UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DE *Melipona seminigra* DA AMAZÔNIA OCIDENTAL EM CÉLULAS DE CÂNCER HUMANO

RAFAELA SABATINI MELLO PINHEIRO

RIO BRANCO, AC
Outubro / 2024

RAFAELA SABATINI MELLO PINHEIRO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DE *Melipona seminigra* DA AMAZÔNIA OCIDENTAL EM CÉLULAS DE CÂNCER HUMANO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito para obtenção parcial do grau de **Mestre em Ciências, Inovação e Tecnologia para a Amazônia.**

Orientador: Prof. Dr. César Arruda Meschiari

Coorientador: Prof. Dr. Ildercílio Mota de Souza Lima

RIO BRANCO, AC
Outubro / 2024

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

P654a Pinheiro, Rafaela Sabatini Mello, 1993 -

Avaliação da atividade antitumoral do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* da Amazônia Ocidental em células de câncer humano / Rafaela Sabatini Mello Pinheiro; orientador: Prof. Dr. César Arruda Meschiari e coorientador: Prof. Dr. Ildercílio Mota de Souza Lima. – 2024.

98 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Rio Branco, 2024.

Inclui referências bibliográficas.

1. Geoprópolis. 2. Abelha sem ferrão. 3. Células tumorais. I. Meschiari, César Arruda (orientador). II. Lima, Ildercílio Mota de Souza (coorientador). III. Título.

CDD: 610.7

Bibliotecário: Uéliton Nascimento Torres CRB-11º/10074

UNIVERSIDADE FEDERALDO ACRE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DE *Melipona seminigra* DA AMAZÔNIA OCIDENTAL EM CÉLULAS DE CÂNCER HUMANO

RAFAELA SABATINI MELLO PINHEIRO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 10 de outubro de 2024.

gov.br
Documento assinado digitalmente
CESAR ARRUDA MESCHIARI
Data: 21/11/2024 12:57:15-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. César Arruda Meschiari
Universidade Federal do Acre

gov.br
Documento assinado digitalmente
LEILA PRISCILA PETERS
Data: 28/11/2024 21:21:42-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Dra. Leila Priscila Peters
Universidade Federal do Acre

gov.br
Documento assinado digitalmente
ROBERTA DE FREITAS LOPES
Data: 29/11/2024 16:22:58-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof.ª Dra. Roberta de Freitas Lopes
Universidade Federal do Acre

Aos meus amados amigos e familiares, por todo o carinho, paciência e apoio incondicional durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

A jornada para a conclusão desta dissertação de mestrado foi desafiadora e recompensadora, e jamais teria sido possível sem o apoio e a contribuição de pessoas especiais.

Em primeiro lugar, quero expressar meu agradecimento a meu orientador, Prof. Dr. César Arruda Meschiari, pela orientação paciente, incentivo e ensinamentos que me conduziram ao longo de todo o processo de pesquisa e escrita.

Agradeço também ao meu coorientador, Prof. Dr. Ildercílio Mota de Souza Lima, cuja presença foi fundamental durante todo o processo. Suas importantes contribuições a este trabalho, sua constante disponibilidade e as valiosas discussões, sempre presentes, foram essenciais para o meu desenvolvimento. Agradeço especialmente pela orientação precisa nos momentos de crise, os quais me permitiram superar os desafios e alcançar os resultados aqui apresentados.

Sou grata à Universidade Federal do Acre (UFAC) e ao programa de pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia (PPG-CITA) pela oportunidade de aprendizado e pelo suporte oferecido durante o mestrado, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido, o qual foi fundamental para a realização desta pesquisa.

Meu sincero agradecimento à minha família, em especial à minha Aline Sabatini, por seu amor, pelo apoio constante e companheirismo. Agradeço por acreditar em meus sonhos, mesmo quando eu duvidava, e principalmente, por nossas valiosas trocas de ideias. Você me desafiou, me ensinou, me inspirou, me fez ir além e me impulsionou a crescer intelectualmente e como pessoa. Agradeço também aos meus padrinhos, Gabriela e Diego, por todo o carinho, torcida e por sempre me darem aquela força extra nos momentos de dificuldade.

Agradeço aos meus amigos de longa data, Mário Gustavo, Renan, Suênia, Rute, Mari, e aos amigos que fiz no mestrado, João e Itallo, pela amizade, parceria e pelos momentos de desabafo tomando um café.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O interesse pelos produtos naturais tem se mostrado essenciais para o desenvolvimento de pesquisas com a finalidade de avaliar sua utilização com fins terapêuticos. Um exemplo particularmente interessante são os produtos apícolas, como a geoprópolis, material resinoso elaborado por algumas espécies de abelhas sem ferrão, como a *Melipona seminigra*. A geoprópolis apresenta uma coloração variada, aroma característico e desempenha diversas funções dentro da colônia. A composição da geoprópolis varia conforme a espécie, região e época de coleta. Estudos que analisaram a composição química presente em amostras de geoprópolis identificaram diferentes grupos fenólicos, açúcares, ácidos graxos e outros, que apresentaram ação biológica e farmacológica, tais como: antimicrobiana, antiviral, antiparasitária, anti-inflamatória e antitumoral. Dado a escassez de estudos sobre as características únicas da geoprópolis de *Melipona seminigra*, especialmente no que se refere à caracterização fitoquímica, ação antitumoral e potencial citotóxico e genotóxico, este estudo levantou a hipótese de que o extrato de geoprópolis desta espécie apresentou efeitos citotóxicos seletivos em linhagens celulares de câncer humano. Nesse sentido, foi avaliada a atividade antitumoral do extrato de geoprópolis (EG) de *Melipona seminigra* em linhagens celulares de adenocarcinoma de mama (MCF-7 e MDA-MB-231), hepatocarcinoma (HepG2) e glioblastoma (U251). O EG hidroalcóolico foi preparado para a realização da caracterização fitoquímica por meio da detecção qualitativa colorimétrica dos grupos dos metabólitos secundários, seguido pelo ensaio de proliferação relativa utilizando o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de viabilidade celular por High-Content Screening (HCS), e por fim o ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade com o sistema teste *Allium cepa*. A análise estatística foi realizada por meio da distribuição gaussiana dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados com distribuição paramétrica foram analisados por meio de teste ANOVA (análise de variância) de um fator, seguido pelo teste post-hoc de Dunnett. Os dados com distribuição não paramétrica foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguindo pelo Uncorreted Dunn's test. Foram considerados estatisticamente significantes valores com $p<0,05$. Os gráficos foram representados com média ± desvio padrão. Os resultados obtidos para a caracterização fitoquímica revelaram a presença de ácidos fenólicos, fenóis, flavonoides, saponinas, taninos e terpenos. Os ensaios *in vitro* demonstraram redução da proliferação relativa das células em ambas as linhagens celulares de adenocarcinoma de mama (MCF-7 e MDA-MB-231) nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL. A viabilidade celular também foi reduzida nas três linhagens (HepG2, MCF-7 e U251) nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL. O EG também exibiu efeito citotóxico e genotóxico no sistema teste *Allium cepa*, indicado pela redução do índice mitótico e pela presença de aberrações cromossômicas, como as aderências, pontes, c-mitoses e cromossomos vagantes. Conclui-se que o EG de *Melipona seminigra* da Amazônia Ocidental possui potencial antiproliferativo, citotóxico e genotóxico contra diferentes linhagens celulares de câncer.

Palavras-chave: Abelha sem ferrão; Células tumorais; Região Amazônica; Composto natural.

ABSTRACT

Interest in natural products has proved essential for the development of research aimed at evaluating their use for therapeutic purposes. One particularly interesting example is bee products such as geopropolis, a resinous material produced by some species of stingless bees, such as *Melipona seminigra*. Geopropolis has a varied color, a characteristic aroma and performs various functions within the colony. The composition of geopropolis varies depending on the species, region and time of collection. Studies that have analyzed the chemical composition of geopropolis samples have identified different phenolic groups, sugars, fatty acids and others that have shown biological and pharmacological action, such as: antimicrobial, antiviral, antiparasitic, anti-inflammatory and antitumor. Given the scarcity of studies on the unique characteristics of *Melipona seminigra* geopropolis, especially with regard to phytochemical characterization, antitumor action and cytotoxic and genotoxic potential, this study hypothesized that the geopropolis extract of this species showed selective cytotoxic effects on human cancer cell lines. To this end, the antitumor activity of *Melipona seminigra* geopropolis extract (EG) was evaluated in breast adenocarcinoma (MCF-7 and MDA-MB-231), hepatocarcinoma (HepG2) and glioblastoma (U251) cell lines. The hydroalcoholic EG was prepared for phytochemical characterization using qualitative colorimetric detection of the secondary metabolite groups, followed by the relative proliferation test using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), cell viability by High-Content Screening (HCS), and finally the cytotoxicity and genotoxicity test using the *Allium cepa* test system. Statistical analysis was carried out by means of the Gaussian distribution of the data using the Kolmogorov-Smirnov test. Data with a parametric distribution was analyzed using a one-factor ANOVA (analysis of variance) test, followed by Dunnett's post-hoc test. Data with a non-parametric distribution was analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Uncorrected Dunn's test. Values of $p<0.05$ were considered statistically significant. Graphs are represented as mean ± standard deviation. The results obtained for the phytochemical characterization revealed the presence of phenolic acids, phenols, flavonoids, saponins, tannins and terpenes. In vitro tests showed a reduction in relative cell proliferation in both breast adenocarcinoma cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231) at concentrations of 500 and 1000 µg/mL. Cell viability was also reduced in all three cell lines (HepG2, MCF-7 and U251) at concentrations of 500 and 1000 µg/mL. EG also exhibited cytotoxic and genotoxic effects in the *Allium cepa* test system, indicated by a reduction in the mitotic index and the presence of chromosomal aberrations, such as adhesions, bridges, c-mitoses and wandering chromosomes. It is concluded that the EG of *Melipona seminigra* from the Western Amazon has antiproliferative, cytotoxic and genotoxic potential against different cancer cell lines.

Keywords: Stingless bee; Tumor cells; Amazon region; Natural compound.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A) Colmeia de *Melipona seminigra*; B) Abelha *Melipona seminigra*.....24
Figura 2. Resultado de proliferação relativa por meio do ensaio de MTT para a linhagem celular MCF-7 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. Vin: 320 µmol/L de vincristina. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 65
Figura 3. Resultado de proliferação relativa por meio do ensaio de MTT para a linhagem celular MDA-MB-231 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. Vin: 320 µmol/L de vincristina. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 66
Figura 4. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular HepG2 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 68
Figura 5. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular MCF-7 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 69
Figura 6. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular U251 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * p<0,05 em comparação a concentração zero.....70
Figura 7. Resultado do índice mitótico do ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa* após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 1% de dimetilsulfóxido. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 72
Figura 8. Resultado da proliferação relativa do ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa* para identificação de aberrações cromossômicas após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. A) Aderências cromossômicas. B) Pontes cromossômicas. C) C-

mitose. D) Cromossomos vagantes. DMSO: 1% de dimetilsulfóxido. * p<0,05 em comparação a concentração zero. 73
Figura 9. Identificação das aberrações cromossômicas encontradas durante o ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa*, após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. A) Aderências cromossômicas. B) Pontes cromossômicas. C) C-mitose. D) Cromossomos vagantes. 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de abelhas do gênero *Melipona* encontradas na região norte do Brasil - Adaptado de Catálogo Moure (Melo *et al*., 2023).....21
Tabela 2. Compostos identificados em amostras de geoprópolis da espécie *Melipona* 26
Tabela 3. Atividade antitumoral dos extratos de geoprópolis em linhagens celulares tumorais *in vitro* 48
Tabela 4. Resultados da caracterização qualitativa do extrato de geoprópolis.....60

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
CDI	Carcinoma Ductual Invasivo
CLI	Carcinoma Lobular Invasivo
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DXR	Doxorrubicina
EG	Extrato Hidroalcóolico da Geoprópolis de *Melipona seminigra*
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
HER2	Receptor 2 do Fator de Crescimento Epidérmico Humano
HepG2	Linhagem celular de hepatocarcinoma
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HPLC-DAD-ESI-MS/MS	High-Performance Liquid Chromatography – Diode Array Detector – Electrospray Ionization – Mass Spectrometry
HPLC-DAD-MS	High-Performance Liquid Chromatography – Diode Array Detector – Mass Spectrometry
IM	Índice Mitótico
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MCF-7	Linhagem celular de adenocarcinoma de mama
MTT	Ensaio de Redução do brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-Il) -2,5-difeniltetrazólio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão Fosfato-Salino
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SFB	Soro Fetal Bovino

SNC	Sistema Nervoso Central
U-251	Linhagem celular de glioblastoma humano
UPLC-ESI-QTOF-MS/MS	Ultra Performance Liquid Chromatography – Electrospray Ionisation – Quadrupole Time of Flight – Mass Spectrometry
UPLC-MS/MS	Ultra-Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry
VIN	Vincristina
VHB	Vírus da Hepatite B
VHC	Vírus da Hepatite C
V/V	Volume/Volume

SUMÁRIO

1. **INTRODUÇÃO** 16

2. **REVISÃO DE LITERATURA** 20

2.1 Meliponíneos 20

2.2 Composição da geoprópolis 25

2.3 Câncer 33

2.3.1 Fisiopatologia do câncer 33

2.3.2 Câncer de mama 37

2.3.3 Câncer de fígado 39

2.3.4 Tumor cerebral 42

2.3.5 Tratamentos 44

2.4 Câncer e geoprópolis 47

3. **OBJETIVOS** 51

3.1 Geral 51

3.2 Específicos 51

4. **MATERIAL E MÉTODOS** 52

4.1 Coleta da geoprópolis 52

4.2 Identificação das abelhas 52

4.3 Preparo do extrato 52

4.3.1 Limpeza da geoprópolis 52

4.3.2 Extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona Seminigra* (EG) 53

4.4 Caracterização fitoquímica 53

4.4.1 Ácidos fenólicos 53

4.4.2 Alcaloides 54

4.4.3 Aldeídos 54

4.4.4 Fenóis 54

4.4.5 Flavonoides 54

4.4.6 Saponinas 55
4.4.7 Taninos 55
4.4.8 Terpenos 55
4.5 Cultivo de células 55
4.6 Ensaio de proliferação relativa 56
4.6.1 Controles e tratamentos 56
4.7 Proliferação relativa – Contagem de células por microscopia automatizada 57
4.7.1 Controles e tratamentos 57
4.8 Ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade 57
4.8.1 Cultivo 57
4.8.2 Controles e tratamentos 58
4.8.3 Fixação, hidrólise e coloração 58
4.8.4 Preparação e fixação das lâminas 58
4.8.5 Leitura das lâminas 58
4.9 Análise estatística 59
5. **RESULTADOS E DISCUSSÃO** 60
5.1 Caracterização Fitoquímica 60
5.2 Ensaio de proliferação relativa 64
5.3 Proliferação relativa – Contagem de células por microscopia automatizada 67
5.4 Ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade 71
6. **CONCLUSÃO** 76
7. **REFERÊNCIAS** 77

1. INTRODUÇÃO

A humanidade sempre utilizou dos recursos naturais em benefício próprio, seja na alimentação, controle de pragas e práticas em saúde. Com o avanço da química e o interesse pelos produtos naturais, compostos extraídos de fontes naturais têm se mostrado essenciais para o desenvolvimento de medicamentos com fins terapêuticos (Dantas et al., 2021).

Dentre os diversos produtos naturais com potencial terapêutico, destacam-se aqueles produzidos por abelhas, e um exemplo particularmente interessante desses produtos apícolas é a geoprópolis (Nordin et al., 2018), material resinoso elaborado por algumas espécies de abelhas sem ferrão, como a *Melipona seminigra*. Essas abelhas coletam resinas vegetais, cera e barro para produzir a geoprópolis, que é aplicada na construção e calafetação das colmeias (Silva et al., 2013). A geoprópolis apresenta uma coloração variada, indo do verde ao vermelho, e até mesmo ao marrom escuro, com aroma característico (Sforcin et al., 2017).

A composição química da geoprópolis é complexa e diversificada, refletindo a variedade de suas origens e influências ambientais. A análise detalhada da composição química da geoprópolis tem identificado numerosos compostos, que podem ser categorizados em diferentes grupos, tais como: ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, açúcares, ácidos graxos e outros compostos bioativos (Sforcin et al., 2017).

Com a presença desses compostos bioativos, estudos realizados utilizando extratos de geoprópolis revelaram que esse material possui propriedades terapêuticas e ação antioxidante (Souza et al., 2013; Silva et al., 2013; Dutra et al., 2014; Ferreira et al., 2017; Santos et al., 2017b;), efeitos antimicrobianos (Cunha et al., 2013; Campos et al., 2014; Torres et al., 2018; Campos et al., 2022), ação anti-inflamatória (Santos et al., 2017b; Barboza et al., 2020) e atividade antitumoral (Cunha et al., 2013; Cunha et al.,2015; Santos et al., 2017a; Santos et al., 2017b). Assim, as características únicas da geoprópolis torna esse produto natural promissor para o desenvolvimento de medicamentos eficazes e seguros contra diversas doenças, incluindo o câncer (Popova; Trusheva; Bankova, 2021).

O câncer é uma preocupação global e suas implicações são preocupantes tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento. É a segunda principal causa de morte, representando cerca de 12,5% de todas as mortes no mundo. Estima-se que entre os anos de 2018 e 2040, serão diagnosticados cerca de 30 milhões de novos casos de câncer em ambos os sexos e em todas as faixas etárias (Lopes-Júnior, 2021).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) projeta que aproximadamente 704 mil novos casos de câncer serão diagnosticados para o triênio de 2023 a 2025. Excetuando o câncer de pele não melanoma (483 mil casos), os tipos mais incidentes são o câncer de mama feminina (73 mil) e o câncer de próstata (71 mil), seguido por câncer de cólon e reto (45 mil), pulmão (32 mil), estômago (21 mil) e câncer de colo do útero (17 mil casos) (Instituto Nacional de Câncer, 2023a; Santos et al., 2023).

Especificamente sobre o câncer de mama feminina, tipo mais comum entre as mulheres no mundo, atualmente, estimativas para esse tipo de neoplasia correspondem a 73.610 novos casos em mulheres no Brasil (Instituo Nacional de Câncer, 2023). O câncer de mama varia em termos de desenvolvimento, alguns com crescimento rápido, enquanto outros progridem mais lentamente, e quando tratados adequadamente e em tempo oportuno, têm bom prognóstico e melhores resultados estéticos (Instituto Nacional do Câncer, 2023; Neres et al., 2024). É importante observar que, embora seja relativamente raro antes dos 35 anos, a incidência aumenta progressivamente após os 50 anos. Além da idade, menarca antes dos 12 anos, histórico familiar de câncer, gravidez após os 30 anos, excesso de gordura corporal, consumo de álcool, dentre outros, são fatores de risco para o surgimento do câncer de mama (Lucri; De Oliveira Costa, 2021; Instituto Nacional de Câncer, 2023).

O hepatocarcinoma ou carcinoma hepatocelular, embora não esteja entre os cânceres mais incidentes, é um tipo de câncer que também tem sua importância epidemiológica. Esse tipo de câncer hepático pode ser primário (iniciando no próprio órgão) ou secundário/metastático (originando em outro órgão e se espalhando para o fígado). A forma secundária está frequentemente relacionada a tumores malignos no intestino grosso ou reto, e é agressiva, ocorrendo em mais de 80% dos casos (Chedid et al., 2017; Instituto Nacional de Câncer, 2023). As estimativas apontam para 10.700 novos casos de hepatocarcinoma, sendo 6.390 em homens e 4.310 em mulheres (Instituto Nacional de Câncer, 2023). Os principais riscos para o desenvolvimento de hepatocarcinoma são as hepatites crônicas (vírus da hepatite B ou C), esquistossomose, exposição a fungos, excesso de gordura corporal e consumo de álcool (Raza et al., 2019; Taniai, 2020; Wangensteen; Chang, 2021; Instituto Nacional de Câncer, 2023; Von Bülow et al., 2024).

Cerca de 1,4 a 1,8% de todos os tumores malignos no mundo afetam o sistema nervoso central (SNC), 88% desses tumores estão localizados no cérebro (Instituto Nacional de Câncer, 2022) e o glioblastoma é o principal responsável pela morte de pacientes com tumores cerebrais primários, em adultos (Pan; Magge, 2020). O glioblastoma é caracterizado como um tumor de prognóstico extremamente desfavorável, pois está relacionado a uma sobrevida de menos de 2

anos após o diagnóstico (Mooney et al., 2021). Embora os fatores de risco para o glioblastoma ainda não estejam totalmente estabelecidos, a predisposição genética hereditária, a faixa etária, a propensão pelo sexo masculino, os hormônios sexuais, as infecções virais e a exposição à radiação ionizante são consideradas fatores de risco com maior nível de evidência (Urbańska et al., 2014; Instituto Nacional de Câncer, 2022a, 2022b).

De certo, embora o surgimento do câncer seja multifatorial, o surgimento das mutações genéticas ou as alterações no DNA contribuem para que as células repassem e recebam informações equivocadas para o desenvolvimento de suas atividades, e essas mutações ocorrem em genes conhecidos como oncogenes, que quando ativos, são responsáveis por transformar as células normais em células de câncer (Instituto Nacional de Câncer, 2022). Em outras palavras, o processo de oncogênese pode ser descrito como: autossuficiência em crescimento, inativação de genes supressores de tumor, evasão da morte celular programada, imortalidade celular, angiogênese sustentada e invasão tecidual e metástase (Hanahan; Weinberg, 2011).

Dado o contexto da importância epidemiológica do câncer e suas implicações nos sistemas de saúde, é fundamental compreender as tendências futuras das incidências dessa doença. Os tratamentos oncológicos tradicionais contra o câncer têm como principais ações isoladas ou combinadas, o tripé: cirurgia, radioterapia e quimioterapia, assim como a hormonioterapia, imunoterápicos, terapias-alvo e transplante de medula-óssea, que são fundamentais, mas enfrentam desafios, como a recorrência da doença (Fontoura et al., 2021; Paludo; Antunes; Centa, 2023) e diversos efeitos colaterais. Além disso, essas terapias são onerosas tanto para os pacientes quanto para o sistema de saúde (Almeida et al., 2005).

Como alternativa, os produtos naturais têm despertado interesse, especialmente a geoprópolis, que demonstrou efeitos citotóxicos em linhagens celulares tumorais em estudos *in vitro* (Cinegaglia et al., 2013; Campos et al., 2014), sendo assim, a geoprópolis obtida de abelhas sem ferrão da Amazônia Ocidental, apresenta potencial e pode ser uma alternativa para a terapêutica antitumoral.

Pensando nisso e devido à escassez de estudos com a geoprópolis de *Melipona seminigra*, especialmente no que se refere à caracterização fitoquímica, sua ação antitumoral e potencial citotóxico e genotóxico, a presente pesquisa levanta a hipótese de que o extrato de geoprópolis desta espécie apresenta efeitos citotóxicos seletivos em linhagens celulares de câncer humano. Esses efeitos seriam caracterizados pela redução da viabilidade e proliferação celular, além da indução de apoptose, em detrimento de células não tumorais.

Desse modo, considerando as pesquisas realizadas e visando o potencial tecnológico para geração de um produto adjuvante na terapêutica antitumoral, o objetivo geral desse estudo

é avaliar o potencial antitumoral do extrato de geoprópolis da abelha sem ferrão, *Melipona seminigra,* da Amazônia Ocidental em células humanas de câncer *in vitro*. Para essa avaliação, tem-se como objetivos específicos estabelecidos: i. determinar o efeito do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* sobre a proliferação relativa de células de câncer humano; ii. analisar os efeitos do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* sobre a viabilidade celular de células de câncer humano, e iii. analisar o efeito genotóxico e antigenotóxico do extrato de geoprópolis em células eucarióticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Meliponíneos

O filo dos insetos abrange diversas ordens, incluindo a dos Himenópteros, a exemplo das formigas, das vespas e das abelhas (Sforcin et al., 2017). Esta última pode ser agrupada na superfamília *Apoidea*, que tem como característica hábitos sociais, que estão reunidas na família *Apinae,* e é dividida em quatro subfamílias*: Apíneos, Meliponíneos, Bombíneos e Euglossíneos* (Nogueira-Neto, 1997).

Dentro das quatro subfamílias acima citadas, são encontradas 22 tribos: *Ancyloscelidini, Anthophorini, Apini, Bombini, Centridini, Coelioxoidini, Emphorini, Epicharitini, Ericricidini, Eucerini, Euglossini, Exomalopsini, Isepeolini, Melectini,* ***Meliponini****, Nomadini, Osirini, Protepeolini, Rhathymini, Tapinotaspidini, Tetrapediini, Xylocopini,* todas situadas em regiões neotropicais (Melo et al., 2023).

Especificamente as abelhas que pertencem à tribo *Meliponini*, estas são conhecidas como “abelhas sem ferrão”, “abelhas nativas”, “abelhas indígenas”, ou ainda, meliponíneos, sendo assim chamadas, pois apresentam ferrão e estruturas associadas a este, extremamente atrofiadas, o que as torna dóceis e sociáveis, e permitiu sua domesticação por indígenas (Villas-Bôas, 2012). Os *Meliponini* são abelhas corbiculadas, ou seja, armazenam e transportam o pólen do campo para a colônia na corbícula (concavidade da tíbia posterior) (Francini, 2014). São abelhas de tamanho médio a grande, de 6 a 15 mm, e com asas que geralmente não ultrapassam o ápice do abdome (Nogueira-Neto, 1997).

Apesar de apresentarem ferrão atrofiado, as abelhas desenvolveram mecanismos de defesa, como se enrolar nos pelos e cabelos dos agressores, mordiscar, construir ninhos com entradas estreitas e alocar abelhas guardiãs, utilização de camuflagem como disfarce protetor, produção de odores desagradáveis e liberação de ácido fórmico pelas glândulas mandibulares, que causam queimaduras nos invasores (Sforcin et al., 2017; Salatino; Pereira; Salatino, 2019).

Os *Meliponini* abrigam cerca de 600 espécies de abelhas, que são distribuídas em 61 gêneros, e encontradas em regiões pantropicais, como a América tropical, a África, o Sudeste Asiático e a Austrália (Popova; Trusheva; Bankova, 2021). No Brasil existem 244 espécies, das quais 87 são endêmicas e estão divididas em 29 gêneros (Rocha et al., 2023).

Segundo o Catálogo Moure, na região Norte do país, são encontradas 60 espécies, dentre as quais, 24 apenas do gênero *Melipona* (Melo et al., 2023), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Espécies de abelhas do gênero *Melipona* encontradas na região norte do Brasil - Adaptado de Catálogo Moure (Melo et al., 2023).

Nome Científico	Nome(s) Popular(es)	Estados
Melipona amazonica		AC, AM, AP, PA, RO
Melipona captiosa	Uruçu-amarela	AM, AP
Melipona compressipes	Jupará	AM, AP, RR
Melipona cramptoni		RR
Melipona crinita	Uruçu-amarela-avermelhada, Jandaíra-maior	AC, AM, RO
Melipona dubia		AM
Melipona eburnea	Uruçu-beiço	AC, AM
Melipona fasciculata	Tiúba, Uruçu-cinzenta, Jandaíra-preta-da-amazônia	PA, TO
Melipona flavolineata	Uruçu-amarela, Iraçu	PA, TO
Melipona fuliginosa	Turuçu, Uruçu-boi	AC, AM, AP, PA, RO, RR
Melipona fulva	Jandaíra-fulva, Uruçu-amarela	AM, AP, PA, RR
Melipona fuscopilosa	Uruçu-beiço	AC, AM
Melipona grandis	Jupará-grande	AC, AM, RO
Melipona illustris		AM, PA, RO
Melipona interrupta	Jandaíra-preta-da-Amazônia, Jupará	AM, AP, PA
Melipona lateralis	Uruçu-canudo, Pinto-de-velho	AM, AP, PA, RR
Melipona melanoventer	Uruçu-da-barriga-preta, Uruçu-sem-canudo	AC, AM, PA, RO
Melipona nebulosa	Uruçu-de-olho-verde	AC, AM, PA
Melipona ogilviei		AM, AP, PA, TO
Melipona paraensis	Uruçu-boca-de-ralo, Uruçu-do-Pará	AM, AP, PA
Melipona puncticollis	Uruçu-amarela-preguiçosa	AM, PA
Melipona quinquefasciata	Uruçu-do-chão, Mandaçaia-do-chão	RO
Melipona seminigra	Uruçu-boca-de-renda, Jandaíra-alaranjada-de-manaus	AC, AM, PA, RO, RR, TO
Melipona tumupasae	Ichoa-choca-menor	AC

Ainda de acordo com a Tabela 1, no estado do Acre, podem ser encontradas apenas 10 espécies do gênero *Melipona*, a saber: *M. amazônica*, *M. crinita*, *M. eburnea*, *M. fuliginosa*, *M.*

fuscopilosa, M. grandis, M. melanoventer, M. nebulosa, ***M. seminigra***, *M. tumupasae* (Melo et al., 2023).

Destacando a espécie *Melipona seminigra* ou *Melipona* (Michmelia) *seminigra* Friese, 1903 – assim identificada, esta abelha também é conhecida popularmente como Uruçu-boca-de-renda, trata-se de uma espécie politípica da bacia amazônica, existindo sete subespécies, das quais quatro são descritas como *M. seminigra abunensis, M. seminigra merrilae*, *M. seminigra pernigra* e *M. seminigra seminigra,* e três ainda sem descrição (Francini, 2014).

A abelha *M. seminigra* tem como característica a nidificação em ocos de árvores acima de quatro metros do solo, dependendo da localização do tronco, se em mata firme ou florestas alagáveis (Kerr; Carvalho; Nascimento, 1996).

Sua domesticação e exploração de seus produtos têm sido praticadas desde antes da colonização das Américas e sua criação estava ligada aos costumes socioculturais, aspectos alimentares, medicinais, ritualísticos e comerciais das mais variadas sociedades ameríndias (Barbiéri; Francoy, 2020).

A exemplo dos povos originários, os Kayapó nomearam e classificaram 34 espécies de abelhas sem ferrão, 9 foram consideradas manejadas ou semi-domesticadas, como os ninhos de abelhas *M. seminigra pernigra*, *M. melanoven ter*, *M. rufiventris flavolineata*, *Scaptotrigona nigrohirta*, entre outras, e os produtos mais utilizados nas cerimônias religiosas eram a cera e o cerume das melíponas. Dito isso, o povo Kayapó estava consciente do papel das abelhas como polinizadoras naturais, que cultivavam suas colmeias próximos as plantações para atrair as abelhas (Cortopassi-Laurino et al., 2006).

A partir do manejo das abelhas sem ferrão, Paulo Nogueira Neto, em 1953, um dos pioneiros na pesquisa sobre essas espécies de abelhas no Brasil, cunhou o termo "Meliponicultura", se referindo à criação racional de abelhas, com foco em espécies que produzam e armazenam seus produtos, podendo ser uma atividade desenvolvida tanto em áreas urbanas quanto rurais (Rocha et al., 2023). Pode-se afirmar que as abelhas sem ferrão são exímias produtoras de mel, cera, geleia real, pólen de abelha, própolis e geoprópolis (Nordin et al., 2018).

A criação dos meliponíneos é uma atividade que contribui para a preservação das abelhas e de seu habitat na Amazônia, pois as abelhas e outros polinizadores são essenciais para a reprodução das espécies vegetais (Oliveira; Aidar, 2006).

Vale destacar que muitos dos meliponíneos constroem seus ninhos em ocos ou trocos de árvores, portanto a ausência de polinizadores, seja por desmatamento ou extrativismo,

acelera a extinção das espécies vegetais importantes para o ecossistema amazônico, o que desencadeia também um desequilíbrio ecológico no cultivo dos meliponíneos (Francini, 2014).

Os ninhos das abelhas *Meliponini* são construídos a partir da produção e utilização de materiais secretados por elas mesmas, que são: a cera, o cerume, a própolis e a geoprópolis, sendo que cada um desses materiais desempenha papel vital na estrutura e funcionalidade da colmeia (Nogueira-Neto, 1997).

A cera branca e pura é uma substância produzida e secretada por abelhas jovens por meio de glândulas localizadas no dorso do abdome. Essa cera pode ser encontrada em pequenos depósitos no ninho, na entrada da colônia, e quando misturada com resinas vegetais, dá origem ao cerume (Nogueira-Neto, 1997; Sforcin et al., 2017).

O cerume é a mistura da cera branca e pura, com a resina, exsudado vegetal coletado pelas abelhas em árvores e arbustos, que têm como função auxiliar na construção da estrutura protetora dos ninhos, para dar suporte e, também, na construção dos potes de mel. Além disso, a coloração do cerume pode variar de amarelo claro a uma cor quase negra, pois essa diversidade de cor está ligada a quantidade e a qualidade da resina utilizada na mistura à cera branca (Nogueira-Neto, 1997; Popova; Trusheva; Bankova, 2021).

Nesse sentido, Nogueira-Neto (1997) e Rozman et al. (2022), ressaltam que a resina (exsudado vegetal), quando coletada das variadas fontes botânicas, e são trabalhadas dentro da colônia, ao ser mesclada com um pouco de cera e saliva, dá-se o nome de própolis pura ou mista.

Indo mais além, as abelhas também podem produzir uma segunda própolis, denominada geoprópolis, produto obtido por meio da mescla da própolis pura com barro, terra ou argila, destacando-se como um material menos maleável, com certa dureza (Popova; Trusheva; Bankova, 2021). Entretanto, não são todos os Meliponini produzem a geoprópolis (Rocha et al., 2023). Abelhas, como por exemplo a *Melipona orbgnyi*, produzem apenas própolis (SFORCIN et al., 2017).

Outros materiais também podem ser incorporados a geoprópolis, como pedaços de madeira, sementes e látex, como pode ser observado por Absy e Kerr (1977), que identificaram látex do fruto de *Vismia* spp. (popularmente conhecido como lacre ou pau-de-lacre) em geoprópolis de abelhas da região amazônica.

Observação semelhante também foi feita por Nogueira-Neto (1997) em seu meliponinário em Xapuri - Acre, com abelhas Uruçu Roxas de Xapuri (*M. seminigra* subsp.), que levavam o mesmo material para as colônias e apresentavam uma geoprópolis com sementes

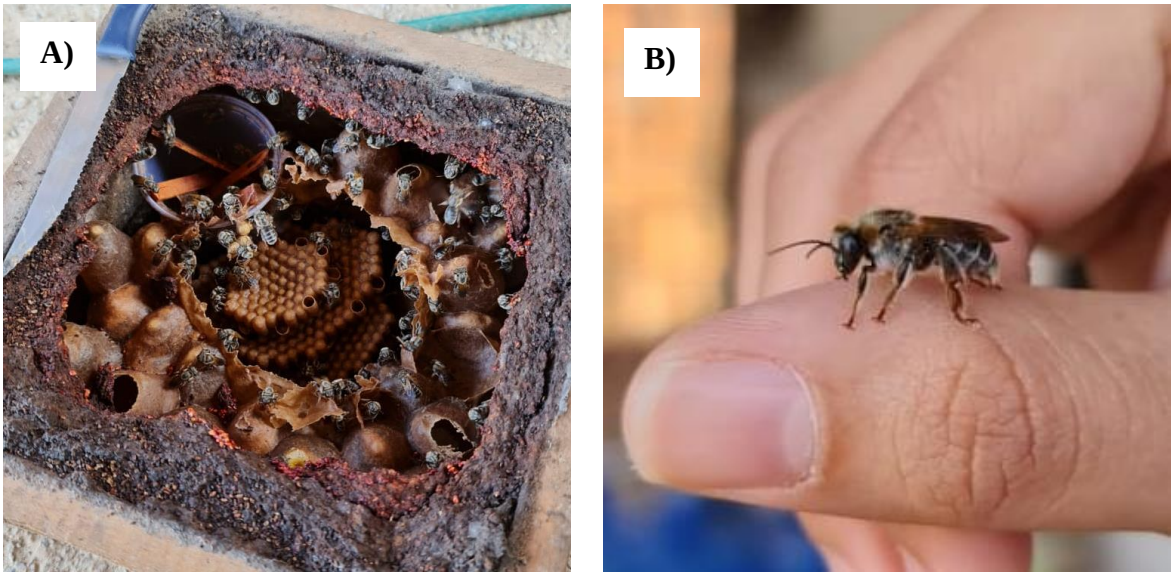
de coloração vermelha da planta conhecida popularmente como lacre (*Vismia* spp). Destacando que, quando nova, a geoprópolis se mostrava com coloração vermelho-vivo.

Dentro da colônia, a geoprópolis têm como função a proteção, o auxílio na estrutura e na ventilação do ninho, apresentando canais e orifícios que facilitam a passagem de ar (Nogueira-Neto, 1948). Ressalta-se que o acúmulo de geoprópolis produzido pelas abelhas, também pode ser chamado de batume (Kerr; Carvalho; Nascimento, 1996).

Em relação os discos de cria, estes encontram-se sobrepostos horizontalmente. As células mais jovens são de coloração escura e as células mais velhas são claras devido à remoção de cera pelas operárias, conforme há o desenvolvimento das larvas (Oliveira; Aidar, 2006). Segundo Santos, Ângulo e Santos (2021), não há a presença de célula real para criação da rainha virgem, evidenciando que todas as larvas podem vir a ser uma rainha. Os autores pressupõem que a determinação de uma abelha rainha está relacionado a genética, porém esta indicação não está bem definida. Portanto, as possíveis rainhas, nascem de células comuns, assim como os operários e os zangões, e se destacam apenas pela coloração escura de seu corpo (Kerr; Carvalho; Nascimento, 1996; Nogueira-Neto, 1997).

Já a arquitetura da entrada do ninho, este tem forma de renda circular, por isso as abelhas são conhecidas como "Uruçu-boca-de-renda" (Nogueira-Neto, 1997). As figuras abaixo correspondem a estrutura da colmeia (Figura 1A) e a uma das abelhas dessa espécie (Figura 1B).

Figura 1. A) Colmeia de *Melipona seminigra*; B) Abelha *Melipona seminigra*



Fonte: elaborado pela autora, 2022

De acordo com Costa e Lira (2021), a espécie *Melipona seminigra* apresenta vantagens sobre outras espécies de abelhas, frisando que as colônias apresentam crescimento precoce, são populosas, apresentam boa produção de mel e têm facilidade de adaptação aos diferentes ambientes.

Devido ao predomínio da espécie *Melipona* na região amazônica, o cultivo e o manejo racional têm se desenvolvido. Essa espécie de abelha e seus produtos têm grande potencial de estudo, principalmente da geoprópolis, que apresenta uma ampla variedade de composições químicas, influenciada pela flora local, pela geografia e pelo clima da região amazônica (Kerr; Carvalho; Nascimento, 1996).

A espécie de abelha *M. seminigra* tem importância como grande polinizadora da flora amazônica, de plantas cultivadas e de dispersão de sementes, pois é a principal espécie de abelha sem ferrão criada na Amazônia Brasileira, como alternativa econômica e com o objetivo de preservação (Francini, 2014).

2.2 Composição da geoprópolis

É fato que a geoprópolis é um material que apresenta uma diversidade de aromas, características únicas e cores, que variam do verde, passando pelo vermelho até o marrom escuro, devido ao exsudato vegetal coletado pelas abelhas (Sforcin et al., 2017).

Devido a isso, pesquisas foram realizadas com o intuito de elucidar os conteúdos bioativos presente nas mais variadas amostras de geoprópolis, já que esta é influenciada pela flora coletada, pelas características geográficas e climáticas da região em que as abelhas habitam (Popova; Trusheva; Bankova, 2021).

Frente a isso, os compostos que podem ser encontrados na geoprópolis são variados, como por exemplo os compostos das classes dos fenóis: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos (Dutra et al., 2014; Cunha et al., 2015; Coutinho et al., 2023), além de terpenos, açúcares, álcoois, ácidos graxos e esteroides (Batista et al., 2016).

Com o propósito de ilustrar e esclarecer, a Tabela 2 exibe uma variedade de compostos encontrados em amostras de geoprópolis de 8 (oito) espécies de abelhas do gênero *Melipona*, os métodos utilizados na identificação dos compostos e as referências dos estudos.

Tabela 2. Compostos identificados em amostras de geoprópolis da espécie *Melipona*

Espécies

1. *Melipona scutellaris*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Bahia	Ácido gálico, naringina, catequina	HPLC	(Coutinho et al., 2023)
Bahia	5,7-Dihidroxi-6-(3-metil-2-butenil) -8-(4-cinamoil-3-metil-1-oxobutil) -4-propilcumarina, 5,7-dihidroxi-6-(4-cinamoil-3-metil-1-oxobutil) -4-fenilcumarina, hidroximammeigin, mammeisin, cinamoiloxi-mammeisina, mammeína, ent-nemorosona	HPLC	(Cunha et al., 2015)

2. *Melipona marginata*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Paraná	Flavonoides agliconas, ácidos diterpênicos, ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos	UPLC-MS/MS	(Cardozo et al., 2015)

3. *Melipona quadrifasciata*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Mato Grosso do Sul	Ácido gálico, ácido elágico, O-Galoil hexosídeo, di-O-galoil hexosídeo, O-galoil-hexahidroxidifenóil hexosídeo, O-cumaril-O-galoil hexosídeo, O-cumaril hexosídeo, di-O-cumaril O-galoil hexosídeo, O-cumaril O-galoil O-benzoil hexosídeo, O-cumaril O-cinamoil O-galoil hexosídeo, O-cinamoil O-galoil hexosídeo, O-cinamoil di-O-galoil hexosídeo, eriodictiol, naringenina, O-metil eriodictiol, O-metil naringenina, diterpeno, triterpeno, ácido abietico diterpeno	HPLC-DAD-MS	(Campos et al., 2022)

Santa Catarina	Ácido gálico, vanilina, ácido p-cumárico, quercetina	HPLC-DAD	(Torres et al., 2018)

4. *Melipona interrupta*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Amazonas	5,7,4'-Trihidroxi-flavanona, 3,5,6,7,4'-pentahidroxi flavonol, naringenina-4'-O-β-D-glucopiranosídeo, miricetina-3-O-β-D-glucopiranosídeo	RMN ESI-MS	(Silva et al., 2013)

5. *Melipona fasciculata*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Maranhão	Triterpenos, alquilresorcinóis, alquilfenóis, ácidos anacárdicos	GC/MS	(Araújo et al., 2016)
Maranhão	Ácido gálico, trigalloylglucose, corilagina, pedunculagina, tellimagrandin I, tellimagrandin II, dilactona do ácido valônico, ácido elágico	HPLC-DAD-ESI-MS/MS	(Dutra et al., 2014)
Maranhão	Ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido melíssico, ácido octenóico, ácido glicólico, ácido glucônico, ácido quínico, glicose, frutose, manose, arabinose, galactose, fucose, sarbose, xilose, ribose, eritritol, arabitol, sorbitol, glicerol, xilitol, inositol, ácido protocatecuico, ácido gálico, ácido elágico, ácido urs-12-em-24-óico, 3-oxo, b-amirina, cicloursano, cicloartenol, lanosterol, acetato de lanosterol	GC/MS	(Batista et al., 2016)

6. *Melipona subnitida*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Paraíba	6-O-p-cumaroil-D-galactopiranose, 6-O-cinamoil-1-O-p-cumaroil-β-D-glucopiranose, 7-O-metil-naringenina, 7-O-metil aromadendrina, 7,4'-di-O-metil aromadendrina, 4'-O-metil canferol, 3-O-metil quercetina, 5-O-metil aromadendrina, 5-O-metil canferol	RMN	(Souza et al., 2013)

Paraíba	Galhoil hexosídeos, ácido elágico, acil-(cinamoil/cumaroil)-hexosídeos, acil-(cinamoil/cumaroil)-galoil-hexosídeos, agliconas, O-glicosídeos acilados	UPLC-DAD-QTOF-MS/MS	(Souza et al., 2018)

7. *Melipona mondury*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Bahia	Ácido gálico, Isômero ácido communic E/Z	ESI-MS UHPLC-MS/MS	(Santos et al., 2017a)

8. *Melipona seminigra*

Origem geográfica	Compostos identificados	Método analítico	Referências
Amazonas	Naringenina, naringenna glicosilada, aromadendrina, miricetina glicosilada	RMN	(Silva et al., 2013)
Pará	a-Pineno, limoneno, b-cariofileno, a-terpineol, y-cadineno, trans-diidro-a-terpineol	CG/EM	(Oliveira et al., 2012)
Santa Catarina	Ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido cinâmico, ácido 4-aminobenzóico, catequina, aromadenfrina, vanilina	HPLC-ESI-MS/MS	(Ferreira et al., 2019)

Sobre o grupo relacionado a espécie *Melipona scutellaris*, o primeiro grupo exposto na Tabela2, Coutinho et al. (2023) conduziram um estudo para investigar a origem botânica, o perfil físico-químico e as atividades biológicas da geoprópolis dessa espécie, por meio de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC, do inglês *High-Performance Liquido Chromatography*), que foram colhidas durante as estações chuvosa e seca no estado da Bahia. Os pesquisadores identificaram mais de 50 tipos de pólen, provenientes de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira-vermelha, Fruto-de-sabiá ou Cambuí) e *Cecropia* (Embaúba), e altas concentrações de fenóis (25,13%) e de flavonoides (3,92%) na estação chuvosa. Em comparação a estação seca, os índices de fenóis e de flavonoides marcaram 19,30% e 2,09% respectivamente, com picos nos cromatogramas correspondentes a naringina, ácido gálico e catequina. Ainda, no mesmo estudo, foram observados o potencial antioxidante, o antimicrobiano, o anti-inflamatório e o antimutagênico.

Ao realizar um estudo com a geoprópolis da mesma espécie de abelha (*Melipona scutellaris)*, Cunha et al. (2015) propuseram avaliar a atividade antiproliferativa do extrato de geoprópolis contra duas linhagens de células de câncer de cólon (COLO205 e KM12). Durante as investigações, foram descobertos de dois novos ésteres – Mammeisin e Mammein – conforme descritos na Tabela 2. Esses compostos isolados (Mammeisin e Mammein) se mostraram eficientes na inibição do crescimento celular de COLO205 e KM12. Os autores sugerem que a presença destes compostos provém de plantas da família *Clusiaceae*, especialmente dos gêneros *Kielmeyera* (Pau-santo) e *Clusia* (Árvore de fumaça, Abaneiro ou Mangue da Praia), que são incorporados durante a produção de geoprópolis por *M. scutellaris*.

No que se refere à *M. marginata*, segunda espécie apresentada na Tabela 2, a composição química da geoprópolis produzida por essa abelha, na região do Paraná, foi comparada por Cardozo et al. (2015) , com outras duas espécies de abelhas sem ferrão nativas do Brasil: *T. angustula* (nome popular: Jataí) e *M. quadrifasciata* (nome popular: Mandaçaia). As amostras foram analisadas por Cromatografia Gasosa acoplado a espectrometria de massa (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography Mass Spectrometry*), e foram identificados 45 compostos, sendo 16 deles comuns às três espécies de abelhas acima citadas. A partir da comparação entre as espécies, as pesquisas mostraram que o tipo de abelha e a época da coleta influenciaram os teores de fenóis totais, assim como os de flavonoides.

Partindo para a terceira espécie descrita na Tabela 2, no grupo da abelha *M. quadrifasciata*, um estudo conduzido por Campos et al. (2022) com amostras provenientes do estado Mato Grosso do Sul, se propuseram determinar a composição química e avaliar a atividade antimicrobiana e fúngica da geoprópolis desta abelha. Foram identificados compostos

fenólicos, que incluíam o ácido elágico e os flavonoides, bem como diterpenos e triterpenos. Ao avaliar a atividade antimicrobiana contra bactérias: *Staphylococcus aureus, S. aureus* resistente à meticilina, *Enterococcus faecalis, E. faecalis* resistente à vancomicina, *Escherichia coli, E. coli* resistente à Cefalosporina, *Pseudomonas aeruginosa* e *P. aeroginosa* resistente à imipenem e fungos: *Cryptococcus neoformans, C. neoformans* resistente à anfotericina B, *Candida albicans* e *C. albicans* resistente à anfotericina B, isolados de cepas de referência ou de origem hospitalar resistentes à antibióticos, o extrato de etanólico apresentou atividade inibitória e bactericida contra o crescimento das bactérias, principalmente àquelas resistentes à vancomicina, assim como apresentou atividade inibitória contra os fungos, tanto nas cepas de referência quanto nas resistentes à anfotericina B.

Torres et al. (2018) também analisaram a composição química, as propriedades antioxidantes e antibacterianas de extratos de etanol de geoprópolis de *M. quadrifasciata* provenientes da região do Rio Grande do Sul. Os compostos identificados foram flavonoides e terpenos, como os principais constituintes. Para a atividade antimicrobiana foram utilizadas bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus, S. aureus* resistentes à meticiclina e *Enterococcus faecalis*) e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*), e como resultados, foram observados que o extrato de geoprópolis de *M. quadrifasciata* apresentou efeito inibitório contra bactérias gram-positivas, especialmente para *S. aureus* e *S. aureus* resistente, uma vez que provocou a lise da parede celular bacteriana e liberação de constituintes intracelulares de *E. coli* e *S. aureus*.

Em relação à *M. interrupta*, quarta espécie descrita na Tabela 2, Silva et al. (2013) estudaram amostras de geoprópolis provenientes de abelhas da região de Manaus. Os estudos mostraram constituintes fenólicos e atividade oxidante da geoprópolis dessa espécie de abelha sem ferrão. As extrações da geoprópolis foram realizadas utilizando metanol e etanol, evidenciando o isolamento e identificação de quatro flavonoides: naringina, aromadendrina, naringina-4'O-b-D-glucopiranosídeo e miricetina-3-O-b-D-glucopiranosídeo. Ainda no estudo, ambos os extratos (metanol e etanol) apresentaram atividade antioxidante evidenciado pelo ensaio de capacidade de sequestro de radicais livres com 1,2-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH), resultado esse, que os autores associaram a alta presença de compostos fenólicos.

Referente à *M. fasciculata*, quinta espécie mencionada na Tabela 2, Araújo et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de comparar e determinar as características químicas e a capacidade antioxidante da geoprópolis de *M. scutellaris* e de *M. fasciculata*, ambas provenientes de Santa Maria, Tocantins. A identificação dos constituintes dos extratos em etanol obtidos, evidenciou a presença de compostos fenólicos similares em ambas as amostras

investigadas, além de demonstrar atividade antioxidante, evidenciando ação sequestrante de radicais livres. Este estudo de Araújo et al. (2015) enfatizam as investigações de Dutra et al. (2014), que sugeriu que os fenóis presentes na geoprópolis são responsáveis pela atividade antioxidante e pela capacidade redutora de radicais. Os autores investigaram a atividade antioxidante e a composição química dos extratos de geoprópolis da mesma espécie de abelha, que eram provenientes do Maranhão. Como resultados, as amostras de geoprópolis apresentaram a presença de ácidos fenólicos e taninos hidrolisáveis.

Assim como os pesquisadores anteriores, Batista et al. (2016) estudaram a composição química e a atividade antioxidante da geoprópolis produzida pela *M. fasciculata*, também do estado do Maranhão. Foram identificados compostos fenólicos, ácidos graxos, açúcares e esteroides. Ainda segundo o estudo, os ensaios para avaliação da atividade antioxidante se mostraram promissores e com correlação positiva entre o teor de fenólicos totais e o poder redutor de radicais livres.

Sobre a *M. subnitida*, sexta espécie citada na Tabela 2, o estudo de Souza et al. (2013) relataram a identificação e isolamento de dois fenilpropanoides e sete flavonoides provenientes das amostras de geoprópolis de *M. subnitida*, localizada no estado da Paraíba. O estudo menciona que os dois compostos isolados, e caracterizados como fenilpropanoides, foram relatados pela primeira vez em abelhas dessa espécie e que a flora influencia na composição química da geoprópolis. Souza et al. (2018) também conduziram um novo estudo para caracterização dos compostos fenólicos em amostras de geoprópolis da mesma espécie de abelha em menção. Foram utilizadas 9 amostras de geoprópolis na fração etanólica provenientes da região semiárida da Paraíba. Como resultado, o estudo apresentou 51 compostos fenólicos nas amostras, dos quais alguns são mostrados na Tabela 2.

Em relação à *M. mondury*, sétima espécie mencionada na Tabela 2, o estudo de Santos et al., (2017a) investigou as atividades antioxidante, antibacteriana, antiproliferativa e a determinação do perfil químico das amostras de geoprópolis provenientes da Bahia. De acordo com os autores, os resultados se mostraram eficientes para todos os ensaios, dando destaque para as atividades antibacterianas e para o efeito antiproliferativo. A fração em butanol apresentou maior concentração de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes, sendo efetiva também na aplicação bacteriostática e bactericida contra cepas de *Pseudomonas aeroginosa, Staphylococcus aureus* e *S. aureus* resistente à meticilina. A fração hexânica apresentou potencial antiproliferativo contra células da linhagem leucêmica promielocítica humana (HL-40) e células de linhagem leucêmica mielocítica crônica humana (K562).

Por fim, no que se trata da *M. seminigra*, oitava espécie descrita na Tabela 2, Silva et al. (2013) investigaram os constituintes fenólicos e a atividade antioxidante da geoprópolis produzida por essa abelha no estado do Amazonas. No estudo foi observado a presença de teores de compostos fenólicos que indicaram atividade antioxidante e poder de redução de radicais livres. Esse estudo corrobora com outros quando sugere que as espécies vegetais visitadas pelas abelhas determinam os compostos presentes na geoprópolis.

Já a geoprópolis de *M. seminigra* obtida no estado do Pará, foi avaliada por Oliveira et al. (2012) que buscaram determinar o perfil químico dos principais compostos voláteis presentes nas amostras. Segundo os autores, houve predominância de dois compostos, que juntos representam 37,7% do total e pertenciam a classe dos monoterpenos, classe de compostos que têm propriedades aromáticas e são comumente encontrados em óleos essenciais. Ademais, Ferreira et al. (2019), em um estudo com a mesma espécie de abelha em menção, coletaram amostras de geoprópolis em Santa Catarina para descrever os compostos químicos e minerais presentes no material. Os autores identificaram compostos da classe dos fenóis, como os ácidos fenólicos, flavonoides e taninos. Já os compostos minerais, como: alumínio, cromo, ferro, potássio e selênio, também foram identificados nas amostras e estão relacionados à presença do solo na geoprópolis, que, segundo a pesquisa, são responsáveis por diversas funções bioquímicas no organismo.

Por fim, conforme descrito na Tabela 2, o que se pode observar é que diversos estudos buscaram identificar os compostos químicos presentes em amostras de geoprópolis da espécie *Melipona* no Brasil, principalmente por serem abelhas nativas e manejadas em várias regiões do país. Ainda, os compostos identificados apresentam as mais diversas propriedades, benefícios e potenciais aplicações para a saúde, que incluem ações antioxidantes (Silva et al., 2013; Souza et al., 2013; Dutra et al., 2014; Ferreira et al., 2017; Santos et al., 2017a), antimicrobianas (Campos et al., 2014; Cunha et al., 2013; Torres et al., 2018; Campos et al., 2022), anti-inflamatórias (Santos et al., 2017b; Lopes et al., 2019; Barboza et al., 2020) e anticancerígenas (Cunha et al., 2013; Cunha et al., 2015; Santos et al., 2017a; Santos et al., 2017b).

É inegável que a comunidade científica vem investigando o uso de produtos naturais e seus compostos para a produção de medicamentos que possam ser eficazes e seguros contra as diversas enfermidades, principalmente em tratamentos contra o câncer (Sharma *et al.*, 2010).

2.3 Câncer

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização das Nações Unidas (ONU) e outros órgãos internacionais, o câncer representa a segunda principal causa de morte em país desenvolvidos e em desenvolvimento, isto é, 12,5% das mortes são provocadas pelo câncer (Siegel et al., 2021; Bray et al., 2024). Estima-se que entre os anos de 2018 e 2040, surjam 30 milhões de novos casos, em ambos os sexos e em todas as faixas etárias (Lopes-Júnior, 2021).

No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA), serão diagnosticados cerca de 704 mil novos casos entre os anos de 2023 e 2025. Após o câncer de pele não melanoma, que lidera com 483 mil casos, os cânceres de mama feminina e próstata se destacam como os mais prevalentes, com 73 mil e 71 mil casos, respectivamente. Outros tipos de câncer também apresentam alta incidência, como o cólon e reto (45 mil casos), pulmão (32 mil), estômago (21 mil) e câncer de colo do útero (17 mil casos) (Instituto Nacional de Câncer, 2023; Santos et al., 2023).

É importante destacar que entre 5% e 10% de todos os cânceres podem ser atribuídos à fatores genéticos, enquanto 90% a 95% têm suas causas relacionadas a fatores ambientais e estilo de vida, sugerindo que as neoplasias têm causas multifatoriais (Anand et al., 2008).

2.3.1 Fisiopatologia do câncer

Embora não se tenha uma causa única, o desenvolvimento e o aumento dos casos de câncer é atribuído, principalmente a causas externas, como hábitos nutricionais, nível socioeconômico, estilo de vida, agentes físicos (radiação ionizante e não ionizante), compostos químicos e agentes biológicos, tais como: *Helicobacter pylori*, vírus Epstein Barr, vírus do Papiloma Humano (HPV) e vírus da Hepatite B, *Schistosoma haemotobium*, *Clonorchis sinensis* e *Opisthorchis vivarium* (Oliveira *et al*., 2007; Efared *et al*., 2022; Bashir; Khan, 2023). O consumo excessivo de álcool, o tabagismo e a ingestão de alimentos contaminados com agrotóxicos, também são considerados responsáveis pelo desenvolvimento dos variados tipos de neoplasias, assim como os fatores endógenos, que incluem os danos ao sistema imunológico e as inflamações sem causa definida, a configuração genética, a idade, o desequilíbrio endócrino e as condições fisiológicas do indivíduo (Oliveira *et al*., 2007).

Assim, para ilustrar as alterações morfológicas e funcionais das células tumorais, é preciso, primeiramente, compreender o comportamento biológico das células normais, uma vez

que estas coexistem em harmonia citológica, histológica e funcional no sentido da manutenção da vida, determinadas pelo seu próprio código genético (especificidade), e são agrupadas em tecidos (Fontoura *et al*., 2021).

Para isso, as células usam de mecanismos intracitoplasmáticos que regulam seu contato e sua permanência ao lado da outra, se reconhecendo, assim como controlando de seu crescimento. Para que ocorra o crescimento celular, as células respondem as necessidades do corpo, envolvendo um processo meticulosamente regulado, que implica no aumento da massa celular, na duplicação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e na divisão física das células em células filhas idênticas (mitose) (Tesch; Partridge, 2022).

O ciclo de divisão celular poder ser dividido em dois estágios: ciclo cromossômico e ciclo citoplasmático. No primeiro, a duplicação do DNA acontece durante a mitose, quando as cópias do genoma são duplicadas e então separadas. Em segundo e em paralelo, outros componentes da célula dobram em quantidade, se alternando com citocinese, para que a célula, como um todo, possa se dividir em duas. Esses dois processos necessitam que o centrossomo, principal organizador de microtúbulos, seja duplicado para formar dois polos do fuso mitótico (Videira *et al*., 2002).

Esse evento se processa por meio das fases conhecidas como G1 – S – G2 – M e G0, que integram o ciclo celular. Na fase G1 (gap 1), a célula aumenta de tamanho e prepara seu DNA para ser copiado (Almeida *et al*., 2005). Durante essa fase, a célula apresenta um ponto de checagem próximo ao final de G1/S, controlado pela ciclina. Uma vez que a célula passa por esse ponto, ela está pronta para replicar seu DNA (Rivoire *et al*., 2006).

A fase S (síntese) ocorre a cópia (replicação) do DNA, permitindo que a célula duplique precisamente seus cromossomos. Caso ocorra cópia incorreta ou lesão do DNA, a célula não passará pelo ponto de checagem G2/M, levando a parada do crescimento e apoptose (senescência e morte programada) induzido pelo gene p53 (Rivoire *et al*., 2006).

Seguindo para a fase G2 (gap 2), após a replicação dos cromossomos, a célula se prepara para entrar na fase M (mitose), fase essa em que a célula-mãe, aumentada, finalmente se divide ao meio para produzir duas células-filhas com número igual de cromossomos (Almeida *et al*., 2005). Após a produção das células-filhas, dependendo de suas funções, elas imediatamente, entram em fase G1, podendo reiniciar o ciclo celular ou passar para a fase G0, quando apresentam menor atividade metabólica, representando um longo período de repouso (Rivoire *et al*., 2006).

Nas células normais, a existência de fatores regulatórios chaves para os processos biológicos, realizam o controle genético, a indução do crescimento celular e, também, a

progressão pelo ciclo cromossômico, portanto esses fatores regulatórios estão diretamente relacionados com a estimulação da proliferação e divisão celular (Videira *et al*., 2002).

O controle genético é desempenhado por classes de genes e fatores específicos conhecidos como: oncogenes, que são genes normais, responsáveis pelo aumento nas taxas de proliferação celular e na inibição da apoptose, e os genes supressores de tumor, que atuam durante a divisão celular, nos reparos de erros no DNA e no processo de apoptose celular, e os fatores de crescimento, que atuam regulando a proliferação celular, a manutenção da viabilidade dessas células, sua diferenciação, a ativação da resposta inflamatória e o reparo tecidual. É importante ressaltar que a secreção anormal de fatores de crescimento resulta em doenças caracterizadas por resposta celular proliferativa (Videira *et al*., 2002).

Existem uma variedade desses reguladores que controlam a diferenciação e proliferação celular normal, assim sendo, eles funcionam como fatores de crescimento – transmitem sinais de uma célula para a outra, receptores de fatores de crescimento – proteínas localizadas na superfície da célula, transdutores de sinais celulares – emissor de moléculas que desencadeiam séries de reações de fosforilação no interior da célula, enviando mensagens ao núcleo, e fatores de transcrição nuclear – regulam a atividade dos genes controladores do crescimento e proliferação celulares, interagindo com os eventos da transdução de sinais. São exemplos de oncogenes o ERBB (Receptor de Proteína Tirosina Quinase), ABL (Proteína Tirosina Quinase ABL) e MYC (Proteína do Fator de Transcrição MYC), dentre outros (Kontomanolis *et al*., 2020).

As mutações que levam à ativação dos oncogenes podem ser de dois tipos: diferenças na estrutura da proteína codificada e desregulação da expressão proteica. Essas alterações nos genes que influenciam o comportamento ou a forma como as proteínas codificadas são estruturadas, aparecem em células cancerosas como oncogenes ativados. Quando esses oncogenes são formados, eles impulsionam a multiplicação celular desordenada e assumem um papel fundamental na patogênese do câncer (Almeida *et al*., 2005; Kontomanolis *et al*., 2020).

As mutações levam o oncogene a expressar em excesso sua proteína estimuladora de crescimento ou produzir uma forma mais ativa. Os genes supressores têm a função de inibirem esse processo de divisão celular descontrolado, porém, quando estão inativados por mutações, eles contribuem para o desenvolvimento do câncer. Ou seja, há perda da ação de genes supressores funcionais, privando a célula de controles fundamentais para a inibição de crescimento inapropriado (Rivoire *et al*., 2006).

Os oncogenes são frutos de genes que sofreram mutações, oriundos dos proto-oncogenes, e são responsáveis pelo processo de malignização das células, atuando em mutações

de ganho de função que leva a desregulação do controle do ciclo celular. Essas mutações são somáticas e levam ao desenvolvimento de cânceres (Lopes *et al*., 2017). Esse desenvolvimento é conhecido como carcinogênese ou oncogênese, caracterizado como um processo lento e gradual, que pode levar vários anos para que seja detectado (Almeida *et al*., 2005)

Sobre o processo de oncogênese, Hanahan e Weinberg (2011) descreveram as seis alterações essenciais na fisiologia celular que ditam o crescimento da malignidade, que são: I. autossuficiência em crescimento, II. insensibilidade aos sinais de crescimento (inibidores de crescimento – inativação de genes supressores de tumor), III. evasão da morte celular programada (apoptose), IV. potencial de replicação ilimitado (imortalidade celular), V. angiogênese sustentada e VI. invasão tecidual e metástase. O processo inicial de um câncer perpassa pelos estágios de iniciação, estágio de promoção e estágio de progressão (Almeida *et al*., 2005).

O estágio de iniciação é o estágio em que a célula normal sofre danos em seu DNA, passando a produzir uma célula mutada, e esse dano pode ter ocorrência por meio das interações com os carcinogênicos. Durante a proliferação celular, as mutações também podem ocorrer devido ao reparo incorreto do DNA, resultando em células iniciadas espontaneamente (mutadas). Nessa fase, as células se encontram geneticamente alteradas, portanto, ainda não é possível a detecção clínica do tumor (Tanaka *et al*., 2013).

No estágio de promoção, após as modificações genéticas, compostos fisiológicos endógenos podem ativar o crescimento clonal seletivo da célula iniciada por meio do processo de promoção tumoral, classificados como onco-promotores. Esse processo não é direto ou prejudicial ao DNA, mas está diretamente ligado à modulação de expressão gênica, resultando no aumento do número de células por meio da divisão celular e diminuição da morte por apoptose. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual, e para que ocorra essa transformação, o contato contínuo com o agente cancerígeno promotor promove essas alterações, mas havendo a suspensão do contato, o processo de transformação é interrompido nesse estágio (Almeida *et al*., 2005; Tanaka *et al*., 2013).

O estágio de progressão é a última etapa e se caracteriza pela multiplicação celular descontrolada, envolvendo danos adicionais ao genoma, e ao contrário do estágio anterior, é um processo irreversível. Nesse estágio, o tumor já está instalado e apresentando as primeiras manifestações clínicas (Almeida *et al*., 2005). A partir das primeiras manifestações clínicas, a buscar pelo tratamento para a doença é indispensável, uma vez, que o câncer é classificado de acordo com o tipo de célula normal à qual se originou, e não de acordo com o tecido para qual se espalhou (Lima Filho *et al*., 2020).

2.3.2 Câncer de mama

É o tipo mais comum de câncer entre mulheres no mundo, apresenta, atualmente, estimativas de diagnóstico de cerca de 73.610 novos casos em mulheres no Brasil (Instituto Nacional de Câncer, 2023b). Relativamente raro antes dos 35 anos, a incidência aumenta progressivamente após os 50 anos, porém, a idade não é o único fator de risco. A menarca antes dos 12 anos, o histórico familiar, a gravidez após os 30 anos, o excesso de gordura corporal e o consumo de álcool também são fatores de risco (Rocha et al., 2020). Exposição prolongada ao estrogênio, terapia hormonal e alta densidade mamária também contribuem para o desenvolvimento da patologia. Hábitos saudáveis como exercícios regulares e dieta equilibrada podem auxiliar na prevenção (Rocha et al., 2020; Neres et al., 2024).

O diagnóstico precoce é crucial para aumentar as chances de cura e reduzir a morbidade do tratamento. Infelizmente, muitos casos no Brasil são diagnosticados em estágios avançados, com tumores grandes e metastáticos (Thuler; Mendonça, 2005; Castaneda et al., 2019). Embora programas de rastreamento, como a mamografia, sejam essenciais, muitas mulheres ainda têm acesso limitado a esses serviços, especialmente em regiões com menor desenvolvimento socioeconômico (Ramos et al., 2018).

Os tipos mais comuns de câncer de mama incluem o Carcinoma Ductal Invasivo (CDI), representando 80% dos casos, e o Carcinoma Lobular Invasivo (CLI) com 8% dos casos (Guo et al., 2019; Hassan et al., 2019; Göransson et al., 2023). O Carcinoma Misto (Ductal/Lobular) corresponde a cerca de 7% dos casos, enquanto tipos especiais, como Carcinoma Medular, Mucinoso, Tubular e Papilar, somam os 5% restantes (Morales et al., 2020; Rabinovich et al., 2020; Zhang et al., 2022; Gogoi et al., 2023).

Tanto o Carcinoma Ductal Invasivo quanto o Carcinoma Lobular Invasivo são tipos de câncer de mama que se originam em células diferentes e apresentam padrões de crescimento distintos. Enquanto o CDI se origina nos ductos mamários e tende a formar massas palpáveis (Guo et al., 2019), o CLI se origina nos lóbulos mamários e se espalha de forma difusa, dificultando sua detecção (Hassan et al., 2019).

Apesar dessas diferenças, ambos são cânceres invasivos, ou seja, as células cancerígenas têm potencial para romper a parede do tecido original e espalhar-se pelo corpo. O tratamento geralmente inclui cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapia hormonal, variando conforme o estágio da doença e as características do tumor (Harake; Maxwell; Ssukumar, 2001; Moura; Carvalho; Bacchi, 2015; Castaneda et al., 2019).

A avaliação de biomarcadores como HER2, receptores hormonais (estrógeno e progesterona) e proteína p53 é essencial para determinar o prognóstico e orientar o tratamento de CDI e CLI (Coradini et al., 2002; Neagu et al., 2023). No CDI, a superexpressão de HER2 ocorre em 15-20% dos casos, enquanto no CLI é menos comum. Receptores hormonais são encontrados em 60-70% dos casos de CDI, mas são menos frequentes no CLI. A mutação da proteína p53, que normalmente protege contra tumores, aparece em pelo menos 30% dos casos de CDI e é menos frequente no CLI (Coradini et al., 2002; Guo et al., 2019; Neagu et al., 2023). A E-caderina, responsável pela adesão celular, é expressa na maioria dos CDIs, mas quase sempre ausente no CLI, contribuindo para o crescimento difuso e a detecção precoce difícil (Neagu et al., 2023).

Além dos tipos mais prevalentes, CDI e CLI, existem carcinomas especiais menos comuns, como os medulares, mucinosos, tubulares e papilares, que possuem características morfológicas e moleculares distintas, geralmente associadas a um prognóstico mais favorável. O Carcinoma Medular é notável por sua aparência macia e carnuda, semelhante à medula óssea. Apesar da rápida proliferação das células tumorais, há menor probabilidade de disseminação para os gânglios linfáticos (Morales et al., 2020). O Carcinoma Mucinoso produz grandes quantidades de mucina, um líquido viscoso que envolve as células tumorais, resultando em crescimento lento e prognóstico positivo (Rabinovich et al., 2020).

O Carcinoma Tubular é caracterizado pela formação de estruturas tubulares, semelhantes aos ductos mamários normais (Zhang et al., 2022), enquanto o Carcinoma Papilar forma projeções semelhantes a dedos dentro dos ductos, e é mais comum em mulheres pós-menopausa (Gogoi et al., 2023). Ambos apresentam crescimento lento e baixa probabilidade de metástase.

Em contraste com esses subtipos menos agressivos, o carcinoma ductual invasivo deu origem a importantes ferramentas para pesquisas *in vitro*: as linhagens celulares MCF-7 e MDA-MB-231. A linhagem MCF-7, isolada de um derrame pleural metastático, expressa receptores de estrogênio e progesterona, o que a tornando um modelo celular sensível a hormônios (Zhang et al., 2020). Essa característica permite investigar o papel da sinalização endócrina na progressão do câncer de mama e na resposta a terapias hormonais (Comsa; Cîmpean; Raica, 2015; Lee; Oesterreich; Davidson, 2015).

A MDA-MB-231 apresenta o fenótipo “triplo negativo”, ou seja, não expressa receptores de estrogênio, receptores de progesterona e proteína HER2 (Neagu et al., 2023). Essa característica a torna um modelo para estudo de subtipos mais agressivos de câncer de mama,

com prognóstico desfavorável, e para a avaliação de novas abordagens terapêuticas (Zhang et al., 2020).

Ambas as linhagens são frequentemente utilizadas em estudos *in vitro* para investigar os mecanismos moleculares do câncer de mama, testar a eficácia e toxicidade de drogas e avaliar o impacto de disruptores endócrinos no desenvolvimento e progressão do câncer de mama (Lee; Oesterreich; Davidson, 2015; Zhang et al., 2020; Hermansyah et al., 2022).

2.3.3 Câncer de fígado

O hepatocarcinoma ou carcinoma hepatocelular é um tipo de câncer que também representa um desafio para a saúde pública (Cukier et al., 2022), pois é um câncer com alta incidência, sendo o sexto tipo mais comum no mundo e o terceiro mais mortal, com uma taxa de sobrevida de 5 anos. O diagnóstico geralmente ocorre em quando a neoplasia está em estágios avançados (Yousef; El-Fawal; Abdelnaser, 2020).

No Brasil, o Instituto Nacional de câncer estima que serão diagnosticados 10.700 novos casos de hepatocarcinoma, sendo 6.390 em homens e 4.310 em mulheres (Instituto Nacional de câncer, 2023c).

Os principais tipos de câncer de fígado são: carcinoma hepatocelular, mais comum em adultos, se origina nos hepatócitos e está associado a doenças hepáticas crônicas; colangiocarcinoma intra-hepático, é menos comum que o anterior, se origina nos ductos biliares do fígado; angiossarcoma e hemangiossarcoma, tipos raros de tumores, que se originam nos vasos sanguíneos hepáticos, são de crescimento rápido e difíceis de tratar; por fim, o hepatoblastoma, comum em crianças, são originados nas células embrionárias do fígado e são tratáveis com cirurgia e quimioterapia (Yousef; El-Fawal; Abdelnaser, 2020; Cukier et al., 2022).

Ele pode ser de dois tipos: primário, que inicia no próprio órgão, e secundário ou metastático, tendo origem em outro órgão, e com a evolução da doença, acomete o fígado. O tipo secundário está frequentemente relacionado com tumores malignos no intestino grosso ou reto, e essa forma agressiva ocorre em mais de 80% dos casos (Chedid et al., 2017; Instituto Nacional de Câncer, 2023c).

Diversos fatores de risco podem contribuir para o desenvolvimento do hepatocarcinoma, como as infecções crônicas pelos vírus das hepatites B e C (principal causa em todo o mundo), esquistossomose, exposição a toxinas fúngicas, esteatose hepática não alcoólica (gordura no

fígado), excesso de gordura corporal e abuso de álcool (Raza et al., 2019; Taniai, 2020; Wangensteen; Chang, 2021; Instituto Nacional de Câncer, 2023c; Von Bülow et al., 2024).

As infecções virais crônicas da hepatite B e C são importantes fatores de risco para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (Chedid et al., 2017). O vírus da hepatite B (VHB) pode se integrar ao genoma humano, afetando a carcinogênese através de mecanismos de ativação cis e trans e induzindo necroinflamação hepática e fibrose/cirrose (Cheng; Chan, 2012; Chedid et al., 2017; Cukier et al., 2022). Os fatores virológicos como alta carga viral, genótipo C do VHB e mutações no promotor do core basal aumentam o risco de hepatocarcinoma (Cheng; Chan, 2012; Wangesnsteen; Chang, 2021). O vírus da hepatite C (VHC), que não se integra ao genoma do hospedeiro, contribui para a hepatocarcinogênese através da necroinflamação hepática e cirrose, bem como alterando o metabolismo lipídico e as vias de transdução de sinal (Lee et al., 2009; Cheng; Chan, 2012; Wangensteen; Chang, 2021).

Ambos os vírus, VHB e VHC, também estão ligados ao desenvolvimento do colangiocarcinoma intra-hepático, indicando processos compartilhados de carcinogênese e potencial origem em células progenitoras hepáticas (Lee et al., 2009). Além disso, a presença do gene do VHB em pacientes com lesão hepática crônica associada ao VHC parece promover a hepatocarcinogênese (Yousef; El-Fawal; Abdelnaser, 2020; Wangensteen; Chang, 2021).

Por tanto, fatores virais, hospedeiro e ambientais provavelmente interagem para promover a oncogênese. O VHB e o VHC são fatores de risco bem estabelecidos para o hepatocarcinoma, operando através de mecanismos diretos e indiretos. A infecção viral crônica leva à inflamação e danos no fígado, culminando em cirrose, que é o penúltimo passo na progressão do carcinoma hepatocelular (Wangensteen; Chang, 2021; Cukier et al., 2022).

O tratamento antiviral e o rastreamento do hepatocarcinoma em indivíduos de risco são considerações clínicas cruciais para reduzir o risco de desenvolvimento do câncer (Vezali *et al.*, 2011; Wangensteen & Chang, 2020).

A esquistossomose é um fator de risco para o desenvolvimento de hepatocarcinoma, conforme evidenciado pela correlação entre a infecção por *Schistosoma* e o aumento no risco de carcinoma hepatocelular (Palumbo, 2007; Chai; Jung, 2024). Estudos demonstram que a esquistossomose, especialmente por *S. japonicum*, aumenta o risco de hepatocarcinoma, possivelmente potencializando infecções pelos vírus da hepatite B e C (Sheng et al., 2024). Essa relação é reforçada por análises moleculares e bioinformáticas, além de relatos de caso, como a ocorrência simultânea de carcinoma hepatocelular e colangiocarcinoma em paciente com esquistossomose (Palumbo, 2007; Zaghloul; Gouda, 2012; Sheng et al., 2024). Em relação ao *S. mansoni*, evidências apontam uma ligação ao hepatocarcinoma, também aumentada por

infecções pelos vírus da hepatite B e C. Estudos no Brasil identificaram fibrose hepática esquistossomótica em 6 pacientes com hepatocarcinoma submetidos a transplante de fígado, sem outros fatores de risco (Filgueira et al., 2018). Estudos em modelos animais mostram que *S. mansoni* pode acelerar a oncogênese quando combinado com infecção por hepatite C ou carcinógenos (Filgueira et al., 2018; Von Bülow et al., 2024).

A exposição a toxinas fúngicas, especialmente as aflatoxinas, tem uma forte relação com o desenvolvimento de hepatocarcinoma, já que essas toxinas são consideradas carcinógenos do tipo I e sua interação com fatores genéticos levam ao desenvolvimento do câncer de fígado (Long et al., 2018). Essas toxinas induzem danos ao DNA, que incluem quebras de fita, danos oxidativos e mutações gênicas, por isso a exposição às aflatoxinas está completamente envolvida na sequência patológica do hepatocarcinoma, desde a lesão hepática crônica até os estágios iniciais do câncer (Long et al., 2018; Chong, 2022; Dhakal; Hashmi; Sbar, 2023).

A esteatose hepática não alcoólica está associada ao desenvolvimento do carcinoma hepatocelular, sendo um fator de risco emergente para este câncer primário do fígado (Degasperi; Colombo, 2016; Raza et al., 2019). A progressão da esteatose hepática para o hepatocarcinoma envolve lipotoxicidade, estresse oxidativo, inibição da autofagia hepática e inflamação (Raza et al., 2019).

O acúmulo de gordura nos hepatócitos, típico da esteatose hepática está frequentemente ligada à obesidade, diabetes mellitus e síndrome metabólica, que promovem a oncogênese via remodelação de adipócitos, secreção de adipocinas, lipotoxicidade e resistência à insulina (Shetty et al., 2015; Udoh et al., 2021). O aumento do risco de hepatocarcinoma na esteatose hepática não alcoólica representa um desafio para as estratégias de vigilância, especialmente devido à ocorrência de carcinoma hepatocelular não cirrótico (Thomas et al., 2024).

Por fim, outro importante fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular é o consumo excessivo de álcool (Burra; Zanetto; Germani, 2018). Esse consumo em excesso pode resultar em uma série de alterações hepáticas, levando ao desenvolvimento de esteatose, hepatite aguda/crônica e cirrose, mostrando que o abuso de álcool aumenta o risco de hepatocarcinoma em 3 a 10 vezes (Matsushita; Takaki, 2019).

O álcool pode induzir a carcinogênese hepática por meio de diversos mecanismos, incluindo a depleção de retinóides hepáticos (Matsushita; Takaki, 2019), os efeitos mutagênicos do acetaldeído (Taniai, 2020), o estresse oxidativo gerado pelo acúmulo de ferro no fígado e a aceleração da tumorigênese induzida pelos vírus da hepatite B e C (Burra; Zanetto; Germani, 2018; Matsushita; Takaki, 2019; Seo et al., 2019).

Dada a gravidade do hepatocarcinoma e a influência de múltiplos fatores de risco em relação à patogenicidade, pesquisas *in vitro* são essenciais para aprofundar a compreensão da doença e desenvolver novas terapias. Nesse contexto, a linhagem celular HepG2, derivada de hepatocarcinoma humano, tem se mostrado uma ferramenta frequentemente utilizada em estudos *in vitro* (Liu et al., 2021).

A linhagem HepG2 exibe características de malignidade (Shi et al., 2023), tornando-a um modelo adequado para uma variedade de estudos, como: investigação dos mecanismos moleculares do câncer, compartilhando características moleculares com células cancerígenas *in vivo*, como a suscetibilidade à apoptose, sensibilidade ao estresse oxidativo e capacidade de resposta a vias apoptóticas intrínsecas e extrínsecas (Rajivgandhi et al., 2019; Shi et al., 2023; Ibrahim et al., 2024); desenvolvimento de medicamentos, permitindo a triagem em larga escala de potenciais fármacos anticancerígenos, avaliando sua eficácia e toxicidade *in vitro* (Ibrahim et al., 2024); e estudos de mecanismos de ação de drogas, ao elucidar os mecanismos moleculares pelos quais os medicamentos atuam, fornecendo informações valiosas para o desenvolvimento de terapias eficazes (Shi et al., 2023).

2.3.4 Tumor cerebral

Tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) representam de 1,4 a 1,8% de todos os tumores malignos no mundo, e cerca de 88% desses tumores de SNC estão localizados no cérebro (Instituto Nacional de Câncer, 2022a).

Os tumores do SNC são neoplasias sólidas e são classificados em três subgrupos principais: gliomas (tumor cerebral mais comum em adultos), tumores embrionários (comum em crianças) e tumores ependimários (originário de células ependimárias, podem ocorrer em qualquer idade) (Ordóñez-Rubiano et al., 2018; Vasiljevic, 2018). Dentro do subgrupo dos gliomas são encontrados os astrocitomas, geralmente comuns e variam de grau – I (menos agressivo) a IV (altamente agressivo), oligodendrogliomas, menos incidentes e se originam nos oligodendrócitos, e oligoastrocitomas, originados nas células ependimárias, revestem os ventrículos cerebrais e o canal central da medula espinhal (Reddy et al., 2023).

Relacionado ao tipo comum e altamente agressivo do SNC, o glioblastoma é o principal responsável pela morte de pacientes com tumores cerebrais primários (Pan; Magge, 2020). O glioblastoma é conhecido por um progresso intracraniano devastador e de prognóstico extremamente desfavorável, relacionado a uma sobrevida de menos de 2 anos após o

diagnóstico e altamente invasivo e resistente à terapia (Basmaci et al., 2013; Malik, 2021; Mooney et al., 2021).

Embora o glioblastoma ocorra com maior frequência na região supratentorial do cérebro, ele pode surgir em outras áreas do SNC, como o cerebelo (4% dos casos) (Yalamarty et al., 2023) e a medula espinhal (1 a 3% dos casos) (Chen et al., 2022).

A fisiopatologia do glioblastoma envolve diversos mecanismos moleculares e celulares complexos, como a proliferação descontrolada, invasividade e angiogênese (Afshari; Mollazadeh; Sahebkar, 2020; Gupta et al., 2023; Sarkar; Patranabis, 2024). Vias de sinalização como a PI3K/Akt, MAPK, Nanog, STAT3 e Wnt, estão envolvidas na progressão e invasão do glioblastoma (Khabibov et al., 2022; Karkon-Shayan et al., 2023), enquanto processos biológicos anti-apoptóticos, autofagia e angiogênese promovem sua malignidade (Karkon-Shayan et al., 2023).

O glioblastoma apresenta alterações genéticas e epigenéticas significativas, com fatores de transcrição desregulados ou mutados resultando em expressão gênica aberrante, que promovem a iniciação, progressão e resistência do tumor às terapias convencionais (Papavassiliou; Papavassiliou, 2022). Estudos mais recentes relacionam a presença de RNAs circulares como importantes reguladores da patogênese do glioblastoma, atuando principalmente como esponjas de microRNAs (Zhang et al., 2023).

Alguns fatores de risco para o desenvolvimento do glioblastoma ainda não estão completamente estabelecidos, mas fatores como a etnia e a localização geográfica parecem influenciar (Urbanska et al., 2014), a faixa etária (incidência em adultos entre 40 e 60 anos) (Ghani et al., 2022), a predisposição genética hereditária (Ejma et al., 2014; Urbanska et al., 2014), os hormônios sexuais, as infecções virais e a exposição à radiação ionizante é fator de risco com maior nível de evidência (Urbańska et al., 2014; Instituto Nacional de Câncer, 2022a, 2022b).

Frequentemente descrito como “o tumor mais agressivo originado no sistema nervoso central” (Ortiz-Pla et al., 2016), o glioblastoma representa um desafio significativo no campo da neuro-oncologia. Embora sua ocorrência comum seja no cérebro, locais como medula espinhal e cerebelo são raras, mas podem ali se desenvolver, reforçando a importância de considerar o glioblastoma no diagnóstico diferencial de tumores em diferentes regiões do SNC (Caro-Osorio et al., 2018). O tratamento do glioblastoma envolve uma abordagem multimodal, incluindo cirurgia, radioterapia e quimioterapia. No entanto, o prognóstico permanece desafiador, enfatizando a necessidade de pesquisas contínuas para o desenvolvimento de

melhores estratégias de tratamento (Ramirez et al., 2013; Afshari; Mollazadeh; Sahebkar, 2020; Gupta et al., 2023; Sarkar; Patranabis, 2024).

Diante desse cenário, a linhagem celular U251, derivada do glioblastoma humano, surge como uma ferramenta de modelo *in vitro* para aprofundar a compreensão da neoplasia e impulsionar o desenvolvimento de novas terapias (Urbanska et al., 2014; Papavassiliou; Papavassiliou, 2022).

A linhagem U251 é utilizada em pesquisas para investigar a eficácia de novos fármacos, avaliando a atividade antitumoral, nos mecanismos moleculares do glioblastoma, permitindo investigar os processos celulares e moleculares que impulsionam o crescimento e invasão do glioblastoma e na busca por novas estratégias terapêuticas, servindo de plataforma para testar novas abordagens de tratamento, como as terapias-alvo e as imunoterapias. Seu uso em pesquisas *in vitro* é essencial para compreensão desse tumor cerebral e desenvolver tratamentos mais eficazes (Ortiz-Pla et al., 2016; Neves et al., 2017; Caro-Osorio et al., 2018; Cavalheiro et al., 2023).

2.3.5 Tratamentos

Como o câncer é uma doença complexa e multifacetada, estratégias foram desenvolvidas para combater as diversas neoplasias, que inclui as estratégias convencionais: cirurgia, quimioterapia e radioterapia, e mais recentemente foram desenvolvidos métodos como imunoterapia, terapias hormonais e terapias alvo (Pucci; Martinelli; Ciofani, 2019; Wang et al., 2020; Li et al., 2022)

Os métodos convencionais de tratamento do câncer (cirurgia, quimioterapia e radioterapia), apresentam várias limitações, que incluem excisão incompleta do tumor, baixa eficácia terapêutica, efeitos colaterais graves e desenvolvimento de resistência à terapia (Li et al., 2022).

O procedimento cirúrgico permanece como uma abordagem importante no tratamento, especialmente para tumores sólidos localizados e em estágios iniciais, apresentando vantagem curativa quando o tumor é completamente removido, porém, embora seja eficaz, não é possível para todos os casos de câncer, além de ser limitada à localização e extensão do tumor, podendo resultar em remoção incompleta, levando à recorrência da doença (Baskar et al., 2012).

Além disso, tratamentos sistêmicos, como a quimioterapia e a radioterapia, enfrentam desafios relacionados à toxicidade sistêmica e à baixa disponibilidade dos fármacos, levando a complicações que dificultam sua eficácia (Yang et al., 2020).

A quimioterapia, por exemplo, tem como objetivo destruir as células cancerosas por meio de medicamentos citotóxicos, que são administrados por via intravenosa, oral ou intratecal. Essa técnica pode ser utilizada antes da cirurgia (neoadjuvante), após a cirurgia (adjuvante) ou como tratamento principal (Li et al., 2022). No entanto, apesar desses agentes serem capazes de atacar as células em rápida divisão, o uso de quimioterápicos apresenta baixa solubilidade, metabolismo acelerado e incapacidade de atingir especificamente o local das células tumorais, resultando em efeitos colaterais sistêmicos severos, como náuseas, fadiga, queda de cabelo e danos aos órgãos, além de resistência adquirida aos medicamentos, sucedendo em recaídas e progressão da doença (Pial et al., 2022).

Relacionado a radioterapia, técnica que utiliza de radiação ionizante para destruir as células de câncer, são utilizados dois métodos de entrega da radiação na localização do tumor: radioterapia externa (teleterapia) e braquiterapia (fonte de radiação próxima ao tumor). A radioterapia pode ser utilizada como tratamento principal, adjuvante ou paliativo (Benavente et al., 2020; Debela et al., 2021). Embora os resultados sejam eficazes na redução do volume tumoral, a radioterapia pode induzir danos às células saudáveis adjacentes e desencadear efeitos colaterais indesejados, como fadiga e problemas de pele, além de afetar negativamente a função imunológica do paciente (Liao et al., 2021).

Assim, visando mitigar os efeitos no sistema imunológico dos pacientes com câncer, um dos métodos mais atuais de tratamento contra as neoplasias, a imunoterapia emergiu como uma estratégia promissora, pois estimula o sistema imunológico do paciente a induzir uma resposta sistêmica, reconhecendo e destruindo as células cancerígenas. Alguns exemplos incluem a utilização de anticorpos monoclonais (anti-CTLA-4 e anti-PD-1), vacinas terapêuticas (compostas por células dendríticas apresentadoras de antígenos tumorais) e terapias celulares (células T modificadas), e são indicadas para diversos tipos de neoplasias, especialmente àquelas em estágios avançados (Marshall; Djamgoz, 2018). A exemplo da terapia com células T modificadas (células T CAR), são utilizadas células do sistema imunológico do próprio paciente, que sofrem, por meio de modificações genéticas de células T, alta especificidade contra as células de câncer (Wang et al., 2020). Outra vantagem dessa abordagem terapêutica é a presença de menos efeitos colaterais em comparação as técnicas convencionais contra o câncer, como por exemplo a quimioterapia, em que os planos de tratamento são individualizados, abordando as características biológicas únicas do câncer de cada paciente (Chodon et al., 2018; Daei Sorkhabi et al., 2023). Embora a imunoterapia ofereça perspectivas promissoras, as limitações dessa técnica incluem respostas variáveis entre os pacientes, riscos

de efeitos colaterais imunes e evasão imunológica por parte das células de câncer (Marshall; Djamgoz, 2018).

A terapia hormonal também surgiu como uma alternativa interessante no tratamento contra alguns tipos de neoplasias, como o câncer de mama e de próstata, que são hormônio-dependentes, reduzindo ou bloqueando, assim o crescimento das células cancerígenas. A vantagem dessa técnica reside em poder ser eficaz no controle do crescimento tumoral, na prevenção de recorrências e metástases, porém efeitos colaterais relacionados ao desequilíbrio hormonal são limitações a serem consideradas (Chodon et al., 2018; Benavente et al., 2020).

Por fim, as terapias-alvo, são esquemas medicamentosos que atuam em alvos moleculares específicos, envolvidos no desenvolvimento e progressão do câncer, como mutações genéticas, vias de sinalização celular e angiogênese. Essa técnica tem demonstrado resultados promissores em diversos tipos de neoplasias, geralmente após ensaios genéticos para identificação de alvos moleculares, como o câncer de pulmão e o melanoma (Cerezo; Rocchi, 2020). A utilização de terapia-alvo revela potencial de abordagem personalizada, maior especificidade contra as células de câncer, melhorando a eficácia do tratamento, e minimizando os efeitos adversos, especialmente quando combinada com estratégias imunoterápicas, mas, infelizmente, limitações como alto custo e desenvolvimento de resistência aos medicamentos são obstáculos (Zhang; Chen, 2018).

Sendo assim, buscando abordagens terapêuticas eficazes e com possibilidade de minimizar os efeitos adversos dos diversos tratamentos contra o câncer, atualmente existem pesquisas voltadas para o uso de produtos naturais (Sharma et al., 2010), com foco em potencialização dos tratamentos convencionais, como a redução dos efeitos colaterais, aumento da eficácia da terapia alvo e melhora da resposta imunológica em combinação (Hajjar et al., 2017), e abordagens terapêuticas independentes, como ação citotóxica direta em células tumorais, inibição da angiogênese e indução de apoptose em células cancerígenas (Prabhu et al., 2019).

Portanto, identificar os mecanismos de ação dos produtos naturais (compreender atuação a nível molecular) podem auxiliar nos tratamentos convencionais, os potencializando ou complementando, assim como investigar a biodisponibilidade e farmacocinética desses produtos (absorção, distribuição, metabolização e excreção) para otimizar a administração e dosagem, são fatores críticos a serem considerados (Kure et al., 2019; Huang et al., 2023).

Por fim, as fontes naturais seguem disponíveis e oferecem possiblidades de encontrar compostos de interesse terapêutico. Vários compostos derivados desses produtos naturais estão em fase de testes clínicos (Newman; Cragg, 2016).

2.4 Câncer e geoprópolis

O estudo com produtos naturais teve um grande desenvolvimento no século XX, especialmente na área da oncologia, propiciando a descoberta e identificação de diversas substâncias que são utilizadas atualmente na terapêutica antineoplásica. Cerca de 60% dos medicamentos anticâncer que se entraram em uso nas últimas décadas são derivados de produtos naturais, como por exemplo a vimblastina e vincristina (alcaloides isolados da planta *Catharanthus roseus*), Etoposídeo e Teniposídeos (derivados da podofilotoxina, substância encontrada em plantas do gênero *Podophyllum*) e Topotecano e Irinotecano (são derivados da camptotecina, substância encontrada na planta (*Camptotheca acuminata*) (Costa-Lotufo et al., 2010).

Esses fármacos são apenas alguns exemplos de como os produtos naturais têm contribuído para o desenvolvimento de novos tratamentos contra o câncer. No entanto, é importante ressaltar que, embora esses medicamentos sejam derivados de produtos naturais, eles são produzidos e administrados sob rigorosos padrões farmacêuticos e médicos (Kure et al., 2019).

Os produtos naturais continuam sendo uma fonte rica e diversificada de moléculas bioativas com potencial farmacológico, a exemplo dos vários estudos que têm explorado o potencial antitumoral da geoprópolis por meio de ensaios *in vitro* em linhagens celulares tumorais, humanas e animais, e tais estudos indicam que a geoprópolis possui efeitos citotóxicos contra diversas células cancerígenas (Cinegaglia et al., 2013; Campos et al., 2014).

Os estudos destacam ainda que os principais mecanismos pelos quais a geoprópolis interfere nas células tumorais são por meio dos efeitos na inibição do crescimento celular e à apoptose (Sforcin, 2007). Os principais dados das atividades antitumorais de geoprópolis de abelhas sem ferrão estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3. Atividade antitumoral dos extratos de geoprópolis em linhagens celulares tumorais *in vitro*

Espécies

1. *Melipona fasciculata*

Origem	Extrato	Células tumorais	Resultados	Referência
Maranhão	Hidroalcoólico	Osteossarcoma canino (OSA)	Citotoxicidade tempo-dependente e dose-dependente	(Cinegaglia et al., 2013)
		Carcinoma epidermóide de laringe humano (HEp-2)	Efeito inibitório tempo-dependente e dose-dependente na viabilidade das células de HEp-2	(Araújo et al., 2015)
		Carcinoma epidermóide de laringe humano (HEp-2)	Inibição de crescimento das células HEp-2 dose-dependente e tempo-dependente, após 72h nas concentrações de 50 e 100 µg/mL	(Bartolomeu et al., 2016)
		Carcinoma pulmonar (A549 e H460) e câncer de ovário (ES2 e A2780)	Citotoxicidade do extrato em ambas as linhagens. Ação na viabilidade celular de forma dose-dependente e tempo-dependente. Efeito citotóxico entre 48h e 72h, a partir de 31,25 µg/mL	(Barboza et al., 2020)

2. *Melipona scutellaris*

Origem	Extrato	Células tumorais	Resultados	Referência
Bahia	Etanólico	Glioma (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF-7), câncer de ovário multirresistente (NCI0ADR/RES), câncer de rim (786-0), câncer de pulmão (NCI-H460), câncer de próstata (PC-3) e câncer de ovário (OVCAR-03)	Atividade antiproliferativa contra as linhagens celulares tumorais, inibindo o crescimento total em concentrações menores de 35 µg/mL	(Cunha et al., 2013)
	Hidroalcóolico	Câncer de cólon (COLO205 e KM12)	Atividade inibitória do crescimento contra as linhagens celulares	(Cunha et al., 2015)

3. *Melipona mondury*

Origem	Extrato	Células tumorais	Resultados	Referência
Bahia	Etanólico	Melanoma de camundongo (B16-F10), carcinoma hepatocelular humano (HepG2), leucemia mieloide crônica humana (K562), leucemia promielocítica humana (HL-60)	Atividade antiproliferativa contra as todas as linhagens tumorais	(Santos et al., 2017a)

Foram identificadas 7 (sete) pesquisas relacionadas à geoprópolis de abelhas sem ferrão da espécie *Melipona*.

No primeiro grupo, relacionado a *M. fasciculata*, Cinegaglia et al. (2013), utilizando o extrato hidroalcoólico da geoprópolis dessa abelha, proveniente do Maranhão, realizou ensaios em células de osteossarcoma (OSA) caninos. O extrato apresentou efeito na viabilidade das células de OSA após período de 6h, a partir da concentração de 50 µg/poço.

O extrato de geoprópolis da mesma espécie e mesma localidade (Maranhão) apresentou diminuição na viabilidade celular de células HEp-2 após 6 horas de incubação, nas concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL de extrato (Araujo et al., 2015).

Em ambos os estudos, os extratos eram hidroetanólicos e não apresentaram efeitos citotóxicos sobre as células tumorais. O antitumoral carboplatina também foi utilizado para avaliar o efeito na viabilidade celular nas concentrações de 100, 200 e 300 µmol/L, porém se mostrou ineficiente, sugerindo resistência das células ao medicamento.

A pesquisa realizada por Bartolomeu et al. (2016) com extrato de geoprópolis de *M. fasciculata* avaliou a combinação do extrato com drogas antineoplásicas, como a carboplatina, metotrexato e doxorrubicina sobre células HEp-2. A geoprópolis apresentou inibição da proliferação e da migração celular, e a combinação do extrato de geoprópolis com a droga doxorrubicina intensificou a atividade citotóxica, induzindo à apoptose e provocando a perda da integridade da membrana celular.

Ainda sobre *M. fasciculata*, a pesquisa de Barboza et al. (2020) com extratos hidroalcóolicos de geoprópolis mostrou que os extratos diminuíram a porcentagem de viabilidade celular para os cânceres de ovário (A2780 e ES2) e câncer de pulmão (A549 e H460) de maneira dose e tempo-dependente, além de efeito citotóxico e inibição do crescimento celular. Foi avaliado também o efeito citotóxico dos extratos contra células endoteliais de veia umbilical humana (HUVEC) não malignas. Como resultado, foi observado que até a concentração mais elevada (500 µg/mL) por 72h, as células HUVEC se mantiveram viáveis em mais de 80%, demonstrando ausência de efeitos tóxicos do extrato de geoprópolis sobre células não tumorais.

No segundo grupo, *M. scutellaris*, pesquisas foram realizadas por Cunha et al. (2013), com geoprópolis provenientes da Bahia, frente à atividade antiproliferativa contra linhagens de células tumorais. O extrato apresentou atividade contra todas as linhagens tumorais, inibindo o crescimento em contrações menores que 35 µg/mL. Cunha et al. (2015), utilizou extrato de geoprópolis de *M. scutellaris* sobre linhagens celulares de câncer de cólon (COLO205 e KM12) para avaliar a atividade inibitória do extrato. Como resultados, houve a atividade de inibição do

crescimento em uma porcentagem média de 56% e 83% respectivamente. De acordo com o estudo, a presença de dois novos compostos (mammeisina e mammeína) isolados, foram atribuídos a maior porcentagem média de inibição do crescimento das linhagens tumorais.

Ainda nessa mesma perspectiva, Santos et al. (2017a) avaliaram o potencial antiproliferativo do extrato de geoprópolis de *M. mondury*, em quatro linhagens celulares tumorais (B16-F10, HepG2, HL-60 e K562). O extrato de geoprópolis apresentou atividade antiproliferativa contra todas as linhagens tumorais, sugerindo que a geoprópolis de *M. mondury* é fonte promissora de compostos com efeito antiproliferativo.

Portanto, observa-se que as pesquisas relacionadas à ação antitumoral da geoprópolis e seus constituintes têm caráter promissor de aplicabilidade, sendo necessários mais estudos que possam vir a contribuir de forma efetiva, aproveitando o potencial antitumoral desses produtos.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o potencial antitumoral do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* da Amazônia Ocidental em células humanas de câncer *in vitro*.

3.2 Específicos

- Realizar a caracterização fitoquímica do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* para identificar as classes de compostos presentes no extrato;
- Determinar o efeito do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* sobre a proliferação relativa de células de câncer humano;
- Analisar os efeitos do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* sobre a viabilidade celular de células de câncer humano;
- Analisar o efeito genotóxico e antigenotóxico do extrato de geoprópolis em células eucarióticas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foi realizada a caracterização fitoquímica do extrato de geoprópolis para identificar as classes de compostos presentes. Posteriormente, o efeito do extrato sobre a proliferação relativa das células tumorais foi avaliado pelo ensaio de redução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio (MTT), seguido pelo ensaio de proliferação relativa – contagem de células por microscopia automatizada para confirmar a indução de morte celular, e por fim, o potencial citotóxico e genotóxico do extrato foi avaliado pelo ensaio com *Allium cepa*.

4.1 Coleta da geoprópolis

A coleta da amostra de geoprópolis foi realizada no período de outubro de 2022 a março de 2023 no município de Rio Branco – Acre. A colônia de abelhas se encontra no perímetro urbano, na seguinte localização: 9º57'04.0"S 67º51'42.4"W, Rua W-03, Rua do Tucumã, nº 276. O material coletado foi guardado em sacos plásticos de *ziplock* e posteriormente armazenados em refrigerador a -80ºC.

4.2 Identificação das abelhas

Dez indivíduos foram coletados a partir da mesma colmeia da qual se coletou a geoprópolis. As abelhas foram eutanasiadas em frasco contendo solução de álcool 70% (v/v) e enviados para a Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde o pesquisador Dr. Helder Canto Resende realizou identificação da espécie como sendo *Melipona aff. seminigra*.

4.3 Preparo do extrato

4.3.1 Limpeza da geoprópolis

Antes da produção do extrato de geoprópolis (EG) de *M. seminigra*, foi realizada uma limpeza da geoprópolis utilizado hexano como solvente, objetivando retirar os lipídios (cera) presentes nas amostras. O batume de geoprópolis foi pulverizado e pesado na proporção de

300g do material para 100 mL de hexano. Em seguida, o material foi filtrado para retirada do solvente. A filtragem foi realizada por 7 vezes, até que o solvente não apresentasse nenhuma coloração após o contato com a geoprópolis. Após esse processo, o material foi colocado para secagem em estufa, temperatura de 45ºC, por 5 dias. O material foi armazenado em freezer -80ºC para posterior uso (LACERDA et al., 2012).

4.3.2 Extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona Seminigra* (EG)

A geoprópolis que passou pela etapa de limpeza com o hexano foi submetida a maceração com solução de álcool 70% (v/v) em banho-maria a 60ºC, por 1h, com agitação em intervalos de 5 minutos. A solução alcóolica foi filtrada com papel filtro (diâmetro de 185mm e 80 de gramatura). O filtrado passou pelo processo de evaporação rotativa (Evaporador Rotativo, Quimis®, Diadema, SP, Brasil) para obtenção do extrato concentrado. Por fim, o material foi submetido a liofilização (Liofilizador L101, Liobras®, São Carlos, SP, Brasil) por período de 24h e armazenado em frasco de vidro, protegido da luz, em refrigerador -80ºC e identificado como Extrato Hidroalcóolico de Geoprópolis de *M. seminigra* (EG).

4.4 Caracterização fitoquímica

Foi realizada uma caracterização fitoquímica de alíquotas do EG para detecção qualitativa colorimétrica dos seguintes grupos de metabólitos secundários: ácidos fenólicos, alcaloides, aldeídos, fenóis, flavonoides, saponinas, taninos e terpenos (Matos, 2009).

4.4.1 Ácidos fenólicos

Em tubo de ensaio contendo solução de 1 mL de EG etanólico, foram adicionadas 2-3 gotas de cloreto férrico ($FeCl_3$) a 1%. Após a adição da solução, foi observada a mudança de cor, que indicaria a possível presença de grupos fenólicos. Os resultados observados podem ser: positivo, quando há formação de cor intensa, geralmente azul a violeta, e negativo, quando há ausência de mudança de cor, ou uma leve mudança para amarelo claro (característica da solução de FeCl3).

4.4.2 Alcaloides

Foram adicionados 2 mL do EG etanólico em tubo de ensaio, em seguida, foram gotejadas 15 gotas de hidróxido de sódio a 1% para alcalinização, acrescidos de 2 mL de água e 2 mL de clorofórmio. A fração aquosa foi desprezada e na fração clorofórmica foram adicionadas 15 gotas de ácido clorídrico a 1%, e extraído com 2 mL de água. A fração clorofórmica foi desprezada e o ensaio foi realizado com a fração aquosa ácida, por tanto, três tubos de ensaio foram separados, contendo 2 mL da fração aquosa ácida, e em cada tubo 3 gotas dos reagentes de Dragendorff, Mayer e Bouchardat foram gotejadas par a verificação da presença de alcaloides.

4.4.3 Aldeídos

Em um tubo de ensaio foram adicionados cerca de 1 mL do reagente de Tollens recém-preparado. A este tubo, foram adicionadas algumas gotas da solução aquosa do EG. Em seguida, o tubo foi suavemente agitado para solubilização. A formação de um espelho prateado na parede do tubo de ensaio é um indicativo da possível presença de aldeídos no extrato, enquanto a ausência desta reação sugere que esses compostos podem não estar presentes na amostra em análise.

4.4.4 Fenóis

Em um tubo de ensaio contendo 5 mL do EG aquoso, foram adicionadas 3 gotas da solução alcóolica de $FeCl_3$, e agitada fortemente a solução. A mudança de coloração entre o azul, violeta, verde ou vermelho-amarronzado é um indicativo da presença de fenóis.

4.4.5 Flavonoides

Foi fervido em banho-maria, 1,6 g do EG em 10 mL de álcool a 70% por 2 minutos, e em seguida, a solução foi filtrada. A identificação foi realizada por meio da reação de Shinoda, portanto, 2 mL do extrato alcóolico foram adicionados a um tudo de ensaio, seguido por 6 fragmentos de magnésio (Mg) metálico e 1 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. O desenvolvimento de coloração rósea a vermelha, a pesquisa é positiva.

4.4.6 Saponinas

Foi fervida em banho-maria, 2 g de geoprópolis em pó em 10 mL de água destilada, por 3 minutos. Após a fervura, a solução foi agitada energicamente, no sentido vertical por 15 segundos, e em seguida deixada em repouso, por 15 minutos para observar a presença de espuma persistente. A reação deve ser considerada positiva, quando há permanência da espuma por tempo superior a 15 minutos, e a reação é negativa, quando há o desaparecimento da espuma.

4.4.7 Taninos

Em um tubo de ensaio contendo 5 mL do extrato alcóolico, foram gotejadas 3 gotas de solução alcóolica de $FeCl_3$ e a solução foi fortemente agitada. A formação de precipitado de tonalidade de coloração azul-esverdeada indica a presença de taninos hidrolisáveis e a tonalidade verde ou preto-azulada, presença de taninos condensados.

4.4.8 Terpenos

Este ensaio tem como princípio o teste de Salkowski, em que se adiciona a um tubo de ensaio 1 mL do EG na fração clorofórmica, posteriormente, lentamente, foi feita a adição do ácido sulfúrico concentrado à solução da amostra no tubo de modo a formar duas fases distintas. Após a formação das fases, foi observado o desenvolvimento de um anel colorido na interface das fases clorofórmica e ácida. O desenvolvimento de um anel de coloração vermelho a púrpura na interface das fases, indica a possível presença de terpenos, especialmente esteroides e triterpenos, e a ausência de desenvolvimento de cor, evidencia um resultado negativo.

4.5 Cultivo de células

Para o cultivo celular foi realizada a padronização do cultivo das linhagens MCF-7 (adenocarcinoma de mama – ATCC: HTB-22), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama – ATCC: HTB-26), U251 (glioblastoma – ATCC: HTB-17) e HepG2 (hepatocarcinoma – ATCC: HB-8065). As células foram cultivadas em garrafas de cultura de células aderentes, com filtro, de 25 cm^2, estéril, com meio de cultura Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM, do inglês Dulbecco's Modified Eagle Medium), acrescido de 3,5 g/L de glicose, 3,7 g/L

bicarbonato, 3,5 g/L HEPES, 10% de soro fetal bovino (SFB) e solução de antibióticos (50 UI/mL de penicilina e 50 µg/mL de estreptomicina). Os frascos foram mantidos em estufas para cultivo de células, com controle de temperatura em 37ºC, atmosfera úmida e ambiente com 5% de CO_2. Com a aderência das células, estas foram repicadas com uma confluência máxima de 80% para a aplicação dos ensaios *in vitro* (Freshney, 2010).

4.6 Ensaio de proliferação relativa

Para determinar a citotoxicidade do EG nas linhagens celulares humanas, foi utilizado o ensaio de redução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio (MTT). Este é um método colorimétrico que quantifica a redução do sal MTT em cristais de formazan. O ensaio detecta de forma indireta as células viáveis através da metabolização do MTT, conferindo, assim, uma coloração púrpura no interior das células (Pascua-Maestro et al., 2018).

O ensaio foi realizado utilizando placas de 96 poços, onde as células tumorais foram plaqueadas em densidade celular de $1x10^4$ células/poço, com volume de 200 µL de meio de cultura completo. As placas foram incubadas em condições de cultivo celular, como descrito no item 4.5 por período de 24h ou até a obtenção de uma confluência de cerca de 80%. Transcorrido esse período, o meio de cultura foi retirado e adicionado em novo meio, com volume de 100 µL com as diferentes concentrações já descritas de EG e controles apresentada no item 4.6.1. Completado o período de incubação, o meio de cultura de cada poço foi novamente removido, realizada uma lavagem com PBS e, em seguida, foram adicionados 100 µL/poço da solução de MTT (5 mg/ml), diluído em PBS glicosado (1 g/L). A placa foi incubada em estufa com 5% de CO_2, em 37ºC por 3h. A solução de MTT e PBS foi retirada dos poços e, em seguida, as células foram lavadas mais uma vez com PBS e, em seguida, foram adicionados 50 µL/poço de dimetilsulfóxido (DMSO) para lise celular. A placa foi agitada, incubada por aproximadamente 10 min e, após esse tempo, levadas para leitura em espectrofotômetro de placas para aferição dos valores de absorbância com comprimento de ondas de 492 nm (Gonçalvez; Sobral, 2020).

4.6.1 Controles e tratamentos

Para avaliar o potencial antitumoral do EG, foram realizados os seguintes tratamentos: (i) Controle do Solvente: meio de cultura contendo 0,5% de DMSO; (ii) Controle Negativo: células cultivadas sem adição de tratamento (0 µg/mL); (iii) Controle Positivo: droga

antitumoral vincristina (Vin) a 320 µmol/L; e (iv) Concentrações de EG: 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µg/mL. As células foram incubadas com os tratamentos por 24h em triplicatas.

4.7 Proliferação relativa – Contagem de células por microscopia automatizada

Para avaliar a proliferação celular relativa baseando-se na contagem de células por microscopia automatizada, foi aplicada a metodologia do item 4.5, onde as células foram plaqueadas em placas de 96 poços com densidade de $1x10^4$ células por poço. Após 24 horas de incubação para adesão celular, as células foram submetidas as diferentes concentrações do extrato de geoprópolis, como descritos no item 4.7.1 por 24 horas.

Após o período de incubação, o meio contendo o tratamento foi retirado, os poços com células foram lavados 2 vezes com PBS e, em seguida, as células foram fixadas com metanol absoluto gelado (-20ºC), por 20 minutos. Essas placas foram marcadas com iodeto de propídio (PI) (10µg/mL), num volume de 100 µL por poço. As imagens foram obtidas na plataforma de microscopia de fluorescência automatizada ImageXpress XLS, na Central de Equipamentos e Serviços Multiusuários da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), da Universidade de São Paulo (USP). As imagens foram analisadas utilizando o software CellProfiler (4.2.6).

4.7.1 Controles e tratamentos

Para avaliar o potencial antitumoral do EG, foram realizados os seguintes tratamentos: (i) Controle do Solvente: meio de cultura contendo 0,3% de dimetilsulfóxido (DMSO); (ii) Controle Negativo: células cultivadas sem adição de tratamento (0 µg/mL); (iii) Controle Positivo: droga antitumoral doxorrubicina (DXR) a 10 µg/mL; e (iv) Concentrações de EG: 30, 100, 300, 500 e 1000 µg/mL. As células foram incubadas com os tratamentos por 24h em triplicatas.

4.8 Ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade

4.8.1 Cultivo

Vinte e nove bulbos de *Allium cepa* foram cultivados em água destilada sob Becker a temperatura de aproximadamente 23ºC, durante 4 dias. Nesse período, a água foi trocada todos os dias para que as raízes pudessem se desenvolver. A partir do 5º dia, quando as raízes

apresentaram de 2 – 4 cm de comprimento, os meristemas foram tratados com diferentes concentrações do EG.

4.8.2 Controles e tratamentos

O ensaio iniciou pelos grupos controles, em que o controle positivo (5% de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi utilizado para lesão genotóxica, controle negativo (água destilada) e controle do solvente (1% de DMSO). As concentrações de EG utilizadas foram: 25, 50, 100, 250 e 500 µg/mL. Todos os tratamentos foram realizados em triplicatas e por período de 24h (Jothy et al., 2013).

4.8.3 Fixação, hidrólise e coloração

Os meristemas de cada bulbo são coletados e fixados com solução de Carnoy por 60 minutos e, posteriormente, submetidos à hidrólise com HCL a 3N para rompimento das paredes celulares. A coloração foi realizada com Orceína Acética a 1%, que se liga ao DNA e facilita a visualização das células em divisão. Após a coloração, as amostras foram lavadas e posicionadas em lâminas para análise (Fiskesjö, 2008).

4.8.4 Preparação e fixação das lâminas

Sobre cada lâmina foram colocadas de 2-3 raízes, que tiveram a parte mais distal dos meristemas seccionados em aproximadamente 2mm. Uma gota de solução de ácido acético a 45% foi gotejada sobre os cortes e uma lamínula foi cuidadosamente baixada e prensada, amassando as amostras e evitando a entrada de ar. As laterais das lâminas foram seladas com esmalte base transparente (Jothy et al., 2013).

4.8.5 Leitura das lâminas

As lâminas foram observadas no microscópio óptico Leica com aumento de 40x em busca dos eventos cromossômicos. Foram preparadas duas lâminas de cada grupo de tratamento, analisadas 1000 células por lâmina e relatadas as morfologias normais e anormais (Fiskesjö, 2008; Jothy et al., 2013).

O Índice Mitótico foi obtido por meio da fórmula:

$$IM = \frac{número\ de\ células\ em\ mitose}{número\ total\ de\ células} x100$$

E a Frequência Relativa dos eventos cromossômicos anormais foi obtida por meio da fórmula:

$$FR = \frac{número\ de\ células\ anomais}{número\ total\ de\ células}$$

4.9 Análise estatística

Foi analisada a distribuição gaussiana dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados com distribuição paramétrica foram analisados por meio de teste ANOVA (análise de variância) de um fator, seguido pelo teste post-hoc de Dunnett. Os dados com distribuição não paramétrica foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguindo pelo Uncorreted Dunn's test. Foram considerados estatisticamente significantes valores com $p<0,05$. Os gráficos foram representados com média ± desvio padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização Fitoquímica

Ao submeter o EG a análise fitoquímica colorimétrica por meio da mudança de coloração, formação de precipitado e/ou formação de espuma, os seguintes resultados foram obtidos e resumidos na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da caracterização qualitativa do extrato de geoprópolis.

Classe dos compostos	Metodologia	Resultados
Ácidos fenólicos	Cloreto Férrico	+
Alcaloides	Dragendorff, Mayer e Bouchardat	-
Aldeídos	Tollens	-
Fenóis	Cloreto Férrico	+
Flavonoides	Shinoda	+
Saponinas	Espumação	+
Taninos	Cloreto Férrico	+
Terpenos	Salkowski	+

Presença (+) ou ausência (-)

Os ácidos fenólicos são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal, e são classificados em diferentes categorias, como os ácidos hidroxibenzóicos, hidroxicinâmicos e fenilpropanóides, encontrados em frutas vermelhas, grãos integrais, uvas e vinho tinto, respectivamente (Soares, 2002; Kumar; Goel, 2019).

Alguns estudos comprovaram a presença desses compostos em amostras de geoprópolis, como Coutinho et al. (2023), que identificaram em amostras de *M. scutellaris* o ácido gálico, conhecido por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, e o ácido p-cumárico, com potencial anticancerígenos. Similarmente, Campos et al. (2022) encontraram em geoprópolis de *M. quadrifasciata* o ácido elágico, reconhecido por sua ação antioxidante e capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas. Assim como Ferreira et al. (2019), que identificaram em *M. seminigra* o ácido cafeico e o ácido ferúlico, ambos com atividades antioxidantes e anti-inflamatórias.

Esses achados reforçam o potencial da geoprópolis como fonte de compostos bioativos com atividades benéficas à saúde, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias,

anticarcinogênica e cardioprotetoras (Soares, 2002; Oliveira; Bastos, 2011; Kumar; Goel, 2019).

Os alcaloides, por sua vez, apesar de serem reconhecidos por seus potentes efeitos fisiológicos e atividades biológicas diversas, como estimulantes e depressores do sistema nervoso central, alucinógenos, anti-inflamatórios e produtos de agentes quimioterápicos (Richard et al., 2013; Adefegha; Oboh; Oluokun, 2022), sua presença em amostras de geoprópolis não tem sido relatada na literatura.

Os ensaios fitoquímicos realizados com o extrato de geoprópolis de *M. seminigra*, utilizando os métodos de detecção de alcaloides de Dragendorff, Mayer e Bouchardat, não indicaram a presença desses compostos. Entretanto, a ausência de alcaloides na amostra analisada não diminui a importância da pesquisa com o EG de *M. seminigra*. A especificidade química e geográfica da flora local, que influencia diretamente a composição da geoprópolis (Popova; Trusheva; Bankova, 2021), abre caminhos para a descoberta de novos compostos bioativos com potencial farmacológico, mesmo que ausente em outras espécies. Essa pesquisa contribui para a construção de um perfil fitoquímico mais completo e preciso da geoprópolis *Melipona seminigra*, com potencial para futuras descobertas.

Assim como o composto anterior, a classe dos aldeídos também não é tipicamente encontrada em amostras de geoprópolis (Sforcin et al., 2017), e essa constatação foi corroborada pela presente pesquisa. A partir da triagem fitoquímica realizada em amostras do EG de *M. seminigra*, por meio do método de detecção de aldeídos de Tollens, os ensaios não revelaram a presença desses compostos.

Embora os aldeídos não sejam tradicionalmente considerados constituintes da geoprópolis, a busca por esses compostos, mesmo que incomuns, foi importante para ampliar o escopo da análise e contribuir para um levantamento fitoquímico mais abrangente, já que se sabe que a influência da espécie de abelha e da flora local justifica a investigação de compostos além daqueles tradicionalmente encontrados (Popova; Trusheva; Bankova, 2021), o que enriquece o conhecimento sobre a composição da geoprópolis de *Melipona seminigra*.

No que diz respeito aos fenóis, estes estão presentes em plantas e microrganismos, atuando como metabólitos secundários em processos de defesa, proteção e pigmentação (Marcucci et al., 2021), estando também presentes na geoprópolis de diversas espécies de abelhas sem ferrão, incluindo a *Melipona seminigra*.

Como um exemplo de ação dos metabólitos secundários, a pigmentação avermelhada do EG de *M. seminigra* reforça a presença de fenóis, corroborando com observações anteriores

de Absy e Kerr (1977) e Nogueira-Neto (1997), que relacionaram a coloração vermelha da geoprópolis à presença de látex do fruto da árvore pau-de-lacre.

E estudos como o de Bankova et al. (1998) com três amostras de geoprópolis brasileira coletadas de diferentes espécies de abelhas sem ferrão (*M. compressipes, M. quadrifasciata* e *Tetragona clavipes*) identificaram mais de 50 compostos, com destaque para fenóis e terpenos. Similarmente, Batista et al. (2016) também identificaram a presença de fenóis em geoprópolis de *M. fasciculata,* assim como Cunha et al. (2015), Silva et al. (2013), Souza et al. (2013) e Ferreira et al. (2019) em amostras de geoprópolis de *M. scutellaris*, *M. interrupta*, *M. subnitida* e *M. seminigra*, respectivamente, corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

Outrossim, a diversidade estrutural dos fenóis confere a este grupo uma gama de propriedades terapêuticas, que incluem atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticancerígenas (Bankova; Castro; Marcucci, 2000; Silva et al., 2013; Marcucci et al., 2021).

Os flavonoides, por sua vez, polifenóis presentes no reino vegetal, são caracterizados em subclasses, como: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavan-3-óis, antocianidinas e isoflavonas, sendo encontradas em diferentes fontes vegetais e são reconhecidas por suas propriedades farmacológicas (Wang; Li; Bi, 2018; Ballard; Maróstica, 2019; Marcucci et al., 2021).

A presença de flavonoides em geoprópolis de abelhas da espécie *Melipona* já foi reportada em estudos anteriores, como em Silva et al. (2013), Campos et al. (2022), Souza et al. (2013) e Ferreira et al. (2019), que identificaram diferentes subclasses de flavonoides em amostras de geoprópolis de espécies de *M. interrupta*, *M. quadrifasciata*, *M. subnitida* e *M. seminigra*, respectivamente, corroborando com este estudo.

As pesquisas relacionadas as propriedades farmacológicas dos flavonoides, evidenciaram atividades antioxidantes, anti-inflamatória, cardioprotetora, anticancerígena e neuroprotetora (Mir et al., 2024). Portanto, a identificação de flavonoides na geoprópolis de *Melipona seminigra* reforça o potencial farmacológico deste produto natural.

Na sequência, as saponinas são classificadas como glicosídeos anfipáticos (parte hidrofóbica e parte hidrofílica) encontradas no reino vegetal, em raízes, folhas, sementes e frutos (Kaiser; Pavei; Ortega, 2010; Elekofehinti et al., 2021), o que lhe confere a capacidade de formar espuma em solução aquosa. Esses compostos têm despertado o interesse científico devido às suas atividades biológicas, que incluem ação antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, antimicrobiana e anticancerígena (Lacaille-Dubois; Melzig, 2016).

Embora a literatura consultada não reporte muitos estudos sobre a presença de saponinas em geoprópolis, até o presente momento, apenas Dutra et al. (2008) relataram a presença de saponinas em amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*. Assim, corroborando com este estudo sobre a detecção desses compostos no EG de *M. seminigra*. A formação de estuma persistente e abundante no teste de espuma evidenciou a presença dessas moléculas.

De certo que as saponinas estejam presentes no EG, é crucial destacar que as atividades biológicas e a toxicidade destas variam conforme a estrutura química, dose e via de administração (Kaiser; Pavei; Ortega, 2010). Portanto, mais estudos são necessários para caracterizar as saponinas presentes na geoprópolis de *Melipona seminigra* e avaliar seu potencial terapêutico e segurança.

Por outro lado, os taninos são compostos fenólicos classificados em duas categorias principais: hidrossolúveis e condensados, e podem ser caracterizados como ácido gálico e ácido elágico, catequina e epicatequina, respectivamente. São amplamente encontrados em frutas vermelhas, como: romã, morango, framboesa, uvas, além de cacau e vinhos tintos (Chung et al., 1998; Fraga-Corral et al., 2021).

A presença de taninos em geoprópolis de abelhas *Melipona* já foi reportado na literatura, por meio de Dutra et al. (2014), que identificaram taninos hidrossolúveis, como corilagina, pedunculagina e telimagrandina I e II, em amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*, e similarmente, Souza et al. (2018), que também identificaram taninos, como galhoil hexosídeo e acil-(cinamoil/cumaroil)-galoil-hexosídeos, em geoprópolis de *M. subnitida*.

Conhecidos por sua adstringência (sensação de “amarrar” na boca), resultado da interação dos compostos com as proteínas salivares, os taninos também apresentam diversas propriedades farmacológicas, que incluem atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antiviral, cardioprotetora e anticancerígena (Bahramsoltani et al., 2020; Fraga-Corral et al., 2021; Desam; Al-Rajab, 2022).

Por fim, os terpenos constituem uma vasta classe de compostos, que são classificados em: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos (Arora et al., 2023). No reino vegetal, os terpenos desempenham funções cruciais, que incluem comunicação e sinalização (Teja et al., 2021; Arora et al., 2023).

Portanto, a presença de terpenos em geoprópolis de abelhas da espécie *Melipona* está documentada na literatura, a exemplo de Cunha *et al*. (2014), que identificaram o triterpeno ent-nemorosona em amostras de geoprópolis de *M. scutellaris*, assim como Campos *et al*. (2021) encontraram ácido abiético em EG de *M. quadrifasciata* e Oliveira *et al*. (3265), que relataram monoterpenos e sesquiterpenos, como α-pineno, limoneno, β-cariofileno, α-terpineol,

γ-cadineno e trans-di-hidro-α-terpineol, em geoprópolis de *M. seminigra*, corroborando os resultados do presente estudo.

Foi observado que os terpenos apresentam ação farmacológicas e biológicas, como: atividade antioxidante – ação contra radicais livres, atividade anti-inflamatória – redução de inflamação e dor, atividade analgésica e atividade antitumoral – inibição do crescimento de células cancerígenas (Teja et al., 2021; Arora et al., 2023).

A identificação da presença ou ausência de classes de compostos são ferramentas importantes na triagem preliminar de metabólitos secundários em amostras naturais, pois oferecem um perfil fitoquímico rápido e de baixo custo, posteriormente, auxiliando na escolha dos métodos analíticos mais específicos (Menezes Filho et al., 2022). Porém, é importante destacar que os ensaios colorimétricos possuem limitações, como por exemplo: baixa especificidade, em que a mudança de cor pode ser causada por diferentes compostos, levando a resultados falso-positivos; resultados semiquantitativos, onde há apenas uma estimativa da presença dos compostos, não sendo possível determinar a concentração exata, e por fim, influência de interferentes, como a presença de outros compostos na amostra que podem interferir na reação, levando a resultados falso-positivos ou inconclusivos (Matos, 2009).

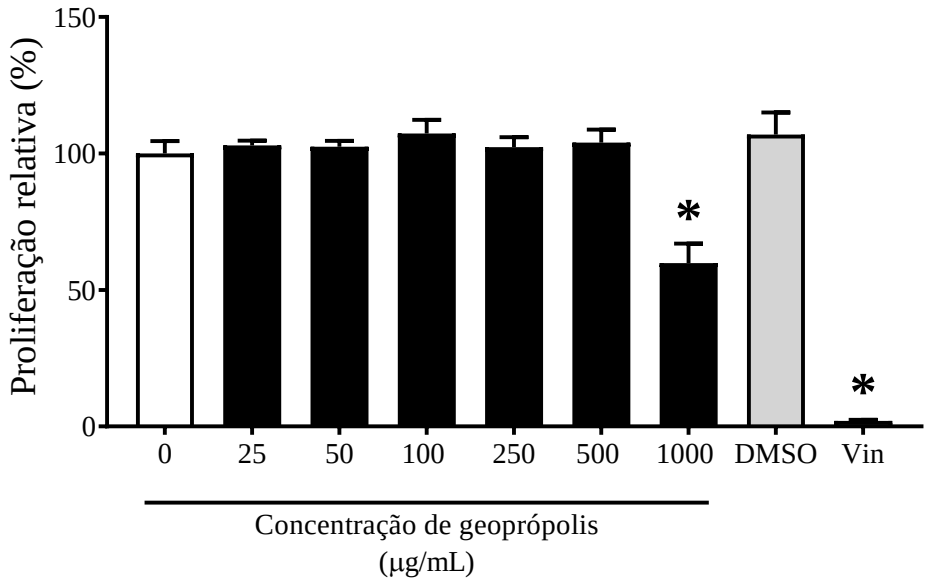
No entanto, a caracterização fitoquímica da geoprópolis de *M. seminigra* da Amazônia representa uma importante etapa para a elucidação de sua composição química e potenciais atividades biológicas (Popova; Trusheva; Bankova, 2021).

5.2 Ensaio de proliferação relativa

Para esta avaliação metabólica, foram utilizadas as linhagens celulares tumorais MCF-7 (adenocarcinoma de mama – ATCC: HTB-22) e MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama – ATCC: HTB-26), incubadas com diferentes concentrações de EG (0, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µg/mL) e controles (solvente e positivo).

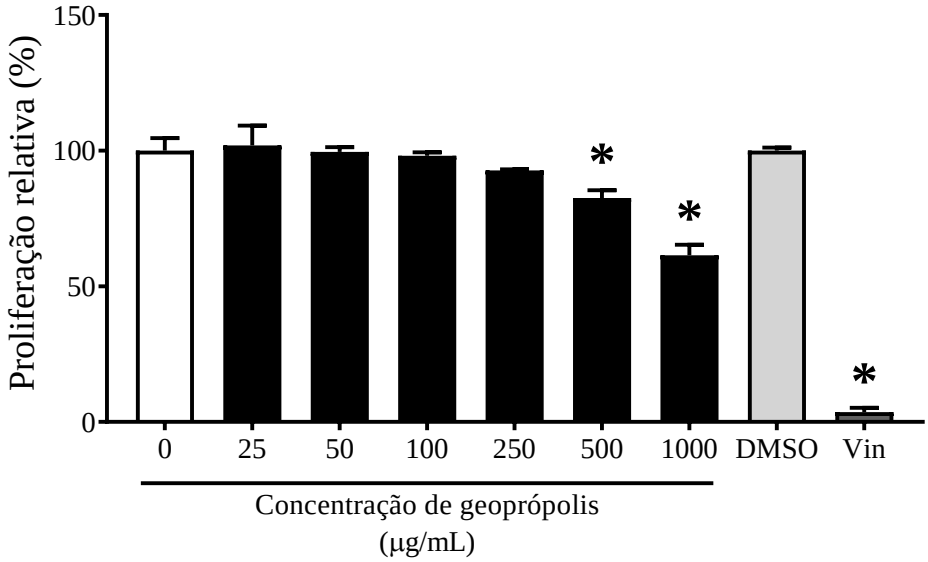
Conforme demonstrado na Figura 2, relativo à linhagem celular MCF-7, o controle do solvente (DMSO 0,5%) não apresentou diferença em comparação ao controle negativo ($p>0,05$), demonstrando que não houve efeitos tóxicos do solvente sobre as células. O controle positivo (vincristina a 320 µM) diminuiu a proliferação relativa em comparação ao controle negativo ($p<0,05$), demonstrando que as células são capazes de responder a uma droga antitumoral conhecida, e a administração do EG resultou em uma redução na proliferação das células na concentração de 1000 µg/mL (59,8 ± 7,1%).

Figura 2. Resultado de proliferação relativa por meio do ensaio de MTT para a linhagem celular MCF-7 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. Vin: 320 µmol/L de vincristina. * p<0,05 em comparação a concentração zero.



Na Figura 3, relativo à linhagem celular MDA-MB-231, o controle do solvente (DMSO 0,5%) também não apresentou diferença em comparação ao controle negativo (p>0,05), demonstrando que não houve efeitos tóxicos do solvente sobre as células, já o controle positivo (vincristina a 320 µM) diminuiu a proliferação relativa (p<0,05), demonstrando que as células, novamente, respondem a uma droga antitumoral conhecida. Quanto a administração do EG, observa-se uma redução dependente da dose na viabilidade das células nas concentrações de 500 µg/mL (82,5 ± 2,9%) e 1000 µg/mL (61,3 ± 3,9%).

Figura 3. Resultado de proliferação relativa por meio do ensaio de MTT para a linhagem celular MDA-MB-231 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. Vin: 320 µmol/L de vincristina. * p<0,05 em comparação a concentração zero.



O EG da abelha *M. seminigra* apresentou efeitos antiproliferativos sobre as linhagens celulares de câncer de mama, MCF-7 e MDA-MB-231, corroborando com o estudo de Barboza et al. (2020), que utilizou extratos hidroetanólicos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith, apresentando efeitos citotóxicos contra as mesmas linhagens celulares (MCF-7 e MDA-MB-231). Nesse estudo, os autores observaram que os extratos atuaram diminuindo a viabilidade das células cancerígenas, modularam o ciclo celular e induziram a apoptose através da ativação da caspase-3 e da clivagem da proteína PARP (Barboza et al., 2020). Resultados semelhantes foram observados com a geoprópolis de *Melipona scutellaris*, que exibiu atividade antiproliferativa contra as linhagens de câncer MCF-7 e a MDA-MB-231 (Cunha et al., 2013).

Embora poucos estudos tenham centrado na geoprópolis de espécies do gênero *Melipona*, a investigação do potencial antiproliferativo se estende a própolis de outras origens de abelhas, como por exemplo, o extrato de própolis chinesa que induziu a apoptose em células MCF-7 e MDA-MB-231, aumentando os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) e diminuindo o potencial da membrana mitocondrial (Xuan et al., 2014).

O extrato DMEM de própolis turca apresentou atividade antiproliferativa contra células MDA-MB-231, com a maior atividade na concentração de 10 mg/mL por 24-72 horas (Uçar; Deger, 2019). Já o estudo sobre a própolis de abelha sem ferrão indiana revelou que o seu extrato etanólico exibiu efeitos citotóxicos e apoptóticos em células MCF-7, a uma concentração de 250 µg/mL, apresentando ≥50% de mortalidade (IC50) sobre as células de câncer de mama (Choudhari *et al*., 2013). Outro estudo sobre produtos de abelhas sem ferrão

da Malásia, incluindo própolis, demonstrou atividade antiproliferativa contra a mesma linhagem celular (MCF-7), com própolis inibindo o crescimento das células em um IC50 de 38,9 μg/ml (Ismail *et al*., 2018).

É importante destacar que a variabilidade da composição da geoprópolis e da própolis, dependendo da espécie da abelha e da origem geográfica, pode influenciar nos efeitos antiproliferativos, e como exemplo a isso, Campos et al. (2021) discute o potencial anticancerígeno da própolis de diferentes espécies de abelhas sem ferrão, como as abelhas do gênero *Trigona*, em diversas linhagens celulares de câncer, como o carcinoma ductual (BT474), adenocarcinoma de cólon (SW620 e HT-29), adenocarcinoma colorretal (Caco-2), hepatocarcinoma (HepG2), câncer de pulmão (ChaGo), câncer gástrico (KATO-III) e adenocarcinoma de mama (MCF-7). No estudo, os autores mencionam que a própolis produzida pelas abelhas sem ferrão tem demonstrado potencial antiproliferativo por meio de vários mecanismos, incluindo eventos apoptóticos, modulação de proteínas como BAX, BAD, BCL2-L1 e BCL-2, despolarização da membrana mitocondrial, aumento da atividade da caspase-3, clivagem da poli (ADP-ribose) polimerase (PARP) e indução de morte celular por necrose através da ativação da proteína quinase 1 que interage com o receptor (RIPK1) (Campos et al., 2021). Isso destaca a potencial variabilidade nos efeitos antiproliferativos, dependendo do tipo de câncer e da fonte da própolis.

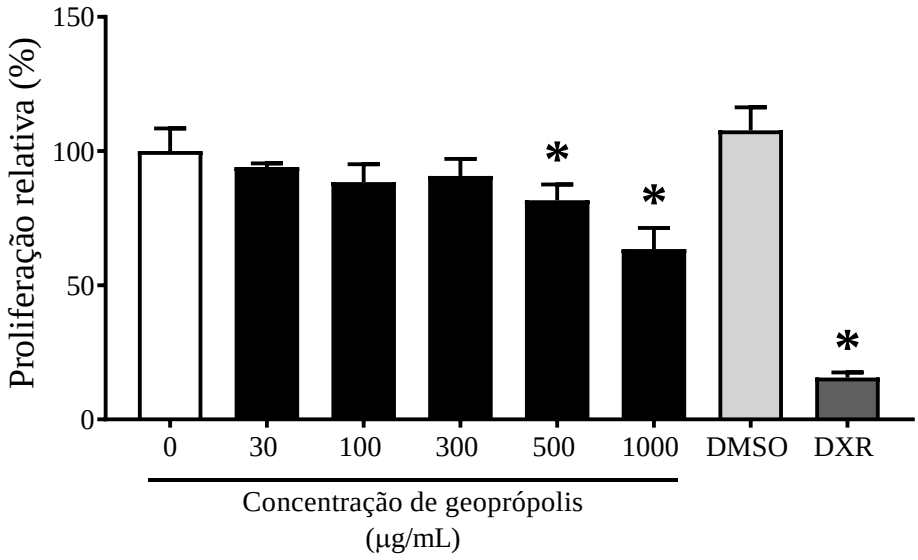
Apesar da falta de estudos sobre a ação da geoprópolis de *Melipona seminigra* em linhagens celulares de câncer de mama, na literatura existente, as pesquisas realizadas tiveram como propósito avaliar os efeitos antiproliferativos de outras própolis. Esses efeitos são potencializados pela composição única e rica em compostos bioativos, que podem atuar por meio de vários mecanismos, como a indução de apoptose, a modulação do ciclo celular e a interferência no metabolismo da célula (Cunha *et al*., 2013; Dutra *et al*., 2014).

5.3 Proliferação relativa – Contagem de células por microscopia automatizada

A fim de avaliar o efeito citotóxico do EG, as linhagens celulares HepG2 (hepatocarcinoma – ATCC: HTB-8065), MCF-7 (adenocarcinoma de mama – ATCC: HTB-22) e U251 (glioblastoma – ATCC: HTB-17) foram tratadas com concentrações crescentes do EG (30, 100, 300, 500 e 1000 μg/mL) durante 24h, e transcorrido esse período, a viabilidade celular foi então determinada utilizando um microscópio automatizado de alta resolução.

Conforme demonstrado na Figura 4, a administração do EG resultou em uma redução dependente da dose na viabilidade das células HepG2. As concentrações de 500 µg/mL (82 ± 5,8%) e 1000 µg/mL (64 ± 7,7%) do extrato promoveram redução na proliferação celular em comparação ao controle negativo ($p < 0,05$).

Figura 4. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular HepG2 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * $p<0,05$ em comparação a concentração zero.



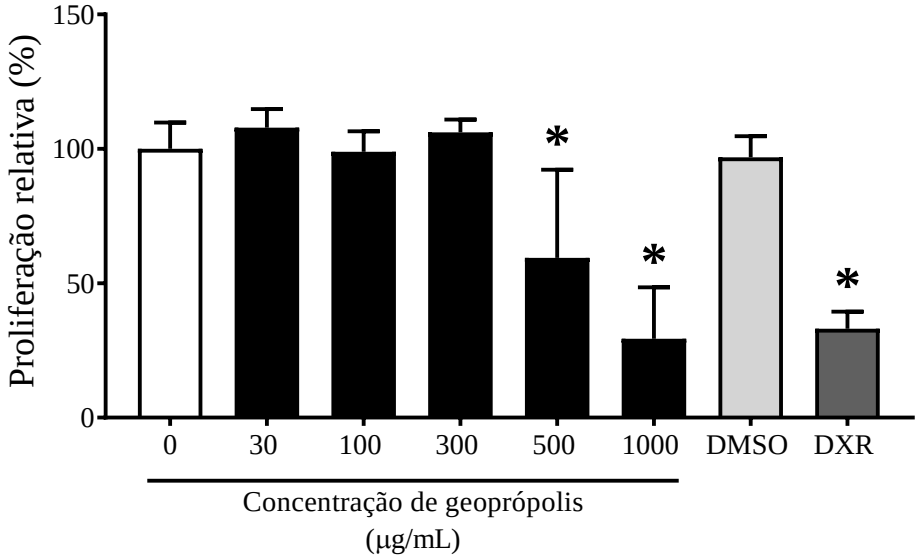
Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, Frión-Herrera et al. (2019) utilizou própolis marrom cubana, e observou efeito inibitório sobre a proliferação de células HepG2. Os autores atribuíram essa atividade antiproliferativa à presença de nemorosone, um terpeno identificado na composição da própolis. Adicionalmente, Liu et al. (2021) investigou o efeito da própolis chinesa na viabilidade e proliferação de células HepG2. Foram identificados flavonoides e ésteres como componentes bioativos da própolis chinesa, e associaram a esses compostos a capacidade de inibir a proliferação e induzir a apoptose nas linhagens celulares de carcinoma hepatocelular humano.

Enquanto alguns estudos evidenciaram a inibição da proliferação de células HepG2, outros, como Jiang et al. (2020), por exemplo, não observaram o mesmo efeito de redução na proliferação das células ao utilizar um extrato de própolis chinesa, composto rico em flavonoides e ácidos fenólicos, como o benzil p-cumarato e o ácido p-cumárico. Curiosamente, o mesmo extrato demonstrou inibir seletivamente a proliferação de células SGC-7901 (câncer gástrico humano).

A discrepância nos resultados enfatiza a importância de caracterizar quimicamente a composição presente na própolis utilizada, para melhor compreensão dos efeitos biológicos. Adicionalmente a isso, a investigação com diferentes linhagens celulares, auxilia na identificação de potenciais efeitos seletivos da própolis e direciona seu uso para diferentes tipos de câncer, assim como fez Jiang et al. (2020), ao incluir células SGC-7901.

Na linhagem celular MCF-7 (Figura 5) foi observado efeito citotóxico. Observou-se redução da proliferação celular nas concentrações de 500 µg/mL (59 ± 33%) e 1000 µg/mL (29 ± 19%) em comparação ao controle negativo ($p < 0,05$).

Figura 5. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular MCF-7 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * $p<0,05$ em comparação a concentração zero.

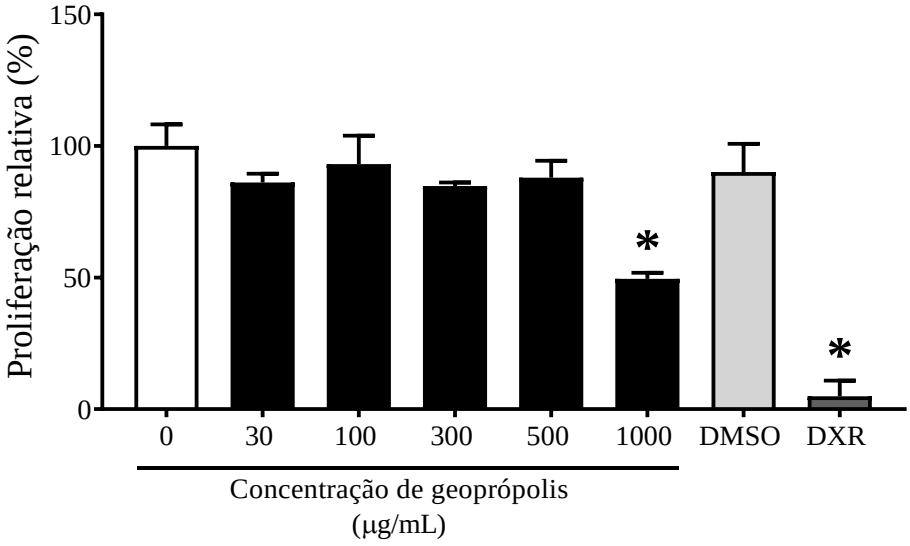


Consonante com os resultados apresentados na Figura 5, diversos trabalhos têm demonstrado a ação antitumoral da própolis em células de câncer de mama, como os estudos com extratos de própolis turca, polonesa e indonésia, por exemplo, que apresentaram a capacidade da própolis de inibir a proliferação celular e induzir a apoptose em células MCF-7 de forma dose-dependente. Seyhan et al. (2019), observaram que a própolis turca, rica em flavonoides, exerceu efeito inibitório sobre a proliferação de células de câncer de mama, tanto em linhagens do tipo não agressivo (MCF-7) quanto agressivo (SK-BR-3 e MDA-MB-231). Esse efeito antiproliferativo mostrou-se dependente da dose e do tempo de exposição. Corroborando esses achados, Misir et al. (2020) também observaram que a própolis turca induziu a morte de células MCF-7 por apoptose.

Da mesma forma, a própolis polonesa, por sua vez, demonstrou citotoxicidade contra quatro linhagens de câncer de mama, incluindo a MCF-7, em um estudo conduzido por Gogacz et al. (2023). Os extratos de própolis polonesa apresentaram citotoxicidade contra as linhagens cancerígenas nas concentrações de 50, 75 e 100 µg/mL, reduzindo a viabilidade celular. Também foram obtidos bons resultados com a própolis proveniente da abelha sem ferrão *Trigona* spp., da Indonésia. Amalia; Diantini; Subarnas (2020), relataram que essa própolis apresentou atividade antiproliferativa em células MCF-7, induzindo alterações morfológicas e apoptose após 24 horas de tratamento.

Outrossim, além da ação do EG contra as células MCF-7, a geoprópolis também demonstrou resultado promissor contra as células de glioblastoma (U251) (Figura 6), em que o EG apresentou efeito citotóxico na concentração de 1000 µg/mL (50 ± 2,3%), em comparação ao controle negativo ($p < 0,05$).

Figura 6. Resultado da proliferação relativa por meio do ensaio de viabilidade celular para a linhagem celular U251 após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 0,5% de dimetilsulfóxido. DXR: 10 µmol/L de doxorrubicina. * $p<0,05$ em comparação a concentração zero.



Como pode ser observado em um estudo conduzido por Borges et al. (2011), utilizando geoprópolis de tubi-abelhas (*Scaptotrigona* sp.) do Maranhão em células de glioblastoma humano, o estudo determinou a proliferação e a apoptose das células após tratamento com concentrações de 1 mg/mL e 2 mg/mL do extrato em diferentes períodos. A combinação do extrato com temozolomida (TMZ), droga utilizada no tratamento de glioblastoma, apresentou efeito antiproliferativo acentuado.

Na mesma linha investigativa, a própolis libanesa de Noureddine et al. (2017) contra células U251, obteve como resultado a redução da viabilidade das células de glioblastoma de maneira dose-dependente após 48 e 72 horas. Houve um aumento na porcentagem de células U251 na fase SubG0 após 24 h de exposição ao extrato hexânico, além da presença de apoptose nesta linhagem.

Os resultados demonstram que o EG possui atividade citotóxica contra as linhagens celulares tumorais HepG2, MCF-7 e U251 de forma dose-dependente da concentração, confirmando a hipótese inicial da pesquisa, indicando maior sensibilidade nas células U251 e MCF-7 em comparação as células HepG2. A redução na viabilidade celular em concentrações específicas do extrato corrobora com pesquisas anteriores que investigaram os efeitos citotóxicos de extratos de geoprópolis contra células cancerígenas (Damiani et al., 2019; Silva et al., 2020).

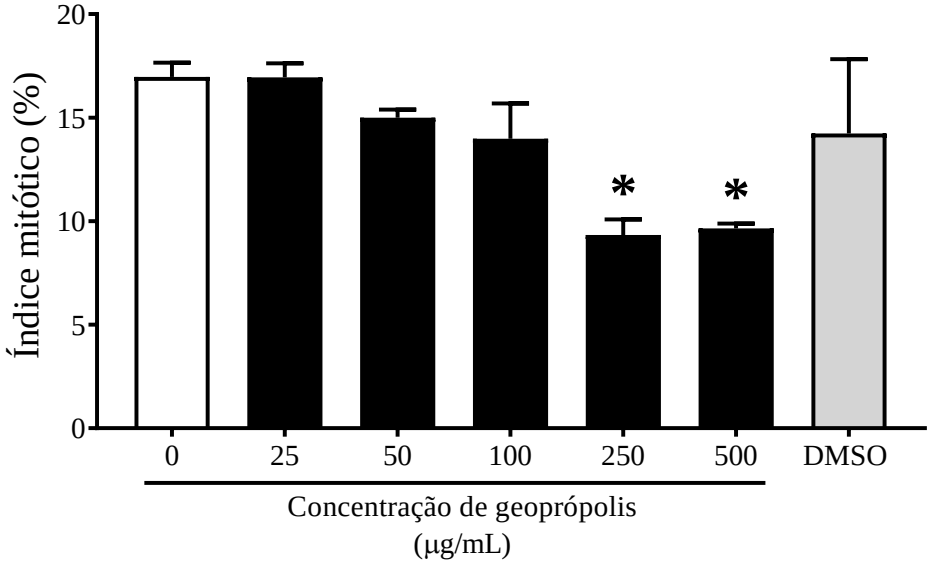
Nesse sentido, o potencial antitumoral da geoprópolis tem sido atribuído à sua composição química rica em compostos fenólicos e flavonoides, os quais exibem atividades antioxidante, anti-inflamatória e citotóxica (Seyhan et al., 2019; Silva et al., 2020), sugerindo, portanto, com esses resultados, que o EG pode ser uma fonte promissora de moléculas bioativas com aplicação potencial no desenvolvimento de terapias contra o câncer.

Em suma, os resultados apresentados reforçam o potencial da geoprópolis como agente terapêutico no combate ao câncer, além de abrir caminhos para o desenvolvimento de terapias combinadas com extrato, e se faz importante considerar que a composição química da própolis varia de forma considerável a depender da sua origem botânica e geográfica, resultando em diferentes respostas biológicas.

5.4 Ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade

Os resultados da exposição do EG sobre as células do *Allium cepa* (Figura 7) demonstrou efeito antiproliferativo, indicado nas concentrações de 250 µg/mL (9,3 ± 0,8%) e 500 µg/mL (10 ± 0,2%), em que houve redução no índice mitótico dose dependente em comparação ao controle negativo ($p < 0,05$). A condição de 1000 µg/mL (dado não apresentado) causou alterações celulares intensas, o que prejudicou sua análise, possivelmente devido à sua alta toxicidade para o sistema biológico utilizado.

Figura 7. Resultado do índice mitótico do ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa* após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. DMSO: 1% de dimetilsulfóxido. * p<0,05 em comparação a concentração zero.



Estudos com extratos de própolis indicam ausência de citotoxicidade e mutagenicidade em ensaios com *Allium cepa*, como o estudo realizado por Nieva Moreno et al. (2005). Os resultados demonstraram que em condições com comprovada atividade antibiótica e antioxidante (100 μg/mL), o extrato de própolis não apresentou toxicidade, genotoxicidade ou mutagenicidade, ainda, este estudo demonstrou que a própolis de *Apis mellifera* exibiu efeito antimutagênico, inibindo a mutagenicidade induzida por compostos como isoquinolina e 4-nitro o-fenilenodiamina. Esses dados sugerem a presença de compostos na própolis capazes de neutralizar a ação de agentes mutagênicos diretos e indiretos, o que lhe confere potencial proteção contra danos ao DNA (Nieva Moreno et al., 2005).

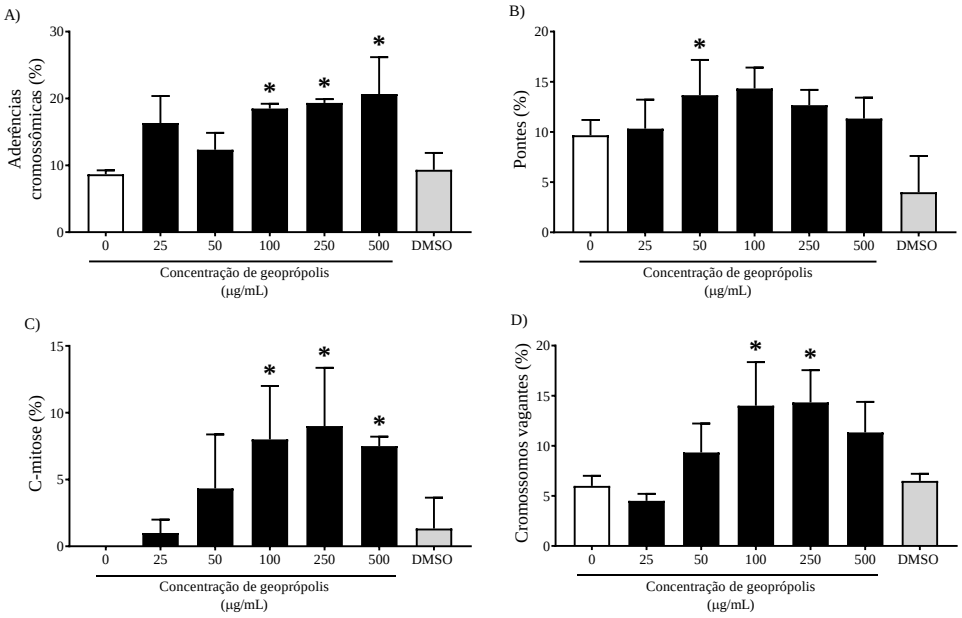
Da mesma forma, Roberto et al. (2016) avaliaram o potencial genotóxico e mutagênico de extratos etanólico de própolis verde brasileira utilizando o sistema teste *Allium cepa*. Contrariando a hipótese de citotoxicidade, os resultados demonstraram que os extratos não apresentaram potencial genotóxico ou mutagênico. A própolis verde apresentou efeito protetor contra os danos celulares induzidos pelo metilmetanossulfonato, agente mutagênico conhecido. A ação protetora foi evidenciada pela redução de aberrações cromossômicas e micronúcleos, comprovando a capacidade da própolis em atenuar os efeitos dos agentes mutagênicos (Roberto et al., 2016).

A ocorrência de alterações cromossômicas e nucleares nas células meristemáticas de *Allium cepa* está associada a lesões diretas à dupla fita de DNA, segregação anormal dos cromossomos durante a divisão celular, dispersão cromossômica e presença de cromossomos

retardatários. Dessa forma, os dados aqui apresentados sugerem que o extrato de geoprópolis de *M. seminigra* possui potencial genotóxico, induzindo danos no DNA ou interferindo na dinâmica cromossômica durante o ciclo de divisão celular (Bagatini et al., 2009; Kumar et al., 2015; Dieterich; Gaete, 2021).

Observa-se que o EG nas concentrações de 100, 250 e 500 µg/mL aumentou as aderências cromossômicas (Figura 8A) em comparação ao controle positivo ($p<0,05$ para todas as comparações). Observou-se um aumento na porcentagem de pontes na concentração de 100 µg/mL do EG em comparação ao controle positivo ($p<0,05$, Figura 8B). A porcentagem de C-mitose aumentou nas concentrações de 100, 250 e 500 µg/mL de EG em comparação ao controle positivo ($p<0,05$ para todas as comparações, Figura 8C). Observou-se que a porcentagem de cromossomos vagantes (Figura 8D) aumentou nas concentrações de 100 e 250 µg/mL de EG em comparação ao controle positivo ($p<0,05$ para ambas as comparações).

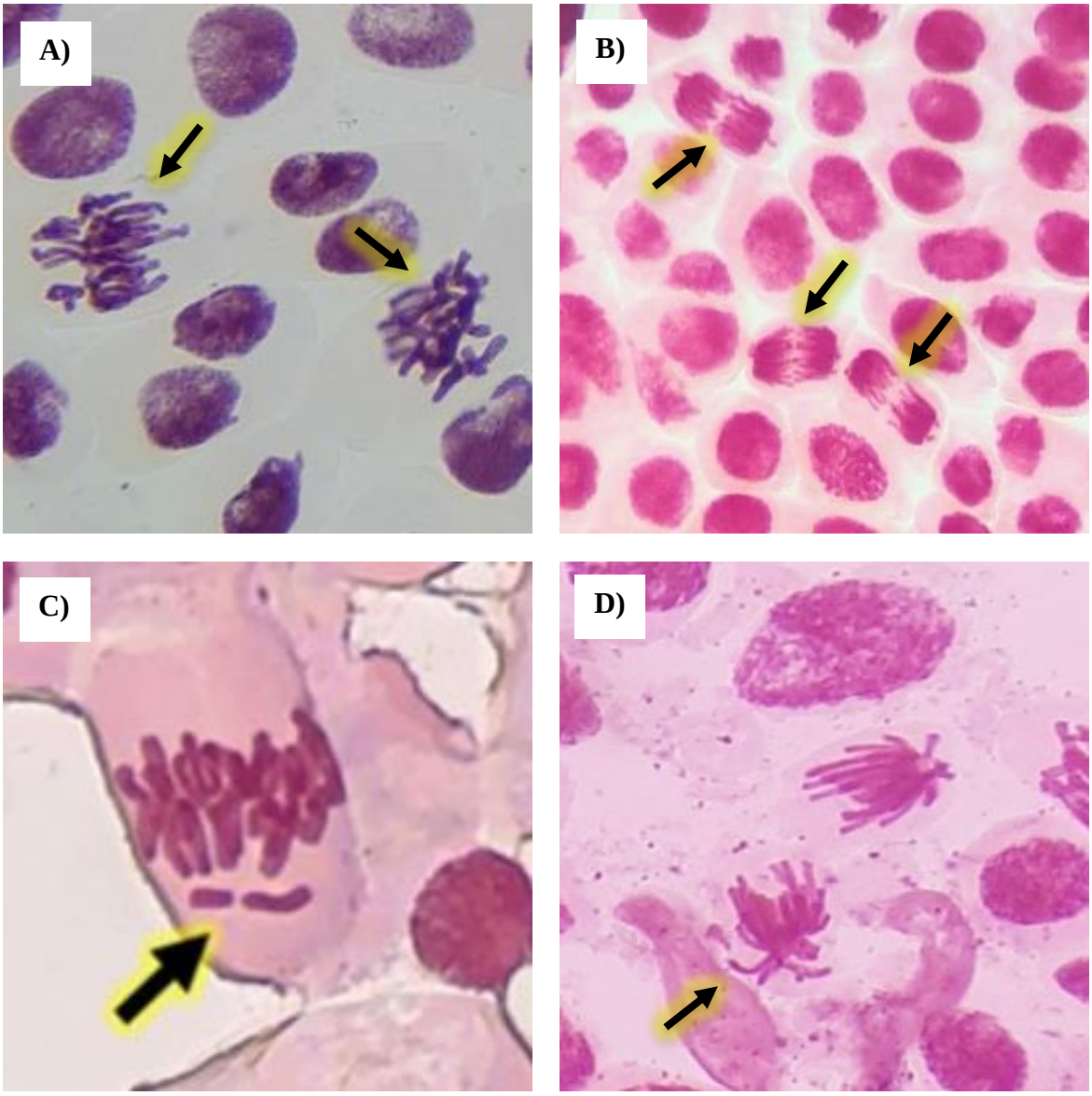
Figura 8. Resultado da proliferação relativa do ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa* para identificação de aberrações cromossômicas após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. A) Aderências cromossômicas. B) Pontes cromossômicas. C) C-mitose. D) Cromossomos vagantes. DMSO: 1% de dimetilsulfóxido. * $p<0,05$ em comparação a concentração zero.



As aberrações cromossômicas, a exemplo das aderências (Figura 9A), pontes (Figura 9B), c-mitose (Figura 9C) e cromossomos vagantes (Figura 9D), são importantes sinais de danos genéticos e estão relacionados com a redução do índice mitótico, um indicador que reflete a taxa de células em divisão (Teerarak et al., 2009; Ibrahim; Sowemimo; Odukoya, 2015). É possível observar que o EG de *M. seminigra* exerceu diminuição da atividade mitótica das

células de *Allium cepa*, sugerindo uma possível interferência no ciclo celular, com implicações para a estabilidade genômica.

Figura 9. Identificação das aberrações cromossômicas encontradas durante o ensaio de citotoxicidade e genotoxicidade por meio do sistema teste *Allium cepa*, após tratamento com diferentes concentrações do extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra*, pelo período de 24 horas. A) Aderências cromossômicas. B) Pontes cromossômicas. C) C-mitose. D) Cromossomos vagantes.



A ocorrência de aderências cromossômicas, frequentemente encontradas em estudos de genotoxicidade, podem resultar na formação de pontes e fragmentos cromossômicos, comprometendo o ciclo de divisão adequado dos cromossomos durante a mitose (Dizdari; Kopliku, 2013; Mansour; Mahfouz; Maher, 2017). Essa desregulação, por sua vez, pode levar

à morte celular ou à perpetuação de células com instabilidade genômica (Kabala-Dzik et al., 2018).

As pontes cromossômicas são caracterizadas pela ligação física entre cromossomos durante a divisão celular, formando uma estrutura semelhante a uma ponte entre os polos opostos. A presença de células com pontes cromossômicas é um importante biomarcador de genotoxicidade, indicando danos no DNA e possíveis erros de replicação (Talukder et al., 2021).

As C-mitoses resultam da inibição da formação do fuso mitótico, essencial para o alinhamento e segregação dos cromossomos. Na C-mitose, os cromossomos permanecem dispersos na célula, sem alinhamento na placa equatorial. Essa aberração é frequentemente induzida por substâncias que interferem diretamente na dinâmica dos microtúbulos, impactando na progressão da mitose (Yüzbasioglu, 2003; Li; Xia, 2019), ou seja, a interferência na formação do fuso mitótico ou na citocinese, resulta em células com cromossomos condensados, mas não alinhados na placa metafásica, característico das c-mitoses.

Os cromossomos vagantes, conhecidos como cromossomos retardatários, refletem erros da ligação dos microtúbulos do fuso aos cinetócoros, estruturas proteicas que conectam os cromossomos aos microtúbulos (Forma; Brys, 2021). Sua presença indica danos no DNA e instabilidade genômica, podendo levar à perda ou ganho de material genético durante a divisão celular (Alaguprathana et al., 2022).

A investigação da frequência da aberração cromossômica aderências em diferentes concentrações do EG são perspectivas promissoras para aprofundar o entendimento sobre o potencial citotóxico e genotóxico da geoprópolis. Sendo assim, dois pontos devem ser levados em consideração: i. os estudos disponíveis se concentram apenas em extratos de própolis, e ii. a ausência das informações sobre os extratos de geoprópolis não significam ausência de efeitos, já que a geoprópolis, por apresentar uma composição diferenciada em relação à própolis, pode apresentar resultados distintos aos esperados, e a falta de estudos específicos sobre estratos de geoprópolis e o sistema teste *Allium cepa*, indicam a necessidade de pesquisas futuras, investigando o potencial citotóxico, mutagênico e genotóxico desses extratos. A disparidade dos resultados reforça a sensibilidade e a confiabilidade do teste *Allium cepa* como ferramenta para a avaliação de produtos naturais até contaminantes ambientais (Feretti et al., 2007; Pohren; Costa; Vargas, 2013; Chowdhury; Biswas, 2024).

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que extrato de geoprópolis de *Melipona seminigra* da Amazônia Ocidental apresentou efeitos antiproliferativo, citotóxicos e genotóxicos em diferentes linhagens celulares de câncer. Esses resultados contribuem para o conhecimento científico sobre o potencial terapêutico da geoprópolis de *M. seminigra* e abrem caminhos para futuras investigações, como a caracterização fitoquímica detalhada da geoprópolis, a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos na atividade antitumoral e a avaliação da eficácia e segurança do extrato em modelos animais. A descoberta de novos compostos com atividade antitumoral é essencial para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e seguras contra o câncer. Nesse contexto, a geoprópolis de *M. seminigra* desponta como uma fonte promissora de novos agentes terapêuticos, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida de pacientes oncológicos. Enquanto, é importante notar que os efeitos antiproliferativos, citotóxicos e genotóxicos observados no extrato de geoprópolis em células de câncer também foram observadas no sistema *Allium cepa*, sugerindo potenciais riscos de toxicidade não seletiva que precisam ser cuidadosamente avaliados antes de considerar aplicações terapêuticas.

7. REFERÊNCIAS

ABSY, M. L.; KERR, W. E. Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra merrillae* em Manaus. **Acta Amazonica**, v. 7, n. 3, p. 309–315, set. 1977.

ADEFEGHA, S. A.; OBOH, G.; OLUOKUN, O. O. Food bioactives: the food image behind the curtain of health promotion and prevention against several degenerative diseases. Em: **Studies in Natural Products Chemistry**. [s.l: s.n.]. v. 72p. 391–421.

AFSHARI, A. R.; MOLLAZADEH, H.; SAHEBKAR, A. Minocycline in Treating Glioblastoma Multiforme: Far beyond a Conventional Antibiotic. **Journal of Oncology**, v. 2020, p. 1–11, 17 set. 2020.

ALAGUPRATHANA, M. et al. Cytogenotoxicity assessment in *Allium cepa* roots exposed to methyl orange treated with Oedogonium subplagiostomum AP1. **Environmental Research**, v. 213, p. 113612, out. 2022.

ALMEIDA, V. L. DE et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118–129, fev. 2005.

AMALIA, E.; DIANTINI, A.; SUBARNAS, A. Water-soluble propolis and bee pollen of *Trigona* spp. from South Sulawesi Indonesia induce apoptosis in the human breast cancer MCF-7 cell line. **Oncology Letters**, v. 20, n. 5, p. 1–1, 21 set. 2020.

ANAND, P. et al. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 9, p. 2097–2116, 15 set. 2008.

ARAÚJO, K. S. DA S. et al. Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and Apis from two regions of Tocantins, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 1, p. 61–68, mar. 2016.

ARAUJO, M. et al. The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in northeast Brazil. **Journal of Molecular Pathophysiology**, v. 4, n. 1, p. 12, 14 fev. 2015.

ARORA, V. et al. Natural product-based antiinflammatory agents. Em: **Recent Developments in Anti-Inflammatory Therapy**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 183–232.

BAGATINI, M. D. et al. Biomonitoring Hospital Effluents by the *Allium cepa* L. Test. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 5, p. 590, 18 maio 2009.

BAHRAMSOLTANI, R. et al. The genus Tamarix: Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, p. 112245, jan. 2020.

BALLARD, C. R.; MARÓSTICA, M. R. Health Benefits of Flavonoids. Em: **Bioactive Compounds**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 185–201.

BANKOVA, V. et al. Constituents of Brazilian Geopropolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 53, n. 5–6, p. 402–406, 24 mar. 1998.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3–15, 27 nov. 2000.

BARBIÉRI, C.; FRANCOY, T. M. Theoretical model for interdisciplinary analysis of human activities: Meliponiculture as an activity that promotes sustainability. **Ambiente & Sociedade**, v. 23, 2020.

BARBOZA, J. R. et al. Cytotoxicity and Pro-Apoptotic, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Geopropolis Produced by the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith. **Biology**, v. 9, n. 9, p. 292, 15 set. 2020.

BARTOLOMEU, A. R. et al. Combinatorial effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith with anticancer drugs against human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 81, p. 48–55, jul. 2016.

BASKAR, R. et al. Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. **International Journal of Medical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 193–199, 2012.

BASMACI, M. et al. Unusual Massive Spinal Metastases from a Recurrent Intracranial Glioblastoma Multiforme. **Indian Journal of Surgical Oncology**, v. 4, n. 3, p. 280–283, 2 set. 2013.

BATISTA, M. C. A. et al. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. **Acta Amazonica**, v. 46, n. 3, p. 315–322, set. 2016.

BENAVENTE, S. et al. Therapy-Induced Modulation of the Tumor Microenvironment: New Opportunities for Cancer Therapies. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 23 out. 2020.

BORGES, K. S. et al. Antiproliferative effects of Tubi-bee propolis in glioblastoma cell lines. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 2, p. 310–314, 2011.

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 maio 2024.

BURRA, P.; ZANETTO, A.; GERMANI, G. Liver Transplantation for Alcoholic Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. **Cancers**, v. 10, n. 2, p. 46, 9 fev. 2018.

CAMPOS, J. F. et al. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 374–380, mar. 2014.

CAMPOS, J. F. et al. Stingless Bee Propolis: New Insights for Anticancer Drugs. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1–18, 23 set. 2021.

CAMPOS, J. F. et al. Antimicrobial Activity of Propolis from the Brazilian Stingless Bees *Melipona quadrifasciata* anthidioides and *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Microorganisms**, v. 11, n. 1, p. 68, 26 dez. 2022.

CARDOZO, D. V. et al. Chemical Variability of Geopropolis from Jataí, Mandaçaia and Mandurí Stingless Bees. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2457–2474, 2015.

CARO-OSORIO, E. et al. Primary Spinal Cord Small-Cell Glioblastoma: Case Report and Literature Review. **World Neurosurgery**, v. 118, p. 69–70, out. 2018.

CASTANEDA, L. et al. Prevalência de incapacidades e aspectos associados em mulheres com câncer de colo do útero, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 27, n. 3, p. 307–315, set. 2019.

CAVALHEIRO, V. J. et al. Unraveling the peripheral and local role of inflammatory cytokines in glioblastoma survival. **Cytokine**, v. 161, p. 156059, jan. 2023.

CEREZO, M.; ROCCHI, S. Cancer cell metabolic reprogramming: a keystone for the response to immunotherapy. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 11, p. 964, 11 nov. 2020.

CHAI, J.-Y.; JUNG, B.-K. Pathogenesis of trematode infections (blood, liver and lung flukes). Em: **Molecular Medical Microbiology**. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 2965–3001.

CHEDID, M. F. et al. HEPATOCELLULAR CARCINOMA: DIAGNOSIS AND OPERATIVE MANAGEMENT. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 30, n. 4, p. 272–278, dez. 2017.

CHEN, L. et al. Clinical characteristics and prognosis of patients with glioblastoma: A review of survival analysis of 1674 patients based on SEER database. **Medicine**, v. 101, n. 47, p. e32042, 25 nov. 2022.

CHENG, A. S. L.; CHAN, H. L. Y. Viral Associated Hepatocellular Carcinoma. Em: S.-L. CHENG, A.; L.-Y. CHAN, H. (Eds.). **Molecular Aspects of Hepatocellular Carcinoma**. [s.l.] BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2012. p. 21–31.

CHODON, T. et al. Emerging Role and Future Directions of Immunotherapy in Advanced Ovarian Cancer. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 32, n. 6, p. 1025–1039, dez. 2018.

CHONG, R. S.-M. Fungal toxins in feedstuffs. Em: **Aquaculture Pathophysiology**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 673–676.

CHOWDHURY, M. A.; BISWAS, A. Evaluation of Cyto-Genotoxic Effects of *Mucuna Bracteata* DC. Ex Kurz Leaf Extracts by *Allium Cepa*. **Journal of Bio-Science**, v. 32, n. 2, p. 71–82, 3 set. 2024.

CHUNG, K.-T. et al. Tannins and Human Health: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 421–464, ago. 1998.

CINEGAGLIA, N. C. et al. Anticancer Effects of Geopropolis Produced by Stingless Bees on Canine Osteosarcoma Cells *In Vitro*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–6, 2013.

COMȘA, Ș.; CÎMPEAN, A. M.; RAICA, M. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. **Anticancer Research**, v. 35, n. 6, p. 3147, 1 jun. 2015.

CORADINI, D. et al. Infiltrating ductal and lobular breast carcinomas are characterised by different interrelationships among markers related to angiogenesis and hormone dependence. **British Journal of Cancer**, v. 87, n. 10, p. 1105–1111, 29 nov. 2002.

CORTOPASSI-LAURINO, M. et al. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, v. 37, n. 2, p. 275–292, 22 mar. 2006.

COSTA, K. B. DA; LIRA, T. DE M. MELIPONICULTURA NA AMAZÔNIA: A REPERCUSSÃO DA CRIAÇÃO DE ABELHAS-INDÍGENAS-SEM-FERRÃO EM COMUNIDADES RIBEIRINHAS NO AMAZONAS-BRASIL. **18º Congresso Nacional de Meio Ambiente - Justiça Climática no Antropoceno**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2021.

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. The Contribution of Natural Products as Source of New Anticancer Drugs: Studies Carried Out at the National Experimental Oncology Laboratory from the Federal University of Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, 2010.

COUTINHO, S. et al. *Melipona scutellaris* Geopropolis: Chemical Composition and Bioactivity. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, p. 2779, 15 nov. 2023.

CUKIER, M. et al. National Consensus for Screening, Diagnosis and Management of Hepatocellular Carcinoma in Panama, 2022. **Cancer Studies and Molecular Medicine – Open Journal**, v. 7, n. 1, p. 3–14, 30 dez. 2022.

DA CUNHA, M. et al. Antiproliferative Constituents of Geopropolis from the Bee *Melipona scutellaris*. **Planta Medica**, v. 82, n. 03, p. 190–194, 6 nov. 2015.

DA CUNHA, M. G. et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 23, 28 dez. 2013.

DAEI SORKHABI, A. et al. The current landscape of CAR T-cell therapy for solid tumors: Mechanisms, research progress, challenges, and counterstrategies. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 20 mar. 2023.

DAMIANI, E. et al. How reliable are in vitro IC50 values? Values vary with cytotoxicity assays in human glioblastoma cells. **Toxicology Letters**, v. 302, p. 28–34, mar. 2019.

DE SOUZA, S. A. et al. Characterisation of phenolic compounds by UPLC-QTOF-MS/MS of geopropolis from the stingless bee *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochemical Analysis**, v. 29, n. 6, p. 549–558, 17 nov. 2018.

DEBELA, D. T. et al. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. **SAGE Open Medicine**, v. 9, p. 205031212110343, 12 jan. 2021.

DEGASPERI, E.; COLOMBO, M. Distinctive features of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 1, n. 2, p. 156–164, out. 2016.

DESAM, N. R.; AL-RAJAB, A. J. Herbal biomolecules: anticancer agents. Em: **Herbal Biomolecules in Healthcare Applications**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 435–474.

DHAKAL, A.; HASHMI, M. F.; SBAR, E. Aflatoxin Toxicity. **StatPearls**, 19 fev. 2023.

DIETERICH, A.; GAETE, H. Assessment of the genotoxicity of sediment elutriates from an aquatic ecosystem on *Allium cepa*: Limache stream in central Chile. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 193, n. 5, p. 243, 5 maio 2021.

DIZDARI, A. M.; KOPLIKU, D. Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. **Procedia Technology**, v. 8, p. 19–26, 2013.

DOS SANTOS, F. C. F.; ANGULO, E. L. H.; DOS SANTOS, M. E. C. Caracterização físico-química de amostras do mel de abelhas nativas. **SCIENTIA NATURALIS**, v. 3, n. 8, p. 2366–2382, 2021.

DUTRA, R. P. et al. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 557–562, dez. 2008.

DUTRA, R. P. et al. Phenolic Acids, Hydrolyzable Tannins, and Antioxidant Activity of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2549–2557, 26 mar. 2014.

EJMA, M. et al. Rare clinical form of glioblastoma multiforme. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, v. 68, p. 316–324, 27 mar. 2014.

ELEKOFEHINTI, O. O. et al. Saponins in Cancer Treatment: Current Progress and Future Prospects. **Pathophysiology**, v. 28, n. 2, p. 250–272, 5 jun. 2021.

FERETTI, D. et al. ***Allium cepa*** chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, n. 6, p. 561–572, jun. 2007.

FERREIRA, B. L. et al. Southern-Brazilian geopropolis: A potential source of polyphenolic compounds and assessment of mineral composition. **Food Research International**, v. 126, 1 dez. 2019.

FERREIRA, J. M. et al. Antioxidant Activity of a Geopropolis from Northeast Brazil: Chemical Characterization and Likely Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1–6, 31 out. 2017.

FILGUEIRA, N. A. et al. Schistosomal liver fibrosis and hepatocellular carcinoma – case series of patients submitted to liver transplantation. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 4, p. 352–354, jul. 2018.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 14 fev. 2008.

FONTOURA, B. A. et al. Imunoterapia como tratamento de câncer e o papel da enfermagem. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. 1–14, 7 jun. 2021.

FORMA, E.; BRYŚ, M. Anticancer Activity of Propolis and Its Compounds. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2594, 28 jul. 2021.

FRAGA-CORRAL, M. et al. Traditional Applications of Tannin Rich Extracts Supported by Scientific Data: Chemical Composition, Bioavailability and Bioaccessibility. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 251, 26 jan. 2021.

FRANCINI, I. B. **Monandria e Poliandria como estratégia evolutiva no complexo de subespécies de *Melipona seminigra* Friese, 1903 (Apidae, Meliponini) na Amazônia**. Doutorado—Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, 2014.

FRESHNEY, R. I. Primary Culture. Em: **Culture of Animal Cells**. [s.l.] Wiley, 2010. p. 163–186.

FRIÓN-HERRERA, Y. et al. Nemorosone inhibits the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells. **Life Sciences**, v. 235, p. 116817, out. 2019.

GHANI, A. R. I. et al. Novel Insights into Genetic Approaches in Glioblastoma Multiforme Therapy. **Biomedical Research and Therapy**, v. 9, n. 1, p. 4851–4864, 29 jan. 2022.

GOGACZ, M. et al. Anticancer Effects of Propolis Extracts Obtained Using the Cold Separation Method on Breast Cancer Cell Lines. **Plants**, v. 12, n. 4, p. 884, 16 fev. 2023.

GOGOI, G. et al. Papillary carcinoma of breast: An institutional overview of a rare histopathologic type. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 511, 2023.

GONÇALVEZ, J. C. R.; SOBRAL, M. V. **CULTIVO DE CÉLULAS da teoria à bancada**. 1. ed. João Pessoa - PB: Editora UFPB, 2020.

GÖRANSSON, S. et al. An extracellular matrix stiffness-induced breast cancer cell transcriptome resembles the transition from ductal carcinoma in situ (DCIS) to invasive ductal carcinoma (IDC). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 654, p. 73–79, abr. 2023.

GUO, Q. et al. MNK1/NODAL Signaling Promotes Invasive Progression of Breast Ductal Carcinoma *In Situ*. **Cancer Research**, v. 79, n. 7, p. 1646–1657, 1 abr. 2019.

GUPTA, T. et al. Lipid-Based Nanocarriers in the Treatment of Glioblastoma Multiforme (GBM): Challenges and Opportunities. **AAPS PharmSciTech**, v. 24, n. 4, p. 102, 11 abr. 2023.

HAJJAR, D. et al. Anti-cancer agents in Saudi Arabian herbals revealed by automated high-content imaging. **PLOS ONE**, v. 12, n. 6, p. e0177316, 13 jun. 2017.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011.

HARAKE, M. D. J.; MAXWELL, A. J.; SUKUMAR, S. A. Primary and Metastatic Lobular Carcinoma of the Breast. **Clinical Radiology**, v. 56, n. 8, p. 621–630, ago. 2001.

HASSAN, T. M. et al. Isolated right adrenal metastasis from an invasive ductal breast carcinoma. **JUNIOR MEDICAL RESEARCH**, p. 10–13, 15 out. 2019.

HERMANSYAH, D. et al. The Potential Use of Propolis as an Adjunctive Therapy in Breast Cancers. **Integrative Cancer Therapies**, v. 21, p. 153473542210968, 20 jan. 2022.

HUANG, Y. et al. Editorial: Combating cancer with natural products: Non-coding RNA and RNA modification. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, 10 fev. 2023.

IBRAHIM, I. A. A. et al. Bioactive compound D-Pinitol-loaded graphene oxide-chitosan-folic acid nanocomposite induced apoptosis in human hepatoma HepG-2 cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 92, p. 105282, fev. 2024.

IBRAHIM, M.; SOWEMIMO, A.; ODUKOYA, O. Chromosomal aberrations induced by *Markhamia tomentosa* (Benth.) K. Schum. Ex Engl. ethanolic leaf extract on *Allium cepa* root cells. **Nigerian Journal of Natural Products and Medicine**, v. 18, n. 1, p. 12, 11 ago. 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer do sistema nervoso central**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/sistema-nervoso-central>. Acesso em: 28 set. 2024a.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativas 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2022b.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Como surge o câncer? — Instituto Nacional de Câncer - INCA**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/como-surge-o-cancer>. Acesso em: 20 jun. 2024c.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer de mama**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/mama>. Acesso em: 28 set. 2024a.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer de fígado**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/figado>. Acesso em: 28 set. 2024b.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: [s.n.].

JIANG, X. et al. Chinese Propolis Inhibits the Proliferation of Human Gastric Cancer Cells by Inducing Apoptosis and Cell Cycle Arrest. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 1–11, 22 jul. 2020.

JOTHY, S. L. et al. Evaluation of the Genotoxic Potential against H2O2-Radical-Mediated DNA Damage and Acute Oral Toxicity of Standardized Extract of *Polyalthia longifolia* Leaf. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–13, 2013.

KABALA-DZIK, A. et al. Flavonoids, bioactive components of propolis, exhibit cytotoxic activity and induce cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells MDA-MB-231 and MCF-7 – a comparative study. **Cellular and Molecular Biology**, v. 64, n. 8, p. 1–10, 25 jun. 2018.

KAISER, S.; PAVEI, C.; ORTEGA, G. G. Estudo da relação estrutura-atividade de saponinas hemolíticas e/ou imunoadjuvantes mediante uso de análise multivariada. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 300–309, jul. 2010.

KARKON-SHAYAN, S. et al. Resveratrol as an antitumor agent for glioblastoma multiforme: Targeting resistance and promoting apoptotic cell deaths. **Acta Histochemica**, v. 125, n. 6, p. 152058, ago. 2023.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação**. Belo Horizonte, MG: Acangaú, 1996.

KHABIBOV, M. et al. Signaling pathways and therapeutic approaches in glioblastoma multiforme (Review). **International Journal of Oncology**, v. 60, n. 6, p. 69, 19 abr. 2022.

KUMAR, D. et al. Cytogenetic studies of chromium (III) oxide nanoparticles on *Allium cepa* root tip cells. **Journal of Environmental Sciences**, v. 38, p. 150–157, dez. 2015.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, dez. 2019.

KURE, B. T. et al. Herbal therapeutics for cancer control: an overview. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 1, p. 015–023, 30 out. 2019.

L. DANTAS, D. et al. Advances in the Synthesis, Biological Activities and Applications of Cordiaquinones in the Cordia Genus: A Review. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 6, p. 1353–1371, 2021.

LACAILLE-DUBOIS, M.-A.; MELZIG, M. Saponins: Current Progress and Perspectives. **Planta Medica**, v. 82, n. 18, p. 1495–1495, 13 dez. 2016.

LACERDA, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hexânicos de própolis e resina de abelhas Melipona flavolineata, *Melipona seminigra*, *Melipona fasciculata*, *Frieseomelitta varia* e *Apis mellifera* sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. passiflorae. **Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos**, p. 1–4, 2012.

LEE, C. H. et al. Viral hepatitis-associated intrahepatic cholangiocarcinoma shares common disease processes with hepatocellular carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 100, n. 11, p. 1765–1770, 12 jun. 2009.

LEE, A. V.; OESTERREICH, S.; DAVIDSON, N. E. MCF-7 Cells--Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. **JNCI Journal of the National Cancer Institute**, v. 107, n. 7, p. djv073–djv073, 31 mar. 2015.

LI, M. et al. Tumor extracellular matrix modulating strategies for enhanced antitumor therapy of nanomedicines. **Materials Today Bio**, v. 16, p. 100364, dez. 2022.

LI, S.; XIA, M. Review of high-content screening applications in toxicology. **Archives of Toxicology**, v. 93, n. 12, p. 3387–3396, 29 dez. 2019.

LIAO, S. et al. Improvement of Gold Nanorods in Photothermal Therapy: Recent Progress and Perspective. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 22 abr. 2021.

LIU, H. et al. Bioactive components and mechanisms of poplar propolis in inhibiting proliferation of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 144, p. 112364, dez. 2021.

LONG, X.-D. et al. Molecular Mechanisms of Hepatocellular Carcinoma Related to Aflatoxins: An Update. Em: **Liver Research and Clinical Management**. [s.l.] InTech, 2018.

LOPES, A. J. O. et al. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of Pollen Extract Collected by Stingless Bee *Melipona fasciculata*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4512, 12 set. 2019.

LOPES-JÚNIOR, L. C. Carga global de câncer no contexto das doenças crônicas não transmissíveis nas próximas décadas. **Journal Health NPEPS**, v. 6, n. 2, p. e5729, 2021.

LUCRI, R.; DE OLIVEIRA COSTA, M. A atuação do enfermeiro no tratamento de mulheres com neoplasia mamária: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. 1–15, out. 2021.

MALIK, D. FDG PET/CT in Recurrent Glioblastoma Multiforme With Leptomeningeal and Diffuse Spinal Cord Metastasis. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 46, n. 2, p. 138–139, fev. 2021.

MANSOUR, H. A.; MAHFOUZ, H.; MAHER, N. Anti-mutagenic potential of algal extracts on chromosomal aberrations in *Allium cepa* L. **Acta Biologica Hungarica**, v. 68, n. 2, p. 137–149, jun. 2017.

MARCUCCI, M. C. et al. Accessible Methodologies for Quantification of Flavonoids and Total Phenols in Propolis. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 61–73, 2021.

MARSHALL, H. T.; DJAMGOZ, M. B. A. Immuno-Oncology: Emerging Targets and Combination Therapies. **Frontiers in Oncology**, v. 8, 23 ago. 2018.

MATOS, F. J. DE A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. ed. Fortaleza - CE: UFC, 2009.

MATSUSHITA, H.; TAKAKI, A. Alcohol and hepatocellular carcinoma. **BMJ Open Gastroenterology**, v. 6, n. 1, p. e000260, 3 abr. 2019.

MELO, G. A. R. DE et al. **+Moure's Bee Catalogue**. Disponível em: <https://moure.cria.org.br/catalogue?id=1158>. Acesso em: 27 jun. 2024.

MENEZES FILHO, A. C. P. D et al. Prospecção fitoquímica, físico-química e atividades biológicas do extrato etanólico floral de *Miconia chamissois* Naudin (Melastomataceae). **Hoehnea**, v. 49, 2022.

MIR, S. A. et al. Flavonoids as promising molecules in the cancer therapy: An insight. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 6, p. 100167, 2024.

MISIR, S. et al. Effect of Turkish Propolis on miRNA Expression, Cell Cycle, and Apoptosis in Human Breast Cancer (MCF-7) Cells. **Nutrition and Cancer**, v. 72, n. 1, p. 133–145, 2 jan. 2020.

MOONEY, R. et al. Neural stem cell-mediated brain tumor therapy. Em: **Neurotherapeutics in the Era of Translational Medicine**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 161–179.

MORALES, A. J. P. et al. Carcinoma medular de mama. Caracterización de una serie de casos, 2010-2019. **Revista de Senología y Patología Mamaria**, v. 33, n. 1, p. 9–15, jan. 2020.

MOURA, R. DE D.; CARVALHO, F. M.; BACCHI, C. E. Breast cancer in very young women: Clinicopathological study of 149 patients ≤25 years old. **The Breast**, v. 24, n. 4, p. 461–467, ago. 2015.

NEAGU, A.-N. et al. Proteomics-Based Identification of Dysregulated Proteins and Biomarker Discovery in Invasive Ductal Carcinoma, the Most Common Breast Cancer Subtype. **Proteomes**, v. 11, n. 2, p. 13, 3 abr. 2023.

NERES, M. S. D. O. et al. CÂNCER DE MAMA: ASPECTOS GERAIS. Em: **SAÚDE DA MULHER E OBSTETRÍCIA: DO ENSINO À ASSISTÊNCIA**. [s.l.] Editora Humanize, 2024. p. 44–50.

NEVES, A. R. et al. **Synthesis and Tumor Cell Growth Inhibitory Effects of New Flavonosides and Xanthonosides**. Proceedings of 3rd International Electronic Conference on Medicinal Chemistry. **Anais**...Basel, Switzerland: MDPI, 1 nov. 2017.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 25 mar. 2016.

NIEVA MORENO, M. I. et al. Evaluation of the Cytotoxicity, Genotoxicity, Mutagenicity, and Antimutagenicity of Propolis from Tucuman, Argentina. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 23, p. 8957–8962, 1 nov. 2005.

NOGUEIRA-NETO, P. Notas Bionomicas sobre Meliponíneos (Hymenoptera, Apoidea) I: sobre a ventilação dos ninhos e as construções com ela relacionadas. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 8, n. 4, p. 465–488, 1948.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 1. ed. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. v. 1

NORDIN, A. et al. Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, p. 91–102, out. 2018.

NOUREDDINE, H. et al. Chemical characterization and cytotoxic activity evaluation of Lebanese propolis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 95, p. 298–307, nov. 2017.

OLIVEIRA, D. M. DE; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051–1056, 2011.

OLIVEIRA, H. A. DE et al. **Compostos voláteis presentes em geoprópolis de abelha sem ferrão (*Melipona seminigra* Friese, 1903) coletada em Belterra, Estado do Pará**. Belém: [s.n.]. Disponível em: <http://mel.cpatu.embrapa.br/Criacao%20de%20abelhas%20indig>.

OLIVEIRA, M. A.; AIDAR, D. S. **Efeito da alimentação artificial no crescimento de colônias de *M. seminigra* merrilae (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Disponível em: <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/artigo3.htm>. Acesso em: 10 dez. 2023.

ORDÓÑEZ-RUBIANO, E. G. et al. Imaging of Pediatric Central Nervous System Tumors. Em: **Radiation Oncology for Pediatric CNS Tumors**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 55–70.

ORTIZ-PLA, J. et al. GBM Modeling with Proliferation and Migration Phenotypes: A Proposal of Initialization for Real Cases. Em: [s.l: s.n.]. p. 65–74.

PALUDO, I. M.; ANTUNES, J. L.; CENTA, A. Opções terapêuticas no tratamento sistêmico do câncer de mama: uma revisão narrativa. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 15, n. 11, p. 13821–13842, 17 nov. 2023.

PALUMBO, E. Association Between Schistosomiasis and Cancer. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v. 15, n. 3, p. 145–148, maio 2007.

PAN, P. C.; MAGGE, R. S. Mechanisms of EGFR Resistance in Glioblastoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 8471, 11 nov. 2020.

PAPAVASSILIOU, K. A.; PAPAVASSILIOU, A. G. Transcription factors in glioblastoma – Molecular pathogenesis and clinical implications. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1877, n. 1, p. 188667, jan. 2022.

PASCUA-MAESTRO, R. et al. The MTT-formazan assay: Complementary technical approaches and in vivo validation in Drosophila larvae. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 3, p. 179–186, abr. 2018.

PIAL, M. M. H. et al. Implantable Devices for the Treatment of Breast Cancer. **Journal of Nanotheranostics**, v. 3, n. 1, p. 19–38, 9 fev. 2022.

POHREN, R. DE S.; DA COSTA, T. C.; VARGAS, V. M. F. Investigation of Sensitivity of the *Allium cepa* Test as an Alert System to Evaluate the Genotoxic Potential of Soil Contaminated by Heavy Metals. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 3, p. 1460, 8 mar. 2013.

POPOVA, M.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V. Propolis of stingless bees: A phytochemist's guide through the jungle of tropical biodiversity. **Phytomedicine**, v. 86, p. 153098, jun. 2021.

PRABHU, K. S. et al. Greensporone A, a Fungal Secondary Metabolite Suppressed Constitutively Activated AKT via ROS Generation and Induced Apoptosis in Leukemic Cell Lines. **Biomolecules**, v. 9, n. 4, p. 126, 29 mar. 2019.

PUCCI, C.; MARTINELLI, C.; CIOFANI, G. Innovative approaches for cancer treatment: current perspectives and new challenges. **ecancermedicalscience**, v. 13, 10 set. 2019.

RABINOVICH, I. et al. Breast mucinous cystadenocarcinoma – case report. **Mastology**, v. 30, n. Suppl 1, 2020.

RAJIVGANDHI, G. et al. Marine sponge alkaloid aaptamine enhances the anti-bacterial and anti-cancer activity against ESBL producing Gram negative bacteria and HepG 2 human liver carcinoma cells. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, p. 628–637, jan. 2019.

RAMIREZ, Y. et al. Glioblastoma Multiforme Therapy and Mechanisms of Resistance. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1475–1506, 25 nov. 2013.

RAMOS, A. C. V. et al. Estratégia Saúde da Família, saúde suplementar e desigualdade no acesso à mamografia no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 42, 2018.

RAZA, S. et al. Molecular links between non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma. **Hepatoma Research**, v. 2019, 11 dez. 2019.

REDDY, S. S. et al. Histopathological study of neuroepithelial tumors of central nervous system. **Panacea Journal of Medical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 120–125, 28 abr. 2023.

RICHARD, T. et al. Application of LC–MS and LC–NMR Techniques for Secondary Metabolite Identification. Em: [s.l: s.n.]. p. 67–98.

ROBERTO, M. M. et al. Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 2, p. 257–269, 24 maio 2016.

ROCHA, V. M. et al. Stingless bee propolis: composition, biological activities and its applications in the food industry. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 5, n. 1, p. 29, 4 maio 2023.

ROZMAN, A. S. et al. A Comprehensive Review of Stingless Bee Products: Phytochemical Composition and Beneficial Properties of Honey, Propolis, and Pollen. **Applied Sciences**, v. 12, n. 13, p. 6370, 23 jun. 2022.

SALATINO, A.; PEREIRA, L. R. L.; SALATINO, M. L. F. The emerging market of propolis of stingless bees in tropical countries. **MOJ Food Processing & Technology**, v. 7, n. 2, p. 27–29, 12 mar. 2019.

SANTOS, T. L. A. DOS et al. Melipona mondury produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3 suppl, p. 2247–2259, 20 jul. 2017a.

SANTOS, H. et al. Chemical Profile and Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antimutagenic and Antimicrobial Activities of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona orbignyi*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 953, 3 maio 2017b.

SANTOS, M. DE O. et al. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 6 fev. 2023.

SARKAR, S.; PATRANABIS, S. Immunomodulatory signalling networks in glioblastoma multiforme: a comprehensive review of therapeutic approaches. **Human Cell**, v. 37, n. 5, p. 1355–1377, 31 jul. 2024.

SEO, W. et al. ALDH2 deficiency promotes alcohol-associated liver cancer by activating oncogenic pathways via oxidized DNA-enriched extracellular vesicles. **Journal of Hepatology**, v. 71, n. 5, p. 1000–1011, nov. 2019.

SEYHAN, M. F. et al. Different propolis samples, phenolic content, and breast cancer cell lines: Variable cytotoxicity ranging from ineffective to potent. **IUBMB Life**, v. 71, n. 5, p. 619–631, 27 maio 2019.

SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 1, p. 1–14, ago. 2007.

SFORCIN, J. M. et al. Própolis e geoprópolis. Em: **Própolis e geoprópolis: uma herança das abelhas**. [s.l.] Editora UNESP, 2017. p. 23–32.

SHARMA, M. et al. Cytotoxic and apoptotic activity of essential oil from Ocimum viride towards COLO 205 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 336–344, jan. 2010.

SHENG, S. et al. A prognostic model for Schistosoma japonicum infection-associated liver hepatocellular carcinoma: strengthening the connection through initial biological experiments. **Infectious Agents and Cancer**, v. 19, n. 1, p. 10, 21 mar. 2024.

SHETTY, K. et al. Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma Development in Non-alcoholic Fatty Liver Disease. **Current Hepatology Reports**, v. 14, n. 2, p. 119–127, 8 jun. 2015.

SHI, F. et al. Ni/Mn-Complex-Tethered Tetranuclear Polyoxovanadates: Crystal Structure and Inhibitory Activity on Human Hepatocellular Carcinoma (HepG-2). **Molecules**, v. 28, n. 19, p. 6843, 28 set. 2023.

SIEGEL, R. L. et al. Cancer Statistics, 2021. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 1, p. 7–33, 12 jan. 2021.

SILVA, E. C. C. DA et al. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 628–633, 2013.

SILVA, P. R. DA et al. PALYNOLOGICAL ORIGIN, PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF GEOPROPOLIS COLLECTED BY MANDAÇAIA (MELIPONA MANDACAIA) STINGLESS. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 246–252, mar. 2020.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, jan. 2002.

SOUZA, S. A. DE et al. Composition and Antioxidant Activity of Geopropolis Collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–5, 2013.

TALUKDER, A. et al. Cytogenetic Study on Mitotic Cell Division in *Allium cepa* by Lead (Pb) and Chromium (Cr) Containing Bacterial Strain Isolated from Tannery Effluents of Bangladesh. **Journal of Biomedical Research & Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 084–090, 26 fev. 2021.

TANIAI, M. Alcohol and hepatocarcinogenesis. **Clinical and Molecular Hepatology**, v. 26, n. 4, p. 736–741, 1 out. 2020.

TEERARAK, M. et al. The impact of sodium chloride on root growth, cell division, and interphase silver-stained nucleolar organizer regions (AgNORs) in root tip cells of *Allium cepa* L. **Scientia Horticulturae**, v. 121, n. 2, p. 228–232, jun. 2009.

TEJA, P. K. et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology and formulation aspects of Glycosmis species: A systematic review. **Phytochemistry**, v. 190, p. 112865, out. 2021.

THOMAS, J. A. et al. Hepatocellular and extrahepatic cancer risk in people with non-alcoholic fatty liver disease. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 2, p. 159–169, fev. 2024.

THULER, L. C. S.; MENDONÇA, G. A. Estadiamento inicial dos casos de câncer de mama e colo do útero em mulheres brasileiras. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 11, p. 656–660, nov. 2005.

TORRES, A. R. et al. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata* quadrifasciata and Tetragonisca angustula stingless bees. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 6, 16 fev. 2018.

UÇAR, M.; DEĞER, O. Evaluation of cytotoxic and wound healing effect of DMEM extracts of Turkish propolis in MDA-MB-231 cell lines. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 2, p. 321, 12 mar. 2019.

UDOH, U.-A. et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression to Non-Alcoholic Steatohepatitis-Related Primary Liver Cancer. Em: **Liver Cancer**. [s.l.] Exon Publications, 2021. p. 55–76.

URBAŃSKA, K. et al. Review Glioblastoma multiforme – an overview. **Współczesna Onkologia**, v. 5, p. 307–312, 2014.

VASILJEVIC, A. Pediatric Tumors of the Central Nervous System: Cytopathology. Em: **Small Volume Biopsy in Pediatric Tumors**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 325–347.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico Mel de Abelhas sem Ferrão**. 1ª edição ed. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012.

VON BÜLOW, V. et al. Schistosoma mansoni–Induced Oxidative Stress Triggers Hepatocellular Proliferation. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n. 1, p. 107–117, 2024.

WANG, J. et al. A Review on Artificial Micro/Nanomotors for Cancer-Targeted Delivery, Diagnosis, and Therapy. **Nano-Micro Letters**, v. 12, n. 1, p. 11, 30 dez. 2020.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12–23, jan. 2018.

WANGENSTEEN, K. J.; CHANG, K. Multiple Roles for Hepatitis B and C Viruses and the Host in the Development of Hepatocellular Carcinoma. **Hepatology**, v. 73, n. S1, p. 27–37, 22 jan. 2021.

XUAN, H. et al. Antitumor Activity of Chinese Propolis in Human Breast Cancer MCF-7 and MDA-MB-231 Cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, n. 1, 22 jan. 2014.

YALAMARTY, S. S. K. et al. Mechanisms of Resistance and Current Treatment Options for Glioblastoma Multiforme (GBM). **Cancers**, v. 15, n. 7, p. 2116, 1 abr. 2023.

YANG, L. et al. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 8, 7 fev. 2020.

YOUSEF, M. H.; EL-FAWAL, H. A. N.; ABDELNASER, A. Hepigenetics: A Review of Epigenetic Modulators and Potential Therapies in Hepatocellular Carcinoma. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–30, 24 nov. 2020.

YÜZBAŞIOGLU, D. Cytogenetic Effects of Fungicide Afugan on the Meristematic Cells of *Allium cepa* L. **CYTOLOGIA**, v. 68, n. 3, p. 237–243, 2003.

ZAGHLOUL, M. S.; GOUDA, I. Bladder Cancer and Schistosomiasis: Is There a Difference for the Association? Em: ZAGHLOUL, M. S.; GOUDA, I. (Eds.). **Bladder Cancer - From Basic Science to Robotic Surgery**. [s.l.] InTech, 2012. p. 195–218.

ZHANG, H.; CHEN, J. Current status and future directions of cancer immunotherapy. **Journal of Cancer**, v. 9, n. 10, p. 1773–1781, 2018.

ZHANG, L. et al. **Evaluating human breast cancer cell metastasis potential using resonance Raman spectroscopy and machine learning (Conference Presentation)**. (R. R. Alfano, S. G. Demos, A. B. Seddon, Eds.)Optical Biopsy XVIII: Toward Real-Time Spectroscopic Imaging and Diagnosis. **Anais**...SPIE, 9 mar. 2020.

ZHANG, L. et al. Underlying mechanisms and clinical potential of circRNAs in glioblastoma. **Oncology Research**, v. 31, n. 4, p. 449–462, 2023.

ZHANG, T. et al. Tubular Carcinoma of the Breast: A Clinicopathological Analysis of Two Cases. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 13, n. 11, p. 499–506, 2022.