



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
CURSO DE BIOMEDICINA

JULIA COSTA DE LACERDA

**APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DAS FISALINAS: UMA
PODEROSA ARMA NATURAL**

SALVADOR - BA

2019

JULIA COSTA DE LACERDA

**APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DAS FISALINAS: UMA
PODEROSA ARMA NATURAL**

Monografia apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção de título em Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Cássio Santana Meira

SALVADOR-BA

2019

JULIA COSTA DE LACERDA

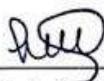
**APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DAS FISALINAS: UMA PODEROSA ARMA
NATURAL**

Esta monografia foi julgada adequada à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina e aprovada em sua forma final pelo Curso de Biomedicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

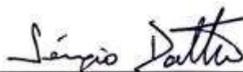
Salvador – BA, 09 de novembro de 2019.



Prof. Dr. Cássio Santana Meira
Instituto Gonçalo Moniz – IGM/FIOCRUZ



Profa. Dra. Léa Maria dos Santos Lopes Ferreira
Bahiana – Escola de Medicina e Saúde Pública



Prof. Me. Sérgio Ricardo Teixeira Daltro
Instituto Gonçalo Moniz – IGM/FIOCRUZ

Aos meus pais, irmã, minhas avós, meu avô, minhas tias, meus tios e a toda minha família e amigos que sempre estiveram presentes demonstrando todo carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Andréa e Marcel por sempre apoiarem as minhas escolhas.

A minha irmã Luiza pelas palavras dóceis.

As minhas avós Magna e Maly por sempre me ajudarem nos momentos de dificuldades.

Aos meus familiares por todo carinho e amor.

Aos meus amigos pelos momentos divertidos.

Ao meu orientador pela oportunidade.

RESUMO

As fisalinas são compostos pertencentes à classe de vitanolídeos que exibem diversas propriedades farmacológicas promissoras. Estudos vêm mostrando as numerosas ações desses compostos, como as analgésica, anti-inflamatória, antitumoral, antiparasitária, antibiótica e antiviral. Dentre estas, os efeitos antitumoral e imunomodulador das fisalinas são descritos como atividades promissoras. Nesse contexto, a presente revisão visa descrever os principais achados e mecanismos de ações relacionadas aos efeitos antitumoral e imunomodulador da classe das fisalinas. O estudo se trata de uma revisão da literatura de natureza sistemática, utilizando *PUBMED*, *LILACS*, *MEDLINE* e *SCIELO* como plataformas para busca de dados. A busca na literatura resultou em 89 trabalhos encontrados, sendo que destes, apenas 46 estavam de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Diversas fisalinas possuem efeito antitumoral, com destaque para as fisalinas B e F que possuem efeito citotóxico sobre inúmeras linhagens tumorais. O efeito antitumoral das fisalinas está relacionado com a indução de morte celular por apoptose, a qual pode ser ativada por diversas vias: caspases, acúmulo de proteínas ubiquitinadas, p53, MAP quinases, JAK/STAT3, entre outras. Com relação aos efeitos imunomoduladores, as fisalinas atuam inibição a produção de várias moléculas inflamatórias (IL-6, IL-12, TNF α , IFN- γ , NFkB, entre outras) e estes efeitos são validados em diversos modelos animais: choque endotóxico induzido por LPS, hipersensibilidade do tipo tardia e em modelos agudos e crônicos de dermatites induzidas por 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato e oxazolona, respectivamente. Nesse contexto, as fisalinas representam uma fonte promissora para descoberta de agentes antitumorais e imunomoduladores promissores.

Palavras-chave: *Physalis angulata*, fisalinas, atividade antitumoral, imunomodulação.

ABSTRACT

Physalins are compounds belonging to withanolides class, which exhibit several promising pharmacological properties. Studies have shown numerous biological actions of these compounds, such as analgesic, anti-inflammatory, antitumor, antiparasitic, antibiotic and antiviral. Among these, antitumor and immunomodulatory effects of physalins are described as promising activities. In this context, the present review aims to describe the main findings and mechanisms related antitumor and immunomodulatory effects of the physalins class. This study is a systematic literature review, using *PUBMED*, *LILACS*, *MEDLINE* and *SCIELO* as platforms for data research. The literature research has resulted in 89 papers, which only 46 articles were in agreement with inclusion and exclusion criterias. Physalins has shown antitumor activities, especially physalins B and F which demonstrate cytotoxic effects in several tumor cell lines. Physalins antitumor effects is associated with induction of cell apoptosis that can be activated by several pathways: caspases, accumulation of ubiquitinated proteins, p53, MAP kinases, JAK/STAT3, among others. Regarding the immunomodulatory effects, physalins inhibit the production of several inflammatory molecules (IL-6, IL-12, TNF α , IFN- γ , NF κ B, among others) and these effects are validated in many animal models studies: endotoxic shock induced by LPS, delayed type hypersensitivity and in acute and chronic models of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate and oxazolone-induced dermatitis, respectively. Therefore, physalins represent a promising source for the discovery of promising antitumor and immunomodulatory agents.

Keywords: *Physalis angulata*, physalins, antitumoral activity, imunomodulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismos de ativação da morte celular por apoptose.

Figura 2 – Mecanismos das fisalinas que desencadeiam a apoptose.

Figura 3 – Mecanismos das fisalinas que levam ao aumento da expressão de p53 e à parada do ciclo celular na fase G2.

Figura 4 – Mecanismos das fisalinas que ativam as vias MAPKs.

Figura 5 – Mecanismos das fisalinas que levam à inibição das vias de sinalização JAK/STAT3, Wnt/B-catenina e Hedgehog.

Figura 6 – Principais moléculas-alvo das fisalinas no efeito anti-inflamatório.

Quadro 1 – Artigos selecionados para compor a revisão bibliográfica sobre a ação antitumoral das fisalinas.

Quadro 2 – Artigos selecionados para compor a revisão bibliográfica sobre a ação imunomoduladora das fisalinas.

LISTA DE ABREVIATURAS

FA	Fisalina A
FB	Fisalina B
FF	Fisalina F
FH	Fisalina H
IL	Interleucina
MAPK	Proteínas-kinase ativada por mitógenos
NFkB	Fator de transcrição kappa B
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
PSA	Antígeno prostático específico
RA	Receptor de andrógeno
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	METODOLOGIA	10
3	AÇÃO ANTITUMORAL DAS FISALINAS	11
4	AÇÃO IMUNOMODULADORA DAS FISALINAS	26
5	CONCLUSÃO GERAL	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais para o tratamento de enfermidades é uma prática reconhecida e utilizada há milhares de anos pelas diversas civilizações do mundo (AHMAD et al., 2006). Com o passar do tempo, a partir dos avanços tecnológicos nas técnicas de separação e identificação de produtos naturais, foi possível conhecer a estrutura e as potencialidades de inúmeras moléculas oriundas de plantas (SHARMA et al., 2015). Essas moléculas, ou também chamadas de compostos fitoquímicos, exibem uma alta complexidade e diversidade bioquímica, tornando sua estrutura molecular única, em comparação com outros sintetizados artificialmente. Dessa forma, produtos naturais constituem uma fonte promissora para a prospecção de agentes terapêuticos (DIAS; URBAN; ROESSNER, 2012; CRAGG; NEWMAN, 2013).

As fisalinas, ou 13,14-seco-16,24 ciclo ergostano, são compostos pertencentes à classe de vitanolídeos que exibem diversas propriedades farmacológicas promissoras (SUN et al., 2017; TOMASSINI et al., 2000; ZHANG; TONG, 2016). Estão presentes nas plantas pertencentes à família Solanaceae, e principalmente nas espécies pertencentes ao gênero *Physalis* spp., as quais são plantas herbáceas anuais amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, e, historicamente, são conhecidas por suas propriedades terapêuticas e curativas (SHARMAN et al., 2015; LIMA et al., 2014). Em 1969, quando houve a identificação da primeira fisalina isolada da espécie *Physalis alkekengi* var. *franchetii*, a fisalina A, deu-se início aos estudos dessas moléculas, apresentando suas características estruturais e suas ações biológicas contra patógenos e em doenças crônicas, e, dessa forma, já foram identificadas mais de 50 tipos diferentes de fisalinas até o momento (SUN et al., 2017a)

Estudos vêm mostrando as numerosas atividades biológicas desses compostos, como as analgésica, anti-inflamatória, antitumoral, antiparasitária, antibiótica e antiviral (SOARES et al., 2003; MEIRA et al., 2013; WANG et al., 2018). Dentre estas, os efeitos antitumoral e imunomodulador das fisalinas são descritos como atividades promissoras (SOARES et al., 2006; WU et al., 2012; YANG et al., 2017; CHEN et al., 2018). Nesse contexto, a presente revisão visa descrever os principais achados e mecanismos de ação relacionados às atividades antitumoral e imunomodulador da classe das fisalinas.

2 METODOLOGIA

Neste estudo, realizou-se uma revisão da literatura de natureza sistemática, utilizando as plataformas *PUBMED*, *LILACS*, *MEDLINE* e *SCIELO* como fonte para a busca de dados. A pesquisa foi executada em quatro etapas, oriundas de uma adaptação do modelo proposto por SOUZA e colaboradores (2010), sendo elas: busca na literatura; coleta de dados; análise crítica dos estudos; e discussão dos resultados. Os unitermos aplicados para esta busca foram *Physalis*, *Physalis angulata* e *physalins*. A busca foi atemporal, contemplando todos os artigos encontrados, ao cruzar os unitermos citados acima com as palavras: *immunomodulation* ou *anticancer activity*.

Como critérios de inclusão, foram escolhidos trabalhos que apresentavam especificidade com o tema, que contivessem os descritores selecionados e estavam disponíveis na íntegra. Foram excluídos aqueles que apenas descreviam efeitos biológicos de extratos ou frações de plantas do gênero *Physalis* ou com descrições exclusivamente de dados *in silico*. A busca na literatura resultou em 89 trabalhos encontrados, sendo que destes, apenas 46 estavam de acordo com os critérios de inclusão e exclusão.

3 AÇÃO ANTITUMORAL DAS FISALINAS

Pelo fato de pertencer à classe dos vitanolídeos, os quais exibem atividade antitumoral bem descrita, as fisalinas são alvos de estudos de citotoxicidade desde os anos 80, com a sua primeira demonstração através de experimentos *in vitro* com a fisalina D na linhagem de células de melanoma B16 (ANTOUN et al., 1981). Estudos apontaram que a presença de duplas ligações entre os carbonos C2 e C3 do anel A e grupos funcionais localizados em entre C5 e C6 estão relacionados com a característica citotóxica encontrada nessas moléculas (VERAS et al., 2004; LEE; HOUGHTON, 2005; DAMU et al., 2007). Em adição, identificou-se que anéis 5, 6-epóxido encontrados na fisalina F aumentam a sua atividade antitumoral (ANTOUN et al., 1981; MAGALHÃES et al., 2006; DAMU et al., 2007). Dessa forma, as fisalinas despertam o interesse na farmacologia para se tornar uma classe promissora para prospecção de fármacos com potencial anticâncer.

Ao longo dos anos, várias fisalinas têm demonstrado a capacidade de inibir a proliferação celular de inúmeras linhagens de células tumorais (**Quadro 1**). Estudos feitos em cultura de células sendo submetidas ao tratamento com as fisalinas A, B, D, F e H mostraram ações inibitórias em diversas linhagens tumorais, porém, comparando o nível de citotoxicidade destes compostos, percebeu-se que FB e FF apresentaram atividades mais seletivas e promissoras (FANG et al., 2003; LEE; HOUGHTON, 2005; MAGALHÃES et al., 2006; DAMU et al., 2007; HE et al., 2013a; BOONSOMBAT et al., 2018). Para avaliar seus efeitos em células não-cancerígenas, He et al (2013) realizaram o tratamento com FA em células mononucleares do sangue periférico humano (da sigla em inglês, hPBMC), mostrando que seus efeitos citotóxicos nestas células foram mínimos. No entanto, Magalhães et al (2006), em experimento *in vivo* com FB, verificaram a presença de toxicidade acentuada em órgãos vitais, como fígado e rins.

A maioria das vias de inibição da proliferação de células tumorais reguladas pelas fisalinas se relaciona com a ativação da apoptose (VANDENBERGHE et al., 2008; HSU et al., 2012; WU et al., 2012; HE et al., 2013a; OOI; TENGKU MUHAMMAD; SULAIMAN, 2013). Também chamada de “morte celular programada”, a apoptose é um mecanismo fisiológico ativado em células que perderam sua funcionalidade e também atua como um processo defensivo contra aquelas que apresentam algum perigo para o organismo, como é o caso das células cancerígenas (ELMORE, 2007). A indução da apoptose pode ocorrer pela ativação de dois mecanismos conhecidos: a via intrínseca,

relacionada à alterações na permeabilidade da membrana mitocondrial e liberação de constituintes pró-apoptóticos (ex.: citocromo c) para o citosol, e a via extrínseca, caracterizada pela ativação de receptores de morte da membrana plasmática, a exemplo do receptor Fas. Embora haja esses dois mecanismos iniciadores da apoptose, ambos convergem para um mesmo caminho, denominado fase de execução, onde atuam as proteínas catalíticas características desse processo, chamadas de caspases (**Figura 1**) (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016). Nesse sentido, a depender do tipo de linhagem tumoral e do tipo de molécula desta classe, as fisalinas são capazes de interagir com ambas as vias iniciais, a fim de desencadear a morte celular por apoptose (WU et al., 2012; OOI; TENGKU MUHAMMAD; SULAIMAN, 2013; HE et al., 2013a; MA et al., 2015). Fisalinas A e B, mas não a fisalina F, foram capazes de aumentar a produção das proteínas pró-apoptóticas Noxa e Bax (VANDENBERGHE et al., 2008; HSU et al., 2012; HE et al., 2013b). Fisalina F induziu o aumento da expressão de genes apoptóticos, como o c-myc e caspase-3 em células de câncer de mama (linhagem MCF-7) (OOI; TENGKU MUHAMMAD; SULAIMAN, 2013). Além disso, outro achado importante mostrou que FA e FF estimularam a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO) em células de melanoma (linhagem A375) e de câncer renal (linhagem A498), respectivamente, os quais são alguns dos primeiros mediadores que responsáveis por desencadear a morte celular por apoptose (**Figura 2**) (WU et al., 2012; HE et al., 2013b; HE et al., 2014).

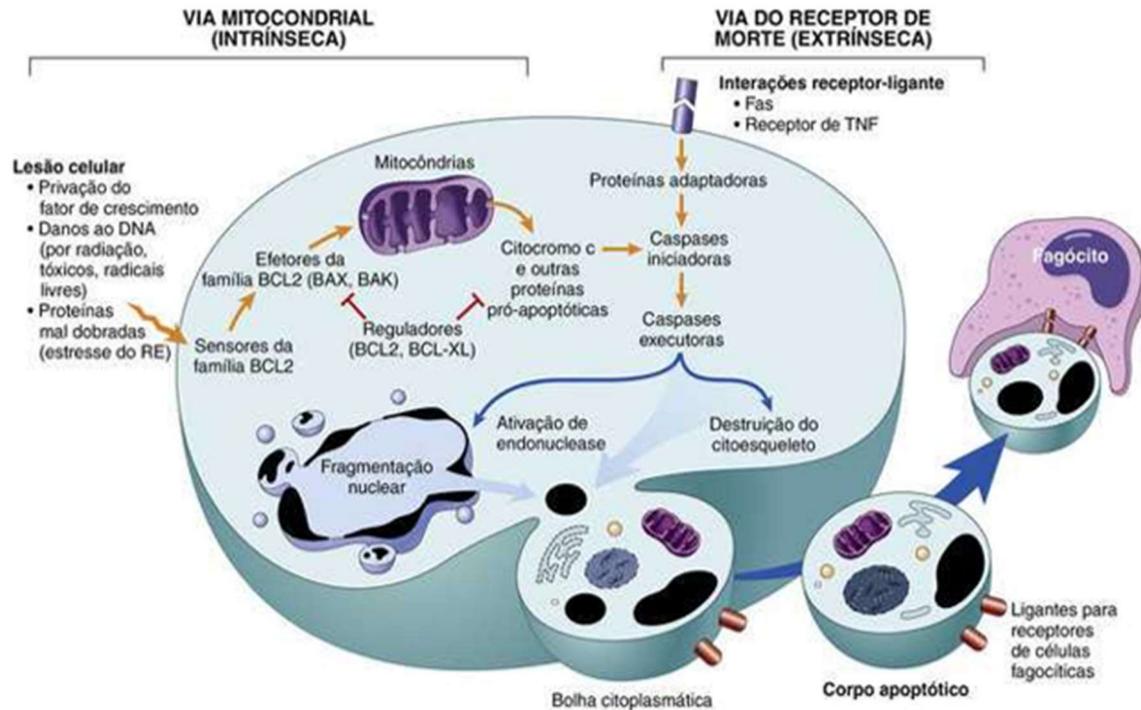


Figura 1. Mecanismo de ativação da morte por apoptose. A apoptose apresenta duas vias principais de ativação, sendo elas a via intrínseca (ou via mitocondrial) e a via extrínseca (ou a via do receptor de morte). No entanto, ambas convergem para um ponto em comum, denominada fase de execução, onde os constituintes característicos dessa etapa são as proteínas catalíticas chamadas de caspases (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

Outro alvo dessas moléculas é a via da ubiquitina/proteassoma, a qual se caracteriza por ser o principal meio de degradação intracelular de proteínas de vida-curta, a partir da ligação de múltiplas moléculas de ubiquitina à proteína-alvo e, logo após, o reconhecimento e degradação pelo proteassoma 26S (MYUNG, 2012). Já foi demonstrado que a inibição da via da ubiquitina/proteassoma leva a célula a entrar em apoptose (CRAWFORD; WALKER; IRVINE, 2011). Fisalinas B e C atuam como inibidores da via ubiquitina/proteassoma, o que leva ao acúmulo de proteínas ubiquitinadas, no citoplasma, e, dessa forma, desencadeia o início da morte celular por apoptose (**Figura 2**) (AUSSEIL et al., 2007; VANDENBERGHE et al., 2008; MA et al., 2015). Outros trabalhos mostraram que as fisalinas A e B são capazes de induzir a resposta autofágica em células tumorais (HE et al., 2013a, 2013b; MA et al., 2015). No estudo feito por Ma et al (2015) em células de câncer de cólon (linhagem HCT116) foi observado que a fisalina B induziu a formação de autofagossomos no citoplasma, o que

sugere ser o início do primeiro estágio da autofagia, porém, reduziu a fusão entre os autofagossomos e os lisossomos no último estágio, concluindo que neste momento FB atua inibindo a resposta autofágica (**Figura 2**). Desse modo, tanto a inibição da via ubiquitina/proteassoma, quanto da autofagia levam a célula a ativar mecanismos apoptóticos, uma vez que ambas são os primeiros caminhos de tentativa de eliminação de moléculas tóxicas ou danosas ao organismo; porém, caso haja falha, o passo seguinte é promover a ativação de vias de morte celular (LI et al., 2016; YIN; PASCUAL; KLIONSKY, 2016).

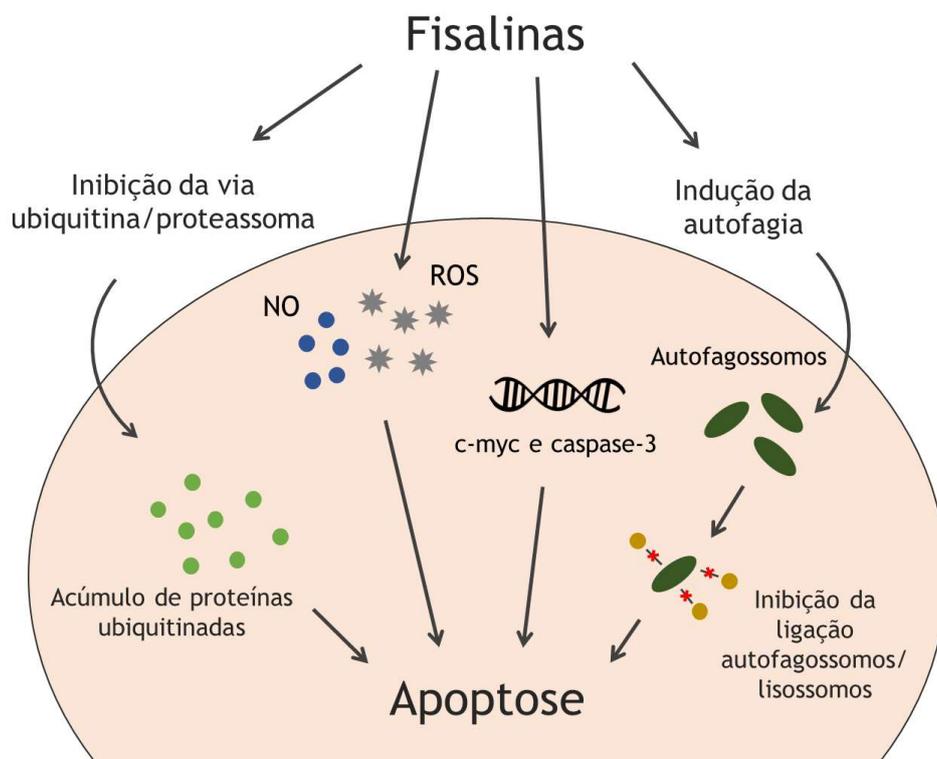


Figura 2. Mecanismos de ação das fisalinas que direcionam as células a ativar apoptose. As fisalinas interagem com diversas vias com o objetivo de desencadear a morte celular por apoptose. Como exemplo disso, tem-se a inibição da via ubiquitina/proteassoma, estimulação da produção de ROS e NO, aumento da expressão dos genes c-myc e caspase-3 e indução incompleta da autofagia.

Sugere-se que o fator de transcrição kappa B (NFkB) seja um dos alvos da atividade antitumoral e imunomoduladora das fisalinas (JACOBO-HERRERA et al., 2006; WU et al., 2012). A via de sinalização NFkB, além de atuar no controle da resposta

imune e da resposta inflamatória, possui um papel importante na regulação da proliferação e diferenciação celular e na apoptose (ZHANG; LENARDO; BALTIMORE, 2017). Em vários tipos de câncer, NFkB está constantemente ativado produzindo fatores que promovem o crescimento e, conseqüentemente, a sobrevivência celular (XIA et al., 2018). Vários estudos demonstraram que as fisalinas A, B, D e F promoveram a inibição da via NFkB por mecanismos distintos (HE et al., 2013b; JACOBO-HERRERA et al., 2006; VANDENBERGHE et al., 2008; WU et al., 2012). No trabalho de Jacobo-Herrera et al (2006) foi visto que as fisalina B e F são capazes de inibir a ativação de NFkB induzida pelo fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), enquanto que Vandenberghe et al (2008) utilizaram células de câncer colorretal (linhagem DLD-1) em tratamento com FB e perceberam que uma das formas de inibição da proliferação celular acontece por meio deste mesmo mecanismo, corroborando, portanto, com os achados anteriores.

Sugere-se que algumas fisalinas possuem ações ligadas à indução da expressão da p53 e à parada do ciclo celular na fase G2 (HE et al., 2013b; KANG et al., 2016; WANG et al., 2018). A p53 é uma proteína de supressão tumoral que desencadeia a apoptose por diversos caminhos, sendo um deles a interrupção do ciclo celular (BRADY; ATTARDI, 2010). Basicamente, sua ação se dá por sua ligação ao DNA, que por sua vez estimula a produção da proteína p21, que interage com a proteína estimuladora da divisão celular, cdc2, e, quando ocorre essa interação, a célula não passa para o próximo estágio do ciclo (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (US), 1998). Quando há uma mutação na p53, sua capacidade de ligação com o DNA é diminuída; como consequência, p21 não pode ser produzida e atuar como um “sinal de parada” do ciclo celular, e, dessa forma, a célula começa a se dividir incontrolavelmente (FREED-PASTOR; PRIVES, 2012). Nesse sentido, He et al (2013)b demonstraram que o aumento da expressão de p53 e Noxa (via p53/Noxa) induzido pela fisalina A estimulou a produção de ROS pelas células, enquanto que Kang et al (2016) perceberam que essa produção de ROS mediada por p53 promoveu a interrupção do ciclo celular na fase G2 em câncer de pulmão de células não-pequenas (linhagem A549). Já no estudo realizado por Wang et al (2018) em que submeteram células de três linhagens de câncer mamário (MCF-7, MDA-MB-231 e T-47D) ao tratamento com a fisalina B, observou-se que FB aumenta a expressão de p53 e, em consequência, leva à indução da parada do ciclo celular na fase G2, acompanhado do aumento de p21, assim como da supressão da expressão e fosforilação de cdc2. **(Figura 3)** Para confirmar se essa indução de p53 leva a ativação

de mecanismos apoptóticos, Wang et al (2018) encontraram que FB promove a clivagem da caspase-9, levando à ativação outros membros, como caspase-3 e caspase-7.

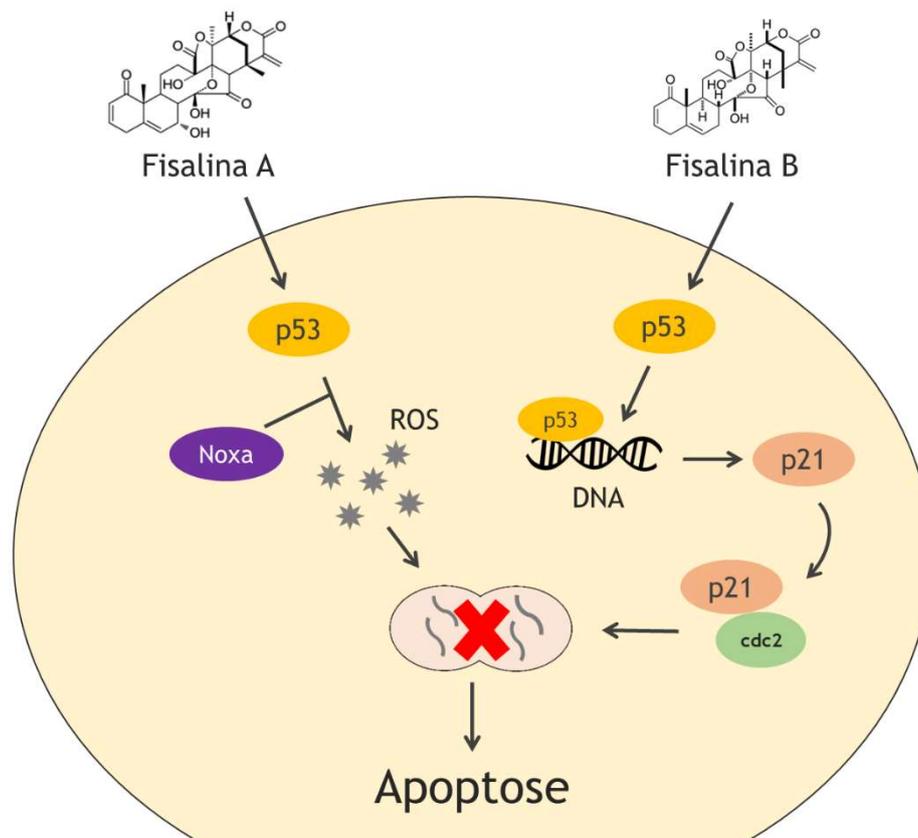


Figura 3. Mecanismos das fisalinas que levam à ativação da proteína p53 e indução da parada do ciclo celular. FA promove a ativação da via p53-Noxa que estimula a produção de ROS e leva à parada do ciclo celular na fase G2. Já FB aumenta a expressão de p53, que é capaz de se ligar ao DNA e promover a produção de p21, a qual se liga a cdc2, a fim de levar à parada do ciclo em G2 e desencadear a morte celular por apoptose.

As proteína-kinase ativada por mitógenos (do inglês, *mitogen-activated protein-kinase*, ou MAPK) são módulos de sinalização que estão envolvidos em uma série de processos celulares cruciais, como crescimento, proliferação, diferenciação e morte (COBB, 1999). Em mamíferos, já foram descobertos mais de cinco módulos que atuam nestes processos, e dentre eles, as vias ERK, JNK e p38 são as mais estudadas. Mutações relacionadas às MAPKs estão envolvidas no desenvolvimento de alguns tumores, sendo que a desregulação da via ERK está presente na maioria deles (DHILLON et al., 2007).

Trabalhos utilizando fisalinas demonstram que as fisalinas A e B interferem na atividade das MAPKs, promovendo a diminuição da proliferação e viabilidade de algumas linhagens de células cancerígenas (HAN et al., 2011; MA et al., 2015; KANG et al., 2016; SHIN et al., 2019). Han et al (2011) avaliaram a atividade das fisalinas A e B em células de câncer prostático (linhagens C42B e CWR22Rv1), mostrando que inibição da proliferação dessas células ocorre por meio da ativação de mecanismos de morte regulados pelas vias ERK e JNK, e ainda perceberam que as ações de FB são mais potentes do que de FA, verificando que seus valores de CI_{50} são menores. Kang et al (2016), observaram que a fisalina A inibiu o crescimento de células de carcinoma pulmonar humano (linhagem A549) pela ativação das vias p38 e ERK, no qual p38 está envolvida com a geração de ROS que induzem a interrupção do ciclo celular na fase G2, e ERK ativa vias de morte celular por mecanismos distintos. Já foi reportado que o módulo de sinalização ERK interage principalmente com a via extrínseca da apoptose (CAGNOL; CHAMBARD, 2010), sendo assim uma das hipóteses para explicar os dados de Kang et al (2016). Corroborando com os achados sobre o envolvimento da fisalina A na regulação das vias MAPKs, Shin et al (2019) mostraram que em células de câncer de fígado (linhagem HepG2) FA ativou a via Nrf2 (do inglês, *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) por meio da ativação de ERK e p38. Nrf2 é um fator de transcrição relacionado inicialmente com a expressão de constituintes antioxidantes e desintoxicantes, os quais protegem a célula do estresse oxidativo, mas também já foi visto que possui ações na regulação da proliferação e diferenciação celular, sendo uma delas inibindo ROS (BASAK et al., 2017; BELLEZZA et al., 2018). Por fim, no estudo de Ma et al (2015) foi observado que a fisalina B promoveu a ativação das vias ERK, JNK e p38 através da estimulação de mito-ROS em células de câncer colorretal humano (linhagem HCT116) e, portanto, essa ativação está ligada à indução da resposta autofágica e apoptótica (**Figura 4**).

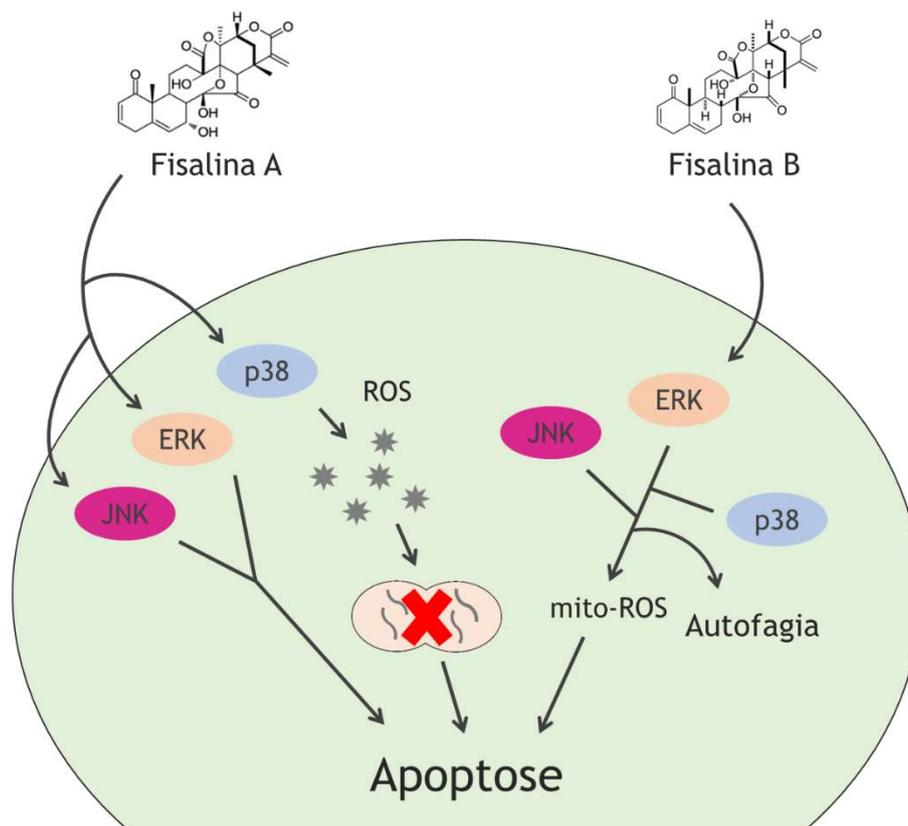


Figura 4. Mecanismos de ação das fisalinas na regulação das vias MAP quinases. FA ativa as vias ERK e JNK para induzir a apoptose, enquanto que a ativação da via p38 estimula a geração de ROS e leva à parada do ciclo celular na fase G2, desencadeando, assim, a apoptose. FB promove a ativação de ERK, JNK e p38 e estimula a produção de ROS mitocondriais, que levam à ativação das respostas autofágica e apoptótica.

Vias de sinalização em condições aberrantes, sendo cruciais para o desenvolvimento e progressão de alguns tipos de tumores, têm seus mecanismos atenuados pelas ações das fisalinas. Mais especificamente FA, FF e FH são capazes de interagir com as vias JAK/STAT3, Wnt/ β -catenina e Hedgehog, respectivamente (ZHU et al., 2016; CHEN et al., 2018; ARAI et al., 2014).

A via de sinalização JAK/STAT3 é responsável por controlar processos hematopoiéticos e de renovação de células-tronco através da interação com citocinas e fatores de crescimento, no entanto, em alguns tipos de câncer, está envolvida na progressão tumoral através de mutações que promovem sua ativação constitutiva (THOMAS et al., 2015). No trabalho de Zhu et al. (2016) foi demonstrado que em carcinoma pulmonar de células não-pequenas (linhagens H292, H358 e H1975) a fisalina

A é capaz de inibir a via JAK/STAT3 tanto pela supressão da fosforilação dos receptores JAK e fosforilação parcial da proteína STAT3 (formas ativadas), quanto por impedir a translocação nuclear e a atividade transcricional de STAT3 (**Figura 5**).

A sinalização Wnt/ β -catenina já foi descrita como responsável por regular diversos processos celulares do metabolismo, como proliferação e diferenciação celular, em vários estágios do desenvolvimento humano (MACDONALD; TAMAI; HE, 2009). Na ausência de ligação da glicoproteína Wnt aos receptores específicos, LRP5/6 e Frizzled, β -catenina forma um complexo com Axin-APC-GSK3-CK1 e é fosforilada pelas subunidades CK1 e GSK3; após isso, há o reconhecimento de β -catenina fosforilada pela ligase E3 ubiquitina e por β -TrCP, a adição de moléculas de ubiquitina e, por fim, a degradação de β -catenina pelo proteassoma. Na presença de Wnt, o complexo Axin-APC-GSK3-CK1 se liga a parte intracelular dos receptores LRP5/6 e Frizzled, e, dessa forma, β -catenina fica livre para ir ao núcleo e ativar genes responsáveis pela proliferação celular (MACDONALD; TAMAI; HE, 2009). YAP (do inglês, *yes-associated protein*) é uma proteína pertencente a via de sinalização Hippo, que tem sua função relacionada a regulação de processos importantes para o organismo, como proliferação celular, regeneração e desenvolvimento de tecidos (ABYLKASSOV; XIE, 2016). Já foi descrita uma associação entre YAP e a via Wnt/ β -catenina, onde, na ausência de Wnt, ela compete com LRP5/6 e se liga a subunidade Axin, promovendo a formação do complexo Axin-APC-GSK3-CK1 e o recrutamento do complexo de degradação β -TrCP (AZZOLIN et al., 2014). Nos experimentos de Chen et al (2018) foi observado que em células de câncer colorretal (linhagens SW40 e DLD-1) a fisalina F interferiu na sinalização Wnt/ β -catenina por meio da inibição da ligação da glicoproteína Wnt aos receptores LRP5/6 e Frizzled e, com isso, induziu a ligação de YAP ao complexo Axin-APC-GSK3-CK1 e, conseqüentemente, o recrutamento do complexo de destruição β -TrCP a fim de promover a degradação de β -catenina no citosol (**Figura 5**).

A sinalização Hedgehog representa uma via evolutivamente conservada que tem seu papel relacionado, principalmente, com o desenvolvimento embrionário em vertebrados e invertebrados, mas também é responsável por regular a manutenção de células-tronco e a regeneração tecidual em mamíferos na fase adulta (SKODA et al., 2018). Basicamente, o mecanismo de ação normal da via Hedgehog acontece através da ligação de proteínas Hedgehog ao receptor Patched, promovendo, dessa forma, a ativação e translocação nuclear dos fatores de transcrição GLIs, que se ligam ao DNA e ativam

genes-alvos (JIA; WANG; XIE, 2015). Mutações ao longo desta via estão envolvidas com a progressão tumoral e já foi observado a relação entre a ativação constitutiva de Hedgehog com o desenvolvimento de metástase em alguns tipos de câncer, a exemplo do câncer de pâncreas (JIA; WANG; XIE, 2015; SKODA et al., 2018). Nesse sentido, Arai et al. (2014) realizaram um estudo onde submeteram células de câncer pancreático (linhagem PANC1) e de câncer prostático (linhagem DU145) ao tratamento com a fisalina H e observaram que FH diminuiu a expressão das proteínas Hedgehog, ocasionando a inibição da ligação ao receptor Patched e, portanto, inibindo a translocação de GLIs ao núcleo. (Figura 5).

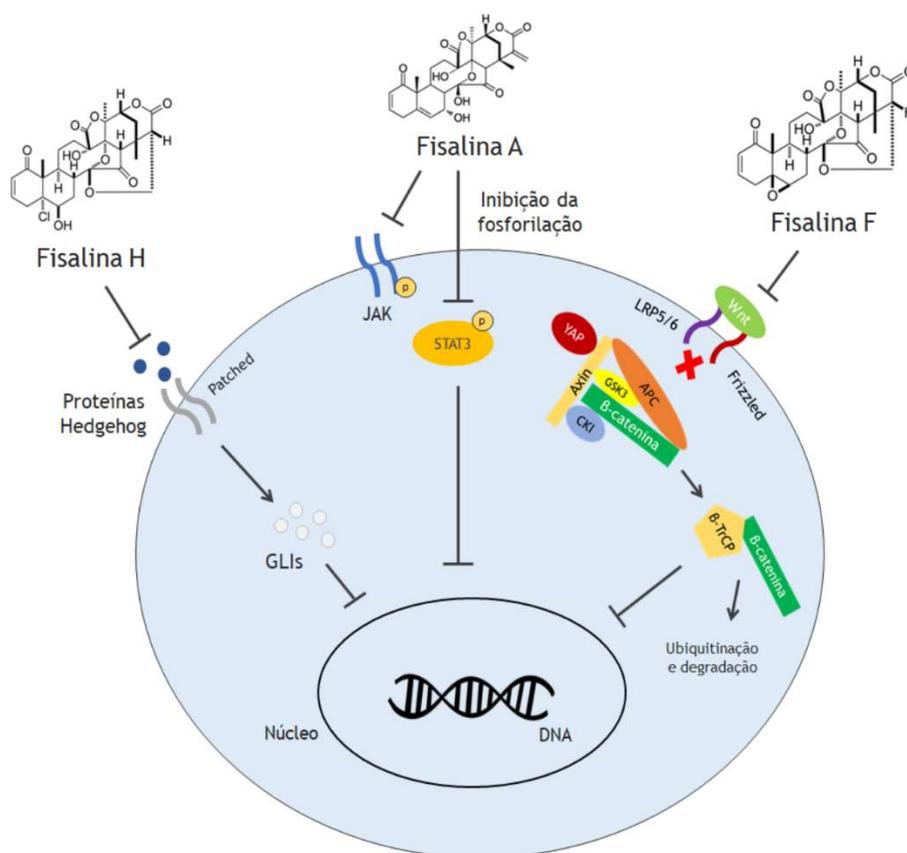


Figura 5. Mecanismos de ação das fisalinas na via JAK/STAT3, via Hedgehog e via Wnt/β-catenina. FA atua na via JAK/STAT3 e inibe a fosforilação do receptor JAK e da proteína STAT3, inibindo, assim, a translocação nuclear de STAT3. FF interage com constituintes da via de sinalização Wnt/β-catenina, a partir da inibição da ligação de Wnt aos receptores LRP5/6 e Frizzled e, com isso, YAP se liga ao complexo Axin-APC-GSK3-CK1 e promove o recrutamento do complexo de destruição β-TrCP com a finalidade de degradar a proteína β-catenina. FH inibe a via Hedgehog através da supressão da expressão de proteínas Hedgehog,

inibindo a ligação ao receptor Patched e, portanto, inibindo a translocação nuclear e ligação ao DNA dos fatores de transcrição GLIs.

As fisalinas também interagem com componentes celulares que estão superexpressos em alguns tumores, como é o caso do receptor de andrógeno (RA) e do antígeno prostático específico (PSA) (HAN et al., 2011). O câncer de próstata é a quarta principal causa de morbidade e mortalidade que afeta homens na atualidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Uma das formas de tratamento para esse tipo de tumor ocorre através da terapia depleção de andrógenos; no entanto alguns pacientes desenvolvem resistência e não respondem mais ao tratamento (WADOSKY; KOOCHKEKPOUR, 2016). Com isso, nesse grupo de pacientes, o tumor acaba reincidindo e evoluem de um câncer prostático andrógeno-dependente para um câncer prostático andrógeno-independente (SARAON et al., 2014). Uma das características marcantes da forma andrógeno-independente é a expressão constitutiva de RA, a qual é crucial para a progressão tumoral nos estágios iniciais da doença. (KAARBØ; KLOKK; SAATCIOGLU, 2007). Para avaliar se as fisalinas têm a capacidade de atenuar esses efeitos, submeteram as linhagens C42B (andrógeno-dependente) e CWR22Rv1 (andrógeno-independente) ao tratamento com FA e FB e observaram que a capacidade de inibição da proliferação celular ocorre através da redução da expressão de RA em ambas células, sendo C42B apresentando uma resposta mais sensível do que CWR22Rv1, além notar uma baixa produção de PSA nesta linhagem. Por fim, Han et al (2011) perceberam que este mecanismo é regulado pelas vias ERK e JNK, as quais são responsáveis por desencadear a morte celular por apoptose.

Quadro 1. Artigos selecionados para compor a revisão bibliográfica sobre a ação antitumoral das fisalinas.

Fisalinas em avaliação	Principais achados	Referências
Fisalinas B, F e H	Fisalinas B, F e H inibem a proliferação em diversas linhagens de células tumorais, sendo que a fisalina F apresentou o melhor perfil de citotoxicidade.	Fang et al., 2003

Fisalinas B e F	Fisalinas B e F inibem a proliferação celular em diversas linhagens de células tumorais, sendo que a fisalina F apresentou o melhor perfil de citotoxicidade.	Lee; Houghton, 2005
Fisalinas B e D	Fisalinas B e D inibem a proliferação celular em diversas linhagens de células tumorais, sendo que a fisalina D apresentou o melhor perfil de citotoxicidade. A fisalina B mostrou efeitos tóxicos em experimentos.	Magalhães et al. 2006
Fisalinas B, D e F	Fisalinas B e F, mas não a D, inibem a proliferação das células HeLa através da inibição de NFkB desencadeada por TNF-alfa. Em adição, a fisalina F induziu a apoptose em células Jukart.	Jacobo-Herrera et al., 2006
Fisalinas B, D, F e U	Citotoxicidade em diversas linhagens de células cancerígenas. A fisalina F apresentou o melhor perfil de citotoxicidade.	Damu et al., 2007
Fisalinas B e C	Diminuem a viabilidade das células DLD-1 a partir da inibição da via ubiquitina/proteassoma.	Ausseil et al., 2007
Fisalina B	Diminui a viabilidade de células DLD-1 através da inibição a via ubiquitina/proteassoma associada com a inibição de NFkB induzida por TNF-alfa e com a indução da proteína Noxa, levando à morte por apoptose.	Vandenberghe et al., 2008

Fisalinas A e B	Inibem a proliferação das células C42B e CWR22Rv1 através da indução da apoptose a partir da ativação das vias MAP kinase, ERK 1/2 e JNK. Em adição, ambas as moléculas reduziram a expressão do receptor de andrógeno (RA) e do antígeno prostático específico (PSA).	Han et al., 2011
Fisalina B	Diminui a viabilidade de células A375 através da indução da apoptose pela inibição da via ubiquitina/proteassoma e da ativação de vias mitocondriais, como das proteínas Noxa, Bax e caspase-3.	Hsu et al. 2012
Fisalina F	Inibe o crescimento e viabilidade de células A498, estimulou a produção de ROS e desencadeou a apoptose a partir da perda do potencial de membrana mitocondrial, levando a sua ruptura e liberação do citocromo c para o citosol e, em seguida, clivagem de PARP e ativação das caspases-9 e -3. Como complemento, a fisalina F inibiu a atividade da via de sinalização NFkB.	Wu et al., 2012
Fisalina A	Inibe a proliferação de células HT1080 a partir da indução da apoptose a partir da clivagem de PARP e ativação das caspases-3, -8 e CAD, e da indução da autofagia através da formação de autofagossomas, aumento da expressão de beclin 1 e conversão de LC3 I em LC3 II.	He et al., 2013a

Fisalina A	Apresenta efeitos citotóxicos contra células A375-S2 através da ativação da apoptose a partir da geração de ROS dependente da via p53-Noxa.	He et al., 2013b
Fisalina F	Inibe a proliferação de células MCF-7 através da ativação da apoptose induzida pelo aumento da expressão dos genes c-myc e caspase-3.	Ooi; Tengku Muhammad; Sulaiman, 2013
Fisalina H e isofisalina B	Efeitos citotóxicos contra células PANC1 e DU145. Fisalina H atua inibindo a via de sinalização Hedgehog por meio da inibição da formação do complexo GLI1-DNA.	Arai et al., 2014
Fisalina A	Inibe a proliferação de células A375-S2 por meio da indução da autofagia e ativação da apoptose a partir da geração de óxido nítrico.	He et al., 2014
Fisalina B	Inibe a proliferação das células HCT116 através da indução da apoptose a partir da inibição da via ubiquitina/proteassoma mediada pela geração de mito-EROs e indução da autofagia incompleta. Em adição, promoveu a ativação da via MAP kinase, a qual regula ambas as respostas.	Ma et al., 2015
Fisalina A	Inibe a proliferação das células A549 através da geração de ROS mediada pelas vias p38 e ERK que levam à expressão das proteínas p53, p21 e cdc2 e causam a interrupção do ciclo celular na fase G2.	Kang et al., 2016

Fisalina A	Diminui a viabilidade de células H292, H358 e H1975 por meio da inibição da via de sinalização JAK/STAT3, o que leva à ativação da apoptose.	Zhu et al., 2016
Fisalina B	Diminui a viabilidade das células MCF-7 a partir da indução da expressão da p53 selvagem e da inibição da via Akt, e das células MDA-MB-231 e T47D através da inativação da p53 mutante, resultando na indução da parada do ciclo celular na fase G2 e promovendo a clivagem de PARP e caspases-3, -7, -9 para dar início à morte por apoptose.	Wang et al., 2018
Fisalinas B, F e XI	Apresentam efeitos citotóxicos contra diversas linhagens de células cancerígenas.	Boonsombat et al., 2018
Fisalina F	Inibe o crescimento das células SW40 e DLD-1 por meio da inibição da glicoproteína Wnt e, portanto, promovendo a degradação de β -catenina dependente de YAP.	Chen et al., 2018
Fisalina A	Diminui a viabilidade de células HepG2 através da indução de Nrf2 por meio da ativação das vias ERK e p38 para estimular a produção HO-1 e NQO1.	Shin et al., 2019

Fonte: Elaborado pela autora.

4 AÇÃO IMUNOMODULADORA DAS FISALINAS

As fisalinas são moléculas pleiotrópicas capazes de interagir com inúmeros componentes envolvidos no estabelecimento e na resolução da inflamação (YU et al., 2010; PINTO et al., 2016; DING et al., 2018). Essas interações possibilitam que diversas fisalinas atuem como potentes agentes anti-inflamatórios e imunossupressores, sendo o primeiro efeito mais bem descrito e consolidado (**Quadro 2**).

Vários estudos *in vitro* demonstram que as fisalinas, em culturas de macrófagos estimuladas com LPS e IFN- γ , inibiram a produção de óxido nítrico (NO), produzido a partir de L-arginina pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), reconhecido pelo seu importante papel na resposta inflamatória (SOARES et al., 2003 ; QIU et al., 2008; JI et al., 2012; SUN et al., 2017). Além disso, investigações realizadas com as fisalinas B, E, F e G também mostram uma inibição da produção de várias citocinas inflamatórias em macrófagos ativados, como as interleucinas (IL) -6, IL-12 e fator de necrose tumoral alfa (TNF α) (SOARES et al., 2003; YANG et al., 2017). A maioria desses efeitos é atribuída à inibição da ativação do NF κ B, um fator de transcrição envolvido na regulação de vários genes pró-inflamatórios (**Figura 6**) (JACOBO-HERRERA et al., 2006; YANG et al., 2017). Em adição, a fisalina D exerce efeitos anti-inflamatórios através da polarização de macrófagos com um perfil M1 para macrófagos com um perfil M2, que estão associados com a resolução da inflamação (DING et al., 2018).

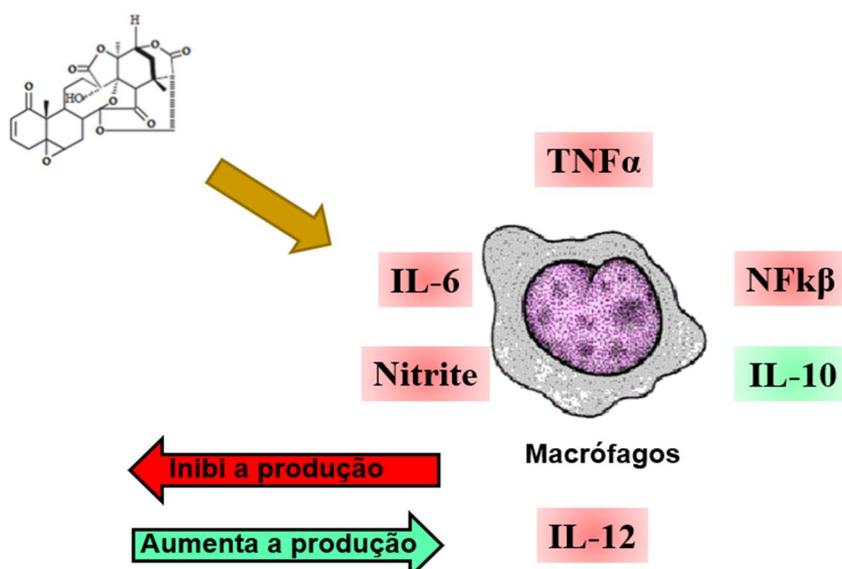


Figura 6. Principais moléculas envolvidas no efeito anti-inflamatório das fisalinas. As fisalinas interagem com constituintes inflamatórios e inibem a produção de moléculas pró-inflamatórias,

como IL-6, IL-12 e TNF- α , inibem a produção de NO e inibem a via de sinalização NF κ B, enquanto que aumenta a expressão de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10.

Os efeitos anti-inflamatórios das fisalinas também foram validados em vários modelos animais. Os trabalhos iniciais de Soares et al (2003) demonstraram a ação anti-inflamatória das fisalinas em um modelo de choque endotóxico em camundongos, onde as fisalinas B, F e G (a 0,5 ou 1 mg/Kg) protegeram os camundongos contra uma dose letal de LPS e diminuíram os níveis de produção da citocina pro-inflamatória TNF- α . Vieira et al (2005) mostraram que as fisalinas B e F (em 20, 2 ou 0,2 mg/Kg) suprimiram o aumento tecidual (intestino e pulmão), diminuíram as concentrações séricas de TNF- α e aumentaram a produção de IL-10 em um modelo de lesão intestinal por isquemia e reperfusão em camundongos. Além disso, a fisalina E (a 0,125, 0,25 e 0,5 mg/por orelha, 20 μ L) revelou efeitos anti-inflamatórios em modelos agudos e crônicos de dermatites induzidas por 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA) e oxazolona, respectivamente (PINTO et al., 2010).

Uma vez que as fisalinas têm uma estrutura química esteroideal, sua interação com os receptores de glicocorticoides foi investigada como possível mecanismo de ação. As investigações, em sua maioria, foram conduzidas utilizando a mifepristona (ou RU-486), que consiste em uma antiprogesterona esteroideal a qual funciona como um antagonista dos receptores glicocorticoides. O pré-tratamento com mifepristona (25 mg/Kg) reverteu os efeitos anti-inflamatórios das fisalinas B e F em um modelo de lesão intestinal por isquemia e reperfusão em camundongos e os efeitos anti-inflamatórios da fisalina E em dermatites induzidas por TPA (VIEIRA et al., 2005; PINTO et al., 2010). Entretanto, esses dados não são suportados por experimentos *in vitro* com cultura de macrófagos, que demonstram que na presença da mifepristona, os efeitos anti-inflamatórios das fisalinas B, E, F e G não são reduzidos, sugerindo que essas moléculas não dependem dos receptores de glicocorticoides para exercer seus efeitos anti-inflamatórios (YANG et al., 2017). A hipótese de que a ação das fisalinas independe de uma ligação com os receptores glicocorticoides é suportado experimentalmente pelo fato do tratamento com a fisalina F não promover a translocação do receptor glicocorticoide do citoplasma para o núcleo (BRUSTOLIM et al., 2010).

Apesar de inúmeros estudos descreverem o efeito anti-inflamatório das fisalinas, apenas três trabalhos reportam o potencial imunossupressor da classe, sendo que apenas as fisalinas B, D, F, G e H tiveram o seu efeito imunossupressor investigado (SOARES

et al., 2006; YU *et al.*, 2010; PINTO et al., 2016). Com exceção da fisalina D, as fisalinas B, F, G e H (em concentrações inferiores a 5 µg/mL) possuem um potente efeito antiproliferativo em cultura de linfócitos estimulados com concanavalina A ou em ensaios de reação mista linfocitária (SOARES et al., 2006; YU et al., 2010). Yu *et al.* (2010) demonstraram que a inibição da proliferação de linfócitos é induzida por uma parada no ciclo celular na fase G1. PINTO et al. (2016) mostraram que a fisalina F induz a morte celular por apoptose de linfócitos em pacientes com HTLV-1. Portanto, esses dados corroboram com efeitos induzidos pelas fisalinas em células tumorais.

A supressão da proliferação dos linfócitos induzida por diferentes fisalinas é acompanhada por uma redução de citocinas relacionadas à ativação e a expansão clonal de linfócitos, como IL-2 e IFN- γ (SOARES et al., 2006; YU et al., 2010; PINTO et al., 2016). YU et al. (2010) demonstraram também que a fisalina H modulou o balanço TH1/TH2, tendo em vista que diminuiu a secreção de citocinas de perfil TH1 (IL-2 e IFN- γ) e aumentou a secreção de citocinas de perfil TH2 (IL-4 e IL-10), evidenciando a capacidade dessa fisalina em reverter a polarização TH1 *in vitro*.

Em adição, as fisalinas B, F, G e H demonstram também o seu efeito imunossupressor em modelos experimentais animais. As fisalinas B, F e G, quando avaliadas em modelo murino de transplante alogênico, inibem a absorção do enxerto e a resposta inflamatória local (SOARES et al., 2006). Em adição, a fisalina H, quando avaliada em um modelo murino de hipersensibilidade do tipo tardia, reduziu de forma dose-dependente do edema na orelha dos animais e a proliferação de linfócitos T específicos para ovoalbumina (YU et al., 2010).

Quadro 2. Artigos selecionados para compor a revisão bibliográfica sobre a ação imunomoduladora das fisalinas.

Fisalinas em avaliação	Principais achados	Referências
Fisalinas B, D, F e G	As fisalinas B, F e G, mas não a fisalina D, inibem a produção de nitrito, IL-6, IL-12, nitrito e TNF- α em cultura de macrófagos ativadas com LPS + IFN- γ . Em adição possuem um efeito protetor em modelo de sepsis induzida por LPS.	Soares et al., 2003

Fisalinas B, D e F	A fisalina B e F, mas não a fisalina D, inibem a ativação do NFκB	Jacobo-Herrera et al., 2006
Fisalinas B, D, F e G	As fisalinas B, F e G mas não a fisalina D inibem a linfoproliferação induzida por concanavalina A e a secreção de IL-2 e IFN-γ. Em adição, as fisalinas B, F e G inibem a rejeição da enxertia em modelo de transplante alogênico.	Soares et al., 2006
Fisalina A, B, F, I, Y e O	Inibição da produção de óxido nítrico por macrófagos tratados com fisalinas.	Qiu et al., 2008
Fisalina F	A fisalina F reduz o edema de pata e a inflamação nas articulações em modelo murino de artrite reumatoide. Através de avaliações <i>in vitro</i> fica evidenciado o efeito das fisalinas independente da ligação aos receptores glicocorticoides.	Brustolim et al., 2010
Fisalina H	Inibição da linfoproliferação induzida por concanavalina A ou reação mista linfocitária. Inibição da secreção de IL-2 e IFN-γ e aumento de IL-4 e IL-10. Em adição, reduz o edema formado em modelo de hipersensibilidade do tipo tardia.	Yu et al., 2010
Fisalinas A, G, L, O e isofisalina A	Inibição da produção de óxido nítrico por macrófagos tratados com fisalinas	Ji et al., 2012
Fisalina F	Inibição da linfoproliferação de PBMC de indivíduos HAM/TSP. Redução dos níveis de IL-2, IL-6, IL-10, TNF-α e IFN-γ, mas não IL-17A, em sobrenadantes de culturas PBMC.	Pinto et al., 2016
Fisalina E	Inibição da expressão e secreção de TNF-α, IL-5 e translocação do NFκβ em cultura de macrófagos	Yang et al., 2017

Fisalina V, VII e VIII	Inibição da produção de NO por macrófagos tratados com fisalinas	Sun et al., 2017
Fisalina X e Aromafisalina B	Inibição da produção de NO por macrófagos tratados com fisalinas	Sun et al., 2017
Fisalina D	Repolarização de macrófagos com perfil M1 em macrófagos com perfil M2	Ding et al., 2019

Fonte: Elaborado pela autora.

5 CONCLUSÃO GERAL

Por serem moléculas versáteis, as fisalinas atuam em diversas vias de sinalização celular e ativam diferentes mecanismos de morte celular ou imunomodulação. Dentre as fisalinas avaliadas, as fisalinas B e F possuem os efeitos mais notórios, sendo consideradas as fisalinas mais promissoras descritas até o momento. Com o presente trabalho, podemos concluir que a classe das fisalinas é uma fonte promissora para descoberta de agentes antitumorais e imunomoduladores promissores.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, I. et al. Herbal medicines: prospects and constraints. **Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs**, p. 59–77, 2006.
- ANTOUN, M. D. et al. Potential Antitumor Agents XVII Physalin B and 25,26-Eoidihydrophysalin C from *Witheringia coccoloboides*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 5, p. 579–583, 1981.
- ARAI, M. A. et al. Physalin H from *Solanum nigrum* as an Hh signaling inhibitor blocks GLI1-DNA-complex formation. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 10, p. 134–140, 2014.
- AUSSEIL, F. et al. High-throughput bioluminescence screening of ubiquitin-proteasome pathway inhibitors from chemical and natural sources. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 12, n. 1, p. 106–116, 2007.
- BASAK, P. et al. Perspectives of the Nrf-2 signaling pathway in cancer progression and therapy. **Toxicology Reports**, v. 4, n. May, p. 306–318, 2017.
- BELLEZZA, I. et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1865, n. 5, p. 721–733, 2018.
- BOONSOMBAT, J. et al. A new 22,26-seco physalin steroid from *Physalis angulata*. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2018.
- BRUSTOLIM, D. et al. Activity of physalin F in a collagen-induced arthritis model. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 8, p. 1323–1326, 2010.
- CAGNOL, S.; CHAMBARD, J. C. ERK and cell death: Mechanisms of ERK-induced cell death - Apoptosis, autophagy and senescence. **FEBS Journal**, v. 277, n. 1, p. 2–21, 2010.
- CHEN, C. et al. YAP-dependent ubiquitination and degradation of β -catenin mediates inhibition of Wnt signalling induced by Physalin F in colorectal cancer article. **Cell Death and Disease**, v. 9, n. 6, 2018.
- COBB, M. H. MAP kinase pathways. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 71, n. 3–4, p. 479–500, 1999.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug

leads. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.

DAMU, A. G. et al. Isolation, structures, and structure-cytotoxic activity relationships of withanolides and physalins from *Physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 7, p. 1146–1152, 2007.

DHILLON, A. S. et al. MAP kinase signalling pathways in cancer. **Oncogene**, v. 26, n. 22, p. 3279–3290, 2007.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303–36, 2012.

DING, N. et al. Physalin D regulates macrophage M1/M2 polarization via the STAT1/6 pathway. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 6, p. 8788–8796, 2019.

ELMORE, S. Apoptosis: A Review of programmed Cell Death. **Toxicol Pathology**, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007.

FANG, L. et al. Cytotoxic constituents of *brachistus stramoniiifolius*. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 5, p. 520–523, 2003.

HAN, H. et al. Physalins A and B Inhibit Androgen-Independent Prostate Cancer Cell Growth through Activation of Cell Apoptosis and Downregulation of Androgen Receptor Expression. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 10, p. 1584–1588, 2011.

HE, H. et al. Physalin A induces apoptotic cell death and protective autophagy in HT1080 human fibrosarcoma cells. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 5, p. 880–888, 2013a.

HE, H. et al. Physalin A induces apoptosis via p53-Noxa-mediated ROS generation, and autophagy plays a protective role against apoptosis through p38-NF- κ B survival pathway in A375-S2 cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 2, p. 544–555, 2013b.

HE, H. et al. Nitric oxide induces apoptosis and autophagy; autophagy down-regulates NO synthesis in physalin A-treated A375-S2 human melanoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 71, p. 128–135, 2014.

HSEU, Y. C. et al. Inhibitory effects of *physalis angulata* on tumor metastasis and angiogenesis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 3, p. 762–771, 2011.

HSU, C. C. et al. Physalin B from *Physalis angulata* triggers the NOXA-related apoptosis

pathway of human melanoma A375 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3–4, p. 619–624, 2012.

JACOBO-HERRERA, N. J. et al. Physalins from *Witheringia solanacea* as modulators of the NF- κ B cascade. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 328–331, 2006.

JI, L. et al. Physalins with anti-inflammatory activity are present in *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and can function as Michael reaction acceptors. **Steroids**, v. 77, n. 5, p. 441–447, 2012.

JIA, Y.; WANG, Y.; XIE, J. The Hedgehog pathway: role in cell differentiation, polarity and proliferation. **Physiology & behavior**, v. 89, n. 2, p. 179–191, 2015.

KAARBØ, M.; KLOKK, T. I.; SAATCIOGLU, F. Androgen signaling and its interactions with other signaling pathways in prostate cancer. **BioEssays**, v. 29, n. 12, p. 1227–1238, 2007.

KANG, N. et al. Physalin A induces G2/M phase cell cycle arrest in human non-small cell lung cancer cells: involvement of the p38 MAPK/ROS pathway. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 415, n. 1–2, p. 145–155, 2016.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. **Robbins & Cotran Patologia - bases patológicas das doenças**. 9ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

LEE, C. C.; HOUGHTON, P. Cytotoxicity of plants from malaysia and thailand used traditionally to treat cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 3, p. 237–243, 2005.

LIMA, M. DA S. et al. Antinociceptive properties of physalins from *physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 11, p. 2397–2403, 2014.

MA, Y. M. et al. Physalin B not only inhibits the ubiquitin-proteasome pathway but also induces incomplete autophagic response in human colon cancer cells in vitro. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 36, n. 4, p. 517–527, 2015.

MAGALHÃES, H. I. F. et al. In-vitro and in-vivo antitumour activity of physalins B and D from *Physalis angulata*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, n. 2, p. 235–241, 2006.

MEIRA, C. S. et al. Physalins B and F, seco-steroids isolated from *Physalis angulata* L.,

strongly inhibit proliferation, ultrastructure and infectivity of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology**, 2013.

OOI, K. L.; TENGKU MUHAMMAD, T. S.; SULAIMAN, S. F. Physalin F from *Physalis minima* L. triggers apoptosis-based cytotoxic mechanism in T-47D cells through the activation caspase-3- and c-myc-dependent pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 382–388, 2013.

PINTO, N. B. et al. **Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice** *Phytomedicine*, 2010.

QIU, L. et al. Steroids and flavonoids from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and their inhibitory effects on nitric oxide production. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 4, p. 642–646, 2008.

SARAON, P. et al. Mechanisms of Androgen-Independent Prostate Cancer. **Ejifcc**, v. 25, n. 1, p. 42–54, 2014.

SHARMA, N. et al. Perspectives and possibilities of indian species of genus *physalis* (L.) - a comprehensive review. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 2, n. 4, p. 693–698, 2015.

SHIN, J. M. et al. Physalin A regulates the Nrf2 pathway through ERK and p38 for induction of detoxifying enzymes. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2019.

SKODA, A. M. et al. The role of the hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 18, n. 1, p. 8–20, 2018.

SOARES, M. B. P. et al. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. **European Journal of Pharmacology**, v. 459, n. 1, p. 107–112, 10 jan. 2003.

SOARES, M. B. P. et al. Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. **International Immunopharmacology**, v. 6, n. 3, p. 408–414, 2006.

SOUZA, M. T. DE; SILVA, M. D. DE; CARVALHO, R. DE. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein**, v. 8, n. 1, p. 102–106, 2010.

SUN, C.-P. et al. Physalins V-IX, 16,24-cyclo-13,14-seco withanolides from *Physalis angulata* and their antiproliferative and anti-inflammatory activities. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017a.

SUN, C. P. et al. Unprecedented 22,26-: Seco physalins from *Physalis angulata* and their anti-inflammatory potential. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 15, n. 41, p. 8700–8704, 2017b.

THOMAS, S. J. et al. The role of JAK/STAT signalling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumours. **British Journal of Cancer**, v. 113, n. 3, p. 365–371, 2015.

TOMASSINI, T. C. B. et al. Gênero *Physalis* - uma revisão sobre vitasteróides. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 47–57, 2000.

VANDENBERGHE, I. et al. Physalin B, a novel inhibitor of the ubiquitin-proteasome pathway, triggers NOXA-associated apoptosis. **Biochemical Pharmacology**, v. 76, n. 4, p. 453–462, 2008.

VERAS, M. L. et al. Cytotoxic epimeric withaphysalins from leaves of *Acnistus arborescens*. **Planta Medica**, v. 70, n. 6, p. 551–555, 2004.

VIEIRA, A. T. et al. Mechanisms of the anti-inflammatory effects of the natural secosteroids physalins in a model of intestinal ischaemia and reperfusion injury. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, n. 2, p. 244–251, 2005.

WADOSKY, K. M.; KOOCHEKPOUR, S. Molecular mechanisms underlying resistance to androgen deprivation therapy in prostate cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 39, p. 64447–64470, 2016.

WANG, A. et al. Physalin B induces cell cycle arrest and triggers apoptosis in breast cancer cells through modulating p53-dependent apoptotic pathway. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 101, n. February, p. 334–341, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Latest global cancer data: cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. **International Agency for Research on Cancer**, n. September, p. 13–15, 2018.

WU, S. Y. et al. Physalin F induces cell apoptosis in human renal carcinoma cells by targeting NF-kappaB and generating reactive oxygen species. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7,

2012.

XIA, L. et al. OncoTargets and Therapy Dovepress Role of the NF κ B-signaling pathway in cancer. **OncoTargets and Therapy**, v. 11, p. 2063–2073, 2018.

YANG, Y. J. et al. Anti-inflammatory effects of physalin E from *Physalis angulata* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells through inhibition of NF- κ B pathway. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 39, n. 2, p. 74–79, 2017.

YU, Y. et al. Investigation of the immunosuppressive activity of Physalin H on T lymphocytes. **International Immunopharmacology**, v. 10, n. 3, p. 290–297, 2010.

ZHANG, Q.; LENARDO, M. J.; BALTIMORE, D. 30 Years of NF- κ B: A Blossoming of Relevance to Human Pathobiology. **Cell**, v. 168, n. 1–2, p. 37–57, 2017.

ZHANG, W.-N.; TONG, W.-Y. Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *physalis*. **Chemistry & Biodiversity**, n. 13, p. 48–65, 2016.

ZHU, F. et al. Physalin A exerts anti-tumor activity in non-small cell lung cancer cell lines by suppressing JAK/STAT3 signaling. **Oncotarget**, v. 7, n. 8, 2016.

Proposta de submissão:

Revista: Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas

Regras para Submissão:**ANEXO**

Anexo A - Diretrizes para Autores

Instruções para apresentação dos trabalhos

1. Estrutura dos originais

1.1.Cabeçalho: constituído por:

- Título do trabalho: deve ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho.

- Autor(es) por extenso, indicando a(s) instituição(ões) a(s) qual(is) pertence(m) mediante números. O autor para correspondência deve ser identificado com asterisco, fornecendo o endereço completo, incluindo o eletrônico. Estas informações devem constar em notas de rodapé.

1.2 Resumo (em português): deve apresentar a condensação do conteúdo, expondo metodologia, resultados e conclusões, não excedendo 200 palavras. Os membros da Comissão poderão auxiliar autores que não são fluentes em português.

1.3 Unitermos: devem representar o conteúdo do artigo, evitando-se os de natureza genérica e observando o limite máximo de 6(seis) unitermos.

1.4 Introdução: deve estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos no mesmo campo. Extensas revisões de literatura devem ser substituídas por referências aos trabalhos bibliográficos mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

1.5 Material e Métodos: a descrição dos métodos usados deve ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e repetição do trabalho. Processos e Técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, devem ser apenas referidos por citação. Estudos em humanos devem fazer referência à aprovação do Comitê de Ética correspondente.

1.6 Resultados e Discussão: deverão ser acompanhados de tabelas e material ilustrativo adequado, devendo se restringir ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados. É facultativa a apresentação desses itens em separado.

1.7 Conclusões: Quando pertinentes, devem ser fundamentadas no texto.

1.8 Resumo em inglês (ABSTRACT): deve acompanhar o conteúdo do resumo em português.

1.9 Unitermos em inglês: devem acompanhar os unitermos em português.

1.10 Agradecimentos: devem constar de parágrafos, à parte, antecedendo as referências bibliográficas.

1.11 Referências: devem ser organizadas de acordo com as normas da ABNT NBR-6023, ordenadas alfabeticamente no fim do artigo incluindo os nomes de todos os autores.

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

2. Apresentação dos originais

Os trabalhos devem ser apresentados em lauda padrão (de 30 a 36 linhas com espaço duplo). Utilizar Programa Word for Windows. Os autores devem encaminhar o trabalho acompanhado de carta assinada pelo autor de correspondência, que se responsabilizará pela transferência dos direitos à RBCF.

3. Informações adicionais

3.1 Citação bibliográfica: As citações bibliográficas devem ser apresentadas no texto pelo(s) nome(s) do(s) autor(es), com apenas a inicial em maiúsculo e seguida do ano de publicação. No caso de haver mais de três autores, citar o primeiro e acrescentar a expressão et al. (*em itálico*)

3.2 Ilustrações: As ilustrações (gráficos, tabelas, fórmulas químicas, equações, mapas, figuras, fotografias, etc) devem ser incluídas no texto, o mais próximo possível das respectivas citações. Mapas, figuras e fotografias devem ser, também, apresentados em arquivos separados e reproduzidas em alta resolução(800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif. e/ou bmp. No caso de não ser possível a entrega do arquivo eletrônico das figuras, os originais devem ser enviados em papel vegetal ou impressora a laser.

Ilustrações coloridas somente serão publicadas mediante pagamento pelos autores.

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos romanos e as figuras em algarismos arábicos, seguidos do título. As palavras TABELA e FIGURA devem aparecer em maiúsculas na apresentação no texto e na citação com apenas a inicial em maiúsculo.

3.3 Nomenclatura: pesos, medidas, nomes de plantas, animais e substâncias químicas devem estar de acordo com as regras internacionais de nomenclatura. A grafia dos nomes de fármacos deve seguir, no caso de artigos nacionais, as Denominações Comuns Brasileiras (DCB) em vigor, podendo ser mencionados uma vez (entre parênteses, com inicial maiúscula) os registrados.