

POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO *IN VITRO* EM LINHAGENS CELULARES TUMORAIS HUMANAS DO EXTRATO DA PLANTA *Coccocypselum lanceolatum* (RUBIACEAE)

Data de submissão: 22/10/2024

Data de aceite: 02/12/2024

Angélica de Almeida Moura

Centro Universitário Ingá – Departamento de Biomedicina Maringá – PR
<http://lattes.cnpq.br/3914076782213841>

João Ernesto de Carvalho

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Campinas Campinas – SP
<http://lattes.cnpq.br/2708977872316814>

Silvana Maria de Oliveira

Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Química Maringá – PR
<https://orcid.org/0000-0002-4809-3205>

Vagner Marques de Moura

Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Química Maringá – PR
<https://orcid.org/0000-0002-8463-9594>

RESUMO: *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers., conhecida popularmente como cauabori e azulzinha-do-bosque é considerada uma erva medicinal utilizada no tratamento de dores e inflamações, além de ser empregada com propriedade antiofídica e na área alimentícia. Este estudo avaliou a atividade antiproliferativa do extrato de *C. lanceolatum* sobre nove linhagens

de células tumorais humanas e uma não tumoral (HaCaT), usando doxirrubicina como controle positivo. O extrato foi considerado ativo em oito linhagens tumorais testadas apresentando TGI entre 4,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a 92,46 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados mostraram potente efeito antiproliferativo citostático seletivo na concentração de 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a linhagem UACC-62 e na concentração de 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para as linhagens UACC-62 e OVCAR-3 com TGI 4,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 7,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$, bem como alto índice de seletividade IS 10,20 e 5,84, respectivamente. Ambas as linhagens UACC-62 e OVCAR-3 ainda demonstraram efeito citocida seletivo atingindo 100%. Adicionalmente, o extrato mostrou efeito citostático moderado frente as linhagens MCF-7 e PC-3. A planta *C. lanceolatum* apresentou atividade anticâncer promissora, porém, novos estudos devem ser conduzidos na tentativa do isolamento e identificação dos constituintes químicos bioativos. Estudos adicionais na área da farmacologia também são relevantes, principalmente na elucidação do mecanismo de ação e toxicidade em ensaios *in vivo*.

PALAVRAS-CHAVE: *Coccocypselum lanceolatum*, Rubiaceae, Células tumorais, Antiproliferativo.

IN VITRO ANTIPROLIFERATIVE POTENTIAL ON HUMAN TUMOUR CELL LINES OF EXTRACT FROM *Coccocypselum lanceolatum* (RUBIACEAE)

ABSTRACT: *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers., popular known as “cauabori” and “azulzinha-do-bosque” is considered a medicinal herb used in the treatment of pain and inflammation, in addition to being used with antivenom properties and in the food sector. This study evaluated the antiproliferative activity of extract from *C. lanceolatum* on nine human tumor cell lines and one non- tumoral human cell line (HaCaT), using doxorubicin as positive control. The extract exhibited antiproliferative effect for eight strains tested, with TGI 4.05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ to 92.46 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The results showed a potente selective cytostatic antiproliferative effect at a concentration of 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for the UACC-62 strain and at a concentration of 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for the UACC-62 and OVCAR-3 strains with TGI 4.05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 7.07 $\mu\text{g mL}^{-1}$, as well as high selectivity index SI 10.20 and 5.84, respectively. The UACC-62 and OVCAR-3 strains still demonstrated a selective cytotoxic effect reaching 100%. Additionally, the extract revealed a moderate cytostatic effect against the MCF-7 and PC-3 strains. *C. lanceolatum* showed promising anticancer activity, however, new studies must be conducted in an attempt to isolate and identify bioactive chemical constituents. Additional studies in the pharmacology are also relevant, mainly in elucidating the mechanism of action and toxicity *in vivo* experiments.

KEYWORDS: *Coccocypselum lanceolatum*, Rubiaceae, Tumor cell lines, Antiproliferative.

1 | INTRODUÇÃO

O avanço e descoberta sobre o potencial terapêutico das plantas medicinais têm sido de forma gradual e paralela à evolução da história humana (Aquino *et al.*, 1996). A literatura relata inúmeros exemplos de espécies utilizadas na prática popular que fornecem à farmacologia os princípios bioativos em uso, denominada de etnofarmacologia (Akerle, 1992).

As espécies vegetais são produtoras de uma grande variedade de substâncias químicas no seu metabolismo, que estão ganhando importância devido a suas aplicações terapêuticas e biotecnológicas. Sabe-se que a produção destes metabólitos na planta depende de vários fatores, tais como ambientais e genéticos. No entanto, a capacidade das plantas biossintetizarem compostos considerados tóxicos está relacionada com a defesa de patógenos como as bactérias ou fungos, herbívoros como animais ou insetos ou suprimir o crescimento de espécies vizinhas competitivas (Singh *et al.*, 2003).

As substâncias micromoleculares têm apresentado grandes potencialidades como princípios bioativos empregados na terapia moderna e no tratamento de várias enfermidades, sendo utilizadas como precursores na semi-síntese quimiofarmacêutica ou em modelos para síntese de novos princípios farmacológicos de uso clínico (Viegas Jr *et al.*, 2006).

Desta forma, considerando os avanços da química tradicional e da farmacologia em produzir substâncias efetivas, o reino vegetal tem sido uma importante ferramenta na busca de novos fitofármacos e medicamentos, principalmente no tratamento do câncer (Singh *et al.*, 2003).

Na década de 60 o Instituto Nacional do Câncer (NCI-USA) realizou uma investigação extensiva com extratos vegetais da Flora Brasileira na busca de agentes com potencial antitumoral (Monks *et al.*, 2002). A partir desta pesquisa, verificou-se um crescente interesse na comunidade científica em avaliar extratos vegetais, frações e substâncias puras, os quais podem apresentar uma rica fonte prolífica de novos fármacos com propriedades antitumorais (Tsai, 2001).

Dentre as técnicas empregadas como preliminar ao estudo de atividade antiproliferativa de produtos sintéticos e naturais destaca-se o *screening* utilizando células tumorais *in vitro* de diversas linhagens. Esta técnica apresenta a vantagem de analisar um grande número de amostras simultaneamente, o que a torna uma técnica mais simples comparada aos bioensaios *in vivo*, principalmente os que envolvem uso de animais (Neidle & Thurston, 2005).

Comumente utilizam-se métodos colorimétricos os quais quantificam a proliferação de células em cultura, sendo, portanto considerados rápidos, baratos e reprodutivos na avaliação da atividade antitumoral de um grande número de amostras de matrizes complexas, o qual ainda permite facilmente realizar testes biomonitorados no isolamento de constituintes químicos de extratos vegetais potencialmente ativos (Betancur-Gavis *et al.*, 1999).

A grande riqueza da biodiversidade da flora brasileira proporciona um destaque no cenário mundial, principalmente em relação ao elevado potencial fornecedor de moléculas bioativas com destaques naquelas que possam servir como protótipos farmacológicos no tratamento de neoplasias (Marques *et al.*, 2022).

Neste contexto, já foi possível isolar diversas substâncias puras de diferentes extratos de plantas com comprovada atividade frente a várias linhagens de células tumorais humanas, e, possivelmente, outros princípios ativos poderão ser descobertos utilizando o *screening* fitoquímico das milhares de plantas nativas da flora brasileira. Certamente, a identificação, extração, isolamento e caracterização de moléculas ativas com propriedades antitumorais, em células mantidas em cultura, são de grande interesse clínico e farmacológico (Pompilho; Borges; Miguel, 2013; Moura *et al.*, 2020).

O gênero *Coccocypselum* pertencente à família Rubiaceae contém aproximadamente 35 espécies de hábito herbáceo com distribuição nos Neotrópicos. Sua ocorrência vai desde o México até a Colômbia, e também do Brasil até a Argentina (Anderson, 1992). O Brasil detém o maior número de espécies do mundo com cerca de 21 espécies, as quais ocorrem principalmente na Mata Atlântica (Costa & Mamede, 2002).

A espécie *C. lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. conhecida como cauabori, veludinho-rasteiro, frutinha-azul, azulzinha-do-bosque e erva-de-corocochó é considerada uma erva medicinal utilizada no tratamento de dores e inflamações, além de ser empregada na área alimentícia (sucos, doces e sorvetes) (Pino-Benítez, 2006; Nascimento *et al.*, 2018). A planta ocorre no sub- bosque da vegetação mais densa dos cerrados e nas capoeiras nos

morros da mata atlântica. A sua distribuição vai desde o sul do México até a Argentina, e pode ser encontrada em quase todo Brasil (Costa & Mamede, 2002, Zappi *et al.*, 2020).

Na medicina popular algumas espécies do gênero são utilizadas no tratamento de problemas urogenitais, doenças venéreas e cefaleia (Quattrocchi, 2012). A espécie *Coccocypselum herbaceum* é conhecida popularmente como veludinho-rasteiro e azulzinho-do-bosque, sendo considerada ornamental devido a presença de frutos de coloração azul intensa e utilizada na medicina popular com propriedades anti-inflamatória e antiofídica (Pino-Benítez, 2006; Sanquetta *et al.*, 2010).

As folhas de *Coccocypselum herbaceum* são utilizadas na forma de cataplasma para tratar inchaços e a infusão das folhas de *C. hirsutum* emprega-se no tratamento de dores de cabeça e em infecções provocadas por picadas de cobras e escorpiões (Balick & Arvigo, 2015). A planta *C. cordifolium* foi considerada uma hortaliça com potencial medicinal e alimentícia presente na Bacia do Rio Urussanga em Santa Catarina (Ceron *et al.*, 2016). Um estudo conduzido com *C. lanceolatum* revelou ainda a presença de altos teores de substâncias fenólicas indicando possível ação antioxidante (Luz; Agostini; Schwambach, 2013).

A composição química deste gênero ainda não foi estabelecida, no entanto, existem apenas dados sobre as principais classes de substâncias do metabolismo secundário com destaque para os alcaloides, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas e cumarinas (Pino-Benítez, 2006; Sbrana *et al.*, 2024). Considerando a ausência de estudos de atividade farmacológica no gênero *Coccocypselum*, este trabalho objetivou avaliar o potencial citostático e citocida em nove linhagens de células tumorais humanas e uma linhagem não tumoral, em resposta a tratamentos em diferentes concentrações do extrato etanólico obtido das partes aéreas (folhas e caule) da espécie *Coccocypselum lanceolatum*.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

A espécie vegetal *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. foi coletada dentro do Parque Nacional dos Campos Gerais, na Furna Buraco do Padre, localizada no município de Ponta Grossa, Paraná, em novembro de 2010 (25° 10' 18.33" S, 49° 58' 6.64" O). Uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG).

2.2 Preparação do extrato bruto

As partes aéreas (folhas e caule) da planta foram secas em estufa com ventilação forçada, e posteriormente cerca de 200,0 g foram moídas em moinho de facas e submetidos à extração exaustiva a frio com etanol (5 x 1L) por maceração. Após evaporação do solvente

em evaporador rotativo foi obtido o extrato bruto etanólico (**EBCL** 25,20 g).

2.3 Linhagens celulares

A atividade antiproliferativa foi avaliada em nove linhagens celulares tumorais humanas, cedidas pelo National Cancer Institute (Frederick, MA, USA) com suas respectivas densidades de inoculação: glioma (U251: $4,0 \times 10^4$ células mL^{-1}), melanoma (UACC-62: $6,0 \times 10^4$ células mL^{-1}), mama (MCF-7: $6,0 \times 10^4$ células mL^{-1}), ovário resistente (NCI/ADR-RES: $5,0 \times 10^4$ células mL^{-1}), pulmão (NCI-H460: $4,0 \times 10^4$ células mL^{-1}), próstata (PC-3: $4,5 \times 10^4$ células mL^{-1}), ovário (OVCAR-3: $6,5 \times 10^4$ células mL^{-1}), colorretal (HT29: $4,0 \times 10^4$ células mL^{-1}) e leucemia linfóide (K562: $6,0 \times 10^4$ células mL^{-1}) e a linhagem não tumoral HaCaT (queratinócitos imortalizados) foi doada pelo Prof. Dr. Ricardo Della Coletta, FOP/UNICAMP. Todas as linhagens foram cultivadas empregando o meio de cultura Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640 - Gibco®) juntamente com 5% de soro fetal bovino inativado (SFB - Gibco®), mais 1% de penicilina:estreptomicina ($1000 \text{ UI}:1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) sob temperatura de 37°C em atmosfera úmida de 5% de CO_2 (Denny *et al.*, 2007).

2.4 Ensaio da atividade antitumoral

Nesta etapa experimental, foram inoculados, em placas de 96 compartimentos, $100 \mu\text{L}$ /compartimento de células no meio (RPMI) 1640/SFB/penicilina/estreptomicina, através das respectivas densidades de inoculação. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C em atmosfera úmida com 5% de CO_2 por 24 h. A placa controle foi fixada pela adição de ácido tricloroacético (TCA) para determinação da quantidade de células no momento da adição da amostra (T_0). Nas demais placas, o extrato **EBLC** foi diluído em soluções estoques de DMSO/RPMI na concentração de 5 mg mL^{-1} . Em seguida, a amostra foi adicionada nas concentrações de 0,25; 2,5; 25 e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Após 48 h, todas as células foram fixadas com $50 \mu\text{L}$ de TCA a 50% nos compartimentos e submetidas a incubação por 1 h a 4°C . Posteriormente, cada placa foi submetida a 4 lavagens com água destilada a fim de remover resíduos de TCA, meio SFB e metabólitos secundários. As placas foram mantidas a temperatura ambiente até secagem completa.

A coloração das células foi realizada pela adição de $50 \mu\text{L}$ /compartimento do corante proteico sulforrodamina B (SRB) a 0,4 % (m/v) dissolvido em ácido acético a 1 % (v/v), por um período de 30 min. Em seguida, as placas foram lavadas por 4 vezes com ácido acético a 1 % e novamente secas a temperatura ambiente. O corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com solução de Trizma base ($10 \mu\text{M}$, pH 10,5) por 5 min. em ultrassom e imediatamente a leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em um leitor de microplacas em 540 nm, obtendo-se as absorbâncias de T_0 , T_1 e T (Denny *et al.*, 2007). O

corante proteico SRB liga-se aos aminoácidos básicos das proteínas das células viáveis no momento da fixação, sendo possível a quantificação da proliferação celular de cada amostra mediante a menor quantidade de SRB ligada ao compartimento.

No experimento foi utilizado o quimioterápico doxorrubicina nas concentrações de $0,025 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, como controle positivo.

Na análise dos resultados, foram calculadas as médias das absorbâncias subtraindo os valores dos respectivos brancos. Caso $T > T_1$, indica estimulação do crescimento celular; caso $T_0 \leq T < T_1$ a amostra apresenta efeito citostático; caso $T < T_0$ a amostra apresenta efeito citocida.

Com esses valores, foi calculada a proliferação (crescimento) celular de cada linhagem, em porcentagem (C%), para cada concentração de amostra teste, conforme equação abaixo. Em seguida, os dados foram usados para construção do gráfico de proliferação celular em função da concentração da amostra. A partir do gráfico, calculou-se por regressão não linear, tipo sigmoidal, a concentração efetiva denominada TGI (*Total growth inhibition*), que representa a concentração necessária de amostra para inibir em 100% a proliferação (crescimento) celular.

$$\text{Para } T > T_0 \quad C(\%) = 100 \times \left[\frac{T - T_0}{T_1 - T_0} \right]$$

$$\text{Para } T < T_0 \quad C(\%) = 100 \times \left[\frac{T - T_0}{T_0} \right]$$

Onde: T = média de absorbância da célula tratada com a amostra por 48 h;

T_1 = absorbância média do controle de célula após 48 h de incubação;

T_0 = absorbância média do controle de células da adição das amostras.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de atividade antitumoral *in vitro* empregando cultura de células humanas têm sido relevantes na busca por novos agentes anticâncer principalmente por ser um método alternativo aos testes farmacológicos que utilizam órgãos isolados. O método colorimétrico da sulforrodamina B proposto por Monks e colaboradores (1991) permite analisar a habilidade das substâncias em se ligar a componentes protéicos celulares, fixados pelo TCA. O método é independente da atividade metabólica celular, sendo considerado mais sensível na detecção de pequenos números de células neoplásicas em uma matriz.

De maneira geral, são obtidos gráficos de concentração-resposta os quais permitem uma melhor visualização da atividade antiproliferativa de amostras testes considerando

efeito citostático (acima do ponto zero e abaixo de 50%), efeito citocida (abaixo do ponto zero) e/ou perfil concentração-dependente. O ponto zero do eixo das ordenadas representa a placa controle inicial (T0), valor que é comparado com a média da absorbância do controle final (T) que representa 100% de crescimento celular (após 48 horas de incubação e na ausência das amostras testadas).

O cálculo da concentração efetiva TGI (*Total growth inhibition*) referente à concentração necessária para que ocorra 100% de crescimento foi realizado para o extrato **EBCL** conforme protocolo de Shoemaker (2006).

Segundo Fouche e colaboradores (2008), os resultados considerados como antitumorais são os que apresentam valores de TGI $\leq 35 \mu\text{g mL}^{-1}$ (potencialmente ativo), TGI $\leq 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (moderado) e TGI $> 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (inativo), quando comparados a doxorrubicina (Dox), controle positivo. O índice de seletividade (IS) foi determinado, o qual pode indicar a seletividade de uma amostra entre uma linhagem neoplásica e uma não tumoral (normal), indicando o potencial uso desta amostra em testes clínicos (Suffness & Pezzuto, 1991).

O IS corresponde à divisão entre o valor de TGI do extrato **EBCL** na linhagem de células normais HaCaT e o valor de TGI de **EBCL** em cada linhagem de células neoplásicas testadas ($\text{IS} = \text{TGI HaCaT} / \text{TGI células neoplásicas}$). Segundo Suffness e Pezzuto (1991), valores de IS superior ou igual a 2,0 podem ser considerados significativos, indicando assim, que a amostra testada é duas vezes mais ativa na linhagem de células neoplásicas do que em células não tumorais. Consideramos estes valores como parâmetros comparativos para a avaliação da potência e seletividade do extrato **EBCL**.

Os valores de TGI para **EBCL** e do quimioterápico doxorrubicina estão sumarizados na tabela 1 e a figura 1A apresenta o comportamento do quimioterápico padrão, doxorrubicina sobre as linhagens celulares testadas sendo possível verificar que não houve mudanças na resposta desta droga frente às células tumorais. Desta forma, pode-se inferir que não houve mutação nas células utilizadas, e também não apresentaram sensibilidade imprevista frente ao mesmo.

O extrato **EBCL** avaliado frente às 9 culturas de células tumorais humanas mostrou-se ativo em 8 linhagens celulares para concentrações abaixo de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 1).

Linhas de células	EBCL	Doxorrubicina*
	TGI ($\mu\text{g mL}^{-1}$)/IS	TGI ($\mu\text{g mL}^{-1}$)/IS
U251	91,29/0,45	0,12/0,21
UACC-62	4,05/10,20	< 0,025/1
MCF-7	43,16/0,96	0,25/0,1
NCI-ADR/RES	77,64/0,53	2,26/0,01
NCI-H460	90,35/0,46	1,17/0,02
PC-3	46,18/0,89	0,40/0,06
OVCAR-3	7,07/5,84	0,28/0,09
HT-29	144,80/0,29	3,04/0,01
K562	92,46/0,45	0,15/0,17
HaCaT	41,32	<0,025

*Quimioterápico, controle positivo; U251 (glioma); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário, com fenótipo resistente a múltiplas drogas); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K562 (leucemia); HaCaT (queratinócitos imortalizados). TGI (*Total growth inhibition* – concentração que promove a inibição 100% do crescimento celular). EBCL (extrato bruto etanólico). IS (índice de seletividade).

Tabela 1. Concentração necessária para inibição total do crescimento celular (TGI) de linhagens tumorais e não tumoral humanas tratadas com diferentes concentrações do extrato EBCL e índice de seletividade (IS).

A análise da curva concentração-resposta (Figura 1B) indicou que o extrato apresenta potente atividade citostática seletiva na concentração de $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a linhagem de melanoma (UACC-62; TGI= $4,05 \mu\text{g mL}^{-1}$), e na concentração de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi ativo frente as linhagens de ovário (OVCAR-3; TGI= $7,07 \mu\text{g mL}^{-1}$) e melanoma (UACC-62), respectivamente. Foi ainda observado efeito citostático moderado na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ frente as linhagens de melanoma (UACC-62), próstata (PC-3; TGI= $46,18 \mu\text{g mL}^{-1}$) e mama (MCF-7; TGI= $43,16 \mu\text{g mL}^{-1}$), respectivamente.

A atividade citocida seletiva foi observada para todas as linhagens tumorais na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e apenas a linhagem de melanoma (UACC-62) atingiu 100% de inibição. Foi ainda considerado efeito citocida seletivo apenas para a linhagem de ovário (OVCAR-3) na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

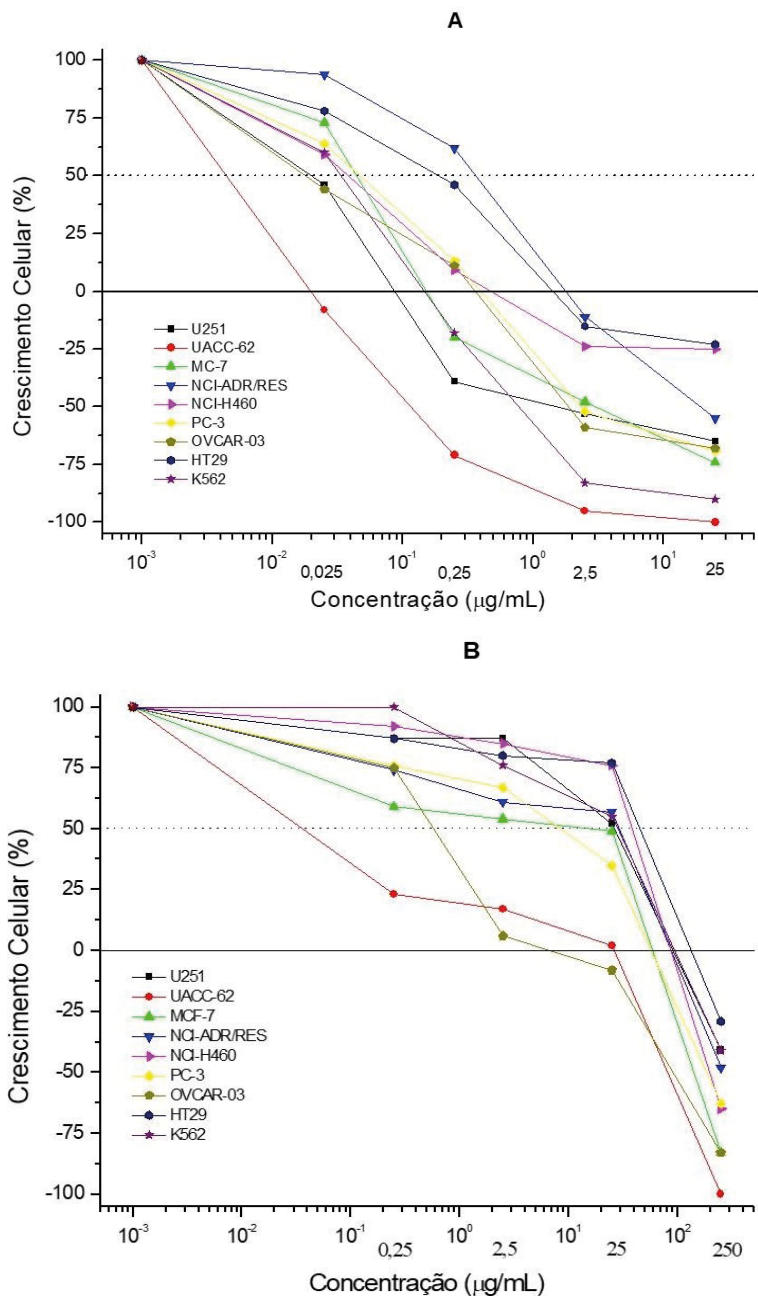


Figura 1. Porcentagem de crescimento celular das linhagens tumorais e normal humanas em diferentes concentrações (0,025; 0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹) do fármaco doxorubicina (A) e do extrato EBCL (B) após 48 horas de exposição.

Analisando o IS do extrato **EBCL** pode-se observar uma alta seletividade para as células tumorais de melanoma e ovário com IS de 10,20 e 5,84 respectivamente.

Em um estudo recente, nosso grupo de pesquisa detectou a presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides num *screening* fitoquímico realizado com o extrato de *C. lanceolatum* e a identificação destas classes de substâncias podem justificar a atividade antitumoral observada neste trabalho, uma vez que a literatura relata que metabólitos destas classes possuem propriedades anticâncer (Pino-Benítez, 2006; Simões *et al.*, 2003; Moura *et al.*, 2020; Corrêa *et al.*, 2024; Sbrana *et al.*, 2024).

Os resultados obtidos, sugerem o potencial uso da planta *C. lanceolatum* como antitumoral, porém, novos estudos bioguiados devem ser conduzidos com o intuito de se isolar os constituintes químicos responsáveis pela atividade anticâncer, principalmente sobre as linhagens tumorais de melanoma e ovário.

4 | CONCLUSÃO

O potencial antiproliferativo observado nas diferentes linhagens de células tumorais testadas, nas condições e tempo de tratamento do presente trabalho, foi citostático seletivo para as linhagens UACC-62 (TGI 4,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e OVCAR-

3 (TGI 7,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$) nas menores concentrações, com alto índice de seletividade. Foi observado ainda que essas duas linhagens demonstraram efeito citocida seletivo atingindo 100%. Adicionalmente, o extrato mostrou ação citostática moderada frente as linhagens PC-3 e MCF-7. Este é o primeiro estudo de atividade antitumoral de *C. lanceolatum*, e os resultados obtidos mostraram-se promissores na busca de novos agentes quimiossensibilizadores contra o câncer. Assim, faz-se necessário estudos adicionais na busca dos constituintes químicos bioativos, elucidação do mecanismo de ação, toxicidade, validação e segurança do uso desta planta como prolífica fonte de metabólitos com propriedades antitumorais.

REFERÊNCIAS

- Akerele, O. WHO guideline for assessment of herbal medicines. **Fitoterapia** v. 63, p. 99-118, 1992.
- Anderson, L. A provisional checklist of Neotropical Rubiaceae. **Scripta Botanica Belgica**, vol. 1, p. 1-199, 1992.
- Aquino, R.; De Feo, V.; De Simone, F.; Detomasi, N.; Pizza, C. **Flora Officinale dell'America Latina**. Lancusi – Salerno: Litotipografia Gutenberg. Itália, 1996.
- Balick, M.J.; Arvigo, R. **Messages from the Gods – A guide to the useful plants of Belize**. Oxford University Press: The New York Botanical Garden, New York-USA, p. 442-443, 2015.
- Betancur-Galvis, L.A.; Saez, J.; Granados, H.; Salazar, A.; Ossa, J.E. Antitumor and antiviral activity of colombian medicinal plant extracts. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 531-535, 1999.

- Ceron, K.; Guislon, A.V.; Bristot, S.F.; Martins, H.B.; Elias, G.A.; Santos, R.; Amaral, P.A.; Citadini-Zanette, V. Potencial medicinal e alimentício da vegetação herbácea terrícola ciliar no sul do Brasil. **Interciência**, v. 41, n. 6, p. 393-400, 2016.
- Corrêa, J.G.S.; Moura, V.M.; Ames, F.Q.; Bianchin, M.; Sebold, S.B.S.; Peixoto, M.A.; Pomini, A.M.; De Carvalho, J.E.; Ruiz, A.L.T.G.; Bersani-Amado, C.A.; Santin, S.M.O. Chemical constituents and evaluation of antiproliferative and anti-inflammatory activities from *Psychotria schlechtendalana* (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 47, n. 3, p. 1-6, 2024.
- Costa, C. B.; Mamede, M.C.H. Sinopse do gênero *Coccocypselum* P. Browne (Rubiaceae) no estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 2, n. 1, p. 1- 14, 2002.
- Denny, C.; Zacharias, M.E.; Kohn, L.K.; Foglio, M.A.; Carvalho, J.E. Atividade antiproliferativa dos extratos e da fração orgânica obtidos das folhas de *Virola sebifera* Aubl. (Myristicaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 598-603, 2007.
- Fouche, G.; Cragg, G.M.; Pillay, P.; Kolesnikova, N.; Maharaj, V.J.; Senabe, J. In vitro anticancer screening of South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 455-461, 2008.
- Luz, G.C.; Agostini, F.; Schwambach, J. Avaliação de fenólicos totais de *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz & Pav.) & *Coccocypselum cordifolium* (Ness & Mart.). In: **Congresso Jovem Pesquisadores de Biotecnologia**, Pôster, 2013.
- Marques, L.G.A.; Vieira Neto, J.B.; Sales, S.L.A.; Costa, P.M.S.; Guimarães, C.J.; Manso, M.P.; Pereira, J.V.M.; Pessoa, C.Ó. O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas. **Revista Fitos**, supl. 2, p. 293-314, 2022.
- Monks, N.R.; Bordgon, S.A.L.; Ferraz, A.; Machado, K.R.; Faria, D.H.; Lopes, R.M.; Mondim, C.A.; De Souza, I.C.C.; Lima, M.F.S.; Da Rocha, A.B.; Scharstamann, G. Anti-tumor screening of Brazilian plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, p. 603-616, 2002.
- Mouva, V.M.; Ames, F.Q.; Corrêa, J.G.S.; Peixoto, M.A.; Amorim, A.M.A.; Pomini, A.M.; De Carvalho, J.E.; Ruiz, A.L.T.G.; Bersani-Amado, C.A.; Santin, S.M.O. Cytotoxicity and anti-inflammatory effects of the extract, fractions and alkaloids from *Palicourea minutiflora* (Rubiaceae). **Natural Products Research**, v. 3, p. 1- 5, 2020.
- Nascimento, J.M.; Viana, D.R.; Silva, A.M.; Oliveira, R.R.; Conceição, G.M. Novas ocorrências de Rubiaceae mantidas em coleção botânica: caracterização morfológica e distribuição geográfica. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 1, n. 2, p. 14-20, 2018.
- Neidle, S.; Thurston, D.E. Chemical approaches to the discovery and development of cancer therapies. **Nature Reviews**, v. 5, p. 285-296, 2005.
- Pino-Benítez, N. Botânica y screening fitoquímico de doce plantas usadas en medicina tradicional en el Departamento del Chocó, Colombia. **Revista Latinoamericana de Recursos Naturales**, v. 2, n. 1, p. 33-44, 2006.
- Pompilho, W.M.; Borges, F.V.; Miguel, E. C. Biotecnologia e biodiversidade: as florestas brasileiras como fonte de novos fármacos com propriedades antitumorais. **Acta Scientiae & Technicae**, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2013.

Quattrocchi, U. **CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants**. CRC Press:Boca Raton, New York, p. 1038, 2012.

Sanquetta, C.R.; Fernandes, L.A.V.; Miranda, D.L.C.; Mognon, F. Inventário de plantas fornecedoras de produtos não madeireiros da floresta ombrófila mista no estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 5, p. 359-369, 2010.

Sbrana, D.L.A.; Marques, A.L.G.; Almeida, A.; Oliveira, S.M.; Moura, V.M. Phytochemistry screening, bioactive compounds and antioxidant activity of leaves from *Coccocypselum lanceolatum*. **Journal of Interprofessional Health Education**. v. 1, n. 1, p. 1-2, 2024.

Shoemaker, R.H. The NCI60 human tumor cell line anticancer drug screen. **Nature Reviews/Cancer**. v. 6, p. 813 – 823, 2006.

Singh, B.; Bhat, T.K.; Singh, B. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5579-5597, 2003.

Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed., Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/UFSC, 2003.

Suffness, M.; Pezzuto, J.M. Assays related to cancer drug discovery. In: HOSTETTMANN K (Ed), **Methods in plant biochemistry: assays for bioactivity**. Academic Press, London, p. 71-133, 1990.

Tsai, T.H. Analytical approaches for traditional chineses exhibiting antineoplastic activity. **Journal of Chromatography B**, v. 764, p. 27-48, 2001.

Viegas Jr., C.; Bolzani, V.S.; Barreiro, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

Zappi, D.; Jardim, J.; Calió, M.F. **Coccocypselum**. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB13886>.