ESTUDO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO DA GRAVIOLA CONTRA O CÂNCER

Milena Panício Vertuan¹, Bruna Barbarote Santiago², Graciene de Souza Bido³, Daniele Fernanda Felipe⁴

¹Acadêmica do Curso de Farmácia, Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/CNPqUniCesumar. milena_panicio@hotmail.com

²Acadêmica do Curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR. brunabarbarote@hotmail.com

³Coordenadora, Docente do mestrado em Ciência, Tecnologia e Segurança Alimentar do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. graciene.bido@unicesumar.edu.br

⁴Orientadora, Docente do mestrado em Ciência, Tecnologia e Segurança Alimentar do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. daniele.felipe@unicesumar.edu.br

RESUMO

A planta *Annona muricata*, conhecida como graviola, tem demonstrado apresentar compostos promissores que podem ser utilizados na prevenção e tratamento de câncer. O presente trabalho apresenta como objetivo avaliar o potencial terapêutico da graviola na prevenção do câncer. As folhas da graviola serão adquiridas e processadas, para posterior análises de teor de umidade, quantificação de compostos fenólicos, determinação de flavonoides, análise do teor de proteínas e avaliação da atividade antioxidante. Os dados obtidos serão tabulados e analisados estatisticamente. Como a graviola apresenta compostos que apresentam ação antioxidante, além de apresentar compostos efetivos contra células cancerígenas, como relatado na literatura, espera-se que a graviola possa ser uma alternativa complementar para o tratamento do câncer, assim como para sua prevenção.

PALAVRAS-CHAVE: *Annona muricata*; antioxidantes; compostos fenólicos.

1 INTRODUÇÃO

A incidência de câncer tem aumentado a cada ano, o que gera preocupações sobre a eficácia das opções de tratamento atuais. Isso fez com que os pacientes busquem por alternativas para complementar ou substituir tratamentos como cirurgia, quimioterapia e radioterapia. A planta *Annona muricata*, conhecida como graviola, e outras plantas têm demonstrado apresentar compostos promissores que podem ser utilizados no tratamento de câncer (YAJID et al., 2018).

A graviola (*Annona muricata* L.) é uma fruta tropical originária da América tropical, principalmente das Antilhas e da América Central, e muito cultivada nos países de clima tropical, inclusive no Brasil (VIEIRA, 2010). A *Annona muricata* L. pertence à família Annonaceae, que possui cerca de 130 gêneros e 2300 espécies (MOGHADAMTOUSI et al., 2015). No entanto, apenas quatro gêneros produzem frutos comestíveis: *Annona*, *Rollinia*, *Uvaria* e *Asimina*. O *Annona* possui aproximadamente 60 espécies, sendo a graviola (*Annona muricata* L.) uma das mais importantes desse gênero (SILVA, GARCIA, 1999).

Como as demais anonáceas, a graviola é consumida como fruta fresca; mas é na forma de sorvete, suco e néctar que interessa ao mercado consumidor, sendo considerada fruta típica para a industrialização, pois sua polpa, de agradável aroma e rico sabor, não oxida como a das demais, conferindo-lhe vantagens nesse aspecto. O fruto imaturo pode ser consumido cozido, assado ou frito (SILVA, GARCIA, 1999). A fruta fresca apresenta 80% de água, 1% de proteína, 18% de carboidratos e pequena quantidade de vitaminas B, B2, C, além de potássio e fibra alimentar. Os principais constituintes da graviola, são as acetogeninas anonáceas, as quais podem ser isoladas a partir das folhas, raízes e cascas (IOANNIS, ANASTASIS, ANDREAS, 2015).

Estudos fitoquímicos demonstram que as acetogeninas, são os principais constituintes da graviola, sendo que uma das principais atividades biológicas apresentadas

por estes compostos é a toxicidade contra células cancerígenas (MOGHADAMTOUSI et al., 2015).

Estudos *in vitro* e *in vivo* recentes foram realizados com o extrato aquoso das folhas de *A. muricata* contra células de hiperplasia prostática benigna e próstata de ratos, sendo que após 2 meses de tratamento houve redução do tamanho da próstata, sugerindo que o extrato induziu apoptose (ASARE et al., 2015).

Desta forma, apesar destes estudos que relatam a toxicidade da graviola, vários estudos já relatados acima e outras pesquisas recentes como o estudo de Daddiouaissaa, Amidb, (2018), que relatam que pesquisadores identificaram compostos bioativos, como acetogeninas e polifenóis na polpa da graviola, que estão relacionados a prevenção de diferentes patologias, incluindo neurodegeneração, diabetes, doenças cardiovasculares e antiinflamatórias, sendo que atualmente, a atenção está sendo focada nas propriedades anticancerígenas das acetogeninas que são os principais compostos bioativos encontrados no fruto. Desta forma, estudos da atividade anticancerígena da graviola assim como da sua toxicidade são necessários.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Primeiramente, serão adquiridas as folhas da graviola. Após, a planta será processada e serão realizadas as seguintes análises:

Teor de umidade

O conteúdo de umidade será determinado pelo método gravimétrico, baseando-se na perda de peso do material submetido ao aquecimento em estufa à 105°C até peso constante.

Quantificação de fenólicos totais

Para quantificar os fenólicos totais, material vegetal seco (0,25 g) será triturado em 5,0 mL de HCl 2 M e transferidos para tubos de vidro com tampa de rosca. As amostras serão fervidas durante 30 min seguidas de resfriamento em água durante 5 min. Após filtração através de um papel Whatman®, 2,5 mL de amostras diluídas adequadamente serão misturadas com 350 µL de carbonato de sódio a 1,9 M mais 125 µL de reagente de fenol Folin-Ciocalteu. A reação será mantida no escuro por 1 h. A absorbância será lida a 750 nm, contra água deionizada como branco. O conteúdo total de compostos fenólicos será calculado a partir de um coeficiente de extinção molar (ϵ) de 13,665 mM cm⁻¹, obtido a partir de uma curva padrão de ácido ferúlico (Sigma-Aldrich®, número de produto 128708). Os resultados serão expressos em mg de fenólicos totais g⁻¹ de peso seco.

Determinação do teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides será verificado pelo método colorimétrico de cloreto de alumínio. A quercetina (composto flavonoide padrão) será usada para construir uma curva de calibração padrão. O conteúdo de flavonoides será expresso como equivalente de quercetina (µg g⁻¹ de massa seca).

Determinação do teor de proteínas

A análise de proteína será realizada por destilação pelo método analítico de Kjeldahl no aparelho de destilação de nitrogênio. Pesará aproximadamente 0,2 g de amostra, 0,5 g de mistura catalítica (tartarato duplo de Na e K + CuSO₄) e será acrescentada juntamente com as amostras 3 mL de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) P.A. no tubo de Kjeldahl. A mistura será levada para a digestão ácida à 400°C em bloco digestor por aproximadamente 30 minutos,

para que ocorra a digestão total da solução em NH_3 (amônia), com o tubo de Kjeldahl acoplado ao aparelho de destilação de nitrogênio adicionando-se quantidade suficiente de NaOH a 60% para neutralização da solução, saturando-a até a mudança de coloração. Então ocorrerá o desprendimento de NH_3 (amônia), que será recolhida em um erlenmeyer contendo 20 mL de H_3BO_3 (ácido bórico) e 2 gotas do indicador vermelho de metila, processo este chamado de destilação, que por diferenças de temperatura a amônia presente no tubo será desprendida pelo aparelho até o erlenmeyer, podendo-se visualizar a mudança de coloração. Após esse processo de destilação, a solução presente no erlenmeyer será titulado com HCl (ácido clorídrico) para então quantificar o N_2 (nitrogênio) e calcular a porcentagem total de proteínas presentes nas amostras. Os valores gastos de HCl serão utilizados para calcular o teor de nitrogênio em proteína através do fator de correção de 5,75.

Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante da graviola será avaliada através do ensaio sequestrante de radical DPPH. Uma solução de DPPH (0,87mM) em metanol será preparada diariamente antes do uso. A partir da solução estoque na concentração de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em metanol serão realizadas 6 diluições para obter concentrações dentro da faixa linear do extrato.

Uma alíquota (3 mL) de solução amostra será misturada com 300 μL de solução de DPPH e, em seguida, deixada durante 30 min em temperatura ambiente no escuro. A absorbância das soluções resultantes será medida em 517 nm contra um branco (3 mL de solução amostra e 300 μL de metanol) usando um espectrofotômetro. A análise será realizada em triplicata. Uma solução metanólica contendo 3 mL de metanol e 300 μL da solução de DPPH será usada como controle negativo. A solução metanólica de BHT (1-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) será usada como controle positivo. A atividade sequestrante de radical DPPH (%) será calculada usando a seguinte equação:

$$\text{Atividade sequestrante (\%)} = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] \times 100$$

onde Abs_0 é a absorbância do controle negativo, e Abs_1 é a absorbância na presença do composto teste (extrato / BHT) em diferentes concentrações.

A capacidade sequestrante do extrato é expressa como o valor CE_{50} , que é a concentração da amostra que é requerida para sequestrar 50% dos radicais livres DPPH. Os valores CE_{50} serão calculados usando regressão linear de gráficos, em que a ordenada representa a atividade sequestrante (%), e a abscissa representa a concentração do extrato da graviola.

As análises serão realizadas em triplicata, e posteriormente os dados serão tabulados e analisados através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando-se um nível de significância de 5%, através do programa estatístico Sisvar.

3 RESULTADOS ESPERADOS

Como a graviola apresenta compostos que apresentam ação antioxidante, além de apresentar compostos efetivos contra células cancerígenas, como relatado na literatura, espera-se que a graviola possa ser uma alternativa complementar para o tratamento do câncer, assim como para sua prevenção.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os antioxidantes naturais encontrados em diversas plantas, como na graviola, podem ser usados na prevenção de inúmeras doenças, incluindo ação preventiva contra o câncer. Além disso, os antioxidantes naturais apresentam baixa toxicidade em relação aos

antioxidantes sintéticos. Considerando a composição química da graviola, como acetogeninas e compostos fenólicos, os quais apresentam ações terapêuticas importantes tanto para a prevenção como para o tratamento do câncer, torna-se importante o estudo da graviola.

Além disso, é alta a incidência do câncer e as terapias tradicionais como a quimioterapia e radioterapia, são altamente tóxicas com vários efeitos colaterais que afetam a qualidade de vida dos pacientes. Desta forma, novos medicamentos precisam ser desenvolvidos com substâncias bioativas naturais, como as encontradas na graviola, as quais não apresentam efeitos colaterais tóxicos e são ativas contra células cancerígenas.

REFERÊNCIAS

ASARE, G. A.; AFRIYIE, D.; NGALA, R. A.; ABUTIATE, H.; DOKU, D.; MAHMOOD, S. A.; RAHMAN, H. Antiproliferative activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. on the prostate, BPH-1 cells, and some target genes. *Integr. Cancer Ther.* v.14, p.65–74, 2015.

IOANNIS, P.; ANASTASIS, S.; ANDREAS, Y. Graviola: A systematic review of its anticancer properties. *American Journal of Cancer Prevention.* v. 3, n. 6, p. 128–131, 2015.

PEREIRA, R. C.; OLIVEIRA, M. T. R.; LEMOS, G. C. S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes - RJ. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, v.14, n.01, p.40-44, 2004.

SILVA, S. E. L.; GARCIA, T. B. *A cultura da gravioleira (Annona Muricata L.)*. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental (Embrapa), 19p. ,1999.

PEREIRA, R. C.; OLIVEIRA, M. T. R.; LEMOS, G. C. S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes - RJ. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, v.14, n.01, p.40-44, 2004.

YAJID, A.I., AB RAHMAN, H.S.; WONG, M.P.K.; ZAIN, W.Z.W. Potential benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. *The Malaysian journal of medical sciences*, v. 25, n. 1, p.5-15, 2018.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; FADAEINASAB, M.; NILKZAD, S.; MOHAN, G.; ALI, H.M.; KADIR, H. A. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins, and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 16, n.7, p.15625–15658, 2015.