

NANOTECNOLOGIAS VERDES PARA TRATAMENTO DE CÂNCER - UMA REVISÃO



Revista
Desafios

Artigo Original
Original Article
Artículo Original

Green nanotechnologies for cancer treatment - A review

Nanotecnologías verdes para el tratamiento del cáncer - Una revisión

Thiago Leonardo Sangalli^{1*}, Kamilla Leonardo Sangalli², Anderson Barbosa Baptista³

¹Aluno de Graduação, Curso de Medicina, Universidade Federal de Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil.

²Aluna de Graduação, Curso de Medicina, Universidade da Região de Joinville, Joinville, Santa Catarina, Brasil.

³MSc, PhD, Professor, Curso de Medicina, Universidade Federal de Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil.

*Correspondência: *Correspondência: Quadra 104 Norte, Rua Ne03, lote 12, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77006-018. e-mail: sangalli.th@mail.uft.edu.br.*

Artigo recebido em 17/06/2021 aprovado em 28/04/2022 publicado em 02/05/2022.

RESUMO

Introdução: As nanopartículas verdes são substratos sintetizados de recursos biológicos disponíveis na natureza, como vegetais, algas, fungos e bactérias. **Objetivo:** O objetivo do estudo foi revisar a atividade anticâncer de NPs sintetizadas a partir de extratos verdes contra células tumorais. **Método:** Selecionou-se 21 artigos originais do tipo *in vivo e in vitro* no banco de dados eletrônicos, PubMed e Cochrane, trabalhos publicados nos últimos 5 anos, em inglês, português e espanhol. **Resultados:** A seleção dos artigos mostrou que o tema é atual e recente, sendo que 66% da amostra foram publicados nos últimos três anos. As NPs verdes foram sintetizadas em 76% dos casos a partir de substratos vegetais, 10% de fungos e 9,5% de algas, e o metal de escolha como agente redutor e estabilizador foi o ouro. O efeito citotóxico no tumor foi observado em 95% dos estudos, sendo que a linhagem mais estudada foi carcinoma hepatocelular (HepG2) em 80% dos artigos, seguida de adenocarcinoma de mama (MCF-7) com 38%. A citotoxicidade em nível molecular foi observada pela presença de células apoptóticas, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a diminuição de enzimas anti-apoptóticas. **Conclusão:** As NPs verdes são uma alternativa eficaz no tratamento de câncer.

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

ABSTRACT

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

Keywords: Nanotechnology, Green nanoparticles; Anticancer activity.

RESUMEN

Introducción: Las nanopartículas verdes son sustratos sintetizados a partir de recursos biológicos disponibles en la naturaleza, como vegetales, algas, hongos y bacterias. *Objetivo:* El objetivo del estudio fue revisar la actividad anticancerígena de las NP sintetizadas a partir de extractos verdes contra las células tumorales. *Método:* Se seleccionaron 21 artículos originales in vivo e in vitro en la base de datos electrónica PubMed y Cochrane, trabajos publicados en los últimos 5 años, en inglés, portugués y español. *Resultados:* La selección de artículos mostró que el tema es actual y reciente, habiendo sido publicado el 66% de la muestra en los últimos tres años. Los NP verdes se sintetizaron en el 76% de los casos a partir de sustratos vegetales, el 10% de hongos y el 9,5% de algas, y el metal de elección como agente reductor y estabilizador fue el oro. El efecto citotóxico sobre el tumor se observó en el 95% de los estudios, y la cepa más estudiada fue el carcinoma hepatocelular (HepG2) en el 80% de los artículos, seguida del adenocarcinoma de mama (MCF-7) en el 38%. La citotoxicidad a nivel molecular se observó por la presencia de células apoptóticas, aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) y disminución de enzimas antiapoptóticas. *Conclusión:* Los NP verdes son una alternativa eficaz en el tratamiento del cáncer.

Descriptores: Nanotecnología, nanopartículas verdes; Actividad anticancerígena.

INTRODUÇÃO

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

As nanopartículas podem ser sintetizadas de variadas fontes, quando explorada de recursos biológicos disponíveis na natureza, cuja matéria prima é de origem vegetal, algas, fungos e bactérias, o termo empregado é síntese verde. A nanotecnologia verde, portanto, utiliza produtos químicos com pouco ou nenhuma toxicidade, são biodegradáveis e com custo relativamente baixo, tem por um dos objetivos abordar a sustentabilidade, reduzindo impacto ambiental, econômico e social (SILVA et al., 2017). A síntese verde mediada por plantas é atualmente a mais difundida na literatura, existem inúmeras espécies de

plantas estudadas e conhecidas que foram utilizadas como fontes geradoras de NPs, delas são realizados os extratos aquosos a partir das folhas, das sementes, cascas, flores, frutos, tubérculos e raízes (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010).

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

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

melhorando a eficiência do tratamento e gerando menos efeitos adversos (ARVIZO; BHATTACHARYA; MUKHERJEE, 2010).

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

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

Dessa forma, é de suma importância encontrar estratégias para terapia do câncer, portanto o objetivo

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

METODOLOGIA

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

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

TABELA 1: Critérios de seleção dos artigos.

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

O processo de avaliação da elegibilidade passou por uma etapa de triagem dos artigos, com leitura de título e resumo realizado por um único examinador. A segunda etapa, fase de confirmação, foi realizada por uma dupla de revisores, de maneira independente, e consistiu na leitura completa do manuscrito. Nessa fase, se houvesse discordância sobre o julgamento da elegibilidade entre os revisores, o artigo seria incluído por consenso.

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

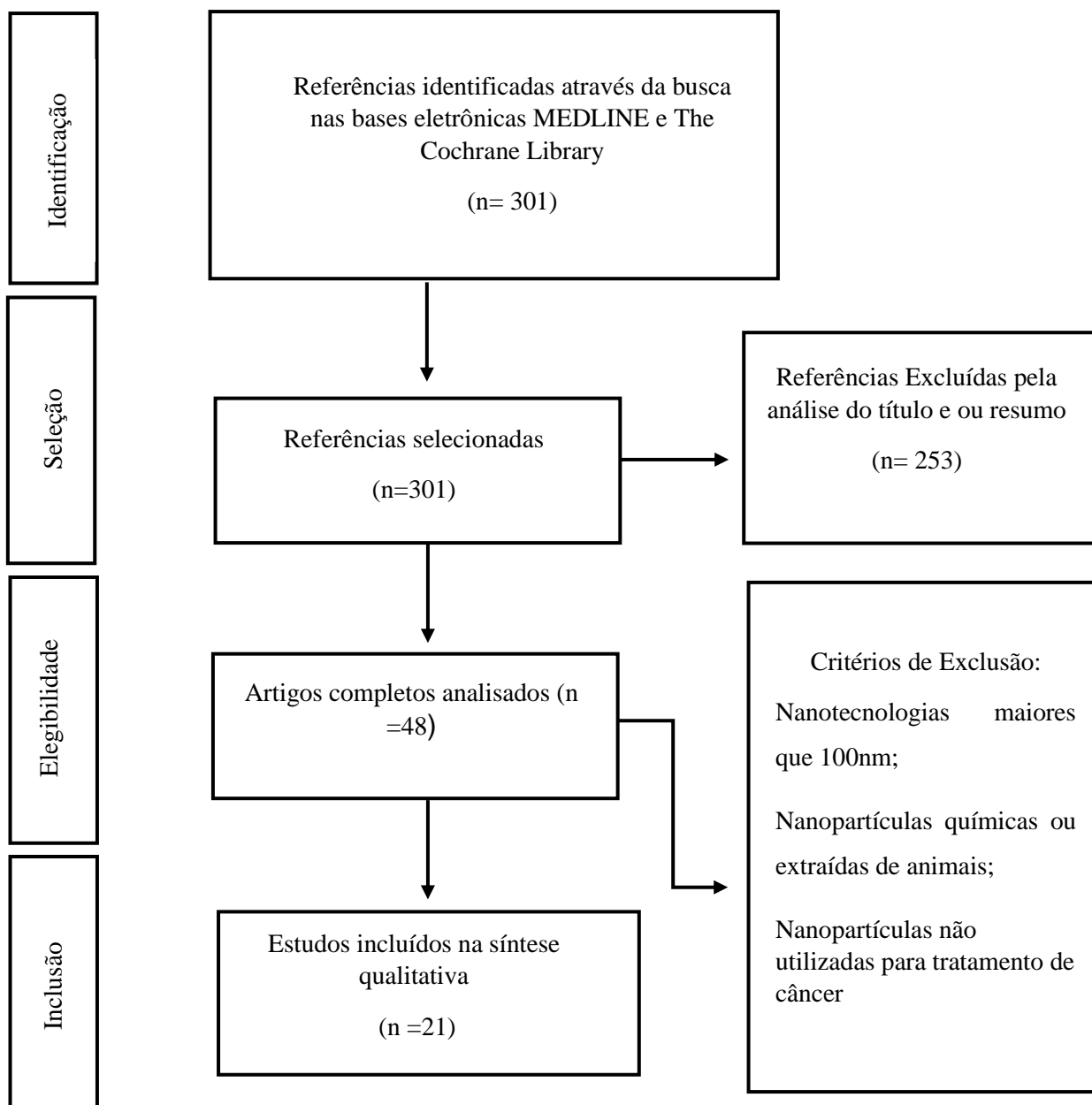
RESULTADO E DISCUSSAO

O levantamento bibliográfico localizou 301 resultados na PubMed e na Cochran. Após a busca nas bases de dados eletrônicas, na fase de seleção, foram excluídos 253 artigos pela análise do título e do resumo. O artigo para ser selecionado precisava seguir

os critérios de inclusão e exclusão, dessa forma foram aceitos 48 artigos para uma análise mais minuciosa.

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

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



A Tabela 2 analisa as principais variáveis dos estudos selecionados, abordando: (1) Estudo, abordando qual análise que foi realizada *in vivo* e ou *in vitro*; (2) Nanopartícula, qual metal foi utilizado para o processo de redução ou estabilização do composto verde; (3) Fonte Biológica Verde, a partir de qual extrato verde foi removido a nanopartícula e qual

o gênero e a espécie; (4) Linhagem de células de câncer, a origem das células tumorais que foi realizado a pesquisa, ou seja, adenocarcinoma ou carcinoma de qual ou quais órgãos; (5) Resultados relevantes, observando a citotoxicidade das nanopartículas nas células tumorais, controle do crescimento dessas.

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

AUTOR / ANO	LOCAL DO ESTUDO	TIPO DE ESTUDO	NPs	FONTE BIOLÓGICA VERDE	LINHAGEM DE CÉLULAS DE CÂNCER	RESULTADOS RELEVANTES
KHOBC HANDAN I <i>et al.</i> , 2020	Estados Unidos	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs	Planta/ <i>Mangifera indica</i>	Células de mama (MCF-7)	Controle de crescimento de tumores nas células
(MAJUM DAR <i>et al.</i> , 2019)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Cítricos Macrópteros</i>	Células de pulmão, mama (MCF-7) e hepático (HepG2)	Eficiente para regular o crescimento de células de carcinoma hepático em menores concentrações quando comparado ao câncer de pulmão e mama
(LI <i>et al.</i> , 2019)	Arábia Saudita	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Marsdenia tenacissima</i>	Células hepáticas (HepG2)	Apoptose de células cancerígenas, aumento de ROS e expressões das proteínas, Bax, caspase-3 e caspase-9; diminuição da expressão das enzimas Bcl-2 e Bcl-XL
(JI; CAO; SONG, 2019)	China	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fungo/ <i>Cordyceps militaris</i>	Células hepáticas (HepG2)	Desenvolve ROS e causa danos ao potencial de membrana mitocondrial nas células HepG2 do carcinoma hepatocelular. Iniciar a apoptose ativando o Bax, Bid, caspases e inibe a ativação anti-apoptótica Bcl-2
(LEE; AHN; PARK, 2019)	Coreia do Sul	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Camellia sinensis</i> ,	Células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS), (HeLa), Células hepáticas (HepG2), e células de colorretal (HT29)	A citotoxicidade de todos os três tipos de células tumorais era dependente da concentração de Au e da forma das nanopartículas. A maior citotoxicidade foi observada para células HepG2
(GHRAM H; KHAN; IBRAHIM , 2019)	Arábia Saudita	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Euphorbia peplus</i>	Adenocarcinoma de células colo epitelial humano (HeLa), células dos hepatócitos (HepG2)	EpExt-AuNPs foram inibitórios contra células HepG2 e Hela
(BOOMI <i>et al.</i> , 2019)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Coleus aromaticus</i>	Células hepáticas (HepG2)	Citotoxicidade significativa contra a linha celular de câncer hepático humano (HepG2)

(KHAND ANLOU <i>et al.</i> , 2018)	Austrália	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Backhousia citriodora</i>	células de mama (MCF-7) e hepáticas (HepG2)	A atividade anticâncer mostrou uma redução dependente da dose significativa na viabilidade da linha celular de câncer de mama MCF-7 e a linha de células HepG2
(ISMAIL <i>et al.</i> , 2018)	Egito	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Corchorus olitorius</i>	carcinoma do cólon HCT-116, carcinoma hepatocelular HepG-2 e adenocarcinoma de mama MCF-7	O melhor desempenho citotóxico dos NPs Au foi nas células do carcinoma hepatocelular seguido do adenocarcinoma da mama (MCF-7) e do carcinoma do cólon (HCT-116)
(EL DOMANY <i>et al.</i> , 2018)	Egito	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fungo/ <i>Pleurotus ostreatus</i>	Células hepáticas (HepG2), células de câncer de próstata (PC3) e câncer de células de cólon (HCT-116).	Causaram uma significativa diminuição na viabilidade celular hepática e do cólon
(DHAYAL AN <i>et al.</i> , 2018)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs/ AgNPs	Planta/ <i>Coleus forskohlii</i>	Células hepáticas (HepG2)	Citotóxica contra células tumorais HEP G2
(OVAIS <i>et al.</i> , 2018)	Paquistão	<i>In vitro</i>	AuNPs/ AgNPs	Planta/ <i>Olax nana . ex Benth.</i>	Células hepáticas (HepG2)	Os valores revelaram potencial citotóxico preferencial de AuNPs, seguido pela AgNPs
(BORAH <i>et al.</i> , 2018)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Syzygium cumini</i>	Células hepáticas (HepG2)	Inibiram efetivamente a proliferação de células HepG2. O valor de IC50 dos AuNPs foi de 20 µg/ml, cerca de quatro vezes maior do que a droga anticâncer padrão, monohidrato de ciclofosfamida (IC50: 4 µg/ml).
(SHANMUGASUN DARAM <i>et al.</i> , 2017)	Índia	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs AgNPs Ag/Au NPs	Bactéria/ <i>Streptomyces nogalater</i>	Células hepáticas (HepG2)	Redução significativa do tumor (45 a 65%) foi observada nos animais tratados com nanopartículas.
(RAJESH KUMAR <i>et al.</i> , 2017)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Alga/ <i>Padina tetrastromatica</i>	Células hepáticas (HepG2) e células de câncer de pulmão (A549)	Houve citotoxicidade nas duas linhagens de células, sendo a atividade máxima de citotoxicidade de 47%

(MUTHU KUMAR <i>et al.</i> , 2016)	Coreia do Sul	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Carica papaya</i> (CP) e <i>Catharanthus roseus</i> (CR)	As células mama (MCF7) e hepática (HepG2)	Morte celular significativamente, cerca de 97,5 e 98,1% contra as células MCF7 e HepG2, respectivamente.
(BALASH ANMUGA M <i>et al.</i> , 2016)	Índia	<i>In vitro/ In vivo</i>	AuNPs	Planta/ <i>Cassia roxburghii</i>	As células mama (MCF7) e hepática (HepG2) e células cervicais de colo do útero (HeLa)	Houve citotoxicidade nas três linhas de células, porém as células HepG21 eram tóxicas em concentração mais baixa em comparação com outras linhas de células.
(AJDARI <i>et al.</i> , 2016)	Malásia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Alga/ <i>Sargassum glaucescens</i>	Linhas celulares cervicais (HeLa), de hepática (HepG2), de mama (MDA-MB-231) e de leucemia (CEM-ss)	Citotóxico significativos para as células cancerosas das linhas celulares HeLa, HepG2, CEM-ss, MDA-MB-231. Efeito citotóxico insignificante para as células epiteliais mamárias humanas normais (MCF-10A)
(PREETA M RAJ <i>et al.</i> , 2016)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Flor/ <i>Tabernaemontana divaricata</i>	Linha celular de mama (MCF-7)	Atividade anticâncer nas células de mama com valor IC50 de mais de 100 µg/ml.
(KUMAR <i>et al.</i> , 2016)	Equador	<i>In vitro</i>	AuNPs	Fruta/ <i>Genipa americana</i>	Células de Pulmão (A-549) e células cervicais de colo do útero (HeLa)	Fraca eficácia antioxidante e nenhuma citotoxicidade contra células cancerígenas
(MATA; NAKKAL A; SADRAS, 2016)	Índia	<i>In vitro</i>	AuNPs	Planta/ <i>Abutilon indicum</i>	Células de câncer de cólon (HT-29)	Citotoxicidade em células de câncer de cólon HT-29, aumentados de espécies reativas de oxigênio e redução simultânea de antioxidantes celulares

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

Pela seleção dos artigos, percebe-se que a terapia com nanopartículas verdes na abordagem do câncer é um tema atual e recente, visto que dos 21 artigos selecionados nesta pesquisa, 14 foram publicados nos últimos três anos. Os estudos ainda estão em fases preliminares, todas as publicações nessa área são análise *in vitro*, e algumas poucas

ampliaram para análise *in vivo*. KHOOBCHANDANI et al. (2020) e SHANMUGASUNDARAM et al. (2017) realizaram experimentos em camundongos e ratos, e KHANDANLOU et al. (2018) além da análise *in vitro*, *in vivo* em camundongos albinos, foi o único que após resultados satisfatórios e aprovação do comitê de ética, realizaram um estudo piloto em

pacientes humanos com câncer de mama, os resultados mostraram que os pacientes tratados com as nanopartículas verdes adjuntas ao tratamento padrão exibiram altíssimo benefícios clínicos quando comparados aos pacientes que tiveram somente o tratamento convencional.

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

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

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

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

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

Nossos resultados mostraram o potencial anticâncer significativo das nanopartículas contra diferentes células cancerígenas, cerca de 95% dos estudos mostraram algum efeito citotóxico no tumor. A linhagem das células tumorais mais estudada foi a de origem hepática, 80% dos artigos avaliaram o resultado das NPs verdes no carcinoma hepatocelular (HepG2), e obtiveram resultados surpreendentes. Em uma pesquisa, concluíram que o câncer hepático é muito sensível ao extrato de folha de *Coleus aromaticus* como síntese de AuNPs, mesmo em baixa concentração (IC50: 31 µg/ml) (BOOMI et al., 2019). Quando comparados com outros tipos de câncer, o HepG2 tem mostrado mais sensibilidade ao tratamento

com NPs verdes (ISMAIL et al., 2018; LEE; AHN; PARK, 2019). O estudo de BALASHANMUGAM et al. (2016) observou que a concentração mínima para inibir o crescimento tumoral de células hepáticas foi de 30 µg/ml, enquanto nas células HeLa e MCF7 eram de 50 µg/ml, portanto, a linha celular HepG2 exibiu maior sensibilidade.

A segunda linhagem de células mais estudada foi adenocarcinoma de mama (MCF-7) em 8 artigos, os resultados mostram uma boa resposta ao tratamento com o extrato verde (AJDARI et al., 2016; BALASHANMUGAM et al., 2016; ISMAIL et al., 2018; MAJUMDAR et al., 2019; MUTHUKUMAR et al., 2016; PREETAM RAJ et al., 2016; KHOOBCHANDANI et al., 2020). KHANDANLOU et al., (2018) concluíram que os resultados anticancerígenos *in vitro* indicaram que as NPs induziram citotoxicidade significativa contra as células MCF-7 sem lesionar as células epiteliais saudáveis.

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

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

diferentes, como a situação do estudo e a habilidade do pesquisador para realizar o ensaio de citotoxicidade.

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

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

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

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

Visando analisar a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS), estresse oxidativo intracelular, os métodos encontrados foram pela análise de fluorescência e a coloração com diacetato de diclorofluoresceína, o que foi possível observar que o extrato biológico induz o desenvolvimento de ROS e causa danos ao potencial de membrana mitocondrial nas células tumorais, levando a morte celular. O estudo comparou as células tumorais com células normais no tratamento com as NPs, e observaram que as primeiras possuíam 1,3 vezes mais captação de

fluorescência devido ao aumento da formação de ROS (MATA; NAKKALA; SADRAS, 2016). As expressões das proteínas no processo de morte celular foram observadas através da análise *Western Blotting*, os resultados mostram que nas células tumorais tratadas com NPs houve um aumento da atividade das proteínas indutoras de apoptose (Bax e caspases) e uma diminuição nas enzimas com ação contrária, anti-apoptótica (Bcl-2 e Bcl-XL) (JI; CAO; SONG, 2019; LI et al., 2019).

Estudos comparam as nanopartículas verdes com o tratamento de drogas convencionais, BORAH et al. (2018) observaram que a inibição de proliferação de células HepG2 foi quatro vezes maior no tratamento convencional quando comparado à NPs, com o IC50 = 4 e 20 µg/ml, respectivamente. Apesar de menor potência, os autores concluíram que a produção de AuNPs no tratamento de neoplasias deve ser mais econômica e biocompatível em comparação com a produção de monohidrato de ciclofosfamida. Outra pesquisa comparou a NP verde com a Vimblastina, medicamento usado no tratamento de câncer, os resultados mostram que a concentração necessária para inibir as células HepG2 apresentou citotoxicidade muito próxima (IC50 de 10,3 µg/ml com NPs versus IC50 de 9,8 µg/ml com Vimblastina). E ressaltaram o bom desempenho citotóxico dos NPs comparáveis com o fármaco quimioterápico (ISMAIL et al., 2018).

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

CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZIZ, M. S.; SHAHEEN, M. S.; EL-NEKEETY, A. A. Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles biosynthesized using *Chenopodium murale* leaf extract. **Journal of Saudi Chemical Society**. v. 18, n. 4, p. 356–363, 2014.
- AJDARI, Z. *et al.* Novel gold nanoparticles reduced by *Sargassum glaucescens*: Preparation, characterization and anticancer activity. **Molecules**. v. 21, n. 3, 2016.
- ALSALHI, M. S.; ALROKAYAN, S. A. Green synthesis, characterization and evaluation of biocompatibility of silver nanoparticles. **Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures**. v. 43, n. 6, p. 1266–1271, 2011.
- ARVIZO, R.; BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, P. Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. p. 753–763, 2010.
- BALASHANMUGAM, P. *et al.* Phytosynthesized gold nanoparticles from *C. roxburghii* DC. leaf and their toxic effects on normal and cancer cell lines. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 165, p. 163–173, 2016.
- BARABADI, H. *et al.* Efficacy of green nanoparticles against cancerous and normal cell lines: a systematic review and. **IET Nanobiotechnology**. n. 1, p. 1–15, 2018.
- BARABADI, H. *et al.* Green nanotechnology-based gold nanomaterials for hepatic cancer therapeutics: A systematic review. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. v. 19, n. 3, p. 3–17, 2020.
- BIRLA, S. S. *et al.* Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**. v. 48, n. 2, p. 173–179, 2009.
- BOOMI, P. *et al.* Biological synergy of greener gold nanoparticles by using *Coleus aromaticus* leaf extract. **Materials Science and Engineering C**. v. 99, n. January, p. 202–210, 2019.
- BORAH, D. *et al.* Starch-templated bio-synthesis of gold nanoflowers for *in vitro* antimicrobial and anticancer activities. **Applied Nanoscience (Switzerland)**. v. 8, n. 3, p. 241–253, 2018.
- DHAYALAN, M. *et al.* Biogenic synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles from *Coleus forskohlii* and their clinical importance. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 183, p. 251–257, 2018.
- EL DOMANY, E. B. *et al.* Biosynthesis physico-chemical optimization of gold nanoparticles as anti-cancer and synergetic antimicrobial activity using *Pleurotus ostreatus* fungus. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. v. 8, n. 5, p. 119–128, 2018.
- GHRAMH, H. A.; KHAN, K. A.; IBRAHIM, E. H. Biological activities of euphorbia peplus leaves ethanolic extract and the extract fabricated gold nanoparticles (AuNPs). **Molecules**. v. 24, n. 7, 2019.
- ISMAIL, E. H. *et al.* Successful green synthesis of gold nanoparticles using a *corchorus olitorius* extract and their antiproliferative effect in cancer cells. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n. 9, p. 1–14, 2018.
- JI, Y.; CAO, Y.; SONG, Y. Green synthesis of gold nanoparticles using a *Cordyceps militaris* extract and their antiproliferative effect in liver cancer cells (HepG2). **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**. v. 47, n. 1, p. 2737–2745, 2019.
- KHANDANLOU, R. *et al.* Synthesis and characterization of gold-conjugated *Backhousia citriodora* nanoparticles and their anticancer activity against MCF-7 breast and HepG2 liver cancer cell lines. **Journal of Materials Science**. v. 53, n. 5, p. 3106–3118, 2018.
- KHOOBCHANDANI, M. *et al.* New approaches in breast cancer therapy through green nanotechnology and nano-ayurvedic medicine – pre-clinical and pilot

human clinical investigations. **International Journal of Nanomedicine**. v. 15, p. 181–197, 2020.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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