

Produtos Naturais e a Apoptose: Um Enfoque Promissor para a Descoberta de Novos Fármacos

Natural Products and Apoptosis: a Promising Approach for Drug Discovery

¹Muzitano, M. F.;
^{1*}Costa, S. S.

¹Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, NPPN-UFRJ, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: E-mail:
sscosta@nppn.ufrj.br

Resumo

*A morte celular programada, denominada apoptose celular, faz parte de diversos processos vitais, dentre os quais podemos citar o desenvolvimento embrionário, o controle de tumores e a regulação de populações de células do sistema imune. Distúrbios na regulação da apoptose estão envolvidos em uma variedade de doenças, tais como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), o câncer, a doença de Alzheimer, o mal de Parkinson e as doenças auto-imunes. Hoje há acesso a estudos bastante aprofundados sobre moléculas que atuam diretamente em alvos terapêuticos nos mecanismos apoptóticos e que, por esta razão, poderiam ser utilizadas no tratamento de várias doenças ainda sem cura. Os trabalhos mais promissores nesta área focalizam, por exemplo, substâncias isoladas do alho (*Allium sativum*), terpenos de *Casaria membranaceae* e de *Zingiber mioga*, além de alguns produtos do ácido gambógico, isolado de *Garcinia hurburyi*. Muitos esforços têm sido empregados visando aplicar moléculas capazes de induzir a apoptose no tratamento do câncer, entretanto são poucos os trabalhos direcionados a outras doenças. Esta revisão tem como objetivo principal mostrar o potencial de moléculas de origem natural para o tratamento do câncer e dessas outras patologias, com base nos mais conhecidos alvos terapêuticos envolvidos na apoptose.*

Abstract

*The programmed cell death, also called apoptosis, is part of several vital processes, as the embryonic development, the control of tumors and the regulation of populations of cells of the immune system. Disturbs of its regulation are involved with a variety of illnesses such as AIDS, cancer, Alzheimer's, autoimmune diseases and Parkinson's disease. Today we have access to several studies showing in a deep way the direct effect of molecules on therapeutic targets in apoptotic mechanisms that could be used in the treatment of some incurable illnesses. The most promising results in this area concern, for example, substances obtained from garlic (*Allium sativum*), terpenes from *Casaria membranaceae* and *Zingiber mioga* and derivatives of gambogic acid, isolated from *Garcinia hurburyi*. Many efforts have been made to apply apoptosis inducer drugs in cancer therapy, but few studies have been correlated to other illnesses. The aim of this review is to show the potential of natural molecules to the treatment of cancer and those other pathologies, based on the most studied apoptosis therapeutic targets.*

Unitermos

apoptose; plantas medicinais; produtos naturais; moléculas bioativas; caspases; Bcl-2.

Key words

apoptosis; medicinal plants; natural products; bioactive molecules; caspases; Bcl-2.



Introdução

Em média, o organismo humano produz e erradica, em paralelo, aproximadamente 60×10^9 células por dia. Esse fluxo de nascimento e morte celular ocorre nos tecidos renováveis do corpo, como a pele, a garganta, a medula óssea e os órgãos sexuais. A morte celular fisiológica, chamada de apoptose, é importante para uma grande variedade de processos normais, desde o desenvolvimento fetal até a velhice. Exemplos deste processo ocorrem na educação do sistema imunológico, onde as células auto-reativas são eliminadas; na defesa contra vírus, onde as células hospedeiras são programadas para morrer, de forma a impedir a replicação viral; na homeostase dos tecidos, onde células são erradicadas para dar lugar a células novas; e em muitos aspectos da biologia da reprodução (REED, 2002).

De maneira geral, existem dois tipos de morte celular, aquela provocada por injúria e outra onde as células são induzidas a se programarem para a morte fisiológica. A morte patológica, conhecida como necrose, é acompanhada de reação inflamatória intensa que pode acarretar em dano tecidual. Já na morte celular fisiológica, apoptose, não ocorre inflamação visto que não há dano na membrana, não havendo, portanto extravasamento de material intracelular. As células apoptóticas geradas são então fagocitadas (McCONKEY, 1998). Devido à importância vital do processo apoptótico, qualquer distúrbio em sua regulação - excesso ou insuficiência - pode acarretar várias doenças (McCONKEY, 1998). Processos de apoptose em excesso podem causar doenças neurodegenerativas (como a doença de Alzheimer e o mal de Parkinson), lesões secundárias após isquemia, retinite pigmentosa e osteoporose. Por outro lado, a ausência de apoptose pode causar doenças auto-imunes, tumores ou ainda prolongar infecções viróticas (HORTA; YOUNG, 1999).

Os principais alvos terapêuticos para a terapia baseada em apoptose celular incluem os moduladores de Bcl-2 (B cells lymphoma) e os ativadores e inibidores de caspases. Em uma célula saudável, as mitocôndrias expressam na superfície de sua membrana uma proteína conhecida como Bcl-2. A família Bcl-2 inclui 25 proteínas, pro-apoptóticas e anti-apoptóticas. Muitas destas proteínas regulam a fase de apoptose dependente da mitocôndria (Bcl-2 e Bcl-X), enquanto outras (Bak - Bcl-2 antagonist

killer e Bax - Bcl-2 associated X protein) promovem a liberação de proteínas apoptogênicas mitocondriais. Sendo assim, as primeiras inibem a apoptose, enquanto as segundas a estimulam. As caspases, uma família de cisteíno- proteases com especificidade para resíduos de aspartato, são produzidas nas células sob a forma de zimogênios inativos. Caspases efetoras, como a caspase-3, são ativadas por uma caspase iniciadora, como a caspase-9, através de clivagem proteolítica em sítios específicos de resíduos internos de aspartato. Uma vez ativadas, as caspases efetoras são responsáveis pela clivagem proteolítica de muitas proteínas responsáveis pela sobrevivência celular, como as proteínas estruturais (REED, 2002; NICHOLSON, 2000).

Produtos Naturais e a Apoptose

Os produtos naturais possuem um papel importante na descoberta de novos fármacos. No período de 1981 a 2002, estima-se que 61% de pequenas moléculas descobertas e em processo de desenvolvimento são produtos naturais ou são deles originados (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003). O estudo bioquímico dos fenômenos celulares e o estudo do genoma humano permitiram o conhecimento de novos e efetivos alvos terapêuticos a serem usados em terapias onde ocorrem desordens apoptóticas, principalmente para o tratamento do câncer. No ano de 2003, o mercado de fármacos promotores de apoptose para fins oncológicos rendeu 1841 milhões de dólares, enquanto que no primeiro semestre de 2004 as vendas atingiram o montante de 1511 milhões de dólares (MELNIKOVA; GOLDEN, 2004). Esses números demonstram o crescente interesse das indústrias farmacêuticas mundiais neste alvo terapêutico.

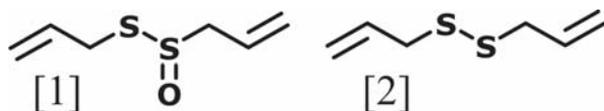
Muitos estudos têm sido realizados de maneira clássica, por meio de isolamento de substância ativa monitorado por ensaios biológicos ou da avaliação de substâncias anteriormente isoladas. Porém, o conhecimento da estrutura de várias proteínas presentes no mecanismo apoptótico permitiu a realização de pesquisas baseadas em interação proteína-inibidor, via análise computacional ou via estudos bioquímicos de atividade enzimática. A maior parte dos trabalhos, envolvendo a descoberta de produtos naturais que tem a apoptose como alvo, foi realizada com vistas a moléculas que induzem apoptose em processos patológicos, onde este

fenômeno se encontra inibido. Estudos envolvendo a inibição de apoptose são poucos explorados e existem poucos relatos na literatura sobre este assunto.

Produtos naturais que agem principalmente sobre as caspases

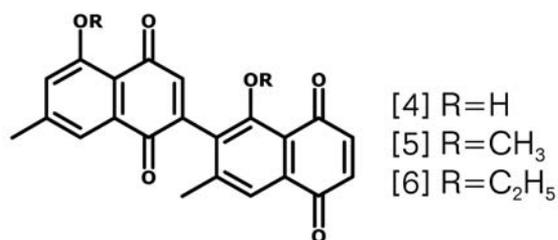
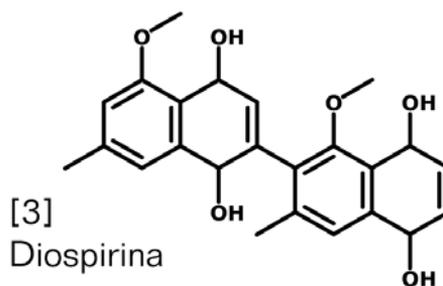
As caspases constituem, provavelmente, o alvo terapêutico mais óbvio para modular a apoptose, por serem proteínas efetoras neste processo celular. Estudos têm sido desenvolvidos baseados em vários membros da família caspase, com maior atenção na caspase-3 por ser o membro efetor da maquinaria apoptótica em vários tipos celulares. Os trabalhos mais promissores nesta área focalizam substâncias isoladas do alho (*Allium sativum*), algumas bisnaftoquinonas de *Diospyros Montana*, terpenos de *Casaria membranacea* e de *Zingiber mioga*, um flavonóide de *Lonicera japonica*. Alguns dados referentes à relação estrutura-atividade de produtos do ácido gambógico (isolado de *Garcinia hurburyi*) e do [6]-paradol (isolado de *Zingiber officinale*) foram publicados. Abaixo se encontram os resultados mais relevantes sobre esses trabalhos.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão diária de alho ajuda na prevenção do câncer (HERMAN-ANTOSIEWICZ; SINGH, 2004). O uso de substâncias organossulfuradas isoladas deste vegetal tem comprovado cientificamente este fato. A alicina [1] (OOMMEN et al., 2004) e o dialil dissulfeto – DADS [2] (LU et al., 2004), substâncias isoladas do alho, se mostraram capazes de induzir apoptose via ativação da caspase 3. A alicina, além de ativar a caspase 3, é também ativadora das caspases 9. Outro mecanismo que corrobora para a ação da alicina é sua capacidade de induzir a fragmentação do DNA. Além da atividade direta nas caspases, estudos feitos com o DADS mostraram que este composto estimula proteínas pro-apoptóticas, como Bax, e inibe proteínas reguladoras como a Bcl-2.

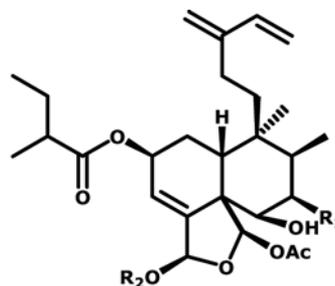


Uma bisnaftoquinona natural, diospirina, isolada de *Diospyros montana* Roxb. (Ebenaceae) e seus três

derivados sintéticos foram avaliados quanto a sua atividade apoptótica em quatro linhagens de células tumorais: leucemia, mieloma, adenocarcinoma e de carcinoma de epitélio cervical. Todas as substâncias testadas foram capazes de induzir apoptose, sendo que o derivado [6] apresentou maior atividade. Esta atividade foi relacionada à ativação das caspases 3 e 8 (CHAKRABARTY et al., 2002).



Triterpenóides isolados de *Casaria membranacea* (Flacourtiaceae), principalmente a caseamembrina C [9], mostraram-se capazes de ativar a caspase 3. Esta substância possui amplo espectro de atividade, sendo também capaz de agir nas proteínas moduladoras Bcl-2 e Bcl-xL (HUANG et al., 2004).



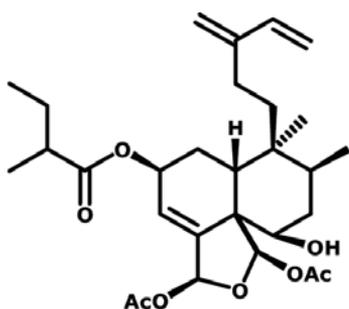
Caseamembrinas A – D

A [7]: R₁=H, R₂=CO(CH₂)₂CH₃

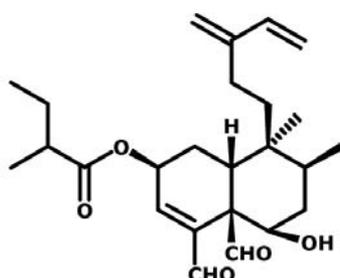
B [8]: R₁=H, R₂=CH₃

C [9]: R₁=OH, R₂=CO(CH₂)₂CH₃

D [10]: R₁=OAc, R₂=CO(CH₂)₂CH₃

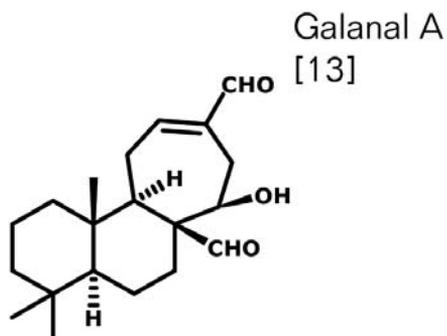
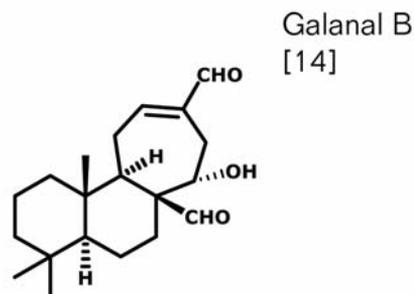


Caseamembrina E [11]

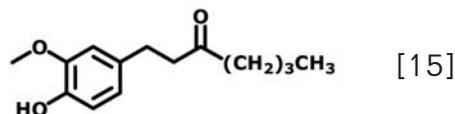


Caseamembrina F [12]

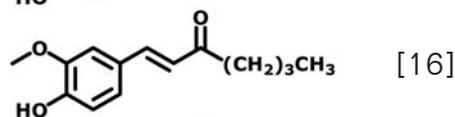
Outros terpenos também capazes de ativar caspases são os galanais A [13] e B [14], isolados do gengibre japonês, *Zingiber mioga* Roscoe (Zingiberaceae). Miyoshi et al. (2003) evidenciaram o papel de terpenos do tipo labdano na indução de apoptose em células T humanas de linfoma de Jurkat. O mecanismo apoptótico envolvido engloba ativação da caspase-3, fragmentação do DNA, danos mitocondriais, liberação do citocromo c, inibição da atividade da proteína Bcl-2 e aumento da expressão de Bax (Bcl-2 associated X protein). Além do galanal A e do galanal B, outras substâncias isoladas tais como curcumina, [6]-gingerol e aframodiol foram testadas, mas não apresentaram atividade (MIYOSHI et al., 2003).

Galanal A
[13]Galanal B
[14]

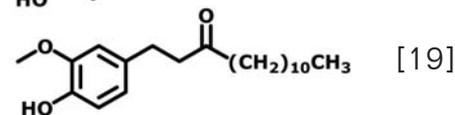
O [6]-paradol [17], também encontrado no gengibre e em outras plantas da família Zingiberaceae, induz a apoptose via caspase-3. Seu derivado sintético [6]-desidroparadol [18] apresentou melhor atividade na ativação desta enzima. De todas as substâncias testadas, a única que não foi capaz de ativar a caspase-3 foi o [3]-paradol [15]. Desta forma, foi possível verificar que o tamanho da cadeia alquila é importante para os efeitos citotóxicos dos compostos que não possuem a função cetona α,β -insaturada na cadeia. (KEUM et al., 2002).



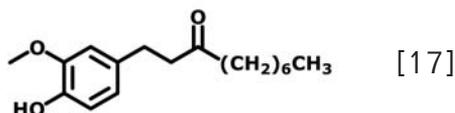
[15]



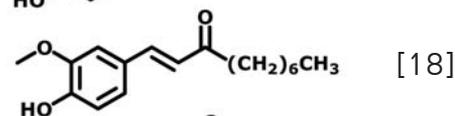
[16]



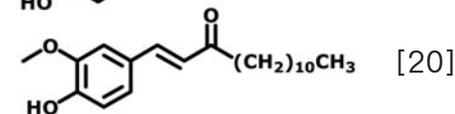
[19]



[17]



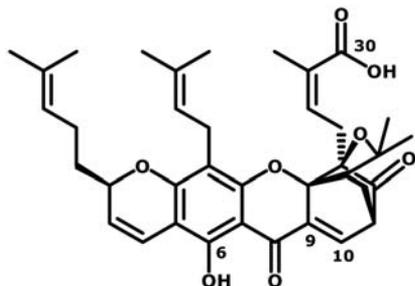
[18]



[20]

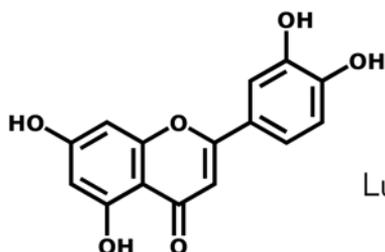
Foram realizados estudos de relação estrutura-atividade do ácido gambóico [21], isolado de *Garcinia hurburyi* (Clusiaceae) e de seus 12 derivados no modelo de apoptose. O ácido gambóico e alguns de seus derivados são capazes de induzir apoptose através da ativação de caspases. Neste estudo, a ligação dupla 9, 10 da cetona α,β -insaturada mostrou-se importante para a atividade estimuladora das caspases. Já a presença dos grupos 6-hidroxi e 30-hidroxi parece não influenciar diretamente nesta atividade (ZHANG et al., 2004). A forte indução

de apoptose, o fácil isolamento, a oferta abundante e as características funcionais estruturais capazes de sofrer facilmente modificações químicas, tornam o ácido gambóxico uma molécula atraente para o desenvolvimento de agentes antineoplásicos (ZHANG et al., 2004).



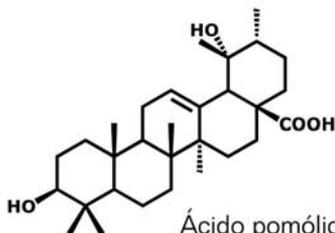
Ácido gambóxico [21]

Os flavonóides representam uma outra classe de substâncias com atividade ativadora de caspase-3. A flavona luteolina [22], isolada de *Lonicera japonica* (Caprifoliaceae), foi capaz de induzir apoptose em células de carcinoma de pulmões, linhagem CH27 (LEUNG et al., 2005).



Luteolina [22]

Estudos realizados na Universidade Federal do Rio de Janeiro, com participação do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais e do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, levaram ao isolamento do ácido pomólico [23], triterpeno de *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae). Este triterpeno induziu apoptose em células tumorais de maneira dependente da ativação das caspases 3 e 9 (FERNANDES et al., 2005).



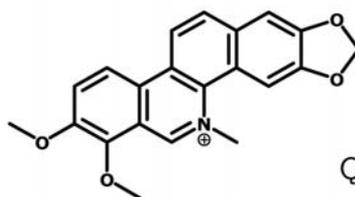
Ácido pomólico [23]

Produtos Naturais que inibem a Proteína Bcl-2

A identificação de pequenas moléculas capazes de interagir com proteínas da família Bcl-2 tornou-se um novo campo para descoberta de novas drogas modula-

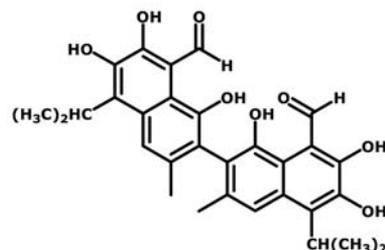
doras de apoptose. Essa família de proteínas é a mais estudada da via apoptótica, embora não sejam ainda totalmente conhecidos os mecanismos pelos quais estas proteínas exercem sua atividade (REED, 2002; NICHOLSON, 2000).

Um estudo realizado com 107.423 extratos (plantas e organismos marinhos) visando a avaliação de uma eventual atividade em proteínas da família Bcl-2, neste caso a proteína antiapoptose Bcl-xL, levou à seleção de 12 extratos ativos. Também foi possível neste estudo o isolamento do alcalóide isoquinolínico queleritrina, que se revelou responsável pela atividade de quatro dos doze extratos. Queleritrina [24], isolada de *Bocconia vulcanica* (Papaveraceae), foi capaz de inibir a proteína Bcl-xL bloqueando seu domínio ativo, ocorrendo perda da sua capacidade de modular negativamente a apoptose (CHAN et al., 2003).

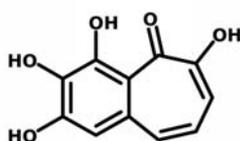


Queleritrina [24]

A atenção em relação às substâncias fenólicas tem aumentado nos últimos anos devido a relatos de atividade anti-tumoral descrita para os mesmos. O gossipol [25], isolado de sementes de algodão (*Gossypium herbaceum*), e purpurogalina [26], isolada de *Quercus* sp., ligam-se ao sítio BH3 (Bcl-2 Homology 3) e antagonizam os efeitos antiapoptóticos das proteínas da família Bcl-2, como Bcl-xL. Foram realizados estudos *in vitro* e *in vivo* que, além de revelar o potencial farmacológico dessas substâncias, forneceram informações estruturais que podem ser utilizadas no planejamento de novos análogos mais efetivos. Estudos baseados em dados de Ressonância Magnética Nuclear nos mostram que o gossipol se arranja tridimensionalmente de forma que os dois grupos isopropila fiquem em contato com o lado hidrofóbico da enzima e as hidroxilas com o lado polar. Os dois grupamentos aldeído não se mostraram envolvidos de maneira significativa na interação gossipol-Bcl-xL (KITADA et al., 2003).

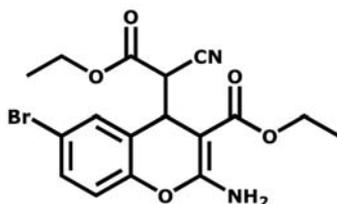


Gossipol [25]



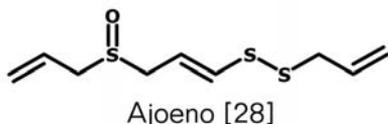
Purpurogalina [26]

O conhecimento da estrutura tridimensional de Bcl-2 e de Bcl-xL permitiu a descoberta de novos inibidores para estas proteínas anti-apoptóticas. Com base neste enfoque foram realizados estudos computacionais com um total de 190.000 moléculas orgânicas, o que permitiu a identificação da molécula HA14-1 [27]. Esta molécula interage com Bcl-2 *in vitro* e induz apoptose em células HL-60, além de agir na ativação das caspases 9 e 3. Junto com a descoberta da HA14-1, os autores desenvolveram um método sintético eficiente para o preparo desta molécula ativa otimizando a preparação de análogos sintéticos mais ativos.



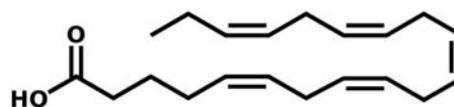
HA14-1 [27]

Além da atividade inibidora direta das proteínas Bcl-2, algumas substâncias são capazes de reduzir o efeito dessas proteínas em células onde o mecanismo apoptótico encontra-se inibido, por exemplo, em células tumorais. Um exemplo é o ajoeno [28], um organosulfurado do alho, capaz de induzir apoptose em células leucêmicas humanas através da ativação do fator nuclear NFκB (Nuclear Factor κB) que pode ser regulado negativamente pelas proteínas Bcl-2 (DIRSCH; GERBES; VOLLMAR, 1998).

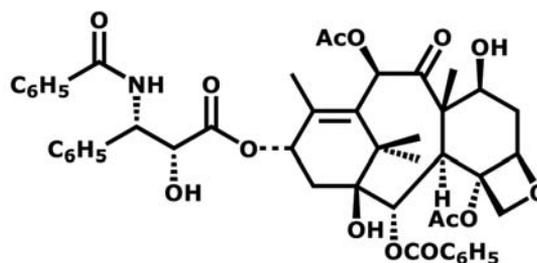


Ajoeno [28]

Ácidos graxos insaturados da dieta têm sido apontados como um grupo potencial de produtos naturais que modulam o crescimento de células tumorais. Durante estudo em células leucêmicas HL-60, o ácido eicosapentaenóico [29] mostrou-se capaz de estimular apoptose através de regulação negativa da expressão da proteína Bcl-2 (CHIU; WAN, 1999). Um outro exemplo é o paclitaxel [30], capaz de reduzir a expressão do gene Bcl-2 e aumentar a expressão do gene Bax (ZHOU; ZHU, 2003).



Ácido eicosapentaenóico [29]

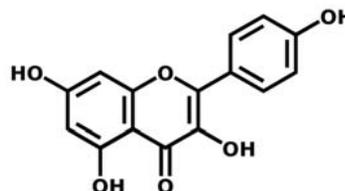


Paclitaxel [30]

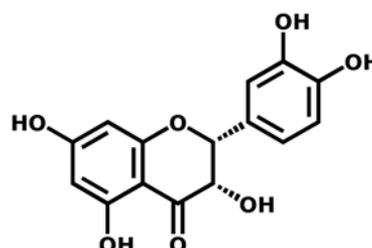
Produtos Naturais que inibem a Apoptose

Modificações oxidativas de proteínas desempenham papel importante em inúmeras doenças, incluindo as de origem neurodegenerativa como a doença de Alzheimer. Os flavonóides têm sido apresentados como uma potente classe de substâncias com atividade antioxidante.

Flavonas presentes no extrato de *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae) mostraram-se capazes de inibir apoptose celular aumentando a expressão do gene da proteína anti-apoptótica Bcl-2 (CHOI et al., 2002). Kaempferol [31] e epicatequina [32], bem como o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* Egb761, foram capazes de inibir apoptose de neurônios via inibição da caspase-3 (SCHROETER et al., 2001; LUO et al., 2002).



Kaempferol [31]



Epicatequina [32]

Tabela 1 - Produtos naturais e seus respectivos alvos celulares em mecanismos de apoptose

Numer.	Produtos naturais	Alvo celular	Referência	
1	Alicina	Caspases	OOMMEN et al., 2004	
2	Dialil-dissulfeto		LU et al., 2004	
3-6	Diospirina e derivados		CHAKRABARTY et al., 2002	
7-12	Caseamembrinas		HUANG et al., 2004	
13, 14	Galanal A e B		MIYOSHI et al., 2003	
15-20	[6]-paradol e seus derivados		KEUM et al., 2002	
21	Ácido gambórgico		ZHANG et al., 2004	
22	Luteolina		LEUNG et al., 2005	
23	Ácido pomólico		FERNANDES et al., 2005	
31	Epicatequina		SCHROETER et al., 2001	
32	Kaempferol		SCHROETER et al., 2001	
24	Queletrina		Bcl-2	CHAN et al., 2003
25	Gossipol			KITADA et al., 2003
26	Purpurogalina	KITADA et al., 2003		
27	HA14-1	LIU; HUANG, 2001		
28	Ajoeno	DIRSCH; GERBES; VOLLMAR, 1998		
29	Ácido eicosapentaenóico	CHIU; WAN, 1999		
30	Paclitaxel	ZHOU; ZHU, 2003		

No passado, o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento das doenças que mais acometem o homem era dificultado pelo pouco conhecimento que se tinha sobre os fenômenos envolvidos nos diversos processos patológicos. Com os crescentes avanços da imunologia, biologia molecular, genética, fisiologia básica e modelagem molecular, vários alvos terapêuticos vêm sendo descritos, propiciando o crescimento de outras áreas como a farmacologia e, conseqüentemente, a terapêutica.

Conta-se atualmente com estudos bastante aprofundados sobre moléculas capazes de agir em alvos terapêuticos diretamente envolvidos nos mecanismos apoptóticos e que, por esta razão, são potencialmente utilizáveis no tratamento de várias doenças ainda sem cura. Com a explosão científica relacionada à busca de agentes anti-tumorais, muitos esforços têm sido empregados para correlacionar drogas que induzem apoptose de populações específicas de células tumorais e o câncer. Infelizmente, poucos estudos têm sido feitos com vistas a outras patologias que envolvem distúrbios no processo apoptótico, como a AIDS, a doença de Alzheimer, o mal de Parkinson e as doenças auto-imunes, para as quais não existe um tratamento realmente efetivo. Na presente revisão foi possível constatar a grande diversidade de esqueletos químicos de origem natural ativos em processos de apoptose, enfatizando

as perspectivas de aplicação através de parcerias em novos projetos entre setor produtivo e Universidades com vistas à busca de fármacos para o tratamento de algumas doenças citadas acima.

Tabela 2 - Lista das abreviaturas utilizadas no texto

Abreviaturas	Significados
Bcl	Família de proteínas antiapoptóticas (B cells lymphoma)
Bax	Bcl-2 associated X protein - proteína pró-apoptótica
Bak	Bcl-2 antagonist killer - proteína pró-apoptótica
BH3	Bcl-2 homology 3 (domínio pró-apoptótico)
NFKB	Nuclear Factor B

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro concedido.

Referências

- CHAKRABARTY, S.; ROY, M.; HAZRA, B.; BHATTACHARYA, R.K. Induction of apoptosis in human cancer cell lines by diospyrin, a plant-derived bisnaphthoquinonoid, and its synthetic derivatives. *Cancer Letters*, v.188, n.1-2, 85-93, 2002.
- CHAN, S-L; LEE, M.C.; TAN, K.O.; YANG, L-K; LEE, A.S.Y.; FLOTOW, H.; FU, N.Y.; BUTLER, M.S.; SOEJARTO, D.D.; BUSS, A.D.; YU, V.C. Identification of chelerythrine as an inhibitor of BclXL function. *The Journal of Biological Chemistry*, v.278, n.23, p.20453-20456, 2003.
- CHIU, L.C.M.; WAN, J.M.F. Induction of apoptosis in HL-60 cells by eicosapentaenoic acid (EPA) is associated with downregulation of bcl-2 expression. *Cancer Letters*, v.145, 17-27, 1999.
- CHOI, J.; CONRAD, C.C.; MALAKOWSKY, C.A.; TALENT, J.M.; YUAN, C-S; GRACY, R.W. Flavones from *Scutellaria baicalensis* Georgi attenuate apoptosis and protein oxidation in neuronal cell lines. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1571, p.201- 210, 2002.
- DIRSCH, V.M.; GERBES, A.L.; VOLLMAR, A.M. Ajoene, a compound of garlic, induces apoptosis in human promyeloleukemic cells, accompanied by generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor kappa B. *Molecular Pharmacology*, v.53, n.3, p.402-407, 1998.
- FERNANDES, J.; WEINLICH, R.; CASTILHO, R.O.; KAPLAN, M.A.C.; AMARANTE-MENDES, G.P.; GATTASS, C.R. Pomolic acid triggers mitochondria-dependent apoptotic cell death in leukemia cell line. *Cancer Letters*, v.219, n.1, p.49-55, 2005.
- HERMAN-ANTOSIEWICZ, A.; SINGH, S.V. Signal transduction pathways leading to cell cycle arrest and apoptosis induction in cancer cells by *Allium* vegetable-derived organosulfur compounds: a review. *Mutation Research*, v.555, p.121-131, 2004.
- HORTA, M.F.; YOUNG, J.D.-E. Apoptose: quando a célula programa a própria morte. *Ciência Hoje*, v. 25, p. 38-45, 1999.



HUANG, D.-M.; SHEN, Y.-C.; WU, C.; HUANG, Y.-T.; KUNG, F.-L.; TENG, C.-M.; GUH, J.-H. Investigation of extrinsic and intrinsic apoptosis pathways of new clerodane diterpenoids in human prostate cancer PC-3 cells. *European Journal of Pharmacology*, v.503, p.17-24, 2004.

KEUM, Y.-S.; KIM, J.; LEE, K.H.; PARK, K.K.; SURH, Y.-J.; LEE, J.M.; LEE, S.-S., YOON, J.H.; JOO, S.Y.; CHA, I.H.; YOON, J.I. Induction of apoptosis and caspase-3 activation by chemopreventive [6]-paradol and structurally related compounds in KB cells. *Cancer Letters*, v.177, n.1, p.41-47, 2002.

KITADA, S.; LEONE, M.; SARETH, S.; ZHAI, D.; REED, J.C.; PELLECCIA, M. Discovery, characterization, and structure-activity relationships studies of proapoptotic polyphenols targeting b-cell lymphocyte/leukemia-2 proteins. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.46, p.4259-4264, 2003.

LEUNG, H.W.-C.; WU, C.-H.; LIN, C.-H.; LEE, H.-Z. Luteolin induced DNA damage leading to human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis. *European Journal of Pharmacology*, v.508, n.1-3, p.77-83, 2005.

LIU, D.; HUANG, Z. Synthetic peptides and non-peptidic molecules as probes of structure and function of Bcl-2 family proteins and modulators of apoptosis. *Apoptosis*, v.6, n.6, p.453-462, 2001.

LU, H.F.; SUE, C.C.; YU, C.S.; CHEN, S.C.; CHEN, G.W.; CHUNG, J.G. Diallyl disulfide (DADS) induced apoptosis undergo caspase-3 activity in human bladder cancer T24 cells. *Food and Chemical Toxicology*, v.42, n.10, p.1543-1552, 2004.

LUO, Y.; SMITH, J.V.; PARAMASIVAM, V.; BURDICK, A.; CURRY, K.J.; BUFORD, J.P.; KHAN, I.; NETZER, W.J.; XU, H.; BUTKO, P. Inhibition of amyloid- β aggregation and caspase-3 activation by the *Ginkgo biloba* extract EGb761. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.99, n.19, p.12197-12202, 2002.

McCONKEY, D.J. Biochemical Determinants of Apoptosis and Necrosis. *Toxicology letters*, v.99, p.157-168, 1998.

MELNIKOVA, I.; GOLDEN, J. Apoptosis-targeting therapies. *Nature Reviews. Drug Discovery*, v.3, p.905-906, 2004.

MIYOSHI, N.; NAKAMURA, Y.; UEDA, Y.; ABE, M.; OZAWA, Y.; UCHIDA, K.; OSAWA, T. Dietary ginger constituents, galanals A and B, are potent apoptosis inducers in Human T lymphoma Jurkat cells. *Cancer Letters*, v.199, n.2, p.113-119, 2003.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of a new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, v.66, p.1022-1037, 2003

NICHOLSON, D.W. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature*, v.407, p.810-816, 2000.

OOMMEN, S.; ANTO, R.J.; SRINIVAS, G.; KARUNAGARAN, D. Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells. *European Journal of Pharmacology*, v.485, n.1-3, p.97-103, 2004.

REED, J.C. Apoptosis-based therapies. *Nature Reviews. Drug Discovery*, v.1, p.111-121, 2002.

SCHROETER, H.; SPENCER, J.P.E.; RICE-EVANS, C.; WILLIAMS, R.J. Flavonoids protect neurons from oxidized low-density-lipoprotein-induced apoptosis involving c-Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun and caspase-3. *Biochemical Journal*, v.358, p.547-557, 2001.

ZHANG, H.-Z.; KASIBHATLA, S.; WANG, Y.; HERICH, J.;

GUASTELLA, J.; TSENG, B.; DREWE, J.; CAI, S.X. Discovery, characterization and SAR of gambogic acid as a potent apoptosis inducer by a HTS assay. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.12, v.2, p.309-317, 2004.

ZHOU, H.-B.; ZHU, J.-R. Paclitaxel induces apoptosis in human gastric carcinoma cells. *World Journal of Gastroenterology*, v.9, n.3, p.442-445, 2003.