



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**LORRANE NERE DE LIMA**

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO ÁLCOOL PERÍLICO  
NA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA DOXORRUBICINA  
EM CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180**

**SÃO CRISTÓVÃO**

**2026**

**LORRANE NERE DE LIMA**

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO ÁLCOOL PERÍLICO NA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA DOXORRUBICINA EM  
CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180**

**2026**

**LORRANE NERE DE LIMA**

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO ÁLCOOL  
PERÍLICO NA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA  
DOXORRUBICINA EM CAMUNDONGOS COM  
SARCOMA 180**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

**Orientadora:** Prof. Dra. Sandra Lauton Santos  
**Co-orientador:** Prof. Dr. Lucas Andrade de Sá

**SÃO CRISTÓVÃO**

**2026**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

L732e Lima, Lorrane Nere de  
Estudo da interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180 / Lorrane Nere de Lima ; orientadora Sandra Lauton Santos. – São Cristóvão, SE, 2026.  
77 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2026.

Sarcoma. 2. Agentes antineoplásicos. 3. Doxorubicina. 4. Toxicidade. 5. Monoterpenos. 6. Estresse oxidativo. I. Santos, Sandra Lauton, orient. II. Título.

CDU 616-006.3.04:615.277

**LORRANE NERE DE LIMA**

# **ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO ÁLCOOL PERÍLICO NA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA DOXORRUBICINA EM CAMUNDONGOS COM SARCOMA 180**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

---

**Coorientador: Prof. Dr. Lucas Andrade de Sá**

---

**1º Examinador: Profa. Dra. Cristiane Bani Corrêa**

---

**2º Examinador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Amaral**

## **AGRADECIMENTOS**

Chegando ao fim de mais uma etapa da minha vida quero agradecer as pessoas que

prestaram seu apoio, acolhimento, ajuda e torceram por mim durante essa caminhada. Um agradecimento especial a minha mãe, Maria Nere, mais conhecida como Deuzinha, em seus conselhos sempre foram transmitidas mensagens de força, determinação e esperança. Agradeço também a meu parceiro Micael Andrade, por todo apoio, ajuda e compreensão, tornou essa trajetória muito mais leve e com mais sentido. Agradeço também as pessoas que contribuíram diretamente com a realização desta pesquisa, “meus” alunos de iniciação científica, Edilene e Guilherme, que apesar dos problemas enfrentados sei que sem a ajuda deles não seria possível concretizar esse sonho. Também agradeço a ajuda e auxílio de Ma. Iana, Ma. Hevely, Me. João Cruz, Gideovania e Ma. Ana Carla nos experimentos. Agradeço ao Prof. Dr. Lucas de Sá, que já na reta final dessa etapa aceitou me co-orientar formalmente, mas que já vinha contribuindo com a pesquisa desde o início do mestrado, com sugestões e conselhos. Aos professores, Dr. Enilton Camargo, Dr. Daniel Baduaê, Dr. Josemar Batista e Dra. Cristiane Bani agradeço por ter ajudado a solucionar problemas que me deparei durante o processo. Agradeço também a orientação da Prof. Dra. Sandra Lauton. E, acima de tudo, agradeço a Deus que, com certeza, está me ajudando a superar as dificuldades. Obrigada!

## **RESUMO**

**Estudo da interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180, Lorrane Nere de Lima, São Cristóvão, 2026.** O manejo terapêutico dos sarcomas permanece sendo um desafio clínico em função da alta heterogeneidade e complexidade dessas neoplasias. Diante disso, a associação de

antineoplásicos é fundamental para elevar a eficácia antitumoral e atenuar os efeitos tóxicos. A doxorubicina, fármaco de escolha no tratamento de sarcomas, possui ampla eficácia clínica, contudo pode causar risco de cardiotoxicidade, além de hepatotoxicidade e toxicidade hematológica que são mediados pelo estresse oxidativo e inflamação. O álcool perfílico, monoterpeneo com propriedades anticancerígenas, antioxidantes e anti-inflamatórias, poderia potencializar o efeito antitumoral da doxorubicina e atenuar seus efeitos tóxicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a interferência do álcool perfílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. Para isso, 56 camundongos *Swiss* machos, transplantados com células de Sarcoma 180, foram distribuídos em 8 grupos (n=7), sendo: Salina [tween 80 0,2%, via oral, em dias consecutivos + cloreto de sódio 0,9%, em dias alternados, via intraperitoneal (ip.)]; DOX (doxorubicina 2 mg/kg, em dias alternados, ip.); POH 50 (álcool perfílico de 50 mg/kg/dia, via oral), POH 100 (álcool perfílico de 100 mg/kg/dia, via oral), POH 200 (álcool perfílico de 200 mg/kg/dia, via oral), POH 50 + DOX (álcool perfílico de 50 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip.) POH 100 + DOX (álcool perfílico de 100 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip.) e POH 200 + DOX (álcool perfílico de 200 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip.). Esses tratamentos foram realizados durante 9 dias. Após o experimento, foram avaliados parâmetros de inibição tumoral, massa corporal e dos órgãos, marcadores bioquímicos de lesão cardíaca e hepática, estresse oxidativo no tecido cardíaco e hepático - através dos níveis de malondialdeído (MDA), sulfidrilas totais e atividade da glutathione peroxidase (GPX) e superóxido dismutase (SOD) - e análise hematológica. Os dados foram processados através dos testes de Shapiro-Wilk, análise de variância (uma ou duas vias) e pós-teste de Tukey. Os resultados mostraram que o tratamento combinado não apresentou efeito antitumoral significativo. Nos parâmetros toxicológicos, o tratamento combinado levou a perda de massa corporal e da massa do coração e fígado, bem como, elevação dos níveis de marcadores bioquímicos de lesão cardíaca e hepática, especialmente nos grupos POH 50 + DOX e POH 100 + DOX. No estresse oxidativo do tecido cardíaco, os grupos POH 100 + DOX e POH 200 + DOX, elevaram os níveis de MDA, com aumento da atividade da SOD no último grupo. Enquanto no tecido hepático, ocorreu redução dos níveis de MDA nos dois grupos do tratamento combinado e aumento da atividade da GPX. Na análise hematológica foi observado que no tratamento combinado, as alterações induzidas pela doxorubicina persistiram. Portanto, o álcool perfílico combinado a doxorubicina não se mostrou promissor no tratamento do sarcoma 180.

Palavras-chave: Sarcoma; Doxorubicina; Álcool perfílico; Antitumoral; Toxicidades; Estresse oxidativo.

## ABSTRACT

**Study of the interference of perillyl alcohol in the antitumor activity of doxorubicin in mice with sarcoma 180, Lorraine Nere de Lima, São Cristóvão, 2026.** The therapeutic management of sarcomas remains a clinical challenge due to the high heterogeneity and complexity of these neoplasms. Therefore, the combination of antineoplastic agents is fundamental to increase antitumor efficacy and mitigate toxic effects. Doxorubicin, the drug of choice in the treatment of sarcomas, has broad clinical efficacy; however, it can cause a risk of cardiotoxicity, as well as hepatotoxicity and hematological toxicity mediated by oxidative stress and inflammation. Perillyl alcohol, a monoterpene with

anticancer, antioxidant, and anti-inflammatory properties, could potentiate the antitumor effect of doxorubicin and attenuate its toxic effects. Therefore, the aim of this study was to evaluate the interference of perillyl alcohol on the antitumor activity of doxorubicin in mice with sarcoma 180. For this, 56 male Swiss mice, transplanted with Sarcoma 180 cells, were distributed into 8 groups (n=7), namely: Saline [tween 80 0.2%, orally, on consecutive days + sodium chloride 0.9%, on alternate days, intraperitoneally (ip.)]; DOX (doxorubicin 2 mg/kg, on alternate days, i.p.); POH 50 (perillyl alcohol 50 mg/kg/day, orally), POH 100 (perillyl alcohol 100 mg/kg/day, orally), POH 200 (perillyl alcohol 200 mg/kg/day, orally), POH 50 + DOX (perillyl alcohol 50 mg/kg/day, orally + doxorubicin 2 mg/kg, every other day, intraperitoneally), POH 100 + DOX (perillyl alcohol 100 mg/kg/day, orally + doxorubicin 2 mg/kg, every other day, intraperitoneally), and POH 200 + DOX (perillyl alcohol 200 mg/kg/day, orally + doxorubicin 2 mg/kg, every other day, intraperitoneally). These treatments were administered for 9 days. Following the experiment, parameters of tumor inhibition, body and organ mass, biochemical markers of cardiac and hepatic injury, oxidative stress in cardiac and hepatic tissue – through levels of malondialdehyde (MDA), total sulfhydryls, and activity of glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) – and hematological analysis were evaluated. Data were processed using the Shapiro-Wilk test, analysis of variance (one-way or two-way), and Tukey's post-hoc test. The results showed that the combined treatment did not present a significant antitumor effect. In toxicological parameters, the combined treatment led to loss of body mass and heart and liver mass, as well as elevation of levels of biochemical markers of cardiac and hepatic injury, especially in the POH 50 + DOX and POH 100 + DOX groups. In oxidative stress of cardiac tissue, the POH 100 + DOX and POH 200 + DOX groups showed elevated MDA levels, with increased SOD activity in the latter group. In liver tissue, MDA levels decreased in both combined treatment groups, and GPX activity increased. Hematological analysis showed that the alterations induced by doxorubicin persisted in the combined treatment. Therefore, perillyl alcohol combined with doxorubicin did not show promise in the treatment of sarcoma 180.

Keywords: Sarcoma; Doxorubicin; Perillyl alcohol; Antitumor; Toxicities; Oxidative stress.

## **RESUMO VOLTADO PARA A SOCIEDADE**

**Estudo da interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180, Lorrane Nere de Lima, São Cristóvão, 2026.** O manejo terapêutico dos sarcomas permanece sendo um desafio clínico em função da alta heterogeneidade e complexidade dessas neoplasias. Diante disso, a associação de antineoplásicos é fundamental para elevar a eficácia antitumoral e atenuar os efeitos tóxicos. A doxorubicina, fármaco de escolha no tratamento de sarcomas, possui ampla eficácia clínica, contudo pode causar risco de cardiotoxicidade, além de hepatotoxicidade e toxicidade hematológica que são mediados pelo estresse oxidativo e inflamação. O álcool perílico, monoterpeneo com propriedades anticancerígenas, antioxidantes e anti-inflamatórias, poderia potencializar o efeito antitumoral da doxorubicina e atenuar seus efeitos tóxicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a interferência do álcool

perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. Para isso, foi realizado experimento com camundongos Swiss machos, que foram transplantados com células de Sarcoma 180 e divididos em grupos cujos tratamentos foram: veículo do álcool perílico e doxorubicina (grupo salina); doxorubicina 2 mg/kg, em dia alternados, ip. (grupo DOX); álcool perílico de 50 mg/kg/dia, via oral (grupo POH 50), álcool perílico de 100 mg/kg/dia, via oral (grupo POH 100), álcool perílico de 200 mg/kg/dia, via oral (grupo POH 200), álcool perílico de 50 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip. (grupo POH 50 + DOX), álcool perílico de 100 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip. (grupo POH 100 + DOX) e álcool perílico de 200 mg/kg/dia, via oral + doxorubicina de 2 mg/kg, em dias alternados, ip. (grupo POH 200 + DOX). Esses tratamentos foram realizados durante 9 dias. Após o experimento, foram avaliados parâmetros de inibição tumoral, massa corporal e dos órgãos, marcadores bioquímicos de lesão cardíaca e hepática, estresse oxidativo no tecido cardíaco e hepático e análise hematológica. Com os dados obtidos desta pesquisa foi realizada a análise estatística. Nos resultados observou-se que o tratamento combinado não apresentou efeito antitumoral significativo. Quanto aos parâmetros toxicológicos, o tratamento combinado levou a perda de massa corporal e da massa do coração e fígado, bem como, elevação dos marcadores bioquímicos de lesão cardíaca e hepática, especialmente nos grupos POH 50 + DOX e POH 100 + DOX. No estresse oxidativo do tecido cardíaco, os grupos POH 100 + DOX e POH 200 + DOX, causaram peroxidação lipídica (dano oxidativo a lipídios presentes nas células), mas também levou ao aumento da defesa antioxidante no último grupo. Enquanto no tecido hepático, ocorreu redução da peroxidação lipídica nos dois grupos do tratamento combinado e aumento da defesa antioxidante. Na análise hematológica foi observado que no tratamento combinado, as alterações induzidas pela doxorubicina persistiram. Portanto, o álcool perílico combinado a doxorubicina não se mostrou promissor no tratamento do sarcoma 180.

Palavras-chave: Sarcoma; Doxorubicina; Álcool perílico; Antitumoral; Toxicidades; Estresse oxidativo.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação esquemática do mecanismo de envenenamento da topoisomerase II pelas antraciclina.....20
- Figura 2. O efeito citotóxico da doxorubicina está diretamente relacionado às espécies reativas de oxigênio.....26
- Figura 3. Estrutura química do álcool perílico, conformação em 3D.....29
- Figura 4. Desenho experimental.....41
- Figura 5. Interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. ....46
- Figura 6. Alteração da massa dos órgãos no tratamento com álcool perílico combinado a

doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	49
Figura 7. Estado redox do tecido cardíaco no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. ....	51
Figura 8. Estado redox do tecido hepático no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Alteração da massa corporal no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	48
Tabela 2. Perfil de lesão cardíaca e hepática no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 18.....	50
Tabela 3. Parâmetros hematológicos no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS



ABC	Cassete de ligação de ATP
ABCB1	Membro 1 da subfamília B do cassete de ligação a ATP
ABCB8	Membro 8 da subfamília B do cassete de ligação a ATP
ALT	Alanina aminotransferase
AKT	Proteína Quinase B
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
ANOVA	Análise de variância
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
CDKs	Quinases dependentes de ciclina
CK-total	Creatina quinase total
CK-MB	Creatina quinase MB
EDTA	Ácido etilendiamino tetracético
E.P.M.	Erro padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
GPX	Glutationa peroxidase
GSDMD	Clivagem de gasdermina D

GSDME	Clivagem de gasdermina E
GSH	Glutathiona reduzida
HIF-1 $\alpha$	Fator Induzível por Hipóxia-1 $\alpha$
ip.	Via intraperitoneal
JNK	c-Jun N-terminal cinase
Keap1	Proteína 1 associada a ECH semelhante a kelch
MAPKs	Proteínas quinases ativadas por mitógenos
MDA	Malondialdeído
mTOR	Alvo mecânico da rapamicina
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NLRP3	Proteína receptora de domínio de ligação de nucleotídeo 3
Nrf-2	Factor nuclear E2 relacionado ao fator eritróide 2
NF-kB	Fator Nuclear kappa B
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
TLRs	Receptores Toll-like
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1 Sarcomas.....	17
2.2 Doxorubicina .....	19
2.2.1 Complicações clínicas .....	21
2.3 Álcool perílico .....	29
2.3.1 Ocorrência e classificação .....	29
2.3.2 Propriedades terapêuticas .....	30
2.4 Terapia combinada .....	35
<b>3. OBJETIVO.....</b>	<b>37</b>
3.1 Objetivo geral .....	37
3.2 Objetivos específicos.....	37
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
4.1 Material.....	38
4.1.1 Equipamentos.....	38
4.1.2 Fármacos e reagentes.....	38
4.2 Métodos .....	39
4.2.1 Animais.....	39
4.2.2 Manutenção das células do tumor sarcoma 180 .....	39

4.2.3 Grupos experimentais.....	40
4.2.4 Desenho experimental.....	40
4.2.5 Avaliação da inibição do crescimento tumoral.....	41
4.2.6 Avaliação dos parâmetros toxicológicos.....	42
4.2.6.1 Determinação da massa corporal e massas do tumor, coração e fígado.....	42
4.2.6.2 Avaliação dos marcadores bioquímicos de lesão.....	42
4.2.6.3 Realização da análise hematológica.....	42
4.2.7 Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo.....	43
4.2.7.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ou thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).....	43
4.2.7.2 Determinação de sulfidrilas totais.....	43
4.2.7.3 Atividade da superóxido dismutase.....	44
4.2.7.4 Atividade da glutathione peroxidase.....	44
4.2.7.5 Determinação da concentração total de proteína.....	44
4.2.8 Análise estatística.....	45
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
5.1 Interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	46
5.2 Alteração da massa corporal e dos órgãos no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	47
5.3 Perfil de lesão cardíaca e hepática no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	48
5.4 Estado redox do tecido cardíaco e hepático no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos portadores de sarcoma 180.....	49
5.5 Parâmetros hematológicos no tratamento com álcool perílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.....	52
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>77</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas são um problema de saúde pública global, configurando-se como uma das principais causas de mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis e cuja incidência é crescente (BRAY *et al.*, 2024; OPAS, 2025). Essas doenças são classificadas de acordo com seu local de origem e alterações celulares e essas características influenciam no prognóstico (INCA, 2020). Neste sentido, os sarcomas, um grupo de neoplasias heterogêneas que desenvolvem-se a partir de tecidos de origem mesenquimal, representam um desafio terapêutico, pois são tumores raros, biologicamente agressivos e podem surgir em praticamente todos os sítios anatômicos (GRUNEWALD *et al.*, 2020). Essas neoplasias dividem-se em sarcomas de partes moles e ósseos que possuem prevalências de 1% e 0,2% de todas as neoplasias, respectivamente (BECKINGSALE; SHAW, 2017).

A doxorubicina é o fármaco de escolha no tratamento de sarcomas, no entanto, devido ao alto risco de cardiotoxicidade associada a esse fármaco, existem algumas restrições quanto ao seu uso (BALOUGH *et al.*, 2024; CAMILLI *et al.*, 2024). Além disso, a doxorubicina pode também induzir hepatotoxicidade e toxicidade hematológica levando a diversas complicações clínicas (DAMODAR *et al.*, 2014; MUDD; GUDDATI, 2021; NURGALIEVA; LIU; DU, 2010).

A inibição da topoisomerase II - enzima que participa da transcrição e replicação gênica - e o estresse oxidativo são os principais mecanismos envolvidos com o efeito antitumoral da

doxorubicina e também contribuem para o desenvolvimento da cardiotoxicidade (MATTIOLI *et al.*, 2023). Em especial, o estresse oxidativo têm sido implicado com a fisiopatologia da cardiomiopatia induzida pela doxorubicina e este ocorre pela geração descontrolada de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e de Nitrogênio (ERNs) e supressão das enzimas antioxidantes endógenas, o que prejudica a eliminação das espécies reativas e, conseqüentemente, leva ao seu acúmulo nas células (KITAKATA *et al.*, 2022; KONG *et al.*, 2022). Somado a isso, a doxorubicina é capaz de se complexar ao ferro livre e induzir reações de Fenton e Haber-Weiss, que contribuem para o desequilíbrio redox (ITO-HAGIWARA *et al.*, 2025; MATTIOLI *et al.*, 2023).

Para contornar a cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina, as principais estratégias incluem a utilização de agentes cardioprotetores — como antioxidantes, quelantes de ferro e fármacos indicados para insuficiência cardíaca — além da redução da dose cumulativa de doxorubicina (BALOUGH *et al.*, 2024; CRUZ; RODRIGUES; CAMPELO, 2016). A associação da doxorubicina a outros antineoplásicos também é uma abordagem comumente praticada, que tem como objetivo potencializar a eficácia terapêutica, impedir a resistência farmacológica e atenuar os efeitos adversos (ANJALI BISHT *et al.*, 2024; SINHA *et al.*, 2025).

Compostos isolados de plantas geralmente apresentam múltiplas ações benéficas ao organismo (NAEEM *et al.*, 2022; YESHI *et al.*, 2022). Em especial, monoterpenos e monoterpenóides - compostos voláteis presentes em óleos essenciais - possuem diversas propriedades terapêuticas, incluindo atividade anticancerígena (KOZIOL, *et al.* 2014, AIAN *et al.*, 2021). Dentre eles o álcool perílico atraiu muita atenção por apresentar forte atividade anticancerígena, tendo sido objeto de vários estudos clínicos (ZHANG *et al.*, 2024).

O efeito anticâncer do álcool perílico foi investigado em vários modelos experimentais, incluindo no tumor sarcoma 180, no qual foi capaz de reduzir significativamente a massa tumoral na dose de 200 mg/kg/dia, quando administrado durante 7 dias por via intraperitoneal (ip.) (ANDRADE *et al.*, 2016). De modo semelhante, a complexação do álcool perílico a  $\beta$ -ciclodextrina, um carreador de drogas, promoveu inibição do tumor sarcoma 180 com dose inferior desse monoterpeno (REZENDE *et al.*, 2021). Além disso, em estudo conduzido em nosso laboratório, o álcool perílico protegeu o coração dos danos induzidos pela doxorubicina no modelo de cardiotoxicidade aguda (SÁ, 2024). Com base nesses dados, foi levantada a hipótese de que o álcool perílico combinado a doxorubicina poderia potencializar o efeito antitumoral deste antineoplásico e paralelamente atenuar seus efeitos tóxicos.

Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Sarcomas

Clinicamente os sarcomas são um grupo de neoplasias heterogêneas que se desenvolvem a partir de tecidos de origem mesenquimal como ossos, músculos, gordura, cartilagem, tendões, nervos e vasos sanguíneos. Essas malignidades são divididas em sarcomas de partes moles e sarcomas ósseos, ainda, dentro de cada um desses grupos existem vários subtipos histológicos (GRUNEWALD *et al.*, 2020). Os sarcomas de partes moles são mais prevalentes, sendo responsáveis por 70 a 80% da totalidade dessas neoplasias e corresponde a 1% de todos os cânceres; já os sarcomas ósseos representam 0,2% nessa categoria (BECKINGSALE; SHAW, 2017).

Existem mais de 70 subtipos de sarcomas de tecidos moles e a respeito dos dados epidemiológicos sobre cada subtipo, estes são escassos devido às limitações no diagnóstico dessas malignidades (GRUNEWALD *et al.*, 2020). Os subtipos mais frequentes na população do Reino Unido são o leiomiossarcoma (22%) e o lipossarcoma (12%) e estes desenvolvem-se frequentemente nas extremidades do corpo, principalmente nos membros inferiores (BECKINGSALE; SHAW, 2017).

A incidência dos sarcomas de tecidos moles no Reino Unido foi de 3.298 novos casos em 2010 e, entre os sexos, estes foram mais prevalentes em homens (51%) do que em mulheres (49%). Essas doenças afetam em sua maioria pessoas com idade igual ou superior a 50 anos, correspondendo a 65% dos casos (BECKINGSALE; SHAW, 2017). Em estudo que avaliou a

população da Áustria, entre os anos de 1983 e 2020, foram diagnosticados 11.893 casos de sarcomas de tecidos moles. Quanto às taxas de incidência por faixa etária, foi observado picos entre 0 a 4 anos de idade e a partir dos 75 anos, sendo este mais pronunciado. Além disso, a sobrevida em 5 anos foi de 53,6% (SMOLLE *et al.*, 2025). Já na Inglaterra, foram registrados uma média de 3.943 casos anualmente, representando 0,8% de todas as neoplasias malignas e com taxa de sobrevida de 70,2% em 5 anos (BACON *et al.*, 2022).

No grupo dos tumores ósseos primários malignos, os tipos mais comuns no Reino Unido foi o condrossarcoma (33%), o osteossarcoma (32%), o sarcoma de Ewing (15%) e o cordoma (5%) (FREEMAN; SUMATHI; JEYS, 2018). O osteossarcoma e o sarcoma de Ewing predominam em jovens e seu desenvolvimento coincide com os períodos de crescimento rápido; enquanto o condrossarcoma é mais prevalente em adultos devido à sua natureza produtora de cartilagem. A taxa de sobrevida global desses tumores é inferior a 70% em 5 anos e menos de 20% em pacientes com metástase ou recidiva, em 3 anos (GRUNEWALD *et al.*, 2020). A incidência e o desenvolvimento dessas patologias são influenciadas por uma combinação de fatores geográficos, variáveis biológicas como idade e sexo, além de predisposições genéticas específicas e exposições ambientais a radiações ou produtos químicos (HOSSEINI *et al.*, 2025).

O microambiente tumoral é responsável pela alta complexidade dos sarcomas, pois nessas neoplasias coexistem subpopulações de células cancerígenas, além de células teciduais e células do sistema imunológico. Além disso, as células cancerígenas estão sujeitas a modulação da matriz extracelular e as condições adversas locais – a exemplo da escassa disponibilidade de metabólitos, baixa tensão de oxigênio e baixo pH - que podem favorecer respostas adaptativas como a angiogênese, além de favorecer a capacidade de metástase e resistência. Essas características contribuem para a maior agressividade dessas neoplasias e dificultam o sucesso da terapia oncológica (GRUNEWALD *et al.*, 2020).

A base do tratamento de sarcomas consiste na ressecção cirúrgica do tumor primário, que é geralmente acompanhada de quimioterapia neoadjuvante e/ou adjuvante e/ou radioterapia, principalmente nos casos mais graves. Nesse contexto, a doxorrubicina é amplamente utilizada tanto no tratamento de sarcomas ósseas como de tecidos moles (GRUNEWALD *et al.*, 2020). Os pacientes tendem a se beneficiar mais da quimioterapia nos casos mais graves. Neste cenário, a doxorrubicina é o fármaco de primeira linha em sarcomas de tecidos moles metastáticos, produzindo taxas de resposta entre 12% e 24%. Protocolos combinados também são comumente utilizados, geralmente associando-se a doxorrubicina ao agente alquilante ifosfamida (LINCH *et al.*, 2014). A quimioterapia combinada também melhorou consideravelmente o prognóstico do osteossarcoma, esse progresso foi possível

através da introdução do tratamento neoadjuvante com o esquema MAP - metotrexato, doxorrubicina e cisplatina -, que permanece como protocolo padrão tanto na América quanto na Europa (ROBINSON; DAVIS, 2024).

Na pesquisa científica são usados vários modelos experimentais com sarcomas, cujo objetivo consiste em promover o desenvolvimento de medicamentos e no estudo da biologia desses tumores. Dentre eles, destacam-se as linhas celulares e modelos *in vivo*, estes incluem animais geneticamente modificados e xenoinxertos. O xenoinxerto de células do sarcoma 180 é especialmente popular em pesquisas científicas. Esse tumor, também chamado tumor de Crocker, foi identificado pelo Dr. William H. Woglom, no ano de 1914, em camundongo albino. Após diversas análises, sua origem mesenquimal foi confirmada, classificando-o como sarcoma. Sendo um dos primeiros tumores descobertos em roedores, ele se consolidou como um modelo experimental de relevância (FERREIRA *et al.*, 2016)

## 2.2 Doxorrubicina

Doxorrubicina é um antineoplásico da classe das antraciclina, ou antibióticos antracíclicos, com indicação para pacientes oncológicos adultos e pediátricos (GROARKE; NOHRIA, 2015). Considerado um dos quimioterápicos mais eficazes na oncologia, doxorrubicina possui amplo espectro de ação sendo usado no tratamento de neoplasias sólidas à hematológicas como carcinoma de ovário, sarcomas de tecidos moles e ósseos, leucemia, linfoma, entre outros (CAMILLI *et al.*, 2024). Sua descoberta ocorreu logo após a primeira antraciclina e esta foi isolada a partir de um pigmento vermelho produzido pela bactéria *Streptomyces peucetius*, na década de 1960, sendo denominado de daunomicina. Poucos anos depois o tratamento mutagênico dessa bactéria resultou na variante *Streptomyces peucetius var. caesius* que produziu o metabólito doxorrubicina (ARCAMONE *et al.*, 1969; MARCO *et al.*, 1963). A manifestação da cardiotoxicidade em pacientes tratados com a daunomicina e doxorrubicina, tornou-se aparente poucos anos após sua aplicação clínica, motivando a busca por análogos com menos efeitos cardiotóxicos (MINOTTI *et al.*, 2004; MOTT, 1997).

A Doxorrubicina tem como principal mecanismo de ação a inibição da enzima topoisomerase II. Essa enzima é essencial para resolver o superenrolamento das fitas de DNA durante os processos de replicação e transcrição, principalmente na fase S e G2 do ciclo celular. Sendo responsável pela separação da fita molde de DNA da recém sintetizada, ao promover rupturas da dupla fita e restabelecer suas ligações (figura 1). As antraciclina inibem a topoisomerase II após a ruptura da dupla fita de DNA, impedindo que essa macromolécula seja

reparada. Somado a isso, esses fármacos intercalam-se na estrutura do DNA, formando o complexo topoisomerase II–doxorrubicina–DNA, que induz danos a essa macromolécula. Em conjunto, esses mecanismos ativam a apoptose (CAPELÔA *et al.*, 2019; ZANDEN; QIAO; NEEFJES, 2020).

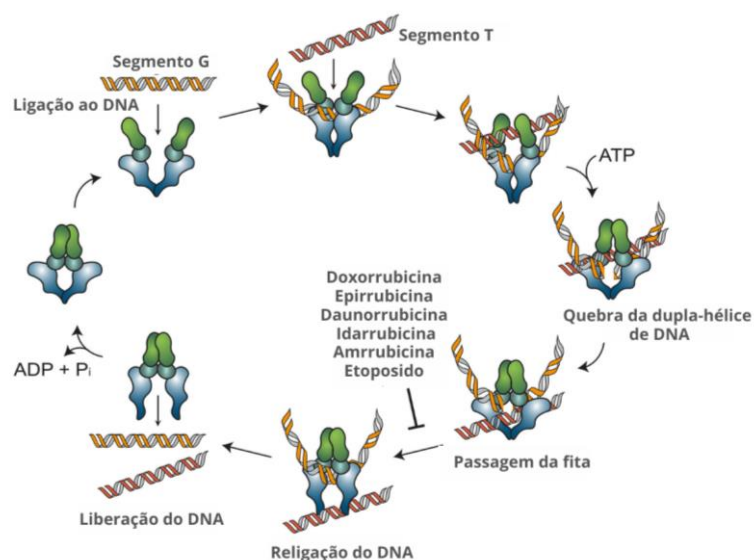


Figura 1. Representação esquemática do mecanismo de envenenamento da topoisomerase II pelas antraciclinas. Para emaranhar o DNA ou remover superenrolamentos de DNA, a topoisomerase II se liga ao DNA, introduzindo uma quebra de fita dupla transitória em uma das fitas de DNA (o segmento G), permitindo que a segunda fita de DNA (o segmento T) passe. Após a religação do segmento G, a topoisomerase II é liberada do DNA. A maioria dos venenos de topoisomerase II, incluindo a maioria das antraciclinas (doxorrubicina, daunorrubicina, epirrubicina, idarrubicina e amrrubicina) e etoposídeo, estabilizam o complexo de topoisomerase II após a introdução da quebra de fita dupla de DNA e impedem que a quebra do DNA seja reparada. Adaptado (ZANDEN; QIAO; NEEFJES, 2020).

A indução de estresse oxidativo também agrega ao efeito antitumoral da doxorrubicina (MATTIOLI *et al.*, 2023; SRITHARAN; SIVALINGAM, 2025). Esse evento é definido como “um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a potenciais danos” (SIES, 1997). Sendo os agentes oxidantes pequenas moléculas contendo oxigênio - EROs - e nitrogênio - ERNs - com potencial de desencadear reações redox. Essas moléculas podem ser radicais livres, com um elétron desempenhado na última camada de valência e não radicais; como também podem apresentar carga ou não (JOMOVÁ *et al.*, 2023; LENZEN, 2017). São formadas em processos fisiológicos, mas quando em excesso pode levar a diversas condições patológicas ao causar danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA culminando na morte celular (JOMOVÁ *et al.*, 2023; PERILLO *et al.*, 2020).

Nessas condições, as células cancerígenas são vulneráveis ao aumento adicional de EROs promovido por antineoplásicos (NAKAMURA; TAKADA, 2021). Isso acontece porque essas células já operam sob níveis basais elevados de EROs, os quais sustentam a sinalização oncogênica e modulam vias cruciais como proliferação, metabolismo glicídico e sobrevivência.

Contudo, ao ultrapassarem um limiar crítico, as EROs induzem a morte celular (LIOU; STORZ, 2010; IQBAL *et al.*, 2024).

Para tanto, mecanismos de resistência à doxorubicina podem surgir tanto de mutações ou modulação da expressão da topoisomerase II $\alpha$  - subtipo presente em células de divisão rápida - como pelo aumento da defesa antioxidante, através da regulação positiva do Factor nuclear E2 relacionado ao fator eritróide 2 (Nrf-2) (SINHA *et al.*, 2025; MIRZAEI *et al.*, 2021). No primeiro cenário, a resistência farmacológica pode ocorrer devido a supressão da enzima, no entanto, a superexpressão da mesma também foi associada a mecanismos de resistência. Os motivos para esse evento são diversos, como a mudança de localização da topoisomerase II $\alpha$ , que passa a ser citoplasmática ao invés de nuclear; supressão da sinalização apoptótica por trás da sua inibição; redução na sua degradação e até mutações em domínios catalíticos (MATTIOLI *et al.*, 2023).

Quanto à sinalização do Nrf-2, esse possui vários mediadores a montante que estão ligados à aquisição de resistência a doxorubicina (SINHA *et al.*, 2025; MIRZAEI *et al.*, 2021). Como exemplo, o aumento de glutatona reduzida (GSH) e a superexpressão da Glutathione S-transferase reduzem a sensibilidade a esse fármaco levando ao fracasso do tratamento (SINHA *et al.*, 2025; MIRZAEI *et al.*, 2021; MATTIOLI *et al.*, 2023).

Outro mecanismo de resistência menos específico, que afeta múltiplos fármacos, ocorre através dos transportadores ABC (cassete de ligação de ATP), que expulsam substâncias tóxicas do meio intracelular. No contexto da resistência à doxorubicina, destacam-se o ABCB1 e o ABCB8 (CAPELÔA *et al.*, 2019; MATTIOLI *et al.*, 2023). Em especial, o ABCB8 causa efluxo de ferro mitocondrial e seu silenciamento aumenta a sensibilidade de células de melanoma à doxorubicina, uma vez que, causa acúmulo do ferro intracelular contribui para intensificar os danos ao DNA mitocondrial (ELLIOTT; AL-HAJJ, 2009; KITAKATA *et al.*, 2022). Todavia, no coração, sua regulação positiva suprime a cardiomiopatia induzida por doxorubicina (ELLIOTT; AL-HAJJ, 2009; KITAKATA *et al.*, 2022).

Adicionalmente, mutações genéticas ou modificação na expressão de proteínas das vias de sinalização envolvidas na progressão do ciclo celular, proliferação e sobrevivência de células cancerígenas também favorecem a resistência aos quimioterápicos (MATTIOLI *et al.*, 2023).

### **2.2.1 Complicações clínicas**

A cardiotoxicidade é a complicação clínica mais grave da doxorubicina, caracterizada por ser dose-dependente e potencialmente irreversível com risco de vida (ITO-HAGIWARA *et*

*al.*, 2025). Em análise retrospectiva sobre o risco de insuficiência cardíaca relacionado a doxorubicina, a prevalência desta complicação foi crescente com o aumento da dose, sendo de 5% na dose cumulativa de 400 mg/m<sup>2</sup> e 16%, 26% e 48% nas doses de 500 mg/m<sup>2</sup>, 550 mg/m<sup>2</sup> e 700 mg/m<sup>2</sup>, respectivamente (SWAIN; WHALEY; EWER, 2003). Sendo a dose máxima recomendada de 400 a 550 mg/m<sup>2</sup>, que já é clinicamente relevante em termos de cardiotoxicidade (CRUZ; RODRIGUES; CAMPELO, 2016). Além disso, o tratamento combinado entre antraciclina e outros tratamentos cardiotoxícos, a exemplo da radioterapia na região torácica e de terapias direcionadas ao HER2 (receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano), aumenta ainda mais o risco de complicações cardiovasculares (SAIDI; ALHARETHI, 2011; HAJJAR *et al.*, 2020).

Tradicionalmente a cardiotoxicidade induzida por antraciclina é classificada em aguda/subaguda ou crônica. A cardiotoxicidade aguda surge durante ou logo após o tratamento, são menos comuns e geralmente transitórias. As manifestações clínicas incluem arritmias, alterações eletrocardiográficas, distúrbios de condução, miocardite e pericardite. Já a forma crônica divide-se em precoce - dentro de um ano - ou tardia - após um ano-, podendo evoluir para disfunção ventricular progressiva, cardiomiopatia grave e insuficiência cardíaca (CRUZ; RODRIGUES; CAMPELO, 2016). Contudo, essa divisão temporal tem sido contestada. Evidências sugerem que a patogênese da doxorubicina promove uma lesão cardíaca contínua, sem delimitação temporal do quadro clínico. Neste sentido, as complicações podem surgir a qualquer momento como resposta ao dano inicial, muitas vezes de forma subclínica. Esse declínio assintomático da fração de ejeção do ventrículo esquerdo pode progredir silenciosamente até a manifestação de insuficiência cardíaca (BALOUGH *et al.*, 2024; CAMILLI *et al.*, 2024).

Para mitigar a cardiotoxicidade da doxorubicina algumas das alternativas utilizadas são o ajuste da dose, administração da infusão contínua em vez de em bolus e uso de substâncias e ou medicamentos com propriedades cardioprotetoras. Dentre os compostos antioxidantes promissores destacam-se a N-acetilcisteína, coenzima Q, vitaminas E e C, além disso, muitos estudos se detêm em investigar o potencial de medicamentos utilizados no tratamento da insuficiência cardíaca tais como o carvedilol (betabloqueador), candesartana (bloqueador dos receptores da angiotensina), sacubitril/valsartana (inibidores do receptor de angiotensina/neprilisina), entre outros (BALOUGH *et al.*, 2024; CRUZ; RODRIGUES; CAMPELO, 2016).

Atualmente, o único fármaco utilizado como cardioprotetor frente a doxorubicina é o Dexrazoxane (CARDIOXANE®), que atua na quelatação de ferro, reduzindo assim o estresse

oxidativo, e na inibição catalítica da topoisomerase II, protegendo o DNA dos cardiomiócitos contra danos (KITAKATA *et al.*, 2022; SZPONAR *et al.*, 2024). Segundo Baat *et al.* (2022), o uso de dexrazoxane beneficia adultos na prevenção da insuficiência cardíaca induzida pelo tratamento oncológico, mas não apresenta o mesmo efeito em crianças, nem altera a sobrevida ou a resposta tumoral. Apesar da eficácia cardioprotetora, o fármaco foi associado a um maior risco de mielossupressão e neoplasias malignas secundárias, particularmente em mulheres com câncer de mama. Embora os dados sobre novos tumores em adultos sejam escassos, a associação entre dexrazoxane e o agravamento de distúrbios hematológicos foi evidenciado.

Uma estratégia eficaz na cardioproteção foi o desenvolvimento da doxorubicina lipossomal, o lipossoma é um carreador de fármacos e a incorporação da doxorubicina a esse carreador possibilitou melhorar suas características farmacocinéticas, melhorando assim sua eficácia e limitando a toxicidade. A doxorubicina lipossomal pode se concentrar no tumor devido à presença de microvasos neste tecido e, conseqüentemente, tem uma menor distribuição em tecidos não tumorais resultando em menos efeitos adversos. Todavia, a doxorubicina lipossomal é indicada apenas no tratamento de neoplasias recorrentes ou metastáticas, principalmente no câncer de mama e sarcomas. Diversos estudos clínicos demonstraram uma redução no risco de cardiotoxicidade e de outros efeitos adversos com a doxorubicina lipossomal em comparação a doxorubicina convencional (BUCHALSKA *et al.*, 2025).

Os mecanismos da cardiotoxicidade induzida por antraciclinas são complexos e multifatoriais, apesar de serem muito bem estudados, as causas exatas da sua patogênese ainda são uma questão de pesquisa (ITO-HAGIWARA *et al.*, 2025; SONGBO *et al.*, 2019). O estresse oxidativo desempenha um papel central no desenvolvimento da cardiotoxicidade e se inter-relaciona as demais alterações, como a desregulação do cálcio, disfunção mitocondrial, anormalidades no fluxo autofágico, inflamação e morte celular de cardiomiócitos (LIANG; HE; HU, 2022; SHI *et al.*, 2023).

A doxorubicina não só é capaz de estimular a geração excessiva de espécies reativas como também suprime as defesas antioxidantes. A geração de EROs pela doxorubicina pode ocorrer através da redução catalítica do seu grupamento quinona, sendo transformado em radical semiquinona. Quando a semiquinona encontra o oxigênio molecular ( $O_2$ ) ela doa seu elétron a essa molécula, gerando como produto o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e simultaneamente regenera a quinona. Por sua vez, o radical  $O_2^{\bullet-}$  pode reagir com o óxido nítrico (NO) e formar o ânion peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), uma ERN que pode reagir rapidamente com o DNA. Além disso, a doxorubicina estimula a atividade das enzimas óxido nítrico sintase induzível e endotelial, aumentando a produção de NO (KONG *et al.*, 2022; SONGBO *et al.*, 2019). Apesar

de não reagir diretamente com macromoléculas, o  $O_2^{\bullet-}$  pode iniciar a cascata de reações redox, sendo o ponto de partida para formar espécies reativas mais deletérias (JOMOVÁ *et al.*, 2023).

Além disso, o acúmulo de EROs em cardiomiócitos é particularmente prejudicial, pois o coração produz menos enzimas antioxidantes comparado a outros tecidos (KONG *et al.*, 2022; LIANG; HE; HU, 2022). Isso se agrava ainda mais pelo fato da doxorrubicina suprimir a atividade do Nrf2, um fator de transcrição sensível a redox que regula a expressão enzimas antioxidantes, como a NAD(P)H Quinona Oxidorredutase-1, Heme Oxigenase-1, Glutathione Peroxidase (GPX), Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (NORDGREN; WALLACE, 2014; SHI *et al.*, 2023). Sendo a atuação dessas enzimas imprescindível para prevenir a cardiotoxicidade (ABUSHOUK *et al.*, 2017).

Por exemplo, a SOD desempenha uma importante função à medida que neutraliza o  $O_2^{\bullet-}$ , uma ERO responsável por iniciar reações redox, sendo normalmente produzido através da fosforilação oxidativa. Outra enzima extremamente importante é a GPX, que é capaz de degradar o  $H_2O_2$  formado nas células, protegendo-as da peroxidação lipídica e dos danos oxidativos as macromoléculas celulares, além de impedir a perpetuação das reações redox (JOMOVÁ *et al.*, 2023).

Devido a supressão dessas enzimas, o  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$  se acumulam na célula causando um ciclo de reações redox com a formação de espécies reativas ainda mais fortes, como o radical hidroxila  $OH^{\bullet-}$ . Na membrana plasmática, essa ERO pode oxidar os ácidos graxos poliinsaturados, produzindo hidroperóxidos lipídicos e, em seguida, os radicais alcóxila e peróxila. Além disso, os hidroperóxidos lipídicos podem também sofrer fragmentação oxidativa com formação de produtos tóxicos a exemplo dos  $\alpha,\beta$ -aldeídos insaturados, como 4-hidroxinonenal ou malondialdeído (MDA) (GEĠOTEK; SKRZYDLEWSKA, 2024).

Modificações redox em proteínas também são prejudiciais, visto que podem causar alterações funcionais a essas moléculas. Todavia, proteínas contendo grupamentos sulfidrilas podem ser reversivelmente oxidadas e ter suas funções preservadas, sendo a GSH responsável por mediar esse processo (PACE *et al.*, 2025). No entanto, a doxorrubicina também causa depleção nos níveis de GSH, impedindo o reparo dos danos oxidativos às proteínas (ITO-HAGIWARA *et al.*, 2025; KONG *et al.*, 2022).

A doxorrubicina também causa sobrecarga de cálcio, interferindo na atividade de suas proteínas reguladoras (SHINLAPAWITTAYATORN; CHATTIPAKORN; CHATTIPAKORN, 2022). Uma vez que o cálcio intracelular é essencial para a manutenção da função contrátil do coração, sua desregulação está diretamente associada ao desenvolvimento de arritmias, insuficiência cardíaca dentre outras doenças cardiovasculares (CARTWRIGHT

*et al.*, 2011; EISNER *et al.*, 2017). Os mecanismos envolvidos nesta alteração envolve o aumento da ativação dos canais de cálcio do tipo L, proporcionando um maior influxo de cálcio para a célula; modulação dos receptores de rianodina, através de modificações oxidativas dos grupos tios; inibe a atividade e expressão da bomba de cálcio ATPase, reduzindo assim a recaptção do cálcio no retículo sarcoplasmático e estimula a atividade do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , reduzindo a eliminação do cálcio da célula (HANNA *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2014).

A disfunção mitocondrial também possui um papel importante no desenvolvimento da cardiotoxicidade, sendo consequência do estresse oxidativo induzido por doxorubicina e a alta densidade de mitocôndrias presentes em cardiomiócitos é uma dos principais fatores para a maior suscetibilidade dos cardiomiócitos aos danos oxidativos (SCHIRONE *et al.*, 2022). Múltiplos mecanismos estão ligados à disfunção mitocondrial (figura 2), incluindo a afinidade da doxorubicina pela cardiolipina, fosfolípido na membrana mitocondrial interna. Essa interação desestabiliza os complexos da cadeia transportadora de elétrons, reduzindo a síntese de ATP (adenosina trifosfato) e promovendo a liberação de citocromo c, o que agrava o estresse oxidativo e desencadeia a apoptose. O ciclo redox da doxorubicina nesta organela também contribui com esses danos, este é catalisado pela NADPH redutase (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) que converte a quinona em semiquinona, exaurindo o NADPH mitocondrial e intensificando a depleção energética (ITO-HAGIWARA *et al.*, 2025; SHI *et al.*, 2023).

A doxorubicina também afeta a homeostase do ferro ao sequestrar esse metal para formar os complexos doxorubicina- $\text{Fe}^{2+}$  e doxorubicina- $\text{Fe}^{3+}$  levando as reações de Fenton e Haber-Weiss que culmina na peroxidação lipídica na membrana mitocondrial conduzindo a célula a ferroptose (FANG *et al.*, 2019; KITAKATA *et al.*, 2022).

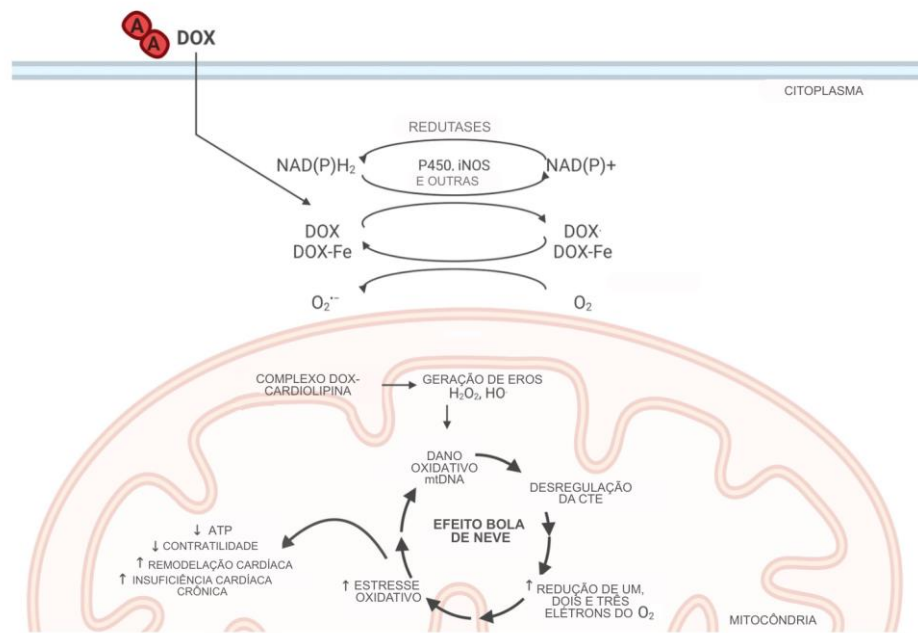


Figura 2. O efeito citotóxico da doxorrubicina está diretamente relacionado às espécies reativas de oxigênio. Resumidamente, a DOX obtém facilmente elétrons do NADH e do NADPH na presença de ferro em reações catalisadas por NADPH, citocromo P-450 redutase, iNOS e outras. Após obter um elétron, a DOX forma um radical semiquinona e transfere um elétron para o oxigênio molecular, formando  $O_2 \bullet^-$ . A presença de  $O_2 \bullet^-$  favorece a geração de outras EROs, que danificam lipídios, proteínas e DNA mitocondrial (mtDNA). O NADH é amplamente consumido no ciclo redox da DOX assim que esta se liga à cardioplipina na membrana mitocondrial interna, o que diminui a síntese de adenosina trifosfato (ATP), levando à disfunção da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. A redução de quatro elétrons do oxigênio em favor de reduções de um, dois e três elétrons, o que desencadeia estresse oxidativo e danos ao mtDNA. Esses fatores levam a um efeito de retroalimentação positiva, que finalmente se manifesta como insuficiência cardíaca. [–aumento, ↓diminuição; A–adriamicina; ADP–adenosina difosfato; CTE–cadeia de transporte de elétrons; DOX–doxorrubicina; EROs–espécies reativas de oxigênio. Adaptado (SZPONAR *et al.*, 2024).

Somado a isso, as antraciclinas também inibem e formam complexos com a topoisomerase II expressa nos cardiomiócitos, a isoforma topoisomerase II $\beta$ , esse efeito resulta na instabilidade genômica do DNA, principalmente mitocondrial (ITO-HAGIWARA *et al.*, 2025, SZPONAR *et al.*, 2024; ZANDEN; QIAO; NEEFJES, 2020). Ademais, o DNA mitocondrial é mais sensível aos danos oxidativos devido à ausência de histonas protetoras, resultando em deleções e redução do número de cópias de DNA (LEBRECHT *et al.*, 2003). Isso prejudica a síntese dos complexos da cadeia respiratória, reduzindo a produção de ATP e contribui para a geração de EROs, mantendo assim o ciclo de reações redox. Esse mecanismo de lesão persistente, mesmo após a suspensão da droga, é o principal determinante da cardiomiopatia tardia (ELLIOTT; AL-HAJJ, 2009).

Adicionalmente, a doxorrubicina interrompe o fluxo autofágico impedindo a reciclagem das mitocôndrias danificadas e redução dos danos celulares (KONG *et al.*, 2022; LI *et al.* 2016).

Um processo inflamatório pode se instaurar durante a cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina podendo desencadear a piroptose, um tipo de morte celular acionado por fatores pró-inflamatórios. A principal via envolvida nesse processo é a do NLRP3/GSDMD (proteína receptora de domínio de ligação de nucleotídeo 3/clivagem de gasdermina D) e alternativamente a GSDME (clivagem de gasdermina E) (CHRISTIDI; BRUNHAM, 2021).

Outras vias inflamatórias podem ser ativadas, como os Receptores Toll-like (TLRs) que levam a regulação positiva das Proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs). Essa sinalização promove a liberação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (Fator Nuclear kappa B) que se transloca para o núcleo estimulando a produção de citocinas como Interleucina 8 e TNF- $\alpha$ , o que intensifica a lesão celular e contribui para a indução da apoptose (CHRISTIDI; BRUNHAM, 2021; LIANG; HE; HU, 2022).

Ademais, a inflamação crônica resulta na ativação e diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, que estimula a deposição de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular no tecido, resultando no endurecimento do miocárdio. Com a progressão da fibrose ocorre remodelação cardíaca patológica e desenvolvimento de insuficiência cardíaca (LIANG; HE; HU, 2022; SUN *et al.*, 2025).

O fígado também é afetado pelos efeitos tóxicos de agentes antineoplásicos, inclusive da doxorrubicina. Embora muitos antineoplásicos comumente causem sintomas leves de comprometimento da função hepática ou manifestações clínicas reversíveis, fatores como diagnóstico prévio de hepatopatias e a terapia combinada aumentam as chances de hepatotoxicidade (DAMODAR *et al.*, 2014).

O perfil de toxicidade dos antineoplásicos é bastante variável, a maioria desses fármacos causam apenas elevações nos marcadores de função hepática como AST, ALT e bilirrubina, e uma parte desses fármacos podem ocasionar efeitos adversos mais graves, como necrose hepatocelular, colestase, esteatose, fibrose, hepatite e doença veno-oclusiva. No caso da doxorrubicina, este causa risco considerável de hepatotoxicidade (DAMODAR *et al.*, 2014). Além do aumento nos níveis séricos de AST, ALT e bilirrubina associados ao tratamento com esse fármaco, há relatos de infiltração focal de células inflamatórias e esteatose hepática em pacientes com leucemia linfoblástica, tratados com o regime contendo vincristina, prednisona e doxorrubicina (FLOYD *et al.*, 2006; MUDD; GUDDATI, 2021).

Quanto ao metabolismo da doxorrubicina, este ocorre no fígado, rins e eritrócitos por aldo-ceto redutases citoplasmáticas dependentes de NADPH e gera como produtos os metabólitos doxorrubicinol, agliconas, doxorrubicinona e 7-desoxidoxorrubicinona. Esse fármaco está sujeito a efeito de primeira passagem hepática e sua excreção ocorre

majoritariamente através da bile (SHEIBANI *et al.*, 2022; SRITHARAN; SIVALINGAM, 2021). A doxorubicina pode desencadear estresse oxidativo por meio de redução de um elétron pela NADPH:P450 oxidorreductase e supressão de enzimas antioxidantes, condições essas que são favoráveis a peroxidação lipídica, um achado característico de estresse oxidativo, além de inflamação e apoptose (DAMODAR *et al.*, 2014). Logo, produtos naturais com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-apoptóticas podem melhorar a função hepática durante o tratamento com doxorubicina (MAHMOUDI; ARASTEH; ELYASI, 2023).

Alterações hematológicas também são complicações clínicas que ocorrem com frequência durante o tratamento quimioterápico, visto que os antineoplásicos citotóxicos têm como alvo células de divisão rápida, afetando tanto células neoplásicas como as células do sangue, pois se renovam constantemente. No contexto da doxorubicina, seus mecanismos citotóxicos são mediados pela inibição da topoisomerase II $\alpha$  que é intensamente expressa em células com alta taxa de proliferação, o que leva a interrupção do ciclo celular resultando em efeitos adversos clássicos como alopecia, distúrbios gastrointestinais e mielossupressão (ZANDEN; QIAO; NEEFJES, 2020). Além disso, esse fármaco pode causar citotoxicidade em células do sangue periférico através da geração de EROs, que são responsáveis também por causar modificações oxidativas nas bases nitrogenadas do DNA (DOROSHOW *et al.*, 2001; SHALDOUM *et al.*, 2021).

A supressão das células progenitoras na medula óssea resulta em pancitopenia (redução global das células sanguíneas), levando a manifestação de fadiga acentuada, maior susceptibilidade a infecções, hemorragias gengivais e retardo na cicatrização. Diferentes protocolos quimioterápicos para câncer de mama e ovário elevam a incidência de anemia, neutropenia e trombocitopenia. Entre esses regimes, o tratamento com doxorubicina destaca-se por apresentar taxas de risco significativamente superiores para o desenvolvimento de toxicidade medular (NURGALIEVA; LIU; DU, 2010).

## 2.3 Álcool perfílico

### 2.3.1 Ocorrência e classificação

O álcool perfílico (figura 3) é um monoterpênóide cíclico obtido a partir de óleos essenciais de plantas como hortelã, lavanda, bergamota, capim-limão, sálvia, alcaravia, tomilho, alecrim, sementes de aipo, cerejas e cranberries (CHEN *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2024).

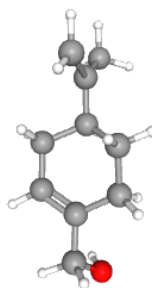


Figura 3. Estrutura química do álcool perfílico, conformação em 3D (PUBCHEM, 2025).

Os monoterpênóides pertencem à classe dos terpenos, metabólitos secundários abundantes na natureza e que derivam da via mevalonato/isoprenoide. Os compostos terpênicos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (cadeia de 5 carbonos) condensadas, sendo os monoterpênicos, formados por duas unidades de isopreno (ZHOU; PICHERSKY, 2020). Monoterpenos e monoterpênóides (monoterpenos com grupo funcional heteroátomo) são os principais constituintes de óleos essenciais, juntamente com os sesquiterpenos. Ambos são compostos voláteis e desempenham papéis importantes nas plantas, seja atraindo polinizadores, na defesa contra patógenos e resistência ao estresse ambiental (LANIER; ANDERSEN; HAMBERGER, 2023; PICHERSKY; RAGUSO, 2016). Essas características tornam-os atrativos para a indústria, sendo utilizados como fragrâncias em cosméticos, perfumes, produtos de limpeza, insumos farmacêuticos e até mesmo em alimentos (KOZIOŁ *et al.*, 2014; JUNIOR, 2006).

Na sua rota biossintese, o álcool perfílico deriva do monoterpêno D-limoneno e difere deste pela presença de um grupamento hidroxila terminal (ZHANG *et al.*, 2024). De fato, o álcool perfílico possui propriedades quimiopreventivas e quimioterapêuticas superiores ao seu precursor D-limoneno, que tem atividade anticancerígena bem estabelecida (CHEN *et al.*, 2021). Além da atividade melhorada, o grupo hidroxila confere maior solubilidade do álcool perfílico em solvente polar e seu esqueleto básico tem caráter hidrofóbico, proporcionando

também solubilidade em solvente apolar. Essa dupla polaridade proporciona caráter anfifílico ao álcool perílico, o que favorece sua passagem através das membranas celulares (CHEN *et al.*, 2021, PICHERSKY; RAGUSO, 2016).

Em humanos e outros mamíferos, o álcool perílico é metabolizado nos microssomas hepáticos via enzimas do complexo citocromo P450. Este processo de hidroxilação gera os metabólitos aldeído perílico, ácido perílico e ácido di-hidroperílico. Posteriormente, esses compostos sofrem glucuronidação, favorecendo sua excreção pelos rins (GOMES *et al.*, 2017). O álcool perílico original não é detectado no plasma, evidenciando um rápido metabolismo de primeira passagem. Os metabólitos majoritários no plasma são o ácido perílico e o ácido di-hidroperílico, enquanto o perilaldeído ocorre em concentrações reduzidas (CHEN *et al.*, 2015).

### 2.3.2 Propriedades terapêuticas

O álcool perílico é reconhecido pela sua atividade anticancerígena, com ações quimiopreventivas e quimioterapêuticas, reflexo de suas ações em múltiplos alvos e em diferentes estágios da carcinogênese. Somado a isso, esse composto demonstrou atividade antioxidante e anti-inflamatória em diversos modelos experimentais (AIAN *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2024). Em suma, este monoterpeneo é considerado uma molécula promissora para desenvolvimento clínico (CHEN *et al.*, 2015).

Estudos clínicos realizados com o álcool perílico mostraram que esse monoterpeneo não apresentou a eficácia esperada, sendo que sua administração por via oral foi considerada o principal fator limitante. De tal modo que, atualmente, seus efeitos são mais estudados no tratamento de gliomas através de formulações administradas por via intranasal (CHEN; FONSECA; SCHONTHAL, 2018; CHEN *et al.*, 2021).

No processo de carcinogênese, um dos mecanismos envolvidos nos efeitos do álcool perílico consiste na eliminação de EROs (GOMES *et al.*, 2017). O potencial oncogênico das EROs deriva de sua capacidade de gerar produtos tóxicos e mutagênicos durante reações redox que são capazes de causar alterações na conformação e função de proteínas essenciais, ativação de vias que favorecem a proliferação celular descontrolada e inativação de genes supressores de tumor (FIASCHI; CHIARUGI, 2012; IQBAL *et al.*, 2024).

Como exemplo, o nitrilotriacetato de ferro, agente quelante adicionado em detergentes, causa sobrecarga de ferro e estresse oxidativo resultando em toxicidade renal em roedores. Esse processo eleva os níveis de 8-hidroxidesoxiguanosina, um produto da oxidação do DNA que está associado à carcinogênese (UMEMURA *et al.*, 2004). Em ratos, o modelo de

carcinogênese induzido pelo nitrilotriacetato de ferro (via intraperitoneal) causa necrose tubular e adenocarcinoma. Todavia, a administração oral de álcool perfílico é capaz de mitigar essa toxicidade ao restabelecer o equilíbrio antioxidante e reduzir a lesão renal, estresse oxidativo e marcadores tumorais (JAHANGIR; SULTANA, 2007).

Na hepatocarcinogênese induzido por 2-acetilaminofluorina, o estresse oxidativo e o dano hepático - marcados pela peroxidação lipídica e elevação de transaminases - foram reduzidos pelo tratamento profilático com álcool perfílico. Além disso, esse monoterpene provocou uma melhora do perfil histopatológico, redução de marcadores tumorais e aumento da atividade das enzimas que participam do metabolismo de fase II, como a quinona redutase e glutathione- S-transferase, além de restaurar os níveis de GSH. Tais achados indicam que o álcool perfílico atua na interrupção dos estágios de iniciação e promoção tumoral (SULTANA; NAFEES; KHAN, 2013).

No modelo de carcinogênese cutânea induzido por 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (iniciador de mutação no *H-Ras*) e 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (promotor de proliferação), a aplicação tópica de álcool perfílico demonstrou efeitos protetores ao melhorar o estado redox no tecido e inibir processos importantes da biossíntese de poliaminas e replicação do DNA. Esse efeito foi associado a interrupção da isoprenilação da proteína H-Ras, impedindo a ativação da via ERK1/2, que regula a sobrevivência e proliferação celular e está frequentemente superexpressa nas neoplasias (CHAUDHARY *et al.*, 2008).

A isoprenilação de pequenas proteínas G é uma modificação pós-traducional em que ocorre a adição de grupamento apolar à proteínas, permitindo sua ancoragem na membrana plasmática. Essas reações são catalisadas pelas enzimas farnesilpirofosfato, geranylgeranylpirofosfato, sendo que a primeira provoca a isoprenilação de H-Ras enquanto a outra realiza esse processo em Rac1 e Rho1. Portanto, a isoprenilação dessas proteínas são essenciais para a ativação da via de sinalização Ras/Raf/ERK1/2 (CHEN *et al.*, 2021).

Em células de glioma o álcool perfílico reduz os níveis de H-Ras e Rac1 ligados à membrana e consequentemente reduz a fosforilação de ERK, resultando em menor capacidade migração, invasão e proliferação celular (AFSHORDEL *et al.*, 2015). Em células epiteliais mamárias isoladas de ratas, a dieta contendo 2% álcool perfílico por duas semanas, causou inibição moderada da farnesilação a Ras e geranylgeranilação a RhoA (REN, 1998). Desse modo, acredita-se que apesar da inibição da isoprenilação de pequenas proteínas G contribuir com a atividade anticancerígena do álcool perfílico, essa ação não explica a amplitude de seus efeitos sugerindo a existência de mecanismos complementares (AFSHORDEL *et al.*, 2015; REN, 1998).

Um mecanismo importante para o efeito antiproliferativo do álcool perfílico envolve também a inibição do ciclo celular, através da regulação negativa de quinases dependentes de ciclinas (CDK) e os complexos ciclina-CDK, que são responsáveis pela progressão do ciclo celular (ZHANG *et al.*, 2024). Em células humanas de adenocarcinoma pancreático (MIA PaCa-2 e BxPC-3) o álcool perfílico estimulou a expressão dos inibidores de CDK, p21Cip1 e p27Kip1 (WISEMAN; WERNER; CROWELL, 2006). Enquanto, em queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT) e em linhagens celulares de câncer de cólon humano (HT-29 e SW620) esse monoterpene aumentou a expressão de p15 INK4b e p21 WAF1/Cip1, provocando a hipofosforilação do supressor tumoral proteína do retinoblastoma, o que desencadeou a parada do ciclo celular na fase G1 (KOYAMA *et al.*, 2012).

É sabido que um agente antineoplásico ideal deve induzir a apoptose em células cancerígenas e preservar as células normais (WONG, 2011). Os efeitos pró-apoptóticos do álcool perfílico foram descritos em células de adenocarcinoma humano (A549) e carcinoma de células escamosas (H520), com IC50 de 1,7 mM e 1,4 mM, respectivamente. Ainda, esse monoterpene foi capaz de melhorar a sensibilidade dessas células aos tratamentos com cisplatina e radiação (YERUVA *et al.*, 2007). De modo semelhante, o álcool perfílico aumentou sinergicamente a sensibilização de uma linhagem de células de glioma a radioterapia e aos fármacos cisplatina e doxorubicina, potencializando a apoptose pela via extrínseca. De certo, a radiosensibilização pelo álcool perfílico é abolida pelo bloqueio com anticorpos anti-Fas, o que impede a sinalização do FasL (RAJESH; STENZEL; HOWARD, 2003). A via intrínseca da apoptose também é ativada por esse monoterpene, levando ao aumento da expressão de fatores pró-apoptóticos como BAX, BAK, caspase-3 e redução do fator antiapoptótico, Bcl-2 (CHAUDHARY *et al.*, 2008; YERUVA *et al.*, 2007).

Adicionalmente, foi demonstrado que a citotoxicidade do álcool perfílico em gliomas é mediada pelo estresse do retículo endoplasmático, afetando inclusive células resistentes à temozolomida. Este processo é marcado pelo aumento de GRP78 e CHOP e acompanhado pela supressão da via de sobrevivência do Alvo mecânico da rapamicina (mTOR), através da redução da fosforilação da Proteína Quinase B (AKT) e da proteína S6 ribossômica (CHO *et al.*, 2012). O retículo endoplasmático é responsável por funções como biogênese lipídica, modificação de proteínas, regulação do cálcio e equilíbrio redox, sendo altamente sensível a insultos patológicos que perturbam sua homeostase. Quando a célula está sob estresse a Resposta a Proteínas Desdobradas (UPR) no retículo endoplasmático é ativada para mitigar a sobrecarga proteica. Esse processo exige a dissociação da quinase PERK da proteína GRP78, permitindo que a PERK ative o fator Nrf2. Adicionalmente, o estresse prolongado promove a

regulação positiva de CHOP, que atua na indução de autofagia e morte celular (LIU *et al.*, 2022).

Diferente de seus análogos, limoneno e o mentol, o álcool perfílico demonstra alta eficácia contra células de linfoma B (WEHI-231), reduzindo sua viabilidade através da inibição da translocação nuclear do NF- $\kappa$ B. Este efeito pró-apoptótico é mediado pela modulação de canais de cálcio tipo L, visto que o álcool perfílico interfere na sinalização do NF- $\kappa$ B dependente de cálcio (BERCHTOLD *et al.*, 2005).

O álcool perfílico também exerce controle sobre o metabolismo e a angiogênese tumoral ao inibir o Fator Induzível por Hipóxia-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). Esse fator de transcrição regula a adaptação metabólica à hipóxia e sua superexpressão persistente é uma marca da progressão e metástase tumoral (YUAN *et al.*, 2021). O mecanismo de supressão mediado pelo álcool perfílico envolve a eliminação de EROs e a redução da sinalização via mTOR e de seus efetores 4E-BP1 e eIF4. Em estudo com a linhagem de câncer de cólon (HCT116) e no xenoenxerto em camundongos, mostram que o tratamento com álcool perfílico inibe a expressão de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) sob condições de hipóxia, bloqueando a angiogênese necessária para a expansão do tumor (MA *et al.*, 2016). Além disso, ao neutralizar EROs, o álcool perfílico interfere na ativação de oncogenes como K-RAS, BRAF, c-MYC e BCR-ABL, que participam dos processos de crescimento, proliferação, invasão e angiogênese (AKI *et al.*, 2023).

A respeito de sua atividade antioxidante e anti-inflamatória, foi demonstrado que ao eliminar as EROs o álcool perfílico interrompe a produção de citocinas pró-inflamatórias e o inverso também é verdadeiro, o álcool perfílico interrompe o processo inflamatório e, consequentemente, reduz a produção de EROs (BEJESHK *et al.*, 2023).

O efeito antioxidante do álcool perfílico ocorre via modulação da sinalização Keap1/Nrf2. Ao inibir o Keap1 (Proteína 1 associada a ECH semelhante a Kelch), que atua reprimindo o Nrf2, o álcool perfílico estimula a dissociação e translocação nuclear do Nrf2, ativando a transcrição de genes responsáveis pela expressão de enzimas antioxidantes (PUPPALA *et al.*, 2022). Em modelos de lesão cerebral hipóxico-isquêmica, o álcool perfílico aumentou a expressão de Nrf2 e heme Oxigenase-1, reduzindo a Keap1 e atenuando a apoptose através da redução de BAX, caspases e citocromo *c*, e aumento de Bcl-2. A eficácia desse mecanismo foi confirmada pelo uso do inibidor ML385, que suprimiu os efeitos protetores do composto (FANG *et al.*, 2024).

O álcool perfílico também exerceu efeitos protetores na reversão dos danos oxidativos provocados pela isquemia cerebral em modelo de oclusão da artéria cerebral média em ratos.

Nesse estudo, o álcool perfílico modulou a resposta inflamatória e oxidativa, com redução direta de marcadores como NF- $\kappa$ B, COX-2 e NOS-2 e melhora da degeneração neuronal e desfechos funcionais. (TABASSUM *et al.*, 2015).

Na patogênese da doença de Parkinson, a ativação da microglia e a disfunção mitocondrial são centrais. Em modelo experimental, a inibição do complexo I da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial pela administração de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina em camundongos eleva a produção de  $O_2^{\bullet-}$  e  $H_2O_2$ , ativando o NF- $\kappa$ B e a formação de inflamassomas, com subsequente ativação de IL-1 $\beta$  e IL-18; enquanto em células microgliais, o lipopolissacarídeo e  $H_2O_2$  mimetiza esse dano, resultando em perda do potencial de membrana mitocondrial. Contudo, o tratamento com álcool perfílico reverteu parcialmente esse quadro, reduzindo o estresse oxidativo mitocondrial e citosólico. Além disso, *in vivo*, as enzimas antioxidantes foram restauradas e houve melhora da função motora e comportamental dos animais (AHMED *et al.*, 2021).

Já no modelo de lesão por isquemia/reperfusão de células renais, utilizado para mimetizar o transplante renal, XU *et al.* (2017) demonstraram que o pré-tratamento com álcool perfílico protege as células do estresse oxidativo e do estresse do retículo endoplasmático, bem como, da inibição da via PI3K/AKT/eNOS, prevenindo assim a apoptose celular.

Como ação anti-inflamatória, o álcool perfílico inibe a via TLR-4/NF- $\kappa$ B, sendo capaz de modular diretamente essa via através da sua ligação ao receptor TLR-4, conforme verificado em docking molecular. Além disso, nesse estudo, foi demonstrado que esse composto reduz a expressão de TLR-4 e NF- $\kappa$ B em camundongos submetidos a um modelo de colite ulcerativa, resultando na diminuição de citocinas pró-inflamatórias e dos marcadores de estresse oxidativo e nitrosativo (PUPPALA *et al.*, 2022).

O álcool perfílico também exerce atividade anti-inflamatória ao bloquear a farnesilação de STAT3 e Ras, impedindo sua localização na membrana e posterior ativação. Esse mecanismo inibe as cascatas de sinalização Ras/Raf/MEK/ERK e a via do NF- $\kappa$ B. Estudos indicam ainda que o monoterpene se liga diretamente a STAT3 e NF- $\kappa$ B, inibindo sua fosforilação e a translocação nuclear deste último (YALAMARTHI *et al.*, 2022).

## **2.4 Terapia combinada**

A terapia combinada consiste na utilização de dois ou mais agentes terapêuticos para melhorar os resultados do tratamento. Na oncologia, essa estratégia passou a ser praticada desde

a década de 1960 para superar as limitações da monoterapia, principalmente a baixa eficácia e resistência farmacológica (FALZONE; SALOMONE; LIBRA, 2018; UZOIGWE; SAUTER, 2012). Neste sentido, doxorubicina é frequentemente associada a outros antineoplásicos para otimizar os resultados terapêuticos e limitar os efeitos adversos do tratamento (ANJALI BISHT *et al.*, 2024; SINHA *et al.*, 2025).

Ademais, a associação entre quimioterápicos e fitoquímicos com atividade anticâncer tem sido amplamente estudada (CHENG; YANG; SHYUR, 2016; UZOIGWE; SAUTER, 2012). Os fitoquímicos são metabólitos secundários produzidos por plantas que possuem inúmeras propriedades biológicas e terapêuticas, inclusive atividade anticancerígena (CHAACHOUAY; ZIDANE, 2024). Um dos mecanismos envolvidos na atividade anticancerígena destes compostos envolve a modulação do estresse oxidativo e o microambiente tumoral, características essas que favorecem a aquisição de fenótipo mais agressivo por células cancerígenas. Portanto, tais ações podem agregar ao tratamento do câncer ao potencializar a sensibilidade aos quimioterápicos (CHENG; YANG; SHYUR, 2016).

A exemplo disso, a timoquinona, um composto isolado do óleo de *Nigella sativa*, induziu apoptose em células de câncer de mama através da produção de EROs e ativação de p38/MAPK; já em modelo animal, a timoquinona inibiu o crescimento tumoral mamário, tendo efeito ainda maior quando em combinação com doxorubicina (WOO *et al.*, 2013). Também foi demonstrado que o D-limoneno, um monoterpene cíclico, induz apoptose em células de câncer de mama isolado e em combinação com o tamoxifeno por meio da geração de EROs mitocondriais (MANDAL; SAHU; PARIJA, 2023).

É controverso se os compostos antioxidantes, que são promissores na redução dos efeitos adversos da quimioterapia, poderiam afetar a eficácia da doxorubicina (MIRZAEI *et al.*, 2021). De fato, a superexpressão do Nrf2 - fator de transcrição das enzimas antioxidantes - está associada à quimiorresistência em células cancerígenas (IQBAL *et al.*, 2024).

Contudo, estudos com produtos naturais enfatizam o papel dos fitoquímicos na potencialização do efeito antitumoral da doxorubicina à medida que exercem efeitos cardioprotetores (CHENG; YANG; SHYUR, 2016). As proantocianidinas das sementes de uva, por exemplo, ampliam a eficácia da doxorubicina no tumor sarcoma 180 e previnem lesões cardíacas ao mitigar o estresse oxidativo (ZHANG *et al.*, 2005). De forma semelhante, o ginsenosídeo Rh2 potencializa o efeito da doxorubicina no câncer de mama e protege o miocárdio contra danos inflamatórios e oxidativos, prevenindo a apoptose de cardiomiócitos e a remodelação cardíaca patológica (HOU *et al.*, 2022).

Possíveis interações medicamentosas decorrentes da terapia combinada podem trazer vantagens ou desvantagens ao tratamento, pois podem ocorrer tanto interações sinérgicas e aditivas como antagônicas. Na interação sinérgica, o efeito resultante é maior do que a soma do efeito das drogas isoladas; na interação aditiva, o efeito da combinação corresponde à soma dos efeitos individuais de cada droga e na interação antagonista, o efeito individual das drogas é reduzido quando estas são associadas (UZOIGWE; SAUTER, 2012).

A literatura relata efeitos sinérgicos significativos entre quimioterápicos e fitoquímicos. Wang *et al.* (2018) demonstraram que a combinação de capsaicina e cisplatina inibiu o crescimento do osteossarcoma *in vivo* e induziu apoptose e autofagia *in vitro*, mediada pela elevação de EROs e modulação das vias JNK (c-Jun N-terminal cinase) e AKT/mTOR. No câncer de mama, a oleuropeína atuou sinergicamente com a doxorubicina na inibição tumoral ao regular negativamente marcadores de pró-sobrevivência e antiapoptóticos (como NF- $\kappa$ B e BCL-2) e positivamente mediadores pró-apoptóticos (BAX e caspase 3) (ELAMIN *et al.*, 2019). De modo semelhante, a Tanshinona IIA potencializou o efeito antitumoral da doxorubicina no câncer de mama, *in vitro* e *in vivo*, via regulação do eixo PTEN/p-AKT e redução de proteínas de multirresistência, bem como, atenuou os marcadores de cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, mielossupressão e perda de peso (LI *et al.*, 2019).

Estudos conduzidos com o álcool perílico mostraram que esse monoterpene aumenta a sensibilidade das células de adenocarcinoma humano e carcinoma de células escamosas à cisplatina e a radiação. Seu efeito radiosensibilizante e quimiossensibilizante, frente a cisplatina, doxorubicina e temozolomida, também foram demonstrados em linhagem de células de glioma (RAJESH; STENZEL; HOWARD, 2003). Diante dessas propriedades o álcool perílico poderia potencializar a atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. Além disso, em virtude de seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, paralelamente, esse monoterpene pode atenuar os efeitos tóxicos da doxorubicina em tecidos normais.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a interferência do álcool perílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180.

### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito do álcool perfílico combinado a doxorrubicina no crescimento tumoral de animais transplantados com Sarcoma 180.
- Avaliar o efeito do álcool perfílico combinado a doxorrubicina nos parâmetros toxicológicos de massa corporal, massa do coração e fígado, marcadores bioquímicos de lesão celular e parâmetros hematológicos em camundongos portadores de sarcoma 180.
- Avaliar o efeito do álcool perfílico combinado a doxorrubicina nos parâmetros de estresse oxidativo no coração e fígado de camundongos portadores de sarcoma 180.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Material**

#### **4.1.1 Equipamentos**

Agitador vórtex (PHOENIX, AD 8850, BR), Analisador hematológico (URIT - 3000Plus, Balança analítica de alta precisão (SHIMADZU AUW220D, OH, EUA), Balança

Digital (SF-400, BRASIL), Centrífuga (Heal Force, Neofuge 15R, CHINA), Espectrômetro de RMN (MERCURY-VARIAN, OH, EUA), Micrótomo (OH, EUA), Microscópio óptico (OH, EUA), Câmara de Neubauer (NEW OPTICS, CENTERLAB, BRASIL), Estufa (OH, EUA), Placa quente (OH, EUA), Geladeira, Aparelho ELISA (BIOTEK, OH, EUA), Capela de exaustão de gases (Nalgon/3700, OH, EUA), Leitor de microplaca Elisa (RT, OH, EUA), Eletrodos (BRASIL), Espectrofotômetro de placa (Biotek, ELx800 Absorbance Microplate Reader, OH, EUA), Espectrofotômetro (Hitachi, Japão).

#### **4.1.2 Fármacos e reagentes**

Ácido acético, Ácido clorídrico – HCl (Sigma), Ácido tiobarbitúrico – TBA (Sigma), Álcool perílico (Sigma), Albumina (Sigma), Azida sódica ( $\text{NaN}_3$ ), Azul de tripan (Sigma), Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) (Sigma), Butil-hidroxitoluol (BHT) (Sigma), Carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 2%) (Sigma), Cloreto de potássio (KCl) (Sigma), Dimetilsulfoxido (DMSO), Doxorubicina (Laboratório Químico Farmacêutico Bergamo Ltda.), EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) (Sigma), Etanol (Sigma), Dodecil sulfato de sódio, Fluoreto de fenilmetilsulfonilo (PMSF) (Sigma), Formol a 10%, Glutathione reduzida (Sigma) (0,15 mmol/L), Glutathione redutase (Sigma), Hidróxido de sódio (NaOH) (Sigma), Isoflurano (Sigma), Ketamina (Sigma), kits comerciais CK-total, CK-MB, AST e ALT (Labteste), N-butanol (Sigma), NaCl (Sigma), Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) (Sigma), Penicilina (Benzetacil®), Peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Pirogalol (Sigma), Ringer com lactato (Eurofarma), RPMI 1640 (Sigma), Sal de tetrazolium (MTT = brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium] (Sigma), Solução de Folin (Sigma), Soro fetal bovino, Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ , 1%) (Sigma), Tartarato de sódio e potássio ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2%) (Sigma), 1,1,3,3-tetraetoxipropano, Tween-80 e Xilazina (Sigma).

#### **4.2 Métodos**

##### **4.2.1 Animais**

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe sob o registro N° 6517080824 (ANEXO A). Para manejo dos animais foram seguidas as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), de acordo com a Resolução Normativa n° 55, de 05/10/2022. Foram

utilizados camundongos Swiss machos, com peso corporal entre 25 a 35 g, oriundos do Biotério setorial de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e mantidos em Biotério do Laboratório de Farmacologia do Processo Inflamatório (LAFAPI) com acesso à alimentação e água, sob ciclos artificiais de claro/escuro de 12/12 horas, em temperatura controlada ( $23 \pm 3^\circ\text{C}$ ). Após a finalização dos experimentos, os animais foram anestesiados com isoflurano 1,5% por via inalatória e eutanasiados por deslocamento cervical, após coleta das amostras, os restos mortais foram colocados em sacos plásticos de lixo infectante e acondicionados em freezer até o recolhimento pelo setor responsável.

#### **4.2.2 Manutenção das células do tumor sarcoma 180**

As células do tumor transplantável sarcoma 180 ou tumor de Crocker foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). Para manutenção das células do sarcoma 180 *in vivo*, um animal doador (comportando as células do sarcoma 180 na cavidade abdominal) foi anestesiado com inalação de isoflurano 1,5% e, eutanasiado por deslocamento cervical. Uma assepsia com álcool a 70% foi realizada no abdômen do camundongo e, posteriormente, procedeu-se com a punção ascítica para aspirar o líquido na cavidade abdominal. Uma suspensão de células foi então preparada com 0,5 ml de líquido ascítico, 5,0 ml de Ringer com lactato e 0,2 ml de gentamicina (5 mg/mL). Desta solução, 0,5 ml foi inoculado na cavidade abdominal de cada animal, sendo utilizados 3 animais saudáveis a cada manutenção. Entre 10 a 15 dias depois, tendo os animais desenvolvido o tumor, o procedimento era repetido, garantindo assim a viabilidade das células do sarcoma 180 nos camundongos. Por fim, foi adicionado hipoclorito de sódio no restante da suspensão de células tumorais e após 10 minutos, foi realizado o descarte em pia comum.

#### **4.2.3 Grupos experimentais**

Um quantitativo de 56 animais foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos experimentais (n=7), como segue descrição detalhada abaixo. Foi utilizado como veículo do álcool perílico, Tween-80 a 0,2 % conforme Júnior *et al.* (2013) e, para diluição da doxorubicina, foi utilizado solução de cloreto de sódio 0,9 %. A escolha das doses do álcool perílico foi baseada em estudos que optaram pela administração deste monoterpeno por via oral e considerando a avaliação de seus efeitos tóxicos (KHAN; NAFEES; SULTANA, 2011; TABASSUM, *et al.*, 2015). Os grupos formados foram:

- Salina: tween 80 0,2%, via oral, em dias consecutivos + cloreto de sódio 0,9%, via intraperitoneal (ip.), em dias alternados.
- DOX: doxorrubicina 2 mg/kg ip., em dias alternados + tween 80 0,2%, via oral, em dias consecutivos.
- POH 50: álcool perfílico de 50 mg/kg/dia, via oral + cloreto de sódio 0,9%, em dias alternados, ip.
- POH 100: álcool perfílico de 100 mg/kg/dia, via oral + cloreto de sódio 0,9%, em dias alternados, ip.
- POH 200: álcool perfílico de 200 mg/kg/dia, via oral + cloreto de sódio 0,9%, em dias alternados, ip.
- POH 50 + DOX: álcool perfílico de 50 mg/kg/dia, via oral + doxorrubicina 2 mg/kg, em dias alternados, ip.
- POH 100 + DOX: álcool perfílico de 100 mg/kg/dia, via oral + doxorrubicina 2 mg/kg, em dias alternados, ip.
- POH 200 + DOX: álcool perfílico de 200 mg/kg/dia, via oral + doxorrubicina 2 mg/kg, em dias alternados, ip.

#### 4.2.4 Desenho experimental

Inicialmente foi realizada a inoculação das células de sarcoma 180 em todos os animais alocados para o experimento. A inoculação das células foi realizada por via subcutânea na fossa axilar esquerda e após 24 horas do procedimento os camundongos foram tratados com álcool perfílico, via oral (através de gavagem), durante 9 dias consecutivos e doxorrubicina 2 mg/kg/dia ip., em dias alternados, durante 9 dias, totalizando a dose cumulativa de 10 mg/kg (figura 4) (ZHANG *et al.*, 2005).

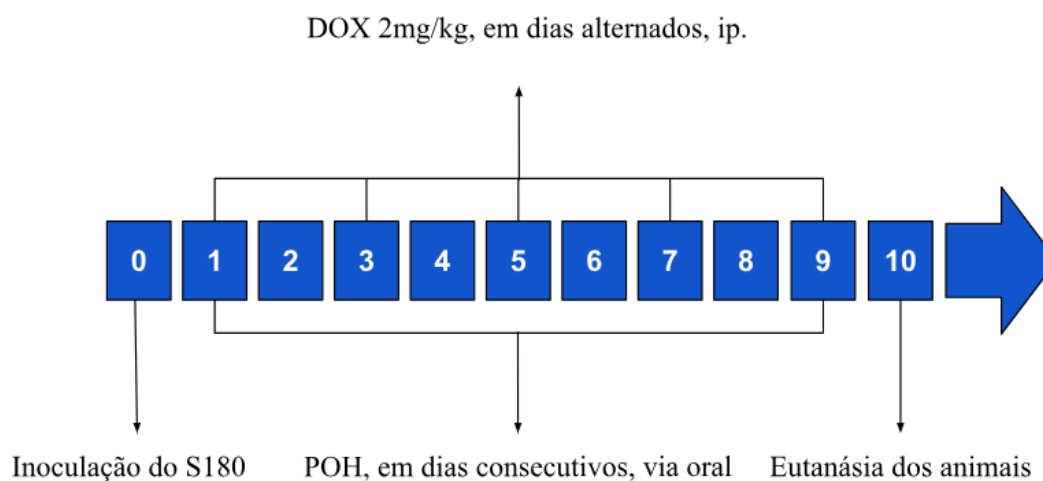


Figura 4. Desenho experimental. DOX-doxorrubicina; ip.-via intraperitoneal; POH-álcool perfílico; S180-sarcoma 180 (fonte própria).

Ao final do experimento os animais foram anestesiados com isoflurano seguido de deslocamento cervical e os tumores, corações e fígados foram dissecados e pesados. Em seguida, os corações e fígados foram acondicionados em eppendorfs e armazenados em ultra-freezer a - 80 ° C, enquanto os tumores foram pesados e fixados em formaldeído a 10 %.

#### **4.2.5 Avaliação da inibição do crescimento tumoral**

Para avaliar a interferência do álcool perfílico na atividade antitumoral da doxorubicina em camundongos com sarcoma 180, foi utilizado o modelo experimental de xenoenxerto de células de sarcoma 180. As células do sarcoma 180 foram inoculadas na fossa axilar esquerda dos camundongos (via subcutânea), que desenvolveram o tumor na sua forma cística, sólida. Para isso, um camundongo comportando células tumorais ascíticas, 10 dias após a manutenção, foi anestesiado com isoflurano 1,5% e eutanasiado por deslocamento cervical. Em seguida, foi realizada uma assepsia na região abdominal e posteriormente, procedeu-se com a punção do líquido ascítico presente na cavidade abdominal.

Uma suspensão de células foi preparada com 2 ml de líquido ascítico e 20 ml de ringer com lactato e 0,8 mL de gentamicina (5 mg/mL). Para verificar a viabilidade celular foi utilizado o método de exclusão do azul de Tripán, que permite distinguir células tumorais viáveis (translúcidas) das não viáveis (coradas em azul). As células tumorais viáveis foram contadas em câmara de Neubauer através da visualização em microscópio óptico. Um cálculo foi realizado considerando o número de células e a suspensão foi diluída para atingir a concentração de  $4 \times 10^6$  células/ml, sendo administrado 0,5 mL em todos os animais ( $2 \times 10^6$  células) (BEZERRA *et al.*, 2008).

As massas tumorais dos animais foram avaliadas quanto ao percentual de inibição do crescimento tumoral, calculado por meio da fórmula  $IT (\%) = [(A-B)/A] \times 100$ , sendo: A = Média das massas tumorais no grupo controle; B = Média das massas tumorais dos animais tratados (FERREIRA *et al.*, 2016).

#### **4.2.6 Avaliação dos parâmetros toxicológicos**

##### **4.2.6.1 Determinação da massa corporal e massas do tumor, coração e fígado**

Ao decorrer do experimento, os animais foram pesados em balança de precisão digital. Após 24 horas do último dia do tratamento, os animais foram eutanasiados para excisão do tumor, coração e fígado, em seguida, esses órgãos e o tumor foram pesados em balança analítica e os valores registrados. As massas dos corações e fígados foram normalizados pelo comprimento da tíbia em milímetro (mm) do respectivo animal, de acordo com Ji *et al.* (2018).

#### **4.2.6.2 Avaliação dos marcadores bioquímicos de lesão**

Os marcadores bioquímicos de lesão creatina quinase (CK), creatina quinase isoenzima-MB (CK-MB), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram mensurados através do método fotométrico cinético utilizando kits comerciais (Labteste). A leitura foi realizada em espectrofotômetro de placa em comprimento de onda de 340 nm e os resultados foram expressos em U/L, de acordo com as instruções do fabricante.

#### **4.2.6.3 Realização da análise hematológica**

Os animais foram anestesiados com isoflurano 1,5% por via inalatória para coleta de amostras sanguíneas do plexo orbital. Para isso, foram utilizados capilares com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e microtubo para coleta de sangue contendo EDTA K2 (sal dipotássico de ácido etilenodiaminotetracético). A análise hematológica foi realizada em analisador hematológico (URIT - 3000Plus).

#### **4.2.7 Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo**

##### **4.2.7.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ou thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)**

Amostras de tecido cardíaco foram homogeneizadas em tampão fosfato (50 mmol/L, pH= 7,0) na proporção de 1:9 e centrifugadas a 14.000 xg por 30 minutos a 4°C. Em eppendorfs previamente furados em suas tampas para escape de vapor, foram adicionados 50 µL de homogeneizado de tecido cardíaco, 50 µL de dodecil sulfato de sódio a 8,1%, 375 µL de solução de ácido acético a 20% ajustada para pH 3,5 e 375 µL de solução aquosa de ácido tiobarbitúrico a 0,8%. Em seguida, essa mistura foi aquecida em termobloco a 90 °C por 60 min. Após resfriamento rápido em gelo, foi adicionado 1 ml de n-butanol e a mistura foi agitada

vigorosamente em vórtex por 10 segundos. Em seguida, foi realizada uma centrifugação a 400 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi pipetado em placas de 96 poços. Uma curva de calibração com o padrão do malondialdeído (MDA), o 1,1,3,3-tetraetoxipropano, foi feita para determinar as concentrações de MDA das amostras. A leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro de microplaca em comprimento de onda de 535 nm. Os resultados foram relatados como nmol de MDA/mg de proteína (OHKAWA *et al.* 1979).

#### **4.2.7.2 Determinação de sulfidrilas totais**

Os tecidos cardíacos foram homogeneizados em tampão fosfato salino e centrifugados (Heal Force, Neofuge 15R) a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Em microplaca de 96 poços foram colocados 200 µL de solução tampão fosfato salino-EDTA pH 7,5 (EDTA 1 mM) e 10 µL dos sobrenadantes, em seguida, foi realizada a primeira leitura a 412 nm em leitor de placa, em seguida, foi adicionado 0,4 µL de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) a 3 mmol/L. Após 30 minutos, foi realizada a segunda leitura da absorbância a 412 nm. A concentração total de grupamentos sulfidrilas foi expressa em nmol por miligramas de proteína (AKSENOV; MARKESBERY, 2001).

#### **4.2.7.3 Atividade da superóxido dismutase**

Amostras de tecido cardíaco foram homogeneizadas em tampão fosfato salino e centrifugadas a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Para a reação, 30 µL dos sobrenadantes foram pipetados em microplaca de 96 poços e, na sequência, pipetou-se 100 µL de tampão fosfato salino, 6 µL de brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium] (MTT) 1,25 mmol/L e 15 µL de pirogalol 100 µmol/L. Posteriormente, a microplaca foi agitada por 5 minutos e adicionado 150 µL de dimetil sulfóxido (DMSO). A leitura da placa foi feita em espectrofotômetro de placa a 570 nm. A atividade da SOD foi expressa em unidade de SOD por microgramas de proteína (MADESH; BALASUBRAMANIAN, 1998).

#### **4.2.7.4 Atividade da glutathiona peroxidase**

Amostras de tecido cardíaco foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio 50 mmol/L (pH 7,4) com cloreto de potássio (KCl, 140 mmol/L). Os homogeneizados foram

centrifugados a 14.000 x g por 30 minutos a 4°C. Em microplaca de 96 poços foram pipetados: 8,4 µL dos sobrenadantes, 580 µL de tampão fosfato de sódio (100 mmol/L, pH 7,0), 10 µL de NADPH (8,4 µmol/L), 10 µL de glutathione redutase (10 U/mg de proteína/mL), 10 µL de azida sódica (1,125 mol/L), 10 µL de glutathione reduzida (0,15 mmol/L) e 250 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2,2 mmol/L). O monitoramento foi realizado a 340 nm, 25°C, por 8 minutos em espectrofotômetro de microplaca. A atividade da GPX é determinada pela oxidação do NADPH, e os resultados expressos em nanomol/NADPH/minuto/microgramas de proteínas (PAGLIA; VALENTINE, 1967).

#### **4.2.7.5 Determinação da concentração total de proteína**

Os homogeneizados de cada ensaio foram utilizados para determinação da concentração total de proteína. Inicialmente, os homogeneizados foram diluídos na proporção 1:10 e pipetados na microplaca. Em seguida, foi adicionado hidróxido de sódio (0,5 mol/L) e depois de 15 minutos, foi adicionado também uma solução contendo carbonato de sódio 2%, sulfato de cobre 1% e tartarato de sódio e potássio 2%, na proporção (100:1:1). Posteriormente, pipetou-se a solução de Folin e depois de 30 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro de microplaca no comprimento de onda de 630 nm. Uma curva de calibração com 8 diluições seriadas, foi utilizada para determinação do teor de proteínas das amostras, a partir de solução mãe 10 mg/ml de albumina (LOWRY *et al.*, 1951).

#### **4.2.8 Análise estatística**

Os dados foram previamente analisados no teste de normalidade Shapiro-Wilk. Confirmada a distribuição normal dos dados, foi realizada a análise estatística através do teste de análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, no programa GraphPad Prism versão 8.0.2. Os dados foram apresentados como média ± erro padrão da média (E.P.M.). Para o tamanho da amostra foi utilizado n=5-7. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Interferência do álcool perfílico na atividade antitumoral da doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180**

O efeito antitumoral do álcool perfílico combinado a doxorrubicina foi avaliado em camundongos transplantados com células de sarcoma 180 na fossa axilar esquerda (via subcutânea). Após a finalização do experimento, as massas tumorais foram excisadas e pesadas. Na figura 5 estão representadas a massa tumoral e o percentual de inibição do crescimento tumoral do sarcoma 180. Verifica-se na figura 5A redução significativa da massa tumoral nos grupos tratados com doxorrubicina e álcool perfílico 200 mg/kg quando comparado à salina. Contudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no tratamento combinado em relação aos demais grupos.

Na avaliação da inibição tumoral (figura 5B), o percentual de inibição do crescimento tumoral no grupo salina foi considerado igual a 0. Pode-se notar que no grupo da doxorrubicina houve uma inibição de 64,73 % do tumor, inibição essa que foi significativa em relação à salina. Já nos grupos tratados com álcool perfílico de 50, 100 e 200 mg/kg causaram, na sequência, um

percentual de inibição tumoral de 33,5 %; 21,66 % e 46,49 %. Enquanto nos grupos tratados com álcool perfílico combinado a doxorrubicina, essa inibição foi de 25,78 % (POH 50 + DOX), 30,97 % (POH 100 + DOX) e 34,94 % (POH 200 + DOX), respectivamente. Destaca-se que nesses grupos, tratados com álcool perfílico isolado ou em combinação com doxorrubicina, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

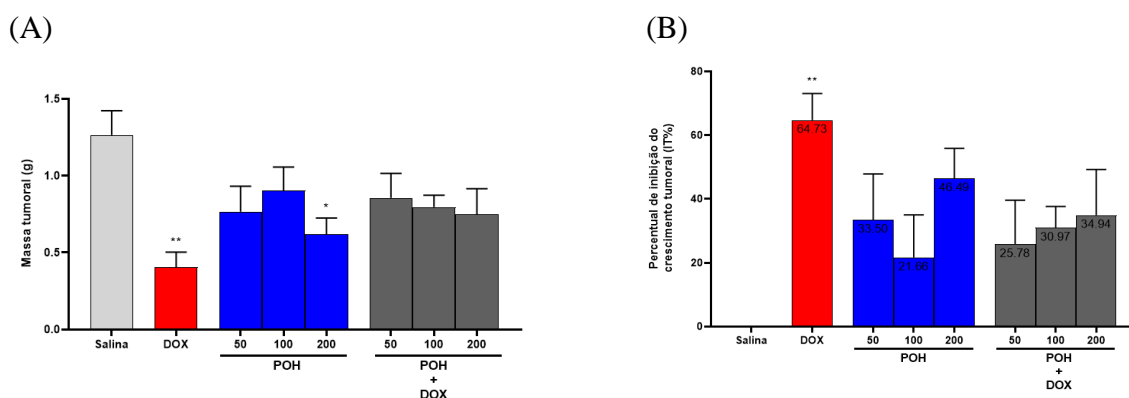


Figura 5. Interferência do álcool perfílico na atividade antitumoral da doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. (A) Massa tumoral (B) Percentual de inibição do crescimento tumoral (IT%). Os dados foram representados como média  $\pm$  E.P.M. (n = 7). Os resultados foram avaliados através da ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05 e \*\*p < 0,01 em relação ao grupo Salina; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

## 5.2 Alteração da massa corporal e dos órgãos no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180.

A massa corporal dos animais foi avaliada ao longo do período experimental (10 dias), como exibido na tabela 1. Observa-se que tanto no grupo da doxorrubicina como nos grupos com álcool perfílico combinado a doxorrubicina houve redução significativa da massa corporal comparado ao grupo salina. No entanto, a perda de massa corporal provocada pela doxorrubicina foi estatisticamente significativa a partir do 8º dia do experimento, enquanto no tratamento com álcool perfílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina ocorreu a partir do 3º dia e com álcool perfílico 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, a partir do 7º dia até o 9º dia. Por outro lado, nesse grupo (POH 200 + DOX) ocorreu também um aumento significativo da massa corporal em relação ao grupo com álcool perfílico 50 mg/kg combinado a doxorrubicina no 10º dia.

Pode-se notar também que, a perda de massa corporal no tratamento com álcool perfílico 50 mg/kg combinado a doxorrubicina foi estatisticamente significativa nos dias 9 e 10 em relação ao dia 1, enquanto no tratamento com álcool perfílico 100 mg/kg combinado a doxorrubicina isso ocorreu no dia 7 e 8.

DIA	Salina	DOX	POH 50	POH 100	POH 200	POH 50 + DOX	POH 100 + DOX	POH 200 + DOX
0	29,14 ± 1,3	28 ± 0,38	29 ± 1,05	30 ± 0,98	28,43 ± 1,07	26,43 ± 0,48	26,86 ± 0,59	29,14 ± 1,3
1	30,42 ± 1,25	28,57 ± 0,48	29,14 ± 0,91	31,57 ± 0,81	29,28 ± 1,04	26,57 ± 0,57	27,85 ± 0,59	30,14 ± 1,40
2	29,14 ± 1,34	27,14 ± 0,55	28,14 ± 0,77	29,86 ± 1,08	27,57 ± 0,9	24,57 ± 0,81	25,43 ± 0,65	27,43 ± 1,49
3	30,57 ± 1,36	27,85 ± 0,55	29,28 ± 0,89	29,57 ± 0,97	27,42 ± 0,72	24,57 ± 0,81 **	25,42 ± 0,65 *	27,42 ± 1,49
4	30 ± 1,35	27 ± 0,44	27,86 ± 0,91	28,71 ± 1,04	26,71 ± 0,94	22,86 ± 0,77 ***	24,14 ± 0,59 **	27,29 ± 1,67
5	30,57 ± 1,31	27,28 ± 0,71	28,57 ± 0,81	29,28 ± 0,97	26,28 ± 0,97	22,85 ± 0,77 ****	24,14 ± 0,59 ***	27,28 ± 1,67
6	30,71 ± 1,27	26,71 ± 0,71	28,14 ± 1,35	28,71 ± 1,21	26,57 ± 1,36	22,29 ± 0,81 ****	23,29 ± 0,84 ****	26,14 ± 1,52
7	31,42 ± 1,34	26,71 ± 0,84	27,71 ± 1,82	28,14 ± 1,12	27,14 ± 1,39	22 ± 0,69 ****	22,28 ± 0,92 ****1	26,57 ± 1,34 *
8	31,14 ± 1,44	25,71 ± 1,02 *	28 ± 1,77	27,86 ± 1,22	27,14 ± 1,16	21,86 ± 0,74 ****	22,14 ± 0,91 ****1	26 ± 1,35 *
9	31,14 ± 1,42	25,14 ± 1,10 **	28,57 ± 1,82	29,28 ± 1,39	28 ± 1,00	21,42 ± 0,81 ****1	23,42 ± 0,90 ****	26,14 ± 1,35 *
10	30,86 ± 1,6	25,14 ± 0,99 **	29 ± 1,65	29,71 ± 1,36	27,14 ± 1,24	21,43 ± 0,81 ****1	23,29 ± 0,57 ****	26,29 ± 1,29 \$

Tabela 1. Alteração da massa corporal no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. Os dados foram representados como média  $\pm$  E.P.M. (n = 6). Os resultados foram avaliados através da ANOVA de duas vias, seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001 em relação ao grupo Salina; §p < 0,05 em relação ao grupo POH 50 + DOX; 1-em relação ao dia 1; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

Para investigar o impacto dos tratamentos nos danos aos órgãos alvos (figura 6), a massa do coração (figura 6A) e fígado (figura 6B) foram verificadas. Como demonstrado na figura 6A, o tratamento com doxorrubicina, álcool perfílico isolado nas três doses e álcool perfílico combinado a doxorrubicina (independente da dose do álcool perfílico), causaram redução significativa da massa do coração comparado ao grupo salina. Vale salientar que não houve diferenças estatisticamente significativas entre o grupo tratado com a doxorrubicina e os grupos do tratamento combinado, mostrando que o álcool perfílico não aumenta a perda de massa cardíaca induzida pela doxorrubicina.

Na figura 6B, observa-se que a doxorrubicina causou uma redução significativa no peso do fígado em relação ao grupo salina. Enquanto nos grupos tratados com o álcool perfílico isolado, em todas as doses avaliadas, a massa do fígado apresentou um aumento significativo em relação à doxorrubicina. Já nos grupos tratados com álcool perfílico combinado a doxorrubicina também foi observado uma redução significativa na massa desse órgão, com todas as doses do monoterpeno.

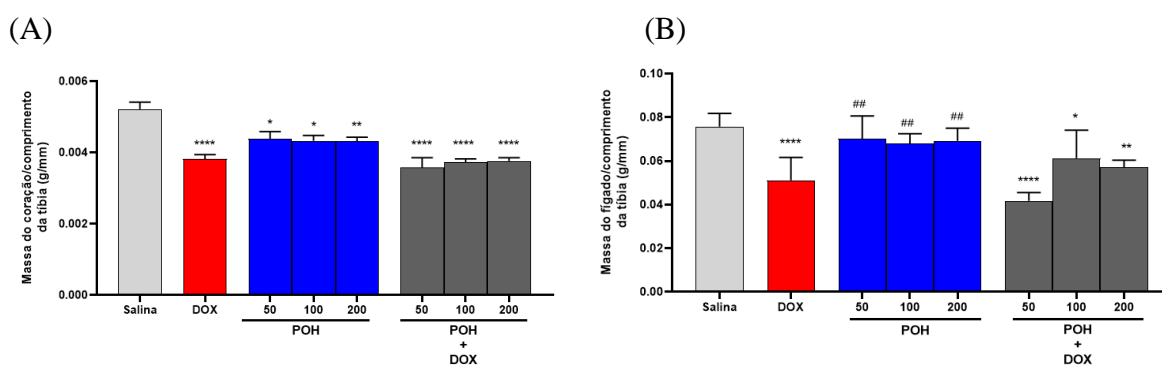


Figura 6. Alteração da massa dos órgãos no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. Os dados foram representados como média  $\pm$  E.P.M. (n=5-7). Os resultados foram avaliados através do teste variância de uma via (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*\*p < 0,0001 em relação ao grupo Salina e ##p < 0,01 em relação ao grupo DOX; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

### 5.3 Perfil de lesão cardíaca e hepática no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180.

A fim de confirmar se houve lesão cardíaca e hepática com os tratamentos, os marcadores bioquímicos de lesão celular CK-total, CK-MB, AST e ALT foram mensurados (tabela 2). Percebe-se que o tratamento com doxorrubicina elevou significativamente os níveis de CK-total comparado ao grupo salina, mas não dos níveis de CK-MB, AST e ALT.

O tratamento com álcool perfílico de 50 mg/kg causou redução significativa dos níveis de CK-total comparado a doxorrubicina. Já no grupo do álcool perfílico de 200 mg/kg houve um aumento significativo dos níveis de CK-total em relação à salina e ao álcool perfílico de 50 mg/kg, bem como, elevação significativa dos níveis de AST em relação à salina.

O álcool perfílico de 50 mg/kg combinado a doxorrubicina levou a um aumento significativo dos níveis de CK-total comparado a salina e a doxorrubicina, bem como, aumento significativo dos níveis de CK-MB, AST e ALT comparado a salina.

O tratamento com álcool perfílico de 100 mg/kg combinado a doxorrubicina também causou um aumento significativo dos níveis de CK-total, CK-MB e AST em relação à salina e aumento significativo dos níveis de ALT em relação à salina e a doxorrubicina.

Já o álcool perfílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, provocou um aumento significativo apenas dos níveis de AST comparado a salina e redução significativa dos níveis de CK-total e CK-MB em relação ao álcool perfílico de 50 mg/kg combinado a doxorrubicina, assim como, redução significativa dos níveis de ALT em relação a álcool perfílico de 100 mg/kg combinado a doxorrubicina.

	Salina	DOX	POH 50	POH 100	POH 200	POH 50 + DOX	POH 100 + DOX	POH 200 + DOX
CK-total	149,3 ± 14,81	468,3 ± 59,52 *	176,1 ± 21,32 #	230,6 ± 31,66	458,8 ± 43,65 *&	752,5 ± 133,5 **** #	618,6 ± 113 ***	320 ± 45,06 \$
CK-MB	196,2 ± 2,868	308,4 ± 34,37	247,5 ± 15,77	180,7 ± 12,92	211,3 ± 19,27	456,5 ± 61,97 ***	439,2 ± 66,45 ***	293 ± 28,55 \$
AST	109,1 ± 9,204	159,4 ± 8,717	134,8 ± 9,379	171,6 ± 19,74	184,9 ± 9,093 *	190,9 ± 23,45 **	187,3 ± 12,3 *	202,9 ± 21,84 ***
ALT	14,32 ± 2,929	18,05 ± 1,537	13,52 ± 0,9739	12,56 ± 1,39	14,92 ± 1,977	30,45 ± 3,905 *	38,47 ± 7,719 *** ##	19,47 ± 1,502 §

Tabela 2. Perfil de lesão cardíaca e hepática no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. Os dados foram representados como média ± E.P.M. (n=5-7). Os resultados foram avaliados através do teste variância de uma via (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 e \*\*\*\*p < 0,0001 em relação ao grupo Salina; &p < 0,05 em relação ao grupo POH 50; #p <

0,05 e <sup>##</sup>p < 0,01 em relação ao grupo DOX; <sup>\$</sup> p < 0,05 em relação ao grupo POH 50 + DOX e <sup>§</sup>p < 0,05 em relação ao grupo POH 100 + DOX; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

#### 5.4 Estado redox do tecido cardíaco e hepático no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos portadores de sarcoma 180.

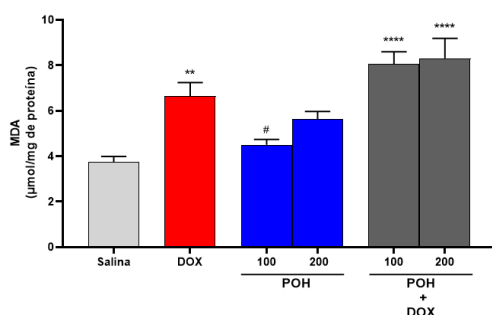
Considerando que o tratamento com o álcool perfílico na dose de 50 mg/kg isolado e em combinação com doxorrubicina causaram um efeito semelhante ao respectivo tratamento com álcool perfílico na dose de 100 mg/kg, conforme mostrado nas figuras da massa corporal, massa dos órgãos e marcadores bioquímicos de lesão, nos ensaios de estresse oxidativo esses grupos não foram incluídos para análise.

Os níveis de MDA, sulfidrilas totais e atividade da GPX e SOD no tecido cardíaco foram determinados (figura 7). Na figura 7A está demonstrado os níveis de MDA, observa-se um aumento significativo deste marcador de peroxidação lipídica no grupo tratado com doxorrubicina comparado à salina. Por outro lado, o álcool perfílico de 100 mg/kg reduziu significativamente os níveis de MDA comparado à doxorrubicina. Já no tratamento com álcool perfílico de 100 e 200 mg/kg combinado a doxorrubicina ocorreu uma elevação dos níveis de MDA em comparação à salina.

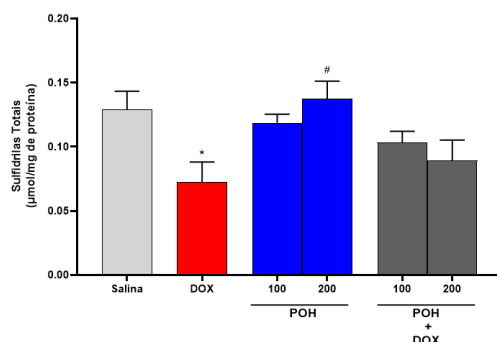
Quanto ao conteúdo de sulfidrilas totais (figura 7B), houve uma redução significativa dos seus níveis no grupo da doxorrubicina comparado à salina. Já no tratamento com álcool perfílico de 200 mg/kg os níveis deste grupo funcional tiveram um aumento significativo em comparação à doxorrubicina.

Na atividade da enzima antioxidante GPX (figura 7C), não houve diferenças significativas entre os grupos. Em contrapartida, na atividade da SOD (figura 7D) ocorreu um aumento significativo da atividade dessa enzima no tratamento com álcool perfílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, tanto em relação à salina como em relação à doxorrubicina.

(A)



(B)



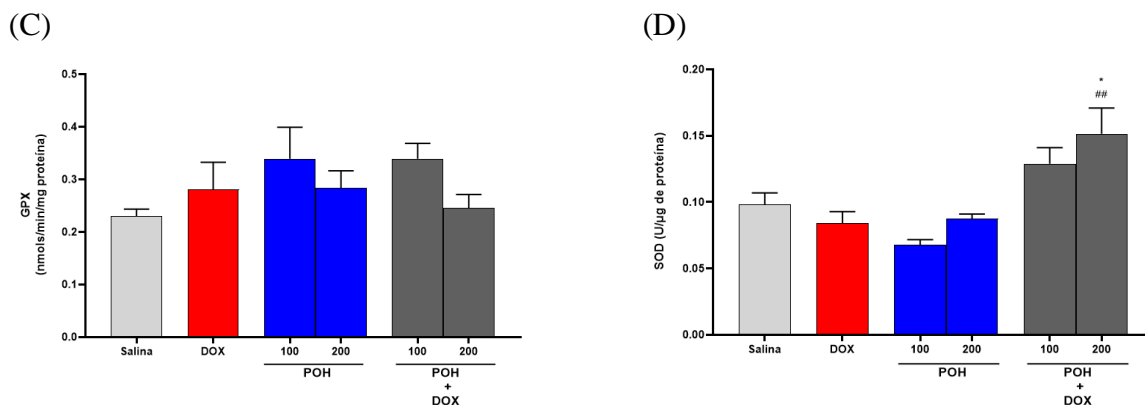


Figura 7. Estado redox do tecido cardíaco no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. (A) Malondialdeído (MDA) (B) Sulfidrilas totais (C) Atividade da Glutaciona Peroxidase (GPX) (D) Superóxido Dismutase (SOD). Os dados foram representados como média  $\pm$  E.P.M. (n = 5-7). Os resultados foram avaliados através do teste variância de uma via (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,0001 em relação ao grupo Salina; #p < 0,01 em relação ao grupo DOX; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

Os parâmetros de estresse oxidativo no tecido hepático também foram analisados. Referente ao marcador de peroxidação lipídica, MDA (figura 8A), verifica-se uma elevação dos seus níveis no grupo tratado com doxorrubicina e álcool perfílico de 200 mg/kg comparado à salina. Já no tratamento com álcool perfílico de 100 e 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, verifica-se uma diminuição significativa dos níveis de MDA em relação à doxorrubicina.

Quanto aos níveis de sulfidrilas totais no tecido hepático (figura 8B), não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Na figura 8C, verifica-se um aumento significativo na atividade da GPX nos grupos da doxorrubicina, álcool perfílico de 100 e 200 mg/kg e álcool perfílico de 100 e 200 mg/kg combinado a doxorrubicina em comparação à salina.

Além disso, a atividade da GPX no tratamento com álcool perfílico 200 mg/kg também teve um aumento significativo em relação ao álcool perfílico de 100 mg/kg.

Enquanto na atividade da SOD (figura 8D), não ocorreu diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

(A)

(B)

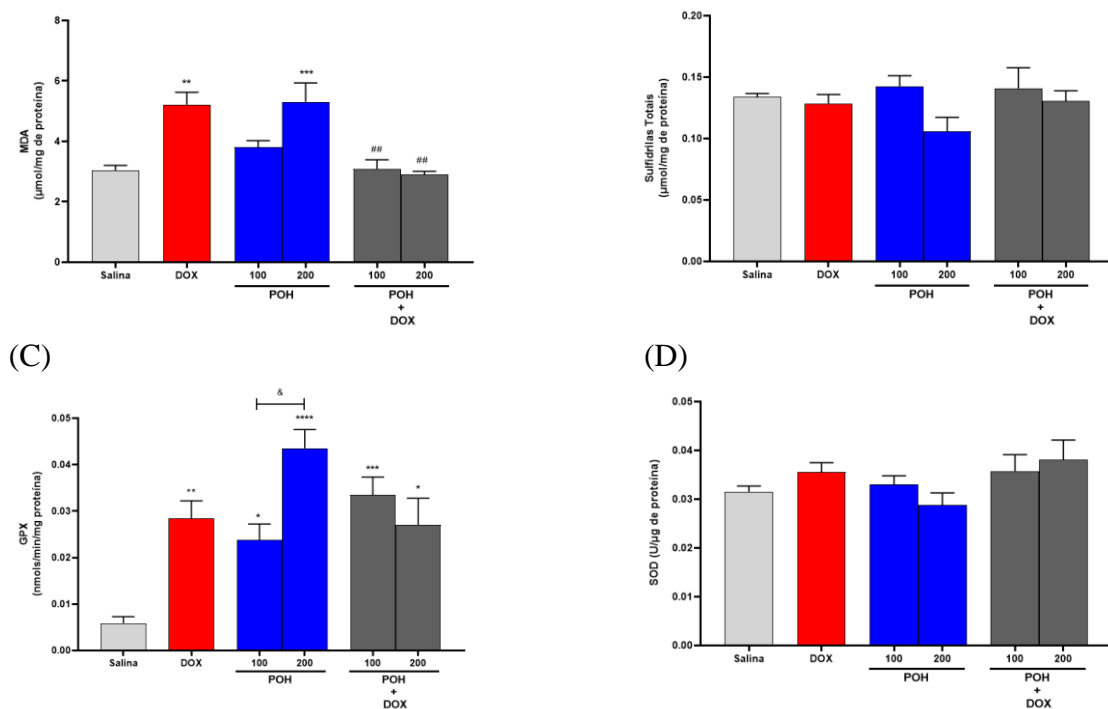


Figura 8. Estado redox do tecido hepático no tratamento com álcool perílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180. (A) Malondialdeído (MDA) (B) Sulfidrilas totais (C) Atividade da Glutaciona Peroxidase (GPX) (D) Superóxido Dismutase (SOD). Os dados foram representados como média  $\pm$  E.P.M. (n = 5-7). Os resultados foram avaliados através do teste variância de uma via (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Tukey. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo Salina; & $p < 0,05$  em relação ao grupo POH 100 e ## $p < 0,01$  em relação ao grupo DOX; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perílico.

### 5.5 Parâmetros hematológicos no tratamento com álcool perílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180

Nos parâmetros hematológicos verificam-se diversas alterações provocadas pela doxorrubicina (tabela 3). Na série vermelha, a doxorrubicina reduziu significativamente o número de hemácias, a concentração de hemoglobina e o hematócrito em relação à salina. Na série branca, esse quimioterápico diminuiu o número de leucócitos totais e linfócitos comparado à salina e elevou significativamente o número de plaquetas em relação à salina.

No grupo tratado com álcool perílico de 50 e 100 mg/kg houve aumento do número de hemácias, da concentração de hemoglobina e do hematócrito em relação à doxorrubicina. Enquanto na série branca, o álcool perílico de 100 mg/kg reduziu significativamente o número de leucócitos totais e linfócitos em relação à salina e na dose de 200 mg/kg houve redução significativa do número de linfócitos em relação à salina. Já no tratamento do álcool perílico 50, 100 e 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, houve redução significativa dos leucócitos totais e linfócitos em relação à salina.

	Salina	DOX	POH 50	POH 100	POH 200	POH 50 + DOX	POH 100 + DOX	POH 200 + DOX
Hemácias (10 <sup>12</sup> /L)	8,396 ± 0,1361	7,037 ± 0,2376 *	8,483 ± 0,2285 #	7,989 ± 0,1977	8,843 ± 0,1496 ##	8,089 ± 0,4172	8,142 ± 0,6203	7,933 ± 0,2887
Hemoglobina (g/dL)	12,14 ± 0,2429	10,07 ± 0,389 *	12,24 ± 0,268 #	11,36 ± 0,3206	12,5 ± 0,2082 ##	11,89 ± 0,7089	11,84 ± 0,9081	11,22 ± 0,4393
Hematócrito (%)	46,56 ± 0,9081	39,71 ± 1,222 *	46,86 ± 0,974 #	43,83 ± 1,115	48,31 ± 0,625 ##	43,84 ± 2,301	44,16 ± 3,04	42,8 ± 1,371
Leucócitos Totais (10 <sup>3</sup> Cel/μl)	9,017 ± 0,94	5,657 ± 0,73 *	6,543 ± 0,69	5,071 ± 0,55 **	6,229 ± 0,42	4,02 ± 0,13 ***	4,06 ± 0,72 ***	5,643 ± 0,5214 *
Linfócitos (10 <sup>3</sup> Cel/μl)	5,814 ± 0,8444	2,957 ± 0,2802**	4,357 ± 0,6015	2,6 ± 0,4012 ***	3,7 ± 0,2478 *	1,65 ± 0,2446 ****	1,82 ± 0,3089 ****	2,2 ± 0,3089 ****
Monócitos (10 <sup>3</sup> Cel/μl)	0,4857 ± 0,04592	0,7714 ± 0,1107	0,5 ± 0,04364	0,5286 ± 0,0865	0,5143 ± 0,05533	0,5143 ± 0,07047	0,46 ± 0,1208	0,4714 ± 0,06801
Granulócitos (10 <sup>3</sup> Cel/μl)	1,586 ± 0,1534	1,586 ± 0,2815	1,586 ± 0,1405	1,557 ± 0,1462	2,043 ± 0,195	1,783 ± 0,3701	1,78 ± 0,558	2,033 ± 0,3844
Plaquetas (10 <sup>9</sup> /L)	954,9 ± 56,72	1286 ± 32,76 *	1060 ± 74,31	1098 ± 63,45	955,4 ± 57,59 #	1309 ± 66,97	1133 ± 59,76	1215 ± 106,4

Tabela 3. Parâmetros hematológicos no tratamento com álcool perfílico combinado a doxorubicina em camundongos com sarcoma 180. Os dados foram representados como média ± E.P.M. (n = 5 - 7). Os dados foram representados como média ± E.P.M. (n = 5-7) e avaliados através do teste variância de uma via (ANOVA) seguido pelo pós-teste de Tukey. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*\*p < 0,001 e \*\*\*\*\*p < 0,0001 em relação ao grupo Salina; #p < 0,05; ##p < 0,01 em relação ao grupo DOX; DOX-doxorrubicina; POH-álcool perfílico.

## 6. DISCUSSÃO

Neste estudo, observamos que o efeito antitumoral da doxorubicina foi reduzido quando combinado ao álcool perfílico. Além disso, foram observados efeitos tóxicos leves no tratamento com doxorubicina na dose cumulativa de 10 mg/kg, como redução da massa corporal e a massa do coração e fígado, aumento dos níveis plasmáticos de CK-total, peroxidação lipídica no tecido cardíaco e hepático e alterações hematológicas, tanto da série vermelha, como da série branca e plaquetas. Enquanto na combinação do álcool perfílico e doxorubicina, principalmente nas doses mais baixas desse monoterpeneo, também foram notados efeitos tóxicos, como a perda de massa corporal, redução da massa dos órgãos, elevação

dos níveis de AST, bem como, dos níveis de CK-total, CK-MB e ALT (estes últimos nas doses de 50 e 100 mg/kg do álcool perfílico), peroxidação lipídica no tecido cardíaco e alterações hematológicas na série branca. Em contraste, a peroxidação lipídica no tecido hepático foi prevenido pelo álcool perfílico.

A ausência de seletividade dos antineoplásicos às células tumorais representa o principal obstáculo no tratamento quimioterápico. A citotoxicidade fora do alvo é responsável pelos efeitos tóxicos dos quimioterápicos a vários sistemas orgânicos, decorrendo em reações adversas potencialmente fatais (HERRERO; MEDARDE, 2015). Uma estratégia para limitar os efeitos adversos e impedir a resistência farmacológica no tratamento oncológico consiste na combinação de diferentes fármacos antineoplásicos (WEI *et al.*, 2021).

Para avaliar se o álcool perfílico poderia contribuir com o efeito antitumoral da doxorubicina, submetemos camundongos transplantados com células de sarcoma 180 ao tratamento com álcool perfílico combinado a doxorubicina. Como esperado, a doxorubicina causou redução significativa da massa do tumor, com aumento significativo do percentual de inibição tumoral. Por sua vez, o álcool perfílico na dose de 200 mg/kg também causou redução significativa da massa tumoral, mas sem efeito significativo na inibição do tumor. Já o tratamento combinado não apresentou efeito significativo na massa tumoral e nem no percentual de inibição tumoral.

O efeito do álcool perfílico de 200 mg/kg na redução da massa do tumor sarcoma 180 observado aqui, corrobora com o estudo de Andrade *et al.* (2016), que demonstraram um efeito antitumoral semelhante deste composto e no mesmo modelo experimental (sarcoma 180). No entanto, a ausência de efeito antitumoral no tratamento combinado evidencia a ocorrência de interação antagônica entre as drogas, que levou a redução da inibição do tumor sarcoma 180 comparado ao efeito das drogas isoladas. Isso interferiu tanto no efeito de redução da massa tumoral pelo álcool perfílico e doxorubicina, como no percentual de inibição do crescimento tumoral pela doxorubicina.

Em contrapartida, Rajesh; Stenzel; Howard (2003), demonstraram que o pré-tratamento com álcool perfílico aumentou a sensibilidade de uma linhagem de células de glioma à doxorubicina. Isso destaca que os efeitos desse monoterpene podem variar a depender das condições experimentais.

Em acréscimo, essa interferência do álcool perfílico na atividade antitumoral da doxorubicina pode ter sido causada pelo efeito antioxidante e desintoxicante de carcinógenos do álcool perfílico no fígado (SULTANA; NAFEES; KHAN, 2013). Esse efeito possivelmente

favoreceu o metabolismo hepático da doxorrubicina e intensificou sua eliminação do organismo o que, conseqüentemente, reduziria seu efeito antitumoral.

Embora o álcool perílico tenha notável atividade anticancerígena, descrita em diversas pesquisas pré-clínicas, em estudos clínicos esse monoterpene não apresentou eficácia satisfatória e levou a manifestação de efeitos adversos gastrointestinais pelos participantes, no entanto, essas limitações foram associadas a sua administração por via oral (CHEN *et al.*, 2021). De modo que, novos estudos foram conduzidos para investigar sua eficácia no tratamento de neoplasias cerebrais, principalmente de gliomas, através da via de administração intranasal (CHEN; DA FONSECA; SCHONTHAL, 2018). No modelo de xenoinxerto ortotópico de células de glioma resistentes a temozolomida, o álcool perílico foi administrado por via intranasal na dose de 0,76 mg/kg e 1,9 mg/kg e retardou o crescimento tumoral (CHO *et al.*, 2012). Além disso, a conjugação do álcool perílico à temozolomida apresentou potência anticancerígena superior às duas drogas isoladas e em combinação (XIE *et al.*, 2015). Portanto, o desenvolvimento de regimes terapêuticos ou formulações com o álcool perílico combinado a fármacos antineoplásicos como a temozolomida pode trazer benefícios consideráveis para a terapia oncológica.

A terapia combinada também pode possibilitar a redução da dose cumulativa de doxorrubicina, sendo uma estratégia essencial na prevenção da cardiotoxicidade, em virtude da estreita janela terapêutica das antraciclina (BALOUGH *et al.*, 2024; CRUZ; RODRIGUES; CAMPELO, 2016). Clinicamente, quando a doxorrubicina é utilizada como monoterapia a dose recomendada é entre 60–75 mg/m<sup>2</sup> ip, a cada 21 dias; enquanto em combinação com outros fármacos segue o esquema posológico de 25-50 mg/m<sup>2</sup> durante três dias consecutivos, a cada três ou quatro semanas (CLORIDRATO DE DOXORRUBICINA, 2021). Em camundongos, a dose 60–75 mg/m<sup>2</sup> equivale a 20–25 mg/kg (HAJRA *et al.*, 2018). Para tanto, neste estudo foi utilizado um protocolo experimental com a doxorrubicina a 10 mg/kg para minimizar seus efeitos adversos e avaliar possíveis interações no seu efeito antitumoral quando em combinação com o álcool perílico (ZHANG *et al.*, 2005).

Neste sentido, na avaliação dos parâmetros toxicológicos foi revelado que, a doxorrubicina, mesmo na dose de 10 mg/kg, reduziu significativamente a massa corporal de camundongos com sarcoma 180 a partir do 8º dia do experimento. Isso é reflexo da toxicidade gastrointestinal, mal-estar geral e caquexia provocada por esse fármaco (XU *et al.*, 2011). Enquanto isso, álcool perílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina causaram essa complicação a partir do 3º dia do experimento. Já o álcool perílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina provocou essa complicação a partir do 7º dia do experimento até o 9º. A

antecipação da perda de massa corporal no tratamento combinado, principalmente com o álcool perílico nas menores doses, pode estar relacionado com os distúrbios gastrintestinais também provocados por esse monoterpene, o que foi relatado em estudos clínicos (CHEN; CLOVIS; SCHONTHAL, 2015). Em contrapartida, neste estudo, o álcool perílico isolado não causou essa complicação.

Curiosamente, no tratamento com álcool perílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, a perda de massa corporal ocorreu apenas um dia antes comparado ao tratamento com a doxorrubicina isolada, portanto, não antecipou essa complicação como o fez o álcool perílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina. Estudos indicam que a sarcopenia resultante da perda de massa corporal durante o tratamento do câncer está associada com a maior toxicidade de fármacos antineoplásicos (PRADO *et al.*, 2009). Ainda, a perda de massa corporal está ligada ao mau prognóstico do câncer (WEN *et al.*, 2024). O fato do álcool perílico nas doses de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina ter piorado esse quadro, ao contrário do que ocorreu na dose de 200 mg/kg, sugere que esse monoterpene pode intensificar os processos fisiopatológicos provocados pela doxorrubicina quando utilizado em dose inferior à necessária para alcançar a homeostase.

Quanto à massa do coração e fígado, esses parâmetros também foram reduzidos no tratamento com a doxorrubicina, indicando danos a esses órgãos. O álcool perílico isolado também reduziu significativamente a massa do coração, mas não a do fígado. E no tratamento combinado, também houve declínio da massa desses órgãos, mostrando que o álcool perílico não foi capaz de prevenir essas alterações provocadas pela doxorrubicina.

Para confirmar esses resultados, os marcadores de lesão celular foram analisados. Vale ressaltar que, apesar da inespecificidade dos marcadores CK-total e AST, esses parâmetros complementam o diagnóstico de doenças cardíacas e hepáticas quando associados a marcadores mais específicos a exemplo do CK-MB e ALT, respectivamente (HILARIO, L.; HILARIO, W., 2022). Sendo assim, os resultados desses marcadores podem reforçar os achados encontrados nas massas dos órgãos.

Conforme nossos resultados, pode-se notar que a doxorrubicina causou redução da massa do coração e fígado, mas apenas elevou os níveis de CK-total, não sendo suficiente para confirmar a lesão nestes órgãos. Por sua vez, o álcool perílico isolado, nas três doses, também reduziu a massa do coração e não alterou a massa do fígado em comparação à salina, somado a isso, observa-se que apenas na dose de 200 mg/kg o álcool perílico elevou os níveis de CK-total e AST, mostrando que nessa dose esse monoterpene também pode provocar lesão celular. Enquanto no tratamento com álcool perílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina, a

redução da massa do coração e fígado foram acompanhadas de aumento dos níveis de CK-total, CK-MB, AST e ALT confirmando a lesão cardíaca e hepática, mas que foi menor no tratamento com álcool perfílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, cujos níveis de CK-total e CK-MB foram reduzidos comparado ao álcool perfílico de 50mg/kg combinado a doxorrubicina, bem como, dos níveis de ALT comparado ao álcool perfílico de 100 mg/kg combinado a doxorrubicina.

De modo semelhante, Younis *et al.* (2021) observaram que roedores submetidos a uma dose cumulativa de 15 mg/kg da doxorrubicina apresentaram declínio no peso relativo do coração, acompanhada pela elevação dos marcadores séricos CK, CK-MB, AST, ALT e lactato desidrogenase. De fato, a lesão celular persistente provocada pela doxorrubicina pode culminar em apoptose dos cardiomiócitos, contribuindo para a perda de massa do coração e o desenvolvimento de cardiomiopatia (CHILDS *et al.*, 2002). Adicionalmente, a inibição da via mTOR pela doxorrubicina também está envolvida com a perda de massa cardíaca, visto que causa redução do diâmetro das fibras cardíacas e do tamanho dos cardiomiócitos ao interferir na síntese proteica (ZHU *et al.*, 2009). Neste estudo, a perda de massa do coração também foi observada nos grupos tratados com o álcool perfílico isolado e em combinação com doxorrubicina. Para tanto, há relatos de que o álcool perfílico exerce efeito inibitório sob a via mTOR e seus efetores (4EBP1 e eIF4E) em linhagens de células tumorais (CHO *et al.*, 2012; MA *et al.*, 2016; PEFFLEY *et al.*, 2007). Sendo assim, essa ação pode ter ocorrido no tecido cardíaco, o que explicaria a perda da massa do coração induzida pelo álcool perfílico.

Embora a toxicidade hepática seja um evento adverso menos comum com a utilização da doxorrubicina, sua associação a outros fármacos aumentam as chances de dano a esse órgão (DAMODAR *et al.*, 2014). De acordo com esse pressuposto, verificamos aqui que administração de doxorrubicina associado ao álcool perfílico em camundongos com sarcoma 180 induz hepatotoxicidade. Sabe-se que tanto a doxorrubicina como o álcool perfílico são metabolizados no fígado e uma possível sobrecarga do metabolismo hepático pode ter acontecido (GOMES *et al.*, 2017; SHEIBANI *et al.*, 2022).

Ademais, animais com sarcoma 180 tendem a apresentar níveis elevados de AST e ALT comparado a animais saudáveis. Essas alterações, especialmente nos níveis de AST - uma enzima expressa nos músculos esquelético e cardíaco, rins, pâncreas e eritrócitos - tem ligação direta com o dano do tecido muscular provocado pelo crescimento do tumor. Em contraste, o óleo essencial de *Mentha x villosa*, nas doses de 50 e 100 mg/kg, associado ao 5-fluorouracilo reduziram esses marcadores em relação ao controle com sarcoma 180, reflexo da inibição tumoral promovida pelos tratamentos (AMARAL *et al.*, 2016).

A cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina possui fisiopatologia complexa cujo estresse oxidativo desempenha um papel fundamental para seu desenvolvimento (SONGBO *et al.*, 2019). Nesse contexto, a peroxidação lipídica é uma consequência decorrente da elevação das EROs na célula que, ao reagir com os lipídios de membrana levam a formação de diversos produtos tóxicos, dentre eles o MDA (GEĞOTEK; SKRZYDLEWSKA, 2024). Para tanto, avaliamos os níveis de MDA no tecido cardíaco e verificamos sua elevação no grupo da doxorubicina. Por outro lado, o álcool perílico isolado manteve os níveis basais de MDA, mas em combinação com a doxorubicina, causou um aumento considerável deste subproduto da peroxidação lipídica, refletindo no aumento do dano oxidativo no tecido cardíaco.

O acúmulo de EROs induzido por doxorubicina podem também causar modificações redox a proteínas, decorrendo em comprometimento de suas funções nas células. Contudo, grupamentos sulfidrilas presentes nessas macromoléculas podem sofrer oxidação reversível, impedindo o dano permanente a proteínas (PACE *et al.*, 2025). A GSH exerce um papel imprescindível neste processo, pois atua como antioxidante não enzimático, transferindo hidrogênio para restaurar os grupamentos sulfidrilas oxidados em proteínas, além constituir o substrato essencial de enzimas antioxidantes, a exemplo da GPX (NOGUCHI; SAITO; NIKI, 2023). Assim como em outros estudos, mostramos que doxorubicina reduz significativamente os níveis de sulfidrilas totais no tecido cardíaco de camundongos portadores de sarcoma 180, em contrapartida, o álcool perílico isolado de 200 mg/kg elevou seus níveis comparado a doxorubicina, mas no tratamento combinado não houve efeitos significativos no aumento desses grupamentos (RAD; MOHEBBATI, 2018; XU *et al.*, 2025).

Todavia, os efeitos protetores do pré-tratamento com álcool perílico na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina foram relatados por Sá (2024), demonstrando que quando esse monoterpeno é administrado na dose de 50 e 100 mg/kg por via ip. em ratos, ele é capaz de prevenir a elevação do MDA e a redução das sulfidrilas totais, bem como, impede a supressão das enzimas antioxidantes, repercutindo na redução dos marcadores de lesão cardíaca, melhora da função eletrocardiográfica e redução das alterações teciduais.

Portanto, a administração do álcool perílico como pré-tratamento da cardiotoxicidade induzida por doxorubicina pode melhorar a função cardíaca, diferente do tratamento combinado, que, como mostramos, interfere no efeito antitumoral da doxorubicina e não protege o coração dos danos oxidativos. Adicionalmente, na via de administração ip. as drogas estão menos suscetíveis aos efeitos do metabolismo de primeira passagem, diferente da administração por via oral, que resulta na redução da biodisponibilidade do álcool perílico e,

consequentemente, na diminuição de seus efeitos. Logo, isso pode ter contribuído para a ausência de efeitos protetores do álcool perfílico neste estudo.

Monoterpenos foram descritos como compostos protetores do sistema cardiovascular (AIAN *et al.*, 2021). Na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina esses compostos melhoram a função cardíaca contendo o estresse oxidativo e inflamação através da regulação de diferentes vias de sinalização. Por exemplo, a monotropeína na dose de 20 mg/kg atenua a cardiotoxicidade provocada pela doxorubicina ao restaurar a via de sinalização AKT. Essa ativação promove a melhora do perfil antioxidante (aumento de SOD e GSH) e a redução de marcadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-6), efeitos que são perdidos na presença de inibidores de AKT (FANG; WEI; JIANG, 2023). O monoterpeno geniposide também protegeu o coração do estresse oxidativo induzido por doxorubicina em camundongos. Sua administração na dose de 25 e 50 mg/kg nesses animais estimulou a ativação do Nrf-2 que foi relacionado a fosforilação de AMPK $\alpha$  (proteína quinase ativada por AMP subunidade alfa) e resultou no aumento da expressão e atividades das enzimas SOD1, SOD2 e GPX no tecido cardíaco. Ademais, em cardiomioblastos de ratos (H9c2) a regulação positiva de Nrf2 estimulada pelo geniposide foi inibida pelo bloqueio de AMPK $\alpha$  (MENG *et al.*, 2019).

Aqui, foi verificado que a doxorubicina na dose cumulativa de 10 mg/kg não alterou a atividade da GPX e SOD no tecido cardíaco de camundongos portadores de sarcoma 180. No entanto, no tratamento combinado o álcool perfílico de 200 mg/kg induziu aumento da atividade da SOD tanto em relação à salina como em relação à doxorubicina. É sabido que o coração expressa menos enzimas antioxidantes e por esse motivo torna-se mais vulnerável aos danos oxidativos desencadeados pela doxorubicina (NASCIMENTO *et al.*, 2020). Além disso, é amplamente aceito que a doxorubicina suprime a resposta antioxidante no coração o que contribui para o estresse oxidativo (KONG *et al.*, 2022). Contudo, Qi *et al.* (2020) observaram que a administração da doxorubicina a 5mg/kg ip., por semana, durante 4 semanas, em camundongos, não alterou a atividade das enzimas antioxidantes, todavia, o pré-tratamento com cardamonina nas doses de 40 e 80 mg/kg/dia estimulou a expressão do Nrf2, elevando seus níveis e levando ao aumento da atividade das enzimas SOD, GPX e heme oxigenase-1, além de levar a redução das EROs intracelulares e dos níveis de MDA.

Esses resultados sugerem a necessidade de doses elevadas do álcool perfílico para exercer atividade antioxidante no coração. Além disso, existem diferenças quanto ao perfil de cardiotoxicidade nos modelos experimentais agudo e crônico da administração da doxorubicina, neste último, a identificação do momento exato da manifestação clínica da cardiotoxicidade é indeterminável (MENG *et al.*, 2022). Aqui, optamos pela utilização

administração crônica da doxorrubicina além de baixa dose e em dias alternados, isso possivelmente contribuiu para a manutenção da atividade das enzimas antioxidantes no estado basal. Em acréscimo, é importante destacar que a resposta antioxidante é um mecanismo adaptativo à elevação de EROs celular e que pode se comportar de forma variável a depender da intensidade da injúria e em diferentes células.

Semelhante ao estresse oxidativo, o estresse do retículo endoplasmático também é um processo adaptativo que ocorre a fim de restabelecer a homeostase celular e sua modulação pelo álcool perílico pode diferir dependendo dos processos fisiopatológicos em que cada célula está sujeita (LIU *et al.*, 2022). Por exemplo, enquanto que em células de glioma o álcool perílico induz o estresse do retículo endoplasmático (CHO *et al.*, 2012), em células renais humanas (HK-2) submetidas a lesão por isquemia/reperfusão, esse monoterpene normalizou essa resposta além de prevenir o estresse oxidativo e apoptose celular (CHO *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2017). Entretanto, em nosso estudo, é possível observar que o álcool perílico não foi capaz de restabelecer o equilíbrio redox no coração que foi alterado pela doxorrubicina.

Quanto ao estado redox no fígado, observa-se aumento dos níveis de MDA no grupo doxorrubicina. O álcool perílico isolado na dose de 200 mg/kg também elevou os níveis de MDA no tecido hepático. Em contraste, no tratamento combinado, os níveis de MDA foram reduzidos. Referente aos níveis de sulfidrilas totais, não houve diferença entre os tratamentos. Já na atividade da GPX, esta foi aumentada no tratamento com a doxorrubicina, nos tratamentos com álcool perílico isolado - havendo um aumento mais expressivo na dose de 200 mg/kg do que na de 100 mg/kg - e nos tratamentos combinados. Quanto à atividade da SOD, não houve diferença entre os tratamentos.

Posto isso, pode-se concluir que o álcool perílico impediu a peroxidação lipídica no fígado induzida pela doxorrubicina, principalmente através da regulação positiva da GPX. Contudo, o álcool perílico em dose elevada induziu a peroxidação lipídica no tecido hepático. A origem desse dano pode ter como causa a sobrecarga do metabolismo do álcool perílico no fígado.

Na literatura é apontado o potencial dos produtos naturais com propriedades antioxidantes na prevenção da hepatotoxicidade induzida pela doxorrubicina (MAHMOUDI; ARASTEH; ELYASI, 2023; PRASANNA; RENU; GOPALAKRISHNAN, 2020). De fato, Nair *et al.* (2014) provaram que os carotenóides, antioxidantes lipofílicos que promove a pigmentação de frutas e vegetais, protegeu o coração e fígado dos danos induzidos por uma dose única de doxorrubicina a 25 mg/kg (ip), em camundongos transplantados com células de linfoma ascítico de dalton.

Os efeitos do extrato de *zataria multiflora* e seu principal constituinte carvacrol também foram investigados na hepatotoxicidade induzida por uma infusão de 5 mg/kg de doxorubicina pela veia da cauda, em ratos. Os resultados demonstraram melhora nos marcadores bioquímicos de lesão hepática e no perfil antioxidante, como redução de MDA e aumento da atividade da catalase. Contudo, não foram observadas variações expressivas na SOD, enquanto o aumento do GSH foi verificado especificamente no grupo tratado com o extrato da planta (MOHEBBATI *et al.*, 2018). De modo semelhante, neste estudo, também não foram observadas diferenças nos níveis de sulfidrilas totais e na atividade da SOD entre os tratamentos.

Adicionalmente, na lesão hepática induzida por etanol, o pré-tratamento com álcool perfílico preveniu a peroxidação lipídica e aumentou o conteúdo de GSH e a atividade das enzimas antioxidantes, GPX, glutathione redutase, glutathione S-transferase e catalase. Além disso, o álcool perfílico impediu o processo de ativação do NF- $\kappa$ B, que estava associado ao estresse oxidativo (KHAN; NAFEES; SULTANA, 2011). Sendo assim, nossos resultados corroboram com esses estudos que demonstraram os efeitos hepatoprotetores do álcool perfílico frente ao estresse oxidativo.

As células do sangue periférico e da medula óssea também são alvos dos danos oxidativos induzidos pela doxorubicina. No estudo de Jagetia; Hmingthazuali (2018), foi observado redução da atividade da catalase, SOD e dos níveis de glutathione, bem como, aumento da peroxidação lipídica na medula óssea de ratos tratados com doxorubicina, no entanto, essas alterações foram atenuadas pela naringina, um bioflavonoide de frutas cítricas.

Neste estudo, verificamos que a doxorubicina causa redução significativa do número de hemácias, da concentração de hemoglobina, hematócrito, e número de leucócitos totais, linfócitos e aumento das plaquetas. Em contrapartida, os animais tratados com álcool perfílico não apresentaram alterações nos parâmetros hematológicos da série vermelha e plaquetas. Contudo, na série branca, o álcool perfílico de 100 mg/kg causou redução dos leucócitos totais e linfócitos e o álcool perfílico de 200 mg/kg diminuiu os linfócitos. Ainda, no tratamento combinado, houve também redução dos leucócitos totais e linfócitos, independente da dose do álcool perfílico. Com isso, é possível concluir que o álcool perfílico não melhorou significativamente as alterações hematológicas induzidas pela doxorubicina na série vermelha, nem surtiu efeito protetor frente a imunossupressão induzida pelo fármaco. Observamos também que o álcool perfílico isolado exerceu efeito imunossupressor ao diminuir as concentrações de linfócitos no sangue periférico dos camundongos.

Todavia, alterações hematológicas também são decorrentes do desenvolvimento do tumor e poderiam tornar os animais ainda mais vulneráveis à ação das drogas. A esse respeito,

Cheng; Yang; Shyur (2016), mostraram que camundongos portadores de sarcoma 180 cursam com supressão do sistema imunológico comparado a camundongos saudáveis e que essa imunossupressão é ainda mais intensificada pela doxorubicina. Foram reportadas redução das hemácias, hemoglobina, hematócrito e linfócitos e aumento dos neutrófilos e monócitos no sangue periférico de camundongos com sarcoma 180 (AMARAL *et al.*, 2016; BEZERRA *et al.*, 2008; SANTANA, 2022). Além disso, animais com sarcoma 180 apresentam redução da celularidade da medula óssea (JANA *et al.*, 2014).

Em relação a supressão dos linfócitos T mediada pelo álcool perfílico, Wei *et al.* (2002) revelaram que esse composto induz a apoptose dessas células, além de prejudicar sua motilidade e interferir nos processos de ativação e migração. Já Imamura *et al.*, (2013), relataram que o tratamento com álcool perfílico suprimiu a ativação de células T no baço de camundongos sensibilizados com ovoalbumina aerossolizado, bem como, atenuou a eosinofilia das vias aéreas e a produção de citocinas Th2 nos linfonodos pulmonares e torácicos. Em conjunto, esses resultados reforçam a supressão dos linfócitos observados neste estudo.

Apesar dos nossos resultados, é importante destacar que uma série de estudos mostram os benefícios do álcool perfílico em outros modelos experimentais e até na cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina. Como mencionado, o álcool perfílico pode ter reduzido a atividade antitumoral da doxorubicina, além de não ter apresentado efeitos protetores no coração, em função de possíveis interações com este fármaco.

Desse modo, são necessárias mais pesquisas para explorar o impacto de compostos antioxidantes naturais associados a fármacos antineoplásicos, na investigação de seus benefícios para o tratamento do câncer.

## **7. CONCLUSÃO**

Com esse estudo pode-se concluir que, o álcool perfílico em todas as doses avaliadas interferiu no efeito antitumoral da doxorubicina. A doxorubicina na dose de 10 mg/kg levou a redução da massa do coração e fígado, mas sem lesão aparente, o que foi observado através dos marcadores bioquímicos de lesão celular. Por outro lado, no tratamento com álcool perfílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorubicina os resultados indicam que houve lesão cardíaca e hepática, diferente do tratamento com álcool perfílico de 200 mg/kg combinado a doxorubicina, em que não houve lesão aparente. Além disso, o álcool perfílico não foi capaz de atenuar o estresse oxidativo induzido pela doxorubicina no coração, o que foi provado através do marcador de peroxidação lipídica MDA, no entanto, no fígado, esse dano foi prevenido pelo álcool perfílico. Esse monoterpene também não impediu as alterações hematológicas induzidas

pela doxorrubicina. Esses resultados mostram que o álcool perfílico não traz vantagens terapêuticas quando combinado a doxorrubicina, nas condições avaliadas. Contudo, são necessárias mais pesquisas para confirmar esses resultados e investigar os mecanismos de interação entre as duas drogas.

## **8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Neste estudo foi mostrado que o tratamento com o álcool perfílico combinado a doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180 não fornece benefícios adicionais em termos de efeito antitumoral e redução dos efeitos tóxicos. Em função do perfil de toxicidade com o tratamento do álcool perfílico de 50 e 100 mg/kg combinado a doxorrubicina e que foi menos intenso com álcool perfílico de 200 mg/kg combinado a doxorrubicina, isso indica que o álcool perfílico em doses baixas e administrado através da via oral pode intensificar os processos fisiopatológicos induzidos pela doxorrubicina. O fato disso ocorrer de forma mais branda na maior dose do álcool perfílico leva a deduzir que é necessário doses mais elevadas deste monoterpeno para surtir efeitos protetores frente os efeitos tóxicos da doxorrubicina. Portanto, futuros estudos com o álcool perfílico devem ser direcionados ao desenvolvimento de formulações nanotecnológicas, modificações estruturais na sua molécula ou administração

através de vias alternativas, para otimizar a entrega deste composto no organismo e melhorar suas propriedades farmacocinéticas, para então, alcançar resultados terapêuticos satisfatórios. Além disso, os possíveis mecanismos de interação entre o álcool perílico e doxorubicina devem ser investigados mais a fundo.

## REFERÊNCIAS

- ABUSHOUK, A. I. et al. Cardioprotective mechanisms of phytochemicals against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 90, p. 935–946, jun. 2017.
- AFSHORDEL, S. et al. Lovastatin and perillyl alcohol inhibit glioma cell invasion, migration, and proliferation – Impact of Ras-/Rho-prenylation. *Pharmacological Research*, v. 91, p. 69–77, 1 jan. 2015.
- AHMED, S. et al. Perillyl Alcohol Attenuates NLRP3 Inflammasome Activation and Rescues Dopaminergic Neurons in Experimental In Vitro and In Vivo Models of Parkinson’s Disease. *ACS Chemical Neuroscience*, v. 13, n. 1, p. 53–68, 14 dez. 2021.
- AIAN, E. et al. Monoterpenes and their derivatives as agents for cardiovascular disease management: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine*, v. 88, p. 153451–153451, 1 jul. 2021.

AKI, S. et al. Cancer metabolism within tumor microenvironments. *Biochimica Et Biophysica Acta - General Subjects*, v. 1867, n. 5, p. 130330–130330, 1 fev. 2023.

AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, v. 302, p.141-5, 2001.

AMARAL, R. G. et al. Antitumour effects of the essential oil from *Mentha x villosa* combined with 5-fluorouracil in mice. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 31, n. 3, p. 250–254, 28 fev. 2016.

ANJALI BISHT et al. A comprehensive review on doxorubicin: mechanisms, toxicity, clinical trials, combination therapies and nanoformulations in breast cancer. *Drug delivery and translational research*, v. 15, 17 jun. 2024.

ANDRADE et al. In Vivo Anti-Tumor Activity and Toxicological Evaluations of Perillaldehyde 8,9-Epoxyde, a Derivative of Perillyl Alcohol. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 1, p. 32–32, 4 jan. 2016.

ARCAMONE, F. et al. Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peucetius* var. *caesius*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 11, n. 6, p. 1101–1110, 1 nov. 1969.

BAAT, E. C. et al. Dexrazoxane for preventing or reducing cardiotoxicity in adults and children with cancer receiving anthracyclines. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 9, n. 9, p. CD014638, 27 set. 2022.

BALOUGH, E. et al. Cardiotoxicity of Anthracyclines. *Cardiology Clinics*, v. 43, n. 1, p. 111–127, 5 out. 2024.

BACON, A. et al. Incidence and survival of soft tissue sarcoma in England between 2013-2017, an analysis from the National Cancer Registration and Analysis Service. *International Journal of Cancer*, 21 dez. 2022.

BECKINGSALE, T. B.; SHAW, C. Epidemiology of bone and soft-tissue sarcomas. *Orthopaedics and Trauma*, v. 31, n. 3, p. 144–150, jun. 2017.

BEJESHK, M. A. et al. Perillyl alcohol (PA) mitigates inflammatory, oxidative, and histopathological consequences of allergic asthma in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, v. 396, n. 6, p. 1235–1245, 28 jan. 2023.

BERCHTOLD, C. M. et al. Perillyl Alcohol Inhibits a Calcium-Dependent Constitutive Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway. *Cancer Research*, v. 65, n. 18, p. 8558–8566, 15 set. 2005.

BEZERRA, D. P. et al. In vitro and in vivo antitumor effect of 5-FU combined with piplartine and piperine. *Journal of Applied Toxicology*, v. 28, n. 2, p. 156, 2008.

BRAY, F. et al. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 74, n. 3, p. 229–263, 4 abr. 2024.

BUCHALSKA, B. et al. Doxorubicin or Epirubicin Versus Liposomal Doxorubicin Therapy—Differences in Cardiotoxicity. *Cardiovascular Toxicology*, 15 jan. 2025.

- CAMILI, M. et al. Anthracycline Cardiotoxicity in Adult Cancer Patients. *JACC CardioOncology*, v. 6, n. 5, p. 655–677, 17 set. 2024.
- CAPELÔA, T. et al. Metabolic and non-metabolic pathways that control cancer resistance to anthracyclines. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, jul. 2019.
- CARTWRIGHT, E. J. et al. Calcium signaling dysfunction in heart disease. *BioFactors*, v. 37, n. 3, p. 175–181, maio 2011.
- CHAUDHARY, S. C. et al. Perillyl alcohol attenuates Ras-ERK signaling to inhibit murine skin inflammation and tumorigenesis. *Chemico-Biological Interactions*, v. 179, n. 2-3, p. 145–153, 31 dez. 2008.
- CHAACHOUAY, N.; ZIDANE, L. Plant-Derived Natural Products: A Source for Drug Discovery and Development. *Drugs and Drug Candidates*, v. 3, n. 1, p. 184–207, 1 mar. 2024.
- CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature reviews. Cancer*, v. 5, n. 1, p. 65–72, 2005.
- CHEN, T. C.; CLOVIS; SCHONTHAL, A. H. Preclinical development and clinical use of perillyl alcohol for chemoprevention and cancer therapy. *American Journal of Cancer Research*, v. 5, n. 5, p. 1580, 15 abr. 2015.
- CHEN, T.; FONSECA, C.; SCHONTHAL, A. Intranasal Perillyl Alcohol for Glioma Therapy: Molecular Mechanisms and Clinical Development. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 12, p. 3905, 6 dez. 2018.
- CHEN, T. C. et al. The Monoterpenoid Perillyl Alcohol: Anticancer Agent and Medium to Overcome Biological Barriers. *Pharmaceutics*, v. 13, n. 12, p. 2167, 1 dez. 2021.
- CHENG, Y.T.; YANG, C. C.; SHYUR, L. F. Phytomedicine—Modulating oxidative stress and the tumor microenvironment for cancer therapy. *Pharmacological Research*, v. 114, p. 128–143, dez. 2016.
- CHILDS, A. C. et al. Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio. *Cancer Research*, v. 62, n. 16, p. 4592–4598, 15 ago. 2002.
- CHRISTIDI, E.; BRUNHAM, L. R. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell Death & Disease*, v. 12, n. 4, p. 1–15, 1 abr. 2021.
- CHO, H.-Y. et al. Perillyl Alcohol for the Treatment of Temozolomide-Resistant Gliomas. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 11, n. 11, p. 2462–2472, 1 nov. 2012.
- COLORIDRATO DE DOXORRUBICINA: solução injetável (2 mg/mL). Responsável técnico: Dra. Jarsonita Alves Serafim. São Paulo: Intas Pharmaceuticals Ltd, 2020. 1 bula de remédio.
- CRUZ, M.; RODRIGUES, J. D.; CAMPELO, M. Cardiotoxicidade na terapêutica com antraciclina: estratégias de prevenção. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, v. 35, n. 6, p. 359–371, jun. 2016.

DAMODAR, G. et al. An evaluation of hepatotoxicity in breast cancer patients receiving injection doxorubicin. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, v. 4, n. 1, p. 74, 2014.

DOROSHOW, J. H. et al. Oxidative DNA base modifications in peripheral blood mononuclear cells of patients treated with high-dose infusional doxorubicin. *Blood*, v. 97, n. 9, p. 2839–2845, 1 maio 2001.

DZIUBLA, T. et al. *Oxidative stress and biomaterials*. Amsterdam Etc.: Elsevier/Academic Press, Cop, 2016.

EISNER, D. A. et al. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circulation research*, v. 121, n. 2, p. 181–195, 2017.

ELAMIN, M. H. et al. Synergistic Anti-Breast-Cancer Effects of Combined Treatment With Oleuropein and Doxorubicin In Vivo. *Altern Ther Health Med*, [S. l.], v. 25, n. 3, p. 17-24, maio 2019.

ELLIOTT, A. M.; AL-HAJJ, M. A. ABCB8 Mediates Doxorubicin Resistance in Melanoma Cells by Protecting the Mitochondrial Genome. *Molecular Cancer Research*, v. 7, n. 1, p. 79–87, jan. 2009.

FALZONE, L.; SALOMONE, S.; LIBRA, M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, n. 1300, 13 nov. 2018.

FANG, X. et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 116, n. 7, p. 2672–2680, 28 jan. 2019.

FANG, Y. et al. Activation of the Nrf2/Keap1 signaling pathway mediates the neuroprotective effect of Perillyl alcohol against cerebral hypoxic-ischemic damage in neonatal rats. *Redox Report*, v. 29, n. 1, 16 set. 2024.

FANG, Z.; WEI, W.; JIANG, X. Monotropein attenuates doxorubicin-induced oxidative stress, inflammation, and arrhythmia via the AKT signal pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 638, p. 14–22, 1 jan. 2023.

FERREIRA et al., Preclinical anticancer effectiveness of a fraction from *Casearia sylvestris* and its component Casearin X: in vivo and ex vivo methods and microscopy examinations. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016.

FIASCHI, T.; CHIARUGI, P. Oxidative Stress, Tumor Microenvironment, and Metabolic Reprogramming: A Diabolic Liaison. *International Journal of Cell Biology*, v. 2012, p. 1–8, 2012.

FLOYD, J. et al. Hepatotoxicity of Chemotherapy. *Seminars in Oncology*, v. 33, n. 1, p. 50–67, fev. 2006.

FREEMAN, A. K.; SUMATHI, V. P.; JEYS, L. Primary malignant tumours of the bone. *Surgery (Oxford)*, v. 36, n. 1, p. 27–34, jan. 2018.

GEĜOTEK, A.; SKRZYDLEWSKA, E. Lipid peroxidation products' role in autophagy regulation. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 212, p. 375–383, 20 fev. 2024.

- GOMES, A. C. et al. Perillyl alcohol, a pleiotropic natural compound suitable for brain tumor therapy, targets free radicals. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, v. 65, n. 4, p. 285–297, 17 mar. 2017.
- GROARKE, J. D.; NOHRIA, A. Anthracycline Cardiotoxicity. *Circulation*, v. 131, n. 22, p. 1946–1949, 2 jun. 2015.
- GRUNEWALD, T. G. et al. Sarcoma treatment in the era of molecular medicine. *EMBO molecular medicine*, v. 12, n. 11, p. e11131, 6 nov. 2020.
- HAJJAR, L. A. et al. Diretriz Brasileira de Cardio-oncologia – 2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 115, n. 5, p. 1006–1043, nov. 2020.
- HAJRA, S. et al. Prevention of doxorubicin (DOX)-induced genotoxicity and cardiotoxicity: Effect of plant derived small molecule indole-3-carbinol (I3C) on oxidative stress and inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 101, p. 228–243, 1 maio 2018.
- HANNA, A. D. et al. Adverse Effects of Doxorubicin and Its Metabolic Product on Cardiac RyR2 and SERCA2A. *Molecular Pharmacology*, v. 86, n. 4, p. 438–449, 1 out. 2014.
- HERRERO, E. P.; MEDARDE, A. F. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, v. 93, n. 93, p. 52–79, 2015.
- HILARIO, L. S. M.; HILARIO, W. F. Aspectos bioquímicos e laboratoriais dos marcadores do infarto agudo do miocárdio (IAM). *Perspectivas Experimentais e Clínicas Inovações Biomédicas e Educação em Saúde (PECIBES) ISSN - 2594-9888*, v. 8, n. 2, p. 06-10, 7 dez. 2022.
- HOU, J. et al. Ginsenoside Rh2 mitigates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting apoptotic and inflammatory damage and weakening pathological remodelling in breast cancer-bearing mice. *Cell Proliferation*, v. 55, n. 6, 9 maio 2022.
- HOSSEINI, H. et al. Bone tumors: a systematic review of prevalence, risk determinants, and survival patterns. *BMC Cancer*, v. 25, n. 1, 21 fev. 2025.
- IMAMURA, M. et al. Perillyl alcohol suppresses antigen-induced immune responses in the lung. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 443, n. 1, p. 266–271, 2 dez. 2013.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer*. 5. ed. rev. atual. ampl. – Rio de Janeiro: INCA, 2020.
- IQBAL, M. J. et al. Interplay of oxidative stress, cellular communication and signaling pathways in cancer. *Cell Communication and Signaling*, v. 22, n. 1, 2 jan. 2024.
- ITO-HAGIWARA, K. et al. Cardioprotective strategies against doxorubicin-induced cardiotoxicity: A review from standard therapies to emerging mitochondrial transplantation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 189, p. 118315, 3 jul. 2025.

- JAGETIA, G. C.; HMINGTHAZUALI, V. L. Protection of doxorubicin-induced biochemical injury in the rat bone marrow by a dietary bioflavonoid naringin. *Annals of Clinical and Laboratory Research*, v. 6, n. 1, p. 224, 2018.
- JAHANGIR, T.; SULTANA, S. Perillyl Alcohol Protects against Fe-NTA-Induced Nephrotoxicity and Early Tumor Promotional Events in Rat Experimental Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 4, n. 4, p. 439–445, 2007.
- JANA, S. et al. Antitumorigenic Potential of Linalool Is Accompanied by Modulation of Oxidative Stress: An In Vivo Study in Sarcoma-180 Solid Tumor Model. *Nutrition and Cancer*, v. 66, n. 5, p. 835–848, 29 abr. 2014.
- JIA, Z. et al. Pressure Overload-induced Cardiac Hypertrophy Varies According to Different Ligation Needle Sizes and Body Weights in Mice. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 1 jan. 2018.
- JIANG, Q. et al. Tanshinone I inhibits doxorubicin-induced cardiotoxicity by regulating Nrf2 signaling pathway. *Phytomedicine*, v. 106, p. 154439, 6 set. 2022.
- JOMOVÁ, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, v. 97, n. 10, 19 ago. 2023.
- JUNIOR, M. R. M. Biotransformação de terpenos para a produção de compostos de aroma e funcionais. 2006. Tese (Doutorado) - Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2006.
- JÚNIOR, L. J. Q. et al.  $\beta$ -Cyclodextrin-complexed (-)-linalool produces antinociceptive effect superior to that of (-)-linalool in experimental pain protocols. v. 113, n. 3, p. 167–172, 15 jun. 2013.
- KHAN, A. Q.; NAFEES, S.; SULTANA, S. Perillyl alcohol protects against ethanol induced acute liver injury in Wistar rats by inhibiting oxidative stress, NF $\kappa$ -B activation and proinflammatory cytokine production. *Toxicology*, v. 279, n. 1-3, p. 108–114, jan. 2011.
- KITAKATA, H. et al. Therapeutic Targets for DOX-Induced Cardiomyopathy: Role of Apoptosis vs. Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 3, p. 1414, 26 jan. 2022.
- KONG, C. Y. et al. Underlying the Mechanisms of Doxorubicin-Induced Acute Cardiotoxicity: Oxidative Stress and Cell Death. *International Journal of Biological Sciences*, v. 18, n. 2, p. 760–770, 2022.
- KOYAMA, M. et al. Perillyl alcohol causes G1 arrest through p15INK4b and p21WAF1/Cip1 induction. *Oncology Reports*, v. 29, n. 2, p. 779–784, 6 dez. 2012.
- KOZIOL, A. et al. An Overview of the Pharmacological Properties and Potential Applications of Natural Monoterpenes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 14, n. 14, p. 1156–1168, 2014.
- LANIER, E.R.; ANDERSEN, T. B.; HAMBERGER, B. Plant terpene specialized metabolism: complex networks or simple linear pathways? *Plant Journal*, v. 114, n. 5, p. 1178–1201, 29 mar. 2023.

- LEBRECHT, D. et al. Time-dependent and tissue-specific accumulation of mtDNA and respiratory chain defects in chronic doxorubicin cardiomyopathy. *Circulation*.108(19):2423-2429. 2003
- LENZEN, S. Chemistry and biology of reactive species with special reference to the antioxidative defence status in pancreatic  $\beta$ -cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, v. 1861, n. 8, p. 1929–1942, 17 maio 2017.
- LI, D. L. et al. Doxorubicin Blocks Cardiomyocyte Autophagic Flux by Inhibiting Lysosome Acidification. *Circulation*, v. 133, n. 17, p. 1668–1687, 26 abr. 2016.
- LI, K. et al. Combination of tanshinone IIA and doxorubicin possesses synergism and attenuation effects on doxorubicin in the treatment of breast cancer. *Phytotherapy Research*, v. 33, n. 6, p. 1658–1669, 3 abr. 2019.
- LIANG, Z.; HE, Y.; HU, X. Cardio-Oncology: Mechanisms, Drug Combinations, and Reverse Cardio-Oncology. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 18, p. 10617, 13 set. 2022.
- LINCH, M. et al. Systemic treatment of soft-tissue sarcoma—gold standard and novel therapies. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 11, n. 4, p. 187–202, 18 mar. 2014.
- LIOU, G.-Y.; STORZ, P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, v. 44, n. 5, p. 479–496, jan. 2010.
- LIU, X. et al. Mitochondrial-Endoplasmic Reticulum Communication-Mediated Oxidative Stress and Autophagy. *BioMed Research International*, v. 2022, p. 1–12, 17 set. 2022.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein by oliver. *Journal of Biological Chemistry*, 1951.
- MA, J. et al. Perillyl alcohol efficiently scavenges activity of cellular ROS and inhibits the translational expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  via mTOR/4E-BP1 signaling pathways. *International Immunopharmacology*, v. 39, p. 1–9, 1 out. 2016.
- MANDAL, D.; SAHU, B. R.; PARIJA, T. Combination of tamoxifen and D-limonene enhances therapeutic efficacy in breast cancer cells. *Medical Oncology*, v. 40, n. 8, 30 jun. 2023.
- MADESH, M.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, vol. 35, no. 3, p. 184–188, 1998.
- MAHMOUDI, F.; ARASTEH, O.; ELYASI, S. Preventive and therapeutic use of herbal compounds against doxorubicin induced hepatotoxicity: a comprehensive review. *Naunyn-Schmiedeberg s Archives of Pharmacology*, v. 396, n. 8, p. 1595–1617, 9 mar. 2023.
- MARCO, A. et al. Daunomycin: A New Antibiotic with Antitumor Activity. *Tumori Journal*, v. 49, n. 3, p. 203–217, maio 1963.
- MATTIOLI, R. et al. Doxorubicin and other anthracyclines in cancers: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 93, p. 101205–101205, 1 out. 2023.

- MENG, Y.-Y. et al. Protection against Doxorubicin-Induced Cytotoxicity by Geniposide Involves AMPK $\alpha$  Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, p. e7901735, 26 jun. 2019.
- MENG, C. et al. Preparation and Evaluation of Animal Models of Cardiotoxicity in Antineoplastic Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 1–16, 5 jul. 2022.
- MINOTTI, G. et al. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, v. 56, n. 2, p. 185–229, 28 maio 2004.
- MIRZAEI, S. et al. Nrf2 Signaling Pathway in Chemoprotection and Doxorubicin Resistance: Potential Application in Drug Discovery. *Antioxidants*, v. 10, n. 3, p. 349, 1 mar. 2021.
- MOHEBBATI, R. et al. Effects of standardized *Zataria multiflora* extract and its major ingredient, Carvacrol, on Adriamycin-induced hepatotoxicity in rat. *Biomedical Journal*, v. 41, n. 6, p. 340–347, 1 dez. 2018.
- MOTT, M. G. Anthracycline Cardiotoxicity and Its Prevention. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 824, n. 1 Challenges an, p. 221–228, 1 set. 1997.
- MUDD, T. W.; GUDDATI, A. K. Management of hepatotoxicity of chemotherapy and targeted agents. *American Journal of Cancer Research*, v. 11, n. 7, p. 3461, 15 jul. 2021.
- NAEEM, A. et al. Natural Products as Anticancer Agents: Current Status and Future Perspectives. *Molecules*, v. 27, n. 23, p. 8367, 1 jan. 2022.
- NAIR, C. K. et al. Amelioration of doxorubicin induced cardio-and hepato-toxicity by carotenoids. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, v. 10, n. 1, p. 62, 2014.
- NASCIMENTO, T. C. et al. Microalgae carotenoids intake: Influence on cholesterol levels, lipid peroxidation and antioxidant enzymes. *Food Research International*, v. 128, p. 108770, fev. 2020.
- NAKAMURA, H.; TAKADA, K. Reactive oxygen species in cancer: current findings and future directions. *Cancer Science*, v. 112, n. 10, 19 jul. 2021.
- NOGUCHI, N.; SAITO, Y.; NIKI, E. Actions of Thiols, Persulfides, and Polysulfides as Free Radical Scavenging Antioxidants. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 39, n. 10-12, p. 728–743, 1 out. 2023.
- NORDGREN, K. K. S.; WALLACE, K. B. Keap1 redox-dependent regulation of doxorubicin-induced oxidative stress response in cardiac myoblasts. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 274, n. 1, p. 107–116, jan. 2014.
- NURGALIEVA, Z.; LIU, C.-C.; DU, X. L. Chemotherapy use and risk of bone marrow suppression in a large population-based cohort of older women with breast and ovarian cancer. *Medical Oncology*, v. 28, n. 3, p. 716–725, 2 abr. 2010.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). NCDs at a Glance 2025: NCDs surveillance and monitoring: Noncommunicable disease mortality and risk factor prevalence in the Americas. Washington, D.C.: OPAS, 2025. Disponível em: <https://www.paho.org/sites/default/files/2025-03/ncds-glance-2025-21-mar.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2025.

PACE, M. et al. Exploring the Antioxidant Roles of Cysteine and Selenocysteine in Cellular Aging and Redox Regulation. *Biomolecules*, v. 15, n. 8, p. 1115, 3 ago. 2025.

PAGLIA, D.E.; VALENTINE, W.N. Studies on the Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 70, p. 158-169, 1967.

PEFFLEY, D. M. et al. Perillyl alcohol and genistein differentially regulate PKB/Akt and 4E-BP1 phosphorylation as well as eIF4E/eIF4G interactions in human tumor cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 465, n. 1, p. 266–273, set. 2007.

PERILLO, B. et al. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Experimental & Molecular Medicine*, v. 52, n. 2, p. 192–203, fev. 2020.

PICHERSKY, E.; RAGUSO, R. A. Why do plants produce so many terpenoid compounds? *New Phytologist*, v. 220, n. 3, p. 692–702, 8 set. 2016.

PRADO, C. M. M. et al. Sarcopenia as a Determinant of Chemotherapy Toxicity and Time to Tumor Progression in Metastatic Breast Cancer Patients Receiving Capecitabine Treatment. *Clinical Cancer Research*, v. 15, n. 8, p. 2920–2926, 7 abr. 2009.

PRASANNA, P. L.; RENU, K.; GOPALAKRISHNAN, A. V. New molecular and biochemical insights of doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Life Sciences*, v. 250, p. 117599, jun. 2020.

PUBCHEM. Perillyl Alcohol. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perillyl-Alcohol#section=3D-Conformer>. Acesso em: 13 de fev. de 2026.

PUPPALA, E. R. et al. Perillyl alcohol attenuates chronic restraint stress aggravated dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis by modulating TLR4/NF- $\kappa$ B and JAK2/STAT3 signaling pathways. *Phytomedicine*, v. 106, p. 154415–154415, 1 nov. 2022.

QI, W. et al. Cardamonin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice by restraining oxidative stress and inflammation associated with Nrf2 signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 122, p. 109547, fev. 2020.

RAD, A.K.; MOHEBBATI, R. Zataria multiflora extract and carvacrol affect cardiotoxicity induced by Adriamycin in rat. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, v. 30, n. 1, p. 73–79, 19 dez. 2018.

RAJESH, D.; STENZEL, R. A.; HOWARD, S. K. Perillyl Alcohol as a Radio-/Chemosensitizer in Malignant Glioma. v. 278, n. 38, p. 35968–35978, 19 set. 2003.

REN, Z. Modulation of small G protein isoprenylation by anticancer monoterpenes in situ mammary gland epithelial cells. *Carcinogenesis*, v. 19, n. 5, p. 827–832, 1 maio 1998.

- REZENDE, A. A. et al. Anti-Tumor Efficiency of Perillyl alcohol/ $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes in a Sarcoma S180-Induced Mice Model. *Pharmaceutics*, v. 13, n. 2, p. 245, 10 fev. 2021.
- ROBINSON, M. J.; DAVIS, E. J. Neoadjuvant Chemotherapy for Adults with Osteogenic Sarcoma. *Current Treatment Options in Oncology*, v. 25, n. 11, p. 1366–1373, 17 out. 2024.
- SÁ, L. A. Álcool perílico previne danos causados pela cardiotoxicidade aguda induzida por doxorubicina em modelo animal. Tese (Doutorado em Ciências em Saúde, da Universidade Federal de Sergipe), Aracaju, 2024.
- SANTANA, I. T. S. Associação entre o extrato aquoso e o óleo essencial do *cymbopogon citratus* e o 5-fluorouracil na resposta antitumoral em camundongos com sarcoma 180. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal de Sergipe), São Cristóvão, 2022.
- SAIDI, A.; ALHARETHI, R. Management of Chemotherapy Induced Cardiomyopathy. *Current Cardiology Reviews*, v. 7, n. 4, p. 245–249, 1 nov. 2011.
- SCHIRONE, L. et al. Mitochondria and Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: A Complex Interplay. *Cells*, v. 11, n. 13, p. 2000, 22 jun. 2022.
- SHALDOUM F. et al. Immunomodulatory effects of bee pollen on doxorubicin-induced bone marrow/spleen immunosuppression in rat. *Journal of Food Biochemistry*, v. 45, n. 6, 5 maio 2021.
- SHEIBANI, M. et al. Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: An Overview on Pre-clinical Therapeutic Approaches. *Cardiovascular Toxicology*, v. 22, n. 4, p. 292–310, 1 abr. 2022.
- SHI, S. et al. Role of oxidative stress and inflammation-related signaling pathways in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cell Communication and Signaling*, v. 21, n. 1, 14 mar. 2023.
- SHINLAPAWITTAYATORN, K.; CHATTIPAKORN, S. C.; CHATTIPAKORN, N. The effects of doxorubicin on cardiac calcium homeostasis and contractile function. *Journal of Cardiology*, v. 80, n. 2, jan. 2022.
- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, v. 82, n. 2, p. 291–295, 1 mar. 1997.
- SINHA, S. J. et al. Emerging Research and Future Directions on Doxorubicin: A Snapshot. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, v. 26, n. 1, p. 5–15, jan. 2025.
- SONGBO, M. et al. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Toxicology Letters*, v. 307, p. 41–48, jun. 2019.
- SRITHARAN, S.; SIVALINGAM, N. A recent decade update on combating doxorubicin-induced toxicities. *Archives of Toxicology*, 2 jul. 2025.
- SRITHARAN, S.; SIVALINGAM, N. A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin. *Life Sciences*, v. 278, p. 119527, 1 ago. 2021.
- SMOLLE, M. A. et al. Incidence of and survival with bone and soft tissue sarcoma: A nationwide study over four decades. *Cancer Communications*, 3 jan. 2025.

SULTANA, S.; NAFEES, S.; KHAN, A. Perillyl alcohol as a protective modulator against rat hepatocarcinogenesis via amelioration of oxidative damage and cell proliferation. *Human & Experimental Toxicology*, v. 32, n. 11, p. 1179–1192, 27 mar. 2013.

SUN, Y. et al. Doxorubicin-Induced Cardiac Remodeling: Mechanisms and Mitigation Strategies. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 26 fev. 2025.

SWAIN, S. M.; WHALEY, F. S.; EWER, M. S. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin. *Cancer*, v. 97, n. 11, p. 2869–2879, 19 maio 2003.

SZPONAR, J. et al. Evolution of Theories on Doxorubicin-Induced Late Cardiotoxicity-Role of Topoisomerase. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 24, p. 13567, 18 dez. 2024.

TABASSUM, R. et al. Perillyl alcohol improves functional and histological outcomes against ischemia–reperfusion injury by attenuation of oxidative stress and repression of COX-2, NOS-2 and NF- $\kappa$ B in middle cerebral artery occlusion rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 747, p. 190–199, 1 jan. 2015.

UMEMURA, T. et al. Oxidative DNA damage, lipid peroxidation and nephrotoxicity induced in the rat kidney after ferric nitrilotriacetate administration. *Cancer Letters*, v. 54, n. 1-2, p. 95–100, 17 mar. 2004.

UZOIGWE, J.; SAUTER, E. R. Cancer prevention and treatment using combination therapy with plant- and animal-derived compounds. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, v. 5, n. 6, p. 701–709, nov. 2012.

WANG, Y. et al. Synergistic inhibitory effects of capsaicin combined with cisplatin on human osteosarcoma in culture and in xenografts. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, v. 37, n. 1, 16 out. 2018.

WEI, G. et al. Recent progress in nanomedicine for enhanced cancer chemotherapy. *Theranostics*, v. 11, n. 13, p. 6370–6392, 2021.

WEI, X. et al. Perillyl Alcohol Inhibits TCR-Mediated  $[Ca^{2+}]_i$  Signaling, Alters Cell Shape and Motility, and Induces Apoptosis in T Lymphocytes. *Cellular Immunology*, v. 201, n. 1, p. 6–13, 25 maio 2002.

WEN, H. et al. Body mass index, weight change, and cancer prognosis: a meta-analysis and systematic review of 73 cohort studies. *ESMO Open*, v. 9, n. 3, p. 102241–102241, 1 mar. 2024.

WISEMAN, D. A.; WERNER, S. R.; CROWELL, P. L. Cell Cycle Arrest by the Isoprenoids Perillyl Alcohol, Geraniol, and Farnesol Is Mediated by p21Cip1 and p27Kip1 in Human Pancreatic Adenocarcinoma Cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 320, n. 3, p. 1163–1170, 30 nov. 2006.

WONG, R. S. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, v. 30, n. 1, 26 set. 2011.

WOO, C. C. et al. Thymoquinone Inhibits Tumor Growth and Induces Apoptosis in a Breast Cancer Xenograft Mouse Model: The Role of p38 MAPK and ROS. *PLoS ONE*, v. 8, n. 10, p. e75356, 2 out. 2013.

- XIE, L. et al. Therapeutic effect of TMZ-POH on human nasopharyngeal carcinoma depends on reactive oxygen species accumulation. *Oncotarget*, v. 7, n. 2, p. 1651–1662, 27 nov. 2015.
- XU, Y. et al. Perillyl alcohol protects human renal tubular epithelial cells from hypoxia/reoxygenation injury via inhibition of ROS, endoplasmic reticulum stress and activation of PI3K/Akt/eNOS pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 95, p. 662–669, 7 set. 2017.
- XU, Y. et al. Schisandrin B Prevents Doxorubicin-Induced Chronic Cardiotoxicity and Enhances Its Anticancer Activity In Vivo. *PLoS ONE*, v. 6, n. 12, p. e28335, 2 dez. 2011.
- XU, Y. et al. Sulfhydrated albumin transmits H<sub>2</sub>S signaling and ameliorates DOX-induced multiorgan injuries. *Redox Biology*, v. 83, p. 103631, jun. 2025.
- YALAMARTHI, S.S. et al. Perillyl alcohol inhibits keratinocyte proliferation and attenuates imiquimod-induced psoriasis like skin-inflammation by modulating NF- $\kappa$ B and STAT3 signaling pathways. *International Immunopharmacology*, v. 103, p. 108436, fev. 2022.
- YERUVA, L. et al. Perillyl alcohol and perillic acid induced cell cycle arrest and apoptosis in non small cell lung cancer cells. *Cancer Letters*, v. 257, n. 2, p. 216–226, nov. 2007.
- YESHI, K. et al. Plant Secondary Metabolites Produced in Response to Abiotic Stresses Has Potential Application in Pharmaceutical Product Development. *Molecules*, v. 27, n. 1, p. 313, 5 jan. 2022.
- YOUNIS, N. S. et al. Geraniol isolated from lemon grass to mitigate doxorubicin-induced cardiotoxicity through Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling. *Chemico-Biological Interactions*, v. 347, p. 109599, set. 2021.
- YUAN, Y. et al. Cancer metabolism and tumor microenvironment: fostering each other? *Science China Life Sciences*, v. 65, n. 2, p. 236–279, 26 nov. 2021.
- ZANDEN, S. Y. V. D.; QIAO, X.; NEEFJES, J. New insights into the activities and toxicities of the old anticancer drug doxorubicin. *The FEBS Journal*, v. 288, n. 21, p. 6095–6111, 19 out. 2020.
- ZHANG, L. et al. Molecular pharmacology and therapeutic advances of monoterpene perillyl alcohol. *Phytomedicine*, v. 132, p. 155826, set. 2024.
- ZHANG, X. Y. et al. Proanthocyanidin from grape seeds potentiates anti-tumor activity of doxorubicin via immunomodulatory mechanism. *International Immunopharmacology*, v. 5, n. 7-8, p. 1247–1257, 7 abr. 2005.
- ZHANG, Y. et al. Doxorubicin Induces Sarcoplasmic Reticulum Calcium Regulation Dysfunction via the Decrease of SERCA2 and Phospholamban Expressions in Rats. *Cell Biochemistry and Biophysics*, v. 70, n. 3, p. 1791–1798, 16 jul. 2014.
- ZHOU, F.; PICHERSKY, E. More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 55, p. 1–10, 1 jun. 2020.
- ZHU, W. et al. Acute Doxorubicin Cardiotoxicity Is Associated With p53-Induced Inhibition of the Mammalian Target of Rapamycin Pathway. *Circulation*, v. 119, n. 1, p. 99–106, 6 jan. 2009.

## ANEXO A




**UNIVERSIDADE DE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COORDENAÇÃO DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "**Efeito do complexo álcool perfílico/beta-ciclodextrina na citotoxicidade in vitro e na cardiotoxicidade induzida pela doxorrubicina em camundongos com sarcoma 180**" registrada no sistema CEUA com o nº **6517080824**, sob a responsabilidade da **Prof.ª Dr.ª Sandra Lauton Santos** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe em reunião realizada no dia **27/11/2024**.

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 04/2025 Término: 12/2025
Espécie/linhagem/raça	Camundongos heterogênicos
Nº de animais	200
Peso/Idade	20 a 25 g / 19 a 21 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério da Universidade Federal de Sergipe

Documento assinado digitalmente  
 **JOSEMAR SENA BATISTA**  
 Data: 21/03/2025 14:14:41-0300  
 Verifique em <https://validar.jt.gov.br>

**Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA**  
 Coordenador do CEPA/UFS

---

Cidade Universitária "Prof. Aloisio de Campos"  
 Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE  
 49100-000  
 Fones: 3212 6661/6606