

Potencial Citotóxico de Extratos de *Myrciaria sp.* em Células de Hepatocarcinoma Humano (HepG2)

Sheila Mariele Immich¹, Shanna Bitencourt², Márcia Inês Goettert²

¹Laboratório de Cultura de Células, Curso de Graduação em Biomedicina, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS, Brasil

²Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS, Brasil

Article history

Received:

Revised:

Accepted:

*Corresponding Author:
Sheila Mariele Immich,
Centro Universitário
UNIVATES, Lajeado/RS,
Brasil
Email: simmich@univates.br

Abstract: The high incidence and aggressiveness of hepatocellular carcinoma has a global impact on public health. The low efficacy of conventional chemotherapy combined with adverse effects and resistance have encouraged the search for more effective treatments with more selective alternative drugs. Medicinal plants contain substances derived from secondary metabolism of high therapeutic potential, especially for the treatment of cancer. In Brazil, the genus *Myrciaria* O.Berg (Myrtaceae) is among the groups of plants most used for food and medicinal purposes. Its therapeutic potential is attributed to high molecular diversity, with different active compounds. Therefore, the aim of this study was to evaluate the *in vitro* cytotoxic potential of the aqueous, ethanol and hexane extracts of *Myrciaria sp.* against human hepatocarcinoma cell line (HepG2). Cell viability was performed by MTT method and cytotoxicity was assessed by *Trypan blue* exclusion method. In both assays, the aqueous extract showed no activity against HepG2 cell line. In contrast, ethanol and hexane extracts showed cytotoxic potential, with IC₅₀ 123.9 and 86.4 µg/mL, respectively. Further studies are being carried out to better evaluate the pathways and mechanisms of these extracts.

Keywords: Cancer; HepG2; Cytotoxicity; Medicinal Plants.

Introdução

O câncer de fígado está entre os tumores mais agressivos, sendo a segunda maior causa de morte por câncer em todo mundo. Em 2012 foi responsável por mais de 700.000 mortes, representando um grande impacto na saúde pública mundial (OMS, 2014). O tumor primário de carcinoma hepatocelular (CHC) é a neoplasia maligna de fígado mais comum encontrado em adultos e também a mais invasiva. A combinação de quimioterápicos como doxorubicina, cisplatina e 5-fluoracil tem sido muito utilizada para o tratamento do hepatocarcinoma (Balogh et al., 2016). No entanto, o mecanismo de resistência ao câncer, como à regulação positiva da proteína de resistência a múltiplos fármacos (MDR) e a diminuição das proteínas apoptóticas, são o

principal problema no tratamento do CHC (Chen et al., 2007). Assim, faz-se importante a busca por drogas alternativas, que possam agir em substituição ou associação aos compostos tradicionalmente utilizados na clínica médica.

A avaliação da toxicidade é um importante parâmetro a ser analisado, tanto na relação de compostos nocivos para saúde, como na busca por moléculas inovadoras, como por exemplo, no desenvolvimento de drogas anticarcinogênicas. Os testes de citotoxicidade *in vitro* são amplamente utilizados, demonstrando a capacidade de uma substância em promover alterações metabólicas nas células em cultura, podendo resultar ou não em morte celular. As linhagens celulares derivadas de câncer humano são modelos mais utilizados para estudar a biologia do câncer e testar hipóteses que possam vir a

melhorar a eficácia do tratamento, uma vez que a informação genética do organismo pode ser mantida (Gillet; Varma; Gottesman, 2013).

Os produtos naturais, incluindo plantas, animais e minerais têm sido a base do tratamento, cura e prevenção de doenças humanas durante séculos, desempenhando um papel importante no bem-estar da população global. As investigações realizadas com diferentes espécies vegetais resultaram na descoberta de diversos compostos com propriedades terapêuticas, os quais fazem parte da estrutura química da maioria dos medicamentos disponíveis hoje no mercado (Lahlou, 2013). Conforme a revisão de Newman e Cragg (2016), os produtos naturais estão presentes em 75% das drogas lançadas nos últimos 30 anos e contribuíram com o desenvolvimento de cerca de 80% das drogas anticancerígenas.

No Brasil, o gênero *Myrciaria* O.Berg (Myrtaceae), está entre os grupos de plantas mais utilizados para fins alimentícios e medicinais. Seu potencial terapêutico é atribuído à alta diversidade molecular, com diferentes componentes ativos incluindo os compostos fenólicos, como taninos, flavonoides, antocianinas, entre outros (Borges; Conceição; Oliveira, 2013). As atividades biológicas relatadas para os extratos de frutos, folhas, caule, e semente das plantas de *Myrciaria sp.* incluem efeitos anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano e antifúngico, assim como propriedades medicinais para o tratamento de diabetes e obesidade (Borges; Conceição; Oliveira, 2013; Bailão et al., 2015). A maioria dos estudos têm se concentrado nas espécies *Myrciaria cauliflora*, *Myrciaria dubia* e *Myrciaria vexator*, as quais revelaram uma grande similaridade química e com propriedades medicinais. Desta forma, é promissora a realização de estudos com outras espécies desse gênero para a descoberta de novas moléculas com importância biológica (Borges; Conceição; Oliveira, 2013).

Considerando a necessidade na busca de novos agentes para o tratamento de hepatocarcinoma e o potencial terapêutico atribuído a espécies do gênero *Myrciaria*, foi proposto neste trabalho investigar o potencial citotóxico de extratos de *Myrciaria sp.* em linhagem celular de hepatocarcinoma humano (HepG2).

Material e Métodos

Material vegetal

O material vegetal composto por folhas de *Myrciaria sp.* foi coletado no município de Lajeado, Rio Grande do Sul. A excisada do espécime coletado, contendo caule, folhas, flores e frutos, encontra-se depositada no Herbário do Centro Universitário UNIVATES (HVAT).

A preparação dos extratos foi seguida pela metodologia proposta por Simões e col. (2010). As folhas foram desidratadas e secadas por 24 h a 40 °C em

estufa com ar circulante. Posteriormente, foram trituradas, pesadas e igualmente divididas para o preparo dos diferentes extratos.

Extração em Solução Aquosa

O extrato aquoso (MAQ) foi extraído por decocção, onde as folhas secas foram colocadas em água a 70 °C por 120 min. Em seguida, o extrato obtido foi filtrado e secado em rota-evaporador a 40 °C. O extrato seco adquirido foi solubilizado em água ultrapura a uma concentração de 20 mg/mL e armazenado à - 20 °C.

Extração em Solução Etanólica

A porção em contato com o álcool etílico 90% ficou acondicionada durante sete dias. Após este período, o material obtido foi filtrado por sistema a vácuo e então submetido a uma extração em rota-evaporador a 40 °C. Ao final, o extrato etanólico (MEtOH) obtido foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 20 mg/mL e armazenado à - 20 °C.

Extração em Solução Hexânica

O extrato hexânico (MHEX) foi obtido por maceração estática. As folhas ficaram em contato com o solvente hexânico por 14 dias, sendo realizada uma filtração à vácuo a cada 72 h. Em seguida, o extrato foi submetido a uma extração em rota-evaporador à 40 °C. O extrato seco adquirido foi solubilizado em DMSO a uma concentração de 20 mg/mL e armazenado à - 20 °C.

Linhagem Celular e Tratamento

A linhagem celular de hepatocarcinoma humano (HepG2) foi doada pelo prof. Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira, do Laboratório de Pesquisa em Biofísica Celular e Inflamação da PUCRS. As células foram cultivadas em garrafas de cultura com meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), suplementadas com 10% de soro fetal bovino (SFB), 0,006 % penicilina e 0,01 % de sulfato de estreptomicina a 37 °C em atmosfera de 5 % de CO₂ e 90 % de umidade.

As células foram tratadas com os extratos MAQ, MEtOH e MHEX em diferentes concentrações (25; 50; 100 e 200 µg/mL), por 48 h.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata independentes.

Viabilidade Celular

A avaliação da viabilidade celular *in vitro* foi realizada através do método colorimétrico de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), descrito por Mosmann (1983), com algumas modificações. O método de MTT baseia-se na redução de sais tetrazólicos em cristais de formazan por

desidrogenases mitocondriais metabolicamente ativas (células viáveis). Para o ensaio foi utilizado uma concentração de 5×10^3 células/poço em placas de 96 poços. Após o período de tratamento, foi adicionado uma solução de 10% de MTT (0,5 mg/mL) por 3 h e em seguida, realizada a leitura da absorbância (570 nm) através do leitor de microplacas SpectraMax i3.

Citotoxicidade Celular

O método de exclusão por azul de Trypan (Sigma) foi utilizado para a avaliação da integridade da membrana celular. O azul de Trypan tem como função corar as células mortas, permanecendo translúcidas as células vivas (que não absorveram o corante). Para este ensaio utilizou-se uma concentração de 5×10^4 células/poço em placas de 48 poços. Após o período de incubação com os respectivos tratamentos, as células viáveis foram contadas em câmara de Neubauer.

Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados através do método estatístico Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas com o software *GraphPad Prism 6*, adotando nível de significância de $p \leq 0,05$.

Resultados

Viabilidade Celular

A análise da viabilidade celular foi realizada pelo método de MTT, onde, inicialmente testou-se os extratos na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$. Apenas MAQ não apresentou atividade sobre a viabilidade das células HepG2, quando comparado com o controle, após 48 h de tratamento. Diferentemente, MEtOH e MHEX diminuíram significativamente a viabilidade celular em $45,8 \pm 2,7\%$ e $44,2 \pm 2,2\%$ respectivamente, como observado na Fig. 1. Desta forma, procedeu-se com a avaliação dos extratos etanólico e hexânico nas demais concentrações propostas (25-200 $\mu\text{g/mL}$). O extrato MEtOH resultou na diminuição significativa da viabilidade celular em todas as concentrações testadas ($p < 0,0001$) quando comparado ao controle, com IC_{50} de 152,52 $\mu\text{g/mL}$. Interessantemente, todas as concentrações do extrato apresentaram o mesmo efeito sobre a viabilidade, diminuindo-a em torno de 40-50% “Fig. 2”. Já o extrato hexânico demonstrou um efeito dose-dependente, sendo o IC_{50} de 176,79 $\mu\text{g/mL}$. De acordo com a Fig. 3, apenas as concentrações mais altas (100 e 200 $\mu\text{g/mL}$) apresentaram redução significativa da viabilidade celular ($76,7 \pm 3,3\%$ e $44,2 \pm 1,9\%$, respectivamente).

Citotoxicidade Celular

Os resultados da contagem direta com azul de Trypan foram semelhantes aos do ensaio de MTT, sendo que apenas o extrato MAQ (200 $\mu\text{g/mL}$) não apresentou efeito sobre a viabilidade celular. Segundo a Fig. 4, as células tratadas com esse extrato não sofreram alteração quando comparadas as células controle. Já os extratos MEtOH e MHEX (200 $\mu\text{g/mL}$) apresentaram alta citotoxicidade ($p < 0,0001$). Dessa forma, foram realizadas novas análises com concentrações crescentes desses extratos. A Fig. 5 apresenta que o extrato MEtOH possui citotoxicidade em todas as concentrações testadas ($p < 0,0001$), com IC_{50} de 123,9 $\mu\text{g/mL}$. Enquanto que o extrato MHEX é citotóxico apenas nas concentrações de 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ (IC_{50} 86,36 $\mu\text{g/mL}$), sem afetar a viabilidade das células nas outras concentrações “Fig. 6”. Ambos os dados estão de acordo com os resultados prévios com o ensaio de MTT.

Ainda, no ensaio de citotoxicidade as células foram fotografadas em microscópio invertido, após as 48 h de tratamento com os três extratos na concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$. Nas imagens obtidas “Fig 7” é possível observar que o extrato MAQ não interfere na viabilidade das células. Já o tratamento com os extratos MEtOH e MHEX apresentam uma redução do número e tamanho das células.

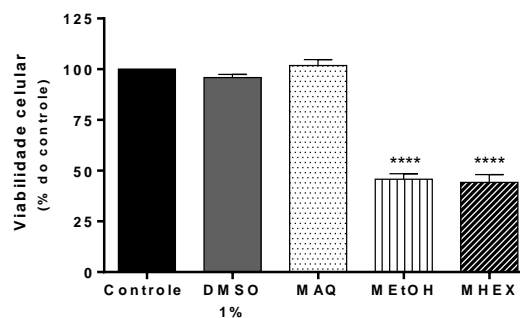


Fig. 1. Viabilidade de células HepG2 tratadas com 200 $\mu\text{g/mL}$ de extratos de *Myrciaria sp.* por 48 h e avaliadas pelo método de MTT. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). **** $p < 0,0001$, comparado ao Controle. MAQ, extrato aquoso; MEtOH, extrato etanólico; MHEX, extrato hexânico.

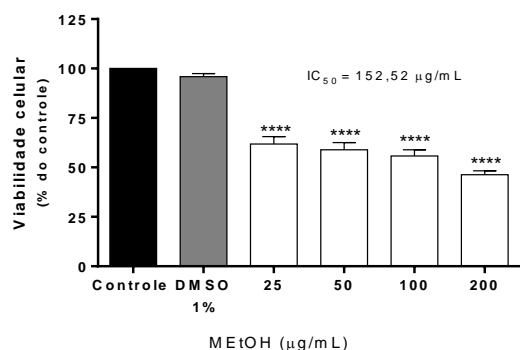


Fig. 2. Viabilidade de células HepG2 tratadas com concentrações crescentes do extrato etanólico de *Myrciaria sp.* (MEtOH) por 48 h e avaliadas pelo método de MTT. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). ****p<0,0001, comparado ao Controle.

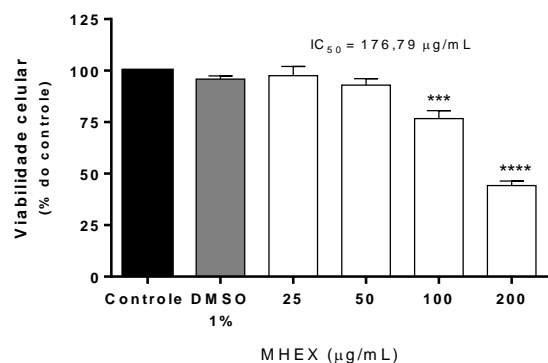


Fig. 3. Viabilidade de células HepG2 tratadas com concentrações crescentes do extrato hexânico de *Myrciaria sp.* (MHEX) por 48 h e avaliadas pelo método de MTT. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). ***p<0,001, ****p<0,0001, comparado ao Controle.

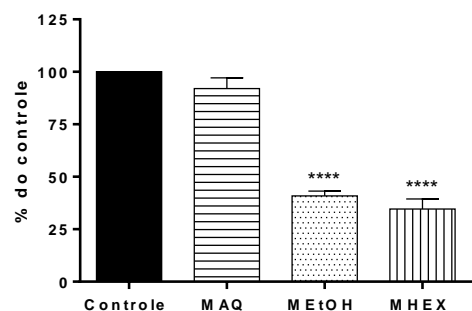


Fig. 4. Citotoxicidade das células HepG2 tratadas com 200 µg/mL de extratos de *Myrciaria sp.* por 48 h e avaliadas pelo método de exclusão por azul de Trypan. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). ****p<0,0001, comparado ao Controle. MAQ, extrato aquoso; MEtOH, extrato etanólico;

MHEX, extrato hexânico.

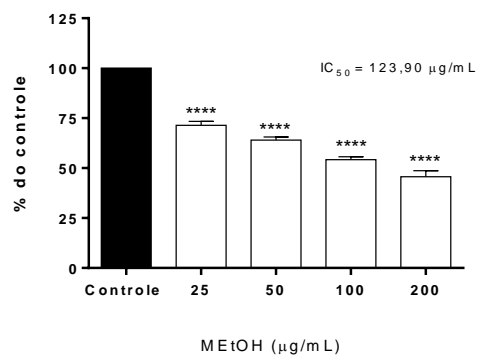


Fig. 5. Citotoxicidade das células HepG2 tratadas com concentrações crescentes do extrato etanólico de *Myrciaria sp.* (MEtOH) por 48 h e avaliadas pelo método de exclusão por azul de Trypan. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). ****p<0,0001, comparado ao Controle.

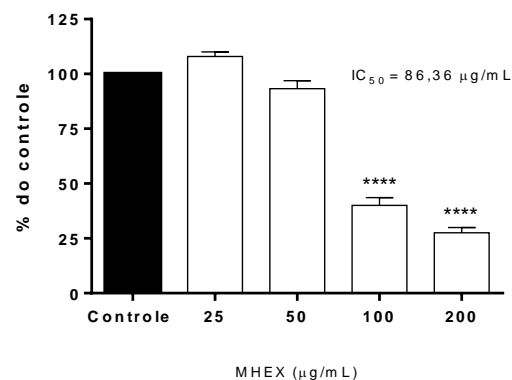


Fig. 6. Citotoxicidade das células HepG2 tratadas com concentrações crescentes do extrato hexânico de *Myrciaria sp.* (MHEX) por 48 h e avaliadas pelo método de exclusão por azul de Trypan. Dados apresentados como média \pm EPM (n=3). ****p<0,0001, comparado ao Controle.

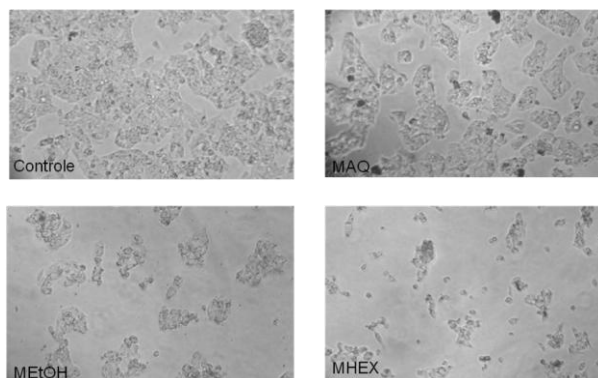


Fig. 7. Imagem ilustrativa da análise microscópica das células HepG2 tratadas com 200 µg/mL de extratos de *Myrciaria sp.*

por 48 h (n=3). Ampliação de 400 x. MAQ, extrato aquoso; MEtOH, extrato etanólico; MHEX, extrato hexânico.

Discussão

A família Myrtaceae é uma das famílias mais importantes da flora brasileira devido à alta prevalência de espécies comestíveis e por sua utilização na medicina popular para diferentes fins terapêuticos. Segundo a literatura, espécies dessa família são ricas em compostos com potencial antitumoral. Na revisão de Frauches et al. (2016) foi elucidada a presença de compostos fenólicos com importante atividade anticancerígena e quimiopreventiva, entre elas, as antocianinas presentes em frutos como a jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*), jabolão (*Syzygium cumini*) e jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*).

O estudo com os extratos aquoso, etanólico e hexânico das folhas de *Myrciaria sp.* realizado neste trabalho, apresentou diferentes efeitos nas células da linhagem de hepatocarcinoma humano HepG2. Esta atividade distinta pode estar relacionada aos diferentes metabólitos secundários extraídos em cada extrato. Entre os compostos fitoquímicos avaliados nos extratos de *Myrciaria sp.*, diferentes compostos foram identificados em mais de um extrato, como esteroides, triterpenoides, taninos, flavonoides e alcaloides. Contudo, a presença de alcaloides foi encontrada apenas nos extratos etanólico e hexânico (dados não publicados).

Os alcaloides pertencem à classe de metabólitos secundários e podem exercer diferentes papéis sob o organismo, entre eles, atividade antiproliferativa e citotóxica. Um estudo desenvolvido por Kuete e col. (2015) testou cinco alcaloides derivados de produtos naturais em nove linhagens tumorais com resistência a múltiplos fármacos, incluindo HepG2, os quais revelaram-se citotóxicos frente todas as linhagens testadas. Ainda, os alcaloides são dificilmente extraídos em solução aquosa, devido a sua polaridade, o que corrobora com a atividade do extrato aquoso frente à linhagem celular de hepatocarcinoma, diferentemente dos demais extratos avaliados.

O efeito citotóxico observado com os extratos MEtOH e MHEX de *Myrciaria sp.* também foi descrito em outros estudos com espécies desse gênero em diferentes linhagens celulares. Faleiro e col. (2017) realizaram a caracterização de compostos fitoquímicos e ensaio de citotoxicidade com os óleos essenciais das folhas de três espécies da família Myrtaceae, entre elas a espécie *Myrciaria plinioides*. O ensaio citotóxico foi realizado pelo método de Alamar Blue com as linhagens celulares RAW264.7 (macrófagos murinos) e CHO-K1 (células epiteliais de ovário de hamster chinês). O tratamento de 48 h com o óleo essencial de *M. plinioides*

apresentou grande potencial citotóxico nas duas linhagens, apresentando IC₅₀ de 45.92 ± 6.64 µg/mL e 52.91 ± 4.27 µg/mL, respectivamente.

Em outro estudo, foi avaliada a atividade antiproliferativa do extrato acetato de etila das folhas de *Myrciaria floribunda* em sete diferentes linhagens de células tumorais humanas, e uma linhagem celular normal. Os valores encontrados no potencial antiproliferativo foram expressos pela Inibição Total do Crescimento (TGI). A linhagem celular MCF-7 (adenocarcinoma de mama) foi a mais sensível, com TGI de 69,70 µg/mL, enquanto que as células normais foram as menos afetadas pelo extrato, com TGI de 213,60 µg/mL, revelando assim, um potencial antiproliferativo seletivo para as linhagens tumorais (Tietbohl et al., 2017).

No trabalho desenvolvido por Tauchen e col. (2016) foram realizadas diferentes análises com 23 extratos de plantas medicinais encontradas na Amazônia Peruana. No estudo, o extrato etanólico do pericarpo e das folhas de *M. dubia* apresentaram atividade antiproliferativa contra as células de hepatocarcinoma HepG2, com IC₅₀ de 124.0 e 149.5 µg/mL, respectivamente, resultados semelhantes ao do presente estudo. Ainda, estes extratos demonstraram-se seletivos, não apresentando citotoxicidade em células normais MRC-5 (fibroblastos de pulmão humano).

Conclusão

Diante dos resultados expostos, concluímos que os extratos MEtOH e MHEX possuem potencial citotóxico em células de hepatocarcinoma HepG2, enquanto que o extrato MAQ não apresentou atividade nesta linhagem celular. Pode-se sugerir que os extratos etanólico e hexânico das folhas de *Myrciaria sp.* podem ser fonte de compostos ativos com potencial terapêutico promissor, incluindo biomoléculas naturais antitumorais. Estudos estão sendo realizados para elucidar as vias e os mecanismos de ação desses extratos.

Agradecimentos

Este estudo faz parte do projeto de pesquisa intitulado “Biotecnologia e Farmacologia de Produtos Naturais”, o qual é coordenado pela Prof^a Dr.^a Márcia Inês Goettter e financiado pelo Centro Universitário UNIVATES e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Os autores agradecem aos demais participantes do projeto de pesquisa pelo apoio e suporte nas diferentes etapas do trabalho.

Contribuições dos Autores

Márcia Inês Goettert: Projetou o plano de pesquisa, supervisionou e orientou o estudo, contribuindo para a redação e revisão crítica do manuscrito.

Shanna Bitencourt: Coorientou o estudo, contribuindo para a redação e revisão crítica do manuscrito.

Sheila Mariele Immich: Realizou todos os experimentos e análise de dados, e contribuiu para a elaboração do manuscrito.

Ética

Este artigo contém material original e inédito. O autor correspondente confirma que todos os outros autores leram e aprovaram o manuscrito, não havendo questões éticas envolvidas.

Referências

- Bailão, E. F. L. C., I.A. Devilla, E.C. Conceição, L.L. Borges. 2015. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. *International journal of molecular sciences*, 16 (10): 23760-23783. DOI: 10.3390/ijms161023760.
- Balogh, J. et al. 2016. Hepatocellular Carcinoma: A Review. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*. (3): 41–53. DOI: 10.2147/JHC.S61146.
- Borges, L. L., E.C. Conceição, D. Silveira. 2014. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. *Food chemistry*, (153): 224-233. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.12.064.
- Chen, Y. B., M.L. Yan, J.P. Gong, R.P. Xia, L.X. Liu, N. Li, J.Y. Yang. 2007. Establishment of hepatocellular carcinoma multidrug resistant monoclonal cell line HepG2/mdr1. *Chinese medical journal*, 120 (8): 703-707. <http://europepmc.org/abstract/MED/17517188> (Acessado em 1º de junho de 2017)
- Faleiro, D., S.M. Immich, F. Majolo, L. Mayer, E.M. Ethur, M.I. Goettert. 2017. GC/MS analysis and potential cytotoxic activity of *Calyptanthes grandifolia* (O. Berg), *Calyptanthes tricona* (D. Legrand) and *Myrciaria plinioides* (D. Legrand) essential oil in RAW264. 7 and CHO-K1 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, (89): 1431-1441. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.03.040.
- Frauches, N. S., T.O. do Amaral, C.B.D. Largueza, A.J. Teodoro. 2016. Brazilian Myrtaceae Fruits: A Review of Anticancer Properties. *British Journal Of Pharmaceutical Research*, 12 (1): 1-15. http://www.journalrepository.org/media/journals/BJPR_14/2016/Jun/Frauches1212016BJPR26782.pdf (Acessado em 10 de maio de 2017)
- Gillet, J. P., S. Varma, M.M. Gottesman. 2013. The clinical relevance of cancer cell lines. *Journal of the National Cancer Institute*, 105 (7): 452-458. DOI: 10.1093/jnci/djt007.
- Kuete, V., H. Fouotsa, A.T. Mbaveng, B. Wiench, A.E. Nkengfack, T. Efferth. 2015. Cytotoxicity of a naturally occurring furoquinoline alkaloid and four acridone alkaloids towards multi-factorial drug-resistant cancer cells. *Phytomedicine*, 22 (10): 946-951. DOI: 10.1016/j.phymed.2015.07.002.
- Lahlou, M. 2013. The success of natural products in drug discovery. *Pharmacology & Pharmacy*, (4): 17-31. DOI: 10.4236/pp.2013.43A003.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65 (1-2): 55-63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Newman, D. J., G.M. Cragg. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod*, 79 (3): 629-661. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055.
- OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2014. World Cancer Report 2014. International Agency for Research on Cancer, WHO. <http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014> (Acessado em 08 de maio de 2017)
- Simões, C. M. O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz, P.R. Pedrovick. 2010. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6 ed. Porto Alegre: UFRGS. Florianópolis: UFSC.
- Tauchen, J., L. Bortl, L. Huml, P. Miksatkova, I. Doskocil, P. Marsik, J. Havlik. 2016. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26 (6): 728-737. DOI: 10.1016/j.bjp.2016.03.016
- Tietbohl, L. A., A.P. Oliveira, R.S. Esteves, R.D. Albuquerque, D. Folly, F.P. Machado, L. Rocha. 2017. Antiproliferative activity in tumor cell lines, antioxidant capacity and total phenolic, flavonoid and tannin contents of *Myrciaria floribunda*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89 (2): 1111-1120. DOI: 10.1590/0001-3765201720160461