

**Influência de extratos de tamarillo (*Solanum betaceum*) em linhagem
celular de adenocarcinoma de próstata**

Aluna: Luciana de Oliveira Silva

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca

Coorientador: Prof. Dr. Anderson Junger Teodoro

Influência de extratos de tamarillo (*Solanum betaceum*) em linhagem celular de adenocarcinoma de próstata

Palavras-chave: alimentos funcionais, compostos bioativos, atividade antioxidante, atividade antiproliferativa, câncer de próstata

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), como critério para qualificação de Mestrado (2019.1).
Orientadora: Prof. Dra. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca. Coorientador: Prof. Dr. Anderson Junger Teodoro.

Rio de Janeiro
Janeiro, 2022

Catálogo

Silva, Luciana de Oliveira

INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE TAMARILLO (*SOLANUM BETEACEUM*) EM LINHAGEM CELULAR DE ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA / Luciana de Oliveira Silva, Rio de Janeiro, 2021.

Orientadora: Juliana Côrtes Nunes da Fonseca
Coorientador: Anderson Junger Teodoro
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, 2021.

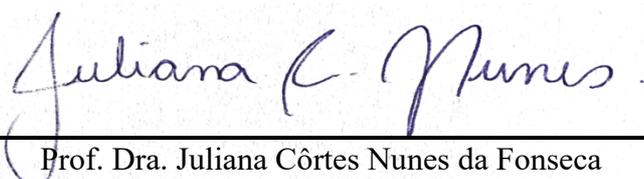
1. Tamarillo. 2. PANC. 3. Bioatividade.
4. Antioxidante. 5. Câncer de Próstata. I. Nunes, Juliana Côrtes, orient. II. Junger, Teodoro, coorient. III. Título.

Luciana de Oliveira Silva

Influência de extratos de tamarillo (*Solanum betaceum*) em linhagem celular de adenocarcinoma de próstata

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
(PPGAN/UNIRIO)

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)



Prof. Dr. Felipe L. Oliveira
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof. Dra. Ellen Mayra Menezes Ayres
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me acompanhar em todos os dias da minha vida, renovando minha fé e a certeza de que tudo é por um bem maior. Obrigada por me segurar quando me faltaram força e coragem. Aos meus pais por não medirem esforços para oferecer o melhor acesso a educação que podiam e por cada sacrifício que fizeram para tornar essa jornada mais fácil. Sempre me inspirando e apoiando, acreditando que eu seria capaz. Afinal “a única coisa que ninguém pode nos levar embora é o conhecimento”. Ao meu irmão, Gustavo, que me auxilia durante os apuros tecnológicos e que cuidava de mim diariamente. Obrigada família, amo vocês.

Gostaria de agradecer a minha Orientadora, Prof. Juliana Nunes que sem pestanejar me abraçou como sua aluna, acreditando em mim e estando ao meu lado sempre. Obrigada por cada ensinamento, cada correção, cada inspiração, cada vibração de resultado, por sua disponibilidade e paciência. E claro, por amenizar minha ansiedade sempre com palavras sábias. Toda reunião era enriquecedora, com muitas ideias e trocas, para mim você foi luz e calma. Não poderia deixar de agradecer ao meu Coorientador, Prof. Anderson Teodoro, que também esteve presente durante todo o processo, dividindo experiências e discutindo os resultados quantas vezes fossem necessárias. Agradeço imensamente a oportunidade que me proporcionaram, e saibam que vocês foram fundamentais no meu contato com a ciência. Vocês inspiram qualquer um.

Aos amigos que fiz nessa jornada. Alguns em especial, como a Manuela Samary, que foi a melhor parceira! Você é incrível, inteligente, perseverante, empolgada, e adorei ter você comigo neste processo. Obrigada pelas risadas, apoio, ajuda, dedicação e carinho. À Julia Montenegro que esteve na bancada comigo e com a Manu, passando suas experiências com uma facilidade e domínio do assunto causando imensa admiração. À Lauriza que também estava ali nos ensinando, incentivando, dando risadas, deixando o clima mais leve. Gratidão à Marta que foi incrivelmente sagaz durante os ensaios em cultura de célula, parceira de feriados no laboratório e gafes, com uma positividade contagiante. E à Michelle que foi uma parceria no final do processo que me ajudou e dividiu comigo momentos ímpares. Aprendi com cada um de vocês. Obrigada a todos do grupo LAAF.

Aos professores que conheci nessa jornada, agradeço a compreensão, paciência, e toda experiência gerada. Vocês são capazes de motivar os alunos. Admiro cada um de vocês. Obrigada corpo docente do PPGAN.

Sou grata por todas as pessoas que pude ter um pouquinho de contato que fosse, seja dividindo correria entre uma aula e outra, discutindo ideias para os trabalhos, as parcerias nos experimentos... Seria impossível citar o nome de todos, e injusto se esquecesse alguém. Então a todos os colegas de turma, técnicos de laboratórios, colaboradores e servidores desta instituição, meu singelo “Muito Obrigada, gente”!

SUMÁRIO	PÁGINA
Resumo	09
Abstract	10
1. Introdução	11
2. Revisão bibliográfica	13
2.1. Tamarillo (<i>Solanum betaceum</i> Introdução.....	13
2.1.1 Origem e aspectos botânicos.....	13
2.1.2 Cultivo e consumo.....	14
2.1.3 Características físico-químicas.....	15
2.1.4 Principais compostos bioativos do tamarillo.....	16
2.1.4.1 Carotenoides.....	17
2.1.4.2. Compostos fenólicos.....	18
2.1.4.2.1 Antocianinas.....	22
2.2 Câncer.....	24
2.2.1 Próstata e doenças associadas.....	24
2.2.2 Fatores de risco.....	25
2.2.3 Diagnóstico e classificação.....	25
2.2.4 Tratamentos.....	26
2.2.5 Estudos <i>in vitro</i> em cultura de células.....	27
2.3 Compostos bioativos na prevenção do câncer.....	28
3. Justificativa	29
4. Objetivos	29
4.1 Objetivo geral	29
4.1 Objetivo específico.....	29
5. Material e Métodos	30
5.1 Aquisição de matéria-prima e obtenção dos extratos.....	30
5.2 Preparação dos extratos.....	30
5.3 Determinação da atividade antioxidante.....	31
5.3.1 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH.....	31
5.3.2 Avaliação atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+.....	31
5.3.3 Ensaio FRAP.....	32
5.3.4 Ensaio ORAC.....	32
5.4 Determinação de compostos fenólicos totais.....	33
5.5 Cultura de células e protocolo de tratamento.....	33

5.5.1 Incubação dos compostos na linhagem celular de próstata.....	33
5.5.2 Ensaio de viabilidade e proliferação celular (MTT).....	34
5.5.3 Análise de ciclo celular.....	34
5.5.4 Avaliação da indução de apoptose.....	35
5.6 Análises Estatísticas.....	35
6. Resultados e Discussões	35
6.1 Fenólicos totais e atividade antioxidante.....	35
6.2.1 Ensaio de viabilidade celular.....	40
6.2.2 Ciclo celular.....	43
6.2.3 Ensaio de apoptose.....	45
7. Conclusão	48
8. Referências bibliográficas	49

Resumo:

O tamarillo (*Solanum betaceum*), fruto nativo da região dos Andes e arredores, com crescente cultivo no Brasil, apresenta alto conteúdo de vitaminas e minerais, e rica composição em fenólicos e carotenoides. Estudos recentes têm demonstrado que extratos de frutas ricas em compostos bioativos, como compostos fenólicos, são capazes de agir sobre células cancerosas diminuindo sua viabilidade e promovendo apoptose, inclusive em adenocarcinoma de próstata. O câncer de próstata está entre os tipos de câncer com maior incidência, e em segundo lugar no ranking para sexo masculino. Desta forma, o objetivo do presente estudo é investigar o efeito de extratos de tamarillo sobre linhagem celular de adenocarcinoma de próstata, bem como determinar a atividade antioxidante dos extratos produzidos. Para isso, foram obtidos extratos de tamarillo com dois solventes, água e etanol 80%. A atividade antioxidante foi avaliada por quatro diferentes métodos: DPPH, ABTS, FRAP e ORAC. A quantificação de compostos fenólicos foi realizada por método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Para analisar a citotoxicidade dos extratos sobre a linhagem DU145 foram realizados os ensaios de viabilidade e ciclo celular, e avaliação da indução de apoptose. O extrato etanólico (EE) de tamarillo apresentou maior teor de compostos fenólicos (1191,78±28,16 mg AGE/100g) comparado ao extrato aquoso (EA) (1034,64±46,99 mg AGE/100g extrato; $p < 0.05$). Utilizando os métodos DPPH, FRAP e ORAC foi observada uma maior atividade antioxidante ($p < 0.05$) para EE (514,90±49,02 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$; 150,35±4,42 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$; e 2715 ± 592,7 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$ respectivamente) em comparação a EA (340,07±29,88 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$; 71,95±0,65 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$; e 1948 ± 493,1 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$ respectivamente). Já para o método ABTS ambos os extratos apresentaram alta atividade antioxidante e sem diferença significativa entre eles (EA: 548,40±81,49 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$; EE: 534,20±26,58 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$). Uma redução máxima na viabilidade celular de DU145 (54%) foi alcançada com EE. Além de provocarem a parada do ciclo celular na fase G2/M e induzir a apoptose em células de câncer de próstata (DU 145) na concentração de 2500 $\mu\text{g/ml}$. Espera-se com este estudo contribuir no campo da Ciência dos Alimentos com dados sobre o potencial bioativo de extratos de tamarillo frente ao câncer de próstata.

Palavras-chave: tamarillo; PANC; bioatividade; antioxidante; câncer de próstata

Abstract:

Tamarillo (*Solanum betaceum*) is a native fruit from Andes region and surroundings, cultivated in Brazil. This fruit has a high content of vitamins and minerals, and rich in phenolics compounds and carotenoids. Studies has been showed that fruits extracts are rich in bioactive compounds, such as phenolic compounds, whose able to act on cancer cells, decreasing their viability and promoting apoptosis, including in prostate cancer. Prostate cancer is among the cancers with the highest incidence, and second in the ranking for males. This study aims to investigate the effect of tamarillo extracts on the prostate cancer cell line, as well as to determine an antioxidant activity of these extracts. Extracts were obtained two solvents, water and 80% ethanol. Antioxidant activity was evaluated by four different methods: DPPH, ABTS, FRAP and ORAC. The quantification of phenolic compounds was performed by the Folin-Ciocalteu assay. For the cytotoxicity analysis of the extracts on cancer cell line DU145 was used MTT assay, cell cycle and apoptosis induction. The ethanol extract (EE) of tamarillo exhibited higher content of phenolic compounds (1191.78 ± 28.16 mg GAE / 100g) compared to the aqueous extract (AE) (1034.64 ± 46.99 mg GAE / 100g extract; $p < 0.05$). In the assays DPPH, FRAP and ORAC, a higher antioxidant activity ($p < 0.05$) was observed for EE (514.90 ± 49.02 μ mol trolox g⁻¹; 150.35 ± 4.42 μ mol trolox g⁻¹; and 2715 ± 592.7 μ mol trolox g⁻¹ respectively) compared to an AE (340.07 ± 29.88 μ mol trolox g⁻¹; 71.95 ± 0.65 μ mol trolox g⁻¹; and 1948 ± 493.1 μ mol trolox g⁻¹ respectively). For the ABTS method, both extracts showed high antioxidant activity and no difference between them was observed (EA: 548.40 ± 81.49 μ mol trolox g⁻¹; EE: 534.20 ± 26.58 μ mol trolox g⁻¹). A maximum reduction in cell viability of DU145 (54%) was getted with EE. In addition, the tamarillo extracts caused cell cycle arrest in the G2/M phase and induced apoptosis in prostate cancer cells (DU 145) at the concentration of 2500 μ g / ml. It is expected that this study will contribute to the field of Food Science with data on the bioactive potential of tamarillo extracts against prostate cancer.

Keywords: tamarillo; PANC; bioactivity; antioxidant; prostate cancer

1. Introdução

O Brasil possui flora rica e grande variedade de frutas, cuja introdução de espécies nativas de outros países vem crescendo favorecida devido às variadas condições climáticas e de solo em todo seu território (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Apresenta-se como o terceiro maior produtor mundial de frutas, atrás apenas de China e Índia (KIST *et al.*, 2018). O consumo de frutas vem sendo recomendado às populações com o objetivo de melhorar a qualidade de vida e condições específicas (BRASIL, 2014). Benefícios como melhora do sistema imunológico, redução do dano celular oxidativo, proteção contra o desenvolvimento do câncer e redução de risco para outras doenças crônicas não transmissíveis, já foram relatados na literatura. Tais efeitos são comumente atribuídos aos variados compostos bioativos encontrados nestes frutos (LOIZZO *et al.*, 2019; SANTOS; AQUINO SANTANA, 2019, LIU *et al.*, 2021). Deste modo, seu consumo crescente associado a adoção de hábitos mais saudáveis pode trazer benefícios consideráveis a sociedade.

Além de participarem na prevenção de doenças, muitos compostos bioativos têm sido capazes de inibir o crescimento de diferentes tipos de células de câncer. A capacidade de interferir em processos celulares, por exemplo, induzindo apoptose e autofagia tem sido demonstrada em estudos *in vitro* (MUTALIB *et al.*, 2016; DE SOUZA *et al.*, 2019; SOARES *et al.*, 2019). Logo, compostos bioativos podem promover efeitos quimiopreventivo e/ou quimioterápico.

O tamarillo (*Solanum betaceum*) pertence à família Solanaceae, é originário da América do Sul, nativo da região e arredores dos Andes. No Brasil, a agricultura familiar é a grande responsável por cultivo deste fruto, em locais na Bahia, São Paulo e Minas Gerais, sendo popularmente conhecido com os seguintes nomes: “tomatão”, “tomate-francês” ou “tomate de árvore”. Considerando que plantas alimentícias não convencionais (PANCs) consistem em plantas com parte comestível que não estão incluídas no consumo habitual e cotidiano de determinada população podendo ser de origem espontânea, cultivada e exótica; o tamarillo se enquadra nesta definição no Brasil (PANTOJA *et al.*, 2009; KELEN, *et al.*, 2015; RAMIREZ; KALLARACKAL, 2019).

A respeito de sua composição podemos ressaltar alto conteúdo vitamínico e significativa quantidade de outros compostos bioativos como fenólicos e carotenoides,

que podem apresentar diferenças dependendo do cultivar do fruto. De modo geral, são três principais cultivares identificados por sua cor: roxo, vermelho e amarelo. Sendo muito semelhantes em relação a composição nutricional, mas diferem no conteúdo de antocianinas, por exemplo, onde os cultivares roxo e vermelho apresentam maior teor (LLERENA *et al.*, 2019; ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015; VASCO *et al.*, 2009). Tais compostos, contribuem tanto para sua atividade antioxidante, quanto para sua coloração, e apresentam propriedades terapêuticas e preventivas (LOIZZO *et al.*, 2019; RAMIREZ; KALLARACKAL, 2019).

O tamarillo tem sido utilizado com finalidades terapêuticas há algum tempo pela população de países como Colômbia e Equador, tendo como fundamento o conhecimento popular. Algumas de suas aplicações é o uso tópico de folhas e frutos cozidos na região das amígdalas para tratamento de dores de garganta, e consumo de frutos *in natura* para gripe e no tratamento de doenças respiratórias (CARRILLO-PERDOMO *et al.*, 2015). Estudo de Puspawati *et al.* (2018) apontou efeito do tamarillo no controle glicêmico, inibindo a enzima alfa-glicosidase, cuja função seria quebrar moléculas de polissacarídeos; deste modo, com a inibição da enzima não há picos de hiperglicemia pois a digestão e absorção de carboidratos será retardada (PUSPAWATI *et al.*, 2018). Adicionalmente, foi observado efeito de citotoxicidade do tamarillo em células de câncer, podendo sugerir que este fruto é um potencial agente anticancerígeno, como já foi demonstrado ação antiproliferativa em hepatocarcinoma e adenocarcinoma de mama sem causar danos às células normais (MUTALIB *et al.*, 2017).

O câncer está em segundo lugar como uma das principais causas de morte em todo o mundo. Estima-se que cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018 foram ocasionadas por esta doença não transmissível. Dentre os diversos tipos de câncer, os de pulmão, próstata, colo-retal, estômago e fígado são os mais comumente desenvolvidos em homens (WHO, 2019). Calcula-se que no mundo o câncer de próstata terá um aumento de óbitos a cerca de 350mil (2020) para 740mil (2040). No Brasil, o câncer de próstata é o segundo mais comum entre indivíduos do sexo masculino, sendo o câncer de pele não-melanoma o que ocupa o primeiro lugar. Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), para 2020 há uma estimativa de 65.840 novos casos (BRASIL, 2020).

Existem alguns fatores considerados de risco para desenvolvimento de câncer de próstata, como: idade, histórico familiar, genética, etnia, exposição ambiental, dieta e

fatores socioeconômicos (SCHUMACHER *et al.*, 2018; LAYNE *et al.*, 2018). A dieta, em especial, pode ser um fator promotor ou de prevenção ao câncer. Há relatos na literatura de que maior consumo de alimentos naturais, como na dieta do Mediterrâneo, pode reduzir o risco de câncer de próstata, assim como menor mortalidade para pacientes não metastáticos que aderem a esta dieta (REALE *et al.*, 2018; CHHABRA *et al.*, 2018).

Desta forma, observa-se que o uso de agentes naturais ou sintéticos como estratégia preventiva para o câncer, torna estes compostos quimiopreventivos de grande interesse de estudo. Assim, estudos com tamarillo a respeito de sua capacidade antioxidante a uma possível atividade antiproliferativa para câncer de próstata, podem não somente incentivar maior consumo deste fruto como também de subprodutos e até novas estratégias terapêuticas a partir de seus principais compostos bioativos. Destaca-se ainda que estudos que investiguem os efeitos do tamarillo em células cancerosas ainda são escassos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Tamarillo (*Solanum betaceum*)

2.1.1 Origem e aspectos botânicos

O tamarillo é um fruto originário das regiões andinas da América Latina. Taxonomicamente, pertence ao gênero *Cyphomandra*, família *Solanacea*, espécie *Betacea*. Inicialmente recebeu o nome de *Solanum betaceum* pelo botânico espanhol Cavanilles. Anos mais tarde, Sendner alterou seu nome para *Cyphomandra betacea*, entretanto, em 1995, transferiu-o de volta ao seu nome original. Popularmente, o fruto pode ser conhecido também como “tomate de árvore”, “tomate francês” e “berinjela holandesa” em países como Brasil, Colômbia, Equador, Reino Unido, França, Holanda e China (MORTON, 1987; ORQUEDA *et al.*, 2017; VASCO *et al.*, 2009).

A árvore do tamarillo não atinge grandes alturas, medindo cerca de 2 a 5 m, possui tronco único e curto, com raízes superficiais. Suas folhas são largas, alternadas e simples, estando agrupadas no final dos ramos com pecíolo robusto. É uma árvore subtropical, encontrada em altitudes de 1.000 a 3.000 m, de crescimento rápido principalmente sob condições ideais como: temperatura em torno de 18 a 20° C, solos drenados e friáveis. No entanto, possui período de vida curto entre 5-12 anos. A primeira

floração ocorre a partir do primeiro ano, podendo ser afetada por altas temperaturas e consequente queda na produção. As flores são pendentes, carnudas, hermafroditas, perfumadas, que podem ter coloração branco creme, rosada, avermelhada ou manchas roxas. Estão dispostas em cachos variando de 10 a 50 unidades, podendo gerar 1 a 6 frutos (BOHS, 1989; LIM, 2013; RAMIREZ; KALLARACKAL, 2019).

Ao redor do mundo diversas variedades de tamarillo podem ser encontradas, e por isso seus aspectos morfológicos diversificam-se. O fruto pode apresentar formato ovoide a elipsoide, com medidas que variam entre 3 a 5 cm de diâmetro, 4 a 10 cm de comprimento e 30 a 160 g de peso (MORTON, 1987). A sua casca resistente e brilhante pode diferenciar-se entre as colorações amarelas, amarelo-alaranjadas, laranjas, roxo-avermelhadas e vermelha escuras, onde é possível observar inclusive tênues listras escuras em alguns cultivares. A sua polpa se divide em duas camadas, sendo a externa mais firme e compacta, e a interna, que envolve as sementes, mais gelatinosa, macia e suculenta de sabor agridoce. A coloração da polpa pode ser amarelo-creme, laranja clara ou vermelha (VASCO *et al.*, 2009, ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015; RAMIREZ; KALLARACKAL, 2019).



Figura 1. Tamarillo vermelho (*Solanum betaceum*).

2.1.2 Cultivo e consumo

O tamarillo possui altos níveis de produção e consumo na América Latina, em países como Colômbia, Bolívia, Equador, Chile, Peru e Argentina. No Brasil, o fruto é cultivado em pequena escala através de pequenos produtores, oriundos da agricultura familiar, em estados como Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Bahia (PANTOJA *et al.*, 2009, GUILHERME *et al.*, 2012; LIM, 2013; ESPIN *et al.*, 2016). Os principais países responsáveis pela exportação mundial são Nova Zelândia, Colômbia e Austrália e

Estados Unidos (WANG & ZHU, 2020; RAMIREZ; KALLARACKAL, 2019; New Zealand Horticulture Export Authority, 2021)

A forma de consumo do tamarillo até o momento relatada pode variar entre *in natura* ou de produtos como bebidas, geleias, doces, recheios, compotas, molhos, tortas e mousses (MORTON, 1987; BOHS, 1989; PANTOJA *et al.*, 2009, GUILHERME *et al.*, 2012; LIM, 2013).

2.1.3 Características físico-químicas

O tamarillo é um fruto com alta umidade, correspondendo a cerca de 86% do fruto *in natura*, e considerado um alimento de baixo conteúdo de carboidratos e proteínas; mas fonte de fibras e vitamina C. Apresenta pH em torno de 3,6, 1% de cinzas e menos de 1% de teor de lipídeos. Possui também altas concentrações de outras vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, pró-vitamina A, e em minerais como iodo, cálcio, potássio, fósforo, ferro, selênio e zinco (ESPIN *et al.*, 2016; ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015; VASCO *et al.*, 2009; New Zealand Food Composition, 2019).

A composição do fruto pode sofrer variações conforme condições de cultivo, grau de maturação e de acordo com o tipo de cultivar (tabela 1). Ao comparar espécies diferentes de tamarillo, observa-se alterações no teor de alguns compostos, como minerais, pigmentos, ácidos orgânicos, sólidos solúveis e umidade, sendo este último o de menor alteração. Como por exemplo, já foi relatado maior conteúdo lipídico para cultivares do Equador em comparação aos cultivares da Espanha. Assim como o fruto de cor vermelha e roxa possui dentre os pigmentos, prevalência de antocianinas em contrapartida os de coloração amarelo-alaranjado tem destaque para os carotenoides (ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015, VASCO *et al.*, 2009).

Algumas substâncias encontradas no tamarillo desempenham funções além das nutricionais, como é o caso da vitamina C, compostos fenólicos, antocianinas, entre outros.

Tabela 1. Composição de tamarillo (por 100g) demonstrando variação a depender do cultivar e origem.

	New Zealand Food Composition Database	ACOSTA-QUEZADA <i>et al.</i>, 2015	VASCO <i>et al.</i>, 2009
Umidade (%)	86,1	86,1 -87,7	86,92
Proteínas (g)	2	4,41 – 9,58*	2,2 – 2,5
Gordura (g)	0,4	-	0,05 – 0,72
Carboidratos (g)	3,8	-	4,31 – 5,33
Açúcares (g)	3,5	33,1 – 52*	
Sacarose(g)	-	15,5 -26.9*	1,6 – 2,5
Frutose (g)	-	6,3 – 13,2*0,7 – 1,6	0.7 – 1,6
Glicose (g)	-	6,3 – 12,4*	0,5 – 1,7
Fibra dietética (g)	3,3	-	-
Vitamina C (mg)	29,8	-	-
Vitamina A (µg)	190	-	-
Vitamina E (mg)	1,9	-	-
Potássio (mg)	320	1868 - 3211*	347 – 440
Fósforo (mg)	39	56 - 172*	
Zinco (mg)	0,2	0,21 – 1,83*	0,17 – 0,20

*Análises realizadas a partir de amostras secas.

2.1.4 Principais compostos bioativos do tamarillo

Os compostos bioativos são metabólitos secundários encontrados em vegetais e frutas capazes de promoverem efeitos em um organismo, dentre eles a capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio. Esta ação pode ocorrer devido ao sequestro de radicais livres ou ao estímulo de enzimas de ação antioxidante. Na literatura é observado que os compostos bioativos podem apresentar propriedades como bloquear, reverter ou impedir o ataque de espécies reativas de oxigênio ao DNA, alterar o metabolismo de compostos pré-cancerígenos e aprimorar o reparo do DNA, assim demonstrando uma característica quimiopreventiva (LI *et al.*, 2013; MUTALIB *et al.*, 2017; DE SOUZA *et al.*, 2019). Considerando que naturalmente o metabolismo celular produz radicais livres que podem trazer danos como aterogênese, carcinogênese e acelerar o processo de

envelhecimento, as substâncias com atividade antioxidante vem despertando importante interesse pela possibilidade de trazerem benefícios a saúde (ANSARI, 1997).

O fruto de tamarillo contém quantidades significativas de fenólicos, carotenoides e antocianinas, considerados importantes compostos bioativos com características de ação antioxidante. Destaque para os ácidos fenólicos, como ácido clorogênico e ácido rosmarínico; os carotenoides, como β -caroteno, β -criptoxantina, (E)-luteína e zeaxantina; e as antocianinas (MERTZ *et al.*, 2009; ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015; ESPIN *et al.*, 2016; DIEP, POOK, YOO, 2020). A pelargonidina-3-O-glicosídeo, composto da classe dos flavonoides e subclasse das antocianinas e o ácido feruloilglicosídeo, um ácido fenólico da subclasse dos ácidos hidroxicinâmicos, são os compostos mais abundantes neste fruto, correspondendo juntos a quase 80% do teor total de compostos fenólicos do suco integral (CASTRO, 2019; LLERENA *et al.*, 2019).

2.1.4.1 Carotenoides

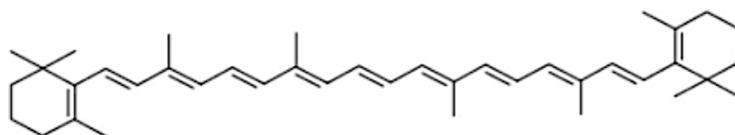
Os carotenoides são compostos lipofílicos e pigmentos naturalmente encontrados em alimentos, conferindo coloração amarela, laranja ou vermelha. Podem ser classificados quanto aos átomos presentes: caroteno, como o β -caroteno, apresentam somente átomos de carbono e hidrogênio, sendo lineares ou cíclicos em uma extremidade ou nas duas extremidades da molécula; e xantofila, como luteína, que são derivados oxigenados de carotenos (GONG & BASSI, 2016; MEZZOMO & FERREIRA, 2016).

O teor de carotenoides presentes no tamarillo difere de acordo com a variedade, origem e metodologia aplicada para análise, se quantitativo e/ou qualitativo (ESPIN *et al.*, 2016; VASCO *et al.*, 2009). No geral, os carotenoides são encontrados na forma livre ou de ésteres de carotenoides (GIUFFRIDA *et al.*, 2018); majoritariamente composto por β -caroteno e β -criptoxantina (Figura 2), seguido por: zeaxantina, anteraxantina e luteína, em ordem decrescente. No Brasil, o tamarillo vermelho apresentou 45,3% de β -criptoxantina e 26,1% de β -caroteno, e o inverso foi observado em tamarillos do Equador (DE ROSSO & MERCADANTE, 2007; VASCO *et al.*, 2009; MERTZ *et al.*, 2009). Mertz *et al.* (2010) observaram que ésteres de zeaxantina foram os mais susceptíveis ao tratamento térmico de néctar de tamarillo amarelo. Neste caso, foi observada maior preservação do teor de carotenoides com aplicação de tratamento térmico sob baixos níveis de oxigênio dissolvido.

Estes compostos são melhor absorvidos na presença de pelo menos 3-5g de lipídeos. Sendo assim, uma vez no trato gastrointestinal, são extraídos da matéria alimentar, emulsificados, incorporados a micelas e então estão prontos para serem absorvidos pelos enterócitos. A bioacessibilidade de carotenoides em alimentos vegetais é relativamente baixa e com taxa de absorção lenta (PERIAGO *et al.*, 2013; SANAI, NILE, PARKER, 2015; MARZE *et al.*, 2015).

Os carotenoides vêm apresentando importante efeito antioxidante, na comunicação intercelular e atividade do sistema imunológico. A capacidade de remover radicais livres, modular metabolismo da carcinogênese e inibir proliferação celular foram associadas a carotenoides, independentemente de serem pró vitamina A ou não, como luteína, zeaxantina e licopeno (MEZZOMO & FERREIRA, 2016; SAINI, NILE, PARK, 2016). Há na literatura relatada ação pro-oxidante para carotenoides, quando em altas concentrações e sob certas condições como alto estresse oxidativo intracelular e desequilibrado, comum em células cancerosas. Assim podendo levar a morte da célula cancerosa (RIBEIRO *et al.*, 2018; GANSUK *et al.*, 2019).

A.



B.

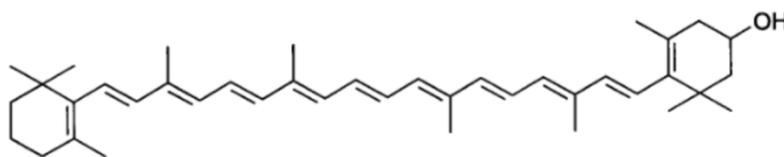


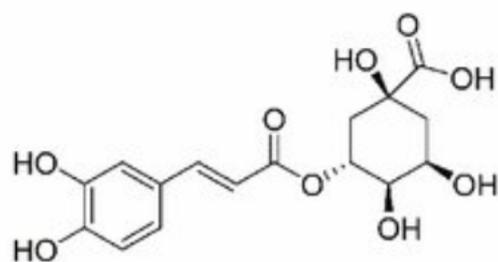
Figura 2. A - Estrutura de β -caroteno; B – Estrutura de β -criptoxantina.

2.1.4.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos compõem um grupo de grande diversidade estrutural, porém específica, contendo anéis de benzeno, com um ou mais radicais hidroxila variando de simples moléculas fenólicas (C6) a compostos polimerizados (C6-C3-C6)_n. Sua estrutura permite que atue como agentes redutores, doadores de hidrogênio, entre outros

(PAZ *et al.*, 2015; LIN *et al.*, 2016). Dentre as classes presentes na alimentação destacam-se: ácidos fenólicos, flavonoides e taninos. Os compostos fenólicos têm desempenhando funções como proteção contra doenças cardiovasculares (reduz a inflamação crônica e melhora a função do endotélio), efeito citotóxico em determinadas linhagens celulares de câncer, além de propriedades antioxidantes importantes (SHENKIN, 2006; LI *et al.*, 2013; PAZ *et al.*, 2015; MARTINS, BARROS, FERREIRA, 2016). Tais compostos estão presentes naturalmente em alimentos, e podem variar de acordo com origem da planta, condições de cultivo, tempo de colheita, e outras variáveis. O potencial antioxidante pode variar também dependendo do tipo de solvente utilizado em sua extração do alimento *in natura* (ACOSTA-QUEZADA *et al.*, 2015; MARTINS, BARROS, FERREIRA, 2016; MUTALIB *et al.*, 2017). Estudo com extratos aquoso e alcoólico de abricó, camapu e uxi apresentaram altas concentrações de compostos fenólicos e importante atividade antioxidante por diferentes métodos (LIMA *et al.*, 2020).

Derivados do ácido hidroxicinâmico correspondem aos principais tipos de ácidos fenólicos presentes no tamarillo, cujo composto majoritário é o ácido 3-O-cafeoilquínico (3-CQA) ou ácido clorogênico (Figura 3), um importante inibidor de estresse oxidativo. Seguido por: ácido rosmarínico, gálico, caféico, p-cumarínico e ferúlico (LEE *et al.*, 2017; ESPIN *et al.*, 2016; MERTZ *et al.*, 2009; VASCO *et al.*, 2009). Recentemente foram encontrados em 3 cultivares de tamarillos (Amber, Laird's Large e Mulligan) da Nova Zelândia outros compostos fenólicos, são eles: o ácido elágico, rutina, catequina, epicatequina, kaempferol-3-rutinosídeo e isorhamnetina-3-rutinosídeo; a partir de extração com solvente orgânico (metanol 50%) (DIEP, POOK, YOO, 2020).



Ácido 3-cafeoilquínico

Figura 3. Estrutura de ácido 3-O-cafeoilquínico ou ácido clorogênico, principal ácido fenólico encontrado em Tamarillo (*Solanum betaceum*).

O ácido 3-O-cafeoilquínico corresponde a um subgrupo de ácidos clorogênicos que são formados a partir da esterificação do ácido caféico com ácido quínico. Os ácidos clorogênicos são classificados conforme a posição ou número dos grupos cafeoila, sendo o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) o principal representante nas plantas (MICHAEL MARTIN, 2004; MIYAMAE TAJIK *et al.* 2011; NIGGEWEG *et al.*, 2017). Apesar de grãos de café serem a principal fonte dietética deste composto, também é encontrado em batata, berinjela e sementes de girassol (PLAZAS *et al.*, 2014; NABAVI *et al.*, 2017). O interesse em ácido clorogênico vem a partir dos benefícios à saúde em que vem sendo associado, como prevenção de doenças crônicas, capacidade anti-inflamatória e principalmente relacionado a atividade antioxidante e antimutagênica (LIANG N & KITTS, 2016; NABAVI *et al.*, 2017; MOJITA *et al.*, 2018).

Tem sido descrito que a atividade antioxidante dos ácidos clorogênicos está associada a capacidade de doar átomos de hidrogênio a fim de reduzir os radicais livres e inibir reações de oxidação. Uma vez oxidados, esses radicais fenoxil se tornam mais estáveis e rapidamente serão divididos em outras substâncias incapazes de produzir novos radicais livres. Tal ação é sugestiva de mecanismo de proteção do DNA, evitando por exemplo a quebra da fita de DNA; além de outros seis isômeros do ácido clorogênico estarem associados a proteção contra a quebra de segmento de DNA induzidas por peróxido de hidrogênio (XU, HU, LIU, 2012). Outra forma descrita de controlar o estresse oxidativo é por ação do ácido 3-cafeoilquínico ativando o regulador antioxidante Nrf-2 (fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2) e a supressão de NF- κ B (fator nuclear κ B), de AP-1 (proteína ativadora) e ativação de MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno) mediada por espécies reativas de oxigênio (ROS). Podendo resultar na redução da carcinogênese induzida por fatores ambientais (FENG *et al.*, 2005). Em estudos com tratamento de ácido clorogênico em incubação com células, foi possível observar que houve proteção de queratinócitos contra os danos induzidos por peróxido de hidrogênio (CHA *et al.*, 2014; SADEGHI EKBATAN *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2019).

Cerca de um terço do ácido clorogênico é absorvido no trato gastrointestinal, seja por via de absorção imediata e íntegro no estômago, ou por absorção lenta em todo o intestino delgado. E entra na corrente sanguínea, podendo ser na sua forma íntegra ou de seus derivados, atingindo maior concentração no plasma sanguíneo após 2,5h, que então seguirão para fígado e rim para serem absorvidos e/ou metabolizados. Pequenas

quantidades de ácido clorogênico íntegro já foi detectada na urina, sugerindo modo de excreção urinária. Já os compostos que passam pelo trato gastrointestinal sem serem absorvidos, podem levar a modificação da microbiota intestinal (MONTEIRO *et al.*, 2007; MUBARAK *et al.*, 2012; MILLS *et al.*, 2015; NABAVI *et al.*, 2017).

No tamarillo outro composto fenólico que se destaca é o ácido rosmarínico (Figura 4 A), um éster derivado do ácido caféico e do ácido 3,4-dihidroxifenilacético, com maior solubilidade em substâncias orgânicas. É um dos dímeros de ácido caféico mais abundantes nas plantas, e além de protege-las contra patógenos e herbívoros, também merece destaque por sua atividade antioxidante sendo encontrada em diversas plantas medicinais e temperos (por exemplo alecrim, orégano e manjeriço) (PETERSEN *et al.*, 2009, PETERSEN, 2013). Há relato de benefícios com o uso tópico deste composto como agente antiviral e prevenção do envelhecimento da pele (TUNDIS *et al.*, 2015; YUCEL, SEKER KARATOPRAK, DEGIM, 2019). Os mecanismos de absorção, metabolização e excreção do ácido rosmarínico não estão muito bem elucidados, mas já foi relatado em testes *in vivo* (ratos) que é parcialmente metabolizado em ácido cumárico e ácido caféico. Após a ingestão de 200 mg ácido rosmarínico observou-se no plasma, seus níveis máximos e de ácido ferúlico após 0,5 h da ingestão, enquanto que o nível mais alto de ácido rosmarínico metilado foi detectado após 2 h. A excreção dos compostos correspondeu a 6,3% da dose e ocorreu por volta de 6 h após a ingestão (BABA *et al.*, 2004; BABA *et al.*, 2005). A utilização de nanopartículas encapsuladas tem como objetivo melhorar a biodisponibilidade e proteger compostos fenólicos do suco gástrico. E sua administração em doses baixa a moderada, *in vitro* e *in vivo* (em ratos), não demonstrou citotoxicidade ou genotoxicidade (MADUREIRA *et al.*, 2016).

Acredita-se que a atividade antioxidante do ácido rosmarínico esteja associada a presença de dois grupos catecol (Figura 4 B). Deste modo, formando pontes de hidrogênio com a doação de prótons a radicais, estabilizando-os. Dentre outras formas possíveis relacionadas ao seu efeito antioxidante podemos citar: aumento da expressão de enzimas antioxidantes (catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e redutase, superóxido dismutase (SOD), regulando positivamente Nrf-2; diminuição de peroxidação lipídica incluindo em lipídios de membrana celular e de dano ao DNA (CAO *et al.*, 2005; FUJIMOTO & MASUDA, 2012; MUSHTAQ *et al.*, 2014; FERNANDO *et al.*, 2016; SHANG *et al.*, 2017).

Na literatura já foram relatados efeitos benéficos de ácido rosmarínico contra células de câncer colo retal, pulmão, mama, leucemia, oral e melanoma. Alguns dos mecanismos relatados são: redução do fator de transcrição devido a inibição de proteína ativadora-I (AP-I) e consequente redução da ativação de COX-2; diminuição da expressão da proteína p65 e proliferação celular mediada por NF-kB; inibição de quinase reguladora de afinidade de microtúbulos (MARK4); e indução de apoptose. Além de efeito radioprotetor, configurando um potente composto anticancerígeno com característica radioprotetora e quimiopreventiva (SCHECKEL, LEISSO, ROMAGNOLO, 2008; TAO *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2016; FERNANDO *et al.*, 2016; ANWAR *et al.*, 2020; SADEGHI *et al.*, 2020; MESSEHA SAMIA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020; LUO *et al.*, 2020).

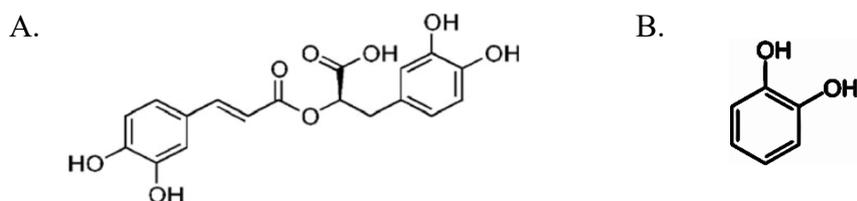


Figura 4. A - Estrutura básica do ácido rosmarínico. B– Grupo catecol.

2.1.4.2.1 Antocianinas

As antocianinas (Figura 5) são pigmentos naturalmente encontrados em plantas, flores, frutas e vegetais. Pertencem ao subgrupo dos flavonoides, um tipo de composto fenólico, e são hidrossolúveis. Reações como de hidroxilação, metilação, glicosilação e acilação influenciam na estabilidade das antocianinas e suas cores. Por exemplo, a metilação do anel B confere coloração avermelhada e torna a antocianina menos susceptível a oxidação. Temperatura e pH são fatores que podem levar a alteração de estabilidade e estrutura (DELGADO-VARGAS, JIMÉNEZ, PAREDES-LÓPEZ, 2000; TANAKA, SASAKI, OHMIYA, 2008; ZHANG, BUTELLI, MARTIN, 2014).

No tamarillo as antocianinas estão presentes em maior concentração nas polpas do fruto e em variedades avermelhadas e roxas. Merecem destaque a delfinidina, a cianidina e a pelargonidina. Um estudo demonstrou alta concentração de antocianinas totais para polpa do cultivar Mulligan com 486,84 mg/100 g de peso seco, valores superiores comparados à frutas conhecidas por possuírem altos valores deste composto,

como: polpa de morango, uva e cranberry (CORONA *et al.*, 2011). Em relação aos cultivares avermelhado-roxo, as antocianinas majoritárias relatadas são: delphinidina-3-O-rutinosídeo, pelargonidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo; compostos que se diferem pela posição e número de hidroxilas no anel B (ESPIN *et al.*, 2016; ORQUEDA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; CASTRO, 2019; DIEP, POOK, YOO, 2020).

A bioacessibilidade das antocianinas é relativamente baixa. Ao acompanhar o processo de digestão e absorção de cianidina-3-O-rutinosídeo, foi possível observar que após a fase gástrica a maior parte do composto se mantém inalterado e uma pequena parcela é metilada. Apresenta importante redução após a fase intestinal, sendo decomposto principalmente em ácido protocatecuico. A eliminação no plasma é rápida e nos tecidos é prontamente absorvido e metabolizado em ácidos fenólicos e derivados. Vale acrescentar que tanto a cianidina-3-O-rutinosídeo quanto seu derivado metilado são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica. A bioacessibilidade de antocianinas é dependente da matriz alimentar na qual está presente, sofrendo influencia inclusive pelo tipo de glicosídeo ligante. E uma das formas de aumentar bioacessibilidade de antocianinas é o microencapsulamento (BRAGA, *et al.*, 2018; FREDES *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2019; TAKAHASHI *et al.*, 2019).

A atividade antioxidante das antocianinas está em grande parte relacionada a captura de espécies reativas de oxigênio, mas também há relato de modulação de Nrf-2 (fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2). Alguns de seus benefícios a saúde são: diminuição do risco de doenças cardiovasculares, câncer e neuroproteção. Quanto a atividade anticâncer possui efeitos antimutagênico, de inibir dano oxidativo ao DNA, interrupção do ciclo celular, bem como indução de apoptose e antiangiogênese. E mesmo em altas concentrações não demonstrou efeitos nocivos (CLIFFORD, 2000; WEB, MIN, EBELER, 2008; KROPAT *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2015; RIAZ *et al.* 2016; CHEN *et al.*, 2019).

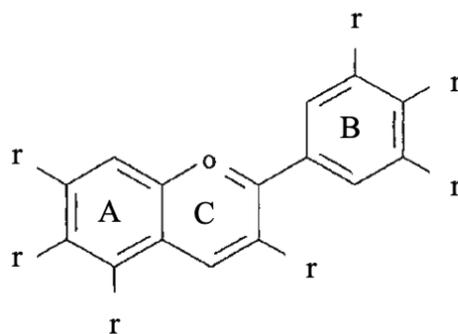


Figura 5. Forma estrutural básica de antocianinas.

2.2 Câncer de próstata

2.2.1 Próstata e doenças associadas

A próstata é um órgão considerado uma glândula exócrina exclusiva do sistema reprodutor masculino. É a responsável por produzir e armazenar o líquido prostático, que faz parte do sêmen juntamente com o líquido seminal produzido pelas vesículas seminais e os espermatozoides produzidos nos testículos. Sendo o sêmen a secreção final, de aspecto leitoso e odor característico, que será eliminada durante ato sexual. Esta glândula envolve parte da uretra e fica localizada na parte abaixo da bexiga e à frente do reto (Figura 6) (INCA, 2019; HAYWARD; CUNHA, 2000).

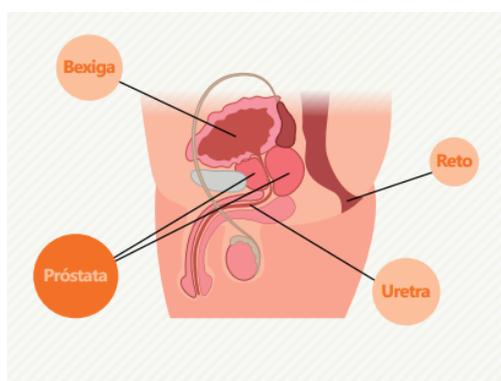


Figura 6. Localização próstata. Retirado de “Cartilha Câncer de Próstata”, INCA,2019.

Os três principais processos que acometem a próstata são: prostatites, hiperplasia benigna da próstata e o adenocarcinoma. As prostatites são inflamações da próstata que podem ser bacterianas (aguda ou crônica), não bacteriana e prostatodinia. Na hiperplasia os nódulos se desenvolvem na zona epitelial de transição da próstata (DUTT; GAO, 2017). O adenocarcinoma é o tipo de tumor mais comum encontrado na próstata, recebe este nome por se desenvolver a partir de mutações em células glandulares seguida de proliferação anormal. (SARRIS *et al.*, 2018; UDENSI; TCHOUNWOU, 2016).

O câncer de próstata está entre os tipos de câncer com maior incidência, ocupando o quarto lugar quando considerado os sexos feminino e masculino, e o segundo para homens. As estimativas indicam um possível aumento de 1,7 milhão de novos casos e 499.000 mortes até 2030 considerando o crescimento e envelhecimento da população mundial (BASHIR, 2015). De acordo com o INCA, é o segundo tipo de câncer mais comum entre indivíduos do sexo masculino, sendo a estimativa para 2020 há de 65.840

novos casos (BRASIL, 2020). O câncer de próstata pode ser silencioso, ou seja, assintomático ou apresentar sintomas como: dor lombar dificuldade para urinar, dor ao ejacular e/ou ao urinar (UDENSI; TCHOUNWOU, 2016).

2.2.2 Fatores de risco

Existem fatores que favorecem o desenvolvimento de câncer de próstata. A idade é um fator diretamente proporcional, onde indivíduos com idade igual ou superior a 55 anos apresentam cerca de 17 vezes mais chances de desenvolver câncer de próstata do que os que apresentam idade inferior. Também apresentam associação positiva para risco aumentado a obesidade, histórico familiar, doenças sexualmente transmissíveis, afrodescendência e tabagismo. A dieta também pode ser um fator de risco se for rica em gorduras, principalmente de carne vermelha e laticínios (BASHIR, 2015; LAYNE *et al.*, 2018; INCA, 2019).

2.2.3 Diagnóstico e classificação

O exame de toque retal, o de antígeno prostático específico (PSA), ultrassom (via abdominal e transretal) e ressonância magnética são exames utilizados para o rastreamento do câncer de próstata, sendo os dois últimos considerados complementares. O toque retal pode indicar diversas condições, desde hiperplasia benigna até mesmo o próprio câncer de próstata e o estadiamento do tumor. Um resultado aumentado de PSA não necessariamente determina diagnóstico de câncer, pois também ocorre em condições de hiperplasia benigna da próstata e inflamação da próstata (SARRIS *et al.*, 2018; GROSSMAN *et al.*, 2018).

Atualmente, órgãos Brasileiros, Americanos e Europeus recomendam que o toque retal seja realizado em pacientes entre as faixas 40 - 75 anos de idade; e o PSA em indivíduos da mesma faixa etária desde que haja possibilidade de sobrevivência de pelo menos 10 anos, e/ou alto risco para câncer de próstata, e/ou sintomas; sendo necessária biópsia para confirmação do diagnóstico (INCA, 2019; SARRIS *et al.*, 2018).

A classificação do câncer de próstata é realizada por duas formas diferentes. A primeira delas avalia a dimensão do tumor, onde um tumor primário (T) acometendo somente a próstata, havendo ou não acometimento de linfonodos regionais (N) e a presença, ou não, de metástase à distância (M). A segunda forma é pelo sistema Gleason,

o modo como o patologista expressa o resultado de uma biopsia (MOTTET *et al.*, 2015). Onde duas áreas retiradas do tumor são graduadas de 1 a 5 e comparadas às células prostáticas normais (sendo grau 1 forma menos agressiva) (BRASIL 2002). A interpretação ocorre não somente a partir do valor total do escore de Gleason, mas também considera a nota referida para cada parte (Tabela 2) (MOTTET *et al.*, 2015). Valores altos, como os de 8 a 10, significam um câncer de crescimento rápido (BRASIL 2002).

Tabela 2: Classificação de gleason segundo International Society of Urological Pathology, 2014.

Escore Gleason	Grau ISUP
2 – 6	1
7 (3+4)	2
7 (4+3)	3
8 (4+4 / 3+5 / 5+3)	4
9 – 10	5

Fonte: MOTTET *et al.*, 2015.

2.2.4 Tratamentos

Uma vez diagnosticado o câncer de próstata, o tratamento será definido mediante tipo, estadiamento, localização e risco benefício. Em caso de doença pontualmente localizada há três opções principais: monitoramento da progressão do câncer de próstata enquanto não submetidos à terapia definitiva (conduta expectante), cirurgia e radiação. A cirurgia e a radiação são os tratamentos mais indicados e eficazes para homens com câncer que apresentam nível de PSA maior que 10 ng/mL e/ou nódulos palpáveis ao exame de toque (LITWIN; TAN, 2017). Sendo que a associação entre os tratamentos o mais comumente realizado (BRASIL, 2002; LITWIN; TAN, 2017).

Nos casos em que o câncer de próstata evolui para metástase, a cura se torna improvável. E o tratamento fica baseado na supressão androgênica, sendo castração ou boqueio hormonal os mais indicados. (BRASIL, 2002; MOTTET *et al.*, 2015).

2.2.5 Estudos *in vitro* em cultura de células

Estudos com cultivos de células iniciaram no século XX com o objetivo de analisar o comportamento destas células ou tecidos animais em situações específicas e controladas, fora do organismo. Esse processo foi aprimorando ao longo dos anos e o interesse por células tumorais crescendo por diversos motivos, dentre eles a possibilidade de em originar linhagens imortalizadas. Na atualidade, os ensaios *in vitro* com células permitem estudar os mecanismos de desenvolvimento de doenças incluindo seus tratamentos. Possuem menor custo comparado aos estudos em modelos animais, podendo ser uma boa alternativa para pesquisa (NANCY, 2003; DAVIS, 2004; ALVES; GUIMARÃES, 2010).

Uma linhagem celular é oriunda a partir da imortalização de uma cultura primária advinda de um fragmento de tecido. A manutenção da imortalidade está associada com a atividade da telomerase que é uma DNA polimerase que acrescenta segmentos de DNA não-codificantes aos telômeros após cada ciclo de divisão celular. Esta DNA polimerase tem sua expressão aumentada na maioria das células tumorais. As células de uma linhagem celular preservam as características do tecido de origem e com alta capacidade de expansão podendo ser cultivada por maior período de tempo, o que é benéfico para a pesquisa (BLASCO, 2005; ALVES; GUIMARÃES, 2010).

A formação de células cancerosas pode ocorrer por causas externas (como exposição a agentes cancerígenos) ou internas (como fatores genéticos). Dentre as principais características biológicas responsáveis pela transformação das células normais em células tumorais estão a manutenção da sinalização proliferativa, evasão dos supressores de crescimento, resistência à morte celular, replicação de modo indefinido, indução à angiogênese, ativação de invasão e metástase, capacidade de reprogramar o metabolismo energético celular e a evasão do sistema imune (HANAHAN; WEINBERG, 2000, 2011).

Os ensaios realizados com linhagens de células de câncer de próstata permitem investigar mecanismos da patogênese deste câncer e efeitos de tratamentos. Para isto é fundamental a pureza e estabilidade destas células para a pesquisa em biologia celular. A linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano DU 145 corresponde a células epiteliais metastáticas do sistema nervoso central imortalizadas de ampla utilização em estudos *in vitro*. No geral possuem características de um adenocarcinoma pouco

diferenciado, não respondem ao hormônio androgênio e não expressam o antígeno prostático específico (PSA). São células poligonais, não móveis e relativamente pequenas. Nelas existem quinases responsáveis pela proliferação do câncer de próstata que crescem como ilhas isoladas nas culturas. Além de apresentarem resistência intrínseca a certos medicamentos (STONE *et al.*, 1978; MITCHELL *et al.*, 2000; BURKE *et al.*, 2016).

2.3 Compostos bioativos na prevenção do câncer

Através da dieta podemos não somente estimular o sistema imunológico, mas também fornecer antioxidantes que ajudam a neutralizar os efeitos do estresse oxidativo que pode ser induzido por inflamação crônica. Por exemplo, em ensaio clínico a ingestão de selênio permitiu o acúmulo deste mineral ao redor da próstata, onde as selenoproteínas inibem a transformação da próstata normal em neoplasia (CHRISTENSEN, 2014). Sabe-se que dietas ricas em gorduras estão associadas ao aumento do risco para câncer de próstata por induzir estresse oxidativo e inflamação próstatica (UDENSI; TCHOUNWOU, 2016).

Tratando-se de antioxidantes naturais, não faltam exemplos na literatura a respeito de compostos bioativos na prevenção do câncer. Estudos em indivíduos com PSA aumentado indicaram que extrato e cápsula de romã foram capazes de diminuir o crescimento e prolongar o tempo de duplicação do adenocarcinoma de próstata (PALLER *et al.*, 2013; PANTUC *et al.*, 2015). Ainda considerando que indivíduos portadores de adenocarcinoma da próstata podem apresentar resistência ao quimioterápico taxol, Cameron *et al.* (2013) demonstraram *in vitro* que extratos de *Vernonia amygdalina* tem efeito semelhante ao de drogas suplementares para células de câncer de próstata. O consumo de 6 xícaras de chá verde, cujos principais compostos bioativos são as catequinas, foi capaz de reduzir o PSA em indivíduos com câncer de próstata antes da realização da prostatectomia. Além de ter sido detectado polifenóis do chá no tecido da próstata (HENNING *et al.*, 2014).

O licopeno vem sendo muito associado ao câncer de próstata pois foi relatado que este composto inibe diferentes mecanismos ligados à carcinogênese e progressão tumoral. Dentre os efeitos podemos citar a diminuição do risco para indivíduos com histórico familiar de adenocarcinoma de câncer e menor mortalidade entre indivíduos com doença

de alto risco, redução de angiogênese no tumor, e modulação de alguns genes relacionados ao crescimento e sobrevivência do tumor (GRAFF *et al.*, 2016). Uma revisão de dezoito artigos associando licopeno à prevenção de câncer de próstata com testes *in vivo* e *in vitro* constatou que na maioria dos estudos o licopeno apresentou efeitos de inibição relacionados ao androgênio. Sugerindo que o tratamento com licopeno diminui o metabolismo e a sinalização de andrógenos no câncer de próstata (APLLEGATE; ROWLES; ERDMAN, 2019). Não somente compostos isolados podem apresenta efeito sob o câncer de próstata. Extratos de romã, por exemplo, foram capazes de reduzir a proliferação celular e induzir a apoptose em células de câncer de próstata (DENG *et al.*, 2017, AMRI *et al.*, 2020).

Em relação ao tamarillo, poucos estudos referentes a ação antiproliferativa são citados. O grupo Mutalib *et al* (2016; 2017) apresentaram efeitos de extratos aquoso e alcoólicos de tamarillo em linhagens celulares de carcinoma hepatocelular e adenocarcinoma de mama não dependente de hormônios (MDA-MB-231). Estes autores observaram citotoxicidade seletiva em relação às células cancerígenas, uma vez que em células de fibroblastos normais de camundongo (3T3) não houve toxicidade. Isto sugere que o fruto é um potencial agente anticâncer sem causar danos para as células normais.

3. Justificativa

O tamarillo é um fruto com importante valor nutricional, além de ser rico em compostos bioativos, como polifenóis e carotenoides. Apesar do crescente cultivo no Brasil, o fruto tem pouca expressão no mercado nacional. O conhecimento acerca de seu efeito em linhagem de câncer de próstata pode contribuir para o aumento de consumo deste fruto e conseqüentemente em sua produção, agregando valor a agricultura e a economia brasileira.

Embora o tamarillo seja um alimento rico em compostos fenólicos, carotenoides e vitaminas, que sabidamente estão associados a efeitos quimiopreventivos, a literatura é escassa quando o assunto é tamarillo e sua possível atividade antiproliferativa. Estudos envolvendo linhagens celulares de adenocarcinoma são ainda mais raros. Deste modo, os resultados deste estudo podem contribuir para comunidade científica com novos dados e esclarecimento para futuras pesquisas, visando trazer benefícios a saúde humana.

4. Objetivos

4.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos de extratos de tamarillo (*Solanum betaceum*) em linhagem celular de adenocarcinoma de próstata (DU145).

4.2 Objetivos específicos

- a) Produzir extratos bioativos a partir da polpa de tamarillo;
- b) Determinar a atividade antioxidante dos extratos de tamarillo por diferentes métodos;
- c) Determinar o teor de compostos fenólicos totais dos extratos de tamarillo;
- d) Analisar o efeito dos extratos tamarillo sobre a viabilidade celular de linhagem de células de adenocarcinoma de próstata;
- e) Avaliar o efeito dos extratos bioativos sobre o ciclo celular e o processo de morte celular em linhagem de células de adenocarcinoma de próstata.

5. Material e Métodos

5.1 Aquisição de matéria-prima e obtenção dos extratos

Os tamarillos vermelhos foram adquiridos através da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). Os frutos foram armazenados no Laboratório de Higiene de Alimentos da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), RJ.

5.2 Preparação dos extratos

Os frutos foram devidamente selecionados, lavados e higienizados com solução própria para alimentos de 100ppm de hipoclorito de sódio por 15 minutos. Em seguida cortados longitudinalmente e colocados em processador de alimentos para obtenção da polpa.

Os extratos de tamarillo foram produzidos a partir de água (EA) e etanol 80% (EE), sendo pesados 250g de polpa em béquer e adicionado de solução extratora. O produto obtido foi colocado em banho de ultrassom (Brandon 2210) por um período de 10 minutos e centrifugado a 200RPM por 5 minutos. O sobrenadante foi recolhido e reservado. Enquanto que o resíduo foi coletado para três novas extrações consecutivas. O

sobrenadante total resultante das 4 extrações foi filtrado e avolumado em balão volumétrico de vidro de 500mL. Especificamente para o extrato de etanol 80% foi necessária a evaporação do solvente a 45°C sob baixa pressão em evaporador rotativo. Todos os extratos foram armazenados em tubo falcon no ultrafreezer a aproximadamente -80°C (Indrel® Ultrafreezer) até posterior liofilização (Labconco®, FreeZon 2.5, Kansas City, MO) por 90 horas. Uma vez que as amostras foram liofilizadas, houve a junção e homogeneização de cada um dos extratos que seguiram para armazenamento em freezer a -18°C até o momento das análises (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

5.3 Determinação da atividade antioxidante

5.3.1 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH

Para cada um dos extratos liofilizados, aquoso e de etanol 80%, a medida da atividade sequestrante do radical DPPH foi analisada 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 recebe um elétron ou um radical de hidrogênio a fim de tornar-se uma molécula diamagnética estável. Sendo assim, este radical é reduzido na presença de um antioxidante. Para avaliação da atividade antioxidante, às amostras a 0,5% foram adicionadas, para reação com o radical estável DPPH, em uma solução de metanol. O radical possui uma absorção característica a 515 nm em sua forma livre, 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 minutos de reação. A curva padrão foi produzida com soluções de trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico). As leituras foram realizadas a partir de 3 concentrações diferentes em triplicata. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente em μmol de trolox por grama de extrato seco.

5.3.2 Avaliação atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+

A atividade antioxidante dos extratos liofilizados também foi analisada pelo método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) conforme descrito por Rufino *et al.* (2007). Sendo o ABTS•+ um radical formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado, este radical ABTS•+ é diluído em etanol até obter uma medida de absorbância

de 0,70 ($\pm 0,02$) a um comprimento de onda de 734 nm. Aliquotas com três diferentes volumes das amostras foram utilizadas de modo a restar um volume final de 3mL em cada leitura. As leituras realizadas em triplicata. A curva padrão foi produzida a partir de solução de trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico). Os resultados expressos em atividade antioxidante equivalente ao trolox em μmol de trolox por grama de extrato.

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

O método de FRAP foi realizado de acordo com Rufino *et al.* (2006). Este método permite quantificar a capacidade de redução do complexo Fe^{+3} - TPTZ (cor azul clara) para o complexo Fe^{+2} - TPTZ (cor azul escura) em meio ácido. Esta reação é desencadeada pelo antioxidante presente na amostra. O método consiste em adicionar três volumes diferentes das amostras (90, 45 e 20 μL) e, quantificar em 2,7mL de reagente FRAP somado a 270 μL de água destilada. Após 30 minutos em banho-maria foi 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 extrato. A curva padrão foi produzida com uma solução de sulfato ferroso com quatro diluições diferentes e conhecidas.

5.3.4 Ensaio ORAC

Este método é outra forma de avaliar a atividade antioxidante dos extratos liofilizados e foi realizado conforme Ou, Hampsch-Woodill, & Prior (2001) adaptado por Huang *et al.* (2002). Baseia-se em medir 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 é 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.

Utilizando trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em concentrações conhecidas, uma curva padrão é gerada e a atividade ORAC da amostra calculada. O resultado foi expresso em unidade de ORAC ou equivalentes de trolox, o qual corresponde à quantidade de trolox em micro mols que tem a mesma atividade antioxidante de um litro da solução testada.

5.4 Determinação de compostos fenólicos totais

Para análise de teores de compostos fenólicos totais de cada um dos extratos foi aplicado o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, conforme previamente descrito por Singleton e Rossi (1965). Alíquotas de 0,25 ml a 1 ml dos extratos obtidos anteriormente, foram transferidas para tubos de ensaio, adicionando-se 2,5ml do reagente Folin Ciocalteu, diluído em água na proporção 1:10. Seguido por repouso de 3 a 8 minutos. E então foi unido a 2ml de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% e novamente os tubos deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760nm e a quantificação realizada por curva padrão de ácido gálico. A água destilada foi usada como branco. E os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) /100 mg de extrato.

5.5 Cultura de células e protocolo de tratamento

As células de adenocarcinoma de próstata (DU145) foram obtidas a partir do Banco de células do Rio de Janeiro. Sendo o cultivo desta linhagem em meio RPMI – 1640 alta glicose, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina, pH 7,4, sob atmosfera de 5% de CO_2 . Para cada experimento, as células foram plaqueadas (aproximadamente 10^4 células/ cm^2) em placas de 6 poço ($9,6 \text{ cm}^2$) e 96 poços ($0,33 \text{ cm}^2$), para análises de ciclo celular, apoptose e viabilidade celular, respectivamente.

5.5.1 Incubação dos compostos na linhagem celular de próstata

As células de adenocarcinoma de próstata sofreram tratamento com os extratos nas concentrações de 100, 1000, 2500, 5000 $\mu\text{g/ml}$ de extratos e tempo de incubação de 24 e 48 horas para ensaio de viabilidade celular; e nas concentrações de 1000 e 2500 $\mu\text{g/ml}$

de extratos com tempo de incubação de 48 horas para ensaios de apoptose e ciclo celular. Sendo assim, as células foram incubadas com o extrato aquoso e etanólico 80% de tamarillo, dissolvidos em meio de cultura. Após a incubação, o processo ocorreu de acordo com cada um dos ensaios realizados.

5.5.2 Ensaio de viabilidade e proliferação celular (MTT)

Este ensaio foi realizado conforme descrito por Mosman (1983) pelos ensaios de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). Após tratamento com o extrato de água e etanol 80% de tamarillo, em suas diferentes concentrações (100, 1000, 2500, 5000µg/ml), e tempos de 24 / 48 horas, foram adicionados à cada poço 200µL de solução de MTT (5 g/L). Passadas 2 horas de incubação com MTT, o meio foi removido e 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) adicionados para dissolver os cristais de formazan produzidos. A leitura realizada em leitor de ELISA no comprimento de onda de 595 nm. Sendo taxa de inibição da proliferação celular (CPIR) expressa em percentual e calculada através da seguinte fórmula:

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

5.5.3 Análise de ciclo celular

Após a incubação das células de próstata na presença e ausência dos extratos de tamarillo, em concentrações de 1000, 2500µg/ml por 48h, foram rapidamente lavados com solução tamponada (CMF). E destacadas com auxílio de tripsina em temperatura ambiente. A análise de ciclo celular foi realizada utilizando ensaio com iodeto de propídio (PI). As células foram ressuspensas em 500µL de solução fria de Vindelov (VINDELOV, 1977), contendo 0,1% de Triton X-100, 0,1% de RNase e 50µg/mL PI (Sigma). Após incubação por 15 minutos, a suspensão celular foi analisada para conteúdo de DNA em citômetro de fluxo (FACScalibur BD Biosciences). As células com conteúdo menor de DNA que G1 na distribuição do ciclo celular foram contadas como células hipodiplóides (subfase G0/G1). As proporções relativas de células com conteúdo de DNA indicativo de apoptose (subfase G0/G1, <2n), G0/G1 diplóide (2n), S (fase >2n, mas <4n), e fase G2/M (4n) foram adquiridos e analisados utilizando CellQuest e FlowJo, respectivamente (SUN, K.; WANG; HUANG, 2006). A percentagem de população de células em uma fase específica foi estimada com FlowJo software.

5.5.4 Avaliação da indução de apoptose

O número correspondente de células em morte celular (apoptose ou necrose) foi obtido por meio do ensaio de exteriorização da fosfatidilserina através de citometria de fluxo, como relatado por Bucchieri *et al.* (2002). As células de adenocarcinoma de próstata foram incubadas na presença e ausência dos extratos em concentrações de 1000 e 2500µg/ml por 48h. Após este tempo, o meio é descartado e as células lavadas rapidamente com solução tamponada (CMF), utilizando tripsina em temperatura ambiente para auxiliar a soltar as células dos poços. A detecção do percentual de células em apoptose/necrose foi analisada por citômetro de fluxo utilizando o software Cell Quest iPro. A fluorescência verde do FITC é mensurada a 530±30nm (detector FL1) e a fluorescência vermelha do PI é mensurada a 585±42nm (FL2). A partir das marcações é possível estabelecer os seguintes parâmetros: células viáveis para anexinaV negativa e PI negativo; apoptose inicial para anexina V positiva e PI negativo; apoptose tardia para anexina V positiva e PI positivo; e morte não apoptótica para anexina V negativa e PI positivo (LI *et al.*, 2017).

5.6 Análises Estatísticas

Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão e as análises realizadas em triplicata (n=3). Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através de pós teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.

6. Resultados e Discussões

6.1 Fenólicos totais e atividade antioxidante

Mediante análise de compostos fenólicos totais do extrato aquoso (EA) e do extrato etanólico (EE) de tamarillo foi possível identificar que o etanol a 80% foi o solvente capaz de extrair melhor tais compostos (1191,78±28,16 mg AGE/100g; p< 0.05) comparado ao extrato aquoso (1034,64±46,99 mg AGE/100g extrato) (Figura 7).

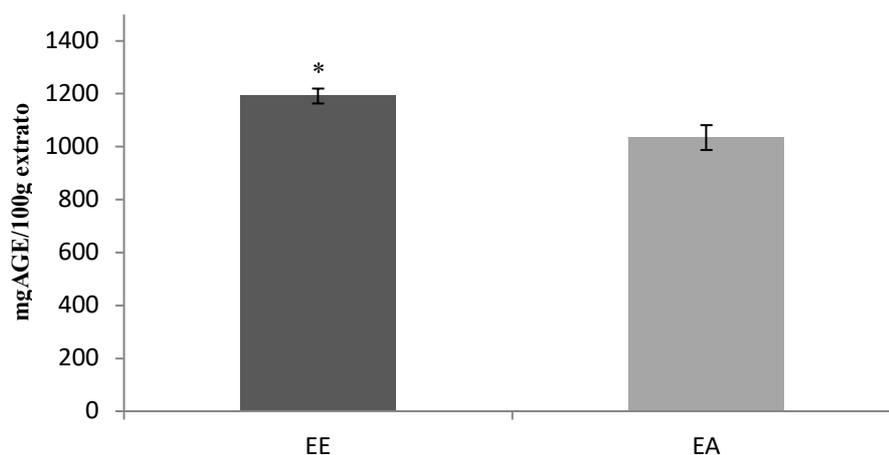


Figura 7. Teor de compostos fenólicos totais em extrato de tamarillo utilizando como solvente etanol 80% (EE) e água (EA). (*) representa diferença significativa com $p < 0,05$.

Observa-se que os teores de compostos fenólicos totais encontrados no presente estudo são superiores aos comparados a três diferentes cultivares de tamarillo: Mulligan (874,09 mg AGE/100g), Laird's Large (707,04 mg AGE/100g) e Amber (678,98 mg AGE/100g) (DIEP, POOK, YOO, 2020). A variedade Amber, a única amarela dentre as citadas, apresentou o menor teor de fenólicos totais, semelhante ao já observado em outros estudos onde tamarillos de coloração vermelha e roxa possuem maior quantidade destes compostos (MERTZ *et al.*, 2009; VASCO *et al.*, 2009; ESPIN *et al.*, 2016; DIEP, POOK, YOO, 2020).

As variações de teores fenólicos ocorrem não somente pela diferença entre cultivares como também demonstram a influencia dos solventes e da metodologia utilizada para extração. Deste modo, a associação dos solventes etanol 80% ou água em banho de ultrassom utilizados neste estudo permitiu uma melhor extração de compostos fenólicos deste fruto do que em estudos previamente citados, como: extração de metanol 50% seguida por acetona 70% (VASCO, RUALES, KAMAL-ELDIN, 2008; DIEP, POOK, YOO, 2020). Metodologia semelhante a aplicada neste estudo foi realizada nas frutas amazônicas: uxi, abricó e camapu (LIMA *et al.*, 2020). Os teores de fenólicos totais (mg AGE/100g) para as três frutas citadas foram de 701,839, 556,105, e 237,39, respectivamente. Ressalta-se que ambos os extratos bioativos de tamarillo analisados no presente estudo apresentaram maiores teores de fenólicos totais quando comparados aos das frutas amazônicas.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, o tamarillo poderia ser considerado um fruto de alto teor de compostos fenólicos totais, estando na faixa acima de 500 mg AGE/100g conforme sugerido por Vasco, Ruales, Kamal-Eldin (2008). Vale ressaltar que o estudo citado também avaliou o teor de fenólicos para tamarillo classificando-o como de baixa quantidade; corroborando as possíveis variáveis para esta extração e análise. Em comparação a algumas frutas brasileiras, a quantidade de fenólicos totais presentes em EE foi superior a goiaba (1152 mg AGE/100g), graviola (817 mg AGE/100g), manga (721 mg AGE/100g) e abacaxi (321 mg AGE/100g). No entanto, possui menor teor de fenólicos totais do que acerola (12466 mg AGE/100g) e açai (1808 mg AGE/100g) (PAZ *et al.*, 2015).

Recentemente observou-se diferença entre os valores de fenólicos totais em três variedades de tamarillo (Amber, Laird's Large e Mulligan) em função da metodologia utilizada. Os fenólicos foram quantificados através de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS) e pelo método Folin-Ciocalteu. Tal diferença deve-se ao fato do método Folin-Ciocalteu detectar compostos fenólicos livres, enquanto que a cromatografia é capaz de medir compostos fenólicos glicosilados e ligados a ésteres, porém apenas compostos identificados são quantificados. Dentre as polpas, o melhor resultado obtido foi para variedade Mulligan 126,6 mg/100g e 874,9 mg AGE/100g para os métodos LC-MS e Folin-Ciocalteu, respectivamente. Relação positiva entre compostos fenólicos e atividade antioxidante também foi relatada (DIEP, POOK, YOO, 2020). Os resultados supra citados foram inferiores aos obtidos para ambos os extratos de tamarillo deste trabalho, comparado ao mesmo ensaio de Folin-Ciocalteu.

A atividade antioxidante dos extratos de tamarillo foi avaliada por diferentes métodos e os resultados estão apresentados a seguir na tabela 3. Os métodos utilizados foram DPPH, ABTS, FRAP e ORAC; uma vez que não há um método único e universal para determinar a atividade antioxidante em alimentos, a associação entre eles busca uma avaliação mais próxima da realidade. Isto se deve graças a matriz complexa dos alimentos e limitações de cada ensaio.

Tabela 3. Atividade antioxidante dos extratos de tamarillo por diferentes métodos.

	DPPH μmol trolox g-1	ABTS μmol trolox g-1	FRAP μmol sulfato ferroso/g	ORAC μmol trolox g-1
Extrato Aquoso	340,07±29,88^a	548,40±81,49^a	71,95±0,65^a	1948 ± 493,1^a
Extrato etanol 80%	514,90±49,02^b	534,20±26,58^a	150,35±4,42^b	2715 ± 592,7^b

Resultados expressos como média + desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa com $p < 0,05$.

Utilizando os métodos DPPH e FRAP foi observada uma maior atividade antioxidante ($p < 0,05$) para EE (514,90±49,02 μmol trolox g-1 e 150,35±4,42 μmol trolox g-1, respectivamente) em comparação a EA (340,07±29,88 μmol trolox g-1 e 71,95±0,65 μmol trolox g-10). Similarmente, foi observada maior atividade antioxidante ($p < 0,05$) do EE (2715 ± 592,7 μmolTE/g) quando comparado a EA (1948 ± 493,1 μmolTE/g) pelo método de ORAC. Estes resultados indicam que provavelmente os principais compostos associados a atividade antioxidante do tamarillo possuem maior afinidade e são melhor extraídos por solventes orgânicos, como no caso do extrato etanólico. Já o método ABTS ambos os extratos apresentaram alta atividade antioxidante e sem diferença significativa entre eles (EA: 548,40±81,49 μmol trolox g-1; EE: 534,20±26,58 μmol trolox g-1), isso se dá ao fato do radical ser solúvel em meio orgânico e aquoso. Um viés deste método é o fato do radical ABTS não ser encontrado naturalmente, e sim a partir de uma reação química, assim não seria uma representação de um sistema *in vivo*. De modo geral, os maiores resultados de atividade antioxidante encontrados neste estudo estão associados aos métodos que são baseados em captura de radicais livres (DPPH, ABTS e ORAC). Ou seja, a atividade antioxidante dos extratos de tamarillo está mais relacionada a sua capacidade de doar elétrons do que potencial de reduzir metais (como FRAP).

Espin *et al.* (2016) avaliou a atividade antioxidante em 4 variedades de tamarillo, sendo 2 de coloração roxa e outras 2 amarela. Para os três métodos utilizados, FRAP, ABTS e DPPH, foram obtidos resultados inferiores aos apresentados neste trabalho, contabilizando as variações dentre os cultivares com destaque positivo para os de cor roxa

(10-50 $\mu\text{molTE/g}$, 22-89 $\mu\text{molTE/g}$, 202-325 $\mu\text{molTE/g}$, respectivamente). Outro estudo também observou por FRAP uma maior atividade antioxidante para tamarillo de coloração roxa (72,14 $\mu\text{molTE/g}$), assim como maior teor de antocianinas (DIEP, POOK, YOO, 2020).

Em relação a DPPH, os resultados neste trabalho apresentam valores superiores a outras frutas da região dos Andes como: babaco (166,55 $\mu\text{molTE/g}$), naranjilla (108,47 $\mu\text{molTE/g}$) e tuna (39,71 $\mu\text{molTE/g}$). E inferior a maracujá-banana (3361,77 $\mu\text{molTE/g}$), goiaba (739,24 $\mu\text{molTE/g}$), e maracujá-doce (517,30 $\mu\text{molTE/g}$) (PÉREZ-BALLADARES *et al.*, 2019).

O ensaio de ORAC demonstrou os maiores valores de atividade antioxidante para extratos bioativos de tamarillo dentre os demais ensaios, com destaque para EE frente a EA (2715 \pm 592,7 e 1948 \pm 493,1 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$, respectivamente). Considerando que esta análise mede a capacidade antioxidante em sequestrar radicais peroxil e que estes radicais estão associados a oxidação lipídica, podemos sugerir que EA e EE possuem efeito protetor à peroxidação lipídica. Tal benefício já foi anteriormente descrito associado ao ácido rosmarínico, um dos principais ácidos fenólicos presentes no tamarillo (MUSHTAQ *et al.*, 2014; FERNANDO *et al.*, 2016). No presente estudo foram obtidos valores superiores aos demonstrados por Espin *et al.* (2016) e Mertz *et al.* (2009) que utilizaram acetona 70% e metanol 75% em variedades de tamarillo. Vale ressaltar que o ensaio de ORAC contempla compostos hidrofílicos e lipofílicos, além de utilizar um radical naturalmente presente nas células.

A tabela 4 faz uma comparação da atividade antioxidante por ensaio de ORAC entre os extratos de tamarillo produzidos neste trabalho e algumas frutas e extratos encontrados na literatura. Demonstrando maior potencial antioxidante para os extratos de tamarillo perante os demais citados.

Tabela 4: Atividade antioxidante por ORAC de extratos de tamarillo e demais frutas.

Fruto	Extrato	ORAC $\mu\text{molTE/g}$
Tamarillo	aquoso	2715 \pm 592,7*
	etanol 80%	1948 \pm 493,1*
Juá	-	26,77 \pm 0,04¹
Manga	-	3,27 \pm 0,40²
Acerola	-	69,79 \pm 3,99²
Uxi	aquoso	14,33 \pm 1,36³
	etanólico	15,04 \pm 0,84³
Camapu	aquoso	12,30 \pm 1,15³
	etanólico	11,15 \pm 0,42³
Abricó	aquoso	5,17 \pm 0,56³
	etanólico	8,88 \pm 0,52³
Cereja	acetona 80% / metanol 70%	59,45 \pm 9,78⁴
Kiwi	acetona 80% / metanol 70%	12,62 \pm 1,32⁴
Blueberry	acetona 80% / metanol 70%	48,26 \pm 6,49⁴

Fonte: ¹OLIVEIRA *et al.*, 2020; ²BATISTA *et al.*, 2018; ³LIMA *et al.*, 2020; ⁴WOLFE *et al.* 2008. (*) Dados do presente estudo.

6.2 Atividade antiproliferativa em linhagem de célula

Estudos a respeito de tamarillo e sua atividade antiproliferativa em linhagens de células ainda são escassos. Da mesma forma, os mecanismos associados a tais efeitos limitam-se a correlações a partir do conteúdo de compostos bioativos presentes neste fruto.

6.2.1 Ensaio de viabilidade celular

Para avaliar se o tratamento com extratos de tamarillo eram capazes de afetar a viabilidade de células DU145 foi realizado o ensaio de MTT, a partir da leitura de células sobreviventes ao tratamento em comparação às células não tratadas. A seguir, na Figura 8, podemos observar os resultados deste ensaio.

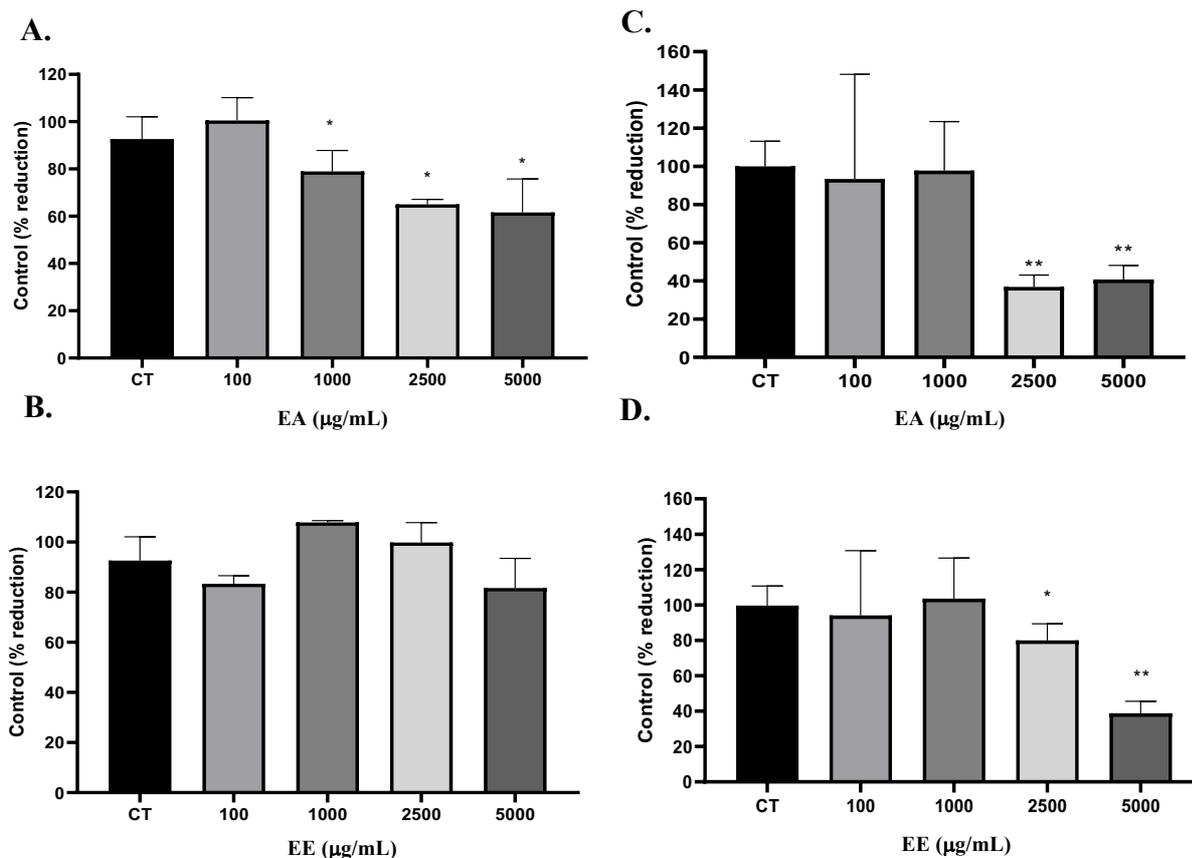


Figura 8. Efeito do tratamento de extrato etanol 80% (EE) e aquoso (EA) de tamarillo sobre a viabilidade de células de linhagem de câncer de próstata DU145 após 24h (A. e B.) e 48h (C. e D.) de incubação. CT: controle. (*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) comparado ao controle. (**) indica diferença significativa ($p < 0,05$) comparado ao controle e as demais concentrações que haviam apresentado redução de viabilidade.

O EA após 24h de tratamento apresentou redução significativa da viabilidade celular a partir das concentrações de 1000µg/ml (Figura 8, A). Em contrapartida, EE não apresentou efeito na viabilidade celular após 24h de tratamento (Figura 8, B). Após 48h de tratamento, ambos os extratos de tamarillo apresentaram efeito na redução de células DU145 viáveis. Assim, podemos observar maior diminuição de viabilidade celular nas concentrações a partir de 2500µg/ml de EE e EA (Figura 8, C e D).

A capacidade de redução da viabilidade celular máxima obtida para o EE na concentração de 5000µg/ml ($45,73\% \pm 7,68$) após 48h (Figura 8, D) foi semelhante a observada para EA nas concentrações de 2500µg/ml e 5000µg/ml, $32,27\% \pm 17,26$ e $34,66\% \pm 17,02$, respectivamente (figura 8, C). Logo, EA é capaz de apresentar redução

da viabilidade celular em DU145 a partir de 24h de tratamento a partir da concentração 1000 μ g/ml e após 48h apresenta melhor resultado em menor concentração do que EE.

A seguir (figura 9) estão apresentadas microscopias das células após a exposição ao EA e EE nas concentrações que se destacaram nos gráficos anteriores (figura 8), em 24 e 48H, comparados aos respectivos controles. Após 24h de tratamento com EA foi possível observar diminuição aparente e significativa da viabilidade celular na concentração de 1000 μ g/ml (figura 9, B.) em comparação ao controle (figura 9, A.), conforme relatado anteriormente. As demais concentrações de EA não estão representadas nesta figura pois não apresentaram diferença significativa. Em contrapartida, para exemplificar a diferença entre EA e EE nas 24h temos em figura 9, C. a representação da ausência de efeito de EE na mesma concentração de 1000 μ g/ml. Já após 48H de tratamento com EA (Figura 9, E. e F.,) e EE (Figura 9, G. e H.), podemos observar importante redução de células viáveis em comparação ao controle (figura 9, D.).

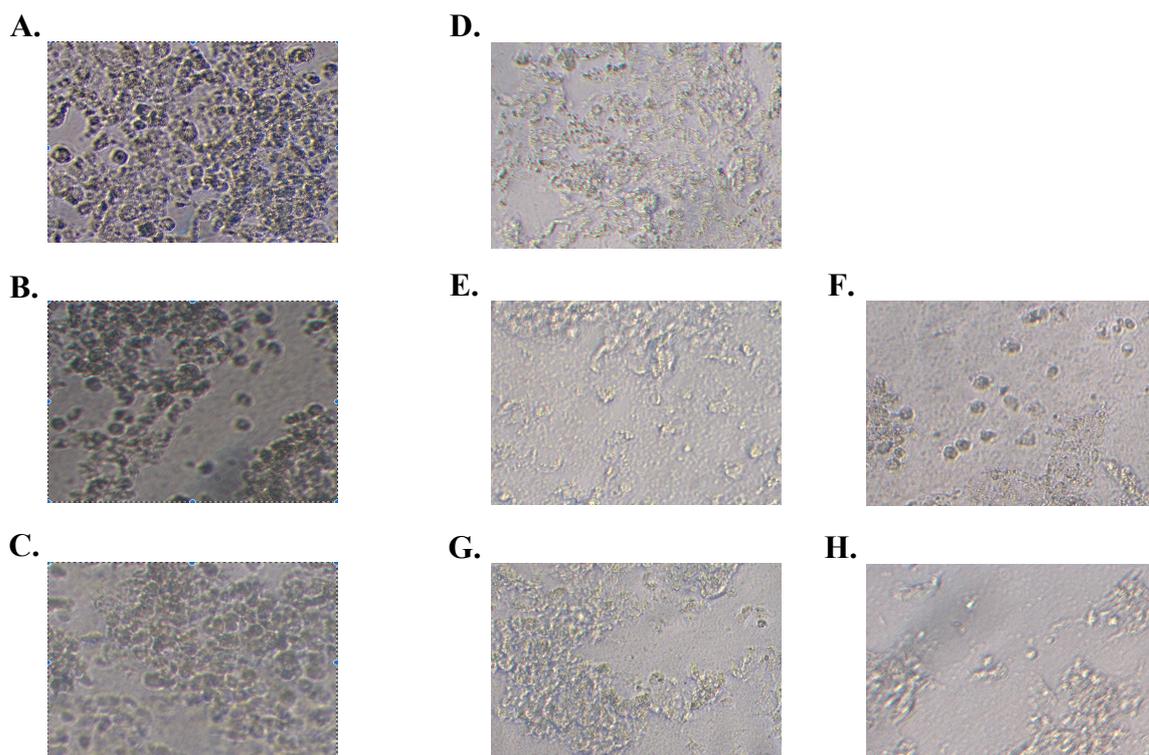


Figura 9. Imagens de microscopia (20x) de ensaio de viabilidade celular MTT de células DU 145. A. Controle após 24h. B. Extrato aquoso (EA) 1000 μ g/ml após 24h. C. Extrato etanol 80%(EE) 1000 μ g/ml após 24h. D. Controle após 48h. E. EA 2500 μ g/ml após 48h. F. EA 5000 μ g/ml após 48h. G. EE 2500 μ g/ml após 48h. H. EE 5000 μ g/ml após 48h.

A utilização de extrato de tamarillo no tratamento de outras linhagens de células cancerosas foi previamente descrito. A viabilidade de adenocarcinoma de mama (MDA-MB231) e hepático (HepG2) foi reduzida por extratos de tamarillo, obtidos com diferentes solventes, de modo dose dependente. No estudo citado, o melhor resultado observado foi em extrato de etanol bruto após 72h de tratamento e de modo dose dependente com valores de IC50 de 30 e 80 µg /ml para HepG2 e MDA-MB231, respectivamente. Tal efeito não foi observado em células normais de fibroblastos de ratos (3T3). Podemos dizer neste caso que o extrato de tamarillo apresenta citotoxicidade seletiva não causando danos a células normais (MUTALIB *et al.*, 2016; 2017). Polissacarídeos extraídos da parte comestível de tamarillo por micro-ondas (MAE) apresentaram redução da viabilidade após o tratamento por 48h com doses entre 0,05-1 mg/ml de maneira dose dependente nas células de câncer de mama, pulmão e fígado (SENTHIL KUMAR, SIVAKUMAR, RUCKMANI, 2016). Vale ressaltar como variáveis as linhagens celulares, solventes e o tempo de tratamento dos estudos para justificar as diferenças observadas.

De modo geral, os extratos de tamarillo foram capazes de reduzir significativamente a viabilidade de células de câncer de próstata DU145 em suas maiores concentrações e com melhor resposta após maior tempo de exposição ao tratamento. Resultado semelhante foi observado em mesma linhagem DU145 para café em torra média ($43.19\% \pm 5.52$) e escura ($38.45\% \pm 5.00$) (MONTENEGRO *et al.* 2021). No entanto, apesar de notória redução de viabilidade das células DU145, estes resultados são inferiores aos achados previamente na literatura. Como os descritos por Amir *et al.* (2019) que para mesma linhagem de células DU145, os extratos de óleo de semente, suco e casca de romã apresentaram redução de viabilidade a partir do IC50 de 0,12, 0,36 e 0,42 mg/mL, respectivamente.

6.2.2 Ciclo celular

A avaliação do ciclo celular permite conhecer se há estadiamento do processo de duplicação celular e em qual fase ele ocorre. O aumento do número de células em determinada fase após um tratamento, seja com medicação ou como neste caso um extrato, significa que este permitiu a parada do ciclo celular naquela fase. As concentrações selecionadas para este ensaio e posteriormente para ensaio de apoptose

foram 1000µg/ml e 2500µg/ml pois em ensaio de “*screening*” não foi possível avaliar as células na concentração de 5000µg/ml.

A tabela 5 demonstra que EA, nas concentrações de 1000µg/ml e 2500µg/ml, permitiu aumento do percentual de células na fase subG0/G1. Esta fase é caracterizada pela presença de fragmentos de DNA e as células com baixo conteúdo de DNA tem sido considerada em processo de morte celular (POMPILHO *et al.*, 2013; HIRSCHI *et al.*, 2010; CAPPELL *et al.*, 2016; DERITEI *et al.*, 2019). Enquanto que a exposição ao EE não provocou alteração na fase SubG0/G1.

Houve redução significativa do percentual de células em fase G0/G1 em resposta ao tratamento com ambos os extratos. Partindo de 71,33±2,55% de células para 41,99±3,19% e 55,85±3,93% na concentração de 2500µg/ml para EA e EE, respectivamente. Resumidamente, na fase G0/G1 as células podem seguir pelos seguintes caminhos: responder a estímulo extracelular e iniciar o processo do ciclo celular; ou manter-se em período quiescente; ou seguir para apoptose em caso de dano de DNA. Quanto a fase S, onde ocorre a replicação do DNA, ambos os extratos de tamarillo não provocaram alteração em comparação ao controle.

Em relação a fase G2/M, os extratos de tamarillo aquoso e etanol 80%, na concentração de 2500µg/ml, permitiram que o percentual de células nesta fase pelo menos dobrasse de valor em comparação às não tratadas. Deste modo, podemos considerar que os extratos de tamarillo causaram parada do ciclo em G2/M. O fato dos extratos de tamarillo pararem o ciclo na fase G2/M permite prevenir que células com DNA danificado entrem em divisão. Este efeito pode estar associado a alguns compostos presentes em tamarillo, como ácido rosmarínico, por exemplo. Na literatura já foi descrito para este composto a redução de ciclina B, referente a formação de fusos mitóticos; e supressão da expressão de FOXM1, fator de regulação da expressão gênica nas fases G1/S e G2/M que promove a proliferação e migração celular (LUO *et al.*, 2020; LIM *et al.*, 2020). Similarmente, outro composto que já demonstrou provocar parada de ciclo em G2/M foi o ácido clorogênico. Entre seus mecanismos em linhagens celulares podemos citar a elevação da expressão do gene SUMO1 (Small Ubiquitin Like Modifier 1) promovendo regulação negativa da família miR-17 (microRNAs associados a oncogênese) e positiva de p21 (proteína que permite interrupção do ciclo celular) (HUANG *et al.*, 2019; ZHOU

et al., 2021). Adicionalmente a parada de ciclo, pode-se dizer que EA também aumenta fragmentação celular conforme citado anteriormente em relação a SubG0/G1.

Tabela 5. Efeito do tratamento de extrato etanol 80% (EE) e aquoso (EA) de tamarillo sob o ciclo celular de linhagem de câncer de próstata DU145 após 48h de incubação.

		SubG0/G1	G0/G1	S	G2/M
CT	-	1,68±0,53	71,33±2,55	13,45±2,52	11,12±2,57
EA	1000	2,01±0,47*	67,97±5,80	14,31±2,79	13,74±1,44
(µg/mL)	2500	7,15±3,47**	41,99±3,19*	12,02±4,40	38,84±4,84*
EE	1000	1,57±0,09	70,14±3,60	13,59±4,81	14,70±1,57
(µg/ml)	2500	1,95±0,23	55,85±3,93*	15,76±4,15	25,71±6,45*

CT – controle. Extrato etanol 80% (EE) e aquoso (EA). *p<0,05/ **p<0,01.

O tratamento em células de leucemia mielóide com betacaroteno sugeriu tentativa de reparação de dano no ponto de checagem; enquanto que em células de adenoma hipofisário reduziu ciclina A, importante regulador que ao se ligar em quinases dependentes de ciclinas (Cdk) as tornam enzimas funcionais e assim permitiriam seguimento da progressão do ciclo celular (PALOZZA *et al.*, 2002; AKÇAKAYA *et al.*, 2017). Além disso, a doxorrubicina, quimioterápico amplamente utilizado em diversos tipos de câncer, também apresentou diminuição de células na fase G0/G1, parada do ciclo celular na fase G2/M em linhagens variadas de câncer, e em células de câncer de mama (MCF-7) o estadiamento na fase G2/M foi associado a inativação concomitante dos genes supressores de tumores p53 e RB1 (KIM, LEE, KIM, 2009; YANG *et al.*, 2016; HUUN, J.; LONNING, P. E.; KNAPPSKOG, 2017; ZHU *et al.*, 2017).

Alguns estudos tem demonstrado associação positiva entre o aumento do número de células em G2/M e promoção de morte celular, principalmente com aumento em SubG0/G1 (WEIR *et al.*, 2007; ROZENBLAT *et al.*, 2008; LUO *et al.*, 2020). Para confirmar a morte celular induzida por extratos de tamarillo, foi realizado o ensaio de apoptose anexina/PI.

6.2.3 Ensaio de apoptose

Para avaliar se o tratamento com extratos de tamarillo eram capazes de promover a apoptose de células DU145 foi realizada a citometria de fluxo. Vale lembrar os seguintes parâmetros para as marcações: células viáveis para anexinaV negativa e PI

negativo; apoptose inicial para anexina V positiva e PI negativo; apoptose tardia para anexina V positiva e PI positivo; e morte não apoptótica para anexina V negativa e PI positivo (LI *et al.*, 2017). Os resultados estão dispostos na figura 10 e tabela 6.

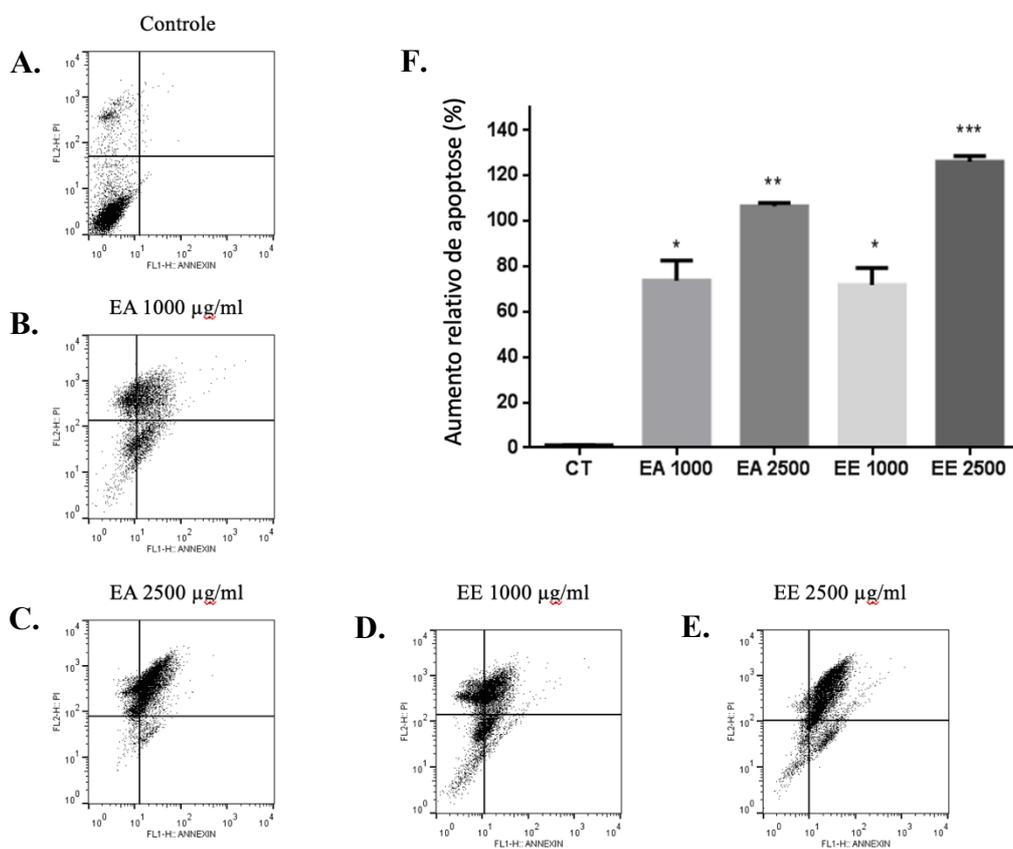


Figura 10. Efeito do tratamento de extrato etanol 80% (EE) e aquoso (EA) de tamarillo avaliado pelo ensaio anexina/PI em linhagem de câncer de próstata DU145 após 48h de incubação. A. Controle. B. EA 1000µg/ml. C. EA 2500µg/ml. D. EE 1000µg/ml. E. EE 2500µg/ml. F. Gráfico representando aumento relativo de apoptose após exposição de 48h à EE e EA. ($p < 0,05$).

Na figura 10 podemos observar que os tratamentos com EA e EE após 48H promoveram diminuição das células viáveis em comparação com as células não-tratadas (controle) indicando morte celular, além de um aumento relativo na indução de apoptose. Ambos os extratos estão associados a apoptose tardia, tendo sido observado pequena parcela em fase inicial de apoptose. EA foi capaz de promover aumento de apoptose inicial e tardia em células DU145 nas concentrações de 1000µg/ml (15,80±2,38% e 35,43±4,15%, respectivamente) e 2500µg/ml (3,77±1,05% e 70,23±1,92%, respectivamente). Também induziu morte não apoptótica em até 32,20±2,76% para

1000µg/ml em comparação aos 8,31±2,76% do controle. Ainda referente a morte não apoptótica a concentração de 2500µg/ml EA também apresentou considerável percentual de células neste estado (21,93±2,43%). Considerando o EE observamos também aumento de apoptose inicial e tardia em células DU145 nas concentrações de 1000µg/ml (12,26±2,24% e 7,85±2,51%, respectivamente) e 2500µg/ml (35,43±4,15% e 79,83±1,14%, respectivamente). Em relação a morte não apoptótica ocorre fato semelhante ao EA, onde maior percentual (32,13±2,7%) é observado para concentração de 1000µg/ml em comparação ao controle (8,31±2,76%) e a concentração de 2500µg/ml (7,30±2,88%). Destaque para EE que apresentou aumento relativo de apoptose superior a EA, na concentração de 2500µg/ml. Pode-se dizer que os extratos de tamarillo apresentaram caráter citotóxico para estas células de câncer de próstata o que seria benéfico ao ser humano tendo em vista os danos que tais células trazem ao organismo. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar citotoxicidade em células normais.

Tabela 6. Efeito do tratamento de extrato etanol 80% (EE) e aquoso (EA) de tamarillo em células de linhagem de câncer de próstata DU145 após 48h de incubação.

Grupo		Células	Apoptose	Apoptose	Células não
		viáveis (anexinaV - e PI-)	inicial (anexinaV + e PI-)	tardia (anexinaV + e PI+)	apoptóticas (anexinaV - e PI+)
CT	-	90,70±3,33	0,41±0,17	0,59±0,47	8,31±2,76
EA (µg/mL)	1000	16,60±1,52*	15,80±2,38**	35,43±4,15*	32,20±2,76**
	2500	4,07±3,18**	3,77±1,05*	70,23±1,92**	21,93±2,43*
EE (µg/ml)	1000	17,98±2,65*	12,26±2,24**	37,68±3,02*	32,13±2,75**
	2500	5,04±1,14**	7,85±2,51*	79,83±1,14**	7,30±2,88*

CT – controle. *p<0,05/ **p<0,01

Mutalib *et al.* (2016; 2017) já haviam encontrado efeito anticâncer em extrato cru de tamarillo e extratos utilizando como solventes etanol, n-butanol, acetato de etila e água; sob linhagens de câncer de mama e hepático. Efeito este seja por indução a apoptose como redução da viabilidade destas células. Em contrapartida, o tratamento não provocou alteração nas células normais analisadas (fibroblastos) a partir das concentrações estudadas. No entanto, as concentrações utilizadas por Mutalib *et al.* foram inferiores às do presente estudo e em linhagens celulares diferentes. Também em células de câncer de mama, hepático e adicionalmente, câncer de pulmão, o tratamento com polissacarídeos

extraídos de tamarillo foi observado aumento significativo de apoptose nessas linhagens celulares demonstrando efeito citotóxico (SENTHIL KUMAR, SIVAKUMAR, RUCKMANI, 2016).

Alguns dos mecanismos sugeridos à indução de apoptose podem estar relacionados ao ácido clorogênico, composto presente no tamarillo. Como a redução do potencial de membrana mitocondrial; aumento da expressão de BAX (pró-apoptótica) e redução de BCL-2 (anti-apoptótica); e aumento da ativação de vias da caspase-3 (principal proteína reguladora de apoptose) (YANG *et al.*, 2012; YAMAGATA *et al.*, 2017). Em relação as antocianinas, estas podem regular positivamente caspases 3 e 9, e a indução da autofagia em determinados tipos celulares (envolvendo vias de sinalização de mTOR e AMPK). Recentemente foi atribuído a delfinidina alteração do potencial de membrana mitocondrial, inibição da expressão de proteínas anti-apoptóticas e indução de BAX, caspases -3,8 e 9, citocromo C em células de câncer de cólon; levando ao caminho de apoptose celular (RIAZ *et al.* 2016; CHEN *et al.* 2018; ZHANG *et al.* 2018, ZHANG *et al.* 2021).

Estudos vem demonstrando que a interrupção no ciclo celular e indução a apoptose podem tornar celular cancerosas mais sensíveis a radioterapia e quimioterapia RYU *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2018). Sendo assim, os extratos de tamarillo poderiam trazer benefícios para o tratamento do câncer de próstata em conjunto com as terapias tradicionais. No entanto, mais estudos são necessários para tal afirmativa, além de mecanismos de ação e estudos clínicos para melhor elucidação e comprovação de eficácia.

7. Conclusão

Os extratos bioativos de tamarillo apresentaram importante atividade antioxidante *in vitro*. Destaque para o extrato de etanol 80% que apresentou maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante na maioria dos ensaios utilizados. Quanto a atividade antiproliferativa, ambos os extratos foram capazes de reduzir a viabilidade celular de modo dose e tempo dependente. Além de provocarem a parada do ciclo celular na fase G2/M na concentração de 2500µg/ml e induzir a apoptose em células de câncer de próstata (DU 145) a partir da concentração de 1000µg/ml. Com estes resultados esperamos que o presente estudo venha a contribuir no campo da Ciência dos Alimentos

apresentando dados sobre atividade antioxidante de extratos de tamarillo com dois tipos diferentes de solventes e seu efeito em células de câncer de próstata. Bem como contribuir na identificação do mecanismo de ação dos extratos de tamarillo frente as fases de desenvolvimento e morte celular. Além de incentivar o consumo de tamarillo visando benefícios a saúde. Estudos avaliando os efeitos e mecanismos do tamarillo em linhagens de células cancerosas ainda são escassos. Mais estudos neste rumo se fazem necessários.

8. Referências

ACOSTA-QUEZADA, Pablo G. et al. **Diversity for chemical composition in a collection of different varieties types of tree tomato (*Solanum betaceum Cav.*), an Andean exotic fruit.** Food chemistry, v. 169, p. 327-335, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.152

ALVES, E.A.; GUIMARÃES, A.C.R. **Cultivo celular.** In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (Org.). Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. v.2. Rio de Janeiro: EPSJV, p. 215-253, 2010. ISBN: 978-85-98768-41-0

AMRI, Z. et al. **Growth Inhibitory and Pro-Apoptotic Effects of Ornamental Pomegranate Extracts in Du145 Human Prostate Cancer Cells.** Nutrition and Cancer, v. 72, 2020. DOI: 10.1080/01635581.2019.1660385

ANWAR, S. et al. **Rosmarinic Acid Exhibits Anticancer Effects via MARK4 Inhibition.** Sci Rep., v. 10, 10300, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-65648-z

ANSARI, K.N. **The free radicals—The hidden culprits: An update.** Indian J. Med. Sci. v. 51, p. 319–336, 1997. PMID: 9567509

APLLEGATE, C. C.; ROWLES, J. L.; ERDMAN, J. W. J. **Can Lycopene Impact the Androgen Axis in Prostate Cancer?: A Systematic Review of Cell Culture and Animal Studies.** Nutrients, v. 11, n. 3, p. 633, 2019. DOI: 10.3390/nu11030633

AKÇAKAYA, H. et al. **β -carotene treatment alters the cellular death process in oxidative stress-induced K562 cells.** Cell Biology International, 41(3), 309–319., 2017. DOI: 10.1002/cbin.10727

BABA, S. et al. **Orally administered rosmarinic acid is present as the conjugated and/or methylated forms in plasma, and is degraded and metabolized to conjugated forms of caffeic acid, ferulic acid and m-coumaric acid.** Life Science, v. 75, p. 165–178, 2004. DOI: 10.1016/j.lfs.2003.11.028

BABA, S. et al. **Absorption, metabolism, degradation and urinary excretion of rosmarinic acid after intake of *Perilla frutescens* extract in humans.** European Journal of Nutrition, v. 44, p. 1–9, 2005. DOI: 10.1007/s00394-004-0482-2

BASHIR, M. N. **Epidemiology of Prostate Cancer.** Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v.16, n. 13, p. 5137-5141, 2015. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.13.5137

BATISTA, P. F. et al. **Bioactive compounds and antioxidant activity in tropical fruits grown in the lower-middle São Francisco Valley.** Revista Ciência Agronômica, v. 49, n. 4, p. 616-623, 2018. DOI: 10.5935/1806-6690.20180070

BLASCO, M.A. **Telomeres and human disease: Ageing, cancer and beyond.** Nat Rev Genet., v. 6(8), p. 611-22, 2005. DOI:10.1038/nrg1656

BOHS, L. **Ethnobotany of the genus *Cyphomandra* (Solanaceae).** Economic Botany, v. 43, p. 143–163, 1989. DOI: 10.1007/BF02859855

BRAGA, A.R.C. et al. **Bioavailability of anthocyanins: Gaps in knowledge, challenges and future research.** Journal Food Composition and Analysis, v. 68, p. 31–40, 2018. DOI: 10.1016/j.fca.2017.07.031

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** LWT - Food Science and Technology, [s.l.], v. 28, no 1, p. 25–30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa de câncer no Brasil, 2020.** Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 23 de julho de 2021.

BRASIL. **Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.** Disponível em: <http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf>. Acesso em: 15 julho 2021.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Câncer de próstata.** Modificado em 04/03/21. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata>>. Acesso em: 23 de julho de 2021.

BUCCHIERI, F. et al. **Asthmatic bronchial epithelium is more susceptible to oxidant-induced apoptosis.** American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 27(2):179-185, 2002. DOI: 10.1165/ajrcmb.27.2.4699

BURKE, A. J. et al. **Sensitivity Profiles of Human Prostate Cancer Cell Lines to an 80 Kinase Inhibitor Panel.** Anticancer Research, v. 36, p. 633-642, 2016. PMID: 26851018

CAMERON, K. S. et al. **Sensitivity and mechanisms of taxol-resistant prostate adenocarcinoma cells to *Vernonia amygdalina* extract.** Experimental Toxicologic Pathology, v. 65, n. 6, p. 759–65, 2013. DOI: 10.1016/j.etp.2012.11.002

CAO, H. et al. **DFT study on the antioxidant activity of rosmarinic acid.** Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, v. 719, p. 177-183, 2005. DOI: 10.1016/j.theochem.2005.01.029

CAPPELL, S. D. et al. **Irreversible APCCdh1 Inactivation Underlies the Point of No Return for Cell-Cycle Entry.** Cell, v. 166, n. 1, p. 167–180, 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.077

CARRILLO-PERDOMO, E. et al. **Andean berries from Ecuador: A review on botany, agronomy, chemistry and health potential.** Journal of Berry Research, v. 5, n. 2, p. 49-69, 2015. DOI: 10.3233/JBR-140093

CASTRO, I. P. L. **Sucos de tamarillo (*Solanum betaceum*) integral e mistos: caracterização química, composição em bioativos e aceitação do consumidor. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição.** Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. [s.l.]: [s.n.], 2019.

CHA, J. W. et al. **The polyphenol chlorogenic acid attenuates UVB-mediated oxidative stress in human HaCaT keratinocytes.** Biomol. Ther., v. 22, p. 136, 2014. DOI: 10.4062/biomolther.2014.006

CHEN, J. et al. **Delphinidin induced protective autophagy via mTOR pathway suppression and AMPK pathway activation in HER-2 positive breast cancer cells.** BMC Cancer, v. 18, n. 342, 2018. DOI: 10.1186/s12885-018-4231-y

CHEN, Y. et al. **Bioaccessibility and biotransformation of anthocyanin monomers following in vitro simulated gastric-intestinal digestion and in vivo metabolism in rats.** Food and Function, v. 10, p. 6052-6061, 2019. DOI: 10.1039/C9FO00871C

CHHABRA, G. et al. **Prostate cancer chemoprevention by natural agents: Clinical evidence and potential implications.** Cancer Letters, v. 422, p. 9-18, 2018. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.02.025

CHRISTENSEN, M. J. **Selenium and prostate cancer prevention: what next—if anything?** Cancer Prev Res (Phila), v. n. 8, p. 781–5, 2014. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-14-0197

CLIFFORD, M.N. **Anthocyanins—Nature, occurrence and dietary sources.** J. Science Food Agriculture, v. 80, p. 1063–1072, 2000. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1063::AID-JSFA605>3.0.CO;2-Q

CORONA, G. et al. **Assessment of the anthocyanidin content of common fruits and development of a test diet rich in a range of anthocyanins.** Journal of Berry Research, vol. 1, no. 4, p. 209-216. 2011. DOI: 10.3233/JBR-2011-022

DAVIS, J.M. **Basic cell culture**. A practical approach., 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2004.

DERITEI, D. et al. **A feedback loop of conditionally stable circuits drives the cell cycle from checkpoint to checkpoint**. Scientific Reports, v. 9, p. 16430, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-52725-1

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. **Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains—Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability**. Crit. Rev. Food Sci., v. 40, p. 73–289, 2000. DOI: 10.1080/10408690091189257

DENG, Y. et al. **The extract from *Punica granatum* (pomegranate) peel induces apoptosis and impairs metastasis in prostate cancer cells**. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 93, p. 976–984, 2017. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.008

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. **HPLC–PDA–MS/MS of Anthocyanins and Carotenoids from Dovyalis and Tamarillo Fruits**. J. Agric. Food Chem., v. 55(22), p. 9135–914, 2007. DOI: 10.1021/jf071316u.

DE SOUZA, V. R. et al. **Amazon Fruits Inhibit Growth and Promote Pro-apoptotic Effects on Human Ovarian Carcinoma Cell Lines**. Biomolecules, v. 9, n. 11, 2019. DOI: 10.3390/biom9110707

DIEP, T.; POOK, C.; YOO, M. 1,2. **Phenolic and Anthocyanin Compounds and Antioxidant Activity of Tamarillo (*Solanum betaceum Cav.*)**. Antioxidants, v.9, 169, 2020. DOI:10.3390/antiox9020169

DUTT, S.; GAO, A. C. **The molecular basis of prostate carcinogenesis**. In The Molecular Basis of Human Cancer, p. 423–445, 2017. DOI: 10.1007/978-1-59745-458-2_27

ESPIN, S. et al. **Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum Cav.*)**. Food Chemistry, 194, p. 1073–1080, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.131

FENG, R.T. et al. **Inhibition of activator protein- 1, NF-kappa B, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid**. J Biol Chem 280:27888–27895, 2005. DOI: 10.1074/jbc.M503347200

FERNANDES, I. et al. **Multiple-approach studies to assess anthocyanin bioavailability**. Phytochemistry Reviews, v. 14(6), p. 899–919, 2015. DOI: 10.1007/s11101-015-9415-3

FERNANDO, P.M.D.J. et al. **Rosmarinic acid attenuates cell damage against UVB radiation- induced oxidative stress via enhancing antioxidant effects in human HaCaT cells**. Biomol. Ther., v. 24, p. 75–84, 2016. DOI: 10.4062/biomolther.2015.069

FREDES, C. et al. **Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles.** LWT, v. 91, p. 549-556, 2018. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.01.090

FUJIMOTO, A., MASUDA, T. **Antioxidation mechanism of rosmarinic acid, identification of an unstable quinone derivative by the addition of odourless thiol.** Food Chem. v. 132, p. 901–90, 2012. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.062

GANSUKH, E. et al. **Chemopreventive Effect of beta-Cryptoxanthin on Human Cervical Carcinoma (HeLa) Cells Is Modulated through Oxidative Stress-Induced Apoptosis.** Antioxidants, v. 9, p. 28, 2019. DOI: 10.3390/antiox9010028

GONG M. & BASSI B. **Carotenoids from microalgae: A review of recent developments.** Biotechnology Advances, v. 34, p. 1396-1412. 2016. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2016.10.005

GRAFF, R. E. et al. **Dietary lycopene intake and risk of prostate cancer defined by ERG protein expression.** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 103, n. 3, p. 851–860, 2016. DOI: 10.3945/ajcn.115.118703

GROSSMAN, D. C, et al. **Screening for Prostate Cancer US Preventive Services Task Force Recommendation Statement.** US Preventive Services Task Force JAMA, v. 319, n. 18, p. 1901-1913, 2018. DOI: 10.1001/jama.2018.3710

GUILHERME, P.R. et al. **Development of tamarillo jam containing whole pulp.** Braz. J. Food Technol., vol. 15, n. 2, 2012. DOI: 10.1590/S1981-67232012005000007

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. DOI: 10.1155/2017/7865073

HAYWARD, S. W.; CUNHA G. R. **The prostate: development and physiology.** Radiologic Clinics of North America, v. 38, p.1-14, 2000. DOI:10.1016/S0033-8389(05)70146-9

HANAHAHAN D.; WEINBERG, R.A. **The Hallmarks of Cancer.** Cell, v. 100(1), v. 57–70, 2000. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R.A. **Hallmarks of cancer: the next generation.** Cell, v. 144(5), p. 646–74, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013

HENNING, S. M. et al. **Randomized clinical trial of brewed green and black tea in men with prostate cancer prior to prostatectomy.** The Prostate, 2014. DOI: 10.1002/pros.22943

HIRSCHI, A.; et al. **An overlapping kinase and phosphatase docking site regulates activity of the retinoblastoma protein.** *Nature Structural & Molecular Biology*, 17: 1051-1057, 2010. DOI: 10.1038/nsmb.1868

HUANG, D. *et al.* **High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format.** *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 50, n. 16, p. 4437-4444, 2002. DOI: 10.1021/jf0201529

HUANG, S. et al. **Chlorogenic acid effectively treats cancers through induction of cancer cell differentiation.** *Theranostics*, v. 9(23), p. 6745–6763, 2019. DOI: 10.7150/thno.34674

HUANG, L. et al. **Rosmarinic acid inhibits proliferation and migration, promotes apoptosis and enhances cisplatin sensitivity of melanoma cells through inhibiting ADAM17/EGFR/AKT/GSK3 β axis.** *Bioengineered*, 12:1, 3065-3076, 2021. DOI: 10.1080/21655979.2021.1941699

HUUN, J.; LONNING, P. E.; KNAPPSKOG, S. **Effects of concomitant inactivation of p53 and pRb on response to doxorubicin treatment in breast cancer cell lines.** *Cell Death Discov.* V. 3, n. 17026, 2017. DOI: 10.1038/cddiscovery.2017.26

INCA. **Câncer de próstata: Vamos falar sobre isso? Cartilha Cancer de próstata.** Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) / Ministério da Saúde, 2019. Biblioteca virtual em Saúde Prevenção e Controle de Câncer. Disponível em: <http://controlecancer.bvs.br/> Acesso em: 09 de agosto de 2021.

KELEN, M. E. B. et al. **Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas.** UFRGS, Porto Alegre, 2015.

KIM, H. S.; LEE, Y. S.; KIM, D.K. **Doxorubicin Exerts Cytotoxic Effects through Cell Cycle Arrest and Fas-Mediated Cell Death.** *Pharmacology*, v. 84, p. 300–309, 2009. DOI: 10.1159/000245937

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro da fruticultura 2018** – Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 88, 2018, il. ISSN 1808-4931 1

KROPAT, C. et al. **Modulation of Nrf2-dependent Gene Transcription by Bilberry Anthocyanins in vivo.** *Mol. Nutr. Food Res.*, v. 57, p. 545–550, 2013. DOI: 10.1002/mnfr.201200504

LAYNE, T. M. et al. **Prostate cancer risk factors in black and white men in the NIH-AARP Diet and Health Study.** *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, v. 22, p. 91–100, 2018. DOI: 10.1038/s41391-018-0070-9

LEE, Y. J. et al. **Upregulation of Caveolin-1 by Mulberry Leaf Extract and Its Major Components, Chlorogenic Acid Derivatives, Attenuates Alcoholic Steatohepatitis**

via Inhibition of Oxidative Stress. *Food Funct.*, v. 8(1), p. 397–405, 2017. DOI: 10.1039/c6fo01539e

LI, F. et al. **Antiproliferative activity of peels, pulps and seeds of 61 fruits.** *J. Funct. Foods*, v. 5(1), p. 298–309, 2013. DOI: 10.1016/j.jff.2013.04.016

LI, X. et al. **Hollow boron nitride nanospheres as boron reservoir for prostate cancer treatment.** *Nature Communications*, v. 8, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1038/ncomms13936.

LIANG N.; KITTS, D. D. **Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions.** *Nutrients*, 8:16, 2016. DOI: 10.3390/nu8010016

LIN, D. et al. **An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes.** *Molecules*, v. 21, n. 10, p. 1374, 2016. DOI: 10.3390/molecules21101374

LIM, T. ***Solanum Betaceum*.** In **Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants.** Ed.; Springer: Dordrecht, pp 326–332, 2013. DOI: 10.1007/978-94-007-5628-1_38

LIM, S. H. et al. **Rosmarinic Acid Methyl Ester Regulates Ovarian Cancer Cell Migration and Reverses Cisplatin Resistance by Inhibiting the Expression of Forkhead Box M1.** *Pharmaceuticals*, v. 13(10), p. 302, 2020. DOI: 10.3390/ph13100302

LIMA, L. G. B. et al. **Metabolite Profiling by UPLC-MSE, NMR, and Antioxidant Properties of Amazonian Fruits: Mamey Apple (*Mammea Americana*), Camapu (*Physalis Angulata*), and Uxi (*Endopleura Uchi*).** *Molecules*, v. 25(2), p. 342, 2020. DOI:10.3390/molecules25020342

LITWIN, M. S.; TAN H. **The Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer A Review.** *Clinical Review & Education JAMA*, v. 317, n. 24, 2017. DOI: 10.1001/jama.2017.7248

LIU, W. et al. **Fruit, vegetable, and legume intake and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: A prospective study.** *Clinical Nutrition*, v. 40 (6), p. 4316-4323, 2021. DOI: 10.1016/j.clnu.2021.01.016

LLERENA, W. et al. **Biocompounds Content Prediction in Ecuadorian Fruits Using a Mathematical Model.** *Foods*, v. 8, p. 284, 2019. DOI:10.3390/foods808028

LOIZZO, M. R. et al. **Native Colombian Fruits and Their by-Products: Phenolic Profile, Antioxidant Activity and Hypoglycaemic Potential.** *Foods*, v. 8, p. 89, 2019. DOI:10.3390/foods8030089

LUO, Y. **Anticancer effects of rosmarinic acid in human oral cancer cells is mediated via endoplasmic reticulum stress, apoptosis, G2/M cell cycle arrest and inhibition of cell migration.** *JBUON*; v. 25(2), p. 1250; 2020. PMID: 32521932

MADUREIRA, A. R. et al. **Safety profile of solid lipid nanoparticles loaded with rosmarinic acid for oral use: in vitro and animal approaches.** International Journal of Nanomedicine 4: 3621–3640, 2016. DOI: 10.2147/IJN.S104623

MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. **In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps.** Trends in Food Science & Technology, v. 48, p. 1-12, 2016. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.11.008

MARZE, S. **Bioaccessibility of lipophilic micro-constituents from a lipid emulsion.** Food Funct. .6, 3218–3227, 2015. DOI: 10.1039/C5FO00441A

MERTZ, C. et al. **Phenolic Compounds, Carotenoids and Antioxidant Activity of Three Tropical Fruits.** J. Food Compost. Anal. V.22(5), p. 381–387, 2009. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.06.008

MERTZ, C. et al. **Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarillo fruit (*Solanum betaceum Cav.*).** Food Chemistry, v.119, p. 653–659, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.07.009

MESSEHA, S.S. et al. **Rosmarinic acid-induced apoptosis and cell cycle arrest in triple-negative breast cancer cells.** European Journal of Pharmacology, v. 885, 2020. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173419

MEZZOMO N. & FERREIRA S. **Carotenoids Functionality, Sources, and Processing by Supercritical Technology: A Review.** Journal of Chemistry, v. 2016, p. 16, 2016. ID: 3164312

MILLS, C. E. et al. **In vitro colonic metabolism of coffee and chlorogenic acid results in selective changes in human faecal microbiota growth.** British Journal of Nutrition, v. 113(8), p. 1220– 1227, 2015. DOI: 10.1017/S0007114514003948

MITCHELL, S. et al. **Phenotypic and genotypic characterization of commonly used human prostatic cell lines.** BJU International, v.85, p. 932 – 944, 2000. DOI: 10.1046/j.1464-410x.2000.00606.x

MIYAMAE, Y. et al. **Structure-activity relationship of caffeoylquinic acids on the accelerating activity on ATP production.** Chem Pharm Bull, v. 59, p. 502–507, 2011. DOI: 10.1248/cpb.59.502

MOJICA, B. E. **The impact of the roast levels of coffee extracts on their potential anticancer activities.** Journal of food science, v. 83(4), p. 1125–1130, 2018. DOI: 10.1111/1750-3841.14102

MONTEIRO, M. et al. **Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans.** Journal of Nutrition, v. 137(10), p. 2196–2201, 2007. DOI: 10.1093/jn/137.10.2196

MONTENEGRO, J. et al. **Bioactive compounds, antioxidant activity and antiproliferative effects in prostate cancer cells of green and roasted coffee extracts obtained by microwave-assisted extraction (MAE)**. Food Res. Int., v. 140, 2021. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.110014

MORTON, J. F. Tree tomato. In J. F. Morton & C. F. Dowling (Eds). **Fruits of warm climates**. Winterville, N.C.: Distributed by Creative Resources Systems, Miami, FL, pp. 437–440, 1987. ISBN: 0-9610184-1-0

MOTTET, N. et al. **Prostate Cancer - EAU Guidelines**. Edn. presented at the EAU Annual Congress Copenhagen 2018. ISBN 978-94-92671-01-1.

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. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4

MUSHTAQ, N. et al. **Rosmarinic acid prevents lipid peroxidation and increase in acet- ylcholinesterase activity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats**. Cell Biochem. Funct., 287–293, 2014. DOI: 10.1002/cbf.3014

MUTALIB, A. M. et al. **Phenolics profile and anti-proliferative activity of *Cyphomandra Betacea* fruit in breast and liver cancer cells**. SpringerPlus, v. 5, p. 2105, 2016. DOI: 10.1186/s40064-016-3777-x

MUTALIB, A. M. et al. **Nutritional compositions and antiproliferative activities of different solvent fractions from ethanol extract of *Cyphomandra betacea* (tamarillo) fruit**. Malays J Med Sci. v. 24, n. 5, p. 19–32, 2017. DOI: 10.21315/mjms2017.24.5.3

NABAVI, S. F. et al. **Chlorogenic acid and mental diseases: From chemistry to medicine**. Current neuropharmacology, v. 15(4), p. 471–479, 2017. DOI: 10.2174/1570159X14666160325120625.

NANCY, G.S. **Are Research Schools Necessary? Contrasting Models of 20th Century Research at Tale Led by Ross Granville Harrison, Grace E. Pickford and G. Evelyn Hathinson**. Journal of History of Biology, v. 36, p. 501-529, 2003. DOI: 10.1023/b:hist.0000004573.47187.76

NEW ZEALAND FOOD COMPOSITION DATABASE. The Concise New Zealand Food Composition Tables, 13th Edition 2018; The New Zealand Institute for Plant and Food Research Limited and Ministry of Health: Palmerston North, 2019.

NEW ZEALAND HORTICULTURE EXPORT AUTHORITY. Disponível em: < <http://www.hea.co.nz/2012-05-11-03-05-28/tamarillo-trade> > Acesso em abril de 2021.

NIGGEWEG, R.; MICHAEL, A.J.; MARTIN, C. **Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid**. Nat. Biotechnol., p. 22, v. 746, 2004. DOI: 10.1038/nbt966

OLIVEIRA, P. M. L. et al. **Juá fruit (*Ziziphus joazeiro*) from Caatinga: A source of dietary fiber and bioaccessible flavanols.** Food Research International, v. 129, 2020. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108745.

ORQUEDA, M. E. et al. **Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilito (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. Phenolic fractions affect key enzymes involved in metabolic syndrome and oxidative stress.** Food Chemistry, v. 216, p. 70 – 79, 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.08.015

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. **Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe.** Journal of agricultural and food chemistry, v. 49 (10), p. 4619-4626, 2001. DOI: 10.1021/jf010586o

PALLER, C. J. et al. **A randomized phase II study of pomegranate extract for men with rising PSA following initial therapy for localized prostate cancer.** Prostate Cancer Prostatic Dis., v. 16, n. 1, p.: 50–55, 2013. DOI: 10.1038/pcan.2012.20

PANTOJA et al. **Caracterização física e físico-química de frutos de duas variedades de tamarillo oriundas do Norte de Minas Gerais.** Revista Brasileira de Fruticultura, v. 31, n. 3, p.916-919, 2009. DOI: 10.1590/S0100-29452009000300041

PANTUCK, A. J. et al **A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the effects of pomegranate extract on rising PSA levels in men following primary therapy for prostate cancer.** Prostate Cancer Prostatic Dis., v. 18, n. 3, p. 242-8, 2015. DOI: 10.1038/pcan.2015.32

PALOZZA, P. et al. **Induction of cell cycle arrest and apoptosis in human colon adenocarcinoma cell lines by beta-carotene through down-regulation of cyclin A and Bcl-2 family proteins.** Carcinogenesis, v. 23(1), p. 11-8, 2002. DOI: 10.1093/carcin/23.1.11

PAZ, M. et al. **Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds.** Food Chemistry, v. 172, p. 462-468, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.102

PUSPAWATI, G. A. K. D, et al. **Inhibitory Potency of Indonesian Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav) Crude Extract Against α -Glucosidase Enzyme Activity.** Current Research in Nutrition and Food Science, v.6, n.2, 2018. DOI: 10.12944/CRNFSJ.6.2.14

PÉREZ-BALLADARES, D. et al. **Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Main Fruits, Tubers and Legumes Traditionally Consumed in the Andean Regions of Ecuador as a Source of Health-Promoting Compounds.** Plant Foods for Human Nutrition, v.74(3), p. 350–357, 2019. DOI:10.1007/s11130-019-00744-8.

PERIAGO, M.J. et al. **Detection of key factors affecting lycopene in vitro accessibility.** J. Agric. Food Chem., v. 61, p. 3859–3867, 2013. DOI: 10.1021/jf3052994

PETERSEN, M. et al. **Evolution of rosmarinic acid biosynthesis**. *Phytochemistry*, v. 70, p. 1663–1679, 2009. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.05.010

PETERSEN, M. **Rosmarinic acid: New aspects**. *Phytochem. Rev.*, v. 12, p. 207–227, 2013. DOI: 10.1007/s11101-013-9282-8

PLAZAS, M. et al. **Reducing capacity, chlorogenic acid content and biological activity in a collection of scarlet (*Solanum aethiopicum*) and Gboma (*S. macrocarpon*) eggplants**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15(10), p. 17221–17241, 2014. DOI: 10.3390/ijms151017221

POMPILHO, W. M.; BORGES, F. B.; MIGUEL, E. C. **Biotechnology and biodiversity: the brazilian forests as source of new drugs with antitumor properties**. *Acta Scientiae e Technae*, v. 1, p. 22–35, 2013. DOI: 10.1590/0001-3765201820170653

RAMÍREZ, F.; KALLARACKAL, J. **Tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) reproductive physiology: A review**. *Scientia Horticulturae*, v. 248, p. 206–215, 2019. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.01.019

REALE, G. et al. **Association between dietary flavonoids intake and prostate cancer risk: A case-control study in Sicily**. *Complementary Therapies in Medicine*, v. 39, p. 14–18, 2018. DOI: 10.1016/j.ctim.2018.05.002

RIAZ, M.; ZIA-UL-HAQ, M.; SAAD, B. **Anthocyanins and Human Health: Biomolecular and Therapeutical Aspects**. Springer: New York, NY, USA, 2016. ISBN: 978-3-319-26456-1

RIBEIRO, D. et al. **Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products**. *Food Chem. Toxicol.* 120, 681–699, 2018. DOI: 10.1016/j.fct.2018.07.060

ROZENBLAT, S. et al. **Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines**. *Biochemical Pharmacology*, v. 75 (2), p. 369–382, 2008. DOI: 10.1016/j.bcp.2007.08.024

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, 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)

RYU, H. et al. **The small molecule AU14022 promotes colorectal cancer cell death via p53-mediated G2/M-phase arrest and mitochondria-mediated apoptosis**. *J. Cell. Physiol.*, v. 233, p. 4666–4676, 2018. DOI: 10.1002/jcp.26234

SAINI, R.K.; NILE, S.H.; PARK, S.W. **Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities.** Food Res. Int., v. 76, p. 735–750, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.047

SADEGHI EKBATAN, S. et al. **Chlorogenic acid and its microbial metabolites exert anti-proliferative effects, S-phase cell-cycle arrest and apoptosis in human colon cancer caco-2 cells.** International Journal of Molecular Sciences, v. 19(3), p. 723. 2018. DOI: 10.3390/ijms19030723.

SADEGHI, A. et al. **The effects of rosmarinic acid on oxidative stress parameters and inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-induced peripheral blood mononuclear cells.** Mol Biol Rep, v. 47, p. 3557–3566, 2020.

SANAI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. **Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities.** Food Research International, v. 76, p. 735-750, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.047

SANTOS, T. R. J.; AQUINO SANTANA, L. C. L. **Antimicrobial potential of exotic fruits residues.** South African Journal of Botany, v. 124, p. 338 - 344, 2019. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.05.031

SARRIS, A. B. et al. **Câncer De Próstata: Uma Breve Revisão Atualizada.** Visão Acadêmica, [s.l.], v. 19, no 1, p. 137–151, 2018. ISSN: 1518-5192, DOI: 10.5380/acd.v19i1.57304.

SENTHIL KUMAR, C.; SIVAKUMAR, M.; RUCKMANI K. **Microwave-assisted Extraction of polysaccharides from Cyphomandra betacea and its biological activities.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 92, p. 682 – 693, 2016. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.062

SCHECKEL, K.A; LEISSO, S., ROMAGNOLO, D. **Rosmarinic Acid Antagonizes Activator Protein-1–Dependent Activation of Cyclooxygenase-2 Expression in Human Cancer and Nonmalignant Cell Lines.** Journal of Nutrition, v. 138(11), p. 2098-105, 2008. DOI: 10.3945/jn.108.090431

SCHUMACHER, F. R. et al. **Association analyses of more than 140,000 men identify 63 new prostate cancer susceptibility loci.** Nature Genetics, v. 50, p. 928–936, 2018. DOI: 10.1038/s41588-018-0142-8

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.** American Journal of Enology and Viticulture, v.16, p.144–158, 1965.

SHANG, A.-J. et al. **Spinal cord injury effectively ameliorated by neuroprotective effects of rosmarinic acid.** Nutr. Neurosci, v. 20, p. 172–179, 2017. DOI: 10.1080/1028415X.2015.1103460

SHENKIN, A. The key role of micronutrientes. *Clinical Nutrition*, v. 25, p. 1-13, 2006. DOI: 10.1016/j.clnu.2005.11.006

SOARES, N.C.P. et al. Comparative Analysis of Lycopene Content from Different Tomato-Based Food Products on the Cellular Activity of Prostate Cancer Cell Lines. *Foods*, v. 8, p. 201, 2019. DOI: 10.3390/foods8060201.

SOUZA, V. S. et al. Amazon Fruits Inhibit Growth and Promote Pro-apoptotic Effects on Human Ovarian Carcinoma Cell Lines. *Biomolecules*, v. 9(11), p. 707, 2019. DOI: 10.3390/biom9110707

STONE, K.R. et al. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *Internacional Journal of Cancer*, v. 3, p. 274 – 281, 1978. DOI: 10.1002/ijc.2910210305

SUN, K.; WANG, Q.; HUANG, X.-H. PPAR gamma inhibits growth of rat hepatic stellate cells and TGF beta-induced connective tissue growth factor expression. *Acta pharmacologica Sinica*, [s.l.], v. 27, no 6, p. 715–723, 2006. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2006.00299.x.

TAO, L. et al. Phenolcarboxylic acids from medicinal herbs exert anticancer effects through disruption of COX-2 activity. *Phytomedicine*, v. 21, p. 1473–1482, 2014. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.05.001

TAJIK, N. et al. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: A comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, v. 56(7), p. 2215–2244, 2017. DOI: 10.1007/s00394-017-1379-1

TAKAHASHI, A. et al. Intestinal absorption of black chokeberry cyanidin 3-glycosides is promoted by capsaicin and capsiate in a rat ligated small intestinal loop model. *Food Chemistry*, v. 277, p. 323-326, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.10.094

TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.*, v. 54, p. 733–749, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x

TEIXEIRA, N. et al. Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. *Food Research International*, v. 119, p. 325-348, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.058

TUNDIS R, et al. Potential role of natural compounds against skin aging. *Curr Med Chem*, v. 22, p. 1515-1538, 2015. DOI: 10.2174/0929867322666150227151809

UDENSI, K.; TCHOUNWOU P. B. Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35:139, 2016. DOI 10.1186/s13046-016-0418-8.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. **Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador.** Food Chemistry, v. 111, p. 816-823, 2008. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.04.054

VASCO, C. et al. **Physical and Chemical Characteristics of Golden-yellow and Purple-red Varieties of Tamarillo Fruit (*Solanum Betaceum* Cav.).** Int. J. Food Sci. Nutr., v. 7, p. 278-88, 2009. DOI: 10.1080/09637480903099618

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. PMID: 410154

XU J.G.; HU Q.P.; LIU Y. **Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers.** J Agric Food Chem., v. 60, p. 11625–11630, 2012. DOI: 10.1021/jf303771s

XU, W. et al. **Protective effects of rosmarinic acid against radiation-induced damage to the hematopoietic system in mice.** Journal of Radiation Research, v. 57, p. 356–362, 2016. DOI: 10.1093/jrr/rrw021

YAMAGATA, K. et al. **Chlorogenic acid regulates apoptosis and stem cell marker-related gene expression in A549 human lung cancer cells.** Molecular and Cellular Biochemistry, v. 441(1-2), p. 9–19, 2017. DOI:10.1007/s11010-017-3171-1

YANG, J. S. et al. **Chlorogenic Acid Induces Apoptotic Cell Death in U937 Leukemia Cells through Caspase- and Mitochondria-dependent Pathways.** In Vivo, v. 26 (6), p. 971-978, 2012. PMID: 23160680

YANG, M.C. et al. **Bim directly antagonizes Bcl-xl in doxorubicin-induced prostate cancer cell apoptosis independently of p53.** Cell Cycle, v. 15, p. 394–402, 2016. DOI: 10.1080/15384101.2015.1127470

YANG, K. et al. **Rosmarinic acid inhibits migration, invasion, and p38/AP-1 signaling via miR-1225-5p in colorectal cancer cells.** Journal of Receptors and Signal Transduction, v. 41(3), p. 284-293, 2020. DOI: 10.1080/10799893.2020.1808674

YUCEL C, SEKER KARATOPRAK G, DEGIM IT. **Anti-aging formulation of rosmarinic acid-loaded ethosomes and liposomes.** J Microencapsul, v. 36, p. 180-191, 2019. DOI: 10.1080/02652048.2019.1617363

WANG, S.; ZHU, F. **Tamarillo (*Solanum betaceum*): Chemical composition, biological properties, and product innovation.** Trends in Food Science and Technology, v. 93, p. 45 – 58, 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.11.004

WEBB, M.R.; MIN, K.; EBELER, S.E. **Anthocyanins interactions with DNA: Intercalation, topoisomerase I inhibition and oxidative reactions.** J. Food Biochem., v. 32, p. 176–196, 2008. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2008.00181.x

WEIR, N. M. et al. **Curcumin induces G2/M arrest and apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells by modulating akt and p38 mAPK.** *Cancer Biology & Therapy*, v. 6 (2), 2007. DOI: 10.4161/cbt.6.2.3577

WOLFE, K. L. et al. **Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56(18), p. 8418–8426, 2008. DOI:10.1021/jf801381y

World Health Organization (WHO), 2019. **What is cancer?** Disponível em: <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?cancers=27&single_unit=50000&types=1&sexes=1>. Acesso em: 23 de julho 2021.

World Health Organization (WHO), 2020. **Cancer tomorrow.** Disponível em: <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?cancers=27&single_unit=50000&types=1&sexes=1>. Acesso em: 23 de julho 2021.

WU, C.F. et al. **Molecular mechanisms of rosmarinic acid from salvia miltiorrhiza in acute lymphoblastic leukemia cells.** *Journal of Ethnopharmacology*, v. 176, p. 55–68, 2015. DOI: 10.1016/j.jep.2015.10.020

ZHANG, Y.; BUTELLI, E.; MARTIN, C. **Engineering anthocyanin biosynthesis in plants.** *Current opinion in plant biology*, v. 19, p. 81-90, 2014. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.05.011

ZHANG, H.W. et al. **Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3Kgamma mediated PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/ULK signaling pathway in human breast cancer cells.** *Sci. Rep.*, v. 8, p. 11255, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-29308-7

ZHANG, Z. et al. **Delphinidin modulates JAK/STAT3 and MAPKinase signaling to induce apoptosis in HCT116 cells.** *Environmental Toxicology*, v. 36, p. 1557-1566, 2021. DOI: 10.1002/tox.23152

ZHOU, J. et al. **Chlorogenic Acid Inhibits Human Glioma U373 Cell Progression via Regulating the SRC/MAPKs Signal Pathway: Based on Network Pharmacology Analysis.** *Drug design, development and therapy*, v. 15, p. 1369-1383, 2021. DOI:10.2147/DDDT.S296862

ZHU, C. et al. **Doxycycline synergizes with doxorubicin to inhibit the proliferation of castration-resistant prostate cancer cells.** *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, v. 49 (11), p. 999–1007, 2017. DOI: 10.1093/abbs/gmx097

ZUNIGA, K. B. et al. **Diet and lifestyle considerations for patients with prostate cancer.** *Urologic Oncology*, v. 38 (3), p. 105-117, 2019. DOI: 10.1016/j.urolonc.2019.06.018