

Compostos bioativos identificados em *Ayapana triplinervis*: Uma revisão sobre mecanismos antitumorais

Bioactive compounds identified in *Ayapana triplinervis*: A review of antitumor mechanisms

Compuestos bioactivos identificados en *Ayapana triplinervis*: Una revisión de los mecanismos antitumorales

Recebido: 24/03/2022 | Revisado: 10/04/2022 | Aceito: 13/04/2022 | Publicado: 17/04/2022

Camila Fernanda Rodrigues Romeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0770-9181>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: rodriguescamilafarma@gmail.com

Lucas Villar Pedrosa da Silva Pantoja

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2717-5500>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: lucas-villar@outlook.com

Marcieni Ataíde de Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5875-695X>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: marcieni@ufpa.br

Resumo

O câncer está entre as principais causas de morte no mundo. Disfunções mitocondriais – relacionadas a mutação ou não –, estresse oxidativo e ativação de células imunes se relacionam à fisiopatologia do câncer, em função da indução por múltiplas vias de fatores oncogênicos. Até o momento, a produção e o desenvolvimento de drogas antitumorais para o tratamento do câncer ainda se configura como uma barreira, até que a formulação esteja disponível em condições seguras aos pacientes. Nesse contexto, a abordagem com plantas de uso tradicional relatado, como a *Ayapana triplinervis* passou a chamar a atenção tendo a vista o grande potencial observado de seus metabólitos secundários e o uso amplamente difundido. Fitosteróis e flavonóides são amplamente consumidos como nutracêuticos e possuem ações antioxidantes e anti-inflamatórias relatadas. Assim, a presente revisão integrativa objetivou reunir os mecanismos pelos quais compostos anteriormente identificados em *A. triplinervis* desempenham atividade antitumoral, além disso, buscou-se apresentar aspectos toxicológicos atribuídos a essas moléculas. A partir da análise crítica da literatura selecionada, a presente revisão reúne dados que evidenciam que os metabólitos β -sitosterol, estigmasterol e kaempferol desempenham significativo papel antitumoral por meio de disfunção mitocondrial, rotas oxidativas e modulação gênica. Quanto aos aspectos toxicológicos dessas moléculas, o presente estudo chama atenção para a necessidade de delineamentos experimentais em modelos *in vivo*, haja vista a necessidade da realização de cálculos assertivos de doses efetivas – para atividade antitumoral – e tóxicas desses compostos.

Palavras-chave: Compostos bioativos; Tumorigênese; Estresse Oxidativo Genotoxicidade; *Ayapana triplinervis*.

Abstract

Cancer is one of the most important causes of death in the world. Mitochondrial dysfunctions – related to mutation or not –, oxidative stress and activation of immune cells are related to the pathophysiology of cancer, due to the induction of oncogenic factors by multiple pathways. Heretofore, the production and development of antitumor drugs for the treatment of cancer is still a barrier, until the formulation is available in safe conditions to patients. In this sense, the approach with plants of reported traditional use, such as *Ayapana triplinervis*, started to draw attention owing to the great observed potential of its secondary metabolites and the widespread use. Phytosterols and flavonoids are widely consumed as nutraceuticals and have reported antioxidant and anti-inflammatory actions. Thus, the present integrative review aimed to gather the mechanisms by which compounds previously identified in *A. triplinervis* perform antitumor activity, in addition, we sought to present toxicological aspects attributed to these molecules. Based on a critical analysis of the selected literature, the present review gathers data, which show that the metabolites β -sitosterol, stigmasterol and kaempferol play a significant antitumor role through mitochondrial dysfunction, oxidative pathways and modulation of genes. Regarding the toxicological aspects of these molecules, the present study emphasizes the importance of experimental designs in *in vivo* models, given the need to perform assertive calculations of effective doses – for antitumor activity – and toxic of these compounds.

Keywords: Secondary metabolites; Tumorigenesis; Oxidative stress; Genotoxicity; *Ayapana triplinervis*.

Resumen

El cáncer es una de las causas más importantes de muerte en el mundo. Las disfunciones mitocondriales -relacionadas con mutaciones o no-, el estrés oxidativo y la activación de las células inmunitarias están relacionadas con la fisiopatología del cáncer, debido a la inducción de factores oncogénicos por múltiples vías. Hasta ahora, la producción y desarrollo de fármacos antitumorales para el tratamiento del cáncer sigue siendo una barrera, hasta que la formulación esté disponible en condiciones seguras para los pacientes. En este sentido, el abordaje con plantas de uso tradicional reportado, como *Ayapana triplinervis*, empezó a llamar la atención por el gran potencial observado de sus metabolitos secundarios y el uso generalizado. Los fitoesteroles y los flavonoides se consumen ampliamente como nutraceuticos y se han informado acciones antioxidantes y antiinflamatorias. Así, la presente revisión integradora tuvo como objetivo recopilar los mecanismos por los cuales compuestos previamente identificados en *A. triplinervis* realizan actividad antitumoral, además, buscamos presentar aspectos toxicológicos atribuidos a estas moléculas. Con base en un análisis crítico de la literatura seleccionada, la presente revisión recopila datos que muestran que los metabolitos β -sitosterol, estigmasterol y kaempferol desempeñan un papel antitumoral significativo a través de la disfunción mitocondrial, las vías oxidativas y la modulación génica. En cuanto a los aspectos toxicológicos de estas moléculas, el presente estudio enfatiza la importancia de los diseños experimentales en modelos *in vivo*, dada la necesidad de realizar cálculos asertivos de dosis efectivas -para la actividad antitumoral- y tóxicas de estos compuestos.

Palabras clave: Metabolitos secundarios; Tumorigénesis; Estrés Oxidativo; Genotoxicidad; *Ayapana triplinervis*.

1. Introdução

O câncer é a primeira ou a segunda causa de morte antes dos 70 anos em mais de cem países, sendo uma barreira significativa para o aumento e manutenção de maior expectativa de vida no mundo todo (Who, 2020). Embora os mecanismos fisiopatológicos do câncer variem conforme o tecido acometido, o conceito clássico de etiologia multifatorial continua sendo reproduzido por diversas linhas de pesquisas na biologia celular do câncer e na oncologia clínica (Olsen & Overvad, 1993). Na atualidade, sabe-se que os fatores ambientais interagem com a genética e com as reações epigenéticas, sendo o câncer o resultado dos eventos oriundos dessas interações, tais como o início de mutações genéticas, capazes de induzir proliferação e diferenciação anormal nas células (Ruiz de la Cruz, 2021).

Nesse sentido, diversas são as vias celulares exploradas a fim de que sejam localizados novos alvos terapêuticos e novas moléculas com potencial antitumoral sejam testadas. Dentre essas, destacam-se o metabolismo mitocondrial (Dabravolsk et al., 2022), e a ativação da resposta imune (Synn et al., 2022). Assim, a investigação de plantas com utilização tradicional descrita passa a ser um caminho para a identificação de novas moléculas com interesse farmacológico para o tratamento do câncer. Nesse contexto, a *Ayapana triplinervis*, teve seu metabolismo secundário explorado em função de suas propriedades (Tailé et al., 2020).

Dentre os metabólitos com atividade antitumoral descritas, estão os fitoesteróis e os flavonoides, moléculas cujos alvos variam e apresentam importantes mecanismos de ação que se assemelham aos de fármacos utilizados na terapêutica de diversos cânceres, como a vimblastina e o paclitaxel (Mahaddalkar et al., 2015). Com relação aos aspectos toxicológicos, estudos recentes têm atribuído danos a diversos tecidos promovidos pelo acúmulo desses compostos no organismo – sobretudo aquelas consumidas como nutraceuticos – ou oxidação, que reflète em potencial de toxicidade menos seletiva e sugere a necessidade de aprimoramento dessas moléculas para o melhor aproveitamento na clínica oncológica (Martins et al., 2020).

Nesse contexto, a presente revisão objetivou reunir os principais mecanismos de ação antitumoral descritos para os compostos bioativos identificados em *A. triplinervis*, além de agregar uma análise sobre o perfil de toxicidade desses metabólitos.

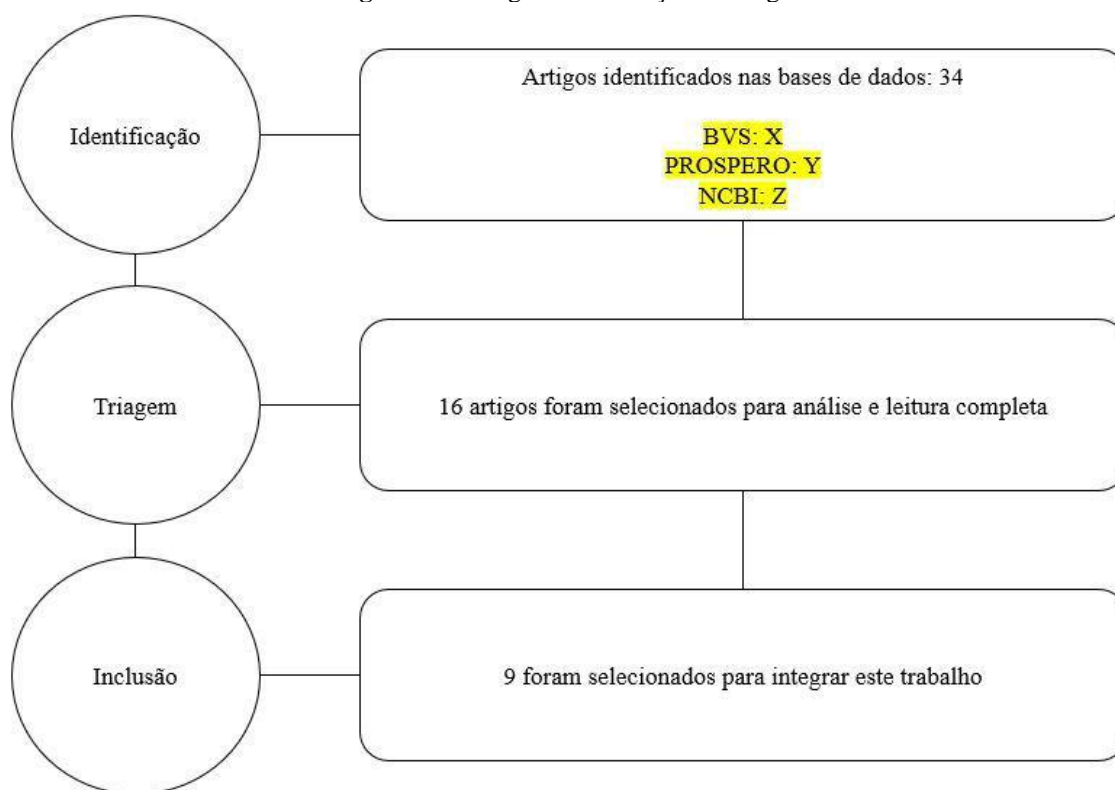
2. Metodologia

O presente artigo trata-se de uma revisão integrativa da literatura, que utilizou o método descritivo para reunir dados que auxiliem a compreensão dos mecanismos pelos quais fitoconstituintes de plantas – identificadas também em *A. triplinervis*

– desempenham atividade antitumoral (Pereira et al., 2018). Para isso, foram adotados, cronologicamente, os seguintes procedimentos: a elaboração da pergunta norteadora (quais os mecanismos pelos quais compostos bioativos identificados em *A. triplinervis* desempenham atividade antitumoral?); busca na literatura científica; seleção de artigos e análise dos resultados (Souza et al., 2010).

Para pesquisa de artigos, utilizou-se o recorte temporal de 2015 a 2021, mediante os descritores “compostos bioativos”, “atividade antitumoral”, “efeitos antiproliferativos”, “metabólitos secundários” e “*Ayapana triplinervis*”. Foram consultadas as bases de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (n=13) International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) (n=7) e National Center for Biotechnology Information (NCBI) (n=14). Foram adotados os seguintes critérios para inclusão dos estudos: artigo original; estudo que avaliasse metabólitos anteriormente identificados em *A. triplinervis*; estudo que evidenciasse dados sobre mecanismo de ação antitumoral. Artigos de revisão e estudos com resultados acerca da atividade antitumoral sem dados sobre mecanismo de ação foram excluídos. Ao final, 34 artigos foram reunidos a partir da leitura do título e resumo. Desses, 16 foram escolhidos e, após a leitura na íntegra, 9 foram selecionados para a presente revisão, todos extraídos da base de dados NCBI (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma de seleção de artigos.



Fonte: Autores.

3. Resultados e Discussão

3.1 Mecanismos de ação antitumoral atribuídos a β -sitosterol, estigmastareol e kaempferol

A partir da leitura de 16 artigos originais, 9 foram selecionados para composição da amostra da presente revisão, os quais estão detalhados na Tabela 1, quanto a sua identificação, tipo de estudo, constituinte a que se refere e mecanismos antitumorais elucidados. Os constituintes são o β -sitosterol, estigmastareol e kaempferol.

Tabela 1. Metabólitos de *A. triplinervis* com potencial antitumoral descrito e seus respectivos mecanismos.

Autores/Ano	Artigo	Tipo de Estudo	Constituinte	Mecanismo antitumoral descrito
Mahaddalkar et al., 2015	Biochemical characterization and molecular dynamic simulation of β -sitosterol as a tubulin-binding anticancer agent	<i>In silico</i>	β -sitosterol	Ligação a tubulinas;
Rajavel et al., 2018	β -Sitosterol targets Trx/Trx1 reductase to induce apoptosis in A549 cells via ROS mediated mitochondrial dysregulation and p53 activation	<i>In vitro</i>	β -sitosterol	Regulação negativa de Trx/Trx1 reductase; Acúmulo de EROs; Apoptose mediada por mitocôndrias.
Kang et al., 2018	Stigmasterol exhibits potent antitumor effects in human gastric cancer cells mediated via inhibition of cell migration, cell cycle arrest, mitochondrial mediated apoptosis and inhibition of JAK/STAT signalling pathway	<i>In vitro</i>	Estigmasterol	Inibição da migração celular; Parada do ciclo celular; Apoptose; Indução à disfunção mitocondrial; Inibição da via de sinalização JAK/STAT.
Bae et al., 2020	Stigmasterol causes ovarian cancer cell poptosis by inducing endoplasmic reticulum and mitochondrial dysfunction	<i>In vitro</i>	Estigmasterol	Apoptose dependente de EROs; Sobrecarga de cálcio intracelular; Apoptose mediada pelo eixo ER mitocôndria
Zhao et al., 2021	Stigmasterol simultaneously induces apoptosis and protective autophagy by inhibiting Akt/mTOR pathway in gastric cancer cells	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Estigmasterol	Apoptose por inibir a via Akt/mTOR.
Guo et al., 2016	Kaempferol induces apoptosis in HepG2 cells via activation of the endoplasmic reticulum stress pathway	<i>In vitro</i>	Kaempferol	Apoptose; Superexpressão do gene CHOP.
Zhu & Xue; 2019	Kaempferol suppresses proliferation and induces cell cycle arrest, poptosis, and DNA damage in Breast Cancer Cells	<i>In vitro</i>	Kaempferol	Apoptose: superexpressão de γ H2AX, caspase 9 clivada, caspase 3; Danos ao DNA; Parada do ciclo celular na fase G2/M.
Lei et al., 2019	Inhibition of endometrial carcinoma by Kaempferol is interceded through apoptosis induction, G2/M phase cell cycle arrest, suppression of cell invasion and upregulation of m-TOR/PI3K signalling pathway	<i>In vitro</i>	Kaempferol	Apoptose mediada por mitocôndrias; Parada do ciclo celular na Fase G2/M; Inibição da migração celular.
Wang et al., 2021	Kaempferol induces ROS-dependent apoptosis in pancreatic cancer cells via TGM2-mediated Akt/mTOR signaling	<i>In vitro</i>	Kaempferol	Apoptose dependente de EROs via sinalização Akt/mTOR

Fonte: Autores.

No que concerne às atividades atribuídas aos fitoesteróis, a atividade antitumoral do β -sitosterol foi investigada por meio de simulação de dinâmica molecular, para que se compreendesse o mecanismo de sua ação. Segundo os autores, sua atividade se dá em função da sua alta afinidade de ligação à tubulina. Os padrões utilizados no referido estudo foram a vinblastina e o taxol, drogas citotóxicas amplamente prescritas para o tratamento do câncer por inibirem a polimerização das proteínas do fuso mitótico. Os resultados indicaram que a interação do β -sitosterol foi similar à do taxol (Mahaddalkar et al., 2015).

O segundo estudo que compõe a amostra dessa revisão objetivou avaliar o mecanismo de ação antitumoral do β -sitosterol em câncer de pulmão de não pequenas células (CPCNP). Para isso, células tumorais da linhagem A549 foram submetidas a diferentes concentrações do composto, em diferentes tempos, e linhagens L132 e PBMC foram usadas como controle de células não malignas. Foram realizadas análises quanto à viabilidade – por ensaio de MTT –, morfologia, por meio de microscopia eletrônica de varredura, e distribuição em diferentes estágios do ciclo celular, mediante citometria de fluxo. O ensaio de viabilidade celular indicou efeito citotóxico por indução a danos de membrana somente em células tumorais. Os autores sugerem que o β -sitosterol foi capaz de induzir apoptose de forma tempo-dependente, dado que houve acúmulo de células na fase populacional Sub-G1 (Rajavel et al., 2018).

O estigmasterol é outro fitoesterol presente na *A. triplinervis* cuja atividade antitumoral já foi relatada em estudos que investigavam cânceres de pele, mama, fígado, pulmões, próstata, ovários e colo do útero (Dong et al., 2021). Sobre os mecanismos pelos quais o estigmasterol apresenta a referida atividade, o terceiro estudo selecionado para essa revisão observou os efeitos do estigmasterol sobre linhagem celular de câncer gástrico SNU-1, sendo descrita atividade antitumoral mediante apoptose mitocondrial, inibição da migração celular e parada do ciclo celular, de forma dose-dependente. Além disso, o estigmasterol demonstrou potencial em inibir a expressão da molécula transdutora de sinal e ativadora de transcrição 1 (STAT1) e das proteínas Janus quinase 1 (JAK1) e Janus quinase 2 (JAK2) (Kang et al., 2018). A via de sinalização JAK/STAT já é um alvo reconhecido para o tratamento antitumoral, e agentes que atuam promovendo regulação negativa dessa via já foram testados clinicamente em tumores sólidos, como o Ruxolitinibe, ao qual foi atribuído melhora na sobrevida global de pacientes tratados (Qureshy et al, 2020).

O quarto estudo selecionado descreveu como mecanismo antitumoral a ativação de sinais pró-apoptose, por estimular a clivagem da caspase 3 e caspase 9, de maneira dose-dependente em células de câncer de ovário (ES2 e OV90). Além disso, o mesmo estudo mostrou que o estigmasterol provocou aumento da despolarização mitocondrial nas células. Com isso, a alteração do potencial de membrana mitocondrial levou à geração de EROs e aumento dos níveis de cálcio no citosol, que contribuíram para a morte celular de linhagens de células de câncer de ovário (Bae et al., 2020).

Um estudo mais recente – quarto selecionado para essa revisão – investigou a atividade do estigmasterol por meio do ensaio de formação de clones e ensaio de proliferação em linhagem de células de câncer gástrico, dos tipos SGC-7901 e MGC-803; o mesmo estudo observou a atividade do estigmasterol em um modelo de xenoinxerto tumoral em camundongos Nude Balb. Sobre os resultados, os autores descrevem que o tratamento com estigmasterol foi capaz de inibir *in vitro* a proliferação das células tumorais por indução de apoptose e autofagia, tendo como mecanismo o bloqueio da via de sinalização Akt/mTOR. No que concerne aos resultados obtidos *in vivo*, os autores relatam significativa supressão do crescimento tumoral (Zhao et al., 2021).

O kaempferol é um flavonoide aglicona encontrado nas partes aéreas de *A. triplinervis*, seus derivados são descritos na literatura em função de suas atividades neuro e cardioprotetoras, anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais (Imran et al., 2019). Nesse contexto, o quinto estudo selecionado para essa revisão avaliou o potencial antitumoral desse composto em células de linhagem HepG2, para isso foram realizados estudos de viabilidade e atividade da enzima lactato desidrogenase em células tratadas com diferentes concentrações de kaempferol. Além disso, os autores analisaram o mecanismo pelo qual o composto induz apoptose, por meio da transfecção de RNA interferente curto do gene CHOP. Os resultados mostraram significativa redução de viabilidade celular, aumento na atividade de lactato desidrogenase e estresse do retículo endoplasmático (RE) como principal mecanismo de apoptose induzidos pelo kaempferol nas células tumorais, tendo seus efeitos dependentes do tempo de exposição e concentração (Guo et al., 2016).

O sétimo estudo selecionado para essa revisão, avaliou os efeitos do kaempferol em células de câncer de mama. Foram realizados ensaio de MTS, para observação de inibição de crescimento celular; distribuição das células por fase do ciclo celular, por meio de citometria de fluxo, e Western Blotting para investigação de apoptose e danos ao DNA. Os resultados foram inovadores no que concerne aos efeitos antitumorais do kaempferol, visto que os danos foram mais significativos em células MDA-MB-231, uma linhagem de células não positiva para o receptor de estrogênio. Além disso, os autores reafirmam o potencial do composto em induzir parada de ciclo celular, danos ao DNA e apoptose, possivelmente em função da superexpressão de γ H2AX, caspase 9 clivada e caspase 3 clivada (Zhu & Xue; 2019).

Outro estudo também atribui ao kaempferol atividade inibitória de carcinoma endometrial por meio da indução à apoptose, parada do ciclo celular na fase G2/M e regulação positiva da via de sinalização mTOR/PI3K – a qual também participa a TGM2 –. O estudo foi conduzido com linhagem de células MFE-280, e, segundo os autores, os efeitos citotóxicos

do kaempferol se desenvolveram de maneira seletiva e dose-dependente. No mesmo estudo, foi observada a atividade do metabólito enquanto agente antimetastático por meio do ensaio em câmara de Boyden, onde foi observada considerável redução na migração das células tumorais (Lei et al., 2019). Adicionalmente, o kaempferol teve sua atividade antioxidante relatada em uma revisão recente que observou seu efeito hepatoprotetor *in vitro*. Nesse estudo, os autores reforçam compreensão de que esse flavonoide é capaz de mitigar células cancerosas sem provocar distúrbios nas células normais (Sharma et al., 2021).

Um estudo mais recente investigou a atividade do kaempferol em células tumorais pancreáticas. Células PANC-1 e Mia PaCa-2 foram tratadas com diferentes concentrações do composto. Para avaliação da viabilidade foram realizados ensaios de MTT e CCK-8; níveis de EROs e apoptose foram observados por citometria de fluxo; além disso, foi feito sequenciamento de mRNA para identificação de expressão diversa de genes em função do tratamento. Nesse estudo, foram realizados testes em modelo *in vivo*, por meio da inoculação das células tumorais em camundongos. Nesse contexto, observou-se que dentre as vias pelas quais o kaempferol pode atuar, prevenindo ou reduzindo os danos do desenvolvimento tumoral, está a eliminação de EROs e demais moléculas radicalares, por meio de sua interação com a proteína-glutamina gama-glutamyltransferase-2 (TGM2), fator que levou à inibição da expressão dessa proteína. Como consequência, os autores mencionam que o flavonoide foi capaz de suprimir de maneira efetiva células tumorais pancreáticas, em modelos *in vitro* e *in vivo*, indicando que a TGM2 aparenta ser um potencial alvo da terapia antitumoral para esse composto (Wang et al., 2021).

3.2 Aspectos toxicológicos relacionados aos compostos bioativos identificados em *A. triplinervis* com atividade antitumoral

A preocupação com o melhoramento dos agentes antitumorais é um dos focos atuais nas pesquisas em química medicinal, e isso se deve ao perfil toxicológico das moléculas, tendo em vista que a capacidade citotóxica pode afetar tanto as células cancerosas quanto as células normais (Rajavel et al., 2017). Alguns autores sugerem que essa problemática ainda é subestimada para os metabólitos secundários de plantas com ação antitumoral. Nesse sentido, um estudo recente evidenciou o risco da suplementação desassistida com β -sitosterol, em função da formação de oxifitoesteróis – produtos de oxidação capazes de provocar efeitos adversos graves. Assim, os autores descreveram que o β -secosterol, principal produto investigado, foi capaz de reduzir a viabilidade de células HepG2 mediante parada no ciclo celular e redução no índice mitótico (Martins et al., 2020). Outro estudo acrescenta que esse mecanismo de toxicidade do β -secosterol não envolve vias pró-oxidantes (Takayasu et al., 2020).

O perfil de toxicidade dos oxifitoesteróis está relacionado a diversas complicações, dentre as quais, lesão em células cardíacas, doenças cardiovasculares e patologias neurodegenerativas (Miyamoto et al., 2020). Um estudo recente atribuiu os danos neurais à capacidade dessas moléculas em atravessarem a barreira hematoencefálica e se acumular no encéfalo. Dessa forma, estruturas como o β -sitosterol e o estigmasterol apresentam potencial de risco sobre a deposição de proteínas β -amilóide, mecanismo de fisiopatologia da doença de Alzheimer. Com relação aos efeitos dos fitoesteróis sobre o status oxidativo, a literatura menciona um perfil dúbio, em que urge novas investigações, dado que essas moléculas são reconhecidamente antioxidantes, mas com um importante potencial de induzir distúrbios mitocondriais (Jie et al., 2021).

Sobre os flavonoides, o perfil de toxicidade é considerado restrito para a maior parte dessas moléculas (Bugel et al., 2016). Porém, estudos mais críticos acerca das propriedades do kaempferol pontuam a necessidade de se observar a dose utilizada na maior parte dos estudos – visto que esses mencionam concentrações que vão além da biodisponibilidade oral desse metabólito – em estudos sobre suas atividades farmacológicas, sendo, essa, uma barreira para que se determine em quais doses o kaempferol pode ser anti-inflamatório sem causar efeitos tóxicos às células (Devi et al., 2015).

4. Considerações Finais

A presente revisão permite concluir que os metabólitos β -sitosterol, estigmasterol e kaempferol, identificados anteriormente em partes aéreas de *A. triplinervis*, possuem significativo interesse para a terapêutica farmacológica do câncer, ainda que os estudos com essa planta estejam pouco atualizados. Os mecanismos pelos quais essas moléculas atuam promovendo atividade antitumoral envolvem a indução da disfunção mitocondrial e do RE, parada de ciclo celular, apoptose relacionada ao aumento de EROs, modulação da expressão gênica mediada pela redução de EROs e superexpressão de genes relacionados a danos no DNA. No entanto, evidencia-se a necessidade de estudos com delineamento *in vivo* para que se observe a pertinência desses resultados, haja vista que a maioria dos dados reunidos são obtidos por meio de cultura de células tumorais. Além disso, a realização de estudos da atividade desses metabólitos em modelos animais implicará em resultados mais efetivos acerca das propriedades toxicológicas dessas moléculas, tendo em vista a necessidade de respostas acerca da dose adequada para a atividade antitumoral desses metabólitos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte dos seguintes órgãos brasileiros: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal do Pará. Esse estudo foi financiado por Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

- Bae, H., Song, G., & Lim, W. (2020). Stigmasterol causes ovarian cancer cell apoptosis by inducing endoplasmic reticulum and mitochondrial dysfunction. *Pharmaceutics*, 12(6), 488.
- Bugel, S. M., Bonventre, J. A., & Tanguay, R. L. (2016). Comparative Developmental Toxicity of Flavonoids Using an Integrative Zebrafish System. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 154(1), 55–68. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw139>
- Castle, B. T., Mccubbin, S., Prahl, L. S., Bernens, J. N., Sept, D., & Odde, D. J. (2017). Mechanisms of kinetic stabilization by the drugs paclitaxel and vinblastine. *Molecular biology of the cell*, 28(9), 1238–1257. <https://doi.org/10.1091/mbc.E16-08-0567>
- Dabravolski, S. A., Nikiforov, N. G., Zhuravlev, A. D., Orekhov, N. A., Mikhaleva, L. M., & Orekhov, A. N. (2022). The Role of Altered Mitochondrial Metabolism in Thyroid Cancer Development and Mitochondria-Targeted Thyroid Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 460.
- Devi, K. P., Malar, D. S., Nabavi, S. F., Sureda, A., Xiao, J., Nabavi, S. M., & Daglia, M. (2015). Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological research*, 99, 1–10.
- Dias, M. C., Pinto, D., & Silva, A. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(17), 5377.
- Dong, Y., Chen, C., Chen, C., Zhang, C., Zhang, L., Zhang, Y., ... & Dong, Z. (2021). Stigmasterol inhibits the progression of lung cancer by regulating retinoic acid-related orphan receptor C. *Histology and histopathology*, 18388.
- Guo, H., Ren, F., Zhang, L., Zhang, X., Yang, R., Xie, B., Li, Z., Hu, Z., Duan, Z., & Zhang, J. (2016). Kaempferol induces apoptosis in HepG2 cells via activation of the endoplasmic reticulum stress pathway. *Molecular medicine reports*, 13(3), 2791–2800. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4845>
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Tsouh Fokou, P. V., Umair Arshad, M., Khan, H., Guerreiro, S. G., Martins, N., & Estevinho, L. M. (2019). Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(12), 2277.
- Jie, F., Yang, X., Wu, L., Wang, M., & Lu, B. (2021). Linking phytoosterols and oxyphytoosterols from food to brain health: origins, effects, and underlying mechanisms. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1–18.
- Lei, X., Guo, J., Wang, Y., Cui, J., Feng, B., Su, Y., Zhao, H., Yang, W., & Hu, Y. (2019). Inhibition of endometrial carcinoma by Kaempferol is interceded through apoptosis induction, G2/M phase cell cycle arrest, suppression of cell invasion and upregulation of m-TOR/PI3K signalling pathway. *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(4), 1555–1561.
- Mahaddalkar, T., Suri, C., Naik, P. K., & Lopus, M. (2015). Biochemical characterization and molecular dynamic simulation of β -sitosterol as a tubulin-binding anticancer agent. *European journal of pharmacology*, 760, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.04.014>
- Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food chemistry*, 299, 125124.
- Martins, I. R., Onuki, J., Miyamoto, S., & Uemi, M. (2020). Characterization of oxyphytoosterols generated by β -sitosterol ozonization. *Archives of biochemistry and biophysics*, 689, 108472.

- Miyamoto, S., Lima, R. S., Inague, A., & Viviani, L. G. (2021). Electrophilic oxysterols: generation, measurement and protein modification. *Free radical research*, 55(4), 416–440.
- Olsen J, Overvad K. (1993). The concept of multifactorial etiology of cancer. *Pharmacology & toxicology*, 72(1), 33-8.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica.
- Qureshy, Z., Johnson, D. E., & Grandis, J. R. (2020). Targeting the JAK/STAT pathway in solid tumors. *Journal of cancer metastasis and treatment*, 6, 27.
- Rajavel, T., Mohankumar, R., Archunan, G., Ruckmani, K., & Devi, K. P. (2017). Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliifolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells. *Scientific reports*, 7(1), 3418. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03511-4>
- Ruiz De La Cruz, M., De La Cruz Montoya, A. H., Rojas Jiménez, E. A., Martínez Gregorio, H., Díaz Velásquez, C. E., Paredes De La Vega, J., ... & Vaca Paniagua, F. (2021). Cis-Acting Factors Causing Secondary Epimutations: Impact on the Risk for Cancer and Other Diseases. *Cancers*, 13(19), 4807.
- Sharma, N., Biswas, S., Al-Dayyan, N., Alhegaili, A. S., & Sarwat, M. (2021). Antioxidant Role of Kaempferol in Prevention of Hepatocellular Carcinoma. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1419.
- Souza, M. T. de, Silva, M. D. da, & Carvalho, R. de. (2010). Integrative review: what is it? How to do it? *Einstein (São Paulo)*, 8(1), 102–106. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082010rw1134>
- Synn, C. B., Kim, D. K., Kim, J. H., Byeon, Y., Kim, Y. S., Yun, M. R., ... & Pyo, K. H. (2022). Primary Tumor Suppression and Systemic Immune Activation of Macrophages through the Sting Pathway in Metastatic Skin Tumor. *Yonsei medical journal*, 63(1), 42.
- Taïlé, J., Arcambal, A., Clerc, P., Gauvin-Bialecki, A., & Gonthier, M. P. (2020). Medicinal Plant Polyphenols Attenuate Oxidative Stress and Improve Inflammatory and Vasoactive Markers in Cerebral Endothelial Cells during Hyperglycemic Condition. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(7), 573. <https://doi.org/10.3390/antiox9070573>
- Takayasu, B. S., Martins, I. R., Garnique, A., Miyamoto, S., Machado-Santelli, G. M., UEMI, M., & ONUKI, J. (2020). Biological effects of an oxyphytosterol generated by β -Sitosterol ozonization. *Archives of biochemistry and biophysics*, 696, 108654.
- Viet Huong, D.T., Giang, P.M., & Trang, V.M. (2020). Coumarins and Polar Constituents from *Eupatorium triplinerve* and Evaluation of Their α -Glucosidase Inhibitory Activity. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-8.
- Wang, F., Wang, L., Qu, C., Chen, L., Geng, Y., Cheng, C., ... & Chen, Z. (2021). Kaempferol induces ROS-dependent apoptosis in pancreatic cancer cells via TGM2-mediated Akt/mTOR signaling. *BMC cancer*, 21(1), 1-11.
- World Health Organization (2020). *Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019*.
- Zhao, H., Zhang, X., Wang, M., Lin, Y., & Zhou, S. (2021). Stigmasterol Simultaneously Induces Apoptosis and Protective Autophagy by Inhibiting Akt/mTOR Pathway in Gastric Cancer Cells. *Frontiers in oncology*, 11, 629008. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.629008>
- Zhu, L., & Xue, L. (2019). Kaempferol Suppresses Proliferation and Induces Cell Cycle Arrest, Apoptosis, and DNA Damage in Breast Cancer Cells. *Oncology research*, 27(6), 629–634. <https://doi.org/10.3727/096504018X15228018559434>