



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
CURSO DE MEDICINA**

THIAGO LEONARDO SANGALLI

**NANOTECNOLOGIAS VERDES PARA TRATAMENTO DE CÂNCER.
UMA REVISÃO**

Palmas (TO)

2021

THIAGO LEONARDO SANGALLI

**NANOTECNOLOGIAS VERDES PARA TRATAMENTO DE CÂNCER.
UMA REVISÃO**

Monografia apresentada à UFT -Universidade Federal de Tocantins- Campus Universitário de Palmas para obtenção de título de bacharel em Medicina, sob orientação do Prof. Anderson Barbosa Baptista.

Palmas (TO)

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S225n Sangalli, Thiago Leonardo.
Nanotecnologias Verdes para tratamento de Câncer. Uma Revisão
. / Thiago Leonardo Sangalli. – Palmas, TO, 2021.
32 f.
Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins –
Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Medicina, 2021.
Orientador: Anderson Barbosa Baptista
1. Nanotecnologia. 2. Nanopartículas verdes. 3. Atividade
anticâncer. 4. Tratamento de neoplasias. I. Título

CDD 610

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

THIAGO LEONARDO SANGALLI

**NANOTECNOLOGIAS VERDES PARA TRATAMENTO DE CÂNCER.
UMA REVISÃO**

Monografia apresentada à UFT -Universidade Federal de Tocantins- Campus Universitário de Palmas para obtenção de título de bacharel em Medicina, sob orientação do Prof. Anderson Barbosa Baptista.

Data da aprovação: 30/07/2021.

Banca examinadora:



Presidente: Prof. Dr. Anderson Barbosa Baptista



Membro: Profa. Dra. Juliana Fonseca Moreira da Silva



Membro: Prof. Dr. Guilherme Nobre Lima do Nascimento

Dedico este trabalho à Deus, que me guiou em toda a trajetória, me fortalecendo e segurando minha mão em momentos de dificuldade, e de conquista.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, que fez o meu sonho ser possível e me deu o milagre de ingressar, amar e me dedicar a esse curso gratificante que é a medicina. Sem Ele nada seria possível!

Aos meus pais, Osvaldinho Sangalli e Lea Leonardo Sangalli, que me inspiraram a entrar nessa carreira e me deram todo apoio possível, fizeram do impossível ser real. Aos meus irmãos que sempre estiveram junto, mesmo em uma distância maior que 2 mil km, incentivaram-me com as suas vidas a seguir sempre em frente. À minha namorada, Gabriela Nascimento, por todo apoio aqui quando ninguém mais podia me dar, me ajudou no amadurecimento que precisava. Aos meus amigos, que sempre tiveram ao meu lado, pela amizade incondicional.

Ao professor, mestre e doutor Anderson Barbosa Baptista, por ter aceitado ser meu orientador e ter desempenhado tal função com maestria e dedicação, por ter me guiado na construção dessa monografia, me apresentando um mar de conhecimentos novos que levarei para minha vida.

Agradeço a todos aqueles que contribuíram, participaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de curso, com quem convivi por esses últimos anos, participaram da minha vida ativamente, pelo companheirismo e troca de experiências que me tornaram o que eu sou hoje.

Por último agradeço a minha instituição do coração Universidade Federal do Tocantins, que abriu as portas para realização do meu sonho, que proporcionou um ensino de excelente qualidade, e me fez o profissional que sempre sonhei ser.

RESUMO

Introdução: As nanopartículas verdes são substratos naturais sintetizados de recursos biológicos disponíveis na natureza, como vegetais, algas, fungos e bactérias.

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi revisar a *atividade anticâncer* de NPs

sintetizadas a partir de extratos verdes contra células tumorais. **Método:** Selecionou-

se 21 artigos originais do tipo *in vivo* e *in vitro* no banco de dados eletrônicos, PubMed

e Cochrane, trabalhos publicados nos últimos 5 anos, em inglês, português e

espanhol. **Resultados:** A seleção dos artigos mostrou que o tema é atual e recente,

sendo que 66% da amostra foram publicados nos últimos três anos. As NPs verdes

foram sintetizadas em 76% dos casos a partir de substratos vegetais, 10% de fungos

e 9,5% de algas, e o metal de escolha como agente redutor e estabilizador foi o ouro.

O efeito citotóxico das Nps verdes no tumor foi observado em 95% dos estudos,

sendo que a linhagem das células neoplásicas mais estudada foi carcinoma

hepatocelular (HepG2) em 80% dos artigos, seguida de adenocarcinoma de mama

(MCF-7) com 38%. A citotoxicidade em nível molecular foi observada pela presença

de células apoptóticas, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular

e a diminuição de enzimas anti apoptóticas. **Conclusão:** Pode-se concluir que as NPs

verdes são uma alternativa eficaz no tratamento de câncer.

Palavras-Chaves: Nanotecnologia, Nanopartículas verdes; Atividade anticâncer.

ABSTRACT

Introduction: Green nanoparticles are natural substrates synthesized from biological resources available in nature, such as vegetables, algae, fungi and bacteria.

Objective: The aim of the present study was to review the anticancer activity of NPs synthesized from green extracts against tumor cells. **Method:** We selected 21 original in vivo and in vitro articles in the electronic database, PubMed and Cochrane, works published in the last 5 years, in English, Portuguese and Spanish. **Results:** The selection of articles showed that the topic is current and recent, with 66% of the sample having been published in the last three years. Green NPs were synthesized in 76% of cases from plant substrates, 10% from fungi and 9.5% from algae, and the metal of choice as reducing and stabilizing agent was gold. The cytotoxic effect of green Nps on the tumor was observed in 95% of the studies, and the most studied neoplastic cell lineage was hepatocellular carcinoma (HepG2) in 80% of the articles, followed by breast adenocarcinoma (MCF-7) in 38%. Cytotoxicity at the molecular level was observed by the presence of apoptotic cells, increased intracellular reactive oxygen species (ROS) and decreased anti-apoptotic enzymes. **Conclusion:** It can be concluded that green NPs are an effective alternative in cancer treatment.

Keywords: Nanotechnology, Green nanoparticles; Anticancer activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1: Resultado do fluxograma da pesquisa de revisão em nanopartículas verdes.....	17
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios de seleção dos artigos.....	14
Tabela 2: Propriedades de nanopartículas verdes no tratamento de câncer.....	18

LISTA DE SIGLAS

NPs	Nanopartículas;
AuNPs	Nanopartículas de ouro
AgNPs	Nanopartículas de prata
MEDLINE	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online /PubMed
CENTRAL Library	The Cochrane Central Register of Controlled Trials The Cochrane Library
MeSH	Medical Subject Headings
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
MCF-7	Adenocarcinoma da mama
HCT-116	Carcinoma do cólon
HepG2	Células hepáticas
HeLa	Adenocarcinoma de células colo epitelial humano
A549	Células de câncer de pulmão
IC50	Concentração Inibitória Mínima

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. METODOLOGIA.....	14
3. RESULTADOS.....	16
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma área interdisciplinar, que abrange vários conhecimentos como a física, a química e a biologia, e é definida como a manipulação de partículas com dimensões entre 1 a 100 nanômetros (nm). Essas nanopartículas (NPs) apresentam características específicas, como o tamanho, distribuição, morfologia, fase, composição e quando comparadas a partículas de dimensões maiores possuem propriedades melhoradas. Nos últimos anos, essa inovação tem buscado aprimoramento através de estratégias de pesquisas, desenvolvimento e inovação, gerando impacto nas diversas áreas e setores, tais como químico, farmacêutico e médico (ALSALHI; ALROKAYAN, 2011; SILVA *et al.*, 2017).

As nanopartículas podem ser sintetizadas de variadas fontes, quando explorada de recursos biológicos disponíveis na natureza, cuja matéria prima é de origem vegetal, algas, fungos e bactérias, o termo empregado é síntese verde. A nanotecnologia verde, portanto, utiliza produtos químicos com pouco ou nenhuma toxicidade, são biodegradáveis e com custo relativamente baixo, tem por um dos objetivos abordar a sustentabilidade, reduzindo impacto ambiental, econômico e social (SILVA *et al.*, 2017). A síntese verde mediada por plantas é atualmente a mais difundida na literatura, existem inúmeras espécies de plantas estudadas e conhecidas que foram utilizadas como fontes geradoras de NPs, delas são realizados os extratos aquosos a partir das folhas, das sementes, cascas, flores, frutos, tubérculos e raízes (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010).

As NPs podem utilizar metais que agem no processo de redução ou estabilização do composto verde, entre eles o ouro e a prata. As NPs de metais nobres são obtidas por método químico e físico e atuam na terapia de câncer, através da ruptura da cadeia respiratória mitocondrial, o que leva à produção de mais espécies reativas de oxigênio e interrupção da síntese de ATP, que por sua vez causa danos ao DNA, desnaturação das proteínas e morte da célula tumoral (ABDEL-AZIZ; SHAHEEN; EL-NEKEETY, 2014; OVAIS *et al.*, 2018).

Na área da saúde, as nanopartículas são utilizadas para bioimagens, na proteção contra microrganismos prejudiciais, transporte de fármacos, diagnóstico e tratamento de doenças patológicas infecciosas e terapia de câncer (VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ; IZQUIERDO-BARBA, 2019; BIRLA *et al.*, 2009). O tratamento do câncer, apesar do grande avanço terapêutico, ainda gera muitos efeitos colaterais ao paciente

e possui multirresistência medicamentosa. Constantemente, a ciência tem buscado inovações para contornar esses obstáculos, melhorando a eficiência do tratamento e gerando menos efeitos adversos (ARVIZO; BHATTACHARYA; MUKHERJEE, 2010).

O tratamento com as NPs verdes podem ser uma alternativa eficaz para o tratamento do câncer, e devido a isso várias pesquisas estão em busca de respostas. A meta análise de BARABADI *et al.* (2018) avaliou a eficácia de nanopartículas metálicas sintetizadas a partir de microbianos contra linhagens de células cancerosas e normais, observaram que as chances de citotoxicidade em linhas de células cancerosas eram praticamente nove vezes maiores do que nas linhas de células normais (OR = 9,004, P < 0,001). Concluíram que as NPs verdes podem ser desenvolvidas como novos agentes anticâncer, o que pode levar a uma revolução no tratamento do câncer.

BARABADI *et al.* (2020) avaliaram a ação anticâncer de NPs verdes de ouro contra células de câncer hepático. Os extratos em 65% foram sintetizados de plantas, os demais foram preparados de bactérias, algas e fungos. A AuNPs em quase todos os estudos tinha tamanho inferior a 100 nm de diâmetro com formato esférico. Realizaram estudos de citotoxicidade nas células hepáticas. Os resultados foram surpreendentes, cerca de 80% dos artigos declararam atividade anticâncer significativa da nanopartícula contra o câncer hepático *in vitro*. Observaram através de estudos moleculares a indução de apoptose nas células tratadas com AuNPs, houve um aumento de enzimas apoptóticas como das caspases, Bix e Bid, aumento da produção de ROS e redução da atividade enzimática anti-apoptóticas como Bcl-2.

Dessa forma, é de suma importância encontrar estratégias para terapia do câncer, portanto o objetivo do presente estudo é conduzir uma revisão abrangente sistemática por meio de artigos originais *in vitro* e *in vivo* para avaliar a atividade anticancerígena de nanopartículas verdes contra células tumorais. Além do mais, buscar esclarecer a citotoxicidade e o mecanismo molecular de ação das NPs contra as células neoplásicas.

2 METODOLOGIA

A revisão literária sistemática selecionou artigos publicados com o tema “Nanotecnologias verdes para tratamento de câncer”. As principais bases de dados bibliográficas eletrônicas utilizadas nesse trabalho foram a MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online /PubMed*), e CENTRAL (*The Cochrane Central Register of Controlled Trials The Cochrane Library*). A estratégia de busca foi realizada com o vocabulário controlado, utilizando o descritor de assunto MeSH (*Medical Subject Headings*). Uma combinação de termos e/ou palavras-chave foi utilizada para assegurar a máxima captura de artigos: Neoplasia, Tumor, *Malignancy*, *Green Nanotechnology*.

Foram incluídos no estudo todos os trabalhos localizados nas bases de dados supracitadas que tenham sido devidamente classificadas pelos métodos de seleção: Estudos originais do tipo *in vivo* e *in vitro* publicados em inglês, português e espanhol nos últimos 5 anos entre o período de 1º de janeiro de 2016 e 30 de maio 2021. Além do mais, deveriam seguir os critérios de inclusão e exclusão, como especificados na Tabela 1.

Tabela 1: Critérios de seleção dos artigos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
Nanopartículas, ou seja, moléculas com tamanho menor que 100 nm;	Nanotecnologias maiores que 100 nm ou não especificado;
Nanopartículas de síntese verde, extraídas de plantas, algas, fungos e bactérias;	Nanopartículas químicas ou extraídas de animais;
Estudos originais, <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> ;	Artigos como revisões, teses
Resultados relacionados ao tratamento de câncer.	Nanopartículas usadas para outros fins biológicos

O processo de avaliação da elegibilidade passou por uma etapa de triagem dos artigos, com leitura de título e resumo realizado por um único examinador. A segunda

etapa, fase de confirmação, foi realizada por uma dupla de revisores, de maneira independente, e consistiu na leitura completa do manuscrito. Nessa fase, se houvesse discordância sobre o julgamento da elegibilidade entre os revisores, o artigo seria incluído por consenso.

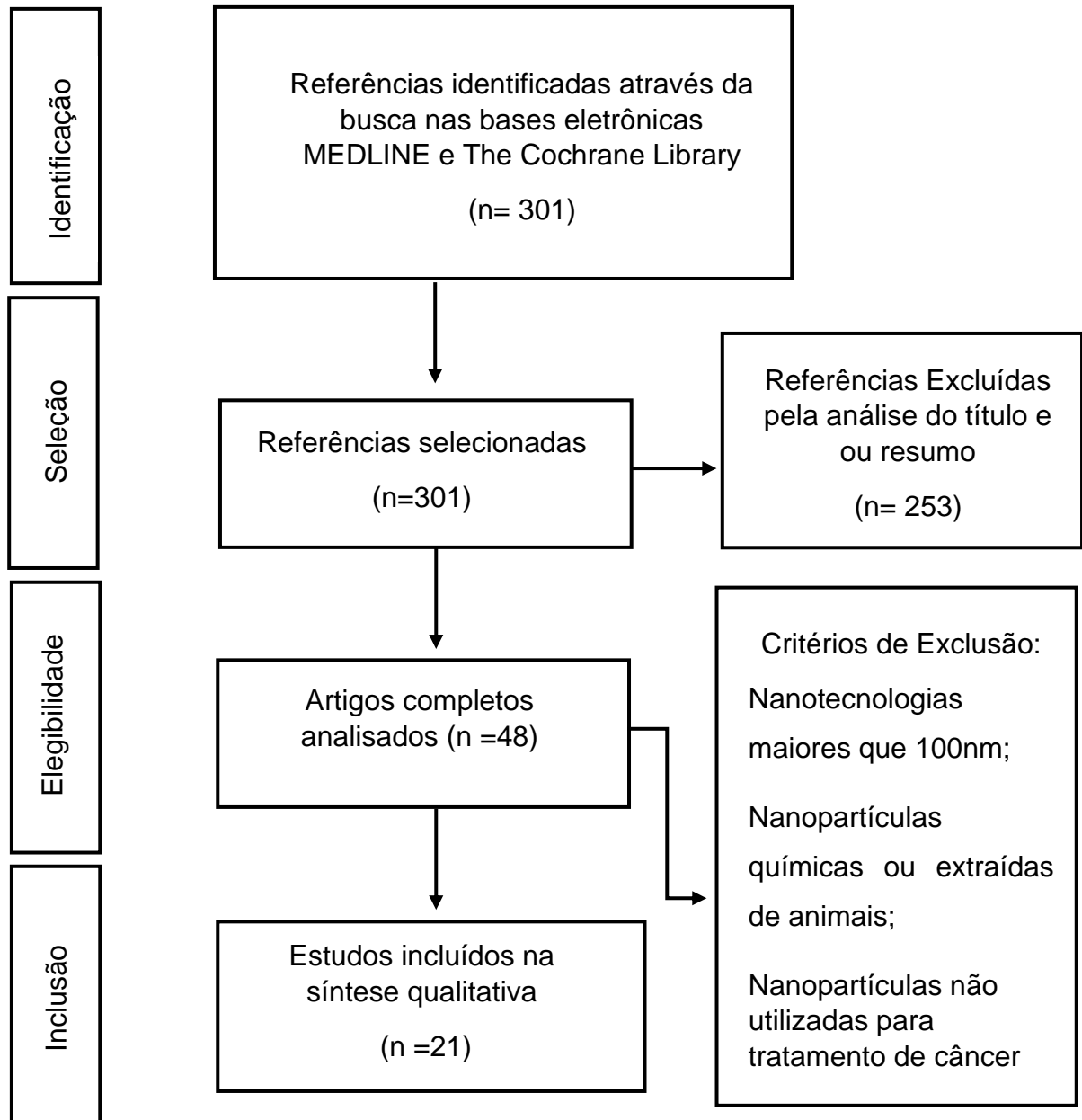
A extração dos dados para a revisão, incluindo detalhes de intervenção, método e resultados, foi guiada por uma ficha clínica padrão. Todos os dados de interesse contidos em ficha clínica foram agrupados em forma de tabelas para posteriormente serem analisados.

3 RESULTADOS

O levantamento bibliográfico localizou 301 resultados na PubMed e na Cochran. Após a busca nas bases de dados eletrônicas, na fase de seleção, foram excluídos 253 artigos pela análise do título e do resumo. O artigo para ser selecionado precisava seguir os critérios de inclusão e exclusão, dessa forma foram aceitos 48 artigos para uma análise mais minuciosa.

Na fase de elegibilidade foi necessário ler o texto na íntegra, observando se o composto trabalhado era realmente nanotecnologia (menos 100 nm), alguns artigos foram excluídos por serem fitoterápicos com partículas maiores que a indicada. Foi observado, também, a origem das NPs, que deveriam ser de origem verde, de plantas, algas e fungos, excluiu-se os artigos que as NPs eram químicas ou de origem animal. Outro aspecto observado foi o tratamento do câncer, foi excluído os artigos que abordavam as NPs como substrato de transporte para fármacos quimioterápicos sem ação terapêutica, ou como meio de diagnóstico. Ao final da análise detalhada foram incluídos 21 artigos para compor o corpus de análise da revisão. A Figura 1 apresenta o fluxograma com as etapas de identificação, seleção, elegibilidade e inclusão dos textos.

Figura 1: Resultado do fluxograma da pesquisa de revisão em nanopartículas verdes.



A Tabela 2 analisa as principais variáveis dos estudos selecionados, abordando: (1) Estudo, abordando qual análise que foi realizada *in vivo* e ou *in vitro*; (2) Nanopartícula, qual metal foi utilizado para o processo de redução ou estabilização do composto verde; (3) Fonte Biológica Verde, a partir de qual extrato verde foi removido a nanopartícula e qual o gênero e a espécie; (4) Linhagem de células de câncer, a origem das células tumorais que foi realizado a pesquisa, ou seja, adenocarcinoma ou carcinoma de qual ou quais órgãos; (5) Resultados relevantes, observando a citotoxicidade das nanopartículas nas células tumorais, controle do crescimento dessas.

Tabela 2: Propriedades de nanopartículas verdes no tratamento de câncer.

AUTOR / ANO	ESTUDO	NPs	FONTE BIOLÓGICA VERDE	LINHAGEM DE CÉLULAS DE CÂNCER	RESULTADOS RELEVANTES	PAÍS
KHOOBCHA NDANI <i>et al.</i> , 2020	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs	Planta/ <i>Mangifera indica</i>	Células de mama (MCF-7)	Controle de crescimento de tumores nas células	Estados Unidos
(MAJUMDAR <i>et al.</i> , 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Cítricos Macrópteros</i>	Células de pulmão, mama (MCF-7) e hepático (HepG2)	Eficiente para regular o crescimento de células de carcinoma hepático em menores concentrações quando comparado ao câncer de pulmão e mama	Índia
(LI <i>et al.</i> , 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Marsdenia tenacissima</i>	Células hepáticas (HepG2)	Apoptose de células cancerígenas, aumento de ROS e expressões das proteínas, Bax, caspase-3 e caspase-9; diminuição da expressão das enzimas Bcl-2 e Bcl-XL	Arabia Saudita

(JI; CAO; SONG, 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fungos/ <i>Cordyceps militaris</i>	Células hepáticas (HepG2)	Desenvolve ROS e causa danos ao potencial de membrana mitocondrial nas células HepG2 do carcinoma hepatocelular. Iniciar a apoptose ativando o Bax, Bid, caspases e inibe a ativação anti-apoptótica Bcl-2	China
(LEE; AHN; PARK, 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ chá verde	Células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS), (HeLa), Células hepáticas (HepG2), e células de colorretal (HT29)	A citotoxicidade de todos os três tipos de células tumorais era dependente da concentração de Au e da forma das nanopartículas. A maior citotoxicidade foi observada para células HepG2	Coreia do Sul
(GHRAMH; KHAN; IBRAHIM, 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Euphorbia peplus</i>	Adenocarcinoma de células colo epitelial humano (HeLa), células dos hepatócitos (HepG2)	EpExt-AuNPs foram inibitórios contra células HepG2 e Hela	Arabia Saudita

(BOOMI <i>et al.</i> , 2019)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Coleus aromaticus</i>	Células hepáticas (HepG2)	Citotoxicidade significativa contra a linha celular de câncer hepático humano (HepG2)	Índia
(KHANDANL OU <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Backhousia citriodora</i>	células de mama (MCF-7) e hepáticas (HepG2)	A atividade anticâncer mostrou uma redução dependente da dose significativa na viabilidade da linha celular de câncer de mama MCF-7 e a linha de células HepG2	Austrália
(ISMAIL <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Corchorus olitorius</i>	carcinoma do cólon HCT-116, carcinoma hepatocelular HepG-2 e adenocarcinoma de mama MCF-7	O melhor desempenho citotóxico dos NPs Au foi nas células do carcinoma hepatocelular seguido do adenocarcinoma da mama (MCF-7) e do carcinoma do cólon (HCT-116)	Egito
(EL DOMANY <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fungos/ <i>Pleurotus ostreatus</i>	Células hepáticas (HepG2), células de câncer de próstata (PC3) e câncer de células de cólon (HCT-116).	Causaram uma significativa diminuição na viabilidade celular hepática e do cólon	Egito

(DHAYALAN <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs /AgNPs	Planta/ <i>Coleus forskohlii</i>	Células hepáticas (HepG2)	Citotóxica contra células tumorais HEP G2	Índia
(OVAIS <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs /AgNPs	Planta/ <i>Olax nana</i> .	Células hepáticas (HepG2)	Os valores revelaram potencial citotóxico preferencial de AuNPs, seguido pela AgNPs	Paquistão
(BORAH <i>et al.</i> , 2018)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Syzygium cumini</i>	Células hepáticas (HepG2)	Inibiram efetivamente a proliferação de células HepG2. O valor de IC50 dos AuNPs foi de 20 µg/ml, cerca de quatro vezes maior do que a droga anticâncer padrão, monohidrato de ciclofosfamida (IC50: 4 µg/ml).	Índia
(SHANMUGA SUNDARAM <i>et al.</i> , 2017)	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs AgNPs Ag/Au NPs	Bactéria/ <i>Streptomyces nogalater</i>	Células hepáticas (HepG2)	Redução significativa do tumor (45 a 65%) foi observada nos animais tratados com nanopartículas.	Índia
(RAJESHKUMAR <i>et al.</i> , 2017)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Alga/ <i>Padina tetrastromatica</i>	Células hepáticas (HepG2) e células de câncer de pulmão (A549)	Houve citotoxicidade nas duas linhagens de células, sendo a atividade máxima de citotoxicidade de 47%	Índia

(MUTHUKUMAR <i>et al.</i> , 2016)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Carica papaya</i> (CP) e <i>Catharanthus roseus</i> (CR)	As células mama (MCF7) e hepática (HepG2)	Morte celular significativamente, cerca de 97,5 e 98,1% contra as células MCF7 e HepG2, respectivamente.	Coreia do Sul
(BALASHAN MUGAM <i>et al.</i> , 2016)	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs	Planta/ <i>Cassia roxburghii</i>	As células mama (MCF7) e hepática (HepG2) e células cervicais de colo do útero (HeLa)	Houve citotoxicidade nas três linhas de células, porém as células HepG2l eram tóxicas em concentração mais baixa em comparação com outras linhas de células.	Índia
(AJDARI <i>et al.</i> , 2016)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Alga/ <i>Sargassum glaucescens</i>	Linhas celulares cervicais (HeLa), de hepática (HepG2), de mama (MDA-MB-231) e de leucemia (CEM-ss)	Citotóxico significativos para as células cancerosas das linhas celulares HeLa, HepG2, CEM-ss, MDA-MB-231. Efeito citotóxico insignificante para as células epiteliais mamárias humanas normais (MCF-10A)	Malásia
(PREETAM RAJ <i>et al.</i> , 2016)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Flor/ <i>Tabernaemontana divaricata</i>	Linha celular de mama (MCF-7)	Atividade anticâncer nas células de mama com valor IC50 de mais de 100 µg/ml.	Índia

(KUMAR <i>et al.</i> , 2016)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fruta/ <i>Genipa americana</i>	Células de Pulmão (A-549) e células cervicais de colo do útero (HeLa)	Fraca eficácia antioxidante e nenhuma citotoxicidade contra células cancerígenas	Equador
(MATA; NAKKALA; SADRAS, 2016)	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Abutilon indicum</i>	Células de câncer de cólon (HT-29)	Citotoxicidade em células de câncer de cólon HT-29, aumentados de espécies reativas de oxigênio e redução simultânea de antioxidantes celulares	Índia

NP =nanopartículas; AuNPs = nanopartículas de ouro; AgNPs = nanopartículas de prata.

4 DISCUSSÃO

Pela seleção dos artigos, percebe-se que a terapia com nanopartículas verdes na abordagem do câncer é um tema atual e recente, visto que dos 21 artigos selecionados nesta pesquisa, 14 foram publicados nos últimos três anos. Os estudos ainda estão em fases preliminares, todas as publicações nessa área são análise *in vitro*, e algumas poucas ampliaram para análise *in vivo*. KHOOBCHANDANI *et al.* (2020) e SHANMUGASUNDARAM *et al.* (2017) realizaram experimentos em camundongos e ratos, e KHANDANLOU *et al.* (2018) além da análise *in vitro*, *in vivo* em camundongos albinos, foi o único que após resultados satisfatórios e aprovação do comitê de ética, realizaram um estudo piloto em pacientes humanos com câncer de mama, os resultados mostraram que os pacientes tratados com as nanopartículas verdes adjuntos ao tratamento padrão exibiram altíssimo benefícios clínicos quando comparados aos pacientes que tiveram somente o tratamento convencional.

Os resultados desta pesquisa mostraram que o metal de escolha como agente redutor e estabilizador das nanopartículas verdes foi o ouro, e em alguns estudos a prata. GHRAMH; KHAN; IBRAHIM (2019) analisaram a citotoxicidade em células tumorais hepáticas e células de colo de útero utilizando duas nanopartículas, fitossintetizado da folha de *Euphorbia peplus*, a primeiro era um extrato aquoso puro e o segundo reduzido com partículas de ouro, os resultados mostraram a inibição contra células HepG2 em ambos os tratamentos, porém contra a células Hela a terapia com AuNPs foi o único capaz de inibir o câncer, já NP pura estimulou o crescimento, dessa forma concluíram a efetividade da partícula de ouro associado ao nanocomposto verde.

Tanto o ouro quanto a prata possuem suas especificidades, quando analisados separadamente no tratamento de câncer, ambos foram efetivos SHANMUGASUNDARAM *et al.* (2017). Observaram o efeito um pouco maior da atividade anticâncer das partículas de prata (IC50: 38,42 µg/ml), quando comparada com o ouro (IC50: 43,25 µg/ml), porém sem diferenças significativas. Em contrapartida, OVAIS *et al.* (2018) analisaram a concentração de inibição contra células cancerosas HepG2 produzida por AgNPs (IC50: 14,93 µg/ml) e AuNPs (IC50: 2,97 µg/ml) e concluiu que a partícula de ouro teve um potencial citotóxico superior.

A matéria prima pode ser retirada de tecidos, células, biomoléculas ou metabólitos de origem de vegetais, fungos, algas e bactérias. Os resultados desse

estudo mostraram que 76% das pesquisas sintetizaram as NPs a partir de substratos de diferentes partes de plantas, como caule, folhas, flores e frutos. Foram utilizadas espécies tais como: mangueira (*Mangifera indica*), laranja-selvagem (*Cítricos macrópteros*), chá verde, sarmento (*Euphorbia peplus*), erva-cidreira (*Coleus aromaticus*), murta limão (*Backhousia citriodora*), caruru-da-bahia (*Corchorus olitorius*), shimeji-preto ou cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*), boldo-de-jardim (*Coleus forskohlii*), *Olax nana*, jamelão (*Syzygium cumini*), mamão (*Carica papaya*), vinca-de-madagáscar (*Catharanthus roseus*), cássia vermelha ou senna do ceilão (*Cassia roxburghii*), jasmim-café (*Tabernaemontana divaricata*), jenipapeiro (*Genipa americana*) e cheiro-de-cavalo (*Abutilon indicum*).

Neste trabalho 10% dos artigos relataram mioossíntese, ou seja, síntese via fungo, oriundas das espécies *Cordyceps militaris* e *Pleurotus ostreatus*, a biossíntese através de algas corresponderam a dois artigos, cujas espécies foram *Padina tetraströmatica* e *Sargassum glaucescens*, e a de origem bacteriana *Streptomyces nogalater* foi relatado em um artigo.

Nossos resultados mostraram o potencial anticâncer significativo das nanopartículas contra diferentes células cancerígenas, cerca de 95% dos estudos mostraram algum efeito citotóxico no tumor. A linhagem das células tumorais mais estudada foi a de origem hepática, 80% dos artigos avaliaram o resultado das NPs verdes no carcinoma hepatocelular (HepG2), e obtiveram resultados surpreendentes. Em uma pesquisa, concluíram que o câncer hepático é muito sensível ao extrato de folha de *Coleus aromaticus* como síntese de AuNPs, mesmo em baixa concentração (IC50: 31 µg/ml) (BOOMI *et al.*, 2019). Quando comparados com outros tipos de câncer, o HepG2 tem mostrado mais sensibilidade ao tratamento com NPs verdes (ISMAIL *et al.*, 2018; LEE; AHN; PARK, 2019). O estudo de BALASHANMUGAM *et al.* (2016) observou que a concentração mínima para inibir o crescimento tumoral de células hepáticas foi de 30 µg/ml, enquanto nas células HeLa e MCF7 eram de 50 µg/ml, portanto, a linha celular HepG2 exibiu maior sensibilidade.

A segunda linhagem de células mais estudada foi adenocarcinoma de mama (MCF-7) em 8 artigos, os resultados mostram uma boa resposta ao tratamento com o extrato verde (AJDARI *et al.*, 2016; BALASHANMUGAM *et al.*, 2016; ISMAIL *et al.*, 2018; MAJUMDAR *et al.*, 2019; MUTHUKUMAR *et al.*, 2016; PREETAM RAJ *et al.*, 2016; KHOOBCHANDANI *et al.*, 2020). KHANDANLOU *et al.*, (2018) concluíram que

os resultados anticancerígenos *in vitro* indicaram que as NPs induziram citotoxicidade significativa contra as células MCF-7 sem lesionar as células epiteliais saudáveis.

Outras células tumorais encontrada nos artigos desta pesquisa foram de origem cervical de colo de útero (Hela), células do pulmão, células de cólon (HCT-116), adenocarcinoma gástrico humano (AGS), células de colorretal (HT29), leucemia (CEM-ss) e células de câncer de próstata (PC3).

Para avaliar a citotoxicidade nas células tumorais, os artigos analisaram a concentração inibitória mínima (IC50), que corresponde a quantidade necessária para inibir 50% do crescimento das células neoplásicas, quanto menor os valores de IC50, maior é a potência citotóxica do composto e maior é o efeito anticancerígeno. A citotoxicidade é influenciada por vários fatores tais como: concentração do substrato, tamanho e morfologia das nanopartículas e tempo de exposição às células. Os vieses externos podem contribuir para os desfechos diferentes, como a situação do estudo e a habilidade do pesquisador para realizar o ensaio de citotoxicidade.

Foi observado que quanto maior a concentração, maior é a morte celular de células cancerígenas. No estudo de KHOOBCHANDANI *et al.* (2020) quando a dose era de 50 µg/ml as células tumorais correspondiam a 80% de viabilidade, ao dobrar a dose para 100 µg/ml, a taxa de viabilidade reduziu para aproximadamente 10%. Outra variável que interfere na citotoxicidade é a forma da nanopartícula, em outro estudo, os autores concluíram que os nano bastões (IC50: 22,7µg/ml) foram mais citotóxicos quando comparados com nano stars (IC50: 81,8µg/ml) e nano esferas (IC50: 127,1µg/ml) (LEE; AHN; PARK, 2019). No estudo de OVAIS *et al.* (2018) além da forma da NPs, a distribuição deve ser uniforme, quando são heterogêneas, a presença de nanopartículas de tamanho grande ou irregular pode gerar agregação e não estabilizar o composto, prejudicando no efeito citotóxico. O tempo de exposição das células tumorais ao substrato verde contribui para uma melhor resposta, os resultados indicaram que quando aumenta o tempo de exposição ao fitoterápico, necessita de menor concentração para inibir a proliferação celular (150 foi de 210 µg/ml em 24 hr versus 180µg/ml em 48hr) (MATA; NAKKALA; SADRAS, 2016).

Outro aspecto pesquisado nos artigos foi as concentrações necessárias para causar a citotoxicidade nas células tumorais e não danificarem as células normais. MATA; NAKKALA; SADRAS, (2016) observaram que, a dose para levar a citotoxicidade contra células de câncer de cólon não lesiona as células normais, visualizaram a inibição seletiva através da microscopia, em que, as células saudáveis

emitem fluorescência verde brilhante com membrana mitocondrial intacta, por outro lado, as células cancerígenas tratadas com NPs exibiram fluorescência verde reduzida. O estudo de BALASHANMUGAM *et al.* (2016) analisou o efeito de AuNPs fotossintetizados em diferentes concentrações, como 10, 50, 100, 150 e 200µg/ml, enquanto que nas células tumorais hepáticas a concentração 30 µg/ml foi suficiente para lesionar mais de 50% do câncer, nas células saudáveis mais de 85 - 90% apresentaram vitalidade em concentrações de até 150 µg/ml. E quando o tempo de incubação aumentou, a biocompatibilidade aumentou, chegando a 95 - 99% em todas as concentrações, indicando a adaptação das células normais ao ambiente de AuNPs.

Em nível biológico, com o objetivo de confirmar a presença de células apoptóticas em amostras tratadas com nanopartículas, através da citometria de fluxo, observaram 15,10% de células apoptóticas quando tratadas com AuNPs e 23,78% quando tratadas com Ag / AuNPs (SHANMUGASUNDARAM *et al.*, 2017). Em outra pesquisa, encontraram através da análise de morfologia celular o encolhimento e condensação nuclear, fragmentação e formação de corpos apoptóticos, característico de morte celular (BALASHANMUGAM *et al.*, 2016).

Visando analisar a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS), estresse oxidativo intracelular, os métodos encontrados foram pela análise de fluorescência e a coloração com diacetato de diclorofluoresceína, o que foi possível observar que o extrato biológico induz o desenvolvimento de ROS e causa danos ao potencial de membrana mitocondrial nas células tumorais, levando a morte celular. O estudo comparou as células tumorais com células normais no tratamento com as NPs, e observaram que as primeiras possuíam 1,3 vezes mais captação de fluorescência devido ao aumento da formação de ROS (MATA; NAKKALA; SADRAS, 2016). As expressões das proteínas no processo de morte celular foram observadas através da análise Western Blotting, os resultados mostram que nas células tumorais tratadas com NPs houve um aumento da atividade das proteínas indutoras de apoptose (Bax e caspases) e uma diminuição nas enzimas com ação contrária, anti-apoptótica (Bcl-2 e Bcl-XL) (JI; CAO; SONG, 2019; LI *et al.*, 2019).

Estudos comparam as nanopartículas verdes com o tratamento de drogas convencionais, BORAH *et al.* (2018) observaram que a inibição de proliferação de células HepG2 foi quatro vezes maior no tratamento convencional quando comparado à NPs, com o IC50 = 4 e 20 µg/ml, respectivamente. Apesar de menor potência, os

autores concluíram que a produção de AuNPs no tratamento de neoplasias deve ser mais econômica e biocompatível em comparação com a produção de monohidrato de ciclofosfamida. Outra pesquisa comparou a NP verde com a Vimblastina, medicamento usado no tratamento de câncer, os resultados mostram que a concentração necessária para inibir as células HepG2 apresentou citotoxicidade muito próxima (IC50 de 10,3 µg/ml com NPs versus IC50 de 9,8 µg/ml com Vimblastina). E ressaltaram o bom desempenho citotóxico dos NPs comparáveis com o fármaco quimioterápico (ISMAIL *et al.*, 2018).

Por fim, os resultados mostraram que a utilização de NPs verdes são estratégias fundamentais capazes de combater células tumorais, porém os estudos abordados são preliminares com viés de limitação laboratorial, dessa forma novas pesquisas clínicas são necessárias em humanos para desvendar a efetividade da NPs verdes no tratamento de câncer.

5 CONCLUSÃO

Esse trabalho evidenciou através da literatura o potencial terapêutico das NPs verdes no tratamento de câncer e pode-se concluir que os compostos possuem citotoxicidade e atividade de inibição do crescimento celular tumoral. Em nível molecular observou a formação de células apoptóticas, bem como o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular e a diminuição de enzimas anti apoptóticas.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZIZ, M. S.; SHAHEEN, M. S.; EL-NEKEETY, A. A. Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles biosynthesized using *Chenopodium murale* leaf extract. **Journal of Saudi Chemical Society**. v. 18, n. 4, p. 356–363, 2014.
- AJDARI, Z. *et al.* Novel gold nanoparticles reduced by *Sargassum glaucescens*: Preparation, characterization and anticancer activity. **Molecules**. v. 21, n. 3, 2016.
- ALSALHI, M. S.; ALROKAYAN, S. A. Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**. v. 43, n. 6, p. 1266–1271, 2011.
- ARVIZO, R.; BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, P. Gold nanoparticles : opportunities and challenges in nanomedicine. p. 753–763, 2010.
- BALASHANMUGAM, P. *et al.* Phytosynthesized gold nanoparticles from *C. roxburghii* DC. leaf and their toxic effects on normal and cancer cell lines. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 165, p. 163–173, 2016.
- BARABADI, H. *et al.* Efficacy of green nanoparticles against cancerous and normal cell lines: a systematic review and. **IET Nanobiotechnology**. n. 1, p. 1–15, 2018.
- BARABADI, H. *et al.* Green nanotechnology-based gold nanomaterials for hepatic cancer therapeutics: A systematic review. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. v. 19, n. 3, p. 3–17, 2020.
- BIRLA, S. S. *et al.* Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**. v. 48, n. 2, p. 173–179, 2009.
- BOOMI, P. *et al.* Biological synergy of greener gold nanoparticles by using *Coleus aromaticus* leaf extract. **Materials Science and Engineering C**. v. 99, n. January, p. 202–210, 2019.
- BORAH, D. *et al.* Starch-templated bio-synthesis of gold nanoflowers for in vitro antimicrobial and anticancer activities. **Applied Nanoscience (Switzerland)**. v. 8, n. 3, p. 241–253, 2018.
- DHAYALAN, M. *et al.* Biogenic synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles from *Coleus forskohlii* and their clinical importance. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 183, p. 251–257, 2018.
- EL DOMANY, E. B. *et al.* Biosynthesis physico-chemical optimization of gold nanoparticles as anti-cancer and synergistic antimicrobial activity using *Pleurotus ostreatus* fungus. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. v. 8, n. 5, p. 119–128, 2018.

GHRAMH, H. A.; KHAN, K. A.; IBRAHIM, E. H. Biological activities of euphorbia peplus leaves ethanolic extract and the extract fabricated gold nanoparticles (AuNPs). **Molecules**. v. 24, n. 7, 2019.

ISMAIL, E. H. *et al.* Successful green synthesis of gold nanoparticles using a corchorus olitorius extract and their antiproliferative effect in cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n. 9, p. 1–14, 2018.

JI, Y.; CAO, Y.; SONG, Y. Green synthesis of gold nanoparticles using a Cordyceps militaris extract and their antiproliferative effect in liver cancer cells (HepG2). **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**. v. 47, n. 1, p. 2737–2745, 2019.

KHANDANLOU, R. *et al.* Synthesis and characterization of gold-conjugated Backhousia citriodora nanoparticles and their anticancer activity against MCF-7 breast and HepG2 liver cancer cell lines. **Journal of Materials Science**. v. 53, n. 5, p. 3106–3118, 2018.

KHOOBCHANDANI, M. *et al.* New approaches in breast cancer therapy through green nanotechnology and nano-ayurvedic medicine – pre-clinical and pilot human clinical investigations. **International Journal of Nanomedicine**. v. 15, p. 181–197, 2020.

KUMAR, B. *et al.* One pot phyto-synthesis of gold nanoparticles using Genipa americana fruit extract and its biological applications. **Materials Science and Engineering C**. v. 62, p. 725–731, 2016.

LEE, Y. J.; AHN, E. Y.; PARK, Y. Shape-dependent cytotoxicity and cellular uptake of gold nanoparticles synthesized using green tea extract. **Nanoscale Research Letters**. v. 14, p. 1–14, 2019.

LI, L. *et al.* Synthesis and characterization of gold nanoparticles from Marsdenia tenacissima and its anticancer activity of liver cancer HepG2 cells. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**. v. 47, n. 1, p. 3029–3036, 2019.

MAJUMDAR, M. *et al.* Synthesis of Gold Nanoparticles Using Citrus macroptera Fruit Extract: Anti-Biofilm and Anticancer Activity. **ChemistrySelect**. v. 4, n. 19, p. 5714–5723, 2019.

MATA, R.; NAKKALA, J. R.; SADRAS, S. R. Polyphenol stabilized colloidal gold nanoparticles from Abutilon indicum leaf extract induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 2016.

MUTHUKUMAR, T. *et al.* Green synthesis of gold nanoparticles and their enhanced synergistic antitumor activity using HepG2 and MCF7 cells and its antibacterial effects. **Process Biochemistry**. v. 51, n. 3, p. 384–391, 2016.

OVAIS, M. *et al.* Multifunctional theranostic applications of biocompatible green-synthesized colloidal nanoparticles. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 102, n. 10, p. 4393–4408, 2018.

PREETAM RAJ, J. P. *et al.* In-vitro anticancer and antioxidant activity of gold nanoparticles conjugate with tabernaemontana divaricata flower SMs against MCF-7 breast cancer cells. **Korean Chemical Engineering Research**. v. 54, n. 1, p. 75–80, 2016.

RAJESHKUMAR, S. *et al.* Optimized Synthesis of Gold Nanoparticles using Green Chemical Process and its Invitro Anticancer Activity Against HepG2 ... **Mechanics, Materials Science & Engineering**. n. March, p. 1–6, 2017.

SHANMUGASUNDARAM, T. *et al.* Biocompatible silver, gold and silver/gold alloy nanoparticles for enhanced cancer therapy: In vitro and in vivo perspectives. **Nanoscale**. v. 9, n. 43, p. 16773–16790, 2017.

SILVA, L. P. *et al.* Nanotecnologia verde para síntese de nanopartículas metálicas. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria** - Vol. 4. p. 967–1012, 2017.

THAKKAR, K. N.; MHATRE, S. S.; PARIKH, R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. v. 6, n. 2, p. 257–262, 2010.

VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ, B.; IZQUIERDO-BARBA, I. Nanomaterials as promising alternative in the infection treatment. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 20, n. 15, 2019.