

**UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA**  
**REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL**

**LUCIMARA APARECIDA DE LUCCA**

**PROSPECÇÃO BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE FOLHAS E FLORES DE**  
*Arrabidaea brachypoda* **NA INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL**

**Araraquara**

**2026**

**LUCIMARA APARECIDA DE LUCCA**

**PROSPECÇÃO BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE FOLHAS E FLORES DE  
*Arrabidaea brachypoda* NA INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientadora Prof<sup>fa</sup> Dr<sup>a</sup> Flávia Aparecida Resende Nogueira

**Araraquara  
2026**

## FICHA CATALOGRÁFICA

D439p De Lucca, Lucimara Aparecida.

Prospecção biológica de extratos de folhas e flores de *Arrabidaea Brachipoda* (DC) *Bureau* na investigação do potencial antitumoral/  
Lucimara Aparecida de Lucca. – Araraquara: Universidade de Araraquara, 2026.

40f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal – UNIARA

Orientador: Profa. Dra. Flávia Aparecida Resende Nogueira

1. *Arrabidaea Brachipoda*. 2. Citotoxicidade. 3. Extratos vegetais. 4. Terapias antitumorais. I. Título.


CDU 577.4

# LUCIMARA APARECIDA DE LUCCA


Dissertação apresentada a Universidade de Araraquara - UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 26 de fevereiro de 2026.


## BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente  
 **FLAVIA APARECIDA RESENDE NOGUEIRA**  
Data: 08/03/2026 21:01:59-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª FLÁVIA APARECIDA RESENDE NOGUEIRA (Orientadora) Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente  
 **PRISCILA LONGHIN BOSQUESI DE OLIVEIRA**  
Data: 04/03/2026 18:14:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª PRISCILA LONGHIN BOSQUESI  
Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente  
 **JESSYANE RODRIGUES DO NASCIMENTO**  
Data: 02/03/2026 15:11:55-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª JESSYANE RODRIGUES DO NASCIMENTO  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA

**Dedico ao meu filho Gabriel de Lucca Santos, que sempre me encorajou e a quem dedico meu amor infinito.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, em quem sigo firme na fé; à minha família e às minhas amigas, pelo apoio e incentivo constantes, mesmo diante dos desafios e obstáculos;

Sou especialmente grata à Professora e Orientadora Flávia Aparecida Resende Nogueira, por toda a paciência, dedicação e confiança durante esse percurso. Seu profissionalismo e comprometimento são verdadeiramente inspiradores;

Agradeço também aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, cujas disciplinas enriqueceram significativamente minha formação pessoal e profissional;

Minha gratidão às secretárias Rosana e Sandra, sempre prestativas e dispostas a ajudar em qualquer dúvida;

Agradeço a banca examinadora pela disponibilidade, pelas contribuições e por colaborarem de forma enriquecedora com este trabalho;

Agradeço, de forma especial, a todos aqueles que contribuíram, de alguma maneira, para a concretização de mais uma etapa importante da minha vida;

Agradeço ainda à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo apoio financeiro que viabilizou este trabalho.

## RESUMO

*Arrabidaea brachypoda* é uma planta nativa do cerrado brasileiro amplamente utilizada na medicina tradicional. Estudos prévios demonstraram efeitos promissores de seus extratos e compostos isolados, incluindo atividade antitumoral. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade, o efeito antimigratório e a mutagenicidade de extratos hidroalcoólicos e frações (diclorometano e acetato de etila) das flores e folhas da espécie. A citotoxicidade foi investigada por meio do ensaio de viabilidade com resazurina em queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT, linhagem não tumoral) e em linhagens tumorais B16-F10 (melanoma murino), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal humano) e Saos-2 (osteossarcoma humano). A migração celular foi avaliada pelo ensaio de ranhura (*wound healing*) com acompanhamento de até 48 horas, utilizando concentrações não citotóxicas. O potencial mutagênico foi analisado por meio do teste de Ames, com e sem ativação metabólica, utilizando o protocolo de pré-incubação nas cepas de *Salmonella* Typhimurium TA98, TA97a, TA100 e TA102, sensíveis a mutações do tipo *frameshift* e substituição de pares de bases. Os resultados obtidos mostraram que a fração diclorometano das flores apresentou os menores valores de IC<sub>50</sub>: 100,7 ± 9,8 µg/mL (HaCaT), 104,5 ± 1,2 µg/mL (B16-F10), 106,7 ± 3,7 µg/mL (Caco-2) e 366,9 ± 37,4 µg/mL (Saos-2), indicando maior atividade citotóxica. Contudo, os índices de seletividade (IS < 1) demonstraram maior sensibilidade dos queratinócitos HaCaT em comparação às linhagens tumorais. No ensaio de migração, o extrato de folhas inibiu significativamente a migração em até 48 horas das células HaCaT (40,3 ± 3,0%) e B16-F10 (66,1 ± 4,6%) em comparação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ). O extrato de flores também reduziu a migração em HaCaT nas primeiras 24 horas, com efeito menos duradouro. No teste de Ames, observou-se atividade mutagênica dos extratos brutos de flores e folhas exclusivamente na cepa TA98, sugerindo potencial para indução de mutações do tipo *frameshift*. Em conjunto, os resultados indicam que *A. brachypoda* contém compostos com atividades citotóxica e antimigratória, embora associadas a baixa seletividade celular e à detecção de mutagenicidade nos extratos brutos. Assim, a espécie se destaca como uma fonte promissora de moléculas bioativas, reforçando a necessidade de estudos adicionais voltados ao isolamento de compostos, elucidação de mecanismos de ação e avaliação ampliada do perfil de segurança.

**Palavras-chave:** *Arrabidaea brachypoda*; citotoxicidade; extratos vegetais; terapias antitumorais.

## ABSTRACT

*Arrabidaea brachypoda* is a native species of the Brazilian Cerrado widely used in traditional medicine, and previous studies have reported promising biological effects for its extracts and isolated compounds, including antitumor activity. In this study, we evaluated the cytotoxic, antimigratory, and mutagenic effects of hydroalcoholic extracts and their dichloromethane and ethyl acetate fractions obtained from the flowers and leaves of the species. Cytotoxicity was assessed using the resazurin viability assay in immortalized human keratinocytes (HaCaT, non-tumoral) and in the tumor cell lines B16-F10 (murine melanoma), Caco-2 (human colorectal adenocarcinoma), and Saos-2 (human osteosarcoma). Cell migration was examined using the wound-healing assay for up to 48 hours under non-cytotoxic concentrations. Mutagenicity was investigated through the Ames test, with and without metabolic activation, using the pre-incubation protocol in *Salmonella* Typhimurium strains TA98, TA97a, TA100, and TA102, which detect frameshift and base-pair substitution mutations. The dichloromethane fraction from flowers showed the lowest IC<sub>50</sub> values: 100.7 ± 9.8 µg/mL (HaCaT), 104.5 ± 1.2 µg/mL (B16-F10), 106.7 ± 3.7 µg/mL (Caco-2), and 366.9 ± 37.4 µg/mL (Saos-2), indicating higher cytotoxic activity among the tested samples. However, selectivity indices (SI < 1) revealed greater sensitivity of HaCaT cells compared with the tumor lines. In the migration assay, the leaf extract significantly inhibited cell migration for up to 48 hours in HaCaT (40.3 ± 3.0%) and B16-F10 (66.1 ± 4.6%) cells, whereas the flower extract reduced HaCaT migration only during the first 24 hours. In the Ames test, mutagenic activity was detected exclusively in strain TA98 for both flower and leaf crude extracts, suggesting a potential to induce frameshift mutations. Overall, the results demonstrate that *A. brachypoda* contains compounds with cytotoxic and antimigratory activities; however, these effects are accompanied by low cellular selectivity and detectable mutagenicity in crude extracts. These findings highlight *A. brachypoda* as a promising source of bioactive molecules while reinforcing the need for further studies focused on compound isolation, elucidation of mechanisms of action, and comprehensive safety evaluation.

**Keywords:** *Arrabidaea brachypoda*; cytotoxicity; plant extracts; antitumor therapies.

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....</b>	10
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	11
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	11
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	12
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	14
2.1. Objetivo Geral.....	14
2.2. Objetivos Específicos.....	14
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	15
3.1. Obtenção e procedência das amostras vegetais.....	15
3.2. Linhagens celulares e condições de cultivo.....	15
3.3. Avaliação da citotoxicidade.....	15
3.4. Determinação do índice de seletividade.....	16
3.5. Ensaio de migração.....	16
3.6. Ensaio de mutação gênica reversa com <i>Salmonella</i> Typhimurium (Teste de Ames) .....	17
3.7. Análise estatística.....	18
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	19
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	35
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	36

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- +S9: condições experimentais com ativação metabólica
- S9: condições experimentais sem ativação metabólica
- ATCC: *American Type Culture Collection*
- B16-F10: linhagem celular de melanoma murino
- BCRJ: Banco de Células do Rio de Janeiro
- Caco-2: linhagem celular de adenocarcinoma colorretal humano
- CN: Controle Negativo
- CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono
- CP: Controle Positivo
- CS: Controle Solvente
- DMEM: *Dulbecco's Modified Eagle Medium*
- DMSO: Dimetilsulfóxido
- Ex Flores AB: extrato de flores de *Arrabidaea brachypoda*
- Ex Folhas AB: extrato de folhas de *Arrabidaea brachypoda*
- Fr Ac Folhas AB: fração acetato do extrato de folhas
- Fr DCMT Flores AB: fração diclorometano do extrato de flores
- HaCaT: linhagem celular de queratinócitos humanos imortalizados
- IC<sub>50</sub>: concentração inibitória de 50%, representa a concentração da amostra capaz de reduzir em 50% a viabilidade celular
- IM: índice de mutagenicidade
- IS: Índice de Seletividade
- LAMUT: Laboratório de Mutagênese e Toxicidade da Universidade de Araraquara (Uniará)
- PBS: solução tampão fosfato-salino (*phosphate buffered saline*)
- pH: potencial hidrogeniônico
- rpm: rotação por minuto
- Saos-2: linhagem celular de osteossarcoma humano
- S9: fração microssomal S9
- SFB: Soro Fetal Bovino
- TA97a, TA98, TA100, TA102: linhagens de *Salmonella Typhimurium*
- UFC: Unidade Formadora de Colônias

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Viabilidade celular (%) das linhagens HaCaT (A), B16-F10 (B), Caco-2 (C) e Saos-2 (D) após o tratamento de 24 horas com extratos e frações de <i>A. brachypoda</i> .....	21
<b>Figura 2.</b> Análise quantitativa da área de migração celular das linhagens HaCaT (A) e B16-F10 (B) após tratamento com extratos e frações de <i>Arrabidaea brachypoda</i> .....	26
<b>Figura 3.</b> Imagens representativas de células HaCaT (A) e B16-F10 (B) em um ensaio de migração celular in vitro.....	27

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabela 1.</b> Valores de IC <sub>50</sub> (µg/mL) e IS dos extratos e frações de <i>A. brachypoda</i> .....	23
<b>Tabela 2.</b> Atividade mutagênica expressa através da média e desvio padrão do número de revertentes/ placa e índice de mutagenicidade nas linhagens TA 98, TA 100, TA97a e TA 102 de <i>S. Typhimurium</i> após o tratamento com várias concentrações do extrato de flores de <i>A. brachypoda</i> , em experimentos sem (-S9) e com (+S9) ativação metabólica.....	30

## 1. INTRODUÇÃO

A biodiversidade desempenha um papel crucial no bem-estar humano, especialmente na produção de medicamentos botânicos, dos quais muitos têm origem em plantas medicinais. Os produtos naturais possuem alta diversidade química, flexibilidade de ligação a alvos biológicos, centros quirais, sistemas alifáticos, aceitadores e doadores de ligações de hidrogênio e/ou heteroátomos, e propriedades farmacológicas de amplo espectro, inclusive contra doenças malignas. A descoberta de medicamentos a partir de fontes naturais requer uma abordagem multifacetada, combinando técnicas botânicas, fitoquímicas, biológicas e moleculares (SEN; SAMANTA, 2015; FERREIRA *et al.*, 2023).

A biodiversidade da flora brasileira é vasta, e várias espécies de plantas medicinais nativas do Brasil possuem uma longa história de uso, com um significativo potencial fitoterápico (ROCHA *et al.*, 2011). O gênero *Arrabidaea*, anteriormente conhecido como *Fridericia*, compreende aproximadamente 170 espécies e pertence à família Bignoniaceae, com distribuição na região Neotropical e zona temperada. O epicentro da diversidade desta família está localizado no Brasil, onde se encontram 56 gêneros e cerca de 340 espécies. A maioria das espécies do gênero *Arrabidaea* é tradicionalmente empregada como diuréticos e antissépticos, além de serem utilizadas no tratamento de cólicas intestinais, diarreia, cálculos renais, artrite reumatóide, feridas e enterocolite. Este gênero é quimicamente diversificado, contendo diferentes classes de substâncias, predominando triterpenos, ácidos fenólicos e flavonoides, os quais exibem propriedades farmacológicas, como atividade antitumoral, antioxidante, leishmanicida, tripanocida, antiinflamatória e cicatrizante (NASCIMENTO *et al.*, 2022).

No Brasil, *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau, conhecida popularmente como “cervejinha do campo”, “cipó-una” ou “tintureiro”, é uma espécie nativa do ecossistema do cerrado. Este arbusto ramificado tem uma altura média entre 1,0 e 2,0 m, suas folhas e flores são de cor roxo-rosado, apresentando uma bioatividade promissora. As raízes e folhas de *A. brachypoda* são amplamente utilizadas na medicina tradicional do sudeste e nordeste do Brasil para tratar doenças renais e dores nas articulações (REZENDE-JÚNIOR *et al.*, 2020). Diversos estudos destacam as propriedades farmacológicas de seus extratos e compostos isolados, incluindo atividade antifúngica (ALCERITO *et al.*, 2002), antiinflamatória (ROCHA *et al.*, 2011), antichagásica (ROCHA *et al.*, 2014; NEUENSCHWANDER *et al.*, 2020), analgésica (RODRIGUES *et al.*, 2017), gastroprotetora (ROCHA *et al.*, 2017), antileishmania (ROCHA *et al.*, 2018) e antimicrobiana (SOUSA ANDRADE *et al.*, 2019; REZENDE-JÚNIOR *et al.*, 2020).

Estudos referentes ao potencial antitumoral também têm sido conduzidos, dada a persistência da quimioterapia como o tratamento predominante para o câncer, apesar de sua considerável toxicidade. Assim, busca-se terapias anticâncer eficazes, porém menos agressivas (MACIEL-SILVA *et al.*, 2023).

Serpeloni *et al.* (2020) demonstraram que o extrato bruto de raízes de *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann (sin. *A. brachypoda*) possui efeitos citotóxicos e antiproliferativos em células tumorais gástricas, com capacidade de modular genes relacionados à apoptose e ao ciclo celular (BCL-XL, BIRC5 e MET). Maciel-Silva *et al.* (2023) avaliaram a fração diclorometano isolada de raízes de *A. brachypoda*, identificando três flavonoides diméricos incomuns. Os estudos revelaram que esta fração causa alterações ultraestruturais nas membranas das células tumorais, enquanto exibe menor toxicidade em células não tumorais.

Outras pesquisas focadas no potencial antitumoral foram realizadas com braquidinas isoladas das raízes de *F. platyphylla*, destacando seus efeitos promissores (NUNES *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2021; 2022; RIBEIRO *et al.*, 2022; LIMA *et al.*, 2022; SERPELONI *et al.*, 2023). Nascimento *et al.* (2023) desenvolveram uma microemulsão para incorporação da fração dimérica de flavonoides, apresentando excelentes perspectivas.

Recentemente, Ferreira *et al.* (2025) publicaram uma revisão integrativa da literatura reunindo evidências experimentais e etnofarmacológicas sobre *F. platyphylla*. Os pesquisadores destacaram que extratos brutos, frações e compostos isolados das raízes, folhas e flores da espécie apresentam atividades antiulcerogênica, anti-inflamatória, antifúngica, antiproliferativa e antitumoral, com destaque para flavonoides diméricos do tipo braquidinas. No entanto, ressaltaram sobre a necessidade de investigações adicionais *in vivo*, especialmente no que se refere à segurança, devido a indícios de efeitos mutagênicos observados em alguns estudos, reforçando a importância de avaliações toxicológicas complementares.

Considerando a preocupação com a exploração não científica dos recursos naturais devido ao aumento populacional, rápida industrialização, desflorestação, exploração excessiva de recursos naturais, poluição e alterações climáticas, que contribuem para o declínio da biodiversidade e ameaçam os biomas e ecossistemas (SEN; SAMANTA, 2015), neste estudo, foi realizada a bioprospecção de extratos e frações de *A. brachypoda* com relação a avaliação do potencial citotóxico *in vitro* frente a linhagens celulares tumorais e não tumorais, bem como sua influência sobre a migração celular e a atividade mutagênica.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial bioativo de extratos e frações de *A. brachypoda*, visando a identificação de possíveis atividades biológicas com relevância farmacológica.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a citotoxicidade dos extratos hidroalcoólicos e frações de flores e folhas de *A. brachypoda* frente às linhagens celulares HaCaT (queratinócitos humanos imortalizados – linhagem não tumoral), B16-F10 (melanoma murino), Caco-2 (adenocarcinoma colorretal humano) e Saos-2 (osteossarcoma humano), por meio do ensaio de viabilidade baseado na redução da resazurina;
- Investigar a influência dos extratos e frações de *A. brachypoda* sobre a migração celular nas linhagens HaCaT e B16-F10, selecionadas com base no perfil de citotoxicidade observado;
- Avaliar o potencial mutagênico em nível gênico dos extratos e frações de *A. brachypoda*, por meio do teste de Ames, com e sem ativação metabólica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Obtenção e procedência das amostras vegetais

Os extratos hidroalcoólicos de flores e folhas de *A. brachypoda* e suas frações diclorometano e de acetato, respectivamente, foram preparados e fornecidos pelo grupo de pesquisa coordenado pela Profa. Dra. Cláudia Quintino da Rocha da Universidade Federal do Maranhão. A caracterização química das amostras vegetais está sendo realizada e será apresentada no artigo para publicação.

#### 3.2. Linhagens celulares e condições de cultivo

As linhagens celulares utilizadas neste estudo foram: queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT, PCS-200-011), melanoma murino (B16-F10, ATCC® CCL-6475™), adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2, BCRJ nº 0059) e osteossarcoma humano (Saos - 2, BCRJ nº 0217). As células foram adquiridas junto à *American Type Culture Collection* (ATCC) e ao Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e encontram-se armazenadas no Biobanco do Laboratório de Mutagênese e Toxicidade (LAMUT) da Universidade de Araraquara (Uniará).

Para reativação, as células foram descongeladas e cultivadas em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM– Sigma-Aldrich), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), exceto para a linhagem Caco-2, na qual foi utilizado DMEM com 20% de SFB. As culturas foram mantidas em monocamadas, em frascos de cultura de 25 ou 75 cm<sup>2</sup> (Corning), a 37 °C, em incubadora com atmosfera controlada (5% de dióxido de carbono - CO<sub>2</sub> e 95% de umidade relativa). Durante os experimentos, as células foram repicadas por tripsinização sempre que atingiram confluência adequada, seguindo os protocolos padronizados do laboratório.

#### 3.3. Avaliação da citotoxicidade

A viabilidade celular foi avaliada por meio de ensaios de citotoxicidade baseados na redução da resazurina, conforme descrito por Page *et al.* (1993). O cloridrato de resazurina (Sigma-Aldrich) é um composto com propriedades redox que atua como indicador colorimétrico e fluorescente da atividade metabólica celular.

Para os experimentos, as células foram semeadas em microplacas de 96 poços, na densidade de  $1,0 \times 10^4$  células/poço, e incubadas por 24 horas para permitir a adesão. Em seguida, foram tratadas com extratos e frações de *A. brachypoda*, em concentrações variando

de 31,25 a 1000 µg/mL, por 24 horas. Após esse período, o meio de cultura foi removido e foram adicionados 50 µL de solução de resazurina a 0,01% (m/v) em cada poço, seguida de incubação por mais 4 horas.

Foram utilizados os seguintes controles: negativo (meio de cultura completo), solvente (dimetilsulfóxido, DMSO a 0,1%) e positivo (DMSO a 50%). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata, em três experimentos independentes.

Ao final da incubação, a fluorescência foi medida em um espectrofotômetro de fluorescência Synergy H1 (BioTek®), utilizando filtros com comprimentos de onda de excitação e emissão de 560 e 590 nm, respectivamente. Os resultados foram expressos em unidades arbitrárias de fluorescência, considerando-se o valor obtido no controle negativo (células não tratadas) como 100% de viabilidade celular. Além disso, foi determinado o valor de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória de 50%), que representa a concentração da amostra capaz de reduzir em 50% a viabilidade celular pelo programa GraphPad Prism 7.

#### *3.4. Determinação do índice de seletividade*

O índice de seletividade (IS) das amostras-teste foi determinado a partir da razão entre os valores de IC<sub>50</sub> obtidos para as células não tumorais e os valores de IC<sub>50</sub> correspondentes às células tumorais. Quanto mais elevado for o valor de IS, maior será a seletividade da amostra em relação às células tumorais, indicando uma maior atividade antiproliferativa frente às células cancerígenas e menor citotoxicidade sobre células não tumorais.

#### *3.5. Ensaio de migração*

As linhagens celulares HaCaT e B16-F10, selecionadas com base nos resultados dos ensaios de citotoxicidade, foram semeadas em placas de cultura na densidade inicial de  $5 \times 10^5$  células/poço e cultivadas até atingirem aproximadamente 90% de confluência, em atmosfera controlada (5% de CO<sub>2</sub>, a 37 °C e 95% de umidade).

A monocamada de células foi então submetida a uma “arranhadura” (*wound healing assay*), realizada com a extremidade de uma ponteira estéril de 200 µL, de forma a gerar uma área uniforme livre de células. Em seguida, os detritos celulares foram removidos por lavagem com solução tampão PBS (*phosphate buffered saline*), e as células foram incubadas com as amostras-teste diluídas em DMSO (0,1%) e meio DMEM suplementado com 10% de SFB em concentrações previamente determinadas como não citotóxicas. Os tratamentos consistiram nas seguintes concentrações: 62,5 µg/mL para os extratos de flores e folhas; 31,25 µg/mL para a fração diclorometano do extrato de flores; e 125 µg/mL para a fração acetato do extrato de

folhas de *A. brachypoda*. Os poços do controle negativo receberam apenas meio de cultura suplementado com SFB. Imagens das áreas das microlesões foram capturadas nos tempos 0 (antes do tratamento), 6, 24 e 48 horas após a incubação com as amostras-teste, utilizando microscópio invertido (Leica) com câmera acoplada. A análise da área livre de células e da migração foi realizada com o software ImageJ.

A migração celular (%) foi calculada com base na equação I:

$$\text{Migração Celular (\%)} = \frac{(\text{área no tempo 0h} - \text{área após 6, 24 ou 48 h})}{\text{área (tempo 0h)}} \times 100 \quad \text{I}$$

### 3.6. Ensaio de mutação gênica reversa com *Salmonella Typhimurium* (Teste de Ames)

O teste de Ames foi realizado utilizando o protocolo de pré-incubação descrito por Maron e Ames (1983). Foram empregadas as cepas de *Salmonella Typhimurium* TA98, TA100, TA102 e TA97a, em condições com ativação metabólica (+S9) e sem ativação metabólica (-S9). As linhagens bacterianas foram inicialmente fornecidas pelo Dr. Bruce Ames, da Universidade de Berkeley (Califórnia, EUA), e gentilmente cedidas ao nosso laboratório pela Profa. Dra. Eliana Aparecida Varanda, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP.

Para a preparação do inóculo, uma alíquota da cultura estoque congelada foi semeada com alça bacteriológica em 30 mL de caldo nutriente (Oxoid nº 2) e incubada por 14 a 16 horas em agitador orbital (37 °C, 100 rpm), até atingir uma densidade aproximada de  $1-2 \times 10^9$  UFC/mL. Após a incubação, em tubos de ensaio estéreis, foram adicionados 0,1 mL da cultura bacteriana, as concentrações apropriadas dos extratos de flores e folhas e suas frações correspondentes, e 0,5 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 7,4 (para os ensaios sem ativação metabólica) ou da mistura S9 (para os ensaios com ativação metabólica). Os tubos foram então incubados a 37 °C por 20 minutos. As concentrações do extrato foram definidas com base em ensaios preliminares de toxicidade, evidenciada pela redução no número de colônias revertentes (His<sup>+</sup>) ou pela presença de crescimento de fundo nas placas com ágar mínimo.

A fração microssomal S9, obtida comercialmente (Moltox - Molecular Toxicology Inc., EUA), foi preparada a partir de fígado de ratos Sprague Dawley tratados com o indutor enzimático Aroclor 1254 (500 mg/kg). Essa fração, suplementada com cofatores, permite verificar se a substância-teste é mutagênica em sua forma original ou requer ativação metabólica para expressar atividade mutagênica. O sistema de ativação metabólica foi preparado com 4% de fração S9, 1% de cloreto de magnésio 0,4 M, 1% de cloreto de potássio

1,65 M, 0,5% de glicose-6-fosfato 1 M, 4% de  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP<sup>+</sup>) 0,1 M, 50% de tampão fosfato 0,2 M pH 7,4 e 39,5% de água destilada estéril. A mistura foi mantida em banho de gelo e utilizada em até 3 horas após o preparo.

Após a incubação, foram adicionados 2 mL de *top agar*, previamente suplementado com L-histidina e D-biotina (0,05 mM, na proporção de 10 mL para cada 100 mL de *top agar*). O conteúdo dos tubos foi homogeneizado suavemente e vertido em placas de Petri contendo ágar mínimo com glicose. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas. Após esse período, o número de colônias revertentes (His<sup>+</sup>) foi contado manualmente.

Para verificação da especificidade de resposta de cada cepa, os agentes mutagênicos (CP, controle positivo) utilizados foram: 4-nitro-o-fenilenodiamina (10  $\mu$ g/placa) para TA98 e TA97a; Azida sódica (1,25  $\mu$ g/placa) para TA100; Mitomicina C (0,5  $\mu$ g/placa) para TA102; 2-antramina (1,25  $\mu$ g/placa) para TA98, TA97a e TA100 (com ativação metabólica) e 2-aminofluoreno (10  $\mu$ g/placa) para TA102 (com ativação metabólica). O controle negativo (CN) consistiu em DMSO (100  $\mu$ L/ placa), solvente utilizado para a solubilização das amostras vegetais. O índice de mutagenicidade (IM) foi calculado para cada concentração testada por meio da razão entre a média do número de revertentes/placa com o extrato e a média do número de revertentes/placa no controle negativo. A amostra é considerada mutagênica quando apresentar relação dose-resposta e/ou  $IM \geq 2$  em pelo menos uma das concentrações testadas (MORTELMANS; ZEIGER, 2000).

### 3.7. Análise estatística

Os resultados obtidos no teste de Ames foram analisados utilizando o *software* Salanal (U.S. Environmental Protection Agency, Monitoring Systems Laboratory, Las Vegas, NV, versão 1.0; Research Triangle Institute, RTP, NC, EUA). Esse programa permite a avaliação do efeito dose-resposta por meio da análise de variância (ANOVA) entre as médias do número de revertentes nas diferentes concentrações testadas e o controle negativo, seguida da aplicação de regressão linear. A análise estatística foi conduzida com base no modelo descrito por Bernstein *et al.* (1982).

Para os demais ensaios, as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Empregou-se análise de variância unidirecional (one-way ANOVA) para a determinação das diferenças estatísticas, seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, considerando-se diferenças significativas quando  $p < 0,05$ . Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata, e os critérios de significância basearam-se na comparação entre os grupos tratados e o controle negativo.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por agentes anticâncer de origem natural permanece relevante, uma vez que, apesar dos avanços em terapias-alvo e imunoterápicos, a quimioterapia convencional ainda constitui o principal recurso terapêutico para grande parte dos tumores sólidos. No entanto, sua efetividade costuma ser limitada por toxicidade sistêmica e baixa seletividade, aspectos que comprometem a resposta clínica e a qualidade de vida dos pacientes (GIELECINŠKA *et al.*, 2023). Nesse contexto, a prospecção de compostos bioativos com maior eficácia e menor perfil de efeitos adversos segue como um desafio na pesquisa oncológica.

Diante desse contexto, no presente estudo foram investigados os efeitos citotóxicos, antimigratórios e mutagênicos dos extratos hidroalcoólicos brutos de folhas e flores de *A. brachypoda*, bem como de suas frações obtidas por partição com acetato de etila e diclorometano.

A citotoxicidade foi avaliada em quatro linhagens celulares, sendo HaCaT representante de uma linhagem não tumoral e as demais (B16-F10, Caco-2 e Saos-2) de origem tumoral. As células foram expostas às amostras em concentrações que variaram entre 31,25 e 1000 µg/mL. A Figura 1 apresenta as médias e os desvios padrão da porcentagem de viabilidade celular após 24 horas de exposição aos tratamentos. Para complementar a análise e facilitar a comparação entre as amostras, foram calculados os valores de IC<sub>50</sub> (Tabela 1) e os índices de seletividade (IS) correspondentes (Tabela 2).

De modo geral, os resultados revelaram uma resposta dose-dependente para todas as amostras avaliadas.

O extrato de flores reduziu mais acentuadamente a viabilidade das células HaCaT e Caco-2, com IC<sub>50</sub> de 120,4 ± 8,5 µg/mL e 126,6 ± 2,5 µg/mL, respectivamente. Já o extrato de folhas demonstrou maior citotoxicidade nas linhagens HaCaT (IC<sub>50</sub> = 128,2 ± 3,5 µg/mL) e B16-F10 (IC<sub>50</sub> = 148,9 ± 6,5 µg/mL).

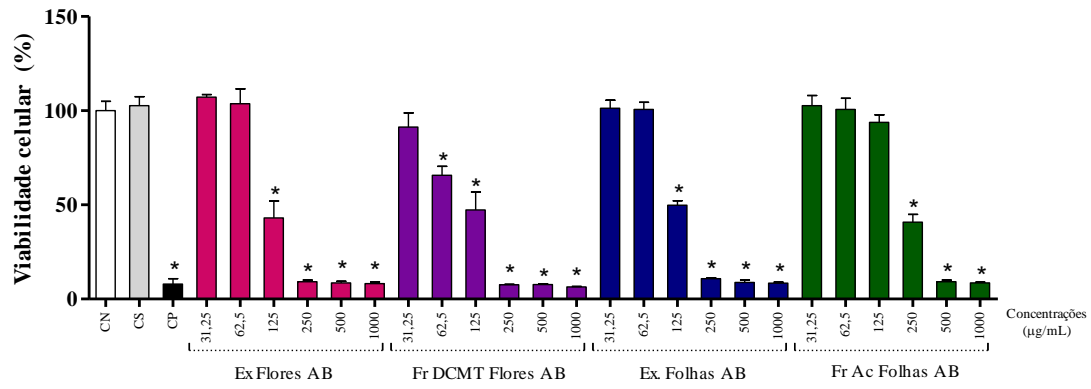
A fração acetato das folhas apresentou os maiores valores de IC<sub>50</sub> entre todas as amostras testadas, nas quatro linhagens, caracterizando um menor potencial citotóxico nas condições experimentais utilizadas. Por outro lado, a fração diclorometano das flores exibiu os menores valores de IC<sub>50</sub> em todas as linhagens celulares, indicando maior atividade citotóxica. Essa fração apresentou IC<sub>50</sub> de 100,7 ± 9,8 µg/mL em HaCaT, 104,5 ± 1,2 µg/mL em B16-F10, 106,7 ± 3,7 µg/mL em Caco-2 e 366,9 ± 37,4 µg/mL em Saos-2 (Tabela 1), valores inferiores aos observados para o extrato de flores, seu extrato bruto correspondente, o que sugere a concentração de compostos bioativos com maior potencial citotóxico nessa fração.

O índice de seletividade (IS), obtido pela razão entre o  $IC_{50}$  na linhagem HaCaT e nas linhagens tumorais, foi superior a 1 apenas para a fração acetato em relação à linhagem Caco-2 (IS = 1,42), sugerindo uma sensibilidade ligeiramente maior das células tumorais nesse caso específico. Nas demais amostras, os valores de IS foram inferiores a 1, indicando que os efeitos não foram restritos às células tumorais, sugerindo um potencial citotóxico generalizado e independente da linhagem celular (Tabela 2).

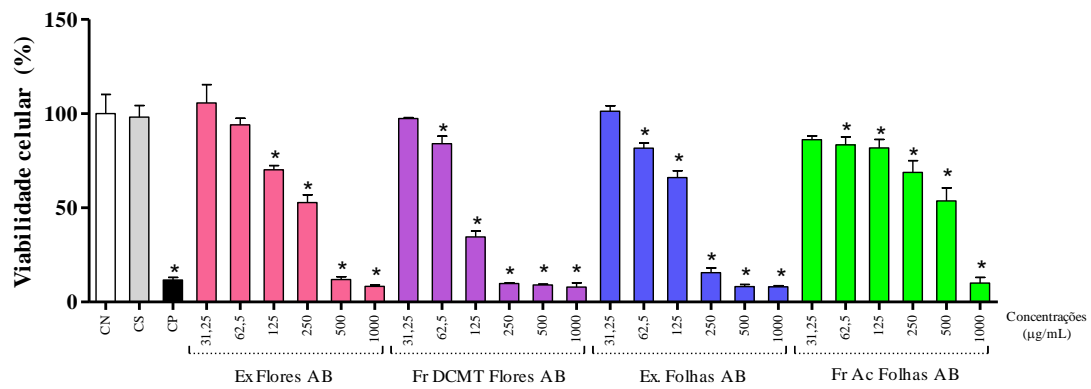
Embora os extratos e frações de *A. brachypoda* avaliados neste estudo não tenham apresentado seletividade significativa para células tumorais, os resultados evidenciam atividade citotóxica relevante frente a diferentes linhagens celulares.

**Figura 1.** Viabilidade celular (%) das linhagens HaCaT (A), B16-F10 (B), Caco-2 (C) e Saos-2 (D) após o tratamento de 24 horas com extratos e frações de *A. brachypoda*

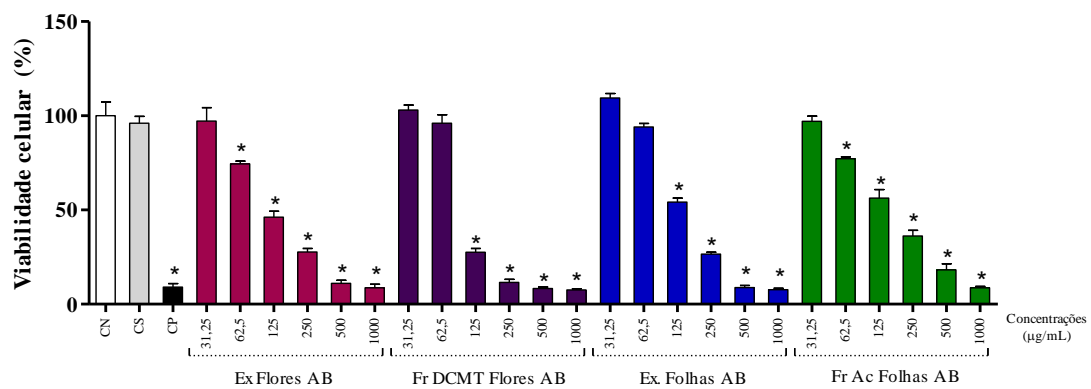
**A.**



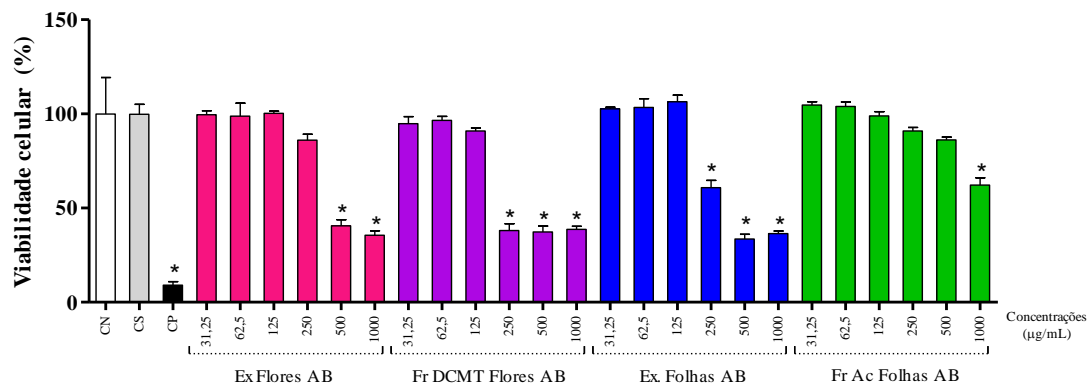
**B.**



**C.**



D.



(A) HaCaT – queratinócitos humanos imortalizados (PCS-200-011);

(B) B16-F10 – melanoma murino (ATCC® CCL-6475™);

(C) Caco-2 – adenocarcinoma colorretal humano (BCRJ nº 0059);

(D) Saos-2 – osteossarcoma humano (BCRJ nº 0217).

CN: controle negativo (meio de cultura), considerado 100% de viabilidade celular;

CS: controle solvente (DMSO 0,1%);

CP: controle positivo (DMSO 50%).

Ex Flores AB: extrato de flores de *Arrabidaea brachypoda*;

Fr DCMT Flores AB: fração diclorometano do extrato de flores;

Ex Folhas AB: extrato de folhas;

Fr Ac Folhas AB: fração acetato do extrato de folhas.

\*Indica diferença estatística em relação ao CN ( $p < 0,05$ ; ANOVA seguida do teste de Tukey).

**Tabela 1.** Valores de IC<sub>50</sub> (µg/mL) e IS dos extratos e frações de *A. brachypoda*

	HaCaT	B16-F10		Caco-2		Saos-2	
	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	IS	IC <sub>50</sub>	IS	IC <sub>50</sub>	IS
<b>Ex Flores AB</b>	120,4 ± 8,5	229,6 ± 2,9	0,52	126,6 ± 2,5	0,95	586,8 ± 41,6	0,21
<b>Fr DCMT Flores AB</b>	100,7 ± 9,8	104,5 ± 1,2	0,96	106,7 ± 3,7	0,94	366,9 ± 37,4	0,27
<b>Ex Folhas AB</b>	128,2 ± 3,5	148,9 ± 6,5	0,86	151,0 ± 3,5	0,85	432,9 ± 33,2	0,30
<b>Fr Ac Folhas AB</b>	231,1 ± 11,9	415,5 ± 47,6	0,56	162,4 ± 12,1	1,42	1476,0 ± 172,7	0,16

IC<sub>50</sub>: índice de citotoxicidade; a concentração da amostra-teste capaz de inibir 50% das células. Valores obtidos pelo software GraphPad Prism 7.0 através da média de três ensaios independentes. IS: índice de seletividade; IC<sub>50</sub> (linhagem não tumoral)/ IC<sub>50</sub> (linhagem tumoral).

HaCaT – queratinócitos humanos imortalizados (PCS-200-011); B16-F10 – melanoma murino (ATCC® CCL-6475™); Caco-2 – adenocarcinoma colorretal humano (BCRJ n° 0059); Saos-2 – osteossarcoma humano (BCRJ n° 0217).

Ex Flores AB: extrato de flores de *Arrabidaea brachypoda*;

Fr DCMT Flores AB: fração diclorometano do extrato de flores;

Ex Folhas AB: extrato de folhas;

Fr Ac Folhas AB: fração acetato do extrato de folhas.

De forma complementar, foi avaliada a migração celular, um processo relevante na pesquisa em oncologia por estar associado não apenas à viabilidade celular, mas também à capacidade de expansão, proliferação e potencial metastático. A migração resulta de interações dinâmicas entre as células e a matriz extracelular, além da produção regulada de mediadores solúveis e citocinas, que modulam esse comportamento (BRITO *et al.*, 2022).

As linhagens celulares HaCaT (não tumoral) e B16-F10 (tumoral) foram selecionadas para o ensaio de migração *in vitro*, tendo em vista sua maior sensibilidade ao tratamento com a fração diclorometano do extrato de flores de *A. brachypoda*, previamente identificado como o mais citotóxico nas análises anteriores.

A migração celular foi avaliada pelo ensaio de ranhura (*wound healing*), conforme demonstrado nas Figuras 2 e 3. Os testes foram realizados com concentrações previamente determinadas como não citotóxicas, utilizando-se meio completo contendo soro fetal bovino como controle negativo. O solvente utilizado (0,1% DMSO) não demonstrou efeito significativo sobre a migração celular.

Após 6 horas de incubação, o controle negativo apresentou taxas médias de migração de  $18,4 \pm 2,3\%$  para HaCaT e  $35,5 \pm 4,1\%$  para B16-F10. Em HaCaT, todos os extratos e frações testados apresentaram efeito inibitório sobre a migração celular, porém apenas os extratos de flores ( $9,4 \pm 1,2\%$ ) e de folhas ( $6,1 \pm 1,8\%$ ) apresentaram reduções estatisticamente significativas quando comparados ao controle ( $p < 0,05$ ). De forma semelhante, nas células B16-F10, observou-se inibição da migração em todos os tratamentos, exceto com a fração acetato do extrato das folhas. No entanto, apenas o extrato de folhas apresentou diferença estatisticamente significativa ( $16,7 \pm 3,0\%$ ) em relação ao controle negativo ( $p < 0,05$ ).

Após 24 horas, nas células HaCaT, o extrato de flores ( $49,6 \pm 8,3\%$ ) e de folhas ( $22,5 \pm 3,9\%$ ) continuaram a reduzir a migração celular, embora apenas o extrato de folhas tenha mantido diferença estatisticamente significativa frente ao controle ( $50,6 \pm 3,8\%$ ). Nas células B16-F10, o extrato de folhas ( $28,0 \pm 1,7\%$ ) foi a única amostra avaliada que promoveu uma inibição significativa da migração celular, em comparação ao controle negativo, que atingiu praticamente a confluência total ( $99,3 \pm 1,1\%$ ).

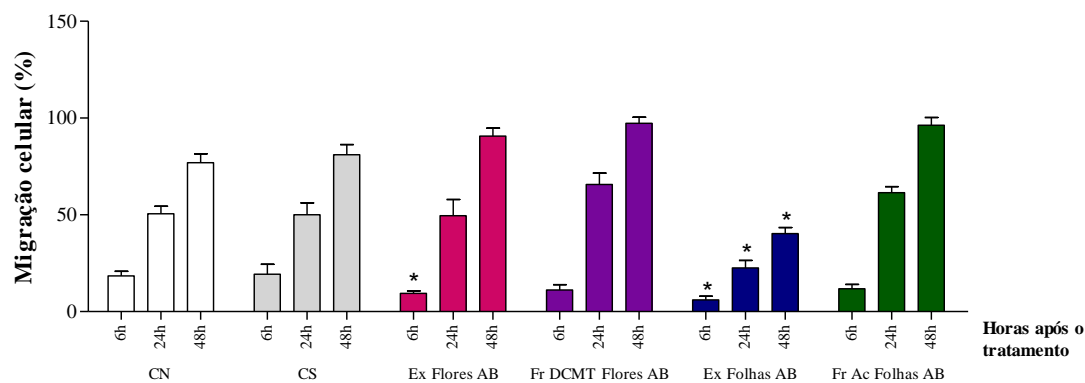
Após 48 horas de incubação, observou-se que o extrato de folhas manteve a capacidade de inibir a migração celular de forma significativa em ambas as linhagens:  $40,3 \pm 3,0\%$  para HaCaT e  $66,1 \pm 4,6\%$  para B16-F10. Nos demais tratamentos, as taxas de migração foram semelhantes às observadas no controle negativo, que apresentou fechamento completo da ranhura, indicando ausência de efeito inibitório relevante. As imagens representativas dos diferentes grupos experimentais ao longo do ensaio estão dispostas na Figura 3.

O perfil antimigratório observado não seguiu o mesmo padrão da citotoxicidade. A inibição promovida pelo extrato de folhas sugere interações sinérgicas entre diferentes classes de compostos capazes de modular processos associados à migração celular, efeito que pode ser parcialmente perdido após o fracionamento.

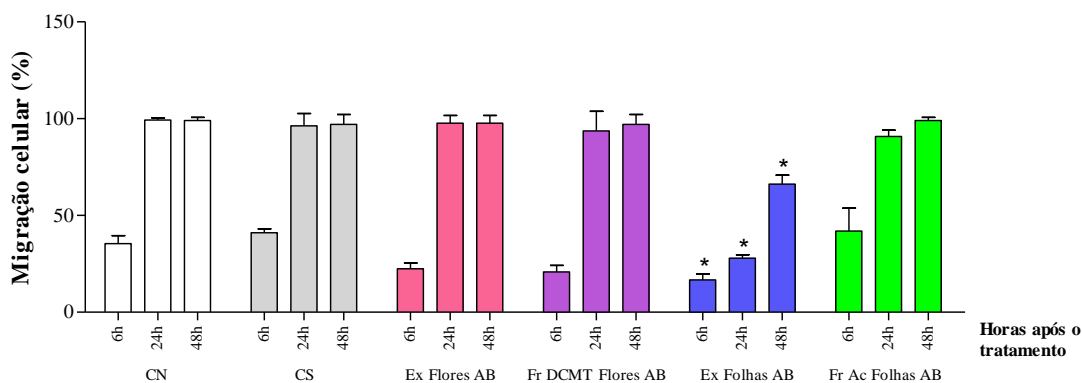
Além disso, o efeito observado na linhagem B16-F10, indica um possível potencial antimetastático, que merece investigação aprofundada, particularmente no contexto de modulação de vias relacionadas à motilidade celular e plasticidade celular.

**Figura 2.** Análise quantitativa da área de migração celular das linhagens HaCaT (A) e B16-F10 (B) após tratamento com extratos e frações de *Arrabidaea brachypoda*

**A.**



**B.**



Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão da porcentagem de migração celular em relação ao controle negativo (CN), em diferentes tempos de tratamento.

\*efeito inibitório na migração celular estatisticamente diferente do CN ( $p < 0,05$ , ANOVA, seguido pelo teste de Tukey).

CN: DMEM com 10% de soro bovino fetal;

CS: controle solvente (DMSO 0,1%);

Ex Flores AB: extrato de flores de *Arrabidaea brachypoda* (62,5  $\mu\text{g/mL}$ );

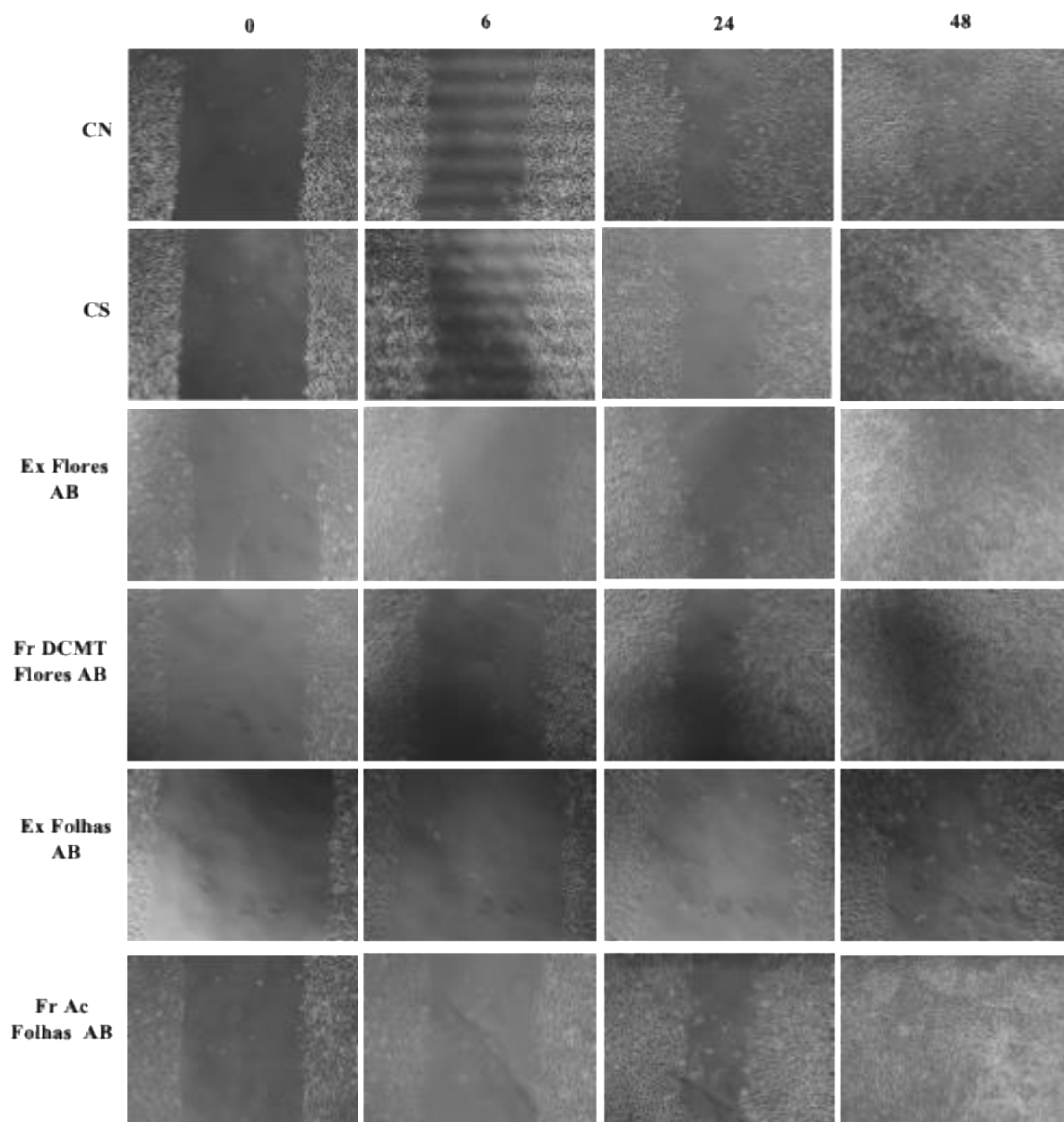
Fr DCMT Flores AB: fração diclorometano do extrato de flores (31,25  $\mu\text{g/mL}$ );

Ex Folhas AB: extrato de folhas (62,5  $\mu\text{g/mL}$ );

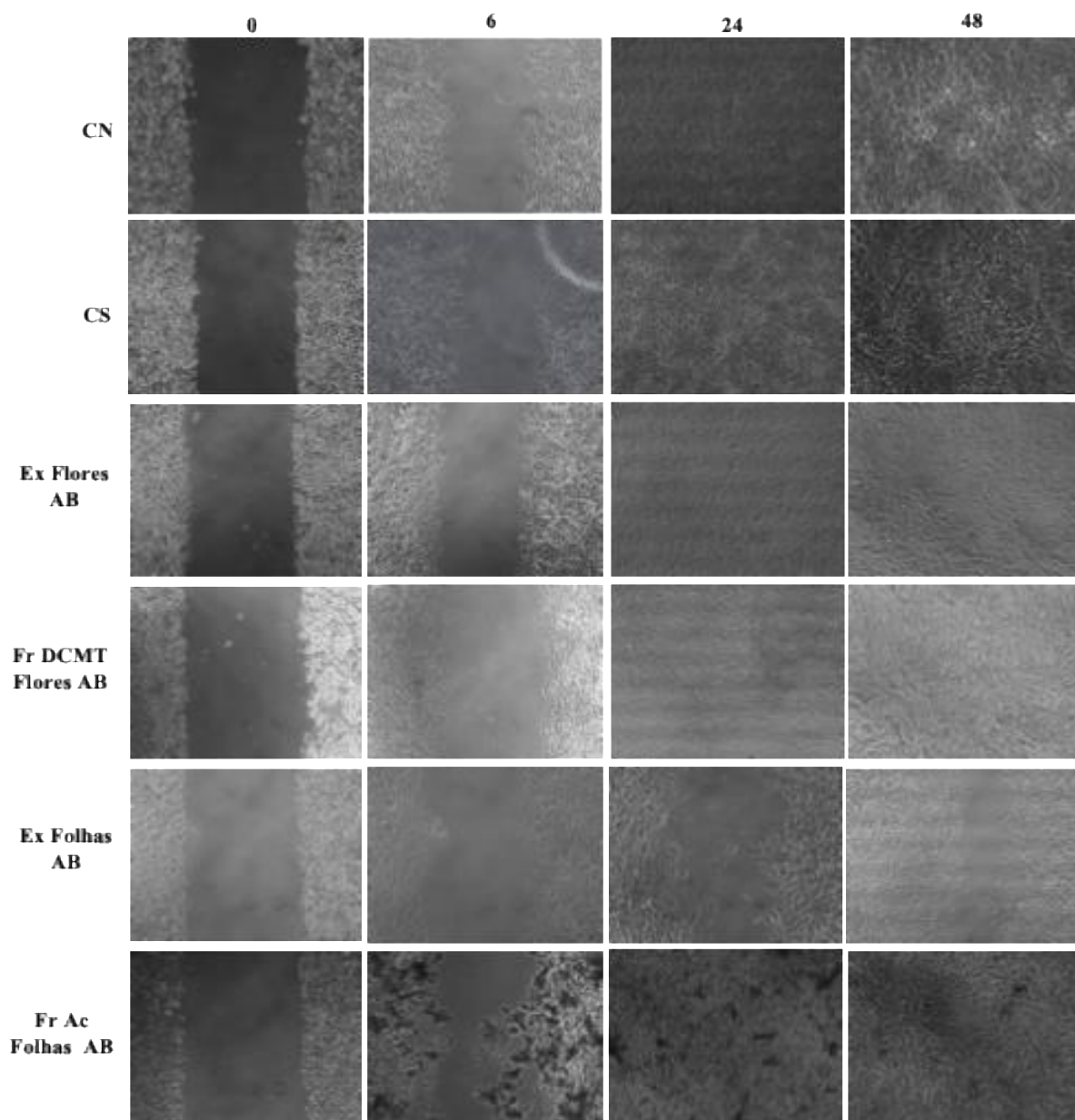
Fr Ac Folhas AB: fração acetato do extrato de folhas (125  $\mu\text{g/mL}$ ).

**Figura 3.** Imagens representativas de células HaCaT (A) e B16-F10 (B) em um ensaio de migração celular in vitro

**A.**



**B.**



As imagens foram tiradas imediatamente após a microlesão na monocamada celular ter sido feito (0h) e depois de 6, 24 e 48 horas.

CN: controle negativo (DMEM com 10% de soro bovino fetal);

CS: controle solvente (DMSO 0,1%);

Ex Flores AB: extrato de flores de *Arrabidaea brachypoda* (62,5 µg/mL);

Fr DCMT Flores AB: fração diclorometano do extrato de flores (31,25 µg/mL);

Ex Folhas AB: extrato de folhas (62,5 µg/mL);

Fr Ac Folhas AB: fração acetato do extrato de folhas (125 µg/mL).

Os resultados da avaliação do potencial mutagênico dos extratos e frações de *A. brachypoda* estão apresentados na Tabela 2.

Entre as amostras avaliadas, os extratos hidroalcoólicos brutos de flores e folhas promoveram aumento estatisticamente significativo e dependente da concentração no número de colônias revertentes em relação ao controle negativo. Este efeito foi observado exclusivamente na linhagem TA98, indicando a indução de mutações do tipo *frameshift*, tanto por ação direta quanto após ativação metabólica.

Nos ensaios conduzidos na ausência de S9, o extrato de flores apresentou os maiores índices de mutagenicidade (IM), variando de 2,0 a 4,2, enquanto o extrato de folhas exibiu IM entre 1,0 e 2,8. Na presença do sistema S9, a mutagenicidade foi mantida apenas nas concentrações mais elevadas, com IM de 2,4 (15 mg/placa) e 3,3 (20 mg/placa) para o extrato de flores e IM de 2,0 para o extrato de folhas na maior concentração avaliada (20 mg/placa).

Nenhuma das frações obtidas a partir dos extratos de folhas e flores induziu aumento significativo no número de revertentes, sendo, portanto, consideradas não mutagênicas nas condições avaliadas. Esse resultado indica que o fracionamento reduziu ou removeu os constituintes responsáveis pela mutagenicidade observada nos extratos brutos, o que sugere que esses compostos podem estar presentes em baixa concentração nas frações ou depender de interações sinérgicas na matriz complexa dos extratos para manifestar essa atividade.

Os resultados deste estudo estão alinhados com achados prévios do nosso grupo (RESENDE *et al.*, 2017). Os extratos brutos de folhas, caules e raízes de *A. brachypoda* apresentaram maior atividade mutagênica quando comparados às frações aquosa e diclorometano, reforçando a hipótese de um possível sinergismo entre seus constituintes químicos. Entre as frações avaliadas, apenas a fração aquosa das folhas manteve atividade mutagênica. Ademais, a resposta positiva ocorreu predominantemente na cepa TA98, indicando um perfil mutagênico majoritariamente associado à indução de mutações do tipo *frameshift* (RESENDE *et al.*, 2017).

É importante mencionar que a citotoxicidade observada neste estudo esteja relacionada, ao menos em parte, à instabilidade genética causada por compostos dos extratos brutos que interagem com o DNA. Quando células em proliferação sofrem danos no DNA, elas interrompem o ciclo celular para tentar reparar o material genético. Porém, quando esse dano é intenso ou persistente, as células não conseguem completar o reparo e acabam entrando em morte celular, contribuindo para a redução de viabilidade observada (SERPELONI *et al.*, 2020).

**Tabela 2.** Atividade mutagênica expressa através da média e desvio padrão do número de revertentes/ placa e índice de mutagenicidade nas linhagens TA 98, TA 100, TA97a e TA 102 de *S. Typhimurium* após o tratamento com várias concentrações do extrato de flores de *A. brachyphoda*, em experimentos sem (-S9) e com (+S9) ativação metabólica

Número de revertentes (M ± DP)/ placa e IM									
Extrato de flores de <i>A. brachyphoda</i>									
TA98			TA100			TA102		TA97a	
Tratamentos			Tratamentos						
mg/placa	- S9	+ S9	mg/placa	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
CN	15 ± 2	18 ± 5	C-	86 ± 12	105 ± 11	330 ± 26	248 ± 11	99 ± 6	143 ± 8
<b>2,5</b>	32 ± 5** (2,05)	20 ± 4 (1,06)	<b>1,25</b>	116 ± 5 (1,34)	140 ± 13 (1,34)	275 ± 18 (0,83)	270 ± 21 (1,09)	123 ± 8 (1,24)	175 ± 7 (1,22)
<b>5</b>	37 ± 9** (2,38)	25 ± 2 (1,36)	<b>2,5</b>	107 ± 11 (1,24)	134 ± 6 (1,28)	265 ± 16 (0,80)	280 ± 24 (1,13)	104 ± 14 (1,05)	172 ± 4 (1,20)
<b>10</b>	41 ± 2** (2,64)	32 ± 3* (1,75)	<b>5</b>	115 ± 2 (1,33)	128 ± 12 (1,22)	267 ± 29 (0,81)	298 ± 32 (1,20)	111 ± 2 (1,13)	193 ± 12 (1,34)
<b>15</b>	46 ± 4** (3,00)	44 ± 6** (2,37)	<b>7,5</b>	116 ± 4 (1,34)	149 ± 18 (1,42)	273 ± 26 (0,82)	305 ± 24 (1,23)	111 ± 13 (1,13)	215 ± 16* (1,50)
<b>20</b>	65 ± 1** (4,24)	60 ± 1** (3,27)	<b>10</b>	125 ± 12 (1,45)	155 ± 6 (1,48)	284 ± 28 (0,86)	309 ± 13 (1,25)	89 ± 8 (0,90)	231 ± 12* (1,61)
CP	727 ± 56** <sup>a</sup>	909 ± 61** <sup>d</sup>	C +	1239 ± 102** <sup>b</sup>	1872 ± 122** <sup>d</sup>	1882 ± 103** <sup>c</sup>	1720 ± 98** <sup>e</sup>	1028 ± 62** <sup>b</sup>	1756 ± 135** <sup>d</sup>

Fração diclorometano do extrato de flores de <i>A. brachyphoda</i>									
TA98			TA100			TA102		TA97a	
Tratamentos									
mg/placa	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	
CN	28 ± 8	23 ± 4	124 ± 28	148 ± 13	239 ± 23	228 ± 34	100 ± 17	121 ± 19	
<b>0,12</b>	29 ± 3 (1,04)	29 ± 2 (1,24)	143 ± 13 (1,15)	153 ± 13 (1,18)	257 ± 14 (1,08)	258 ± 18 (1,13)	121 ± 19 (1,21)	135 ± 21 (1,12)	
<b>0,25</b>	32 ± 4 (1,14)	31 ± 8 (1,33)	160 ± 21 (1,29)	146 ± 24 (1,13)	254 ± 34 (1,06)	269 ± 13 (1,18)	114 ± 10 (1,14)	152 ± 14 (1,26)	
<b>0,5</b>	30 ± 4 (1,07)	28 ± 1 (1,22)	145 ± 25 (1,17)	142 ± 11 (0,96)	263 ± 38 (1,10)	262 ± 25 (1,15)	100 ± 27 (1,00)	133 ± 13 (1,10)	
<b>0,75</b>	29 ± 6 (1,04)	26 ± 4 (1,13)	151 ± 11 (1,22)	157 ± 28 (1,06)	271 ± 35 (1,13)	290 ± 34 (1,27)	115 ± 18 (1,15)	146 ± 15 (1,21)	
<b>1</b>	27 ± 3 (0,96)	31 ± 4 (1,35)	146 ± 18 (1,18)	132 ± 16 (0,89)	244 ± 21 (1,02)	264 ± 42 (1,16)	113 ± 9 (1,13)	128 ± 12 (1,06)	
CP	1329 ± 145** <sup>a</sup>	1060 ± 92** <sup>d</sup>	1188 ± 141** <sup>b</sup>	1330 ± 72** <sup>d</sup>	1847 ± 93** <sup>c</sup>	1247 ± 108** <sup>e</sup>	930 ± 87** <sup>b</sup>	1357 ± 105** <sup>d</sup>	

Continuação

Continuação

Número de revertentes (M ± DP)/ placa e IM									
Extrato de folhas de <i>A. brachyphoda</i>									
TA98			TA100			TA102		TA97a	
Tratamentos			Tratamentos						
mg/placa	- S9	+ S9	mg/placa	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
CN	15 ± 2	18 ± 5	C-	86 ± 12	105 ± 11	330 ± 26	248 ± 11	99 ± 6	143 ± 8
2,5	15 ± 1 (1,00)	28 ± 6* (1,55)	1,25	90 ± 7 (1,05)	106 ± 14 (1,01)	349 ± 17 (1,06)	254 ± 18 (1,02)	99 ± 8 (1,00)	147 ± 6 (1,03)
5	21 ± 8 (1,40)	29 ± 3* (1,61)	2,5	93 ± 10 (1,08)	108 ± 17 (1,03)	364 ± 16 (1,10)	260 ± 32 (1,05)	104 ± 18 (1,05)	153 ± 15 (1,07)
10	27 ± 7* (1,80)	30 ± 4* (1,67)	5	107 ± 16 (1,25)	112 ± 15 (1,07)	316 ± 11 (0,96)	280 ± 25 (1,13)	96 ± 16 (0,97)	141 ± 4 (0,99)
15	39 ± 8** (2,60)	32 ± 4* (1,78)	7,5	109 ± 12 (1,27)	104 ± 14 (1,00)	322 ± 14 (0,98)	253 ± 15 (1,02)	107 ± 21 (1,08)	145 ± 8 (1,01)
20	43 ± 4** (2,87)	36 ± 5** (2,00)	10	111 ± 8 (1,30)	107 ± 18 (1,02)	334 ± 22 (1,01)	274 ± 13 (1,10)	100 ± 8 (1,01)	146 ± 11 (1,02)
CP	727 ± 56** <sup>a</sup>	909 ± 61** <sup>d</sup>	C +	1239 ± 102** <sup>b</sup>	1872 ± 122** <sup>d</sup>	1882 ± 103** <sup>c</sup>	1720 ± 98** <sup>e</sup>	1028 ± 62** <sup>b</sup>	1756 ± 135** <sup>d</sup>

Fração acetato de etila do extrato de folhas de <i>A. brachyphoda</i>									
TA98			TA100			TA102		TA97a	
Tratamentos									
mg/placa	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	
CN	28 ± 8	23 ± 4	124 ± 28	148 ± 13	239 ± 23	228 ± 34	100 ± 17	121 ± 19	
0,12	31 ± 2 (1,09)	26 ± 5 (1,11)	134 ± 16 (1,08)	156 ± 6 (1,05)	256 ± 31 (1,07)	261 ± 22 (1,15)	123 ± 14 (1,23)	134 ± 15 (1,11)	
0,25	32 ± 1 (1,14)	25 ± 6 (1,09)	130 ± 18 (1,05)	153 ± 13 (1,03)	250 ± 24 (1,05)	247 ± 11 (1,09)	119 ± 18 (1,19)	135 ± 11 (1,12)	
0,5	34 ± 4 (1,20)	24 ± 2 (1,04)	99 ± 11 (0,80)	149 ± 21 (1,01)	247 ± 42 (1,03)	206 ± 18 (0,90)	106 ± 9 (1,06)	134 ± 24 (1,11)	
0,75	28 ± 3 (1,00)	27 ± 1 (1,15)	116 ± 26 (0,94)	167 ± 11 (1,13)	285 ± 30 (1,19)	253 ± 36 (1,11)	108 ± 8 (1,08)	127 ± 10 (1,05)	
1	32 ± 6 (1,14)	25 ± 7 (1,09)	123 ± 16 (0,99)	182 ± 23 (1,23)	240 ± 20 (1,00)	258 ± 28 (1,13)	128 ± 10 (1,28)	114 ± 18 (0,94)	
CP	1329 ± 145** <sup>a</sup>	1060 ± 92** <sup>d</sup>	1188 ± 141** <sup>b</sup>	1330 ± 72** <sup>d</sup>	1847 ± 93** <sup>c</sup>	1247 ± 108** <sup>e</sup>	930 ± 87** <sup>b</sup>	1357 ± 105** <sup>d</sup>	

M ± DP = média e desvio padrão; Controle negativo (CN): DMSO: 100 µL/placa; Controle positivo (CP): <sup>a</sup>4-nitro-*o*-fenilenodiamino (10,0 µg/ placa – TA98, TA97a); <sup>b</sup>Azida Sódica (1,25 µg/placa – TA100); <sup>c</sup>Mitomicina C (0,5 µg/ placa – TA102), em ausência de S9 e <sup>d</sup>2-aminoantraceno (1,25 µg/ placa – TA98, TA97a e TA100); <sup>e</sup>2-aminofluoreno (10 µg/ placa – TA102), na presença de S9.

A ampla diversidade fitoquímica de *A. brachypoda*, descrita na literatura, contribui para a compreensão dos efeitos biológicos identificados neste estudo. Um marco importante nesse contexto foi a descoberta das braquidinas, flavonoides diméricos estruturalmente incomuns, originalmente isolados das raízes. Essas moléculas apresentam quatro anéis independentes e dois anéis benzopiranos fusionados, cuja diversidade de substituintes confere propriedades biológicas significativas (ROCHA *et al.*, 2014). Estudos recentes demonstram que as braquidinas possuem atividade citotóxica e são consideradas potenciais marcadores químicos da espécie vegetal (NUNES *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2021; LIMA *et al.*, 2022; SERPELONI *et al.*, 2023; ROSÁRIO *et al.*, 2025).

Além das braquidinas, a caracterização química de outras partes da planta revela uma composição diversa e bioativa. De acordo com a revisão realizada por Nascimento *et al.* (2022), as folhas de *A. brachypoda* apresentam flavonoides como apigenina, luteolina, isoquercitrina e rutina, enquanto as flores contêm diferentes chalconas, incluindo 4'-hidroxi-3,4-dimetoxi-chalcona, 3'-hidroxi-3-acetato-4-metoxi-chalcona, 3',4'-di-hidroxi-3,4,4'-trimetoxi-chalcona e 3,4-dimetoxi-chalcona.

Complementando essa caracterização, Rosario *et al.* (2025) identificaram vinte e seis compostos nas flores de *F. platyphylla* (sin. *A. brachypoda*) e em suas frações (aquosa, diclorometano e acetato de etila), incluindo flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e derivados do ácido cinâmico. Os autores observaram que a fração diclorometânica apresentou a maior atividade citotóxica, com valores de IC<sub>50</sub> de 22,14 e 30,9 µg/mL para as linhagens de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231, respectivamente, além de promover significativa inibição da migração celular. Nessa fração, foram detectadas as braquidinas A e C, anteriormente relatadas apenas nas raízes da espécie, as quais foram isoladas e confirmadas como compostos com potencial citotóxico (ROSÁRIO *et al.*, 2025).

No que se refere às folhas de *F. platyphylla*, Brito *et al.* (2025) caracterizaram quinze compostos fenólicos no extrato hidroetanólico, incluindo derivados de ácidos fenólicos, flavonoides glicosilados e agliconas de flavonas, entre eles rutina, derivados de quercetina e múltiplas formas C- e O-glicosiladas de apigenina e kaempferol. O extrato apresentou atividade antiproliferativa contra células cervicais humanas (HeLa e SiHa) e inibiu a migração dessas células tumorais.

Além desses dados, Garcia (2008) contribuiu para a compreensão da composição das folhas e identificou na fração acetato de etila do extrato etanólico dois flavonóis inéditos derivados de quercetina, arrabidosídeo A e arrabidosídeo B, além de rutina e isoquercitrina.

Os estudos focados nas raízes de *A. brachypoda* reforçam o potencial antitumoral da espécie. Serpeloni *et al.* (2020) demonstraram citotoxicidade seletiva do extrato bruto das raízes frente às linhagens ACP02 (adenocarcinoma gástrico) e HepG2 (carcinoma hepatocelular). Além da redução da viabilidade, os tratamentos modularam genes envolvidos em apoptose e progressão do ciclo celular, e promoveram aumento da população sub-G1, mesmo em concentrações que não reduziram significativamente a viabilidade, sugerindo a ativação precoce de vias apoptóticas.

Lima *et al.* (2022) avaliaram o extrato hidroetanólico bruto, uma subfração enriquecida em braquidinas E e F, e esses dois flavonoides isolados, todos obtidos das raízes de *F. platyphylla*. Embora o extrato bruto não tenha exibido citotoxicidade, a subfração apresentou atividade antiproliferativa mais pronunciada, especialmente contra células de glioblastoma (U-251) e de adenocarcinoma de próstata (PC-3). As braquidinas E e F isoladas reduziram de forma significativa a viabilidade, a proliferação e a capacidade clonogênica das células PC-3, induzindo morte celular regulada. Abordagens *in silico* sugeriram que esses compostos interagem com receptores nucleares, com destaque para sua afinidade pelo receptor de glicocorticoides (GR), cuja modulação é considerada uma estratégia terapêutica relevante no contexto do câncer de próstata.

Maciel-Silva *et al.* (2023) também corroboraram o potencial das raízes ao demonstrar que a fração diclorometânica possui ação citotóxica contra células de mama (MCF-7), próstata (DU145) e colo do útero (HeLa), associada à redução da migração e da clonogenicidade, sem efeitos genotóxicos detectáveis.

As braquidinas isoladas dessa espécie vegetal têm sido particularmente investigadas em modelos de câncer de próstata. Nunes *et al.* (2020) demonstraram que as braquidinas A, B e C (BrA, BrB e BrC, respectivamente) apresentam citotoxicidade significativa em células PC-3, sem efeito genotóxico pelo ensaio Cometa. A atividade citotóxica envolveu indução de apoptose e necrose, conforme evidenciado por ensaio de tripla fluorescência. BrB e BrC promoveram aumento nos níveis de p21, sugerindo possível bloqueio do ciclo celular em G1, enquanto BrA e BrB reduziram a expressão de fosfo-AKT, o que também influenciou o ciclo celular e a proliferação. Além disso, todas as braquidinas aumentaram a expressão de PARP clivada, uma proteína relacionada ao reparo do DNA e à indução de processos apoptóticos.

Resultados complementares foram obtidos Oliveira *et al.* (2021), que demonstraram que a BrA é significativamente mais citotóxica para células DU145 do que para células epiteliais prostáticas não tumorais (PNT2). BrA também induziu apoptose e necrose sem alterar o estado oxidativo celular e reduziu a capacidade clonogênica das células tumorais, embora não tenha

provocado mudanças no número total de células ou no conteúdo proteico em ensaios de curva de crescimento. Além disso, BrA comprometeu a migração e invasão celular, conforme evidenciado pelos ensaios de *wound healing* e *transwell*.

Em modelos tridimensionais, Ribeiro *et al.* (2022) confirmaram os efeitos de BrA em esferoides tumorais da linhagem de células DU145. BrA apresentou citotoxicidade, alterou a morfologia e o volume dos esferoides e suprimiu tanto a migração quanto a invasão tumoral. A análise por *high-content imaging* revelou redução do potencial de membrana mitocondrial e aumento de marcadores de apoptose e necrose, indicando a ativação de vias de morte celular. Em nível molecular, o tratamento com BrA elevou proteínas associadas ao dano ao DNA (cleaved-PARP e p- $\gamma$ -H2AX) e reduziu a expressão de reguladores anti/pro-apoptóticos (BCL-2, BAD e RIP3K) e de proteínas de sobrevivência celular (p-AKT1 e p-44/42 MAPK). Após 72 horas, houve ainda aumento das caspases efetoras (CASP3, CASP7 e CASP8) e de marcadores inflamatórios, sugerindo envolvimento de morte celular mediada por PARP (parthanatos).

De forma semelhante, Serpeloni *et al.* (2023) demonstraram que BrB apresenta potente atividade citotóxica e antimigratória. Os experimentos foram conduzidos em culturas 2D e em esferoides das células DU145.

Por fim, Oliveira *et al.* (2022) relataram que BrC exerce efeitos citotóxicos dependentes do tempo em modelos 3D das células DU145, com redução progressiva da viabilidade e do crescimento dos esferoides, sem envolvimento de estresse oxidativo. A BrC também comprometeu os processos de migração e invasão celular. Além disso, modulou a expressão de genes associados à sobrevivência, inflamação, apoptose e transição epitélio-mesênquima (BIRC5, TNF- $\alpha$ , CASP3, NKX3.1, MMP9, MMP11, CDH1 e ITGAM), acompanhada da redução das proteínas CASP7, BAX e TNF- $\alpha$ .

Quando considerados em conjunto, esses estudos demonstram o potencial das braquidinas como candidatos promissores para investigações pré-clínicas voltadas ao desenvolvimento de terapias inovadoras contra o câncer de próstata, que se destaca como o principal foco das pesquisas conduzidas até o momento.

Considerados em conjunto, esses dados revelam que as braquidinas constituem candidatos promissores para estudos pré-clínicos voltados ao desenvolvimento de terapias inovadoras, particularmente no contexto do câncer de próstata. O aprofundamento das investigações químicas, farmacológicas e mecanísticas envolvendo esses compostos representa um passo estratégico para o avanço da pesquisa aplicada às doenças oncológicas.

## 5. CONCLUSÃO

O presente estudo amplia o conhecimento sobre o potencial antitumoral de *A. brachypoda* ao integrar dados de citotoxicidade, migração celular e mutagenicidade obtidos a partir de seus extratos hidroalcoólicos brutos e de frações obtidas por partição. Essa abordagem permitiu comparar a atividade biológica entre diferentes partes da planta (folhas e flores) e identificar de que maneira o fracionamento interfere nesse potencial.

Os extratos e frações demonstraram atividade citotóxica relevante frente a diferentes linhagens celulares, com destaque para a fração diclorometânica das flores, que apresentou os menores valores de  $IC_{50}$ , sugerindo concentração de compostos bioativos com maior efeito citotóxico. No entanto, os baixos índices de seletividade observados ( $IS < 1$ ) indicam uma ação não seletiva para células tumorais nas condições avaliadas.

Nos ensaios de migração celular, os extratos brutos de folhas e flores demonstraram capacidade de inibir significativamente a migração das linhagens HaCaT e B16-F10, sobretudo o extrato de folhas, que manteve efeito inibitório até 48 horas de incubação. Esse resultado destaca a possibilidade de que compostos presentes nos extratos brutos atuem de maneira sinérgica na modulação de processos associados à motilidade celular, sugerindo um potencial efeito antimetastático que merece investigação futura.

Por fim, os ensaios de mutagenicidade revelaram que tanto o extrato de flores quanto o de folhas induzem mutações do tipo *frameshift* detectadas na cepa TA98, com e sem ativação metabólica. Tais resultados sugerem que os efeitos citotóxicos observados neste estudo possam estar, ao menos em parte, relacionados à indução de instabilidade genômica.

No entanto, o perfil mutagênico dos extratos brutos, aliado à ausência de seletividade celular, reforça a necessidade de novos estudos, incluindo o isolamento e identificação dos compostos bioativos, a elucidação de seus mecanismos de ação e a avaliação da segurança biológica em diferentes modelos experimentais.

## 6. REFERÊNCIAS

- Alcerito, T.; Barbo, F.E.; Negri, G.; Santos, D.Y.A.C.; Meda, C.I.; Young, M.C.M.; Blatt, C.T.T. Cera epicuticular foliar de *Arrabidaea brachypoda*: flavonoides e atividade antifúngica. *Sistemática Bioquímica e Ecologia*, v. 30, n. 7, p. 677–683, 2002. Doi: 10.1016/s0305-1978(01)00149-1
- Brito, J.A.R.; Miranda, A.J.A.; Lima, V.A.S.; Buna, S.D.S.S.; Rosário, M.S.D.; Lima, R.F.; Martins, M.M.; Andrade, M.S.; Nascimento, M.D.S.B.; Bolzani, V.D.S.; Azevedo-Santos, A.P.S.; Lima, J.A.; Xavier, J.K.A.M.; Rocha, C.Q.D. Antiproliferative and anti-migratory activities of an extract from *Fridericia platyphylla* leaves and its molecular profile. *Plants*, 14(17):2693, 2025. Doi: 10.3390/plants14172693.
- Ferreira, A.C.; Marques, R.F.; Cunha, I.R.D.; Moura, J.C.; Oliveira, R.M.; Da Luz, K.J.F.; Silva, L.T.S.S.; Carvalho, M.B.B.; Andrade, L.P.; Xavier, J.K.A.M.; Diniz Filho, J.F.S.; Rocha, C.Q.; Ribeiro, R.M. Therapeutic potential of *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann: an integrative review of the effects of crude extracts and isolated phytochemicals in different experimental models. *ACS Omega*, 10(35):39371–39397, 2025. Doi: 10.1021/acsomega.5c02027
- Ferreira, P.M.P.; Arcanjo, D.D.R.; Peron, A.P. Drug development, Brazilian biodiversity and political choices: where are we heading? *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, v. 26, n. 5, p. 257–274, 2023. Doi: 10.1080/10937404.2023.2193762
- Garcia, F. Estudo fitoquímico da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau – Bignoniaceae e atividades antioxidante e inibitória da enzima mieloperoxidase das substâncias isoladas. 2008. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
- Gavanji, S.; Bakhtari, A.; Famurewa, A.C.; Othman, E.M. Cytotoxic activity of herbal medicines as assessed in vitro: a review. *Chemistry & Biodiversity*, e202201098, 2023. Doi: 10.1002/cbdv.202201098
- Gielecińska, A.; Kciuk, M.; Mujwar, S.; Celik, I.; Kołat, D.; Kałuzińska-Kołat, Ż.; Kontek, R. Substances of natural origin in medicine: Plants vs. cancer. *Cells*, v. 12, n. 7, p. 986, 2023. Doi: 10.3390/cells12070986.

- Lima, C.A.; Cubero, M.C.Z.; Franco, Y.E.M.; Rodrigues, C.D.P.; do Nascimento, J.R.; Vendramini-Costa, D.B.; Sciani, J.M.; da Rocha, C.Q.; Longato, G.B. Antiproliferative activity of two unusual dimeric flavonoids, brachyidin E and brachyidin F, isolated from *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann: in vitro and molecular docking evaluation. *BioMed Research International*, 3319203, 2022. Doi: 10.1155/2022/3319203
- Maciel-Silva, V.L.; da Rocha, C.Q.; Alencar, L.M.R.; Castelo-Branco, P.V.; Sousa, I.H.; Azevedo-Santos, A.P.; Vale, A.A.M.; Monteiro, S.G.; Soares, R.P.; Guimarães, S.J.A.; Nascimento, J.R.D.; Pereira, S.R.F. Unusual dimeric flavonoids (brachydins) induce ultrastructural membrane alterations associated with antitumor activity in cancer cell lines. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 46, n. 4, p. 665–676, 2023. Doi: 10.1080/01480545.2022.2080217
- Malathi, S.; Pavithra, P.S.; Sridevi, S.; Verma, R.S. Fabrication of nanopatterned PLGA films of curcumin and TPGS for skin cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 578, 119100, 2020. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119100
- Nascimento, J.R.; de Jesus Alves Miranda, A.; Vieira, F.C.; Rodrigues, C.D.P.; Vasconcelos, L.N.; Filho, J.L.P.; Lopes, A.C.C.B.; Tangerina, M.M.P.; Vilegas, W.; da Rocha, C.Q. A review of the phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Arrabidaea*. *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 15, n. 6, p. 658, 2022. Doi: 10.3390/ph15060658
- Neuenschwander, A.; Rocha, V.P.C.; Bastos, T.M.; Marcourt, L.; Morin, H.; da Rocha, C.Q.; Grimaldi, G.B.; de Sousa, K.A.F.; Borges, J.N.; Rivara-Minten, E.; Wolfender, J.L.; Soares, M.B.P.; Queiroz, E.F. Production of highly active antiparasitic compounds from the controlled halogenation of the *Arrabidaea brachypoda* crude plant extract. *Journal of Natural Products*, v. 83, n. 9, p. 2631–2640, 2020. Doi: 10.1021/acs.jnatprod.0c00433
- Nunes, H.L.; Tuttis, K.; Serpeloni, J.M.; Nascimento, J.R.D.; da Rocha, C.Q.; Silva, V.A.O.; Lengert, A.V.H.; Reis, R.M.; de Syllos Cólus, I.M. Characterization of the in vitro cytotoxic effects of brachydins isolated from *Fridericia platyphylla* in a prostate cancer cell line. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, v. 83, n. 15–16, p. 547–558, 2020. Doi: 10.1080/15287394.2020.1784339
- Oliveira, L.C.B.; Nunes, H.L.; Ribeiro, D.L.; do Nascimento, J.R.; da Rocha, C.Q.; de Syllos Cólus, I.M.; Serpeloni, J.M. Aglycone flavonoid brachyidin A shows selective cytotoxicity and antitumoral activity in human metastatic prostate

- (DU145) cancer cells. *Cytotechnology*, v. 73, n. 6, p. 761–774, 2021. Doi: 10.1007/s10616-021-00495-0
- Oliveira, L.C.B.; Ribeiro, D.L.; Nascimento, J.R.D.; Rocha, C.Q.D.; Cólus, I.M.S.; Serpeloni, J.M. Anticancer activities of brachydin C in human prostate tumor cells (DU145) grown in 2D and 3D models: stimulation of cell death and downregulation of metalloproteinases in spheroids. *Chemical Biology & Drug Design*, v. 100, n. 5, p. 747–762, 2022. Doi: 10.1111/cbdd.14112
- Page, B.; Page, M.; Noel, C. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements in vitro. *International Journal of Oncology*, v. 3, p. 473–476, 1993.
- Resende, F.A.; Nogueira, C.H.; Espanha, L.G.; Boldrin, P.K.; Oliveira-Höhne, A.P.; Camargo, M.S.; Rocha, C.Q.; Vilegas, W.; Varanda, E.A. In vitro toxicological assessment of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau: mutagenicity and estrogenicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 90, p. 29–35, 2017. Doi: 10.1016/j.yrtph.2017.08.010
- Rezende-Júnior, L.M.; Andrade, L.M.S.; Leal, A.L.A.B.; Mesquita, A.B.S.; Santos, A.L.P.A.D.; Neto, J.S.L.; Siqueira-Júnior, J.P.; Nogueira, C.E.S.; Kaatz, G.W.; Coutinho, H.D.M.; Martins, N.; Rocha, C.Q.; Barreto, H.M. Chalcones isolated from *Arrabidaea brachypoda* flowers as inhibitors of NorA and MepA multidrug efflux pumps of *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*, v. 9, n. 6, p. 351, 2020. Doi: 10.3390/antibiotics9060351
- Ribeiro, D.L.; Tuttis, K.; Oliveira, L.C.B.; Serpeloni, J.M.; Gomes, I.N.F.; Lengert, A.V.H.; Rocha, C.Q.D.; Reis, R.M.; Cólus, I.M.S.; Antunes, L.M.G. The antitumoral/antimetastatic action of the flavonoid brachydin A in metastatic prostate tumor spheroids in vitro is mediated by (parthanatos) PARP-related cell death. *Pharmaceutics*, v. 14, n. 5, p. 963, 2022. Doi: 10.3390/pharmaceutics14050963
- Rocha, C.Q.; Faria, F.M.; Marcourt, L.; Ebrahimi, S.N.; Kitano, B.T.; Ghilardi, A.F.; Luiz Ferreira, A.; de Almeida, A.C.; Dunder, R.J.; Souza Brito, A.R.; Hamburger, M.; Vilegas, W.; Queiroz, E.F.; Wolfender, J.L. Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of *Arrabidaea brachypoda*: evidences of cytoprotection and isolation of unusual glycosylated polyphenols. *Phytochemistry*, v. 135, p. 93–100, 2017. Doi: 10.1016/j.phytochem.2016.12.002
- Rocha, C.Q.; Queiroz, E.F.; Meira, C.S.; Moreira, D.R.; Soares, M.B.; Marcourt, L.; Vilegas, W.; Wolfender, J.L. Dimeric flavonoids from *Arrabidaea brachypoda*

- and assessment of their anti-*Trypanosoma cruzi* activity. *Journal of Natural Products*, v. 77, n. 6, p. 1345–1350, 2014. Doi: 10.1021/np401060j
- Rocha, C.Q.; Vilela, F.C.; Cavalcante, G.P.; Santa-Cecília, F.V.; Santos-e-Silva, L.; dos Santos, M.H.; Giusti-Paiva, A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau roots. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 133, n. 2, p. 396–401, 2011. Doi: 10.1016/j.jep.2010.10.009
- Rocha, V.P.C.; Rocha, C.Q.; Queiroz, E.F.; Marcourt, L.; Vilegas, W.; Grimaldi, G.B.; Furrer, P.; Allémann, É.; Wolfender, J.L.; Soares, M.B.P. Antileishmanial activity of dimeric flavonoids isolated from *Arrabidaea brachypoda*. *Molecules*, v. 24, n. 1, p. 1, 2018. Doi: 10.3390/molecules24010001
- Rodrigues, V.P.; Rocha, C.Q.D.; Périco, L.L.; Santos, R.C.D.; Ohara, R.; Nishijima, C.M.; Queiroz, E.F.; Wolfender, J.L.; Rocha, L.R.M.D.; Santos, A.R.S.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C.A. Involvement of opioid system, TRPM8, and ASIC receptors in antinociceptive effect of *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 11, p. 2304, 2017. Doi: 10.3390/ijms18112304
- Rosário, M. M.; Russo, H. M.; Dos Santos, A.; Pinheiro, A.; Vasconcelos, L.; Santos, A. P.; Oliveira, L.; Martins, M.; Andrade, M.; Nascimento, M.; Bolzani, V. S.; Lima, J.; Rocha, C. Chemical characterization and evaluation of the anti-cancer potential of flowers from *Fridericia platyphylla* (Bignoniaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2025. Doi: 10.21577/0103-5053.20240132.
- Sem, T.; Samanta, S.K. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 147, p. 59–110, 2015. Doi: 10.1007/10\_2014\_273
- Serpeloni, J.M.; Ribeiro, D.L.; Weiss, G.F.; Oliveira, L.C.B.; Fujiike, A.Y.; Nunes, H.L.; Rocha, C.Q.; Guembarovski, R.L.; Cólus, I.M.S. Flavonoid brachyidin B decreases viability, proliferation, and migration in human metastatic prostate (DU145) cells grown in 2D and 3D culture models. *Toxicology Research (Cambridge)*, v. 12, n. 2, p. 321–331, 2023. Doi: 10.1093/toxres/tfad019
- Serpeloni, J.M.; Specian, A.; Ribeiro, D.L.; Benício, L.M.; Nunes, H.L.; Franchi, L.P.; Rocha, C.Q.; Vilegas, W.; Varanda, E.A.; Cólus, I.M.S. *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann root extract exerts cytotoxic and antiproliferative effects on gastric tumor cells and downregulates BCL-XL, BIRC5, and MET genes.

Human & Experimental Toxicology, v. 39, n. 3, p. 338–354, 2020. Doi:  
10.1177/0960327119888261

Sousa Andrade, L.M.; de Oliveira, A.B.M.; Leal, A.L.A.B.; de Alcântara Oliveira, F.A.;  
Portela, A.L.; de Sousa Lima Neto, J.; de Siqueira-Júnior, J.P.; Kaatz, G.W.; da  
Rocha, C.Q.; Barreto, H.M. Antimicrobial activity and inhibition of the NorA  
efflux pump of *Staphylococcus aureus* by extract and isolated compounds from  
*Arrabidaea brachypoda*. Microbial Pathogenesis, 103935, 2020. Doi:  
10.1016/j.micpath.2019.103935