



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARÍLIA ALVES DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICÂNCER
IN VITRO DE *Alpinia purpurata* (Viell.) K. Schum e *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt.
& R.M. Sm**

Recife

2024

MARÍLIA ALVES DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICÂNCER
IN VITRO DE *Alpinia purpurata* (Viell.) K. Schum e *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt.
& R.M. Sm**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Profa. Dra Jaciana dos Santos Aguiar

Recife

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Marília Alves da.

Caracterização química, atividades antioxidante e anticâncer in vitro de *Alpinia purpurata* (Viell.) K. Schum e *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm.
/ Marília Alves da Silva. - Recife, 2024.

53p : il., tab.

Orientador(a): Jaciana dos Santos Aguiar

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Caracterização química. 2. Antioxidante. 3. Citotóxica. 4. Câncer. 5. *Alpinia*.
I. Aguiar, Jaciana dos Santos. (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

MARÍLIA ALVES DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICÂNCER
IN VITRO DE *Alpinia purpurata* (Viell.) K. Schum e *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt.
& R.M. Sm**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 26/09/2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Jaciana dos Santos Aguiar (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Leydianne Leite de Siqueira Patriota (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Tonny Cley Campos Leite (Examinador Externo)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco - IFPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre presente em cada vitória e derrota, animando meu espírito e me fortalecendo.

Agradeço a minha família que me apoia em cada decisão e me mostra que sou capaz de almejar tudo que anseio. Obrigada, mãe, por se entusiasmar comigo em cada conquista. Obrigada, pai, por todo esforço feito para minha educação. Obrigada, irmãos por todo carinho que me anima em tempos difíceis.

Agradeço aos amigos que estiveram comigo, tanto os de fora, quanto os de dentro da UFPE, particularmente Sofia Soares, que desde o início da graduação foi a mais parceira e deixou tudo mais leve. Agradeço também às colegas de laboratório, Maria Eduarda Souza e Evelyne Galdino por todo companheirismo. Agradeço igualmente ao meu namorado João Victor por me incentivar e me ajudar em todo o processo.

Agradeço à minha orientadora, professora Jaciana dos Santos Aguiar, que me deu a oportunidade de fazer pesquisa e se disponibilizou para me ajudar no que fosse necessário. Agradeço também aos professores Tonny Leite, Marcílio Moraes e Antônio Oliveira que disponibilizaram alguns dos recursos para a minha pesquisa. Agradeço a Erwelly Barros do LEVI que compartilhou seu conhecimento comigo e a todos os integrantes dos laboratórios parceiros que auxiliaram em etapas deste estudo.

Agradeço, por fim, a Universidade Federal de Pernambuco por ter se tornado meu lar por muitos anos e ter me proporcionado novas experiências.

RESUMO

A utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos. Hoje em dia, a importância dos produtos naturais é confirmada através dos fármacos advindos dos compostos presentes em plantas, como os fármacos dito antineoplásicos: vinca, vimblastina e paclitaxel. Além disso, os óleos essenciais e extratos vindos do metabolismo secundário das plantas vêm sendo utilizados em muitos estudos a respeito das atividades biológicas que beneficiam a sociedade. Com base nisso, o presente estudo possui o objetivo de analisar a constituição química, a atividade antioxidante e a atividade citotóxica *in vitro* dos óleos essenciais de *Alpinia purpurata* (OEAp), *Alpinia zerumbet* (OEAz) e extratos de *A. purpurata*. Os óleos essenciais (OE) foram extraídos por hidrodestilação e após submetidos a análise foi feita a identificação dos compostos foram avaliados como majoritários o β -cariofileno que expressou 16,29 % no OEAp e o trans- β -Terpineol que expressou 21,26 % no OEAz. Os extratos foram extraídos pelo aparelho Soxhlet, que utiliza solventes de acordo com a ordem crescente de polaridade, foram eles o hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) a identificação dos compostos foi feita por bioprospecção fitoquímica. A atividade antioxidante das amostras se deu a partir do uso do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Os OEs e o extrato Hex não tiveram ação nessa metodologia, enquanto os extratos de AcOEt e MeOH obtiveram percentual de sequestro do radical de 52,10 e 52,45 %, respectivamente na maior concentração testada de 500 $\mu\text{g/mL}$. O ensaio de citotoxicidade *in vitro* envolveu linhagens cancerígenas e não cancerígenas, foi utilizado o método do brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), como controle positivo foi utilizado o paclitaxel (10 $\mu\text{g/mL}$), e as amostras foram testadas em uma concentração máxima de 50 $\mu\text{g/mL}$. As substâncias que apresentaram inibição maior que 70% foram OEAp, que inibiu o crescimento em 97,57 %, OEAz inibiu em 87,79 %, Hex inibiu em 97,03 % e AcOEt 81,29 % na HL-60 (Leucemia Promielocítica Aguda). Na linhagem HeLa (Carcinoma cervical humano), OEAp causou inibição de 74,51 % e OEAz inibiu 76,68 %. OEAp inibiu 79,79 %, 90,86 % e 88,49 %, na MCF-7 (câncer de mama humano), na L929 (fibroblasto do tecido conjuntivo subcutâneo de *Mus musculus*) e Vero CCL-81 (célula epitelial de rim de macaco verde), respectivamente. A CI₅₀ das amostras variou entre 9,39 para OEAp na linhagem Vero CCL81 e 38,29 $\mu\text{g/mL}$ para OEAz na linhagem HL-60. Ademais, o cálculo do índice de seletividade mostrou maior seletividade de OEAp para as linhagens cancerígenas em relação a L929 e Vero CCL-81. Portanto, os óleos essenciais e extratos de *Alpinia* demonstraram resultados promissores para os ensaios da citotoxicidade. Por isso, são necessárias mais pesquisas que investiguem os mecanismos de ação de seus compostos.

Palavras-chave: *Alpinia*; caracterização química; antioxidante; citotóxica; câncer.

ABSTRACT

The use of natural products, particularly flora, for medicinal purposes was born with humanity. Evidence of the use of medicinal and toxic plants was found in the oldest civilizations, serving as an important source of biologically active compounds. Nowadays, the importance of natural products is confirmed through drugs derived from compounds present in plants, such as the so-called antineoplastic drugs: vinca, vinblastine and paclitaxel. Furthermore, essential oils and extracts from the secondary metabolism of plants have been used in many studies regarding biological activities that benefit the society. Based on this, the present study aims to analyze the chemical constitution, antioxidant activity and *in vitro* cytotoxic activity of the essential oils of *Alpinia purpurata* (OEAp), *Alpinia zerumbet* (OEAz) and extracts of *A. purpurata*. Essential oils (EO) were extracted by hydrodistillation and after being subjected to analysis, the compounds were identified. The majority were evaluated as β -caryophyllene, which expressed 16.29 % in OEAp, and trans- β -Terpineol, which expressed 21.26 % in OEAz. The extracts were extracted by the Soxhlet apparatus, which uses solvents according to the increasing order of polarity, they were hexane (Hex), ethyl acetate (AcOEt) and methanol (MeOH). The identification of the compounds was carried out by phytochemical bioprospecting. The antioxidant activity of the samples was due to the use of the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The EOs and the Hex extract had no effect in this methodology, while the AcOEt and MeOH extracts obtained a radical scavenging percentage of 52.10 and 52.45 %, respectively at the highest tested concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$. The *in vitro* cytotoxicity assay involved cancerous and non-cancer strains, the 3-[4,5-dimethyl-thiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method was used, as a positive control it was used paclitaxel (10 $\mu\text{g/mL}$), and samples were tested at a maximum concentration of 50 $\mu\text{g/mL}$. The substances that showed inhibition greater than 70% were OEAp, which inhibited growth by 97.57 %, OEAz inhibited by 87.79 %, Hex inhibited by 97.03 % and AcOEt 81.29 % in HL-60 (Promyelocytic Leukemia Acute). In HeLa (Human Cervical Carcinoma), OEAp caused 74.51 % inhibition and OEAz inhibition 76.68. OEAp inhibited 79.79 %, 90.86 % and 88.49 % in MCF-7 (human breast cancer), L929 (Mus musculus subcutaneous connective tissue fibroblast) and Vero CCL-81 (kidney epithelial cell green monkey), respectively. The IC_{50} of the samples varied between 9.39 for OEAp in the Vero CCL81 lineage and 38.29 $\mu\text{g/mL}$ for OEAz in the HL-60 lineage. Furthermore, the calculation of the selectivity index showed greater selectivity of OEAp for cancerous lineages in relation to L929 and Vero CCL-81. So, *Alpinia* essential oils and extracts demonstrated promising results for cytotoxicity assays. Therefore, more research is needed to investigate the mechanisms of action of its compounds.

Keywords: *Alpinia*; chemical characterization; antioxidant; cytotoxic; cancer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Partes aéreas de <i>A. purpurata</i> (gengibre-vermelho)	14
Figura 2 –	Partes aéreas de <i>A. zerumbet</i>	15
Figura 3 –	Marcadores do câncer	17
Figura 4 –	Integração dos sistemas de defesa enzimático	23
Figura 5 –	Reação de redução do radical DPPH	27
Figura 6 –	Redução do MTT a formazan	28
Figura 7 –	Etapas do método do MTT	29
Figura 8 –	Diluição seriada para construção da curva dose-resposta	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Rendimento dos óleos essenciais de <i>Alpinia spp.</i> extraídos por hidrodestilação das inflorescências frescas.	32
Tabela 2 –	Rendimento dos extratos de <i>A. purpurata</i> extraídos por soxhlet das inflorescências frescas.	32
Tabela 3	Compostos químicos do óleo essencial de <i>A. purpurata</i> seus respectivos índices de retenção e a porcentagem na composição total.	33
Tabela 4 –	Compostos químicos do do óleo essencial de <i>A. zerumbet</i> seus respectivos índices de retenção e a porcentagem na composição total.	34
Tabela 5 –	Prospecção fitoquímica dos extratos da inflorescência de <i>A. purpurata</i>	35
Tabela 6 –	Percentual de sequestro do radical DPPH e seus respectivos desvios padrões.	36
Tabela 7 –	Percentuais de inibição e EPM de linhagens celulares <i>in vitro</i> após exposição de 72h aos óleos essenciais de <i>A. purpurata</i> , <i>A. zerumbet</i> (50 µg/mL) e ao Paclitaxel (10 µg/mL).	37
Tabela 8 –	Percentuais de inibição e EPM de linhagens celulares <i>in vitro</i> após exposição de 72h aos extratos das inflorescências de <i>Alpinia purpurata</i> . (50 µg/mL) e ao Paclitaxel (10 µg/mL).	37
Tabela 9 –	Concentração inibitória (CI ₅₀) com intervalo de confiança dos óleos essenciais de <i>A. purpurata</i> , <i>A. zerumbet</i> e do Paclitaxel em linhagens celulares <i>in vitro</i> após 72h.	38
Tabela 10 –	Concentração inibitória (CI ₅₀) com intervalo de confiança dos extratos de <i>A. purpurata</i> em linhagens celulares <i>in vitro</i> após 72h.	39
Tabela 11 –	Índices de seletividade do óleo essencial de <i>A. purpurata</i> para linhagens tumorais em relação à linhagem L929.	39
Tabela 12 –	Índices de seletividade do óleo essencial de <i>A. purpurata</i> para linhagens tumorais em relação à linhagem Vero CCL-81.	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.1	Objetivos específicos	12
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1	Gênero <i>Alpinia</i>	13
3.1	<i>Alpinia purpurata</i>	13
3.1	<i>Alpinia zerumbet</i>	14
3.2	Câncer	15
3.2.1	Aspectos gerais do câncer	15
3.2.2	Câncer de mama	17
3.2.3	Câncer do colo do útero	18
3.2.4	Leucemia Promielocítica Aguda	19
3.3	Estudo do câncer <i>in vitro</i>	20
3.4	Estresse oxidativo	21
4	METODOLOGIA	24
4.1	Material botânico	24
4.2	Extração dos óleos essenciais e extratos	24
4.3	Análise por CG-EM e identificação dos componentes	24
4.4	Testes de prospecção fitoquímica de classes químicas de plantas	25
4.5	Atividade antioxidante	26
4.5.1	Método do DPPH	26
4.6	Atividade citotóxica <i>in vitro</i>	27
4.6.1	Cultura de células	27
4.6.2	Método do MTT	28
4.6.3	Índice de seletividade	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	Rendimento dos óleos essenciais	32
5.1.1	Rendimento dos extratos	32
5.2	Caracterização química	33
5.3	Atividade antioxidante	35

5.3.1	Sequestro do DPPH	35
5.4	Atividade citotóxica	36
6	CONCLUSÃO	40
7	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (Andrade *et al.*, 2007). Hoje em dia, a importância e magnitude dos produtos naturais como fonte de fármacos é confirmada através do significativo número de medicamentos disponíveis no mercado, advindos de fontes naturais ou inspirados neles (Dias, 2023).

Dentre os fármacos, os dito antineoplásicos descobertos em plantas, pode-se citar o da *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, conhecida também como Vinca, e seus alcalóides isolados, vimblastina e vincristina. Inicialmente foram utilizados durante os testes de atividade hipoglicemiante, mas descobriram ser ativos no tratamento contra leucemia linfocítica em ratos (Gurib-Fakim, 2006). Os taxanos foram inicialmente isolados da casca do teixo do Pacífico, *Taxus brevifolia* Nutt e incluem o paclitaxel (taxol®), estudos clínicos revelaram que essa substância era capaz de regredir o câncer de mama e de ovário em humanos (Cragg *et al.*, 2005). Hoje em dia, estes fármacos continuam sendo utilizados para tratamento de diversas neoplasias.

Na utilização de plantas se destacam o uso de óleos essenciais, que são misturas complexas de compostos naturais e os extratos, que são soluções concentradas do material vegetal. Ambos são ricos em metabolitos secundários que são produzidos e armazenados nos órgãos secretores das plantas aromáticas, podendo ser encontradas em folhas, frutos, flores, gomos, sementes, ramos, cascas, raízes e caules (Christaki *et al.*, 2012; Cunha *et al.*, 2012). Ademais, apresentam diferentes propriedades biológicas, como a ação larvicida, atividade antioxidante, ação analgésica e anti-inflamatória, fungicida e atividade antitumoral (Carmo *et al.*, 2008; Mendes *et al.*, 2010; Rajkumar *et al.*, 2010; Silva, 2008; Wannes *et al.*, 2010).

Neste contexto, o presente estudo buscou acrescentar mais conhecimentos referente a composição e propriedades dos óleos essenciais e extratos de *Alpinia*, um gênero tão diverso em espécies mas ainda há muito que ser estudado quanto às atividades biológicas. Por isso, foram selecionados experimentos que tornassem possíveis a identificação dos constituintes químicos desses óleos e extratos, além da observação de possíveis ações antioxidante e citotóxica *in vitro*. Em suma, espera-se que este trabalho forneça base científica para aprofundamento dessa temática no futuro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Caracterizar os componentes químicos dos óleos essenciais e extratos orgânicos das inflorescências de *Alpinia purpurata* (Viell.) K. Schum e *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt. & R.M. Sm e avaliar atividades antioxidante e anticâncer *in vitro*.

2.2 Objetivos específicos

- ❖ Obter óleo essencial das inflorescências de *Alpinia zerumbet* e *Alpinia purpurata* e extratos de *Alpinia purpurata*.
- ❖ Identificar os compostos que constituem os óleos essenciais e os extratos;
- ❖ Observar ação antioxidante frente ao radical DPPH;
- ❖ Analisar citotoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais e extratos nas linhagens celulares HeLa, HL-60, MCF-7, L929 e Vero CCL-81.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Gênero *Alpinia*

O gênero *Alpinia* é o maior gênero da família *Zingiberaceae*, com mais de 200 espécies (Cronquist, 1981). Trata-se de uma planta herbácea, geralmente com 2–4 metros, mas às vezes até 12 metros de altura (Smith, 1990). Muitas espécies de *Alpinia* são consideradas plantas etnomedicinais e condimentares em vários países como China, Índia, Japão e Vietnã (Zhang *et al.*, 2016). No Brasil, ainda é uma espécie com grande valor ornamental, mas também é utilizada na medicina popular devido às propriedades medicinais a ela atribuídas, destacam-se os efeitos hipotensor e levemente diurético obtidos através do chá das folhas, que foram confirmados pelos estudos de Laranja *et al.* (1991, 1992) e Mendonça *et al.* (1991).

Além da variedade das espécies, *Alpinia* contém uma grande variedade de compostos fitoquímicos como terpenos, fenilpropanóides, diarilheptanoides, flavonoides, óleos voláteis e ligninas (Zhang *et al.*, 2016). Ademais, grande parte do gênero é conhecida pelas ervas aromáticas, têm muitas partes que contêm óleos essenciais, como frutas, sementes, folhas, rizomas, raízes, brotos, caules, pseudocaules, inflorescências, flores, pétalas e sementes possuindo diversas bioatividades antimicrobiana, antiviral, antiparasitária e antitumoral (Ho, 2010; Samarghandian *et al.*, 2014).

3.1 *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum

Alpinia purpurata é popularmente conhecida por gengibre-vermelho e alpínia (Lorenzi *et al.*, 2008). As plantas são perenes, podendo atingir até 4 m de altura, formando touceiras de até 1,5 m de expansão. O caule é subterrâneo, do tipo rizoma. As folhas são lanceoladas, longas, espessas, bordas orladas e produzidas em talos densos e coloração verde-escura. As inflorescências são terminais, podendo alcançar 30 cm e são compostas por brácteas eretas e flores brancas (Terao *et al.*, 2005). Por possuir facilidade de adaptação, hoje é cultivada em todas as regiões tropicais do planeta. Em Pernambuco, observou-se uma melhor adaptação na região do litoral e Zona da Mata, onde florescem com qualidade durante o ano inteiro (Teixeira *et al.*, 2008).

Na literatura, já existem relatos de atividades biológicas de *A. purpurata*, como atividade antibacteriana, larvicida, atividade antioxidante e citotóxica. De acordo com Villaflores *et al.* (2010), os compostos bioativos de *A. purpurata* extraídos das folhas com diferentes solventes (etanol, hexano e butanol) demonstraram atividade antimicrobiana nas

concentrações 72, 64 e 35 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente contra a espécie bacteriana *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Os óleos obtidos a partir das inflorescências das variantes vermelha e rosa apresentaram efeito larvicida em atividades contra o *Aedes aegypti* no estudo de Chan *et al.* (2015), no qual apresentou valores de concentração letal (CL50) de 81 e 72 mg/mL , respectivamente para cada flor. Segundo Raj *et al.* (2012) a maior atividade de sequestro do radical DPPH dessa espécie foi de 68,42 % para extrato de acetato de etila na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$. O mesmo extrato também apresentou atividade citotóxica *in vitro* contra OAW42, células de câncer de ovário humano, com valor IC50 de 130 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 1. Partes aéreas de *A. purpurata* (variante vermelha)



Fonte: A autora (2024)

3.1.3 *Alpinia zerumbet*

Segundo Corrêa (1984), acredita-se que *Alpinia zerumbet* foi introduzida de propósito no Brasil, sendo cultivada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro como uma forma de presentear a Princesa Isabel por ter assinado a Lei Áurea. Sendo assim, tal espécie não é endêmica do Brasil, mas é naturalizada nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, Oceania e Ásia. A sua nomenclatura popular é bem mais extensa, sendo conhecida como Alpínias, Galanga, Gengibre tocha, flor de cera, colônia, paco seroca, cuité-açu, pacova, dentre outras. Na literatura científica possui sinônimos como: *Alpinia speciosa* K. Schum., *Alpinia speciosa* (JC Wendl.) K. Schum, *Alpinia fluviatilis* Hayata, *Zerumbet speciosum* J. C. Wendel, entre outras. Trata-se de uma planta herbácea, com cerca de 2,5 metros de altura, com caule aéreo curto agrupados em touceiras, folhas lanceoladas em disposição dística de base aguda e ápice cuspidado, pubescentes nos bordos. As folhas são alternas, simples e curto-pecioladas,

com longa bainha aberta e lígula desenvolvida. A sobreposição das bainhas origina um pseudocaule (Albuquerque *et al.*, 2004; BRASIL, 2014).

Através dos trabalhos acadêmicos já publicados com a utilização dessa espécie, observa-se atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica. O óleo essencial das inflorescências secas de *A. zerumbet*, teve seu potencial antibacteriano avaliado por Kerdudo *et al.* (2017), foi testado contra 8 cepas de bactérias, leveduras e fungos. Na concentração de 0,5 % (p/v), o óleo essencial exibiu inibição significativa e superior a 90 % contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella enteritidis* e *Listeria innocua*. De acordo com Castro *et al.* (2016) o óleo essencial das folhas de *A. zerumbet* apresentou p-cimeno (32,72 %), 1,8-cineol (24,05 %) e 4-terpineol (20,23%) como os constituintes majoritários. Cavalcanti *et al.* (2012), por sua vez, observou um efeito antioxidante dose-dependente do óleo essencial do fruto de *A. zerumbet*, através do ensaio de eliminação de radicais livres por DPPH, chegando a sequestrar 80,15 % dos radicais livres a 300 µg/mL. Posteriormente, Zahra *et al.* (2019), destacou o extrato de diclorometano devido ao potencial citotóxico *in vitro* exibido contra células de carcinoma de Ascite de Ehlich (EAC), reduzindo a viabilidade celular em 91,3 %, 94,7 % e 100 % nas concentrações de 25 µg/mL, 50 µg/mL e 100 µg/mL respectivamente.

Figura 2. Partes aéreas de *A. zerumbet*



Fonte: Cristina Braga (2018).

3.2 Câncer

3.2.1 Aspectos gerais do câncer

O Instituto Nacional de Câncer (2022), traz o conceito de câncer como sendo o termo que abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas, que têm em comum o

crescimento desordenado de células que podem invadir tecidos ou órgãos adjacentes. Assim, em cada divisão celular, as células estão expostas a sofrer o efeito dos inúmeros carcinógenos. No entanto, o aparecimento e desenvolvimento de células tumorais a célula necessita romper uma série de barreiras para se tornar cancerígena (Ward, 2002). Seguindo essa ideia, a transformação da célula normal em tumoral ocorre por várias razões, destacando-se: 1. alterações genéticas que causam mutações ou amplificações nas atividades de oncogenes; 2. anormalidades proteicas, enzimáticas ou hormonais; 3. crescimento das células tumorais (tumor primário); 4. deslocamento do tumor primário para outros tecidos e órgãos (metástase) (Naoum, 2016).

Todas as células do corpo humano tem suas características definidas a partir da expressão do DNA que carrega nos seus genes. No entanto, quando tal expressão é alterada por mutações nestes genes podem levar à desregulação do ciclo celular, ocasionando células cancerígenas (NIH, 2021). Então, para que uma célula normal se torne cancerígena, é necessário uma série de mutações, em genes específicos, como os genes supressores tumorais, os proto-oncogenes e os genes de reparo do DNA. Mutações essas que podem ser herdadas pelas gerações celulares subsequentes. Então, durante um ciclo celular normal, são esperados pontos de checagem que identifiquem e corrijam os erros ou que induzam a apoptose dessa célula anormal (Ward, 2002).

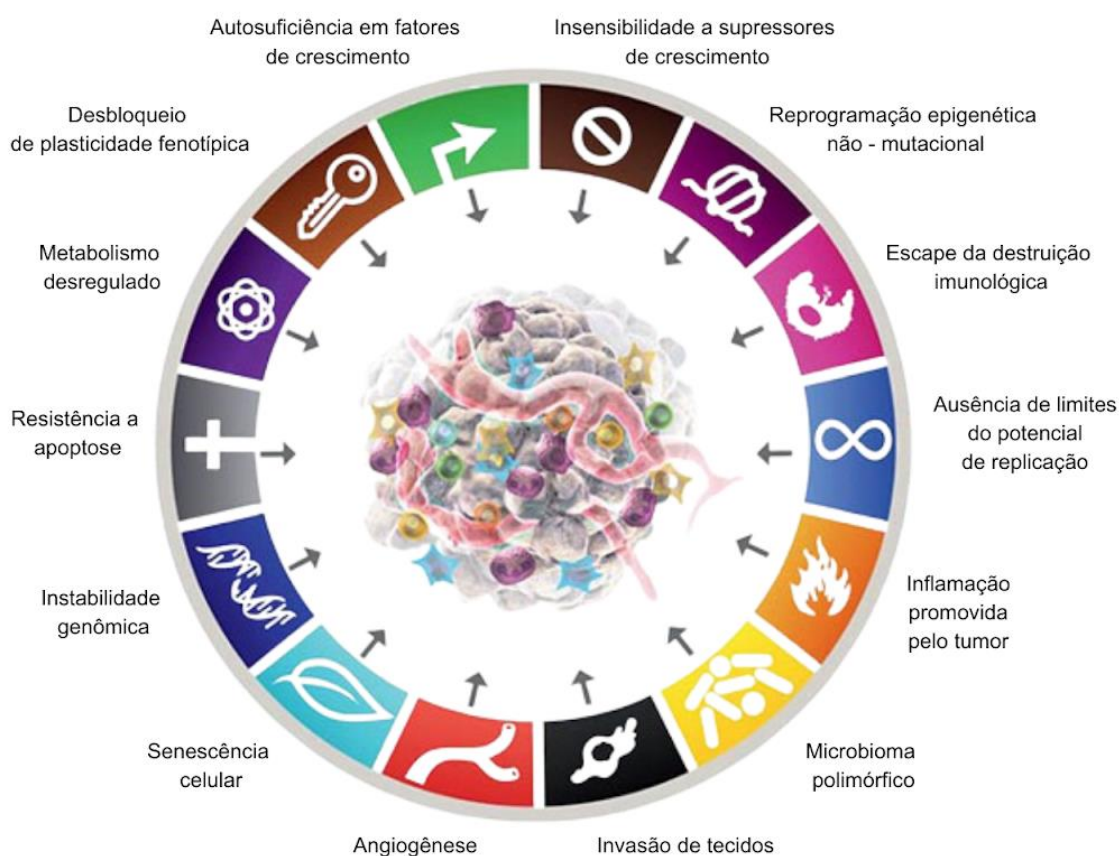
Tendo em vista que o câncer é um conjunto de doenças, possui etiologias e formas distintas, podendo se apresentar de diversas formas. Os tipos mais frequentes são os carcinomas, originados de células epiteliais, tais como os cânceres de útero e mama. Existem os sarcomas, que se originam de tecidos de suporte, tais como ossos, gordura, músculo e tecido fibroso. Também se tem os linfomas, advindos de células conhecidas como linfócitos, encontradas em glândulas linfáticas e sangue e os melanomas, que se iniciam em células chamadas de melanócitos. Ademais, tem-se a leucemia, que se origina de células da medula óssea que produzem as células sanguíneas brancas, as quais, se acumulam e causam problemas, restringindo a criação de novas células (Kolstad *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2016).

A partir desse conhecimento, é possível definir os marcadores do câncer, que são capacidades adquiridas pelas células cancerígenas durante o desenvolvimento do tumor, compartilhadas por quase todo tipo de câncer. Essa definição foi proposta para auxiliar no estudo dos múltiplos fenótipos que as doenças poderiam apresentar. A princípio, foram definidas seis capacidades: autossuficiência em fatores de crescimento, insensibilidade a supressores de crescimento, escape da apoptose, ausência de limites do potencial de replicação, sustento da angiogênese e invasão de tecidos (Hanahan e Weinberg, 2000). À medida que o

conhecimento dos mecanismos do câncer avançou, (Hanahan e Weinberg 2011) pontuaram outros potenciais marcadores: metabolismo celular desregulado, escape da destruição imunológica, inflamação promovida pelo tumor e instabilidade genômica. Após mais de uma década, foram adicionadas novas características consideradas apropriadas para serem incorporadas na conceituação anterior, sendo elas: desbloqueio da plasticidade fenotípica, reprogramação epigenética não-mutacional, microbioma polimórfico e senescência celular (Hanahan, 2022).

Até o presente momento, são evidenciados catorze marcadores (Figura 3), e devido a toda complexidade que envolve o câncer, são necessários cada vez mais estudos para uma compreensão mais completa dos mecanismos, manifestações e tratamentos da doença.

Figura 3. Marcadores do câncer



Fonte: Modificado de Hanahan (2022)

3.2.2 Câncer de mama

O câncer de mama é o tipo de neoplasia com maior incidência em todo o mundo, principalmente na população feminina, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos (Dias *et al.*, 2023). No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) o

número estimado de casos novos de câncer de mama, para o triênio de 2023 a 2025, é de 73.610 casos, correspondendo a um risco estimado de 66 casos novos a cada 100 mil mulheres. A taxa de mortalidade por câncer de mama no Brasil não é homogênea entre as regiões, o maior risco estimado é observado na Região Sudeste, de (84,46 por 100 mil mulheres) e Sul (71,44 casos por 100 mil mulheres), regiões com maior índice de desenvolvimento no país. Embora seja uma doença genética, nem todo caso é hereditário, o que indica que o curso clínico e a sobrevida variam entre os pacientes. É uma doença determinada por uma série complexa de fatores, tais como a diferença na velocidade de duplicação tumoral, o potencial de metastização do tumor e outros mecanismos, ainda não completamente compreendidos, relacionados com a condição imunológica, hormonal e nutricional do paciente (Souza *et al.*, 2008).

A principal manifestação clínica da doença é o nódulo (caroço) fixo na mama e/ou axila, geralmente indolor. Outros sinais e sintomas são: dor mamária, pele da mama (avermelhada com retrações de aspecto semelhante à casca de laranja) e saída espontânea de líquido anormal pelos mamilos (Silva, 2011). Quando a doença é diagnosticada no início, o tratamento locorregional tem maior potencial curativo, as técnicas mais abordadas são a cirurgia e a radioterapia. A cirurgia é feita para retirar o tumor, podendo ser a retirada de toda a mama, ou apenas retirada do tumor e áreas afetadas (Femama, 2021). Já a radioterapia utiliza radiações ionizantes (raio x), com o objetivo de destruir as células tumorais ou impedir que se espalhem (INCA, 2022).

Além disso, há o tratamento sistêmico, que se faz necessário quando a metástase já está instalada. A técnica mais utilizada é o uso de quimioterápicos, sendo eles: quimioterápicos convencionais e hormonioterápicos (Kerr *et al.*, 2022). Dentre os quimioterápicos convencionais mais utilizados contra o câncer de mama estão: os alcalóides da vinca (vimblastina, vinorelbina, eribulina); as antraciclinas, como a doxorrubicina; os taxanos, como o paclitaxel e o docetaxel; a ciclofosfamida; a cisplatina; e a carboplatina. Os hormonioterápicos, são fármacos que agem inibindo a ação de determinados hormônios, como por exemplo o tamoxifeno e toremifeno são antiestrogênicos (Paludo *et al.*, 2023). Entretanto, esses fármacos, em sua maioria, também destroem células saudáveis, ocasionando efeitos adversos significativos para o paciente.

3.2.3 Câncer do colo do útero

A estimativa mundial apontou que o câncer do colo do útero foi o quarto mais frequente em mulheres em todo o mundo, com uma estimativa de 604 mil casos novos, representando

6,5% de todos os tipos de câncer em mulheres. Esse valor corresponde a um risco estimado de 13,30 casos por 100 mil mulheres, e as taxas de incidência mais elevadas foram estimadas para os países do continente africano (Ferlay *et al.*, 2021; Sung *et al.*, 2021). Em termos de mortalidade no Brasil, em 2020, ocorreram 6.627 óbitos, e a taxa de mortalidade bruta por câncer do colo do útero foi de 6,12 mortes a cada 100 mil mulheres (BRASIL, 2022; Instituto nacional de câncer José Alencar Gomes da Silva, 2020a).

O câncer do colo do útero, também chamado de câncer cervical, é um tipo de neoplasia maligna causada pelos HPVs (papilomavírus humano), um grupo de vírus com alta afinidade por mucosa e pele. Ao menos 200 variações genotípicas do HPV já foram relatadas, destas, cerca de 12 foram associadas com o desenvolvimento de câncer de colo de útero (Queiroz *et al.*, 2023). A principal via de transmissão do vírus é através do contato pele a pele no momento da relação sexual (genital-genital ou oral-genital) ou ainda que de forma rara, no momento do parto (Johnson *et al.*, 2019). As células infectadas pelo HPV têm falhas na supressão tumoral, devido a atividade desregulada das proteínas p53 e RB, isso consequentemente leva ao surgimento de características neoplásicas (resistência a morte celular e escape imunológico) e por fim, o início da carcinogênese cervical (Nakagawa *et al.*, 2010).

O método mais empregado para a detecção precoce é o teste de Papanicolau, que busca detectar as lesões pré-cancerígenas ou cancerígenas antes que elas se expandam para os tecidos circundantes à lesão primária (Medrado, 2023). Atualmente, foi elaborado um esquema de tratamento que pode incluir sessões de radioterapia, cirurgias de remoção de tumores e a administração de fármacos antineoplásicos, como por exemplo, a cisplatina, paclitaxel e o topotecano (Frigo *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016). Entretanto, esses fármacos trazem muitos efeitos indesejados aos pacientes em tratamento, tanto estéticos como fisiológicos (American Cancer Society, 2020b).

3.2.4 Leucemia Promielocítica Aguda

Leucemia é uma doença hematológica, que atinge os leucócitos (glóbulos brancos) originários da medula óssea dos indivíduos. A origem se dá na fase de maturação dos leucócitos, provocando anomalias celulares. De maneira geral, as leucemias podem ser divididas em dois grandes grupos: agudas e crônicas, ambas possuem subcategorias, linfocítica e mielóide (Santos *et al.*, 2019; Delfino, 2022). Dentro do que se conhece a Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é um subtipo da leucemia mielóide aguda (LMA), classificada como LMA M3, está associada à translocação t(15;17)(q22;q21) que rompe o gene do receptor ácido alfa do ácido retinóico (RARA). Como resultado, uma porção do gene

do RARA se funde com um locus no cromossomo 15, chamado PML (promyelocytic myeloid leukemia) de onde RNA mensageiros para a proteína quimérica PML-RARA são expressos, causando alterações estruturais (Lima *et al.*, 2000; Sagrilo *et al.*, 2005).

A LPA corresponde de 10% a 15% das leucemias mieloides agudas, a presença de uma síndrome hemorrágica severa no momento do diagnóstico é a característica mais importante da LPA e uma das causas mais frequentes de morte precoce. Esse tipo de leucemia desencadeia sintomas relacionados com a anemia, trombocitopenia e organomegalia. Apresenta, também, níveis baixos de fibrinogênio e tempos prolongados de protrombina e parcial de tromboplastina, sendo a primeira manifestação clínica a leucopenia (Muñoz, 2001). Caracterizam-se pela presença de múltiplos bastonetes de Auer no citoplasma, formando feixes, dando a essas células a denominação de “Faggot cells” (células com maços ou feixes) (Zago *et al.*, 2004).

Ademais, para o tratamento da LPA normalmente é utilizado o ácido trans-retinóico (ATRA), que é um metabólito natural derivado do retinol. A combinação do ácido trans-retinóico com outros medicamentos como: a idarrubicina e o trióxido de arsênio (ATO) se mostraram eficazes na indução de remissão completa (Li *et al.*, 2014; Yilmaz *et al.*, 2021).

3.3 Estudo do câncer *in vitro*

Com a maior incidência de casos de câncer no mundo, a busca por novos agentes eficazes tem aumentado. As pesquisas iniciam-se com ensaios de triagem *in vitro*, permitindo avaliar a atividade citotóxica de compostos. Portanto, a citotoxicidade é o termo utilizado para expressar o efeito cumulativo de um composto durante um determinado período de tempo no número de células, seja devido a apoptose, necrose ou redução na taxa de proliferação celular (Xia *et al.*, 2008).

A utilização dos testes de citotoxicidade *in vitro* representa uma ferramenta útil e promissora nas primeiras etapas de seleção de compostos antitumorais (León *et al.*, 2006). Quando testados *in vitro*, um composto que mata as células tumorais não é um potencial agente anticâncer, é apenas um composto tóxico. Para se tornar um potencial agente anticancerígeno, um composto citotóxico deve matar mais células tumorais e menos células normais (Kornienko *et al.*, 2013).

Os ensaios de viabilidade celular são métodos utilizados para avaliar as células metabolicamente ativas em resposta a estímulos extracelulares, fármacos para tratamento terapêutico, agentes químicos, ou a fim de otimizar as condições da cultura celular. Os ensaios

de viabilidade celular podem ser classificados de acordo com o procedimento de quantificação celular: métodos colorimétricos, fluorimétricos e por exclusão de corante azul de tripano (Gomathi *et al.*, 2020; Larramendy *et al.*, 2018; Nga *et al.*, 2020; Omaiye *et al.*, 2019; Sola-Leyva *et al.*, 2020).

Os ensaios colorimétricos permitem, a partir da medida de absorbância por espectrofotometria, avaliar a quantidade de células viáveis em relação ao controle (Frachini *et al.*, 2021). Destacam-se o do brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), o sal de tetrazólio mais utilizado para determinar a viabilidade celular em diferentes linhagens de células. Este ensaio foi desenvolvido por Mosmann (1983), é considerado um método simples, rápido e reprodutível. A citotoxicidade de um composto também pode ser avaliada pela quantificação de células mortas a partir da atividade enzimática do lactato desidrogenase (LDH). Essa enzima, presente no citoplasma de células eucarióticas, é liberada para o meio de cultivo quando a integridade da membrana plasmática celular é comprometida (Jähn *et al.*, 2011).

Dos ensaios fluorimétricos, o AlamarBlue é o mais usado, a resazurina é um indicador colorimétrico de cor azul que na mitocôndria de células viáveis é reduzido a resorufina de cor rosa emitindo um sinal fluorescente captado pelo espectrofotômetro, refletindo a viabilidade celular (Goto *et al.*, 2018).

O ensaio de exclusão do corante azul de tripano é um teste utilizado para determinar o número de células viáveis presentes em uma suspensão celular. O princípio deste ensaio é que as células vivas têm membranas celulares intactas que excluem a coloração azul try-pan, enquanto as células mortas não. A suspensão celular é examinada visualmente sob microscopia óptica para determinar que células viáveis terão um citoplasma claro, enquanto células inviáveis terão um citoplasma azul. Esta é uma técnica de medição simples e rápida, contudo, é considerada subjetiva, pois é determinada indiretamente pela integridade da membrana celular (Strober, 2015).

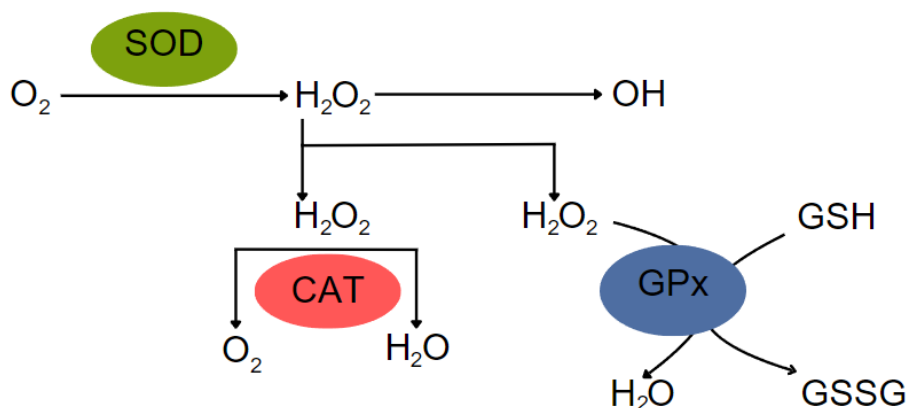
3.4 Estresse oxidativo

A instalação do processo de estresse oxidativo procede da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em prol da geração excessiva de radicais livres ou perda da velocidade de remoção desses. O termo radical livre refere-se a átomo ou molécula altamente reativa, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, conferindo a esses átomos ou moléculas uma alta reatividade (Halliwell *et*

al., 1990; 1992; 2004). Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas reações bioquímicas, e a geração desses radicais ocorre nas membranas celulares, citoplasma e nas mitocôndrias, principalmente, por meio da cadeia transportadora de elétrons, que é a principal fonte geradora de radicais livres (Ferreira *et al.*, 1997; Koury *et al.*, 2003; Shami *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (Halliwell *et al.*, 2004). Segundo Green *et al.* (2004), a cronicidade do processo em questão tem relevantes implicações sobre o processo etiológico de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis, entre elas a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer. A partir disso, houve o desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Estes têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes. Tais objetivos podem ser alcançados por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos radicais livres, impedindo a ação dos radicais, ou favorecendo o reparo das estruturas biológicas lesadas (Bianchi *et al.*, 1999; Clarkson *et al.*, 2000; Koury *et al.*, 2003).

Dentre as defesas antioxidantes, uma delas é o sistema enzimático, que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). A SOD catalisa a conversão do radical superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a CAT catalisa a redução do H_2O_2 a H_2O (água) e O_2 . Já a GPx, catalisa a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a H_2O , faz à custa da conversão da glutathione reduzida (GSH) em oxidada (GSSG), essa última que promove ação oxidante em função da ligação dissulfeto existente em sua estrutura (Rover *et al.*, 2001). Sendo assim, as enzimas agem com o mesmo propósito, o de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que culmina na geração do radical OH, indicado como o de maior potencial reativo e com extrema instabilidade, capaz de agir sobre as proteínas, alterando-as em relação à sua estrutura e/ou função biológica (Welch *et al.*, 2002). A atividade das enzimas em questão muitas vezes depende da participação de cofatores enzimáticos, especialmente antioxidantes vindos de dietas. Por exemplo, a SOD é dependente de cobre e zinco no citoplasma, enquanto na mitocôndria, necessita do manganês como cofator. A GPx também pode ou não ser dependente de selênio no citoplasma ou na mitocôndria (Green *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 1997).

Figura 4. Integração dos sistemas de defesa enzimático

Fonte: A autora (2024)

Outro sistema de defesa chamado não enzimático, inclui os compostos antioxidantes vindos da dieta, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos. Podendo citar, o ácido ascórbico (vitamina C), o α -tocoferol e β -caroteno, precursores das vitaminas E e A, respectivamente. Dentre os minerais destacam-se o zinco, cobre, selênio e magnésio (Bianchi *et al.*, 1999; Prasad *et al.*, 2007). Os estudos que se referem a esses compostos estão com a fundamentação bastante sólida da relevância da ação antioxidante dessas moléculas, por isso o Ministério da Saúde (2022), ressalta a importância do consumo de alimentos ricos nesses compostos.

Outros compostos antioxidantes podem ser vistos através de ensaios usados para medir a habilidade de sequestro de radicais livres (Alves *et al.*, 2010). Os testes propostos na literatura variam quanto ao tipo de radicais gerados, indicador de oxidação escolhido e método usado para sua detecção e quantificação. Em todos esses ensaios, um radical é gerado e reage com moléculas-alvo, para produzir cor, fluorescência, perda ou ganho de sinais de ESR (“Electron Spin Resonance” ou Ressonância do Spin Eletrônico) ou outra mudança mensurável. A presença de antioxidantes altera esses sinais, o que permite sua análise quantitativa (Vasconcelos *et al.*, 2007).

Dentre os testes utilizados, aqueles conhecidos pelas siglas DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) permitem avaliar, através do grau de descoloração, sua capacidade antioxidante frente a adição de seus radicais no meio. Estes métodos são considerados um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenóides (Alves *et al.*, 2010).

4. METODOLOGIA

4.1 Material botânico

As inflorescências de *A. purpurata* e *A. zerumbet* foram coletadas na fazenda Sapé, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE), Barreiros – PE, na sua época de floração, no mês de fevereiro de 2024. A identificação das espécies foi feita pela botânica Dra Rita de Cássia Pereira, curadora do herbário do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA) e depositadas neste herbário sob a numeração 92.965 para *A. purpurata* e 93.048 para *A. zerumbet*.

4.2 Extração dos óleos e extratos orgânicos

Os óleos essenciais foram obtidos por meio de hidrodestilação, usando o sistema extrator Clevenger, acoplado a um balão volumétrico de 1000 mL. Para *A. purpurata* pesaram-se 150 g de flores e juntamente com 600 mL de água destilada foi colocado no balão volumétrico. No caso de *A. zerumbet* a proporção foi de 90 g de flores e 900 mL de água destilada, então, ambos os materiais foram aquecidos por 2 h na temperatura de 100° C. Por fim, os materiais foram tratados com sulfato de sódio anidro para remoção de resíduos polares e armazenados em recipientes de vidro sem entrada de luz, identificados e mantidos sob refrigeração.

Os extratos das inflorescências de *A. purpurata* foram adquiridos usando um extrator de Soxhlet. Após secagem de 4 dias das inflorescências em estufa com temperatura controlada, aproximadamente 40 gramas da flor seca foram moídas em moinho de facas e acondicionadas a balão encaixado ao extrator. Posteriormente, foi adicionado 250 mL do solvente para extração, estes foram inseridos em ordem crescente de polaridade, foram eles o Hex (hexano), AcOEt (acetato de etila) e MeOH (metanol). O tempo de extração foi o necessário para o esgotamento da extração mensurado pela coloração e a temperatura utilizada foi 100° C. Após isso, foram armazenados em recipientes de vidro à temperatura ambiente.

4.3 Análise por CG-MS e identificação dos componentes

Os óleos essenciais foram submetidos à análise por detector de ionização de chama (FID) de cromatografia gasosa (CG) e a análise de cromatografia gás - espectrometria de massa (GC-MS). Para isso, foi utilizado um aparelho de GC Hewlett-Packard 5890 Série II equipado com um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 não

polar (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A temperatura do forno foi programada de 60 a 240 °C a uma taxa de 3 °C.min-1. As temperaturas do injetor e do detector foram de 260 °C. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL.min-1 em modo split (1:30). O volume de injeção foi de 0,5 µL de solução diluída (1/100) de óleo em n-hexano.

Após a análise FID foi feita a análise de cromatografia gás - espectrometria de massa (GC-MS), foi realizada utilizando um sistema Varian 220-MS IT GC com detector seletivo de massa, espectrômetro de massa em EI 70 eV com intervalo de varredura de 0,5 s e fragmentos de 40 a 550 Da. equipado com o mesmo programa de coluna e temperatura dos experimentos GC-FID, com os seguintes parâmetros: gás de arraste = hélio; vazão = 1 mL.min-1; modo dividido (1:30); volume injetado = 1 µL de solução diluída (1/100) de óleo em n-hexano.

Para a identificação dos componentes, foi baseada em índices de retenção de GC-MS com referência a uma série homóloga de n-alcanos C8-C40 calculados usando a equação de Van Den Dool e Kratz (1963) e os espectros de massa disponíveis na publicação de Adams (2007), e a comparação computacional utilizou a biblioteca do sistema de dados GC-MS (NIST versão 11 e WILEY versão 11).

$$I = 100 \times n + 100 \times \frac{T_{R(i)} - T_{R(n)}}{T_{R(n+1)} - T_{R(n)}} \quad (1)$$

Onde:

I = índice de retenção

n = número de carbonos do padrão adjacente menos retido

$T_{R(i)}$ = tempo de retenção da amostra

$T_{R(n)}$ = tempo de retenção do padrão adjacente menos retido

$T_{R(n+1)}$ = tempo de retenção do padrão adjacente mais retido

4.4 - Testes de prospecção fitoquímica de classes químicas de plantas

Para a análise qualitativa dos componentes presentes em cada extrato (hexano, acetato de etila e metanol) foi feita uma prospecção fitoquímica preliminar baseada em presença e ausência. Com intuito de avaliar a presença de alcalóides nas amostras, foi utilizado o método de identificação segundo a sociedade brasileira de farmacognosia, no qual se utiliza o reativo Dragendorff (Farmacognosia, 2018). Os extratos foram dissolvidos com etanol e aplicados em

vidros de relógio com auxílio da pipeta de Pasteur, seguido da adição do reagente. A formação de um precipitado vermelho-alaranjado foi interpretada como um indicativo positivo para a presença de alcaloides. Contudo, devido a natureza não específica da reação, é comum, a ocorrência de falsos positivos, sendo necessária uma extração ácido-base para a confirmação da presença dos compostos (Santos, 2003).

Para a detecção de fenóis, foi utilizado o teste com cloreto férrico (FeCl_3) que é amplamente empregado para identificar substâncias fenólicas em extratos vegetais. A metodologia seguiu o mesmo procedimento descrito para detecção de alcaloides, com a substituição do reagente pelo cloreto férrico. Os fenóis formam complexos coloridos com íon Fe^{3+} , resultando em uma mudança de cor para tons escuros, como verde-musgo e violeta, confirmando a presença de fenóis na amostra (Shriner *et al.*, 2004).

A presença de flavonoides e terpenos foi investigada por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), conforme descrito por Wagner *et al.* (2001). Foram utilizadas cromatofolhas de alumínio revestidas com uma fina camada de sílica-gel, nas quais as amostras foram aplicadas na parte inferior por sucessivas aplicações com tubo capilar, formando manchas circulares. A eluição para flavonoides foi realizada com uma mistura de tolueno, éter e ácido acético na proporção 1:1:0,5 v/v (PA), enquanto para terpenos foi empregada uma mistura de tolueno e acetato de etila na proporção 73:27 v/v (PA). Após a eluição, as cromatofolhas foram secas e observadas sob luz ultravioleta (UV) antes e depois da aplicação de reveladores específicos: o reagente de NEU (difetilborinato de aminoetila) para flavonoides e o anisaldeído sulfúrico para terpenos. Os resultados foram devidamente registrados.

4.5 Atividade antioxidante

4.5.1 Método do DPPH

A avaliação da atividade antioxidante foi efetuada a partir da redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), segundo metodologia descrita por Blois (1958). Essa técnica é baseada na captura do radical DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), produzindo um decréscimo da absorbância a 515/517 nm. Nesse processo, ocorre uma reação de oxirredução, onde o radical DPPH, que apresenta coloração violeta, é reduzido para DPPH-H (DPPH reduzido e estável), alterando a coloração da mistura de roxo para amarelo (Figura 5).

Figura 5. Reação de redução do radical DPPH

Fonte: Oliveira *et al.* (2021).

Para esse propósito, foi realizada diluição seriada dos óleos essenciais de *A. zerumbet* e *A. purpurata*, e extratos de *A. purpurata*, na concentração de 1mg em 1 mL de metanol para realizar o ensaio nas concentrações de 500, 250, 125, 62,5, 31,25 e 15,625 µg/mL. Em uma microplaca de 96 poços de fundo chato foi colocado 40 µL de cada amostra, em triplicata. Também foram adicionados 40 µL de cada amostra, e 250 µL do metanol para o controle de cor de amostras pigmentadas em suas respectivas concentrações. Para determinação do controle do solvente e do radical se utilizou 40 µL de metanol. Em seguida, em um ambiente escuro, foi adicionado 250 µL do reagente de DPPH distribuindo da menor concentração para maior, exceto no controle de cor, e foi aguardado por um período de 30 minutos. Em sequência, foi realizada a leitura das absorvâncias dos poços na leitora de microplacas de Elisa, no comprimento de onda de 517 nm e a análise se deu conforme a seguinte equação (2):

$$SRL (\%) = \frac{Abs_0(Abs_{am} - Abs_{cor})}{Abs_0} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

SRL (%) = percentual de sequestro do radical livre

Abs0 = absorvância do controle com o solvente e o radical

Absam = absorvância da amostra com o radical

Abscor = absorvância do controle de cor

4.6 Atividade citotóxica *in vitro*

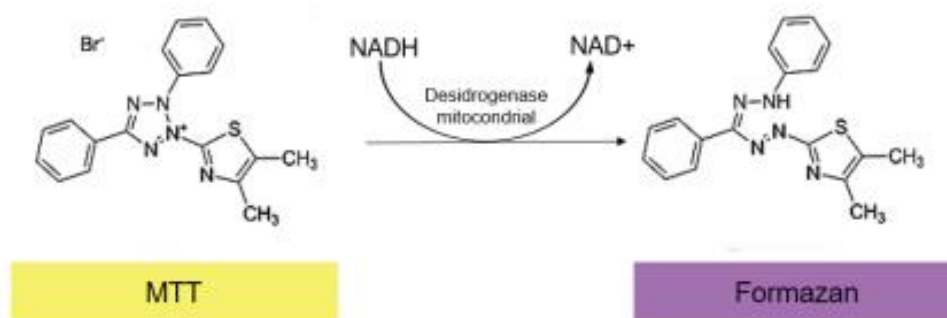
4.6.1 Cultura de células

A avaliação da atividade citotóxica *in vitro* foi utilizada linhagem de células cancerígenas, cujo cultivo ocorreu no Laboratório de Experimentação *In Vitro* e *In Vivo* do Departamento de Antibióticos/Centro de Biociências –UFPE. As linhagens celulares HeLa (carcinoma cervical humano), L929 (fibroblastos murino) e VERO (células epiteliais de rim de macaco verde) foram mantidas em meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium). As linhagens HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano) foram mantidas em meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute). Ambos os meios foram suplementados com 10 % de soro fetal bovino inativado e 1 % de solução de antibióticos (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂ e 95 % de umidade. Ademais, antes dos experimentos, todas as linhagens foram confirmadas com ausência de Micoplasma.

4.6.2 Método MTT

O método utilizado para avaliação da citotoxicidade dos óleos essenciais e extratos foi o do brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT) segundo Mosmann (1983). Esse ensaio refere-se a um teste colorimétrico de viabilidade celular. Para isso, o MTT, que é um sal de coloração amarelada, é reduzido a formazan por desidrogenases mitocondriais, que sucede a formação de cristais de cor violeta e revela a presença de atividade metabólica (Figura 6).

Figura 6. Redução do MTT a formazan

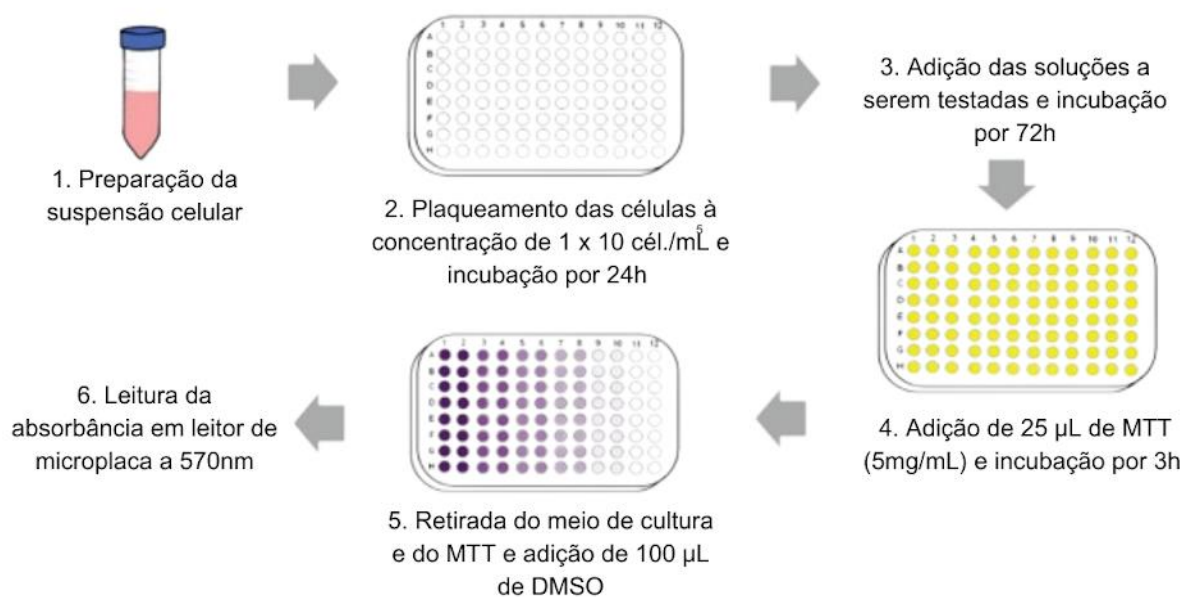


Fonte: Magalhães *et al.* (2018).

Foram utilizadas placas de 96 poços preparados a uma concentração de 1×10^5 células/mL, e incubadas por 24h, exceto a linhagem HL-60 (3×10^5 células/mL), que não precisou ser incubada por 24h e em seguida, 10 µL das soluções dos óleos e extratos em dimetilsulfóxido (DMSO) (1 %) foram adicionadas aos poços a uma concentração final de 50

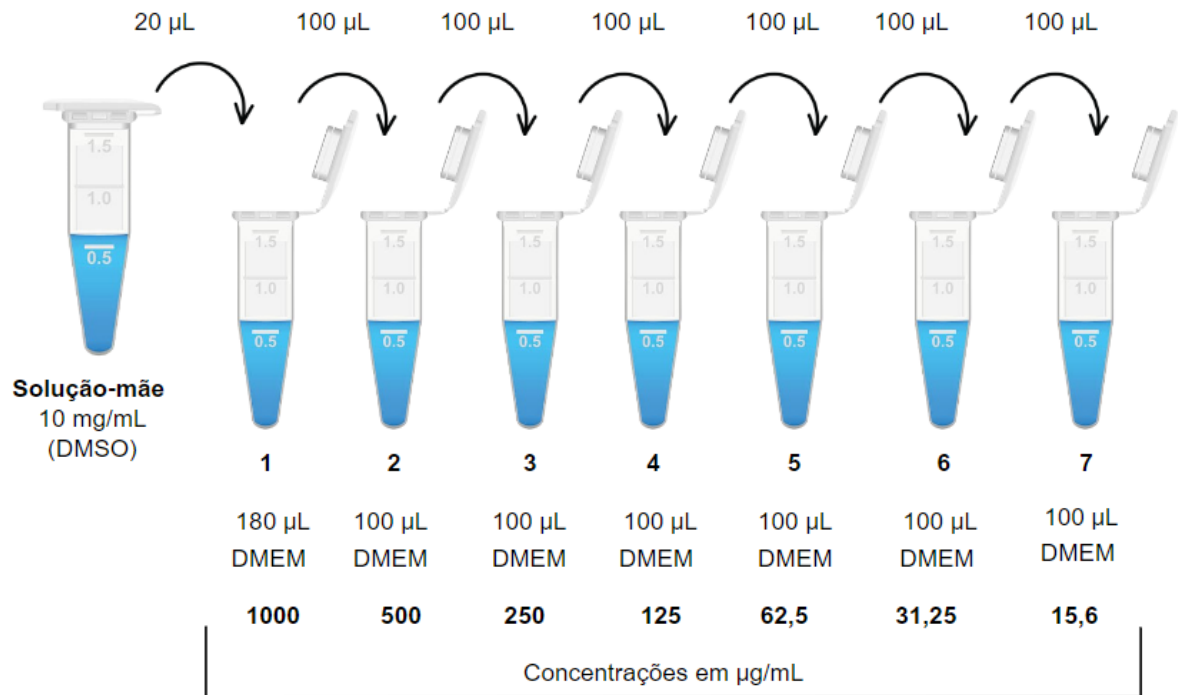
$\mu\text{g/mL}$. Como controle padrão foi utilizado o fármaco Paclitaxel ($10 \mu\text{g/mL}$). Após 72h foi feita uma nova incubação das placas e após esse período, foi adicionado em cada poço 25 μL de MTT (5 mg/mL) e as placas passaram por mais uma incubação, agora de 3 horas. A etapa seguinte foi a aspiração do meio de cultura com o MTT, e adicionado 100 μL de DMSO em cada poço. Por fim, a absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 570 nm e a porcentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPad Prism 9.0 demo* (Figura 7).

Figura 7. Etapas do método do MTT



Fonte: Adaptado de Magalhães *et al.* (2018).

As amostras que apresentaram inibição superior a 70% foram testadas em diluições seriadas, indicada na figura 8, para determinação da concentração inibitória (CI_{50}), a qual ocasiona inibição de 50% do crescimento em relação ao controle negativo. Ademais, a CI_{50} das amostras e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95 %) foram calculados a partir da regressão não linear no software *GraphPad Prism 9.0 demo*.

Figura 8. Diluição seriada para construção da curva dose-resposta

Fonte: A autora (2024).

4.6.3 Índice de seletividade

O índice de seletividade (IS) pode representar a seletividade de um composto entre uma linhagem normal e uma neoplásica, indicando o potencial uso deste composto em testes clínicos (Bogo, 2012). Os resultados foram utilizando as linhagens não tumorais L929 e Vero CCL-81, para as amostras que foram estabelecidas a CI₅₀. O cálculo foi realizado de acordo com a seguinte equação (3):

$$IS = \frac{CI_{50} \text{ não tumoral}}{CI_{50} \text{ tumoral}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

IS = índice de seletividade

$CI_{50} \text{ não tumoral}$ = CI₅₀ da amostra em uma linhagem não tumoral

$CI_{50} \text{ tumoral}$ = CI₅₀ da amostra em uma linhagem tumoral

Neste estudo, foi considerado significativo um valor de IS que quando maior que 100 a ação citotóxica da amostra é superior em células tumorais, de modo que, quando IS é igual ou menor que 100 o efeito terapêutico é obtido por meio de uma concentração equivalente ou

inferior à concentração que desencadeia efeitos tóxicos. Sendo assim, é preferível que as amostras apresentem índice de seletividade superior a 100 (Popiołkiewicz *et al.*, 2005).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos óleos

Os rendimentos dos óleos essenciais obtidos por meio da hidrodestilação foram calculados a partir de 900 g de inflorescência de *A. purpurata* e *A. zerumbet*. O procedimento de hidrodestilação resultou em um rendimento de óleo essencial de 0,88 e 0,55 % respectivamente e dispostos na tabela 1.

Tabela 1. Rendimento dos óleos essenciais de *Alpinia purpurata* e *Alpinia zerumbet* extraídos por hidrodestilação das inflorescências frescas.

Espécies	Rendimento dos óleos (%)
OEAp	0,55
OEAz	0,88

OEAp: óleo essencial de *Alpinia purpurata*; OEAz: óleo essencial de *Alpinia zerumbet*.

Comparando a literatura, De lira *et al.* (2015) utilizando 528,3g de inflorescências da variação vermelha de *A. purpurata* obteve um rendimento de 0,008%, considerado baixo comparado ao relatado nesse estudo. Segundo Burt (2004), as variações no rendimento de óleo essencial entre plantas pertencentes à mesma espécie podem ser atribuídas, principalmente, a diferenças de época e horário de colheita, tipo de solo, clima da região e umidade relativa do ar.

5.1.1 Rendimento dos extratos

A partir de 40 gramas das inflorescências de *A. purpurata* foi obtido o rendimento de extrato para cada solvente, no hexano obteve (0,28 %), acetato de etila (0,52 %) e metanol (1,44 %). Os extratos obtidos por Soxhlet teve seus rendimentos calculados e dispostos na tabela 2.

Tabela 2. Rendimento dos extratos de *A. purpurata* extraídos por Soxhlet das inflorescências frescas.

Extratos	Rendimento dos extratos (%)
Hex	0,28
AcOEt	0,52
MeOH	1,44

Hex: Hexano; AcOEt: Acetato de etila; MeOH: Metanol.

Victório *et al.* (2009) obtiveram rendimento para cada fração a partir de 59,4 gramas das folhas de *A. purpurata*, no diclorometano (0,17 %), acetato de etila (0,18 %) e n-butanol (2,85 %).

5.2 Caracterização química

Os compostos identificados do óleo essencial da inflorescência de *A. purpurata* na cromatografia estão organizados na tabela 3, juntamente com seus respectivos índices de retenção e a porcentagem desses compostos na composição total dos óleos. Dentre os vinte e nove identificados, o composto majoritário encontrado no óleo essencial de *A. purpurata*, foi o β -cariofileno (16,29%) seguido de 7-epi- α -selineno (16,04%), epi-cubebol (8,63), β -pineno (6,80%), β -chamigrena (5,94%) e Óxido de cariofileno (5,84%).

Tabela 3. Compostos químicos do óleo essencial da inflorescência de *A. purpurata* seus respectivos índices de retenção e a porcentagem na composição total.

Compostos	AI (calculado)	AI (literatura)	(%)
α -pineno	932	928	2,65
Canfeno	946	945	0,90
β-pineno	974	970	6,80
Limoneno	1024	1022	0,66
Linalol	1095	1092	2,14
Isoborneol	1155	1154	0,83
Terpinen-4-ol	1174	1171	0,10
α -Terpineol	1186	1181	2,83
Mirtenol	1194	1193	0,64
Formato de isobornila	1235	1235	1,21
Mirtenato de metila	1293	1290	0,53
Silphiperfol-5,7(14)-dieno	1358	1354	1,66
β-cariofileno	1417	1415	16,29
α -humuleno	1452	1449	1,58
β-Chamigrena	1476	1477	5,94
β -Selineno	1489	1490	4,51
β -vetispireno	1493	1494	0,89
Epi-Cubebol	1496	1499	8,63
7-epi-α-Selineno	1520	1518	16,04
(Z)-nerolidol	1531	1535	0,75
Acetato de (Z)- α -isometil-Ionol	1555	1556	0,44
Óxido de cariofileno	1582	1580	5,84
Epóxido de humuleno II	1608	1610	0,50
Cis-isolongifolanona	1612	1616	0,62
γ -Eudesmol	1630	1632	0,94
Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol	1639	1640	2,02
Intermedeol	1665	1667	5,16
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1685	1690	1,35
Epi- α -bisabolol	1686	1692	0,66
Total			96,39

AI (calculado): índice de retenção calculado com a equação de Van Den Dool e Kratz; AI (literatura): índice de retenção presente na literatura consultada; N° = constituintes químicos identificados em ordem crescente de eluição em coluna capilar DB-5 de 30 m.

O óleo essencial extraído de inflorescências da variante vermelha de *A. purpurata* apresentou os constituintes majoritários β -cariofileno (18,26 %), β -pineno (13,93 %), Linalol (9,64 %) e 7-epi- α -selineno (8,26 %) no estudo de Santos *et al.* (2012). Essa composição do óleo essencial relatada é semelhante a esse estudo.

Os compostos do óleo essencial da inflorescência de *A. zerumbet* identificados na cromatografia foram dispostos na tabela 4, juntamente com seus respectivos índices de retenção e a porcentagem desses compostos na composição total dos óleos. Dos vinte e seis identificados, o composto majoritário encontrado no óleo essencial de *A. zerumbet*, foi o trans- β -Terpineol (21,26%) seguido de 1,8-Cineol (18,52%), Sabineno (13,89%), γ -Terpineno (11,84%) e α -Terpineno (6,65%).

Tabela 4. Compostos químicos do óleo essencial da inflorescência de *A. zerumbet*, seus respectivos índices de retenção e a porcentagem na composição total.

Composto	AI (calculado)	AI (literatura)	(%)
α -Tujeno	924	925	1,43
α -pineno	932	933	1,61
Canfeno	946	948	0,53
Sabineno	969	970	13,89
β -pineno	974	976	0,78
Mirceno	988	990	1,24
α -felandreno	1002	1005	1,13
α-Terpineno	1014	1016	6,65
p-cimeno	1020	1023	3,04
Limoneno	1024	1024	3,13
1,8-Cineol	1026	1025	18,52
γ-Terpineno	1054	1056	11,84
Terpinoleno	1086	1090	2,74
Linalol	1095	1099	1,42
Trans-β-Terpineol	1159	1163	21,26
α -Terpineol	1186	1190	1,66
Formato de isobornila	1235	1236	0,44
Dalceno	1380	1384	0,37
β -cariofileno	1417	1421	3,39
α -Humuleno	1452	1456	0,47
β -Bisaboleno	1505	1510	0,13
γ -Cadineno	1513	1516	0,18
(Z)-Nerolidol	1531	1536	0,57
Espatulenol	1577	1583	0,25
Carotol	1594	1599	0,51
10-epi- γ -Eudesmol	1622	1630	0,52
Total			97,70

AI (calculado): índice de retenção calculado com a equação de Van Den Dool e Kratz; AI (literatura): índice de retenção presente na literatura consultada; N° = constituintes químicos identificados em ordem crescente de eluição em coluna capilar DB-5 de 30 m.

Compostos como 1,8 Cineol, Sabineno e γ -Terpineno já foram relatados como os principais constituintes do óleo essencial da inflorescência de *A. zerumbet*, com percentuais de (23.1%) para 1,8 Cineol, (14.5%) para Sabineno e (8.8%) para γ -Terpineno (Zoghbi *et al.*, 1999). Estes percentuais se assemelham aos encontrados neste estudo.

Apesar de apresentarem composições químicas diferentes, os óleos essenciais de *A. zerumbet* e *A. purpurata* apresentaram alguns compostos em comum. Pode-se citar, por exemplo, α -pineno, β -pineno, limoneno entre outros, embora em proporções diferentes. Vale salientar que mesmo aquelas substâncias que estão em pequenas proporções na planta podem ser responsáveis pela atividade biológica, dependendo do potencial de ação da mesma e de seu sinergismo com as demais substâncias do óleo (Lima *et al.*, 2014).

A prospecção fitoquímica dos extratos das inflorescências de *A. purpurata* revelou a presença de terpenos nos extratos Hex, AcOEt e MeOH e fenóis e flavonoides nos extratos AcOEt e MeOH (Tabela 5).

Tabela 5. Prospecção fitoquímica dos extratos da inflorescência de *A. purpurata*.

Extratos	Alcaloides	Fenóis	Flavonoides	Terpenos
Hex	-	-	-	+
AcOEt	-	+	+	+
MeOH	-	+	+	+

“+” significa presença, “-” significa ausência Hex: hexano; AcOEt: Acetato de etila e MeOH: Metanol.

Estudos fitoquímicos do gênero *Alpinia*, mostraram compostos importantes com atividade antioxidante e atividade antimicrobiana como flavonoides e fenóis. Em estudo de Oirere *et al.* (2015), utilizaram o extrato hexano das folhas de *A. purpurata* e observaram a presença dos mesmos metabólitos vistos nesse estudo, com adição de alcaloides. De acordo com Raj *et al.* (2012), a análise fitoquímica do extrato de acetato de etila das folhas de *A. purpurata* revelou a presença de muitos compostos secundários, como alcalóides, saponinas, fenólicos, flavonoides, terpenos e outros, e esses compostos bioativos estão relacionados à atividade antimicrobiana.

5.3 Atividade antioxidante

5.3.1 Sequestro do DPPH

Após a leitura da absorbância das amostras, foi possível quantificar o percentual de sequestro do DPPH. Os óleos essenciais de *A. zerumbet* e *A. purpurata* e o extrato hexano de *A. purpurata* não tiveram ação antioxidante por esta metodologia. Como é mostrado na tabela

6, o extrato de acetato de etila foi capaz de realizar sequestro atingindo percentuais de 52,10, 52,68 e 50,60 para as concentrações de 500, 250 e 125 µg/mL, respectivamente. O extrato de metanol, por sua vez, nas mesmas concentrações, atingiu percentuais de 52,45, 42,27 e 16,66, respectivamente.

Tabela 6. Percentual de sequestro do radical DPPH e seus respectivos erros padrões.

Concentração	% de sequestro do radical DPPH ± erro padrão médio	
	AcOEt	MeOH
500	52,10 ± 0,60	52,45 ± 8,70
250	52,68 ± 0,20	42,27 ± 1,67
125	50,60 ± 0,36	16,66 ± 2,89
62,5	21,69 ± 0,96	0,0 ± 0,0
31,25	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
15,6	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Valores de concentração expressos em µg/mL EPM: erro padrão médio. AcOEt: Acetato de etila; MeOH: Metanol.

De acordo com Chung *et al.* (2006), evidenciam que esse método é comumente usado para avaliar a capacidade dos extratos vegetais e são grandemente influenciados pela composição fenólica da amostra, sendo assim, essa é uma hipótese que os OEs e o extrato hexano não apresentaram ação antioxidante.

Alam *et al.* (2014), demonstraram que concentrações elevadas para reduzir o DPPH em, pelo menos, 50 % evidenciam que a amostra possui baixa atividade antioxidante. Considerando isso, os extratos AcOEt e MeOH apresentaram baixa atividade antioxidante.

Segundo Elzaawely *et al.* (2007), observaram no seu estudo que o extrato hexano de flores e sementes de *A. zerumbet* apresentaram inibição do radical DPPH fraca, sendo $\leq 50\%$. Raj *et al.* (2012) analisaram a atividade de eliminação do radical DPPH das folhas de *A. purpurata*, resultando percentual de 68,42 % para extrato de acetato de etila na concentração de 500 µg/mL.

5.4 Atividade citotóxica

No ensaio de citotoxicidade, o método do MTT revelou que, na linhagem HL-60, OEAp inibiu 97,57 % do crescimento celular na concentração de 50 µg/mL, enquanto OEAz, os percentuais de inibição foram de 87,79 %, o Hex inibiu 97,03 % e o AcOEt inibiu 81,29 %. Do mesmo modo, na linhagem HeLa, OEAp inibiu 74,51 % e OEAz, 76,68%. Já na linhagem MCF-7, OEAp provocou percentuais de inibição de 79,79 %. Ademais, na linhagem L929, o OEAp

inibiu 90,86 % e na linhagem Vero CCL-81, foi capaz de inibir 88,49 % do crescimento (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Percentuais de inibição e erro padrão médio de linhagens celulares *in vitro* após exposição de 72h aos óleos essenciais de *Alpinia spp.* (50 µg/mL) e ao Paclitaxel (10 µg/mL).

Linhagens	% de inibição ± erro padrão médio		
	OEA _p	OEA _z	Paclitaxel
HL-60	97,57 ± 0,36	87,79 ± 1,53	93,09 ± 0,14
HeLa	74,51 ± 1,07	76,68 ± 7,2	94,64 ± 0,53
MCF-7	79,79 ± 0,24	32,63 ± 0,24	94,75 ± 1,10
L929	90,86 ± 0,84	62,84 ± 2,26	95,53 ± 1,77
Vero CCL-81	88,49 ± 1,40	27,91 ± 2,89	75,33 ± 4,02

EPM: erro padrão médio. OEA_p: óleo essencial de *A. purpurata*; OEA_z: óleo essencial de *A. zerumbet*. Linhagens: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda; HeLa: carcinoma cervical humano; MCF-7: câncer de mama humano; L929: fibroblasto do tecido conjuntivo subcutâneo de *Mus musculus* e Vero CCL-81: célula epitelial de rim de macaco verde.

Tabela 8. Percentuais de inibição e erro padrão médio de linhagens celulares *in vitro* após exposição de 72h aos extratos das inflorescências de *Alpinia purpurata*. (50 µg/mL) e ao Paclitaxel (10 µg/mL).

Linhagens	Extratos de <i>Alpinia purpurata</i> % de inibição ± erro padrão médio		
	Hex	AcOEt	MeOH
HL-60	97,03 ± 0,36	81,29 ± 0,38	43,44 ± 0,67
HeLa	67,44 ± 0,75	22,39 ± 2,77	49,11 ± 4,27
MCF-7	27,92 ± 3,31	26,49 ± 4,26	26,45 ± 0,52
L929	34,75 ± 1,66	54,57 ± 4,79	30,06 ± 3,43
Vero CCL-81	64,75 ± 3,39	32,40 ± 5,36	9,22 ± 7,18

EPM: erro padrão médio. Hex: Hexano, acOEt: Acetato de etila e MeOH: Metanol. Linhagens: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda; HeLa: carcinoma cervical humano; MCF-7: câncer de mama humano; L929: fibroblasto do tecido conjuntivo subcutâneo de *Mus musculus* e Vero CCL-81: célula epitelial de rim de macaco verde.

De acordo com a classificação utilizada por Rodrigues *et al.* (2014), um composto é considerado muito ativo quando a inibição do crescimento celular é maior que 95 %. Do mesmo modo, caso a amostra apresenta inibição entre 70 e 90 %, é classificado como moderadamente ativo. Entre 50 % e 69 %, é tido como pouco ativo, e se a inibição for inferior a 50 %, é inativo. OEA_p demonstrou ser muito ativo na linhagem HL-60 e moderadamente ativo nas demais. OEA_z foi moderadamente ativo nas linhagens HL-60 e HeLa, na L929 foi dita pouco ativo, na MCF-7 e Vero CCL-81 foi inativo. Na linhagem HL-60, os extratos Hex e AcOEt foram classificados como muito ativo e moderadamente ativo respectivamente. Na HeLa e Vero CCL-81, Hex demonstrou ser pouco ativo e nas demais inativo. O AcOEt foi dito pouco ativo na L929 e inativo nas demais. O extrato MeOH foi inativo para todas as linhagens.

Apesar dos resultados apresentados, não se pode afirmar qual ou quais compostos

identificados são os responsáveis pela atividade citotóxica. No entanto, no caso de OEAp pode ser devida à presença de terpinen-4-ol e linalol. Foi demonstrado que o terpinen-4-ol exibe citotoxicidade moderada contra células cancerosas colorretais e pancreáticas (80-90 %) (Shapira *et al.*, 2016). Já o linalol possui potenciais propriedades anticancerígenas contra as seguintes linhagens celulares SW 620, Hep G2, A549 e T-47D com valores CI₅₀ de 222, 224, 290 e 438 µM, respectivamente (Chang *et al.*, 2014).

De acordo com os resultados, as substâncias que apresentaram uma inibição maior que 70 % tornou possível a elaboração de curvas de inibição (CI₅₀). Conforme os dados dispostos nas tabelas 9 e 10, a CI₅₀ do OEAp foi de 17,57 µg/mL, OEAz de 38,29 µg/mL, Hex foi de 16,40 µg/mL e AcOEt de 29,66 µg/mL na linhagem HL-60. Na HeLa, apresentou concentração inibitória de 37,28 µg/mL para OEAP e 26,71 µg/mL para OEAZ. Nas linhagens MCF-7, L929 e Vero CCL-81, o único produto que apresentou inibição > 70% foi o OEAp, com CI₅₀ de 36,76, 16,54 e 9,39 µg/mL, respectivamente.

Segundo o National Cancer Institute (NCI), valores de CI₅₀ ≤ 30 µg/mL para produtos não puros, por exemplo, extratos e produtos naturais são considerados significativos (Geran *et al.*, 1972). No que se refere às concentrações inibitórias estabelecidas, o OEAz foi considerado significativo na linhagem HeLa e não significativo na linhagem HL-60 de acordo com o valor de referência. Nas linhagens HL-60, L929 e Vero, OEAp se mostrou significativo. Enquanto nas linhagens HeLa e MCF-7, não foi significativo. Dos extratos, Hex e AcOEt foram significativos na linhagem HL-60.

Tabela 9. Concentração inibitória (CI₅₀) com intervalo de confiança dos óleos essenciais de *A. purpurata*, *A. zerumbet* e do paclitaxel em linhagens celulares *in vitro* após 72h.

CI ₅₀ (µg/mL) (intervalo de confiança 95%)			
Linhagem	OEAp	OEAz	Paclitaxel
HL-60	17,57 (14,93 - 20,67)	38,29 (30,02 - 48,84)	0,0024 (0,0022 - 0,0027)
HeLa	37,28 (26,33 - 52,77)	26,71 (22,51 - 31,68)	0,0793 (0,0646 - 0,0973)
MCF-7	36,76 (32,98 - 40,99)	-	6,955 (6,563 - 7,370)
L929	16,54 (12,60 - 21,70)	-	0,4225 (0,3447 - 0,5178)
Vero CCL-81	9,39 (6,56 - 13,43)	-	1,153 (0,9000 - 1,477)

Valores expressos em µg/mL. OEAp: óleo essencial de *A. purpurata*; OEAz: óleo essencial de *A. zerumbet*. Linhagens: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda; HeLa: carcinoma cervical humano; MCF-7: câncer de mama humano; L929: fibroblasto do tecido conjuntivo subcutâneo de *Mus musculus* e Vero CCL-81: célula epitelial de rim de macaco verde.

Tabela 10. Concentração inibitória (CI₅₀) com intervalo de confiança dos extratos de *A. purpurata* em linhagens celulares *in vitro* após 72h.

Linhagem	Hex	AcOEt
HL-60	16,40 (15,15 - 17,77)	29,66 (25,25 - 34,83)

Valores expressos em µg/mL. Hex: Hexano, acOEt: Acetato de etila. Linhagem: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda.

A partir dos valores de concentração inibitória foi calculado o índice de seletividade (IS) para linhagens tumorais cujos dados estão dispostos nas tabelas 11 e 12. Em relação a L929, o OEAp apresentou IS de 94,14 para HL-60, para HeLa 44,36 e 44,99 para MCF-7. Em relação a Vero CCL-81, o OEAp possui IS de 53,44, 25,18 e 25,54 para HL-60, HeLa e MCF-7 respectivamente.

Tabela 11. Índices de seletividade do óleo essencial de *A. purpurata* para linhagens tumorais em relação à linhagem não tumoral L929.

Índice de seletividade	
Linhagens	OEAp
HL-60	94,14
HeLa	44,36
MCF-7	44,99

OEAp: óleo essencial de *A. purpurata*. Linhagens: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda; HeLa: carcinoma cervical humano; MCF-7: câncer de mama humano.

Tabela 12. Índices de seletividade do óleo essencial de *A. purpurata* para linhagens tumorais em relação à linhagem não tumoral Vero CCL-81.

Índice de seletividade	
Linhagens	OEAp
HL-60	53,44
HeLa	25,18
MCF-7	25,54

OEAp: óleo essencial de *A. purpurata*. Linhagens: HL-60: pró-mieloblasto de Leucemia Promielocítica Aguda; HeLa: carcinoma cervical humano; MCF-7: câncer de mama humano.

Com base apenas nos valores de CI₅₀ (**Tabela 9**), podemos inferir que OEAp não apresentou seletividade para células tumorais, em nenhuma das linhagens, exibindo valores inferiores a 100, sendo assim mais seletivo para as linhagens não tumorais testadas.

6. CONCLUSÃO

Os compostos majoritários dos óleos essenciais de *A. purpurata* (OEAp) e de *A. zerumbet* (OEAz) são o β -cariofileno e o trans- β -Terpineol, respectivamente. Todos os extratos apresentaram terpenos e apenas AcOEt e MeOH apresentaram fenóis e flavonoides.

Além disso, OEA_p, OEA_z e Hex não apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH e os extratos AcOEt e MeOH apresentaram baixa atividade.

Ademais, os óleos e extratos inibiram linhagens cancerígenas e não-cancerígenas e possuíram CI₅₀ promissoras, principalmente para a linhagem cancerígena de Leucemia Promielocítica Aguda (HL-60).

Diante do decorrido, considera-se que este estudo será importante para a construção de outros trabalhos que caracterizem as atividades biológicas dessas espécies tão importantes na medicina popular, bem como a possibilidade de, futuramente, serem utilizadas nos tratamentos de saúde.

7. REFERÊNCIAS

- ALAM, M. A.; JURAIMI, A. S.; RAFIL, M. Y.; HAMID, A. A.; ASLANI, F.; HASAN, M. M.; ZAINUDIN, M. A. M.; UDDIN, M. K. Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions. **BioMed Research International**, v. 2014, ID: 296063, 2014.
- ALVES, Emanuele Amorim; GUIMARÃES, Anna Christina Rosa. Cultivo celular. In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. v.2. Rio de Janeiro: EPSJV, 2010. p. 215-253.
- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4a ed. Carol Stream, IL: **Allured Publishing Corporation**, 2007.
- ALBUQUERQUE, E. S. B.; NEVES, L. J.. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Zingiberaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.18, n.1, p.109-21, 2004. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0102-33062004000100010>
- AMERICAN CANCER SOCIETY. Chemotherapy for Colorectal Cancer. **American Cancer Society**, 2020b. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/types/colon-rectal-cancer/treating/chemotherapy.html>>. Acesso em: 28 mai 2024.
- ANDRADE SF, CARDOSO LG, CARVALHO JC, BASTOS JK. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal Ethnopharmacol.** 2007 Feb 12;109(3):464-71. doi: 10.1016/j.jep.2006.08.023. Epub 2006 Aug 30. PMID: 17055677.
- BIANCHI MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista Nutrição**. 1999; 12(12):123-30. doi: 10.1590/S1415-52731999000 200001.
- BOGO, D. **Avaliação da atividade antitumoral in vitro e in vivo de compostos de liquens**. 2012. 110f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento) – Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste, Universidade Federal Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2012.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-53, 2004.

BLOIS, Marsden S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monografia das espécies *Alpinia speciosa* e *Alpinia zerumbet* (Galanga) . Brasília: MS, 2014

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. Tabnet. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/>. Acesso em: 6 jun. 2022.

CASTRO, K. N. D. C., LIMA, D. F., VASCONCELOS, L. C., SANTOS, R. C., PEREIRA, A. M. L., FOGAÇA, F. H. D. S., ... & CALVET, R. M. (2016). Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, 83(00), e0192014.

CARMO, E. S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L. The potential of *origanum vulgare* l. (lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related aspergillus species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n.2, p. 362-367, June 2008.

CAVALCANTI, B. C. et al. Genetic toxicology evaluation of essential oil of *Alpinia zerumbet* and its chemoprotective effects against H₂O₂-induced DNA damage in cultured human leukocytes. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 11, p. 4051-4061, 2012.

CORRÊA, M. P.. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **IBDF**, 1984

CHAN, Eric Wei Chiang; WONG, Siu Kuin. Phytochemistry and pharmacology of ornamental ginger, *Hedychium coronarium* and *Alpinia purpurata*: a review. **Journal of Integrative Medicine**, v. 13, n. 6, p. 368-379, 2015.

CHANG, Mei-Yin; SHEN, Yi-Ling. Linalool exhibits cytotoxic effects by activating antitumor immunity. **Molecules**, v. 19, n. 5, p. 6694-6706, 2014.

CHRISTAKI E., *et al.* (2012). Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. **Agriculture**, v. 2, n. 3, p. 228-243, 2012.

CLARKSON, Priscilla M.; THOMPSON, Heather S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. **The American journal of clinical nutrition**, v. 72, n. 2, p. 637S-646S, 2000.

CRAGG, GORDON M., and DAVID J. NEWMAN. "Plants as a source of anti-cancer agents." **Journal of ethnopharmacology** 100.1-2 (2005): 72-79.

CRONQUIST, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press, New York.

CHUNG, Ill Min et al. Comparison of resveratrol, SOD activity, phenolic compounds and free amino acids in *Rehmannia glutinosa* under temperature and water stress. **Environmental and experimental botany**, v. 56, n. 1, p. 44-53, 2006.

DA CUNHA, A. Proença; NOGUEIRA, Maria Teresa; ROQUE, Odete Rodrigues. **Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações**. Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.

DIAS, Andreia da Silva. Avaliação do potencial biotecnológico de derivados sintéticos de eugenol para o tratamento de Glioblastoma. 2023.

DIAS, THAIS PEREIRA, et al. "Os cuidados de enfermagem no tratamento de feridas oncológicas em mulheres com câncer de mama." **Revista Enfermagem Atual In Derme** 97.2 (2023): e023045-e023045.

DELFINO, Caroline de Oliveira Silva. **Diagnóstico laboratorial da leucemia promielocítica aguda**. 21 p. Artigo (Graduação em Biomedicina) -Instituição de Ensino Superior UMA Ânima de Educação. 2022. Acesso em 06 jun. 2023.

DE LIRA, Camila Soledade et al. Evaluation of the toxicity of essential oil from *Alpinia purpurata* inflorescences to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). **Crop Protection**, v. 71, p. 95-100, 2015.

ELZAAWELY, Abdelnaser A. et al. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt. & RM Sm. **Food chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1648-1653, 2007.

FARMACOGNOSIA, S. B. **Alcalóides: disciplina de farmacognosia II**. Disponível em: <<http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/alcaloides.html>>. Acesso em: 26 jun. 2024.

FEMAMA. Conheça as possibilidades de tratamento para o câncer de mama. 2021. Disponível em:<<https://femama.org.br/site/noticias-recentes/conheca-aspossibilidades-de-tratamento-para-o-cancer-de-mama/>>. Acesso em: 05 jun. 2024.

FERLAY, J. et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview. **International Journal of Cancer**, New York, Apr. 2021. DOI 10.1002/ijc.33588.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FRACHINI, Emilli Caroline Garcia et al. Ensaio colorimétrico para determinação da viabilidade celular e citotoxicidade in vitro. In: **9º Workshop do Programa de Mestrado Profissional Tecnologia em Química e Bioquímica da USP-AMPT**. 2021.

FRIGO, L. F., & ZAMBARDA, S. D. O. (2015). Câncer do colo de útero: efeitos do tratamento. *Cinergis*, 16(3), Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**. 2004; 53(Suppl 1): 110-8

GERAN, R. I.; et al., Protocol for screening chemical agents and natural products against animal tumours and other biological systems. **Cancer Chemotherapy Reports**, v. 3, p. 1-61, 1972.

GOMATHI, A. C. et al. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of Tamarindus indica on MCF-7 human breast cancer cell line. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 55, p. 101376, 2020.

GOTO, Renata Nishida et al. Anti-cancer activity of a new dihydropyridine derivative, VdiE-2N, in head and neck squamous cell carcinoma. **European journal of pharmacology**, v. 819, p. 198-206, 2018.

GURIB-FAKIM, Ameenah. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

GREEN K, BRAND MD, MURPHY MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**. 2004; 53(Suppl 1): 110-8

HALLIWELL B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology** 1990.

HALLIWELL B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal Neurochem** 1992; 59: 1.609-23

HALLIWELL B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Br Journal Pharmacol.** 2004; 142(2): 231-55

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A.; The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, p. 57-70, 2000.

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, p. 646-674, 2011.

HANAHAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022.

HO, J.C., 2010. Chemical composition and bioactivity of essential oil of seed and leaf from *Alpinia speciosa* grown in Taiwan. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 57, n. 4A, p. 758-763, 2010..

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Atlas on-line de mortalidade. [Rio de Janeiro: INCA, 2020a]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/MortalidadeWeb>. Acesso em: 06 jun. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (BRASIL). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro : INCA, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, MINISTÉRIO DA SAÚDE. O que é câncer? INCA, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 25 de mai. 2024.

JÄHN, K.; Stoddart, M. J.; In Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols, **Methods in Molecular Biology**, 2011.

JOHNSON, C. A. et al. Cervical Cancer: An Overview of Pathophysiology and Management. **Seminars in Oncology Nursing**, 2019.

KERDUDO, A. et al. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of f lowers essential oils of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm. from Martinique Island. **Chemistry & biodiversity**, v. 14, n. 4, p. e1600344, 2017.

KERR, Amanda J et al. Adjuvant and neoadjuvant breast cancer treatments: A systematic review of their effects on mortality. **Cancer Treatment Reviews**, fev. 2022.

KORNIENKO, A. et al. Therapeutic agents triggering nonapoptotic cancer cell death. **Journal of medicinal chemistry**, v. 56, n. 12, p. 4823-4839, 2013.

KOLSTAD, A. et al. Molecular Monitoring after Autologous Stem Cell Transplantation and Preemptive Rituximab Treatment of Molecular Relapse: Results from the Nordic Mantle Cell Lymphoma Studies (MCL2 and MCL3) with Median Follow-Up of 8.5 Years. **Biology Of Blood And Marrow Transplantation**, v. 23, n. 3, p. 428-435, 2017.

KOURY JC, Donangelo CM. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, p. 433-441, 2003.

LARANJA, Sandra MR; BERGAMASCHI, Cassia M.; SCHOR, Nestor. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 237-240, 1991.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Avaliação de três plantas com potencial diurético. **Revista Associação Médica Brasileira**, v.38, n.1, p.13-6, 1992.

LARRAMENDY, Marcelo; SOLONESK, Sonia (Ed.). Genotoxicity: A predictable risk to our actual world. **BoD–Books on Demand**, 2018.

LEÓN, C. J. et al. Caracterización del perfil de sensibilidad de un panel de líneas celulares para valoración de citotoxicidad in vitro. **Biomédica, Bogotá**, v. 26, p. 161- 168, 2006.

LI J. et al. Progress in the treatment of acute promyelocytic leukemia: optimization. **International journal of hematology**, v. 100, p. 38-50, 2014.

LI, H.,Wu, X., & CHENG, X. (2016). Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. **Journal of Gynecologic Oncology**, 27(4).

LIMA, J. L. O. et al. Terapia rediferenciadora do câncer. **Revista da Sociedade Brasileira de Cancerologia**, São Paulo, ano III, n. 9, 2000.

LIMA, A.S.; et al., Acaricide activity of different extracts from Piper tuberculatum fruits against Rhipicephalus microplus. **Parasitology Research**, v.113, n.1, p.107-112, 2014.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. de. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 4. ed., Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2008. 1120 p.

MAGALHÃES, W. L. E.; THÁ, E. L.; LEME, D. M. Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA. Comunicado Técnico - **Embrapa**, n. 427, 2018.

MEDRADO, LEANDRO, and RENATO MATOS LOPES. "Conexões históricas entre as políticas de rastreamento do câncer de colo do útero e a educação profissional em citopatologia no Brasil." **Trabalho, Educação e Saúde** 21 (2023): e00969206.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 3, p. 391-397, 2010. ISSN 0378-8741.

MENDONÇA, V.L.M. et al. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.86, p.93-7, 1991.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). **Frutas são fonte de fibras, vitaminas, minerais e contribuem para a prevenção de doenças**. Brasília, Ministério da Saúde, Departamento de nutrição, 2022.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.

MUÑOZ, K. V. Leucemia promielocítica aguda: del origen a la remission. **Acta Pediátrica Costarricense**, v. 15, n. 1, p. 12-15, 2001.

NGA, N. T. H. et al. Optimization and application of MTT assay in determining density of suspension cells. **Analytical biochemistry**, v. 610, p. 113937, 2020.

NAKAGAWA, J. T. T., SCHIRMER, J., & BARBIERI, M. (2010). Vírus HPV e câncer de colo de útero. **Revista Brasileira de Enfermagem**, 63(2), 307–311

NAOUM, P. C. Interfaces celular, molecular, imunológica e terapêutica do câncer humano. In: NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. **Biologia Médica do Câncer Humano**. São José do Rio Preto: Vitrine Literária Editora, 2016, p. 10-43.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. What is Cancer? NIH - National Cancer Institute, 2021. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>>. Acesso em: 25 Jul. 2023.

OLIVEIRA, Marcia Cristina C.; BARBOSA, Rodrigo César F.; FLORES, Danilo C. Atividade antioxidante de frutas cítricas: adaptação do Método do DPPH para experimentação em sala de aula. **Revista Química Nova na Escola**, v. 43, n. 4, p. 401-405, 2021.

OMAIYE, Esther E. et al. High-nicotine electronic cigarette products: toxicity of JUUL fluids and aerosols correlates strongly with nicotine and some flavor chemical concentrations. **Chemical research in toxicology**, v. 32, n. 6, p. 1058-1069, 2019.

PALUDO, Isadora Martina; ANTUNES, Julia Lara; CENTA, Ariana. Opções terapêuticas no tratamento sistêmico do câncer de mama: uma revisão narrativa. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 11, p. 13821-13842, 2023.

POPIOŁKIEWICZ, J.; POLKOWSKI, K.; SKIERSKI, J. S.; MAZUREK, A. P. In vitro toxicity evaluation in the development of new anticancer drugs—genistein glycosides. **Cancer Letters**, v. 229, p. 67–75, 2005.

PRASAD AS, BECK FWJ, BAO B, FITZFERALD JT, SNELL DC, STEINBERG JD, et al. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **The American journal of clinical nutrition**, v. 85, n. 3, p. 837-844, 2007.

QUEIROZ, A. .; SAID, P. .; CARVALHO, R. .; MARIA, S.; ALMEIDA, A. C. G. de .; BRITO, M. A. M. . Frequency, treatment and staging of cervical cancer cases in the northern region of Brazil between the years 2017 to 2021. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. e11112642138, 2023.

RAJ, Chinthamony Arul et al. Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 4, p. 263-268, 2012.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, p. 107-109, 2010.

RODRIGUES, C. A et al. Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: recommendations from the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 38, n. 4, p. 346-357, 2016.

RODRIGUES, F. A. R et al., Mefloquine–oxazolidine derivatives: a new class of anticancer agents. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 83, p. 126-131, 2014.

ROVER Jr L, HOEHR NF, VELLASCO AP. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado à métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quím Nova**. 2001; 24(1): 112-9.

SAGRILLO, M. R. et al. Leucemia promielocítica aguda: caracterização de alterações cromossômicas por citogenética tradicional e molecular (FISH). **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 27, n. 2, 2005.

SAMARGHANDIANS, S., Hadjzadeh, MAR., Afshari, J.T. et al. Antiproliferative activity and induction of apoptotic by ethanolic extract of *Alpinia galanga* rhizome in human breast carcinoma cell line. **BMC Complement Altern Med** 14, 192 (2014).

SANTOS, Geanne KN et al. Essential oils from *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae): Chemical composition, oviposition deterrence, larvicidal and antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 254-260, 2012.

SANTOS, Mirella Meireles Ferreira dos et al. Leucemia mielóide, aguda e crônica: diagnósticos e possíveis tratamentos. 2019. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 11 – Ano: 2019.

SANTOS RI 2003. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre, Editora da UFRGS.

SILVA, P. A. et. al. Câncer de mama: fatores de risco e detecção precoce. **Revista Brasileira de Enfermagem**. 2011, v. 64, n. 6, pp. 1016 1021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-71672011000600005>>. Epub 31 Maio 2024. ISSN 1984-0446.

SILVA, P. C. B. D. (2012). **Caracterização química, atividade larvícida e deterrente de oviposição do óleo essencial da inflorescência do Bastão do Imperador (Etlingera elatior) frente à Aedes aegypti** (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco).

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazônica**. Manaus. v. 38, n. 1, 2008.

SOLA-LEYVA, Alberto et al. Reactive oxygen species (ROS) production in HepG2 cancer cell line through the application of localized alternating magnetic field. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 8, n. 34, p. 7667-7676, 2020.

SOUZA, V.O.; GRANDO, J.P.S.; FILHO, J.O.; Tempo decorrido entre o diagnóstico de câncer de mama e o início do tratamento, em pacientes atendidas no Instituto de Câncer de Londrina (ICL). **RBM Revista Brasileira de Medicina**, 2008.

SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: **Cancer Journal for Clinicians**, Hoboken, v. 71, n. 3, p. 209-249, Feb. 2021. DOI 10.3322/caac.21660.

SHAMI NJIE, MOREIRA EAM. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SHAPIRA, Shiran, et al. "Terpinen-4-ol: A novel and promising therapeutic agent for human gastrointestinal cancers." **PloS one** v. 11, n. 6, p. e0156540, 2016.

SHRINER, R. L; HERMANN, C. K. F.; MORRILL, T. C.; CURTIN, D. Y. e FUSON, R. C. The Systematic Identification of Organic Compounds. New Jersey: **John Wiley & Sons**, 2004.

STROBER W. Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. **Current protocols in immunology**, v. 111, n. 1, p. A3. B. 1-A3. B. 3, 2015

TEIXEIRA, Maria do Carmo Ferraz, and Vivian LOGEs. "Alpínia-cultivo e comercialização." **Ornamental Horticulture** 14.1 (2008).

TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. Flores tropicais: tropical flowers. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005. 225 p.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, 1963.

VASCONCELOS SML, GOULART MOF, MOURA JBF, MANFREDINI V, BENFATO MS, KUBOTA LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quím Nova**, 2007.

VICTÓRIO, C. P., KUSTER, R. M., & LAGE, C. L. S. Detection of flavonoids in *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. leaves using high-performance liquid chromatography. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2009.

VILLAFLORES, Oliver B., et al. "Phytoconstituents from *Alpinia purpurata* and their in vitro inhibitory activity against *Mycobacterium tuberculosis*." **Pharmacognosy magazine**, 2010.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd ed. Germany: **Springer**, 2001

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle(*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n.5, p. 1362-1370, 2010.

WARD, Laura Sterian. Entendendo o processo molecular da tumorigênese. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, p. 351-360, 2002.

WEINBERG, Robert A.: A biologia do câncer / tradução Gaby Renard ... [et al.]. – Porto Alegre : **Artmed**, 2008.

WELCH KD, Davis TZ, Eden MEV, Aust SD. Deleterious iron-mediated oxidation of biomolecules. **Free radical biology and medicine**, v. 32, n. 7, p. 577-583, 2002.

XIA, Menghang et al. Compound cytotoxicity profiling using quantitative high-throughput screening. **Environmental health perspectives**, v. 116, n. 3, p. 284-291, 2008.

YILMAZ, M et al. Acute promyelocytic leukemia current treatment algorithms. **Blood Cancer J**, 2021.

ZAHRA, M. H. et al. *Alpinia zerumbet* (Pers.): Food and Medicinal Plant with Potential In Vitro and In Vivo Anti-Cancer Activities. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2495, 2019.

ZAGO, M. A. et al. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: **Atheneu**, 2004.

ZHANG, Wei-Jie; LUO, Jian-Guang; KONG, Ling-Yi. The genus *Alpinia*: a review of its phytochemistry and pharmacology. **World Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 2, n.