

Fração de extrato de sementes de *Annona squamosa* L. apresenta potente atividade antiproliferativa em linhagens tumoriais humanas

Daniela Granella Gomes Guidoti

Universidade Estadual de Maringá - UEM
Contato: danielaguidoti@live.com

David Teixeira Guidoti

Universidade do Estado de Minas Gerais - UEMG
Contato: davidguidoti@live.com

Adriano Lopes Romero

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR
Contato: adrianoromero@utfpr.edu.br

Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Contato: aa_ruiz@hotmail.com

Mary Ann Foglio

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Contato: foglioma@gmail.com

João Ernesto de Carvalho

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Contato: carvalho_je@yahoo.com.br

Carmem Lúcia de Mello Sartori Cardoso da Rocha

Universidade Estadual de Maringá - UEM
Contato: clmscrocha@gmail.com

Resumo: Muitas plantas são empregadas pela população como medicinais devido suas propriedades farmacológicas. *Annona squamosa* L., conhecida popularmente como pinha, possui ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais e é rica em componentes bioativos que incluem diterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos, glicosídeos, fitoesteróis, acetogeninas, ciclopeptídeos e óleos essenciais. Tais componentes apresentam diversas bioatividades, como antidiabética, hepatoprotetora, antioxidante, antígeno tóxica, antitumoral e antiproliferativa. Este estudo avaliou a atividade antiproliferativa da fração metanólica de sementes de *A. squamosa*, semipurificada por cromatografia de coluna, testada nas concentrações de 0,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em nove linhagens celulares tumorais humanas U251, UACC-62, MCF-7, NCI-ADR/RES, 786-0, NCI-H40, PC-3, HT-29, K562 e na linhagem celular não tumoral humana HaCat, frente ao controle positivo com doxorubicina. Os resultados mostraram potente efeito antiproliferativo para todas as linhagens testadas. No entanto, houve seletividade sobre a linhagem NCI-H460 (TGI 0,80 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para atividade citostática e, para linhagem U251 (TGI 4,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para atividade citocida, atingindo 100%, indicando potencial uso da fração para futuros isolamentos de moléculas anticâncer.

Palavras-chave: *Annona squamosa*; pinha; antiproliferativo; anticâncer; câncer.

***Annona squamosa* L. seed extract fraction exhibits potent antiproliferative activity on human tumor cell lines**

Abstract: Many plants are used by the population as medicinal due to their pharmacological properties. *Annona squamosa* L., popularly known as custard apple, is widely distributed in tropical and subtropical regions and is rich in bioactive components that include diterpenes, flavonoids, alkaloids, tannins, glycosides, phytosterols, acetogenins, cyclopeptides and essential oils. Such components have several bioactivities, such as antidiabetic, hepatoprotective, antioxidant, antigenotoxic, antitumor and antiproliferative. This study evaluated the antiproliferative activity of the methanolic fraction of *A. squamosa* seeds, semipurified by column chromatography, tested at concentrations of 0.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, on nine human tumor cell lines U251, UACC-62, MCF-7, NCI-ADR/RES, 786-0, NCI-H40, PC-3, HT-29, K562 and on the human non-tumor cell line HaCat, compared to the positive control with doxorubicin. The results exhibited potent antiproliferative effect for all strains tested. However, there was selectivity over the NCI-H460 strain (TGI 0.80 $\mu\text{g mL}^{-1}$) for cytostatic activity, and for the U251 strain (TGI 4.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) for cytotoxic activity, reached 100%, indicating potential use of the fraction for future isolation of anticancer molecules.

Keywords: *Annona squamosa*; custard apple; antiproliferative; anticancer; cancer.

Como citar este artigo:

GUIDOTI, D.G.G.; GUIDOTI, D.T.; ROMERO, A.L.; RUIZ, A.L.T.G.; FOGGIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; da ROCHA, C.L.M.S.C. Fração de extrato de sementes de *Annona squamosa* L. apresenta potente atividade antiproliferativa em linhagens tumorais humanas. **Luminária**, União da Vitória, v.25, n.01, p. 05 – 17, 2023.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são aquelas com capacidade para minimizar ou curar enfermidades e são, tradicionalmente, empregadas pela população. Uma única planta medicinal possui inúmeras diferentes substâncias que, se usadas corretamente, atuam no organismo, seja prevenindo, tratando ou curando enfermidades e, podem ainda, constituir a base para a elaboração de fitoterápicos (ANVISA, 2022).

As plantas constituem, portanto, uma rica fonte natural de metabólitos que podem apresentar diferentes atividades farmacológicas e, por isso, são frequentemente empregadas pela população como recurso terapêutico no tratamento de inúmeras doenças (MORAIS et al., 2016). Em alguns casos, as plantas são utilizadas como tratamento adicional a outros tratamentos já prescritos, no entanto, em razão de seu uso milenar e/ou indicação de familiares, muitas são utilizadas como o único recurso terapêutico (MACHADO et al., 2014; EDRISSIAN et al., 2016; JÜTTE et al., 2017; SZERWIESKI et al., 2017; WEGENER, 2017; DIAS et al., 2018).

O estudo de plantas de cunho medicinal possui nuances complexas, havendo a possibilidade de vários enfoques, como o etnobotânico que aborda as implicações sociais, éticas e a compreensão cultural e folclórica do uso de determinada planta, o que pode ser o início para as pesquisas científicas que venham comprovar ou não suas propriedades ditas medicinais (LOPES; TOCANTINS, 2013; LIMA; GOMES, 2014).

Além do potencial medicinal, estudos etnobotânicos contribuem para a avaliação da finalidade principal da planta, a forma correta de manuseio e possíveis riscos em superdosagens (BADKE et al., 2011), o que contribui para o desenvolvimento de produtos naturais como alternativa no tratamento de enfermidades (REMPEL et al., 2019) e evitar o uso inadequado de plantas (ÂNGELO; RIBEIRO, 2014). As propriedades medicinais descritas para muitas espécies vegetais, se devem à presença nestes, de diferentes classes de compostos bioativos, resultantes do metabolismo secundário vegetal (BERNHOF, 2010).

Os metabólitos secundários recebem esse nome por não estarem diretamente relacionados

aos processos primários, como fotossíntese e respiração. No entanto, são vitais para as plantas, atuando na defesa contra a ação de herbívoros e patógenos, na alelopatia, proteção contra raios ultravioleta e poluição, atração de agentes polinizadores e dispersores, regulação do metabolismo e sinalização molecular, processos essenciais para a vida e perpetuação vegetal (MEYER et al., 2013).

Em geral, os metabólitos secundários possuem estrutura complexa, baixo peso molecular, apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas com bioatividades marcantes (BERG; LUBERT, 2008). Podem receber, também, o nome de princípio ativo e são responsáveis por definir uma planta como sendo medicinal ou tóxica, uma vez que em extratos vegetais, a ação conjunta ou isolada de certas substâncias é responsável pela atividade biológica. Além disso, os componentes bioativos são muito diversos, sendo que mais de 50.000 já foram descritos em angiospermas (MEYER et al., 2013). De acordo com as vias biossintéticas, os metabólitos secundários vegetais são agrupados em três grandes classes: compostos fenólicos, terpenoides e alcaloides (RAVEN et al., 2007), ou, conforme Taiz e Zeiger (2009) em terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, sendo que a distribuição de cada classe de metabólito pode variar nos diferentes grupos de plantas e com relação à época de sua produção, o que constitui uma ferramenta para estudos de quimiotaxonomia (BOURGAUD et al., 2001).

Pesquisas recentes têm demonstrado que o emprego de diferentes bioprodutos vegetais, como farelo, casca de sementes, sementes, bagaço, casca e folhas, por exemplo, são importantes fontes de fitoquímicos e podem ser empregados como ingredientes inovadores na alimentação (KUMAR et al., 2019; KUMAR et al., 2021; NISHAD et al., 2021; PUNIA; KUMAR, 2021).

Annona squamosa L. (Annonaceae), conhecida popularmente como pinha, fruta-do-conde ou ata, possui ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais (DONADIO, 1997). Frutos de *A. squamosa* são amplamente utilizados em preparos alimentícios. Na medicina tradicional, diferentes partes dessa planta têm

sido empregadas, como por exemplo, raízes (PANDEY; BARVE, 2011), folhas, fruto e sementes (PARVIN et al., 2003).

Pesquisas têm sido feitas com diferentes partes de *A. squamosa* e revelaram a presença de vários fitoquímicos, incluindo diterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos, glicosídeos, fitoesteróis, acetogeninas, ciclopeptídeos e óleos essenciais (MA et al., 2017; ZAHID et al., 2018; MANNINO et al., 2020; AL-NEMARI et al., 2020; GUIDOTI et al., 2021). Os diversos compostos isolados de diferentes partes de *A. squamosa* têm demonstrado inúmeras bioatividades, como antidiabética (KALEEM et al., 2008), hepatoprotetora (SALEEM et al., 2008), antígeno tóxica (SURESH et al., 2008), antioxidante (NANDHAKUMAR; INDUMATHI, 2013), anti-HIV em modelos *in silico* (LISINA; PIRAMANAYAGAM, 2014) e antiproliferativa (PARDHASARADHI et al., 2004; PARDHASARADHI et al., 2005).

A atividade antiproliferativa tem sido descrita para diferentes extratos de várias partes de *A. squamosa* e os resultados têm sido significativos contra linhagens tumorais humanas (ZHANG, 2006; JOY; REMANI, 2008; ANAYA-ESPARZA et al., 2020; GUIDOTI et al., 2021). No entanto, ainda é pouco conhecido o mecanismo pelo qual o efeito antitumoral ocorre (MA et al., 2017).

Mesmo assim, sabe-se que aproximadamente 60% dos compostos empregados nos tratamentos de câncer foram isolados a partir de produtos naturais (PALOMBO, 2006) e as plantas constituem a mais rica fonte desses compostos (MUNDY, 2002; WEILBAECHER et al., 2011), por apresentarem metabólitos que atuam como inibidores de vários estágios da tumorigênese e processos inflamatórios associados, indicando a importância dessas fontes naturais como auxiliares na prevenção e na terapia de câncer (SOLOWEY et al., 2014).

O câncer é um problema de saúde pública de proporções mundiais (SUNG et al., 2021). Nos últimos dez anos, houve aumento de 20% em sua incidência e as projeções para 2030 indicam a ocorrência de 25 milhões de novos casos (SANTOS et al., 2023). Os produtos naturais representam excelentes possibilidades para a busca de componentes terapêuticos, uma vez que mais de 60% dos medicamentos empregados em diferentes

terapias anticâncer têm, em alguma instância, sua origem a partir de fontes naturais, o que ressalta a necessidade de pesquisas pela busca de novos compostos com atividade anticâncer (COSTA-LOTUFO et al, 2010).

Apesar das propriedades bioativas e terapêuticas descritas para *A. squamosa*, é necessária a investigação do efeito citostático/citocida de frações da planta em linhagens normais e tumorais humanas, a fim de indicar seu comportamento e subsidiar futuros experimentos que visem o isolamento de compostos bioativos que possam ser empregados em tratamentos quimioterápicos. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial citostático e citocida em linhagem normal e linhagens tumorais humanas, em resposta a tratamentos com diferentes concentrações da fração semipurificada por cromatografia de coluna da fase metanólica de sementes de *Annona squamosa*.

METODOLOGIA

Material Vegetal

Frutos maduros de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) foram coletados em janeiro de 2013 na Estância Peluma, Fazenda Jagora no município de Fernandópolis, São Paulo, Brasil (20°25'47.0"S 50°19'50.1"W, 403 metros de altitude). Material testemunho foi identificado e depositado no herbário da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil sob registro HUEM 29903.

Extração Química

A extração química foi realizada conforme Chang et al. (1999). Foram utilizados 2,3 kg de sementes congeladas de *Annona squamosa*, trituradas em liquidificador doméstico e submetidas à extração exaustiva com acetato de etila (EtOAc), em temperatura ambiente (28°C) por 14 dias, seguido de filtração. O extrato orgânico obtido foi concentrado em evaporador rotativo à 50°C, obtendo-se 123,5 g de extrato bruto (EtOAc). O extrato foi diluído em clorofórmio (400 mL), seguido de três extrações com água destilada (50 mL) para obtenção da fase CHCl₃ e do extrato aquoso. A fase CHCl₃ foi

concentrada e particionada, entre n-hexano (400 mL), seguida de extração com metanol (3 x 50 mL), rendendo ao final 23,1g de fração metanólica de sementes.

O extrato metanólico foi submetido à cromatografia em coluna (Ø 20 mm) sílica gel 60 (26g), com granulometria 70-230 mesh, eluída com n-hexano (100%), clorofórmio (100%), gradientes de mistura de clorofórmio/metanol (99:1, 19:1, 9:1 e 4:1) e metanol (100%), resultando em 72 frascos. As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de alumínio cobertas de sílica-gel 60 UV254 com 0,20 mm de espessura, adquiridas da Merck, como fase estacionária, utilizando n-hexano/EtOAc (2:1), como fase móvel. Para o presente estudo, foi utilizado o tubo 52, com base no perfil cromatográfico obtido por cromatografia de camada delgada (CCD).

Análise da Atividade Antiproliferativa *in vitro*

A atividade antiproliferativa foi avaliada em nove linhagens celulares tumorais humanas, doadas pelo National Cancer Institute (Frederick, MA, USA): U251 (glioma); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos); 786-0 (rím); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-3 (próstata); HT-29 (cólon); K562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos imortalizados, linhagem não tumoral).

As linhagens foram crescidas em 5 mL de meio RPMI 1640 (Gibco BRL), suplementado com 5% de soro bovino fetal e adição de gentamicina (50 mg mL⁻¹). As células foram dispostas em placas contendo 96 poços (10 µL células/poço) e expostas às concentrações da amostra dissolvidas em DMSO/RPMI (0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹), a 37°C com 5% de CO₂ atmosférico, por 48 horas, em triplicata. A concentração final de DMSO não afeta a viabilidade celular, conforme resultados de ensaios prévios. Foi utilizado a doxorrubicina como controle positivo.

As células foram então fixadas com ácido tricloroacético 50% e a proliferação celular determinada por quantificação espectrofotométrica (570 nm) do conteúdo de proteína celular, empregando o teste sulforradamina B (MONKS et al., 1991). A concentração de inibição total do crescimento (TGI) foi determinada pela curva-resposta de cada linhagem celular, por meio de

análise de regressão não-linear pelo software ORIGIN 7.5.

Se $T > C$, existiu estimulação do crescimento celular. Se $T \geq T_0$, mas $> C$, existiu uma atividade citostática e a fórmula utilizada será $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$. Se $T < T_0$, existiu atividade citocida e a fórmula utilizada será $100 \times [(T-T_0)/T_0]$. T = média das células tratadas, C = controle das células e T_0 = controle das células no dia de adição das amostras.

Os resultados dos ensaios de dose foram relatados como TGI (inibição total do crescimento). Os resultados do ensaio para a fração foram separados em quatro categorias: inativos ($TGI > 50 \mu\text{g mL}^{-1}$), atividade fraca ($15 \mu\text{g mL}^{-1} < TGI < 50 \mu\text{g mL}^{-1}$), atividade moderada ($6,25 \mu\text{g mL}^{-1} < TGI < 15 \mu\text{g mL}^{-1}$) e atividade potente ($TGI < 6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$), conforme estabelecido por Fouche et al. (2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fração metanólica semipurificada de sementes (FMSS) de *A. squamosa* foi submetida à avaliação da atividade antiproliferativa em nove linhagens de células tumorais humanas: glioma (U251), melanoma (UACC-62), mama (MCF-7), ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES), rim (786-0), pulmão, tipo não pequenas células (NCI-H40), próstata (PC-3), cólon (HT-29), leucemia (K562) e na linhagem celular não tumoral humana de queratinócitos imortalizados (HaCat), como parâmetro para avaliar a toxicidade da fração. Como controle positivo foi utilizada a doxorubicina. Os valores da concentração necessária para promover inibição total do crescimento celular (TGI) estão mostrados na Tabela 1. Dados da atividade antiproliferativa da doxorubicina (controle positivo) e da FMSS, encontram-se nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

A fração metanólica semipurificada de sementes de *A. squamosa* induziu a inibição total do crescimento celular (TGI) de todas as linhagens em teste, com exceção da linhagem de leucemia (K-562). A fração foi seletiva para a linhagem de pulmão, tipo não pequenas células (NCI-H460), com TGI de $0,80 \mu\text{g mL}^{-1}$. Mostrou também, potente atividade para as linhagens:

glioma (U251) com TGI de $4,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES) e mama (MCF-7), ambas com TGI de $4,9 \mu\text{g mL}^{-1}$, próstata (PC-3), com TGI de $5,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ e cólon (HT-29), com TGI de $6,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, a FMSS apresentou moderado efeito antiproliferativo para as linhagens tumorais humanas de rim (786-0), com TGI de $6,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ e melanoma (UACC-62) com TGI de $7,7 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 1. Concentração necessária para inibição total do crescimento celular (TGI) de linhagens tumorais e não tumoral humanas tratadas com diferentes concentrações de fração metanólica semipurificada de sementes de *A. squamosa*.

TGI ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Tratamentos	
	Doxorrubicina	FMSS
U251	0,65	4,1
UACC-62	0,16	7,7
MCF-7	0,93	4,9
NCI-ADR/RES	1,0	4,9
786-0	13,5	6,8
NCI-H460	0,19	0,80
PC-3	0,45	5,6
HT-29	3,2	6,0
K-562	>25	>250
HaCat	0,28	4,6

Linhagens tumorais humanas: 2 = U251 (glioma); u = UACC-62 (melanoma); m = MCF-7 (mama); a = NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos); 7 = 786-0 (rim); 4 = NCI-H40 (pulmão, tipo não pequenas células); p = PC-3 (próstata); b = HT-29 (cólon); k = K562 (leucemia). Linhagem não tumoral humana: q = HaCat (queratinócitos imortalizados). FMSS: Fração metanólica semipurificada de sementes.

A linhagem não tumoral HaCat sofreu inibição com TGI de $4,6 \mu\text{g mL}^{-1}$. Contudo, mesmo com valor superior ao do controle positivo com doxorubicina ($0,28 \mu\text{g mL}^{-1}$), sua inibição indica a toxicidade da fração para células normais. A doxorubicina é um quimioterápico amplamente empregado no tratamento de diferentes tipos de câncer, bloqueando o crescimento e a progressão de certos tumores. No entanto, possui efeitos colaterais como causar danos teciduais e formação de bolhas durante aplicação intravenosa (PESSINA et al., 2001).

A análise preliminar da atividade antiproliferativa de frações pode ser realizada por meio de testes *in vitro* empregando linhagens de

células tumorais para triagem de novos agentes antitumorais, o que pode ser ampliado posteriormente para ensaios em modelos animais. O estudo comparativo entre a cultura de linhagens derivadas de células cancerosas em relação às linhagens não tumorais é comumente empregada para avaliar as propriedades de fitoquímicos e extratos de plantas medicinais (FERNANDO; RUPASINGHE, 2013).

A atividade citocida da fração foi observada em todas as linhagens tumorais testadas, a partir da concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, com exceção da linhagem de leucemia (K-562), que não sofreu efeito citocida para nenhuma das concentrações testadas, apresentando somente efeito citostático, sendo o mais significativo na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, em torno de 92%, conforme Figura 2. Segundo Tsiftoglou et al. (2003), a linhagem K-562 apresenta alto grau de plasticidade que permite sua diferenciação, quando submetida a diferentes agentes químicos, o que poderia explicar, em parte, seu comportamento no presente trabalho.

A atividade citocida foi atingida em 100% para a linhagem de glioma (U251), nas concentrações de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$. Foi observada, ainda, significativa atividade citocida para as linhagens de melanoma (UACC-62) (96%), de rim 786-0 (94%), ambas na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$; para a linhagem PC-3 (92%) nas concentrações de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e HT-29 (91%), na concentração de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Foi observada, também, na concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, atividade citocida moderada da FMSS para as linhagens de mama MCF-7 (78%), ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos NCI/ADR-RES (69%) e de pulmão, tipo não pequenas células NCI-H460 (67%).

A análise comparativa entre o comportamento das diferentes linhagens celulares expostas às diferentes concentrações da FMSS de *A. squamosa* utilizadas no presente trabalho e os valores da concentração necessária para inibição total do crescimento celular (TGI), apresentados na Tabela 1, é possível verificar que a fração FMSS de *A. squamosa* apresentou seletividade de atividade citostática para a linhagem NCI-H460 (TGI $0,80 \mu\text{g mL}^{-1}$) e de atividade citocida a U251 (TGI $4,1 \mu\text{g mL}^{-1}$),

indicando o potencial uso desta fração para futuros isolamentos de componentes anticâncer.

Em trabalho anterior, Guidoti (2016) avaliou as frações metanólica e acetato de etila de sementes de *A. squamosa*, que foram utilizadas para obtenção da fração metanólica semipurificada do presente estudo. Nesse trabalho, foram empregadas as mesmas linhagens tumorais e não tumoral do presente estudo. A atividade antiproliferativa da fração metanólica foi muito similar em ambos os trabalhos, indicando que a bioatividade verificada no presente trabalho, seja resultante de componentes bioativos presentes também em suas frações de origem.

Prado et al. (2020), utilizando as mesmas linhagens tumorais U251, MCF-7, NCI-ADR/RES, NCI-H40, PC-3, HT-29, K562, a linhagem não tumoral HaCat e a linhagem tumoral OVCAR-3 (não utilizada no presente trabalho), observaram que a fração de compostos fenólicos de sementes de *A. crassiflora* apresentou atividade antiproliferativa seletiva para a linhagem de adenocarcinoma de ovário resistente a múltiplas drogas (NCI-ADR/RES). Os autores identificaram que o flavonoide quercetina encontra-se majoritariamente nesta fração, além de alto teor de compostos fenólicos com capacidade antioxidante.

Mônica et al. (2020) observaram potente atividade citotóxica de extrato etanólico de sementes de *A. squamosa* nas linhagens tumorais PC-3, HT-29 (utilizadas no presente trabalho) e as linhagens tumorais MDA-MB231 (câncer de mama), SiHa (câncer cervical) e A549 (câncer de pulmão); sendo que a principal concentração inibitória (IC50) correspondeu a $17,54 \mu\text{g mL}^{-1}$ para MDA-MB231; $13,07 \mu\text{g mL}^{-1}$ para PC3; $39,68 \mu\text{g mL}^{-1}$ para A549; $16,09 \mu\text{g mL}^{-1}$ para SiHa e $19,74 \mu\text{g mL}^{-1}$ para HT-29.

Resultados obtidos por Pardhasaradhi et al. (2005), mostraram o efeito citotóxico do extrato orgânico de sementes de *A. squamosa* sobre linhagens MCF-7 (mama) e K-562 (leucemia), sendo que no presente trabalho, foi observado efeito citostático e citocida para MCF-7 e citostático para K-562. A citotoxicidade observada pelos autores foi atribuída às acetogeninas, compostos bioativos de Annonaceae com inúmeras bioatividades, que causou condensação nuclear e fragmentação de DNA nas linhagens celulares tumorais.

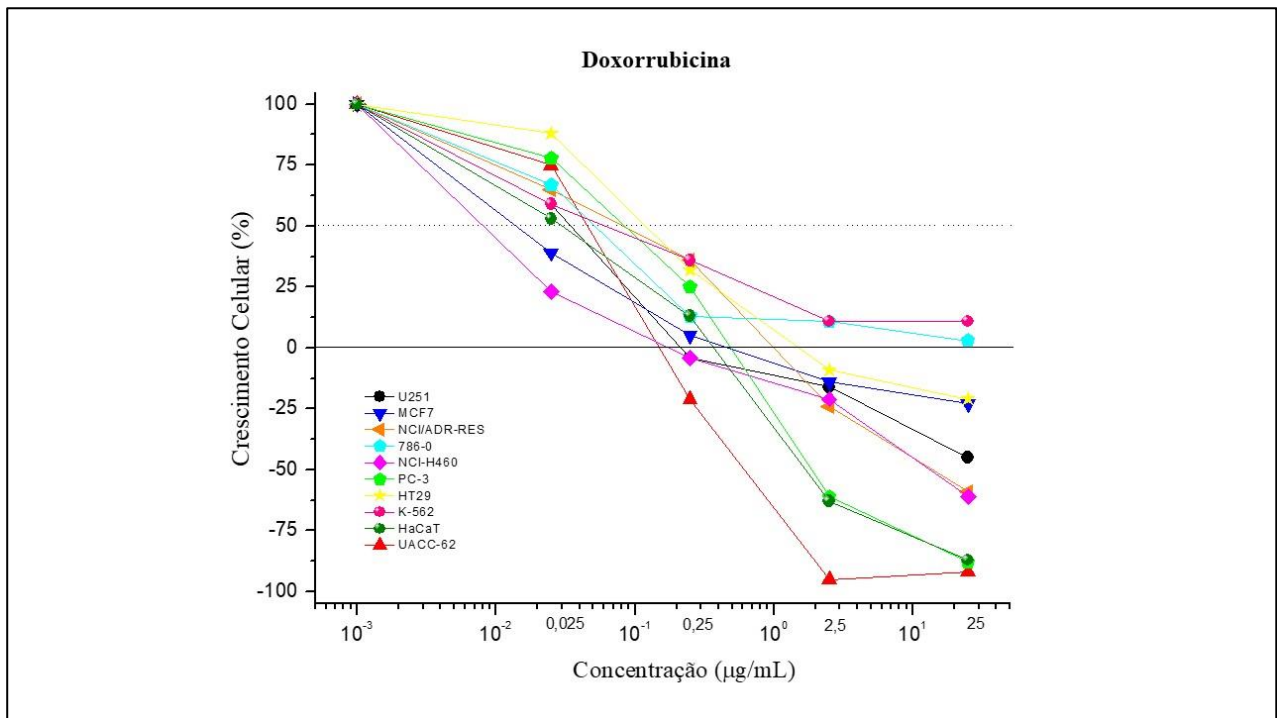


Figura 1. Porcentagem de crescimento celular das linhagens tumorais e normal humanas em diferentes concentrações (0,025; 0,25; 2,5 e 25 µg mL⁻¹) de doxorrubicina, após 48 horas de exposição.

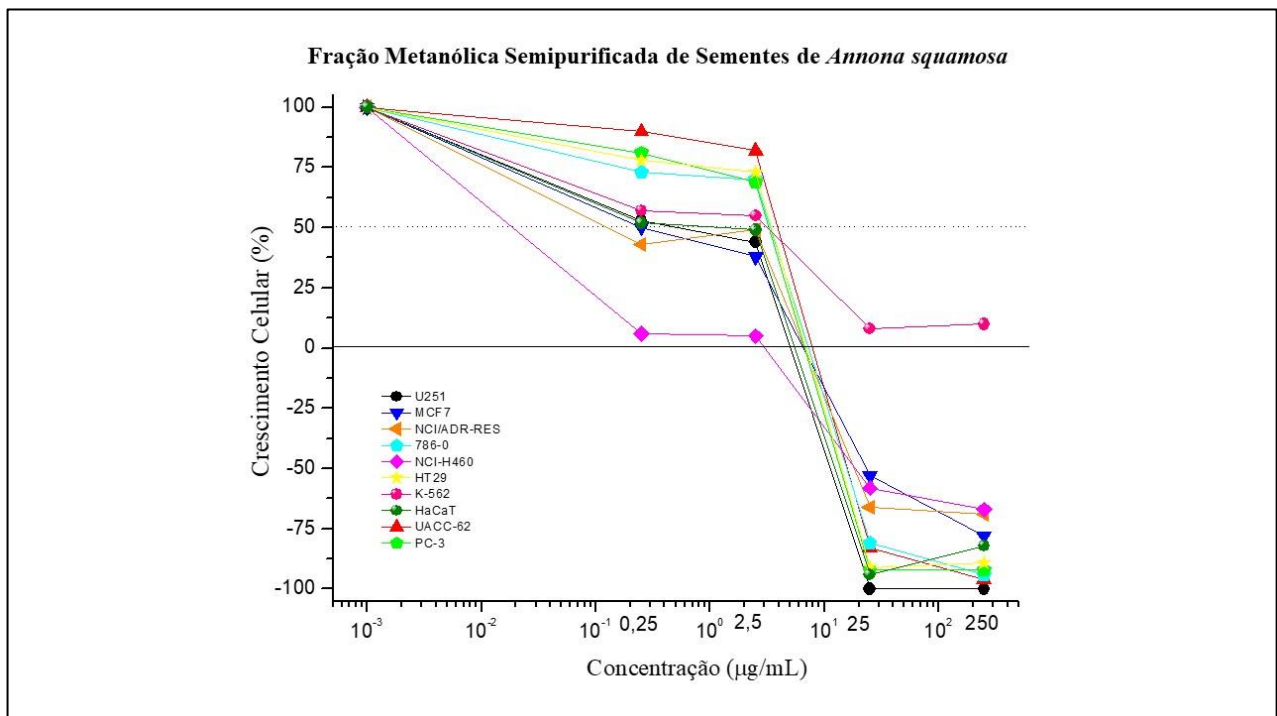


Figura 2. Porcentagem de crescimento celular das linhagens tumorais e normal humanas em diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹) da fração metanólica semipurificada de sementes de *A. squamosa*, após 48 horas de exposição.

Pardhasaradhi et al. (2005) mostraram, ainda, que o efeito antiproliferativo sobre linhagens tumorais MCF-7 e K-562 ocorreu por apoptose, após tratamento com os extratos orgânico e aquoso de sementes de *A. squamosa*. A comprovação de apoptose se deu pelo aparecimento de condensação nuclear, fragmentação de DNA, geração de espécies reativas de oxigênio e redução dos níveis intracelulares de glutatona, além da baixa regulação de Bcl-2, o que não aconteceu para linhagens COLO-205, indicando que os extratos podem atuar seletivamente sobre certos tipos de células tumorais.

Embora muitos compostos isolados de plantas sejam avaliados quanto sua atividade antitumoral, sabe-se que os efeitos benéficos das plantas se devem a uma complexa interação de compostos presentes na planta inteira, podendo apresentar efeitos aditivo, sinérgico ou antagonista, o que não acontece com constituintes isolados (LIU, 2003; KARNA et al., 2012).

Chen et al. (2016), mostraram que sementes de *A. squamosa* apresentam em sua composição química ácidos graxos (ácido palmítico, ácido linoleico, ácido oleico e ácido esteárico) com total de rendimento de 22,65%. Os autores detectaram conteúdo significativo de acetogeninas (em torno de 41 mg/g) que inibiram o crescimento de células tumorais em camundongos, apresentando taxa inibitória máxima de 53%, via administração oral. Verificaram, ainda, que o efeito antitumoral ocorreu através da diminuição da expressão de interleucina-6 (IL-6), janus quinase (Jak) e transdutores de sinal fosforilados e ativadores da transcrição (p-Stat3).

As plantas pertencentes à Annonaceae produzem as chamadas acetogeninas, metabólitos que têm apresentado uma ampla gama de bioatividades, inclusive a antitumoral e extraídas de diferentes partes de espécies de *Annona*, inclusive de sementes (JOLAD et al., 1982; YANG et al., 2009; LISINA; PIRAMANAYAGAM, 2014). Acetogeninas isoladas de *A. squamosa* podem inibir a proliferação de células tumorais e apresentar seletividade. Em alguns casos, tal especificidade pode ser explicada pela alta atividade da oxidase NADH e demanda de adenosina trifosfato,

peculiar nas células tumorais e inerente devido seu crescimento descontrolado (KUMAR et al., 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atividade antiproliferativa da fração metanólica semipurificada de sementes de *Annona squamosa* observada nas diferentes linhagens de células tumorais avaliadas, nas condições e tempo de tratamento do presente trabalho, foi seletiva para a linhagem NCI-H460 (TGI 0,80 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com efeito citostático e para a linhagem U251 (TGI 4,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com efeito citocida de 100%. Adicionalmente, a fração apresentou significativa atividade antiproliferativa para as linhagens tumorais U251, UACC-62, 786-0, PC-3, HT-29, MCF-7, NCI-ADR/RES e NCI-H40, indicando que esta é uma fração em potencial para futuros isolamentos de componentes anticâncer. Estudos futuros poderão ainda, caracterizar os compostos obtidos a partir da fração empregada neste trabalho, além da análise da estrutura química e mecanismo de ação antitumoral que deverá ser avaliada em futuros ensaios *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento; ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agropecuárias (CPQBA) da Universidade de Campinas (UNICAMP), Paulínia, São Paulo e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná, pelo apoio técnico. Ao professor Dr. Renato de Mello-Silva, do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, pela confirmação botânica do espécime utilizado.

REFERÊNCIAS

AL-NEMARI, R.; AL-SENAIDY, A.; SEMLALI, A.; ISMAEL, M.; BADJAH-HADJ-AHMED, A.Y.; BEN BACHA, A. GC-MS profiling and assessment of antioxidant, antibacterial, and anticancer properties of extracts of *Annona squamosa* L. leaves. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, 2020.

ANAYA-ESPARZA, L.M.; GARCÍA-MAGAÑA, M.L.; DOMÍNGUEZ-ÁVILA, J.A.; YAHIA, E.M.; SALAZAR-LÓPEZ, N.J.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. Annonas: underutilized species as a potential source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 138, 2020.

ÂNGELO, T.; RIBEIRO, C.C. Utilização de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos por idosos. **Ciência & Desenvolvimento-Revista Eletrônica da Fainor**, v. 7, n. 1, p.18-31, 2014.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Cartilha: orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais**. 2022. 29 p. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/orientacoes-sobre-o-uso-de-fitoterapicos-e-plantas-medicinais.pdf.> Acesso em: 26 nov. 2022.

BADKE, M.R.; BUDÓ, M.L.D.; SILVA, F.M.; RESSEL, L.B. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v. 15, n. 1, p.132-139, 2011.

BERG, J.M.T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 545 p.

BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. In: BERNHOF, A. (Ed.). **Bioactive compounds in plants - benefits and risks for man and animals**. Oslo: The Norwegian Academy of Science and Letters, 2010. 253 p.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Review: production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839-851, 2001.

CHANG, F.R., CHEN, J.L., LIN, C.Y., CHIU, H.F., WU, M.J., WU, Y.C. Bioactive acetogenins from the seeds of *Annona atemoya*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 7, p. 883-889, 1999.

CHEN, Y.; CHEN, Y.; SHI, Y.; MA, C.; WANG, X.; LI, W.; MIAO, Y.; CHEN, J. Antitumor activity of *Annona squamosa* seed oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 193, p. 362-367, 2016.

COSTA-LOTUFO, L.V.; MONTENEGRO, R.C.; ALVES, A.P.N.N.; MADEIRA, S.V.F.; PESSOA, C.; MORAES, M.E.A.; MORAES, M.O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

DIAS, E.C.M.; TREVISAN, D.D.; NAGAI, S.C.; RAMOS, N.A.; SILVA, E.M. Uso de fitoterápicos e potenciais riscos de interações medicamentosas: reflexões para prática segura. **Revista Baiana de Saúde Pública, Salvador**, v. 41, n. 2, p. 297-307, 2018.

DONADIO, L.C. Situação atual e perspectivas das anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A.R.; VILAS BOAS, I.; MORAIS, O.M.; REBOUÇAS, T.N.H. (Eds.). **Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemoia, cherimolia)**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. p. 1-4, 1997.

EDRISSIAN, G.; ROKNI, M.B.; MOHEBALI, M.; NATEGHPOUR, M.; MOWLAVI, G.; BAHADORI, M. History of medical parasitology and parasitic infections in Iran. **Archives of Iranian Medicine**, v. 19, n. 8, p. 601-607, 2016.

FERNANDO, W.; RUPASINGHE, H.P.V. Anticancer properties of phytochemicals present in medicinal plants of north America. In: KULKA, M., (Ed.). **Using old solutions to new problems - natural drug Discovery in the 21st century**. 1 ed. Croatia: InTech, 2013. p. 159-180.

FOUCHE, G.; CRAGG, G.M.; PILLARY, P.; KOLESNIKOVA, N.; MAHARAJ, V.J.; SENABE, J. In vitro anticancer screening of South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 455-461, 2008.

GUIDOTI, D.G.G. **Isolamento químico e bioatividades de frações de pericarpo e sementes de pinha (*Annona squamosa* L.)**

2016. 136 f. Tese (Doutorado em Biologia das Interações Orgânicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2016.

GUIDOTI, D.G.G.; GUIDOTI, D.T.; ROMERO, A.L.; ROCHA, C.L.M.S.C. Bioatividade de frações de sementes e pericarpo de *Annona squamosa* (Annonaceae) em *Aspergillus nidulans*. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 16, 2021.

JOLAD, S.D.; HOFFMANN, J.J.; SCHRAM, K.H.; COLE, J.R.; TEMPESTA, M.S.; KRIEK, G.R.; BATES, R.B. Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria accuminata* (Annonaceae). **Journal of Organic Chemistry**, v. 47, p. 3151-3153, 1982.

JOY, B.; REMANI, E.P. Antitumor constituents from *Annona squamosa* fruit pericarp. **Medical Chemical Research**, v. 17, p. 345-355, 2008.

JÜTTE, R.; HEINRICH, M.; HELMSTÄDTER, A.; LANGHORST, J.; MENG, G.; NIEBLING, W.; POMMERENING, T.; TRAMPISCH, H.J. Herbal medicinal products-evidence and tradition from a historical perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 207, p. 220-225, 2017.

KALEEM, M.; MEDHA, P.; AHMED, Q.U.; ASIF, M.; BANO, B. Beneficial effects of *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. **Singapore Medical Journal**, v. 49, n. 10, p. 800-4, 2008.

KARNA, P.; CHAGANI, S.; GUNDALA, S.R.; RIDA, P.C.; ASIF, G.; SHARMA, V.; GUPTA, M.V.; ANEJA, R. Benefits of whole ginger extract in prostate cancer. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 4, 473-484. 2012.

KUMAR, N.; SLAR, R.K.; PRASAD, M.; RNJAN, K. Synthesis, characterization, and anticancer activity of cinristine loaded folic acid chitosan conjugated nanoparticles on NCL-H460 non-small cell lung cancer cell line. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, p. 87-99, 2018.

KUMAR, M.; DAHUJA, A.; SACHDEV, A.; KAUR, C.; VARGHESE, E.; SAHA, S.; SAIRAM, K.V.S.S. Valorisation of black carrot pomace: microwave assisted extraction of bioactive phytochemicals and antioxidant activity using Box-Behnken design. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, p. 995-1007, 2019.

KUMAR, M.; TOMAR, M.; AMAROWICZ, R.; SAURABH, V.; NAIR, M.S.; MAHESHWARI, C.; SASI, M.; PRAJAPATI, U.; HASAN, M.; SINGH, S.; CHANGAN, S.; PRAJAPAT, R.K.; BERWAL, M.K.; SATANKAR, V. Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. **Foods**, v. 10, n. 4, 2021a.

KUMAR, M.; POTKULE, J.; PATIL, S.; SAXENA, S.; PATIL, P.G.; MAGESHWARAN, V.; PUNIA, S.; VARGHESE, E.; MAHAPATRA, A.; ASHTAPUTRE, N.; SOUZA, C.; KENNEDY, J.F. Extraction of ultra-low gossypol protein from cottonseed: characterization based on antioxidant activity, structural morphology and functional group analysis. **LWT**, v. 140, 2021b.

LIMA, L.O.; GOMES, E.C. Alimento ou medicamento? Espécies vegetais frente à legislação brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 771-782, 2014.

LISINA, K.V.; PIRAMANAYAGAM, I.J.P.S.R. An *in silico* study on HIV-1 protease wild-type and mutant with inhibitors from *Annona squamosa*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 5, p. 1811-18, 2014.

LIU, R.H., Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 517S-520S, 2003.

LOPES, R.; TOCANTINS, F.R. Health promotion and critical education. **Interface - Comunicação Saúde Educação**, v. 16, n. 40, p. 235-248, 2013.

MA, C.; CHEN, Y.; CHEN, J.; LI, X.; CHEN, Y. A Review on *Annona squamosa* L. Phytochemicals and biological activities. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 45, n. 5, 1-32, 2017.

- MACHADO, H.L.; MOURA, V.L.; GOUVEIA, N.M.; COSTA, G.A.; ESPINDOLA F.S.; BOTELHO, F.V. Pesquisa e atividades de extensão em fitoterapia desenvolvidas pela Rede FitoCerrado: uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos por idosos em Uberlândia-MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 527-533, 2014.
- MANNINO, G.; GENTILE, C.; PORCU, A.; AGLIASSA, C.; CARADONNA, F.; BERTEA, C.M. Chemical profile and biological activity of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and atemoya (*Annona atemoya*) leaves. **Molecules**, v. 25, n. 11, 2020.
- MEYER, J.M.; REZENDE, F.M.; SOARES, S.A.; TOMBA, A.C.B. Metabolismo secundário. In: LOPEZ, A.M.; NAGAI, A.; FARIA, A.V.F.; PALACIOS, C.; IHA, C.; PIKART, F.C.; KATON, G.; BRASILEIRO, J.C.B.; GAGLIARDI, K.B.; SANTOS, K.P.; RODRIGUES, K.; HAMACHI, L.; DEVECCHI, M.F.; OLIVEIRA NETO, M.A.; OLIVEIRA, P.M.R.; MIOTO, P.T. (Orgs.). **Botânica no Inverno**. São Paulo: USP - Instituto de Biociências, 2013.
- MÓNICA, G.C.; MARCELA, M.C.G.; ASTOLFO, C.Z.C.; RICARDO, V.B. Antiproliferative Activity of total extracts from *Annona squamosa*, *Petiveria alliacea* and *Punica granatum* on Cancer Cell Lines. **Pharmacology Online**, v. 3, p. 7-18, 2020.
- MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A.; GRAY-GOODRICH, M.; CAMPBELL, H.; MAYO, J.; BOYD, M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, n. 11, p. 757-766, 1991.
- MORAIS, N.R.L.; OLIVEIRA NETO, F.B.; MELO, A.R.; BERTINI L.M.; SILVA, F.F.M.; ALVES, L.A. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidioscolusphyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. oriundo de apodi - RN. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 180-185, 2016.
- MUNDY, G.R. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. **Natural Reviews Cancer**, v. 2, n. 8, p. 584-593, 2002.
- NANDHAKUMAR, E.; INDUMATHI, P. *In vitro* antioxidant activities of methanol and aqueous extract of *Annona squamosa* (L.) fruit pulp. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, v. 6, n. 3, p. 142-148, 2013.
- NISHAD, J.; DUTTA, A.; SAHA, S.; RUDRA, S.G.; VARGHESE, E.; SHARMA, R.R.; TOMAR, M.; KUMAR, M.; KAUR, C. Ultrasound-assisted development of stable grapefruit peel polyphenolic nano-emulsion: optimization and application in improving oxidative stability of mustard oil. **Food Chemistry**, v. 334, 2021.
- PALOMBO, E.A. Phytochemicals from traditional medicinal plants used in treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 9, p. 717-724, 2006.
- PANDEY, N.; BARVE, D. Phytochemical and pharmacological review on *Annona squamosa* (Linn.). **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, p. 1404-12, 2011.
- PARDHASARADHI, B.V.; REDDY, M.; ALI, A.M.; KUMARI, A.L.; KHAR, A. Antitumour activity of *Annona squamosa* seed extracts is through the generation of free radicals and induction of apoptosis. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 41, n. 4, p.167-72, 2004.
- PARDHASARADHI, B.V.; REDDY, M.; ALI, A.M.; KUMARI, A.L.; KHAR, A. Differential cytotoxic effects of *Annona squamosa* seed extracts on human tumour cell lines: role of reactive oxygen species and glutathione. **Journal of Biosciences**, v. 30, n. 2, p. 237-44, 2005.
- PARVIN, M.S.; ISLAM, M.E.; RAHMAN, M.M.; HAQUE, M.E. Toxicological evaluation of annonemoyin-1 isolated from *Annona squamosa* from long Evan's Rats. **Pakistan Journal of**

Biological Sciences, v. 6, p.1593-96, 2003.

PESSINA, A.; RAIMONDI, A.; CERRI, A.; PICCIRILLO, M.; NERI, M.G.; CROERA, C.; FOTI, P.; BERTI, E. High sensitivity of human epidermal keratinocytes (HaCaT) to topoisomerase inhibitors. **Cell Proliferation**, v. 34, n. 4, p. 243-252, 2001.

PRADO, L.G.; ARRUDA, H.S.; ARAUJO, N.M.P.; BRAGA, L.E.O.; BANZATO, T.P.; PEREIRA, G.A.; FIGUEIREDO, M.C.; RUIZ, A.L.T.G.; EBERLIN, M.N.; CARVALHO, J.E.; VENDRAMINI-COSTA, D.B.; PASTORE, G.M. Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (*Annona crassiflora* Mart.) peel and seed. **Food Research International**, v. 133, 2020.

PUNIA, S.; KUMAR, M. Litchi (*Litchi chinensis*) seed: nutritional profile, bioactivities, and its industrial applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 108, p. 58-70, 2021.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 830p.

REMPEL, C.; MACIEL, M.J.; BERGMANN, P.C.; MORÁS, A.P.; GOETTENS, C. Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, p.57-82, 2019.

SALEEM, M.T.S.; CHRISTINA, A.J.M.; CHIDAMBARANATHAN, N.; RAVI, V.; GAUTHAMAN, K. Hepatoprotective activity of *Annona squamosa* Linn. on experimental animal model. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 1, n. 3, p. 1-7, 2008.

SANTOS, M.O.; LIMA, F.C.S., MARTINS, L.F.L.; OLIVEIRA, J.F.P.; ALMEIDA, L.M.; CANCELA, M.C. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 2023.

SOLOWEY, E.; LICHTENSTEIN, M.; SALLON, S.; PAAVILAINEN, H.;

SOLOWEY, E.; LORBERBOUM-GALSKI, H. Evaluating medicinal plants for anticancer activity. **The Scientific World Journal**, 2014.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R.L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-49, 2021.

SURESH, K.; MANOHARN, S.; BLESSY, D. Protective role of *Annona squamosa* Linn. bark extracts in DMBA induced genotoxicity. **Kathmandu University Medical Journal**, v. 6, n. 23, p. 364-369, 2008.

SZERWIESKI, L.L.D.; CORTEZ, D.A.G.; BENNEMANN, R.M.; SILVA, E.S.; CORTEZ, L.E.R. Uso de plantas medicinais por idosos da atenção primária. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 19, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos Secundários e Defesa vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TSIFTSOGLU, A.S.; PAPPAS, I.S.; VIZIRIANAKIS, I.S. Mechanisms involved in the induced differentiation of leukemia cells. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 100, n. 3, p. 257-290, 2003.

WEGENER, T. Patterns and trends in the use of herbal products, herbal medicine and herbal medicinal products. **International Journal of Complementary and Alternative Medicine**, v. 9, n. 6, 2017.

WEILBAECHER, K.N.; GUISE, T.A.; MCCAULEY, L.K. Cancer to boné: a fatal attraction. **Natural Reviews Cancer**, v. 11, n. 6, p. 411-425, 2011.

YANG, H.; ZHANG, N.; LI, X.; HE, L.; CHEN, J. New nonadjacent bis-THF ring acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. **Fitoterapia**, v. 80, n. 3, p. 177-181, 2009.

ZAHID, M.; MUJAHID, M.; SINGH, P.K.; FAROOQUI, S.; SINGH, K.; PARVEEN, S.; ARIF, M. *Annona squamosa* Linn. (custard apple): an aromatic medicinal plant fruit with immense nutraceutical and therapeutic potentials (review). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 5, p. 1745-1759, 2018.

ZHANG, Y. Preparation of *Annona squamosa* lactone antitumor monomer compound and its application for preparing antitumor agent (Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Peop. Rep. China). Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu (2006). Patente: 1869031 A 20061129 Patente escrita em chinês. Aplicação: CN 1008-578120060630.

Recebido em: 30/11/2022.

Aceito em: 09/03/2023.