



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E
BIOTECNOLOGIA

MILENA FRANÇA LONGUE

POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE
***Campomanesia phaea* CONTRA O CÂNCER**
CERVICAL: ESTUDOS FITOQUÍMICOS *E IN VITRO*

Orientador(es): Profa Dra Andrea Regina de Souza Baptista
Profa Dra Aislan Cristina Rheder Fagundes Pascoal



Niterói
2026

MILENA FRANÇA LONGUE

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE
Campomanesia phaea CONTRA O CÂNCER
CERVICAL: ESTUDOS FITOQUÍMICOS *E IN VITRO***

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e Moléculas Bioativas do Instituto de Saúde de Nova Friburgo da Universidade Federal Fluminense. Apoio financeiro: CAPES.

Dissertação de mestrado
submetida à Universidade
Federal Fluminense como
requisito parcial visando à
obtenção do grau de
Mestre em Ciências.

Orientador(a): Andrea Regina de Souza Baptista

Co-orientador(a): Aislan Cristina Rheder Fagundes Pascoal

Ficha catalográfica

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

L858p Longue, Milena França
 POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE *Campomanesia phaea*
 CONTRA O CÂNCER CERVICAL: : ESTUDOS FITOQUÍMICOS E IN VITRO /
 Milena França Longue. - 2026.
 61 f.: il.

 Orientador: Andrea Regina de Souza Baptista.
 Coorientador: Aislán Cristina Rheder Fagundes Pascoal.
 Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
 Instituto de Biologia, Niterói, 2026.

 1. Câncer cervical. 2. Produtos naturais. 3. *Campomanesia*
 phaea. 4. Atividade antitumoral. 5. Produção intelectual. I.
 Baptista, Andrea Regina de Souza, orientadora. II. Pascoal,
 Aislán Cristina Rheder Fagundes, coorientadora. III.
 Universidade Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV.
 Título.

CDD - XXX

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

MILENA FRANÇA LONGUE

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DE EXTRATOS DE
Campomanesia phaea CONTRA O CÂNCER
CERVICAL: ESTUDOS FITOQUÍMICOS *E IN VITRO***

Dissertação de mestrado
submetida à Universidade
Federal Fluminense, como
requisito parcial, visando à
obtenção do grau de Mestre
em Ciências.

Banca Examinadora:

**ANDREA REGINA DE SOUZA BAPTISTA - DEPARTAMENTO DE
MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA – UNIVERSIDADE FEDERAL
FLUMINENSE**

**CAROLINE DE SOUZA BARROS – DEPARTAMENTO DE IMUNOBIOLOGIA-
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**THALYA SOARES RIBEIRO NOGUEIRA – CENTRO DE CIÊNCIAS DE
TECNOLOGIA – LABORATÓRIO DE QUÍMICA BIOORGÂNICA- UENF**

**KELLY COSTA DE ALMEIDA – DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS –
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**AISLAN CRISTINA RHEDER FAGUNDES PASCOAL – DEPARTAMENTO DE
CIÊNCIAS BÁSICAS – UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTO

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus, por ter me sustentado nos dias difíceis, iluminado meus caminhos e me concedido força, sabedoria e perseverança para chegar até aqui. Sem Sua presença em minha vida, nada disso seria possível.

Ao meu noivo, pelo amor, paciência, incentivo e por permanecer ao meu lado em todos os momentos, especialmente nos dias mais cansativos e desafiadores. Sua companhia tornou essa caminhada mais leve.

Aos meus pais e à minha família, por todo apoio, carinho, compreensão e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidava das minhas próprias capacidades. Cada conquista minha também pertence a vocês.

Às minhas amigas Júlia e Laíza, que estiveram presentes durante essa trajetória compartilhando palavras de apoio, acolhimento, risadas e momentos que tornaram o percurso mais leve e feliz.

Dedico também a mim mesma, pela persistência, pela coragem de continuar mesmo diante das dificuldades e por não desistir dos meus sonhos, mesmo nos momentos de insegurança e exaustão.

À minha orientadora, Aislan, minha profunda gratidão pela orientação conduzida com excelência, paciência e generosidade ao longo de toda essa trajetória acadêmica. Obrigada não apenas pelos ensinamentos científicos e pelo incentivo constante ao meu crescimento profissional, mas também pelas conversas, conselhos e risadas compartilhadas além do laboratório, que tornaram esse processo muito mais humano, leve e especial.

À Kelly, por ter caminhado comigo durante grande parte dessa jornada, construindo uma amizade leve, sincera e repleta de risadas. Seu apoio e companhia fizeram diferença nos momentos mais desafiadores do mestrado.

Por fim, agradeço aos membros da banca examinadora pelo aceite do convite, pela disponibilidade e pela contribuição para este trabalho e para minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	10
1.0 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Câncer cervical: panorama epidemiológico e relevância em saúde pública.	13
1.2 Bases biológicas do câncer cervical e o papel do HPV	14
1.3 Proliferação, migração e ciclo celular no câncer	15
1.4 Produtos naturais como fonte de agentes anticancerígenos.....	16
1.5 O gênero <i>Campomanesia</i> e <i>Campomanesia phaea</i>	17
2.0 OBJETIVOS.....	21
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 COLETA, PREPARO DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO	23
3.2 CULTIVO CELULAR	23
3.3 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR.....	23
3.4 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS (FOLLIN CIOACATOU)	24
3.5 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR	24
3.6 ANÁLISE DO CICLO CELULAR.....	24
3.7 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR CLAE- EM/EM	25
3.8 SUBSTÂNCIA ISOLADA	25
3.8.1 Cromatografia líquida a vácuo (CLV)	25
3.8.2 Cromatografia em camada delgada (CCD) e RMN	25
4.3 MIGRAÇÃO CELULAR	29
4.5 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO DAS AMOSTRAS POR LC-MS/MS	33
4.6 SUBSTÂNCIA ISOLADA	41
5.0 DISCUSSÃO.....	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
6.1 CONCLUSÃO	51
6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	52
7.0 REFERÊNCIAS	53

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABTS•⁺ – Radical catiônico do ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
- AGE– Equivalentes de ácido gálico
- AhR– Receptor de hidrocarboneto arílico (Aryl hydrocarbon receptor)
- Akt– Proteína quinase B (Protein kinase B)
- ARE– Elemento de resposta antioxidante (Antioxidant Response Element)
- Bcl-2– B-cell lymphoma 2 (proteína antiapoptótica da família Bcl-2)
- CCD– Cromatografia em camada delgada
- CDK– Quinase dependente de ciclina (Cyclin-dependent kinase)
- CLAE– Cromatografia líquida de alta eficiência
- CLAE-DAD – Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos
- CLV–Cromatografia líquida a vácuo
- CN–Controle negativo
- CO₂–Dióxido de carbono
- CPAE–Extrato de *Campomanesia phaea* obtido com acetato de etila
- CPD–Extrato de *Campomanesia phaea* obtido com diclorometano
- CPH–Extrato de *Campomanesia phaea* obtido com hexano
- CYP1A1–Citocromo P450 família 1 subfamília A membro 1
- CYP1B1–Citocromo P450 família 1 subfamília B membro 1
- Da–Dalton (unidade de massa molecular)
- DAD– Detector de arranjo de diodos (Diode Array Detector)
- DMEM– Dulbecco's Modified Eagle Medium
- DNA– Ácido desoxirribonucleico
- DOXO– Doxorrubicina
- EMT– Transição epitélio-mesenquimal (Epithelial-Mesenchymal Transition)
- ERK – Quinase regulada por sinal extracelular (Extracellular signal-regulated kinase)
- ESI– Ionização por eletrospray (Electrospray Ionization)
- FAK– Quinase de adesão focal (Focal Adhesion Kinase)
- GPX4– Glutathione peroxidase 4
- G0/G1– Fase de repouso e primeira fase de crescimento do ciclo celular
- G2/M– Fase de preparação para mitose e mitose do ciclo celular

HPLC– Cromatografia líquida de alta eficiência (High Performance Liquid Chromatography)

HRMS– Espectrometria de massas de alta resolução (High Resolution Mass Spectrometry)

HPV– Papilomavírus humano (Human Papillomavirus)

IC₅₀ – Concentração inibitória média capaz de reduzir 50% da viabilidade celular

IL-6– Interleucina 6

IS– Índice de seletividade

JAK– Janus kinase

LC-MS/MS– Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem

MAPK– Proteína quinase ativada por mitógeno (Mitogen-activated protein kinase)

MS– Espectrometria de massas (Mass spectrometry)

MS/MS– Espectrometria de massas em tandem

MTT– 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

NF-κB– Fator nuclear kappa B (Nuclear factor kappa B)

NIH/3T3 – Linhagem de fibroblastos murinos derivada do National Institutes of Health

NO•– Radical óxido nítrico

Nrf2– Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2

O₂•⁻– Radical superóxido

PI– Iodeto de propídio

PI3K– Fosfatidilinositol 3-quinase

Prism– GraphPad Prism (software de análise estatística)

Ras– Família de pequenas GTPases Ras

RMN– Ressonância magnética nuclear

ROO•– Radical peroxil

SFB– Soro fetal bovino

SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

SMAD– Proteínas mediadoras da via de sinalização TGF-β

STAT – Transdutor de sinal e ativador de transcrição (Signal Transducer and

Activator of Transcription)

Sub-G0 – População celular com conteúdo de DNA inferior ao da fase G0/G1, associada à fragmentação de DNA

TGF- β – Fator de crescimento transformador beta (Transforming Growth Factor Beta)

TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa (Tumor Necrosis Factor Alpha)

UGT1A1 – UDP-glucuronosiltransferase 1A1

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração das partes da <i>Campomanesia phaea</i> .	18
Figura 2. Fotos de partes da <i>Campomanesia phaea</i> .	19
Figura 4. Viabilidade celular de células NIH/3T3 após tratamento com extratos de <i>Campomanesia phaea</i> avaliada pelo ensaio de MTT.	28
Figura 3. Viabilidade celular de células HeLa após tratamento com extratos de <i>Campomanesia phaea</i> avaliada pelo ensaio de MTT.	28
Figura 5. Quantificação da migração celular em células HeLa após tratamento com extratos de <i>C. phaea</i>	30
Figura 6. Ensaio de migração celular (wound healing) em células HeLa tratadas com extratos de <i>Campomanesia phaea</i> .	31
Figura 7. Análise do ciclo celular por citometria de fluxo em células submetidas aos diferentes tratamentos experimentais.	32
Figura 8. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPD, registrado em função do tempo de retenção (min)	35
Figura 9. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPAE, registrado em função do tempo de retenção (min)	36
Figura 10. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPD, registrado em função do tempo de retenção (min)	37
Figura 11. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPAE, registrado em função do tempo de retenção (min)	38
Figura 12. Estrutura química da 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	41
Figura 13. Espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	43
Figura 14. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	44
Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	44
Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	45
Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	46
Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	46
Figura 19. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona	47

RESUMO

O câncer cervical permanece um importante problema de saúde pública global, fortemente associado à infecção persistente por tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV). Apesar dos avanços nas estratégias de prevenção e tratamento, a elevada morbidade da doença evidencia a necessidade de identificar novos agentes terapêuticos. Nesse contexto, produtos naturais têm se destacado como fontes promissoras de compostos bioativos com potencial anticancerígeno. O presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial antitumoral dos extratos brutos das folhas de *Campomanesia phaea* em modelo celular de câncer cervical e células saudáveis. Os extratos foram avaliados quanto à atividade citotóxica, aos efeitos sobre a migração celular e à modulação do ciclo celular em células HeLa, bem como quanto à composição fitoquímica. Os resultados demonstraram que os extratos, em especial o obtido com diclorometano, apresentaram atividade citotóxica relevante ($IC_{50}=16,36\mu\text{g/mL}$), associada à indução da morte celular, ao aumento da população Sub-G0 e à inibição significativa da migração celular. A caracterização química evidenciou a presença de compostos fenólicos e flavonoides, com isolamento da chalcona 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona (Triangularina). Em conjunto, os achados indicam que *Campomanesia phaea* constitui uma fonte promissora de metabólitos bioativos com potencial de aplicação no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas contra o câncer cervical, fornecendo subsídios para investigações futuras voltadas à elucidação mecanística e à prospecção de compostos ativos.

Palavras-chave: câncer cervical; produtos naturais; *Campomanesia phaea*; atividade antitumoral.

ABSTRACT

Cervical cancer remains a major global public health concern and is strongly associated with persistent infection by oncogenic types of human papillomavirus (HPV). Despite advances in prevention and treatment strategies, the high morbidity associated with this disease highlights the need to identify novel therapeutic agents. In this context, natural products have emerged as promising sources of bioactive compounds with potential anticancer properties. The present study aimed to investigate the antitumor potential of crude leaf extracts from *Campomanesia phaea* using cervical cancer and non-tumor cell models. The extracts were evaluated for their cytotoxic activity, effects on cell migration, modulation of the cell cycle in HeLa cells, and phytochemical composition. The results demonstrated that the extracts, particularly the dichloromethane extract, exhibited significant cytotoxic activity ($IC_{50} = 16.36 \mu\text{g/mL}$), associated with the induction of cell death, an increase in the Sub-G0 cell population, and significant inhibition of cell migration. Chemical characterization revealed the presence of phenolic compounds and flavonoids, leading to the isolation of the chalcone 2',6'-dihydroxy-4'-methoxy-3'-methylchalcone (Triangularin). Collectively, these findings indicate that *Campomanesia phaea* represents a promising source of bioactive metabolites with potential applications in the development of novel therapeutic approaches against cervical cancer, providing a foundation for future studies focused on mechanistic elucidation and the identification of active compounds.

Keywords: cervical cancer; natural products; *Campomanesia phaea*; antitumor activity.

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer cervical: panorama epidemiológico e relevância em saúde pública

O câncer cervical configura-se como um dos principais desafios em saúde pública em escala global, sendo considerado entre as neoplasias mais incidentes e letais que acometem a população feminina (WU et al., 2025). Em 2022, estimaram-se aproximadamente 662.301 novos casos e 348.874 óbitos em todo o mundo, posicionando essa neoplasia como a quarta causa mais frequente tanto de incidência quanto de mortalidade por câncer entre mulheres (LI et al., 2025). Esses números refletem a elevada carga da doença e seu impacto expressivo nos sistemas de saúde.

A incidência do câncer cervical é marcada por profundas desigualdades geográficas e socioeconômicas. Países de baixa e média renda concentram a maior parte dos casos e das mortes, apresentando taxas de incidência aproximadamente duas vezes superiores e taxas de mortalidade até cinco vezes maiores quando comparadas às observadas em países de alto Índice de Desenvolvimento Humano (BORDA et al., 2024; WU et al., 2025). Regiões como África Subsaariana e partes da Ásia apresentam as maiores cargas da doença, cenário associado principalmente à limitação de programas de rastreamento, diagnóstico precoce e acesso a terapias adequadas (PIMPLE et al., 2022; BORDA et al., 2024). Em 2022, China e Índia concentraram cerca de 42% dos casos globais e 39% das mortes por câncer cervical (WU et al., 2025).

Do ponto de vista etiológico, a infecção persistente por tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV) constitui a principal causa do câncer cervical (PIMPLE et al., 2022). Os subtipos HPV16 e HPV18 são responsáveis por aproximadamente 70% dos casos de doença (HAKIM et al., 2025). Além da infecção viral, fatores como a alta paridade, o uso prolongado de contraceptivos orais, o tabagismo e as coinfeções sexualmente transmissíveis contribuem para o aumento do risco de desenvolvimento tumoral (LUVIÁN-MORALES et al., 2024).

Em conjunto, esses dados reforçam a magnitude do câncer cervical como problema de saúde pública global e evidenciam a necessidade contínua de estratégias eficazes tanto para prevenção quanto para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficientes.

1.2 Bases biológicas do câncer cervical e o papel do HPV

O desenvolvimento do câncer cervical está fortemente associado à infecção persistente por tipos de alto risco do papilomavírus humano (HPV), sendo amplamente reconhecido que as oncoproteínas virais E6 e E7 desempenham papel central na carcinogênese cervical (NARISAWA-SAITO et al., 2007; BALASUBRAMANIAM et al., 2019; TAGHIZADEH et al., 2019). Essas oncoproteínas atuam principalmente por meio da inativação das proteínas supressoras de tumor p53 e pRb, respectivamente, comprometendo mecanismos fundamentais de controle da homeostase celular (YUGAWA et al., 2009; MÜNGER et al., 1991).

A oncoproteína E6 promove a degradação da p53 por meio de sua interação com a ligase de ubiquitina E6AP, enquanto a E7 se liga à proteína do retinoblastoma (pRb), interrompendo sua associação com fatores de transcrição da família E2F (NARISAWA-SAITO et al., 2007; BALASUBRAMANIAM et al., 2019; YUGAWA et al., 2009). A inativação dessas proteínas resulta na desregulação do ciclo celular, no prejuízo dos mecanismos de reparo do DNA e na inibição da apoptose, favorecendo a proliferação celular descontrolada e a progressão tumoral (BALASUBRAMANIAM et al., 2019; FERENCZY et al., 2002).

Além disso, a expressão contínua de E6 e E7 contribui para processos adicionais envolvidos na progressão do câncer cervical, incluindo reprogramação metabólica, immortalização celular, evasão imune e resistência terapêutica (YUGAWA et al., 2009; GORE et al., 2025; MALLA et al., 2020). A E6 está associada à ativação da telomerase, enquanto a ação conjunta de E6 e E7 promove a immortalização de células epiteliais humanas, sustentando o crescimento tumoral (YUGAWA et al., 2009).

Em conjunto, esses mecanismos evidenciam que a atividade contínua das oncoproteínas E6 e E7 é essencial para a manutenção do fenótipo maligno no câncer cervical, uma vez que sua atuação compromete vias críticas do controle do ciclo celular e da sobrevivência celular, consolidando o papel do HPV de alto risco como principal agente etiológico dessa neoplasia (NARISAWA-SAITO et al., 2007; TAGHIZADEH et al., 2019).

1.3 Proliferação, migração e ciclo celular no câncer

A proliferação celular corresponde ao aumento controlado do número de células e constitui um processo fisiológico essencial para o crescimento e a manutenção tecidual. No câncer, entretanto, esse processo torna-se desregulado, resultando em crescimento tumoral progressivo e sustentado (SCHMELZLE & HALL, 2000; EVAN & VOUSDEN, 2001). Células neoplásicas adquirem a capacidade de proliferar independentemente de estímulos externos, contornar estados de quiescência e evadir a apoptose (MALUMBRES & BARBACID, 2002; MARTIN, 2003).

Essas alterações decorrem, em grande parte, de modificações em vias de sinalização intracelular, como PI3K/Akt, Ras/MAPK e JAK/STAT, que regulam a proliferação, a sobrevivência e a motilidade celular (TANG et al., 2017; PANDA et al., 2025). Dados do The Cancer Genome Atlas indicam que a maioria dos tumores apresenta alterações genéticas em pelo menos uma dessas vias, reforçando seu papel central na tumorigênese (SANCHEZ-VEGA et al., 2018).

Paralelamente, a migração celular constitui etapa indispensável para a invasão tecidual e a metástase, principal causa de mortalidade associada ao câncer (FRIEDL & WOLF, 2003; WU et al., 2020). Esse processo envolve a reorganização do citoesqueleto, alterações na adesão celular e interações dinâmicas com a matriz extracelular, mediadas principalmente por integrinas (HOOD & CHERESH, 2003; CHASTNEY et al., 2024). A plasticidade migratória, incluindo a transição epitelial-mesenquimal (EMT), permite que células tumorais se adaptem a diferentes microambientes e aumentem sua capacidade de disseminação (BOCCI et al., 2019; CHEUNG et al., 2025).

O ciclo celular, composto pelas fases G0/G1, S e G2/M, é rigidamente controlado por pontos de checagem que asseguram a fidelidade da duplicação do DNA e da divisão celular (HARTWELL & WEINERT, 1989; ELLEDGE, 1996). A perda desses mecanismos de controle resulta em instabilidade genômica e favorece a transformação maligna (MURRAY, 1994; KAUFMANN & PAULES, 1996). Assim, a indução do arresto do ciclo celular constitui uma estratégia terapêutica amplamente explorada, uma vez que pode culminar na cessação da proliferação ou na morte celular (JOHNSON & WALKER, 1999; BUCHER & BRYANT, 2008).

1.4 Produtos naturais como fonte de agentes anticancerígenos

Os produtos naturais desempenham papel central na história da oncologia, constituindo uma das principais bases do desenvolvimento da quimioterapia moderna. Diversos fármacos anticancerígenos amplamente utilizados foram originalmente isolados de fontes naturais, como paclitaxel, camptotecina, podofilotoxina e doxorrubicina, o que evidencia a relevância contínua desses compostos como ponto de partida para a descoberta de novos agentes terapêuticos (WILSON et al., 2007; LIU et al., 2010; DEHELEAN et al., 2021).

A ampla diversidade estrutural dos produtos naturais confere a esses compostos a capacidade de modular múltiplos alvos moleculares simultaneamente, característica particularmente vantajosa no tratamento de uma doença multifatorial como o câncer (HASHEM et al., 2022; MUHAMMAD et al., 2022; DENG et al., 2024). Além disso, muitos desses compostos apresentam perfil de toxicidade relativamente mais favorável e potencial para uso em terapias combinadas, ampliando a eficácia clínica sem aumento proporcional dos efeitos adversos (ELBADAWI et al., 2024; LEONETTI et al., 2025).

Grande parte desses efeitos é atribuída à presença de metabólitos secundários bioativos, como compostos fenólicos e flavonoides, amplamente reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antiproliferativas e pró-apoptóticas (LEONETTI et al., 2025; ZHANG et al., 2024; AL-RIMAWI et al., 2024). Outras classes, como alcaloides, terpenos, carotenoides e cumarinas, também apresentam atividade anticancerígena por

meio da modulação de vias mitocondriais, da indução de apoptose e da inibição da migração celular (YANG et al., 2020; FARAONE et al., 2020; JANTHAMALA et al., 2024).

1.5 O gênero *Campomanesia* e *Campomanesia phaea*

O gênero *Campomanesia* pertence à família Myrtaceae, um dos grupos botânicos mais representativos da flora brasileira, amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais e composto por numerosas espécies frutíferas nativas com reconhecido potencial alimentar, ecológico e farmacológico (Araújo et al., 2019). Diversas espécies desse gênero têm despertado interesse científico devido à presença de metabólitos secundários bioativos, como compostos fenólicos, flavonoides e terpenoides, associados a diferentes propriedades biológicas. Nesse contexto, estudos com espécies do gênero já demonstraram a presença de compostos bioativos relevantes, como observado em *Campomanesia lineatifolia*, cujos extratos apresentam diferentes metabólitos de interesse farmacológico (Madalosso et al., 2011).

Entre as espécies pertencentes a esse gênero, destaca-se *Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum, popularmente conhecida como cambuci. Trata-se de uma espécie nativa da Mata Atlântica brasileira, um dos biomas com maior diversidade vegetal do mundo, onde ocorre naturalmente e desempenha importante papel ecológico (Araújo et al., 2019). O fruto do cambuci apresenta polpa macia, coloração predominantemente verde e aroma característico, sendo tradicionalmente utilizado na preparação de diferentes produtos alimentícios, como sucos, geleias, doces, sorvetes e licores, o que tem contribuído para a valorização gastronômica dessa fruta nativa (Spricigo et al., 2021). Além de seu uso culinário, o fruto apresenta composição nutricional relevante, contendo açúcares como sacarose, glicose e frutose, além de ácidos orgânicos, entre os quais se destaca o ácido cítrico, responsável pelo sabor ácido característico da fruta. Também apresenta quantidades expressivas de ácido ascórbico e compostos fenólicos, conferindo elevada capacidade antioxidante e reforçando seu potencial como alimento funcional (Spricigo et al., 2021; Taver et al., 2022).

Do ponto de vista botânico e ecológico, *C. phaea* apresenta características reprodutivas particulares que contribuem para sua manutenção nos ecossistemas da Mata Atlântica. A espécie apresenta flores autoincompatíveis, o que implica dependência de polinização cruzada entre indivíduos geneticamente distintos para a ocorrência da fecundação (Cordeiro et al., 2016). A antese floral ocorre ao longo de aproximadamente 14 horas, iniciando-se nas primeiras horas da madrugada, período durante o qual as flores liberam uma mistura complexa de compostos voláteis predominantemente alifáticos e aromáticos, responsáveis pela atração de visitantes florais (Cordeiro et al., 2016). A polinização da espécie ocorre principalmente por abelhas de hábito noturno e crepuscular, um sistema relativamente incomum entre plantas tropicais. Estudos ecológicos identificaram diversas espécies visitantes associadas às flores de cambuci, embora apenas um número restrito de abelhas

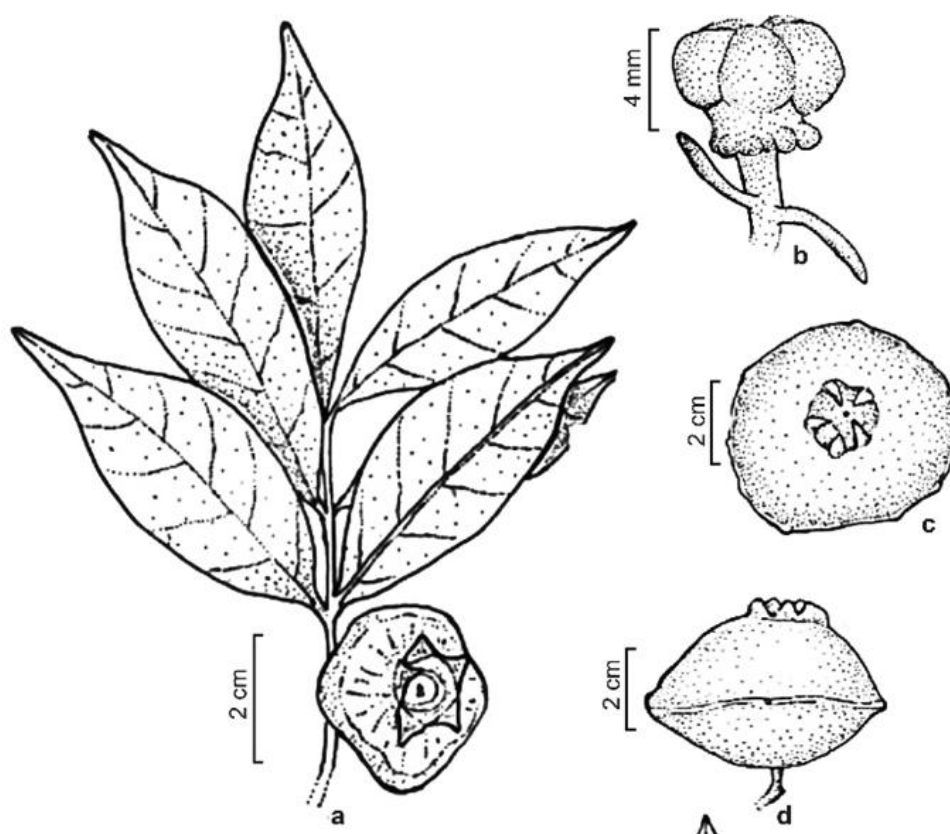


Figura 1. Ilustração das partes da *Campomanesia phaea*. a-d. *Campomanesia phaea* - a. variação na forma da folha; b. Botão floral; c,d. Fruto maduro (a-d. J. Luber 217). Fonte: Adaptado de LUBER et al. (2017).

seja considerado efetivo na transferência de pólen. A atividade desses

polinizadores apresenta forte relação com a intensidade luminosa ambiental, sendo observado um pico de visitas pouco antes do nascer do sol,

quando os níveis de luminosidade ainda são reduzidos (Liporoni et al., 2020).

No âmbito taxonômico, *Campomanesia phaea* integra o gênero *Campomanesia*, pertencente à ordem Myrtales. Espécies desse gênero estão amplamente distribuídas na América do Sul e possuem relevância ecológica e econômica, especialmente devido à produção de frutos comestíveis e à presença de metabólitos secundários com potencial biológico (Araújo et al., 2019). Estudos de caracterização genética realizados com diferentes acessos de cambuci demonstraram que a espécie apresenta considerável diversidade genética. Utilizando marcadores moleculares do tipo inter-microsatélite (ISSR),

análises populacionais indicaram que diferentes acessos de *C. phaea* podem ser agrupados em dois ou três conjuntos genéticos distintos (Santos et al., 2016).

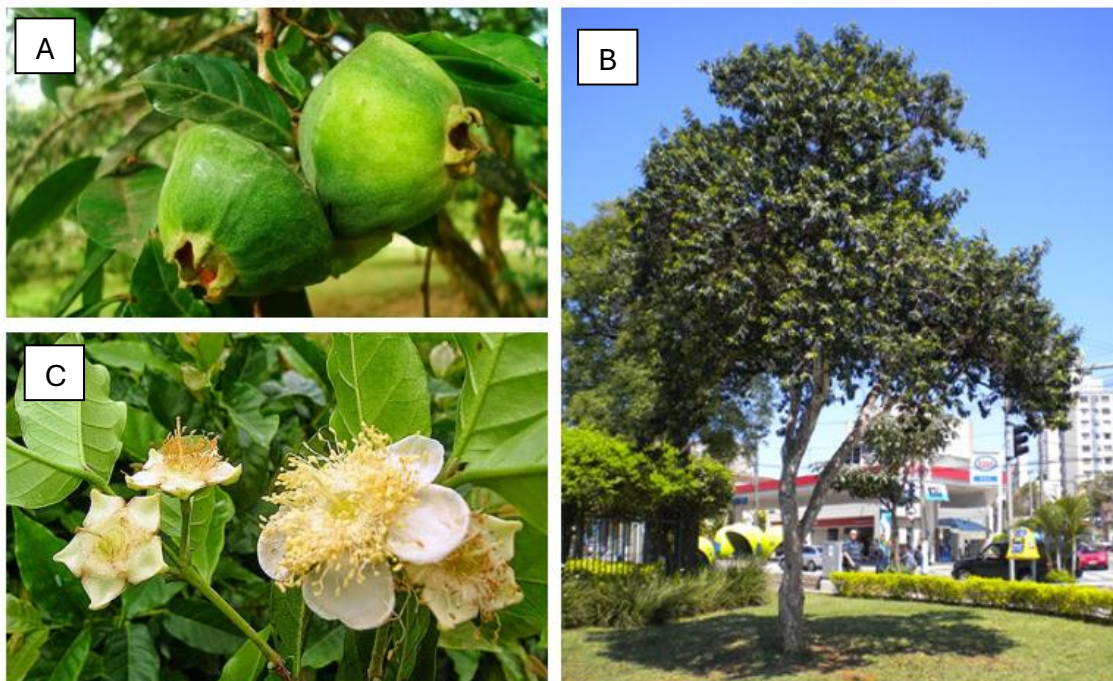


Figura 2. Fotos de partes da *Campomanesia phaea*. A: frutos. B: árvore. C: flor.
Fonte: google

Essa variabilidade genética possui grande importância para programas de conservação e melhoramento da espécie, permitindo a identificação de genótipos com características agronômicas e fitoquímicas específicas. No entanto, estudos também apontam que ainda são limitadas as iniciativas voltadas à conservação sistemática da espécie, tanto em ambientes naturais quanto em bancos de germoplasma, evidenciando a necessidade de ampliação de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* (Santos et al., 2016).

Além de seu uso alimentar, espécies do gênero *Campomanesia* são amplamente utilizadas na medicina tradicional brasileira. De modo geral, plantas desse gênero são empregadas na medicina popular como agentes anti-inflamatórios, adstringentes, antidiabéticos e antiulcerogênicos (Dickel et al., 2006). No caso específico de *C. phaea*, relatos etnofarmacológicos indicam seu uso associado ao tratamento de diferentes condições, incluindo distúrbios metabólicos, inflamatórios e gastrointestinais, além de possíveis aplicações relacionadas ao sistema cardiovascular (Araújo et al., 2019).

O interesse científico em torno dessa espécie tem aumentado nas últimas décadas, impulsionando investigações voltadas à caracterização de suas propriedades farmacológicas. Estudos experimentais demonstram que extratos obtidos de folhas e frutos de *C. phaea* apresentam atividades antioxidantes e anti-inflamatórias relevantes. Ensaios *in vitro* demonstraram que o óleo essencial e o extrato etanólico das folhas são capazes de inibir a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, além de reduzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, bem como modular vias celulares associadas à resposta inflamatória, incluindo a via do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (Lorençoni et al., 2020).

Do ponto de vista fitoquímico, *C. phaea* destaca-se pela presença de diversos metabólitos secundários biologicamente ativos. Entre esses compostos destacam-se flavonoides, taninos elágicos e óleos essenciais ricos em sesquiterpenos, como (E)-cariofileno e óxido de cariofileno (Lorençoni et al., 2020; Soares et al., 2020). Esses metabólitos estão associados a expressiva capacidade antioxidante, evidenciada por ensaios de sequestro de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, incluindo ABTS $\bullet^+$, ROO $\bullet$, O $_2\bullet^-$ e NO $\bullet$. Nesse

contexto, o cambuci tem sido apontado como uma das frutas nativas brasileiras com elevado potencial antioxidante descrito na literatura (Soares et al., 2020; Taver et al., 2022).

Além das atividades antioxidantes e anti-inflamatórias observadas em modelos celulares, estudos *in vivo* também indicam potenciais efeitos metabólicos associados aos compostos presentes no fruto. Em modelos experimentais de obesidade induzida por dieta hiperlipídica, polifenóis extraídos do cambuci demonstraram capacidade de reduzir o ganho de peso corporal, inflamação sistêmica, esteatose hepática, hiperglicemia e resistência à insulina, efeitos associados à ativação de vias de sinalização metabólica envolvendo as proteínas Akt e AMPK (Donado-Pestana et al., 2020). Adicionalmente, investigações farmacológicas conduzidas em modelos animais demonstraram que o extrato hidroalcoólico dos frutos de *C. phaea* pode induzir hipotensão e bradicardia em ratos, sugerindo possíveis interações com mecanismos regulatórios do sistema cardiovascular e do sistema nervoso autônomo (Wczassek et al., 2019).

Apesar das evidências que sustentam as propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e metabólicas de *Campomanesia phaea*, observa-se uma lacuna significativa na literatura quanto à investigação de seus efeitos antiproliferativos, especialmente no contexto da oncologia. Até o momento, não há estudos que avaliem sistematicamente o impacto do extrato bruto de *C. phaea* sobre parâmetros relevantes da biologia tumoral, como viabilidade celular, migração ou regulação do ciclo celular em células tumorais cervicais. Dessa forma, a exploração do potencial anticâncer dessa espécie representa uma abordagem inédita e cientificamente relevante, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre o uso de espécies nativas brasileiras como fontes de novos agentes antitumorais.

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Investigar o potencial antiproliferativo dos extratos brutos das folhas de *Campomanesia phaea* em modelo celular de câncer cervical, por meio da

avaliação de seus efeitos sobre a viabilidade celular, a migração celular e a progressão do ciclo celular em células HeLa, associados à caracterização fitoquímica dos extratos e à identificação de compostos bioativos potencialmente responsáveis pela atividade biológica observada.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a citotoxicidade dos extratos brutos das folhas de *Campomanesia phaea* em células de câncer cervical (HeLa) por meio do ensaio de viabilidade celular MTT, bem como em linhagem não tumoral (NIH/3T3), visando o cálculo do índice de seletividade (SI).

Investigar o efeito dos extratos sobre a migração de células HeLa por meio do ensaio de migração celular, visando à avaliação de seu potencial antimigratório

Analisar os efeitos dos extratos sobre a progressão do ciclo celular em células HeLa por citometria de fluxo, permitindo a identificação de possíveis fases de bloqueio e alterações na dinâmica do ciclo celular

Realizar a caracterização fitoquímica preliminar dos extratos por meio do ensaio de Folin-Ciocalteu, com vistas à quantificação de compostos fenólicos

Realizar a anotação molecular dos compostos presentes nos extratos biologicamente ativos por cromatografia líquida de alta frequência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM), visando à identificação dos principais constituintes

Isolar e caracterizar estruturalmente a substância presente nos extratos com atividade biológica relevante por meio de cromatografia líquida a vácuo (CLV), cromatografia em camada delgada (CCD) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA, PREPARO DO MATERIAL VEGETAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

As folhas de *Campomanesia phaea* foram coletadas, identificadas e registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número AAA893C. Após a coleta, o material vegetal foi submetido à secagem à temperatura ambiente, protegido da luz, seguido de trituração em moinho.

O material pulverizado foi submetido à extração por maceração exaustiva sequencial, utilizando solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano e acetato de etila. Cada solvente permaneceu em contato com o material vegetal por 24 horas. Após esse período, os extratos foram filtrados, concentrados sob pressão reduzida em rotaevaporador. Obteve-se ao final os extratos CPH (fração hexânica), CPD (fração diclorometano) e CPAE (fração acetato de etila) que ficaram armazenados a 4 °C até a realização dos ensaios biológicos.

3.2 CULTIVO CELULAR

As linhagens celulares HeLa (câncer cervical humano) e NIH/3T3 (fibroblastos murinos não tumorais) foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). As células foram mantidas em incubadora a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. As células foram subcultivadas periodicamente e utilizadas nos experimentos quando atingiram confluência adequada.

3.3 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

A atividade citotóxica dos extratos foi avaliada pelo ensaio de MTT, baseado na capacidade de células metabolicamente ativas reduzirem o sal de tetrazólio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) a cristais de formazan insolúveis (VAN et al., 2011).

Após tratamento com diferentes concentrações dos extratos, a absorbância foi mensurada em leitor de microplacas. Os valores obtidos foram

utilizados para cálculo da concentração inibitória média (IC_{50}) por regressão não linear utilizando o software GraphPad Prism, versão 8.0. Os experimentos foram realizados em, no mínimo, três ensaios independentes.

3.4 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS (FOLLIN CIOACATOU)

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin–Ciocalteu, baseado em reação de oxirredução entre os compostos fenólicos presentes na amostra e o reagente de Folin–Ciocalteu, resultando na formação de um complexo azul cuja intensidade é proporcional à concentração desses compostos. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro, e os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

3.5 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR

O potencial antimigratório dos extratos foi avaliado por meio do ensaio de cicatrização de ferida (*wound healing assay*). Monocamadas confluentes de células HeLa foram submetidas à criação de um risco linear com ponteira estéril, simulando uma ferida.

Em seguida, as células foram tratadas com os extratos em concentração seis vezes inferior ao valor de IC_{50} previamente determinado. Imagens da área da ferida foram capturadas nos tempos de 0, 12 e 24 horas utilizando microscópio EVOS (Thermo Fisher Scientific).

As imagens foram analisadas no software ImageJ para quantificação da área não preenchida. A taxa de fechamento da ferida foi comparada entre os grupos tratados e controle. A análise estatística foi realizada no software GraphPad Prism, versão 8.0.

3.6 ANÁLISE DO CICLO CELULAR

Células HeLa tratadas com os extratos foram coletadas, fixadas e incubadas com iodeto de propídeo (PI), marcador fluorescente que se intercala ao DNA. A intensidade da fluorescência reflete o conteúdo de DNA celular, permitindo determinar a distribuição das células nas fases G0/G1, S e G2/M do ciclo celular (NAIR; MANOHAR, 2021).

A aquisição dos eventos foi realizada em um citômetro de fluxo Guava® Muse® Cell Analyzer (Cytek Biosciences, San Diego, CA, EUA), e a análise dos dados foi conduzida com o Flowing Software 2.

3.7 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR CLAE- EM/EM

Amostras dos extratos CPD e CPAE (1 mg) foram dissolvidas em 1 mL de metanol (CH_3OH), filtradas em filtros de nylon (13 mm, 0,4 μm) e injetadas no sistema cromatográfico com volume de injeção de 20 μL .

As análises foram realizadas em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado a espectrômetro de massas microOTOF-Q II (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA), equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI), operando em modos positivo e negativo.

A separação cromatográfica foi realizada em coluna Eclipse XDB-C18 (250 mm $\times$ 4,6 mm, 5 μm). A fase móvel consistiu em ácido fórmico 0,1% em água (solvente A) e ácido fórmico 0,1% em metanol (solvente B), com gradiente: 0–1 min (40% B); 1–16 min (40–70% B); 16–46 min (70–100% B); 46–50 min (100% B); 50–55 min (100–40% B); 55–60 min (40% B), a 0,3 mL/min.

Os espectros foram adquiridos na faixa m/z 100–1200, utilizando fragmentação por dissociação induzida por colisão no modo auto MS/MS.

3.8 SUBSTÂNCIA ISOLADA

3.8.1 Cromatografia líquida a vácuo (CLV)

O extrato CPD foi submetido à cromatografia líquida a vácuo utilizando coluna preenchida com sílica gel 60 (70–230 mesh). A eluição foi realizada com gradiente de solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. As frações obtidas foram monitoradas por cromatografia em camada delgada.

3.8.2 Cromatografia em camada delgada (CCD) e RMN

A partir do processo realizado, obteve-se 17 que foram analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando-se como fase estacionária sílica gel sobre placa de alumínio da marca MACHEREY-NAGEL com diâmetro

de partícula de 0,2 mm e os solventes hexano: acetato (70:30) como fase móvel. Após a eluição, as placas foram submetidas a revelação em câmara de luz UV nos comprimentos de onda de 254nm e 365 nm e vapor de iodo. Mediante a semelhança dos perfis cromatográficos, realizou-se a junção das frações 3-14, sendo obtido um total de 37 mg. Em seguida, a amostra em questão foi enviada para as análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C em solvente CDCl_3 .

4.0 RESULTADOS

4.1 VIABILIDADE CELULAR POR MTT

A atividade antiproliferativa das frações CPH (hexano), CPD (diclorometano) e CPAE (acetato de etila) foi avaliada pelo ensaio de redução do MTT nas linhagens celulares HeLa (tumoral) e NIH/3T3 (não tumoral), sendo os resultados expressos como percentagem de viabilidade celular em relação ao controle negativo (meio DMEM suplementado com 10% de SFB).

Na linhagem HeLa, observou-se redução progressiva da viabilidade celular com o aumento das concentrações testadas para as frações CPD e CPAE. A fração CPD apresentou IC_{50} de 16,36 $\mu\text{g/mL}$, enquanto a fração CPAE apresentou IC_{50} de 23,18 $\mu\text{g/mL}$. A fração CPH não atingiu 50% de inibição da viabilidade celular dentro do intervalo de concentrações avaliadas, apresentando IC_{50} superior a 100 $\mu\text{g/mL}$. O controle positivo, doxorrubicina, apresentou IC_{50} de 4,26 $\mu\text{g/mL}$ na linhagem tumoral.

Na linhagem NIH/3T3, verificou-se igualmente redução concentração-dependente da viabilidade celular para as frações CPD e CPAE. A fração CPD apresentou IC_{50} de 19,14 $\mu\text{g/mL}$ e a fração CPAE IC_{50} de 22,48 $\mu\text{g/mL}$. A fração CPH manteve IC_{50} superior a 100 $\mu\text{g/mL}$. A doxorrubicina apresentou IC_{50} de 7,44 $\mu\text{g/mL}$ nesta linhagem.

Os valores obtidos encontram-se sistematizados na **Tabela 1**, na qual também consta o Índice de Seletividade (IS). A fração CPD apresentou IS de 1,17, a fração CPAE IS de 0,96 e a doxorrubicina IS de 1,74. Não foi possível calcular o IS da fração CPH em virtude do IC_{50} superior a 100 $\mu\text{g/mL}$ em ambas as linhagens.

A análise gráfica demonstra comportamento dose-dependente para as frações CPD, CPAE e para a doxorrubicina, com redução significativa da atividade metabólica celular nas concentrações mais elevadas testadas, tanto em células tumorais quanto não tumorais.

Tabela 1. Valores de IC_{50} e índice de seletividade dos extratos de *Campomanesia phaea* em células HeLa e NIH/3T3. Valores de concentração inibitória média (IC_{50}) obtidos para as frações CPH (hexano), CPD (diclorometano), CPAE (acetato de etila) e para a doxorrubicina (DOXO), utilizada como referência de controle positivo. A atividade citotóxica foi determinada pelo ensaio de viabilidade celular MTT em células HeLa (câncer cervical humano) e NIH/3T3 (fibroblastos murinos não tumorais). Os valores estão apresentados em $\mu\text{g/mL}$. O índice de seletividade (IS) foi calculado como a razão entre os valores de IC_{50} obtidos na linhagem não tumoral e na linhagem tumoral. Os experimentos foram realizados em $n=3$, e cada condição experimental foi avaliada em triplicata.

AMOSTRAS	IC_{50} HeLa ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} NIH/3T3 ($\mu\text{g/mL}$)	IS
CPH	>100	>100	-
CPD	16,36	19,14	1,17
CPAE	23,18	22,48	0,96
DOXO	4,26	7,44	1,74

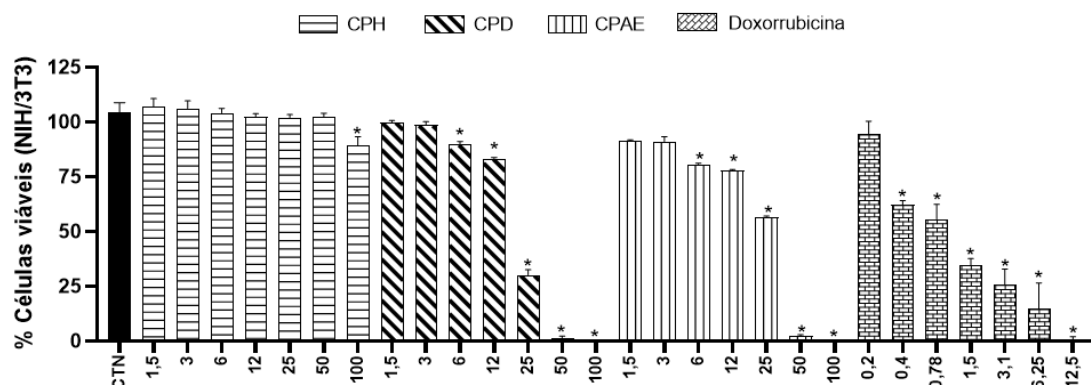


Figura 4. Viabilidade celular de células HeLa após tratamento com extratos de *Campomanesia phaea* avaliada pelo ensaio de MTT. Células HeLa foram tratadas com diferentes concentrações das frações CPH (hexano), CPD (diclorometano) e CPAE (acetato de etila), bem como com doxorubicina utilizada como controle positivo. A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de MTT e expressa como porcentagem de células viáveis em relação ao controle negativo (NC), constituído por células cultivadas apenas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes, sendo cada condição experimental realizada em triplicata. A análise estatística foi realizada conforme descrito na metodologia utilizando o software GraphPad Prism, e diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle negativo estão indicadas por * $p < 0,05$).

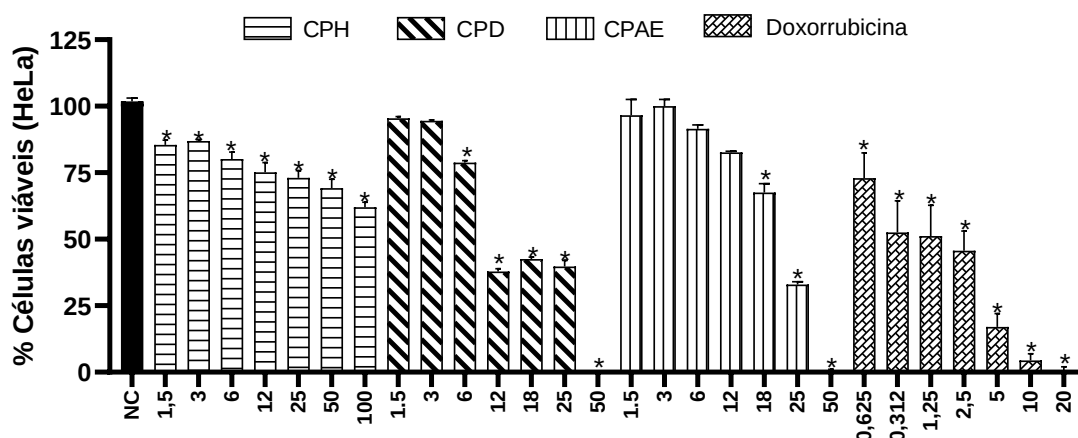


Figura 3. Viabilidade celular de células NIH/3T3 após tratamento com extratos de *Campomanesia phaea* avaliada pelo ensaio de MTT. Células NIH/3T3 (fibroblastos murinos não tumorais) foram tratadas com diferentes concentrações das frações CPH (hexano), CPD (diclorometano) e CPAE (acetato de etila), além de doxorubicina utilizada como controle positivo. A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de MTT e expressa como porcentagem de células viáveis em relação ao controle negativo (células cultivadas apenas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino). Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes, e cada condição experimental é avaliada em triplicata. A análise estatística foi conduzida conforme descrito na metodologia utilizando o software GraphPad Prism, sendo consideradas significativas as diferenças indicadas por * ($p < 0,05$) em comparação ao controle negativo.

4.2 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS POR FOLIN-CIOCALTEU

O teor de compostos fenólicos totais das frações CPD (diclorometano) e CPAE (acetato de etila) foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, sendo os resultados expressos em microgramas equivalentes de ácido gálico por miligrama de amostra ($\mu\text{g mg/AGE}$).

A fração CPD apresentou teor fenólico total de $26,94 \pm 0,011 \mu\text{g mg/AGE}$, enquanto a fração CPAE apresentou $18,60 \pm 0,0078 \mu\text{g mg/AGE}$.

Os dados evidenciam maior conteúdo de compostos fenólicos na fração CPD em comparação com a fração CPAE, conforme apresentado na tabela correspondente.

Tabela 2 Teor de compostos fenólicos totais nas frações de *Campomanesia phaea* determinado pelo método de Folin–Ciocalteu. O teor de compostos fenólicos totais das frações CPD (diclorometano) e CPAE (acetato de etila) foi determinado pelo método de Folin–Ciocalteu, baseado na oxirredução dos compostos fenólicos presentes. Os resultados são expressos em microgramas equivalentes de ácido gálico por miligrama de amostra ($\mu\text{g mg/AGE}$). Os valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes, realizados em triplicata.

AMOSTRAS	FENÓLICO TOTAL ($\mu\text{g mg/AGE}$)
CPD	$26,94 \pm 0,011$
CPAE	$18,60 \pm 0,0078$

4.3 MIGRAÇÃO CELULAR

A capacidade migratória das células foi avaliada por meio do ensaio de cicatrização de ferida (*wound healing*), sendo analisadas as condições: controle negativo (CN), fração de CPD e controle positivo (doxorrubicina). As imagens foram capturadas nos tempos 0 h (T0), 12 h (T1) e 24 h (T2), permitindo a avaliação da área remanescente da lesão ao longo do tempo.

No tempo inicial (T0), todas as condições apresentaram largura de ferida semelhante, confirmando a padronização do procedimento experimental. Após 12 horas, observou-se redução da área do risco em todas as condições experimentais. O controle negativo apresentou aproximadamente 70–75% da

área inicial remanescente, enquanto o tratamento com CPD apresentou um valor semelhante. A doxorrubicina também demonstrou redução comparável neste período.

Após 24 horas, verificou-se uma diminuição adicional da área do risco. O controlo negativo apresentou cerca de 40–45% da área inicial remanescente. A fração CPD apresentou aproximadamente 65–70% da área do risco, enquanto a doxorrubicina apresentou valor intermediário, em torno de 55–60%.

Os dados quantitativos expressos em percentagem da área do risco confirmam que, ao final de 24 horas, a condição CPD manteve maior área remanescente do que o controlo negativo, enquanto a doxorrubicina apresentou redução intermediária da migração celular.

As imagens representativas corroboram os dados quantitativos, demonstrando visualmente menor fechamento da ferida nas células tratadas com CPD quando comparadas ao controlo negativo, especialmente no período de 24 horas.

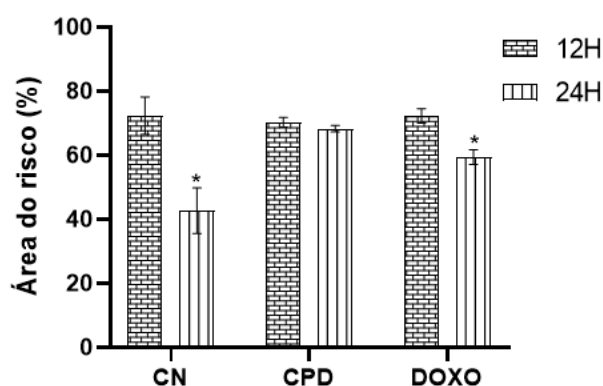


Figura 5. Quantificação da migração celular em células HeLa após tratamento com extratos de *C. phaea*. Análise quantitativa do ensaio de wound healing, expressa como percentagem da área do risco remanescente em relação ao tempo inicial (T0). Células HeLa foram tratadas com a fração CPD ou com doxorrubicina (DOXO) e comparadas ao controle negativo (CN). As imagens foram analisadas no software ImageJ para determinar a área da ferida nos tempos de 12h e 24h. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes, realizados em triplicata. A análise estatística foi conduzida utilizando o software GraphPad Prism, conforme descrito na metodologia, sendo consideradas significativas as diferenças indicadas por * ($p < 0,05$) em comparação ao controle negativo.

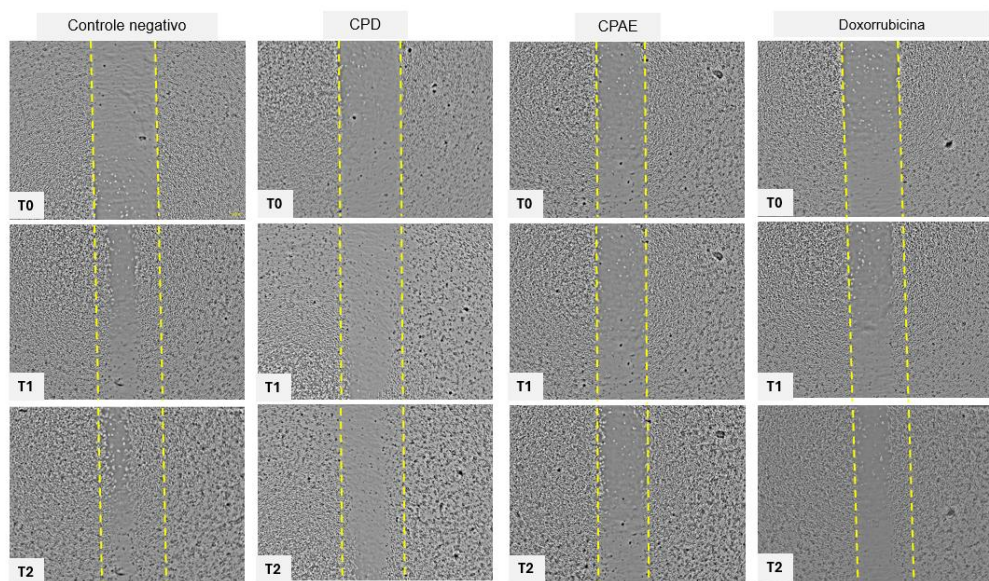


Figura 6. Ensaio de migração celular (wound healing) em células HeLa tratadas com extratos de *Campomanesia phaea*. Imagens representativas do ensaio de cicatrização de ferida (wound healing) realizado em monocamadas de células HeLa. Após a formação do risco linear na monocamada celular, as células foram tratadas com a fração CPD, fração CPAE, doxorrubicina (controle positivo) ou mantidas em meio de cultura como controle negativo. As imagens foram adquiridas nos tempos T0 (0 h), T1 (12 h) e T2 (24 h) utilizando microscópio EVOS (Thermo Fisher Scientific). As linhas tracejadas indicam os limites da área inicial da ferida, utilizada como referência para análise da migração celular. O experimento foi realizado em três experimentos independentes.

4.4 ANÁLISE DO CICLO CELULAR POR CITOMETRIA DE FLUXO

A distribuição das células nas diferentes fases do ciclo celular foi avaliada por citometria de fluxo após tratamento com controle negativo, doxorrubicina e fração CPD. Os resultados foram expressos em porcentagem de células nas fases Sub-G0, G1, S e G2/M.

No grupo controle, observou-se predominância de células na fase G1 (62,5%), seguida pela fase S (26,9%) e G2/M (5,5%). A fração Sub-G0 representou 3,9% da população celular. O tratamento com doxorrubicina resultou em aumento expressivo da população na fase Sub-G0 (40,0%). Observou-se ainda distribuição de 42,6% das células em G1, 13,8% em fase S e 0,4% em G2/M.

Para a fração CPD, verificou-se 23,3% das células na fase Sub-G0, 42,8% em G1, 29,2% em fase S e 3,2% em G2/M. Os dados encontram-se na tabela apresentada, demonstrando alterações na distribuição do ciclo celular entre os diferentes tratamentos avaliados.

Tabela 3 Distribuição das células nas fases do ciclo celular após tratamento com extrato de *Campomanesia phaea*. Distribuição percentual das células HeLa nas fases Sub-G0, G1, S e G2/M do ciclo celular após tratamento com fração CPD ou doxorubicina, em comparação ao controle negativo. As células foram coradas com iodeto de propídio (PI) e analisadas por citometria de fluxo no citômetro Guava® Muse® Cell Analyzer (Cytex Biosciences). Os dados foram obtidos a partir da intensidade de fluorescência correspondente ao conteúdo de DNA celular e analisados com o software Flowing Software 2. A análise estatística foi feita por Anova seguido de teste de Tukey, onde * = $p < 0,005$.

Tratamento	Sub-G0 (%)	G1 (%)	S (%)	G2/M (%)
Controle	3,9	62,5	26,9	5,5
Doxorrubicina	40,0*	42,6*	13,8*	0,4*
CPD	23,3*	42,8*	29,2	3,2*

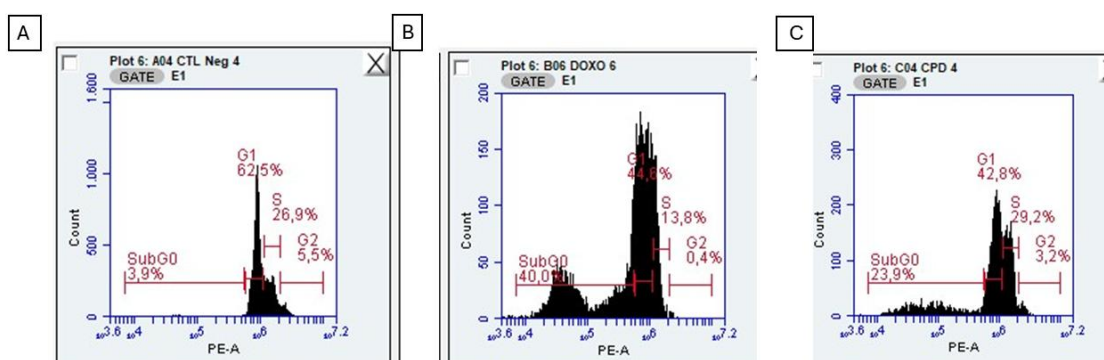


Figura 7. Análise do ciclo celular por citometria de fluxo em células submetidas aos diferentes tratamentos experimentais. Os histogramas representam a distribuição do conteúdo de DNA das células coradas com iodeto de propídio (PI), permitindo a identificação das fases do ciclo celular: SubG0/G1, G0/G1, S e G2/M. As porcentagens indicadas em cada pico correspondem à frequência de células em cada fase do ciclo celular. (A) grupo controle negativo; (B) células tratadas com doxorubicina; e (C) células tratadas com CPD. Os experimentos foram realizados em três experimentos independentes.

4.5 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO DAS AMOSTRAS POR LC-MS/MS

O perfil fitoquímico das frações de diclorometano (CPD) e acetato de etila (CPAE) dos frutos de *Campomanesia phaea* foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), revelando a presença de seis compostos principais na fração CPD e oito na fração CPAE.

Espectros de massa de varredura completa (50–1500 Da) foram obtidos para ambas as frações por CLAE-DAD-ESI-HRMS/MS, nos modos de ionização positivo e negativo. A interpretação do íon molecular, do respetivo padrão de fragmentação e das informações relativas à fórmula molecular, obtidas a partir dos espectros de massa de alta resolução, permitiu a identificação provisória dos compostos majoritários. Os tempos de retenção, bem como os dados espectrométricos e as atribuições propostas com base nos modos de ionização positivo e negativo, encontram-se descritos nas **Figuras 8-11 e Tabela 4**.

Os picos com tempos de retenção de 19,0 e 28,2 minutos para CPD e 18,9 e 28,0 minutos para CPAE apresentaram o mesmo valor de íon precursor, tanto no modo negativo $[M-H]^-$ quanto no modo positivo $[M+H]^+$, compatível com a fórmula molecular $C_{16}H_{14}O_4$. Além disso, exibiram padrão de fragmentação altamente semelhante. A perda de CH_3 (-15 Da), CO_2 (-44 Da) e a clivagem do anel C por mecanismo de Retro Diels–Alder, resultando na perda do anel B (-104 Da), observadas nos espectros obtidos em ambos os modos de ionização, estão de acordo com dados descritos na literatura, permitindo a anotação desses picos como isômeros de Alpinetina.

De modo semelhante, os picos com tempos de retenção de 21,3 e 31,8 minutos para CPD e 21,3 e 31,7 minutos para CPAE apresentaram valores muito próximos de m/z para o íon precursor $[M+H]^+$, compatíveis com a fórmula $C_{16}H_{14}O_4$, além de padrões de fragmentação com elevada similaridade. Esses dados permitiram a sua anotação como isômeros de Stercurensina, sendo observada a perda de $C_6H_5-CH=CH$ (-104 Da), em concordância com o perfil descrito na literatura.

Nos tempos de retenção de 25,7 e 26,8 minutos para CPD e 26,2 e 27,3 minutos para CPAE, foram identificados dois picos com valores idênticos de m/z para o íon precursor $[M-H]^-$ e fragmentos com valores e intensidades muito próximos, indicando tratar-se de isômeros. O padrão de fragmentação caracterizou-se pela perda de CH_2-CO (-42 Da) e de $C_6H_5-CH=CH$ (-104 Da), resultante da clivagem entre C8 e C9, compatível com dados previamente descritos, permitindo a anotação desses compostos como isômeros de Cardamonina.

Adicionalmente, no cromatograma da fração CPAE, em 12,2 minutos, foi observado íon precursor $[M-H]^-/[M+H]^+$ com m/z 447,0952/449,1089, compatível com a fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{11}$. A fragmentação evidenciou perda de 146 Da, gerando íons aglicona com m/z 301,0335 e 303,0531, padrão característico de flavonoides glicosilados. Com base nesses dados, o composto foi anotado como Quercitrina.

Por fim, o pico com tempo de retenção de 24,3 minutos na fração CPAE apresentou íon precursor $[M-H]^-$ m/z 255,0667, compatível com a fórmula molecular $C_{14}H_{12}O_4$. O padrão de fragmentação, caracterizado pela perda de CH_2-CO (-42 Da) e $C_6H_5-CH=CH$ (-104 Da), mostrou-se consistente com o descrito para o flavonoide Pinacembrina, permitindo sua anotação preliminar.

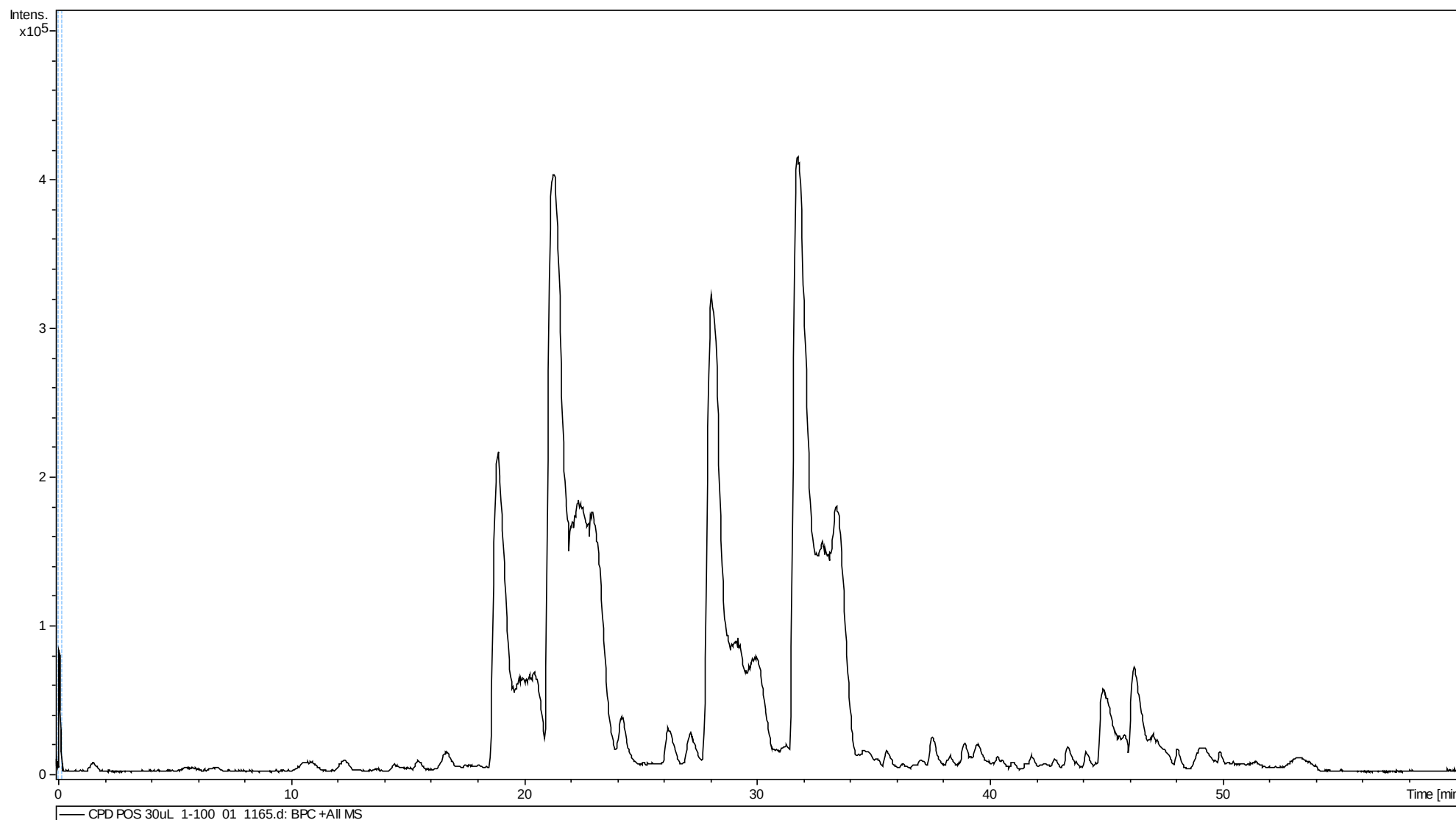


Figura 8. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPD, registrado em função do tempo de retenção (min). O eixo x representa o tempo de retenção e o eixo y corresponde à intensidade do sinal detectado. Os diferentes picos observados ao longo do cromatograma indicam a presença de múltiplos compostos presentes na amostra. CPD BPC modo positivo

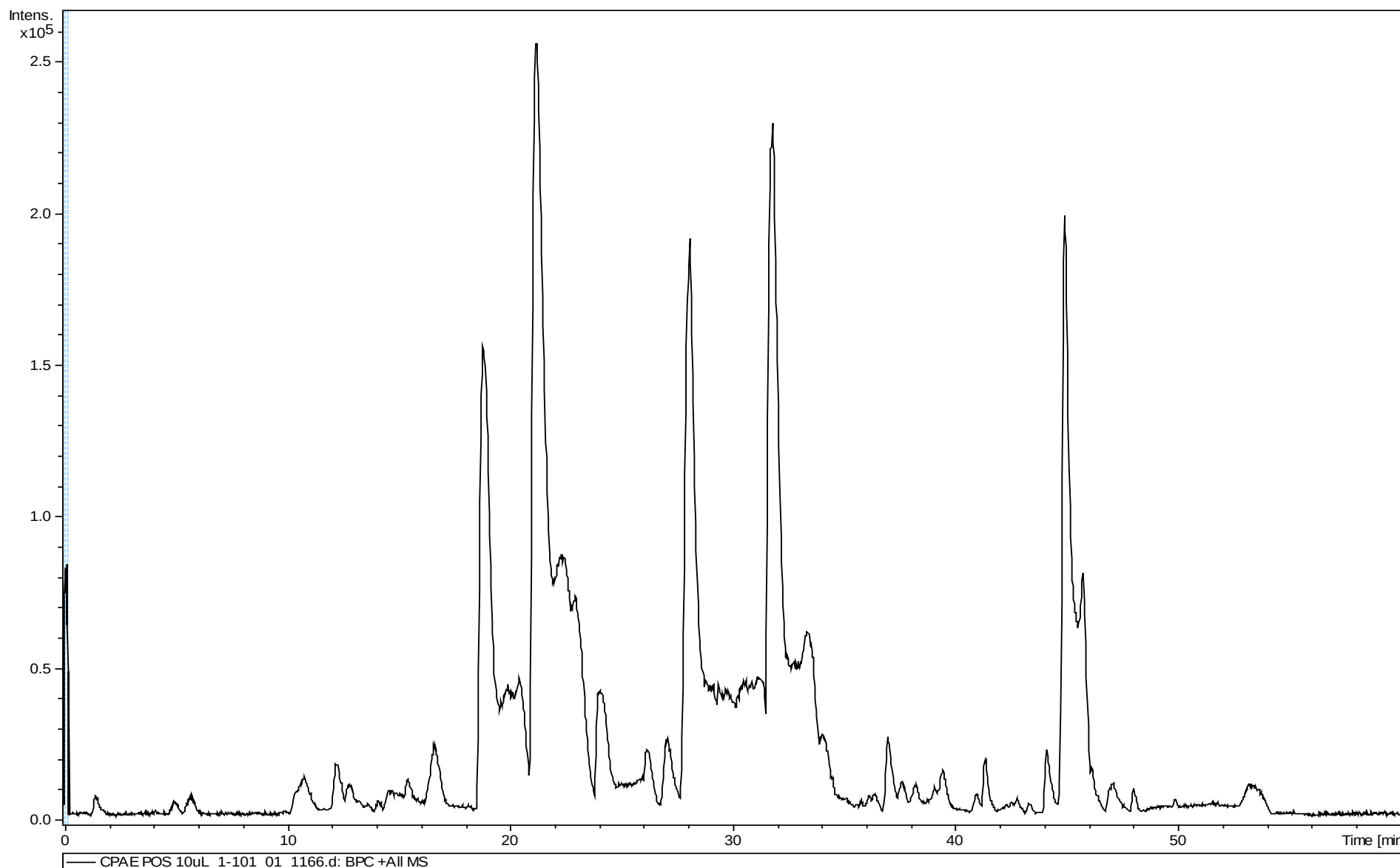


Figura 9. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPAE, registrado em função do tempo de retenção (min). O eixo x representa o tempo de retenção e o eixo y corresponde à intensidade do sinal detectado. Os diferentes picos observados ao longo do cromatograma indicam a presença de múltiplos compostos presentes na amostra. CPAE BPC modo positivo.

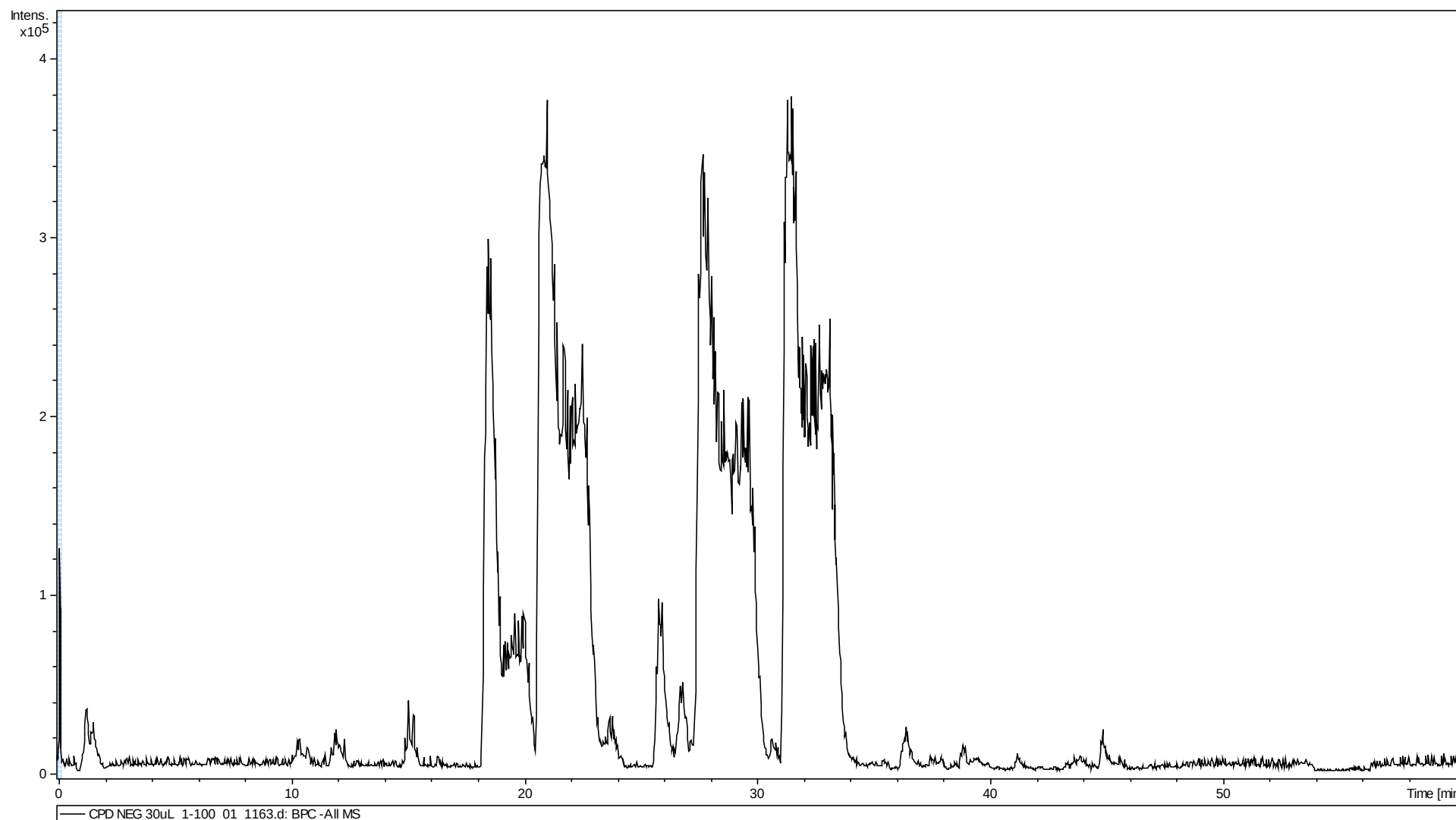


Figura 10. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPD, registrado em função do tempo de retenção (min). O eixo x representa o tempo de retenção e o eixo y corresponde à intensidade do sinal detectado. Os diferentes picos observados ao longo do cromatograma indicam a presença de múltiplos compostos presentes na amostra. CPD BPC modo negativo.

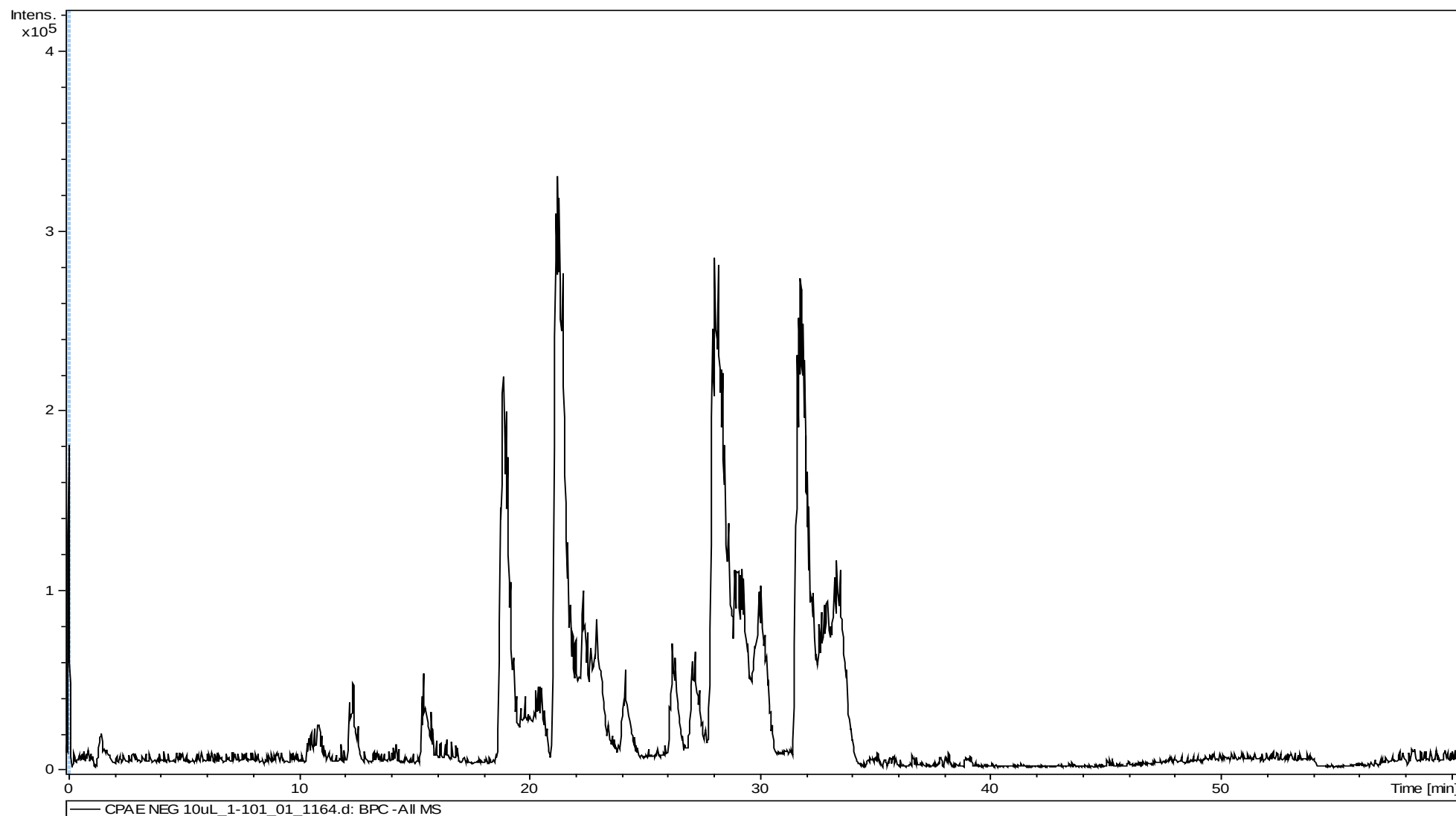


Figura 11. Cromatograma obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do extrato CPAE, registrado em função do tempo de retenção (min). O eixo x representa o tempo de retenção e o eixo y corresponde à intensidade do sinal detectado. Os diferentes picos observados ao longo do cromatograma indicam a presença de múltiplos compostos presentes na amostra. CPAE BPC modo negativo

Tabela 4. Tentativa de assinalamento de substâncias em CPD por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por matriz de diodos em tandem com espectrometria de massa com ionização por eletrospray (CLAE-DAD-ESI-EM/EM).

T _R (min.)	[M+H] ⁺ ^a / [M-H] ⁻ ^b (m/z)	Fórmula Molecular	Calcd.	Erro (ppm)	MS/MS (%)	Tentativa de assinalamento	Referência
19,0	271,0968 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0969	-1,4	167,0337 (100,0), 152,0191 (11,2), 131,0497 (5,5), 124,0178 (14,3), 103,0584 (9,8)	Isômero de alpinetina	(Ye <i>et al.</i> , 2018)
	269,0815 ^b		269,0819	1,7	254,0554 (23,4), 253,0516 (30,2), 235,2318 (23,9), 227,0742 (26,8), 216,0412 (28,2), 184,0547 (45,6), 165,0202 (60,9), 149,9964 (100,0)		(Zhao <i>et al.</i> , 2020)
21,3	285,1135 ^a	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	285,1121	-4,8	269,0796 (6,0), 181,0495 (100,0), 166,0251 (23,5), 153,0188 (57,1), 125,0260 (10,7), 110,0390 (6,3), 103,0578 (6,0)	Isômero de stercurensina	(Oliveira, de <i>et al.</i> , 2025)
25,7	269,0819 ^b	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269,0819	0,0	269,0847 (91,1), 241,0844 (23,7), 233,2493 (32,7), 227,0661 (97,4), 225,0902 (31,0), 199,0763 (62,9), 183,0730 (34,9), 171,0456 (55,2), 165,0194 (100,0), 145,0602 (25,47), 121,0314 (34,7)	Isômero de cardamonina	(He <i>et al.</i> , 2009)
26,8	268,0818 ^b	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	269,0818	0,6	269,0807 (100,0), 241,0869 (17,8), 227,0768 (82,1), 225,0908 (30,1), 199,0750 (46,5), 183,0790 (35,4), 171,0445 (43,4), 165,0206 (78,4), 145,0654 (31,4), 121,0325 (27,9)	Isômero de cardamonina	(He <i>et al.</i> , 2009)
28,2	271,0955 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0969	3,5	170,0154 (20,6), 167,0326 (100,0), 152,0089 (19,4), 131,0484 (4,1), 124,0170 (24,0), 103,0572 (11,7)	Isômero de alpinetina	(Ye <i>et al.</i> , 2018)
	269,0526 ^b		269,0819	-2,4	254,0548 (32,6), 253,0505 (100,0), 226,0614 (58,9), 225,0614 (29,3), 216,0422 (11,1), 184,0509 (18,8), 177,0164 (58,3), 165,0200 (43,2), 149,9967 (26,5)		(Zhao <i>et al.</i> , 2020)
31,8	285,1129 ^a	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	285,1121	-2,8	269,0771 (2,4), 181,0483 (100,0), 166,0244 (28,7), 153,0176 (77,5), 138,0312 (8,6), 125,0255 (13,8), 110,0385 (9,3), 103,0573 (7,9)	Isômero de stercurensina	(Oliveira, et al., 2025)

T _R (min.)	[M+H] ⁺ ^a / [M-H] ⁻ ^b (m/z)	Fórmula Molecular	Calcd.	Erro (ppm)	MS/MS (%)	Tentativa de assinalamento	Referência
12,2	449,1089 ^a	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449,1078	-2,4	303,0532 (100,0)	Quercitrina (Quercetina 3-O-ramnosideo)	(Lin <i>et al.</i> , 2008)
	447,0952 ^b		4470933	-4,3	301,0335 (76,9), 300,0276 (100,0)		(Lin <i>et al.</i> , 2008; Pascoal <i>et al.</i> , 2011)
18,9	271,0957 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0969	4,5	170,0168 (15,8), 167,0328 (100,0), 152,0086 (11,4), 131,0488 (5,4), 124,0164 (14,5), 103,0567 (8,9)	Isômero de alpinetina	(Ye <i>et al.</i> , 2018)
	269,0828 ^b		269,0819	-3,4	286,0483 (20,6), 259,3611 (21,5), 254,0576 (34,9), 253,0508 (30,9), 227,0713 (36,6), 216,0456 (34,7), 184,0533 (67,0), 165,0201 (61,8), 149,9968 (100,0), 121,0290 (16,0)		(Zhao <i>et al.</i> , 2020)
21,3	285,1112 ^a	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	285,1121	3,2	269,0778 (5,1), 181,0484 (100,0), 166,0238 (21,2), 153,0178 (60,7), 121,0251 (12,1), 110,0384 (6,0), 103,0570 (5,3)	Isômero de stercurensina	(Oliveira, de <i>et al.</i> , 2025)
24,3	255,0667 ^b	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	255,0663	-1,8	255,0602 (45,6), 213,0563 (74,0), 189,6876 (100,0), 171,0430 (99,9), 151,0048 (83,8), 145,0646 (50,9)	Pinocembrina	(Sawaya, 2006)
26,3	271,0978 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0965	-4,9	167,0350 (100,0), 131,0519 (17,8), 103,0575 (28,3)	Isômero de cardamonina	(Carvalho <i>et al.</i> , 2012)
	269,0817 ^b		269,0819	0,9	269,0813 (100,0), 241,0858 (23,3), 231,6968 (35,4), 227,0702 (85,1), 225,0858 (40,6), 213,2355 (28,3), 199,0575 (55,2), 183,0767 (28,1), 171,0442 (57,4), 165,0202 (91,4), 121,0285 (26,9)		(He <i>et al.</i> , 2009)
27,3	271,0975 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0965	-3,7	167,0350 (100,0), 131,0503 (18,6), 103,0579 (34,3)	Isômero de cardamonina	(Carvalho <i>et al.</i> , 2012)
	269,0821 ^b		269,0819	-0,4	269,0802 (54,0), 227,0712 (53,0), 225,0857 (48,3), 199,0789 (25,2), 183,0778 (42,2), 176,3916 (44,2), 171,0461 (85,1), 165,0208 (100,0)		(He <i>et al.</i> , 2009)
28,0	271,0979 ^a	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	271,0969	-4,7	170,0201 (21,2), 167,0353 (100,0), 152,0112 (15,8), 131,0514 (5,1), 124,0188 (19,3), 103,0580 (11,9)	Isômero de alpinetina	(Ye <i>et al.</i> , 2018)
	269,0827 ^b		269,0819	-3,0	269,0971 (12,9), 258,0564 (19,8), 254,0500 (27,0), 253,0496 (100,0), 226,0622 (46,3), 225,0476 (40,1), 177,0198 (45,7), 149,9977 (28,7)		(Zhao <i>et al.</i> , 2020)
31,7	285,1135 ^a	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	285,1121	-4,7	184,0327 (15,5), 181,0512 (100,0), 166,0269 (23,3), 153,0204 (73,3), 138,0334 (8,8), 125,0273 (14,9), 110,0399 (9,1), 103,0585 (6,8)	Isômero de stercurensina	(Oliveira, de <i>et al.</i> , 2025)

4.6 SUBSTÂNCIA ISOLADA

Em comparação com dados da literatura (ZAKI *et al.*, 2016; PERALTA *et al* 2014) e a partir da análise dos espectros de ^1H e ^{13}C (Figuras 13 – 19), constatou-se o isolamento e a caracterização estrutural do flavonoide 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona (Figura 12). Os dados de RMN (Tabela 6) de ^1H apresentaram sinais condizentes com o esqueleto típico de chalconas, sendo observado um multiplete em δ_{H} 7.66 (2H) e um conjunto de sinais sobrepostos em δ_{H} 7,42 (3H) indicando a presença do anel aromático B não substituído e um singlete em δ_{H} 6,23 (H-5') correspondente ao hidrogênio do anel aromático A tetrasubstituído.

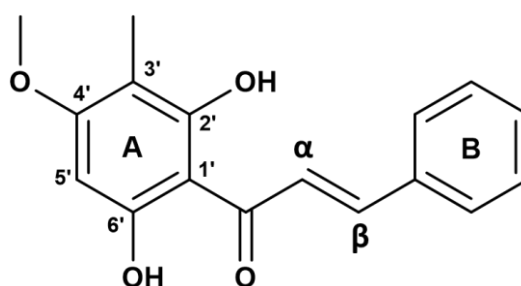


Figura 12. Estrutura química da 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

O espectro apresentou singletos atribuídos aos substituintes do anel A, em δ_{H} 13,27 (6' - OH) correspondente a presença de hidroxila quelatogênica, em δ_{H} 3,69 (3H, 4' - OCH₃) típico de grupamento metóxi e δ_{H} 2,12 (3H, 3' - CH₃) associado a presença de grupo metil. Foram observados dupletos em δ_{H} 7,98 (1H, $J_{\text{AB}} = 15.7$ Hz) e δ_{H} 7,85 (1H, $J_{\text{AB}} = 15.7$ Hz) correspondentes a hidrogênios olefinicos condizentes com um sistema carbonílico α - β insaturado típico do esqueleto de chalconas (SAHU *et al.*, 2012), corroborado com a presença de carbono de grupo carbonila no espectro de ^{13}C em δ_{C} 193,3 e carbonos olefinicos em δ_{C} 126,5 (C- α) e δ_{C} 143,4 (C- β).

O espectro de ^{13}C apresentou sinais em δ_{C} 161,5 (C-2'), δ_{C} 161,6 (C-4') e δ_{C} 164,3 (C-6') associados aos carbonos insaturados oxigenados presentes no anel A e os sinais em δ_{C} 62,4 (4' - OCH₃) e δ_{C} 8,1 (3' - CH₃) correspondentes a seus substituintes. A posição dos substituintes foi estabelecida por meio da comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , obtidos no mesmo solvente, com aqueles descritos para chalconas isoméricas no anel A que diferem apenas quanto ao padrão de substituição neste anel (GAFNER *et al*, 1995;

SALMAZZO *et al*, 2019; AMOR *et al*, 2007). Foram observados sinais na região de δ_C 128,6-135,4 associados aos carbonos aromáticos pertencentes ao anel B não substituído.

Tabela 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona isolada ^a e da literatura ¹ (ZAKI *et al.*, 2016) em CDCl_3 .

a			1	
posição	δ_H , (J em Hz)	δ_C	δ_H (J em Hz)	δ_C
1		135,4		135,2
2	7,64 -7,66, <i>m</i>	128,6	7,66, <i>m</i>	128,4
3	7,41 -7,42, <i>m</i> ^c	129,1	7,42, <i>m</i>	128,9
4	7,41-7,42, <i>m</i> ^c	130,4	7,42, <i>m</i>	130,0
5	7,41 -7,42, <i>m</i> ^c	129,1	7,42, <i>m</i>	128,9
6	7,64 -7,66, <i>m</i>	128,6	7,66, <i>m</i>	128,4
α	7,98, <i>d</i> (15,7)	126,5	7,98, <i>d</i> (15,6)	126,3
β	7,85, <i>d</i> (15,7)	143,4	7,85, <i>d</i> (15,6)	143,2
1'		109,7		109,6
2'		161,5		161,3
3'		110,2		110,1
4'		161,6		164,4
5'	6,23, <i>s</i>	99,8	6,22, <i>s</i>	99,7
6'		164,3		164,1
4' – OCH_3	3,69, <i>s</i>	62,4	3,70, <i>s</i>	62,2
3' – CH_3	2,12, <i>s</i>	8,1	2,14, <i>s</i>	8,0
6' – OH	13,27, <i>s</i>		13,32, <i>s</i>	
C=O		193,3		193,1

^a RMN de ^1H (500 MHz); RMN ^{13}C (125 MHz). ¹ RMN de ^1H (400 MHz); RMN ^{13}C (100 MHz).^c sinais sobrepostos.

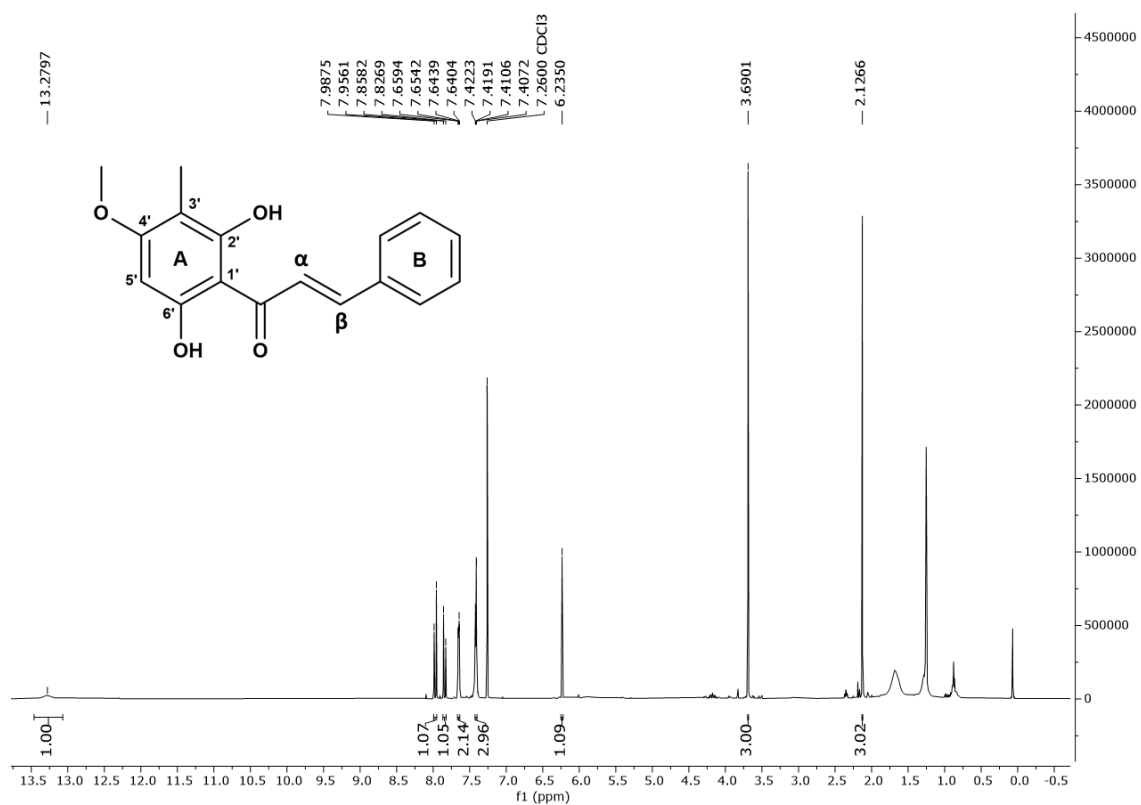


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

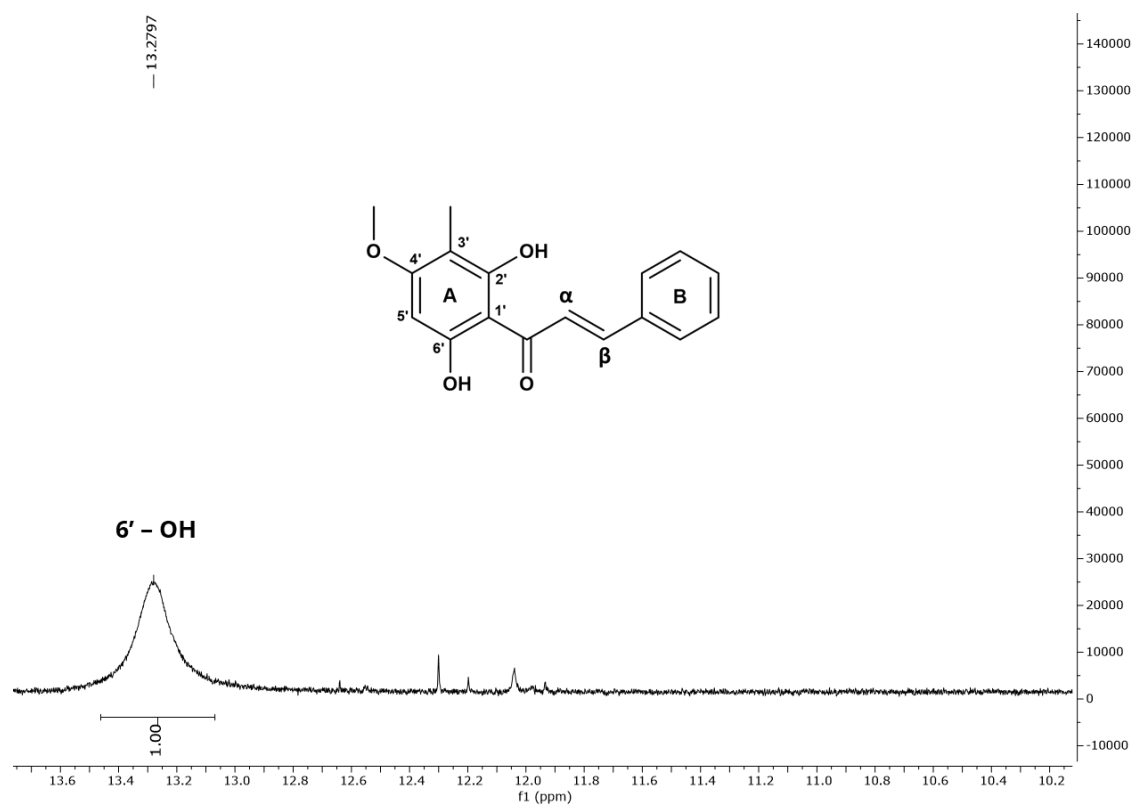


Figura 14. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

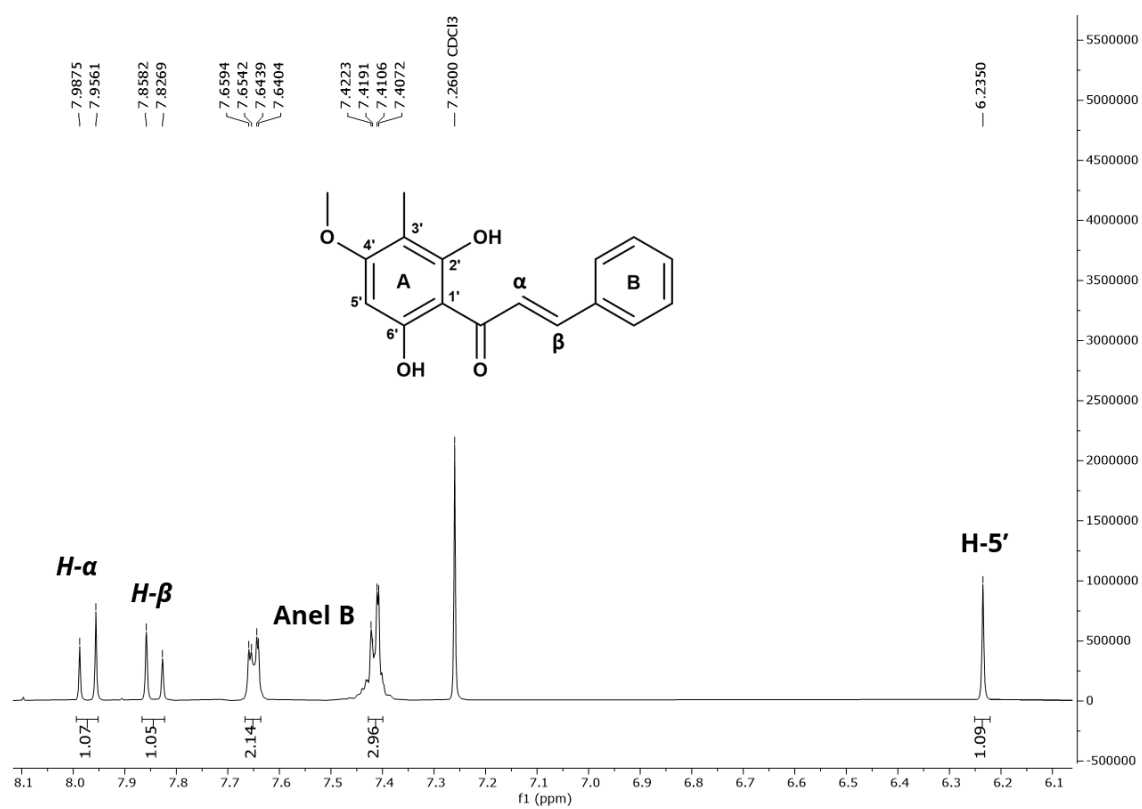


Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

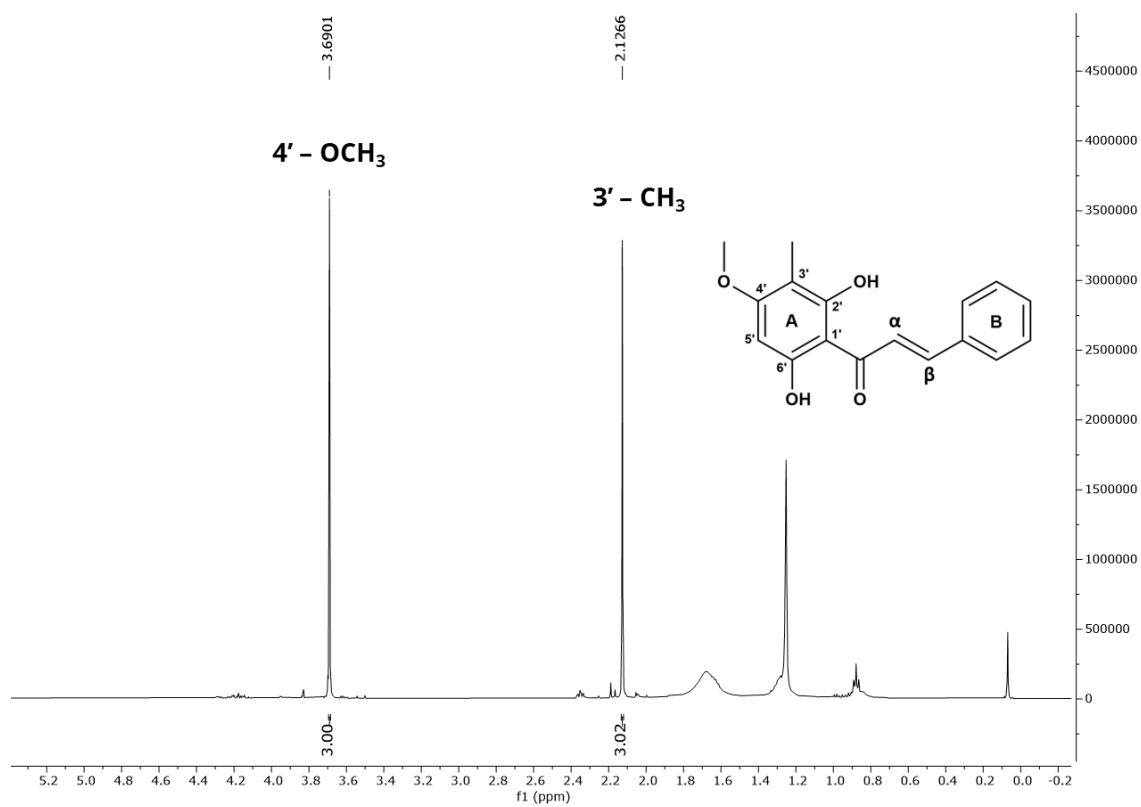


Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

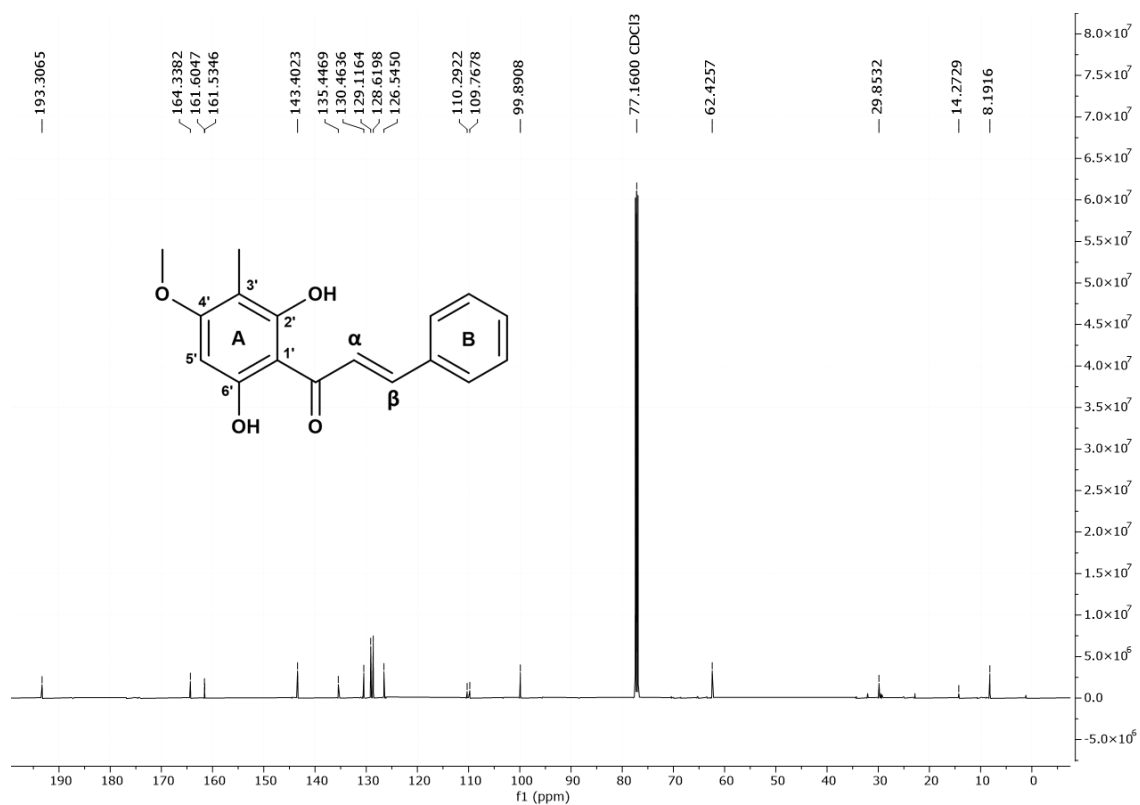


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

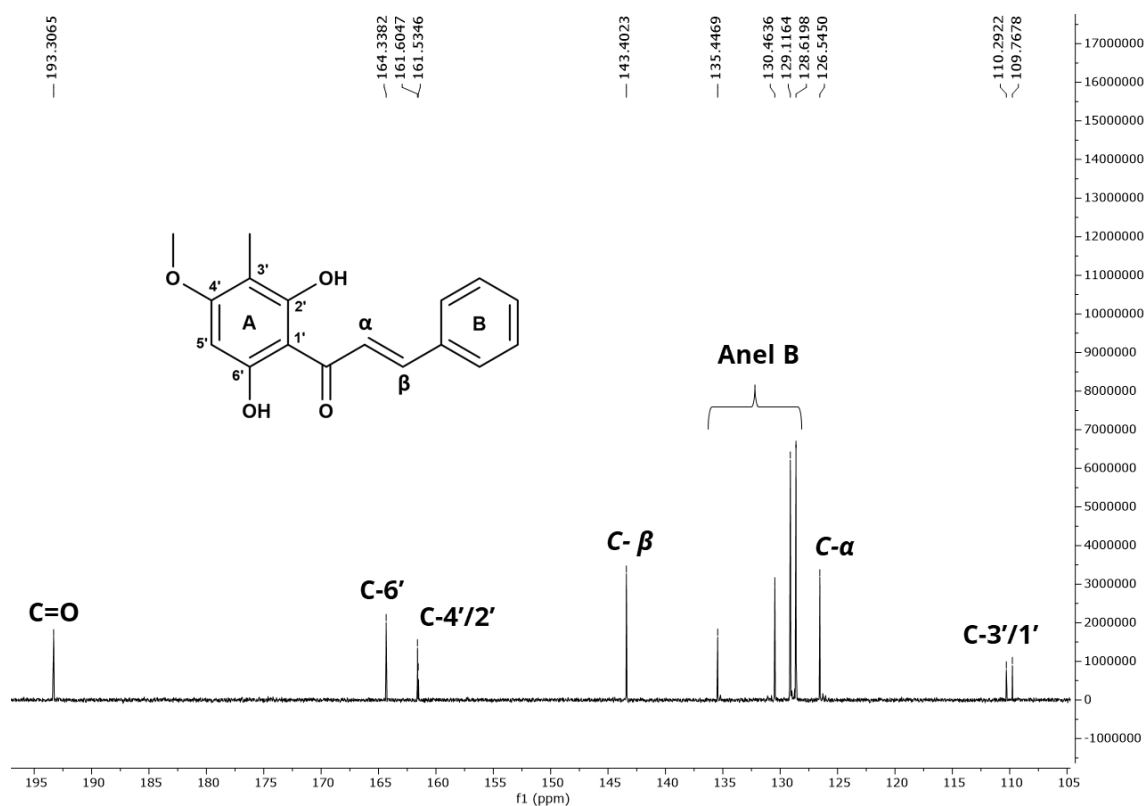


Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

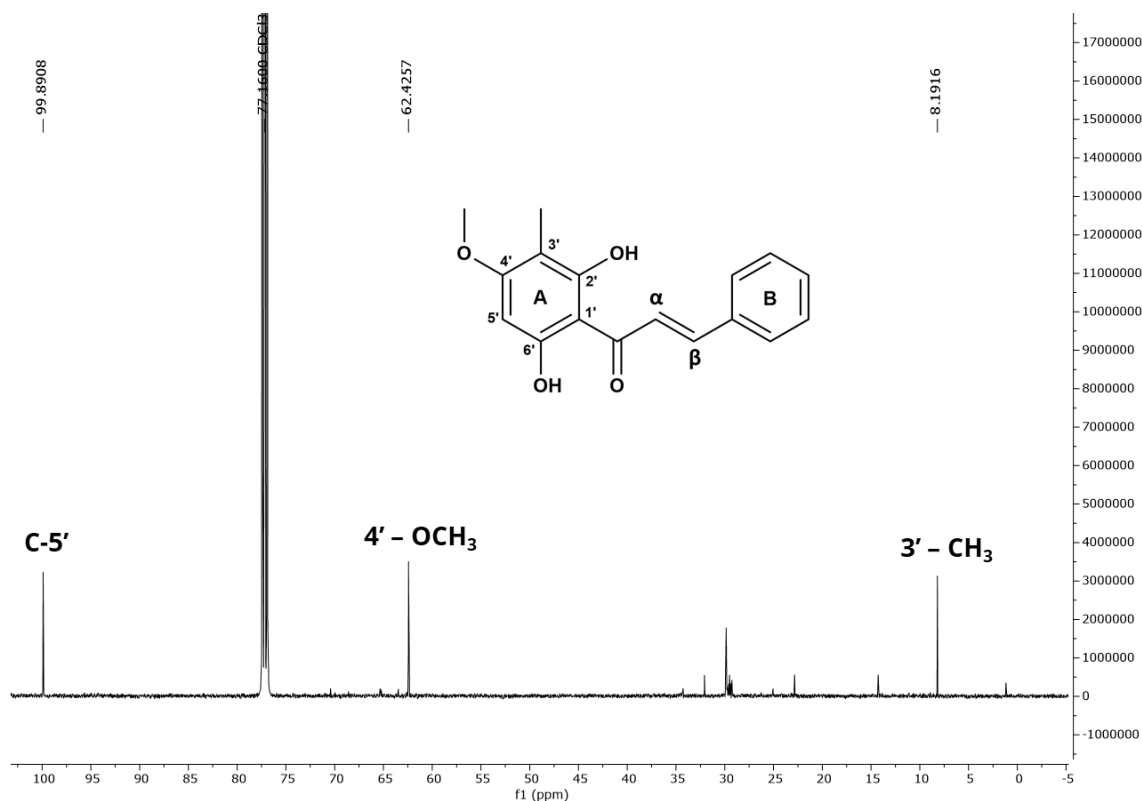


Figura 19. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (125MHz) em CDCl_3 de 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-3'-metilchalcona

5.0 DISCUSSÃO

O câncer cervical permanece como um dos principais desafios em saúde pública em escala global, estando entre as neoplasias mais incidentes e letais que acometem mulheres, particularmente em países de baixa e média renda, onde estratégias de prevenção e acesso ao tratamento são limitados (WU et al., 2025; BORDA et al., 2024; PIMPLE et al., 2022). Em 2022, estimaram-se aproximadamente 662 mil novos casos e 348 mil óbitos, consolidando essa neoplasia como a quarta principal causa de incidência e mortalidade por câncer entre mulheres (LI et al., 2025). Esses dados evidenciam a persistente necessidade de identificação de novas abordagens terapêuticas que aliem eficácia, segurança e acessibilidade.

Do ponto de vista molecular, a carcinogênese cervical está fortemente associada à infecção persistente por tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), especialmente HPV-16 e HPV-18, cuja expressão contínua das oncoproteínas E6 e E7 resulta na inativação funcional de p53 e pRb,

respectivamente (MÜNGER et al., 1991; FERENCZY et al., 2002; NARISAWA-SAITO et al., 2007). Essa desregulação compromete mecanismos fundamentais de controle do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose, favorecendo instabilidade genômica, proliferação sustentada e progressão tumoral (YUGAWA et al., 2009; BALASUBRAMANIAM et al., 2019; TAGHIZADEH et al., 2019). Além disso, a ativação constitutiva de vias de sinalização associadas à sobrevivência e crescimento celular, como PI3K/Akt, MAPK e JAK/STAT, contribui para a manutenção do fenótipo maligno e para o desenvolvimento de resistência terapêutica (SCHMELZLE & HALL, 2000; EVAN & VOUSDEN, 2001; TANG et al., 2017; SANCHEZ-VEGA et al., 2018).

Nesse cenário, produtos naturais têm se consolidado como uma importante fonte de agentes anticancerígenos devido à ampla diversidade estrutural, à capacidade de modular múltiplos alvos moleculares e, frequentemente, à menor toxicidade sistêmica quando comparados a fármacos sintéticos convencionais (WILSON et al., 2007; LIU et al., 2010; HASHEM et al., 2022; DENG et al., 2024). Entre esses compostos, flavonoides e outros fenólicos destacam-se por apresentarem atividades antiproliferativa, pró-apoptótica e antimigratória em diferentes modelos tumorais, incluindo câncer cervical (YANG et al., 2020; FARAONE et al., 2020; LEONETTI et al., 2025; ZHANG et al., 2024).

Espécies da família Myrtaceae têm recebido atenção crescente nesse contexto, uma vez que apresentam elevada diversidade de metabólitos secundários bioativos, incluindo flavonoides, compostos fenólicos, triterpenoides e antocianinas, frequentemente associados a atividades antioxidantes e antitumorais (AL-SNAFI et al., 2024; PERRY et al., 2023; SOUZA et al., 2018). Estudos experimentais indicam que extratos derivados dessa família podem interferir em múltiplos processos celulares envolvidos na progressão tumoral, incluindo proliferação, apoptose, ciclo celular e migração celular.

No presente estudo, a atividade citotóxica dos extratos de *Campomanesia phaea* foi avaliada em células HeLa e na linhagem não tumoral NIH/3T3, permitindo analisar tanto a potência quanto a seletividade do efeito observado. O extrato CPD apresentou IC₅₀ de 16,36 µg/mL em HeLa e 19,14 µg/mL em NIH/3T3, enquanto o CPAE apresentou IC₅₀ de 23,18 µg/mL e 22,48 µg/mL, respectivamente. Já o extrato CPH apresentou IC₅₀ inferior a 100 µg/mL para

ambas as linhagens, não sendo possível estabelecer seletividade. A doxorrubicina, utilizada como controle positivo, apresentou IC₅₀ de 4,26 µg/mL em HeLa e 7,44 µg/mL em NIH/3T3.

De acordo com os critérios do National Cancer Institute, extratos brutos são considerados ativos quando apresentam IC₅₀ ≤ 200 µg/mL, sendo valores inferiores a 20 µg/mL frequentemente classificados como promissores (CANGA et al., 2022; CORTELO et al., 2021). À luz desses parâmetros, CPD e CPAE demonstram atividade citotóxica relevante, com destaque para o CPD, cujo IC₅₀ em HeLa situa-se dentro da faixa considerada altamente promissora.

Resultados comparáveis foram descritos para extratos de espécies da própria família Myrtaceae. Extratos de *Myrciaria glazioviana*, por exemplo, apresentaram atividade antiproliferativa significativa em células HeLa, com valores de IC₅₀ entre 12,62 e 24,31 µg/mL (PEREIRA et al., 2024). De maneira semelhante, extratos de folhas de *Eugenia brasiliensis* demonstraram atividade citotóxica relevante contra células de câncer cervical, com IC₅₀ de 31,03 µg/mL para o extrato de diclorometano, além de promover retenção celular na fase G0/G1 e inibição da migração celular (DE OLIVEIRA et al., 2025). Esses efeitos foram associados à presença de compostos fenólicos e flavonoides.

Extratos de folhas de *Eugenia uniflora* também demonstraram atividade citotóxica significativa contra células HeLa, com valores de IC₅₀ inferiores a 40 µg/mL e elevada seletividade em relação a células não tumorais (PESCINELLI et al., 2025), além de induzirem alterações no ciclo celular e eventos associados à apoptose.

A indução de morte celular constitui um dos principais mecanismos associados à atividade anticancerígena de extratos vegetais. No presente estudo, esse processo foi evidenciado pelo aumento da população de células PI-positivas, indicando comprometimento da integridade da membrana plasmática (VERMES et al., 1995; CROWLEY et al., 2016). Embora essa abordagem não permita distinguir entre apoptose e necrose, os dados obtidos reforçam o potencial citotóxico dos extratos avaliados.

A análise do ciclo celular revelou aumento expressivo da população Sub-G0 após tratamento com CPD, sugerindo fragmentação de DNA e morte celular.

Esse perfil é consistente com achados descritos para outras espécies da família Myrtaceae, como *Myrtus communis* e espécies ricas em antocianinas, que demonstram capacidade de modular o ciclo celular e induzir apoptose (MIR et al., 2024; SIMAS FRAUCHES et al., 2021).

A migração celular, etapa fundamental na progressão tumoral, também foi significativamente inibida pelo extrato CPD, indicando possível interferência em mecanismos associados à invasividade celular. Resultados semelhantes têm sido descritos para espécies da família Myrtaceae, como *Eugenia pyriformis* e *Syzygium guineense*, que apresentam efeitos antimigratórios em modelos experimentais (ALVES et al., 2022; ALQATHAMA et al., 2020).

No que se refere ao perfil químico, a análise fitoquímica do extrato permitiu o isolamento da 2',6'-diidroxí-4'-metoxi-3'-metilchalcona, também conhecida como triangularina, um composto previamente descrito em espécies da família Myrtaceae, como *Eugenia rigida*, com estrutura elucidada por técnicas espectroscópicas (ZAKI et al., 2016). Avaliações biológicas indicam que esse composto apresenta baixa atividade citotóxica quando testado isoladamente, com valores de IC₅₀ superiores a 10 µM em diferentes linhagens celulares tumorais (ZAKI et al., 2016).

Apesar disso, a triangularina apresenta outras propriedades biológicas relevantes, incluindo atividade antimelanogênica, sendo capaz de inibir a enzima tirosinase de forma mais eficaz que o ácido kójico (SANTI et al., 2019). Esse efeito tem sido associado à sua capacidade de interação com o sítio ativo da enzima, conforme demonstrado por estudos de modelagem molecular.

Dessa forma, embora a triangularina não apresente atividade citotóxica expressiva de forma isolada, sua presença no extrato de *Campomanesia phaea* pode contribuir para os efeitos biológicos observados por meio de interações com outros metabólitos secundários. Além disso, sua identificação contribui para a caracterização química da espécie, representando um marcador fitoquímico relevante.

De forma integrada, os resultados indicam que os extratos de *Campomanesia phaea*, particularmente o CPD, exercem efeitos biológicos relevantes em células HeLa, incluindo redução da viabilidade celular, indução de

morte celular e inibição da migração. Esses efeitos são compatíveis com mecanismos descritos para metabólitos fenólicos presentes em espécies da família Myrtaceae, reforçando o potencial dessa planta como fonte de compostos bioativos com aplicação no contexto do câncer cervical.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os extratos das folhas de *Campomanesia phaea* apresentam atividade biológica relevante sobre células de câncer cervical, evidenciada pela redução da viabilidade celular, indução de morte celular e inibição da migração em células HeLa. Dentre os extratos avaliados, o extrato diclorometano (CPD) destacou-se por apresentar maior potencial citotóxico, com valores de IC₅₀ compatíveis com aqueles considerados promissores para extratos brutos, além de promover alterações significativas no ciclo celular, com aumento da população Sub-G0, sugerindo fragmentação de DNA e possível indução de morte celular programada.

Os efeitos observados são consistentes com mecanismos descritos para metabólitos secundários presentes em espécies da família Myrtaceae, especialmente compostos fenólicos e flavonoides, os quais têm sido amplamente associados à modulação do ciclo celular, indução de apoptose e interferência em processos relacionados à progressão tumoral. Nesse contexto, a capacidade do extrato em reduzir a migração celular reforça seu potencial em atuar não apenas sobre a proliferação, mas também sobre aspectos relacionados à invasividade tumoral.

A análise fitoquímica permitiu ainda o isolamento da 2',6'-diidroxí-4'-metoxi-3'-metilchalcona (triangularina), contribuindo para a caracterização química da espécie. Embora a literatura indique que esse composto apresenta baixa atividade citotóxica quando avaliado isoladamente, sua presença no extrato pode estar associada, de forma indireta, aos efeitos biológicos observados, possivelmente por meio de interações sinérgicas com outros metabólitos presentes no extrato.

De maneira geral, os achados deste trabalho reforçam o potencial de *Campomanesia phaea* como fonte promissora de compostos bioativos com atividade antitumoral, particularmente no contexto do câncer cervical. No entanto, estudos adicionais são necessários para aprofundar a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos, bem como para avaliar a eficácia e segurança desses extratos e compostos em modelos *in vivo*, visando sua futura aplicação no desenvolvimento de estratégias terapêuticas baseadas em produtos naturais.

6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

Considerando os resultados obtidos, estudos futuros poderão ser direcionados à elucidação detalhada dos mecanismos moleculares associados à atividade antitumoral dos extratos e da substância isolada, incluindo a avaliação de apoptose precoce e tardia por marcação com Anexina V/PI, análise do potencial de membrana mitocondrial, quantificação da ativação de caspases e investigação da modulação de proteínas da família Bcl-2.

Adicionalmente, a avaliação do impacto dos extratos sobre vias de sinalização envolvidas na proliferação e migração celular, como PI3K/Akt, MAPK, NF- κ B e TGF- β /SMAD, poderá contribuir para a construção de um modelo mecanístico mais robusto. Ensaios de expressão gênica e proteica, bem como abordagens de *docking* molecular e estudos *in silico*, também podem auxiliar na identificação de possíveis alvos moleculares.

Por fim, estudos de fracionamento guiado por bioatividade, associados à purificação e caracterização estrutural de outros constituintes presentes nos extratos, poderão possibilitar a identificação de novos compostos bioativos e a avaliação de possíveis efeitos sinérgicos. Em conjunto, essas abordagens poderão contribuir para o avanço do conhecimento sobre *Campomanesia phaea* e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras no contexto do câncer cervical.

7.0 REFERÊNCIAS

AL-RIMAWI, F. et al. Phenolic compounds as anticancer agents: mechanisms of action and future perspectives. *Pharmaceuticals*, Basel, v. 17, n. 1, p. 1–25, 2024. DOI: 10.3390/ph17010025.

ALVES, T. P. et al. Evaluation of the antiproliferative potential of *Eugenia pyriformis* leaves in cervical cancer cells. *Chemistry & Biodiversity*, Weinheim, v. 19, n. 8, e202200418, 2022. DOI: 10.1002/cbdv.202200418.

AMOR, Evangeline C. et al. Cytotoxic C-Methylated Chalcones from *Syzygium samarangense*. *Pharmaceutical Biology*, [S.L.], v. 45, n. 10, p. 777-783, jan. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/13880200701585956>.

ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. *Food Research International*, Ottawa, v. 121, p. 1–10, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.033.

BISHAYEE, K. et al. Quercetin induces cytochrome-c release and ROS accumulation to promote apoptosis and arrest the cell cycle in G2/M, in cervical carcinoma. *Cell Proliferation*, Oxford, v. 46, n. 2, p. 153–163, 2013. DOI: 10.1111/cpr.12015.

BORDA, H. et al. Status of HPV disease and vaccination programmes in LMICs: introduction to special issue. *Vaccine*, Amsterdam, v. 42, n. 2, p. 201–204, 2024. DOI: 10.1016/j.vaccine.2023.11.034.

BRITO, J. A. R. et al. Antiproliferative and anti-migratory activities of an extract from *Fridericia platyphylla* leaves and its molecular profile. *Plants*, Basel, v. 14, n. 1, p. 1–18, 2025. DOI: 10.3390/plants14010045.

BUCHER, N.; BRYANT, H. E. G2 checkpoint abrogation and checkpoint kinase-1 targeting in the treatment of cancer. *British Journal of Cancer*, London, v. 98, n. 3, p. 523–528, 2008. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604165.

CANGA, I. et al. In vitro cytotoxic activity of African plants: a review. *Molecules*, Basel, v. 27, n. 2, p. 1–30, 2022. DOI: 10.3390/molecules27020598.

DEHELEAN, C. A. et al. Plant-derived anticancer compounds as new perspectives in drug discovery and alternative therapy. *Molecules*, Basel, v. 26, n. 4, p. 1–29, 2021. DOI: 10.3390/molecules26041109.

DENG, X. et al. Natural products targeting cancer hallmarks: recent advances and future perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Paris, v. 169, p. 115881, 2024. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115881.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Polyphenols of cambuci (*Campomanesia phaea* (O. Berg.)) fruit ameliorate insulin resistance and hepatic steatosis in obese mice. *Food Chemistry*, Oxford, v. 311, p. 125914, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125914.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, Thousand Oaks, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007. DOI: 10.1080/01926230701320337.

EVAN, G. I.; VOUSDEN, K. H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*, London, v. 411, p. 342–348, 2001. DOI: 10.1038/35077213.

FARAONE, I. et al. Anticancer activity of plant secondary metabolites: a comprehensive review. *Phytochemistry Reviews*, Dordrecht, v. 19, n. 4, p. 999–1045, 2020. DOI: 10.1007/s11101-020-09690-0.

FERENCZY, A. et al. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *The Lancet Oncology*, London, v. 3, n. 1, p. 11–16, 2002. DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00607-3.

FRIEDL, P.; WOLF, K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 3, p. 362–374, 2003. DOI: 10.1038/nrc1075.

FULDA, S.; DEBATIN, K. M. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*, London, v. 25, n. 34, p. 4798–4811, 2006. DOI: 10.1038/sj.onc.1209608.

GAFNER, Stefan *et al.* Antifungal and Antibacterial Chalcones from *Myrica serrata*. **Planta Medica**, [S.L.], v. 62, n. 01, p. 67–69, fev. 1996. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-957804>.

GORE, M. et al. Exploring the metabolic alterations in cervical cancer induced by HPV oncoproteins: from mechanisms to therapeutic targets. *Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer*, Amsterdam, v. 1877, p. 188766, 2025. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.188766.

HAKIM, R. U. et al. Advances and challenges in cervical cancer: from molecular mechanisms and global epidemiology to innovative therapies and prevention strategies. *Cancer Control*, Tampa, v. 32, p. 1–18, 2025. DOI: 10.1177/10732748251336415.

HASHEM, S. et al. Natural products as anticancer agents: mechanisms of action and clinical implications. *Frontiers in Pharmacology*, Lausanne, v. 13, p. 899452, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.899452.

HOOD, J. D.; CHERESH, D. A. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 2, p. 91–100, 2002. DOI: 10.1038/nrc727.

JANTHAMALA, S. et al. Bioactive secondary metabolites and their role in cancer prevention and therapy. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v. 326, p. 117845, 2024. DOI: 10.1016/j.jep.2024.117845.

JOHNSON, D. G.; WALKER, C. L. Cyclins and cell cycle checkpoints. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Palo Alto, v. 39, p. 295–312, 1999. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.39.1.295.

KOPUSTINSKIENE, D. M. et al. Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, Basel, v. 12, n. 2, p. 1–25, 2020. DOI: 10.3390/nu12020457.

LEONETTI, D. et al. Phenolic compounds and flavonoids in cancer therapy: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Cancers*, Basel, v. 17, n. 2, p. 1–34, 2025. DOI: 10.3390/cancers17020435.

LI, G. et al. Flavonoids regulate inflammation and oxidative stress in cancer. *Molecules*, Basel, v. 25, n. 22, p. 1–19, 2020. DOI: 10.3390/molecules25225433.

LIN, L. Z. et al. Chromatographic profiles and identification of new phenolic components of *Ginkgo biloba* leaves and selected products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 56, n. 15, p. 6671–6679, 2008. DOI: 10.1021/jf801349m.

LISKOVA, A. et al. Flavonoids as an effective sensitizer for anti-cancer therapy. *The EPMA Journal*, Heidelberg, v. 12, p. 231–250, 2021. DOI: 10.1007/s13167-021-00247-7.

LIU, J. et al. Natural products and cancer therapy: mechanisms and challenges. *Current Medicinal Chemistry*, Sharjah, v. 17, n. 34, p. 3840–3850, 2010. DOI: 10.2174/092986710793213797.

MALLA, R. et al. E6 and E7 oncoproteins: potential targets of cervical cancer. *Current Medicinal Chemistry*, Sharjah, v. 27, n. 38, p. 6501–6515, 2020. DOI: 10.2174/0929867326666191120162214.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 1, p. 222–231, 2001. DOI: 10.1038/35094045.

MARTIN, G. S. Cell signaling and cancer. *Cancer Cell*, Cambridge, v. 4, p. 167–174, 2003. DOI: 10.1016/S1535-6108(03)00209-2.

MÜNGER, K. et al. Interactions of HPV E6 and E7 oncoproteins with tumour suppressor gene products. *Cancer Surveys*, London, v. 11, p. 263–274, 1991. PMID: 322242

NAIR, R. R.; MANOHAR, S. M. Flow cytometry in cell cycle analysis. *Methods in Molecular Biology*, New York, v. 2279, p. 155–167, 2021. DOI: 10.1007/978-1-0716-1294-2_11.

NARISAWA-SAITO, M. et al. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Science*, Oxford, v. 98, n. 10, p. 1505–1511, 2007. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00546.x.

PANDA, S. et al. Emerging roles of JAK/STAT signaling pathway in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, London, v. 95, p. 1–14, 2025. PMID: 32698360.

PARK, H. et al. Hydroxylated chalcones as aryl hydrocarbon receptor agonists. *Toxicological Sciences*, Oxford, v. 178, n. 2, p. 244–256, 2020. DOI: 10.1093/toxsci/kfaa168.

PASCOAL, A. C. et al. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin from *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae) in a bioactivity-guided study. *Molecules*, Basel, v. 19, n. 2, p. 1843–1858, 2014. DOI: 10.3390/molecules19021843.

PEREIRA, M. T. M. et al. Evaluation of the antiproliferative potential of yellow jaboticaba (*Myrciaria glazioviana*) extracts against human cervical cancer (HeLa cells line) and analysis of their chemical composition by HPLC-HRESIMS. *Chemistry & Biodiversity*, Weinheim, v. 21, n. 2, e202300945, 2024. DOI: 10.1002/cbdv.202300945.

PERALTA, Mariana Andrea *et al.* Flavanoids from *Dalea elegans*: chemical reassignment and determination of kinetics parameters related to their anti-tyrosinase activity. *Phytochemistry Letters*, [S.L.], v. 10, p. 260-267, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2014.10.012>.

PIMPLE, S. et al. Cancer cervix: epidemiology and disease burden. *CytoJournal*, Mumbai, v. 19, p. 14, 2022. DOI: 10.25259/Cytojournal_47_2022.

PYO, Y. et al. Anticancer potential of flavonoids. *Foods*, Basel, v. 13, n. 4, p. 1–22, 2024. DOI: 10.3390/foods13040587.

SANCHEZ-VEGA, F. et al. Oncogenic signaling pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell*, Cambridge, v. 173, p. 321–337, 2018. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.035.

SABER, F. R. et al. Family Myrtaceae: the treasure hidden in the complex/diverse composition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, London, v. 63, n. 18, p. 1–22, 2023. DOI: 10.1080/10408398.2022.2066104.

SAHU, N. K. *et al.* Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: a review. *Current Medicinal Chemistry*, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 209-225, 1 jan. 2012. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/092986712803414132>.

SCHMELZLE, T.; HALL, M. N. TOR, a central controller of cell growth. *Cell*, Cambridge, v. 103, p. 253–262, 2000. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00117-3.

SOARES, J. C. et al. Phenolic profile and potential beneficial effects of underutilized Brazilian native fruits on scavenging of ROS and RNS and anti-

inflammatory and antimicrobial properties. *Food & Function*, Cambridge, v. 11, n. 6, p. 5218–5234, 2020. DOI: 10.1039/D0FO00557K.

SRINIVASAN, B. et al. Structure–activity relationship studies of chalcone leading to potent NF- κ B inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, Washington, v. 52, n. 22, p. 7228–7235, 2009. DOI: 10.1021/jm900743p.

UTAMA, K. et al. Effects of 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone on antiproliferative and apoptotic pathways. *Molecules*, Basel, v. 27, n. 5, p. 1–19, 2022. DOI: 10.3390/molecules27051789.

VERMES, I. et al. A novel assay for apoptosis: flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein-labelled Annexin V. *Journal of Immunological Methods*, Amsterdam, v. 184, n. 1, p. 39–51, 1995. DOI: 10.1016/0022-1759(95)00072-I.

WILSON, R. M. et al. Natural products as sources of anticancer drugs. *Journal of Natural Products*, Washington, v. 70, n. 3, p. 461–477, 2007. DOI: 10.1021/np068054e.

WU, J. et al. Global burden of cervical cancer: current estimates, temporal trend and future projections based on the GLOBOCAN 2022. *Journal of the National Cancer Center*, Beijing, v. 5, p. 1–12, 2025. DOI: 10.1016/j.jncc.2024.11.006.

WU, J. S. et al. Plasticity of cancer cell invasion: patterns and mechanisms. *Translational Oncology*, New York, v. 13, p. 100–113, 2020. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100778.

YANG, Y. et al. Natural compounds targeting mitochondrial pathways in cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 21, n. 18, p. 1–22, 2020. DOI: 10.3390/ijms21186859.

ZHANG, H. et al. Flavonoids as promising anticancer agents: recent advances and mechanisms of action. *Phytotherapy Research*, London, v. 38, n. 2, p. 823–840, 2024. DOI: 10.1002/ptr.7834.

ZAKI, Mohamed A. et al. Bioactive Formylated Flavonoids from *Eugenia rigida*: isolation, synthesis, and x-ray crystallography. *Journal Of Natural Products*,

[S.L.], v. 79, n. 9, p. 2341-2349, 12 set. 2016. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00474.

AHMAD, K. et al. Antioxidant and apoptotic effects of *Callistemon lanceolatus* leaves and their compounds against human cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106:1195-1209. 2018.

ALQATHAMA, A. et al. Effects of selected Nigerian medicinal plants on the viability, mobility, and multidrug-resistant mechanisms in liver, colon, and skin cancer cell lines. *Frontiers in Pharmacology*, 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.07.016.

AL-SNAFI, A. E. et al. The therapeutic value of *Myrtus communis* L.: an updated review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2024. DOI: 10.1007/s00210-024-02958-3

AHMAD, K. et al. Antioxidant and apoptotic effects of *Callistemon lanceolatus* leaves and their compounds against human cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 106, p. 1195–1209, 2018.

ALQATHAMA, A. et al. Effects of selected Nigerian medicinal plants on the viability, mobility, and multidrug-resistant mechanisms in liver, colon, and skin cancer cell lines. *Frontiers in Pharmacology*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.016>.

AL-RIMAWI, F. et al. Phenolic compounds as anticancer agents: mechanisms of action and future perspectives. *Pharmaceuticals*, Basel, v. 17, n. 1, p. 1–25, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17010025>.

AL-SNAFI, A. E. et al. The therapeutic value of *Myrtus communis* L.: an updated review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-024-02958-3>.

ALVES, T. P. et al. Evaluation of the antiproliferative potential of *Eugenia pyriformis* leaves in cervical cancer cells. *Chemistry & Biodiversity*, Weinheim, v. 19, n. 8, e202200418, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200418>.

ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. *Food Research*

International, Ottawa, v. 121, p. 1–10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.033>.

BISHAYEE, K. et al. Quercetin induces cytochrome-c release and ROS accumulation to promote apoptosis and arrest the cell cycle in G2/M, in cervical carcinoma. *Cell Proliferation*, Oxford, v. 46, n. 2, p. 153–163, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/cpr.12015>.

BORDA, H. et al. Status of HPV disease and vaccination programmes in LMICs: introduction to special issue. *Vaccine*, Amsterdam, v. 42, n. 2, p. 201–204, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.11.034>.

BRITO, J. A. R. et al. Antiproliferative and anti-migratory activities of an extract from *Fridericia platyphylla* leaves and its molecular profile. *Plants*, Basel, v. 14, n. 1, p. 1–18, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants14010045>.

BUCHER, N.; BRYANT, H. E. G2 checkpoint abrogation and checkpoint kinase-1 targeting in the treatment of cancer. *British Journal of Cancer*, London, v. 98, n. 3, p. 523–528, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604165>.

CANGA, I. et al. In vitro cytotoxic activity of African plants: a review. *Molecules*, Basel, v. 27, n. 2, p. 1–30, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27020598>.

DE OLIVEIRA, G. G. F. V. et al. *Eugenia brasiliensis*: analysis of the chemical profile and evaluation of cytotoxic potential. *Chemistry & Biodiversity*, 2025.

DEHELEAN, C. A. et al. Plant-derived anticancer compounds as new perspectives in drug discovery and alternative therapy. *Molecules*, Basel, v. 26, n. 4, p. 1–29, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26041109>.

DENG, X. et al. Natural products targeting cancer hallmarks: recent advances and future perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Paris, v. 169, p. 115881, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115881>.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Polyphenols of cambuci (*Campomanesia phaea*) fruit ameliorate insulin resistance and hepatic steatosis in obese mice. *Food Chemistry*, Oxford, v. 311, p. 125914, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125914>.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, Thousand Oaks, v. 35, n. 4, p. 495–516, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>.

EVAN, G. I.; VOUSDEN, K. H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*, London, v. 411, p. 342–348, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/35077213>.

FARAONE, I. et al. Anticancer activity of plant secondary metabolites: a comprehensive review. *Phytochemistry Reviews*, Dordrecht, v. 19, n. 4, p. 999–1045, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09690-0>.

FERENCZY, A. et al. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *The Lancet Oncology*, London, v. 3, n. 1, p. 11–16, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(01\)00607-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(01)00607-3).

FRIEDL, P.; WOLF, K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 3, p. 362–374, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc1075>.

FULDA, S.; DEBATIN, K. M. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*, London, v. 25, n. 34, p. 4798–4811, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209608>.

GIRARDELO, J. R. et al. Bioactive compounds, antioxidant capacity and antitumoral activity of ethanolic extracts from fruits and seeds of *Eugenia involucrata*. *Food Research International*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109615>.

GORE, M. et al. Exploring the metabolic alterations in cervical cancer induced by HPV oncoproteins: from mechanisms to therapeutic targets. *Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer*, Amsterdam, v. 1877, p. 188766, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2024.188766>.

HAKIM, R. U. et al. Advances and challenges in cervical cancer: from molecular mechanisms and global epidemiology to innovative therapies and prevention strategies. *Cancer Control*, Tampa, v. 32, p. 1–18, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1177/10732748251336415>.

HASHEM, S. et al. Natural products as anticancer agents: mechanisms of action and clinical implications. *Frontiers in Pharmacology*, Lausanne, v. 13, p. 899452, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.899452>.

HOOD, J. D.; CHERESH, D. A. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 2, p. 91–100, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrc727>.

HUSSAIN, Y. et al. Research progress in flavonoids as potential anticancer drug including synergy with other approaches. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200502005411>.

JANTHAMALA, S. et al. Bioactive secondary metabolites and their role in cancer prevention and therapy. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v. 326, p. 117845, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.117845>.

JOHNSON, D. G.; WALKER, C. L. Cyclins and cell cycle checkpoints. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Palo Alto, v. 39, p. 295–312, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.295>.

KOPUSTINSKIENE, D. M. et al. Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, Basel, v. 12, n. 2, p. 1–25, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12020457>.

LEONETTI, D. et al. Phenolic compounds and flavonoids in cancer therapy: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Cancers*, Basel, v. 17, n. 2, p. 1–34, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers17020435>.

LI, G. et al. Flavonoids regulate inflammation and oxidative stress in cancer. *Molecules*, Basel, v. 25, n. 22, p. 1–19, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225433>.

LIN, L. Z. et al. Chromatographic profiles and identification of new phenolic components of *Ginkgo biloba* leaves and selected products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 56, n. 15, p. 6671–6679, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf801349m>.

LIMA E SILVA, M. C. B. et al. Antiproliferative activity of extracts of *Campomanesia adamantium* and isolated compound dimethylchalcone against

B16-F10 murine melanoma. *Journal of Medicinal Food*, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0001>.

LISKOVA, A. et al. Flavonoids as an effective sensitizer for anti-cancer therapy. *The EPMA Journal*, Heidelberg, v. 12, p. 231–250, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13167-021-00247-7>.

LIU, J. et al. Natural products and cancer therapy: mechanisms and challenges. *Current Medicinal Chemistry*, Sharjah, v. 17, n. 34, p. 3840–3850, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2174/092986710793213797>.

MALLA, R. et al. E6 and E7 oncoproteins: potential targets of cervical cancer. *Current Medicinal Chemistry*, Sharjah, v. 27, n. 38, p. 6501–6515, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867326666191120162214>.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer. *Nature Reviews Cancer*, London, v. 1, p. 222–231, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/35094045>.

MARTIN, G. S. Cell signaling and cancer. *Cancer Cell*, Cambridge, v. 4, p. 167–174, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00209-2](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00209-2).

MIR, M. A. et al. Antimycobacterial and anticancer properties of *Myrtus communis* leaf extract. *Pharmaceuticals*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17070872>.

MÜNGER, K. et al. Interactions of HPV E6 and E7 oncoproteins with tumour suppressor gene products. *Cancer Surveys*, London, v. 11, p. 263–274, 1991. PMID: 322242.

NAIR, R. R.; MANOHAR, S. M. Flow cytometry in cell cycle analysis. *Methods in Molecular Biology*, New York, v. 2279, p. 155–167, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1294-2_11.

NARISAWA-SAITO, M. et al. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis. *Cancer Science*, Oxford, v. 98, n. 10, p. 1505–1511, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00546.x>.

PANDA, S. et al. Emerging roles of JAK/STAT signaling pathway in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 2025. PMID: 32698360.

PARK, H. et al. Hydroxylated chalcones as aryl hydrocarbon receptor agonists. *Toxicological Sciences*, Oxford, v. 178, n. 2, p. 244–256, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaa168>.

PASCOAL, A. C. et al. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in PC-3 cells by the chalcone cardamonin. *Molecules*, Basel, v. 19, n. 2, p. 1843–1858, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules19021843>.

PEREIRA, M. T. M. et al. Evaluation of the antiproliferative potential of *Myrciaria glazioviana*. *Chemistry & Biodiversity*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300945>.

PERRY, M. J. et al. The ethnopharmacology, phytochemistry and bioactivities of the *Corymbia* genus. *Plants*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12213686>.

PESCINELLI, L. M. R. et al. *Eugenia uniflora* L.: analysis of chemical profile and cytotoxic action. *Pharmaceuticals*, 2025.

PIMPLE, S. et al. Cancer cervix: epidemiology and disease burden. *CytoJournal*, 2022. DOI: https://doi.org/10.25259/Cytojournal_47_2022.

PYO, Y. et al. Anticancer potential of flavonoids. *Foods*, Basel, v. 13, n. 4, p. 1–22, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13040587>.

SABER, F. R. et al. Family Myrtaceae: the treasure hidden. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2066104>.

SANCHEZ-VEGA, F. et al. Oncogenic signaling pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell*, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.035>.

SANTI, M. D. et al. Melanogenic inhibitory effects of triangularin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.06.041>.

SCHMELZLE, T.; HALL, M. N. TOR, a central controller of cell growth. *Cell*, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00117-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00117-3).

SIMAS FRAUCHES, N. et al. Antiproliferative activity and antioxidant effect. *Molecules*, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26030564>.

- SILVA, V. R. F. et al. Phytotherapeutic potential of *Campomanesia xanthocarpa*. *In Silico Pharmacology*, 2024. PMID: 39569036.
- SOARES, J. C. et al. Phenolic profile and biological activities. *Food & Function*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0FO00557K>.
- SOUZA, A. M. et al. Traditional uses and phytochemistry of *Eugenia* species. *Planta Medica*, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-0656-7262>.
- SRINIVASAN, B. et al. Structure–activity relationship of chalcones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm900743p>.
- TATIPAMULA, V. B. et al. Phenolic compounds as bioactive agents. *Cell Biochemistry and Function*, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbf.3667>.
- TEIXEIRA, A. et al. *Eucalyptus globulus* extract and anticancer effects. *Food & Function*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8fo02466a>.
- UTAMA, K. et al. Chalcone effects on apoptosis pathways. *Molecules*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27051789>.
- VERMES, I. et al. Annexin V apoptosis assay. *Journal of Immunological Methods*, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(95\)00072-I](https://doi.org/10.1016/0022-1759(95)00072-I).
- WILSON, R. M. et al. Natural products as anticancer drugs. *Journal of Natural Products*, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/np068054e>.
- WU, J. et al. Global burden of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Center*, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jncc.2024.11.006>.
- WU, J. S. et al. Plasticity of cancer cell invasion. *Translational Oncology*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100778>.
- YANG, Y. et al. Natural compounds targeting mitochondria in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21186859>.
- YOO, C. B. et al. Eugenol-induced apoptosis in leukemia cells. *Cancer Letters*, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.11.018>.
- ZAKI, M. A. et al. Bioactive flavonoids from *Eugenia rigida*. *Journal of Natural Products*, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00474>.

ZAKI, Mohamed A. *et al.* Bioactive Formylated Flavonoids from *Eugenia rigida*: isolation, synthesis, and x-ray crystallography. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 79, n. 9, p. 2341-2349, 12 set. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00474>.

ZHANG, H. *et al.* Flavonoids as anticancer agents. *Phytotherapy Research*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.7834>.