



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

TÁSSIA ALVES MENDONÇA

**FAMÍLIA ANNONACEAE E INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS
TUMORAIS: UMA REVISÃO**

Barreiras – BA

2023

TÁSSIA ALVES MENDONÇA

**FAMÍLIA ANNONACEAE E INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS
TUMORAIS: UMA REVISÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito parcial para obtenção do Diploma de
Graduação no Curso de Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marina Meirelles Paes

Barreiras – BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

M539 Mendonça, Tássia Alves.

Família annonaceae e indução de apoptose em células tumorais: uma revisão. / Tássia Alves Mendonça. – 2023.

47f.

Orientador: Profª Dra. Marina Meirelles Paes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) –. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2023.

1. Células (Biologia) - patologia. 2. Acetogeninas. 3. Apoptose. 4. Annonaceae. I. Paes, Marina Meirelles. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 571.936

Biblioteca Universitária de Barreiras - UFOB



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

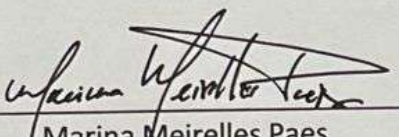


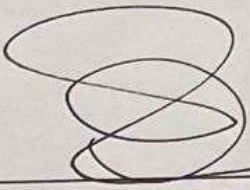
ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

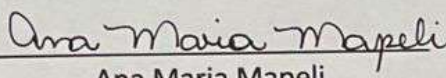
No dia 15 de dezembro de 2023, às 10hs., no auditório 1 do PU da Universidade Federal do Oeste da Bahia, realizou-se a apresentação pública do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: FAMÍLIA ANNONACEAE E INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS TUMORAIS: UMA REVISÃO, apresentado pela acadêmica TÁSSIA ALVES MENDONÇA. Integraram a composição dos Membros da Banca Examinadora, Profa. Dra. Marina Meirelles Paes (orientadora), Profa. Dra. Vanessa Cristina Rescia (examinadora 1), Profa. Dra. Ana Maria Mapeli (examinadora 2). Após declarada aberta a sessão, pela Profa. Dra. Marina Meirelles Paes (orientadora), na função de Presidente da Banca Examinadora, coube à acadêmica, na forma regimental, expor o tema do TCC, e na sequência receber comentários e questionamentos pelos membros da Banca Examinadora dando as explicações que se faziam necessárias. Posteriormente, os membros da Banca Examinadora reuniram-se, isoladamente, para a avaliação e parecer final, tendo atribuído as seguintes notas:

Membros da Banca Examinadora	Nota
MARINA MEIRELLES PAES	10,0
VANESSA CRISTINA RESCIA	10,0
ANA MARIA MAPELI	10,0
Média final:	10,0

Barreiras, 15 de dezembro de 2023.


Marina Meirelles Paes
Professora orientadora


Vanessa Cristina Rescia
Examinadora 1


Ana Maria Mapeli
Examinadora 2

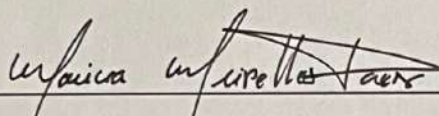
TÁSSIA ALVES MENDONÇA

**FAMÍLIA ANNONACEAE E INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS
TUMORAIS: Uma revisão.**

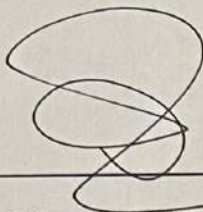
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito parcial para obtenção do Diploma de
Graduação no Curso de Farmácia.

Aprovado em 15 de dezembro de 2023.

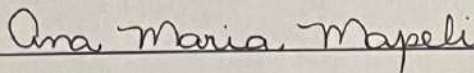
BANCA EXAMINADORA:



Profª Drª Marina Meirelles Paes
(Orientadora)



Profª Drª Vanessa Cristina Rescia
(Membro)



Profª Drª Ana Maria Mapeli
(Membro)

AGRADECIMENTOS

À Deus por me conceder saúde, paciência, sabedoria e me capacitar para que ao longo desses anos eu pudesse me dedicar a este curso.

Aos meus pais Gilmar e Jacira por não medirem esforços para que eu pudesse concluir essa graduação. À minha irmã Taíssa que assumiu as minhas responsabilidades e abdicou-se de iniciar sua graduação para que eu pudesse concluir a minha. Ao meu irmão Júlio Pedro, cujo crescimento acompanhei por chamadas de vídeos e breves visitas.

Ao meu amor, Jacson, que ao longo desses anos me deu apoio e me ajudou a não desistir. Que apesar da distância se fez presente em todas as fases, do surto à calmaria.

À Marina Meirelles, minha orientadora, por ter aceitado embarcar comigo nessa “aventura”, por toda ajuda e paciência durante o processo de confecção deste trabalho. Suas dicas e instruções foram de extrema importância para a conclusão exitosa do mesmo.

Aos meus amigos de graduação, que estão comigo desde o primeiro semestre compartilhando seus conhecimentos e vivências, que me ajudaram a superar as adversidades. Sem sua colaboração e amizade, chegar ao final do curso seria impossível.

Aos meus amigos de infância, Stebany e João, que também se mudaram para Barreiras e se tornaram meu pedacinho de “Buriti” aqui. Contar com vocês foi fundamental para que a saudade de casa se amenizasse.

À UFOB pelo privilégio de estudar em uma universidade pública e de qualidade, um curso generalista e bem abordado, essencial para adquirir conhecimento relacionados às várias áreas de atuação farmacêutica.

À todos que direta e indiretamente contribuíram com a minha chegada até esse momento, minha eterna gratidão.

RESUMO

Desde a década de 1980, as espécies da família Annonaceae têm sido foco de pesquisas por biossintetizarem, principalmente, acetogeninas biologicamente ativas. Esta classe de metabólitos secundários derivada da via dos policetídeos exibe diversas atividades biológicas, em especial, a citotoxicidade nas células cancerígenas e efeitos induzindo a morte celular programada, apoptose. Nesse sentido, com o objetivo de disponibilizar, de forma compilada, as evidências disponíveis na literatura sobre os efeitos antitumorais atrelados à apoptose das espécies da família Annonaceae e suas acetogeninas, foi realizada uma revisão com o intuito de fornecer dados que possam guiar novas pesquisas. Para tanto, utilizou-se como fontes de buscas as plataformas de acervos digitais e como descritores, por exemplo, a família Annonaceae, acetogeninas, atividade citotóxica, câncer, morte celular e apoptose. Assim, vários estudos comprovaram a atividade citotóxica dos extratos/frações e das acetogeninas em linhagens de células tumorais. Também, mostraram a indução de apoptose nestas células por conduzirem a fragmentação do DNA e a externalização da fosfatidilserina, características típicas gerais de uma célula quando entra em apoptose. Além disso, vários estudos realizaram ensaios em que foi possível comprovar a ativação da via intrínseca da apoptose em vários tipos de células neoplásicas, pois os dados apresentados pelos trabalhos revisados estão ligados à uma regulação positiva das proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak, regulação negativa da proteína anti-apoptótica Bcl-2, o que resulta na perda do potencial de membrana mitocondrial e, consequentemente liberação de citocromo C para ativação de caspases iniciadoras e efetoras do processo apoptótico. Com estes resultados, pode-se prever que as acetogeninas podem ser julgadas como candidatas promissoras para uma futura geração de medicamentos para o tratamento dos tumores resistentes à quimioterapia. Dessa forma, esta pesquisa de revisão pretende auxiliar na orientação de investigações futuras e reafirmar o potencial biológico das acetogeninas na terapia do câncer, com a esperança de estimular ainda mais o desenvolvimento de novas alternativas de tratamento.

Palavras-chave: Acetogeninas; Apoptose; Annonaceae.

ABSTRACT

Since the 1980s, species from the Annonaceae family have been the focus of research because they mainly biosynthesize biologically active acetogenins. This class of secondary metabolites derived from the polyketide pathway exhibits diverse biological activities, in particular, its cytotoxicity in cancer cells and effects on inducing programmed cell death, apoptosis. In this sense, with the aim of making available, in a compiled form, the evidence available in the literature on the antitumor effects linked to the apoptosis of species from the Annonaceae family and their acetogenins, a review was carried out with the aim of providing data that can guide new research. To this end, digital collection platforms and descriptors were used as search sources, for example, the Annonaceae family, acetogenins, cytotoxic activity, cancer, cell death and apoptosis. Thus, several studies have proven the cytotoxic activity of extracts/fractions and acetogenins in tumor cell lines. They also showed the induction of apoptosis in these cells by leading to DNA fragmentation and the externalization of phosphatidylserine, typical general characteristics of a cell when it enters apoptosis. Furthermore, several studies carried out tests in which it was possible to prove activation of the intrinsic apoptosis pathway in various types of neoplastic cells, as the data presented by the reviewed works are linked to a positive regulation of the pro-apoptotic proteins Bax and Bak, negative regulation of anti-apoptotic protein Bcl-2, which results in the loss of mitochondrial membrane potential and, consequently, the release of cytochrome C to activate caspases that initiate and effect the apoptotic process. With these results, it can be predicted that acetogenins can be considered promising candidates for a future generation of drugs for the treatment of chemotherapy-resistant tumors. Therefore, this review research aims to help guide future investigations and reaffirm the biological potential of acetogenins in cancer therapy, with the hope of further stimulating the development of new treatment alternatives.

Keywords: Acetogenins; apoptosis; Annonaceae.



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcetilCoA	Acetilcoenzima A
ACGs	Acetogeninas
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor-1 (Fator 1 de ativação da protease apoptótica)
ATP	Adenosina trifosfato
Bak	Bcl-2 antagonist killer (Assassino antagonista de Bcl-2)
Bax	Bcl-2 associated X protein (Proteína X associada à Bcl-2)
Bcl-2	B cell lymphoma 2 (Linfoma de células B 2)
Bcl-XL	B cell lymphoma Leukemia-2 related protein X large (Linfoma de células B-extra grande)
Bid	Interacting domain death agonist (Agonista de morte de domínio de interação)
Caspases	Proteases aspárticas de cisteína
CHC	Carcinoma hepatocelular
CRM	Cadeia respiratória mitocondrial I
C-2	Carbono 2
C-15	Carbono 15
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FADD	Fas-associated death domain (Domínio de morte associado a Fas)
FITC	Fluoresceína
HB	Hepatoblastoma
IC₅₀	Concentração Inibitória Média
IP	Iodeto de Propídio
JC-1	Iodeto de 5,5', 6,6' tetracoloro 1,1,3,3' tetraetilbenzimidazolilcarbocianina
LHV	Linfoma Histiocítico Verdadeiro
LLA	Leucemia Linfoide Aguda
LLC	Leucemia Linfoide Crônica
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crônica
MalonilCoA	Malonil coenzima A
Mdm-2	Murine double minute-2
MOMP	Membrana externa mitocondrial
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzida
N.I.	Não Informado

PMM	Potencial de Membrana Mitocondrial
PNs	Produtos naturais
PropanilCoA	Propanil coenzima A
PS	Fosfatidilserina
REα	Receptor de estrogênio α
rTNF	Tumor necrosis fator receptor (Receptor do fator de necrose tumoral)
TdT	Terminal deoxynucleotidyl transferase (Desoxinucleotidil transferase terminal)
THF	Tetrahidrofurano
THP	Tetrahidropirano
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (Rotulagem terminal de desoxinucleotidil dUTP transferase)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação dos anéis THF e/ou THP em acetogeninas de Annonaceae.....	19
Figura 2 – Classificação dos anéis epóxido em acetogeninas de Annonaceae.....	19
Figura 3 – Classificação dos anéis γ -lactônico em acetogeninas de Annonaceae.....	20
Figura 4 – Classificação geral das acetogeninas.....	21
Figura 5 – Estrutura das acetogeninas.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Gêneros estudados da família Annonaceae.....	35
Gráfico 2 – Espécies investigadas do gênero <i>Annona</i>	48

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
$\leq$	Menor ou igual
μ	Micro
%	Porcentagem

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Acetogeninas testadas quanto ao seu efeito na indução de morte celular.....	31
Tabela 2 – Informações estruturais das acetogeninas reportadas na literatura testadas quanto ao seu efeito apoptótico.....	33
Tabela 3 – Espécies da família Annonaceae testadas quanto ao seu efeito na indução de morte celular.....	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE FÁRMACOS	15
2.2 FAMÍLIA ANNONACEAE	16
2.3 ACETOGENINAS DE ANNONACEAE	17
2.3.1 Estrutura química e classificação das acetogeninas de Annonaceae	18
2.3.2 Atividade biológica gerais das acetogeninas e seu potencial citotóxico	22
2.4 CÂNCER	22
2.4.1 Morte celular e Câncer	24
2.4.2 Apoptose e Câncer	25
3 OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4 METODOLOGIA	229
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 ESTUDOS DAS ACETOGENINAS ISOLADAS DA FAMÍLIA ANNONACEAE COM POTENCIAL APOPTÓTICO	30
5.2 ESTUDOS DOS EXTRATOS ISOLADOS DA FAMÍLIA ANNONACEAE COM POTENCIAL APOPTÓTICO	43
6 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

A natureza apresenta grande biodiversidade, tanto no reino vegetal, como no reino animal, o que resulta em uma enorme variedade de produtos naturais disponíveis, sendo eles majoritariamente oriundos dos vegetais. Plantas com propriedades medicinais são amplamente utilizadas como tratamento para enfermidades, seja na forma de chás ou medicamentos fitoterápicos.

A família Annonaceae é uma fonte de produtos naturais (PNs) que vem ganhando destaque, uma vez que, além de ser encontrada com facilidade, as plantas desta família podem ser usadas no tratamento de diversas patologias, das mais simples como dores e diarreia (Attiq; Jalil; Husain, 2017), até as mais complexas, como cânceres, doença de chagas e malária (Araújo, 2019). Dentre todas as suas propriedades farmacológicas, o seu grande potencial citotóxico em células cancerígenas tem chamado a atenção de diversos pesquisadores.

Diante disso, o potencial citotóxico das Annonaceae está relacionado com a presença de acetogeninas (ACGs) nas mesmas. Vale destacar que, as ACGs apresentam extensas atividades biológicas, incluindo atividades antimaláricas e imunossupressoras. Entretanto, seu efeito antitumoral é o mais investigado, visto que são capazes de inibir o crescimento de várias linhagens celulares cancerígenas (Neske *et al.*, 2020).

O câncer é resultado de uma falha no controle do crescimento celular (Lodish *et al.*, 2014). Com isso, a busca por métodos que induzam a morte das células cancerosas é frequentemente realizada, pois através disso é possível manter o controle ou atingir a cura do câncer. Dentre os tipos de morte celular, tem-se a apoptose, também conhecida como morte celular programada, ou seja, que não ocorre de forma acidental.

A partir da investigação da apoptose foi constatado que vários agentes quimioterápicos agem através da indução desse tipo de morte celular, incluindo as acetogeninas. Com base nisso, o presente estudo consiste em uma abrangente revisão bibliográfica com o objetivo de selecionar, analisar e compilar informações descritas na literatura sobre os efeitos de indução de morte celular por apoptose, correlacionados com a atividade antitumoral das espécies da família Annonaceae e suas acetogeninas em diversos tipos de câncer, levando a uma base racional para prever o mecanismo de morte celular ativado e quais tipos de cânceres podem ser alvos destas substâncias.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PRODUTOS NATURAIS COMO FONTE DE FÁRMACOS

Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541), popularmente conhecido como Paracelso, afirmou: “A Medicina se fundamenta na natureza, a Natureza é a Medicina, e somente naquela devem os homens buscá-la. A Natureza é o mestre do médico, já que ela é mais antiga do que ele e existe dentro e fora do homem” (Nogueira; Montanari; Donnici, 2009, p. 232). Logo, compreende-se que a natureza em toda sua grandiosidade e biodiversidade é capaz de fornecer os produtos naturais (PNs) mais sofisticados (Valli; Bolzani, 2019). Nesse sentido, os produtos naturais são substâncias químicas com atividades biológicas (Monteiro; Brandelli, 2017) que se originam de fontes bacterianas, fúngicas, vegetais, animais e organismos marinhos (Katz *et al.*, 2016), sendo a fonte vegetal a predominante para a descoberta de novas terapias medicamentosas (Thomas *et al.*, 2021).

Ademais, o uso de plantas medicinais para o tratamento de patologias é uma prática antiga e, antes do surgimento da escrita, o conhecimento adquirido era repassado entre as gerações através da comunicação oral (Thomford *et al.*, 2018). O que acontecia era um exercício de tentativa e erro, tal prática clínica motivou a escrita de documentos como enciclopédias e tratados médicos (Zhang *et al.*, 2020), por exemplo, o papiro de Ebers, que elenca cerca de 100 doenças e relata diferentes ervas e formulações de uso medicinal (Monteiro; Brandelli, 2017).

Os produtos naturais derivados de plantas apresentam múltiplos usos, sendo eles na medicina humana e veterinária e na agricultura (Katz *et al.*, 2016). Isso é possível graças ao fato de que as plantas biossintetizam várias moléculas que as tornam capazes de emitir cheiros agradáveis, cores e toxicidade (Thomford *et al.*, 2018). A ampla variedade química e estrutural também ocasiona diversidade em suas atividades biológicas (Yuan *et al.*, 2016).

A partir da papoula (*Papaver somniferum* L.) foram isolados alguns princípios ativos. O primeiro composto puro e ativo da planta, a morfina (Lima; Oliveira, 2018), foi isolado em 1806 pelo farmacêutico Friedrich Serturner. Em seguida, no ano de 1824, Pierre-Jean Robiquet isolou a codeína e em 1848 George Fraz Merck a papaverina (Monteiro; Brandelli, 2017). Desde a determinação da estrutura molecular da morfina, muitos medicamentos originários dos produtos naturais ou derivados sintéticos foram lançados (Valli; Bolzani, 2019), como o fármaco anticancerígeno Vimblastina, obtida da *Catharanthus roseus* e o antimalárico Quinina, extraída da *Cinchona* spp. (Thomford *et al.*, 2018).

A fitoterapia baseada nos PNs caracteriza estes como candidatos promissores para terapias oncológicas, uma vez que tendem a matar células tumorais e ocasionar baixo efeito tóxico em células normais (He; Xia; Li, 2021). Além do tratamento oncológico, os fitocosméticos também estão em alta, e são utilizados cada vez mais para a prevenção e tratamento do envelhecimento cutâneo (Silva, 2020). Outros bioprodutos também podem ser desenvolvidos, como os suplementos alimentares (Valli; Bolzani, 2019).

Destarte, compreende-se que a Medicina Tradicional, a forma mais antiga de assistência à saúde do mundo, uma vez ofuscada pela Medicina Moderna, está ganhando novamente espaço para a promoção da saúde e o tratamento de doenças humanas, inclusive em países desenvolvidos (Thomford *et al.*, 2018). Notadamente, devido à variedade e funcionalidade de metabólitos secundários das espécies vegetais, os produtos naturais e estruturas relacionadas se tornarão ainda mais importantes para o desenvolvimento de novos medicamentos (Ngo; Okogun; Folk, 2013).

2.2 FAMÍLIA ANNONACEAE

A classe Magnoliopsida, a subclasse Magnoliidae possuem a ordem Magnoliales (Alcântara, 2015), que compreende seis famílias, Annonaceae, Magnoliaceae, Myristicaceae, Degeneriaceae (Judd *et al.*, 2008), Eupomatiaceae e Himantandraceae (Attiq; Jalil; Husain, 2017). Na atualidade, a família Annonaceae é composta por cerca de 130 gêneros e 2.106 espécies (Cascaes *et al.*, 2021). Os principais gêneros são o *Guatteria* com 250 espécies, *Xylopia* com 150 espécies, *Annona* com 119 espécies, *Uvaria* com cerca de 110 espécies, *Polyalthia* e *Artabotrys* tendo aproximadamente 100 espécies cada e, *Rollinia* com 65 espécies (Judd *et al.*, 2008).

Devido à grande quantidade de espécies em Annonaceae, foi necessária a realização de uma classificação intrafamiliar, baseada em diversas fontes de dados, como morfologia floral, de frutos e sementes e, palinologia (Chatrou *et al.*, 2012). Foram descritas quatro subfamílias e 12 tribos.

A família Annonaceae é a mais diversificada entre as Angiospermas basais e tem predominância em áreas tropicais e subtropicais, está presente em florestas úmidas e em baixas altitudes, exceto o gênero *Asimina*, que ocorre em florestas temperadas da América do Norte (Oliveira, 2018). São plantas anatômica e estruturalmente uniformes, floridas, compostas por árvores e arbustos e representam um importante componente dos ecossistemas de florestas tropicais em todo o mundo (Lissambou *et al.*, 2018).

Algumas partes das plantas de determinadas espécies possuem utilidades, como o óleo das sementes para a produção de sabão e as flores na perfumaria (Aguiar, 2022). Ainda, há o consumo de frutas frescas, como *Annona cherimola* Mill. (cherimólia), *Annona squamosa* L. (pinha) e *Annona muricata* L. (graviola) (Cascaes *et al.*, 2021). Além do gênero *Annona*, apenas dois gêneros produzem frutos comestíveis, são eles *Rollinia* e *Duguetia* (Luiz *et al.*, 2006).

Muitas espécies dessa família são utilizadas na medicina popular visando tratar patologias, como dores, diarreia, reumatismo, neuralgia (Attiq; Jalil; Husain, 2017), cânceres, doença de chagas e malária (Araújo, 2019), pois apresentam diversas classes de metabólitos secundários, como alcaloides, acetogeninas e flavonoides que são providos de atividades farmacológicas (Pacheco, 2014; Cascaes *et al.*, 2021). De todos os componentes, as acetogeninas estão sendo as mais estudadas, pois têm demonstrado atividade citotóxica frente às várias linhagens de células cancerígenas (Pacheco, 2014).

2.3 ACETOGENINAS DE ANNONACEAE

As acetogeninas, uma classe nova de produtos bioativos de ocorrência natural, constituem uma série de policetídeos encontrados quase exclusivamente em plantas da família Annonaceae (Liaw *et al.*, 2016). Desde a descoberta da uvaricina, em 1982, a partir das raízes de *Uvaria accuminata*, anunciada como novo composto antitumoral, mais de 500 acetogeninas foram identificadas em diferentes partes das plantas da família Annonaceae (Moghadamtousi *et al.*, 2015b), especialmente nas sementes, em decorrência dos avanços na tecnologia de separação.

Foram relatados o isolamento de acetogeninas em 16 gêneros desta família, sendo o gênero *Annona* com maior destaque, seguido por *Uvaria*, *Rollinia*, *Asimina*, *Goniothalamus*, *Disepalum*, *Mitrephora*, *Polialtia*, *Xylopia*, *Ampelocissus*, *Artabotrys*, *Cananga*, *Dasymaschalon*, *Ophrypetalum*, *Porcelia* e *Saccopetalum* (Neske *et al.*, 2020).

A biossíntese das acetogeninas ainda não está completamente elucidada, portanto, algumas hipóteses são propostas desde o isolamento da uvaricina. Apesar da presença de variados centros assimétricos devido à grupos oxigenados, a biogênese progride por processos enzimáticos simples, desidrogenação e oxidação (Cavé *et al.*, 1997). O fato das acetogeninas serem compostos com um anel γ -lactônico (às vezes rearranjado para metilcetona) e possuírem um ou mais anéis de tetrahydrofurano (THF) ou tetrahidropirano (THP) incorporados na cadeia, sugere que elas se derivam da via do policetídeo. Dessa forma, compreende-se que o precursor das acetogeninas pode ter sido originado pela combinação linear de duas ou três unidades de

carbono (ácido acético e propanóico) via acetil-CoA, malonil-CoA ou propanil-CoA, através de mecanismos análogos à rota para biossíntese de ácidos graxos (Rupprecht; Hui; McLaughlin *et al.*, 1990).

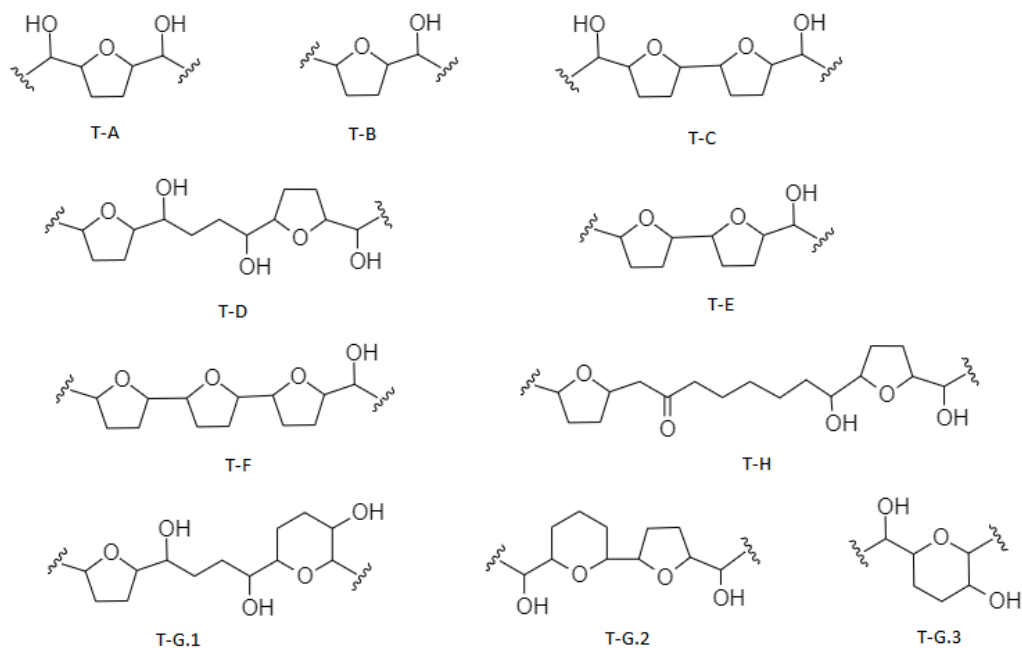
Nesse contexto, sugere-se que a formação do anel THF é consecutiva à lactonização, uma vez que há compostos sem qualquer anel, mas possuindo hidroxilas, cetonas, ligações duplas ou grupos epóxi (Cavé *et al.*, 1997). Além disso, os anéis de tetrahidrofurano são obtidos por epoxidação de intermediários de trieno, dieno ou trieno-cetona, seguida de aberturas e fechamentos do anel (Rupprecht; Hui; McLaughlin *et al.*, 1990), isso explicaria as diferentes formas de substituição das acetogeninas. Tais informações permitiram a proposição das vias biossintéticas supracitadas (Cavé *et al.*, 1997).

2.3.1 Estrutura química e classificação das acetogeninas de Annonaceae

As acetogeninas são uma classe única de metabólitos especializados podendo conter, normalmente, em sua estrutura 35 ou 37 átomos de carbono (Moghadamtousi *et al.*, 2015b). Elas são geralmente caracterizadas por uma combinação de ácidos graxos com uma unidade 2-propanol em C-2 que forma uma γ -lactona α,β -insaturada substituída com metila (Neske *et al.*, 2020), juntamente com várias funcionalidades oxigenadas, por exemplo, frações de grupo hidroxil, cetona, epóxido, tetrahidrofurano e tetrahidropirano (THP), além de apresentar ligações duplas e triplas como características estruturais (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022). Em síntese, as características comuns nas estruturas das acetogeninas são um anel γ -lactônico terminal e uma cadeia lateral alifática que se conecta a alguns grupos funcionais hidrofílicos, como um a três anéis THF/THP e vários grupos hidroxil.

As acetogeninas de Annonaceae podem ser classificadas de acordo com o número e disposição dos anéis THF ao longo da cadeia alifática, além disso, estes podem ser α,α -hidroxilados ou α -hidroxilado. Sua classificação consiste em: mono-THF e/ou THP (T-A, T-B, T-G3), bis-THF e/ou THP adjacentes (T-C, T-E, T-G2), bis-THF e/ou THP não adjacentes (T-D, T-H, T-G1), e tri-THF (T-F) (Figura 1) (Paes, 2016).

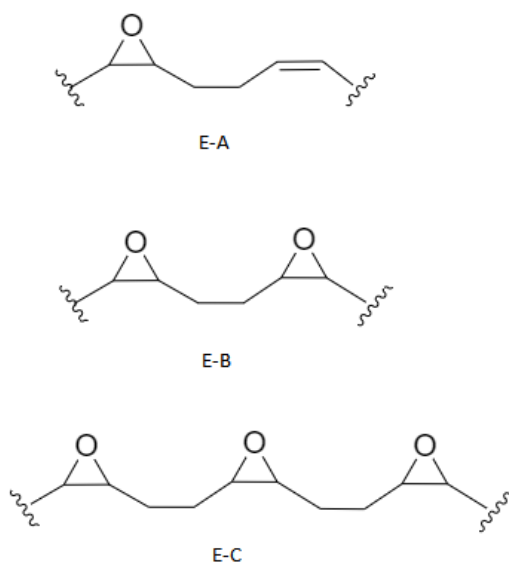
Figura 1 - Classificação dos anéis THF e/ou THP em acetogeninas de Annonaceae.



Fonte: Paes (2016, p. 35).

Em casos de ausência do anel ou anéis THF/THP e presença de anéis epóxido, define-se como Tipo E (Cavé *et al.*, 1997), ou tipo E-A, E-B e E-C (Figura 2) (Paes, 2016).

Figura 2 - Classificação dos anéis epóxido em acetogeninas de Annonaceae.

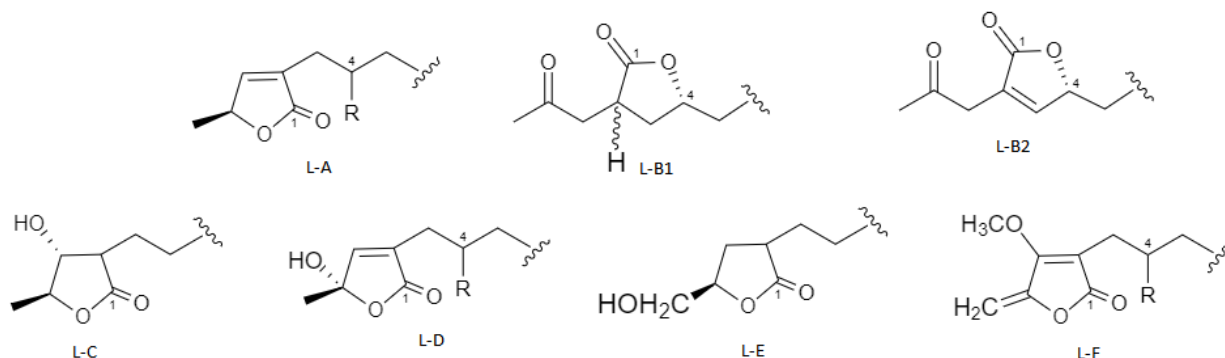


Fonte: Cavé (1997).

Além disso, ocorre a classificação do anel lactônico presente na estrutura das ACGs (Cavé *et al.*, 1997). Este pode ser γ -lactônico substituído, cetolactonas ou hidroxilados. Os tipos

retratados na literatura até o momento são: L-A, L-B1, L-B2, L-C, L-D, L-E e L-F (Figura 3) (Paes, 2016).

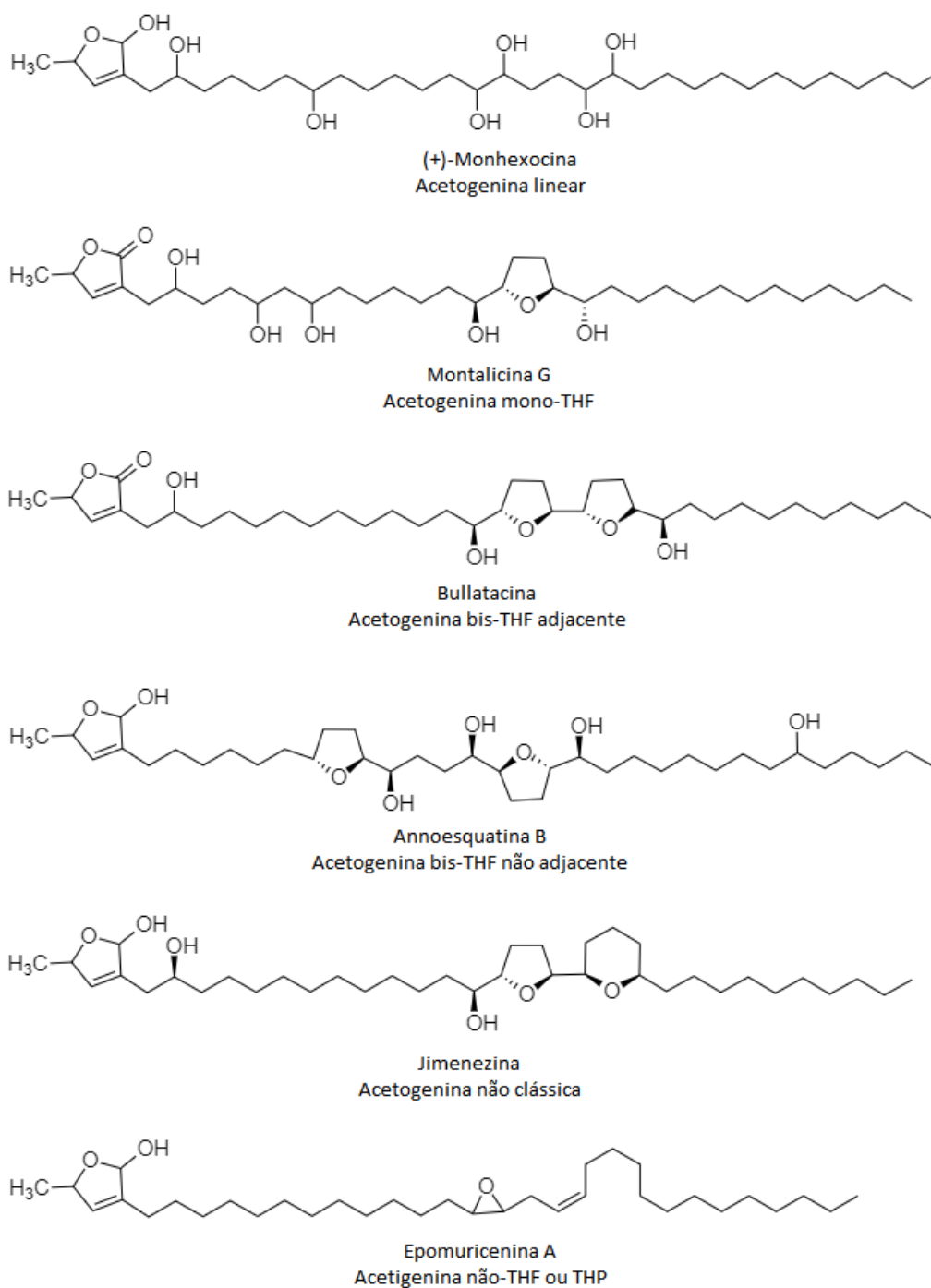
Figura 3 - Classificação dos anéis γ -lactônico em acetogeninas de Annonaceae.



Fonte: Paes (2016, p. 36).

Ademais, a classificação pode ser feita a partir das características estruturais gerais (Liaw *et al.*, 2016) que podem ser divididas em seis grandes grupos: acetogeninas lineares, mono-THF, bis-THF adjacentes, bis-THF não adjacentes, não THF e THP, e não clássicas (Figura 4) (Paes, 2016). É válido salientar que, as acetogeninas bis-THF são mais ativas que as mono-THF como inibidores da cadeia respiratória mitocondrial (CRM) e, ao mesmo tempo, mais ativas que a rotenona (Neske *et al.*, 2020).

Figura 4 - Classificação geral das acetogeninas.



Fonte: Paes (2016, p. 37).

Portanto, para a elucidação da estrutura de acetogeninas utiliza-se um método de cinco etapas, sendo elas: determinação do peso molecular; caracterização da lactona do anel de cinco membros (γ -lactona); identificação dos grupos funcionais na cadeia alquílica, anéis de THF ou THP, epóxidos, hidroxilas, insaturações etc; localização dos grupos funcionais; e determinação da configuração relativa dos centros quirais (Cavé *et al.*, 1997).

Além dessas acetogeninas supracitadas, é possível encontrar acetogeninas C-15 em algas, que apresentam diferenças em relação às acetogeninas de plantas porque geralmente são halogenadas (Wanke *et al.*, 2015).

2.3.2 Atividade biológica gerais das acetogeninas e seu potencial citotóxico

As acetogeninas apresentam extensas atividades biológicas, incluindo atividades antimaláricas, antibacterianas, antiparasitárias e pesticidas (Moghadamtousi *et al.*, 2015b), tal como efeitos antineoplásicos, citotóxicos, imunossupressores, neurotóxicos (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022), vermicidas, antimicrobianos, antieméticos, inibidores do apetite (Krinski; Massaroli; Machado, 2014), inseticidas, fungicidas e herbicidas (Neske *et al.*, 2020).

Dentre a ampla gama de propriedades biológicas documentadas, seus efeitos citotóxicos e antitumorais, bem como os mecanismos subjacentes a esses efeitos, receberam mais atenção (Al Kazman; Harnett; Hanrahan, 2022; Neske *et al.*, 2020), por exemplo, a atividade inibitória contra o complexo mitocondrial I (NADH mitocondrial: ubiquinona oxidoredutase) (Moghadamtousi *et al.*, 2015b). O complexo I é o primeiro componente proteico da CRM e desempenha um papel importante na produção de ATP e na função mitocondrial (Neske *et al.*, 2020).

A citotoxicidade das acetogeninas tornou esta família promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos anticancerígenos (Cascaes *et al.*, 2021). Nesse sentido, têm-se buscado entender a bioatividade e o mecanismo de ação das acetogeninas, e sua interação com o complexo mitocondrial I, relacionadas à geração de ATP e inibição das NADH oxidases nas mitocôndrias. A NADH oxidase é uma enzima capaz de permitir que a célula cancerosa produza ATP em condições anaeróbicas por restaurar os níveis de NAD, permitir a glicólise e a continuação da fosforilação ao nível de substrato.

De toda forma, como o complexo I envolve a transferência de elétrons do NADH até a ubiquinona, contribuindo para a produção de energia pelas mitocôndrias, a sua inibição interfere na produção de ATP, induzindo a morte celular programada na célula pelo mecanismo de apoptose.

2.4 CÂNCER

As células dos organismos multicelulares formam tecidos organizados e regulados por controles internos e externos ao tecido (Junqueira; Carneiro, 2012). Durante a vida, sistemas de

controle genético regulam o equilíbrio entre o nascimento e a morte celular. O câncer ocorre quando os mecanismos que mantêm essas taxas normais de crescimento falham, causando um excesso de divisão celular (Lodish *et al.*, 2014). O câncer, é formado a partir de uma única célula que sofreu mutação, proliferou, e que suas descendentes tenham acumulado mais mutações, não obedecendo aos mecanismos de controle do ciclo celular e se multiplicando continuamente (Junqueira; Carneiro, 2012). Ou seja, o câncer é o crescimento anormal das células de um determinado tecido ou órgão (Roy; Saikia, 2016), devido a falhas nos mecanismos que normalmente controlam o crescimento e a proliferação celular (Oppermann, 2014).

As células se proliferam e formam uma massa celular, que pode ser referida como um crescimento, tumor, nódulo, caroço ou lesão. Exceto cânceres do sangue e da medula óssea (leucemias e linfomas) – que frequentemente não produzem uma “massa” (Roy; Saikia, 2016). Apesar de comumente utilizar-se o termo tumor, a denominação correta é neoplasia, que significa novo crescimento (Junqueira; Carneiro, 2012). As neoplasias podem ser tanto benignas quanto malignas (Oppermann, 2014).

De modo geral, tumores benignos não são classificados como câncer, estes podem ser tratados através de cirurgia, sem nenhum dano ao organismo e raramente colocam em risco a vida dos pacientes (Oppermann, 2014). Isso acontece porque nesse caso as células permanecem localizadas, prejudicando apenas o órgão em que se originou o tumor e os tecidos adjacentes (Junqueira; Carneiro, 2012). Enquanto os tumores malignos são considerados câncer. As células desses tumores se multiplicam desordenadamente e são invasivas, capazes de atingir tecidos adjacentes, vasos sanguíneos e linfáticos. A partir disso ocorrem as metástases, que é o implante de células tumorais em outros órgãos e tecidos que não os de origem da doença (Oppermann, 2014). Sendo assim, o tratamento cirúrgico dos tumores malignos somente é eficaz se realizado antes de ocorrerem as metástases (Junqueira; Carneiro, 2012).

Diversos fatores multiplicam o risco das neoplasias malignas, estes podem ser genéticos (internos) ou ambientais (externos). As causas externas estão relacionadas com o meio ambiente e os hábitos do indivíduo no meio social e cultural. Já as causas internas, geralmente, são geneticamente determinadas e estão associadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Dessa forma, percebe-se a prevalência do câncer em pessoas cujo sistema imunológico está suprimido devido a qualquer fator, incluindo estresse crônico, idade avançada, doença crônica debilitante, uso prévio de quimioterapia e abuso de drogas como analgésicos, antibióticos e corticosteroides (Roy; Saikia, 2016), além da exposição a carcinógenos,

substâncias encontradas no meio ambiente, que incluem certos compostos químicos e a radiação (Lodish *et al.*, 2014).

O estabelecimento do câncer também pode estar relacionado a mutações em duas grandes classes de genes, os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais. Os proto-oncogenes promovem o crescimento celular, após mutações, são então transformados em oncogenes, o que resulta no crescimento excessivo, pois a célula perde o controle sobre seu ciclo mitótico (Junqueira; Carneiro, 2012). Os genes supressores tumorais são os responsáveis pela limitação do crescimento, então, quando sofrem mutação, eles são inativados, o que consequentemente gera uma divisão celular inadequada. Há uma terceira classe de genes, os genes caretaker, que protegem a integridade do genoma, e “quando são inativados, as células adquirem mutações adicionais em taxa crescente – incluindo mutações que causam a desregulação do crescimento celular, proliferação e câncer” (Lodish *et al.*, 2014).

2.4.1 Morte celular e Câncer

Existem várias formas de tratamento para o câncer, a mais usada é a quimioterapia que conta com medicamentos que matam a célula do tumor com a sua toxicidade. Nesse contexto, é importante conhecer alguns tipos de morte celular.

A morte celular é comum durante o desenvolvimento embrionário, pois é necessária para remover tecidos provisórios, eliminar células supérfluas, gerar ductos e orifícios, entre outros. Na vida após o nascimento, a morte celular ocorre para remodelar tecidos ou remover células danificadas, desnecessárias, redundantes, envelhecidas ou perigosas para sua saúde, como, por exemplo, as células infectadas, as tumorais ou as autorreativas (Robertis; Hib, 2014).

Por conta desses fatores supracitados, a morte celular foi considerada um processo passivo por muito tempo. Porém, nem todos os eventos de morte celular são processos passivos. Organismos multicelulares são capazes de induzir a morte celular programada como resposta a estímulos intracelulares ou extracelulares. Esses processos são classificados de acordo com suas características morfológicas e bioquímicas em: apoptose, autofagia, necrose, catástrofe mitótica e senescência (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

Autofagia é um processo adaptativo conservado evolutivamente e controlado geneticamente, que ocorre em resposta a um estresse metabólico que resulta na degradação de componentes celulares. Por outro lado, a necrose é um tipo de morte na qual as células sofrem um insulto que resulta no aumento do volume celular, agregação da cromatina, desorganização do citoplasma, perda da integridade da membrana plasmática e consequente ruptura celular.

Essa ruptura causa danos às células vizinhas e uma reação inflamatória no local (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

Já a catástrofe mitótica é um processo passivo que resulta numa segregação cromossômica errônea. Normalmente, não é considerada uma forma de morte, mas sim uma sinalização irreversível para a morte. Enquanto a senescência é um processo metabólico ativo essencial para o envelhecimento, pois as células que entram em senescência perdem a capacidade proliferativa após um determinado número de divisões celulares (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

Por último, o termo "morte celular programada" foi proposto para designar um tipo de morte celular que ocorre de forma não acidental, atualmente, esse processo é conhecido como apoptose. A apoptose é amplamente investigada, uma vez que foi demonstrado que este é um mecanismo inato de defesa antineoplásica e que vários agentes quimioterápicos agem através da indução desse tipo de morte celular (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

2.4.2 Apoptose e Câncer

A apoptose, geralmente, ocorre quando os fatores que mantêm as células vivas são suprimidos, quando se têm a união de substâncias que induzem a morte celular com receptores específicos, ou quando mutações capazes de colocar o organismo em risco afetam o DNA nuclear (Robertis; Hib, 2014).

Ainda de acordo com Robertis e Hib, (2014), as alterações que ocorrem nas células quando morrem por apoptose são características. Estas, acontecem porque são ativadas proteases citosólicas especiais denominadas caspases (proteases aspárticas de cisteína) e ocorrem na seguinte ordem:

O citoesqueleto é desarranjado devido à ruptura de seus filamentos. Consequentemente, a célula perde contato com suas vizinhas (ou com a matriz extracelular) e torna-se esférica; A célula encolhe-se, pois o citosol e as organelas condensam-se sem que suas estruturas sejam afetadas. A condensação deve-se à alteração da permeabilidade das membranas celulares; Os laminofilamentos dissociam-se, com a consequente desintegração do envoltório nuclear; A cromatina é compactada e as moléculas de DNA seccionam-se por ação de uma endonuclease, dividindo o núcleo em pequenos fragmentos que se distribuem no citoplasma; Da superfície da célula emergem numerosas saliências, quase todas com fragmentos nucleares em seu interior; Logo as saliências desprendem-se, convertidas em segmentos celulares denominados corpos apoptóticos. Cabe dizer que suas organelas se encontram relativamente bem conservadas; As fosfatidilserinas das membranas que

envolvem os corpos apoptóticos – previamente localizadas na monocamada citosólica da membrana plasmática – deslocam-se em direção à monocamada externa; finalmente, atraídos por estas fosfatidilserinas, numerosos macrófagos chegam ao local da apoptose e fagocitam os corpos apoptóticos.

Nesse sentido, compreende-se que a apoptose é um programa de morte celular extremamente regulado e eficiente, que necessita da interação de inúmeros fatores (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

As caspases pertencem à família das cisteínas proteases, que têm a capacidade de reconhecer e clivar substratos que possuam resíduos de aspartato. A clivagem desses substratos leva à condensação e fragmentação nuclear, além de sinalizar para estas células serem fagocitadas por macrófagos. Das 14 caspases humanas conhecidas, apenas seis (caspases -3, -6, -7, -8, -9, -10) participam da apoptose. Dentre os substratos das caspases, têm-se a proteína mdm-2 (murine double minute), que se liga à p53 e a mantém no citoplasma. Ao sofrer clivagem, a mdm-2 libera a p53, que ativa a transcrição de genes pró-apoptóticos como o Bax (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

Ademais, as caspases também são conhecidas por desempenharem um papel essencial na proliferação, migração e diferenciação celular, o que é de extrema relevância em casos de câncer (Ferrer; Berthenet; Ichim, 2020).

A família Bcl-2 é uma família de proteínas indutoras e repressoras de morte por apoptose que regulam a mesma. Os membros da família Bcl-2, como Bcl-2 e Bcl-XL inibem a apoptose, pois previnem a liberação de citocromo C e são chamados de reguladores anti-apoptóticos. Por outro lado, Bax, Bid e Bak são proteínas pró-apoptóticas (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

Desse modo, a apoptose pode ser iniciada pela via extrínseca (citoplasmática) ou pela via intrínseca (mitocondrial), ambas são capazes de ativar as caspases (Ferrer; Berthenet; Ichim, 2020). A via extrínseca depende da ligação de ligantes específicos a um grupo de receptores de membrana da superfamília dos receptores de fatores de necrose tumoral (rTNF), que é capaz de ativar a cascata das caspases (Ferrer; Berthenet; Ichim, 2020). Porque, segundo Grivicich; Regner; Rocha (2007):

“Todos os membros da família rTNF possuem um subdomínio extracelular rico em cisteína, o qual permite que eles reconheçam seus ligantes. Tal fato resulta na trimerização e consequente ativação dos receptores de morte específicos. A sinalização a seguir é mediada pela porção citoplasmática desses receptores que contém uma sequência de 65 aminoácidos chamada ‘domínio de morte’ sendo, por isso, chamados de ‘receptores de morte celular’.

Quando os receptores de morte celular reconhecem um ligante específico, os seus domínios de morte interagem com moléculas conhecidas como FADD/ MORT-1.

Essas moléculas têm a capacidade de recrutarem a caspase-8 que irá ativar a caspase-3, executando a morte por apoptose.”

No que tange a via intrínseca, o estresse intra ou extracelular é capaz de ativá-la. Os sinais transduzidos em resposta a estes insultos convergem para o principal mediador desse tipo de morte, a mitocôndria. Essa organela integra os estímulos de morte celular, induz a permeabilização mitocondrial e libera moléculas pró-apoptóticas (Grivicich; Regner; Rocha, 2007). Dessa forma, a via intrínseca depende da permeabilização da membrana externa mitocondrial (MOMP), que é controlada por membros pró-apoptóticos e anti-apoptóticos da família de proteínas Bcl-2 (Ferrer; Berthenet; Ichim, 2020). O equilíbrio entre as proteínas é desfeito quando um sinal de ativação da via intrínseca é disparado na célula. Uma vez ocorrendo o desequilíbrio entre as proteínas anti-apoptóticas e pró-apoptóticas (Elmore, 2007), as pró-apoptóticas (Bax e Bak) induzem a formação de poros na membrana da mitocôndria, levando ao colapso do potencial da membrana mitocondrial interna (Loeffler; Kremer, 2000) e, conseqüentemente, ocorre a liberação de citocromo C. O citocromo C ativa a proteína citosólica Apaf-1, formando um complexo chamado de apoptossomo, que cliva e ativa a caspase-9, que por sua vez, ativa as caspases 3, 6 e 7, executoras do processo apoptótico (Elmore, 2007).

No câncer, a apoptose é um mecanismo supressor tumoral, cuja perda do controle apoptótico permite que as células cancerosas sobrevivam por mais tempo (Ferrer; Berthenet; Ichim, 2020). Por esse motivo, a apoptose é alvo para um potencial uso terapêutico da morte celular programada ou para a compreensão dos mecanismos de resistência à radioterapia e à quimioterapia (Grivicich; Regner; Rocha, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão bibliográfica sobre os efeitos antitumorais correlacionados com a apoptose, das espécies da família Annonaceae e suas acetogeninas, em diversos tipos de câncer.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar, analisar e compilar informações descritas na literatura sobre as espécies da família Annonaceae e a citotoxicidade de suas acetogeninas;
- Explorar na literatura e compendiar dados sobre extratos/frações e acetogeninas de espécies da família Annonaceae no processo de indução da apoptose em células cancerígenas;
- Investigar a efetividade dos efeitos antineoplásicos das espécies da família Annonaceae.

4 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão abrangente da literatura sobre as espécies da família Annonaceae e seu efeito na morte celular de células tumorais com o intuito de compilar as informações de estudos sobre extratos/frações e acetogeninas das espécies desta família que atuem no processo de indução da apoptose em células cancerígenas.

Posto isso, utilizou-se como fonte de dados a literatura sobre produtos naturais, família Annonaceae, incluindo suas acetogeninas, extratos e frações, assim como a atividade citotóxica desta família, câncer, morte celular e apoptose.

Portanto, as fontes de buscas utilizadas foram as plataformas de acervos digitais, incluindo o PubMed (Medline), Science Direct, Scielo, Flora do Brasil, Biblioteca Virtual da Universidade Federal do Oeste da Bahia, os buscadores do Google (Google Scholar), entre outros. De modo a abranger todas as descobertas da referida temática, foram incluídos artigos, teses, dissertações e monografias publicados desde o primeiro registro até os mais atuais.

A pesquisa de trabalhos científicos efetuada fez o uso de palavras-chave em português e inglês. Os descritores utilizados são: produtos naturais; natural products; família Annonaceae; family Annonaceae; espécies de Annonaceae; Annonaceae Species; acetogeninas; acetogenins; acetogeninas da família Annonaceae; acetogenins from Annonaceae family; atividade citotóxica; cytotoxic activity; câncer; neoplasias; neoplasms; morte celular; cell death; apoptose; apoptosis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS DAS ACETOGENINAS ISOLADAS DA FAMÍLIA ANNONACEAE COM POTENCIAL APOPTÓTICO

Desde a descoberta da atividade citotóxica em células tumorais da uvaricina, em 1982, as acetogeninas têm sido rotineiramente estudadas sobre seus efeitos antitumorais atrelados ao mecanismo de indução de apoptose.

Assim, com a finalidade de reunir pesquisas sobre o potencial apoptótico destas moléculas, a Tabela 1 elenca um total de 22 acetogeninas, destas são 16 diferentes estruturas, que foram exploradas com este potencial em diversos ensaios para averiguar a indução de morte celular.

Tabela 1 - Acetogeninas testadas quanto ao seu efeito na indução de morte celular.

Acetogenina	Linhagem celular	Tipo de câncer	Ensaio/Alvos	Dados de Citotoxicidade	Espécie	Parte da planta	Extrato	Referências bibliográficas
Gênero <i>Annona</i>								
Annomontacina	HepG2	Hepatocarcinoma	Ciclo celular	N.I.	<i>Annona glabra</i>	Frutos	Metanol	Chen <i>et al.</i> , 2004
Annomuricina E	HT-29	Câncer de cólon	Ciclo celular; Anexina V; Caspase 3, 7 e 9; Citocromo C; Bax; Bcl-2	IC ₅₀ 1,62 µg/mL	<i>Annona muricata</i>	Folhas	Acetato de etila	Moghadamtousi <i>et al.</i> , 2015a
Annonacina	T24	Câncer de bexiga	Ciclo celular; Caspase 3; Bax	IC ₅₀ 0,324 µg/mL	<i>Annona reticulata</i>	Sementes	N.I.	Yuan <i>et al.</i> , 2003
Annonacina	MCF-7	Câncer de mama	Ciclo celular; Anexina V/IP; Bcl-2	N.I.	<i>Annona muricata</i>	Folhas	N.I.	Ko <i>et al.</i> , 2011
Annonacina	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 6,00 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Bullatacina	2.2.15	Hepatoma humano	Anexina V	N.I.	<i>Annona atemoya</i>	Sementes	N.I.	Chiu <i>et al.</i> , 2003
Cherimolina-1	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 6,09 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Cherimolina-1	HepG2	Hepatocarcinoma	Caspase-9	N.I.	<i>Annona cherimolia</i>	N.I.	N.I.	De Pedro <i>et al.</i> , 2013
Esquamocina	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 6,39 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Isoannonacina	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 10,53 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016

Acetogenina	Linhagem celular	Tipo de câncer	Ensaio/Alvos	Dados de Citotoxicidade	Espécie	Parte da planta	Extrato	Referências bibliográficas
Isocherimolina-1	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 11,49 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Laerradurina	HepG2	Hepatocarcinoma	Caspase-9	N.I.	<i>Annona cherimolia</i>	N.I.	N.I.	De Pedro <i>et al.</i> , 2013
Motrilina	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 21,17 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Motrilina	HepG2	Hepatocarcinoma	Caspase-9	N.I.	<i>Annona cherimolia</i>	N.I.	N.I.	De Pedro <i>et al.</i> , 2013
Paraguaína	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP; Caspase 3; Caspase-9	IC ₅₀ 2,30 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Paraguaína acetilada	U-937	Linfoma histiocítico	Ciclo celular; JC-1; Anexina V/IP	IC ₅₀ 16,12 µmol/L	<i>Annona dioica</i>	Raízes	Etanol: água (9:1)	Paes, 2016
Gênero <i>Rollinia</i>								
Rolliniastatina-1	HepG2	Hepatocarcinoma	Caspase-9	N.I.	<i>Rollinia mucosa</i>	N.I.	N.I.	De Pedro <i>et al.</i> , 2013
Gênero <i>Uvaria</i>								
Desacetiluvarina	SW480	Câncer colorretal	Ciclo celular; Caspase-3; Anexina V/IP	IC ₅₀ 14,00 nM	<i>Uvaria calamistrata</i>	Raízes	N.I.	Xue <i>et al.</i> , 2014
Uvamicranina B	HepG2	Hepatocarcinoma	Ciclo celular	IC ₅₀ 2,89 µM	<i>Uvaria micrantha</i>	N.I.	N.I.	Thongnest <i>et al.</i> , 2022
Uvarigrina	HepG2	Hepatocarcinoma	Ciclo celular	IC ₅₀ 0,37 µM	<i>Uvaria micrantha</i>	N.I.	N.I.	Thongnest <i>et al.</i> , 2022
Gênero Não Informado								
Esquamocina	K562	Leucemia	Ciclo celular	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	Lu <i>et al.</i> , 2006

Acetogenina	Linhagem celular	Tipo de câncer	Ensaio/Alvos	Dados de Citotoxicidade	Espécie	Parte da planta	Extrato	Referências bibliográficas
		mieloide crônica						
Esquamocina	HL-60	Leucemia promielocítica	Eletroforese em gel de agarose; Caspase-3	IC ₅₀ 0,17 µg/mL	N.I.	N.I.	N.I.	Zhu <i>et al.</i> , 2002

Bax = proteína pró-apoptótica; Bcl-2 = proteína anti-apoptótica; IC₅₀ = Concentração Inibitória Média; IP = Iodeto Propídio; JC-1 = Iodeto de 5,5', 6,6' tetracloro 1,1,3,3' tetraetilbenzimidazolilcarbocianina; N.I. = Não Informado.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

A Tabela 2 informa os dados químicos estruturais para cada acetogenina que foi citada na Tabela 1.

Tabela 2 - Informações estruturais das acetogeninas reportadas na literatura testadas quanto ao seu efeito apoptótico.

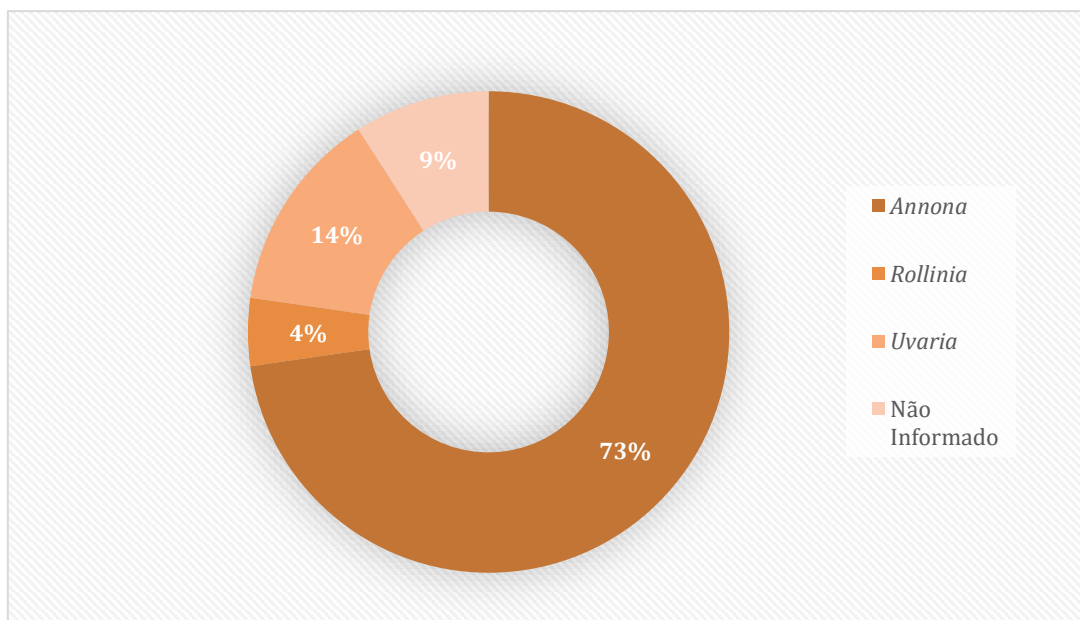
Acetogenina	Número total de carbonos	Massa molecular	Fórmula molecular	Posição da OH	Classificação	Referências bibliográficas
Annomontacina	37	624	C ₃₇ H ₆₈ O ₇	4, 10, 17, 22	Mono-THF	Jossang <i>et al.</i> , 1991
Annomuricina E	35	612	C ₃₅ H ₆₄ O ₈	4, 10, 11, 15, 20	Mono-THF	Kim <i>et al.</i> , 1998
Annonacina	35	596	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	4, 10, 15, 20	Mono-THF	Yuan <i>et al.</i> , 2003
Bullatacina	37	622	C ₃₇ H ₆₆ O ₇	4, 15, 24	Bis-THF adjacentes	Chang <i>et al.</i> , 1999
Cherimolina-1	37	638	C ₃₇ H ₆₆ O ₈	4, 16, 19, 24	Bis-THF não adjacentes	Duret <i>et al.</i> , 1994
Desacetilivaricina	37	606	C ₃₇ H ₆₆ O ₆	15, 24	Bis-THF adjacentes	Xue <i>et al.</i> , 2014
Esquamocina	37	622	C ₃₇ H ₆₆ O ₇	15, 24, 28	Bis-THF adjacentes	Lu <i>et al.</i> , 2006

Acetogenina	Número total de carbonos	Massa molecular	Fórmula molecular	Posição da OH	Classificação	Referências bibliográficas
Isoannonacina	35	596	C ₃₅ H ₆₄ O ₇	10, 15, 20	Mono-THF	Xu <i>et al.</i> , 1989
Isocherimolina-1	37	638	C ₃₇ H ₆₆ O ₈	16, 19, 24	Bis-THF não adjacentes	Duret <i>et al.</i> , 1994
Laerradurina	37	624	C ₃₇ H ₆₈ O ₇	15, 24, 35	Bis-THF adjacentes	Cortes <i>et al.</i> , 1991
Motrilina	37	622	C ₃₇ H ₆₆ O ₇	15, 24, 29	Bis-THF adjacentes	Tormo <i>et al.</i> , 2005
Paraguaína	37	620	C ₃₇ H ₆₄ O ₇	15, 24, 29	Bis-THF adjacentes	Paes, 2016
Paraguaína acetilada	40	702	C ₄₀ H ₆₂ O ₁₀	15, 24, 29	Bis-THF adjacentes	Paes, 2016
Rolliniastatina-1	37	622	C ₃₇ H ₆₆ O ₇	4, 15, 24	Bis-THF adjacentes	De Pedro <i>et al.</i> , 2013
Uvamicranina B	39	649	C ₃₉ H ₆₉ O ₇	17, 22	Mono-THF	Thongnest <i>et al.</i> , 2022
Uvarigrina	37	607	C ₃₇ H ₆₇ O ₆	15, 17, 22	Mono-THF	Thongnest <i>et al.</i> , 2022

Fonte: elaborado pela autora (2023).

De modo geral, a partir da análise dos 22 estudos, constatou-se que cerca de 73% das acetogeninas testadas pertencem ao gênero *Annona*, 14% ao gênero *Uvaria*, 4% ao gênero *Rollinia*, enquanto 9% não tiveram seus gêneros informados, como mostra o Gráfico 1. Sendo assim, as mais investigadas foram do gênero *Annona*.

Gráfico 1 - Gêneros estudados da família Annonaceae.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

O gênero *Annona* possui espécies com grande potencial farmacológico, que são culturalmente utilizadas para o tratamento de doenças humanas e amplamente estudadas para o mesmo fim (Dev; Joseph, 2021). Dentre seus componentes fitoquímicos, as acetogeninas são os principais e vem ganhando cada vez mais destaque e inclusão nas pesquisas, uma vez que estas também estão sendo investigadas de forma individual (Nugraha *et al.*, 2019).

Mais de 119 espécies estão inclusas no gênero *Annona* (Dev; Joseph, 2021). Nesse compilado de informações, averiguou-se que a maioria das acetogeninas estudadas foram isoladas de 6 espécies de *Annona*, são elas: *A. atemoya*; *A. cherimolia*; *A. dioica*; *A. glabra*; *A. muricata*; *A. reticulata*.

As espécies de *Annona* anteriormente mencionadas são comumente utilizadas na medicina popular para o tratamento e prevenção de diversas doenças, como é o caso da *A. muricata*, uma árvore frutífera, popularmente conhecida por “assassina do câncer” (Moghadamtousi *et al.*, 2015a). Ilango e colaboradores (2022) compilaram informações a respeito do uso dessa espécie no tratamento popular contra o câncer em diversos lugares do

mundo, como na Jamaica para o câncer de mama e de próstata, em Trinidad para o câncer de mama, próstata e colorretal, na Nigéria para prevenção do câncer de próstata e no México para o câncer gástrico. Ademais, também foi relatado seu uso nas Filipinas e no Peru. Por fim, Ko *et al.* (2011) sugerem que essa planta é usada como terapia popular anticâncer nas Américas do Norte, Central e do Sul, e no Sudeste Asiático.

De forma geral, os metabólitos secundários e derivados exercem um importante papel na quimioterapia, porém o caminho destas moléculas até que sejam inseridas na clínica, compreende-se em muitas etapas laboratoriais. Neste processo, avaliar estas moléculas quanto a sua citotoxicidade e o seu potencial de indução da apoptose nas células cancerígenas são uns dos principais parâmetros para dar seguimento aos estudos. Assim, na Tabela 1, no que diz respeito aos ensaios para detecção de apoptose, os mais realizados em acetogeninas foram: Anexina V/IP, análise do ciclo celular (Sub-G1) e JC-1. Outros ensaios como identificação da atividade das caspases 3, 7 e 9, expressão de Bax, Bcl-2, eletroforese em gel de agarose, também foram executados. Cabe ressaltar, que os valores de IC₅₀ sobre a citotoxicidade destas moléculas também foram inseridos na Tabela 1.

Dada a importância da apoptose para terapia antitumoral, vale comentar sobre os principais tipos de ensaios mencionados na Tabela 1.

Sobre o ensaio Anexina V/IP, a Anexina V é uma proteína, que possui a capacidade de ligar-se à superfície de fosfolípidios de membrana plasmática, por meio de sua carga negativa e dependente de íons cálcio (Valente, 2011). Na fase inicial da apoptose, as células externalizam na membrana plasmática o fosfolípido fosfatidilserina (PS). Sendo assim, o uso da anexina V, geralmente marcada com o corante FITC, permite observar os níveis de fosfatidilserina expostas na membrana que se associaram a essa proteína, e constatar se houve o processo de apoptose precoce (Duarte, 2010).

Outro marcador utilizado em associação nesse método é o Iodeto de Propídio (IP), o qual permite estimar que a célula está na fase tardia de apoptose ou necrose, isto ocorre pela mensuração das células com permeabilidade da membrana, visto que o IP consegue entrar no citosol (Pec *et al.*, 2003). O uso de ambos corantes sob microscopia de fluorescência distingue as células vivas das apoptóticas e necróticas. Todavia, o ensaio de anexina V não é capaz de diferenciar células em apoptose tardia ou necrose, pois em ambos os casos as células apresentam as mesmas características, principalmente em relação a permeabilidade membranar. Nesse caso, para maior especificidade faz-se necessário uma complementação ao ensaio com um método que permita diferenciar com maior eficácia os estágios apoptóticos, como por exemplo, o método de Hoechst-Iodeto (Duarte, 2010).

A avaliação do ciclo celular por citometria de fluxo é uma técnica que permite identificar a distribuição das células em diferentes fases do ciclo. O ciclo da divisão celular é responsável por manter os números de células em um determinado organismo ou tecido. Esse ciclo é dividido em fases com funções e durações diferentes, são a: Fase M, período da mitose, onde tem-se a divisão nuclear e separação das células filhas; Interfase, período entre uma mitose e outra; Fase S, período de síntese, que há replicação do DNA nuclear; Fase G1, espaço de tempo entre o final da fase M e início da fase S; Fase G2, intervalo entre o término da fase S e começo da fase M. Entretanto, após a conclusão da mitose, as células recém formadas podem deixar o ciclo celular, convertendo-se em células com baixa atividade metabólica em estado de repouso – Fase G0 (Nakajima, 2010).

Para a avaliação da apoptose pelo ciclo celular, sugere-se a combinação de ensaios que analisem as características morfológicas, bioquímicas e o conteúdo de DNA das células, como é o caso da estimativa do conteúdo fracionário de DNA (Sub-G1), que é comumente utilizado em pesquisas (Almeida, 2015).

O Sub-G1 compreende células que apresentam uma quantidade de DNA, devido à fragmentação do mesmo, menor que o estado G1, sendo consideradas apoptóticas ou necróticas (Almeida, 2015). Desse modo, ao utilizar essa técnica para identificação de apoptose é importante ter cautela na interpretação dos resultados e considerar a possível influência de outras formas de morte celular.

O ensaio JC-1 consiste num método citofluorimétrico qualitativo e quantitativo que é validado pela análise do potencial de membrana mitocondrial (PMM) (Chen *et al.*, 2018), tendo em vista que a depleção do PMM é considerada a etapa preliminar da apoptose, antecedendo até mesmo a condensação da cromatina e quebra do DNA. Desse modo, corantes lipofílicos atravessam a membrana celular e agregam-se a mitocôndria atuando como marcador de fluorescência, como é o caso do corante JC-1 (Lu *et al.*, 2018).

Nesse sentido, mitocôndrias com baixo potencial da membrana mitocondrial emitem fluorescência verde devido à formação de monômeros de carbocianinas (indicativo de células em apoptose). Por outro lado, nas mitocôndrias com alto potencial, esses monômeros se agregam (J-agregados) e emitem fluorescência vermelha (indicativo de células “normais”) (Angrimani *et al.*, 2015, p. 279).

Em suma, compreende-se que o ensaio Anexina V-FITC/IP detecta o início da apoptose a partir da externalização da fosfatidilserina e a análise do ciclo celular na região de sub-G1 detecta a fragmentação do DNA, ou seja, a fase tardia da apoptose, enquanto o ensaio JC-1 avalia o potencial de membrana mitocondrial. É válido salientar que, a apoptose é complexa e

multifacetada, portanto, faz-se necessário a combinação de vários ensaios para obter-se uma avaliação abrangente e confiável desse processo.

Além dos ensaios para detecção de apoptose mencionados, outros também são importantes, como o ensaio de TUNEL, ensaio de Detecção de Fragmentação do DNA, Microscopia Eletrônica e Imunofluorescência para Marcadores Apoptóticos.

Sobre as células tumorais usadas nos ensaios de detecção de apoptose, 9 diferentes linhagens celulares humanas foram testadas, nos 22 estudos citados. As linhagens de linfoma histiocítico (U-937) e o hepatocarcinoma (HepG2) foram as mais estudadas, 8 e 7 vezes, respectivamente. As demais linhagens foram estudadas apenas 1 vez cada.

A linhagem U-937 deriva do linfoma histiocítico verdadeiro (LHV) e representa um dos cânceres mais raros e agressivos entre os linfomas Não-Hodgkin (Stimamiglio, 2004), e este, origina-se nas células do sistema linfático e se espalha desordenadamente (Instituto Nacional do Câncer, 2022d). Essa linhagem foi obtida por meio da efusão pleural de um paciente acometido por LHV (Sundstrom; Nilsson, 1976). O isolamento da U-937 mostrou utilidade frente a investigação dos efeitos de variados agentes sobre a evolução de células cancerígenas (Stimamiglio, 2004), assim como para o estudo de diferenciação de células hematopoiéticas (Minafra *et al.*, 2011).

A HepG2 é uma linhagem celular hepática popular, foi uma das primeiras a exibir as características dos hepatócitos. Essa linhagem se mostra útil para pesquisas que vão da oncogênese à citotoxicidade de substâncias no fígado. Seu isolamento derivou-se do tecido hepático de um rapaz com carcinoma hepatocelular diferenciado, e foi descrita como carcinoma hepatocelular (ou hepatoma, CHC) (Arzumanian; Kiseleva; Poverennaya, 2021). Todavia, a classificação foi incorreta, Lopez-Terrada *et al.* (2009) descobriram que essa linhagem se caracteriza como um hepatoblastoma (HB), um tumor maligno que surge no fígado de crianças, predominantemente abaixo dos três anos, mais comum no sexo masculino (Instituto Nacional do Câncer, 2022b).

Além de métodos comparativos, um fator importante que contribui para o entendimento das propriedades farmacológicas e biológicas das acetogeninas é a determinação do IC₅₀ (concentração inibitória média) (He *et al.*, 2016; Dosatti; Júdice, 2010). Nesse ínterim, de acordo com o National Cancer Institute (NCI), substâncias puras com o valor da IC₅₀ ≤ 4 µg/mL, são consideradas ativas (Suffness; Pezzuto, 1991). Diante disso, na Tabela 1, observa-se que cerca de 64% dos estudos que realizaram os ensaios de apoptose, também, avaliaram a

citotoxicidade, ou seja, obtiveram o valor de IC₅₀. Tais valores foram bastante variados de acordo com a linhagem celular e a acetogenina.

As acetogeninas, como supracitado, são subdivididas em seis grandes grupos. Os tipos de acetogeninas mais testadas foram as bis-THF adjacentes, seguidas pelas mono-THF e bis-THF não adjacentes. Enquanto nenhuma ACG linear, não THF e/ou THP e não clássicas foram investigadas. Dados mostraram que as acetogeninas com o sistema bis-THF adjacentes são biologicamente mais ativas (He *et al.* 1997), principalmente quando apresentam 35 átomos ao invés de 37 (Lima *et al.*, 2012), seguidas em ordem decrescente pelas bis-THF não adjacentes, mono-THF, e as que não possuem anéis (Costa, 2016). Além disso, estruturalmente, a presença de “três grupos hidroxila, dois vizinhos aos anéis THF e outro em qualquer posição ao longo da cadeia hidrocarbônica, favorecem a polaridade necessária para potencializar a atividade das acetogeninas” (Costa, 2016).

Na Tabela 1, também é possível observar as partes da planta nas quais as acetogeninas estudadas foram isoladas. Nos estudos averiguados, a parte da planta mais utilizada foi a raiz.

Em princípio, os resultados de citotoxicidade das acetogeninas apresentadas na Tabela 1 foram bastante satisfatórios, o que certamente levou a condução do estudo para os ensaios mais aprimorados de investigação de morte celular. Ressalta-se alguns estudos que serão descritos a seguir.

Moghadamtousi *et al.* (2015a), isolaram a acetogenina annomuricina E, a partir das folhas da *Annona muricata*. Os resultados obtidos indicam que a annomuricina E foi capaz de parar o ciclo celular das células cancerígenas HT-29 na fase G1, pois após 48h, cerca de 94,60% das células estavam acumuladas nesta fase. Além disso, no ensaio com dupla marcação de Anexina V com iodeto de propídeo, nota-se que a annomuricina E demonstra seus efeitos citotóxicos através da indução da apoptose, uma vez que após 12 horas de tratamento a população de células em apoptose precoce e tardia representavam 13.9% e 6.9%, respectivamente. Após 24 horas, a população de células em apoptose precoce e tardia aumentou para 27.3% e 13.6%, respectivamente.

Ainda neste estudo, os autores confirmaram que a apoptose foi mediada através da atividade das caspases 3/7 e 9, pois a annomuricina E provocou dissipação do potencial de membrana mitocondrial e a liberação de citocromo C, que consequentemente resultou na ativação da caspase 9. Devido a sua capacidade de interferir com a PMM das células HT-29, notou-se que Bax (expressa positivamente) e Bcl-2 (expressa negativamente) também estavam envolvidas no processo apoptótico, sendo assim, fundamenta-se que a apoptose ocorreu pela via mitocondrial. Todos os ensaios que foram realizados neste estudo apresentaram bons

resultados e indicaram que a atividade da annomuricina E é eficiente contra células tumorais da linhagem HT-29. Todavia, outros testes fazem-se necessários, principalmente em relação a outras linhagens cancerígenas.

Yuan e outros autores (2003) realizaram um dos primeiros estudos que descrevia detalhadamente os efeitos biológicos da annonacina em células neoplásicas, no que diz respeito à morte celular por apoptose e sua atividade no ciclo celular. Eles isolaram a annonacina a partir das sementes de *Annona reticulata*, e analisaram sua citotoxicidade e capacidade de indução da apoptose em células tumorais T24.

Neste estudo em questão, a annonacina induziu a parada do ciclo celular das células T24 na fase G1 através da ativação de p21 e causou apoptose em uma via relacionada a Bax e ativação de caspase 3. Isso indica que a annonacina é uma substância anticancerígena promissora, e que deve continuar sendo estudada.

Já no estudo realizado por Ko e colaboradores (2011) averiguou-se a capacidade da annonacina de induzir a parada do crescimento e a apoptose em células da linhagem MCF-7 através de vias relacionadas ao receptor de estrogênio α (RE α). A annonacina aumentou a morte celular em 48h, induziu a parada do ciclo celular na fase G0/G1. Junto a isto, a expressão da proteína Bcl-2 foi diminuída por essa acetogenina.

Paes (2016) em uma das etapas do seu estudo buscou confirmar a atividade de diversas acetogeninas (annonacina, cherimolina-1, esquamocina, isoannonacina, isocherimolina-1, motrilina, paraguaína e paraguaína acetilada) na linhagem celular U-937.

No que diz respeito a annonacina, esta ACG foi isolada a partir das raízes da *Annona dioica*. Os resultados obtidos mostraram que essa mono-THF pôde exercer atividade citotóxica na linhagem U-937 tão bem quanto às outras acetogeninas bis-THF adjacentes e não adjacentes. Quanto à indução da morte celular por apoptose, constatou-se que annonacina é eficiente, porém não tanto quanto algumas das outras acetogeninas testadas, a exemplo, a paraguaína.

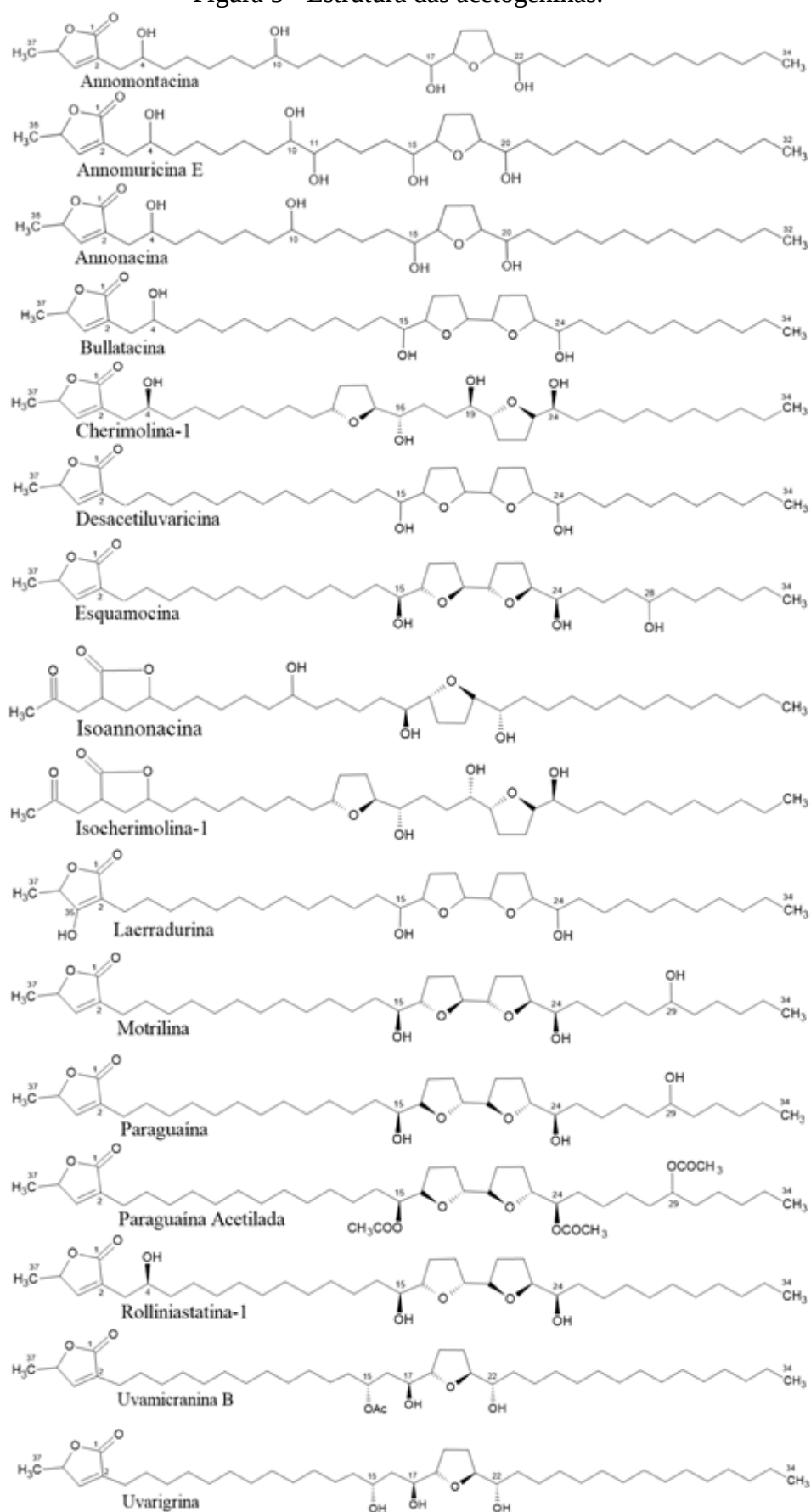
No estudo de Paes (2016), na análise do ciclo celular, na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$ a annonacina foi capaz de promover um deslocamento de 20,70% da população de células neoplásicas para sub-G1, indicativo de apoptose. Na avaliação da morte celular, através da marcação com Anexina V FITC e Iodeto de Propídeo (IP), após 12 horas, foi possível observar 23% das células em apoptose. No ensaio de avaliação do potencial de membrana mitocondrial, a annonacina foi capaz de acarretar o colapso do PMM de modo considerável apenas na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$, causando esse efeito na faixa de 30% das células.

Com base nos resultados obtidos acerca da annonacina nesses três estudos supramencionados, compreende-se que ela é uma acetogenina com grande potencial citotóxico,

mesmo sendo uma mono-THF, que normalmente é considerada menos potente. Além disso, observa-se que sua eficiência, como esperado, varia de acordo com a linhagem que ela é testada e quando se compara com outras acetogeninas naturalmente mais potentes.

De forma geral, os artigos mostram resultados bastante promissores sobre o potencial citotóxico e sobretudo sobre a indução de morte celular por apoptose das acetogeninas, podendo guiar futuros estudos e dando fundamentos para testagem *in vivo*.

Figura 5 - Estrutura das acetogeninas.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

5.2 ESTUDOS DOS EXTRATOS ISOLADOS DA FAMÍLIA ANNONACEAE COM POTENCIAL APOPTÓTICO

De modo semelhante ao levantamento bibliográfico realizado com as acetogeninas isoladas e exploradas com o potencial apoptótico (Tabela 1), também foram compilados dados sobre 34 diferentes estudos de extratos e frações derivados de espécies da família Annonaceae (Tabela 3). Algumas pesquisas da mesma espécie variam entre si pelo extrato utilizado, pela linhagem de câncer, ensaios, citotoxicidade e parte da planta. As pesquisas encontradas abordam, predominantemente, espécies do gênero *Annona* (32 estudos).

Tabela 3 – Espécies da família Annonaceae testadas quanto ao seu efeito na indução de morte celular.

Nome da espécie	Parte da planta	Extrato/Fração	Linhagem celular	Tipo de câncer	Citotoxicidade	Ensaio/alvos	Referências bibliográficas
Gênero <i>Annona</i>							
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Hexano	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 6,07 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Hexano	THP-1	Leucemia monocítica aguda	IC ₅₀ 28,57 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Clorofórmio	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 6,99 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Clorofórmio	THP-1	Leucemia monocítica aguda	IC ₅₀ 24,70 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Metanol	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 6,07 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona acutiflora</i>	Folhas	Metanol	THP-1	Leucemia monocítica aguda	IC ₅₀ 12,07 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona cherimola</i>	Sementes	Etanol	KG-1	Leucemia mieloide aguda	IC ₅₀ 57 µg/mL	Ciclo celular; Anexina V/IP; Citocromo C; Caspase 8 e 9; Bcl-2	Haykal <i>et al.</i> , 2019
<i>Annona cherimola</i>	Folhas	Etanol	MDA-MB-231	Câncer de mama	IC ₅₀ 390,2 µg/mL	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP; Citocromo C; Bcl-2	Younes <i>et al.</i> , 2020
<i>Annona cherimola</i>	Folhas	Etanol	MCF-7	Câncer de mama	N.I.	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP; Citocromo C; Bcl-2	Younes <i>et al.</i> , 2020
<i>Annona cherimola</i>	Folhas	Etanol	KG-1	Leucemia mieloide	N.I.	Anexina V/PI; Bcl-2	Ammoury <i>et</i>

Nome da espécie	Parte da planta	Extrato/Fração	Linhagem celular	Tipo de câncer	Citotoxicidade	Ensaio/alvos	Referências bibliográficas
				aguda			<i>al.</i> , 2019
<i>Annona cherimola</i>	Folhas	Etanol	MonoMac-1	Leucemia mieloide aguda	N.I.	Anexina V/PI; Bcl-2	Ammoury <i>et al.</i> , 2019
<i>Annona cherimola</i>	Folhas	Aquoso	KG-1	Leucemia mieloide aguda	N.I.	Ciclo celular; Anexina V/PI; Bcl-2; Caspase 8 e 9	Haykal <i>et al.</i> , 2021
<i>Annona crassiflora</i>	Folhas	Hexano	SiHa	Câncer cervical	IC ₅₀ 5,53 µg/mL	Caspase 3 e 9	Silva <i>et al.</i> , 2019
<i>Annona dioica</i>	Raízes	Clorofórmio	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 6,83 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona dioica</i>	Raízes	Clorofórmio	THP-1	Leucemia monocítica aguda	IC ₅₀ 10,01 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona dioica</i>	Raízes	Acetato de etila	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 10,97 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona dioica</i>	Raízes	Acetato de etila	THP-1	Leucemia monocítica aguda	IC ₅₀ 26,66 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona dioica</i>	Raízes	Acetato de etila	U-937	Linfoma histiocítico	IC ₅₀ 34,24 µg/mL	Eletroforese em gel de agarose	Paes, 2016
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Etanol	HepG2	Hepatocarcinoma	IC ₅₀ 150 µg/mL	Ciclo celular; TUNEL;	Liu <i>et al.</i> , 2016
<i>Annona muricata</i>	Frutos	Extração aquosa de acetona 50%	MDA-MB-468	Câncer de mama	IC ₅₀ 4,8 µg/mL	Ciclo celular; Caspase-3	Dai <i>et al.</i> , 2011
<i>Annona muricata</i>	Folhas, galhos e raízes	Etanol	HL-60	Leucemia promielocítica	IC ₅₀ 6-12 µg/mL	PMM; Ciclo celular	Pieme <i>et al.</i> , 2014

Nome da espécie	Parte da planta	Extrato/Fração	Linhagem celular	Tipo de câncer	Citotoxicidade	Ensaio/alvos	Referências bibliográficas
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Acetato de etila	A549	Câncer de pulmão	IC ₅₀ 5,09 µg/mL	Anexina V-FITC/IP; Ciclo celular; Caspase -3/-7 -8 e -9; Bax; Bcl-2	Moghadamtousi <i>et al.</i> , 2014a
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Etanol	K562	Leucemia mieloide crônica	IC ₅₀ 2,5 mg/mL	Caspase-3; TUNEL	Ezirim <i>et al.</i> , 2013
<i>Annona muricata</i>	Sementes	Acetato de etila	HCT-116	Câncer colorretal	IC ₅₀ 1,91 µg/mL	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP	Silva, 2019
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Aquoso	MDA-MB-231	Câncer de mama	N.I.	Ciclo celular	Kim <i>et al.</i> , 2018
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Etanol	T-47D	Câncer de mama	IC ₅₀ 17,149 µg/mL	Ensaio de dupla marcação (brometo de etídio-laranja acridina)	Rachmani <i>et al.</i> , 2012
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Acetato de etila	HCT-116	Câncer colorretal	IC ₅₀ 8,98 µg/ml	Ciclo celular; Bax e Bcl-2	Moghadamtousi <i>et al.</i> , 2014b
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Acetato de etila	HT-29	Câncer de cólon	IC ₅₀ 11,43 µg/ml	Ciclo celular; Bax e Bcl-2; caspase 3,7 e 9, citocromo C; Anexina V-FITC/IP	Moghadamtousi <i>et al.</i> , 2014b
<i>Annona muricata</i>	Frutos	Líquido iônico	MCF-7	Câncer de mama	IC ₅₀ 4,75 µg/mL	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP	Daddiouaissa <i>et al.</i> , 2019
<i>Annona muricata</i>	Folhas	Aquoso	4T1	Câncer de mama	IC ₅₀ 251,67 µg/mL	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP	Najmuddin <i>et al.</i> , 2016
<i>Annona reticulata</i>	Folhas	Metanol	T-47D	Câncer de mama	IC ₅₀ 5,0 µg/mL	Anexina-V/PI; Bcl-2; Bak; Bax; Caspases 3,	Roham <i>et al.</i> , 2016

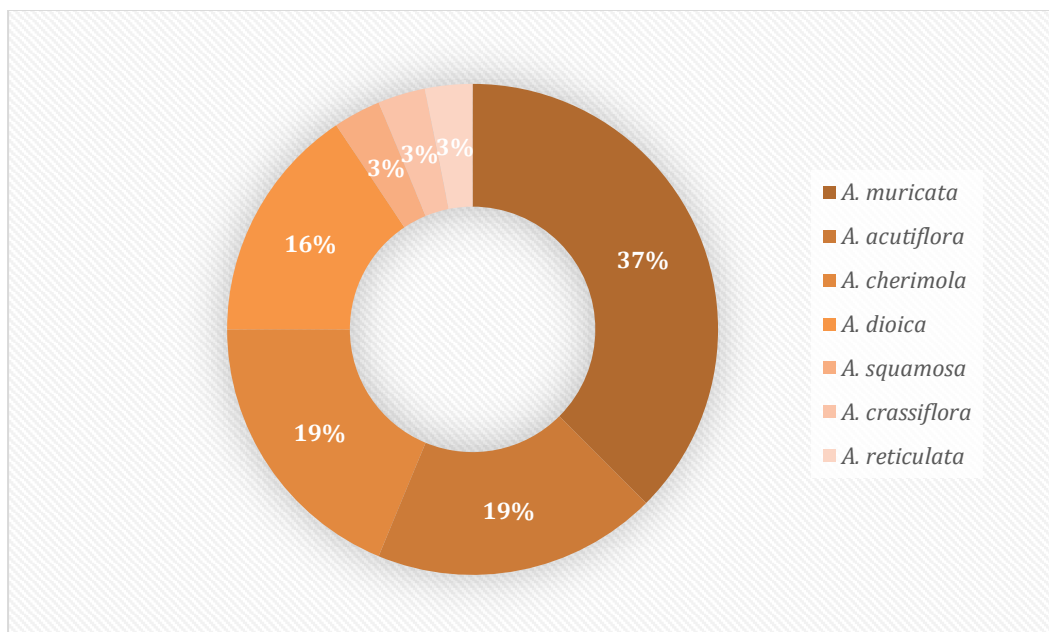
Nome da espécie	Parte da planta	Extrato/Fração	Linhagem celular	Tipo de câncer	Citotoxicidade	Ensaio/alvos	Referências bibliográficas
						8, 9; Ciclo celular	
<i>Annona squamosa</i>	Sementes	Etanol	T-47D	Câncer de mama	IC ₅₀ 8,72 µg/ml	Anexina V-FITC; Ciclo celular	Al-Seragy; Kharat; Dhabe, 2018
Gênero <i>Polyalthia</i>							
<i>Polyalthia longifolia</i>	Folhas	Metanol	HeLa	Carcinoma cervical humano	N.I.	Ciclo celular; Anexina V-FITC/IP; JC-1.	Vijayarathna <i>et al.</i> , 2017
<i>Polyalthia longifolia</i>	Folhas	Metanol	PC3	Câncer de próstata	N.I.	Ciclo celular	Afolabi <i>et al.</i> , 2019

Bax = proteína pró-apoptótica; Bcl-2 = proteína anti-apoptótica; FITC: Fluoresceína; IC₅₀ = Concentração Inibitória Média; IP = Iodeto de Propídio; JC-1 = Iodeto de 5,5', 6,6' tetracloro 1,1,3,3' tetraetilbenzimidazolilcarbocianina; N.I. = Não Informado.

Fonte: elaborado pela autora (2023).

Os 32 estudos envolvendo o gênero *Annona* abrangeram apenas 7 espécies, dando destaque à espécie *Annona muricata*, como mostrado no Gráfico 2. Enquanto o gênero *Polyalthia* teve apenas 2 estudos, sendo ambos com a espécie *Polyalthia longifolia*.

Gráfico 2 - Espécies investigadas do gênero *Annona*.



Fonte: elaborado pela autora (2023).

Evidências etnobotânicas sugerem que os extratos obtidos das diferentes espécies de *Annona* e variadas partes da planta são comumente utilizados para o tratamento de diversas patologias na medicina tradicional, que se dá por conta da presença de compostos bioativos nas plantas e derivados (Anaya-Esparza *et al.*, 2020). Constatou-se que as folhas foram mais utilizadas que as outras partes da planta, como raízes, sementes e frutos.

No que tange os extratos utilizados, o etanol ganhou destaque, seguido pelo acetato de etila, metanol, clorofórmio, água, hexano, extração aquosa de acetona 50% e líquido iônico.

Em relação às linhagens celulares investigadas, a U-937, assim como aconteceu com as acetogeninas, foi a mais testada, seguida pela THP-1, T-47D, KG-1, MDA-MB-231, HCT-116, MCF-7, e outras 12 linhagens.

A linhagem celular THP-1 foi estabelecida através do sangue periférico de uma criança portadora de leucemia monocítica aguda. Estudos têm sido realizados com essa linhagem visando o entendimento acerca das respostas imunológicas enquanto as células estão no estado de monócito e parecido com macrófagos (Chanput; Mes; Wichers, 2014).

Quanto aos tipos de câncer, a leucemia foi a mais pesquisada com abordagem em 6 linhagens diferentes, o mesmo aconteceu com o câncer de mama que teve 5 linhagens investigadas, o câncer de cólon/colorretal e o câncer cervical tiveram 2 linhagens estudadas cada, os demais cânceres tiveram apenas uma linhagem celular pesquisada.

O Instituto Nacional do Câncer (2022c) nomeia a leucemia como “os cânceres das células sanguíneas da medula óssea”. As leucemias são organizadas de acordo com o crescimento, onde o crescimento rápido caracteriza uma leucemia aguda e o crescimento lento uma leucemia crônica. Ainda, há a diferenciação com base nas células que são afetadas, se são mieloides ou linfoides. Os principais tipos de leucemia são: leucemia mieloide aguda; leucemia mieloide crônica; leucemia linfóide aguda; leucemia linfóide crônica (Instituto Nacional do Câncer, 2022c).

A leucemia mieloide aguda (LMA) tem sua incidência aumentada com a idade, portanto é vista com mais frequência em adultos e raramente em crianças. Nesse tipo de câncer, a medula óssea produz células anormais que se espalham rapidamente para o sangue, gerando acúmulo no corpo (Haykal *et al.*, 2021). A leucemia mieloide crônica (LMC) tende a acometer idosos, evoluir lentamente e produzir excessivamente os glóbulos brancos. Já a leucemia linfóide aguda (LLA) é a que mais afeta crianças e também se desenvolve rapidamente. Enquanto a leucemia linfóide crônica (LLC) está mais presente entre adultos beirando a fase idosa e dificilmente acomete crianças (Instituto Nacional do Câncer, 2022c).

O câncer de mama tem como causa a multiplicação desordenada de células na mama, ocorre majoritariamente em mulheres, porém também pode acometer homens com baixíssima frequência. Os vários tipos de câncer mamário podem progredir rápida ou lentamente (Instituto Nacional do Câncer, 2022a). O desenvolvimento desta patologia tem grande influência dos fatores de riscos relacionados à vida reprodutiva da mulher, por exemplo, menarca precoce, primeira gestação com mais de 30 anos, uso de anticoncepcionais orais, menopausa tardia, e a própria idade em si (Sartori; Basso, 2019).

Assim como para as acetogeninas, os extratos e frações também tiveram sua citotoxicidade investigada, apenas 7 dos 34 estudos não apresentaram seus valores de IC₅₀. As informações da Tabela 3 mostram que os estudos realizaram a avaliação do ciclo celular, ensaio de Anexina-V/IP, eletroforese em gel agarose, identificação da atividade das caspases, presença de Bax, Bcl-2 e Bak, TUNEL, imunofluorescência, dupla marcação com brometo de etídeo e laranja de acridina e JC-1.

A aplicabilidade dos ensaios de ciclo celular e Anexina-V foram descritas anteriormente, visto que, como observado na Tabela 3 estes também foram os ensaios realizados com maior frequência pelos pesquisadores.

A atividade/presença das caspases e das proteínas Bax, Bak e Bcl-2, podem ser identificadas, por exemplo, por Western Blotting que consiste numa técnica utilizada para analisar proteínas e modificações pós-traducionais em proteínas, como as proteínas pro-apoptóticas. É um procedimento que conta com várias fases, onde qualquer alteração em uma destas pode influenciar o resultado. Por isso, também é um método passível de erro (Mishra; Tiwari; Gomes, 2017).

A técnica da Eletroforese em Gel de Agarose é capaz de separar fragmentos de DNA ou outras macromoléculas baseando-se em seu tamanho e carga (Lee *et al.*, 2012), pois é em função disto que as moléculas se movem no gel em diversas velocidades, permitindo então a separação. O ensaio de ELISA de morte celular consegue quantificar os níveis de fragmentação ocorrido no DNA (Haykal *et al.*, 2019). Enquanto, o ensaio de TUNEL detecta a fragmentação do DNA típica da apoptose. Nessa técnica, a enzima TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase) adiciona marcadores fluorescentes ou enzimas ligadas a biotina nas extremidades 3'OH de DNA de cadeia única, que são típicas da quebra do DNA apoptótico (Moore; Savenka; Basnakian, 2021).

Alguns estudos foram selecionados para serem brevemente apresentados, cada um abordando uma espécie diferente de *Annona*, com o intuito de mostrar a diversidade e potencial dos extratos obtidos através de partes dessas plantas.

Haykal e colaboradores (2019) realizaram um estudo cujo objetivo foi investigar as propriedades antineoplásicas do extrato etanólico de sementes de *Annona cherimola* na linhagem KG-1. Esse extrato foi capaz de induzir efeitos apoptóticos sendo demonstrados pelo aumento da população celular na fase sub-G1 do ciclo celular, que significa células com DNA fragmentado (indicativo de apoptose), externalização da fosfatidilserina, expressão da proteína pró-apoptótica Bax e ativação das caspase 8 e 9.

Moghadamtousi *et al.* (2014b) desenvolveram um estudo com o intuito de investigar propriedades anticancerígenas do extrato de acetato de etila das folhas de *Annona muricata* na linhagem HT-29 do câncer de cólon. Por meio de alguns ensaios, confirmou-se que o extrato exerceu efeitos citotóxicos significativos nesta linhagem. Já a indução da apoptose foi confirmada pela parada do ciclo celular na fase G1 e externalização da fosfatidilserina. Além disso, houve perda do potencial de membrana mitocondrial (PMM), liberação de citocromo C, ativação de caspases 3, 7 e 9, regulação positiva de Bax e negativa de Bcl-2.

Roham e outros autores (2016) avaliaram os efeitos citotóxicos e antiproliferativos do extrato metanólico das folhas de *Annona reticulata* contra a linhagem T-47D do câncer de mama. Foi confirmada a ativação da apoptose pela via mitocondrial, uma vez que houve regulação positiva de Bax e Bak e negativa de Bcl-2, concomitante com a ativação de caspases 3 e 9. Ademais, confirmando ainda mais sua eficiência, mostrou-se que esse extrato foi capaz de interromper o ciclo celular na fase G2/M.

Por fim, Silva e colaboradores (2019) avaliaram a capacidade de promover morte celular por apoptose e a citotoxicidade da fração hexânica das folhas de *Annona crassiflora* frente à linhagem SiHa do câncer cervical. Os resultados revelaram que a fração hexânica induz apoptose pela via intrínseca, devido à ativação das caspase 3 e 9. Junto a isso, a fração ainda conseguiu apresentar efeitos antitumorais *in vivo* nessas células.

Analisando os resultados dos artigos apresentados na Tabela 3, os estudos mostram dados favoráveis sobre o potencial citotóxico e sobre a indução de morte celular por apoptose dos extratos e frações da família Annonaceae e especificamente espécies do gênero *Annona*. Estas análises preliminares são importantes para estimular a realização de estudos fitoquímicos destes extratos/frações para que possam ser identificadas as substâncias responsáveis por tais efeitos, principalmente, devido ao histórico de que estas espécies produzem biossinteticamente as acetogeninas. Os resultados obtidos servirão como base científica para a realização de mais estudos *in vitro* e, conseqüentemente, *in vivo* sobre a eficácia dessas plantas para o tratamento de cânceres.

6 CONCLUSÃO

Apesar dos avanços farmacoterapêuticos, o câncer continua a ser uma das principais causas de morte em todo o mundo. Tomando como princípio que a natureza já se mostrou como uma grande fonte para a descoberta de medicamentos anticâncer, esta revisão procurou demonstrar o potencial das espécies da família Annonaceae, bem como das acetogeninas, no contexto da atividade antitumoral.

Dessa forma, os achados deste estudo apresentam resultados satisfatórios quanto à citotoxicidade das acetogeninas e dos extratos e/ou frações advindos das espécies da família Annonaceae. Atrelado a isso, confirmou-se também sua eficiência no que diz respeito à indução da apoptose em células tumorais.

Concomitantemente, os dados obtidos permitiram inferir uma linha racional do mecanismo de ação empregado tanto pelas acetogeninas, como pelos extratos/frações. Sugere-se que este é baseado na ativação da apoptose pela via intrínseca em vários tipos de linhagens de células tumorais. Isso porque os dados expostos estão ligados à uma regulação positiva das proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak, bem como à regulação negativa da proteína anti-apoptótica Bcl-2, que resulta na perda do potencial de membrana mitocondrial e, consequentemente, liberação de citocromo C para ativação de caspases iniciadoras e efetoras do processo apoptótico.

Sendo assim, o compilado destas investigações mostra que estes resultados *in vitro* são cruciais para estimular a realização de novos estudos dessas substâncias frente a outras linhagens cancerígenas. Ademais, esses dados também instigam a progressão para estudos *in vivo* em modelos de roedores e, finalmente, para ensaios clínicos, visando avaliar a segurança e eficácia terapêutica das acetogeninas e extratos/frações mais promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Wellington Silva. **Estudo químico-biológico das espécies *Coutarea hexandra* (Rubiaceae) e *Annona rugulosa* (Annonaceae)**. 2022. Monografia (Licenciatura em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba, 2022.

AFOLABI, S. O. *et al.* Polyalthia longifolia Extract Triggers ER Stress in Prostate Cancer Cells Concomitant with Induction of Apoptosis: Insights from In Vitro and In Vivo Studies. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2019, p. 1–14, 13 nov. 2019.

AL KAZMAN, B. S. M.; HARNETT, J. E.; HANRAHAN, J. R. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of Annonaceae. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3462, 27 maio 2022.

ALCÂNTARA, Joelma Moreira. **Composição química e potencial biológico dos óleos essenciais de annonaceae dos campi INPA e UFAM**. Tese (Pós-graduação em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

ALMEIDA, Igor Vivian de. **Citotoxicidade, genotoxicidade e monitoramento do ciclo celular e da indução de apoptose, dos alcaloides sanguinarina e cheleritrina, em linhagens celulares tumoral (HepG2/C3A E MCF-7) e não tumoral (MRC-5) humanas**. 2015. Tese (Doutorado em Biologia das Interações Orgânicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

AL-SERAGY, I. M. H.; KHARAT, K. R.; DHABE, A. S. Cell Cycle Arrest and Induction of Apoptosis in Human Breast Cancer Cells (T-47D) by *Annona squamosa* L. and *Thymus vulgaris* L. Ethanolic Extract. **Journal of Biologically Active Products from Nature**. v. 9, n. 1, 23 nov. 2018.

AMMOURY, C. *et al.* The pro-apoptotic effect of a Terpene-rich *Annona cherimola* leaf extract on leukemic cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, 12 dez. 2019.

ANAYA-ESPARZA, L. M. *et al.* Annonas: Underutilized species as a potential source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 138, p. 109775–109775, 1 dez. 2020.

ANGRIMANI, *et al.* Ferramentas para a avaliação da funcionalidade da mitocôndria espermática. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.39, n.2, p.277-283, abr./jun. 2015.

ARAÚJO, Morgana de Souza. **Constituintes químicos e investigação do potencial citotóxico das cascas e folhas de *Guatteria olivacea* (Annonaceae)**. 2019. Dissertação (Pós-graduação em Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

ARBOS, K. A.; STEVANI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Revista Ceres**, v. 60, n. 2, p. 161-165, 2013.

ARZUMANIAN, V. A.; KISELEVA, O. I.; POVERENNAYA, E. V. The Curious Case of the HepG2 Cell Line: 40 Years of Expertise. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 13135–13135, 4 dez. 2021.

ATTIQ, A.; JALIL, J.; HUSAIN, K. Annonaceae: Breaking the Wall of Inflammation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 20 out. 2017.

CASCAES, M. M. *et al.* Essential Oils from Annonaceae Species from Brazil: A Systematic Review of Their Phytochemistry, and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12140, 9 nov. 2021.

CAVÉ, A. *et al.* Acetogenins from Annonaceae. **Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, p. 81–288, 1997.

CHANG, F. R. *et al.* Bioactive acetogenins from the seeds of *Annona atemoya*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 7, p. 883–889, 1999.

CHANPUT, W.; MES, J. J.; WICHES, H. J. THP-1 cell line: An in vitro cell model for immune modulation approach. **International Immunopharmacology**, v. 23, n. 1, p. 37–45, 1 nov. 2014.

CHATROU, L. W. *et al.* A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5–40, 18 abr. 2012.

CHEN, C.-H. *et al.* Annoglabayin, a Novel Dimeric Kaurane Diterpenoid, and Apoptosis in Hep G2 Cells of Annomontacin from the Fruits of *Annona glabra*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 11, p. 1942–1946, 1 nov. 2004.

CHEN, G. *et al.* A Flow Cytometry-based Assay for Measuring Mitochondrial Membrane Potential in Cardiac Myocytes After Hypoxia/Reoxygenation. **Journal of Visualized Experiments**, n. 137, 13 jul. 2018.

CHIU, H.-F. *et al.* Bullatacin, a potent antitumor Annonaceous acetogenin, induces apoptosis through a reduction of intracellular cAMP and cGMP levels in human hepatoma 2.2.15 cells. v. 65, n. 3, p. 319–327, 1 fev. 2003.

CORTES, D. *et al.* A new type of cytotoxic acetogenins: the tetrahydrofuranic β -hydroxy methyl γ -lactones. **Tetrahedron Letters**, v. 32, n. 43, p. 6133–6134, 1991.

COSTA, Marilza da Silva. **Acetogenin a tool to control *Aedes aegypti*: a perspective of toxicity and gene regulation**. 2016. Tese (Pós-Graduação em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

DADDIOUAISSA *et al.* Antiproliferative activity of ionic liquid-graviola fruit extract against human breast cancer (MCF-7) cell lines using flow cytometry techniques. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 236, p. 466–473, 1 maio 2019.

DAI, Y. *et al.* Selective Growth Inhibition of Human Breast Cancer Cells by Graviola Fruit Extract In Vitro and In Vivo Involving Downregulation of EGFR Expression. **Nutrition and Cancer**, v. 63, n. 5, p. 795–801, jul. 2011.

DE PEDRO *et al.* Mitochondrial complex I inhibitors, acetogenins, induce HepG2 cell death through the induction of the complete apoptotic mitochondrial pathway. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 45, n. 1-2, p. 153–164, 1 fev. 2013.

DEV, A.; JOSEPH, S. M. Anticancer potential of Annona genus: A detailed review. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 98, n. 12, p. 100231–100231, 1 dez. 2021.

DOSATTI, A. C.; JÚDICE, W. A. S. **Estudo de biflavonóides como inibidores de proteases de tripanossomatídeos**. 2010. Iniciação Científica (Graduação em Medicina) – Universidade de Mogi das Cruzes, Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa, Mogi das Cruzes, 2010.

DUARTE, Roberta Aparecida. **Sinalização celular para apoptose em linhagem celular de adenocarcinoma (MCF-7) e carcinoma ductal invasivo de mama (ZR 7531) tratadas com alcaloides isolados de *Pterogyne nitens***. 2010. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2010.

DURET, P. *et al.* Isoacetogenins, artifacts issued from translactonization from Annonaceous acetogenins. **Heterocycles**, v. 39, n. 2, p. 741–749, 1994.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007.

EZIRIM, A. U. *et al.* Induction of Apoptosis in Myelogenous Leukemic K562 Cells by Ethanolic Leaf Extract of *Annona muricata*. **Indian Journal of Drugs and Diseases**, v. 2, n. 2, p. 241–247, 2013.

FERRER, C. C.; BERTHENET, K.; ICHIM, G. Apoptosis – Fueling the oncogenic fire. **The FEBS Journal**, v. 288, n. 15, p. 4445–4463, 25 nov. 2020.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. DA. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335–343, 28 set. 2007.

HAYKAL, T. *et al.* *Annona cherimola* Seed Extract Activates Extrinsic and Intrinsic Apoptotic Pathways in Leukemic Cells. **Toxins**, v. 11, n. 9, p. 506–506, 30 ago. 2019.

HAYKAL, T. *et al.* The pro-apoptotic properties of a phytonutrient rich infusion of *A. cherimola* leaf extract on AML cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, p. 111592–111592, 1 ago. 2021.

HE, K. *et al.* Comparative SAR Evaluations of Annonaceous Acetogenins for Pesticidal Activity. **Pesticide Science**, v. 49, n. 4, p. 372–378, 1 abr. 1997.

HE, M.; XIA, L.; LI, J. Potential Mechanisms of Plant-Derived Natural Products in the Treatment of Cervical Cancer. **Biomolecules**, v. 11, n. 10, p. 1539, 18 out. 2021.

HE, Y. *et al.* The changing 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of cisplatin: a pilot study on the artifacts of the MTT assay and the precise measurement of density-dependent chemoresistance in ovarian cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 43, p. 70803–70821, 23 set. 2016.

ILANGO *et al.* A Review on *Annona muricata* and Its Anticancer Activity. **Cancers**, v. 14, n. 18, p. 4539–4539, 19 set. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER: **Câncer de mama**. Ministério da Saúde: INCA, 2022a. Acesso em: 05 set. 2023; Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER: **Hepatoblastoma**. Ministério da Saúde: INCA, 2022b. Acesso em: 05 set. 2023; Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER: **Leucemia**. Ministério da Saúde: INCA, 2022c. Acesso em: 05 set. 2023; Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER: **Linfoma não Hodgkin**. Ministério da Saúde: INCA, 2022d. Acesso em: 05 set. 2023; Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.

JOSSANG, A. *et al.* Annonomontacine: une nouvelle acétogénine γ -lactone monotetrahydrofurannique cytotoxique de l' *Annona montana*. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 4, p. 967-971, 1991.

JUDD, W. S. *et al.* **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

KATZ, L. *et al.* Descoberta de produtos naturais: passado, presente e futuro. **Jornal de Microbiologia Industrial e Biotecnologia**, 43(2-3), 155–176, 2016.

KIM, G. S. *et al.* Two new mono-tetrahydrofuran ring acetogenins, annomuricin E and muricapentocin, from the leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 4, p. 432-436, 1998.

KIM, J. Y. *et al.* *Annona muricata* Leaf Extract Triggered Intrinsic Apoptotic Pathway to Attenuate Cancerous Features of Triple Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cells. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, p. 1–10, 17 jul. 2018.

KO, Y. M. *et al.* Annonacin induces cell cycle-dependent growth arrest and apoptosis in estrogen receptor- α -related pathways in MCF-7 cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 3, p. 1283–1290, 11 out. 2011.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, p. 225–242, 2014.

LEE, P. Y. *et al.* Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. **Journal of Visualized Experiments**, n. 62, 20 abr. 2012.

LIAW, C.-C. *et al.* Acetogenins from Annonaceae. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products** **101**, p. 113–230, 2016.

LIMA, L. A. R. S, *et al.* Avaliação da atividade citotóxica das sementes de *Annona cornifolia* A. St.-Hil. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.4, p.629-634, 2012

LIMA, M. A.; OLIVEIRA, G. A. L. Produtos naturais aplicados ao tratamento de Lúpus: prospecção científica e tecnológica. **Revista Ciência & Saberes-UniFacema**, v. 4, n. 1, p. 854-860, 2018.

LISSAMBOU, B.-J. *et al.* Taxonomic revision of the African genus *Greenwayodendron* (Annonaceae). **PhytoKeys**, v. 114, p. 55–93, 31 dez. 2018.

LIU, N. *et al.* Functional proteomic analysis reveals that the ethanol extract of *Annona muricata* L. induces liver cancer cell apoptosis through endoplasmic reticulum stress pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 189, p. 210–217, ago. 2016.

LODISH, H. *et al.* **Biologia celular e molecular**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

LOEFFLER, M.; KREMER, G. The mitochondrion in cell death control: certainties and incognita. **Experimental Cellular Research**, v. 256, n. 1, p. 19-26, 2000.

LOPEZ-TERRADA, D. *et al.* Hep G2 is a hepatoblastoma-derived cell line. **Human Pathology**, v. 40, n. 10, p. 1512–1515, 1 out. 2009.

LU, J. *et al.* Detection of Mitochondria Membrane Potential to Study CLIC4 Knockdown-induced HN4 Cell Apoptosis In Vitro. **Journal of Visualized Experiments**, n. 137, 17 jul. 2018.

LU, M.-C. *et al.* Induction of G2/M phase arrest by squamocin in chronic myeloid leukemia (K562) cells. **Life Sciences**, v. 78, n. 20, p. 2378–2383, 11 abr. 2006.

LUIZ, J. *et al.* **Características Botânicas das Principais Anonáceas e Aspectos Fisiológicos de Maturação**. 2006. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/178652/1/Dc-106.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2022.

MINAFRA, L. *et al.* Proteomic differentiation pattern in the U937 cell line. **Leukemia Research**, v. 35, n. 2, p. 226–236, 1 fev. 2011.

MISHRA, M.; TIWARI, S.; GOMES, A. V. Protein purification and analysis: next generation Western blotting techniques. **Expert Review of Proteomics**, v. 14, n. 11, p. 1037–1053, 13 out. 2017.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* *Annona muricata* leaves induced apoptosis in A549 cells through mitochondrial-mediated pathway and involvement of NF- κ B. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, 15 ago. 2014a.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* Annona muricata leaves induce G1 cell cycle arrest and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in human HCT-116 and HT-29 colon cancer cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 156, p. 277–289, 1 out. 2014b.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* The Chemopotential Effect of Annona muricata Leaves against Azoxymethane-Induced Colonic Aberrant Crypt Foci in Rats and the Apoptotic Effect of Acetogenin Annonamuricin E in HT-29 Cells: A Bioassay-Guided Approach. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0122288, 10 abr. 2015a.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* Annona muricata (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 15625–15658, 10 jul. 2015b.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

MOORE, C. L.; SAVENKA, A. V.; BASNAKIAN, A. G. TUNEL Assay: A Powerful Tool for Kidney Injury Evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 412–412, 2 jan. 2021.

NAKAJIMA, Karina. **Avaliação do ciclo celular de células tronco/progenitoras hemopoéticas da medula óssea de camundongos submetidos à desnutrição proteica**. 2010. Tese – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

NAJMUDDIN, S. U. F. S. *et al.* Anti-cancer effect of Annona Muricata Linn Leaves Crude Extract (AMCE) on breast cancer cell line. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. v. 16, n. 1, 24 ago. 2016.

NESKE, A. *et al.* Acetogenins from Annonaceae family. Their potential biological applications. **Phytochemistry**, v. 174, p. 112332, jun. 2020.

NGO, L. T.; OKOGUN, J. I.; FOLK, W. R. 21st Century natural product research and drug development and traditional medicines. **Natural Product Reports**, v. 30, n. 4, p. 584, 2013.

NOGUEIRA, L. J.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 227-240, 2009.

NUGRAHA, A. S. *et al.* Anti-Infective and Anti-Cancer Properties of the Annona Species: Their Ethnomedicinal Uses, Alkaloid Diversity, and Pharmacological Activities. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 4419–4419, 3 dez. 2019.

OLIVEIRA, Márcio Lucas Bazante de. **Annonaceae juss. no nordeste oriental do Brasil**. 2018. Dissertação (Pós-graduação em Biologia Vegetal) – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

OPPERMANN, C. P. **Entendendo o câncer**. Porto Alegre: Grupo A, 2014.

PACHECO, Laíssa Rodrigues Esposti. **Perfil químico e potencial de atividade biológica de cinco espécies da família annonaceae**. 2014. Monografia (Licenciatura em Química) – Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PAES, Marina Meirelles. **Potencial da bioatividade de espécies da família Annonaceae e investigação do efeito antineoplásico das acetogeninas isoladas de *Annona dioica***. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) – Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2016.

PEC, M. K. *et al.* Induction of apoptosis in estrogen dependent and independent breast cancer cells by the marine terpenoid dehydrothysiferol. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, n. 9, p. 1451–1461, 1 maio 2003.

PIEME, C. A. *et al.* Antiproliferative activity and induction of apoptosis by *Annona muricata* (Annonaceae) extract on human cancer cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, dez. 2014.

RACHMANI, E. P. N. *et al.* The breast of anticancer from leaf extract of *Annona muricata* against cell line in T47D. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 198–2003, 2012.

ROBERTIS, E. M. D.; HIB, J. **De Robertis Biologia Celular e Molecular**. 16. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

ROHAM, P. H. *et al.* Induction of Mitochondria Mediated Apoptosis in Human Breast Cancer Cells (T-47D) by *Annona reticulata* L. Leaves Methanolic Extracts. **Nutrition and Cancer**, v. 68, n. 2, p. 305–311, 17 fev. 2016.

ROY, P. S.; SAIKIA, B. J. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian journal of cancer**, v. 53, n. 3, 2016.

RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y. H.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: A review. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 2, p. 237–278, 1990.

SARTORI, A. C. N.; BASSO, C. S. Câncer de mama: uma breve revisão da literatura. **Perspectiva**, Erechim. v. 43, n.161, p. 07-13, março 2019.

SILVA, Antonio Adailson de Sousa. **Estudos toxicológicos e anticâncer de uma fração rica em acetogeninas das sementes de *Annona muricata* L.** 2019. Tese (Pós-graduação em Farmacologia) -- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SILVA *et al.* Hexane partition from *Annona crassiflora* Mart. promotes cytotoxicity and apoptosis in human cervical cancer cell lines. **Investigational New Drugs**, v. 37, n. 4, p. 602–615, 1 ago. 2019.

SILVA, Shirley Ribeiro da. **Fitocosméticos: produtos naturais na prevenção do envelhecimento cutâneo**. 2020. Monografia – Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

STIMAMIGLIO, Marco Augusto. **Organização da matriz extracelular nos linfonodos infiltrados pelo linfoma histiocítico verdadeiro. Importância da fibronectina como molécula central na progressão tumoral.** 2004. Dissertação (Mestrado em farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SUFFNESS, S. M.; PEZZUTO, J. M. **Assays for cytotoxicity and antitumor activity.** In: Hostettmann, K. (Ed.), *Methods of Plant Biochemistry*, v.9. Academic Press, London, 1991, 133p.

SUNDSTROM, C.; NILSSON, K. Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). **International Journal of Cancer**, v. 17, n. 5, p. 565–577, 15 maio 1976.

THOMAS, E. *et al.* Plant-Based Natural Products and Extracts: Potential Source to Develop New Antiviral Drug Candidates. **Molecules**, v. 26, n. 20, p. 6197, 14 out. 2021.

THOMFORD, N. *et al.* Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1578, 25 maio 2018.

THONGNEST *et al.* Acetogenins from the stems of *Uvaria micrantha* showing antiproliferative effects on HepG2 liver cancer cells. **Phytochemistry**. v. 204, p. 113450–113450, 1 dez. 2022.

TORMO, J. R. *et al.* In vitro antitumor structure-activity relationships of threo/trans/threo/trans/erythro bis-tetrahydrofuranic acetogenins: correlations with their inhibition of mitochondrial complex I. **Oncology Research**, v. 15, n. 3, p. 129-138, 2005.

VALENTE, Susana Catarina Monteiro. **Marcação da Anexina V para imagem funcional da apoptose celular.** 2011. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular e Biomedicina) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Faculdade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

VALLI, M.; BOLZANI, V. S. Natural Products: Perspectives and Challenges for use of Brazilian Plant Species in the Bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 91, suppl 3, p e20190208, 2019.

VIJAYARATHNA *et al.* *Polyalthia longifolia* Methanolic Leaf Extracts (PLME) induce apoptosis, cell cycle arrest and mitochondrial potential depolarization by possibly modulating the redox status in hela cells. **Biomedicine & pharmacotherapy**. v. 89, p. 499–514, 1 maio 2017.

WANKE, T. *et al.* C15 acetogenins from the *Laurencia* complex: 50 years of research – an overview. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 6, p. 569–587, nov. 2015.

XU, L. *et al.* Chemistry and selective cytotoxicity of annonacin-10-one, isoannonacin, and isoannonacin-10-one. Novel polyketides from *Annona densicoma* (Annonaceae). **Journal Organic Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 5418-5421, 1989.

XUE, J.-Y. *et al.* Desacetylavaricin Induces S Phase Arrest in SW480 Colorectal Cancer Cells Through Superoxide Overproduction. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 115, n. 3, p. 464–475, 1 mar. 2014.

YOUNES, M. *et al.* The selective anti-proliferative and pro-apoptotic effect of *A. cherimola* on MDA-MB-231 breast cancer cell line. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20, n. 1, 13 nov. 2020.

YUAN, S.-S. F. *et al.* Annonacin, a mono-tetrahydrofuran acetogenin, arrests cancer cells at the G1 phase and causes cytotoxicity in a Bax- and caspase-3-related pathway. **Life Sciences**, v. 72, n. 25, p. 2853–2861, 2003.

YUAN, H. *et al.* The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 559, 29 abr. 2016.

ZHANG, L. *et al.* The strategies and techniques of drug discovery from natural products. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 216, p. 107686, dez. 2020.

ZHU, X. F. *et al.* Involvement of caspase-3 activation in squamocin-induced apoptosis in leukemia cell line HL-60. **Life Sciences**, v. 70, n. 11, p. 1259–1269, 1 fev. 2002.