

AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DE CASCAS DE BANANA (MUSA SP.) EM LINHAGEM DE MELANOMA MURINO B16F10

Giulia Galani Martha, Susane Lopes, Luiz Augusto Martins Peruch e Marcelo Maraschin

RESUMO: Os compostos naturais, como os polifenóis, têm sido investigados em função de suas propriedades biológicas, nutricionais e farmacológicas. Uma das principais propriedades evidenciadas por aqueles metabólitos secundários é a atividade antioxidante, capaz de neutralizar radicais livres, os quais em excesso podem causar diversas disfunções celulares e são frequentemente identificados em grande quantidade em diversos tipos de doenças crônicas, como o câncer. Dados na literatura demonstram que os compostos fenólicos podem ser utilizados com uma estratégia complementar ao tratamento do câncer devido à neutralização de radicais livres. O estudo conduzido pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (Universidade Federal de Santa Catarina) tem investigado o perfil químico do extrato aquoso de cascas de banana (EA), cultivar Prata Anã (Musa sp.), e constatado uma potente atividade antioxidante. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial citotóxico do EA através da determinação da viabilidade e proliferação celular de melanoma murino (B16F10), complementando os estudos sobre as atividades biológicas do EA de Musa sp e seu potencial de uso como terapia complementar do câncer. Os resultados demonstram que o EA não se mostrou tóxico à linhagem de melanoma B16F10, independente da concentração (0,1 – 1000 µ/mL), em exposições de 24 e 48 horas. Por outro lado, os experimentos de proliferação celular evidenciaram diminuição na capacidade de formação de colônias consoante às concentrações dos tratamentos de EA investigadas. Outros estudos são importantes para complementar os resultados deste trabalho, visando avaliar o potencial do EA de casca da banana em um perfil migratório e de morte celular. Sugere-se ainda, estudos complementares utilizando-se outras linhagens neoplásicas afim de confrontar os resultados.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Câncer. Cascas de banana. Musa sp. Melanoma.

INTRODUÇÃO

O câncer

Nos últimos anos, o número de novos casos diagnosticados com câncer tem crescido, o que tornou a doença um problema de saúde pública em escala global. O câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, com 9,6 milhões de mortes em 2018. Uma em cada seis mortes são relacionadas à doença (OPAS/OMS, 2018) e estes números tendem a crescer, principalmente nos diagnósticos de câncer de pele devido ao envelhecimento da população e à alta taxa de melanoma em idosos (MELO et al, 2018).

No Brasil, 600 mil novos casos têm sido relatados anualmente, sendo o câncer de pele o mais incidente (INCA, 2017) com 176.930 novos casos em 2020 e, destes, 8.450 do tipo melanoma (INCA, 2021a, INCA, 2021b).

Câncer de pele

O câncer de pele pode ser classificado é classificado consoante às formas melanoma ou não-melanoma. O não-melanoma representa 94% do total de casos reportados e um alto índice de cura, enquanto o melanoma metastático é mais agressivo e apresenta pior prognóstico e maior índice de mortalidade (IBCC, 2018), tendo levado ao óbito 18.048 brasileiros no período 1998-2012 (SANTOS & SOUZA, 2019), (MELO et al, 2018). Dos pacientes diagnosticados, apenas 14% sobrevivem, com expectativa de vida de aproximadamente cinco anos (MILLER et al, 2006).

O principal fator de risco para ambos os tipos de câncer de pele é a exposição excessiva à radiação solar ultravioleta (UV), mas fatores como histórico familiar, cor de pele, olhos e cabelo, ou sistema imune debilitado podem aumentar o risco de desenvolvimento desta patofisiologia (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), 80% dos melanomas são causados pela exposição ao sol. As radiações UVB e UVA produzem radicais livres nas células da pele que causam danos ao DNA, levando a mutações gênicas e proliferação celular anormal (RYOO et al, 2001).

Atualmente, os tratamentos para o câncer de pele compreendem a intervenção cirúrgica e a radioterapia com maior frequência de uso, apesar da terapia sistêmica ser a base do tratamento para a maioria dos pacientes. A quimioterapia de agente único, a

qual utiliza apenas um agente citotóxico como mecanismo de ação, também é bem tolerada, mas possui uma taxa de resposta entre 5% a 20%. Já a quimioterapia combinada e a bioquimioterapia, uma combinação de medicamentos quimioterápicos usados na imunoterapia, são utilizadas para uma resposta mais objetiva, a despeito da maior toxicidade observada (BHATIA et al, 2009). Apesar da grande quantidade de tratamentos, durante a progressão da doença os pacientes não raro desenvolvem tolerância às drogas utilizadas, levando à intensificação do tratamento (POURHANIFEH; MAHDAVINIA; REITER; ASEMI, 2019). Neste contexto, a busca por novas terapias ou tratamentos alternativos é de extrema importância, visando fornecer qualidade de vida ao paciente, além de aumentar a taxa de sobrevivência que varia entre 6 a 9 meses (ATALLAH, E. & FLAHERTY, L., 2005).

Compostos naturais e sua ação biológica contra o câncer

Como consequência da busca por novos tratamentos do câncer de pele, um aumento significativo em pesquisas sobre medicinas alternativas e complementares (MAC), como tratamentos não-convencionais utilizando plantas (SPADACIO & BARROS, 2007), tem ocorrido nos últimos anos. As MACs podem ser divididas em três grupos: a medicina tradicional indígena, a medicina afro-americana e as medicinas alternativas derivadas de sistemas médicos altamente complexos (GEWEHR et al, 2017), sendo este último grupo bastante empregado em tratamentos no Brasil. Alguns desses tratamentos destacaram-se entre as MACs, sendo institucionalizados e inseridos no sistema de saúde pública brasileira. Como resultado da difusão destes métodos alternativos, os pacientes relatam seus benefícios, destacando mudanças no estilo e qualidade de vida, o que influenciou no tratamento das doenças, e.g. redução de tumores e atenuação dos sintomas (LUZ, 2005).

De interesse, ressalta-se que uma análise do número de agentes quimioterápicos em uso corrente e suas fontes indica que mais de 60% dos medicamentos aprovados são derivados de compostos naturais (ROCHA et al., 2001). A exploração de produtos naturais para a medicina alternativa tem se mostrado essencial para complementar as terapias em curso, sem trazer maiores efeitos colaterais ao paciente. Neste contexto, por exemplo, os polifenóis são metabólitos secundários encontrados em diversas espécies vegetais com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes reconhecidas, devido à capacidade de sequestro de espécies de radicais livres geradas naturalmente no

organismo, porém em número exacerbado em patofisiologias como o câncer (CLEMES et al, 2015). No que concerne às atividades biológicas dos compostos fenólicos, dados na literatura demonstraram em ensaios *in vitro* e *in vivo* efeitos antioxidante e inibitório da proliferação celular em linhagens B16 (melanoma), somados à ação de indução de apoptose (MALAFA et al, 2002; PRASAD et al, 2003). Nos últimos anos, inúmeros compostos com atividade antitumoral têm sido descobertos a partir desta classe de metabólitos secundários (LICHOTA & GWOZDZINSKI, 2018) considerando, dentre outras variáveis, a determinação de seu potencial antioxidante (TSALA et al, 2013; ABERA, 2014). Neste contexto, e de forma específica em relação aos constituintes da banana (*Musa* sp.), esta espécie é reconhecida por suas aplicações nutracêuticas e por sua composição rica em compostos com diversas atividades biológicas (LOPES, 2019), a exemplo da ação antitumoral (MANSOUR et al, 2013).

Banana

A bananeira (*Musa* sp.) é uma espécie classificada como uma erva gigante, originada na Ásia e Pacífico Ocidental e, posteriormente, disseminada pelo mundo (DE JESUS et al., 2013). A banana possui incontestemente reconhecimento por seu valor econômico e nutricional, além da sua importância em diferentes aplicações farmacêuticas e processos ligados à biotecnologia (LOPES, 2019). A casca do fruto representa aproximadamente 30% da biomassa daquele órgão e caracteriza-se como o principal subproduto da indústria de processamento. Isso traz um problema ambiental devido à grande quantidade de nitrogênio e fósforo presentes na casca, além do seu alto teor de água, o que a torna suscetível à contaminações (GONZÁLEZ-MONTELONGO et al, 2010). A casca é tradicionalmente utilizada como material medicinal por diversas etnias para o tratamento de doenças como queimaduras, anemia, diarreia, úlceras, inflamações, diabetes, tosse, picada de cobra e excesso de menstruação (VU et al, 2018).

Dados na literatura demonstram que todas as partes da banana são fontes de compostos bioativos para a proteção da saúde (WALL, 2006; DARSINI et al, 2012; SHIAN et al, 2012). Estudos apontam que a casca da banana é rica em compostos antioxidantes (VU et al, 2018), tendo sido demonstrada a ocorrência de quantidades apreciáveis de compostos fenólicos naquela biomassa, sendo o ácido gálico seu constituinte majoritário (LOPES, 2019).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários resultantes de processos de interação planta-ambiente (RANDHIR et al, 2002) com propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antiaterosclerótico, antitumoral, antimutagênico, anticarcinogênico, antibacteriano e antiviral (MANSOUR et al, 2013). Adicionalmente, estudos apontam seu uso benéfico à prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e obesidade. Portanto, a recuperação destes metabólitos a partir da biomassa residual, i.e. casca de banana, possui grande valor medicinal, podendo gerar maiores retornos à indústria daquela fruta, a partir da exploração do potencial terapêutico associado (VU et al, 2018).

Sendo assim, a casca de banana foi selecionada como matéria-prima à extração de compostos fenólicos, objetivando determinar seus efeitos citotóxicos em modelo biológico *in vitro*, utilizando linhagem de melanoma (B16F10). Os resultados obtidos complementam os estudos de nosso grupo pesquisa sobre o potencial de aplicação do extrato aquoso de *Musa* sp. em diversas atividades biológicas, em modelos *in vitro* e *in vivo*, contribuindo à geração de subsídios ao melhor endereçamento de aplicação biotecnológica daquele resíduo industrial.

METODOLOGIA

Identificação botânica e local do cultivo das bananas

Biomassas de cascas de bananas (*Musa* sp., subgrupo Prata, cultivar Prata Anã) foram gentilmente fornecidas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI - Estação Experimental de Urussanga), no mês de junho de 2016. As amostras foram produzidas em sistema orgânico de cultivo daquela frutífera, no município de Criciúma, sul do Estado de Santa Catarina.

Processamento do material vegetal e produção dos extratos

As amostras de frutos foram higienizadas em água corrente e secas com papel toalha. As cascas dos frutos foram retiradas manualmente e submetidas à secagem em estufa (45°C), com fluxo de ar, até peso constante. A biomassa seca foi acondicionada em sacos de polietileno e armazenada a -20°C até a produção dos extratos para os experimentos.

Para a obtenção do extrato aquoso (EA), a 0,5 g de cascas de banana seca pulverizada foram adicionados 7,5 mL de água destilada, seguido de agitação (vórtex, 1 min), incubação (banho-maria, 37°C, 30 min), centrifugação (2 × 4000 rpm, 15 min) e recuperação do sobrenadante, i.e., EA (PEREIRA, 2014).

Cultura de células

Linhagem celular de melanoma de camundongo (B16F10) foi mantida em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), suplementado com soro fetal bovino (SFB) (10%, v/v), em estufa incubadora (ultrasafe HF212 UV, Heal Force, China) à 37°C e 5% de CO₂.

Avaliação da citotoxicidade através do ensaio de viabilidade celular

Células de melanoma de camundongo B16F10 foram inoculadas em placas de cultura (96 cavidades, 1 × 10⁴ células/cavidade) e após 24 h os tratamentos com o EA (0,1 - 1000 µg/mL) foram adicionados. O grupo controle negativo (CN) recebeu apenas meio de cultura. Após o período de exposição (24 e 48 h), a citotoxicidade do EA foi determinada, utilizando-se o reativo de brometo de 3, 4, 5-dimetiltiazol-2-il-2,5-difeniltetrazolio (MTT), de acordo com Mosmann (1983). Os valores expressos em percentual de células viáveis foram calculados de acordo com a equação 1:

$$\text{Equação 1} \quad \text{Viabilidade celular (\%)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 100}{\text{Absorbância do controle negativo}}$$

Avaliação da proliferação celular através da capacidade de formação de colônias

De forma similar ao ensaio de determinação da citotoxicidade, células de melanoma de camundongo B16F10 foram inoculadas em placas de cultura (96 cavidades, 1 × 10³ células/cavidade) e após incubação (24 h), os tratamentos (EA = 10, 100 e 1000 µg/mL) foram administrados. O grupo controle negativo (CN) recebeu apenas meio de cultura. Após 24 h de exposição ao EA, o meio de cultura foi removido, as células foram lavadas com PBS Ca²⁺ e Mg²⁺ e o meio DMEM contendo 10% de SFB foi adicionado. O meio de cultura foi subsequentemente substituído a cada 3 dias. Após 10 dias de experimento, as células foram fixadas com paraformaldeído (PFA, 4% v/v) e coradas com violeta cristal (0,5%, metanol/água 1: 1, v/v). A análise qualitativa, bem como as imagens representativas das colônias após os tratamentos,

foram obtidas via micrografia óptica das placa de cultivo, em microscópio invertido (Olympus, IX83, Japão - magnificação 50 ×). Agregados com mais de 50 células foram reconhecidos como colônias e classificados como sobreviventes. A porcentagem do número de colônias nos diferentes grupos de tratamentos foi calculada de acordo com a equação 2 de Franken e colaboradores (2006):

$$\text{Equação 2} \quad \text{Número de colônias (\%)} = \frac{\text{Número de colônias da amostra} \times 100}{\text{Número de colônias do controle negativo}}$$

Análise estatística

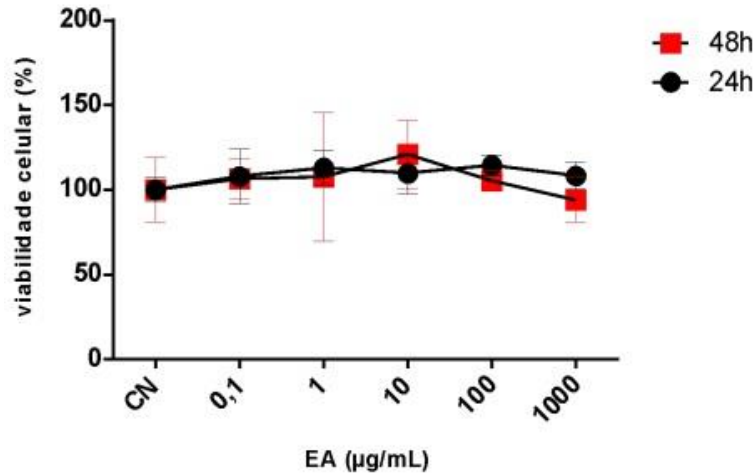
Os dados foram coletados, sumarizados e submetidos à análise de variância (ANOVA), complementada por teste de comparação múltipla de Dunnett ou Tukey, quando necessário. Valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Os dados foram analisados com o suporte do *software* GraphPad Prism® 6 (GraphPad, EUA) e os resultados expressos como média ± desvio padrão de três experimentos independentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da citotoxicidade através de ensaio de viabilidade celular

O EA não apresentou efeito citotóxico à linhagem de melanoma B16F10, independente da concentração, tanto nos tratamentos de 24 h quanto nos de 48 h de exposição ao EA. É possível observar na figura 1 uma tendência ao aumento da viabilidade celular nos tratamentos com EA a 1 ug/mL - 24h (113,036% ± 10) e 10 ug/mL – 48h (120,95% ± 20) em relação ao controle, ainda que não estatisticamente significante (p<0,05). Desta forma, não foi possível a determinação do valor de IC50 (concentração inibitória) para o EA.

Figura 1 - Efeito do EA sobre a viabilidade celular de melanoma B16F10, após 24 e 48 h de tratamento (0,1 – 1000 µg/mL), com base no método colorimétrico MTT. Os resultados são expressos como valores médios ± desvio padrão de três experimentos independentes.



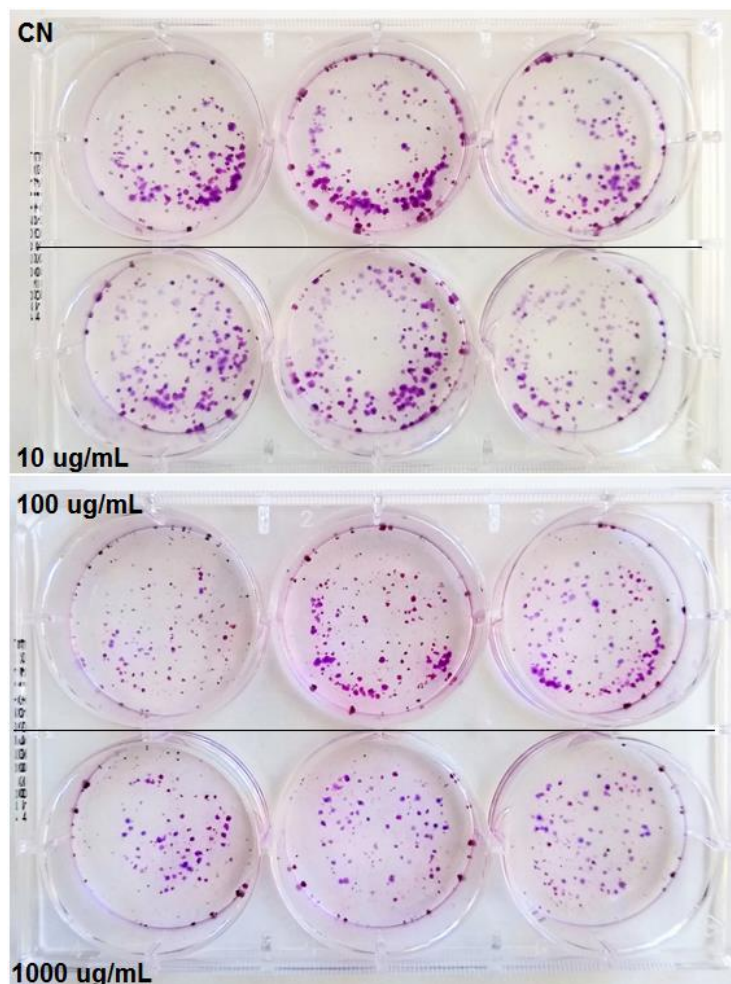
Em um estudo preliminar anterior realizado por nosso grupo de pesquisa verificou-se que o mesmo EA, apesar de não ter efeito citotóxico em concentrações acima de 100 µg/mL, aumentou a proliferação celular, a síntese de colágeno e potencializou o mecanismo migratório em fibroblastos 3T3 (LOPES, 2019). Hilbig (2017) demonstrou efeito antiproliferativo celular através da redução do número de unidades formadoras de colônias, aumento de células apoptóticas e bloqueio do ciclo celular em linhagem MCF-7 de câncer da mama humana exposta a compostos fenólicos provenientes da casca de noz pecã (HILBIG, J., 2017). Dentre esses, catequina e ácido gálico foram os compostos majoritários nos extratos de *Carya illinoensis* (HILBIG, J., 2017), os quais também ocorrem em quantidades relevantes nos extratos de *Musa* sp. investigados (LOPES, 2019). Assim, apesar do EA não apresentar toxicidade em relação à viabilidade celular da linhagem tumoral analisada, isso não determina que o mesmo não possa ter efeito em outros mecanismos celulares importantes, como a proliferação, migração e morte celular programada, haja vista que no extrato em estudo encontram-se concentrações importantes de compostos fenólicos, majoritariamente o ácido gálico (LOPES, 2019). É importante ressaltar que um tratamento que não cause toxicidade aguda pode ser interessante por provocar menos efeitos colaterais sobre outros tipos celulares importantes ao funcionamento do tecido/organismo administrado, como as células endoteliais e fibroblastos.

Análise de proliferação celular através da determinação da capacidade de formação de colônias

O ensaio de formação de colônia tem como objetivo determinar a capacidade de sobrevivência celular através da formação de agregados destas (LOPES, 2012). As concentrações e o tempo de tratamento para o presente estudo foram pré-estabelecidos a partir dos resultados obtidos no ensaio de curva de crescimento celular, onde constatou-se que a duplicação celular da linhagem de melanoma B16F10 ocorreu em torno de 18 e 20 h de cultivo (dados não publicados). Neste ensaio, a formação de colônias celulares foi avaliada de forma quali/quantitativa, tendo sido consideradas colônias os agregados contendo 50 ou mais células (LOPES, 2012).

Conforme apresentado na figura 2, é possível verificar uma redução na capacidade de formação de colônias da linhagem de melanoma B16F10 após exposição ao EA (10 ug/mL, 100 ug/mL e 1000 ug/mL – 24h) em relação ao controle, apesar da não detecção de toxicidez sobre a atividade mitocondrial, conforme demonstrado no ensaio do MTT (Figura 1).

Figura - 2 Detalhes da formação e densidade de colônias celulares da linhagem de melanoma B16F10, consoante aos tratamentos com EA (CN, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$, 24 h), ao 10^o dia de cultivo. As células foram coradas com solução de violeta cristal 0,5% (v/v).

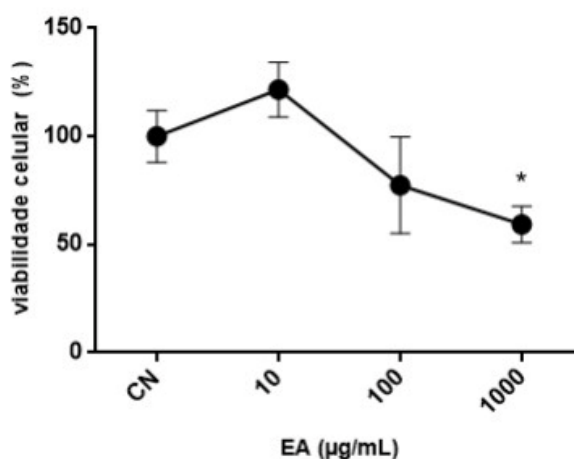


A figura 2 demonstra a ocorrência de alteração mais expressiva na formação de colônias celulares decorrente da exposição ao EA na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ em relação ao controle. A redução da formação de colônias celulares foi visivelmente positiva no que se refere a eventual atividade antitumoral. Adicionalmente, observou-se que as colônias presentes no grupo CN apresentaram agregados celulares de maior tamanho, evidenciando uma maior taxa proliferativa por unidade de agregado, comparado aos grupos tratados com EA.

O tratamento das células com a maior concentração de EA (1000 $\mu\text{g/mL}/24$ h) inibiu em maior extensão a formação de colônias, i.e., $40,66\% \pm 8,45$, comparativamente ao grupo controle ($100\% \pm 11,92$ - Figura 3). De outra forma, é

possível notar que a menor concentração de EA possibilitou uma elevação no número de colônias formadas, ainda que não significativa ($p < 0,05$), de forma similar ao observado quando da avaliação da toxicidade via atividade mitocondrial (Figura 1). Especula-se a existência de uma relação de dose-resposta no que concerne às variáveis em estudo, o que requer estudos mais detalhados. Assim, considerando os resultados observados, sugere-se que os metabólitos secundários presentes no EA de *Musa* sp., maiormente compostos fenólicos, possam ativar vias de sobrevivência celular em concentrações ainda mais baixas em relação ao aqui reportado.

Figura 3 - Viabilidade (%) de células de melanoma de camundongo B16F10 consoante aos tratamentos de exposição ao EA (CN, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$, 24 h) ao 10º dia de cultivo.



CONCLUSÃO

O EA de casca de banana não apresentou toxicidez à linhagem neoplásica de melanoma murino (B16F10) quanto à sua atividade mitocondrial, via MTT.

Na avaliação do efeito do EA sobre a capacidade de formação de colônias de B16F10, uma redução significativa neste processo foi detectada, em associação à concentração de EA utilizada. Tal resultado sugere que a propensão à sobrevivência celular quando da formação de colônias foi afetada, demonstrando o potencial do EAa investigações subsequentes visando o uso como terapia complementar à inibição da proliferação das células tumorais. Neste contexto, entende-se que estudos concernentes

à determinação do efeito do EA de casca da banana sobre o perfil migratório e de morte celular contribuirão à expansão do conhecimento à elucidação de seus eventuais efeitos terapêuticos sobre neoplasias.

REFERÊNCIAS

AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer facts & figures 2017. Atlanta, 2017a. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/>> Acesso em: 18 nov. 2019.

ATALLAH, E. & FLAHERTY L. Treatment of Metastatic Malignant Melanoma. *Melanoma and Skin Tumors*, v. 6, p. 185–193, 2005.

BHATIA, S. et al. Treatment of Metastatic Melanoma: An Overview. *National Institutes of Health*, v. 23, n. 6, p. 488–96, 2009.

CLEMES, S. et al. Avaliação de polifenóis e capacidade antioxidante de seis espécies da Mata Atlântica. *Scientia Plena*, v. 11, n.5, maio, 2015.

DARSINI, D. et al. In vitro antioxidant activity of banana (*Musa* spp. ABB cv. Pisang Awak). *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, v. 49, p. 124–129, 2012.

DE JESUS, O. N. et al. Genetic diversity and population structure of *Musa* accessions in ex situ conservation. *BMC Plant Biology*, v. 13, n. 1, 2013.

FRANKEN, N.A.P. et al. Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature Protocols*, v. 1, p. 2315–2319, 2006.

GEWEHR, R. et al. Sobre as práticas tradicionais de cura: subjetividade e objetivação nas propostas terapêuticas contemporâneas. *Psicologia USP*, v. 28, n. 1, p. 33–43, 2017.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R. et al. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, v. 119, n. 3, p. 1030–1039, 2010.

HILBIG, J. Perfil de compostos fenólicos e efeito antitumoral in vivo e in vitro de extratos da casca de noz pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] [tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2017.

IBCC, 2018. Tipos de câncer. Disponível em: <<http://www.ibcc.org.br/tipos-de-cancer/>> Acesso em: 18 nov. 2019.

INCA, 2017. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil>> Acesso em: 18 nov. 2019.

INCA. Câncer de pele não melanoma. 2021a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-nao-melanoma>. Acesso em: 20 mar. 2021.

INCA. Câncer de pele melanoma. 2021b. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma>. Acesso em: 20 mar. 2021.

LICHOTA, A., GWOZDZINSKI, K. Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 11, p. 3533, 2018.

LOPES, S. Estudo in vitro de atividades biológicas dos extratos carotenoidicos e polifenólicos derivados das folhas de Zeamays em linhagens celulares neoplásicas [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2012.

LOPES, S. Determinação do perfil químico do extrato aquoso de cascas de banana cultivar prata anã (*Musa sp.*) e avaliação in vitro do seu potencial para aplicação farmacêutica/cosmética [tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2019.

LUZ, M. Cultura contemporânea e medicinas alternativas: novos paradigmas em saúde no fim do século XX. *Revista de Saúde Pública*, v.15, p. 145–176, 2005.

MALAFIA, M. P. et al. Vitamin E innibits melanoma growth in mice. *Surgery*, v. 131, p. 85–91, 2002.

MANSOUR, E. et al. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial activities of peel extract from Tunisian Pomegranate, *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 15, p. 1393–1403, 2013.

MELO, A. et al. Melanoma signature in Brazil: epidemiology, incidence, mortality, and trend lessons from a continental mixed population country in the past 15 years. *Melanoma Research*, v. 28, n. 6, p. 629–636, 2018.

MILLER, A. et al, Mechanisms of disease Melanoma. *The New England Journal of Medicine*, 355, p. 51-65, 2006.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunology Methods*, v. 65, p. 55–63, 1983.

OPAS/OMS, 2018. Folha Informativa - Câncer. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094>. Acesso em 21 de novembro de 2019.

PEREIRA, A. Determinação do perfil químico e da atividade cicatrizante de extratos de casca de banana cultivar Prata Anã (*Musa sp.*) e o desenvolvimento de um curativo para pequenas lesões [tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2014.

POURHANIFEH, M. H. et al. Potential use of melatonin in skin cancer treatment: a review of current biological evidence. *Journal of Cellular Physiology*, v. 234, n. 8, p. 12142–12148, 2019.

PRASAD, K. et al. α -Tocopheryl succinate, the most effective form of vitamin e for adjuvant cancer treatment: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 22, n. 2, p. 108–117, 2003.

RANDHIR, R. et al. L-DOPA and total phenolic stimulation in dark germinated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry*, v. 37, n. 11, p. 1247–1256, 2002.

ROCHA, A. B. et al. Natural products in anticancer therapy. *Current Opinion in Pharmacology*, v.1, n. 364–369, 2001.

RYOO, Y. W. et al. The effects of the melatonin on ultraviolet-B irradiated cultured dermal fibroblasts. *Journal of Dermatological Science*, v. 27, n. 3, p. 162–169, 2001.

SANTOS, C. A. & SOUZA D. L. B. Melanoma mortality in Brazil: trends and projections (1998-2032). *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 24, n. 4, p. 1551–1561, 2019.

SHIAN, T. E. et al. Antioxidant properties of three banana cultivars (*Musa acuminata* “Berangan”, “Mas” and “Raja”) extracts. *Sains Malaysiana*, v. 41, n. 3, p. 319–324, 2012.

SPADACIO, C. & BARROS, N. Uso de medicinas alternativas e complementares por pacientes com câncer: revisão sistemática. *Revista de Saúde Pública*, v.4 2, n. 1, p. 158–164, 2008.

TSALA, D. E. et al. Natural wound healing and bioactive natural products. *Phytopharmacology*, v. 4, n. 3, p. 532–560, 2013.

VU, H. T. et al. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: a review. *Journal of Functional Foods*, v. 40, p. 238–248, 2018.

WALL, M. M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa sp.*) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 19, n. 5, p. 434–445, 2006.