (PAIVA et al. 1997). As polpas de MU e TAP apesar de apresentarem características ácidas, as mesmas se enquadram nessa categoria de avaliação.

A vitamina C ou ácido ascórbico é considerado o mais importante antioxidante solúvel em água que é derivado principalmente de fontes de frutas e vegetais (PUTCHALA et al., 2013). De acordo com teores encontrados no presente estudo as polpas de MU e TAP podem ser consideradas alimentos ricos nesta vitamina (BRASIL, 2004). Destaca-se que a identificação de novas fontes de vitamina C na dieta é de grande interesse para a área de ciências da saúde, visto que é um componente essencial às funções fisiológicas do corpo (GONÇALVEZ, 2008).

Neste estudo a polpa de murici se destacou quanto ao conteúdo de vitamina C em relação a polpa de TAP. Mattietto, Lopes e de Menezes (2010), encontraram valores de vitamina C para polpa de cajá oriundas do Belém-PA ($23,72\pm 0,08\text{mg}/100\text{g}$) semelhante ao encontrado no presente estudo. Souza et al. (2012), também obtiveram valor similar de vitamina C para a polpa de MU proveniente de Uberlândia-MG ($47,44\pm 3,26\text{mg}/100\text{g}$), enquanto Hamacek, Martino e Pinheiro-Sant'ana (2014) encontraram menores teores ($27,33\pm 4,91\text{mg}/100\text{g}$) de polpas do fruto oriundos de Januária-MG. A vitamina C pode sofrer uma grande variação nas diferentes espécies de frutas, como também entre frutos de uma mesma espécie, cujos fatores como as condições de solo, clima, fotoperiodismo, regime pluvial, grau de maturação, etc.,

podem influir na composição vitamínica dos alimentos (FONSECA; NOGUEIRA; MARCONDES, 1969).

A avaliação colorimétrica é importante critério de avaliação física de polpas de frutas, influenciado pelo processamento e estocagem em que as mesmas são submetidas. Ademais, sua composição é influenciada por este parâmetro, como por exemplo, a coordenada de cromaticidade a^* , que evidencia a cor alaranjada, esta diretamente relacionada as polpas que possuem em sua composição os carotenóides (LOPES; MATIETTO; MENEZES, 2005), como as polpas de MU e TAP estudadas.

Canuto e colaboradores (2010), realizaram análise colorimétrica de polpas de frutos Amazônicos, dentre eles murici e cajá, e encontraram valores diferentes de L^* , H^* e C^* em comparação aos encontrados no presente estudo, com excessão do valor de C^* do cajá que se aproximou ao encontrado. Neste estudo foram analisadas polpas pasteurizada industrializadas, enquanto Canuto e colaboradores analisaram a polpa de frutas frescas.

O teor de carotenóides aumenta com o processo de maturação, e parte da intensificação da cor é devida à degradação da clorofila. Além da influência do estágio de maturação do fruto sobre a cor (MOTTA et al., 2015), o tratamento térmico pode influenciar o teor de carotenóides. Sales e Waughon (2012) mostram que o tratamento térmico influenciou o conteúdo de carotenóides da polpa de taperebá através da liberação de pigmentos pela quebra da ligação caroteno-protéica e ruptura da matriz alimentar. Condições climáticas, locais de crescimento também influenciam significativamente o conteúdo de carotenóides nas plantas (HERNÁNDEZ et al., 2015).

Após vasta busca na literatura, não foram encontrados dados que ressaltassem o conteúdo de caratonóides em extratos de murici e taperebá liofilizados. No presente estudo, seis carotenóides foram identificados nos extratos de murici e taperebá através da HPLC: β -criptoxantina, luteína, zeinoxantina, α -caroteno, β -caroteno e zeaxantina. Entre eles, β -criptoxantina, α e β -caroteno têm atividade pró-vitamina A (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

Hamacek, Martino e Pinheiro-Sant'ana (2014), ao avaliarem a polpa de MU *in natura*, não identificaram o α -caroteno e β -criptoxantina, sendo descrito somente a identificação do β -caroteno (1,6 μ g/g). Porém neste estudo, em que foi avaliado extrato de murici, maior teor foi encontrado para este carotenóide. Já Souza et al. (2012)

analisaram o conteúdo de β -caroteno em polpa *in natura* sendo encontrado maior teor (12,5 μ g/g) em comparação ao presente estudo.

Carvalho et al. (2010) e Matietto, Lopes e Menezes (2010), encontram valores de carotenóides totais para polpa *in natura* de TAP que variaram de 10,71 a 37,55 μ g/g e 30,30 a 38,56 μ g/g, respectivamente, valores inferior aos achados para o extrato liofilizado de TAP no presente estudo.

De acordo com Rodriguez-Amaya, Kimura e Amaya-Farfan (2008), alterações nos teores de carotenóides do mesmo alimento são possíveis de ocorrer devido a mudanças de cultivar ocorridas no mercado brasileiro.

Tiburshi et al. (2011), quantificaram o teor total de carotenóides por espectrofotometria e identificaram os carotenóides individuais por cromatografia líquida (HPLC) de polpas congeladas não pasteurizadas de taperebá e encontraram maiores teores de carotenóides totais, β -criptoxantina, α caroteno e β caroteno quando comparados aos teores encontrados no presente estudo para extrato liofilizado. Em relação ao conteúdo de luteína (11,96 \pm 0,07 μ g/g) e zeinoxantina (55,57 \pm 3,29 μ g/g), estes foram majoritários para o extrato de taperebá.

A região amazônica tem muitas frutas nativas que são uma boa fonte de carotenóides como o buriti, o mamey, a pupunha, o camapu e o tucumã (ROSSO; MERCANTE, 2007; BRAGA ET al. 2010). Braga et al. (2010), avaliaram os teores de carotenóides em polpa de abricó e encontraram menores teores de carotenóides quando comparados aos níveis encontrados no presente estudo. Rosso e Mercadante (2007), verificaram que o teor total de carotenóides variou de 38 μ g/g em abricó a 514 μ g/g em frutos de buriti.

Os dados do presente estudo ressaltam o grande potencial dos extratos de murici e taperebá quanto ao conteúdo de carotenóides, compostos bioativos que estão amplamente presente na região amazônica.

Outro composto bioativo presente nas polpas de murici e taperebá são os compostos fenólicos. Compostos fenólicos podem ser alternativamente utilizados como ingredientes funcionais, para melhorar a capacidade antioxidante dos alimentos processados e para proporcionar os benefícios de saúde associados a estes fitoquímicos (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014).

Acredita-se que as propriedades relacionadas à saúde humana exercidas pelos compostos fenólicos, principalmente os flavonóides, sejam baseadas principalmente na atividade antioxidante, atuando como sequestradores de radicais livres (PRIOR; CAO, 2000) e quelantes metálicos capazes de catalisar a peroxidação lipídica (TERAO; PISKULA, 1999).

Os resultados encontrados no presente estudo, demonstram o potencial terapêutico de uso dos extratos liofilizados quanto ao teor de compostos fenólicos totais. Na determinação de compostos fenólicos totais das polpas e extratos aquoso e etanólicos liofilizados de murici e taperebá, demonstrou-se menores teores para as polpas de MU e TAP. Com o processo de extração aquosa e etanólica e posterior liofilização foi observado aumento no conteúdo de compostos fenólicos totais para ambas as polpas, em que os extratos de murici se destacaram quanto ao conteúdo de compostos fenólicos em comparação aos extratos de taperebá.

Rufino et al. (2009), estudaram polifenóis extraídos de diversas polpas de frutas e encontraram para o MU $937 \pm 38,9$ mg GAE/100g, enquanto Almeida et al. (2011), relatou menores teores para o fruto (159,9 mg GAE/100g). Tirburski et al. (2011), avaliaram polpa congelada não pasteurizada e acharam conteúdo de compostos fenólicos totais superiores ($260,21 \pm 11,89$ mg GAE/100g) ao encontrado para polpa de TAP pasteurizada no presente estudo.

Para polpa de murici oriundos do cerrado, Souza et al. (2012), encontraram teores superiores de composto fenólicos totais ($334,37 \pm 9,07$ mg GAE/100g). Rufino et al. (2010), também encontraram valores superior ao presente estudo quando avaliaram o extrato de murici (2380 ± 104 mg GAE/100g), contudo para o extrato de taperebá valores inferior ($579 \pm 0,9$ mg GAE/100g) foram descritos em comparação ao presente estudo.

Souza et al. (2016), avaliaram extrato aquoso de polpa liofilizada de cajá e obtiveram resultado semelhante ao presente estudo quanto ao teor de compostos fenólicos totais. Paz et al. (2015), avaliaram o conteúdo de extrato aquoso-etanólico (1:1, v/v) de polpa liofilizada e encontrou valor intermediário de compostos fenólicos totais encontrados para o extrato aquoso e etanólico no presente estudo (744 mg GAE/100g).

Análises cromatográficas de compostos fenólicos do extrato etanólico liofilizado de Murici já foram descritas e mostraram dois compostos funcionais com grande potencial bioativo e antioxidante expressos na literatura, resveratrol e o ácido ferúlico (MALTA et al. 2012).

As polpas de frutas são fontes de compostos antioxidantes, como compostos fenólicos, vitaminas e flavonóides, que podem proteger os constituintes celulares contra o dano oxidativo e, portanto, limitam o risco de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo (STAFUSSA et al., 2018). O potencial antioxidante das frutas pode variar de acordo com a concentração de compostos fenólicos totais, flavonóides, carotenóides e vitaminas C e E (SOUZA et al. 2012).

Neste trabalho, a atividade antioxidante das polpas e extratos bioativos foram avaliados pelos métodos FRAP, ABTS, DPPH e ORAC, os quais são os métodos mais utilizados para determinar a atividade antioxidante *in vitro*. Recomenda-se que pelo menos dois (ou mesmo todos) destes ensaios sejam combinados para fornecer uma imagem confiável da capacidade antioxidante total de um alimento (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

Para os quatro métodos utilizados foram observados uma elevada atividade antioxidante dos compostos. Foi possível ainda observar, em todos os métodos utilizados, um aumento na atividade antioxidante com a extração e liofilização das amostras.

O aumento dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante após extração aquosa e etanólica podem ser explicados pelo maior conteúdo de compostos hidrossolúveis presentes nos extratos aquosos e de compostos lipossolúveis nos extratos etanólicos, pelas características polares e apolares dos extratores respectivamente. Ademais, a liofilização é um método de desidratação que visa a integridade funcional e sensorial do alimento (OLIVEIRA et al., 2008; MARQUES; COSTA, 2015). O aumento significativo do conteúdo dos compostos fenólicos e atividade antioxidante com a liofilização no presente estudo pode ser explicado pela baixa temperatura e ausência de ar atmosférico, sem alteração nas propriedades químicas e sensoriais da amostra, resultando em maior retenção de fitoquímicos e aumento de sua concentração (SABLANI et al., 2011).

Foi observado ainda maior atividade antioxidante das amostras quando avaliadas pelo método ABTS, isto se justifica pois os métodos DPPH e ABTS são baseados em diferentes mecanismos. O método ABTS inclui uma gama mais ampla de compostos, que podem ser hidrofílicos ou lipofílicos. Em contraste, o método DPPH é amplamente utilizado para analisar os antioxidantes que são solúveis em solventes orgânicos. Embora o radical DPPH seja mais estável em relação ao ABTS, o ABTS tem sido mais amplamente utilizado devido à variedade de compostos com os quais reage (PRIOR.; WU; SCHAICH, 2005; MARECEK, 2017).

Rufino et al. (2010), em seu estudo com extratos orgânicos aquosos de 18 frutos tropicais não tradicionais do Brasil, entre eles murici e taperebá, encontraram para os extratos de murici maior atividade antioxidante nos ensaios de ABTS (412 ± 13 μmol trolox/g) e FRAP ($334 \pm 3,9$ μmol sulfato ferroso/g) quando comparados aos extratos de taperebá (40,7 μmol trolox/g e 97 μmol de sulfato ferroso/g, respectivamente), corroborando com os resultados encontrados no presente estudo, em que os extrato aquoso liofilizado de murici apresentou maior atividade antioxidante quando comparado ao extrato aquoso liofilizado de taperebá nestes ensaios.

Já pelo método ORAC, que mensura o sequestro do radical peroxila, ao avaliar todas as amostras estudadas, observou-se que os extratos de murici obtiveram maior atividade antioxidante, seguido dos extratos de taperebá, e por último, as polpas de ambos os frutos. Malta et al. (2013), avaliaram a atividade antioxidante do extrato acetônico metanólico do fruto liofilizado de Murici pelo método ORAC, encontrando valor inferior ao encontrado para todas as amostras analisadas no presente estudo.

Em estudo com diferentes frutas exóticas do nordeste do Brasil, Almeida et al. (2011), concluíram que, o murici é um fruto com altos níveis de atividade antioxidante. Ribeiro et al. (2013), avaliaram a atividade antioxidante pelo ensaio DPPH, ABTS e FRAP de extratos etanólicos de sete frutas exóticas e nativas do Brasil, dentre elas o murici na redução férrica apresentou o maior poder antioxidante. No presente estudo, o extrato etanólico liofilizado de murici também se destacou com maior potencial antioxidante no ensaio FRAP entre as amostras analisadas, assim como nos demais extratos, demonstrando o potencial antioxidante deste extrato.

Souza et al. (2016) e Rufino et al. (2010), ao analisarem a atividade antioxidante do extrato aquoso de taperebá pelos métodos ABTS e FRAP encontraram valores inferiores aos encontrados para extrato aquoso liofilizado de taperebá nestes ensaios, no qual os valores encontrados para ABTS se assemelharam com os encontrados para polpa do presente estudo.

A composição nutricional e compostos bioativos, bem como a capacidade antioxidante descritos para os frutos de murici e taperebá mostram o potencial de sua utilização na quimioprevenção. Ademais, os resultados obtidos no presente estudo através da avaliação dos efeitos dos extratos de murici e taperebá em linhagem de adenocarcinoma de próstata (PC-3) apontam o papel dos extratos bioativos obtidos a partir das polpas de murici e taperebá na redução do risco de desenvolvimento do câncer de próstata.

Sabe-se que as células da linhagem PC-3 apresentam comportamento altamente agressivo, devido principalmente à alta capacidade de migração e invasão tecidual desempenhada por aquelas células com metástase em osso, que é diferente da maioria dos casos clínicos de CaP (TAI et al. 2011).

Aalinkeel et al. (2004), observaram que a expressão gênica de fatores proangiogênicos, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e Interleucina 8 (IL-8), são significativamente maiores na linhagem PC-3, mais metastásica, do que em linhagem pouco metastática. A metástase é dependente em parte de fatores pró-angiogênicos, e os níveis de concentração de moléculas ativadoras e inibidoras alteram o balanço entre os sinais pró e antiangiogênicos (HANAHAN; FOLKMAN, 1996; AALINKEEL et al., 2004).

Outro aspecto quanto à capacidade de proliferação e invasão desta linhagem esta relacionado a receptores ativados por proteases (PARs). Estudos demonstraram que a expressão de PAR1 é aumentada no câncer de próstata avançado (LIU et al., 2003; BLACK et al., 2007; KAUSHAL et al., 2006). Na linhagem PC-3 foi demonstrado ocorrer ativação de PAR1 e PAR2 e aumento da proliferação celular (MIZE; WANG; TAKAYAMA, 2008). A ativação das PARs promove a proliferação, invasão, e liberação de fatores angiogênicos em células cancerígenas (MACFARLANE et al., 2001; OSSOVSKAYA; BUNNET, 2004).

No presente trabalho, o efeito antiproliferativo das amostras de MA, ME, TA e TE sobre a viabilidade de células de adenocarcinoma de próstata humana (PC-3) foi investigada. De acordo com resultados obtidos pelo ensaio de MTT, para os extratos aquosos de murici e taperebá foi observado inibição na viabilidade celular a partir das menores doses estudadas (0,05mg/mL) com 24 horas de tratamento. Enquanto a amostra de TE, somente o tratamento com as maiores concentrações estudadas (5mg/mL a 20mg/mL), evidenciou redução significativa no percentual de viabilidade das células tumorais em relação ao controle, com máxima redução na maior concentração (20mg/mL). Já para a amostra de ME, a redução máxima de viabilidade celular foi notada nas concentrações de 5 e 10mg/mL.

Em estudo de Pompeu et al. (2011), foi avaliado a atividade antiproliferativa do extrato hidroalcolico liofilizado de folhas de *B. crassifolia* após 48h de incubação em nove linhagens de células tumorais humanas, UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR (mama com fenótipo de resistência a múltiplas drogas), 786-O (rim), NCI-460 (pulmão), PCO-3 (próstata), OVCAR-03 (ovário), HT-29 (côlon) e K-562 (leucemia linfóide). Foi observado efeito antiproliferativo somente na concentração mais elevada (250 µg/mL) em todas as linhagens estudadas.

Já Villasmil et al. (2012), ao avaliar o efeito antiproliferativo do extrato etanólico liofilizado de folhas de *B. crassifolia* sobre cinco linhagens de câncer, B16 / BL6 (melanoma murino), HT-29 (carcinoma do cólon humano), A549 (carcinoma do pulmão humano), HeLa (carcinoma cervical humano) e PANC-1 (carcinoma pancreático humano), também demonstraram a inibição de crescimentos em todas as linhagens estudadas, contudo os efeitos citotóxicos já foram observados em concentrações mais baixas (IC₅₀=28 µg/mL e 79µg/mL), para duas linhagens celulares (PANC-1 e HeLa, respectivamente).

Os extratos acetônico e metanólicos de folhas da *Spondias purpurea* foram avaliados em cinco linhagens celulares de câncer. Foi demonstrado inibição de proliferação apenas sobre a linhagem de câncer de mama (18±1%) apenas para o extrato acetônico na concentração de 200 µg/mL (CATES et al. 2014).

Em estudo de Malta e colaboradores (2013), foi realizada a avaliação da atividade antiproliferativa do extrato (acetônico/metanólico) do fruto de Murici no crescimento de células de câncer de fígado humano HepG2, *in vitro* por 72hs com doses

de 25,0 a 95,0 mg/mL, maiores às utilizadas no presente estudo. Os autores concluíram que o extrato do fruto de murici apresenta potente atividade inibitória no crescimento de células HepG2 de maneira dose-dependente, com valor de IC50 de 173.6 ± 18.2 mg/mL. Neste estudo ainda foi constatado que a inibição da proliferação de células tumorais *in vitro* do fruto de murici não pode ser explicada pela concentração de compostos fenólicos isolados. Isso sugere que outros fitoquímicos podem desempenhar um papel importante na atividade antiproliferativa dos extratos estudados.

A luteína, β -caroteno e β -criptoxantina encontram-se entre os carotenóides investigados com potencial benefício protetor contra o CaP (ANTWI et al. 2016). No presente estudo, os mesmos carotenóides foram identificados nos extratos das polpas estudados, sendo a luteína encontrado como o carotenóide majoritário no extrato de murici e a β -criptoxantina no taperebá.

Em relação da luteína, estudos anteriores revelaram que este carotenóide possui uma gama de propriedades biológicas incluindo anti-oxidante, anti-inflamatório e ações anti-câncer, e tem efeitos inibitórios e citotóxicos sobre o crescimento em várias linhas celulares de câncer e modelos animais, entre elas células de CaP (GUINASERA et al. 2007, RIBAYA-MERCADO; BLUMBERG, 2004; GONG et al. 2018; SINDHU et al. 2013).

Gunasekera et al. (2007), descreveram o efeito da luteína na inibição de proliferação em células de carcinoma de próstata de ratos, sendo relatado que a este carotenóide inibiu as células AT3 malignas de uma forma dependente do tempo e concentração e demonstrou inibição seletiva de células de câncer de próstata AT3 extremamente malignas em relação a seus pais benignos.

Em estudo de avaliação do efeito da luteína na proliferação de células de câncer de próstata (PC-3) foi demonstrando uma ligeira indução na diminuição da proliferação celular. Ademais, em análises por citometria de fluxo mostraram que a luteína melhorou a parada do ciclo celular induzida por drogas e também na indução da apoptose no CaP, constatando seu potencial na utilização em conjunto com agentes quimioterápicos (RAFI et al., 2015).

A desregulação no controle do ciclo celular é um aspecto fundamental no desenvolvimento do câncer. As células normais apenas proliferam em resposta ao desenvolvimento da célula ou a sinais presentes na mitose que indicam um requisito

para o crescimento do tecido, enquanto que a proliferação das células cancerosas procede essencialmente sem controle. Isto indica que as células cancerosas proliferam devido à presença de defeitos de sinalização internos e/ou externos (NAKAYAMA; NAKAYAMA, 2006).

As fases G_1 e G_2 são os chamados checkpoints do ciclo celular, nos quais as células podem reparar lesões antes da duplicação do DNA e da mitose (FIRAT et al. 2010). A eficiência de um composto bioativo no controle do câncer, pode ser avaliada pela sua capacidade de bloquear as fases do ciclo celular G_0 - G_1 e G_2 -M, reduzindo a proporção de células na fase S (GUIMARAES et al., 2017).

Danos ao DNA, que ocorrem em uma célula cancerosa, com um ponto de controle na fase G_1 defeituoso, podem resultar em uma maior parada de células na fase G_2 -M. A regulação da transição G_2 -M pode ser um alvo efetivo para controlar o crescimento e a proliferação de células cancerosas e facilitar sua morte apoptótica (TYAGI et al., 2002).

A principal proteína supressora de tumor, a p53, é um dos genes mais comumente mutados associados ao câncer humano (KANDOTH et al., 2013) e é um regulador crucial do crescimento e da morte celular. A proteína p53 está relacionada com os mecanismos de reparação do DNA, parada em G_1 e indução de apoptose. Em resposta ao estresse intracelular e extracelular, o p53 é ativado via fosforilação e serve como um fator de transcrição em uma variedade de genes alvo que, por sua vez, modulam processos celulares como, reparo de DNA, parada do ciclo celular e apoptose (VOUSDEN; PRIVES, 2009). Evidências crescentes sugerem que a apoptose dependente de p53 é mediada pela geração intracelular de EROs (MACIP et al., 2003).

Nos mamíferos, a atividade de p53 diminui com a idade, e esta diminuição pode ser um fator contribuinte para o aumento da incidência das neoplasias na população de idosos (MCGEE et al., 2012). A linhagem PC-3 apresenta mutação no oncogene de p53 (CARROLL et al., 1993), levando a um aumento da proliferação celular, tumorigenicidade e resistência a drogas (ZHU et al., 2010). Tumores que apresentam mutação em p53 respondem fracamente à rádio e quimioterapia (LJUNGMAN, 2010). A utilização de compostos bioativos que permitem o silenciamento do gene mutado de p53, pode levar a inibição do crescimento celular e alteração do ciclo celular, com parada em G_0 - G_1 e G_2 -M, e um significativo decréscimo de fase S, levando à apoptose

(ZHU et al., 2010). Destaca-se que os achados atuais de parada do ciclo celular induzido por luteína e danos no DNA sugerem envolvimento da p53 (GONG et al. 2018).

Rafi e colaboradores (2015), realizaram análises de matriz gênica e de reação em cadeia da polimerase via transcrição reversa quantitativa e mostraram que a luteína alterou a expressão dos genes biomarcadores associados ao crescimento e à apoptose em células PC-3.

No presente estudo, a análise de ciclo celular revelou que MA na menor concentração estudada atuou modulando a progressão do ciclo celular, por promover uma redução no percentual de células em fase G₀-G₁ e aumento nas fases G₂-M e S após a incubação de 24h. Enquanto a incubação com ME foi observado aumento do percentual de células na fase G₀-G₁ e redução no percentual de células na fase G₂-M em ambas as concentrações estudadas. Já para o extrato aquoso de taperebá, demonstrou-se diferentes padrões de modificação nas fases do ciclo celular dependendo da dose de tratamento, a maior concentração estudada levou ao aumento de células nas fases G₀-G₁ e G₂-M, enquanto a menor concentração levou a redução do percentual de células na fase G₀-G₁.

A inibição da progressão do ciclo celular está relacionado com o mecanismo antiproliferativo (SHIN et al., 2013). Neste sentido, os extratos estudados demonstram serem capazes de reduzir a viabilidade celular e modificar o ciclo celular de adenocarcinoma prostata humano PC-3.

Em linhagens celulares e em modelos experimentais utilizando animais é possível estabelecer que a reconstituição da atividade de p53 pode levar à morte de células tumorais e a regressão de tumores já estabelecidos. Estes resultados têm estimulado a ideia de desenvolver meios para restaurar a função da p53 nas células neoplásicas (FOSTER et al., 1999; ANDREOTTI et al., 2011).

O processo apoptótico é fundamental para a manutenção do desenvolvimento dos seres vivos, sendo importante para eliminar células supérfluas ou defeituosas. Durante a apoptose, a célula sofre alterações morfológicas como: a retração da célula, perda de aderência com a matriz extracelular e células vizinhas, condensação da cromatina, fragmentação internucleossômica do DNA e formação dos corpos apoptóticos (SLEE et al., 2001). A morte apoptótica de células cancerígenas é

considerada um potencial mecanismo anticancerígeno, que pode controlar sua proliferação (TYAGI et al., 2002).

A família Bcl-2 é uma família de proteínas indutoras e repressoras de morte por apoptose que participam ativamente da regulação da apoptose. Os membros da família Bcl-2, como Bcl-2 e Bcl-xL inibem a apoptose, pois previnem a liberação de citocromo c e são chamados de reguladores antiapoptóticos. Por outro lado, Bax, Bid e Bak são proteínas pró apoptóticas (HENGARTNER, 2000). As evidências revelam que os carotenóides induzem apoptose em células cancerosas humanas por meio da regulação de vias intrínsecas, como proteínas da família Bcl-2 e, pela ativação de caspases (PALOZZA et al. 2007; GANESAN et al., 2011).

No presente estudo, os ensaios de apoptose demonstraram aumento da taxa de apoptose em todos os extratos estudados. Observou-se um incremento máximo de 10 vezes na taxa de apoptose para a concentração 20mg/mL de TE. Este dado reforça o resultado descrito relacionado a viabilidade celular.

Os carotenóides α -caroteno e β -caroteno apresentam propriedades que inibem alterações bioquímicas associadas à proliferação celular. O β -caroteno pode ainda influenciar a apoptose, levando à morte celular, no lugar da sua proliferação (OMENN, 1998). Vários mecanismos podem explicar os efeitos pro-apoptóticos do β -caroteno, como a indução da cascata de caspases, a ruptura das funções mitocondriais, alterações de proteínas relacionadas à apoptose, incluindo Bcl-2 e Bcl-xL (LO et al. 2013; LOBO et al. 2012). Além disso, o β -caroteno também pode aumentar os níveis de fatores de transcrição relacionados à indução da apoptose (PALCZEWSKI et al. 2014), incluindo c-Myc e ativação do Fator Nuclear Kappa- β (MATHIASSEN; JAATTELA, 2002).

Em estudo com gênero *Spondias*, foi avaliado o efeito do extrato metanólico do tronco de *S. pinnata*, comprovando o potencial anticancerígeno do extrato contra o câncer de pulmão e mama humano. A análise por citometria de fluxo e imunoblot demonstrou a capacidade do extrato de induzir apoptose em ambas as linhas celulares malignas, sendo proposto a via de indução da apoptose pelo aumento da relação Bax/Bcl-2 em ambos os tipos celulares (GHATES, 2014).

Em estudo de Ataman et al. (2002), avaliaram a eficácia de extratos do tronco de *Spondias mombin* L. sobre o câncer induzido em ratos e os resultados da eficácia do material vegetal testado no câncer induzido em ratos mostrou recuperação significativa

usando o tratamento com extrato de água quando comparado com o tratamento com extrato etanólico. Os autores concluíram que o tratamento com extrato etanólico não conferiram recuperação significativa aos ratos. IDU et al. (2002), também com ensaios *in vivo* demonstraram resultados que sugeriram o papel da *S. mombin* no tratamento de certas malignidades.

O estudo de extratos de frutos com linhagem celular são promissores para avaliação da ação quimiopreventiva, pois se tornado cada vez mais evidente que respostas de proteção não estão exclusivamente associadas a um único fator, mas à presença de múltiplos fatores atuando de forma articulada e/ou sinérgica (LIU, 2004).

Mediante os resultados obtidos, é possível inferir que os frutos atuam de formas diferentes na linhagem de câncer próstata PC-3, por apresentarem diferenças de composição em compostos bioativos, estes por sua vez atuando de forma sinérgica, resultando em diferentes padrões de modificação dos eventos celulares.

Dado o exposto, os dados apresentados neste trabalho mostraram que os extratos bioativos de MU e TAP podem desempenhar importante papel na redução da viabilidade celular, na modulação do ciclo celular e no controle da progressão tumoral, via indução da apoptose da linhagem de adenocarcinoma de próstata humana PC-3. Maiores investigações são necessárias para identificar as vias de indução e modificações dos padrões de ciclo celular observados no presente estudo.

8 CONCLUSÃO

A literatura científica atual sobre os frutos de murici e taperebá ainda é escassa, especialmente sobre a influência em linhagem de células cancerígenas. Mas o que se tem relatado até o momento, demonstra um importante papel destes frutos como potentes antioxidantes, podendo ser utilizados na prevenção de diversas doenças entre estas o câncer.

Conclui-se assim que: através do presente estudo houve a identificação e quantificação dos carotenóides dos extratos bioativos liofilizados de murici e taperebá, compostos bioativos que vem ganhando destaque em seu potencial anticancer e antioxidante na literatura, com destaque para o conteúdo de luteína no murici e carotenóides totais e β -criptoxantina no taperebá.

O potencial bioativo dos frutos de murici e taperebá também foram evidenciados através da determinação dos compostos fenólicos totais das polpas e extratos bioativos, no qual maiores teores foram encontrados para os extratos de murici. Este estudo determinou a atividade antioxidante dos extratos bioativos produzidos, evidenciando maior atividade antioxidante para os extratos de murici em comparação aos extratos de taperebá, sugerindo assim a atuação dos compostos fenólicos no potencial antioxidante desses extratos.

Este estudo demonstrou que os extratos bioativos de murici e taperebá foram capazes de promover inibição do crescimento celular, modificações específicas no ciclo celular e aumento da taxa de apoptose de células de adenocarcinoma de próstata humano (PC-3).

A análise do ciclo celular revelou, que o MA (10mg/mL) diminuiu a porcentagem de células na fase G_0/G_1 e aumentou nas fases S e G_2/M , sendo capaz de induzir apoptose nas células prostáticas. Foi observado aumento da taxa de células apoptóticas em todos os extratos estudados, com incremento máximo de 10,25 vezes na taxa de células apoptóticas para TE (20mg/mL), resultados semelhantes foram encontrados no ensaio de viabilidade celular, no qual houve redução máxima no percentual de viabilidade das células tumorais com tratamento com TE (20mg/mL), em relação ao controle.

Neste sentido, o aprofundamento de estudos em modelos animais e novos ensaios *in vitro* sobre a possível proteção dos extratos de murici e taperebá no processo de carcinogênese, ajudará a entender outros mecanismos ainda não elucidados por este trabalho. Maiores investigações são necessárias para identificar os mecanismos de atividade antiproliferativa, as vias de indução de apoptose e modificações dos padrões de ciclo celular observados no presente estudo.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALINKEEL, R. et al. Gene expression of angiogenic factors correlates with metastatic potential of prostate cancer cells. **Cancer Research**, v. 64, n.15, p. 5311-21, 2004.

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. B. Phenolics in foods, a review. **Food chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.

ADOLFO, LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Edição IV. 1º Edição**, 2005.

ANDRIGUETO, J.R.; NASSER, L.C.B.; TEIXEIRA, J.M.A. **Produção integrada de frutas**: conceito, histórico e a evolução para o sistema agropecuário de produção integrada -SAPI. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 18 jan. 2019.

ANDREOTTI, V. et al. p53 transactivation and the impact of mutations, cofactors and small molecules using a simplified yeastbased screening system. **PLoS One**, v. 6, n. 6, p. e20643, 2011.

ANTHONY, H. M.; SCHORAH, C. J. Severe hypovitaminosis C in lung-cancer patients: the utilization of vitamin C in surgical repair and lymphocyte-related host resistance. **British journal of cancer**, v. 46, n. 3, p. 354, 1982.

ANTWI, S. O. et al. Carotenoid intake and adipose tissue carotenoid levels in relation to prostate cancer aggressiveness among African- American and European- American men in the North Carolina–Louisiana prostate cancer project (PCaP). **The Prostate**, v. 76, n. 12, p. 1053-1066, 2016.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Treating Prostate Cancer That Doesn't Go Away or Comes Back After Treatment, 2016. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer/treating/recurrence.html>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

AUS, G., et al. EAU Guidelines on Prostate Cancer. **European Urology**, v. 40, n. 2, p. 97-101, 2001.

ALONSO, A. M.; GUILLÉN, D. A.; BARROSO, C. G.; PUERTAS, B.; GARCÍA, A. Determination of antioxidant activity of wine by products and its correlation with polyphenolic content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5832-5836, 2002.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts & figures 2017**. Atlanta, 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2017/cancer-facts-and-figures-2017.pdf>>. Acesso em: 02 an. 2019.

ANICETO, A. **Otimização na produção de sucos de frutas da região Amazônica**. Dissertação (mestrado) do Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2015.

ARAUJO, C. et al. Volatile and Semi-volatile Composition of the Ripe Brazilian Couroupita guianensis Fruit. **The Natural Products Journal**, v.4, p.280 - 289, 2015.

ARIFFIN, A.A. et al. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, v. 114, p. 561-564, 2009.

AROMOLARAN, O.; BADEJO, O. K. Efficacy of fresh leaf extracts of Spondias mombin against some clinical bacterial isolates from typhoid patients. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 6, p. 442–446, dez. 2014.

ATTARD, et al. Prostate cancer. **The lancet**, v.387, n.10013, p. 70-82, 2016.

BAI, X.Y. et al. Association between dietary vitamin c intake and risk of prostate cancer: a meta-analysis involving 103,658 subjects. **Journal of Cancer**, v. 6, n. 9, p. 913, 2015.

BANDEIRAS, A. M. et al. Carcinoma basocelular: estudo clínico e anatomopatológico de 704 tumores. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 3, p. 23-34, 2003.

BARNES, R.W. Carcinoma of the prostate: a comparative study of modes of treatment. **Journal of Urology**, 44, p. 169-76, 1940.

BARRETO, G. P.M.; BENASSI, M.T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BERRUTI, A. et al. Incidence of skeletal complications in patients with bone metastatic prostate cancer and hormone refractory disease: predictive role of bone resorption and formation markers evaluated at baseline. **The Journal of urology**, v. 164, n. 4, p. 1248-1253, 2000.

BLACK, P.C. et al. Overexpression of protease-activated receptors-1,-2, and-4 (PAR-1,-2, and-4) in prostate cancer. **The Prostate**, v. 67, n. 7, p.743-756, 2007.

BORA, P. S. et al. Changes in physical and chemical composition during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruits. **Food Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 341–348, 1991.

BRAGA, A. C. C. et al. Antioxidant activity and bioactive compounds of the abricó fruits (*Mammea americana*). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 1, p. 31-36, 2010.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004. **Regulamento Técnico Sobre A Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. D.O.U de 17/12/2004.

BRASIL. Instituto Nacional Do Câncer. **Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino- serviço**./instituto nacional de câncer. 3º ed. Ver. Atual. amp. Rio de janeiro: INCA, 2008. p25.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ministério da Saúde. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer. Rio de Janeiro: Inca, 2017a. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/casos-taxas-brasil.asp>>. Acesso em: 02 jan. 2019.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Câncer de próstata: vamos falar sobre isso?** Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: Inca, 2017b. 12 p. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//cartilha_cancer_prostata_2017.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2019.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Monitoramento das ações de controle do câncer de próstata.** Boletim ano 5, n. 2, maio/ agosto, 2014. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Informativo_Deteccao_Precece_2_agosto_2014.pdf>. Acesso em: 03 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da agricultura e do abastecimento. Instrução normativa nº 37, de 8 de outubro de 2018. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. **Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 08 out. 2018.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 13 nov. 2012.**

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade Brasileira. **Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros.** Brasília: MMA/SBF, 2002. 404p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/Bio5.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Programa nacional de controle do câncer da próstata:** documento de consenso. Rio de Janeiro: INCA, 2002a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **TNM:** classificação de tumores malignos. 6. ed. - Rio de Janeiro: INCA, 2004a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **A situação do câncer no Brasil/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Instituto Nacional de Câncer, Coordenação de Prevenção e Vigilância.** -Rio de Janeiro: INCA, 2006.

BRASIL. Sociedade Brasileira de Cancerologia. **Câncer Urológico**, 2009. Disponível em:

<http://www.sbcancer.org.br/home2/site/index.php?option=com_content&view=article&id=116:cancer-urologico&catid=2009&Itemid=123>. Acesso em: 28 ago. 2017.

BUCCHIERI F. et al. Asthmatic bronchial epithelium is more susceptible to oxidant-induced apoptosis. **American Journal of Respiratory Cell Molecular Biology**, v. 27, n. 2, p. 179-185, 2002.

CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CASTRO, V. S.; LORENZZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. p 354-357.

CATES, R.G., et al. Activities of Guatemalan medicinal plants against cancer cell lines and selected microbes: Evidence for their conservation. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 33, p.1040-1050, 2014.

CARROLL, A. G. et al. p53 oncogene mutations in three human prostate cancer cell lines. **The Prostate**, v. 23, n. 2, p. 123-134, 1993.

CARVALHO, A. V. et al. Características físicas, químicas e atividade antioxidante de frutos de matrizes de cajazeira no estado do Pará. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 45-53, 2011.

CARVALHO NETO, W. **A vegetação natural do Brasil e suas frutas comestíveis**, 2009. Disponível: <<http://143.107.240.36/portal/Result2000/net/frutas.htm>>. Acesso em: 28 ago. 2017.

CARVALHO, V. C. C. V. L. **Estudo de associação dos polimorfismos CCR2-Val64Ile E CCR5-δ32 com a susceptibilidade e a agressividade do câncer de próstata na população do Piauí – Brasil**. 2016. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Federal do Piauí, 2016.

CHAUDHARY et al. Bioactivities of phytochemicals presente in tomato. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 8, p. 2833-2849, 2018.

CHAN, R.; LOK, K.; WOO, J. Prostate cancer and vegetable consumption. **Molecular nutrition & food research**, v. 53, n. 2, p.201-216, 2009

CLARK, P. E.; TORTI, F. M. Prostate cancer and bone metastases: medical treatment. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 415, p. S148-S157, 2003.

CONTRERÁS-CALDERÓN, L.C. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v.44, p. 2047-2053, 2011.

CRAWFORD, E. D., Understanding the epidemiology, natural history, and key pathways involved in prostate cancer. **Urology**, v. 73, n. 5, p. S4-S10, 2009.

DIAS, F. et al. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from brazilian savannah (cerrado). **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 1–6, 2012.

DINELLI, G. et al. Profiles of phenolic compounds in modern and old common wheat varieties determined by liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A.**, v. 1218, n. 42, p. 7670– 7681, 2011.

DINI, L. I. ; KOFF, W. J. Perfil do câncer de próstata no hospital de clínicas de Porto Alegre. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 52, n. 1, Fev. 2006.

TYAGI, A. K. et al. Silibinin strongly synergizes human prostate carcinoma DU145 cells to doxorubicin-induced growth Inhibition, G2-M arrest, and apoptosis. **Clinical cancer research**, v. 8, n. 11, p. 3512-3519, 2002.

DONKENA, K. V.; KARNES, R. J.; YOUNG, C. Y.F. Vitamins and prostate câncer risk. **Molecules**, v. 15, n. 3, p. 1762-1783, 2010.

DRAGO, I. S., et al. The Amazonian fruits taperebá (*Spondias mombin*) and murici (*Byrsonima crassifolia*) have higher levels of quercetin than commercial fruits. In: **International Food Data Conference**, 7th, São Paulo, 2008.

DUVALL, C. S. On the origin of the tree *Spondias mombin* in Africa. **Journal of Historical Geography**, v. 32, n. 2, p. 249–266, 2006.

EGEA, M. B. **Frutos nativos da Floresta Atlântica com potencial de maior utilização pela população pela indústria: caracterização nutracêutica e aromática**. 136f. 2014. Tese (doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Setor de tecnologia, Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2014.

EMBRAPA. **Murici *Byrsonima crassifolia* (L.) Rich.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Porto Velho, RO, agosto, 2005. Disponível em: Acesso em: 28 ago. 2017.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F.S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 3, p. 375-382. 2002.

FILHO, M. Z.; JÚNIOR, A. N.; REIS, R. B. **Urologia fundamental**. São Paulo: Planmark, 2010.

FINCO, F.D.B.A.; SILVA, I.G.; OLIVEIRA, R.D. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from Brazilian Savannah (Cerrado). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, n. 23, v. 2, p.179-185, 2012.

FIRAT, E. et al. Molecular radiobiology meets clinical radiation oncology. **International journal of radiation biology**, v. 86, n. 3, p. 252-259, 2010.

FONSECA, H.; NOGUEIRA, J. N.; MARCONDES, A. M. S. Teor de ácido ascórbico e beta-caroteno em frutas e hortaliças brasileiras. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 19, p. 9-16, 1969.

FORESTIER-ROMÁN, I. S. et al. Andrographolide induces DNA damage in prostate cancer cells. **Oncotarget**, v. 10 n. 10, p. 1085-1101, 2019.

FORZZA, C. R. et al. (Ed.). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio; **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v.1, p. 21-42, 2010.

FOSTER, B. A. et al. Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function. **Science**, v. 286, n. 5449, p. 2507-2510, 1999.

FURITSU, Takuma et al. Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. **The Journal of clinical investigation**, v. 92, n. 4, p. 1736-1744, 1993.

GANESAN, P. et al. Siphonaxanthin, a marine carotenoid from green algae, effectively induces apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1810, n. 5, p. 497-503, 2011.

GERBER, G.S.; CHODAK, G.W. Routine screening for cancer of the prostate. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, p. 329-335, 1991.

GERSTER, H. Anticarcinogenic effect of common carotenoids. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 63, p. 93-93, 1993.

GHATE, N. B. et al. In vitro anticancer activity of *Spondias pinnata* bark on human lung and breast carcinoma. **Cytotechnology**, v. 66, n. 2, p. 209-218, 2014

GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

GOMES, R. et al. A prevenção do câncer de próstata: uma revisão da literatura. **Ciência & saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 239-242, jan. 2008.

GONÇALVEZ, A. E. S.S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**. 2008. 88 p. Dissertação (mestrado) do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos – Universidade de São Paulo, 2008.

GONÇALVES, I. R.; PADOVANI, C.; POPIM, R. C. Caracterização epidemiológica e demográfica de homens com câncer de próstata. **Ciência & saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, 2008.

GONG, X. et al. Carotenoid Lutein Selectively Inhibits Breast Cancer Cell Growth and Potentiates the Effect of Chemotherapeutic Agents through ROS-Mediated Mechanisms. **Molecules**, v. 23, n.4, p.905, 2018.

GORDON, A. et al. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the amazon region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688–7699, 2011.

GRIFFITHS, K.; MORTON, M.S; NICHOLSON, R.I. Androgens, androgens receptors, antiandrogens and treatment of prostate cancer. **European Urology**, v. 32, suppl. 3, p. 24-40, 1997.

GUEDES, F.B.; SEEHUSEN, S.E. (Org.). **Pagamentos por serviços ambientais na mata atlântica: lições aprendidas e desafios**. Brasília: Ministério do meio Ambiente, 2011. 275p.

GUIMARÃES, D. A. B. et al. Pitaya Extracts Induce Growth Inhibition and Proapoptotic Effects on Human Cell Lines of Breast Cancer via Downregulation of Estrogen Receptor Gene Expression. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Nutritional value and chemical and physical characteristics of dried murici fruits (*Byrsonima verbascifolia*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 817–821, 2008.

GUNAWARDENA, K.; CAMPBELL, L. D.; MEIKLE, A. W. Combination therapy with vitamins C plus E inhibits survivin and human prostate cancer cell growth, **Prostate**, 59, p. 319 – 327, 2004.

GUNASEKERA, R.S., et al. Lycopene and lutein inhibit proliferation in rat prostate carcinoma cells. **HNUC**, v. 58, n.2, p.171-177, 2007.

GUSMÃO, A.C.M.; CARVALHO; J.R.A.; PARDINHO, S.D.J.F. The role of foods in cancer: a narrative review. **Unimontes Científica**, p.213-220, 2017.

HAMACEK, F.R.; MARTINO, H.S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Murici, fruit from the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and physicochemical characteristics, and occurrence and concentration of carotenoids and vitamins. **Fruits**, n. 69, v. 6, p. 459-472, 2014.

HAN, X. et al. Antioxidant intake and pancreatic cancer risk: the Vitamins and Lifestyle (VITAL) Study. **Cancer**, v.119, p. 1314–20, 2013

HASKELL, M. J. Provitamin A carotenoids as a dietary source of vitamin A. In: **Carotenoids and human health**. Humana Press, Totowa, NJ, p. 249-260, 2013.

HEIJNEN, C. G. et al. Protection of flavonoids against lipid peroxidation: the structure activity relationship revisited. **Free Radical Research**, v. 36, 575-581, 2002.

HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v. 407, n. 6805, p. 770, 2000.

HOWLADER, N. et al. (Ed.). **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2014**. Bethesda: National Cancer Institute, 2017. Disponível em: <https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/>. Acesso em: 02 jan. 2018.

HU, M. L.; SHIH, M. K., Ascorbic acid inhibits lipid peroxidation but enhances DNA damage in rat liver nuclei incubated with iron ions. **Free Radical Research**, 26, p. 585 – 592, 1997.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, n. 19, v. 1, p.97-108, 2008.

HUMPHREY, P.A. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. **Modern Pathology**, n.17, v. 3, p. 292-306, 2004.

KAPINOVA, A. et al. Controlling metastatic cancer: the role of phytochemicals in cell signaling. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, p. 1-23, 2019.

KIM, H. et al. Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. **Journal of food science**, v. 76, n. 1, p. C38-C45, 2011.

IBGE. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. 2004. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>>.
Acesso em: 28 ago. 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal, Culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, v. 40, p.1-102, 2013.

IDU, M. et al. Studies on the nutritional value and anti-tumour property of the bark of *Spondias mombin* L. **Journal of Medicine and Biomedical Research**, v. 1, n. 2, 2002.

INFANTE, J. **Composição fenólica e atividade antioxidante de polpa, casca, semente e folha de espécies frutíferas nativas do Brasil**. 2003. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.61 -71, 2013.

INSTITUTO VENCER O CÊNCER. Câncer de próstata. SD. Disponível em:
<<https://www.vencerocancer.org.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata-tipos-de-cancer/o-que-e-9/?catsel=videos-2>>. Acesso em: 17 jan. 2019.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **National Academy of Medicine**, 2001.

JUDD, W. S. et al. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, U.S.: Sinauer Associates, 1999. p. 321-323

KAIGHN, M. E. et al. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). **Investigative urology**, v. 17, n. 1, p. 16-23, 1979.

KANDOTH, C. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. **Nature**, v. 502, n. 7471, p. 333, 2013.

KAUSHAL, V. et al. Thrombin receptor expression is upregulated in prostate cancer. **The Prostate**, v. 66, n. 3, p.273-282, 2006.

KIM, L. D. et al . Metástase óssea como primeira manifestação de tumores: contribuição do estudo imuno-histoquímico para o estabelecimento do tumor primário. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 53, n. 4, p. 467-471, 2018.

KNUDSEN; K. E.; SCHER, H. I. Starving the addiction: new opportunities for durable suppression of AR signaling in prostate cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 15, p. 4791-4798, 2009.

KRINSKY, N. I. Overview of lycopene, carotenoids, and disease prevention. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 218, n. 2, p. 95-97, 1998.

KUCUK, O. New opportunities in chemoprevention research. **Cancer investigation**, v. 20, n. 2, p.237-245, 2002. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/CNV-120001151?scroll=top&needAccess=true>>. Acesso em: 28 ago. 2017.

LEE, C. et al. Transforming growth factor-beta in benign and malignant prostate. **Prostate**, v. 39, n.4, p. 285-290, 1999.

LEE, K.W. et al. Vitamin C and cancer chemoprevention: reappraisal. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p.1074–8, 2003.

LETERME, P. et al. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 644–652, abr. 2006.

LIU, J. et al. Expression of functional protease-activated receptor 1 in human prostate cancer cell lines. **Urological research**, 31(3), pp.163-168, 2003.

LIU, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.

LIMA, J. P. DE et al. Climacteric pattern of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) and its responses to temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 399–403, 2015.

LIN, P.; ARONSON, W.; FREEDLAND, S. J. Nutrition, dietary interventions and prostate cancer: the latest evidence. **BMC Medicine**, v. 13, n. 3, 2015.

LJUNGMAN, M. The DNA damage response—repair or despair?. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 51, n. 8- 9, p. 879-889, 2010.

LO, H. et al. The carotenoid lutein enhances matrix metalloproteinase- 9 production and phagocytosis through intracellular ROS generation and ERK1/2, p38 MAPK, and RAR β activation in murine macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 93, n. 5, p. 723-735, 2013.

LOBO, G. P. et al. BCDO2 acts as a carotenoid scavenger and gatekeeper for the mitochondrial apoptotic pathway. **Development**, v. 139, n. 16, p. 2966-2977, 2012.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. de A.; MENEZES, H. C de. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 553-559, 2005.

LÖW, E. C. V. et al. Facts and fiction of phytotherapy for prostate cancer: a critical assessment of preclinical and clinical data. **In vivo**, v. 21, n. 2, p.189-204, 2007.

MACFARLANE, S. R. et al. Proteinase-activated receptors. **Pharmacological reviews**, v. 53, n. 2, p. 245-282, 2001.

MACIP, S. et al. Influence of induced reactive oxygen species in p53-mediated cell fate decisions. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 23, p. 8576-8585, 2003.

MCGEE, M. D. et al. cep-1/p53-dependent dysplastic pathology of the aging *C. elegans* gonad. **Aging (Albany NY)**, v. 4, n. 4, p. 256, 2012.

MALDINI, M.; MONTORO, P.; PIZZA, C. Phenolic compounds from *Byrsonima crassifolia* L. bark: Phytochemical investigation and quantitative analysis by LC-ESI MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 1, p. 1–6, 2011.

MALTA, L .G. et al. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food research international**, n. 53, v. 1, p.417-425, 2013.

MALTA, L. G. et al. In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 604-611, 2012.

MANOJLOVIC, D. et al. Evaluation of Staining-Dependent Colour Changes in Resin Composites Using Principal Component Analysis. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 14638, 9 dez. 2015.

MAREČEK, V. et al. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of cereal science**, v. 73, p. 40-45, 2017.

MARIN, A. M.F. **Potencial nutritivo de frutos do Cerrado: composição em minerais e componentes não convencionais**. 2006. 108f. Dissertação (mestrado em Nutrição Humana) – Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MARIUTTI, L. R. B. et al. The Amazonian fruit *Byrsonima crassifolia* effectively scavenges reactive oxygen and nitrogen species and protects human erythrocytes against oxidative damage. **Food Research International**, v. 64, p. 618–625, 2014.

MARIUTTI, L. R. B.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids from *Byrsonima crassifolia*: Identification, quantification and in vitro scavenging capacity against peroxy radicals. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, n. 1, p. 155–160, 2013.

MARQUES, E. C.; COSTA, S. R. R. D. Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos. **Acta Tecnológica**, v. 10, n. 1, p. 44-52, 2015.

MARQUES, L. S. G. NEVES, P. B. O. A Eficácia da Ingestão de Flavonóides na Prevenção de Neoplastias: uma Revisão. **Estudos**, v. 40, n. 4, p. 585-594, 2013.

MATTIETTO, R.D.A; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. D. Physical and physicochemical characterization of caja fruit (*Spondias mombin* L.) and its pulp, obtained using two types of extractor. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 1/4, p. 156–164, 2010.

MIZE, G.J.; WANG, W.; TAKAYAMA, T.K. Prostate-specific kallikreins-2 and-4 enhance the proliferation of DU-145 prostate cancer cells through protease-activated receptors-1 and-2. **Molecular Cancer Research**, v.6, n. 6, p.1043-1051, 2008.

MESQUITA, M. L. D. et al. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n.3, p.439-445, 2009.

MOO-HUCHIN, V. M. et al. Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 152, p. 508–515, 2014.

MOREIRA, M. A. B. et al. **Taperebá (*Spondias mombin L.*)**. Frutíferas potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 216p

MORZELLE, M. C. et al. Caracterização Química e Física de Frutos de Curriola, Gabiroba e Murici provenientes do Cerrado Brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 96–103, mar. 2015.

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

MOTTA, J. D. et al. Índice de cor e sua correlação com parâmetros físicos e físico-químicos de goiaba, manga e mamão. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 1, p. 74-82, 2015.

MURILLO, E. et al. Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 167–172, set. 2010.

OLIVEIRA, A. C. C. et al. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 830-839, 2008.

OLIVEIRA, V. M.; ALDRIGHI, J. M.; RINALDI, J. F. Quimioprevenção do câncer de mama. **Revista da Associação médica Brasileira.**, v. 52, n. 6, p. 453-459, 2006.

OLSON, J.A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, n. 49 (Suppl 1), p. 7-11, 1999.

OMENN, G. S. Chemoprevention of lung cancer: the rise and demise of beta-carotene. **Annual review of public health**, v. 19, n. 1, p. 73-99, 1998.

OSSOVSKAYA, V.S.; BUNNETT, N.W. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease. **Physiological reviews**, v. 84, n. 2, p.579-621, 2004.

OTLES, S.; ÇAGINDI, O. Carotenoids as Natural Colorants in Carmen Socaciu (Ed.), **Food Colorants: Chemical and Functional Properties**, CRC Press, United States, p. 51-70, 2007.

PACHECO S. et al. Microscale extraction method for HPLC carotenoid analysis in vegetable matrices. **Scientia Agricola (USP. Impresso)**, v. 71, n.5, p. 416-419, 2014.

PADILHA, P. C.; PINHEIRO, R. L. O papel dos alimentos funcionais na prevenção e controle do câncer de mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 3, p. 251-260, 2004.

PAIVA, M. C. et al. Caracterização química dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 19, n. 1, p. 57-63, 1997.

PAIVA, S. A.R; RUSSELL, R. M. β -carotene and other carotenoids as antioxidants. **Journal of the American college of nutrition**, v. 18, n. 5, p. 426-433, 1999.

PALCZEWSKI, G. et al. Evidence for compartmentalization of mammalian carotenoid metabolism. **The FASEB Journal**, v. 28, n. 10, p. 4457-4469, 2014.

PALOZZA, P. et al. Induction of cell cycle arrest and apoptosis in human colon adenocarcinoma cell lines by β -carotene through down-regulation of cyclin A and Bcl-2 family proteins. **Carcinogenesis**, v. 23, n. 1, p. 11-18, 2002.

PALOZZA, P. et al. The growth-inhibitory effects of tomatoes digested in vitro in colon adenocarcinoma cells occur through down regulation of cyclin D1, Bcl-2 and Bcl-xL. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 4, p. 789-795, 2007.

PAZ, M. et al. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

PEREIRA, M. S.; ALVES, R.R. N. Composição florística de um remanescente de mata Atlântica na área de proteção ambiental Barra do Rio Mamanguape, Paraíba, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n. 1, p.1-10, 2007.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.

PIMENTEL, C. R. M.; ROSA, V. C. M. **Prioridades tecnológicas para o desenvolvimento da fruticultura cearense**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, v. 42, Brasília, 2004.

PINA, F. M. et al. O eixo EGF e o Cancro da Próstata. O Epidermal Growth Factor (EGF)-Experiência clínica. **Acta Urológica, Bruxellas**, v. 25, n. 2, p. 09-20, 2008.

PINSKY, P.F. et al. Prostate-specific antigen velocity and prostate cancer gleason grade and stage. **Cancer**, v. 109, p.1689-1695, 2007.

PITCHAKARN, P. et al. Ellagic acid inhibits migration and invasion by prostate cancer cell lines. **Asian pacific jornal of câncer prevention**, v. 14, n. 5, p.2859-63, 2013.

POMPEU, D. R.; et. al. Capacidade antioxidante e triagem farmacológica de extratos brutos de folhas de *Byrsonima crassifolia* e de *Inga edulis*. **Acta Amazônica**. v. 42, n. 1, p. 165-172, 2011.

PRIOR, R. L.; CAO, G.. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. **HortScience**, v. 35, n. 4, p. 588-592, 2000.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

PTAFFL, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic acids research**, v. 29, n. 9: e45, 2001.

PUTCHALA, M. C. et al. Ascorbic acid and its pro-oxidant activity as a therapy for tumours of oral cavity—a systematic review. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 6, p. 563-574, 2013.

RAFI, M. M. et al. Lycopene modulates growth and survival associated genes in prostate cancer. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 10, p. 1724-1734, 2013.

RAFI, M. M. et al. Dietary lutein modulates growth and survival genes in prostate cancer cells. **Journal of medicinal food**, v. 18, n. 2, p. 173-181, 2015.

REETZ, E. R. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2014**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 104 p

REZENDE, C. M.; FRAGA, S.R. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, n. 14, v. 3, p.425-428, 2003.

RIBAYA-MERCADO, J.D.; BLUMBERG, J.B., Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23 (sup6), p.567S-587S, 2004.

RIU-AUMATELL, M. et al. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. **Food Chemistry**, v. 87, p. 627-637, 2004.

RIGAUD, J. et al. Prognostic value of bone scan in patients with metastatic prostate cancer treated initially with androgen deprivation therapy. **The Journal of urology**, v. 168, n. 4, p. 1423-1426, 2002.

RHODEN, E. L.; AVERBECK, M. A. Câncer de próstata localizado. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 54, n. 1, p. 92-99, 2010.

RODDAM, A. W. et al. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. **Journal of the national cancer institute**, n. 100, v. 3, p.170-183. 2008.

RODRIGUES, J. S. M.; FERREIRA, N. M. L. A. Caracterização do Perfil Epidemiológico do Câncer em uma Cidade do Interior Paulista: Conhecer para Intervir. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 56, n. 4, p. 431-441, 2010

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods, 2001. 64p

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: Ministério de Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2008. 99p.

ROGEZ, H. et al. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: Araça-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 4, p. 380–384, 2004.

ROMERO, T. **Amazônia em pé vale muito mais**. Disponível em: <www.ambienteemfoco.com.br/?p=5096>. Acesso em: 18 jan. 2019.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062-5072, 2007.

RUFINO, M. et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, n. 114, v. 2, p.693-695, 2009.

RUFINO, M. et al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo Método de redução do Ferro FRAP. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006.4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 125).

RUFINO, M. et. al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128)

RUFINO, R. E. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996-1022, 2010.

SACRAMENTO, C. K.; SOUZA, F. X. **Taperebá (*Spondias mombin* L.)**. Jaboticabal: Funep, 2000.

SALES, A.; WAUGHON, T.G.M. Influência do processamento no teor de compostos bioativos em frutos de murici e cajá. **Agrarian**, v. 6, n. 19, p. 7-15, 2013.

SEBRAE. Cenários prospectivos: A fruticultura brasileira em 2018. Cenários e projeções estratégicas, 2016. Disponível em:
<[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/e93e6e44c0b1ec9bed5f9ed186ab6b7e/\\$File/6083.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/e93e6e44c0b1ec9bed5f9ed186ab6b7e/$File/6083.pdf)>. Acesso em: 17 jan. 2019.

SEPÚLVEDA L. et al. Variação de dados clínicos e histológicos com o Grau de Gleason na Biópsia Prostática. **Acta Urológica Portuguesa**, v. 31, n. 1-2, p. 22-27, 2014.

SHAHIDI, f.; YEO, j. Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1573, 2018.

SHIRAI, T. et al. Diet and prostate cancer. **Toxicology**, v. 181–182, n. 27, p. 89-94, 2002.

SiBBr. *Byrsonima crassifolia* in Sistema de informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBr). Disponível em:
<https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/FN/ShortName/3700_murici_polpa_com_casca_sem_semente_crua>. Acesso em: 14 fev. 2019.

SiBBr. *Spondias mombin* in Sistema de informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBr). Disponível em:
<https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/FN/ShortName/4254_caja_polpa_com_casca_crua>. Acesso em: 14 fev. 2019.

SILVA, E.M. et al. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, n. 101, v. 3, p.1012-101, 2007.

SILVA, M. R. et al. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1790–1793, set. 2008.

SILVA, R. C. **Plantas da Amazônia na Saúde Bucal**. 2 ed. Rio Branco, AC: Ed. Do Autor, 2011. 259p

SILVA, A. R. A. et al. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two *Spondias* species against dengue virus. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.17, n.4, p.406-413, 2011.

SILVA, G. et al. *Spondias Genus*: Botanical Aspects, Chemical and Pharmacological Potential. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 10, n. 1, 2014.

SILVA, P. S. L. et al. Distribuição do teor de sólidos solúveis totais em frutos de algumas espécies de clima temperado. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, p.19-23, 2002.

SILVA, S. **Árvores nativas do Brasil**. vol. 1. São Paulo: Editora Europa, 2013

SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas no Brasil**. 4 ed. São Paulo: Nobel, 2001. 209 p.

SINDHU, E.R., et al. Effect of carotenoid lutein on N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinoma and its mechanism of action. **European Journal of Cancer Prevention**, v.22, n. 4, p.320-3270, 2013.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152-178, 1999.

SKIBSTED, L. H. Carotenoids in antioxidant networks. Colorants or radical scavengers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 10, p. 2409-2417, 2012.

SLEE, E. A.; ADRAIN, C.; MARTIN, S. J. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 10, p. 7320-7326, 2001.

SOUZA, M.M. et al. **Potencial antioxidante e toxicidade do extrato aquoso de *Syzygium cumini* (L.) skeels e *Spondias mombin* L. frente à *Artemia salina* Leach**. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia dos alimentos: alimentação a árvore que sustenta a vida. FAURGS, 2016.

SOUZA, V. R. De et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381–386, 2012.

SPORN, M. B. Approaches to prevention of epithelial cancer during the preneoplastic period. **Cancer research**, v. 36, n. 7 Part 2, p. 2699-2702, 1976.

SROUGI, M; SIMON, S. D. **Câncer urológico**. 2. ed. São Paulo, SP: Platina, 1996.

STAFUSSA, Ana Paula et al. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 106-118, 2018.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1740, n. 2, p. 101-107, 2005.

SU, Q. et al. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. **Journal of Chromatography B**, v. 781, n. 1-2, p. 393-418, 2002.

TAI, S. et al. PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. **The Prostate**, v. 71, n. 15, p. 1668-1679, 2011.

TAMAN, J. E. et al. Preliminary studies on the phytochemistry and efficacy of extracts of the bark of *Spondias mombin* L. on induced cancer in rats. **Annals of Biomedical Sciences**, v. 1, n. 2, p. 100-110, 2002.

TEIXEIRA, I. E. A. et al. Investigation of the volatile fraction of chamomile (*Matricaria recutita* L.) infusions prepared from Brazilian commercial sachets. **International Food Research Journal**, v.22, p.2133 - 2140, 2015.

TEMESGEN S. et al., The flavonoid quercetin transiently inhibits the activity of taxol and nocodazole through interference with the cell cycle. **Nutrition and Cancer**, United Kingdom, v. 62, n. 8, p. 1025- 1035, 2010.

TERAO, J.; PISKULA, M. K. Flavonoids and membrane lipid peroxidation inhibition. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 15, n. 10, p. 790, 1999.

TIBURSKI, J. H. et al. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2326–2331, 2011.

TONON, T.C.A.; SCHOFFEN, J.P.F. Câncer de próstata: uma revisão da literatura. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 2, n. 3, p. 403-410, 2009.

TORTAJADA, J. F., et al. Factores dietéticos asociados al cáncer de próstata. Beneficios de la dieta mediterránea. **Actas Urológicas Españolas**, v. 36, n. 4, p.239-245, 2012.

VAN BOKHOVEN, A. et al. Molecular characterization of human prostate carcinoma cell lines. **The Prostate**, v. 57, n. 3, p. 205-225, 2003.

VILLASMIL, J., et al. Cytotoxic and antitumor activities of Venezuelan plant extracts *in vitro* and *in vivo*. **Pharmacologyonline**, n. 3, p.808-816, 2006.

VIEIRA, R. F. et al. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 320 p.

VINDELOV, L. L. Flow microfluorometric analysis of nuclear DNA in cells from solid tumors and cell suspensions. A new method for rapid isolation and straining of nuclei. *Virchows Archiv – B - Cell Pathology*, v. 24, n. 1, p. 227–242, 1977.

VIRGOLIN, L.B. **Caracterização Físico-Química de Polpas de Frutas do Bioma Amazônia**. 2015. 58 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2015.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1209–1214, dez. 2011.

VOUSDEN, Karen H.; PRIVES, Carol. Blinded by the light: the growing complexity of p53. **Cell**, v. 137, n. 3, p. 413-431, 2009.

XING, Y.; WHITE, P. J. **Antioxidants from Cereals and Legumes *in natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications***. AOCS Press: Champaign, Illinois, p. 25, 1996.

WILLIS, M. S., WIANS, F. H., The role of nutrition in preventing prostate cancer: A review of the proposed mechanism of action of various dietary substances. **Clinica Chimica acta: International journal of clinical chemistry and medical biochemistry**, v. 330, n. 1, p. 57-83, 2003.

ZHU, H. et al. RNA interference targeting mutant p53 inhibits growth and induces apoptosis in DU145 human prostate cancer cells. **Medical Oncology**, v. 28, n. 1, p. 381-387, 2011.