



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

BENAIA GONÇALVES DE FRANÇA BARROS

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO, ANTITUMORAL E
ANTIMETASTÁTICO DO EXTRATO DE *Sorghum bicolor* L. Moench**

Recife
2022

BENAIA GONÇALVES DE FRANÇA BARROS

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO, ANTITUMORAL E
ANTIMETASTÁTICO DO EXTRATO DE *Sorghum bicolor* L. Moench**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Área de concentração: Aplicações de Radioisótopos na Indústria e Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.

Coorientadora: Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza.

Recife

2022

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

B277a Barros, Benaia Gonçalves de França.
 Análise do potencial anti-inflamatório, antitumoral e antimetastático do
 extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench / Benaia Gonçalves de França Barros. –
 2022.

 104 f.: il., figs., tabs.

 Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo.

 Coorientadora: Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza.

 Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa
 de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Recife, 2022.

 Inclui referências e anexos.

 1. Energia nuclear. 2. *Sorghum bicolor*. 3. Atividade antitumoral. 4.
 Atividade anti-inflamatória. 5. Potencial antimetastático. 6. Modelo 4T1. I.
 Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque (Orientadora). II. Souza, Ivone
 Antônia de (Coorientadora). III. Título.

UFPE

621.4837 CDD (22. ed.)

BCTG/2022-413

BENAIA GONÇALVES DE FRANÇA BARROS

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO, ANTITUMORAL E
ANTIMETASTÁTICO DO EXTRATO DE *Sorghum bicolor* L. Moench**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de concentração: Aplicações de Radioisótopos na Indústria e Medicina.

Aprovada em: 16/09/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque e Melo (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Simey de Souza Leão Pereira Magnata (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Dra. Isvania Maria serafim da Silva Lopes (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Maíra de Vasconcelos Lima (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Dr. Rômulo Carlos Dantas da Cruz (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, por ter me permitido chegar à conclusão deste trabalho, por sua força e presença;

Agradeço aos meus pais por todo o apoio e em especial ao meu pai, que tanto desejou ver-me com este trabalho concluído, mas devido ao seu falecimento, não foi possível;

Agradeço ao meu amado filho Daniel França por toda a sua paciência, presença e apoio, pois este sempre tem sido um grande motivador para as minhas conquistas;

Agradeço a minha avó, a qual me motivou para a realização deste trabalho, que dedicou anos de sua vida aos cuidados comigo e meus irmãos;

Agradeço a minhas orientadoras Ivone Antônia de Sousa, Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo e Mércia Liane Oliveira.

Agradeço aos colaboradores José Nildo Tabosa do (IPA), Emerson Soares Bernardes e Sofia Nascimento dos Santos do (IPEN-CNEN);

Agradeço aos colegas do PROTEN-UFPE e do CRCN;

Agradeço aos colegas do IPEN-USP;

Agradeço aos amigos que me apoiaram;

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, ao IPA - Instituto Agrônomo de Pernambuco, ao CRCN – Centro Regional das ciências Nucleares do Nordeste, ao PROTEN – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, ao IPEN – Instituto de Pesquisas energéticas e Nucleares e ao Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental – LAFAC – UFPE.

O Ser humano é parte de um todo chamado por nós de 'universo', uma parte limitada no tempo e no espaço. Ele experiencia a si mesmo, seus pensamentos e sentimentos, como alguma coisa separada do resto - uma espécie de ilusão de ótica de sua consciência. Essa ilusão é uma espécie de prisão para nós, restringindo-nos aos nossos desejos pessoais e à afeição por umas poucas pessoas próximas. Nossa tarefa deve ser a de nos libertarmos dessa prisão alargando nossos ciclos de compaixão para envolver todas as criaturas vivas e o todo da natureza em sua beleza. (SAMTEN, 2008, p. 50).

RESUMO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) apresenta substâncias com propriedades bioativas importantes no combate ao câncer de mama e a inflamações. O câncer de mama é o mais comum em mulheres no mundo e os processos inflamatórios são bastante recorrentes nos indivíduos, por se tratar de uma resposta natural do organismo às infecções ou lesões. O objetivo deste trabalho foi analisar o potencial anti-inflamatório, antitumoral e antimetastático do extrato de *sorghum bicolor* L. Moench. O extrato de sorgo foi obtido através dos grãos processados e a análise fitoquímica foi realizada através de GCMS e UPLC-MS. A toxicidade do extrato foi avaliada através do ensaio de *Artemia salina* e de viabilidade celular por meio do método de sufurodomina B (SRB) em linhagens de células saudáveis CHO e tumorais 4T1. Para a avaliação antitumoral, foi realizada previamente a determinação da dose letal (DL₅₀) e posteriormente a análise antitumoral em linhagens de tumor de mama triplo negativo 4T1 em camundongos Balb/c (*Mus musculus*). A avaliação anti-inflamatória foi realizada por meio do método do edema de pata induzido por carragenina em camundongos Swiis (*Mus musculus*) e a análise antimetastática do tumor de mama 4T1 foi obtida através de imagens em microSPECT/CT. Nos resultados da análise através de GCMS o extrato de sorgo apresentou compostos fenólicos como os ácidos pentadecanoico, hexadecanoico, octadecanoico, 9,12-ácido octadecadienoico (Z,Z)- e is-11-ácido eicosenoico. Na análise por UPLC-MS o extrato apresentou flavonoides como luteolina e kaempferol. O extrato apresentou toxicidade moderada no ensaio de *Artemia salina* de 476.9 µg/mL e foi possível determinar o IC₅₀ em linhagens de células saudáveis CHO e tumorais 4T1. No tempo de tratamento de 48 h o IC₅₀ em linhagens CHO foi de 179.2 e em linhagens 4T1 foi de 234.3 mg/mL, já no tempo de tratamento de 72 h o IC₅₀ em linhagens CHO foi de 116.9 e em linhagens 4T1 foi de 264 mg/mL. O extrato de sorgo não apresentou atividade antitumoral no ensaio *in vivo*, no tumor de mama 4T1, contudo apresentou um efeito pró-tumoral. Não foi observada metástase óssea proveniente do tumor de mama 4T1. Com relação ao potencial anti-inflamatório, o extrato do sorgo apresentou um efeito bastante satisfatório na redução do processo inflamatório. O sorgo possui um potencial terapêutico anti-inflamatório, no entanto seus efeitos antitumoral e antimetastático em câncer de mama merecem ser avaliados utilizando outras cultivares de sorgo.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*; atividade antitumoral; atividade anti-inflamatória; potencial antimetastático; modelo 4T1.

ABSTRACT

The sorghum presents substances with important bioactive properties to combat breast cancer and inflammation. Breast cancer is the most common in women throughout the world and inflammatory processes are recurrent in individuals, for it is a natural response of the organism to infections or lesions. The goal of this paper was to analyse the anti-inflammatory, anti-tumorous, and anti-metastatic of the *sorghum bicolor* L. Moench extract. The sorghum extract was obtained from the processed grains and the phytochemical was done by GCMS and UPLC-MS. The toxicity of the extract was evaluated through the *Artemia salina* test and cellular viability by the sulforhodamine B (SRB) method in healthy CHO and 4T1 tumorous cell lines. The lethal doses (LD₅₀) was determined. The antitumoral analysis it was made in 4T1 triple negative breast cancer lines in Balb/c mice. The anti-inflammatory evaluation was made by the paw edema method induced by carrageenan in albino Swies (*Mus musculus*) mice and the anti-metastatic analysys of the 4T1 breast tumor was obtained by microSPECT/CT images. In the results of the analysis using GCMS, the extract showed phenolic compounds such as pentadecanoic acid, hexadecanoic acid, octadecanoic acid, 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)- and is-11-eicosenoic acid. In the UPLC-MS analysis, the extract showed flavonoids such as luteolin and kaempferol. The sorghum extract showed moderate toxicity in the *Artemia salina* test of 476.9 µg/mL and it was possible to determine IC₅₀ of healthy CHO cell line and 4T1 tumor cell line. At 48 h the IC₅₀ for CHO was 179.2 and for 4T1 it was 234.3 mg/mL, at 72 h the IC₅₀ for CHO was 116.9 and for 4T1 it was 264 mg/mL. The sorghum extract did not present anti-tumoral effect in the *in vivo* experiment. The 4T1 breast tumor presented a pro-tumorous effect. There was no bone metastasis from the 4T1 breast tumor. In regard to the anti-inflammatory potential, the sorghum extract presented a satisfactory reduction effect in the inflammatory process. The sorghum possesses an anti-inflammatory therapeutic potential. However, its antitumor and antimetastatic effects in breast cancer deserve to be evaluated using other cultivars of sorghum.

Keywords: *Sorghum bicolor*; anti-tumorous activity; anti-inflammatory activity; antimetastatic potential; 4T1 model.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Plantula de (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench).....	23
Figura 2 –	Sorgo (cultivar IPA-467-4-2).....	25
Figura 3 –	Carcinomas Ductal.....	31
Figura 4 –	Carcinoma lobular.....	31
Figura 5 –	O processo inflamatório: Dano a um tecido sadio, nesse caso a pele, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.....	41
Figura 6 –	O processo inflamatório: (C) migração dos fagócitos e fagocitose das bactérias e debris celulares por macrófagos e neutrófilos. Os macrófagos se originam dos monócitos e reparo do tecido danificado.....	41
Figura 7 –	Mecanismos da imunidade inata que fornece a defesa inicial contra infecções com posterior resposta imune adaptativa.....	43
Figura 8 –	Ativação de células B para a produção de anticorpos, a célula B produz anticorpos contra um antígeno T- -dependente.....	44
Figura 9 –	Morte por um linfócito T citotóxico de uma célula-alvo infectada por vírus.....	45
Figura 10 –	Esquema da metodologia.....	50
Figura 11 –	Cromatograma do extrato etanólico de <i>Sorgo bicolor</i> L. Moench.....	62
Figura 12 –	Compostos kaempferol e luteolina (flavonoides) presentes no extrato etanólico de <i>Sorgo bicolor</i> L. Moench.....	63
Figura 13 –	Mortalidade por <i>Artemia Salina</i>	65
Figura 14 –	Viabilidade celular do extrato de sorgo em células tumorais de mama triplo negativo 4T1 e saudáveis de ovário de hamster chinês (CHO) nos tempos de 48 e 72 h.....	67
Figura 15 –	Fígado de animais do grupo controle (GC). Observa-se leves degenerações hidrópicas, pinocitose nuclear (seta vermelha) e um megacariócito (seta amarela)	75
Figura 16 –	Fígado de animais tratado com extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench (GT). Observa-se a degeneração hidrópica (edema celular ou degeneração vacuolar) dos hepatócitos em	

	ambas a imagens, pinocitose nuclear (seta amarela) e focos de infiltrado inflamatório mononucleares (seta vermelhas).....	75
Figura 17 –	Fígado dos animais tratados do o extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench (GT). Observa-se degeneração hidrópica (edema celular ou degeneração vacuolar) dos hepatócitos (balonizados) setas amarelas e hepatócito em divisão (atividade regenerativa) seta vermelha.....	76
Figura 18 –	Rins de animais dos animais do grupo controle (GC). Observa-se descamação de células necróticas para luz dos túbulos (círculos amarelos).....	76
Figura 19 –	Rins de animais do grupo controle (GC). Observa-se túbulos necróticos com células necróticas preenchendo luz tubular.....	77
Figura 20 –	Rins de animais tratado com extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench (GT). Observa-se debris de células tubulares (asteriscos) nos tubos proximais e túbulos coletores.....	77
Figura 21 –	Efeito do extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench (200mg/kg, v.o) e indometacina (10mg/kg) sobre o edema de pata m camundongos induzido por carragenina (1%). Cada ponto representa a média de n=6/grupo.....	80
Figura 22 –	Volume do tumor de mama triplo negativo 4T1 em relação ao controle.....	81
Figura 23 –	Imagem de camundongos Balb/c do grupo controle (GC) com tumor de mama 4T1 tratado com extrato de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench durante 13 dias em SPECT/CT com ^{99m} Tc-MDP injetado intravenosamente na veia da cauda de camundogos Balb/c.....	83
Figura 24 –	Imagem de camundongo Balb/c do grupo tratado (GT) com tumor de mama 4T1 tratados com extrato de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench durante 13 dias em SPECT/CT com ^{99m} Tc-MDP injetado intravenosamente na veia da cauda de camundogos Balb/c.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Compostos (ácidos fenólicos) presentes no extrato etanólico de <i>Sorgo bicolor</i> L. Moench.....	62
Tabela 2 –	Principais reações comportamentais relacionadas à dose de 5.000 mg / kg administradas na avaliação da toxicidade aguda do extrato eanólico de <i>Sorghum bicolos</i> L. moench.....	68
Tabela 3 –	Evolução ponderal de camundongos tratados com extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench.....	69
Tabela 4 –	Consumo de ração dos camundongos do grupo controle (GC) e do grupo tratado (GT), média e desvio padrão durante o período de 14 dias de tratamento.....	70
Tabela 5 –	Consumo de água dos camundongos do grupo controle (GC) e do grupo tratado (GT), média e desvio padrão durante o período de 14 dias de tratamento.....	70
Tabela 6 –	Avaliação da massa relativa (média $\pm$ desvio padrão) do fígado, baço, rins e pulmão dos camundongos do grupo controle (GC) em relação ao grupo tratado (GT) após catorze dias de tratamento com o extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench no teste de toxicidade aguda.....	71
Tabela 7 –	Variáveis hematológicas (eritrograma) de camundongos dos grupos controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) com o extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench e valores de referência de acordo com Branco, (2011).....	73
Tabela 8 –	Variáveis hematológicas (Leucograma) em camundongos dos grupos controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) com o extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench e valores de referência de acordo com Branco, (2011).....	73
Tabela 9 –	Níveis séricos de parâmetros bioquímicos de camundongos dos grupos, controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) por 14 dias com o extrato etanólico de <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench	73
Tabela 10 –	Avaliação da variação do volume do edema de pata induzido por	

carragenina (50 uL, 1%) em camundongos tratados com extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L.Moench (200mg/kg, v.o) e indometacina (10mg/kg). Dados expressos pela média $\pm$ desvio padrão e nível de significância p (teste “t” de Student, $p < 0,05$). $p < 0,05^*$ e $p < 0,01^{**}$

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	PLANTAS MEDICINAIS.....	18
2.1.1	Plantas medicinais aplicadas a oncologia.....	18
2.1.2	Metabólitos Secundários.....	19
2.1.2.1	Terpenos.....	20
2.1.2.2	Compostos nitrogenados.....	20
2.1.2.3	Ácidos fenólicos.....	20
2.2	CARACTERÍSTICA, HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA DO SORGO.....	22
2.2.1	Tipos de sorgo.....	24
2.2.2	Cultivar IPA-467-4-2.....	24
2.2.3	Antioxidantes do sorgo.....	25
2.3	O SORGO E A INFLAMAÇÃO.....	27
2.4	O SORGO E O CÂNCER.....	28
2.5	CÂNCER DE MAMA.....	30
2.5.1	O tumor de mama triplo negativo.....	32
2.5.2	Diagnóstico do câncer de mama.....	33
2.5.2.1	Exame clínico das mamas.....	33
2.5.2.2	Diagnóstico das lesões palpáveis.....	33
2.5.2.3	Diagnóstico das lesões não palpáveis.....	34
2.5.2.4	Pesquisa de linfonodo sentinela.....	35
2.5.2.5	Cintilografia mamária.....	36
2.5.2.6	SPECT/CT (Single Photon Emission Computed Tomography/Computerized Tomography)	37
2.5.3	Radiofármacos.....	37
2.5.3.1	MDP- ⁹⁹ Tc.....	38
2.5.4	Tratamento do câncer de mama.....	38
2.6	INFLAMAÇÃO.....	40
2.6.1	Imunidade.....	42
2.6.1.1	Imunidade humoral.....	43
2.6.1.2	Imunidade Celular.....	45

2.6.1.3	Memória imunológica.....	46
2.6.2	Diagnóstico inflamatório.....	46
2.6.2.1	Proteína C-reativa Ultra Sensível (PCR)	46
2.6.2.2	Hemoglobina glicada.....	46
2.6.2.3	Velocidade de Hemossedimentação (VHS)	47
2.6.2.4	Insulina em jejum.....	47
2.6.2.5	Ferritina sérica.....	47
2.6.2.6	Enzimas hepáticas.....	48
2.6.3	Tratamento para inflamação.....	48
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
3.1	PREPARO DO EXTRATO.....	51
3.2	ANÁLISE DO PERFIL FOTOQUÍMICO.....	51
3.2.1	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS).....	51
3.2.2	Cromatografia líquida de ultra performance acoplada a um espectrômetro de massas (UPLC-MS)	51
3.3	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE.....	52
3.3.1	Avaliação da toxicidade por <i>Artemia Salina</i> e determinação da CL₅₀.....	52
3.3.2	Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL₅₀.....	53
3.3.2.1	Aspectos éticos.....	53
3.3.2.2	Toxicidade Aguda.....	53
3.3.2.3	Parâmetros hematológicos e bioquímicos.....	54
3.3.2.4	Análise histopatológica.....	54
3.4	TESTE DE VIABILIDADE CELULAR.....	55
3.4.1	Cultivo e manutenção de linhagens celulares.....	55
3.4.2	Teste de viabilidade celular através do ensaio de sulforrodolina B (SFR).....	55
3.5	EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA.....	56
3.6	INOCULAÇÃO DOS TUMORES E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DO EXTRATO DE SORGO POR PAQUÍMETRO.....	57
3.6.1	Aspectos éticos.....	57
3.6.2	Modelo 4T1.....	57

3.7	IMAGENS μ SPECT/CT.....	58
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.1	ANÁLISE FITOQUÍMICA.....	60
4.1.1	GCMS.....	60
4.1.2	UPLC-MS.....	63
4.2	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE.....	65
4.2.1	Avaliação da toxicidade por <i>Artemia Salina</i> e determinação da CL₅₀	65
4.2.2	Viabilidade celular.....	66
4.3	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DL ₅₀ ..	67
4.4	ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	74
4.5	AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA COM O MÉTODO DO EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA.....	77
4.6	ATIVIDADE ANTITUMORAL EM MODELO 4T1.....	81
4.7	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMETASTÁTICO DO <i>Sorghum</i> <i>bicolor</i> L. moench POR MEIO DE microSPECT.....	82
5	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE.....	103
	ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO IPEN.....	104

1 INTRODUÇÃO

A OMS define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos". Fitoterápico é "todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário" (VEIGA *et al.*, 2001).

Ao longo de séculos é comum o uso de plantas medicinais em diversas culturas no Brasil e no mundo estando presente na sabedoria do senso comum (ALVIM *et al.*, 2006). De acordo com OMS, 80% da população mundial faz uso de algum tipo de planta em busca de alívio para sua sintomatologia de doenças. O Brasil possui uma grande variedade biológica de plantas e é um país em desenvolvimento, esses fatos reforçam ainda mais o uso de plantas medicinais em seu contexto histórico e atual (BASTOS; LOPES, 2010).

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínea que se destaca por apresentar propriedades antioxidantes que atuam como inibidores de radicais livres (HENRIQUES *et al.*, 2018). A produção de radicais livres está relacionada a várias doenças crônicas não transmissíveis, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças respiratórias e a resposta inflamatória (PREVEDELLO; COMACHIO, 2021; DE ARAÚJO *et al.*, 2020). Hong *et al.* (2020) descobriram uma ligação entre a concentração de tanino, a atividade de eliminação de radicais DPPH e o potencial anti-inflamatório.

A inflamação é uma resposta defensiva do sistema imunológico contra estímulos externos e internos que podem causar infecção e lesão (MEDZHITOV, 2008). Francis *et al.*, (2019) demonstraram que o extrato sorgo pode reduzir o estresse oxidativo e a inflamação por ser rico em substâncias antioxidantes como os fenólicos, através da produção de mediadores pró-inflamatórios. Além da inflamação há evidências de que os compostos bioativos encontrados em grãos de variedades de sorgo possuem atividade anticancerígena (AKANDE *et al.*, 2010). Estudos sugerem que o sorgo possui alto teor de polifenóis que são componentes com forte atividade anticâncer (AWIKA E ROONEY, 2004; SMOLENSKY *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2009).

O câncer mais incidente em mulheres é o câncer de mama, sendo a causa mais frequente de morte por câncer em mulheres no mundo (OMS, 2021), mas se diagnosticado e tratado precocemente, há diminuição dos casos da mortalidade (INCA, 2021).

No que diz respeito ao tratamento do câncer de mama a radioterapia, a quimioterapia e a cirurgia são as estratégias mais comuns (INCA, 2021).

O câncer de mama, quando metastático, pode se espalhar para outros órgãos do corpo como pulmões, ossos, fígado, cérebro, tecidos moles e glândulas supra renais (FEYS *et al.*, 2015; WEIGELT B, PETERSE JL, LJVT V, 2005; AMBROGGI *et al.*, 2012; BERTOZZI *et al.*, 2015). Estudos demonstram o valor do SPEC/CT na avaliação de metástase óssea, sendo uma técnica de diagnóstico não invasiva capaz de apresentar a localização e a caracterização melhoradas de lesões esqueléticas (ISRAEL *et al.*, 2019).

O extrato de sorgo pode atuar como uma alternativa terapêutica, com menos efeitos colaterais, para o tratamento de câncer de mama, quanto para tratamento de inflamação. Este trabalho objetiva analisar o perfil fitoquímico, a toxicidade, o potencial anti-inflamatório, antitumoral e antimetastático do extrato de Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica apresenta conteúdos que abordam as plantas medicinais, características, histórico e importância do *Sorghum bicolor* L. moench, sorgo e a inflamação, sorgo e o câncer, câncer de mama e inflamação.

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

Planta medicinal é a planta usada contendo um ou mais princípios ativos com atividade terapêutica. Os princípios ativos são substâncias quimicamente caracterizadas, com ação farmacológica conhecida, responsável, total ou parcialmente, pelos efeitos terapêuticos do fitoterápico (ABRANCHES, 2015).

A Organização Mundial de Saúde - OMS (2005) reconhece que os países em desenvolvimento utilizam em grande quantidade as plantas medicinais nos cuidados básicos com a saúde de muitos pacientes.

No Brasil os primeiros registros da utilização de plantas medicinais são atribuídos ao padre José de Anchieta durante o período colonial, embora às mesmas já fossem utilizadas por indígenas da região. No período pós-segunda guerra mundial, com a descoberta dos antibióticos e com o incremento de drogas sintéticas, houve um abandono do uso dessas plantas e após a década de 1980, este uso foi retomado como uma alternativa eficaz e de baixo custo (LAMEIRA; PINTO, 2008).

No Brasil, em 2006 foi estabelecida a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do decreto Nº 5.813 de 22 de julho de 2006, onde ficou estipulada a inserção de terapias alternativas e práticas populares (entre elas a fitoterapia) no Sistema Único de Saúde (SUS), visando garantir o acesso seguro da população.

2.1.1 Plantas medicinais aplicadas a oncologia

As plantas medicinais começaram a ser usadas popularmente para o tratamento de câncer, mas posteriormente foram se incorporando na medicina tradicional e alopática (CRAGG *et al.*, 1993). Os vegetais são fontes de substâncias ativas que podem ser usadas em terapias contra o câncer por produzirem grande diversidade de metabólitos secundários e, à medida que o conhecimento sobre a

doença avança, pesquisas se desenvolvem na busca por moléculas com mecanismos específicos para cada tipo desta doença (BRANDÃO *et al.*, 2010).

As plantas produzem uma diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia. Estes são responsáveis pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para as funções vitais dos vegetais (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os metabólitos secundários são produtos das plantas que não possuem relação com crescimento e desenvolvimento da planta (TAIZ; ZEIGER, 2006). Estes possuem baixo peso molecular e atividades biológicas marcantes (PEREIRA; CARDOSO, 2012) E são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante sequestrando radicais livres e estabilizando a ação dos mesmos. Os danos causados pelos radicais livres no DNA contribuem para os processos de mutagênese e carcinogênese (ATOUI *et al.*, 2005; ABRAHÃO *et al.*, 2010). A estabilidade dos antioxidantes pelos radicais livres faz com que estes venham a atuar como agentes anticancerígenos.

2.1.2 Metabólitos Secundários

As plantas alocam uma quantidade de carbono e energia assimilados para a síntese de uma ampla variedade de moléculas orgânicas que não parecem ter um papel direto em processos metabólicos primários como fotossíntese, respiração, assimilação de nutrientes, transporte de solutos ou síntese de proteínas, carboidratos ou lipídios. Essas moléculas são chamadas de metabólitos secundários. Os metabólitos secundários possuem diversas funções relacionadas às interações ecológicas entre a planta e o meio ambiente, principalmente na defesa da planta contra predadores e patógenos tais como insetos, nematoides, fungos, bactérias, melhorando o crescimento e a consistência das plantas. Eles também protegem as plantas do estresse abiótico (SÉPULVEDA-VÁZQUEZ, 2018). Esses compostos são divididos em três grupos principais: terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (AMORIM;BORGES, BEZERRA *et al.*, 2020).

2.1.2.1 Terpenos

Os terpenos são classificados em monoterpenos, sequiterpenos, diterpenos, triterpenos e os tetraterpenos. Apresentam uma grande variedade quanto à estrutura funcional e constituem a maior parte dos óleos essenciais (ARAÚJO, 1999; CHENG et al., 2003; FARIAS, 1998; SIANI et al., 2000; SIMÕES et al., 2003). Os terpenos são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antifúngica e antibacteriana (SHRADER E BOHLMAN, 2015).

2.1.2.2 Compostos nitrogenados

O grupo dos compostos nitrogenados incluem os alcaloides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos não proteicos. Os alcaloides são os principais compostos nitrogenados e são encontrados em aproximadamente 20% das espécies de plantas vasculares, mais frequentes em dicotiledôneas herbáceas e em poucas monocotiledôneas e gimnospermas (PAGARE et al., 2015). São compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel, que em maior parte, têm caráter alcalino. As principais classes de alcaloides sintetizados pelas plantas são os piperidínicos (coniina, cassina, espectralina), indólicos (quinina, vimblastina, Vincristina, Isoquinolínicos (morfina, codeína, mescalina), tropânicos (atropina, hioscina, escopolamina) e pirrolidínicos (nicotina, higrina) (SILVA, et al., 2013).

Os alcaloides são conhecidos por possuírem atuação no tratamento de câncer. Dois conhecidos alcaloides isolados de plantas como vimblastina e vincristina são de grandes utilidades no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil (BRANDÃO et al., 2010).

2.1.2.3 Compostos fenólicos

São substâncias que possuem pelo menos um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila e ou metoxila na molécula o que confere propriedades antioxidantes para os vegetais (ANGELO et al., 2007). Existem dois grupos de compostos fenólicos, os flavonoides e os não flavonoides. Os flavonoides constituem o grupo de pigmentos vegetais que podem ser originados

basicamente por duas rotas bioquímicas diferentes, a do ácido chiquímico e a do acetato. Estes compostos apresentam uma estrutura química difenilpropano (C6-C3-C6), que consiste em dois anéis aromáticos unidos por um anel heterocíclico oxigenado. As principais classes de flavonoides são: flavona, flavonona, flavonol, antocianidina, isoflavona, catequina, leucocianidina, aurona e chalcona (SILVA, *et al.*, 2013).

A classe de não flavonoide é muito heterogênea quanto a sua estrutura, são derivados do ácido hidroxibenzóico e do ácido hidroxicinâmico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico apresentam uma cadeia lateral com três carbonos (C6–C3), são os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sinápico. Já os derivados dos ácidos hidroxibenzóicos, apresentam a estrutura comum (C6–C1) e incluem os ácidos gálico, p-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico e siríngico (SILVA, *et al.*, 2013).

Alguns fenóis, como α -tocoferol, quercetina, ácido gálico e o ácido ascórbico, são capazes de atuar como antioxidantes sequestrando radicais livres e prevenindo a oxidação de lipídios além de quelarem metais de transição que catalisam a peroxidação lipídica ou outras moléculas agindo na prevenção e tratamento de várias doenças, incluindo o câncer (RABELO, 2014).

Os taninos são substâncias secundárias, fenólicas, responsáveis pela adstringência dos vegetais, apresentando massa molecular entre cerca de 500 e 3000 Dalton e solúveis em água. São classificados tradicionalmente em taninos hidrolisáveis, encontrados em dicotiledôneas herbáceas e lenhosas; e taninos condensados que ocorrem mais amplamente em gimnospermas e angiospermas (MELLO & SANTOS, 2001). Eles atuam como captadores de radicais livres e tem atividades antimicrobiana, antiviral, antifúngica, anti-diarréica e antisséptica (MONTEIRO *et al.*, 2005).

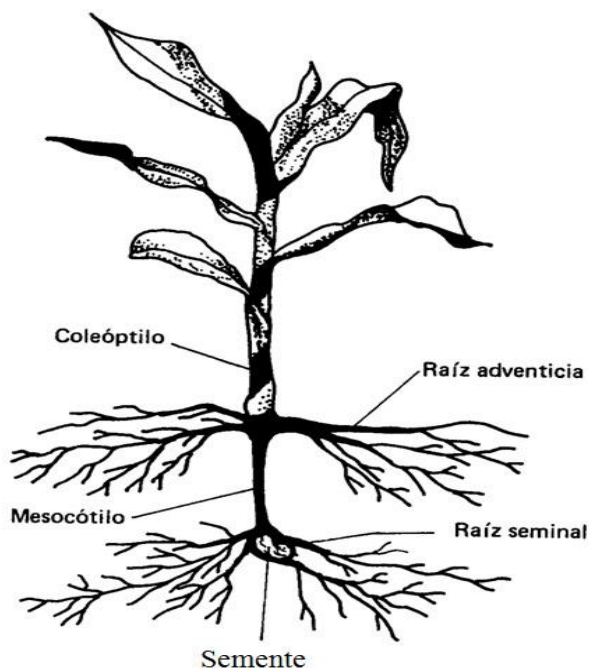
No meio científico a planta *Sorghum bicolor* L. Moench destaca-se no meio científico por apresentar concentração significativa de compostos fenólicos. Os compostos fitoquímicos do sorgo exerce atividade antioxidante no organismo, o que contribui para a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis como as cardiovasculares, diabetes, obesidade e câncer (AWIKA; ROONEY, 2004; BRALLEY *et al* 2008; GREENSPAN, HARGROVE, 2008; FARRAR; HARTLE; HARGROVE, 2008; DYKES; SEITZ, ROONEY, 2009).

2.2 CARACTERÍSTICA, HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA DO SORGO

O sorgo é classificado como Magnoliophyta, classe: liliopsida, ordem: Cyperales, família: poaceae, gênero: *Sorghum* e espécie: *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Figura 1). Morfologicamente, o sorgo é ereto com caule dividido em nó e entre nó. A sua altura varia entre 1 e 5 m, e a largura na base, entre 1,5 e 5 cm de diâmetro (EMBRAPA, 2022). Sua estrutura radicular é composta por elevado número de raízes com grande quantidade de pelos absorventes e alto índice de lignificação periciclo. A profundidade de suas raízes pode chegar a 1,30m (DURÃES, 2014). O caule possui de uma coroa externa com numerosos feixes vasculares, onde encontra-se uma medula suave, dominada de parênquima, dela aparecem alguns feixes dispersos. As folhas do sorgo são alternadas, lanceoladas, com bordas serrilhadas, com uma camada de serosidade (DURÃES, 2014).

O sorgo, *Sorghum bicolor* L. Moench, faz parte do grupo de lavouras dos cereais, grupo de grande importância alimentar constituído por plantas anuais (temporárias), da família Poacea (gramíneas). A família das gramíneas (Poaceae ou Gramineae) é uma das principais famílias na divisão Angiospermae e da classe Monocotiledoneae por incluir espécies importantes na alimentação, forragem, dominação ecológica (cerca de 20% da superfície terrestre é coberta por membros desta família) e por possuir diversidade genética que resulta em adaptações morfofisiológicas a ambientes diversificados. Tem a capacidade de se desenvolver em ambientes abertos e secos (KELLOGG, 2001).

Figura 1 - Plantula de (*Sorghum bicolor* L. Moench)



Fonte: Costa *et al.* (2009).

De acordo com Santos *et al.* (1996), o sorgo adapta-se a vários ambientes, principalmente sob condições de deficiência hídrica. O sorgo originou-se no quadrante Nordeste da África, provavelmente nas regiões da Etiópia e Sudão, onde se encontra atualmente a maior variabilidade de espécies silvestres e cultivadas. Foi domesticado há cerca de 6.000 anos através da seleção de espécies silvestres *Sorghum arudinaceum* ou *Sorghum verticilliflorum*. As primeiras introduções nas Américas ocorreram no Caribe, trazidas por escravos africanos e dessa região o sorgo atingiu o Sudoeste dos Estados Unidos, por volta da metade do século XIX (BOREM *et al.*, 2014).

Entre os maiores produtores de grãos de sorgo do mundo, a Índia detém a maior área plantada, com cerca de 11 milhões de ha. Mas os Estados Unidos lideram a produção mundial, com quase 14 milhões de toneladas numa área de pouco mais de 3 milhões de ha. Índia, Nigéria, Sudão, Níger, EUA, Burkina Faso, México, Etiópia, Mali, Austrália, Tanzânia, Chade, Brasil, Argentina, Camarões, China e Iêmen correspondem a 85% da área cultivada do planeta. Na América do Sul, Argentina é o maior produtor, seguido pelo Brasil (FAO, 2017).

No Brasil, o Estado de Goiás lidera a produção nacional com 977,8 mil toneladas, seguido por Minas Gerais (456,2 mil toneladas) e Mato Grosso (421,2 mil toneladas) (FAO, 2017).

2.2.1 Tipos de sorgo

Agronomicamente, os sorgos são classificados em quatro grupos: granífero; forrageiro para silagem e/ou sacarino; forrageiro para pastejo, corte verde, fenação, cobertura morta e do tipo vassoura. Segundo Tabosa *et al.* (2008), na região do semiárido de Pernambuco os tipos de sorgo rangíferos e forrageiros são os de maior importância.

O sorgo forrageiro para silagem e/ou sacarino é um tipo de sorgo de porte alto, altura da planta superior a dois metros, caracterizado principalmente, por apresentar colmo doce e succulento como o da cana-de-açúcar. A panícula é aberta e produz poucos grãos. Toda cultivar de sorgo sacarino pode ser usado como sorgo forrageiro (TABOSA *et al.*, 2008).

O sorgo forrageiro para pastejo, corte verde, fenação e cobertura morta, também denominado, sorgo Sudão, capim Sudão e sorgo Sudan, é caracterizado por apresentar ciclo precoce, tem porte médio, elevado valor nutritivo de forragem e tolerância a salinidade e aptidão para feno e pastejo.

O sorgo vassoura apresenta como característica principal a panícula na forma de vassoura. Não é plantado na região do semiárido de Pernambuco, mas tem importância na região Sul do Brasil e no interior de São Paulo. É usado na fabricação de vassoura e como produto artesanal.

2.2.2 Cultivar IPA-467-4-2

A IPA-467-4-2 (Figura 2) é uma cultivar registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, sob o nº 01325, em 30/09/1998 (Mantenedor: IPA). Possui altura de 250 cm a 350 cm, florescimento com 95 dias e ciclo total de colheita entre 120 e 130 dias. Possui natureza do colmo succulento e sacarino e aptidão para corte e silagem (IPA, 2020). O IPA vem trabalhando para o melhoramento do sorgo a fim de obter variedades que se adaptem ao semiárido com maior resistência a pragas. A cultivar IPA-467 é resultado do cruzamento entre a cultivar IPA-7301218

e cultivares sacarinos tradicionais. Ela possui elevado potencial de produção e é a mais comercializada no Nordeste (TABOSA *et al.*, 1999). Resultados mostraram que as variedades de sorgo de pericarpo preto e vermelho apresentaram maiores teores de fenólicos totais (TPC) e proantocianidinas totais (TPAC) e consequentemente resultaram em maior atividade antioxidante em relação a variedade de pericarpo branco. Dado que juntamente com o fato de o IPA não dispor do sorgo preto, levou a escolha neste trabalho de uma variedade apenas de sorgo vermelho (IPA-467) (RAO *et al.*, 2018).

Figura 2 - Sorgo (cultivar IPA-467-4-2)



Fonte: Documento IPA (2000)

2.2.3 Antioxidantes do sorgo

Radical livre é todo átomo ou molécula que possui em sua camada externa elétrons desemparelhados que são interceptados de duas maneiras: pela ação dos agentes antioxidantes endógenos ou exógenos; ou pelo mecanismo de oxido redução, quando dois radicais se ligam (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os radicais livres que se encontram centrados nos átomos de oxigênio e nitrogênio, são denominados, respectivamente de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, ambos, no organismo, encontram-se envolvidos com a produção de ATP, fagocitose, regulação do crescimento celular, entre outros. Este processo de produção de radicais livres é natural, porém, quando ocorre em excesso, leva ao estresse oxidativo, bem como a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio tais

como o radical superóxido (O_2), radical hidroxil (OH) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) podendo produzir danos ao organismo (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os quatro mecanismos relevantes para o mecanismo de lesão celular são: peroxidação lipídica das membranas, modificações oxidativas das proteínas, lesões no ácido desoxirribonucléico (DNA) e lesão de reperfusão. Eles estão envolvidos em uma ampla gama de doenças, tais como, doenças autoimunes (infecciosas e/ou inflamatórias) doenças degenerativas (câncer, doenças cardiovasculares, hepatopatias, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais) sendo também responsável pelo envelhecimento (PEREIRA & CARDOSO, 2012). As reações de radicais livres com a timina do DNA produzem quebras unifilamentares do DNA, estes danos estão envolvidos tanto na morte celular quanto na transformação maligna das células (carcinogênese) (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A inflamação e o estresse oxidativo estão interligados. Durante eventos inflamatórios ocorre produção excessiva de EROs (Espécies Reativas de Oxigênio), no tecido inflamatório lesado, que pode estimular a via de sinalização para a produção de mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, resultando na migração celular inflamatória (HUSSAIN *et al.*, 2016).

Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

No que diz respeito a substâncias antioxidantes encontradas no sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), os principais fenólicos, normalmente, encontrados em cultivares de sorgo compreendem os derivados do ácido hidrobenzóico e do ácido hidroxicinâmico, já os flavonoides encontrados no sorgo englobam as antocianinas e os taninos (AWIKA e ROONEY, 2004). O ácido fenólico hidrobenzóico é derivado do ácido benzóico que inclui o ácido gálico, p-hidroxibenzóico, vanílico, siringico e o ácido protocatequínico entre outros. O ácido hidroxicinâmico possui uma estrutura C6-C3 e incluem o ácido cumárico, caféico, ferúlico e o sinápico. Hahn, (1984) e Waniska *et al.* (1989) identificaram no sorgo os ácidos siringico, protocatecuico, cafeico, p-cumárico e sinápico como os mais abundantes.

Dentre os flavonoides, a antocianina mais comumente encontrada em cultivares de sorgo é denominada de 3-deoxiantocianina, que compreende as

luteolinidinas e apigeninidinas. Estas antocianinas apresentam-se distintas das demais, devido à inexistência de uma molécula de oxigênio na posição C3 (MAZZA & BROUILLARD, 1987). Este fato torna as antocianinas encontradas no sorgo mais estáveis quando comparada às antocianinas encontradas em outros vegetais (AWIKA, ROONEY e WANISKA, 2004; AWIKA, 2008; DYKES, SEITZ, ROONEY, *et al.*, 2009).

O outro importante flavonoide do sorgo é o tanino do tipo condensado, conhecido como proantocianinas ou procianidinas (QUEIROZ *et al.*, 2012). Genótipos de sorgo que possuem a testa pigmentada apresentam taninos e maiores concentrações de fenólicos totais e, conseqüentemente, maior atividade antioxidante (DLAMINI, TAYLOR e ROONEY, 2007).

Dykes, *et al.* (2005) demonstraram que cultivares que apresentavam coloração secundária de planta púrpura ou vermelha, pericarpo espesso de coloração negra ou vermelha e que possuíam a testa pigmentada apresentaram elevadas concentrações de fenólicos e maior atividade antioxidante quando comparados com outras cultivares de sorgo.

Awika e Rooney (2004) observaram que existe boa correlação entre os teores de antocianinas e a atividade antioxidante das amostras de sorgo.

2.3 O SORGO E A INFLAMAÇÃO

O sorgo é rico em antioxidantes como flavonoides e ácidos fenólicos (SALAZAR-LÓPEZ *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2016). Os flavonoides possuem ação anti-inflamatória agindo através de diferentes vias, por meio da inibição de enzimas relacionadas ao metabolismo do ácido araquidônico (PLA2, COX e LOX), modulando a expressão de genes pró-inflamatórios e conseqüentemente inibindo a expressão de citocinas (IL1 e TNF-alfa) (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). São capazes de inibir a secreção de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF-alfa), tendo a genisteína, quercetina, luteolina, apigenina, e amoradicina como exemplos de inibidores (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). Os flavonoides (apigenina, kaempferol, oroxilina A, epigallocatequina 3-galato, amentoflavona e quercetina) suprimem a ativação de importantes fatores de transcrição, AP-1 e NF-KB, podendo levar a inibição das citocinas pró-inflamatórias de modo indireto, por possuírem capacidade de modularem a expressão de genes relacionados à inflamação (KIM *et al.*, 2004).

O uso de anti-inflamatórios, principalmente em doenças crônicas pode acometer os rins, além de ocasionar alteração gastrointestinal (perfuração e ulceração gástrica), hepática (cirrose), cardiovascular e plaquetário (eventos trombóticos) (KUMMER&COELHO, 2002; WEHLING, 2014). Portanto, é fundamental identificar novos fármacos seguros para o tratamento da inflamação. As plantas medicinais têm apresentado através dos séculos diversas atividades biológicas no tratamento de muitas doenças (MEGRAJ *et al.*, 2011).

Ham *et al.* (2018) examinaram os efeitos do extrato etanólico fermentado de *Sorghum bicolor* L. Moench na inflamação e concluíram que a expressão *in vitro* das moléculas de adesão endotelial VCAM-1 e ICAM-1 e do fator pró-inflamatório ciclooxygenase-2 foram significativamente diminuídos e o fator anti-aterogênico heme oxygenase-1 foi significativamente aumentado, mostrando que o sorgo tem potencial terapêutico para aterosclerose.

Arbex *et al.* (2018) determinaram o efeito da farinha extrusada de sorgo sobre a adiposidade e inflamação e concluíram que os níveis sanguíneos de glicose e hipertrofia dos adipócitos foram menores nos grupos tratados com a farinha extrusada de sorgo quando comparados ao grupo controle. Isso mostrou que o sorgo tem um potencial como alimento funcional na redução do risco de obesidade associado a inflamação.

2.4 O SORGO E O CÂNCER

Os grãos do sorgo possuem benefícios importantes para a saúde, como a atividade antioxidante que está associada a propriedades antimicrobianas, redução do estresse oxidativo, atividade anti-inflamatória e anticancerígena (Rao *et al.* 2018).

Chen *et al.* (1993) reportaram resultados de dados epidemiológicos, como a partir da província Sachxi na China. Estes autores estudaram 21 comunidades dentro da província durante o período da manhã por seis anos e descobriram que os indivíduos que consumiram maiores quantidades de sorgo e menor quantidade de milho obtiveram menor mortalidade por câncer de esôfago que as áreas que consumiram, principalmente, farinha de trigo ou de milho. O consumo de outros alimentos como o álcool, chá, carnes e vegetais não contribuíram significativamente para a mortalidade por câncer de esôfago. Estas evidências sugerem a presença de

compostos anticancerígenos no sorgo que não se encontram presentes em quantidades significativas no trigo ou no milho.

Um estudo *in vitro* demonstrou que grãos de sorgo de pericarpo negro induziram enzimas detoxificantes e aqueles com a presença de taninos inibiram a proliferação de células de câncer de esôfago e cólon. Os extratos de sorgo apresentaram forte potencial quimiopreventivo, independente da sua atividade antioxidante (AWIKA *et al.*, 2009).

Yang e colaboradores (2009) em estudo *in vitro* de cultura de células (HT-29) com extrato (extraído em 70% de acetona aquosa acidificada com 0,1% de HCl) de cultivares de sorgo negro, vermelho e branco contendo 3-deoxiantocianina e verificaram que os extratos do sorgo negro foi mais eficiente ao induzir a atividade da enzima de fase II por meio do ensaio NAD(P) H: quinase oxido redutase, na inibição do crescimento de células humanas de câncer de colón.

Li Wu *et al.* (2011) avaliaram as atividades antioxidante e antitumoral de um extrato etanólico de sorgo rico em procianidina (PARE) em camundongos com estresse oxidativo induzido pela d-galactose e portadores de carcinoma de pulmão de Lewis. A administração de PARE reverteu significativamente o estresse oxidativo, aumentando as atividades de enzimas antioxidantes. Além disso, a administração de PARE inibiu o crescimento tumoral e a formação de metástases suprimindo a produção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).

Suganyadevi, Saravanakumar e Mohandas (2013) investigaram a atividade antiproliferativa da 3-desoxiantocianina extraída de farelo de sorgo vermelho na linhagem de células de câncer de mama humano (MCF 7) em estudos citotóxicos. Os dados indicaram que as antocianinas de sorgo apresentaram 84,09% de inibição na proliferação de células MCF 7.

Ryu *et al.* (2018) confirmaram o efeito antineoplásico do extrato acetático de sorgo em hiperplasia prostática benigna (HPB) induzida em ratos Spragye-Dawley usando testosterona exógena. O extrato acetático do sorgo inibiu o ganho de peso da próstata mostrando ter potencial antitumoral.

2.5 CÂNCER DE MAMA

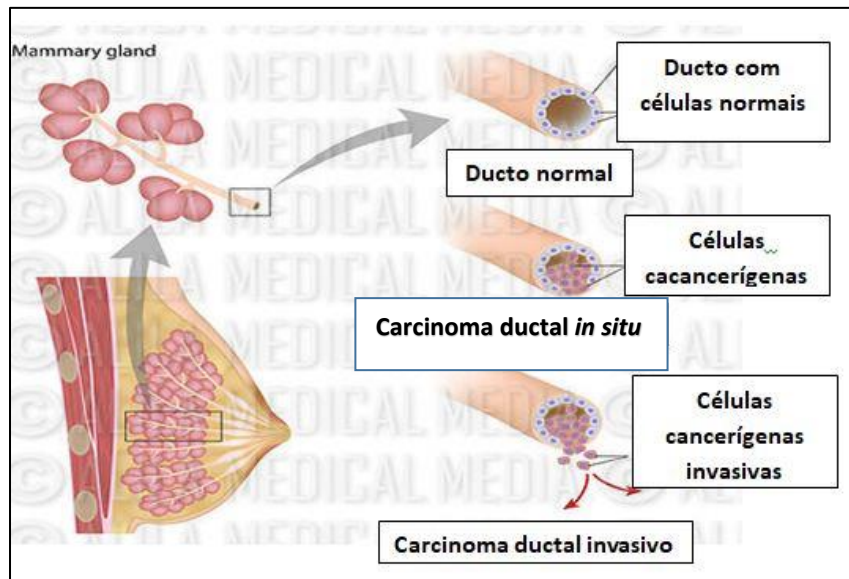
O câncer de mama é a neoplasia mais incidente, com exceção do câncer de pele não melanoma, e de maior mortalidade em mulheres. No Brasil as regiões Sul e Sudeste apresentam as maiores taxas. É uma doença multifatorial sendo possível diagnosticar de muitas maneiras. O tratamento mais comum envolve cirurgia, radioterapia e quimioterapia (INCA, 2022).

Os carcinomas de mama podem ser classificados como *in situ*, quando as células malignas estão restritas ao local em que surgiram, podendo apresentar-se nos ductos (carcinoma ductal) como mostra a Figura 3, ou nos lóbulos (carcinoma lobular) (Figura 4). Quando se manifestam de forma invasiva, ultrapassam os limites dos ductos e dos lóbulos e se espalham por tecidos e órgãos vizinhos (FiguraS 3 E 4) (INCA, 2022). O carcinoma ductal invasivo é o tipo de câncer de mama mais comum e compreende entre 80 e 90% do total de casos (INCA, 2022).

O câncer de mama metastático é uma doença heterogênea, varia muito em relação às manifestações clínicas, órgãos acometidos, tratamento e sobrevida sendo a principal causa de óbito nas mulheres com neoplasia mamária. A metástase óssea é a mais frequente no câncer de mama a qual apresenta considerável morbidade e redução da qualidade de vida. Estudos mostraram que o uso de bifosfonados e, mais recentemente, de anticorpos monoclonais, reduz as complicações esqueléticas associadas à metástase óssea, apresentando melhores resultados se iniciados precocemente e mantidos por tempo prolongado (BRUM *et al.*, 2017).

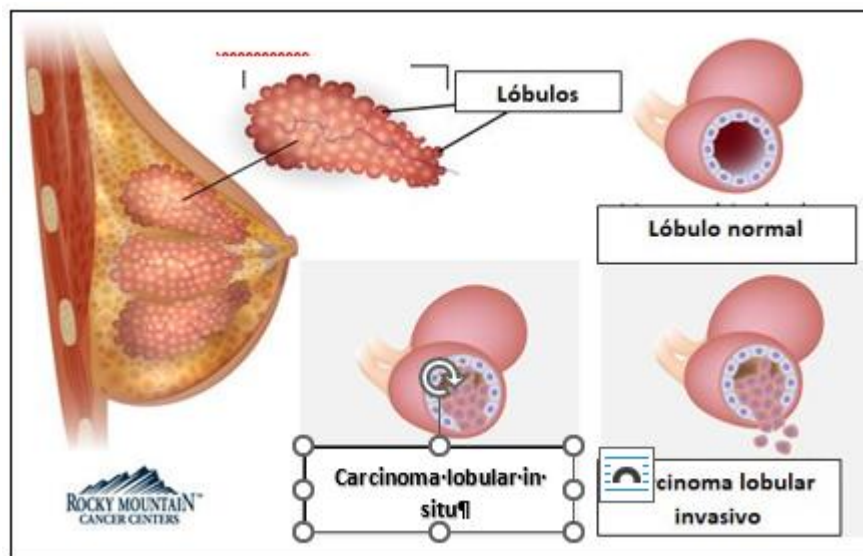
O percentual dos locais mais acometidos por metástase a distância no câncer primário da mama são 51% dos casos o osso, seguido de 17% para o pulmão, 16% para o cérebro e 6% para o fígado (FERREIRA *et al.*, 2002).

Figura 3 - Carcinomas Ductal



Fonte: A Autora (2022).

Figura 4 - Carcioma lobular



Fonte: A Autora (2022).

O sinal mais comum do câncer de mama é o surgimento do nódulo que geralmente é indolor, rígido e irregular. Outros sinais da doença são o edema cutâneo semelhante à casca de laranja, retração cutânea, dor, inversão do mamilo, hiperemia, descamação ou ulceração do mamilo e secreção papilar (INCA, 2022).

O câncer de mama feminino é a quinta principal causa de morte no mundo, com 627.000 mortes, é também a principal causa de morte por câncer em mulheres, com

15,0% mortes, seguido pelo câncer de pulmão com 13,8% e o câncer colo retal com 9,5%. No Brasil, excluídos os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama também é o mais incidente em mulheres em todas as regiões, exceto na região Norte, onde o câncer do colo do útero ocupa a primeira posição. Para o ano de 2021 foram estimados 620,000 novos casos de câncer de mama. As regiões Sul e Sudeste são as que apresentam as maiores taxas, com um risco estimado de 81,06 e 71,16 respectivamente por 100 mil; de 45,24 por 100 mil na Região Centro-Oeste; de 44,29 por 100 mil na Região Nordeste; e de 21,34 por 100 mil na Região Norte (INCA, 2022). A incidência do câncer de mama tende a crescer progressivamente a partir dos 40 anos, assim como a mortalidade por este.

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de mama relacionam-se curtos períodos de amamentação, idade precoce de menarca, idade avançada de menopausa, obesidade e sobrepeso, inatividade física, sedentarismo, tabagismo, alcoolismo, ingestão de hormônios como estrogênios e histórico familiar (JERÔNIMO; FREITAS; WELLER, 2017).

2.5.1 O tumor de mama triplo negativo

Os carcinomas de mama triplo negativos (CNT) são neoplasias malignas clinicamente heterogêneas que não apresentam receptores para estrógeno, progesterona e superexpressão do HER2 (ERBB2 ou NEU) são responsáveis por aproximadamente 20% de todos os casos de câncer de mama e apresentam maior frequência em pacientes com idade inferior a 50 anos. Apresenta um perfil tumoral agressivo com diminuição da sobrevida de pacientes, possui evolução rápida, com prevalência de metástases viscerais (pulmão e cérebro), com altas taxas de morte prematura (de 3 a 5 anos da doença) evoluindo rapidamente do início das metástases até a morte (BONFIM; MEYER, 2012; CHACÓN & COSTANZO, 2012; BROUCKAERT *et al* 2012). Como o tumor de mama triplo negativo não responde efetivamente à terapia endócrina e terapia direcionada a anti-HER2 (SCHMID, ADAMS, RUGO, 2018) um diagnóstico preciso da doença é importante para garantir a terapia ideal para os pacientes.

2.5.2 Diagnóstico do câncer de mama

Em alguns países desenvolvidos, como os Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Holanda, Dinamarca e Noruega, observa-se um aumento da incidência do câncer de mama acompanhado de uma redução da mortalidade por este, fato que está associado à detecção precoce da doença e oferta de tratamento adequado (INCA, 2022). Diferentemente do que ocorre no Brasil, onde o aumento da incidência tem sido acompanhado do aumento da mortalidade, fato atribuído principalmente, a um retardamento do diagnóstico e do tratamento (INCA, 2022). Se o câncer de mama for diagnosticado e tratado precocemente, há aumento das chances de cura.

2.5.2.1 Exame clínico das mamas

No exame clínico das mamas os tumores podem ser identificados a partir de 1 cm, se forem superficiais. Deve ser realizado em qualquer exame físico geral ou ginecológico ou sempre que a paciente relatar alguma alteração nas mamas (TAVARES, CONCEIÇÃO&SILVA, 2011). O Instituto Nacional do Câncer (INCA) preconiza que o exame clínico das mamas deve ser realizado anualmente, a partir dos 40 anos de idade, com intervalo máximo de dois anos, após os 50 anos de idade, combinado com a mamografia e anualmente a partir dos 35 anos de idade, para os grupos com risco elevado, também combinado com a mamografia (INCA, 2022).

2.5.2.2 Diagnóstico das lesões palpáveis

O método de escolha para avaliação por imagem das lesões palpáveis em mulheres com menos de 35 anos é a ultrassonografia e, em mulheres com idade igual ou superior a 35 anos, o método de avaliação é a mamografia. Ela pode ser complementada pela ultrassonografia nas seguintes situações:

- Nódulo sem expressão, porque a mama é densa ou porque está em zona cega na mamografia;
- Nódulo regular ou levemente lobulado, que possa ser um cisto;
- Densidade assimétrica difusa, que possa ser lesão sólida, cisto ou parênquima mamário. Se houver lesões suspeitas, deve-se buscar a confirmação do diagnóstico, que pode ser por teste citológico, por meio de punção aspirativa por

agulha fina, ou por teste histológico, por punção aspirativa por agulha grossa ou biópsia cirúrgica convencional (INCA, 2022).

2.5.2.3 Diagnóstico das lesões não palpáveis

O Colégio Americano de Radiologia criou um sistema padronizado para relato dos resultados de mamografia, também recomendado pelo Colégio Brasileiro de Radiologia (CBR), o Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS) que inclui sete categorias: (0) a avaliação é incompleta e avaliação adicional por imagem é necessária; (1) Negativo: não existe nenhuma anormalidade apreciável a ser relatada; (2) Achados benignos (calcificações benignas, nódulos linfáticos intramamários e fibroadenomas calcificados); (3) Achados provavelmente benignos: anormalidades que possuem elevada probabilidade de serem benignas; (4) Anormalidade suspeita: biópsia deve ser considerada; (5) Altamente sugestiva de malignidade: biópsia é fortemente recomendada; (6) Diagnóstico confirmado de malignidade (*American College of Radiology*, 2022).

A conduta nas lesões não palpáveis segue a proposta do *Breast Image Reporting and Data System* (BI-RADS®), um sistema que propõe padrões de classificação para exames de imagem das mamas. Nos casos Categoria BI-RADS® 3 (exames com achados provavelmente benignos, mas sem total segurança), devem ser realizados controles radiológicos com intervalo semestral por 3 anos, seguidos de dois controles com intervalo anual. O estudo histopatológico das lesões BI-RADS® 3 está indicado nas situações em que houver impossibilidade de manter o acompanhamento, quando a lesão for encontrada em concomitância com lesão suspeita ou altamente suspeita homo ou contralateral, ou em mulheres com indicação precisa para terapia de reposição hormonal (INCA, 2022).

Nas lesões Categoria BI-RADS® 4 (exame que pode ser um câncer, mas que não necessariamente é um câncer) e BI-RADS® 5 (exames com alteração na mamografia, com quase certeza de ser um câncer), é indicado o estudo histopatológico, que pode ser realizado por meio de punção por agulha grossa ou mamotomia, ou biópsia cirúrgica. Por tratar-se de lesão não palpável, a biópsia cirúrgica pode ser guiada por raios X ou por ultrassonografia (INCA, 2022)

Nas lesões Categoria BI-RADS® 4, nos casos de procedimento adequado deve-se fazer dois controles radiológicos com intervalo semestral, seguidos de dois controles com intervalo anual. Nos casos não adequados, indicar biópsia cirúrgica.

Nas lesões Categoria BI-RADS® 5, se o resultado histopatológico for benigno, deve-se proceder à investigação com biópsia cirúrgica, tanto nos casos de procedimento adequado quanto nos casos de procedimento não adequado (INCA, 2022). Lesões que necessitam avaliação adicional com, por exemplo, ultrassonografia, são classificadas na categoria 0, e aquelas que têm diagnóstico histopatológico maligno previamente confirmado, na categoria 6 (PRADO; GUERRA, 2010).

2.5.2.4 Pesquisa de linfonodo sentinela

Um dos fatores importantes no câncer de mama é a presença ou ausência de metástases nos linfonodos já que na maioria dos casos o câncer se dissemina inicialmente para esta região. A mamografia é de extrema importância para o diagnóstico precoce o câncer de mama. No entanto, mesmo que os linfonodos não estejam aumentados, eles precisam ser investigados e isto pode ser feito através de biópsia ou cirurgia, a biópsia é mais indicada por ser menos invasiva, porém isto não descarta a possibilidade de uma dissecação do linfonodo axilar (ONCOGUIA, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O Linfonodo sentinela é definido como o primeiro linfonodo que recebe a drenagem linfática do tumor, sua biópsia pode evitar linfadenectomia axilar e possíveis consequências funcionais do membro superior homolateral. A biópsia do linfonodo sentinela pode conservar a axila e a realização de tal procedimento envolve medicina nuclear, patologistas e equipe cirúrgica. Para este procedimento é realizada a injeção do radiofármaco que atua na identificação do linfonodo comprometido e então é realizada a cirurgia na qual o linfonodo é retirado e levado para análise. Se este gânglio estiver livre do câncer, a paciente estará livre da ressecção dos restantes dos gânglios da axila. Tal procedimento pode ser realizado no momento da mastectomia ou da cirurgia conservadora da mama, mas pode ser realizada separadamente (ONCOGUIA, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2004).

2.5.2.5 Cintilografia mamária

A cintilografia da mama é um método utilizado para diagnosticar o câncer de mama, sendo capaz de diferenciar lesões malignas de benignas, avaliar a malignidade do tumor bem como prever a resposta à quimioterapia. O radiofármaco mais utilizado na cintilografia mamária é o ^{99m}Tc -MIBI. Este fixa-se nas mitocôndrias, principalmente de células malignas, por realizarem maior replicação celular. Lesões com maior atividade metabólica possuem maior afinidade com o radiofármaco. A cintilografia da mama é realizada após punção venosa e administração do radiofármaco, o qual se concentra no órgão a ser avaliado onde emite radiação e é detectado por uma câmara gama, posteriormente é transformado em imagem. São realizadas imagens laterais e obliquas posteriores das mamas e anterior do tórax. Cada imagem tem duração de 5 a 10 minutos. Este exame pode ser realizado tanto em uma *Single Photon Emission Tomography and the Computed Tomography* (SPECT-CT) que é o mesmo que uma Tomografia por Emissão de Fóton Único acoplada a uma Tomografia Computadorizada (INSTITUTO VENCER O CÂNCER, 2020; HENRIQUES, 2016).

2.5.2.6 SPECT/CT (Single Photon Emission Computed Tomography/ Computerized Tomography)

No que diz respeito as investigações oncológicas as duas principais técnicas mais sofisticadas de obtenção de imagem molecular são a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (*Single Photon Emission Tomography*, SPECT) e a tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (*Positron Emission Tomography*, PET) (ZIESSMAN *et al.*, 2015). A Tomografia Computadorizada de Emissão de Fóton Único combinada com a Tomografia computadorizada traduz informações moleculares e metabólicas para uma ampla gama de doenças. Possui como vantagem melhorar o estadiamento, o prognóstico e o planejamento do tratamento e o monitoramento de uma ampla variedade de doença que inclui o câncer de mama (ISRAEL *et al.*, 2019).

Os estudos SPECT/CT usam radiofármacos marcados com um emissor de fóton único (neste caso, um radioisótopo que emite fótons gama por cada decaimento radioativo) (ZENG *et al.*, 2006). A tecnologia SPECT/CT possui um sistema híbrido que combina um SPECT com um CT. A aquisição de informação desse sistema se dá

pela presença de detectores gama câmara de duas cabeças para detectar os fótons provenientes dos radiofármacos (sistema SPECT) alinhados de maneira contrária à fonte de raios X e seu detector (sistema CT) evitando, assim, danos aos detectores SPECT que utilizam baixa taxa de contagem de fótons (MARIANI *et al.*, 2010). Os raios gama que incidem do paciente interagem com os detectores produzindo a cintilação. Os fótons são coletados pelas fotomultiplicadoras gerando um sinal elétrico que será multiplicado em forma de um pulso que será registrado e processado por softwares específicos de reconstrução de imagem (SÁ, 2015).

O SPECT possui aplicações na oncologia na identificação de tumores malignos, permitindo uma maior definição do tumor, localização anatômica e massa tumoral (DELBEKE *et al.*, 2009; SCHILLACI, 2005). No entanto, o uso do sistema híbrido SPECT/CT em pacientes com câncer de mama apresenta melhor efeito na detecção de metástases ósseas e no diagnóstico diferencial de lesões benignas e extraesqueléticas, bem como no mapeamento preciso da drenagem linfática da mama, antes de realizar a biopsia do linfonodo sentinela radioguiada (SIMANEK & KORANDA, 2016).

O tecnécio-99m (^{99m}Tc) é um dos radionuclídeos mais usados em SPECT (ACTON *et al.*, 1999). Os raios gama com uma energia de fótons de cerca de 140 keV emitidos por esse elemento radioativo (^{99m}Tc) podem ser detectados e o elemento radioativo eliminado do corpo rapidamente pois de sua meia-vida é de 6 horas. O ^{99m}Tc é gerado pelo gerador Molibdenio-99 / Tecnécio-99m ($^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$) e não requer o ciclotron (SCHECHTER *et al.*, 2007).

2.5.3 Radiofármacos

A maioria dos radiofármacos é uma combinação de um nuclídeo radioativo, ou radionuclídeo, com uma molécula biologicamente ativa ou fármaco que age como carregador determinando a localização e biodistribuição do radionuclídeo no indivíduo (ZIESSMAN, 2014).

Os radiofármacos utilizados para diagnóstico em SPECT são aqueles que emitem radiação gama como, por exemplo, o ^{99m}Tc e o ^{131}I .

2.5.3.1 MDP- ^{99}Tc

O ^{99m}Tc -MDP, é utilizado na realização de cintilografia óssea. Estudos clínicos têm demonstrado que o ^{99m}Tc -MDP, também pode ser utilizado na avaliação de doenças não oncológicas, como osteomielite, doença de Perthe, necrose avascular, doenças metabólicas, artropatias, fibrodysplasia e outras doenças congênitas raras. Fraturas por estresse, perda ou infecção de próteses articulares, dor lombar ou sacral, síndrome do reflexo simpático e qualquer outra lesão óssea. No que se refere a oncologia, tal radiofármaco pode ser utilizado para estadiamento, avaliação de respostas a terapia e seguimentos de tumores ósseos primários (IPEN, 2020). Também é utilizado principalmente para detectar metástases óssea em pacientes com câncer de mama (TOGNI, 2000).

Metástases ósseas ocorrem em até 70% dos pacientes com câncer de mama avançado, fato que torna a doença incurável, suas consequências incluem dor óssea, hipercalcemia com risco de vida, fraturas patológicas e compressão medular (WEILBAECHER; GUISE & MCCAULEY, 2011).

2.5.4 Tratamento do câncer de mama

O tratamento do câncer de mama varia de acordo com os aspectos do tumor e o aspecto do paciente. Em relação ao tumor, são levados em consideração os receptores de estrógenos, receptores de progesterona, expressão de Her-2, grau histológico, invasão vascular ou angiolinfática e, em alguns casos, o perfil gênico. Em relação ao paciente são levados em consideração o estado menopausal, a idade, comorbidades e graus de compreensão e sociocultural (KALIKIS; GIGLIO, 2007).

De acordo com o INCA, (2017), quando o câncer de mama é diagnosticado no início, o tratamento tem maior potencial de cura, já quando existem metástases, o tratamento tem por objetivo principal prolongar a sobrevida e melhorar a qualidade de vida do paciente. As modalidades de tratamento podem ser divididas em duas, tratamento local (cirurgia, radioterapia e reconstrução mamária) e tratamento sistêmico (quimioterapia, hormonioterapia e terapia biológica).

Quando a doença se encontra no estágio I (cânceres relativamente pequenos e não disseminados para os linfonodos ou com apenas uma pequena área de câncer disseminada no linfonodo sentinela) e estágio II (cânceres maiores que os do estágio I e/ou se disseminados para os linfonodos), habitualmente, a conduta adequada consiste em cirurgia conservadora (com retirada apenas do tumor) ou mastectomia

(com retirada da mama e reconstrução mamária). A avaliação dos linfonodos axilares tem função predominantemente prognóstica. Após a cirurgia, o tratamento complementar indicado é a radioterapia e a reconstrução mamária que deve ser sempre considerada nos casos de mastectomia. O tratamento sistêmico será determinado de acordo com o risco de recorrência (idade da paciente, comprometimento linfonodal, tamanho tumoral, grau de diferenciação), assim como das características tumorais que ditarão a terapia mais apropriada estas se baseiam na mensuração dos receptores hormonais (receptor de estrogênio e progesterona), nesse caso a hormonioterapia pode ser indicada e também na HER-2 (fator de crescimento epidérmico 2), neste caso o tratamento indicado será a terapia biológica anti-HER-2 (INCA, 2017).

Quando a doença se encontra nos estádios III (pacientes com tumores maiores, porém ainda localizados), a conduta indicada é o tratamento sistêmico, que tem como quimioterapia a modalidade terapêutica inicial, após resposta terapêutica adequada segue-se para o tratamento local (cirurgia e radioterapia) (INCA, 2017).

No estágio IV (câncer de mama avançado), o tratamento sistêmico é o indicado, sendo o tratamento local, reservado para indicações restritas. A decisão terapêutica deve buscar o equilíbrio entre a resposta tumoral e o possível prolongamento da sobrevida, levando-se em consideração os potenciais efeitos colaterais decorrentes do tratamento (INCA, 2017).

Existem ainda, terapias alternativas, que são um conjunto de práticas de prevenção, diagnóstico e tratamento, à parte do modelo de práticas convencionais. Estima-se que mais de 60% de todos os pacientes com câncer usam métodos alternativos de tratamento no curso de sua doença os quais inclui o uso de plantas medicinais (ELIAS; ALVES, 2002; ARAÚJO; OLIVEIRA; CORIOLANO, 2007). As plantas utilizadas por pacientes em tratamento oncológicos, por muitas vezes, não possuem estudos que comprovem sua eficácia e/ou possíveis efeitos adversos desagradáveis, tóxicos ou interação com os medicamentos convencionais em uso (AMORIM *et al.*, 2015).

Os vegetais possuem muitos compostos com propriedades antioxidantes como flavonoide e ácidos fenólicos (DEL; JORGE, 2012). A capacidade antioxidante é considerada há anos como principal defesa contra os estágios iniciais do processo de mutagênese. Compostos antioxidantes sequestram espécies reativas de oxigênio (ROS), diminuem o dano oxidativo do DNA, estimulam enzimas antioxidantes e

aumentam a reparação do DNA. Muitos estudos evidenciam a capacidade de compostos vegetais em modular os processos celulares ligados à progressão do câncer, como proliferação celular, diferenciação, apoptose, parada do ciclo celular, comunicação intracelular, inflamação e angiogênese (AMATORI, 2016).

2.6 INFLAMAÇÃO

A inflamação é um mecanismo de defesa do corpo do hospedeiro que permite ao mesmo sobreviver durante a infecção ou lesão (IWALEWA, MCGAW, NAIDOO, ELOFF, 2007; ADEGBOLA *et al.*, 2017).

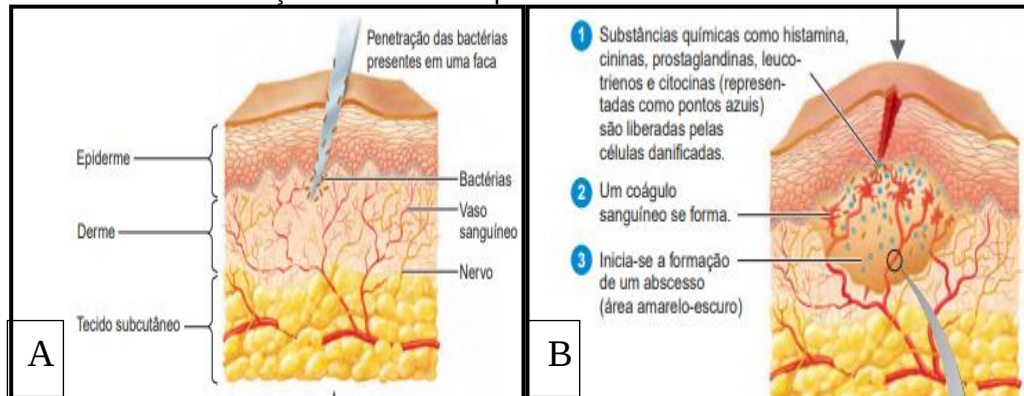
Durante os estágios iniciais da inflamação, estruturas microbianas como a flagelina, o lipopolissacarídeo (LPS) e o DNA bacteriano estimulam os TLRs (toll-like receptors ou receptores Toll-Like) dos macrófagos a produzirem citocinas, como o fator de necrose tumoral α (TNF- α , de tumor necrosis factor α) (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016). Geralmente, a inflamação é caracterizada por quatro sinais e sintomas como dor, calor, rubor e tumor, podendo algumas vezes apresentar um quinto sintoma como a perda da função (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

Imediatamente após uma lesão tecidual, os vasos sanguíneos se dilatam na área do dano e sua permeabilidade aumenta Figura 5 (A e B). A dilatação dos vasos sanguíneos aumenta o fluxo de sangue para a área afetada e é responsável pelo rubor (eritema) e também pelo calor. O aumento da permeabilidade permite que o fluido se mova do sangue para os espaços no tecido formando o edema (acúmulo de fluido) da inflamação. A dor na inflamação pode ser causada por dano ao nervo, irritação por toxinas ou pressão do edema Figura 5 (A e B). Os fagócitos se fixam no local de inflamação e então começam a destruir os micro-organismos pela fagocitose, Figura 6 (C). Certas substâncias químicas atraem os neutrófilos para o local da lesão (quimiotaxia). Essas substâncias incluem compostos químicos produzidos por micro-organismos e por outros neutrófilos, outras substâncias são as cininas, leucotrienos, quimiocinas (citocinas) e componentes do sistema de complemento. Os monócitos tornam-se macrófagos livres, após os granulócitos ou macrófagos terem engolido grandes quantidades de micro-organismos e tecido danificado, eles finalmente morrem, forma-se o pus.

A febre também é uma resposta importante da inflamação causada frequentemente pela infecção por bactérias, ou por suas toxinas, ou vírus. O estágio

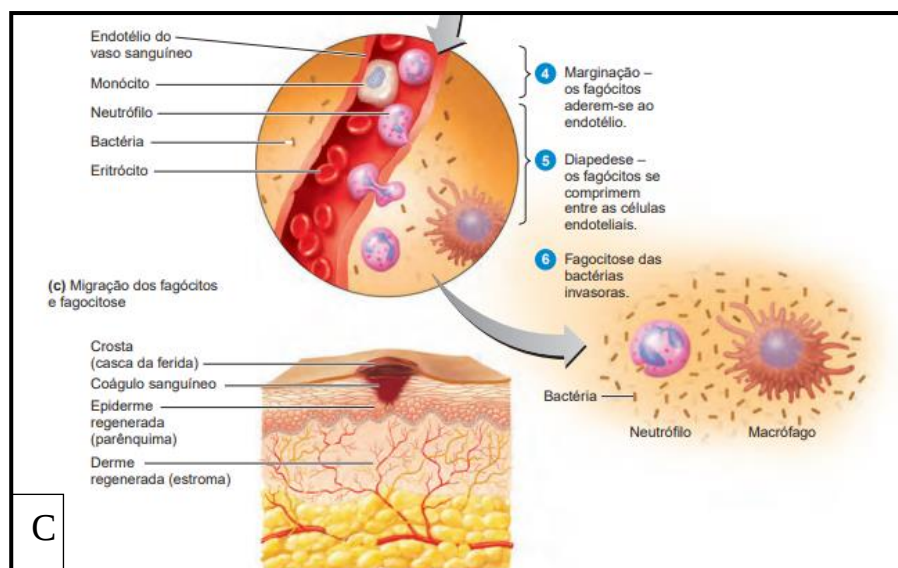
final da inflamação é o reparo tecidual, o processo pelo qual os tecidos substituem as células mortas ou danificadas (figura C) (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

Figura 5 (A e B) - Processo inflamatório: Dano a um tecido sadio, nesse caso a pele, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.



Fonte: Tortora; Case; Funke (2016).

Figura 6 - O processo inflamatório: (C) migração dos fagócitos e fagocitose das bactérias e debris celulares por macrófagos e neutrófilos. Os macrófagos se originam dos monócitos e reparo do tecido danificado.



Fonte: Tortora; Case; Funke (2016).

A inflamação pode ser aguda ou crônica. A inflamação aguda possui resposta imediata e específica, caso essa resposta específica não solucione o processo inflamatório, é organizada uma resposta de acordo com o agressor, através da imunidade adaptativa. A não resolução gera a cronicidade (Inflamação crônica) (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

A iniciação da resposta imunológica aguda é decorrente da ativação de receptores, denominados de PRPs (receptores de reconhecimento de padrões), que podem ser transmembranares (CLRs, TLRs), citosólicos (NLRs, RLRs) ou solúveis (complemento, colectinas, ficolinas). Estes receptores estão presentes principalmente em células da imunidade inata: macrófagos, células dendríticas e mastócitos (ABBAS, LICHTMAN, 2008). Estes receptores reconhecem Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs), geralmente encontrados nos patógenos. Os PRPs também reconhecem os chamados padrões moleculares associados ao dano (DAMPs), sendo representados por moléculas endógenas derivadas do dano tecidual, como fragmentos de DNA e ATP expostos no meio extracelular (CRUVINEL *et al.*, 2010; AHMED, 2011; ASHLEY; WEIL; NELSON, 2012). A ativação dos PRPs resulta na transcrição de genes da inflamação e, conseqüentemente, a expressão de moléculas pró-inflamatórias, como citocinas (IL-1B, IL-6 e TNF-Y), quimiocinas e outras moléculas coestimuladoras. A liberação desses mediadores gera o recrutamento de leucócitos para o sítio inflamatório e sua conseqüente ativação, simultaneamente são liberados mediadores pró-inflamatórios ocorrendo à produção de anti-inflamatórios com objetivo de regular e limitar o processo de inflamação (WARD, 1999; AHMED, 2011; BUCKLEY; GILROY; SERHAN, 2014).

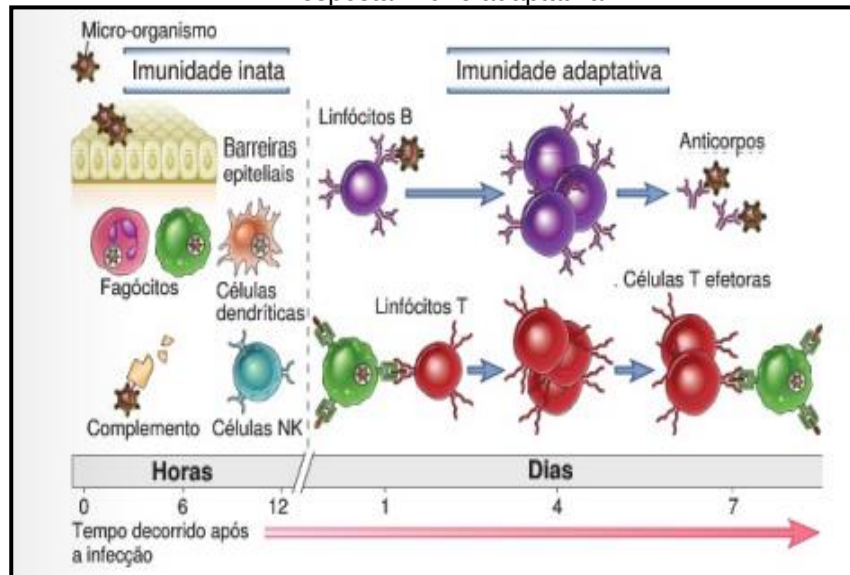
Células fagocitárias do sítio inflamatória liberam proteases e substâncias tóxicas (ROS e RNS) contra os microrganismos, eliminando-as, iniciando o processo de resolução. Os sinais que levaram a ocorrência da resposta inflamatória são cessados, ocorre o fim do recrutamento de leucócitos, catabolismo dos mediadores inflamatórios restantes, apoptose dos leucócitos remanescentes, ação dos macrófagos para fagocitar os “restos” da atividade inflamatória, drenagem linfática do local e inicia-se o processo de reparo do tecido (ASHLEY; WEIL; NELSON, 2012; IQBAL; FISHER; GREAVES, 2016).

2.6.1 Imunidade

A defesa do corpo é mediada por reações inatas e adaptativas. A imunidade inata está relacionada aos mecanismos de defesa inicial do organismo. Onde tais mecanismos reagem aos micro-organismos e aos produtos da célula lesionada. Seus principais componentes são (neutrófilos e macrófagos) células dendríticas e células assassinas naturais (NK) as proteínas denominadas de citocinas (ABBAS,

LICHTMAN, 2008) (Figura 7).

Figura 7 - Mecanismos da imunidade inata que fornece a defesa inicial contra infecções com posterior resposta imune adaptativa.



Fonte: Abbas; Lichtman (2008).

Existem dois tipos de respostas imunes adaptativas: imunidade humoral e imunidade celular. A imunidade humoral é mediada por moléculas no sangue e nas secreções das mucosas que são produzidas pelos linfócitos B. Os anticorpos reconhecem os antígenos, neutralizam e eliminam os mesmos. O anticorpo liga-se a uma célula de defesa e então é desencadeada a liberação de mediadores inflamatórios. A imunidade celular é mediada pelo linfócito T e promove a destruição das células infectadas, é induzida pela exposição do hospedeiro ao a um antígeno (ABBAS, LICHTMAN, 2008).

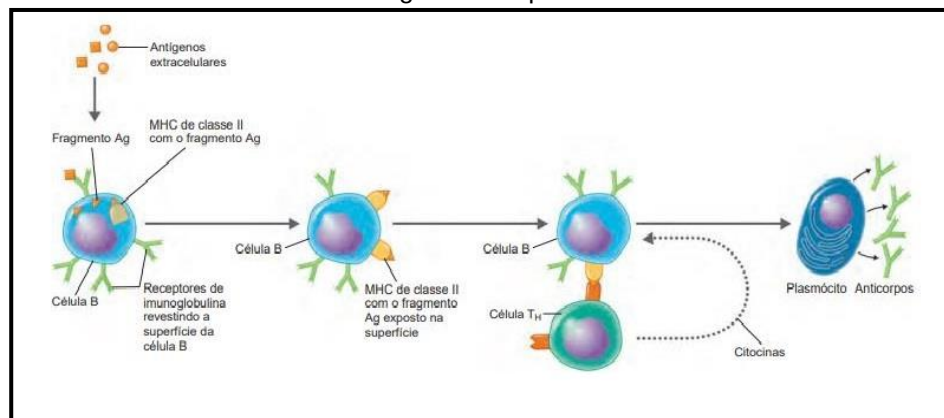
2.6.1.1 Imunidade humoral

A resposta humoral é realizada por anticorpos, que são produzidos por um grupo particular de linfócitos chamados de células B. O processo que leva à produção de anticorpos inicia quando as células B são expostas aos antígenos livres ou extracelulares. Anticorpos humorais são eficazes contra patógenos como vírus e bactérias que circulam livremente (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

As células B reconhecem antígenos e produzem anticorpos específicos contra eles. Geralmente estas células requerem a assistência de uma célula T auxiliar (Th, T helper cell). Um antígeno que requer uma célula Th para a produção de anticorpos é

conhecido como antígeno T-dependente. As células T, do mesmo modo que as células B, respondem aos antígenos através de receptores em sua superfície – receptores de células T (TCRs, de T-cell receptors). Para que os anticorpos sejam produzidos em resposta a um antígeno T-dependente, é necessário que as células B e T sejam ativadas e interajam. O processo é iniciado quando a célula B entra em contato com um antígeno (Figura 8), este entra em contato com as imunoglobulinas (IgM e IgD) na superfície da célula B, sendo processado enzimaticamente dentro dela, onde os fragmentos do antígeno são combinados com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC, de major histocompatibility complex). A combinação de fragmentos antigênicos e o MHC de classe II são então expostos na superfície das células B para que sejam identificados pelos receptores nas células T auxiliares. A célula T é ativada e começa a produzir citocinas que liberam uma mensagem para a ativação da célula B. A célula B se prolifera e algumas se diferenciarão em plasmócitos produtores de anticorpos. Outros clones da célula B ativada tornam-se células de memória de vida longa, responsáveis por uma intensa resposta secundária a um antígeno (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

Figura 8 - Ativação de células B para a produção de anticorpos, a célula B produz anticorpos contra um antígeno T- dependente



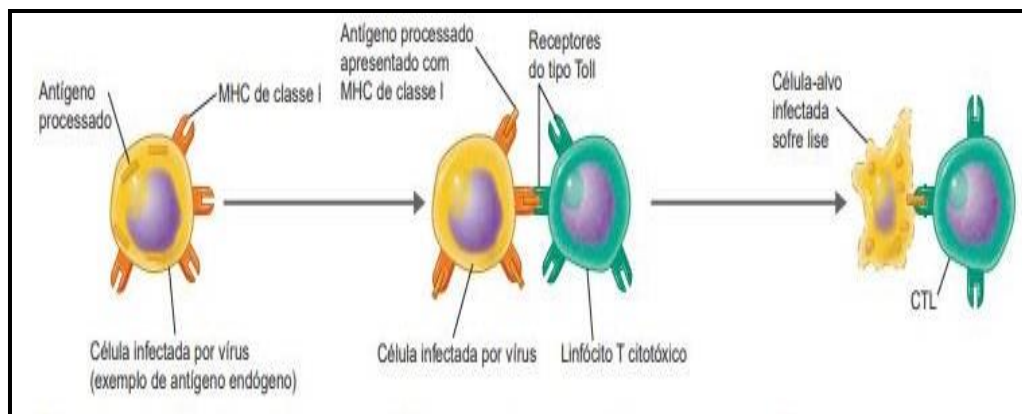
Fonte: Tortora; Case; Funke, (2016).

2.6.1.2 Imunidade Celular

O reconhecimento de antígenos por uma célula T requer que eles sejam primeiramente processados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs, de antigen-presenting cells) especializadas, após o processamento um fragmento

antigênico é apresentado na superfície da APC. Uma célula Tc (Célula T citotóxica) pode se diferenciar em uma célula efetora chamada de linfócito T citotóxico (CTL, de cytotoxic T lymphocyte). As células Th são classificadas de acordo com determinadas glicoproteínas localizadas em sua superfície, chamadas de grupos de diferenciação (CD, de cluster of differentiation) sendo classificadas como CD4+, que se ligam às moléculas de MHC de classe II das células B e APCs e no caso da imunidade celular são classificadas como CD8+ que se ligam às moléculas de MHC de classe I. A célula proliferativa Th se diferencia em populações Th1, Th2 e forma uma população de células de memória. As citocinas produzidas pelas células Th1, principalmente o IFN- γ , ativam a maior parte das células relacionadas aos elementos importantes da imunidade celular, elas são as precursoras dos CTL (linfócito T citotóxico). O CTL resultante é uma célula efetora que tem a habilidade de reconhecer e matar células-alvo que tenham sido infectadas principalmente por vírus. Ela se fixa à célula-alvo e libera uma proteína formadora de poros, a perforina induzindo a apoptose (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

Figura 9 - Morte por um linfócito T citotóxico de uma célula-alvo infectada por vírus.



Fonte: Tortora; Case; Funke (2016).

2.6.1.3 Memória imunológica

O sistema imunológico desenvolve respostas mais acentuadas a exposições repetidas ao mesmo antígeno. A resposta imunológica a primeira exposição ao antígeno é chamada de memória imunológica primária e é mediada por linfócitos

virgens. Encontros subsequentes dessas células como mesmo antígeno produz respostas chamadas de resposta imunológica secundária resultando na ativação dos linfócitos de memória. A memória imunológica faz com que o sistema imunológico combata infecções persistentes e recorrentes e gera mais células de memória (ABBAS, LICHTMAN, 2008).

2.6.2 Diagnóstico inflamatório

As provas de atividade inflamatória ou provas de fase aguda inflamatória referem-se a substâncias séricas que podem sofrer alterações em seus níveis. Os principais mediadores dessas alterações são as citocinas, produzidas em grande parte pelo fígado, entre as quais se destacam a IL-1b, o fator de necrose tumoral-alfa (TNFa), o interferon-g, e principalmente a IL-6. As provas que sofrem elevação são a proteína C reativa (PCR), a velocidade de hemossedimentação (VHS), o fibrinogênio, a alfa-1-antitripsina, a haptoglobina e a ferritina. Mas há marcadores que diminuem como a albumina e a transferrina (FULLER; SHINJO, 2010).

2.6.2.1 Proteína C-reativa Ultra Sensível (PCR)

A PCR é um marcador inflamatório, uma proteína sintetizada nos hepatócitos sob estímulo da IL-6. Havendo inflamação aguda, há elevações de seus níveis no período de seis a oito horas iniciais. Aceita-se valores da PCR abaixo de 3 mg/L, mas o ideal mesmo seria que ficasse sempre entre 0 e 1 mg/L. Quanto mais baixo (0,01 mg/L, por exemplo), melhor (YATOO, 2018).

2.6.2.2 Hemoglobina glicada

Os níveis de hemoglobina A1C (HbA1C) correlacionam-se com obesidade, inflamação e outras doenças. Desequilíbrios nos níveis de açúcar no sangue são uma causa importante de inflamação. O valor aceitável clínico fica no intervalo entre 4,8 e 5,6, enquanto o intervalo ideal é de 4,5 - 5,2 (SZWARCOWALD; ROSENFELD 2019).

2.6.2.3 Velocidade de Hemossedimentação (VHS)

É a taxa da velocidade de empilhamento espontâneo das hemácias em um período de uma hora. A presença de proteína como fibrinogênio pode acelerar este processo em quadros de inflamação aguda. Os valores ideais para mulheres com menos de 50 anos estão entre 0 e 20 mm/h, mulheres com mais de 50 estão entre 0 e 30 mm/h, homens com menos de 50 anos estão entre 0 e 15 mm/h, homens com mais de 50 estão entre 0 e 20 mm/h e crianças entre 0 e 10 mm/h (GUIMARÃES *et al*, 2013).

2.6.2.4 Insulina em jejum

A insulina é um hormônio produzido no pâncreas que tem como função transportar a glicose do sangue para as células. Quando o corpo passa a ter uma maior resistência a este hormônio, ocorre um processo de maior produção do mesmo aumentando processos inflamatórios. O intervalo clínico para a insulina em jejum é de 2,6 - 24,9 uIU/ml e o intervalo ideal é de 1,0 - 5,0 uIU/ml (GELONEZE; TAMBASCIA, 2006).

2.6.2.5 Ferritina sérica

A ferritina sérica é uma proteína marcadora que armazena o ferro corporal. Em processos inflamatórios sua síntese pode ser elevada pela atuação de citocinas que incorporam o ferro nos hepatócitos (MIRAGLIA *et al.*, 2020). A quantificação da ferritina representa uma medida precisa do ferro total do compartimento de estoque: 1 µg/L de ferritina sérica corresponde a 8 -10 mg de ferro em estoque em um indivíduo adulto (COOK, 2008)

A concentração de ferritina circulante varia de 15 a 300 µg/L. Os valores de normalidade são superiores nos homens (15 a 300 µg/L) em relação às mulheres em idade fértil (15 - 200 µg/L). Após a menopausa, esses valores são similares para ambos os sexos (WORWOOD, 1997).

2.6.2.6 Enzimas hepáticas

Alterações dos níveis de enzimas hepáticas como alanina aminotransferase (ALT) e gama-glutamil transpeptidase (GGT) podem indicar, além de outras doenças, inflamação.

2.6.3 Tratamento para inflamação

Os anti-inflamatórios são classificados em duas classes: os anti-inflamatórios esteroidais que são denominados de corticosteroides (AIEs) e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (SANDOVAL *et al.*, 2017).

Os AIEs são fármacos que simulam os efeitos do hormônio cortisol. Os principais fármacos que representam a classe de glicocorticoides são os derivados da cortisona (prednisona, prednisolona e derivados). O mecanismo que promove a transativação gênica tem início com o hormônio, que cruza a membrana citoplasmática da célula-alvo por difusão passiva. No citoplasma, os glicocorticoides ligam-se a receptores proteicos específicos (receptores de glicocorticoides), que são proteínas citoplasmáticas que atuam como fatores de transcrição, alterando a expressão dos genes alvo em resposta a um sinal hormonal específico. O complexo glicocorticoide-receptor penetra no núcleo celular no qual se liga a regiões promotoras de certos genes, denominadas elementos responsivos aos glicocorticoides, induzindo a síntese de proteínas anti-inflamatórias como a lipocortina-1 e L κ B e também de proteínas que atuam no metabolismo sistêmico (ANTI; GIORGI; CHAHADE, 2008).

Os AINEs é uma classe de anti-inflamatórios heterogênea e são inibidores da ciclo-oxigenase (COX) (BATLOUNI, 2010). Existem duas isoformas da enzima ciclo-oxigenase, designadas COX-1 e COX-2. A isoforma COX-1 é expressa de forma constitutiva na maioria dos tecidos e a COX-2 é induzida nas inflamações por vários estímulos como citocinas, endotoxinas e fatores de crescimento, originando prostaglandinas indutoras, que contribuem ao desenvolvimento do edema, rubor, febre e hiperalgesia. O processo tem início com a conversão de fosfolipídios em ácido araquidônico pela enzima fosfolipase A2. Este é convertido em prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, a partir das enzimas ciclooxigenases, alvo dos AINEs. Os efeitos adversos observados no uso indiscriminado dos AINEs se baseiam principalmente na inibição da produção de prostaglandinas, esta, quando ausente no aparelho renal culmina em efeitos como vasoconstrição arteriolar renal e redução da taxa de filtração glomerular, podendo levar a distúrbios hidroeletrólíticos, síndrome

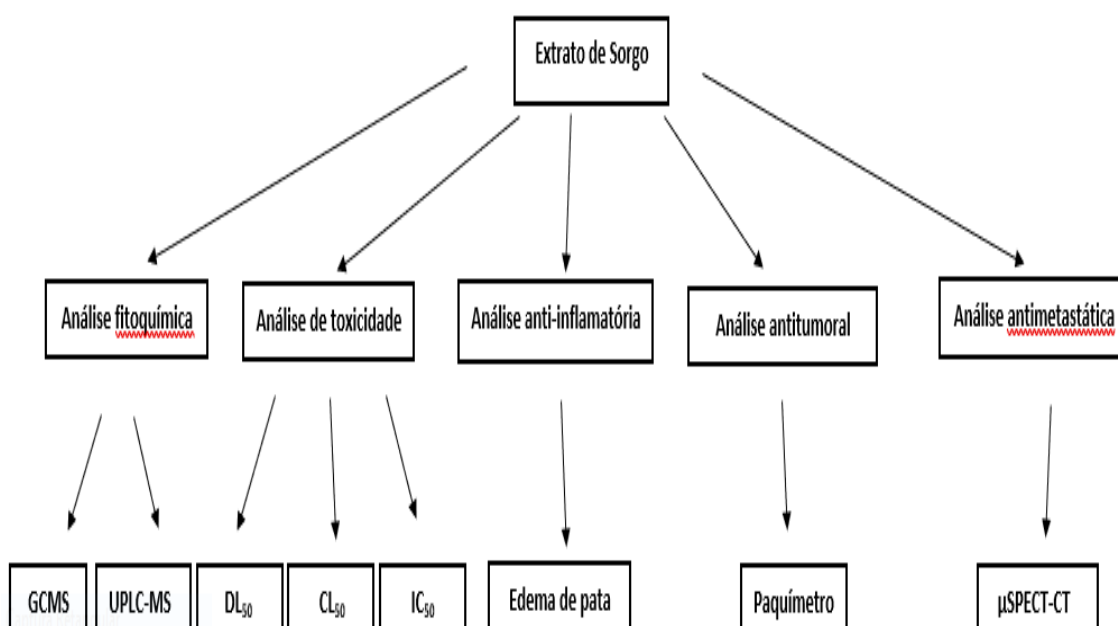
nefrótica e insuficiência renal aguda (IRA) (MELGAÇO *et al.*, 2010). Os efeitos colaterais dos AINEs ocorrem no aparelho gastro intestinal com efeitos como dor abdominal, diarreia e azia. Esses efeitos resultam do bloqueio da COX-1 na mucosa gastrointestinal e na consequente inibição da produção de prostaciclina e prostaglandinas (PGE2 e PGD2) no estômago que em doses elevadas ou administração prolongada ocorrem efeitos adversos graves como: Síndrome de Cushing, hiperglicemia, desgaste muscular, osteoporose, glaucoma entre outros (RANG *et al.*, 2016).

Segundo Ribeiro *et al.* (2018), 70 plantas brasileiras possuem ação anti-inflamatória significativa a partir de dados experimentais com compostos obtidos de extratos brutos ou isolados. Os anti-inflamatórios não esteroides ou esteroidais são as drogas mais utilizadas no tratamento de distúrbios inflamatórios agudos ou crônicos, mas se usados exacerbadamente causam efeitos colaterais como descritos anteriormente (YOUNG & MARSH, 2018; WEI *et al.*, 2019). As plantas medicinais podem ser uma boa alternativa para o tratamento de inflamação por oferecerem baixo custo, acesso fácil e poucos efeitos colaterais (TUNGMUNNITHUM *et al.*, 2018; SKALLI *et al.*, 2019).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para que fosse realizada a avaliação anti-inflamatória e antitumoral do extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench, foi realizado primeiramente o preparo do extrato, após isto, seguiu-se para a análise do perfil fitoquímico que incluiu a Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS) e Cromatografia Líquida de Ultra Performance Acoplada a um Espectrômetro de Massas (UPLC-MS), posteriormente foi realizada a avaliação da toxicidade que incluiu a avaliação da toxicidade através da *Artemia Salina* e determinação da CL₅₀, o teste de viabilidade celular por sulforrodolina B e a avaliação da toxicidade aguda e determinação da DL₅₀. A avaliação anti-inflamatória foi realizada através do teste de edema de pata induzido por carragenina e a avaliação antitumoral foi realizada após a inoculação de tumores com uso de paquímetro. Por fim, foi feita a busca por metástase óssea através de imagens em μ PET/SPECT/CT como mostra o esquema abaixo.

Figura 10 - Esquema da metodologia



Fonte: A Autora (2022).

3.1 PREPARO DO EXTRATO

Para obtenção do extrato do vegetal, foi adicionado 1 kg de grãos de sorgo (cultivar IPA-467), obtido do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA, em 2 L de etanol a 99,9 %, posteriormente essa mistura foi triturada com etanol em moinho de facas em seguida deixado em repouso por 10 dias, livre da luz, em temperatura ambiente. Após este processo, o extrato foi filtrado em papel filtro e concentrado a vácuo em um rotaevaporador na temperatura de 70°C e posteriormente liofilizado.

3.2 ANÁLISE DO PERFIL FITOQUÍMI

3.2.1 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)

Antes da análise, as amostras foram tratadas com N, O-Bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) em piridina (30 min a 70°C) para transformar todos os

compostos contendo hidroxila no trimetilsililo correspondente (TMSi). A análise quantitativa foi registrada utilizando um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC-17A, Kyoto, Jap) equipado com um detector de ionização por chama e uma coluna capilar VB-5 (30 m x 0,25 mm 0,25 μ m). A temperatura inicial do GC foi de 70°C por 4 min, aumentada em 4°C / min até 280°C e mantida por 15 min. As temperaturas do injetor e detector foram ajustadas em 280°C. O hélio foi usado como gás de arraste a um fluxo de 0,8 mL/min e Split de 1:50. Para a identificação de compostos no material estudado foi utilizada a espectrometria de massa (MS) com ionização de elétrons (EI) a 70 eV, operando no modo de aquisição de varredura completa na faixa de 30 a 400 m / z. Os picos foram identificados por tempos de retenção semelhantes aos padrões conhecidos na literatura e pela comparação de seus espectros de massa de padrões e compostos no NIST11.lib (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, Gaithersburg, MD) (BORTOLUZZI, 2003).

3.2.2 Cromatografia líquida de ultra performance acoplada a um espectrômetro de massas (UPLC-MS)

A cromatografia foi realizada com um cromatógrafo líquido de ultra performance acoplado a um espectrômetro de massas (UPLC-MS) Acquity H-Class (Waters). Foi empregada uma coluna BEH 2,1 x 100 mm e tamanho de partícula de 1,7 μ m. As fases móveis utilizadas consistiram de solução aquosa contendo 2% de MeOH, 5 mM de formiato de amônio e 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e solução metanólica contendo 0,1% de ácido fórmico (eluente B), que foram bombeadas a uma vazão de 0,3 mL/min. A eluição foi realizada em modo gradiente e a condição inicial (98% A/ 2% B) foi mantida por 25 minutos. A proporção de B foi aumentando linearmente para 99% em 8min30, se mantendo em 99% de B por um minuto, seguida da imediata diminuição para 2% de B, onde foi mantida até 11 minutos. 10 μ L de amostras foram injetados. A temperatura da coluna foi mantida a 40 °C. O sistema UPLC foi acoplado a um espectrômetro de massa Single Quadrupolo SQ Detector 2 (Waters). A tensão do capilar foi de 3,5 kV, a tensão do cone 30 V, a temperatura de dessolvatação foi de 450°C, com fluxo de gás da fonte de 650 L/h. A aquisição dos dados foi feita em modo fullscan, buscando massas entre 100 e 1000 Da (LOPES, 2020).

3.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE

3.3.1 Avaliação da toxicidade por *Artemia Salina* e determinação da CL₅₀

O ensaio foi realizado segundo a metodologia de Meyer *et al.*, (1982). Os cistos de *Artemia* foram colocados para eclodir em um recipiente contendo água do mar em incubadora, a 25°C, com iluminação artificial e aeração constante. O recipiente com cistos de *Artemia* foi protegido da luz com papel alumínio por 48 horas.

Após a eclosão, foram colocadas 10 larvas em sua fase náuplio, em triplicatas de tubos de ensaio com auxílio de uma pipeta pasteur, cada tubo continha 9 ml de água do mar e um ml de extrato etanólico de sorgo em diferentes concentrações: 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL numa solução estoque de água destilada e tween 80 a 10%. Foi utilizado como controle negativo apenas água do mar contendo 10 larvas, sem adição do extrato, também em triplicatas.

Foram contadas as Artemias vivas e mortas após 24 horas, considerando-se mortos aqueles microcrustáceos que não se movimentaram durante a observação com a leve agitação do frasco. A quantidade de larvas mortas foi relacionada às diferentes concentrações do extrato.

Os resultados foram submetidos à análise estatística para determinar a concentração letal média (CL₅₀) do extrato estudado através do *Probit Analysis-Finney method (Lignormal distribution)*.

3.3.2 Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL₅₀

3.3.2.1 Aspectos éticos

Foram utilizados 6 camundongos albinos Swiss fêmeas (*Mus musculus*), com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 hora cada), em temperatura de 25 °C e umidade de 55% (± 5), em gaiolas de polipropileno, onde receberam ração e água *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEa) do Centro de Biociências da UFPE com número de registro 23076.021843/2018-07.

3.3.2.2 Toxicidade Aguda

O ensaio foi realizado de acordo com a metodologia da Organização para Cooperação de Desenvolvimento (OECD 423/2001) que preconiza administrar doses sequenciais devidamente marcados que estabelece 5000 mg/kg a máxima em grupos de 3 animais. A dose máxima (5000 mg/kg) do extrato de sorgo foi utilizada devido à ausência de registros na literatura de toxicidade elevada do extrato de sorgo. Antes da realização desse teste, um teste anterior foi realizado com a dose do 2000 mg/kg e o extrato mostrou-se não tóxico. Diante disto, foi realizado um novo teste com a dose máxima de 5000 mg/kg.

Durante o período da manhã, após serem submetidos a 12h de jejum, foi administrado a dose de 5000 mg/kg do extrato etanólico de sorgo solubilizado em solução estoque (água destilada e tween 80 a 10%) por via oral (v.o) em camundongos albinos Swiss fêmeas, introduzido no trato digestório dos animais através de uma cânula metálica acoplada a uma seringa (gavagem) em um grupo com três animais (grupo tratado), além de ser administrado água destilada e tween 80 a 10% (v.o) em outro grupo com três animais (grupo controle). Os animais foram observados individualmente após a administração por 1 hora, no qual foi realizada uma observação cuidadosa relacionada ao Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA) para se detectar sinais tóxicos, além de serem observados periodicamente durante as primeiras 24 horas e diariamente por um período de quatorze dias. Os animais tiveram sua evolução ponderal (g) avaliada diariamente por 14 dias, assim como seu consumo de água (mL) e ração (g) (MALONE, 1983). Ao término do experimento os camundongos foram eutanasiados, os órgãos foram pesados (fígado, rim, pulmão e baço) e foi colhido o sangue dos animais para análise hematológica e bioquímica.

3.3.2.3 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

Ao final do período de 14 dias de observação os animais foram pesados, amostras sanguíneas foram coletadas por punção cardíaca após anestesia sendo alocados em dois tubos um com EDTA para análise hematológica de eritrócitos, leucócitos, hemoglobina e índices hematimétricos como, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e outro com gel separador, o qual foi centrifugado por 10

minutos a 3500 rpm, para obtenção do soro destinado às análises bioquímicas tais como, ureia, creatinina, transaminases e fosfatase alcalina.

3.3.2.4 Análise histopatológica

Após eutanasiados foi realizada incisão cirúrgica nos animais que se estendeu do peito até o abdômen para a retirada dos órgãos (rins, fígado, baço e pulmão). Os órgãos foram lavados e fixados em formaldeído a 10% durante 24 horas, posteriormente lavados com água destilada e processada em concentrações crescentes de álcool (70%, 80%, 90% e 100%) e de água, embebidas em parafina e coradas para a técnica Hematoxilina eosina (HE) para análise microscópica subsequente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

3.4 TESTE DE VIABILIDADE CELULAR

3.4.1 Cultivo e manutenção de linhagens celulares

As células de câncer de ovário de Hamste CHO foram cultivadas em meio DMEM (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e suplementadas com 10 % de soro fetal bovino (Gibco, Life technologies, MD, EUA). As células murina de câncer de mama 4T1 (scramble 4T1) foram cultivadas em meio RPMI (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e suplementadas com 10 % de soro fetal bovino (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e 0,5 µg / mL de puomicina. As células foram mantidas em estufa umidificada a 37°C com 5% de CO₂. O crescimento das células em monocamada foi realizado em frascos T75 foi observado diariamente com um microscópio de fase invertida. Quando as células atingiram próximo à confluência (70%), o meio de cultura foi removido e as células foram lavadas duas vezes com PBS (3 mL) e retiradas do frasco T75, em seguida foi adicionada a tripsina (2 mL), por 5 minutos a 37 ° C para a tripsinização. A inativação da tripsina foi realizada pela adição de 4 ml de meio de cultura (DMEM / SFB no caso das linhagens CHO) e 4 ml de meio RPMI / SFB para a linha 4T1). As células foram cultivadas na concentração de $1,5 \times 10^6$. O meio de cultura foi trocado a cada 2 dias com 10 ml do novo meio. A mudança na coloração do meio de cultura, que indica a atividade metabólica celular e a mudança do pH, foi controlada diariamente.

3.4.2 Teste de viabilidade celular através do ensaio de sulforrodamina B (SFR)

Após a terceira passagem, as linhagens celulares foram distribuídas em placas de 96 poços (2500 células por poço) em um volume de 100 μ L e incubadas a 37 °C, 5% de CO₂, com umidade de 65 a 70 %, por 24 horas. Após este período, o meio de cultura para células CHO foi DMEM (Gibco, Life technologies, MD, EUA) com 10 % de soro fetal bovino (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e o meio de cultura para células 4T1 RPMI (Gibco, Life technologies, MD, EUA) com 10 % de soro fetal bovino (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e 0,5 μ g / mL de puromicina foram removidos e um novo meio de cultura foi adicionado, bem como os meios de cultura com o veículo (etanol a 2%) que foi utilizado neste ensaio por ter maior facilidade em dissolver concentrações pequenas do que o tween 80 que é um solvente mais viscoso. Todos os poços da última linha da placa receberam 100 μ L da solução de tratamento totalizando um volume final de 200 μ L por poço. Após a homogeneização, 100 μ L foram aspirados novamente desses poços e adicionados à próxima linha, após a homogeneização novamente 100 μ L foram passados para a próxima linha e assim por diante até a última linha de tratamento. A placa permaneceu na estufa até o final do período seguinte de análise, 48 e 72 horas, com umidade de 65 a 70%. Ao final de 48 e 72 horas, o teste foi encerrado com a adição de 20 μ L de ácido tricloroacético 50% (p / v) (Sigma - Brasil) e as células foram incubadas por 60 minutos a 4 ° C. Esta placa representará a medição da população de células no momento da adição do composto de teste (Δt = zero). Após esse período (60 min) o sobrenadante foi descartado e a placa lavada 5 vezes com água corrente e seca ao ar em temperatura e umidade ambiente. Uma solução 0,4% de sulforodamina B (Sigma - Brasil) diluída em ácido acético 0,1% (100 μ L) foi adicionada a cada poço da placa e após este procedimento foi incubada por 10 min em temperatura e umidade ambiente. Após a coloração, as placas foram lavadas com uma solução de ácido acético 0,1% (5X) e deixadas em temperatura ambiente para secar.

Após este processo, a coloração foi solubilizada pela adição de base trizma 100 mM. A absorvância foi medida em um leitor de placas ELISA (Thermo Scientific - EUA) a 515 nm. Foi usado o software GraphPad 8.0 para o cálculo de IC₅₀.

3.5 EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA

Para este ensaio, foram utilizados 18 camundogos albinos Swiss (*Mus musculus*) machos com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 hora cada), em temperatura de 25 °C e umidade de 55% (± 5), em gaiolas de polipropileno, onde receberam ração e água *ad libitum*, divididos em 3 grupos de 6: grupo controle, que recebeu apenas uma solução salina 0,9% (0,5ml/animal); grupo controle positivo, que recebeu o fármaco anti-inflamatório indometacina (10mg/kg); grupo 1, o qual foi tratado com o extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench (200mg/kg) dose equivalente a 10% da dose utilizada no teste de dose letal (DL₅₀). Não foi utilizada a dose de 500mg/kg equivalente a décima parte de 5000mg/kg, ou seja, a máxima dose preconizada pela OECD 423.

Uma hora antes do início do experimento os grupos receberam seus respectivos tratamentos por via oral. Foi utilizada uma solução estoque (água destilada e tween 80 a 10%) por via oral (v.o) como veículo para administração oral da indometacina e dos extratos. Para indução da inflamação aguda foi utilizado um forte químico indutor inflamatório, a carragenina, a qual foi preparada a uma concentração de 1% utilizando-se de água destilada aquecida à 60 °C para melhor diluição. O edema foi induzido 30 minutos antes do início das medições por injeção subplantar de 50 μ L de carragenina (1%) na pata posterior direita de cada camundongo de todos os grupos, sendo a formação do edema quantificada por mudanças no volume desse membro. No tempo de 0h, correspondente a administração da carragenina, foi mensurado o volume da pata dos camundongos para comparação com a variação de volume ocasionada pela formação do edema nos mesmos. As leituras subsequentes foram realizadas após 30, 60, 120, 180, 240 e 360 minutos da administração da carragenina, pela imersão da pata injetada no pletismômetro que deslocou o líquido contido no aparelho. O cálculo do edema da pata foi realizado através dos valores de variação entre o volume da pata (Δ , em mL) antes da aplicação da carragenina e o seu volume após a injeção. A média e o desvio padrão foram avaliados no software Prisma, por análise de variância (ANOVA) mediante o teste t de Student, com $P < 0,05\%$ aceito como estatisticamente significativo.

3.6 INOCULAÇÃO DOS TUMORES E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DO EXTRATO DE SORGO POR PAQUÍMETRO

3.6.1 Aspectos éticos

O protocolo experimental foi submetido a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN/USP com número de registro 245/19.

3.6.2 Análise antitumoral do extrato de sorgo em modelo animal 4T1

Foram utilizados 12 camundongos Balb/c nude (*Mus musculus*) fêmeas, com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada) e temperatura de 25 °C e umidade de 55% (± 5), em gaiolas de polipropileno, onde receberam ração e água *ad libitum*, no biotério da radiofarmácia do IPEN - Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares.

Células de tumor mamário murino 4T1 foram cultivadas em meio RPMI (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e suplementadas com 10 % de soro fetal bovino (Gibco, Life technologies, MD, EUA) e 0,5 μg / mL de puromicina a 37 ° C em uma atmosfera úmida de 5% de CO₂. As células foram suspensas em meio de cultura com uma concentração final de 1×10^7 células / mL. Os tumores foram implantados subcutaneamente com 1×10^6 células no dorso para obter tumores sólidos. A partir do 13º dia, após a inoculação dois grupos de seis animais foram formados. O grupo controle negativo que recebeu o veículo utilizado para dissolver o extrato álcool 0,2 % via IP (intraperitoneal) e o grupo tratado que recebeu 500 mg/mL de extrato de sorgo via IP durante 13 dias, diariamente. Os volumes tumorais foram medidos a cada dois dias com um paquímetro digital e calculados usando a seguinte fórmula: Volume tumoral (mm^3) = (comprimento x largura²), onde o comprimento representa o maior diâmetro do tumor e a largura representa o diâmetro do tumor perpendicular. Os animais foram pesados diariamente para fazer as correções das doses administradas. Os animais foram eutanasiados sem ocorrer ulceração ou desconforto para os mesmos.

3.7 IMAGENS $\mu\text{SPECT/CT}$

Os animais utilizados neste ensaio foram os mesmos usados no ensaio de análise antitumoral do extrato de sorgo em modelo 4T1, onde foram utilizados 12 camundongos Balb/c nude (*Mus musculus*) fêmeas, com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada) e temperatura de 25 °C e umidade de 55% (± 5), em gaiolas de polipropileno, onde receberam ração e água *ad libitum*, no biotério da radiofarmácia do IPEN - Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares.

A análise no μ SPECT/CT, 10^{-25} MBq do radiofármaco ^{99m}Tc MDP foi injetado na veia caudal de animais Balb/c saudáveis e analisados ao final de 1 hora. Os animais foram anestesiados com isoflurano por inalação (concentração inicial 0.5%-anestesia geral 1 a 1.87%), colocados na câmara de escaneamento e analisados no μ SPECT/CT (micro focus 220 siemens) no centro de radiofarmácia do IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. A imagem estática consistiu de: SPECT scan - FOV 80 mm, 30 segundos/projeção), seguido de CT scan de 10 min (FOV 80 mm, 35 kV, 400 μ A). As imagens SPECT/CT foram reconstruídas com o software da Albira (Bruker Biospin Corporation, Woodbridge, CT, USA) com os algoritmos: "Ordered Subsets Expectation Maximization (OSEM)" - para SPECT e "Filtered Back Projection (FBP)" - para CT. Os ROI's e as atividades nos órgãos (%DR) foram obtidos utilizando-se o software PMOD (PMOD Technologies, Zurich).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi utilizado o software Graphpad prism versão 8.0.1. A distribuição das variáveis quantitativas foi analisada pela aplicação do teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os dados com distribuição normal e não normal foram avaliados respectivamente, por testes paramétricos (teste t Student não pareado) e não paramétricos (teste Mann-Whitney). As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$ e o intervalo de confiança (IC) mostrado foi de 95%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção apresentamos os resultados de todas as análises deste trabalho como análise fitoquímica, avaliação da toxicidade, avaliação da toxicidade aguda DL₅₀, análise histológica, avaliação anti-inflamatória, avaliação antitumoral e avaliação antimetastática.

4.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

O sorgo é conhecido na literatura devido a sua ação antioxidante, por possuir ácidos fenólicos, flavonoides e taninos (QUEIROZ *et al.*, 2015; STEFOSKA-NEEDHAM *et al.*, 2015). Foi realizada análise fitoquímica através de GCMS (Cromatografia Gasosa Acoplada a o Espectrometro de Massa), onde o extrato apresentou 5 compostos fenólicos e UPLC-MS (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado a Espectrometria de Massas (CLUE-EM, ou *UPLC-MS* do inglês *Ultra Performance Liquid Chromatography*) onde foi apresentados 2 flavonóides a luteolina e o Kamemferol.

4.1.1 GCMS

Conforme análise em GCMS, o extrato etanólico de sorgo apresentou maior probabilidade da presença do ácido pentadecanoico no pico 1 (FÍGURA 11). Com fórmula molecular C₁₅H₃₀O₂, massa molar de 242 g/mol, com tempo de retenção de 37,383 min e base do pico de 43.10 m z (TABELA 1).

O papel das propriedades antioxidantes do ácido pentadecanoico exercidas principalmente contra espécies reativas de oxigênio (ROS), desempenha um papel no envelhecimento, nas doenças cardiovasculares, na inflamação e na prevenção do câncer (EDEM, 2002; ONG & GOH, 2002; SEM, KHANNA & ROY, 2007).

O pico 2 (demonstrado na figura 10) apresentou maior probabilidade da presença do ácido hexadecanoico, com fórmula molecular C₁₈H₃₆O₂, peso molar de 284 g/mol, tempo de retenção de 38.108 min e base do pico de 88.05 m z (TABELA 1). Aparna *et al.*, (2012) concluíram, a partir dos estudos estruturais e cinéticos que o ácido n-hexadecanoico é um inibidor da fosfolipase A2, portanto, um composto antiinflamatório.

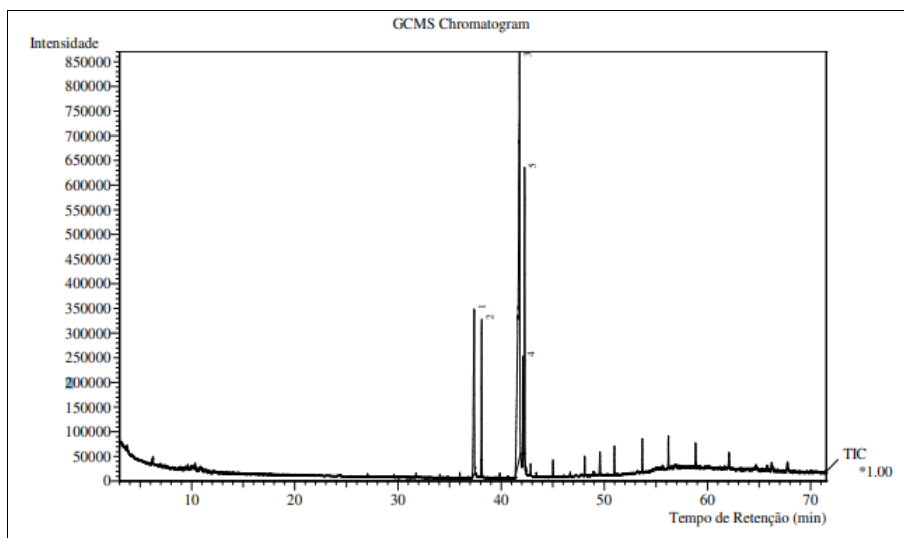
O pico 3 apresentou maior probabilidade da presença do ácido octadecanoico, com fórmula molecular $C_{16}H_{32}O_2$, com tempo de retenção 41.783 min, base do pico 55.10 m z e peso molar 282 g/mol (TABELA 1). De acordo com Sulijaya, (2018) o ácido octadecanoico suprimiu as citocinas pró-inflamatórias $TNF\alpha$, IL-6 e IL-1 β via NF- κ B p65, ligando-se ao seu receptor GPR120, o que torna o ácido octadecanoico, um forte candidato a futuras pesquisas como um agente anti-inflamatório.

O pico 4 apresentou maior probabilidade de ser o composto 9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)-, com fórmula molecular $C_{21}H_{38}O_4$, peso molar 354 g/mol, base do pico 67.05 m z e tempo de retenção de 42.117 min (TABELA 1). Saiki *et al.*, (2007) descobriram que o ácido linoleico (ácido 9,12-Octadecadienoico), um isolado de *Asteranthos brasiliensis* suprimiu a expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo $TNF-\alpha$, IL-6, IL-1 β e NOS2 em células RAW 264.7. O ácido linoléico também suprimiu a expressão da subunidade p50 do NF- κ B e restaurou o PPAR α . Isso leva à conclusão de que o ácido linoleico de *A. brasiliensis* pode reduzir a atividade inflamatória em células RAW 264.7.

O pico 5 apresentou maior probabilidade de ser o composto is-11-ácido Eicosenóico, com fórmula molecular $C_{20}H_{38}O_2$, peso molar 310 g/mol, base do pico 88.05 m z e tempo de retenção de 42.275 min. Mehmood *et al.*, (2008) revelaram, através de análise por GCMS em sementes de diferentes variedades de sorgo (84-Y-00, 84-Y-01, 85-G-83, 86-G-87, DS-97-01, Ms. Buster, PARC SS1, PARI S-3, PARI S-4, YSS 9) a presença de alguns ácidos graxos resultando na presença de ácido oleico (ácido octadecanoico), ácidos linoleico (9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)-), e ácido palmítico (ácido hexadecanoico).

Como é possível constatar na literatura, os ácidos fenólicos (ácido pentadecanoico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico e 9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)-) encontrados no extrato de sorgo através de análise em GC-MS possuem ação anti-inflamatória. Isto evidencia o resultado da análise anti-inflamatória mostrada mais adiante, a qual comprovou positivamente a ação do extrato de sorgo.

É possível observar os resultados da análise fitoquímica em GCMS na tabela 1 e Figura 11.

Figura 11 - Cromatograma do extrato etanólico de *Sorgo bicolor* L. Moench

Fonte: A Autora (2022)

Tabela 1 - Compostos (ácidos fenólicos) presentes no extrato etanólico de *Sorgo bicolor* L. Moench.

Pico	Composto	Área total %	Tempo de retenção	Base m z
1	Ácido pentadecainoi co	37.384	14.17	43.10
2	Ácido hexadecanoic o	38.109	6.33	88.05
3	Ácido octadecanoico	41.783	6.39	55.10

	9,12-ácido			
4	Octadecadien	42.117	4.98	67.05
	oico (Z,Z)-			
5	is-11-ácido	42.271	14.12	55.05
	Eicosenoico			

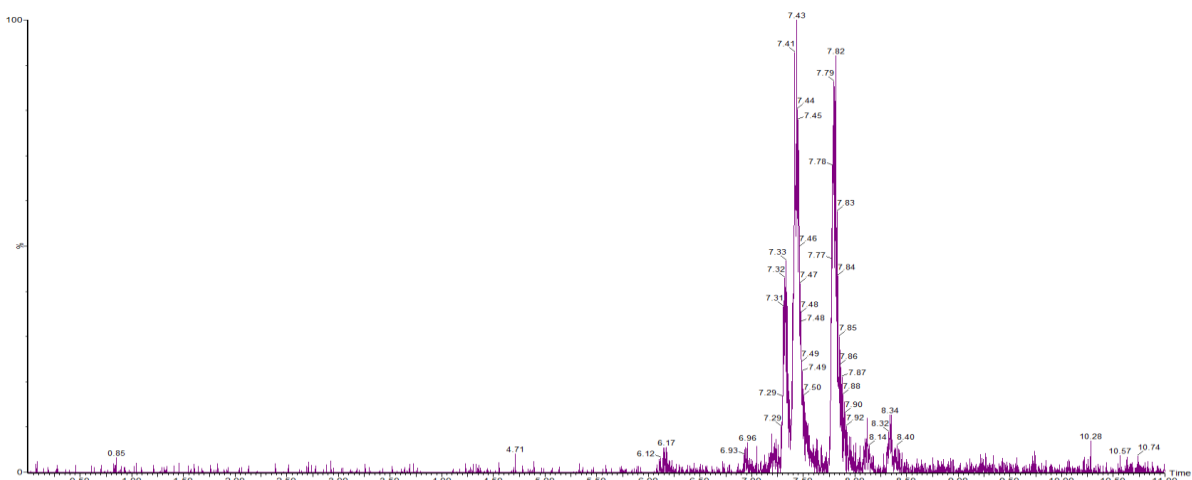
Fonte: A Autora (2022)

4.1.2 UPLC-MS

As análises do extrato etanólico de sorgo em UPLC-MS foram baseadas na busca de compostos fenólicos, por ser uma técnica mais eficiente para tal composto. Foram identificados dois compostos fenólicos: o kaempferol, m/z 287,05 e a luteolina, m/z 285,04 (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009).

Não foi possível realizar a separação dos picos isolados do kaempferol e da luteolina, por apresentarem massas muito próximas. De modo que foi realizada uma análise conjunta em relação a intensidade dos picos (Figura 12).

Figura 12 - Compostos kaempferol e luteolina (flavonoides) presentes no extrato etanólico de *Sorgo bicolor* L. Moench.



Fonte: A Autora (2022)

A luteolina é um flavonoide, é conhecida por possuir atividades antioxidante antimutagênica, anti-inflamatória e antialérgica (SANTOS, 2021).

GUO *et al.*, (2017) observaram alterações histopatológicas em camundongo com astite por *S. aureus*. Tais alterações, mostraram que a luteolina protegeu as glândulas mamárias com infecção por *Staphylococcus aureus* a destruição do tecido e infiltração de células inflamatórias. A luteolina inibiu a expressão de TNF- α , IL-1 β e IL-6, sugerindo que a luteolina é um anti-inflamatório potencialmente eficaz para reduzir o dano tecidual e a inflamação da mastite induzida por *S. aureus*.

A luteolina pode suprimir a invasão do câncer de mama, agindo como um agente terapêutico antiangiogênico, inibindo a produção de VEGF (Endothelial Growth Fator) - Fator de Crescimento Endotelial e a atividade de seu receptor em MDA-MB-231 células de câncer de mama triplo-negativas MDA-MB-231, que não possuem ER, PR e HER2 (também conhecido como HER2/neu). Também diminui os marcadores de transição epitelial-mesenquimal e a tendência metastática. A luteolina também atua como um antiproliferativo, suprimindo a atividade da tirosina-quinase do receptor e a apoptose, ambas as quais podem prevenir a colonização incipiente do câncer de mama (COOK, 2018).

O Kaempferol representa um dos flavonoides que demonstra ser cardioprotetor, neuroprotetor, anti-inflamatório, antidiabético, antioxidante, antimicrobiano, antitumoral e têm atividades anticâncer (AWIKA *et al.*, 2003). Em concentrações micromolares, o kaempferol inibe efetivamente o crescimento de linhagens de células de câncer de mama (VM7Luc4E2, MDA-MB-231, MCF-7). Nas células de câncer de mama triplo negativo, o kaempferol diminui os estágios de migração e invasão celular quando comparado com células não triplo negativas (controle). Isso é explicado pela regulação negativa de RhoA e ativação de Rac1 em células de câncer de mama triplo negativo, bem como através da ativação do receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2 (HER2)-silêncio, o que sugere que a ação antiproliferativa do kaempferol é desencadeado através da via dependente de ER que medeia processos celulares, incluindo desenvolvimento, diferenciação e proliferação (MUHAMMED, 2019).

4.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE

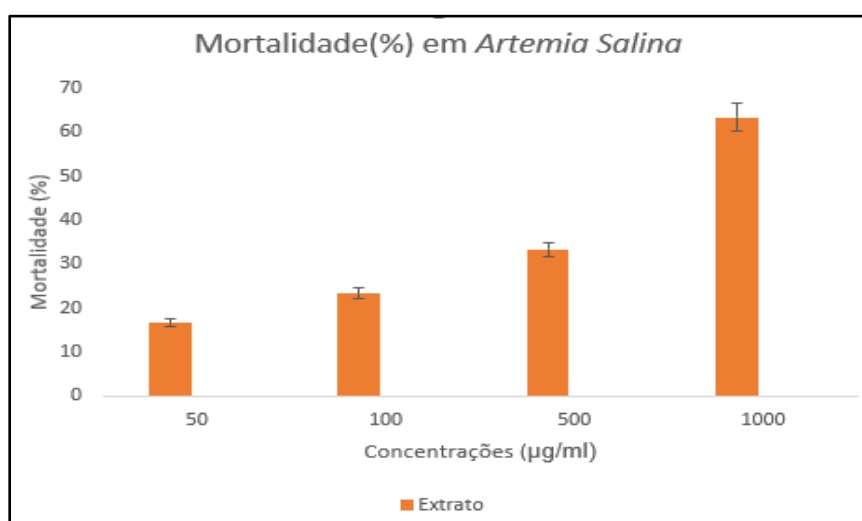
4.2.1 Avaliação da toxicidade por *Artemia Salina* e determinação da CL₅₀

A avaliação da toxicidade do extrato vegetal de sorgo por *Artemia salina*, apresentou CL₅₀ de 476,9 µg/mL. De acordo com Mesquita (2015), que avaliou diferentes extratos vegetais em *Artemia salina*, o extrato vegetal é considerado de baixa toxicidade quando a concentração letal (CL₅₀) é superior a 500 µg/mL, é considerado de toxicidade moderada quando a concentração letal (CL₅₀) está entre 100 a 500 µg/mL e é considerado muito tóxico quando a concentração letal (CL₅₀) é inferior 100 µg/mL.

O extrato de sorgo apresentou toxicidade moderada e mostrou-se bioativo, uma vez que resultados menores que 1000 µg/mL são considerados bioativos (MEYER *et al.*, 1982). A mortalidade do extrato de sorgo mostrou-se dose-dependente das concentrações (1000, 500, 100, 50 µg/mL), como mostra a Figura 12, pois quanto maior foi a concentração do extrato de sorgo em µg/mL, maior foi a mortalidade das *Artemias salina*, o grupo controle não apresentou mortalidade.

Shah; Khan; Ahmed (2021) estudaram as atividades fitoquímicas por *Artemia salina* do extrato metanólico *Sorghum halepense* (L.) Pers e suas diferentes frações (n-hexano, clorofórmio e aquosa). A mortalidade das frações encontradas no nível de 1000 g/ml foram respectivamente 70,5 ± 1,2, 50,4 ± 1,1, 50,3 ± 1,1 e 40,3 ± 1,6%.

Figura 13 - Mortalidade por *Artemia Salina*.



Fonte: A Autora (2022)

4.2.2 Teste de viabilidade celular

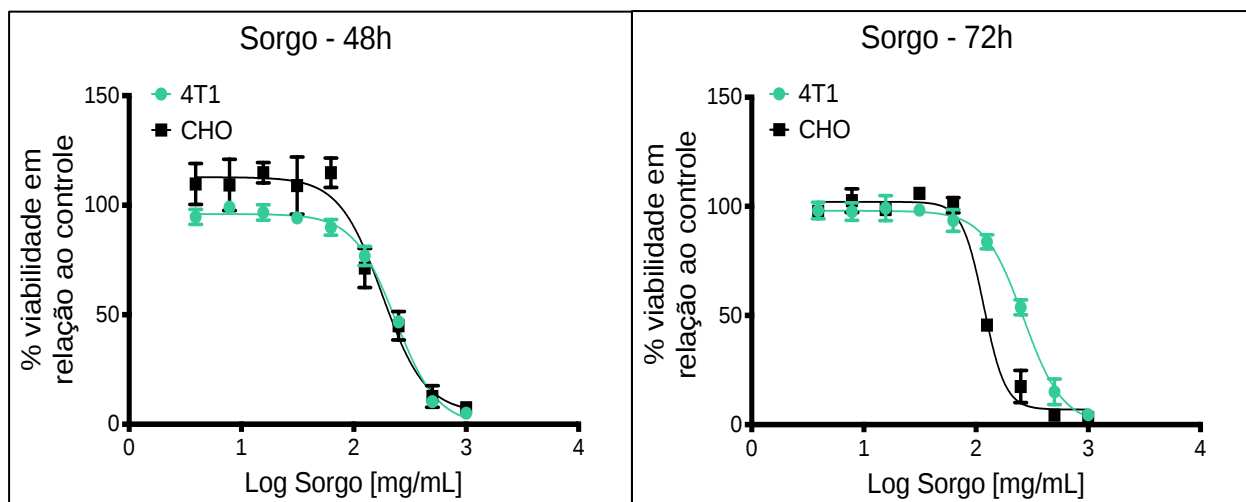
Inicialmente, as células tumorais de câncer de mama murino triplo negativo 4T1 e as células saudáveis de ovário de hamster chinês foram semeadas em uma placa de 96 poços e tratadas por 48h (gráfico da esquerda) ou 72h (gráfico da direita) com diluição seriadas de sorgo (1000 – 3,9 mg/mL). Ao final do experimento, o percentual de células viáveis em comparação com o controle não tratado foi quantificado e o IC50 (dose que inibe em 50% a viabilidade celular) foi calculado. De acordo com a Figura 14, pode-se observar que com o aumento da concentração de sorgo, diminui a viabilidade celular de ambas as linhagens. No entanto, as células 4T1 (tumorais) apresentam maior resistência ao tratamento com sorgo do que as células CHO (modelo de células saudáveis).

O IC50 das células CHO, no tempo de tratamento de 48h, foi de 179,2 mg/mL e para as células 4T1, no tempo de 48 h foi de 234,3 mg/mL como mostra a Figura 13. O aumento da concentração do extrato de sorgo usado na linhagem tumoral 4T1 em relação a linhagem saudável CHO foi de 30,74%.

O IC50 das células CHO, no tempo de 72 h, foi de 116,9 mg/mL e para as células 4T1, no tempo de 72 h, foi de 264 mg/mL (Figura 13). O aumento da concentração do extrato de sorgo usado na linhagem tumoral 4T1 em relação a linhagem saudável CHO foi de 125,83%.

O extrato do sorgo apresentou IC50 em células tumorais 4T1 em ambos os tempos de tratamento (48 e 72 h), no entanto o extrato mostrou melhor efeito no tempo de 48 h por apresentar uma concentração mais baixa em relação a quantidade utilizada no tempo de 72 h.

Figura 14 - Viabilidade celular do extrato de sorgo em células tumorais de mama triplo negativo 4T1 e saudáveis de ovário de hamster chinês (CHO) nos tempos de 48 e 72 h.



Fonte: A Autora (2022)

S Cox *et al.* (2019) usaram três variedades de sorgo farelo comercial de sorgo preto, (TX430), (CB), farelo comercial de sorgo sumagre (CS), um novo sorgo negro com alto teor de polifenóis (PI570481) (HP) e chá verde como controle para avaliar a ação anticâncer dos polifenóis de sorgo em linhagens celulares de células do adenocarcinoma colorretal humano (HCT-15) e do carcinoma hepatocelular humano (HEPG2) usando um ensaio de viabilidade celular, onde o novo sorgo negro com alto teor de polifenóis (PI570481) (HP) foi mais eficaz em inibir a viabilidade celular do que CB, CS e GT.

4.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA (DL₅₀)

Para avaliar a toxicidade aguda do extrato etanólico de sorgo foi administrada a maior dose preconizada pela OECD, 423 (5000 mg/kg), já que não há registros de o extrato de sorgo ter toxicidade elevada. Após a administração da dose de 5000 mg/kg do extrato de sorgo nos animais, o comportamento dos mesmos foi observado durante os primeiros 30 minutos para avaliar o screening hipocrático ao final do dia e durante 14 dias. Outros efeitos da toxicidade foram observados como a variação do peso corporal, consumo de água e ração. O screening hipocrático dos camundongos tratados com o extrato de sorgo demonstrou tais sinais clínicos: hiperatividade que está relacionado ao sistema nervoso central, postura em garra e autolimpeza que são

sinais estimulantes, defecação, diurese, edema de focinho e contorções que são sinais do sistema nervoso autônomo (MALONE, 1977) conforme Tabela 2. Após esse período, os animais não mostraram novamente essas reações, ou alguma mudança de comportamento em relação ao grupo controle. O extrato não foi tóxico na dose de 5000 mg/kg de acordo com as diretrizes da OECD 423 para testes de produtos químicos.

Tabela 2 - Principais reações comportamentais relacionadas à dose de 5.000mg / kg administradas na avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench.

Sinais clínicos avaliados

	GC	GT 5000
1. Sistema nervoso central	-	
Parada cardiorrespiratória	-	-
Perda da coordenação motora	-	-
Refluxo	-	-
Postura estática	-	-
Taquicardia	-	-
Convulsão tônico-clônica	-	-
Hiperatividade	-	+++
1.1 Sinais estimulantes		
Saltos	-	-
Agressividade	-	-
Agitação	-	-
Postura em ataque	-	-
Postura em garra	-	+++
Tremores grosseiros	-	-
Reação de fuga	-	-
Exoftalmia	-	-
Expansão do pavilhão auricular	-	-
Inversão de marcha	-	-
Aumento da ambulação	-	-
Aumento da frequência respiratória	-	-
Irritabilidade	-	-
Movimento das vibrissas	-	-
Auto-limpeza	-	+++
Espasmos	-	-
Movimento estereotipado	-	-
Ereção de cauda	-	-
Andar em círculos	-	-
1.2 Sinais depressivos		
Ataxia	-	-
Resposta diminuída ao toque	-	-
Perda do reflexo auricular	-	-
Abaixamento do trem posterior	-	-
Ptose palpebral	-	-
Fotofobia	-	-

Prostração	-	-
Sedação	-	-
2. Sistema nervoso autônomo		
Distensão abdominal	-	-
Cianose	-	-
Defecação	-	+++
Diarreia	-	-
Diurese	-	+++
Dispneia	-	-
Edema de focinho	-	+++
Piloereção	-	-
Salivação	-	-
Taquipneia	-	-
Contorções	-	-
Palidez	-	+
3. Mortalidade (%)	0	0

Fonte: Adaptado de Malone (1977)

Legenda: CG – Grupo controle; GT: Grupo tratado (OFBc 5000mg / kg / v.o). Ausente: (-) Efeito presente (+); Efeito moderado (++); Efeito intenso (+++) * Adaptado de Malone, (1977).

Na avaliação, tanto o grupo controle (GC) quanto o grupo tratado (GT) obtiveram aumento de peso, no entanto o grupo tratado (GT) apresentou um ganho de peso de 10,86% em relação ao peso inicial dos animais deste grupo conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Evolução ponderal de camundongos tratados com extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench.

	GC		GT	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Peso Inicial	32,670	5,030	30,000	2,080
Peso Final	35,000	1,000	34,000	1,000
Ganha Ponderal (%)	6,66 %		10,86 %	

Fonte: A Autora (2022).

Tabela 4 - Consumo de ração dos camundongos do grupo controle (GC) e do grupo tratado (GT), média e desvio padrão durante o período de 14 dias de tratamento.

GC		GT	
MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
31,9	6,28	33,20	5,55

Fonte: A Autora (2022).

Legenda: CG – Grupo controle; GT: Grupo tratado

O consumo de ração (Tabela 4) pelos camundongos do grupo tratado em relação ao grupo controle (GC) foi maior, o que condiz com o peso dos animais que se encontra na Tabela 3.

Tabela 5 - Consumo de água dos camundongos do grupo controle (GC) e do grupo tratado (GT), média e desvio padrão durante o período de 14 dias de tratamento.

GC		GT	
MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
53,20	13,70	52,50	7,9

Fonte: A Autora (2022).

O consumo de água (Tabela 5) pelos camundongos do grupo tratado em relação ao grupo controle (GC) não apresentou diferença significativa.

Após 14 dias de análise foi realizada a necropsia, foram pesados os órgãos dos animais (fígado, baço, rim e pulmão) dos dois grupos (controle e tratado) a fim de avaliar a diferença do peso dos órgãos entre os dois grupos. Os órgãos dos camundongos do grupo tratado (GT), em relação ao grupo controle (GC) apresentou um aumento do peso, no entanto o baço apresentou um aumento de peso estatisticamente significativo como mostrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Avaliação da massa relativa (média $\pm$ desvio padrão) do fígado, baço, rins e pulmão dos camundongos do grupo controle (GC) em relação ao grupo tratado (GT) após catorze dias de tratamento com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench no teste de toxicidade aguda.

	CC		GT	
	Média	DP	Média	DP
Fígado	1,826	0,430	2,170	2,550
Baço	0,286*	0,175*	0,543*	0,138*
Rim	0,333	0,100	0,493	0,151
Pulmão	0,326	0,220	0,543	0,138

Fonte: A Autora (2022).

Legenda: CG – Grupo controle; GT: Grupo tratado

Os valores representam a média $\pm$ DP e (*) representa a diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao controle.

O grupo de animais tratados com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench apresentaram alterações hematológicas que permaneceram dentro dos valores de referência (BRANCO, 2011). Em relação ao grupo controle, não houve diferença significativa. Na série vermelha (Tabela 7), pode ser observada uma macrocitose, devido ao elevado valor do volume corpuscular médio (VCM) tanto no grupo controle (GC) quanto no grupo tratado (GT). A Hemoglobina corpuscular Média (HCM) também se mostrou elevado e as hemácias apresentaram-se baixas em relação aos valores de referência encontrados na literatura (BRANCO, 2011). Na série branca (Tabela 8), foi verificado um aumento na contagem de neutrófilos, tanto no grupo tratado (GT), quanto no grupo controle (GC) sem alteração na contagem leucocitária, onde ocorreu uma neutrofilia absoluta em relação aos valores de referência (BRANCO, 2011) e também foi observado uma baixa quantidade de plaquetas tanto no grupo tratado (GT), quanto no grupo controle (GC) em relação aos valores de referência (BRANCO, 2012), o que pode ser condizente com o processo inflamatório observado na análise histológica do fígado dos animais dos grupos controle (GC) e tratado (GT), conforme Figuras 15, 16 e 17 (A, B e C) e dos

rins dos animais dos grupos controle (GC) e tratado (GT) conforme Figuras 18, 19 e 20 (A, B e C). Nas imagens histológicas do fígado e dos rins dos camundongos, é possível observar algumas lesões hepáticas e renais que podem está relacionadas ao uso do extrato nestes animais. Este resultado consolida o teste de viabilidade celular em linhagens de células saudáveis CHO, onde foi possível calcular o IC₅₀ no tempo de tratamento de 48 e 72 h, fato que demonstra uma toxicidade do extrato a ser considerada.

O exame bioquímico (Tabela 9) não demonstrou nenhuma alteração. Porém, esse resultado não condiz com o resultado histológico, que demonstrou lesões hepáticas e renais nos dois grupos de animais (tratado e controle). A lesão renal pode não ser significativa para alterar a função dos rins, já que os valores de ureia e creatinina permaneceram normais. As TGO (transaminase oxalacética) e TGP (transaminase pirúvica) são marcadores de lesões hepáticas e estes apresentaram níveis normais. Contudo, foi observada no teste histopatológico lesões nos fígados dos camundongos tratados com o extrato de sorgo. A não elevação dos níveis de TGO e TGP pode ter ocorrido devido a um possível erro pré-analítico ou analítico (erro na coleta do material, atraso na análise, material insuficiente).

Tabela 7 - Variáveis hematológicas (eritrograma) de camundongos dos grupos controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench e valores de referência de acordo com Branco, (2011).

	GC		GT		VR	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Hemácias (mi/mm³)	4,616*	0,605*	4,743*	0,27*	7,0	13,0
Hemoglobina (g/dL)	14,00	2,00	14,10	0,85	14,8	1,0
Hematócrito (%)	42,00	6,00	42,33	2,52	42,1	1,1
V.C.M (fL)	92,00	2,00	90,27	1,62	47,1	1,3

H.C.M (pg)	30,33	0,58	29,67	0,58	14,6	0,5
C.H.C.M (g/dL)	32,67	0,58	32,67	0,58	31,1	0,2

Fonte: A Autora (2022).

Legenda: GC – grupo controle; GT: grupo tratado; VR: valores de referência (BRANCO, 2011). Os valores representam a média $\pm$ DP e (*) representa a diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao controle.

Tabela 8 - Variáveis hematológicas (Leucograma) em camundongos dos grupos controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench e valores de referência de acordo com Branco, (2011).

	GC		GT		VR	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Leucócitos(mil/mm³)	5.833,33	288,67	7.000,00	3.000,00	5,800,00	0,5
Neutrófilos Segmentados (mil/mm³)	43,33	0,58	45,00	41,67	19,60	1,9
Eosinófilos(mil/mm³)	0,23	0,15	0,37	0,15	0,60	0,2
Linfócitos(mil/mm³)	51,00	1,00	52,33	2,08	50,0	95,0
Monócitos(mil/mm³)	0,63	0,32	0,23	0,11	60,0	0,9
Plaquetas (mil/mm³)	75,000	9,0	244,333	3,1	440,000	46,4

Fonte: A Autora (2022).

Legenda: GC – Grupo controle; GT: Grupo tratado;

Tabela 9 - Níveis séricos de parâmetros bioquímicos de camundongos dos grupos, controle (GC) e tratado (GT) (média $\pm$ desvio padrão) por 14 dias com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench.

	GC		GT	
	Média	DP	Média	DP
TGP (U/L)	22,00	1,00	28,33	10,02
TGO (U/L)	17,67	0,58	24,67	8,74
Ureia (mg/dL)	24,33	1,53	20,67	3,06
Creatinina (mg/dL)	0,40	0,10	0,40	0,10

Fonte: A Autora (2022).

Legenda: CG – Grupo controle; GT: Grupo tratado

Legenda: CG – Grupo controle; GT: Grupo tratado

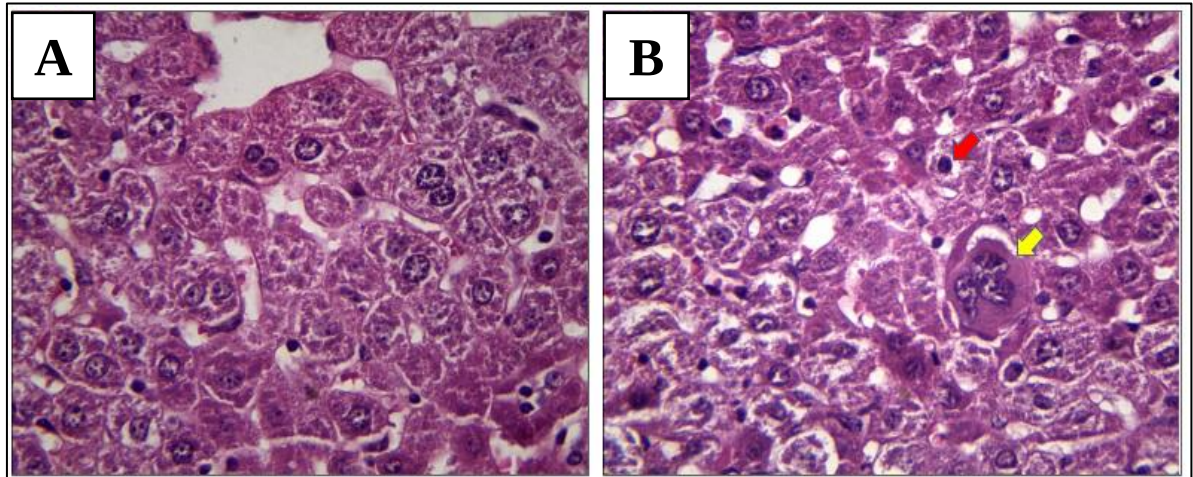
4.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Foram analisados histologicamente o fígado, o baço, o rim e o pulmão dos animais dos grupos tratado e controle. A análise do fígado dos animais do grupo tratado (GT) (Figuras 16 (A e B) e 17 (C)), apresentou degeneração hidrópica (edema celular ou degeneração vacuolar) dos hepatócitos, pinocitose nuclear e focos de infiltrado inflamatório mononucleares. Isto denota a presença de lesão hepática que possivelmente gerou um processo inflamatório. Nos rins dos animais tratados (Figuras 20 (A e B)) é possível observar a presença de debris de células tubulares nos tubos proximais e túbulos coletores, o que pode ser normal quando associada ao processo de renovação celular, entretanto, tal presença também está relacionada com o processo inflamatório, já que se trata de fragmentos celulares.

Estes resultados condizem com o resultado do exame hematológico, como mencionado anteriormente, onde foi verificado um aumento na contagem de neutrófilos, ocorrendo uma neutrofilia absoluta que está relacionada a um processo inflamatório. Estes resultados também corroboram com os testes de viabilidade celular em linhagens de células saudáveis CHO, onde o extrato de sorgo apresentou um IC₅₀ a ser considerado no tempo de tratamento de 48 e 72 h, sendo mais eficiente no tempo de tratamento de 48 h, toxicidade do extrato de sorgo a ser considerada. As lesões hepáticas e renais presentes no grupo controle, ou seja, que não recebeu extrato de sorgo, possivelmente remetem a um processo inflamatório preexistente nestes animais como mostra as Figuras 15 (A e B), 18 (A e B) e (19).

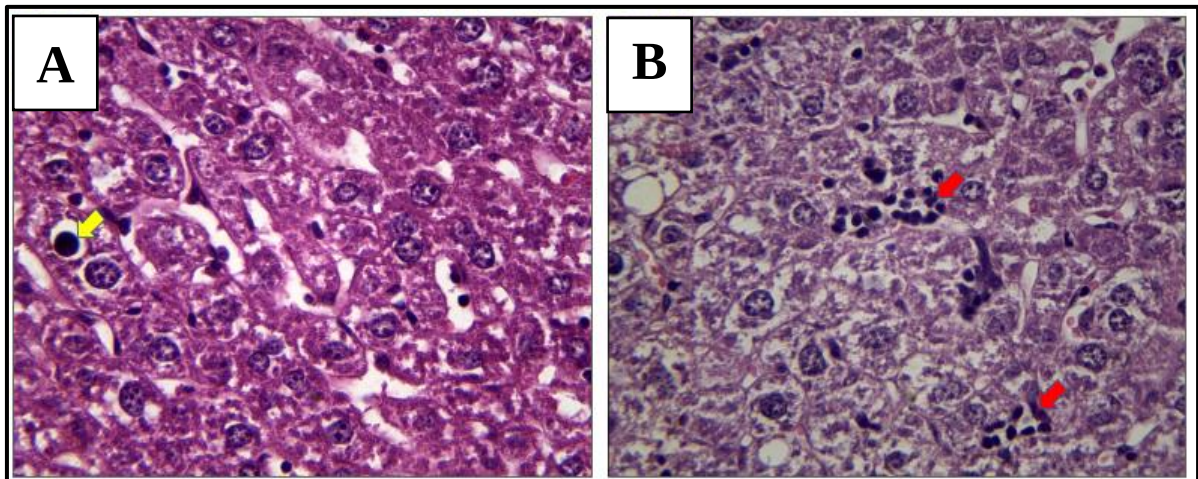
A análise histológica referente a toxicidade aguda do *Sorghum bicolor* L. Moench pode ser observada nas Figuras 16 (A e B), 17 (C) e 20 (A e B).

Figura 15 (A e B) - Fígado de animais do grupo controle (GC). Observa-se leves degenerações hidrópicas, pinocitose nuclear (seta vermelha) e um megacariócito (seta amarela).



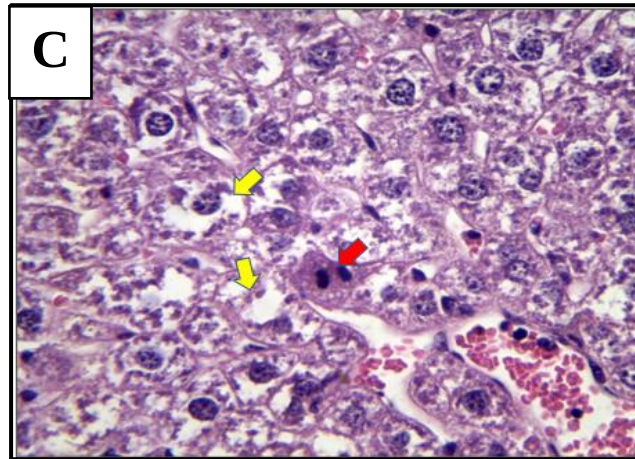
Fonte: A Autora (2022)

Figura 16 (A e B) - Fígado dos animais do grupo tratado (GT) com extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench. Observa-se a degeneração hidrópica (edema celular ou degeneração vacuolar) dos hepatócitos em ambas a imagens, pinocitose nuclear (seta amarela) e focos de infiltrado inflamatório mononucleares (seta vermelhas).



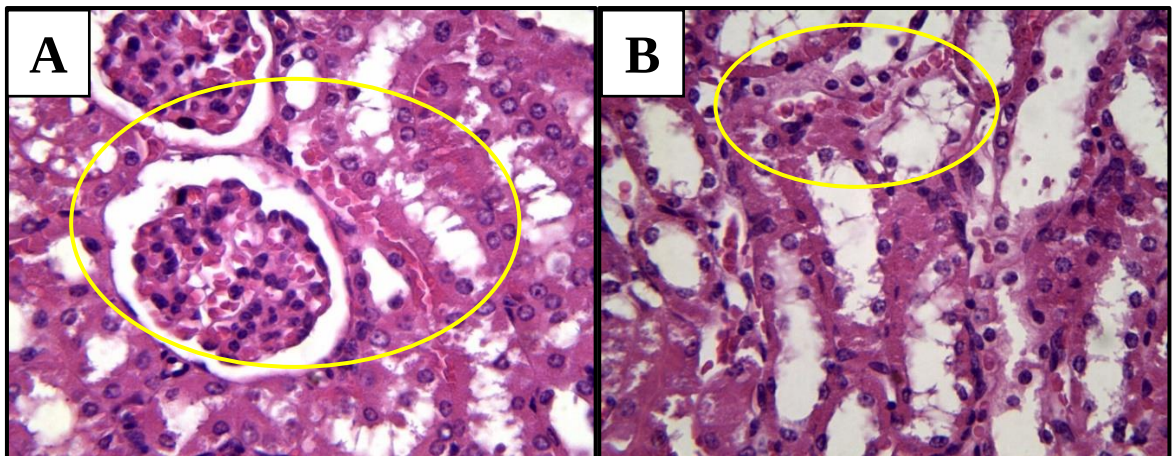
Fonte: A Autora (2022).

Figura 17 (C) - Fígado dos animais do grupo tratado (GT) com o extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench. Observa-se degeneração hidrópica (edema celular ou degeneração vacuolar) dos hepatócitos (balonizados) setas amarelas e hepatócito em divisão (atividade regenerativa) seta vermelha.



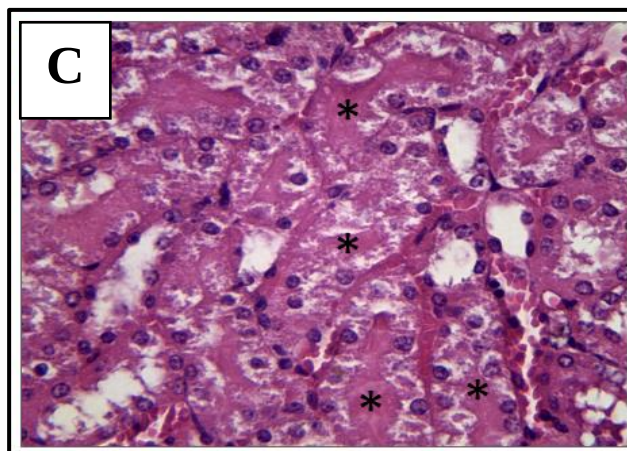
Fonte: A Autora (2022).

Figura 18 (A e B) - Rins dos animais do grupo controle (GC). Observa-se descamação de células necróticas para luz dos túbulos (círculos amarelos).



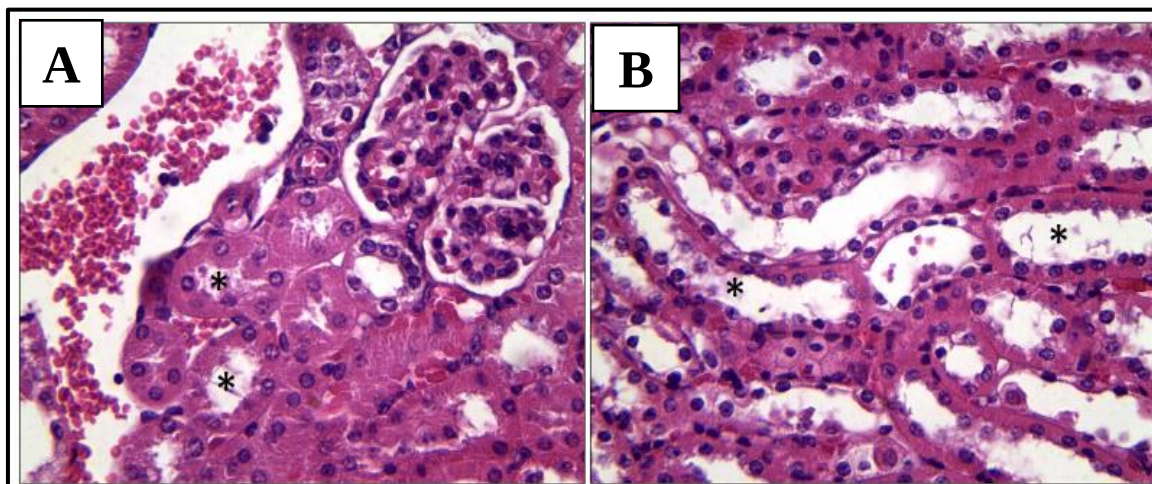
Fonte: A Autora (2022)

Figura 19 (C) - Rins dos animais do grupo controle (GC). Observa-se túbulos necróticos com células necróticas preenchendo luz tubular (asteriscos).



Fonte: A Autora (2022).

Figuras 20 (A e B) - Rins dos animais do grupo tratado (GT) com extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench (GT). Observa-se debris de células tubulares (asteriscos) nos tubos proximais e túbulos coletores.



Fonte: A Autora (2022).

4.5 AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA COM O MÉTODO DO EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA

O método do edema de pata é um dos testes mais comumente utilizados para avaliação da atividade anti-inflamatória (WINTER *et al.* 1962; WILLOUGHBY; DIROSA, 1972). O processo inflamatório agudo é induzido através da injeção de 50 μ L de solução de carragenina, um potente agente inflamatório a 1% na região subplantar da pata do animal. O edema induzido por carragenina é formado de forma progressiva e atinge seu tamanho máximo em 4 horas. Este fato pode ser evidenciado

com o grupo controle (salina 0,9%), no qual apresentou um progressivo aumento do edema até 4h de tratamento, e, posteriormente, uma leve redução de $17,54 \pm 1,64$ mL ($\times 10^{-2}$) para uma variação de volume de $16,02 \pm 1,17$ mL ($\times 10^{-2}$) após 6 horas de tratamento (Tabela 10 e gráfico 21).

O grupo tratado com o anti-inflamatório indometacina seguiu o esperado e apresentou uma redução do edema formado por volta de 1 hora após o início do tratamento, deste modo, apresentou um aumento máximo de $12,56 \pm 3,63$ mL ($\times 10^{-2}$) no volume da pata em 1 hora e entre o período de 1-6 h apresentou um decréscimo de 27,96% no volume do edema, sendo esta diferença significativamente diferente do controle ($p < 0,05$) a partir da segunda hora (Tabela 10 e o gráfico 21).

O grupo tratado com o extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench apresentou redução no volume do edema formado após 1 hora, com um aumento máximo de $14,98 \pm 2,92$ mL ($\times 10^{-2}$) no volume da pata, sendo o decréscimo entre o período de 1-6 h de 44%, redução maior do que a vista no grupo tratado com indometacina, apresentando diferenças significativas em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) a partir de 3 h de ensaio. Os resultados podem ser evidenciados na Tabela 10 e observados na Figura 21.

A análise de inflamação aguda no edema de pata induzido por carragenina pode ser dividido em duas fases. A primeira fase é referente à primeira hora do ensaio, no qual a formação do edema é mediado pela liberação de mediadores pré-formados, como as aminas vasoativas (histamina e bradicinina), que proporciona a vasodilatação e alteração da permeabilidade do endotélio local gerando o extravasamento de plasma e, conseqüentemente, a formação do edema. A segunda fase ocorre por volta de uma hora e meia após o início do ensaio e é a fase de maior interesse para a avaliação da atividade anti-inflamatória de determinados componentes, já que consiste no início da ação das prostaglandinas e das citocinas pró-inflamatórias na manutenção do processo inflamatório, sendo estes os principais responsáveis pela resposta inflamatória aguda (AMDEKAR *et al.*, 2012; POBER, 2007; SESSA, 2014). Como os anti-inflamatórios possuem ação sobre a síntese de eicosanoides e citocinas, é esperado a redução do edema entre 1-2 h de experimento.

Os resultados deste ensaio mostraram que o extrato apresentou atividade anti-inflamatória local superior ao fármaco anti-inflamatório (indometacina) utilizado como padrão. A redução do volume do edema após 1 hora (Tabela 10 e gráfico 21), por parte dos extratos apresentando diferenças significativas em relação ao grupo controle

($p < 0,05$) a partir de 3 h de ensaio, evidencia a capacidade de atuação dos seus componentes, principalmente os compostos fenólicos e flavonoides na inibição da formação de mediadores inflamatórios, eicosanoides (PGE2, PGI2 e LTB4) e citocinas (IL-1, IL-6 e TNF-alfa) isso porque, como já foi citado neste trabalho, o sorgo possui componentes ricos em antioxidantes e consequentemente agentes anti-inflamatórios.

O extrato de sorgo apresentou alguns ácidos fenólicos, como o ácido n-hexadecanoico, o ácido octadecanoico, o ácido linoleico e o ácido pentadecanoico na análise fitoquímica realizada neste trabalho, estes ácidos são conhecidos por possuírem ação anti-inflamatória.

Aparna *et al.*, (2012) concluíram, a partir dos estudos estruturais e cinéticos que o ácido n-hexadecanoico é um inibidor da fosfolipase A2, portanto, um composto anti-inflamatório.

O ácido pentadecanoico atenua a inflamação, anemia, dislipidemia e fibrose por se ligar a metabólitos reguladores e por reparar a função mitocondrial (VENN-WHATSON; LUMPKIN & DENNIS, 2020).

O sorgo apresentou nos resultados da análise fitoquímica a presença do flavonoide kaempferol. O kaempferol possui ação anti-inflamatória por atuar na inibição da via do NF- κ B modulando a expressão de enzimas envolvidas na inflamação (AMRI *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2015).

As 3-desoxianocianidinas (luteolinidina e apigeninidina), é um dos polifenóis do grão de sorgo (WU, 2016; WU, JOHNSON, *et al.*, 2017). Os compostos fenólicos são antioxidantes que podem diminuir o dano oxidativo das biomoléculas e consequentemente ter ação anticâncer e anti-inflamatória (KADRI *et al.*, 2017). A atividade antioxidante de extratos metanólicos de sementes de três variedades de (AS12, AS20 e I27), e seus teores de fenólicos totais, flavonoides totais e taninos, foram estimados, onde a variedade AS20 apresentou os maiores níveis de fenólicos totais ($3214,46 \pm 263,64$ mg/100 g), flavonoides ($32,03 \pm 1,64$ mg/100 g) e taninos ($615,35 \pm 6,10$ mg/g). A potência do efeito de eliminação de radicais destes sorgos extratos foi até quatro vezes maior que o antioxidante sintético butilado hidroxitolueno (BHT) (KADRI *et al.*, 2017).

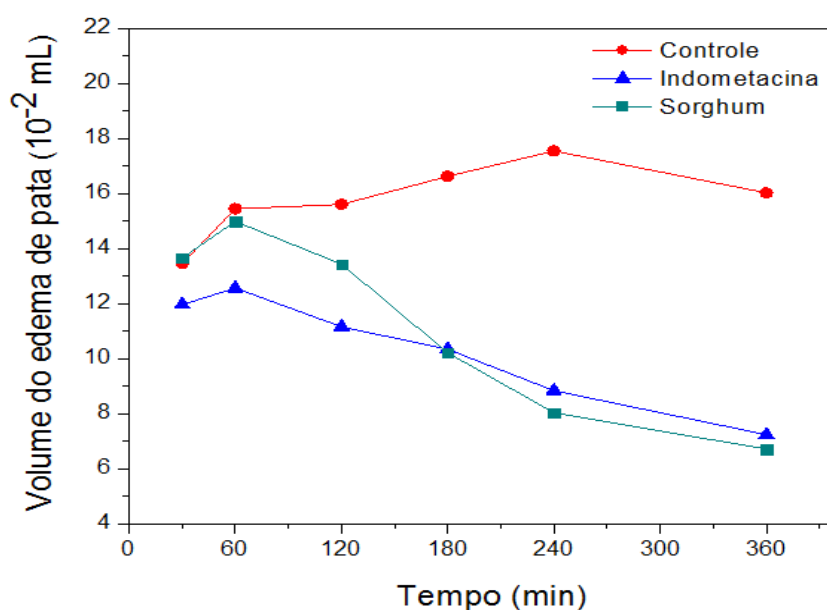
Diante disto, é possível afirmar que a atividade anti-inflamatória do extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench se deu pela presença dos ácidos fenólicos n-hexadecanoico, octadecanoico, linoleico (9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)-) e o ácido pentadecanoico e dos flavonóides Lutelina e Kaempferol.

Tabela 10 - Avaliação da variação do volume do edema de pata induzido por carragenina (50 uL, 1%) em camundongos tratados com extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L.Moench (200mg/kg, v.o) e indometacina (10mg/kg). Dados expressos pela média $\pm$ desvio padrão e nível de significância p (teste “t” de Student, $p < 0,05$). $p < 0,05^*$ e $p < 0,01^{**}$.

GRUPOS	0,5h	1h	2h	3h	4h	6h
Controle	13,45 $\pm$ 2,8	15,44 $\pm$ 1,97	15,6 $\pm$ 1,79	16,62 $\pm$ 1,98	17,54 $\pm$ 1,64	16,02 $\pm$ 1,17
Indometacina	11,96 $\pm$ 2,97	12,56 $\pm$ 3,63	11,15 3,73*	10,33 2,86*	8,83 $\pm$ 2,06**	7,23 $\pm$ 2,59**
Sorghum	13,65 $\pm$ 4,29	14,98 $\pm$ 2,92	13,43 3,62	10,21 2,95*	8,03 $\pm$ 2,8**	6,71 $\pm$ 3,5**

Fonte: A Autora (2022).

Figura 21 - Gráfico da alteração do volume do edema de pata em camundongos induzido por carragenina (1%) pelo tempo dos grupos controle (solução salina 0,9%), extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L. Moench (200mg/kg, v.o) e indometacina (10mg/kg). Cada ponto representa a média de n=6/grupo.

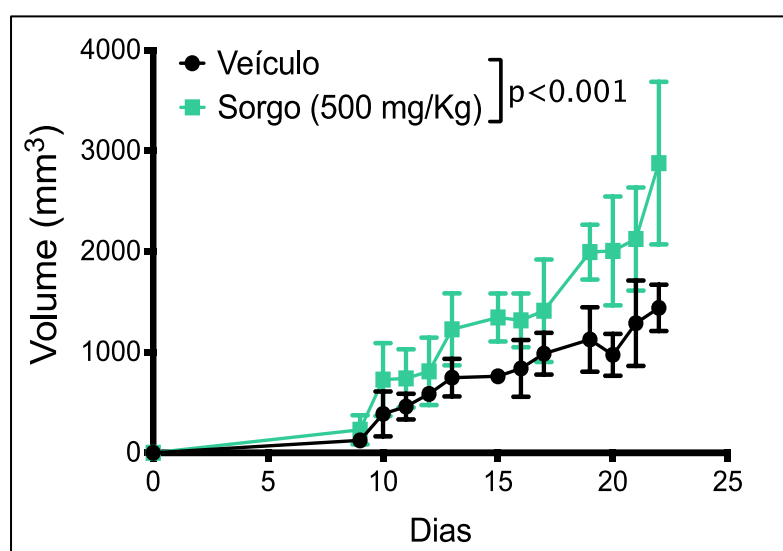


Fonte: A Autora (2022).

4.6 ATIVIDADE ANTITUMORAL DO *Sorghum bicolor* L. moench POR EM MODELO 4T1

As células tumorais de câncer de mama murino triplo negativo 4T1 foram injetadas em camundongos Balb/c Nude por via subcutânea. Quando os tumores atingiram cerca de 200 mm³ foram tratados com 500 mg/kg de extrato de sorgo via intraperitoneal (v.i) por 13 dias. O gráfico abaixo mostra que o tratamento com sorgo aumentou de forma estatisticamente significativa ($p < 0.001$) o volume tumoral das células 4T1 em comparação com o controle (veículo, etanol a 2%) (Figura 22). Estes dados sugerem que o sorgo tem um efeito pró-tumoral nas células tumorais de mama 4T1.

Figura 22 - Volume do tumor de mama triplo negativo 4T1 em relação ao controle



Fonte: A Autora (2022)

Lasso *et al.*, (2018), realizaram um tratamento profilático de camundongos saudáveis com extrato de *Caesalpinia spinosa*, o qual gerou um pré-condicionamento imunológico do hospedeiro, não ocorrendo assim, a diminuição do crescimento tumoral, nem impediu a disseminação metastática em modelos transplantáveis de melanoma (B16) e de linhagem mamária (4T1). O que ocorreu foi um efeito prejudicial em ambos os modelos.

Brehmer (2005) analisou a ação de sete plantas medicinais (*Allamanda Schottii*, *Aleurites moluccana*, *Bauhinia microstachya*, *Bromelia antiacantha*, *Calophyllum brasiliense*, *Ipomoea pes-caprea* e *Rubus rosaefolliu*) no desenvolvimento do tumor

ascítico de Ehrlich e concluiu que o extrato bruto das folhas de *Allamanda schottii* aumentou o crescimento do tumor. Estes resultados corroboram com o que ocorreu neste trabalho, onde o tratamento com o extrato de sorgo aumentou o volume tumoral do tumor de mama 4T1 em camundongos.

É possível que o extrato do sorgo tenha provocado uma atividade proliferativa no tumor devido a presença dos ácidos graxos hexadecanoico e 9,12-Octadecadienoico já que houve a presença de ambos na análise fitoquímica em GCMS do extrato de sorgo realizada neste trabalho.

O extrato de sorgo apresentou, conforme análise fitoquímica realizada neste trabalho a presença do 9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)-. Reyes *et al.*, (2018) demonstraram em células de câncer de mama MDA-MB-231 que o ácido 9,12-Octadecadienoico (Z,Z)- induz a proliferação, migração e invasão dessas células.

Pan *et al.*, (2019) investigaram a função do ácido hexadecanoico e seu receptor CD36 na progressão do câncer gástrico e concluíram que o ácido hexadecanoico promoveu a metástase neste tipo de câncer. O câncer gástrico é composto, principalmente, por tecido adiposo, o que indica que os ácidos graxos podem ter afinidade com esse tipo de tumor e contribuir com o seu desenvolvimento e disseminação de metástase.

Há evidências de que uma dieta rica em gordura tenha influência sobre a proliferação tumoral e que o efeito da dieta rica em gordura seja exercido depois do início da tumorigênese (ROGER, 1997). Freedman *et al.* (1994) concluíram que a ingestão de gordura aumenta a tumorigênese mamária em ratos. A incidência de tumores mamários nestes animais aumentou com a elevada quantidade de gordura ingerida, tendo o conteúdo de ácido linoléico contribuído fortemente para o efeito da gordura sobre a tumorigênese

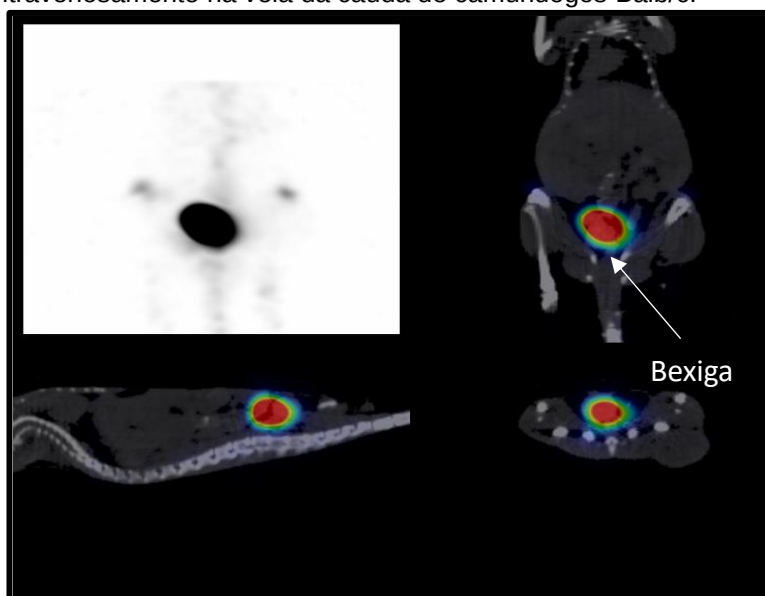
4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMETASTÁTICO DO *SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH POR MEIO DE microSPECT

Em câncer de mama metastático, a metástase óssea é a mais frequente (BRUM *et al.*, 2017). Foi administrada doses de 500mg/kg do extrato etanólico de *Sorghum bicolor* L Moench que é a décima parte da dose utilizada no teste de toxicidade aguda e determinação da DL₅₀, durante 13 dias em camundongos Balb/c com tumores de câncer de mama murino 4T1 triplo negativo, no final deste

tratamento os animais foram anestesiados e os mesmos foram submetidos a Imagem microSPECT/CT com ^{99m}Tc -MDP injetado intravenosamente na veia da cauda de camundogos Balb/c. A imagem SPECT/CT foi adquirida 1 hora após a administração do radiofármaco utilizando o equipamento de imagem $\mu\text{PET}/\text{SPECT}/\text{CT}$ Albira (Bruker Biospin Corporation, Woodbridge, CT, USA). Durante todo o tempo de aquisição da imagem os animais encontraram-se sob anestesia geral (1.5 % isoflurano/ O_2) e temperatura de 37 °C.

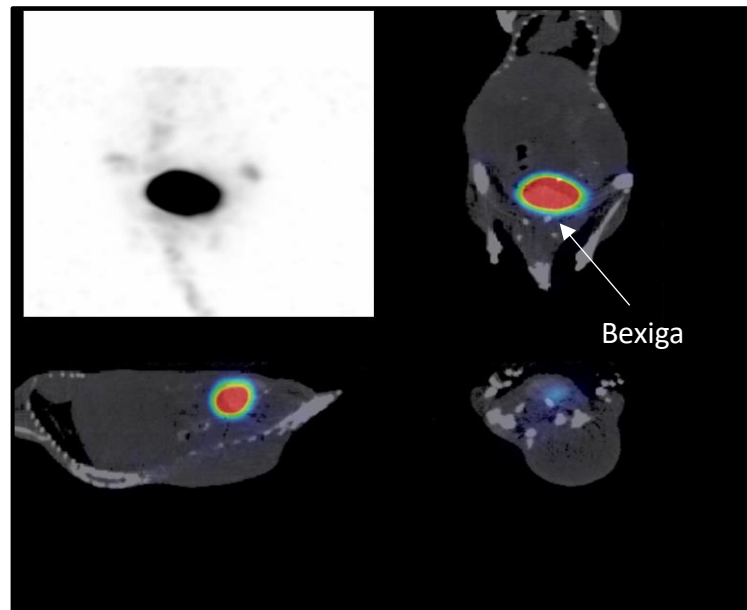
Este modelo animal de tumor de mama triplo negativo 4T1 pode formar tanto metastase óssea, quanto pulmonar (ALMEIDA et al., 2021). As imagens abaixo mostram (Figuras 23 e 24) que tanto o grupo controle que recebeu 500 mg/kg do veículo etanol a 2% quanto o grupo tratado que recebeu 500 mg/kg de extrato de sorgo não apresentaram metástase óssea e desta forma, não foi possível avaliar o potencial antimetastático do extrato de sorgo. Isso pode ter ocorrido, pelo fato de a área de inoculação ter ocorrido no dorso do animal e não na região da mama como é realizados nos modelos comumente utilizados (ALMEIDA et al., 2021). Todavia, é importante ressaltar que a inoculação na região do dorso dos camundongos foi feita com o objetivo de formar metástase óssea nestes animais.

Figura 23 - Imagem de camundongos Balb/c do grupo controle (GC) com tumor de mama 4T1 tratado com extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench durante 13 dias em SPECT/CT com ^{99m}Tc -MDP injetado intravenosamente na veia da cauda de camundongos Balb/c.



Fonte: A Autora (2022).

Figura 24 - Imagem de camundongo Balb/c do grupo tratado (GT) com tumor de mama 4T1 tratados com extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench durante 13 dias em SPECT/CT com ^{99m}Tc -MDP injetado intravenosamente na veia da cauda de camundogos Balb/c.



Fonte: A Autora (2022)

5 CONCLUSÃO

O extrato de sorgo apresentou toxicidade moderadas no teste de toxicidade aguda com *Artemia salina*. Nos resultados de viabilidade celular, o extrato de sorgo apresentou efeito citotóxico em linhagem de célula saudável (CHO) e em linhagem de câncer de mama (4T1) principalmente no tempo de tratamento de 48 h. No teste *in vivo*, o extrato de sorgo apresentou um aspecto pró-tumoral, aumentando a proliferação de linhagem de câncer de mama 4T1. Tal fato ocorreu possivelmente pela presença de dois ácidos fenólicos presentes no sorgo, o ácido 9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)- e o ácido hexadecanoico, ambos com potencial proliferativo. Tal efeito, possivelmente ocorreu pelo consumo dos animais desses ácidos graxos, já que estudos revelam que o consumo de gordura na dieta de animais aumenta o potencial proliferativo de câncer de mama. Há na constituição fitoquímica do extrato de sorgo outros ácidos fenólicos e flavonoides que são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante, no entanto tal potencial não foi suficiente para diminuir ou impedir o desenvolvimento tumoral.

No que diz respeito à análise anti-inflamatória, o sorgo apresentou um aspecto positivo, que provavelmente ocorreu pela presença de alguns ácidos fenólicos, como o ácido pentadecanoico, o ácido hexadecanoico, o ácido octadecanóico e do 9,12-ácido Octadecadienoico (Z,Z)- e também pela presença de 2 flavonoides como a luteolina e o kaempferol, ambos, ácidos fenólicos e flavonoides conhecidos por possuírem atividade antioxidante o que provavelmente levou a uma ação anti-inflamatória.

Não houve a formação de metástase óssea nos camundongos com linhagem de câncer de mama 4T1, portanto não foi possível avaliar o potencial antimetastático do extrato de sorgo.

Pesquisas sobre as propriedades medicinais com diferentes cultivares de sorgo merecem ser ampliadas, já que neste trabalho a cultivar sorgo IPA-467 apresentou atividade terapêutica no tratamento da inflamação.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H., & PILLAI, S. Osnovna imunologija. **Data Status**. 2008.
- ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M.S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café. **Ciência e Agrotecnologia**, p.414- 420, 2010.
- ABRANCHES. M.V. **Plantas medicinais e fitoterápicos**. Ed. AS sistemas. 2015.
- ACTON, P. D.; KUSHNER, S. A.; KUNG, M. P.; MOZLEY, P. D.; PLÖSSL, K.; & KUNG, H. F. Simplified reference region model for the kinetic analysis of [99mTc] TRODAT-1 binding to dopamine transporters in nonhuman primates using single-photon emission tomography. **European Journal of Nuclear Medicine**, v. 5, n. 26, p. 518-526, 1999.
- ACTON, PAUL D.; NEWBERG, ANDREW. Artificial neural network classifier for the diagnosis of Parkinson's disease using [99mTc] TRODAT-1 and SPECT. **Physics in Medicine & Biology**, v. 51, n. 12, p. 3057, 2006.
- ADEGBOLA, P.; ADERIBIGBE, I.; HAMMED, W., & OMOTAYO, T. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: a review. **American journal of cardiovascular disease**, n. 7, v. 2, p. 19. 2017.
- ADEGBOLA, P.; ADERIBIGBE, I.; HAMMED, W.; OMOTAYO, T. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: A review. **Am J Cardiovasc Dis**. 2017; v. 7, n. 2, p. 19-32, 2017.
- AKANDE, I.; OSENI, A.; BIOBAKU, O. Effects of aqueous extract of Sorghum bicolor on hepatic, histological and haematological indices in rats. **J. Cell Animal Biol.**, v. 4, p. 137—142, 2010.
- ALMEIDA, A. S.; PEREIRA, G. C.; SILVA, B., E.; SILVA, C. R.; DAVID, A. C. T.; ARAUJO, A., D.; TREVISAN, G. Role of TRPA1 expressed in bone tissue and the antinociceptive effect of the TRPA1 antagonist repeated administration in a breast cancer pain model. **Life Sciences**, v.276, p. 119469, 2021.
- ALVIM, N. A. T.; FERREIRA, M. D. A.; CABRAL, I. E.; ALMEIDA FILHO, A. J. D.O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n.3, p.316-323, 2006.
- AMATORI, S.; MAZZONI, L.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; GASPARRINI, M.; FORBES-HERNANDEZ, T. Y., ... & BATTINO, M. Polyphenol-rich

strawberry extract (PRSE) shows in vitro and in vivo biological activity against invasive breast cancer cells. **Scientific reports**, v. 1, n. 6, p. 1-13. 2016.

AMBROGGI, M.; STROPPA, E. M.; MORDENTI, P.; BIASINI, C.; ZANGRANDI, A.; MICHIELETTI, E. BELLONI, E.; CAVANNA, L. Metastatic breast cancer to the gastrointestinal tract: report of five cases and review of the literature. **International Journal of Breast Cancer**. 2012;

AMBROGGI, M.; STROPPA, E. M.; MORDENTI, P.; BIASINI, C.; ZANGRANDI, A., MICHIELETTI, E., ... & CAVANNA, L. Metastatic breast cancer to the gastrointestinal tract: report of five cases and review of the literature. **International Journal of Breast Cancer**, v. 2012.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos—Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

AMERICAN COLLEGE OF RADIOLOGY, 2022. Disponível em: [https://www.acr.org/Clinical-Resources/Reporting-and-Data-Systems/Bi-Rads#:~:text=Breast%20Imaging%20Reporting%20%26%20Data%20System%20\(BI-RADS%C2%AE\),and%20MRI%20of%20the%20breast>.](https://www.acr.org/Clinical-Resources/Reporting-and-Data-Systems/Bi-Rads#:~:text=Breast%20Imaging%20Reporting%20%26%20Data%20System%20(BI-RADS%C2%AE),and%20MRI%20of%20the%20breast>.) Acesso em 10 de out de 2022.

AMORIM, V. A., & BORGES, L. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia, Ipameri**, 11(1), 54-67. 2020.

AMRI, O.; ZEKNINI, A.; BOUHAIMI, A.; TAHROUCH, S., & HATIMI, A. Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract from Pistacia atlântica Desf. **Pharmacogno sy Journal**. v. 10, n.1, 2018.

ARAÚJO, E. C.; OLIVEIRA, R. A. G.; CORIOLANO, A. T. Uso de plantas medicinais pelos pacientes com câncer de hospitais da rede pública de saúde em João Pessoa (PB). **Espaço Saúde (online)**. v. 8, n. 2, p. 44-52. 2007.

APARNA, V.; DILEEP, K. V.; MANDAL, P. K.; KARTHE, P.; SADASIVAN, C., & HARIDAS, M. Anti-inflammatory property of n-hexadecanoic acid: structural evidence and kinetic assessment. **Chemical biology & drug design**, v. 80, n. 3, p. 434-439, 2012.

ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: teoria e prática. 2 ed. Viçosa : Editora UFV, 1999.

ARBEX, P. M.; DE CASTRO, M. E.; TOLEDO, R. C. L., MORAIS, C. L.; PINHEIRO, S. H. M., ANJOS B. L., ... & MARTINO, H. S. D. Extruded sorghum flour (*Sorghum bicolor* L.) modulate adiposity and inflammation in high fat diet-induced obese rats. **Journal of functional foods**, v. 42, p. 346-355, 2018.

ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M., & NELSON, R. J. Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, n. 43, p. 385-406. 2012.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, p. 27-36, 2005.

AWIKA, J. M. Behavior of 3-deoxyanthocyanidins in the presence of phenolic copigments. **Food research international**, v. 41, p. 532-538, 2008.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. **Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L., & CISNEROS, Z. L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, 2003.

AWIKA, J. M.; YANG, L.; BROWNING, D. J.; FARAJ, A.; Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential of sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 6, p. 1041-1046, 2009.

AWIKA, J.M.; ROONEY, L.W. Sorghum phytochemicals and their potential aspects on human health. **Phytochemistry** 65: p. 1199-1221, 2004.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WANISKA, R. D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 90, v. 1-2, p. 293-301, 2005.

BAKATHIR, H. A.; ABBAS, N. A. Detection of the antibacterial effect of nigella sativa ground seedswith water. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 2, n. 8, 2011.

BASTOS, R. A. A.; LOPES, A. M. C. A Fitoterapia na Rede Básica de Saúde: o Olhar da Enfermagem. *Rev Bras Ciênc Saúde*. v. 14, p. 21-8, 2010.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, 2010.

BERMAS, B. L. Non-steroidal antiinflammatory drugs, glucocorticoids and disease modifying anti-rheumatic drugs for the management of rheumatoid arthritis before and during pregnancy. **Curr Opin Rheumatol**. v. 26, n. 3. p. 334-40, 2014.

BERTOZZI, S.; LONDERO, A. P.; CEDOLINI, C.; UZZAU, A.; SERIAU, L.; BERNARDI, S., ...& RISALITI, A. Prevalence, risk factors, and prognosis of peritoneal metastasis from breast câncer. **SpringerPlus**, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2015.

BEZERRA, J. D. C., FRANÇA, S. A., DO NASCIMENTO JÚNIOR, J. R. S., DE CASTRO, F. M., DA SILVA, N. V., & BARBOSA, S. N. Biossíntese de lignina em plantas submetidas ao déficit hídrico. *Pubvet*, v. 14, p. 132, 2020.

BITTENCOURT, C, J., B.; AMESTOY, S. C & THOFEHRN, M. B. A utilização de terapias alternativas por pacientes em tratamento quimioterápico. **Cogitare Enfermagem**, v. 1, n.13, p. 61-66, 2008.

BJORKMAN, D. J. The effect of aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs on prostaglandins. **Am J Med.** v. 105, n. 1. P. 8S-12S, 1998.

BOREN, B.; WANISKA, R. D. Sorghum seed color as an indicator of tannin content. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 1, n. 1, p. 117-121, 1992.

BRALLEY, E. E.; GREENSPAN, P.; HARGROVE, J. L.; WICKER, L., & HARTLE, D. K. Topical anti-inflammatory activity of *Polygonum cuspidatum* extract in the TPA model of mouse ear inflammation. *Journal of Inflammation*, v. 5, n. 1, 2008.

BRANCO, A. C. S. C. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE RATOS WISTAR E CAMUNDONGOS SWISS DO BIOTÉRIO PROFESSOR THOMAS GEORGE. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, [s.l.], v. 15, n.2, p.209-214, Portal de Periodicos, UFPB.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P. D. L.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A., & DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** Brasília: Ministério da Saúde, p. 60, 2006.

BREHMER, J. S. Estudo de extratos de plantas medicinais no desenvolvimento do tumor ascítico de ehrlich, 2005.

BROUCKAERT, O.; WILDIERS, H.; FLORIS, G.; NEVEN, P. Update on triplenegative breast cancer: prognosis and management strategies. **Int J Womens Health**. v. 4, p. 511-20, 2010.

BROUCKAERT, O.; WILDIERS, H.; FLORIS, G.; NEVEN P. Update on triplenegative breast cancer: prognosis and management strategies. *Int J Womens Health*. v. 4, p. 511-20, 2012.

BRUM, I. V.; GUERRA, M. R.; CINTRA, J. R. D. Bustamante-Teixeira, M. T. Câncer de mama metastático: aspectos clinicopatológicos e sobrevida segundo o sítio de metástase. **Medicina (Ribeirão Preto, Online.)**, v. 50, n. 3, p. 158-68, 2017.

Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. **A worldwide review**, Geneva, 1998.

BUCKLEY, C. D.; GILROY, D. W., & SERHAN, C. N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. **Immunity**, v. 3, n.40, p. 315-327. 2014.

CHACÓN R. D.; COSTANZO M. V. Triple-negative breast cancer. **Breast Cancer**. V. 2, n. 12, S3, 2010.

CHEN, F.; COLE, P.; MI, Z. B.; XING, L. Y. Corn and wheat-flour consumption and mortality from esophageal cancer in Shanxi, China. *International Journal of Cancer* v. 53, p. 902–906, 1993.

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, n. 89, p. 99-102, 2003.

CIPOLLA, G.; CREMA, F.; SACCO, S.; MORO, E.; DE PONTI, F.; FRIGO, G. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and inflammatory bowel disease: Current perspectives. **Pharmacol Res.** v. 46, p. 1-6, 2002.

COOK, M. T. Mechanism of metastasis suppression by luteolin in breast cancer. **Breast Cancer: Targets and Therapy**, v. 10, p. 89, 2018.

COUTINHO, M. A.; MUZITANO, M. F., & COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CORRÊA, P. B.; TORALLES, M. B. P.; ABE-SANDES, K.; MACHADO, T. M. B.; BONFIM, T. F.; MEYER, L. Câncer de mama triplo negativo e sua associação com ancestralidade africana. **R Ci méd biol.** V. 1, n. 9, p. 3-7, 2010.

COX, S.; NORONHA, L.; HERALD, T.; BEAN, S.; LEE, S. H.; PERUMAL, R., ...& SMOLENSKY, D. Evaluation of ethanol-based extraction conditions of sorghum bran bioactive compounds with downstream anti-proliferative properties in human cancer cells. **Heliyon**, v.5, n.5, p.1589, 2019.

CRAGG, G. M.; BOYD, M. R.; CARDELLINA, J. H.; GREVER, M. R.; SCHEPARTZ, S. A.; SNADER, K. M., & SUFFNESS, M. Role of plants in the National Cancer Institute drug discovery and development program, 1993.

CRUVINEL, W. D. M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. D.; SILVA, N. P. D., & ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, n. 50, v. 4, p. 434-447, 2010.

DE SÁ, L. V. Controle de qualidade de imagem em tomografia por emissão de pósitrons (Doctoral dissertation, Universidade Federal do Rio de Janeiro), 2010.

DEL RÉ, P. V& JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista brasileira de plantas medicinais**, n.14, v. 14, p. 389-399. 2012.

DELBEKE, D.; SCHÖDER, H.; MARTIN, W. H., & WAHL, R. L. (September). Hybrid imaging (SPECT/CT and PET/CT): improving therapeutic decisions. In **Seminars in nuclear medicine**, v. 39, n. 5, p. 308-340, WB Saunders, 2009.

DE ARAÚJO, L. C. R., LINS, M. A., DE LIMA, G. R., MORESCHI, A. R. C., LIMA, E. S., HANAN, S. A., ... & BANDEIRA, M. F. C. L. Atividade do óleo de copaíba sobre radicais livres formados durante a resposta inflamatória. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 53538-53553, 2020.

DLAMINI, N. R.; TAYLOR, J. R. N.; ROONEY, LLOYD, W. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chemistry**, v. 105, n. 4, p. 1412-1419, 2007.

DURAES, N.; NUNES, J.; PARRELLA, R. D. C.; BRUZI, A., & FAGUNDES, T. Eficiência da utilização do índice multiplicativo TBH na seleção de genótipos de sorgo sacarino. In **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 30.; SIMPÓSIO SOBRE LEPDÓPTEROS COMUNS A MILHO, SOJA E ALGODÃO, 1., 2014, Salvador. Eficiência nas cadeias produtivas e o abastecimento global: resumos expandidos. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2014.

DYKES, L., & ROONEY, L. W. Sorghum and millet phenols and antioxidants. **Journal of cereal science**, v, 44, n. 3, p. 236-251. 2006.

DYKES, L., ROONEY, L. W., WANISKA, R. D., & ROONEY, W. L. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6813-6818. 2005.

DYKES, L.; SEITZ, L. M.; ROONEY, W. L., & ROONEY, L. W. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116(1), p. 313-317. 2009.

EDEM, D. O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: **A review. Plant Foods for Human Nutrition**, v. 57, n. 3, p. 319-341, 2002.

ELIAS, M. N.; ALVES, E. Medicina não-convencional: prevalência em pacientes oncológicos. **Rev Bras Cancerol**. V. 48, n. 4, p. 523-32, 2002.

EL KHOULI, R.; LODGE, M.; ZEIGER, M.; VRANESIC, M.; ZIESSMAN, H., & SZABO, Z. Quantitative SPECT CT of the parathyroid with SUV measurements. 2015.

EL-MOSELHY, M. A.; TAYE, A.; SHARKAWI, S. S.; EL-SISI, S. F., & AHMED, A. F. The antihyperglycemic effect of curcumin in high fat diet fed rats. Role of TNF- α and free fatty acids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 5, n. 49, p. 1129-1140, 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **Cultivo do sorgo**. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao16_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=3809&p_r_p_996514994_topicId=3532>. Acesso em: 27 mar 2022.

FAO - Food And Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT 2008. Disponível em: <www.faostat.org/site/567/>. Acesso em: 06 ago. 2017.

FARIAS, J. L. G. Tópicos especiais em tecnologia de produtos naturais. **Série Poema**, 1998.

FARRAR, J. L.; HARTLE, D. K.; HARGROVE, J. L., & GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans: inhibition of protein glycation. *Phytotherapy research*, v. 22, n. 8. 1052-1056. 2008.

FEYS, L. F.; DESCAMPS, B.; VANHOVE, C.; VRAL, A.; VELDEMAN, L., VERMEULEN, S., ... & DE WEVER, O. Radiation-induced lung damage promotes breast cancer lung-metastasis through CXCR4 signaling. **Oncotarget**, v. 6, n. 29, p. 26615, 2015.

FRANCIS, N.; SHIWANGINI, R.; CHRISTOPHER B.; ABISHEK S. Black sorghum phenolic extract regulates expression of genes associated with oxidative stress and inflammation in human endothelial cells. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3321, 2019.

FREEDMAN, L. S.; CLIFFORD, C.K.; MESSINA, M. Meta-analysis of animal experiments: elucidating relationships between dietary fat and mammary tumor development in rodents. **Adv Exp Med Biol.** v 100, 364:93, 1994

FULLER, R. S.; Samuel, K. Exames Laboratoriais—Provas de Atividade Inflamatória. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=FULLER%2C+R.+S.%3B+Samuel%2C+K.+Exames+Laboratoriais%E2%80%93Provas+de+Atividade+Inflamat%C3%B3ria.&btnG=> Acesso em: 20 ago 2022.

FULLERTON, J. N., & GILROY, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature reviews Drug discovery**, v. 8, n. 15, p. 551-567, 2016.

GHOSH, Partha. The role of SPECT/CT in skeletal malignancies. In: **Seminars in musculoskeletal radiology**. Thieme Medical Publishers, p. 175-193, 2014.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, Á. M.; QUIÑONES-AGUILAR, E. E., & RINCÓN-ENRÍQUEZ, G. Actividad biológica de los terpenos en el área agroalimentaria. **Los Compuestos Bioactivos y Tecnologías de Extracción**. 2016.

GONZALEZ-REYES, C., Marcial-Medina, C., Cervantes-Anaya, N., Cortes-Reynosa, P., & Salazar, E. P. Migration and invasion induced by linoleic acid are mediated through fascin in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Molecular and cellular biochemistry*, v. 443, n. 1, p.1-10, 2018.

GUO, Y. F.; XU, N. N.; SUN, W.; ZHAO, Y.; LI, C. Y., & GUO, M. Y. Luteolin reduces inflammation in Staphylococcus aureus-induced mastitis by inhibiting NF-κB activation and MMPs expression. **Oncotarget**, v. 8, n. 17, p. 28481, 2017.

HAHN, D.H.; ROONEY, L.W.; EARP, C.F. Tannins and phenols of sorghum. **Cereal Foods World**.v. 29, p. 776–779, 1984.

HAM, Y. M.; SONG, H. S.; KWON, J. E.; JEON, H.; BAEK, H. J.; KIM, C. W., ... & KANG, S. C. Effects of fermented Sorghum bicolor L. Moench extract on inflammation and thickness in a vascular cell and atherosclerotic mice model. **Journal of natural medicines**, v. 73, n.1, p. 34-46. 2019.

HAHN, D.H.; ROONEY, L.W.; EARP, C.F. Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World*. v. 29, p. 776–779. 1984.

HENRIQUES, G. S.; CAMPELO, A. F.; LACERDA, I. C. A.; 2, RAQUEL LINHARES BELLO DE ARAÚJO, R. L. B. Caracterização química e determinação da

capacidade antioxidante de genótipos brasileiros de sorgo (*Sorghum bicolor* L.). In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 26., 2018, Belém, PA. O uso consciente da biodiversidade: perspectivas para o avanço da ciência e tecnologia de alimentos. Belém, PA: SBCTA: UFPA, 2018.

HENRIQUES, L. G. D. T. M. Correlação da cintilografia de mama com a classificação imunoistoquímica dos tumores mamários. 2016.

HENRIQUES, L. G. T. M.; correlação da cintilografia de mama com a classificação imunoistoquímica dos tumores mamários. Tese de doutorado. UEP. 2016. INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (Brasil). Estimativa 2020. Incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2021.

HONG S.; PANGLOLI, P.; PERUMAL, R.; COX S.; NORONHA, L. E.; DIA, V. P.; SMOLENSKY, D. A comparative study on Phenolic content, Antioxidant and Anti-inflammatory capacity of aqueous and ethanolic extracts of sorghum in lipopolysaccharide- induced RAW 264.7 **Macrophages. Antioxidant (Basel)**, v. 9, n. 2, p. 1297, 2020.

HUSSAIN, T.; TAN, B.; YIN, Y.; BLACHIER, F.; TOSSOU, M. C., & RAHU, N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. Oxidative medicine and cellular longevity, 2016.

INCA - Instituto Nacional do câncer. Acesso em: <<https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/acoes-de-controlado-tratamento>>. Acesso em: 20 fev 2022.

INCA - publicações - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Controle de câncer de mama (documento de consenso). Disponível em: <<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/ConsensoIntegra.pdf>>. Acesso em: 05 mar 2022.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (Brasil). Conceito e Magnitude. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-de-mama/conceito-e-magnitude>> Acesso em: 05 de mar de 2022.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020:** incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//...>> Acesso em: 25 fev 2022.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Fatores de risco.** Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/en/node/1202>>. Acesso em: 25 Fev 2022.

INCA-Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Sinais e sintomas.** Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>>. Acesso em: 25 Fev 2022.

INCA-Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Confirma as recomendações do Ministério da Saúde para o rastreamento do câncer de mama. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/noticias/confirma-recomendacoes-do>>

ministerio-da-saude-para-o-rastreamento-do-cancer-de-mama>Acesso em: 05 mar 2022.

INCA-Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/perguntas-frequentes/qual-diferenca-entre-cancer-situ-e-invasivo>>. Acesso em: 12 nov 2022.

IVC - Instituto Vencer o Câncer. Disponível em: Acesso em: <https://vencerocancer.org.br/cancer/diagnostico/cintilografia-e-spect-tc/>. Acesso em: 01 out 2020.

IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Disponível em: <https://www.ipen.br/portal_por/conteudo/geral/BULA%20MDPTEC%20Profissional%20da%20Saude.pdf>. Acesso em: 20 ago 2020.

ISRAEL, O.; PELLET, O.; BIASSEONI, L.; DE PALMA, D.; ESTRADA-LOBATO, E., GNANASEGARAN, G., ... & GIAMMARILE, F. Two decades of SPECT/CT—the coming of age of a technology: an updated review of literature evidence. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 46, n. 10, p. 1990-2012, 2019.

ISRAEL, O.; PELLET, O.; BIASSEONI, L.; DE PALMA, D.; ESTRADA, L. E. Gnanasegaran, G., ... & Giammarile, F. Two decades of SPECT/CT—the coming of age of a technology: an updated review of literature evidence. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 46, n. 10, p. 1990-2012, 2019.

IWALEWA, E. O.; MCGAW, L. J.; NAIDOO, V., & ELOFF, J. N. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. **African Journal of Biotechnology**, n. 6, p. 25, 2007.

IWALEWA, E.; MCGAW, L.; NAIDOO, V.; ELOFF, J. Inflammation: The foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. **African J Biotech.** v. 6, p. 2868-885, 2007.

JERÔNIMO, A. F. D. A., FREITAS, Â. G. Q., & WELLER, M. Risk factors of breast cancer and knowledge about the disease: an integrative revision of Latin American studies. **Ciencia & saude coletiva**, v. 22, p. 135-149, 2017.

KADRI, F.B.; MESSAOUD, B.; NOUREDDINE, W. D. Free radical scavenging activity correlated with phenolic contents in aqueous methanolic extracts of three algerian cultivars of sorghum: *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **ElWahat for Research and Studies**. v.10, p.166–180, 2017.

KELLOGG, E. A. Evolutionary history of the grasses. **Plant Physiology**. v. 125, p. 1198-1205, 2001.

KIM, SHI HYOUNG.; GWANG, J. P.; JONGSUNG LEE.; YANG, W. S.; PARK, G. W.; KIM, H. G.; YI, Y. S.; BAEK, K. S.; SUNG, N. W.; HOSSEN, M. J.; LEE, M.; KIM, J. H.; CHO, J. Y. The Dietary Flavonoid Kaempferol Mediates Anti-Inflammatory

Responses via the Src, Syk, IRAK1, and IRAK4 Molecular Targets. **Mediators Of Inflammation**, p.1-15, 2015.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxygenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Rev Bras Anesthesiol.** p. 498-512, n. 52, 2002.

L. YANG, J.D. BROWNING, J.M. Awika **Sorghum 3-deoxyanthocyanins possess strong phase II enzyme inducer activity and cancer cell growth inhibition properties**J. Agric. Food Chem., 57 (5) (2009), pp. 1797-1804

LAMEIRA O. A.; PINTO J. E. B. P. **Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 264p.

LAMEIRA, O. A. PINTO, J. E. P. Plantas medicinais: Cultivo, manipulação e uso à recomendação popular. **EMBRAPA Amazônia oriental**, 2008.

LASSO, P.; GOMEZ-CADENA, A.; URUEÑA, C.; DONDA, A.; MARTINEZ-USATORRE, A., ROMERO, P., ... & FIORENTINO, S. An immunomodulatory gallotanin-rich fraction from *Caesalpinia spinosa* enhances the therapeutic effect of anti-PD-L1 in melanoma. *Frontiers in immunology*, v. 11, p. 2996, 2020.

MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity.** p. 23-53, 1977.

MARIANI, G.; BRUSELLI, L.; KUWERT, T.; KIM, E. E.; FLOTATS, A.; ISRAEL, O., ... & WATANABE, N. A review on the clinical uses of SPECT/CT. **Eur J Nucl Med Mol Imaging.**v.37. P. 1959–1985. 2010.

MARIANI, G.; BRUSELLI, L.; KUWERT, T.; KIM, E. E.; FLOTATS, A., ISRAEL, O., ... & Watanabe, N. A review on the clinical uses of SPECT/CT. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v.10, n. 37,p. 1959-1985, 2010.

MARKIEWSKI, M. M., & LAMBRIS, J. D. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. **The American journal of pathology**, v. 3, n. 171, p. 715-727, 2017.

MARKIEWSKI, M. M.; LAMBRIS, J. D. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. **Am J Pathol.** v. 171, n. 3, p. 715-27, 2007.

MAZZA, G., & BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry**, v. 25, p. 207-225, 1987.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 5, n. 140, p. 771-776, 2010.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428–435, 2008.

MEGRAJ, K.V.K.; RAJU, K.; BALARAMAN, R.; MEENAKSHISUNDARAM, K. Biological activities of some Indian medicinal plants. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, v.1, p.12-44. 2011.

MEHMOOD, S.; ORHAN, I.; AHSAN, Z.; ASLAN, S., & GULFRAZ, M. Fatty acid composition of seed oil of different Sorghum bicolor varieties. **Food chemistry**, v. 109, n. 4, p. 855-859, 2008.

MELGAÇO, S.; SARIAVA, M. I.; LIMA, T.; SILVA, J. G, DAHER, E.; Nefrotoxicidade dos antiinflamatórios não esteroidais. *RMRP [Internet]*. 30 dez. 2010.

MELLO, J. D.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia : da planta ao medicamento. Porto Alegre / Florianópolis: **Ed. Universidade / UFRGS / Ed. da UFSC**, 2003.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C.; SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. Porto Alegre: **Ed.UFRGS/Ed.UFSC**. v. 24, p.517-543, 2021.

RIBEIRO, V.P.; ARRUDA, C.; EL-SALAM, M.A.; BASTOS, J.K. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. *Pharmaceutical Biology*, v. 56, p. 253- 268, 2018.

MESQUITA, D. W. O.; MESQUITA, A. S. S.; CURSINO, L. M. C.; SOUZA, E. S.; OLIVEIRA, A. C.; PINHEIRO, C. C. S.; NOVAES, J. A. P.; OLIVEIRA, J. A. A.; NUNEZ, C. V. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E. J., & MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta médica**, v. 45, p.5,31-34, 1982.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P. D.; ARAÚJO, E. D. L., & AMORIM, E. L. C. D. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896. 2005.

MEHMOOD, S.; ORHAN, I.; AHSAN, Z.; ASLAN, S.; GULFRAZ, M. Fatty acid composition of seed oil of different Sorghum bicolor varieties. **Food chemistry**, v. 109, n. 4, p. 855-859, 2008.

NIP, W., AND BURNS, E. Pigment characterization in grain sorghum. I. red varieties. **Cereal Chem.** v. 46: p. 490—495. 1969.

OLIVEIRA, F. R. S. D.; SILVA, A. M. D.; ARCUSCHIN, L.; WAGNER, J., & YAMAGA, L. Y. Recorrência em pacientes portadores de melanoma cutâneo submetidos a biópsia de linfonodo sentinela: seguimento mediano de 37 meses. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 31, p. 279-283. 2004.

ONCOGGUIA. disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/biopsia-do-linfonodo-sentinela-para-cancer-de-mama/1398/265/>>. acesso em : dez de 2021.

ONCOGUIA. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/mastectomia-para-cancer-de-mama/6564/265/>>. Acesso em: 11 mar 2022.

ONG, A. S. H., & GOH, S. H. Palm oil: a healthful and cost-effective dietary component. **Food and nutrition bulletin**, v. 23, n. 1, p. 11-22, 2002.

Organização Mundial da Saúde (OMS). **Estratégia da OMS Sobre Medicina Tradicional. 2002-2005**. Genebra: OMS; 2002.

Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.

PAGARE, S.; BHATIA, M.; TRIPATHI, N.; PAGARE, S.; BANSAL, Y. K. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 293-304, 2015.

PANETH, P.; HEVESY, G. V.; Mitteilungen aus dem Institut für Radiumforschung. *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*. v.34, p. 1593–1603. 1913.

PEREIRA, R. J., & CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v.3, n. 4, 2012.

PETERSON, K.; MCDONAGH, M.; THAKURTA, S.; DANA, T.; ROBERTS, C.; CHOU, R. Drug class review: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Update 4 final report. 2010.

POBER, J. S.; SESSA, W. C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. **Nature Reviews Immunology**.v. 7, n. 10, p. 803-815, 2007.

PRADO, G. L.; GUERRA, M. T. P. M. Valor preditivo positivo das categorias 3, 4 e 5 do Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS®). **Radiologia Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 171-174, 2010.

PREVEDELLO, M. T.; COMACHIO, G. Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021.

QUEIROZ, V. A. V.; MENEZES, C. B.; SILVA, C. S., & MIGUEL, R. A. Composição centesimal de cultivares comerciais de sorgo para uso na alimentação humana. In *Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: **SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 5., 2015**, Bento Gonçalves. Alimentação e saúde. Bento Gonçalves: SBCTA-RS, 2015.

QUEIROZ, V. A. V.; MORAES, É. A.; SCHAFFERT, R. E.; MOREIRA, A. V.; RIBEIRO, S. M. R., & MARTINO, H. S. D. Potencial funcional e tecnologia de

processamento do sorgo [*sorghum bicolor* (L.) moench], para alimentação humana. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 10(3), p. 180-195, 2012.

RABELO, D. M. Determinação da atividade antioxidante in vitro e in vivo em bebidas de café: influência do tipo de extração, 2014.

RAINSFORD, K. D. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. **Subcell Biochem.** v. 42, p. 3-27, 2007.

RAO, S. A. B.; SANTHAKUMAR, K. A.; CHINKWO, G.; WU, S. K.; JOHNSON, C. L. B. Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. **Journal of Cereal Science**. v. 84, p. 103–11, 2018.

RHEN, T.; CIDLOWSKI JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids - New mechanisms for old drugs. **N Engl J Med**. v. 353, p. 1711- 23, 2005.

RICCIOTTI, E.; FITZ, G. G. A. Prostaglandins and inflammation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.

ROGERS, A. E. Diet and breast cancer: studies in laboratory animals. **J Nutr**. v.127, n 5, p. 933, 1997.

RYU, J. M.; JANG, G. Y.; PARK, D.; WOO, K. S.; KIM, T. M.; JEONG, H. S., & KIM, D. J. Effect of sorghum ethyl-acetate extract on benign prostatic hyperplasia induced by testosterone in Sprague–Dawley rats. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 82, n. 12, p. 2101-2108, 2018.

SARIKA, A.; PURABI, R.; VINOD, S.; AVNISH, K.; RAMBIR, S.; POONAM, S. Anti-Inflammatory Activity of Lactobacillus Carrageenan-Induced Paw Edema in Male Wistar Rats. **International Journal Of Inflammation**, [s.l.], v.2012, p.1-6, 2012.

SAIKI, P.; KAWANO, Y.; VAN GRIENSVEN, L. J., & MIYAZAKI, K.. The anti-inflammatory effect of *Agaricus brasiliensis* is partly due to its linoleic acid content. **Food & function**, v. 8, n, 11, p, 4150-4158, 2017.

SALAZAR LOPEZ, N. J., LOARCA-PIÑA, G., CAMPOS-VEGA, R., GAYTÁN MARTÍNEZ, M., MORALES SÁNCHEZ, E. The extrusion process as an alternative for improving the biological potential of sorghum bran: phenolic compounds and antiradical and anti-inflammatory capacity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2016.

SALAZAR, L. N. J.; GONZALEZ, A. G.; ROUZAUD, S. O., & ROBLES, S. M. Technologies applied to sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): changes in phenolic compounds and antioxidant capacity. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 369-382, 2018.

SANDOVAL, A. C.; FERNANDES, D. R.; SILVA, A.; JUNIOR, A. T. T. Uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). **Revista Científica FAEMA**; v.8 n.2. 2017.

SANTOS, F.; COSTA, E.; RODRIGUES, J., LEITE, C., & SCHAFFERT, R. Avaliação do comportamento de genótipos de sorgo para resistência a seca. In *Embrapa Milho e Sorgo-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**, 21. Londrina. Resumos... Londrina: IAPAR. p. 32. 1996.

SHAH, M. A. R.; KHAN, R. A.; AHMED, M. *Sorghum halepense* (L.) Pers rhizomes inhibitory potential against diabetes and free radicals. **Clinical Phytoscience**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2021.

SCHECHTER, N. R.; YANG, D. J.; AZHDARINIA, A., & CHANDA, M. Technologies for translational imaging using generators in oncology. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**, v. 3, n. 2, p. 251-258, 2007.

SCHILLACI, O. Hybrid SPECT/CT: a new era for SPECT imaging?. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 5, n. 32, p. 521-524, 2005.

SCHMID, P. M.D.; ADAMS, S.; HOPE S. R.; SCHNEEWEISS, A.; BARRIOS, C. H.; HIROJI IWAT.; VÉRONIQUE DIÉRAS.; ROBERTO H. E. G. G.; SEOCK-AH I. M.; WRIGHT, G. S.; HENSCHER, V.; MOLINERO, L. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer. **The new england journal of medicine**. v.379. p. 2108-2121. 2018.

SHRADER, J.; BOHLMANN, J. Biotechnology of Isoprenoids; **Springer: Switzerland**, p. 470, 2015.

SEN, C. K.; KHANNA, S.; RINK, C., & ROY, S. Tocotrienols: the emerging face of natural vitamin E. **Vitamins & Hormones**, v. 76, p. 203-261, 2007.

SEPÚLVEDA-VÁZQUEZ, J.; TORRES-ACOSTA J. F.; SANDOVAL. C. C.; ALFREDO, M. P.; JESÚS F.; CHAN, P. J. I. A importância dos metabólitos secundários no controle de nematóides gastrointestinais em ovinos com ênfase em Yucatán, México. **Journal of the Andean Jungle Animal Science** , v. 5, não. 2 P. 79-95, 2018.

SESSA, R.; DI PIETRO; M., FILARDO, S., & TURRIZIANI, O. Infectious burden and atherosclerosis: A clinical issue. **World Journal of Clinical Cases: WJCC**, v. 2, n, 7, p. 240, 2014.

SHAIKH, S.; VERMA, H.; YADAV, N.; JAUHARI, M.; BULLANGOWDA, J. Applications of steroid in clinical practice: A review. **ISRN Anesthesiology**. p.985495, 2012.

SILVA G.; FACHIN A. L.; BELEBONI R. O.; FRANÇA S. C.; MARINS M. In vitro action of flavonoids in the canine malignant histiocytic cell line DH82. **Molecules**.v.18(12) p. 5448-63, 2013.

SIMANEK, M.; KORANDA, P. SPECT/CT imaging in breast cancer-current status and challenges. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc**, v. 160, n. 4, 2016.

SIMANEK, M.; & KORANDA, P. SPECT/CT imaging in breast cancer-current status and challenges. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc**, v. 4, p. 160, 2016.

SKALLI, S.; HASSIKOU, R.; ARAHOU, M. An ethnobotanical survey of medicinal plants used for diabetes treatment in Rabat, Morocco. *Heliyon*, n. 01421, 2019.

SMOLENSKY, D. RHODES D.; MCVEY, Z.; FAWVER, R. PERUMAL, T.; HERALD, L. NORONHA. High-polyphenol sorghum bran extract inhibits cancer cell growth through ROS induction, cell cycle arrest, and apoptosis. **Journal of medicinal food**, v. 21, n. 10, p. 990-998, 2018.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A.; SOUSA, M.; HENRIQUES, M.; RAMOS, M. Óleos essenciais – potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia. Brasília: KL3 Comunicação, ano III**, p. 38-43, 2000.

SOUZA, A.; MORAES, M. G., & RIBEIRO, R. D. C. L. F. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta bot. bras**, v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.

STEFOSKA, N. A.; BECK, E. J.; JOHNSON, S. K., & TAPSELL, L. C. Sorghum: an underutilized cereal whole grain with the potential to assist in the prevention of chronic disease. **Food Reviews International**, v. 31, n. 4, p. 401-437, 2015.

SUGANYADEVI, P.; SARAVANAKUMAR, K. M., & MOHANDAS, S. The antiproliferative activity of 3-deoxyanthocyanins extracted from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran through P53-dependent and Bcl-2 gene expression in breast cancer cell line. **Life sciences**, v. 92 n. (6-7), p. 379-382. 2013.

SULIJAYA, B.; TAKAHASHI, N.; YAMADA, M.; YOKOJI, M.; SATO, K., AOKI-NONAKA, Y., ... & YAMAZAKI, K. The anti-inflammatory effect of 10-oxo-trans-11-octadecenoic acid (KetoC) on RAW 264.7 cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. **Journal of Periodontal Research**, v. 53, n. 5, p.777-784, 2018.

TABOSA, J. N.; TAVARES, J. A.; REIS, O. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; LIMA, J. D.; CARVALHO, H. D.; NASCIMENTO, M. D. Potencial do sorgo granífero em Pernambuco e no Rio Grande do Norte: resultados obtidos com e sem irrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27: Londrina PR. **EMBRAPA, tabuleiros costeiros**. 2008.

TABOSA, J. N.; LIMA, G. S.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; BRITO, A. R. M. B.; RITA, M. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Programa de melhoramento de sorgo e milho em Pernambuco. **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Brasília**, p. 1, v. 29, 1999.

TAVARES, H. D., CONCEIÇÃO, R. N., & SILVA, Z. S. B. Abordagem Dos Principais Métodos de Diagnóstico do Câncer de Mama: Uma Revisão de Literatura Em. **Revista Científico ITPAC**, n. 4. v. 1, 2011.

TAIZ, L., & ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I. 2006.

TOGNI, P. H. A. *Cintilografia com MDP-99mTc na detecção conjunta do câncer de mama e lesões ósseas metastáticas* (Doctoral dissertation, Universidade Federal de São Paulo. **Escola Paulista de Medicina, São Paulo**). 2000.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016.

TOLEDO, B.; COELHO, F.; THOMAS, S.; SOUZA, S.; PINHEIRO, S. M.; SÁ, L.; Avaliação dos parâmetros de aquisição de imagens SPECT para Ítrio-90 em radiosinoviotese, .v. 6, n. 2. 2018.

TUNG MUNNITHUM, D.; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABA, A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: **An overview. Medicines**, v. 5, n. 93, 2018.

VEIGA, J. R. V. F.; PINTO, A. C.; PATITUCCI, M. L.; ZANINO, L.; CALIXTO, J. B.; **Phytother. Res.** v. 15, p. 476, 2001.

VENN-WATSON, S.; LUMPKIN, R., & DENNIS, E. A. Efficacy of dietary odd-chain saturated fatty acid pentadecanoic acid parallels broad associated health benefits in humans: could it be essential ?. **Scientific reports**, v. 1, n. 10, p. 1-14, 2020.

VISHAL, V.; SHARMA, G. N.; MUKESH, G.; RANJAN B. A review on some plants having anti-inflammatory activity. **J Phytopharmacol.** v. 3, n.3, p. 214-21, 2014.

WANISKA, R. D.; POE, J. H.; & BANDYOPADHYAY, R. Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. **Journal of Cereal Science**, v. 10, p. 217-225. 1989.

WARD, J. V.; TOCKNER, KLEMENT; SCHIEMER, FRITZ. Biodiversity of floodplain river ecosystems: ecotones and connectivity1. **River Research and Applications**, v. 15, n. 1-3, p. 125-139, 1999.

WEI, L.; LAI, E.CC.; YANG, Y.H.K.; WALKER, B.R.; MACDONALD, TM.; ANDREW, R.A. Incidence of type 2 diabetes mellitus in men receiving steroid 5 α -reductase inhibitors: population based cohort study. **BMJ**, v. 365, n. 1204, 2019.

WEIGELT, B.; PETERSE.; JOHANNES, J. L.; VAN'T, V.; LAURA, J. Breast cancer metastasis: markers and models. **Nature reviews cancer**, v. 5, n. 8, p. 591-602, 2005.

WEILBAECHER, K. N.; GUISE, T. A& MCCAULEY, L. K. Cancer to bone: a fatal attraction. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 11, p. 411-425, 2011.

WHO-World Health Organization. International Agency for Research on Cancer-IARC, 2010. Cancer incidence and mortality worldwide. Disponível em: < <http://globocan.iarc.fr> >. Acesso em: Fev de 2021.

WILLOUGHBY, D. A.; DIROSA, M., Studies on the mode of action of non-steroid anti-inflammatory drugs. **Ann. Rheum. Dis.** v. 31, p. 540, 1972.

WINTER, C.; RISLEY, E.; NUSS, O. Carrageenin-induced inflammation in the hindlimb of the rat. *Fed. Proc.* v. 46, p. 118–126. 1962.

WU, G., S. J.; BENNETT, J. F.; BORNMAN, M. W.; CLARKE, Z. FANG, S. K. J. Phenolic profile and content of sorghum grains under different irrigation managements. **Food Research International (Ottawa, Ont.)** v. 97, p. 347–55, 2017.

WU, L., HUANG, Z.; QIN, P.; YAO, Y.; MENG, X.; ZOU, J., ... & REN, G. Chemical characterization of a procyanidin-rich extract from sorghum bran and its effect on oxidative stress and tumor inhibition in vivo. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 16, n. 59, p. 8609-8615. 2011.

WEHLING, M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs use in chronic pain conditions with special emphasis on the elderly and patients with relevant comorbidities: management and mitigation of risks and adverse effects. **Eur J Clin Pharmacol.** n. 70, p. 1159-72, 2014.

YANG, L.; BROWNING, J. D.; AWIKA, J. M. Sorghum 3-deoxyanthocyanins possess strong phase II enzyme inducer activity and cancer cell growth inhibition properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1797-1804, 2009.

YOUNG, A.; MARSH, S. Steroid use in critical care. **EJA**, v. 18, n. 5, p. 129-134, 2018.

ZAFARYAB, M.; FAKHRI, K. U.; KHAN, M. A.; HAJELA, K., & RIZVI, M. M. A. In vitro assessment of cytotoxic and apoptotic potential of palmitic acid for breast cancer treatment. **Int. J. Life Sci. Res.** v. 7, n. 1, p. 166-174, 2019.

ZENG, L.; MILLER, E. W.; PRALLE, A.; ISACOFF, E. Y., & CHANG, C. J. A selective turn-on fluorescent sensor for imaging copper in living cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, p. 10-11, 2006.

ZIESSMAN, H. A., O'MALLEY, J. P., & THRALL, J. H. *Medicina nuclear*. Elsevier Brasil. 2014.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2125 8542
ceua@ufpe.br

Recife, 05 de outubro de 2018

Ofício nº 94/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Ivone Antônia de Souza
Departamento de Antibióticos
Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.021843/2018-07

Certificamos que a proposta intitulada **"Análise antitumoral do extrato de Sorghum bicolor L. Moench em tumor mamário por meio de imagem em microPET"** registrada com o nº **23076.021843/2018-07**, sob a responsabilidade de **Prof. Ivone Antonia de Souza** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 02/10/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Outubro de 2018 ate janeiro de 2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogenico
Nº de animais	30
Peso/Idade	25-40g/60 dias
Sexo	(30) Femea
Origem	Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE.

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345591



ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO IPEN



ipen
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Análise do potencial antitumoral do extrato de *Sorghum bicolor* L. Moench em tumores mamários por meio de imagens em microPET”, registrada com o nº 245/19, sob a responsabilidade de Emerson Soares Bernardes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica ou ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela CEUA-IPEN - Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP) em **18/07/2019**.

We certify that the proposal titled “Analysis of the antitumoral potential of the extract of *Sorghum bicolor* L. Moench in mammary tumors by means of images in microPET”, registration number 245/19, under the responsibility of Emerson Soares Bernardes, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the CEUA-IPEN - Ethic Committee on Animal Use of the Nuclear and Energy Research Institute (IPEN/CNEN-SP) in **7/18/2019**.

Finalidade:	Pesquisa Científica
Vigência da autorização:	Agosto/2019 a Junho/2020
Espécie/linhagem/raça:	Camundongo/Mus musculus/ Balb/C Nude Camundongo/Mus musculus/Balb/C
Nº de animais:	48
Peso/Idade:	Balb/C Nude - 24F - 06 a 09 semanas Balb/C - 24F - 06 a 09 semanas
Sexo:	Fêmeas
Origem:	Biotério do IPEN-CNEN/SP

São Paulo, 18 de Julho de 2019.



Patrick Jack Spencer
Coordenador da CEUA-IPEN

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP)
Centro de Biotecnologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária - CEP: 05508-000 - São Paulo - Estado de São Paulo
Telefone: (011) 3133-9696 – E-mail: ceuaipen@ipen.br