



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JULIANA DE VASCONCELOS CERQUEIRA BRAZ

**ATIVIDADE ANTITUMORAL DE TERPENOS E MECANISMO DE AÇÃO DO
LIMONENO EM CÉLULAS TUMORAIS: UMA REVISÃO DE PATENTES, REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

**ARACAJU - SE
2020**

JULIANA DE VASCONCELOS CERQUEIRA BRAZ

**ATIVIDADE ANTITUMORAL DE TERPENOS E MECANISMO DE AÇÃO DO
LIMONENO EM CÉLULAS TUMORAIS: UMA REVISÃO DE PATENTES, REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Defesa de tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para conclusão do Doutorado em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dra. Mairim Russo Sefarini

**ARACAJU- SE
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE – BISAU

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Braz, Juliana de Vasconcelos Cerqueira

B827a Atividade antitumoral de terpenos e mecanismo de ação do limoneno em células tumorais: uma revisão de patentes, revisão sistemática e meta-análise / Juliana de Vasconcelos Cerqueira Braz ; orientador Mairim Russo Sefarini. – Aracaju, 2020.

69 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2020.

1. Câncer. 2. Limoneno. 3. Neoplasia. 4. Atividade antitumoral. 5. Revisão de patentes. 6. Revisão sistemática. 7. Metanálise. I. Sefarini, Mairim Russo, orient. II. Título.

CDU 616-006

JULIANA DE VASCONCELOS CERQUEIRA BRAZ

**ATIVIDADE ANTITUMORAL DE TERPENOS E MECANISMO DE AÇÃO DO
LIMONENO EM CÉLULAS TUMORAIS: UMA REVISÃO DE PATENTES, REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Defesa de Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Orientador: Prof. Dra. Mairim Russo Sefarini
Universidade Federal de Sergipe

Dra. Luiza Abrahão Frank – UFRGS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Jullyana de Souza Siqueira Quintans - UFS
Universidade Federal de Sergipe

Dra. Cristiani Bandero Walker- UFS
Universidade Federal de Sergipe

Dra. Grace Anne Azevedo Dória
Universidade Federal de Sergipe- HU/EBSERH

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a Deus, o autor e consumidor da minha fé, sem Ele não poderia ter chegado até aqui. Ao meu esposo e filha, pelo amor dedicado a mim em cada momento. Por acreditarem e me darem forças para esta caminhada. Aos meus pais meu respeito, meu amor e minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois Tu és o Deus que opera quando o homem diz: “Não dá”. E abre um caminho onde solução “não há”. Quando muitos pensaram que eu não conseguiria, que não havia solução, com Seu poder ilimitado mostrou o caminho para chegar até aqui, capacitou-me e hoje só posso agradecer pela sua eterna bondade.

Agradeço ao meu amor Gidel, que por sua insistência em acreditar em mim, impulsionou-me, confortou-me, alegrou-me, comemorou cada passo dado como uma vitória. Obrigada pela compreensão, amor dispensado e parceria para que conseguisse realizar o papel de mãe, esposa e doutoranda. A você minha admiração, amor, carinho e gratidão.

Agradeço a minha filha Ana Júlia, que dividiu pacientemente a mamãe com o computador e as mamadas. Filha você é meu incentivo e combustível para tudo nesta vida. Não lembro da minha vida antes de você existir, sou mais feliz e realizada pois tenho você e essa vitória também é sua.

Agradeço aos meus pais Jorge e Ana, que se esforçaram em me ajudar em cada etapa, que oraram, torceram e estiveram presentes sempre que possível e necessário. Amo vocês de maneira inexplicável, vocês também são participantes desta vitória.

Agradeço aos meus irmãos e irmãs que sempre torceram, incentivaram, oraram e estavam ali nos bastidores aguardando os momentos para aplaudir. A Daniele e Nívia que tiveram paciência de me ouvir e me acalmar quando precisei. Amo vocês meus irmãos.

Agradeço as minhas amigas Tatiana e Audrey que sempre me ajudavam quando requisitadas, seja na troca de ideias ou até mesmo leitura dos meus textos, ao ouvir e incentivar, torcer e comemorar por mim. A minha amiga que o doutorado me deu, Isabela Barros, esteve comigo todos esses anos. Foi maravilhoso ter você naquele primeiro dia de aula em que nos conhecemos, sua amizade e ajuda indispensável em cada etapa com certeza você é presente que Deus me deu. Amigas amo vocês, minha gratidão por tudo.

Ao grupo de Queimados do Left, que me acolheram quando precisei, e juntos conseguimos finalizar este trabalho. Em especial a Fernanda Oliveira, Fernanda Felipe, Heralizandra, Luana e Daniele que juntas se esforçaram para realizar as análises da revisão com toda dedicação que puderam dispensar. A vocês minha gratidão.

Aos meus alunos e ex-alunos queridos que sempre torceram e incentivaram nessa jornada de professora e doutoranda. Obrigada por cada palavra de incentivo e elogios, vocês são demais.

A Profa. Dra. Mairim Serafini que me acolheu quando precisei e esteve comigo todo esse caminho, nos altos e nos baixos momentos. Obrigada pela confiança e dedicação.

A Profa. Dra. Jullyana Quintans pelo seu apoio e carinho quando mais precisei.

A Profa. Dra. Paula Nunes pela ajuda, troca de ideias, incentivo e desabafos, pela sua amizade e carinho.

A todos que torceram, oraram e contribuíram direta ou indiretamente para a conquista deste sonho, minha gratidão e carinho.

CERQUEIRA-BRAZ, J. V. Atividade antitumoral de terpenos e mecanismo de ação do limoneno em células tumorais: uma revisão de patentes, revisão sistemática e meta-análise. 2020. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju.

RESUMO

O câncer é uma doença complexa de causa multifatorial, considerado um grande problema de saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo. Embora os tratamentos tenham evoluído significativamente, ainda existe uma busca constante por medicamentos mais eficazes. Diante disto, uma fonte importante para desenvolvimento de medicamentos são os Produtos Naturais (PN). A exemplo disto são os terpenos que demonstram atividade biológica contra o câncer, atuando durante a tumorigênese precoce, estágios carcinogênicos tardios, fase de invasão e metástase. Um terpeno bastante abundante na natureza e que demonstrou atividade anticâncer em estudos *in vivo* e *in vitro* foi o limoneno. No entanto, os mecanismos da atividade antitumoral do limoneno não são totalmente compreendidos. Assim, o objetivo do presente estudo é realizar uma revisão sistemática, metanálise da literatura e prospecção de patentes para avaliar a atividade antitumoral de terpenos e mecanismo de ação do limoneno. Para avaliar o desenvolvimento dos terpenos para atividade antitumoral, foi realizada uma busca de patentes de terpenos ou formulações a base de terpenos em bancos de dados especializados da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI) e Espacenet. Em paralelo uma revisão sistemática com meta-análise foi realizada para avaliar o mecanismo de ação do limoneno em células tumorais. Os resultados da revisão de patentes indicam a China e o Japão como os países que mais depositaram patentes de terpenos, três delas foram depositadas por indústria e apenas uma é comercializada. Embora exista grande interesse científico pelos terpenos, a indústria pouco tem investido nesta classe de produtos naturais para o câncer. Já a revisão sistemática indica que o mecanismo de ação utilizado pelo limoneno parece ser a indução de células à apoptose principalmente pela via mitocondrial, podendo também ativar outras vias de sinalização para apoptose. E a metanálise sugere que o limoneno atua principalmente na apoptose induzida pela regressão tumoral sendo, portanto, um produto natural promissor para uso no tratamento de vários tipos de câncer.

Palavras-chave: limoneno, câncer, neoplasia, atividade antitumoral, revisão de patentes, revisão sistemática, metanálise.

CERQUEIRA-BRAZ, J. V. Antitumor activity of terpenes and mechanism of action of limonene in tumor cells: a patent review, systematic review and meta-analysis. 2020. Thesis (Doctorate in Health Sciences) - Postgraduate studies in Health Sciences, Federal University of Sergipe, Aracaju.

ABSTRACT

Cancer is a complex disease of multifactorial cause, considered a major public health problem by the World Health Organization (WHO). One of the main causes of morbidity and mortality worldwide. Although treatments have evolved significantly, there is still a constant search for more effective drugs. An important source is Natural Products (PN). An example of this, terpenes demonstrate biological activity against cancer, acting during early tumorigenesis, late carcinogenic stages, invasion phase and metastasis. A terpene that is quite abundant in nature and has demonstrated anticancer activity in *in vivo* and *in vitro* studies was limonene. However, the mechanisms of limonene's antitumor activity are not fully understood. The aim of the present study is, therefore, to evaluate the antitumor activity of terpenes and the mechanism of action of limonene in tumor cells. To assess the development of terpenes for antitumor activity, a search for terpene patents or terpene formulations was carried out in specialized databases of the World Intellectual Property Organization (WIPO) and Espacenet. Of the total of the seven patents included in the review, China and Japan were the countries that filed the most, three of them were filed by industry and only one is commercialized. Although there is great scientific interest in terpenes, the industry has invested little in this class of natural cancer products. A systematic review with meta-analysis was used to assess the mechanism of action of limonene in tumor cells through a comprehensive systematic search using the Scopus, MEDLINE-PubMed, Web of Science and Science Direct databases, using the descriptors: "limonene ", "cancer ", "neoplasm ", "tumor ". The risk of bias was assessed and considered high, according to the Risk of Bias tool from SYRCLE (RoB). The mechanism of action used by limonene seems to be the induction of cells to apoptosis mainly by the mitochondrial pathway, and can also activate by other signaling pathways. The meta-analysis suggests that limonene acts mainly in apoptosis induced by tumor regression and is therefore a promising natural product for use in the treatment of various types of cancer.

Keywords: limonene, cancer, neoplasm, antitumoral activity, patent review, systematic review, metanalysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Patentes usadas para atividade antitumoral.....	57
Tabela 2. Características e qualidades metodológicas dos estudos incluídos <i>in vitro</i>.....	65
Tabela 3. Características e qualidades metodológicas dos estudos incluídos <i>in vivo</i>.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de crescimento celular.....	20
Figura 2. Distribuição de casos e óbitos pelos 10 principais tipos de câncer em 2018 para ambos os sexos.....	21
Figura3. Distribuição proporcional do total de mortes pelas topografias selecionadas*, segundo localização primária do tumor, homens e mulheres, Brasil, período 1999-2003 e período 2014-2018.....	22
Figura 4. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*.....	23
Figura 5. Fluxograma das patentes selecionadas.....	31
Figura 6. Número de pedidos de patentes por ano, resultantes da pesquisa com as palavras-chave 'terpeno' e com classificação internacional de patentes: A61P = atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais (bancos de dados Espacenet e WIPO, dezembro de 2019).	57
Figura 7. Número de patentes depositadas po países.....	58
Figura 8. Classificação Internacional de Patentes (IPC) - subclasse.....	58
Figura 9: Diagrama de fluxo para pesquisa e triagem de literatura.....	61
Figura 10. Meta-análise da determinação do índice apoptótico - Limoneno versus grupo controle.....	63
Figura 11. Meta-análise da avaliação da regressão tumoral - Limoneno versus grupo controle.....	64
Figura 12. Gráfico de risco de viés: analise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés apresentado como porcentagem em todos os estudos incluídos.....	70
Figura 13. Resumo do risco de viés: analise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés para cada estudo incluído.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS

Brometo de MTT- 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio, ensaio colorimétrico;
iNOS- Óxido nítrico sintase;
Akt-serina / treonina-proteína quinase (um membro da via PI3K);
NO- Óxido nítrico;
MCF-7 - linha celular de câncer de mama da Michigan Cancer Foundation-7;
Linha celular de câncer de mama MDA-MB-23 Anderson Metastasis;
LS174T- linhas celulares colorretais;
BW 5147 - linhas celulares de linfoma;
5-FU (5- fluorouracil);
DMBA-7,12-dimetilbenz (a) antraceno;
NMU-N-metil-N-nitrosourea;
COx-2- cicloxigenase-2;
NDEA-N-nitrosodietilamina;
Proteína K-ras;
TGF- β 1- Fator de crescimento transformador beta 1;
c-Ha-ras- proto-oncogene 21 proteínas;
Ras (quinase regulada por sinal extracelular);
Raf (proteína serina / treonina quinase);
ERK1 (quinase regulada por sinal extracelular);
BGC-823 Linha celular de cancro - humano gástrico;
A549 - linha celular epitelial basal alveolar humana adenocarcinica;
H1299 - linha celular de carcinoma de pulmão humano;
c-jun e c-myc (proto-oncogenes);
M6P / IGF-IIR-manose 6-fosfato / receptor de fator de crescimento semelhante à insulina-II;
mensageiro de mRNA- ácido ribonucleico;
AKR - modelo de estirpe albino de rato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Câncer	19
2.2 Tratamento para o câncer.....	23
2.3 Quimioterápicos derivados de plantas.....	24
2.4 Terpenos e limoneno	25
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos	28
4 MÉTODOS	30
4.1 Revisão de Patentes	30
4.2.1 Estratégia de pesquisa.....	32
4.2.2 Seleção do Estudo	32
4.2.3 Extração de dados e avaliação de risco de viés.....	32
4.2.4 Síntese de dados	33
5 CAPÍTULO I	57
5.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA REVISÃO DE PATENTES.....	57
5.2 CONCLUSÃO	60
6 CAPÍTULO II	61
6.1 RESULTADOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE	61
6.2 DISCUSSÃO	71
6.3 CONCLUSÃO ARTIGO II	74
7 DISCUSSÃO GERAL	75
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
REFERÊNCIAS	77
APÊNDICE A	86
APÊNDICE B	87

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença multifatorial complexa, as taxas de mortalidade variam entre países e seus diferentes tipos. Essas variações podem ser atribuídas a diferenças no estilo de vida, clima, ambiente, poluição, entre outros fatores (CHAUDHARY *et al.*, 2012; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). Esta doença é considerada um grande problema de saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma das principais causas de morbimortalidade em todas as faixas etárias (RUSSO, A. *et al.*, 2019; YUAN *et al.*, 2017). Em 2018, cerca de 18 milhões de pessoas em todo o mundo tiveram câncer e mais de 9 milhões foram á óbito. A OMS estima que em 2040 esses números possam dobrar. (FIDLER *et al.*, 2017).

Os tratamentos tradicionais para o câncer são a remoção cirúrgica, quimioterapia ou terapia hormonal e radioterapia. Esses agentes antineoplásicos são citotóxicos e causam ao paciente vários efeitos colaterais, como redução da formação de células sanguíneas, perda de cabelo, esterilidade e resistência a medicamentos, enfraquecendo a eficácia das terapias, impedindo o progresso do prognóstico do paciente, alto custo do tratamento e variabilidade na eficácia (Ateba *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2017). Para além disso, os agentes quimioterapêuticos levam a destruição de células de maneira inespecífica, incluindo células cancerígenas e não cancerígenas (ZEINELDIN, 2017).

Estudos sobre o câncer realizados nos últimos anos trouxeram uma compreensão mais clara da progressão e dos mecanismos de resistência e sobrevivência, contribuindo para o desenvolvimento de tratamentos. No entanto, a sua incidência continua a aumentar e as terapias existentes ainda são limitadas em termos de eficácia e tem efeitos colaterais significativos (CHEONG *et al.*, 2018).

Em razão disso, existe um grande interesse científico e farmacêutico na descoberta de novos agentes anticâncer. Os Produtos Naturais (PN) constituem fontes importantes de compostos para busca de novos tratamentos anticâncer (AMARAL *et al.*, 2015). Nesta perspectiva, na área antitumoral houve algumas aprovações significativas nos quase cinco anos a partir de 01 de janeiro de 2015 a 30SEP2019. No total 13 aprovações de drogas para tratamento do câncer, dentre eles vale destacar a aplidine um produto natural marinho, foi aprovado na Austrália no final de 2018 para o tratamento do mieloma múltiplo. Os demais medicamentos são derivados de produtos naturais, aprovados par o tratamento de vários tipos de câncer (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Várias classes de PN como os terpenos, demonstram atividade biológica e efeitos benéficos na saúde humana. Em particular, no caso do câncer, atuando durante a tumorigênese precoce, estágios carcinogênicos tardios, fase de invasão e metástase (BRAICU *et al.*, 2017). Os PN possuem uma ampla gama de características bioativas e são encontrados na maioria dos medicamentos atualmente disponíveis no mercado farmacêutico. Durante décadas, estudos *in vitro* e *in vivo* têm analisado compostos naturais e suas atividades antimicrobianas, antioxidantes, antiproliferativas e anticâncer a fim de estabelecer seu potencial terapêutico e seu uso no tratamento de doenças humanas (ASAMOTO *et al.*, 2002; CHANDER *et al.*, 1994; RUSSO, R. *et al.*, 2013).

Os terpenos (isoprenóides) possuem uma diversidade notável de estrutura, e podem constituir uma fonte muito importante ou até reservatório indispensável para quimioterápicos capazes de superar as lacunas dos tratamentos atuais (ATEBA *et al.*, 2018). Existem vários estudos que demonstraram o potencial dos terpenóides na prevenção e tratamento do câncer de mama (BISHAYEE *et al.*, 2011; RABI; BISHAYEE, 2009; YANG *et al.*, 2011).

Rabi e Bishayee estudaram os efeitos biológicos dos terpenóides dentre eles o d-limoneno, álcool perílico, retinol, ácido trans-retinóico, ácido oléico, ácido ursólico, caroteno e licopeno para quimioprevenção ao câncer de mama. Já Bishayee *et al.* (2011) examinaram o status e as perspectivas futuras que implicam a utilização de triterpenóides de origem vegetal e análogos semi-sintéticos como potencial quimiopreventivo e agentes terapêuticos contra cânceres humanos. Yang *et al.* (2011) destacaram possíveis alvos moleculares e propriedades biológicas dos terpenos, capazes de inibir a proliferação de células tumorais e induzir apoptose, no tratamento de câncer de mama e de próstata.

Uma classe de terpenos bastante estudada são os monoterpenos isolados de várias plantas medicinais são muito utilizados como medicamento tradicional no tratamento de diabetes, câncer, anti-hiperlipidêmico, hipertensão, inflamação, etc (RAVICHANDRAN *et al.*, 2018). Um monoterpeno de grande importância é o limoneno, um componente facilmente encontrado no óleo de casca de citrus e de outros óleos. Seus metabólitos, álcool perílico e ácido perílico, são encontrados no plasma humano. Tanto o limoneno quanto seus metabólitos demonstraram atividade anticâncer, atribuído à sua capacidade de induzir apoptose em células cancerígenas (MUKHTAR *et al.*, 2018).

Uma das atividades estudadas do limoneno é a sua ação anticâncer (ASAMOTO *et al.*, 2002; ELEGBEDE *et al.*, 1986; JIRTLE; ARIAZI; GOULD, 1993). Sua ação anticâncer foi citada pela primeira vez na literatura por Homburger, Treger e Boger (1971), em uma análise

da inibição da carcinogênese por meio do uso de óleo à base de laranja, administrado por via subcutânea em ratos, demonstrando sua atividade inibitória em adenomas pulmonares.

Desde então, estudos analisaram a ação do limoneno em vários tipos de câncer, combinando-o com outros componentes ou apenas de forma isolada. Como exemplos, Haag *et al.* (1992) analisaram a ação do limoneno na regressão do câncer de mama; Gould *et al.* (1994) estudaram sua capacidade de prevenir o câncer de mama; Giri *et al.* (1999) analisaram a ação do limoneno na hepatocarcinogênese e observaram que produzia apoptose em células humanas com leucemia. Em estudo mais recente os autores avaliaram a profileração de células de câncer de pulmão após tratamento com limoneno, e percebeu que o mesmo suprimiu o crescimento celular tanto *in vitro* como *in vivo* (YU *et al.*, 2018). No entanto, os mecanismos da atividade antiproliferativa, anticâncer e antineoplásica do limoneno não são totalmente compreendidos.

Diante do exposto, o presente estudo se justifica pela necessidade de busca de novos compostos com atividade anticâncer para o desenvolvimento de novas drogas terapêuticas com maior eficácia e menores efeitos colaterais para o paciente. Logo, o limoneno tem se mostrado como um potencial composto para atividade antineoplásica.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi buscar na literatura, por meio de uma revisão sistemática, estudos que demonstrassem a atividade antitumoral e elucidassem o mecanismo de ação do limoneno.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer

O câncer se trata de um grupo de doenças heterogêneas que pode afetar qualquer parte do corpo e possui muitos subtipos anatômicos e moleculares (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020), são intrigantes e assustadoras que vem acometendo seres vivos multicelulares há 200 milhões de anos. Estas doenças têm causa multifatorial e abrangente, compreendendo em uma ou mais mutações nas seqüências de DNA, resultando em anormalidades na fisiologia celular (BRAICU *et al.*, 2017; GILL; KUMAR; NAVGEET, 2016).

Essas células, chamadas cancerígenas, invadem e destroem outras células normais (SHAH *et al.*, 2013). Seu crescimento anormal no corpo pode levar a morte (BRANDÃO *et al.*, 2010). O câncer possui uma característica peculiar em que as próprias células do corpo são os agentes de destruição (HAUSMAN; HAUSMAN, 2019).

A proliferação e eliminação de células controlada é necessária para manter os processos fisiológicos de homeostase no organismo. A morte celular é essencial para este processo, que envolve dois mecanismos: morte celular programada e necrose. A morte celular programada se dá por um processo geneticamente programado de suicídio celular em resposta a sinais específicos, sendo que a apoptose celular é um tipo de morte celular programada. Normalmente controlada por uma variedade de sinais extra e intracelulares, a morte celular programada se diferencia da necrose por possuir características morfológicas em que mantem a homeostase do tecido. A necrose pode ocorrer durante várias doenças incluindo câncer, processo não controlado que geralmente é iniciado por certos estímulos como trauma físico ou tóxico (JAN; CHAUDHRY, 2019).

No caso das células cancerígenas que possuem alguma alteração genética esse crescimento não é controlado, resultando em uma massa anormal no tecido, provocado por esse crescimento (Figura 1). Seu desenvolvimento é quase autônomo e o seu crescimento persiste mesmo após ter cessado os estímulos que provocaram a alteração genética. Esta massa anormal é denominada de neoplasias que na prática, são conhecidos como tumores (BRASIL, 2018).

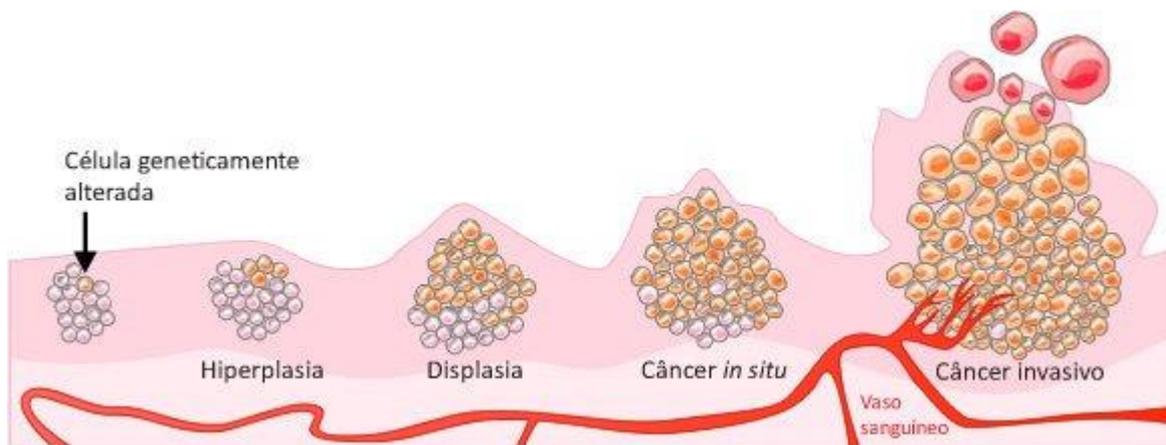


Figura 1. Tipos de crescimento celular.

Fonte: ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.

As neoplasias malignas podem ser divididas em carcinoma *in situ* (câncer não invasivo) e o câncer invasivo. O carcinoma *in situ* é considerado o primeiro estágio, localizado e restrito ao tecido de origem, sendo um tipo de câncer que em sua maioria é curável quando tratado precocemente (figura 1). Esta classificação não se aplica para cânceres do sistema sanguíneo (BRASIL, 2018).

Já o câncer invasivo, como o nome já diz, as células cancerígenas já invadiram outras camadas do tecido ou órgão de origem, vão para a corrente sanguínea ou linfática e adquirem a capacidade de disseminar para outras partes do corpo. Esta capacidade de invadir e se disseminar formando novos focos fora do local de origem é uma característica do câncer, sendo chamados de metástase (BRASIL, 2018).

Esse processo de invasão e, conseqüente, disseminação possui várias etapas, impulsionadas por alterações genéticas, epigenéticas e até mesmo ambientais em que as funções biológicas são distorcidas resultando em um carcinoma invasivo. Essas malignidades e suas conseqüências trazem problemas e preocupações para saúde do indivíduo (JABIR *et al.*, 2018). Embora seja uma doença que pode afetar pessoas em diferentes faixas etárias, o risco aumenta com o aumento da idade para vários tipos de câncer (FIDLER *et al.*, 2017).

Os tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células geneticamente alteradas, como o carcinoma que tem início em tecidos epiteliais (pele ou mucosas) e o sarcoma que se inicia em tecidos conjuntivos (ossos, músculo ou cartilagem) (BRANDÃO *et al.*, 2010). O câncer diagnosticado com mais frequência é o câncer de pulmão, seguido pelo câncer de mama feminino e câncer colorretal, variando entre os países, por exemplo, o câncer de colo de útero

e Sarcoma de Kaposi, muito mais comum nos países com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) baixo, do que nos países com IDH alto (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

É a segunda principal causa de morte no mundo (AVGERINOS *et al.*, 2019). Somente em 2018 cerca de 18 milhões de pessoas tiveram câncer e 9,6 milhões morreram da doença (figura 2), sendo responsável por cerca de 30% de todas as mortes prematuras por Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) entre adultos com idades entre 30 e 69 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

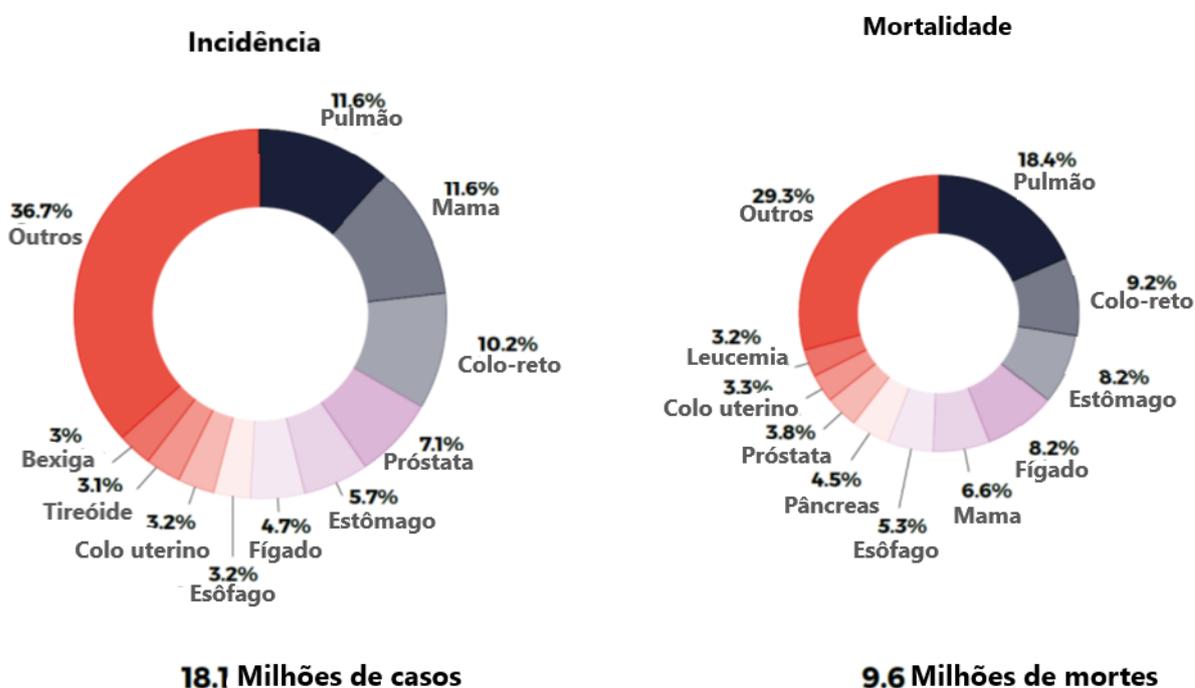


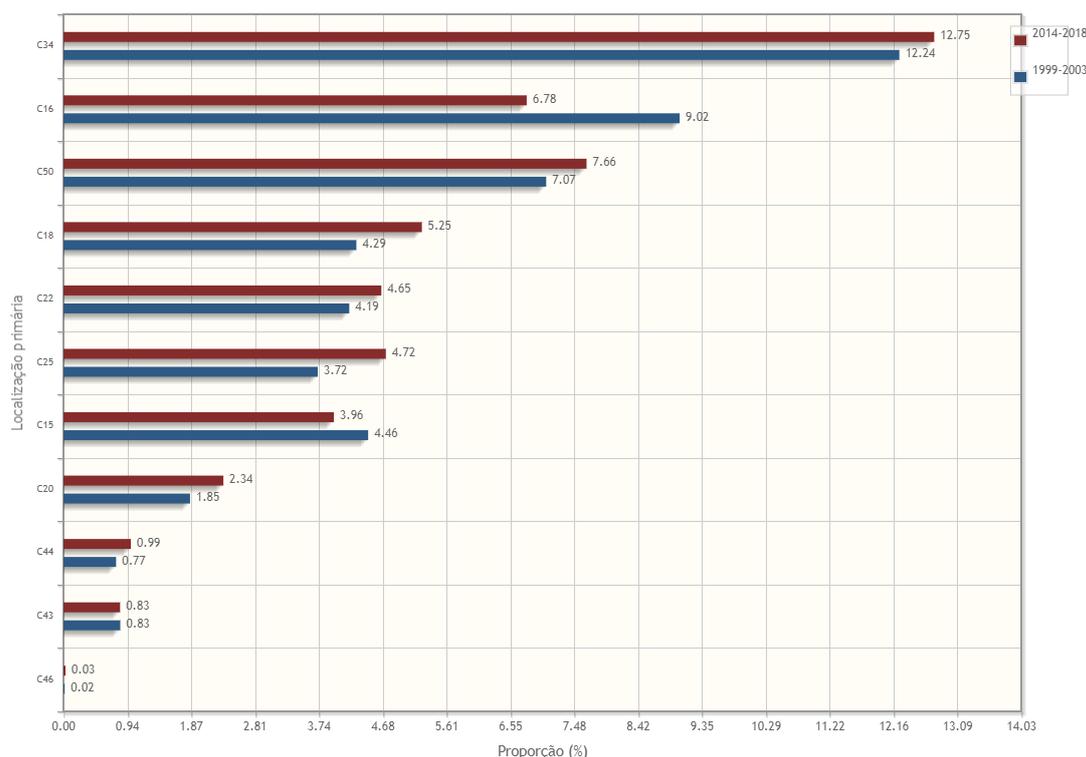
Figura 2. Distribuição de casos e óbitos pelos 10 principais tipos de câncer em 2018 para ambos os sexos.

Fonte: Adaptada de: WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. Geneva: World Health Organization; 2020.

Segundo o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), o Brasil tem uma estimativa de 625 mil novos casos de câncer para o triênio 2020-2022. Dessa estimativa, 177 mil são de câncer de pele não melanoma, 66 mil para de mama, 66 mil para de próstata, 41 mil para de cólon e reto, 30 mil para de pulmão e 21 mil para de estômago. Quanto a distribuição da incidência por regiões do Brasil, a região Sudeste é a que mais concentra casos, com incidência de 60%, seguida da Nordeste com mais de 27% e da Sul com mais de 23% (BRASIL, 2019).

De acordo com a Figura 3, a representação gráfica mostra que no Brasil, nos períodos de 1999 a 2003 e de 2014 a 2018, da distribuição proporcional de mortes por câncer, mais de 12% representaram casos de câncer de pulmão e de brônquios. Este tipo de câncer é um dos mais incidentes nas regiões Sul e Sudeste brasileiro assim como o câncer de mama e próstata (BRASIL, 2019).

Ainda sobre a estimativa de casos de câncer, a figura 4 mostra a representação por sexo dos dez tipos de câncer mais incidentes no Brasil para o ano de 2020. O câncer de próstata e de



mama são os mais incidentes entre homens e mulheres, respectivamente, sendo o de mama o tipo que mais levou a óbito mulheres em 2018, segundo dados divulgado pelo INCA (BRASIL, 2019).

Figura3. Distribuição proporcional do total de mortes pelas topografias selecionadas*, segundo localização primária do tumor, homens e mulheres, Brasil, período 1999-2003 e período 2014-2018.

*esôfago (C15), estômago (C16), colon (C18), reto (C20), fígado e vias biliares intra-hepáticas (C22), pâncreas(C25), brônquios e pulmões(C34), melanoma maligno da pele (C43), outras neoplasias malignas da pele (C44), sarcoma de kaposi (C46) e mama (C50). Fontes: MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade – SIM MP/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE MS/INCA/Conprev/Divisão de Vigilância.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens	Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e reto	20.520	9,1%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%

Figura 4. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*.

Fonte: Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva.

2.2 Tratamento para o câncer

O tratamento para o câncer vai depender do tipo e em que estágio se encontra. Não existe um método específico, várias opções podem ser utilizadas como a quimioterapia, cirurgia, radioterapia, terapia hormonal, imunoterapia ou até mesmo a combinação deles com o objetivo de obter o máximo de eficácia e sucesso com o tratamento (WANG; LEI; HAN, 2018; ZUGAZAGOITIA *et al.*, 2016).

Os graves efeitos colaterais dos tratamentos, quimioterapia e radioterapia, são responsáveis pelas altas taxas de mortalidade associadas ao câncer (SHAH *et al.*, 2013). A quimioterapia, principalmente, baseia-se na busca e destruição das células cancerígenas, contudo, pode levar também a destruição das células normais, causando graves efeitos colaterais como: diarreia, náuseas, vômitos, alopecia entre outros sintomas. Outra consequência dos efeitos colaterais é a suscetibilidade a outras infecções (BRANDÃO *et al.*, 2010; WANG; LEI; HAN, 2018).

Em vista disto, busca-se desenvolver um tratamento quimioterápico para o câncer com efeitos tóxicos mínimos ou inexistentes. E as plantas têm sido utilizadas há muitos anos pelo homem para tratamento de diversas doenças, inclusive o câncer. Consta-se que mais de 50% dos medicamentos atuais em uso clínico são originados de Produtos Naturais (PN) e muitos dos quais já têm capacidade comprovada de controle de células cancerígenas (SHAH *et al.*, 2013). Portanto, os PN têm sido utilizados para desenvolver medicamentos com mínimos efeitos colaterais, principalmente os derivados de plantas, que têm atraído o interesse de pesquisadores

assim como da indústria farmacêutica para explorar os diversos compostos naturais e suas atividade biológicas (ATEBA *et al.*, 2018; GILL; KUMAR; NAVGEET, 2016).

2.3 Quimioterápicos derivados de plantas

Há cada vez mais argumentos para revisar produtos naturais em busca de novos compostos para novas drogas. Historicamente, os PN derivados de plantas e de animais foram fontes de muitos medicamentos, e recentemente entraram para os ensaios clínicos como agentes antineoplásicos e antimicrobianos. Dos medicamentos aprovados entre 1981 e 2010 pela agência americana de alimentos e medicamentos (*Food and Drug Administration*), 34% dos medicamentos de pequenas moléculas tinham como fonte produtos naturais ou derivados dos mesmos (HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015).

Os esforços para descoberta dos compostos terapêuticos anti-câncer originados de plantas vêm desde a década de 1950, o que levaram à descoberta de diversos medicamentos antineoplásicos. Atualmente, fitoquímicos encontrados em plantas de regiões tropicais e subtropicais são estudados por suas propriedades potenciais antineoplásicas (CHEN *et al.*, 2017). Exemplo disto são os alcaloides vimblastina e vincristina, compostos isolados da *Catharanthus roseus*, popularmente conhecida como Vinca, atualmente utilizados no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil (UNNATI *et al.*, 2013).

Outras descobertas importantes na área foram realizadas, o que fomentou o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (*National Cancer Institute* - NCI) a realizar uma triagem de possíveis agentes antitumorais de origem vegetal. Dentro desta investigação foi descoberto o paclitaxel, composto isolado da casca do teixo (*Taxus baccata* L. e *Taxus brevifolia* Nutt.). Em 1971 os estudos revelaram sua capacidade de regredir câncer de mama e ovário, e a resistência à terapia tradicional (ATEBA *et al.*, 2018; BRANDÃO *et al.*, 2010; SHAH *et al.*, 2013).

Estas descobertas são de grande importância na luta contra o câncer, comprovadas pelo grande número de medicamentos de origem natural no mercado farmacêutico, os quais são extraídos de diversas fontes e amplamente estudados pelos grupos de pesquisas e indústria, buscando novas perspectivas para obtenção de novos compostos quimioterápicos mais potentes,

seletivos e que causam menores efeitos colaterais (SOUZA, M. V. N.; GONÇALVES, R. S. B.; PINHEIRO, A. C.; FERREIRA, C., 2007).

Pesquisas pré-clínicas e clínicas na oncologia demonstraram que substâncias de origem vegetal, sendo elas administradas tanto como alimentos integrais como compostos isolados, tem efeito sobre todos os estágios do câncer (BRAICU *et al.*, 2017).

Os metabólitos secundários também chamados de Fitoquímicos, são compostos químicos provenientes de plantas, que são sintetizados como sistema de defesa e responsável pela cor, sabor e aromas dos diversos vegetais. Eles já foram bem documentados como moléculas que possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e imunomodulatória significativa em modelo *in vitro* e *in vivo*. Comprovou-se também que muitas destas moléculas regulam o ciclo celular, a morte celular programada, a angiogênese e a atividade de células tronco no tecido cancerígeno, podendo suprimir o crescimento acelerado de células cancerígenas no corpo (BRAICU *et al.*, 2017; KUBATKA *et al.*, 2020).

A atividade antitumoral pode ser encontrada em compostos que possuem uma variedade de grupos, como isoprenoides (incluindo terpenóides e carotenóides), macrólidos policetídeos, antraciclina, indolocarbazóis e enedinas. Estes grupos agem através de diversos mecanismos como efeito antioxidante, indução de apoptose, parada do ciclo celular. Desde a descoberta desses grupos com atividade antitumoral, os produtos naturais têm contribuído para uma parte significativa da terapia anticâncer (CHEONG *et al.*, 2018).

2.4 Terpenos e limoneno

Nesse contexto, os terpenóides/terpenos são compostos da unidade básica isopreno (C₅H₈), classificados em monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides e tetraterpenóides, conforme o número de monômeros ligados (GILL; KUMAR; NAVGEET, 2016), realizando atividade anti-inflamatória, antitumorígenica e hipolipidêmica (ŚLEDZIŃSKI *et al.*, 2018; SOELBERG; DAVIS; JAGER, 2016; XU; ARTHURTON; BAENA-LOPEZ, 2018). Por exemplo, o paclitaxel (Taxol®), aprovado em 1993, é um diterpeno extraído da *Taxus brevifolia*, e introduziu os terpenos no mercado de drogas anticâncer (ATEBA *et al.*, 2018).

O D-limoneno (4-isopropenil-1-methylcyclohexene) é um monoterpeno monocíclico, principal composto de óleos essenciais cítricos encontrados em frutas como limão e laranja, possui atividade descrita na literatura como antitumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana,

antiparasitária, larvicida, antifúngica e antioxidante (FERRARINI *et al.*, 2008; JUNIOR *et al.*, 2009; MENEZES *et al.*, 2016; SANTANA *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2010; VELÁZQUEZ-NUÑEZ *et al.*, 2013).

Considerado como um dos terpenos mais comuns da natureza, o limoneno e seus metabólitos têm demonstrado numerosos efeitos bioquímicos como agentes quimioterápicos. São reconhecidos como agentes anticâncer devido à sua capacidade de induzir apoptose por regulação positiva de fatores pró-apoptóticos e regulação negativa de fatores anti-apoptóticos (MUKHTAR *et al.*, 2018).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Realizar uma revisão sistemática, metanálise da literatura e prospecção de patentes para avaliar a atividade antitumoral de terpenos e mecanismo de ação do limoneno.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão de patentes para avaliar o desenvolvimento do uso de terpenos ou formulações com terpenos para o tratamento de vários tipos de câncer;
- Realizar uma revisão sistemática seguida de metanálise para avaliar a atividade antitumoral do limoneno;

MATERIAL E MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 Revisão de Patentes

O presente estudo trata da busca de patentes de terpenos que tragam possibilidades de tratamentos inovadores para o câncer. Para isso, foi utilizado o descritor 'terpeno' e o código A61P da Classificação Internacional de Patentes (IPC), que indica atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais.

A busca foi realizada nas bases de dados da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (OMPI/WIPO sigla em inglês) e ESPACENET (banco de dados gratuito de patentes), para patentes registradas até o ano de 2019. O maior número de patentes foi encontrado no ESPACENET (483), seguido pelo banco de dados da OMPI (118), totalizando assim 601 patentes. As patentes encontradas foram depositadas em um período entre 1970 e 2019. Todas as patentes foram devidamente listadas e classificadas em uma planilha de acordo com o ano de publicação e o país de origem.

Como critério de inclusão, selecionou-se patentes publicadas até 2019, que descreveram ensaios pré-clínicos e/ou clínicos sobre o efeito antitumoral de terpenos, assim como aquelas escritas em qualquer idioma, uma vez que patentes relevantes foram escritas em chinês (45%) e japonês (28%). Como critérios de exclusão as patentes em que descreveram outros efeitos que não incluísse o antitumoral de terpenos e que não descrevessem os experimentos realizados para arfirmar a atividade antitumoral.

Assim, as próximas etapas foram excluir patentes duplicadas (91) e aquelas que não tratavam de atividade antitumoral após a leitura de títulos e resumos (476). Posteriormente, utilizou-se a ferramenta de tradução da plataforma ESPACENET para possibilitar a leitura completa das patentes, traduzindo os textos de chinês e japonês para o inglês, resultando em 34 patentes para a leitura completa.

Após a leitura completa, foram excluídas 27 patentes que não descreviam os testes realizados para demonstrar a atividade antitumoral do composto ou formulação, resultando ao final em 7 patentes selecionadas (Figura 5).

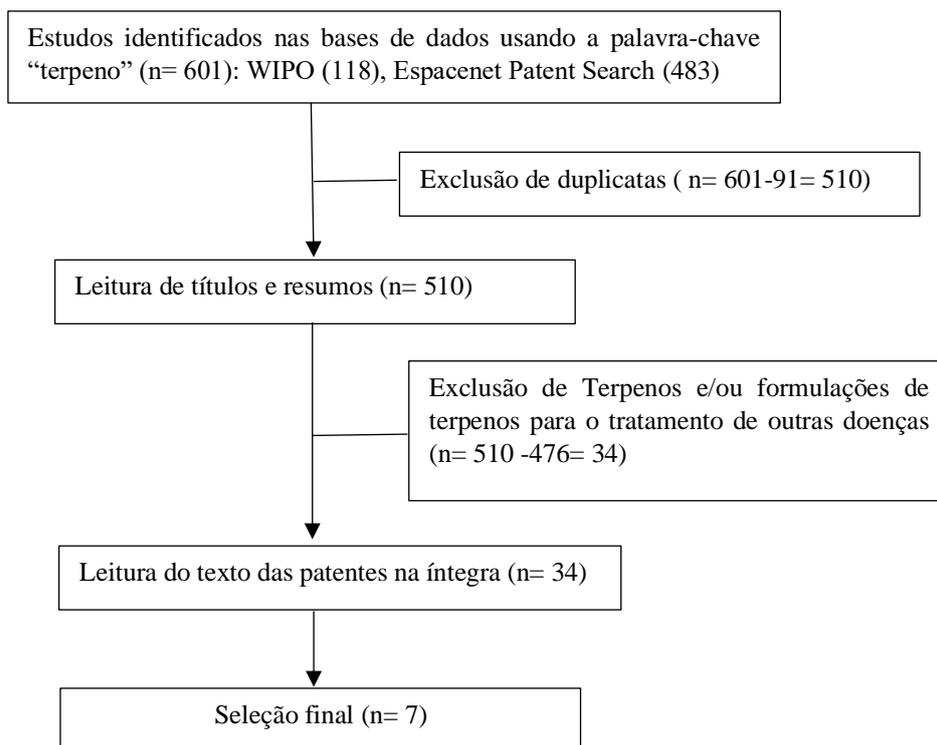


Figura 5. Fluxograma das patentes selecionadas.

4.2 Revisão sistemática e Metanálise

Este estudo foi conduzido seguindo a declaração Itens Preferidos para Relatórios para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (PRISMA-www.prisma-statement.org) e complementada por orientações do Cochrane Collaboration Handbook, versão 5.2, e pela Abordagem Colaborativa para Meta-Análise e Revisão de Dados de Estudos Experimentais em Animal (CAMARADES).

A questão de pesquisa foi elaborada utilizando a estratégia PICO, onde: P - população, paciente ou problema, I - fenômeno de interesse ou intervenção, C - contexto ou comparação e O - resultado. Essa estratégia foi utilizada para permitir a resolução da questão da pesquisa clínica e otimizar a recuperação de evidências das bases de dados. Neste estudo, a pergunta foi: "Como ocorre a atividade antitumoral ou antineoplásica do limoneno?" De acordo com os critérios: P – células ou tumores de câncer; I – uso do limoneno; C – placebo ou padrão ouro; O - Atividade antitumoral ou antineoplásica do limoneno.

4.2.1 Estratégia de pesquisa

Quatro bancos de dados foram utilizados para buscar artigos apropriados que cumprissem o objetivo deste estudo. Os bancos incluídos foram a Biblioteca Nacional de Medicina (MEDLINE-PubMed), Web of Science, Scopus e Science Direct. Foram utilizadas diferentes combinações de descritores segundo cada base de dado: "limoneno", "câncer", "neoplasia", "tumor". As buscas foram realizadas em estudos até dezembro de 2019. A estratégia de busca foi elaborada para identificar trabalhos sobre o uso do limoneno no tratamento do câncer.

As citações foram limitadas manualmente aos estudos com limoneno no tratamento do câncer. É importante mencionar que não houve contato com os pesquisadores incluídos nesta revisão para tentar identificar dados não publicados.

4.2.2 Seleção do Estudo

Todos os títulos de busca eletrônica, resumos selecionados e artigos de texto completo foram revisados independentemente por um mínimo de dois revisores (J.F.C.B., F.O.C., D.V.C.M., F.A.F.C. e H.S.R.S.). Discordâncias sobre os artigos foram resolvidas por consenso. Os seguintes critérios de inclusão foram aplicados: estudos sobre o uso de limoneno no tratamento do câncer. Os estudos foram excluídos de acordo com os seguintes critérios: não usar limoneno sozinho; estudos que avaliaram outra ação do limoneno além dos efeitos antitumorais; artigos de revisão; meta-análises; resumos; anais de conferências; editoriais / cartas; relatos de casos.

4.2.3 Extração de dados e avaliação de risco de viés

Os dados foram extraídos por um revisor usando formulários padronizados e verificados por um segundo revisor. As seguintes informações foram extraídas de todos os estudos: desenho do estudo; modelo estudado - *in vitro* ou *in vivo*; mecanismo de ação; célula cancerígena; Origem e dose de limoneno; Método de avaliação; Resultados principais; e conclusões.

O risco de viés foi avaliado usando a ferramenta de risco de viés da SYRCLE para estudos com animais. O risco de viés foi classificado como baixo, incerto ou alto.

4.2.4 Síntese de dados

Definiu-se os efeitos do tratamento como diferença média (DM) com intervalos de confiança de 95% (ICs). Média e desvio padrão (DP) foram obtidos para cada grupo de estudo e o resultado de interesse foi usado para calcular os tamanhos dos efeitos. O método DerSimonian e Laird foi utilizado para produzir um modelo de efeitos aleatórios, assumindo heterogeneidade nos estudos.

O método Florest plot foi usado para representar graficamente os tamanhos dos efeitos e o IC de 95%. Um teste bicaudal foi utilizado para determinar a significância estatística ($p < 0,05$). A heterogeneidade estatística foi avaliada pelo teste Cochran Q e quantificada pelo índice I^2 [14]. As análises foram realizadas usando o Review Manager 5.3 [15].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 CAPÍTULO I

5.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA REVISÃO DE PATENTES

As patentes encontradas durante a busca nas bases de dados foram devidamente listadas e classificadas de acordo com o ano de publicação, o país de origem e a Classificação Internacional de Patentes (CIP).

A análise temporal realizada revelou um aumento no número de pedidos de patentes relatando o uso de terpenos nos últimos 20 anos. Dentro desse intervalo, foi possível detectar uma diminuição no número de patentes registradas entre os anos 2000-2004, aumentando novamente o número de depósitos de patentes em 2005 nos documentos encontrados nesta pesquisa (Figura 6).

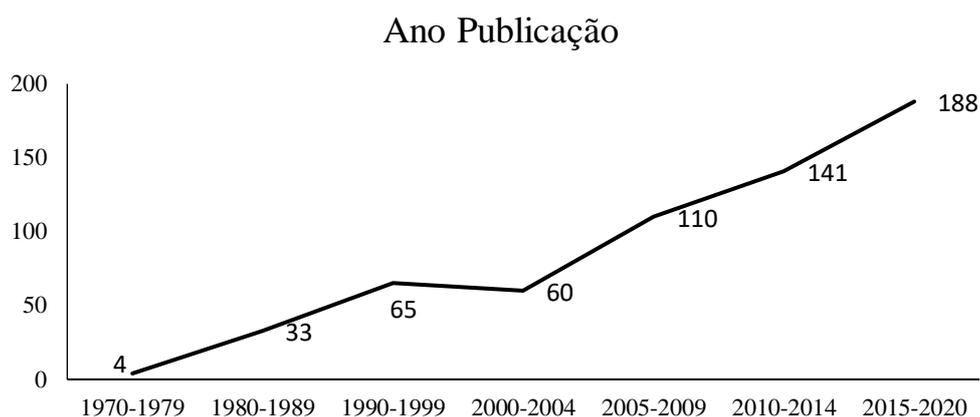


Figura 6. Número de pedidos de patentes por ano, resultantes da pesquisa com as palavras-chave 'terpeno' e com classificação internacional de patentes: A61P = atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais (bancos de dados Espacenet e WIPO, dezembro de 2019).

A revisão de Newman e Cragg (2020) apresenta uma análise temporal dos medicamentos anticâncer disponíveis no período 1981-2019. Seus resultados corroboram com os resultados desta revisão, pois os dados expostos demonstram uma ascensão no número de patentes anticâncer depositadas, principalmente a partir do período de 1990-1999.

Quando observados, o depósito de patentes por países percebe-se um crescimento desproporcional. O país com o maior número de patentes foi a China (215), seguida pelo Japão (135) e pelos Estados Unidos (35) (Figura 7). Embora o Brasil tenha uma das maiores diversidades biológicas do mundo, sua legislação não permite o registro de patentes relacionado ao todo ou parte de seres vivos naturais e materiais biológicos encontrados na natureza, ou ainda

que dela isolados, consoante estabelece o inciso IX, do artigo 10 da Lei 9.279, de 1996 (BRASIL, 1996).

Há uma tendência para países como Estados Unidos e China apresentarem mais depósitos de patentes, o que pode ser atribuído à situação econômica e aos investimentos em tecnologia na área de inovação, nos quais os dois países possuem cultura de propriedade intelectual em pesquisa tecnológica (ALVES *et al.*, 2019).

A incidência do número de pessoas com câncer aumenta, enquanto os recursos terapêuticos para esse objetivo ainda são limitados, principalmente quando se trata de eficácia, efeitos colaterais e resistência a medicamentos. Um dos desafios mais importantes no campo da oncologia é a falta de medicamentos antitumorais eficazes e capazes de superar a resistência aos medicamentos e a redução dos efeitos colaterais associados ao tratamento de muitos tipos de câncer (ATEBA *et al.*, 2018).

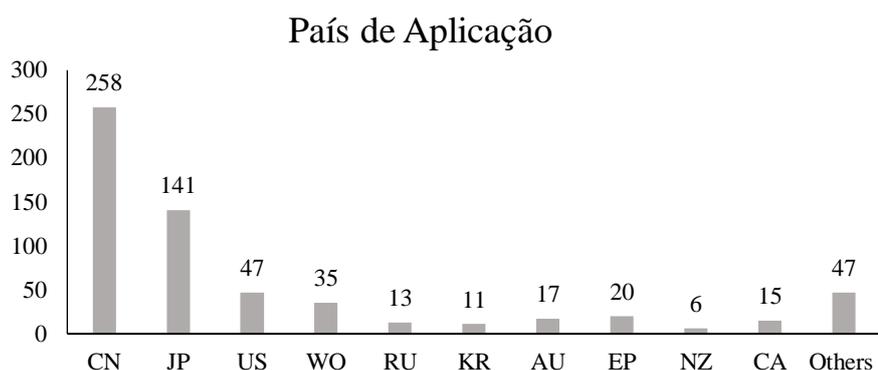


Figura 7. Número de patentes depositadas po países.

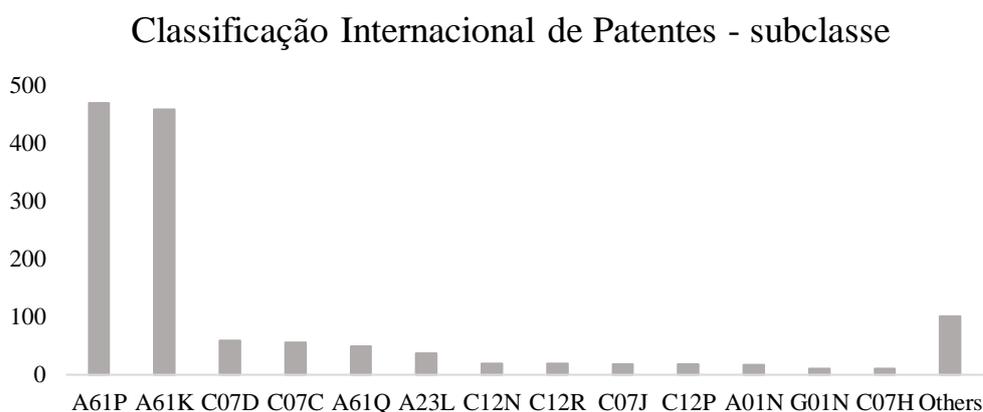


Figura 8. Classificação Internacional de Patentes (IPC) - subclasse.

As subclasses da IPC que tiveram mais destaques nessa pesquisa foram as A61P e A61k, conforme a Figura 8, e estão relacionadas com a atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais e preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas, respectivamente. É importante ressaltar que cada patente possui mais de uma classificação. Esse resultado confirma a aplicação de patentes candidatas ao desenvolvimento de novos produtos com aplicação na oncologia por exemplo.

A identificação de novos agentes antineoplásicos é importante devido ao aumento da morbimortalidade por câncer nos últimos anos, impulsionando na busca de novos compostos quimioterápicos (BLASCO-BENITO *et al.*, 2018). Diante disso, é evidente que a busca por novos compostos anticâncer naturais se tornou um foco importante para a melhoria da terapia do câncer (ATEBA *et al.*, 2018).

Assim, os terpenos são compostos comumente usados pela indústria farmacêutica como ingredientes ativos em medicamentos para o tratamento de várias doenças. Para o câncer temos o paclitaxel no mercado, um diterpeno. Já para a malária, a artemisinina ou precursores sintéticos (hecogenina), dentre outros (SILVA; CARVALHO; GUIMARÃES; S; *et al.*, 2019).

Nesta revisão, do total das sete patentes incluídas, duas foram depositadas no Japão e realizaram testes *in vitro* e *in vivo*. O restante (5) foi depositado na China e realizado testes *in vitro* (tabela 1). Embora a indústria seja a maior requerente de patentes, nesta análise, percebeu-se que apenas três delas foram depositadas por ela.

A primeira patente denominada avicilina (JP20140162970), desenvolvida por uma indústria farmacêutica, é uma mistura de terpenos dissolvidos em óleo de girassol. É uma composição oral composta de: sesterpenóides, monoterpénóides (3-6%), diterpenóides neutros (11-15%), ácido diterpênico (23-28%), ácido triterpênico (8-16%), compostos fenólicos (0,1-0,2%) e ácidos graxos insaturados e saturados (0,1-0,3%). Em relação aos terpenos totais, pelo menos 10% é composto de acetato de bornila, com a finalidade de induzir uma cascata de processos, desenvolvendo assim agentes antitumorais para o tratamento de doenças cancerígenas de várias origens.

A avicilina é comercializada pela Initium Pharma sob o nome de Abisil®, embora o site da indústria afirme que existem estudos que determinaram um amplo espectro de atividade farmacológica, incluindo atividade antitumoral. Contudo, não é comercializado para esse fim, mas para o tratamento de inflamações como úlceras tróficas e feridas sépticas cirúrgicas e pós-traumáticas a longo prazo, otite, sinusite, rinite, rinofaringite, faringite, amigdalite, pós-amigdalectomia, laringite, entre outras condições inflamatórias.

A composição farmacêutica da avicilina foi testada pela Initium Pharma nas concentrações entre 30 e 1000 µg/mL em linhas celulares (Jukart - leucemia linfoblástica de células T, Raji - leucimia de células B, K562 - leucemia mielóide crônica, U937 - leucemia mielocítica, Mel P - melanoma, T47D - câncer de mama, SKOV3 - câncer de ovário, PC3 - câncer de próstata), pelo ensaio colorimétrico de viabilidade celular por Brometo de MTT- 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio. Os dados experimentais indicam que a avicilina induz seletivamente a morte dessas células por um mecanismo do tipo apoptótico, aumentando significativamente a chance de sucesso da terapia antitumoral usando em combinação agentes antiangiogênicos (JP20140162970, 2014).

Assim, o método oral de administração da avicilina, com horário definido e forma de dosagem oral, inibe o processo angiogênico de progressão maligna e tem efeitos antirrecáida e anti-metastático. Nenhum sintoma de toxicidade foi observado com a administração da avicilina, demonstrando atividade antitumoral nas linhas celulares de tumor transplantável em camundongos, reduzindo assim a toxicidade da cisplatina quando combinada com a mesma.

Certamente já se sabe que análogos de platina, como cisplatina e carboplatina, estão entre agentes quimioterapêuticos com amplo espectro de atividade clínica em inúmeras neoplasias malignas (Dasari e Bernard Tchounwou, 2014). Embora ambos sejam parte integrante do manejo quimioterapêutico, a cisplatina é o padrão-ouro para uma variedade de neoplasias, pois é mais eficaz no tratamento de tipos de tumores específicos (HO; WOODWARD; COWARD, 2016).

Todavia, a cisplatina possui um perfil de toxicidade bem reconhecido, incluindo vômitos, disfunção renal, neurotoxicidade e ototoxicidade (HO; WOODWARD; COWARD, 2016). Da mesma forma que apresenta resistência intrínseca ou adquirida, limita severamente sua aplicação na clínica (ZHOU *et al.*, 2020).

Tabela 1. Patentes usadas para atividade antitumoral.

Número de Aplicação	Inventor/Companhia (País)	Ano	Formulação	Compostos	Mecanismo de ação	Testes	Status de desenvolvimento
JP20140162970	MAKSIMOVNA PINIGINA, NINA et al./ INITIUM PHARM (Japão)	2014	Abisil (nome comercial); Agente ativo: Abisil (Abies sibirica terpenos) com Acetato de Bornila contendo 10.0% – 20.0g Agente aditivo: óleo de girasol 100 g	Acetato de bornila e terpenoides	Indução do processo de inibição da angiogênese ou ativação do processo de apoptose endógena	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i>	Recusa
CN201010205334	BOWEN IFOR DELME; ALI AHMED YASINE /COMPTON DEVELOPMENTS LTD (China)	2010	Formulação de compostos terpenoides dos extratos de <i>Commiphora guidotti</i> e <i>Commiphora molmol</i> (mirra)	trans- β -ocimeno, γ -bisabolene and α -bisabolene	Indução de apoptose em células humanas de cancer	<i>In vitro</i>	Inativa
CN201410201914	ZHANG QIQING; CHEN L; HU XIAO; WANG BINGSHUAI/FUZHOU UNIVERSITY (China)	2014	Indole terpeno esperadina B derivado de <i>Aspergillus oryzae</i>	Indole terpeno esperadina B	boa atividade antitumoral na linha celular de câncer de colo uterino humano	<i>In vitro</i>	Ativa
CN201410201856	CHEN LI; HU XIAO; WANG BINGSHUAI; ZHANG QIQING/ FUZHOU UNIVERSITY (China)	2014	Indole terpeno esperadina E derivado de <i>Aspergillus oryzae</i>	indole terpeno esperadina E	boa atividade antitumoral na linha celular de câncer de colo uterino humano	<i>In vitro</i>	Ativa
CN201410202318	CHEN LI; HU XIAO; WANG BINGSHUAI; ZHANG QIQING/ FUZHOU UNIVERSITY (China)	2014	Indole terpeno esperadina F derivado de <i>Aspergillus oryzae</i>	indole terpeno esperadina F	boa atividade antitumoral na linha celular de leucemia promielocica humana HL-60	<i>In vitro</i>	Ativa
CN201410202192	CHEN LI; HU XIAO; WANG BINGSHUAI; ZHANG QIQING/ FUZHOU UNIVERSITY (China)	2014	Indole terpeno esperadina H derivado de <i>Aspergillus oryzae</i>	indole terpeno esperadina H	boa atividade antitumoral na linha celular de câncer de colo uterino humano e linha celular de leucemia K562	<i>In vitro</i>	Ativa
JP19970261106	KOMAKI HISAYUKI et al./ HIGETA SHOYU CO LTD (Japão)	1997	Formulação com o novo composto terpeno 0406TP-1 administrado via intraperitoneal	Novo composto 0406TP-1, <i>Nocardia brasiliensis</i> cepa IFM0406 (FERM BP-5498).	Agente antitumor, imunossupressor	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i>	Cancelada

O efeito terapêutico da administração oral ativa múltipla é atribuído à sinergia entre os terpenos que compõem a formulação. Além disso, o desenvolvimento da composição farmacêutica antitumoral tem um efeito antiangiogênico, aumenta a eficácia e diminui a resistência da cisplatina (JP20140162970, 2014).

Atualmente, a combinação entre agentes quimioterapêuticos e produtos naturais para tratar pacientes com câncer tornou-se de grande interesse. O objetivo de tais pesquisas é aumentar a sensibilidade e citotoxicidade do tratamento, diminuir a resistência ou diminuir os efeitos adversos e as complicações causadas pela quimioterapia (ATEBA *et al.*, 2018).

A segunda patente tem em sua fórmula compostos terpenóides obtidos a partir de extratos de *Commiphora guidotti* e *Commiphora molmol* (mirra) (CN201010205334, 2010). Ambos os extratos produzem níveis significativamente mais altos de apoptose nas células cancerígenas, isto significa que esses extratos têm atividade específica nas células tumorais em dosagens apropriadas.

A composição farmacêutica dessa patente pode ser administrada por via oral, parenteral ou em conjunto com outros medicamentos, agentes ou marcadores. Verificou-se que os terpenóides utilizados são trans- β -ocimeno, γ -bisaboleno ou α -bisaboleno presentes nos extratos de mirra funcionam como drogas anticâncer, induzindo apoptose *in vitro* em células cancerígenas humanas, como nas linhas celulares MM6 - leucemia de monócitos e A375 - melanoma da pele humana. Indicando também o uso do extrato de mirra na fabricação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de câncer.

Ainda no contexto de produtos naturais, temos aproximadamente 1,5 milhão de espécies de fungos na Terra, cerca de 100.000 espécies já foram descritas. Sendo uma fonte de descobertas de novos compostos atribuídos à sua biodiversidade, evidentemente não conhecemos todo o potencial biossintético desses organismos. O fungo *Aspergillus nidulans* foi estudado e é indicado como fonte promissora de novas estruturas e biomoléculas ativas (BLADT *et al.*, 2013).

As patentes identificadas como “CN201410201856, CN201410201914, CN201410202192, CN201410202318”, registradas em 2014, referem-se ao indole terpeno esperperina B, E, F e H derivado de *Aspergillus oryzae*, respectivamente. Os compostos têm o efeito de inibir a proliferação de células tumorais e possuem atividade antitumoral *in vitro*. *Aspergillus oryzae* foi cultivado por fermentação, em seguida, os compostos foram separados e purificados do material fermentado.

Experimentos *in vitro* confirmaram que os compostos têm atividade antitumoral nas linhas celulares hela de câncer de colo de útero humano, leucemia promielocítica humana HL-60 e linha celular K562 de leucemia humana. Os inventores indicam que podem ser preparados medicamentos inibidores da proliferação celular ou medicamentos antitumorais para pesquisa.

A invenção JP19970261106 refere-se a um novo composto 0406TP-1, que descreve seu método de produção e indicação de uso. Esse composto, não conhecido convencionalmente, foi isolado e coletado de uma cultura de um microorganismo denominado *Nocardia brasiliensis*, e sua excelente atividade fisiológica é relatada com efeitos antitumorais e imunossupressores. De acordo com os inventores, o composto teve a atividade antitumoral confirmada por testes *in vitro*, medindo citotoxicidade contra células tumorais de leucemia (P388), bem como testes *in vivo* medindo a taxa de sobrevivência dos camundongos nos quais as células de leucemia (P388) foram transplantados.

A atividade imunossupressora do composto 0406TP-1 foi determinada medindo a atividade inibitória da blastogênese em uma reação mista de linfócitos alogênicos de camundongo, bem como mensurando o efeito inibitório na indução de células T citotóxicas por imunização celular alogênica *in vivo* usando camundongos. Os inventores relataram que no grupo de camundongos que recebeu o composto 0406TP-1 não houve óbitos e o ganho de peso foi constante, enquanto o grupo controle que recebeu adriamicina apresentou óbitos e o ganho de peso foi menor. Com estes resultados, os inventores sugerem que o composto 0406TP-1 tem baixa toxicidade e é seguro para a fabricação de drogas para esses fins.

Tendo em vista das patentes incluídas nesta revisão, é importante observar que, embora os estudos farmacológicos *in vitro* sejam um passo primordial para aprender as primeiras informações sobre a atividade de extratos brutos, frações ou compostos isolados, eles não levam em consideração os processos farmacocinéticos. Por exemplo, alguns medicamentos são inativos *in vitro*, mas podem exibir atividade *in vivo* ou o inverso também pode ser verdadeiro. Assim, estudos *in vivo* são indispensáveis, proporcionando maior clareza e reflexão precisa da atividade dos produtos estudados (ATEBA *et al.*, 2018).

Para além disso, a necessidade de estudar novas terapias deve ser desenvolvida com estratégias contra a resistência quimioterapêutica das células cancerígenas. Assim, produtos naturais têm sido uma fonte para a busca de novos compostos a serem utilizados para prevenir ou tratar o câncer (YUAN *et al.*, 2017).

5.2 CONCLUSÃO

A importância dos produtos naturais no combate ao câncer vem se consolidando pelo número de medicamentos já comercializados de origem natural. E embora exista muitos artigos publicados sobre atividade antitumoral de terpenos, percebe-se que pouco se tem depositado nas bases internacionais de patentes. Isto pode ser explicado pelo fato de que para se desenvolver uma patente os estudos devem estar em etapas mais avançadas no processo de desenvolvimento de novos medicamentos, observa que a maioria dos estudos estão ainda em fase experimental. A indústria a mais interessada neste processo pouco tem investido nesta classe de produtos naturais para o câncer.

6 CAPÍTULO II

6.1 RESULTADOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

6.1.2 Seleção de Estudos

O processo seguido para a seleção dos artigos é mostrado na Figura 9. Foram identificados 3.568 artigos, com 2.449 estudos no Science Direct, 554 no Scopus, 381 no Web of science e 184 no PubMed. Após a exclusão de 497 artigos duplicados, os 3.071 títulos foram lidos e 126 artigos foram selecionados para leitura completa.

Após a exclusão de artigos não apresentados na íntegra, duplicatas, cartas ao leitor, estudos de caso ou aqueles cujo tema não incluísse o assunto desta revisão, restaram 11 artigos. Por fim, foram adicionados mais seis artigos, incluindo artigos identificados nas referências dos textos da pesquisa inicial, resultando na inclusão de 17 artigos na revisão (figura 9). Houve um alto nível de concordância em relação à inclusão / exclusão entre os dois pesquisadores que examinaram os artigos recuperados (índice Kappa > 80%). Vale ressaltar que não houve exclusão devido ao idioma, excluindo, portanto, o viés de idioma.

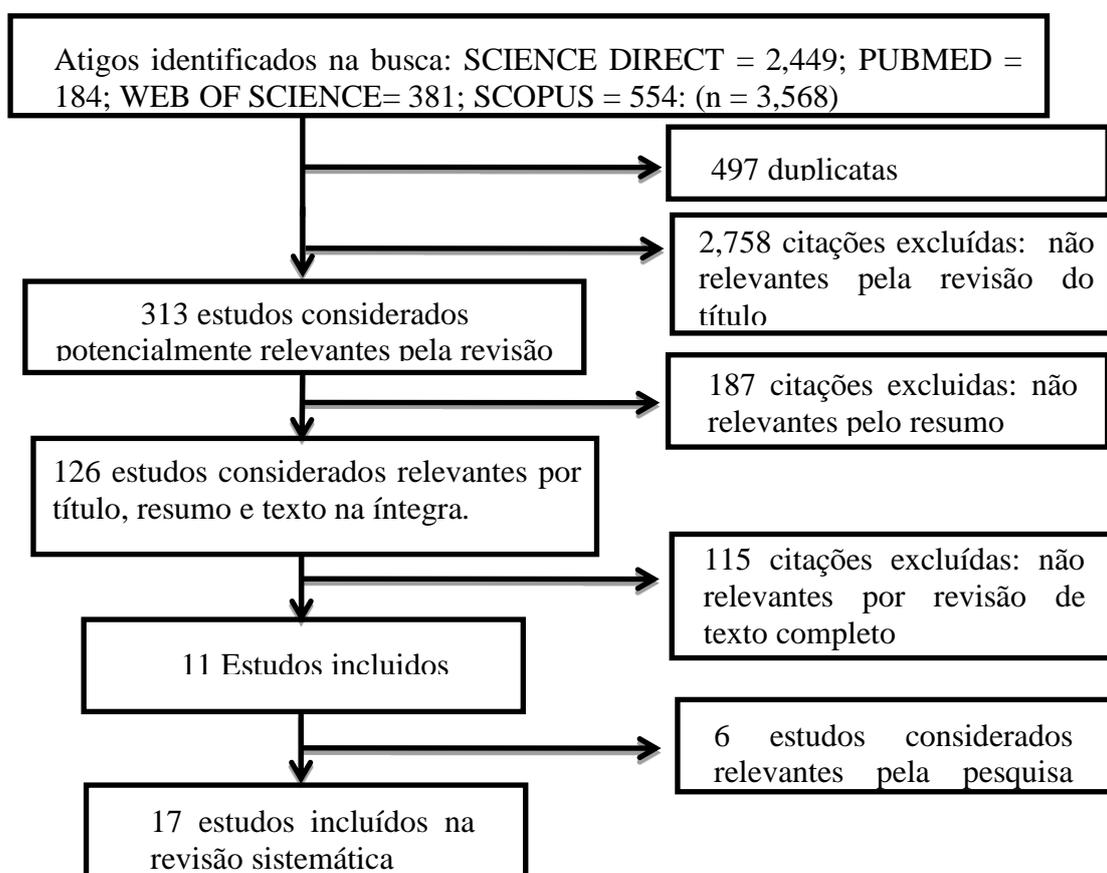


Figura 9: Diagrama de fluxo para pesquisa e triagem de literatura.

6.1.3 Características dos estudos incluídos

Os estudos selecionados foram conduzidos nos seguintes países: EUA (5), Japão (3), Argentina (2), China (2), Índia (2), França (1), Reino Unido (1) e México (1). Os artigos foram publicados entre 1984 e 2018 (Tabela 1 e Tabela 2). Quatro dos estudos usaram um modelo de estudo *in vitro* (Tabela 1) e onze usaram um modelo de estudo *in vivo* (Tabela 2), e dois usaram os dois modelos para obter resultados. O limoneno usado nos estudos foi obtido comercialmente e doses variadas de D-limoneno foram usadas.

Entre os estudos *in vitro*, os métodos mais utilizados foram ensaios de proliferação e viabilidade por ensaios MTT (três) (JIA *et al.*, 2013; MANUELE *et al.*, 2009, 2010). A participação da NOS foi estudada através da determinação de nitritos totais e atividade da NOS, e citometria de fluxo foi usada para avaliar a apoptose celular (MANUELE *et al.*, 2009, 2010). Apenas dois estudos avaliaram a ação do limoneno no ciclo celular usando citometria de fluxo (BARDON; PICARD; MARTEL, 1998; MANUELE *et al.*, 2009). Entre os quatro estudos *in vitro*, dois usaram linhas celulares de linfoma de células T murinas e duas usaram linhas celulares de câncer de mama humano e câncer de cólon, como mostrado na Tabela 1 e Tabela 2.

Entre os estudos *in vivo*, seis realizaram experimentos em células de carcinoma mamário, três em células de câncer gástrico, uma em células de câncer de pulmão, uma em células de câncer de fígado, uma em células de câncer de pele e uma em células de linfoma. Dos treze estudos *in vivo*, 11 deles usaram indutores em animais para a formação de tumores. Apenas dois desses estudos usaram linhas celulares de origem humana (LU *et al.*, 2004; YU *et al.*, 2018).

A avaliação do tumor foi o método mais utilizado para avaliar a ação do limoneno nos estudos do modelo *in vivo* (8) (ASAMOTO *et al.*, 2002; CHANDERL *et al.*, 1994; ELEGBEDE *et al.*, 1984, 1986; GIRI; PARIJA; DAS, 1999; HAAG; GOULD, 1994; UEDO *et al.*, 1999; YANO *et al.*, 1999). Dois estudos procuraram avaliar sua ação antitumoral *in vivo* e *in vitro* e investigar seu mecanismo de ação (DEL TORO-ARREOLA *et al.*, 2005; YU *et al.*, 2018). Um dos estudos (DEL TORO-ARREOLA *et al.*, 2005) realizou um teste antitumoral *in vivo*, no entanto, os autores não relatam a randomização dos grupos. Os níveis plasmáticos de metabólitos do D-limoneno também foram avaliados neste estudo, assim como o efeito do D-limoneno na produção de NO em macrófagos peritoneais *in vitro*, bem como fagocitose,

quimiotaxia e sua atividade microbiana. A resposta imune celular e subpopulações de células T também foram avaliadas por citometria de fluxo.

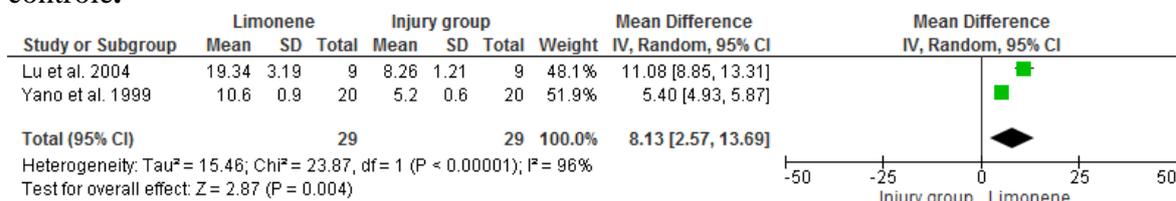
Um estudo (YU *et al.*, 2018) utilizou um modelo *in vivo* de xenoinxerto em camundongos tratados com d-limoneno. Os camundongos foram randomizados e divididos em três grupos. Além disso, os efeitos do d-limoneno na apoptose por citometria de fluxo e na via de sinalização da autofagia foram investigados *in vivo* e *in vitro*. Testes imuno-histoquímicos foram utilizados para avaliar o efeito do d-limoneno nas células cancerígenas *in vivo* (CHAUDHARY *et al.*, 2012; JIRTLE; ARIAZI; GOULD, 1993; LU *et al.*, 2004). Apenas um estudo *in vivo* utilizou o limoneno como tratamento tópico (CHAUDHARY *et al.*, 2012), os outros estudos administraram o limoneno na dieta dos animais.

6.1.4 Síntese de dados

A maioria dos estudos avaliou diferentes marcadores, impossibilitando a realização de uma única meta-análise para todos os estudos. Entre os 13 estudos *in vivo* incluídos na revisão sistemática, apenas quatro apresentaram dados que puderam ser analisados por meta-análise. Portanto, realizamos duas metanálises de subgrupos (dois dos dois estudos) para avaliar os efeitos do limoneno nos tumores, através da determinação do índice apoptótico e avaliação da regressão tumoral.

O MD do índice apoptótico foi de 8,13 (IC 95% 2,57 a 13,69) e $I^2 = 96\%$, indicando, respectivamente, que o limoneno teve um efeito positivo na determinação do índice apoptótico em comparação com um grupo controle ($p = 0,004$), e que houve alta heterogeneidade entre os estudos (Figura 10).

Figura 10. Meta-análise da determinação do índice apoptótico - Limoneno versus grupo controle.



Para avaliação da regressão tumoral, o MD foi de 30 (IC 95% 0,60 a 59,40), mostrando que o limoneno teve um efeito positivo na avaliação da regressão tumoral em comparação ao

grupo lesão ($p < 0,05$), com $I^2 = 100\%$, indicando também uma alta nível de heterogeneidade entre os estudos (Figura 11).

Figura 11. Meta-análise da avaliação da regressão tumoral - Limoneno versus grupo controle.

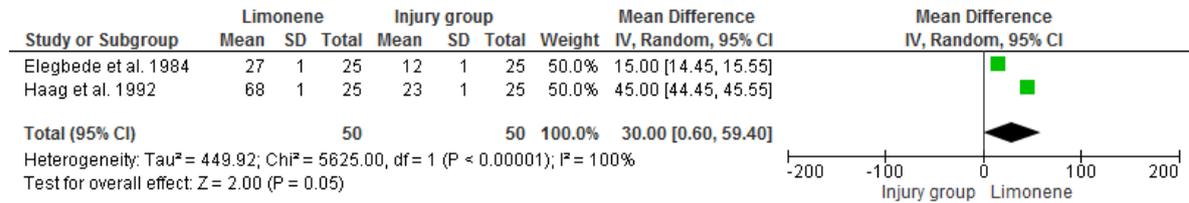


Tabela 2. Características e qualidades metodológicas dos estudos incluídos *in vitro*.

Autores, ano, País	Célula cancerígena	Origem e dose do limoneno	Método de avaliação	Mecanismo de ação	Principais resultados	Conclusão
Manuele et al., 2009. Argentina	linfoma de células T murina	Sigma (St Louis, MO, USA). 10 a 60 µg/ml limoneno	Ensaio de proliferação e estudos de viabilidade pelo método de exclusão do azul de tripano e MTT, ensaios de apoptose e análise do ciclo celular por citometria de fluxo, determinação total de nitrito e atividade da iNOS.	Este estudo sugeriu a participação do NO nas células indutoras da ação do limoneno à apoptose.	O limoneno exerceu uma ação antiproliferativa nas células tumorais BW 5147 e, paralelamente a esse efeito, também diminuiu a viabilidade celular. Ambos os efeitos foram exibidos em uma resposta de concentração, bem como na indução de células à apoptose.	Em conclusão, os resultados descritos apontam para o limoneno como um regulador do NO, que por sua vez constitui um sinal envolvido na modulação da proliferação celular. Isso prova o potencial do limoneno como uma droga eficaz para o tratamento de linfomas.
Jia S-S et al., 2013. China	câncer colorretal	Sigma Chemical. Concentrações variáveis de D-limoneno por 48 h	Ensaio de viabilidade celular para MTT, medição de apoptose por citometria de fluxo e análise por Western blot.	O D-limoneno inibiu a ativação de Akt e ativou a via intrínseca de sinalização da apoptose nas células LS174T.	O D-limoneno inibiu significativamente a viabilidade celular de maneira dependente da dose e a viabilidade das células LS174T por indução de apoptose..	Os resultados do presente estudo sugerem que o D-limoneno inibiu a ativação da Akt e ativou a via intrínseca de sinalização da apoptose nas células LS174T.
Manuele et al., 2010. Argentina	linfoma de células T murina	Não relatado. Concentrações de 20 µg / mL a 180 µg / mL de limoneno	Ensaio de atividade de superóxido e peroxidase; ensaios de proliferação e estudos de viabilidade, todos analisados por citometria de fluxo.	Este estudo sugeriu que o limoneno em altas concentrações também atuava através de um mecanismo combinado no qual o NO e a inibição da farnesilação de proteínas estão envolvidos.	O limoneno causa efeitos tardios de apoptose e necrose a partir de 60 µg / mL. Tanto em concentrações altas quanto baixas, o limoneno aumenta significativamente os níveis totais de nitrito, aumentando a expressão do iNOS.	O limoneno foi capaz de aumentar os níveis de NO, produzindo efeitos antiproliferativos, induzindo a apoptose celular por dois mecanismos ativando a produção de de H ₂ O ₂ que, por sua vez, ativou a via ERK, sinais intracelulares relacionados ao aumento do NO.
Bardon, et al., 1998. França	linhas celulares de câncer de mama	Sigma-Aldrich Chemical. Concentrações utilizadas 10µM a 3mM.	Experimentos de crescimento celular, análise do ciclo celular e isolamento de RNA e análise de Northern Blot.	A ação antiproliferativa dos monoterpenos relacionados ao limoneno foi se deu por alterações no ciclo celular.	A proliferação de células MCF-7 e MDA-MB-231 não foi afetada pelo limoneno. Não foi observada diferença entre os efeitos das duas formas ópticas do limoneno.	Os monoterpenos podem inibir o crescimento de linhas celulares de câncer de mama humano em cultura. Entre os compostos testados, o limoneno foi o inibidor menos eficaz da proliferação celular.
Toro-Arreola et al., 2005. México	linfoma de células T murina	Sigma Chemical. Diferentes concentrações de d-limonene	Estudos antitumorais, resposta imune celular e avaliação das células T por citometria de fluxo, detecção espectrofotométrica de NO,	O d-limoneno modula a resposta imune através de macrófagos.	<i>In vitro</i> estudos indicaram que o d-limoneno aumentou a produção de NO em macrófagos peritoneais obtidos de camundongos portadores de tumor	O D-limoneno modulou a resposta imune com potencial significativo para aplicação clínica

		microscopia de epifluorescência.				
Yu et al., 2018. (YU et al., 2018) China and USA	A549 e H1299 linhas celulares	Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). 0.5 e 0.75 mM d-limoneno	<i>In vitro</i> avaliação da apoptose, potencial da membrana mitocondrial.	Tratamento com d-limoneno no câncer de pulmão promove autofagia, resultando em apoptose celular.	O crescimento celular foi inibido em uma dose e tempo dependentes das células tratadas com d-limoneno.	O d-limoneno pode suprimir o crescimento do câncer de pulmão.

Legenda e abreviaturas: Brometo de MTT- 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio, ensaio colorimétrico; iNOS- Óxido nítrico sintase; Akt-serina / treonina-proteína quinase (um membro da via PI3K); Óxido nítrico; MCF-7 - linha celular de câncer de mama da Michigan Cancer Foundation-7; Linha celular de câncer de mama MDA-MB-23 Anderson Metastasis; LS174T- linhas celulares colorretais; BW 5147 - linhas celulares de linfoma.

Tabela 3. Características e qualidades metodológicas dos estudos incluídos *in vivo*.

Autores, ano, País	Célula cancerígena	Origem e dose do limoneno	Método de avaliação	Mecanismo de ação	Principais resultados	Conclusão
Asamoto, et al., 2002. Japão	adenocarcinomas mamários múltiplos	Sigma-Aldrich, >99% puro. Dieta basal suplementada com d-limoneno a 5%	Avaliação de regressão tumoral.	Modificação pós-tradução envolvendo isoprenilação da proteína da família Ras.	O tratamento com d-limoneno tendeu a reduzir a multiplicidade do tumor e diminuiu significativamente o tamanho e o volume do tumor em comparação com os ratos controle.	O d-limoneno inibiu a isoprenilação de pequenas proteínas G, incluindo p21 ras, inibiu a carcinogênese mamária nos ratos transgênicos c-Ha-ras, indicando a participação de P21 ras no desenvolvimento do tumor, embora não houvesse evidência direta de que o d-limoneno inibisse a isoprenilação de a proteína ras.
Chander, et al., 1994. Reino Unido	tumores mamários	Aldridge 5% e 10% de limoneno na dieta;	Avaliação de regressão tumoral.	O limoneno reduziu o crescimento de tumores mamários em ratos induzidos por NMU.	O limoneno produziu regressão tumoral em todos os ratos. Do total de animais, 86% (13/15) exibiram mais de 50% de regressão tumoral. Quaisquer novos tumores que ocorreram após o início do tratamento também regrediram posteriormente no grupo limoneno.	A dose de 10% de limoneno na dieta causou regressão do tumor. Isso sugere que todo o potencial do limoneno no tratamento do câncer de mama pode ser realizado em uma terapia combinada, minimizando o risco de toxicidade, que pode ocorrer se doses mais altas forem usadas no tratamento crônico.
Elegbede, et al., 1984. EUA	tumores mamários	Sigma Chemical Co. 1000 e 10000 p.p.m. d-limoneno	Avaliação de regressão tumoral.	Não investigado	O tratamento com d-limoneno é eficaz na extensão da latência. No grupo controle, 12% dos primeiros tumores (> 1 x 1 mm) regrediram, enquanto nos grupos d-limoneno, 27% regrediram.	O D-limoneno é um inibidor eficaz não-tóxico da carcinogênese.

Elegbede, et al, 1986. EUA	tumores mamários	Sigma Chemical Co. 10% d-limoneno	Avaliação de regressão tumoral.	Não foi investigado	O grupo controle obteve uma média de $3,4 \pm 2,06$ tumores subsequentes em comparação com o grupo de tratamento que tiveram uma média de $1,3 \pm 1,77$. No final do experimento (127 dias após o DMBA), dos 7 ratos sobreviventes tratados com d-limoneno, apenas 2 apresentaram tumores, enquanto no grupo controle 5 dos 6 ratos sobreviventes apresentaram tumores.	O d-limoneno causou a regressão de tumores mamários induzidos quimicamente, primários, diferenciados e in situ. Além disso, o d-limoneno inibiu novamente a formação de segundos tumores mamários ou subsequentes.
Giri, et al., 1999. Índia	tumores de fígado	Sigma Chemical. 5% limoneno	Avaliação de regressão tumoral.	O limoneno inibiu a isoprenilação pós-tradução de pequenas proteínas G (21-26 kDa) que incluem membros do grupo ras de proteínas de transdução de sinal que estão implicadas na carcinogênese.	Os ratos tratados com limoneno juntamente com NDEA e NDEA-PB exibiram características histológicas semelhantes às de um camundongo normal. O aumento do peso do fígado por peso corporal por tratamento com carcinógeno não aumentou no grupo tratado com limoneno. A análise imuno-histoquímica (IHC) mostrou que a superexpressão de c-jun e c-myc foi completamente inibida nos camundongos tratados com limoneno. Além disso, os ratos tratados apenas com limoneno foram imuno-histoquimicamente negativos para essas duas oncoproteínas.	Camundongos tratados com limoneno isoladamente ou juntamente com NDEA e NDEA-PB não tiveram efeito carcinogênico no fígado e superexpressão de c-jun e c-myc inativada, tanto nos níveis de RNA quanto de proteína nos tumores de tumor mediados por NDEA e NDEA-PB em camundongos AKR. O limoneno pode ser um candidato poderoso para testes pré-clínicos e clínicos para quimioprevenção e terapia do câncer de fígado.
Toro-Arreola et al., 2005. México	linfoma de células T murina	Sigma Chemical. <i>In vivo</i> : 10% d-limoneno.	Estudos antitumorais, resposta imune celular e avaliação das células T por citometria de fluxo, detecção espectrofotométrica de NO, microscopia de epifluorescência.	O d-limoneno modula a resposta imune através de macrófagos	<i>In vivo</i> : O d-limoneno aumentou significativamente a vida útil de camundongos portadores de linfoma.	O D-limoneno modulou a resposta imune com potencial significativo para aplicação clínica

Uedo et al., 1999. Japão	adenocarcinoma de câncer gástrico	SigmaChemical Co. 1% e 2% limoneno	Avaliação de regressão tumoral.	Inibiu a farnesilação da oncoproteína ras	A administração oral de 2% de limoneno aumentou significativamente o índice apoptótico de câncer gástrico e diminuiu significativamente o índice de marcação. Nenhum câncer exibiu mutações pontuais de ativação no códon 12 de K-ras em nenhum grupo.	A administração de limoneno inibiu a carcinogênese gástrica. Aumento da apoptose e diminuição da proliferação celular podem estar intimamente relacionados à inibição da carcinogênese gástrica pelo limoneno, sem o envolvimento da farnesilação da oncoproteína ras.
Yano et al., 1999. Japão	adenocarcinoma de câncer gástrico	SigmaChemical Co. 1% limoneno	Avaliação de regressão tumoral.	O limoneno inibiu a carcinogênese gástrica induzida por MNNG em ratos Wistar.	Todos os tumores induzidos no estômago eram adenocarcinomas. Não houve diferenças significativas nos tipos histológicos de adenocarcinomas entre os quatro grupos. Além disso, não houve diferenças significativas na profundidade de envolvimento dos cânceres gástricos entre os quatro grupos.	A administração combinada a longo prazo de limoneno e cloreto de sódio suprimiu significativamente a atividade da ODC, que foi elevada apenas pelo cloreto de sódio.
Jirtle, Haag, Ariazi e Gould, 1993. EUA	tumores mamários murinos	Não relatado	A coloração imunohistoquímica do TGF-β1 e do receptor M6P / IGF-II e do receptor M6P / IGF-II e expressão do mRNA do TGF-β1 foi determinada por ensaios de proteção da RNase.	O limoneno pode induzir a superexpressão do receptor M6P / IGF-II no nível do mRNA.	O tratamento com limoneno na dieta causou a regressão de 87% desses tumores induzidos por DMBA, sem qualquer toxicidade sistêmica observável. Estes resultados demonstraram que os níveis do receptor M6P / IGF-II e TGF-β1 aumentam substancialmente nos tumores mamários regressivos tratados com limoneno.	O limoneno tem potencial no tratamento do câncer de mama, visando o receptor M6P / IGF-II.
Lu et al., 2004. China	Câncer gástrico Linhagem celular BGC-823	Sigma Company d-limoneno (15mL/kg/d)	Ensaio imunohistoquímico	Os efeitos inibitórios do d-limoneno induziram a apoptose de células cancerígenas.	Houve uma diferença significativa no Índice Apoptótico no d-limoneno e no grupo combinado em comparação com o grupo controle e o grupo 5-FU (P <0,05). As metástases no fígado, peritônio e outros órgãos do câncer gástrico e a formação de ascites foram significativamente inibidas nos grupos d-limoneno e combinados.	O D-limoneno mostrou-se não tóxico, não afetou o comportamento dos animais e foi capaz de inibir as metástases no fígado e em outros órgãos.
Chaudary et al., 2012. India	Tumores de pele	Sigma Company. Aplicado topicamente- D-limoneno	Análise imunohistoquímica, ensaios de antioxidantes não enzimáticos e	O tratamento tópico com d-limoneno inibiu a sinalização Ras / Raf / ERK1 e	O tratamento tópico com d-limoneno teve efeito anti-inflamatório, inibindo a expressão de COx-2 e ativando as enzimas antioxidantes, atenuando o	O tratamento tópico com d-limoneno mostrou efeitos quimiopreventivos na redução de tumores cutâneos, protegendo contra o

		(50mg/kg a 100mg/kg peso do rato)	enzimáticos e análise de Western blot.	promoveu um estado pró-apoptótico, retardando a tumorigênese da pele de murinos.	edema e a hiperplasia causados pelo DMBA. Os tumores pré-tratados com d-limoneno nas duas concentrações de 50mg / kg e 100mg / kg / peso corporal inibiram a via de sinalização de Ras / Raf / ERK1.	desenvolvimento de tumores pelo papilloma vírus.
Haag, Lindstrom, Gould, 1992. EUA	tumores mamários murinos	Aldrich, Milwaukee. Dietas com limoneno a 10%	Avaliação de regressão tumoral.	Essa observação sugere que o limoneno pode ter um mecanismo de ação citostático em vez de citotóxico.	O tempo necessário para o tumor primário regredir para uma massa não palpável nos grupos tratados com limoneno (DMBA e NMU) foi significativamente menor do que o tempo para regressões espontâneas no grupo controle alimentado por pares.	O limoneno é eficaz na indução de regressão em tumores grandes
Yu et al., 2018. China and USA	A549 and H1299 cell lines	d-limoneno da Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). 0.5 e 0.75 mM d-limoneno	Experimentos em animais xenoenxertos.	Tratamento com limoneno no câncer de pulmão promove autofagia, resultando em apoptose celular.	Ensaio <i>in vivo</i> , após 4 semanas de tratamento com d-limoneno, os tumores diminuíram de tamanho em dois grupos tratados quando comparados ao grupo controle. Indicando que o d-limoneno inibe o crescimento do câncer de pulmão <i>in vitro</i> e em um modelo <i>in vivo</i> .	O limoneno pode suprimir o crescimento do câncer de pulmão e induzir a apoptose por um mecanismo que envolve a autofagia.

Legenda e abreviações: 5-FU (5- fluorouracil); DMBA-7,12-dimetilbenz (a) antraceno; NMU-N-metil-N-nitrosourea; COx-2- ciclooxigenase-2; NDEA-N-nitrosodietilamina; Proteína K-ras; TGF-β1- Fator de crescimento transformador beta 1; proteínas de c-Ha-ras-proto-oncogene 21 Ras (quinase regulada por sinal extracelular) / Raf (proteína serina / treonina quinase) / ERK1 (quinase regulada por sinal extracelular); Linha celular de cancro BGC-823- humano gástrico; A549 - linha celular epitelial basal alveolar humana adenocarcinica; H1299 - linha celular de carcinoma de pulmão humano; c-jun e c-myc (proto-oncogenes); M6P / IGF-IIR-manose 6-fosfato / receptor de fator de crescimento semelhante à insulina-II; mensageiro de mRNA- ácido ribonucleico; AKR - modelo de estirpe albino de rato

6.1.4 Risco de viés

As Figuras 12 e 13 resumem o risco de viés dos 13 estudos em animais, com base na ferramenta de risco de viés SYRCLES. Na análise, apenas três estudos não apresentaram alto risco de viés em nenhum momento. Em relação ao viés de seleção (com base nos três primeiros itens do SYRCLES), a maioria dos estudos mostrou um risco de viés alto ou incerto. Quanto ao viés de desempenho (quarta e quinta questões do SYRCLES), apenas dois estudos apresentaram baixo risco de viés em uma das perguntas e a maioria teve um risco incerto de viés.

Analisando o viés de detecção (sexta e sétima questões do SYRCLES), esse foi o único item em que nenhum artigo teve um alto risco de viés, com a maioria (4) tendo um risco baixo e o restante um risco incerto de viés. Em relação ao viés de atrito (oitava pergunta do SYRCLES), a maioria dos estudos apresentava risco incerto de viés e quatro apresentavam alto risco. Nenhum estudo teve um baixo risco de viés.

Quanto à análise do viés de relato, a maioria dos estudos teve um alto risco de viés e quatro tiveram um risco incerto. Nenhum estudo teve um baixo risco de viés. Por fim, quando analisamos outras fontes possíveis de viés, seis estudos tiveram um risco incerto de viés, cinco um risco alto e apenas um estudo foi considerado com baixo risco de viés. Concluindo, a maioria dos estudos em animais mostrou riscos que variavam de incerto a alto, o que influenciou negativamente sua qualidade metodológica.

Figura 12. Gráfico de risco de viés: análise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés apresentado como porcentagem em todos os estudos incluídos.

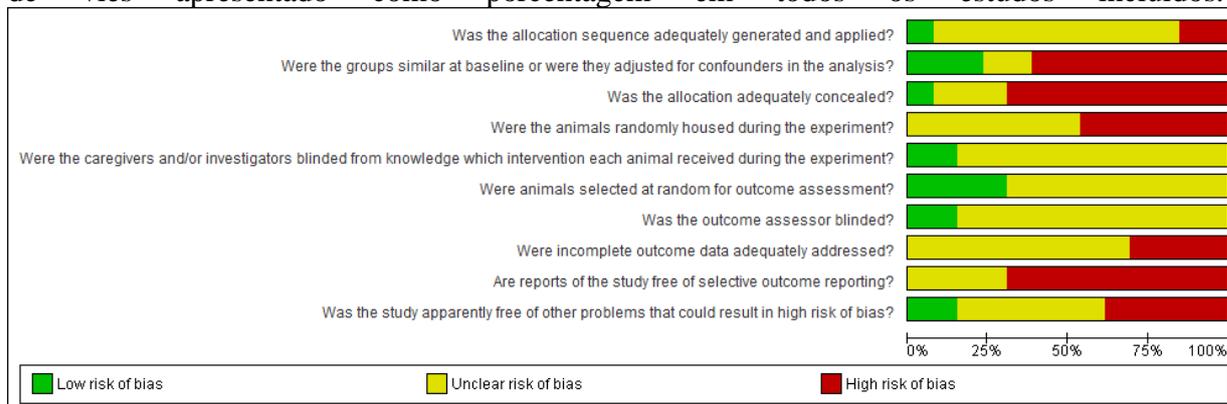


Figura 13. Resumo do risco de viés: analise os julgamentos dos autores sobre cada item de risco de viés para cada estudo incluído.

	Was the allocation sequence adequately generated and applied?	Were the groups similar at baseline or were they adjusted for confounders in the analysis?	Was the allocation adequately concealed?	Were the animals randomly housed during the experiment?	Were the caregivers and/or investigators blinded from knowledge which intervention each animal received during the experiment?	Were animals selected at random for outcome assessment?	Was the outcome assessor blinded?	Were incomplete outcome data adequately addressed?	Are reports of the study free of selective outcome reporting?	Was the study apparently free of other problems that could result in high risk of bias?
Asamoto et al. 2002	●	●	●	●	?	?	?	?	●	
Chander et al. 1994	?	?	●	?	?	?	?	?	●	
Chaudhary et al. 2012	?	●	●	?	?	?	?	?	●	
Del Toro-Arreola et al. 2005	?	?	●	●	?	?	?	?	●	
Elegbede et al. 1984	?	●	●	?	?	?	?	●	●	
Elegbede et al. 1986	●	●	●	?	?	●	?	?	●	
Giri et al. 1999	●	●	●	●	?	?	?	●	●	
Haag et al. 1992	?	●	●	●	?	?	?	?	?	
Jirtle et al. 1993	?	●	?	?	?	?	?	?	?	
Lu et al. 2004	?	●	?	?	?	?	?	●	?	
Uedo et al. 1999	?	●	●	●	●	●	●	?	?	
Yano et al. 1999	?	●	●	●	●	●	?	●	?	
Yu et al. 2018	?	●	?	?	?	●	?	?	?	

6.2 DISCUSSÃO

Em nossa estratégia de pesquisa, incluímos 17 artigos que atendiam aos nossos critérios de inclusão, 6 dos quais foram extraídos de uma pesquisa manual. A busca manual é um passo importante em uma revisão sistemática para incluir estudos que, por algum motivo, não foram encontrados na estratégia de busca estabelecida, provavelmente devido ao tempo de publicação ou porque estão indexados em outros bancos de dados que não foram utilizados no estudo. Atualmente, há poucos estudos sobre a eficácia do limoneno no tratamento do câncer e seus efeitos no sistema imunológico. No entanto, recentemente Yu *et al.* (2018) demonstraram que o limoneno pode inibir as células de câncer de pulmão após quatro semanas de tratamento *in*

vivo e *in vitro* através da autofagia, fazendo com que as células cancerígenas entrem em apoptose.

Moléculas derivadas de plantas podem ser promissoras em ações anticâncer através de mecanismos moleculares (CHIRUMBOLO *et al.*, 2018). Especificamente, o limoneno pode inibir o câncer de bexiga inibindo o crescimento celular induzido pela morte celular programada, interrompendo o ciclo celular e suprimindo a captura e invasão celular (AVGERINOS *et al.*, 2019).

O câncer em geral é uma doença na qual as células anormais estão crescendo incontrolavelmente e podem invadir os tecidos circundantes e se espalhar para outras partes do corpo através da corrente sanguínea e dos sistemas linfáticos (CHEONG *et al.*, 2018). Na maioria dos casos, os tratamentos existentes são longos e muitas vezes ineficazes (AVGERINOS *et al.*, 2019).

Os resultados desse meta- limoneno podem ser um tratamento promissor para o câncer e devem ser mais estudados em pesquisas futuras, que mostram sua possível ação em relação à apoptose celular e à regressão de tumores cancerígenos e aumentam as atividades já conhecidas do D-limoneno, que incluem antimicrobiano, antiparasitário, larvicida, antifúngico e antimicrobiano. propriedades antioxidantes (ARAUJO-FILHO *et al.*, 2017; FERRARINI *et al.*, 2008; JUNIOR *et al.*, 2009; MENEZES *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2010).

Todos os artigos incluídos nesta metanálise que estudaram o mecanismo de ação do limoneno observaram que ele tem uma ação de induzir a apoptose celular. No entanto, o modo como funciona não é bem compreendido, com divergência entre os autores. No entanto, um ponto positivo é que a maioria dos estudos apóia a idéia de que o limoneno aumenta os níveis de óxido nítrico, confirmando sua importância como marcador do processo de apoptose celular.

Os mecanismos do limoneno podem estar relacionados a caspases que são enzimas importantes no mecanismo de apoptose, atuando como iniciadores e executores (SHALINI *et al.*, 2014; WONG, 2011). Durante o processo de apoptose, níveis aumentados de ativação da caspase podem clivar enzimaticamente os compartimentos celulares. À medida que o câncer progride, as células cancerígenas proliferam excessivamente e escapam da morte apoptótica. A ativação das caspases é insuficiente, sendo uma das principais características dessas células. A morte celular é um fator de risco durante a tumorigênese (XU; ARTHURTON; BAENA-LOPEZ, 2018).

As principais vias de ativação da caspase inicial durante a apoptose são: a via mitocondrial (intrínseca) e a via do receptor da morte (extrínseca) (GOLDAR; KHANIANI; DERAKHSHAN, 2015).

A via mitocondrial é ativada em resposta ao estresse celular causado por drogas citotóxicas, por exemplo, aquelas que regulam a família da proteína Bcl-2. Essa via envolve os efetores pró-apoptóticos BAX e BAK, que induzem a permeabilização da membrana externa mitocondrial, que após alguns processos ativa a caspase-9. Na apoptose mediada pelo receptor da morte, envolve o recrutamento e a ativação da caspase-8 ou caspase-10. Quando as caspases iniciadoras são ativadas pela via intrínseca ou extrínseca, a ativação das caspases efetoras em -3, -6 e -7 é mediada (DABROWSKA; LI; FAN, 2014; JAN; CHAUDHRY, 2019; OLSSON; ZHIVOTOVSKY, 2011; SHALINI *et al.*, 2014).

Além disso, estudos mostram que o d-limoneno induz apoptose celular pela via mitocondrial (CHIRUMBOLO *et al.*, 2018; ELEGBEDE *et al.*, 1986; HOMBURGER; TREGGER; BOGER, 1971). Sabe-se que as caspases desempenham um papel importante na apoptose.

Um dos estudos mostrou a ativação das caspases-9 e 3 pelo d-limoneno nas células do cólon cancerígeno LS174T (ELEGBEDE *et al.*, 1986). Yu et al. (2018) mostraram um aumento nas proteínas Bax e na PARP clivada durante o tratamento, sugerindo que a via mitocondrial da morte pode desempenhar um papel importante na morte induzida por d-limoneno nas células cancerígenas do pulmão.

Em outro estudo, o d-limoneno inibiu a viabilidade das células cancerígenas do cólon (LS174T), os autores sugerem que a apoptose induzida pelo limoneno foi possivelmente mediada pela via mitocondrial. Caspases-9, -3 e PARP clivada foram ativadas pelo monoterpeno, além de diminuir o nível de proteína Bcl-2 e aumentar o Bax (JIA *et al.*, 2013).

É importante lembrar que, embora essas proteínas sejam da mesma família, têm funções opostas, o Bcl-2 atua inibindo a apoptose, enquanto Bax neutraliza esse efeito (GOLDAR; KHANIANI; DERAKHSHAN, 2015; JAN; CHAUDHRY, 2019).

Altas concentrações intracelulares de óxido nítrico (NO) inibem a progressão tumoral em células cancerígenas, ativando a via intrínseca da morte celular, resultando em apoptose. Essas concentrações também podem ativar outras vias de sinalização que controlam a progressão do tumor. Portanto, agentes que induzem um aumento nas concentrações de NO podem servir como alternativas terapêuticas no tratamento do câncer, devido à sua ação antiproliferativa e citotóxica (KAMM *et al.*, 2019; MONTEIRO *et al.*, 2019).

Foi observado que o óxido nítrico é um importante marcador da apoptose celular associada à parada do ciclo celular. Manuele et al. (2009, 2010), ao estudar o efeito antiproliferativo do limoneno nas células do linfoma, observaram que as células tratadas com limoneno apresentaram níveis aumentados de óxido nítrico. Este é um efeito geralmente observado em medicamentos com efeitos citostáticos e citotóxicos. O limoneno também exibiu ação antiproliferativa no tumor linfócitos, induzindo apoptose celular. Seus resultados mostraram, portanto, que o limoneno induz apoptose por dois mecanismos, a ativação das vias P-38 MAPK e ERK, que são conhecidas por serem dependentes de redox.

Os resultados desta metanálise atual sugerem que o limoneno pode afetar o índice apoptótico de tumores e a regressão tumoral. No entanto, reconhecemos que a meta-análise tem algumas limitações; o pequeno número de estudos dificultou a força da meta-análise e é necessário se engajar em pesquisas de fase II (seres humanos) para fornecer mais evidências sobre a eficácia do limoneno. Outra limitação é o ano em que os estudos foram conduzidos e o fato de haver um pequeno número de estudos, geralmente do mesmo tipo de câncer.

Além disso, é necessário se engajar em pesquisas de fase II (seres humanos) para fornecer mais evidências sobre a eficácia do limoneno. Até agora, até onde sabemos, o limoneno foi usado como medicamento em apenas três estudos. Dois deles usaram amostras de plasma e urina de pacientes com câncer avançado, um para identificar e avaliar os níveis de limoneno e seus metabólitos secundários (POON *et al.*, 1996), o outro para avaliar a toxicidade e a farmacocinética (VIGUSHIN *et al.*, 1998). O terceiro estudo, por sua vez, analisou amostras de sangue de mulheres com câncer de mama em estágio inicial (MILLER; LANG; *et al.*, 2013). Em resumo, esses estudos mostraram resultados inconclusivos sobre a eficácia do limoneno em pacientes com câncer, no entanto, eles apoiaram um novo quimioterápico promissor para avaliação clínica. Assim, é necessário o desenvolvimento de pesquisas clínicas para testar o limoneno em pacientes com câncer, com um tempo de intervenção mais longo, para que seu efeito potencial sobre a fisiopatologia da doença seja melhor compreendido.

6.3 CONCLUSÃO ARTIGO II

Esta meta-análise sugere que o limoneno pode produzir regressão tumoral, induzindo apoptose de células cancerígenas em vários tipos de câncer. É, portanto, um composto natural promissor para uso clínico, mas são necessários mais estudos com maior rigor metodológico e com progressão para pesquisas clínicas em humanos para obter melhores evidências científicas.

7 DISCUSSÃO GERAL

A busca por novas terapias, mesmo adjuvantes, é substancial. No entanto, o processo de descoberta de um composto até sua comercialização é longo e dispendioso, exigindo a necessidade de ensaios pré-clínicos e clínicos até que sejam aprovados para a prática clínica na terapia do câncer. Sabe-se também que a resistência dos medicamentos atuais já utilizados na prática clínica é o que impulsiona ainda mais a busca por novos compostos que atuem de forma sinérgica e auxiliem no tratamento do câncer, reduzindo os efeitos colaterais e principalmente se tornando mais eficazes.

As células cancerígenas utilizam mecanismos que inativam as vias indutoras da apoptose, levando a multiplicação celular neoplásica. Essa resistência a apoptose estimula a tumorigênese, sendo um obstáculo significativo para o tratamento do câncer. Os recentes avanços na pesquisa contra o câncer estão direcionados ao desenvolvimento de novos medicamentos que atuem as vias apoptóticas nas células cancerígenas, resultando na apoptose (JAN; CHAUDHRY, 2019; WONG, 2011).

É evidente o interesse científico em PN para o tratamento e/ou prevenção de doenças de diversas doenças dentre elas o câncer. Realizando uma busca rápida em bases de dados como o Medline e Scopus utilizando descritores como câncer e terpenos, percebe-se um aumento exponencial na produção científica nos últimos 30 anos. Contudo o mesmo interesse não é percebido por parte da indústria, de acordo com os resultados na busca de patentes. Este fato pode ser atribuído devido aos desafios que vão desde a investigação da aplicação dos compostos até a sua efetiva aplicação na indústria farmacêutica. Desafios estes os quais requer alto investimento e processos burocráticos para se obter a proteção da propriedade intelectual (SILVA; CARVALHO; GUIMARÃES; BARRETO; *et al.*, 2019).

O limoneno tem se mostrado como composto relevante e promissor para tratamento de diversas doenças dentre elas o câncer, devido suas várias atividades biológicas já mencionado anteriormente no texto. Os resultados desta meta-análise corroboram para sua relevância no meio científico, contudo observa-se um declínio nas publicações de estudos com o limoneno para o câncer. Esta questão se tornou uma lacuna no conhecimento, visto que, mesmo após muita busca e análise não foi identificado uma explicação para tal fato. Este desinteresse pelo limoneno reflete também no número de estudos em seres humanos, onde apenas três ensaios clínicos foram realizados. O mais recente deles realizado em 2013, em mulheres com câncer de mama em estágio inicial, embora os autores tenham obtido resultados promissores, os mesmos

recomendam novos ensaios clínicos randomizados e controlados com placebos para avaliar melhor os efeitos do limoneno na prevenção e tratamento do câncer de mama (MILLER; THOMPSON; *et al.*, 2013).

Revisões sistemáticas como esta são essenciais para direcionar a busca e esforços na descoberta de novos medicamentos para o câncer. As meta-análises se tornaram importantes na assistência a saúde, possibilitando a atualização de especialistas em suas respectivas áreas, e são frequentemente utilizadas para nortear o desenvolvimento e normativas para as práticas clínicas (PRISMA, 2015).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos demonstram que os terpenos em geral, especialmente o limoneno, são promissores candidatos a novas drogas. Existe uma necessidade de aumentar a qualidade metodológica dos estudos pré-clínicos e assim avançar os estudos para Fase II de ensaio clínico em humanos.

REFERÊNCIAS

ALVES, I. A. *et al.* The Patenting and Technological Trends in Candidiasis Treatment: A Systematic Review (2014-2018). *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 19, n. 28, p. 2629–2639, 2019.

AMARAL, R. G. *et al.* Evaluation of the cytotoxic and antitumour effects of the essential oil from *Mentha x villosa* and its main compound, rotundifolone. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, cited By 5, v. 67, n. 8, p. 1100–1106, 2015. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84936993949&doi=10.1111%2Fjphp.12409&partnerID=40&md5=2cbde1e71e1b5ceb00b6277b05cb94a4>>.

ARAÚJO-FILHO, H. G. *et al.* D-limonene exhibits superior antihyperalgesic effects in a beta-cyclodextrin-complexed form in chronic musculoskeletal pain reducing fos protein expression on spinal cord in mice. *NEUROSCIENCE*, v. 358, p. 158–169, 2017.

ASAMOTO, M. *et al.* Mammary carcinomas induced in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats are estrogen-independent, but responsive to d-limonene treatment. *Japanese Journal of Cancer Research*, cited By 24, v. 93, n. 1, p. 32–35, 2002. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036165663&partnerID=40&md5=0f2f75cb1ea329e7bba0e2bfc77bf777>>.

ATEBA, S. B. *et al.* Natural Terpenoids Against Female Breast Cancer: A 5-year Recent Research. *Current Medicinal Chemistry*, v. 25, n. 27, p. 3162–3213, 2018.

AVGERINOS, K. I. *et al.* *Obesity and cancer risk: Emerging biological mechanisms and perspectives*. [S.l.]: Elsevier Inc, 2019. v. 92. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.001>>.

BARDON, S.; PICARD, K.; MARTEL, P. Monoterpenes inhibit cell growth, cell cycle progression, and cyclin D1 gene expression in human breast cancer cell lines. *Nutrition and Cancer*, cited By 68, v. 32, n. 1, p. 1–7, 1998. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0031742724&partnerID=40&md5=ed38188f59523c407aaf33d4ee6ff3a2>>.

BISHAYEE, A. *et al.* Triterpenoids as potential agents for the chemoprevention and therapy of breast cancer. *Frontiers in Bioscience*, v. 16, n. 3, p. 980–996, 2011.

BLADT, T. T. *et al.* Anticancer and antifungal compounds from *Aspergillus*, *Penicillium* and other filamentous fungi. *Molecules*, v. 18, n. 9, p. 11338–11376, 2013.

BLASCO-BENITO, S. *et al.* Appraising the “entourage effect”: Antitumor action of a pure cannabinoid versus a botanical drug preparation in preclinical models of breast cancer. *Biochemical Pharmacology, Cannabinoid Pharmacology and Therapeutics in Spain*, v. 157, p. 285–293, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295218302387>>.

BRAICU, C. *et al.* Nutrigenomics in cancer: Revisiting the effects of natural compounds. *Seminars in Cancer Biology*, v. 46, p. 84–106, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.06.011>>.

BRANDÃO, H. N. *et al.* Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Química Nova*, v. 33, n. 6, p. 1359–1369, 2010.

BRASIL. *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA)*. [S.l.: s.n.], 2018.

BRASIL. *Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva*. [S.l.: s.n.], 2019.

BRASIL. *LEI Nº 9.279, DE 14 DE MAIO DE 1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial*. [S.l.: s.n.], 1996

CHANDER, S. K. *et al.* Effectiveness of combined limonene and 4-hydroxyandrostenedione in the treatment of NMU-induced rat mammary tumours. *British journal of cancer*, v. 69, n. 5, p. 879–882, maio 1994.

CHANDERL, S. K. *et al.* Effectiveness of combined limonene and 4-hydroxyandrostenedione in the treatment of NMU-induced rat mammary tumours. v. 882, n. November 1993, p. 879–882, 1994.

CHAUDHARY, S. C. *et al.* D-Limonene modulates inflammation, oxidative stress and Ras-ERK pathway to inhibit murine skin tumorigenesis. *Human and Experimental Toxicology*, cited By 26, v. 31, n. 8, p. 798–811, 2012. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84865205746&doi=10.1177%2F0960327111434948&partnerID=40&md5=fc486760f554f5028d239fb4f5e55dd8>>.

CHEN, X. *et al.* Andrographolide Suppresses MV4-11 Cell Iron Uptake. p. 1–18, 2017.

CHEONG, D. H. J. *et al.* Molecular targets and anti-cancer potential of escin. *Cancer Letters*, v. 422, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.02.027>>.

CHIRUMBOLO, S. *et al.* Targeting Cancer with Phytochemicals via Their Fine Tuning of the Cell Survival Signaling Pathways. 2018.

DABROWSKA, C.; LI, M.; FAN, Y. Apoptotic Caspases in Promoting Cancer : Implications from Their Roles in Development and Tissue Homeostasis. *Apoptosis in Cancer Pathogenesis and Anti-cancer Therapy, Advances in Experimental Medicine and Biology 930*. [S.l.: s.n.], 2014. p. 89–112.

DEL TORO-ARREOLA, S. *et al.* Effect of D-limonene on immune response in BALB/c mice with lymphoma. *International Immunopharmacology*, cited By 50, v. 5, n. 5, p. 829–838, 2005. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-15044353536&doi=10.1016%2Fj.intimp.2004.12.012&partnerID=40&md5=2215799dec82595a9810f22ce03a16b2>>.

ELEGBEDE, J. A. *et al.* Inhibition of DMBA-induced mammary cancer by the monoterpene d-limonene. *Carcinogenesis*, cited By 132, v. 5, n. 5, p. 661–664, 1984. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0021180020&doi=10.1093%2Fcarcin%2F5.5.661&partnerID=40&md5=0dcb7197362e52aefc0f204e648292e3>>.

ELEGBEDE, J. A. *et al.* Regression of rat primary mammary tumors following dietary d-limonene. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 76, n. 2, p. 323–325, fev. 1986.

FERRARINI, S. R. *et al.* Synthesis of limonene ??-amino alcohol derivatives in support of new antileishmanial therapies. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 8, p. 773–777, 2008.

FIDLER, M. M. *et al.* Cancer incidence and mortality among young adults aged 20–39 years worldwide in 2012: a population-based study. *The Lancet Oncology*, v. 18, n. 12, p. 1579–1589, 2017. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30677-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30677-0)>.

GILL, B. S.; KUMAR, S.; NAVGEET. Triterpenes in cancer: significance and their influence. *Molecular Biology Reports*, v. 43, n. 9, p. 881–896, 2016.

GIRI, R. K.; PARIJA, T.; DAS, B. R. d-limonene chemoprevention of hepatocarcinogenesis in AKR mice: Inhibition of c-jun and c-myc. *ONCOLOGY REPORTS*, v. 6, n. 5, p. 1123–1127, 1999.

GOLDAR, S.; KHANIANI, M. S.; DERAKHSHAN, S. M. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. v. 16, p. 2129–2144, 2015.

HAAG, J. D.; GOULD, M. N. Mammary carcinoma regression induced by perillyl alcohol, a hydroxylated analog of limonene. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, cited By 134, v. 34, n. 6, p. 477–483, 1994. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0027965512&doi=10.1007%2FBF00685658&partnerID=40&md5=2f0ed4684d7b9ae7135136a0f2a181ce>>.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. n. January, 2015.

HAUSMAN, D. M.; HAUSMAN, D. M. What Is Cancer ? v. 62, n. 4, p. 778–784, 2019.

HO, G. Y.; WOODWARD, N.; COWARD, J. I. G. Cisplatin versus carboplatin: Comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 102, p. 37–46, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.03.014>>.

HOMBURGER, F.; TREGER, A.; BOGER, E. Inhibition of murine subcutaneous and intravenous benzo(rst)pentaphene carcinogenesis by sweet orange oils and d-limonene. *Oncology (Switzerland)*, cited By 38, v. 25, n. 1, p. 1–10, 1971. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0014989234&doi=10.1159%2F000224609&partnerID=40&md5=245c2c0ce578bb9e78dc46789d996949>>.

JABIR, N. R. *et al.* The Use of Azoles Containing Natural Products in Cancer Prevention and Treatment: An Overview. p. 6–14, 2018.

JAN, R.; CHAUDHRY, G. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Tabriz University of Medical Sciences*, v. 7, n. 3, p. 113–117, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.15171/jcvtr.2015.24>>.

JIA, S.-S. *et al.* Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells. *ONCOLOGY REPORTS*, v. 29, n. 1, p. 349–354, jan. 2013.

JIRTLE, R. L.; ARIAZI, E. A.; GOULD, M. N. Increased Mannose 6-Phosphate/Insulin-like Growth Factor II Receptor and Transforming Growth Factor B1 Levels during Monoterpene-induced Regression of Mammary Tumors. *Cancer Research*, cited By 99, v. 53, n. 17, p. 3849–3852, 1993. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0027199916&partnerID=40&md5=f1d6ec79b05233226a0a67bfad8d42f8>>.

JP20140162970. ANTITUMOR TERPENOID PHARMACEUTICAL COMPOSITION AMPICILLIN EXHIBITING VASCULARIZATION INHIBITORY ACTION. n. 2, p. 2012, 2014.

JUNIOR, M. R. M. *et al.* Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil. *Food Chemistry*, v. 116, n. 1, p. 8–12, set. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609001435>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

KAMM, A. *et al.* Nitric oxide and its derivatives in the cancer battlefield. *Nitric Oxide*, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.005>>.

KUBATKA, P. *et al.* molecules Chemopreventive and Therapeutic E ffi cacy of Cinnamomum zeylanicum L . Bark in Experimental Breast Carcinoma : Mechanistic In Vivo and In Vitro Analyses. n. March, 2020.

LU, X.-G. *et al.* Inhibition of growth and metastasis of human gastric cancer implanted in nude mice by d-limonene. *World Journal of Gastroenterology*, cited By 65, v. 10, n. 14, p. 2140–2144, 2004. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-4043135688&partnerID=40&md5=5a155ee7cbd7295d2aa57f74dca64bce>>.

MANUELE, M. G. *et al.* Limonene exerts antiproliferative effects and increases nitric oxide levels on a lymphoma cell line by dual mechanism of the ERK pathway: relationship with oxidative stress. *Cancer investigation*, v. 28, n. 2, p. 135–145, fev. 2010.

MANUELE, M. G. *et al.* Mechanism of the Antiproliferative Action of Limonene on a Lymphoma Cell Line: Participation of Nitric Oxide. Antiproliferative action of limonene on a lymphoma cell line. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, v. 23, n. 7, p. 1011- 1017abnt, jul. 2009.

MENEZES, P. DOS P. *et al.* Molecular Modeling and Physicochemical Properties of Supramolecular Complexes of Limonene with α - and β -Cyclodextrins. *AAPS PharmSciTech*, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1208/s12249-016-0516-0>>.

MILLER, J. A.; THOMPSON, P. A.; *et al.* Expression of epidermal growth factor, transforming growth factor- β 1 and adiponectin in nipple aspirate fluid and plasma of pre and post-menopausal women. 2013. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84893865722&doi=10.1186%2F2050-7771-1-18&partnerID=40&md5=bd3e92d23cca78efe819b550ed00af61>>.

MILLER, J. A.; LANG, J. E.; *et al.* Human breast tissue disposition and bioactivity of limonene in women with early-stage breast cancer. *Cancer Prevention Research*, cited By 21, v. 6, n. 6, p. 577–584, 2013. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84878858043&doi=10.1158%2F1940-6207.CAPR-12-0452&partnerID=40&md5=167235eb6a23ec4ab2f4b25c684a46b0>>.

MONTEIRO, H. P. *et al.* Nitric Oxide Nitric oxide and interactions with reactive oxygen

species in the development of melanoma , breast , and colon cancer : A redox signaling perspective. *Nitric Oxide*, v. 89, n. October 2018, p. 1–13, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.009>>.

MUKHTAR, Y. M. *et al.* Biochemical significance of limonene and its metabolites: future prospects for designing and developing highly potent anticancer drugs. *BIOSCIENCE REPORTS*, v. 38, n. 6, 2018.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 2020.

OLSSON, M.; ZHIVOTOVSKY, B. Caspases and cancer. *Cell Death and Differentiation*, v. 18, n. 9, p. 1441–1449, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2011.30>>.

POON, G. K. *et al.* Identification and characterization of limonene metabolites in patients with advanced cancer by liquid chromatography/mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, cited By 41, v. 24, n. 5, p. 565–571, 1996. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0029868653&partnerID=40&md5=21e9a1d3f6d89282f3a76da8357ecbc8>>.

PRISMA. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 24, n. 2, p. 335–342, 2015.

RABI, T.; BISHAYEE, A. Terpenoids and breast cancer chemoprevention. 2009. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-67349264062&doi=10.1007%2Fs10549-008-0118-y&partnerID=40&md5=5698234a237d9a8f95703c17b76bb5c5>>.

RAVICHANDRAN, C. *et al.* Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive. *Food and Chemical Toxicology*, v. 120, p. 668–680, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518304976>>.

RUSSO, A. *et al.* Antigrowth activity and induction of apoptosis in human melanoma cells by *Drymis winteri* forst extract and its active components. *Chemico-Biological Interactions*, v. 305, n. February, p. 79–85, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.03.029>>.

RUSSO, R. *et al.* Implication of limonene and linalyl acetate in cytotoxicity induced by bergamot essential oil in human neuroblastoma cells. *Fitoterapia*, v. 89, p. 48–57, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X13001342>>.

SANTANA, H. S. R. *et al.* Anti-Inflammatory Activity of Limonene in the Prevention and Control of Injuries in the Respiratory System: A Systematic Review. *Current pharmaceutical*

design, v. 26, n. 18, p. 2182–2191, 2020.

SHAH, U. *et al.* Novel anticancer agents from plant sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 11, n. 1, p. 16–23, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875536413600023>>.

SHALINI, S. *et al.* Old , new and emerging functions of caspases. v. 22, n. 4, p. 526–539, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2014.216>>.

SILVA, E. A. P.; CARVALHO, J. S.; GUIMARÃES, A. G.; S, R. D. S.; *et al.* Expert Opinion on Therapeutic Patents The use of terpenes and derivatives as a new perspective for cardiovascular disease treatment: a patent review (2008 – 2018). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1558211>>.

SILVA, E. A. P.; CARVALHO, J. S.; GUIMARÃES, A. G.; BARRETO, R. DE S. S.; *et al.* The use of terpenes and derivatives as a new perspective for cardiovascular disease treatment: a patent review (2008–2018). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, v. 29, n. 1, p. 43–53, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1558211>>.

SINGH, P. *et al.* Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of Citrus maxima Burm. and Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, v. 48, n. 6, p. 1734–40, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691510002152>>. Acesso em: 19 mar. 2015.

ŚLEDZIŃSKI, P. *et al.* The current state and future perspectives of cannabinoids in cancer biology. *Cancer Medicine*, v. 7, n. 3, p. 765–775, 2018.

SOELBERG, J.; DAVIS, O.; JAGER, A. K. Historical versus contemporary medicinal plant uses in the US Virgin Islands. *Journal of ethnopharmacology*, v. 192, p. 74–89, nov. 2016.

SOUZA, M. V. N.; GONÇALVES, R. S. B.; PINHEIRO, A. C.; FERREIRA, M. L. . L.; C., C. H. DA. Produtos Naturais em Fase Avançada de Testes Clínicos no Tratamento contra o Câncer Natural Products in Advance Clinical Trials Applied to Cancer. *Revista Fitos*, v. 3, p. 25–42, 2007.

UEDO, N. *et al.* Inhibition by D-limonene of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Cancer Letters*, cited By 54, v. 137, n. 2, p. 131–136, 1999. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0032905653&doi=10.1016%2FS0304-3835%2898%2900340-1&partnerID=40&md5=c42cc92ee40bba584f169ea622be15db>>.

UNNATI, S. *et al.* Novel anticancer agents from plant sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 11, n. 1, p. 16–23, 2013. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60002-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60002-3)>.

VELÁZQUEZ-NUÑEZ, M. J. *et al.* Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, v. 31, n. 1, p. 1–4, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.029>>.

VIGUSHIN, D. M. *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of D-limonene in patients with advanced cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, cited By 118, v. 42, n. 2, p. 111–117, 1998. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0031834303&doi=10.1007%2Fs002800050793&partnerID=40&md5=c3a7d4ce35f5d969d3375d4c4d2b6471>>.

WANG, J.; LEI, K.; HAN, F. Tumor microenvironment : recent advances in various cancer treatments. p. 3855–3864, 2018.

WONG, R. S. Y. Apoptosis in cancer : from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, v. 30, n. 1, p. 87, 2011. Disponível em: <<http://www.jeccr.com/content/30/1/87>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO report on cancer*. [S.l.: s.n.], 2020.

XU, D. C.; ARTHURTON, L.; BAENA-LOPEZ, L. A. Learning on the Fly : The Interplay between Caspases and Cancer. v. 2018, 2018.

YANG, J. C. *et al.* Selective targeting of breast cancer cells through ROS-mediated mechanisms potentiates the lethality of paclitaxel by a novel diterpene, gelomulide K. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 51, n. 3, p. 641–657, 2011.

YANO, H. *et al.* Attenuation by d-limonene of sodium chloride-enhanced gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *International Journal of Cancer*, cited By 15, v. 84, n. 5, p. 665–668, 1999. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0033609728&partnerID=40&md5=fc81ab0efa7a428864a3b0da800c4b83>>.

YU, X. *et al.* D-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer. *ONCOTARGETS AND THERAPY*, v. 11, p. 1833–1847, 2018.

YUAN, R. *et al.* Natural products to prevent drug resistance in cancer chemotherapy: a review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1401, n. 1, p. 19–27, 2017.

ZEINELDIN, R. Cancer Nanotechnology Methods and Protocols Edited by. v. 1530, p. 247–254, 2017.

ZHOU, J. *et al.* The Drug-Resistance Mechanisms of Five Platinum-Based Antitumor Agents. *Frontiers in Pharmacology*, v. 11, n. March, p. 1–17, 2020.

ZUGAZAGOITIA, J. *et al.* Current Challenges in Cancer Treatment. *Clinical Therapeutics*, v. 38, n. 7, p. 1551–1566, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026>>.

APÊNDICE A

ARTIGO SUBMETIDO A RECENT PATENTS ON ANTI-CANCER DRUG DISCOVERY-
QUALIS A2 PARA MEDICINA I

PATENTED TERPENES WITH ANTITUMOR ACTIVITY: A REVIEW

Juliana de Vasconcelos Cerqueira Braz¹, José Adão Carvalho Nascimento Júnior², Mairim Russo Serafini^{1,3}

¹*Postgraduate in Health Sciences, Federal University of Sergipe (UFS), Cláudio Batista St, s/n, Sanatório, Aracaju-SE, Brazil.*

²*Postgraduate in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Sergipe (UFS), Marechal Rondon Avenue s/n, São Cristóvão, SE, Brazil.*

³*Department of Pharmacy, Federal University of Sergipe (UFS), Marechal Rondon Avenue s/n, São Cristóvão, SE, Brazil.*

Corresponding address

* Postgraduate in Health Sciences, Federal University of Sergipe (UFS), Marechal Rondon Avenue s/n, São Cristóvão, SE, Zipcode 49100-000, Brazil. E-mail(s):

juli.vcerqueirabraz@outlook.com

APÊNDICE B

ARTIGO SUBMETIDO CURRENT PHARMACEUTICAL DESIGN- QUALIS B1 PARA
MEDICINA I

MECHANISM OF ACTION OF LIMONENE IN TUMOR CELLS: A SYSTEMATIC REVIEW AND METANALYSIS

Juliana de Vasconcelos Cerqueira Braz¹, Fernanda Oliveira de Carvalho¹, Daniele de Vasconcelos Cerqueira Meneses¹, Fernanda Araújo Felipe Calixto¹, Heralizandra Santa Rosa Santana¹, Isabela Barros Almeida¹, Luana Aline Gonçalves de Aquino¹, Adriano Antunes de Souza Araújo^{1,2}, Mairim Russo Serafini^{1,2}

¹*Postgraduate in Health Sciences, Federal University of Sergipe (UFS), Cláudio Batista St, s/n, Sanatório, Aracaju-SE, Brazil.*

²*Department of Pharmacy, Federal University of Sergipe (UFS), Marechal Rondon Avenue s/n, São Cristóvão, SE, Brazil.*

Corresponding address

* Department of Pharmacy, Federal University of Sergipe (UFS), Marechal Rondon Avenue s/n, São Cristóvão, SE, Zipcode 49100-000, Brazil. E-mail(s): juli.vcerqueirabraz@outlook.com