

**UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA E
FARMÁCIA CURSO DE FARMÁCIA**

Silvio Augusto Ortolan

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR DE GLIOMA E
DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE OLEORESINAS DE *Capsicum* spp**

**Santa Cruz do Sul
2018**

Silvio Augusto Ortolan

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR DE GLIOMA E
DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE OLEORESINAS DE *Capsicum* spp**

Trabalho de curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Chana de Medeiros da Silva
Coorientadora: Ms. Mariele Kliemann**

**Santa Cruz do Sul
2018**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmã pelo incentivo, compreensão, orientação e força para acreditar não somente nesse trabalho que reúne todo conhecimento profissional que aprendi nessa caminhada, mas por acreditar que minhas escolhas sempre refletiram o que eles esperavam para mim.

A minha orientadora, Prof^a Dra. Chana de Medeiros da Silva, pelo tempo que disponibilizou para direcionar meu caminho nessa pesquisa. Pela inspiração como profissional, docente e pela amizade que construímos nessa vida acadêmica. Que esse seja o começo de muitas outras caminhadas.

A minha coorientadora, Ms. Mariele Klieman, pelo tempo, dedicação e inspiração ao ensinar-me as técnicas de cultivo celular e ensaios de citotoxicidade. Muito obrigado.

A Prof^a Dra. Lia Gonçalves Possuelo, pela compreensão do tempo que necessitei afastar-me das rotinas de bolsista e dos projetos para dedicar a este trabalho de curso.

As amigas Alice Vogt, Gabriela Baierle, Valéria Louzada Leal e Vanessa Hermes, pela ajuda nas metodologias durante todo o trabalho. O apoio de vocês foi essencial. Muito obrigado.

A todos meus primos, em especial Raquel Cristina Ortolan, farmacêutica que apresentou essa linda profissão para mim, fazendo com que eu me interessasse, persistisse e nunca me enganasse nessa escolha. A você, eu agradeço por esse trabalho de forma especial. Muito obrigado.

A todos meus amigos, em especial Felipe Darold, João Pedro Bernardy, Maria Eduarda Drumm, Lucas Tartarelli e Thiago Von Brock, e, que sempre estiveram do meu lado durante esse trabalho e fizeram parte dos momentos de lazer, especialmente nas jantas, na mateada e nos jogos do meu time do coração.

Aos meus amigos do TecnoUnisc, que sempre estiveram disponíveis para ouvir, ajudar e contribuir com meu trabalho. Muito obrigado a todos.

Aos meus colegas de curso de Farmácia e amigos para toda vida, em especial Helena Jacobs e Carolina Marques, por todo apoio, pelas conversas, por escutar os problemas que enfrentamos ao longo dessa jornada, pelos momentos de lazer em que podíamos relaxar a mente, e por estarem sempre acreditando em meu potencial para fazer o melhor trabalho.

RESUMO

Capsicum chinense Jacq e Capsicum frutescens L. são espécies de pimentas que lideram o comércio nacional, com produção acima de 18 mil toneladas por ano. Elas são ricas em capsaicinoides, metabólitos secundários muito estudados por apresentarem atividade antioxidante e antineoplásica. Eles são liberados por dano físico ou processamento, sendo voláteis e pungentes. Este estudo propôs avaliar o teor de compostos fenólicos e da capsaicina, associando a atividade antioxidante e a citotoxicidade em linhagem celular de glioma C6. Os capsaicinoides foram extraídos com metanol pelo método Soxhlet, obtendo oleoresinas concentradas. Foi realizada a quantificação de compostos fenólicos por equivalência em ácido gálico (AGE) e medida a concentração de capsaicina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foi avaliada a atividade antioxidante pelo método da capacidade de absorção do radical peroxila (ORAC) e a citotoxicidade em linhagem celular de glioma C6 pelo ensaio Sulforrodamina B (SRB). As espécies C. frutescens e C. chinense apresentaram 36,312 e 35,374 mg de ácido gálico equivalente (AGE) por grama de oleoresina; 40,917 e 29,801 mg capsaicina por grama de oleoresina; 603,746 e 550,210 μmol de Trolox equivalente (TE) por grama de oleoresina; e $\text{IC}_{50} = 286,15$ e $504,53 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. O padrão capsaicina demonstrou potencial antioxidante 14 vezes maior que as oleoresinas e $\text{IC}_{50} = 135,81 \mu\text{g/mL}$. Houve interferência na viabilidade celular e atividade antioxidante relacionada com a capsaicina e com as oleoresinas, sendo a espécie C. frutescens a que maior apresentou potencial para as análises testadas.

Palavras-chave: Capsicum chinense; Capsicum frutescens; oleoresina; capsaicina; ensaio SRB.

ABSTRACT

Cytotoxicity in glioma cell line and antioxidant capacity of *Capsicum* spp. *Capsicum chinense* Jacq and *Capsicum frutescens* L. are species of peppers that lead the national trade, with production above 18 thousand tons per year. They are rich in capsaicinoids, secondary metabolites largely studied for their antioxidant and antineoplastic activity. They are liberating by physical damage or processing, being volatile and pungent. This study proposed evaluate the content of phenolic compounds and capsaicin, associating antioxidant activity and cytotoxicity in C6 glioma cell line. The capsaicinoids were extracted with methanol by the Soxhlet method, obtaining concentrated oleoresins. The quantification of phenolic compounds by gallic acid equivalence (GAE) and the capsaicin concentration by high performance liquid chromatography (HPLC) were measured. The antioxidant activity was measured by the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) method and the cytotoxicity in the C6 glioma cell line was evaluated by the Sulforhodamine B (SRB) assay. The species *C. frutescens* and *C. chinense* showed 36,312 and 35,374 mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of oleoresin; 40.917 and 29.801 mg capsaicin per gram of oleoresin; 603,746 and 550,210 μmol of Trolox Equivalent (TE) per gram of oleoresin; and $\text{IC}_{50} = 286,15$ and $504,53 \mu\text{g/mL}$, respectively. The capsaicin standard showed antioxidant potential 14 times higher than oleoresins and $\text{IC}_{50} = 135.81 \mu\text{g/mL}$. There was interference in cell viability and antioxidant activity related to capsaicin and to oleoresins, where *C. frutescens* being the one with the greatest potential for the analyzes tested.

Key-words: *Capsicum chinense*; *Capsicum frutescens*; oleoresin; capsaicin; SRB assay.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Quantidade produzida (tonelada) e valor de produção (mil reais) da pimenta, no ano de 2006, no Brasil e suas grandes regiões.	15
Figura 2 – Imagem dos frutos de Capsicum chinense do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado	16
Figura 3 – Imagem dos frutos de Capsicum frutescens do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado	17
Figura 4 – Estruturas do fruto da pimenta do gênero Capsicum	18
Figura 5 – Estrutura molecular básica dos capsaicínoides	19
Figura 6 – Estrutura dos principais capsaicínoides e capsinóides do gênero Capsicum	20
Figura 7 – Rota biossintética da capsaicina	21
Figura 8 – Representação espacial das taxas brutas de incidência de câncer por 100 mil habitantes, estimadas para o ano de 2016, segundo a Unidade da Federação	25
ARTIGO	
Figura 1 – Curva analítica do ensaio de quantificação de compostos fenólicos	43
Figura 2 – Cromatogramas evidenciando o tempo de retenção, a sobreposição com o padrão capsaicina e máximos de absorção no UV para C. chinense e C. frutescens.	46
Figura 3 – Fluorescência relativa dos compostos analisados	49
Figura 4 – Curva analítica do ensaio ORAC	50
Figura 5 – Efeito das diferentes concentrações das oleoresinas e da capsaicina na viabilidade celular	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação por grau dos tipos de tumores das células da Glia	26
ARTIGO		
Tabela 1 –	Quantificação de compostos fenólicos, teor de capsaicina e capacidade antioxidante de <i>C. chinense</i> e <i>C. frutescens</i>	44
Tabela 2 –	Principais citotoxicidades investigadas de espécies de pimentas	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	Radical 2,2'-azobis-(2-metilpropanoamidina)
ACS	Ácido de Cisteína Sulfinico
AGE	Ácido Gálico Equivalente
ANOVA	Análise de Variância
ATCC	American Type Culture Collection
AUC	Area under curve (Área sob a curva)
BAG	Banco Ativo de Germoplasma
CA	Censo Agropecuário
CDO1	Enzima Cisteína Dioxigenase 1
CEASA	Centrais de Abastecimento
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DHC	Di-hidrocapsaicina
DMEM	Dulbecco Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
ELISA	Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay
EROs	Espécies Reativas ao Oxigênio
FCDP	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
FDA	Food and Drug Administration
GAE	Gallic Acid Equivalent
GBM	Glioblastoma multiforme
GC-MS	Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massa
GFAP	Proteína Ácida de Fibrilação Glial
HCB	Herbário da Universidade de Santa Cruz do Sul
HeLa	Adenocarcinoma de colo de útero
HepG2	Carcinoma hepatocitário
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC₅₀	Concentração que inibe 50% do crescimento celular
IDH	Mutações em Isocitrato Desidrogenase
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
LDL	Lipídios de Baixa Densidade
MAP2ab	Proteína 2ab Associada aos Microtúbulos Neurônais
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio
NCI	Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos
NDC	Nordi-hidrocapsaicina
NF-κβ	Fator Nuclear Kappa Beta
NOS	Glioblastomas não especificados
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORAC	Capacidade de Absorção do Radical Peroxila
RFCE	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
RFCE/HER-2	Receptor de Fator de Crescimento Epidermal HER-2
RVPT1	Receptores Vaniloides de Potencial Transitório subtipo 1
SHU	Escala Scoville
SisGen	Sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional

SNC	Sistema Nervoso Central
SRB	Sulforrodamina B
TE	Trolox Equivalente
TecnoUnisc	Parque Científico e Tecnológico Regional da Universidade de Santa Cruz do Sul
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UFCSPA	Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
UNISC	Universidade de Santa Cruz do Sul
USP	United States Pharmacopeia
UV	Ultravioleta
XXT	2,3-bis (2-metóxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino) hidróxido]-2H-hidróxido de tetrazólio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1 Pimentas do gênero Capsicum	14
3.2 Capsaicinóides	18
3.3 Propriedades farmacológicas dos capsaicinóides	22
3.3.1 Propriedades antitumorais	23
3.4 Glioma	24
3.4.1 Testes de citotoxicidade em linhagens celulares	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Tipo de estudo	29
4.2 Local do estudo	29
4.3 Material vegetal	29
4.3.1 Preparo da amostra	30
4.4 Obtenção das oleoresinas.....	30
4.5 Quantificação de compostos fenólicos	30
4.6 Quantificação de capsaicina por CLAE.....	31
6.7 Atividade antioxidante	31
4.8 Atividade antiproliferativa	32
4.8.1 Cultura da linhagem celular	32
4.8.2 Tratamento das culturas	32
4.8.3 Ensaio de citotoxicidade SRB	33
4.9 Análise de dados	33
5 ARTIGO	34

6 CONCLUSÃO	62
7 PERSPECTIVAS	63
REFERÊNCIAS.....	64
ANEXO A – Comprovante de cadastro de acesso do SisGen.....	72
ANEXO B - Normas de publicação para a Revista Brasileira de Plantas Mediciniais	73

1 INTRODUÇÃO

As espécies de pimenta *Capsicum chinense* e *Capsicum frutescens* lideram o comércio nacional, tendo como variedades mais conhecidas a habanero e a malagueta, respectivamente (CARVALHO et al., 2003). A produção em 2006 foi acima de 18 mil toneladas, com um valor estimado em mais de 29 milhões de reais (IBGE, 2006).

Os principais metabólitos secundários são os capsaicinoides, que possuem alta volatilidade e são responsáveis pela pungência do fruto (SANTOS et al., 2009). Eles possuem amidas ácidas de ácidos graxos de cadeia ramificada e um anel aromático homocíclico (DIAZ et al., 2004). Dentre os vinte capsaicinoides identificados, a capsaicina aparece em maior concentração (>90%) (BOSLAND; VOTAVA, 2012).

Estudos comprovam o uso da capsaicina para diversas ações farmacológicas, incluindo propriedades antiproliferativas de tumores (CHOI; JUNG; OH, 2010a; GHOSH; BASU, 2010). A capsaicina induziu a apoptose de células de glioma (AMANTINI et al, 2007) nas linhagens de células U251 (XIE et al., 2016; LIU et al., 2015), A172 (GIL; KANG, 2008) e C6 (QUIAO et al., 2005), porém não há relatos que as oleoresinas com grande teor de capsaicina possam apresentar o mesmo efeito nessas linhagens.

Além disso, as pimentas possuem atividade antioxidante, tendo um efeito benéfico relacionado ao consumo dessa especiaria. Ela atua como agente sequestrador de radicais livres, contribuindo de maneira positiva na prevenção de doenças hepáticas, doenças neurológicas degenerativas e na metástase cancerígena (DAIRAM et al., 2008; MANJUNATHA; SRINIVASAN. 2006).

O câncer do sistema nervoso (SNC) central tem uma incidência estimada de 5,62 casos novos a cada 100 mil homens e 5,17 casos novos para cada 100 mil mulheres no Brasil para cada ano do biênio 2018-2019. Os gliomas representam de 40 a 60% dos tumores primários do SNC, sendo mais comuns em adultos (INCA, 2017). O tratamento é longo e a taxa de sobrevida é de até 12 meses (LOUIS et al., 2007). Um dos antineoplásicos mais utilizados no tratamento deste câncer é o fármaco temozolomida, que pode aumentar a sobrevida dos pacientes em 27% dos casos (HEGI et al., 2005). Há estudos de drogas novas e novos alvos terapêuticos (OMURO; ANGELIS, 2013; PRABHU et al., 2013), porém não há relatos da eficiência clínica deles. O uso de oleoresinas ricas em capsaicinoides como adjuvante ao tratamento da temozolomida é pouco conhecido ou não documentado (XIE et al, 2016; VILLANO; SEERY; BRESSLER, 2009).

O estudo realizado avaliou a atividade antioxidante e antiproliferativas destas oleoresinas em linhagem celular de glioma C6, através do teste colorimétrico Sulforrodamina B (SRB) e correlacionou essas atividades com o teor de capsaicina, medido por equivalência de fenóis totais e por cromatografia líquida de alta eficiência.

Este estudo contribui de maneira significativa na descoberta de propriedades naturais que possibilitem melhorar a qualidade de vida dos pacientes, aumentar a taxa de sobrevida e até mesmo promover a cura dessa enfermidade.

REFERÊNCIAS

ACUNHA, Tanize dos Santos. Variabilidade metabólica das pimentas (*Capsicum* spp.): destaque para capsaicínoides CLAE/FL/EM/EM. 2013. 72 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

ALTIERI, R et al. Molecular biology of gliomas: present and future challenges. *Translational Medicine at UniSA*, v.10, n.7, p.29-37, 2014.

AMANTINI, C. et al. Capsaicin-induced apoptosis of glioma cells is mediated by TRPV1 vanilloid receptor and requires p38 MAPK activation. *Journal of Neurochemistry* n.102, p.977-990, 2007.

AMRUTHRAJ, N. J. et al. In vitro studies on anticancer activity of capsaicinoids from *Capsicum chinense* against human hepatocellular carcinoma cells. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v.6, n.4, p.253-258, 2014.

ANTONIUSOS, G. F.; JARRET, R. L. Screening *Capsicum* accessions for capsaicinoids content. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, v.41, p.717-729, 2006.

ANTONIUSOS, G. F. et al. Pungency in *Capsicum chinense*: Variation among countries of origin. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, v.44, p.179-184, 2009.

BARBIERI, R. L. et al. *Capsicum* gene bank of Southern Brazil. *Acta Horticulturae*, The Hague, n.745, p.319-322, 2007.

BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S. Pimentas do gênero *Capsicum* – cor, fogo e sabor. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. *Origem e evolução de plantas cultivadas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p.727-745.

BENNETT, D.J.; KIRBY, G.W. Constitution and biosynthesis of capsaicin. *Journal of the Chemical Society*, p.442-446, 1968.

BENSON, V.S. et al. Authors' response to: The case of acoustic neuroma: comment on mobile phone use and risk of brain neoplasms and other cancers. *International Journal of Epidemiology*, v.43, n.1, p.275, 2014.

BERNAL, M. A. Capsaicin oxidation by peroxidase from *Capsicum annum* (Var. *annuum*) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.41, p.1041-1044, 1993.

BERRINGTON, D.; LALL, N. Anticancer Activity of Certain Herbs and Spices on the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v.2012, p.1-11, 2012.

BLANDO, F. et al. Polyphenolic composition and antioxidant activity of the under-utilised *Prunus mahaleb* L. fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, n.96, p.2641-2649, 2015.

BONTEMPO, Márcio. Pimenta e seus benefícios. 1.ed. São Paulo: Alaúde Editorial, 2007.

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. Peppers: Vegetable and spice Capsicum. 2. ed. New York: CABI Publishing, 2012.

CARVALHO, S. I. C. et al. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (Capsicum spp.) da Embrapa Hortaliças. Brasília: Embrapa, 2003.

CHOI, C. H.; JUNG, Y. K.; OH, S. H. Selective induction of catalase-mediated autophagy by dihydrocapsaicin in lung cell lines. Free Radic. Free Radical Biology & Medicine. v.49, p.245-257, 2010a.

CHOI, C.H.; JUNG, Y. K.; OH, S. H. Autophagy induction by capsaicin in malignant human breast cells is modulated by p38 and ERK mitogen-activated protein kinases and retards cell death by suppressing endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. Molecular Pharmacology. v.78, p.114-125, 2010b.

COLLINS, M. D. Improved Method for Quantifying Capsaicinoids in Capsicum Using High-performance Liquid Chromatography. Hort Science, v.30, n.1, p.137-139, 1995.

COSTA, C. S. R.; HENZ, G. P. (Org.) Pimentas Capsicum spp. Botânica. Sistemas de Produção 2. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/botanica.html> Acesso em: 05 set. 2017.

DAIRAM, A. et al. Antioxidant and iron-binding properties of curcumin, capsaicin, and s-allylcysteine reduce oxidative stress in rat brain homogenate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.56, p.3350-3356, 2008.

DEEPA, N. et al. Antioxidant constituents in some sweet pepper (Capsicum annuum L.) genotypes during maturity. LWT – Food Science and Technology, v.40, n.1, p.121-129, 2007.

DÍAZ, J. et al. Peroxidases and the metabolism of capsaicin in Capsicum annuum. Phytochemistry Reviews, v. 3, n. 1-2, p. 141-157, 2004.

DOU, D. et al. Tumor cell growth inhibition is correlated with levels of capsaicin present in hot peppers. Nutrition and Cancer, v.63, n.2, p.272-281, 2011.

DUARTE, C. et al. Supercritical fluid extraction of red pepper (Capsicum frutescens L.). The Journal of Supercritical Fluids, v.30, n.2, p.155-61, 2004.

DWIVEDI, V. et al. Cytotoxic potential of Indian spices (Extracts) against esophageal squamous carcinoma cells. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v.12, p.2069-2073, 2011.

ESTRADA, B. et al. Capsaicinoids in vegetative organs of Capsicum annuum L. in relation to fruiting. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, n.5, p.1188–1191, 2002.

FLOTA, F. V et al. La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. Revista Fitotecnia Mexicana, v.30, n.4, p.353-360, 2007.

FONSECA, R. M. et al. Morphologic characterization and genetic diversity of Capsicum chinense Jacq. accessions along the upper Rio Negro–Amazonas. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v.8, p.187-194, 2008.

FREI, P. et al. Use of mobile phones and risk of brain tumours: update of Danish cohort study. British Medical Journal, v. 343, p.1-9, 2011.

FURTADO, A. A. L.; SILVA, F. T. 1 ed. Manual de Processamento de Conserva de Pimenta. Rio de Janeiro: Embrapa, 2005.

GERNER, P. et al. Capsaicin combined with local anesthetics preferentially prolongs sensory/nociceptive block in rat sciatic nerve. Anesthesiology, n.109, p.872-878, 2008.

GHOSH, A. K.; BASU, S. Fas-associated factor 1 is a negative regulator in capsaicin induced cancer cell apoptosis. Cancer Letters, v.287, p.142-149, 2010.

GIL, Y. G.; KANG, M. K. Capsaicin induces apoptosis and terminal differentiation in human glioma A172 cells. Life Sciences, v.82, p.997-1003, 2008.

GREER, L. Pimentos & Companhia. 1.ed. Lisboa: Lisma - Edição e Distribuição de Livros Ltda, 2006.

HARPER, A. G.; BROWNLOW, S. L.; SAGE, S. O. A role for TRPV1 in agonist-evoked activation of human platelets. Journal of Thrombosis and Haemostasis, v.7, p.330-338, 2009.

HEGI, M. E et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. New England Journal of Medicine, v.352, n.10, p.997-1003, 2005.

HENRIKSSON, E. et al. Differences in estimates of cisplatin-induced cell kill in vitro between colorimetric and cell count/colony assays. In vitro cellular & developmental biology. Animal, v.42, p.320-323, 2006.

HOUGHTON, P. et al. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. Methods, v.42, n.74, p.377-387, 2007.

HOWARD, L. R. et al. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (Capsicum species) as influenced by maturity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.48, n.5, p.1713-1720, 2000.

HOWARD, L. R.; WILDMAN, R. E. C. Handbook of nutraceuticals and functional foods. 2.ed. New York: Boca Raton, 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. SIDRA – Sistema IBGE de recuperação automática. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em: 21 ago. 2017.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018 – Incidência de câncer no Brasil. Ministério da Saúde, Rio de Janeiro: INCA, 2017.

- ITO, K. et al. Induction of apoptosis in leukemic cells by homovanillic acid derivative, capsaicin, through oxidative stress: implication of phosphorylation of p53 at Ser-15 residue by reactive oxygen species. *Cancer Research* v.64, p.1071-1078, 2004.**
- IWAI, K. et al. Intracellular localization of the capsaicinoid synthesizing enzyme in sweet pepper fruits. *Agricultural and biological chemistry*, v.42, n.1, p.201-202, 1978.**
- JOO, J. I. et al. Proteomic analysis for antiobesity potential of capsaicin on white adipose tissue in rats fed with a high fat diet. *Journal of Proteome Research*, v.9, p.2977-2987, 2010.**
- KNOTKOVA, H.; PAPPAGALLO, M.; SZALLASI, A. Capsaicin (TRPV1 agonist) therapy for pain relief: farewell or revival? *The Clinical Journal of Pain*, v.24, p.142-154, 2008.**
- KOBATA, K. et al. T. Novel capsaicinoid-like substances, capsiate and dihydrocapsiate, from the fruits of a nonpungent cultivar, CH-19 Sweet, of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.46, p.1695–1697, 1998.**
- KOBATA, K. et al. Nordihydrocapsiate, a new capsinoid from the fruits of a nonpungent pepper, *Capsicum annuum*. *Journal of Natural Products*, v.62, p.335–336, 1999.**
- KONCZAK, I. et al. Antioxidant capacity and phenolic compounds in commercially grown native Australian herbs and spices. *Food Chemistry*, v.122, p.260-266, 2010.**
- KOREL, F. et al. Ground red peppers: capsaicinoids content, Scoville scores, and discrimination by an electronic nose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.50, p.3257-3261, 2002.**
- LAW V. et al. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Research*, n.42, p.D1091-D1097, 2014.**
- LEE, Y. S. et al. Involvement of NADPH oxidase-mediated generation of reactive oxygen species in the apoptotic cell death by capsaicin in HepG2 human hepatoma cells. *Free Radical Research* v.38, p.405-412, 2004.**
- LEUNG, F. W. Capsaicin-sensitive intestinal mucosal afferent mechanism and body fat distribution. *Life Science*, v.83, p.1–5, 2008.**
- LIDE, D. R.; MILNE, G.W.A. Handbook of data on organic compounds - Volume I. 3.ed. Florida: CRC Press, 1994, 5658p.**
- LIU, Y. et al. Inhibitory effects of black pepper (*Piper nigrum*) extracts and compounds on human tumor cell proliferation, cyclooxygenase enzymes, lipid peroxidation and nuclear transcription factor-kappa-B. *Natural Product Communications*, v.5, n.8, p.1253-1257, 2010.**
- LIU, Y. P. et al. Role of autophagy in capsaicin-induced apoptosis in U251 glioma cells. *Cellular and Molecular Neurobiology*, v.36, n.5, p.737-43, 2015.**
- LOUIS, D. N. et al. The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*, v.114, p.97-109, 2007.**

- LOUIS, D. N. et al. The 2016 WHO of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathologica, v.131, p.803-20, 2016.**
- MADAIL, J. C. M. et al. Economia da produção de pimenta vermelha no município de Turuçu-RS. Pelotas: Embrapa, 2005.**
- MAHER, E. A. et al. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. Genes & Development, v.15, p.1311–1333, 2001.**
- MANJUNATHA, H.; SRINIVASAN, K. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepato-toxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. The FEBS Journal., v.273, p.4528-4537, 2006.**
- MAZIDA, M. M. et al. Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). Journal of Food Composition and Analysis, v.18, p.427-437, 2005.**
- MEGHAVANSI, M. K. et al. Naga chilli: A potential source of capsaicinoids with broad-spectrum ethnopharmacological applications. Journal of Ethnopharmacology. v.132, n.1, p.1-14, 2010.**
- MELO, C. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de pimentas *Capsicum chinense* (bode), *Capsicum baccatum* variedade *praetermissum* (cumari) e *Capsicum frutescens* (malagueta). Enciclopédia Biosfera, v.7, n.12, p.1-6, 2011.**
- MENDES, G. A.; ONGARATII, B. R.; PEREIRA-LIMA, J. F. S. Epidemiologia de uma série de tumores primários do sistema nervoso central. Arquivo Brasileiro de Neurocirurgia, v.33, n.4, p.279-283, 2014.**
- MONKS, A. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. Journal of the National Cancer Institute, v.5, n.83, p.757-66, 1991.**
- MORI, A. L. et al. Capsaicin, a component of red peppers, inhibits the growth of androgenindependent, p53 mutant prostate cancer cells. Cancer Research, v.66, p.3222-3229, 2006.**
- MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods, v.65, p.55-63, 1983.**
- NARASIMHA PRASAD, C.T. et al. Characterization of capsaicin synthase and identification of its gene (*csy1*) for pungency factor capsaicin in pepper (*Capsicum* sp.) Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), v.103, p.13315-13320, 2006.**
- NEITZKE, R. S. et al. Caracterização morfológica e estimativa da distância genética de acessos de pimenta do banco ativo de germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado. Pelotas: Embrapa, 2014.**

OHGAKI, H; KLEIHUES, P. The definition of primary and secondary glioblastoma. Clinical Cancer Research, v.19, p.764–772, 2012.

OMURO, A.; ANGELIS, L. M. D. Glioblastoma and other malignant gliomas. A clinical review. Journal of the American Medical Association, v.310, n.17, p.1842-1850, 2013.

O'NEIL, M. J. (ed.). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2013. 308p.

OSTROM, Q. T. et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. Neuro-Oncology, v.16, n.7, p.896-913, 2014.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of Agricultural and Food Chemistry, n.49, p.4619-4626, 2001.

PEÑA- ALVAREZ, A.; RAMÍREZ- MAYA, E.; ALVARADO-SUÁREZ, L. A. Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A., n.1216, p.2843-2847, 2009.

PENG, J.; LI, Y. J. The vanilloid receptor TRPV1: role in cardiovascular and gastrointestinal protection. European Journal of Pharmacology, v.627, p.1-7, 2010.

PERUCKA, I.; OLESZEK, W. Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. Food Chemistry, v.71, p.287-291, 2000.

PETER, K. V. (Ed.). Handbook of herbs and spices – volume 3. 1.ed. England, Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006.

PINO, J. et al. Characterization of total capsaicinoids, colour and volatile compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack.) cultivars grown in Yucatan. Food Chemistry, v.104, p.1682-1686, 2007.

PRABHU, A. et al. Cysteine catabolism: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma growth. Cancer Research, v.74, n.3, p.787-96, 2013.

PRAMANIK K. C.; BOREDDY, R. S.; SRIVASTAVA, S. K. Role of mitochondrial electron transport chain complexes in capsaicin mediated oxidative stress leading to apoptosis in pancreatic cancer cells. PLoS One 6, v.6, n.5, p.1-16, 2011.

QIAO, S. et al. Involvement of peroxynitrite in capsaicin-induced apoptosis of C6 glioma cells. Neuroscience Research, v.51, p.175–183, 2005.

REINBACH, H. C. et al. Effects of capsaicin, green tea and CH-19 sweet pepper on appetite and energy intake in humans in negative and positive energy balance. The American Journal of clinical nutrition, v.28, p.260-265, 2009.

REIFSCHNEIDER, Francisco José Becker (org). Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil. 1 ed. Brasília: Embrapa, 2000.

RIBEIRO, C. S. C et al. Pimentas Capsicum. 1.ed. Brasília: Embrapa, 2008.

RUFINO, J. L. S.; PENTEADO, D. C. S. Importância econômica, perspectivas e potencialidades do mercado para pimenta. Informe Agropecuário, v.27, n.235, p.7-15, 2006.

SANCHO, R. et al. Immunosuppressive activity of capsaicinoids: capsiate derived from sweet peppers inhibits NF-kappaB activation and is a potent antiinflammatory compound in vivo. European Journal of Immunology, v.32, p.1753-1763, 2002.

SANTOS, Verónica Sofia Figueiredo. Caracterização morfológica e determinação da pungência em pimentas picantes. 2009. 114 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônoma – Produção Agrícola Tropical) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

SIMÕES, Livia de Souza. Extração e caracterização de oleorresina de Capsicum obtida a partir de pimentas malagueta (Capsicum frutescens) e dedo-de-moça (Capsicum baccatum var.pendulum). 2014. 79 f. Dissertação (Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos-Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. Journal of the National Cancer Institute, v.82, p.1107-1112, 1990.

SORA, G. T. S. et al. A comparative study of the capsaicinoid and phenolic contents and in vitro antioxidant activities of the peppers of the genus Capsicum: an application of chemometrics. Journal of Food Science and Technology, v.52, p.8086-8094, 2015.

SOUZA, P. T.; ROSSI, A. V. Determinação espectrofotométrica indireta de capsaicinoides em pimentas Capsicum a partir da reação com o complexo de Co (II) com 4-(2-piridilazo) resorcinol. Química Nova, v.37, n.4, p.631-637, 2014.

SU, L. et al. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry, v.100, p.990-997, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of Prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. Journal of the Science of Food and Agriculture., v.10. p.63-68, 1959.

THAPA, B. et al. High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Capsaicin Content in 16 Capsicum Fruits from Nepal. Journal of medicinal food, v.12, p.908-913, 2009.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. Journal of Chromatography B, v.812, p.85-99, 2004.

THOENNISSEN, N. H. et al. Capsaicin causes cell-cycle arrest and apoptosis in ER-positive and -negative breast cancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway. Oncogene, n.29, p.285-296, 2010.

TOPUZ, A.; OZDEMIR, F. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal Food Composition and Analysis*, v.20, n.7, p.596-602, 2007.

USP, United States Pharmacopeia and National Formulary. Volume Section 2, p. 2109-2113, 2014.

VILLANO, J. L.; SEERY, T. E.; BRESSLER, L. R. Temozolomide in malignant gliomas: current use and future targets. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*, n.64, p.647-655, 2009.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.4, p.1209-1214, 2011.

WAHYUNI, Y. et al. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochemistry*, v.72, p.1358-1370, 2011.

WEAST, R. C. (ed.). Handbook of Chemistry and Physics. 60.ed. Florida: CRC Press., 1979, 237p.

XIE, L. et al. Capsaicin and dihydrocapsaicin induce apoptosis in human glioma cells via ROS and Ca²⁺ mediated mitochondrial pathway. *Molecular Medicine Reports*, v.14, p.4198-4208, 2016.

YAMAMOTO, S.; NAWATA, E. *Capsicum frutescens* L. in southeast and east Asia and its dispersal routes into Japan. *Economic Botany*. v.59, p.18-28, 2005.

YANG, Z. H. et al. Capsaicin mediates cell death in bladder cancer T24 cells through reactive oxygen species production and mitochondrial depolarization. *Urology*, v.75, p.735-741, 2010.

ZHANG, J. et al. Capsaicin inhibits growth of adult T-cell leukemia cells. *Leukemia Research*, v.27, p.275-283, 2003.