RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 05/12/2027

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

MARIANA BALIE

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CAPACIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA FOLHA DE *Garcinia brasiliensis* NO GLIOBLASTOMA HUMANO

São José do Rio Preto
2025

MARIANA BALIE

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CAPACIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA FOLHA DE *Garcinia brasiliensis* NO GLIOBLASTOMA HUMANO

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor(a) em Biociências.

Área de Concentração: Biologia Estrutural e Funcional

Orientador(a): Profa. Dra. Ana Paula Girol

São José do Rio Preto

2025

B186a

Balie, Mariana

Avaliação in vitro da capacidade antitumoral do extrato bruto e frações da folha de Garcinia brasiliensis no glioblastoma humano / Mariana Balie. -- , 2025

89 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto,

1. Sistema nervoso central Tumores. 2. Plantas medicinais. 3. Proliferação de células. 4. Citotoxicidade. 5. Oncologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa aborda um câncer altamente agressivo e com poucas opções terapêuticas. A identificação de compostos seletivos para células tumorais pode subsidiar tratamentos mais eficazes e menos tóxicos, além de fortalecer a formação científica e valorizar o uso sustentável da biodiversidade brasileira.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research addresses a highly aggressive cancer with limited therapeutic options. Identifying compounds selective for tumor cells may support the development of more effective and less toxic treatments, while strengthening scientific training and promoting the sustainable use of Brazilian biodiversity.

MARIANA BALIE

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CAPACIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DA FOLHA DE *Garcinia brasiliensis* NO GLIOBLASTOMA HUMANO

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor(a) em Biociências.

Área de Concentração: Biologia Estrutural e Funcional.

Data da defesa: 05/12/2025

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Ana Paula Girol
Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA)

Profa. Dra. Cristiane Damas Gil
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Profa. Dra. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Profa. Dra. Andréia de Haro Moreno
Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA)

Profa. Dra. Érika Cristina Pavarino
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP)

Dedico este trabalho à pequena Mariana,
que sonhava em ser cientista.

AGRADECIMENTOS

Não cheguei até aqui sozinha, tive ao meu lado pessoas incríveis.

Primeiramente, agradeço a ***Deus***, que, em meio a tantas tempestades, nunca saiu do meu barco e me concedeu a paz e a certeza de que estaria comigo em todos os momentos.

Aos meus pais, ***Valmir e Sandra***, que nunca mediram esforços para que eu pudesse voar. Cresci vendo pessoas suarem para me dar oportunidades melhores. Cada conquista minha é também de vocês.

Em especial ao meu pai, que trabalhou incansavelmente sob o sol para que tivéssemos tudo de que precisávamos, na sombra. Nem sempre usou palavras para mostrar o seu amor, mostrou nos sacrifícios, nos conselhos e na forma como sempre esteve presente. Você nos deu tudo o que tinha. Me ensinou o que é determinação e como enfrentar a vida com força e amor. Obrigada por acreditar no que eu poderia ser.

Ao meu irmão, ***Matheus***, e aos meus sobrinhos, ***Antônio, Francisco e Pedro***, por serem parte essencial da minha vida. Meu irmão sempre cuidou de mim com atenção e carinho, é o irmão mais velho exemplar, que admiro profundamente. Inteligente, esforçado e iluminado sinto muito orgulho da pessoa e pai que é. E ainda meu deu os três sobrinhos mais incríveis do mundo. Nunca imaginei que seria capaz de sentir um amor tão grande na minha vida.

À minha orientadora, Professora ***Dra. Ana Paula Girol***, por sua confiança e por ter me proporcionado tantas oportunidades ao longo destes anos. Sua dedicação, competência e paixão pelo que faz inspiram todos ao seu redor, e sua orientação me impulsionou a crescer profissionalmente de maneiras que nunca imaginei. Com ela, aprendi a enfrentar desafios, a acreditar no meu potencial e a buscar excelência em cada passo. Sou profundamente grata por todo aprendizado, apoio e inspiração que recebi, ter sido orientada por alguém como ela foi, sem dúvida, uma das experiências mais enriquecedoras da minha trajetória.

Ao meu amigo ***Lucas Possebon***, que, mais do que um amigo, é um irmão de vida. Pelas boas gargalhadas, pelas longas conversas e por estar sempre por perto, mesmo quando o mundo parecia pesar. Espero que coisas lindas aconteçam com você e perceba o quanto é digno de cada uma delas. Corra até mim sempre que o mundo não for bom, porque a amizade que construímos é abrigo, força e alegria. Cresci muito com você ao meu lado, dividimos nossa vida nestes quatro anos e sei que nossa amizade será para sempre. Ter você na minha vida tornou esta jornada mais leve e divertida.

À ***Universidade Estadual Paulista (UNESP)***, que me deu a oportunidade de realizar este doutorado e proporcionou um espaço de aprendizado, pesquisa e crescimento. Sou muito grata a todos os professores, técnicos e colegas que, de diferentes maneiras, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade e para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço também à coordenação do programa de pós-graduação, especialmente à Professora ***Dra. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni*** e à Professora ***Dra. Rejane Maira Góes***, pelo apoio, atenção e dedicação ao longo de todo o processo.

Ao ***Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA)***, instituição onde desenvolvi toda a parte experimental deste trabalho e que me acolheu com estrutura, apoio e confiança. Foi ali que encontrei o laboratório que se tornou meu segundo lar (ou primeiro, rs). Contei com o suporte financeiro essencial para as pesquisas e, principalmente, conheci amigos que levarei para a vida. Nesse espaço, cresci não apenas como pesquisadora, mas também como profissional e como pessoa.

À banca examinadora, que além de contribuir com este trabalho, é formada por mulheres que admiro profundamente e que se tornaram grandes inspirações para mim. Foi uma honra ter vocês como parte desta etapa. Referências de força, competência e amor pela ciência.

À Professora ***Dra. Cristiane Damas Gil***, por ser extremamente dedicada, inteligente e sempre impecável no que faz. Admiro como consegue unir rigor e excelência com simpatia e atenção, sempre nos incentivando a dar o melhor de nós.

À Professora ***Dra. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni*** pela disponibilidade constante, clareza nas orientações e pela gentileza com que sempre acolheu minhas dúvidas. Sua postura é inspiradora e tornaram o processo mais enriquecedor.

À Professora ***Dra. Andréia de Haro Moreno***, pela dedicação incansável, pela busca constante pela excelência e pela forma equilibrada e serena com que conduz cada situação. Sua exigência cuidadosa, sempre acompanhada de gentileza e respeito, inspira confiança e motiva-me a seguir com mais coragem e propósito.

À Professora ***Dra. Érika Cristina Pavarino***, que tive o privilégio de ter como professora ainda na especialização e que continua sendo uma inspiração. Sempre calma, generosa e inteligente, ela me mostrou que é possível ensinar e aprender com paciência, cuidado e entusiasmo.

À Professora ***Dra. Catarina Raposo Dias Carneiro***, por inspirar com sua dedicação, clareza e humanidade. Admiro a firmeza com que conduz seu trabalho, sempre aliando excelência científica ao cuidado com as pessoas.

Aos meus amigos:

Melina Pilon, parceira de todos os dias, com quem compartilhei risadas, desafios, aprendizados e conquistas. Sua humildade, generosidade e disposição em ensinar foram fundamentais para que muitos dias difíceis se tornassem mais leves.

Caroline Procópio, que chegou um pouco depois, mas rapidamente se tornou uma amiga especial. Dividimos tantos momentos intensos e significativos que levarei comigo para sempre a alegria de tê-la ao meu lado nessa caminhada.

Stefanie Sousa, amiga que a pós-graduação me deu, dedicada, sensata e sempre pronta a ajudar. Nossa amizade foi construída com apoio mútuo e sinceridade, e guardo com carinho cada conversa e cada momento de superação compartilhado.

Natália Barreto, que conheci em um curso e com quem fui construindo uma amizade sólida e inspiradora. Suas trocas sinceras e o olhar positivo diante da vida sempre me ajudaram a enxergar as coisas com mais leveza e perspectiva.

Amanda Braz, amiga-irmã com quem dividi apartamento em Catanduva e tantos capítulos da vida. Sua alegria contagiante e parceria tornaram cada dia mais acolhedor, especialmente nos momentos difíceis. Sou profundamente grata por ter conhecido também sua família, que me recebeu com tanto carinho e me acolheu como uma das suas. Em um dos períodos mais desafiadores da minha jornada, sua amizade e o amor da sua família foram abrigo, conforto e força para seguir em frente.

Luiz Fernando Criscuolo Filho, meu primo e amigo de toda a vida, com quem divido lembranças que atravessam o tempo, das brincadeiras de infância às conversas de adulto. Sua presença constante, o carinho com que sempre me acolheu e o senso de humor que transforma qualquer momento em algo melhor fizeram toda diferença. Nos dias bons e nos mais difíceis, você foi família, amigo e abrigo. Ter você ao meu lado é uma das maiores bênçãos que carrego.

Ao grupo de pesquisa e aos técnicos do ***Centro de Pesquisas Experimentais e Clínicas (CEPEC): Helena Souza, Sara Souza, Ariane Yoshikawa, Isabella Gomes, Laura Squincalha, Luana Bovolenta, Isabella Assis, Maria Carolina Fernandes, Liciane da Costa, Andressa Araújo, Eduardo Cavallini, Rodrigo Vidotti, Giovana Vidotti, Fernanda Victorino, Lucas Sylvestre, Paola Stefen, Virginia Balducco, Vinicius Guardia, Juarez Pereira e Cristiane Ferreira***, por estarem comigo em todas as etapas deste trabalho. Obrigada pelo suporte, pelas trocas, pelas risadas, pela ajuda no dia a dia do laboratório e por tornarem o ambiente tão leve e acolhedor. A convivência com vocês marcou a minha caminhada e contribuiu muito para o meu crescimento profissional e pessoal.

Às minhas alunas de iniciação científica, ***Rafaela Franco da Silva, Gabriela Caroline da Silva Souza e Ana Beatriz Baracioli Lemos***, futuras médicas que, mesmo com uma rotina intensa, encontraram tempo para se dedicar à pesquisa. Admiro o comprometimento e a vontade de aprender que vocês demonstraram em cada etapa. Foi um privilégio acompanhar o crescimento de cada uma.

Agradeço à ***CAPES*** pelo apoio financeiro por meio da bolsa de doutorado, que tornou possível a realização desta pesquisa e contribuiu significativamente para meu desenvolvimento acadêmico e científico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da ***Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)*** – Código de Financiamento 001.

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível e, de repente, você estará fazendo o impossível”.

São Francisco de Assis

RESUMO

O glioblastoma (GBM) é o tumor maligno mais comum e agressivo do sistema nervoso central em adultos. Cresce rapidamente, infiltra o tecido cerebral e apresenta alta taxa de recidiva. O tratamento padrão inclui cirurgia, radioterapia e quimioterapia com temozolomida, mas enfrenta limitações devido à natureza invasiva do tumor, efeitos adversos e baixa sobrevida média dos pacientes. Diante da limitação terapêutica atual e da necessidade de novas abordagens compostos de origem natural têm sido investigados como potenciais agentes antitumorais. Entre as fontes promissoras de compostos bioativos destacam-se espécies vegetais ricas em metabólitos secundários com potencial antitumoral, como *Garcinia brasiliensis* (bacupari), estudada por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e citotóxicas. Portanto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar o extrato etanólico bruto (EB) e frações acetato de etila (FAE) e clorofórmio (FC) das folhas de *Garcinia brasiliensis* e avaliar seu potencial efeito antitumoral em linhagens de glioblastoma humano. A caracterização do extrato incluiu análises qualitativas e quantitativas, cromatografia em camada delgada de alta performance (HPTLC) e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC-MS/MS), além da avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Para os ensaios *in vitro*, foram utilizadas duas linhagens tumorais de glioblastoma humano (A172 e U87MG) e uma linhagem não tumoral endotelial (EA.hy926). O EB e FAE foram testados em diferentes concentrações 50, 100, 150, 200, 250, 300 e 350 µg/mL e tempos 24, 48 e 72 horas para análise de proliferação e viabilidade celular pelo ensaio de MTT. Apenas a FAE atingiu valores de IC_{50}, sendo a concentração de 150 µg/mL em 24 horas selecionada para os experimentos posteriores. Com essa condição, foram realizados experimentos para análise de morfologia, ciclo celular, apoptose além da quantificação de citocinas (INF-γ, TNF-α e IL-6), ensaio de migração (*wound healing*), e análise da expressão dos genes (*mTOR, PTEN, TP53* e *STAT3*). Os dados obtidos demonstraram que a FAE reduziu a proliferação e viabilidade de células tumorais além de promover apoptose. O ensaio de migração demonstrou que a FAE interfere de maneira dependente do tipo celular, mantendo a migração celular da linhagem não tumoral EA.hy926, enquanto reduziu significativamente a migração das linhagens tumorais, com maior efeito observado na U87MG. A análise de expressão gênica mostrou modulação diferencial dos genes *mTOR*, *PTEN*, *TP53* e *STAT3*: na

linhagem EA.hy926 houve redução de *mTOR* e *PTEN* e aumento de *STAT3* e *TP53*, enquanto na A172 ocorreu o oposto. Já a U87MG apresentou alterações mais discretas, com leve aumento de *mTOR*, *PTEN* e *STAT3* e redução moderada de *TP53*. Esses achados indicam que a FAE reduz a proliferação e viabilidade das células tumorais, induz apoptose e modula processos de migração e expressão gênica de forma dependente do tipo celular. Esses achados sugerem que compostos bioativos presentes na FAE de *Garcinia brasiliensis* apresentam efeitos antitumorais e moduladores do microambiente inflamatório em células de glioblastoma, abrindo novas oportunidades para estudos futuros em abordagens terapêuticas para o tratamento do glioblastoma.

Palavras-chave: tumor cerebral; Bacupari; extrato vegetal; proliferação celular, citotoxicidade.

ABSTRACT

Glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive malignant tumor of the central nervous system in adults. It grows rapidly, infiltrates brain tissue and has a high recurrence rate. The standard treatment includes surgery, radiotherapy and chemotherapy with temozolomide, but it faces limitations due to the invasive nature of the tumor, adverse effects and the low average survival of patients. Given the current therapeutic limitations and the need for new approaches, naturally derived compounds have been investigated as potential antitumor agents. Among the promising sources of bioactive compounds are plant species rich in secondary metabolites with antitumor potential, such as *Garcinia brasiliensis* (bacupari), which has been studied for its anti-inflammatory, antioxidant and cytotoxic properties. Therefore, the present study aimed to characterize the crude ethanolic extract (EE) and the ethyl acetate (EAF) and chloroform (CF) fractions from the leaves of *Garcinia brasiliensis* and to evaluate their potential antitumor effect on human glioblastoma cell lines. Extract characterization included qualitative and quantitative analyses, high-performance thin-layer chromatography (HPTLC), ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC-MS/MS), and assessment of antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. For the in vitro assays, two human glioblastoma tumor cell lines (A172 and U87MG) and one non-tumor endothelial cell line (EA.hy926) were used. EE and EAF were tested at different concentrations—50, 100, 150, 200, 250, 300 and 350 µg/mL—and at 24, 48, and 72 hours to analyze cell proliferation and viability using the MTT assay. Only the EAF reached IC_{50} values and the concentration of 150 µg/mL at 24 hours was selected for subsequent experiments. Under these conditions, experiments were carried out to analyze morphology, cell cycle, apoptosis, quantification of cytokines (IFN-γ, TNF-α, and IL-6), a migration (wound healing) assay and gene expression analysis (*mTOR, PTEN, TP53*, and *STAT3*). The data showed that EAF reduced tumor cell proliferation and viability and promoted apoptosis. The migration assay demonstrated that EAF interferes in a cell-type–dependent manner, maintaining the migration of the non-tumor EA.hy926 cell line while significantly reducing migration in the tumor lines, with the greatest effect observed in U87MG. Gene expression analysis revealed differential modulation of *mTOR*, *PTEN*, *TP53* and *STAT3*: in EA.hy926 cells there was a reduction in *mTOR* and *PTEN* and an increase in *STAT3* and *TP53*, whereas in A172 cells the opposite occurred. U87MG showed

more subtle changes, with a slight increase in *mTOR*, *PTEN* and *STAT3* and a moderate reduction in *TP53*. These findings indicate that EAF reduces proliferation and viability of tumor cells, induces apoptosis and modulates migration processes and gene expression in a cell-type–dependent manner. The results suggest that bioactive compounds present in the EAF of *Garcinia brasiliensis* possess antitumor and inflammatory microenvironment-modulating effects in glioblastoma cells, opening new opportunities for future studies in therapeutic approaches for glioblastoma treatment.

Keywords: brain tumor; bacupari; plant extract; cell proliferation; cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fitoquímicos por HPTLC	40
Figura 2 –	Cromatogramas sobrepostos obtidos por UHPLC-MS/MS em modo de ionização negativo para os extratos de *Garcinia brasiliensis*	41
Figura 3 –	Redes moleculares geradas pelo GNPS com os dados de UHPLC-MS/MS em modo negativo de ionização do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *Garcinia brasiliensis*	42
Figura 4 –	Morfologia das células A172, U87MG e EA.hy926	43
Figura 5 –	Ensaio de proliferação celular com o EB e FAE nas linhagens A172, U87MG e EA.hy926	45
Figura 6 –	Ensaio de viabilidade celular nas linhagens A172, U87MG e EA.hy926	47
Figura 7 –	Cálculo de IC_{50} para as linhagens A172 e U87MG no tempo de 24 horas	48
Figura 8 –	Progressão do ciclo celular após o tratamento com a FAE de *Garcinia brasiliensis*	49
Figura 9 –	Histogramas representativos da progressão do ciclo celular	49
Figura 10 –	*Dotplots* obtidos da citometria de fluxo	51
Figura 11 –	Efeito do tratamento com a FAE de *Garcinia brasiliensis* sobre a viabilidade, apoptose, apoptose tardia e necrose	51
Figura 12 –	Dosagem de citocinas em linhagens celulares de glioblastoma em pg/mL	52
Figura 13 –	Ensaio de migração por cicatrização de ferida induzida por arranhão em célula endotelial não tumoral (EA.hy926) e em células de glioblastoma (A172 e U87MG) após o tratamento com FAE de *Garcinia brasiliensis*.	54
Figura 14 –	Percentual de fechamento da ferida no ensaio de migração celular.	55
Figura 15 –	Expressão relativa dos genes *mTOR, PTEN, STAT3* e *TP53* nas linhagens EA.hy926, A172 e U87MG após o tratamento com FAE (150 µg/mL).	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação Organização Mundial da Saúde (OMS): gliomas difusos em adultos	17
Tabela 2 –	Características das linhagens de glioblastoma A172 e U87MG	19
Tabela 3 –	Medicamentos antitumorais derivados de produtos naturais	21
Tabela 4 –	Padrões e diluições, fases móveis e derivatização utilizados	29
Tabela 5 –	Iniciadores de cadeia (*primers*) usados na RT PCR	36
Tabela 6 –	Lista dos fitoquímicos que foram detectados por diferentes reagentes no EB, FAE e FC	38
Tabela 7 –	Análises fitoquímicas quantitativas	39
Tabela 8 –	Atividade antioxidante ao longo do tempo (% de inibição de DPPH)	39
Tabela 9 –	Avaliação quantitativa da migração celular por análise da variação da área da ferida nas linhagens EA.hy926, A172 e U87MG após tratamento com FAE.	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADD	7-amino-actinomicina
A172	Linhagem celular humana de glioblastoma
A549	Linhagem celular humana de câncer de pulmão
AKT	*Protein kinase B*
Anexina V	Proteína Anexina 5
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APC	*Adenomatous Polyposis Coli*
ATCC	*American Type Culture Collection* - banco americano de linhagens celulares
ATRX	*Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked*
BAX	*BCL-2 associated protein X*
BCL-2	*B-cell lymphoma 2*
BCRJ	Banco de Células do Rio de Janeiro
BHE	Barreira hematoencefálica
BHT	Barreira hemato-tumoral
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CO2	Gás carbonico
DMEM	Meio de Eagle Modificado de Dulbecco
DMSO	Dimetilsufóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EA.hy926	Linhagem celular humana derivada da veia umbilical
EB	Extrato bruto
EGFR	*Epidermal Growth Factor Receptor*
FAE	Fração acetato de etila
FC	Fração clorofórmio
FeCl3	Cloreto de ferro III
G1	Fase G1 do ciclo celular

G2	Fase G2 do ciclo celular
GBM	Glioblastoma
GLOBOCAN	Observatório Global de Câncer
HER2	*Human epidermal growth receptor 2*
HPLC	*High-Performance Liquid Chromatography*
HPTLC	*High-Performance Thin-Layer Chromatography*
IBILCE	Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
IC_{50}	Metade da concentração inibitória máxima
IDH	*Isocitrate dehydrogenase*
IKK	*IκB kinase (IKK) complex*
IL-6	*Interleukin-6*
INCA	Instituto Nacional do Câncer
INF- γ	*Interferon gamma*
JAK2	*Janus kinase 2*
LL	Células viáveis
LR	Células em apoptose inicial
M	Fase mitose
MAPK	*Mitogen-Activated Protein Kinase*
MDM2	*Mouse Double Minute 2 homolog*
MEM	Meio mínimo essencial
MGMT	*O-6-methylguanine-DNA methyltransferase*
MMP2	*Matrix Metalloproteinase 2*
MMP9	*Matrix Metalloproteinase 9*
mTOR	*Mechanistic Target of Rapamycin*
MTT	(3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina)
NaOH	Hidróxido de sódio
NF-kB	*Nuclear Factor Kappa B*
NF1	*Neurofibromin 1*
NP-PEG	Nanopartículas de polietilenoglicol

OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Solução tampão fosfato salina
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PE	Fitocoeritrina
PI	Iodeto de propídeo
PI3K	*Phosphoinositide 3-kinase*
PS	Fosfatidilserina
PTEN	*Phosphatase and Tensin Homolog*
RT	Transcriptase reversa
SNC	Sistema nervoso central
SP	São Paulo
STAT3	*Signal Transducer and Activator of Transcription 3*
TMZ	Temozolomida
TNF-α	*Tumor Necrosis Factor alpha*
TP53	*Tumor Protein p53*
U138MG	Linhagem celular humana de glioblastoma
U251MG	Linhagem celular humana de glioblastoma
U87MG	Linhagem celular humana de glioblastoma
UL	Células em necrose
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UR	Células em apoptose tardia

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
[ ]	concentração
≤	menor ou igual
+	positivo
-	negativo
ºC	graus Celsius
cm	centímetros
h	horas
min	minutos
mL	milímetro
mg	miligrama
mm	milímetros
nm	nanômetro
nL	nanolitros
pg	picogramas
µg	microgramas
µL	microlitros
nº	número
rpm	rotações por minuto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
1.1 CÂNCER E GLIOBLASTOMA 15
1.2 PAPEL DA INFLAMAÇÃO E DO MICROAMBIENTE TUMORAL 19
1.3 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS E NECESSIDADE DE NOVOS COMPOSTOS 20
1.4 *Garcinia brasiliensis* (BACUPARI) 22
2 OBJETIVOS 24
3 MATERIAIS E MÉTODOS 25
3.1 PADRONIZAÇÃO DO EXTRATO E OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES 25
3.2 ANÁLISES FITOQUÍMICAS QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS 26
3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH) 27
3.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA HPTLC 28
3.5 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA UHPLC-MS/MS 30
3.6 LINHAGENS CELULARES 31
3.7 ÍNDICE DE PROLIFERAÇÃO CELULAR 32
3.8 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE E VIABILIDADE CELULAR (MTT) 32
3.9 ENSAIO DE CICLO CELULAR 33
3.10 ENSAIO DE APOPTOSE 33
3.11 ENSAIO PARA DETECÇÃO DE CITOCINAS 34
3.12 ENSAIO DE MIGRAÇÃO CELULAR POR CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS 35
3.13 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA DE *TP53, mTOR, PTEN* e *STAT3* 35
3.14 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 37
4 RESULTADOS 38
4.1 TERPENOS, ALCALOIDES E FLAVONOIDES IDENTIFICADOS NO EB E FAE 38
4.2 EB E FAE POSSUEM MAIOR ATIVIDADE ANTIOXIDANTE 39
4.3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA POR HPTLC IDENTIFICA COMPOSTOS FITOQUÍMICOS ESPECIALMENTE NO EB E NA FAE 40
4.4 ANÁLISE POR UHPLC-MS/MS REVELA AMPLA DIVERSIDADE DE METABOLITOS NOS EXTRATOS AVALIADOS 42
4.5 A MORFOLOGIA DAS CÉLULAS SOFREU MODIFICAÇÕES APÓS O TRATAMENTO 44

4.6 A PROLIFERAÇÃO CELULAR NAS LINHAGENS TUMORAIS DIMINUIU APÓS O TRATAMENTO COM EB E FAE 45
4.7 O EB E FAE REDUZEM A VIABILIDADE CELULAR DE MANEIRA DOSE-TEMPO-DEPENDENTE 47
4.8 O TRATAMENTO COM A FAE INDUZ PARADA CELULAR EM G2/M EM LINHAGEM NÃO TUMORAL 50
4.9 A FAE INDUZ MORTE CELULAR POR APOPTOSE TARDIA E NECROSE EM DIFERENTES LINHAGENS TUMORAIS 52
4.10 A FRAÇÃO ACETATO DE ETILA MODULOU A EXPRESSÃO DE CITOCINAS APÓS O TRATAMENTO 54
4.11 EFEITO INIBITÓRIO DA FAE SOBRE A MIGRAÇÃO CELULAR É MAIS ACENTUADO NA LINHAGEM U87MG 55
4.12 ALTERAÇÕES DE EXPRESSÃO GÊNICA INDUZIDAS PELA FAE DEMONSTRAM MAIOR SENSIBILIDADE NA LINHAGEM A172 57
5 DISCUSSÃO 59
6 CONCLUSÃO 67
REFERÊNCIAS 68

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER E GLIOBLASTOMA

O câncer surge a partir de alterações que se acumulam no material genético (DNA) de uma célula normal levando a padrões de expressão gênica alterados que comprometem o controle de suas atividades celulares. Como consequência, as células passam a se dividir rapidamente, apresentando crescimento anormal e desordenado, com capacidade de invadir tecidos próximos ou órgãos à distância (INCA – Instituto Nacional de Câncer, 2022).

O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese ou oncogênese. Durante a carcinogênese, a transformação progressiva de células humanas normais em derivados altamente malignos ocorre em múltiplas etapas que refletem alterações genéticas, instabilidade do genoma e características conhecidas por "*Hallmarks of Cancer*" fazendo com que a célula tumoral seja mais apta para sobreviver e proliferar (Hanahan, 2022; Hanahan; Weinberg, 2011).

As funções de células e tecidos são reguladas por hormônios, fatores de crescimento, neurotransmissores e toxinas cuja ação depende da interação desses ligantes com receptores, geralmente presentes na superfície celular. A sinalização celular ocorre por meio de uma molécula extracelular com seu receptor específico, desencadeando alterações conformacionais que propagam o sinal pelo citoplasma. Como resultado, essas alterações citoplasmáticas podem culminar em uma sinalização nuclear influenciando na expressão gênica e modificando a resposta celular (Ferreira; Da Rocha, 2011).

Diversas vias de sinalização desempenham papel importante nas funções intracelulares básicas. A via mediada pela proteína p53, por exemplo, é um importante mecanismo supressor tumoral que previne a propagação de células anormais ao regular o reparo do DNA, a progressão do ciclo celular, a morte celular e a senescência (Lahalle et al., 2021). Já a via de sinalização Janus quinase/transdutor e ativador de transcrição (*JAK/STAT*) é uma via de transdução de sinal intracelular universalmente expressa e envolvida em muitos processos biológicos cruciais, incluindo proliferação celular, diferenciação, apoptose e regulação imune (Xin et al., 2020).

A via JAK/STAT é amplamente expressa e participa de processos cruciais, como proliferação, diferenciação, apoptose e regulação imune (Xin et al., 2020). Os genes da via PI3K/Akt/mTOR são comumente ativados em cânceres humanos, regulando proliferação, crescimento, metabolismo e motilidade celular (Alzahrani, 2019).

Outra via importante, fator nuclear kappa B (*NF-κB*), induz a expressão de vários genes pró-inflamatórios, incluindo aqueles que codificam citocinas e quimiocinas, desempenhando um papel importante para a regulação das respostas imune e inflamatória (Liu et al., 2017a). Além disso, o gene *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog*), ao atuar como regulador negativo da via PI3K/AKT, também influencia em processos inflamatórios, modulando a ativação celular e contribuindo para manter o equilibro entre sinais pró e anti-inflamatórios (Song; Salmena; Pandolfi, 2012; Taylor; Laurence; Uhlig, 2019).

Os tecidos normais controlam a produção e liberação de sinais promotores de crescimento, diferenciação celular e morte celular para garantir a homeostase do número de células e a manutenção da arquitetura e função teciduais. Como tumores resultam do acúmulo de mutações, essas alterações afetam genes que codificam proteínas envolvidas nas vias de sinalização (Hanahan; Weinberg, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), por meio do Observatório Global de Câncer (GLOBOCAN), estimou 321.731 mil novos casos e mais de 248.500 mil mortes por câncer de sistema nervoso central (SNC) para 2022 (Ferlay et al., 2024). No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), o número de novos casos de câncer do sistema nervoso central foi estimado em 11.490 em 2023 (INCA – Instituto Nacional de Câncer, 2022). Entre os tumores do SNC, o glioblastoma é o tumor primário mais comum, correspondendo a 90% de todos os glioblastomas, apresentando elevada taxa de proliferação e infiltração tecidual, vascularização, apoptose desregulada e necrose, resultando em alta taxa de mortalidade (INCA – Instituto Nacional de Câncer, 2022).

Os tumores do SNC podem se originar de várias estruturas do cérebro e da medula espinhal. Esses tumores e outros tumores primários do SNC constituem um grupo heterogêneo, que inclui tanto lesões malignas quanto não malignas, caracterizadas por sinais, sintomas e prognósticos diversos (Wild; Weiderpass; Stewart, 2020).

Esses tumores se originam de células-tronco ou progenitoras gliais. A classificação de gliomas em graus I a IV da OMS publicada em 2016 (Louis et al., 2016), baseava-se principalmente de critérios histológicos e morfológicos. No entanto, em 2021 (Louis et al., 2021), essa classificação sofreu mudanças significativas incorporando critérios moleculares além da análise histológica tradicional. Embora a graduação clássica de I a IV ainda seja utilizada (com uso de algarismos arábicos em vez de algarismos romanos), o diagnóstico agora é baseado na combinação de características histológicas e marcadores genéticos. A nova classificação considera mutações em isocitrato desidrogenase (*IDH*), a codeleção 1p/19q, bem como alterações nos genes da alfa-talassemia/retardo mental ligado ao X (*ATRX*) e da proteína tumoral p53 (*TP53*). Essa abordagem integrada permite a identificação mais precisa dos subtipos de gliomas, melhorando o prognóstico e a escolha do tratamento (Louis et al., 2021).

Em adultos, os gliomas infiltrativos são classificados considerando o *status* molecular do *IDH*, distinguindo-se entre gliomas *IDH*-mutados (como astrocitomas de baixo grau e oligodendrogliomas com codeleção 1p/19q) e glioblastomas *IDH* selvagem, que geralmente apresentam comportamento mais agressivo (Tabela 1). Antes, os gliomas mistos oligoastrocíticos eram considerados um grupo separado, mas hoje isso é questionado. Em crianças, os gliomas mais comuns são os astrocitomas pilocíticos e os gliomas difusos da linha média, incluindo os gliomas pontinos, com graus variáveis de agressividade sendo caracterizados por marcadores moleculares (Louis et al., 2021).

Tabela 1 – Classificação Organização Mundial da Saúde (OMS): gliomas difusos em adultos

Gliomas difusos em Adultos	
Tipos	Astrocitoma difuso *IDH*-mutante (Grau 2, 3 ou 4)
	Oligodendroglioma *IDH*-mutante e com codelação 1p/19q (Grau 2 ou 3)
	Glioblastoma *IDH*-selvagem (Grau 4)

Fonte: Elaborado pela autora. Adaptado de (Louis et al., 2021).

Do ponto de vista epidemiológico, o glioblastoma afeta predominantemente adultos entre 65 e 75 anos, com discreta predominância no sexo masculino, possivelmente relacionada a fatores hormonais ou genéticos. Embora fatores ambientais não estejam fortemente associados ao glioblastoma, a radiação ionizante (radiação terapêutica durante a infância) é a única exposição claramente associada ao aumento de risco. Em casos raros, síndromes genéticas hereditárias, como a síndrome Li-Fraumeni (mutações em *TP53*), neurofibromastose tipo 1 (*NF1*) e síndrome de Turcot (APC - gene da polipose adenomatosa do cólon ou gene de reparo de DNA) podem também predispor ao desenvolvimento do glioblastoma, destacando o papel de mutações germinativas em contextos específicos da doença (Louis et al., 2021; Weller et al., 2021).

Um aspecto importante das alterações epigenéticas é a metilação do promotor do gene O^6-*methylguanine*-DNA *methyltransferase* (*MGMT*), que torna o tumor mais sensível à temozolomida, pois reduz a capacidade da célula de reparar danos no DNA. Geneticamente, mutações nos genes *IDH1* e *IDH2* são características dos glioblastomas secundários e geralmente indicam um prognóstico mais favorável. Por outro lado, mutações no gene supressor de tumor *TP53*, muito comuns nesses tumores, causam perda do controle sobre o ciclo celular. Também são frequentes alterações no gene receptor do fator de crescimento epidérmico (*EGFR*), como amplificações e mutações, que ativam vias de sinalização como fosfatidilinositol 3-quinase/cinase de proteína B (*PI3K/AKT*) e Ras/cinase ativada por mitógenos (*RAS/MAPK*), estimulando o crescimento tumoral. Além disso, a perda de função do gene homólogo de fosfatase e tensina (*PTEN*), que normalmente inibe a via PI3K, contribui para a proliferação celular descontrolada. Embora a maioria dos casos seja esporádica, os avanços na caracterização molecular têm ajudado a entender melhor esses mecanismos (Louis et al., 2021; Weller et al., 2021).

A escolha das linhagens celulares utilizadas no presente trabalho se fundamenta nas diferenças genéticas, fenotípicas e morfológicas. Estas diferenças podem levar a perfis variados de proliferação, migração, adesão e marcadores moleculares, que refletem a heterogeneidade do glioblastoma. A comparação entre as linhagens permite compreender como suas características podem influenciar o comportamento tumoral.

Para contextualizar as diferenças biológicas entre as linhagens utilizadas neste estudo, a tabela 2 resume suas principais características genéticas, morfológicas, comportamentais e moleculares.

Tabela 2 – Características das linhagens de glioblastoma A172 e U87MG

Linhagem	Perfil genético	Perfil molecular	Morfologia e comportamento
A172	TP53 mutado; EGFR expresso em níveis variáveis. (ATCC, 2025)	Dependência maior de vias relacionadas à inflamação; Expressão moderada de VEGF; Menor tendência angiogênica. (Valter; Wiestler; Pietsch, 1999)	Fusiforme ou poligonal; Crescimento intermediário; Maior sensibilidade a citocinas inflamatórias.
U87MG	TP53 tipo selvagem; EGFR pouco responsivo; PTEN frequentemente mutado. (Slika et al., 2023)	Atividade da via PI3K/Akt; Marcadores angiogênicos frequentemente mais altos. (Li; Kim; Waldman, 2009)	Alongada; Crescimento rápido; Forte capacidade migratória e invasiva.

Fonte: Elaborado pela autora.

1.2 PAPEL DA INFLAMAÇÃO E DO MICROAMBIENTE TUMORAL

A inflamação exerce um importante papel no microambiente tumoral, influenciando vias e mecanismos que favorecem o crescimento e a progressão do câncer. As citocinas IL-6, TNF-α e IFN-γ, são mediadoras no processo inflamatório e contribuem tanto para a resposta imune quanto para mecanismos pró-tumorais. No glioblastoma, essas citocinas frequentemente se encontram alteradas e envolvidas em processos de proliferação celular, invasão, angiogênese e resistência terapêutica (Broekman et al., 2018).

A IL-6 atua pela via JAK/STAT3, promovendo a proliferação celular, invasão tumoral, angiogênese e sua alta expressão foi associada à baixa sobrevida de pacientes com glioblastoma (Yeo et al., 2021). O TNF-α pode induzir vias pró-tumorais, como NF-κB, que aumenta a proliferação, migração e a resistência a apoptose (Ding et al., 2015). O IFN-γ, apesar de funções antitumorais, pode exercer efeitos protetores ao tumor quando presente de forma crônica. No glioblastoma, níveis persistentes de IFN-γ podem favorecer um estado inflamatório que está correlacionado à progressão e à sobrevida desfavorável (Han et al., 2024).

Essas citocinas também influenciam a angiogênese, aumentando a expressão de *VEGF* e outras moléculas pró-angiogênicas, o que facilita a expansão tumoral (Eder; Kalman, 2015). São associadas a resistência terapêutica, modulando vias e alterando o microambiente tumoral, reduzindo a eficácia dos tratamentos como a quimioterapia e radioterapia. Portanto, compreender como essas citocinas regulam o comportamento tumoral é importante na identificação de novos alvos terapêuticos.

1.3 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS E NECESSIDADE DE NOVOS COMPOSTOS

Atualmente, não há disponível uma opção de tratamento bem-sucedida para o glioblastoma. A terapia padrão combina cirurgia, radioterapia e quimioterapia com temozolomida, oferecendo apenas 15 a 18 meses de sobrevida média a partir do diagnóstico inicial com alta taxa de recidiva (Olmez et al., 2018; Stupp et al., 2005).

A infiltração difusa no tecido cerebral, com células tumorais que escapam da ressecção total, e a presença da barreira hematoencefálica (BHE) e da barreira hemato-tumoral (BHT), que limitam a entrada de agentes quimioterápicos, dificultam o tratamento e propiciam a recidiva tumoral. (Da Ros et al., 2018; Deng; Sheng; Yan, 2019; Louis et al., 2016). No entanto, a degradação indiscriminada da BHE pode causar efeitos colaterais incluindo danos ao tecido cerebral saudável (Bell et al., 2010).Assim, novas estratégias terapêuticas devem visar romper seletivamente a BHT, preservando a BHE em regiões não tumorais (Zhou et al., 2017).

A característica invasiva do glioblastoma associada à intensa capacidade migratória torna essencial compreender os mecanismos que regulam a migração. Neste contexto, ensaios que avaliam o potencial migratório são fundamentais para investigar novas estratégias terapêuticas. O ensaio de migração (*wound healing*), amplamente utilizado (Barreto et al., 2020; Qi et al., 2017; Rooj et al., 2012), permite

quantificar e avaliar a recolonização celular e a influência de compostos, genes ou vias de sinalização na nesse processo.

O avanço do conhecimento da biologia molecular, permitiu identificar fatores prognósticos, preditivos e alvos terapêuticos, impulsionando o desenvolvimento de terapias direcionadas (Ferreira; Da Rocha, 2011). O conhecimento de mutações e alterações gênicas específicas, como *IDH1/2* em gliomas (Yan et al., 2009), HER2 (receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2) em câncer de mama (Swain; Shastry; Hamilton, 2023) ou *EGFR* (Khalil; Altiok, 2015) em câncer de pulmão, possibilitou o desenvolvimento de terapias-alvo mais precisas e eficazes, promovendo a medicina personalizada no tratamento oncológico.

Nos últimos 60 anos, cerca de 50% dos fármacos antitumorais foram derivados de produtos naturais o que estimula buscas sobre novas abordagens baseadas em plantas medicinais (Abbas; Kausar; Cui, 2020; Mann, 2002). Substâncias como paclitaxel, vincristina e irinotecano exemplificam o potencial terapêutico de fontes naturais no tratamento de diversos tipos de câncer (Tabela 3) (Huang et al., 2022).

Tabela 3 – Medicamentos antitumorais derivados de produtos naturais

Fármaco	Origem	Mecanismo	Uso
Paclitaxel (Taxol®)	*Taxus brevifolia*	Inibe a despolimerização dos microtúbulos	Câncer de mama, cabeça e pescoço, ovário. (Ma et al., 2021)
Vincristina	*Catharanthus roseus*	Inibe a polimerização de microtúbulos	Leucemia, câncer de mama, sarcomas. (Škubník et al., 2021)
Irinotecano	*Camptotheca acuminata*	Inibidor específico da topoisomerase I	Câncer colorretal e de pulmão. (Fujita, 2015)
Etoposídeo	*Podophyllum peltatum*	Inibidor da topoisomerase II	Câncer de testículo e pulmão. (Rezonja et al., 2013)

Fonte: Elaborado pela autora.

Investigações demonstraram que em células de glioblastoma, a quercetina, um composto bioativo, é capaz de direcionar vias moleculares importantes; como desregular os genes apoptóticos *BAX* (gene da proteína associada à BCL2 X) e *BCL-2* (gene do linfoma de células B 2), interromper o ciclo celular nas fases G2/M e reduzir a migração e invasão celular por meio da regulação negativa de genes de metaloproteinases de matriz (*MMP9* e *MMP2*) (Liu et al., 2017b). A quercetina também suprime o tumor pela indução de *p53*, traduzida por um importante gene com frequência mutacional de 37%, e pelo aumento dos níveis de caspases 3 e 7 (Kim et al., 2013; The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008). A amplificação do *EGFR* ocorre em aproximadamente 41% dos glioblastomas, ativando vias como a PI3K/AKT/mTOR responsável pela regulação de funções celulares como crescimento, motilidade, proliferação, apoptose, invasão, angiogênese, tráfego vesicular e sobrevivência (Hemmings; Restuccia, 2012; Javid et al., 2019). O tratamento com quercetina em células de glioblastoma diminuiu os níveis da proteína AKT e aumentou a eficácia do tratamento com a temozolomida (Tavana et al., 2020).

1.4 *Garcinia brasiliensis* (BACUPARI)

O uso de plantas medicinais para tratamento e prevenção de doenças é uma das mais antigas práticas terapêuticas. A *Garcinia brasiliensis* (Família Clusiaceae) popularmente conhecida por “Bacupari”, é uma espécie nativa da região amazônica e cultivada em todo o território brasileiro. Tanto os frutos como outros órgãos dessa espécie, por meio de estudos fitoquímicos utilizando extrato bruto (Santa-Cecília et al., 2011a), frações (Souza et al., 2022; Zan et al., 2018a), óleo (Martins et al., 2008) ou até mesmo componentes isolados (Ionta et al., 2015; Sales et al., 2015), têm demonstrado diversidade de compostos bioativos com propriedades farmacológicas.

Estudos anteriores evidenciaram na *G. brasiliensis* componentes como fenóis e flavonoides com propriedades anti-inflamatórias (Santa-Cecília et al., 2011a, 2011b), antioxidantes (Martins et al., 2008) e antimicrobianas (Naldoni et al., 2009). A presença destes compostos estimulou vários pesquisadores a testarem essas propriedades em diferentes condições clínicas. Por outro lado, o potencial efeito anticâncer e apoptótico é ainda pouco explorado.

A atividade antitumoral da 7-epiclusianona, uma benzofenona isolada da *G. brasiliensis* foi observada em culturas de glioblastoma (linhagens U251MG e U138MG) (Sales et al., 2015) e de adenocarcinoma de pulmão humano (linhagem A549) (Ionta et al., 2015). Ambos os estudos observaram que o composto induziu as células a permanecerem na fase G1/S do ciclo celular, levando-as a morte. Outra investigação utilizou além da 7-epiclusianona, o garciniafenona, também isolado de *G. brasiliensis*, em linhagens tumorais de melanoma, mama, ovário, próstata e rim (Murata et al., 2010). Ambos compostos demonstraram citotoxicidade contra todas as linhagens por meio da inibição da atividade de catepsinas.

Extratos vegetais, por reunirem diferentes compostos, podem apresentar efeitos sinérgicos e maior complexidade biológica quando comparados a compostos isolados (Chaachouay, 2025). Frações como a de acetato de etila concentram determinados metabólitos, facilitando a identificação de compostos ativos (Abou Zeid et al., 2022; Gębalski et al., 2024; Gherboudj et al., 2025). Além disso, o uso de extratos permite avaliar toxicidade, eficácia e mecanismos de ação de maneira mais próxima ao contexto tradicional, antes do isolamento de moléculas purificadas, e pode contribuir para o desenvolvimento de abordagens farmacológicas com menor custo.

Considerando o impacto do câncer na saúde global, em estudo pré-clinico anterior, o nosso grupo de pesquisa investigou os efeitos da administração do extrato bruto e da fração de acetato de etila das folhas de *G. brasiliensis* nas formas ascítica e sólida do tumor de Ehrlich (Silva et al., 2024). Os tratamentos mostraram importantes atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, hepatoprotetoras e moduladoras de apoptose. O perfil farmacológico observado sugere um potencial relevante para investigação em neoplasias, uma vez que processos inflamatórios, estresse oxidativo e apoptose desempenham papéis decisivos na progressão do câncer. Assim, esses achados reforçam a importância de explorar o potencial antitumoral dos extratos e frações da *G. brasiliensis* em modelos de glioblastoma.

Diante da baixa eficácia do tratamento padrão e da escassez de estudos com extratos e frações de folhas de *G. brasiliensis* em glioblastoma, este trabalho propõe avaliar propriedades fitoquímicas, anti-inflamatórias e antitumorais e do extrato bruto e frações de folhas de *G. brasiliensis* em linhagens celulares de glioblastoma, investigando seu potencial terapêutico.

6 CONCLUSÃO

A análise fitoquímica qualitativa e quantitativa do EB e FAE permite a identificação de diferentes compostos bioativos como flavonoides, alcaloides e fenólicos, reconhecidos por suas propriedades farmacológicas. A partir dessa caracterização, seleciona-se a FAE para os experimentos *in vitro*, uma vez que ela concentra um subconjunto específico de compostos em relação ao EB.

Nossos resultados demonstram que a FAE do extrato das folhas de *Garcinia brasiliensis* apresenta ação antiproliferativa e citotóxica em células de glioblastoma, além de inibir a migração celular, com maior impacto na linhagem U87MG. Além disso, a FAE modula diferencialmente a expressão de genes envolvidos na proliferação, sobrevivência e apoptose, como *mTOR, PTEN, TP53* e *STAT3*, evidenciando que os efeitos observados estão associados a alterações moleculares especificas. Além disso, o extrato modula o perfil de citocinas, influencia o ciclo celular e apoptose, sugerindo potencial ação sobre o microambiente tumoral.

Esses achados destacam o potencial da FAE em células tumorigênicas, abrindo caminho para novas investigações. Assim, este estudo contribui para o desenvolvimento de terapias futuras associadas com fitoterápicos no tratamento do glioblastoma.

REFERÊNCIAS

ABBAS, M. N.; KAUSAR, S.; CUI, H. Therapeutic potential of natural products in glioblastoma treatment: targeting key glioblastoma signaling pathways and epigenetic alterations. Clinical and Translational Oncology, v. 22, n. 7, p. 963–977, 19 jul. 2020.

ABO-DOLA, Marium A.; LUTFI, Mohamed F. Anti-inflammatory activity of Euphorbia aegyptiaca extract in rats. International journal of health sciences, v. 10, n. 1, p. 69–75, jan. 2016.

ABOU ZEID, Ehsan M. *et al.* Phytochemical Investigation and Biological Screening of Ethyl Acetate Fraction of Salvia hispanica L. Aerial Parts. Pharmacognosy Journal, v. 14, n. 1, p. 226–234, 22 fev. 2022.

ANDRADE, Ana Paula Colares de *et al.* A ação antimicrobiana dos extratos alcoólicos e aquosos da folha da goiabeira (Psidium guajava L.) no controle de Staphylococcus aureus ATTCC 27922, Escherichia coli ATTCC 25922 e Listeria monocytogenes SCOTT A. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 26, p. e019028, 5 set. 2019.

APOSTOLOVA, Sonia *et al.* A Standardized Extract of Petasites hybridus L., Containing the Active Ingredients Petasins, Acts as a Pro-Oxidant and Triggers Apoptosis through Elevating of NF-κB in a Highly Invasive Human Breast Cancer Cell Line. Frontiers in Bioscience-Landmark, v. 28, n. 6, 12 jun. 2023.

ATCC. A172 Human Glioblastoma Cell Line. Disponível em: https://www.atcc.org/products/crl-1620. Acesso em: 4 nov. 2025.

BARRETO, Natália *et al.* Spider venom components decrease glioblastoma cell migration and invasion through RhoA-ROCK and Na+/K+-ATPase β2: potential molecular entities to treat invasive brain cancer. Cancer Cell International, v. 20, n. 1, p. 576, 17 dez. 2020.

BARZEGAR BEHROOZ, Amir *et al.* Wnt and PI3K/Akt/mTOR Survival Pathways as Therapeutic Targets in Glioblastoma. International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 3, p. 1353, 25 jan. 2022.

BELL, Robert D. *et al.* Pericytes Control Key Neurovascular Functions and Neuronal Phenotype in the Adult Brain and during Brain Aging. Neuron, v. 68, n. 3, p. 409–427, nov. 2010.

BHANDARE, Saurabh Dilip; MALODE, Sarika Shivaji. Cytotoxic activity of isoquinoline alkaloids and herbal extracts from selected plants against human cancer cell lines: harnessing the research potential in cancer drug discovery with modern scientific trends and technology. Toxicology research, v. 12, n. 6, p. 1034–1040, dez. 2023.

BROEKMAN, Marike L. *et al.* Multidimensional communication in the microenvirons of glioblastoma. Nature Reviews Neurology, v. 14, n. 8, p. 482–495, 9 ago. 2018.

CASTRO, Flávia *et al.* Interferon-Gamma at the Crossroads of Tumor Immune Surveillance or Evasion. Frontiers in Immunology, v. 9, 4 maio 2018.

CHAACHOUAY, Noureddine. Synergy, Additive Effects, and Antagonism of Drugs with Plant Bioactive Compounds. Drugs and Drug Candidates, v. 4, n. 1, p. 4, 5 fev. 2025.

DA ROS, Martina *et al.* Glioblastoma Chemoresistance: The Double Play by Microenvironment and Blood-Brain Barrier. International Journal of Molecular Sciences, v. 19, n. 10, p. 2879, 22 set. 2018.

DAHANAYAKE, Jeevani Maheshika *et al.* Comparative Phytochemical Analysis and Antioxidant Activities of Tamalakyadi Decoction with Its Modified Dosage Forms. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2019, p. 1–9, 2 maio 2019.

DENG, Zhiting; SHENG, Zonghai; YAN, Fei. Ultrasound-Induced Blood-Brain-Barrier Opening Enhances Anticancer Efficacy in the Treatment of Glioblastoma: Current Status and Future Prospects. Journal of oncology, v. 2019, p. 2345203, 2019.

DI NUNNO, Vincenzo *et al.* TP53 mutations and survival in patients with histologically defined Glioblastoma, IDH-wildtype. Pathology - Research and Practice, v. 262, p. 155516, out. 2024.

DING, Zongmei *et al.* Spy1 induces de-ubiquitinating of RIP1 arrest and confers glioblastoma’s resistance to tumor necrosis factor (TNF-α)-induced apoptosis through suppressing the association of CLIPR-59 and CYLD. Cell Cycle, v. 14, n. 13, p. 2149–2159, 3 jul. 2015.

DOSHI, GauravMahesh; UNE, HemantDevidas. Quantification of quercetin and rutin from Benincasa hispida seeds and Carissa congesta roots by high-performance thin layer chromatography and high-performance liquid chromatography. Pharmacognosy Research, v. 8, n. 1, p. 37, 2016.

DOURADO, Rodrigo Strohmayer; LADEIRA, Ângela Maria. Identificação de flavonóides em Hypericum cordatum (Vell.) N. Robson (Clusiaceae). Revista Brasileira de Botânica, v. 31, n. 4, dez. 2008.

EDER, Katalin; KALMAN, Bernadette. The Dynamics of Interactions Among Immune and Glioblastoma Cells. NeuroMolecular Medicine, v. 17, n. 4, p. 335–352, 30 dez. 2015.

FERLAY, J. *et al.* Global Cancer Observatory: Cancer Today. Disponível em: https://gco.iarc.who.int/today. Acesso em: 13 jan. 2025.

FERNÁNDEZ, Javier *et al.* Antiproliferative and palliative activity of flavonoids in colorectal cancer. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 143, p. 112241, nov. 2021.

FERREIRA, Carlos Gil; DA ROCHA, José Claudio Casali. Oncologia molecular. 2a ed ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

FIGUEIREDO, Sônia Aparecida *et al.* In vitro and in vivo photoprotective/photochemopreventive potential of Garcinia brasiliensis epicarp extract. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 131, p. 65–73, fev. 2014.

FUJITA, Ken-ichi. Irinotecan, a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer. World Journal of Gastroenterology, v. 21, n. 43, p. 12234, 2015.

GAO, Ying *et al.* Kaempferol Induces G2/M Cell Cycle Arrest via Checkpoint Kinase 2 and Promotes Apoptosis via Death Receptors in Human Ovarian Carcinoma A2780/CP70 Cells. Molecules, v. 23, n. 5, p. 1095, 5 maio 2018.

GĘBALSKI, Jakub *et al.* Ethyl Acetate Fraction from Eleutherococcus divaricatus Root Extract as a Promising Source of Compounds with Anti-Hyaluronidase, Anti-Tyrosinase, and Antioxidant Activity but Not Anti-Melanoma Activity. Molecules, v. 29, n. 15, p. 3640, 1 ago. 2024.

GHERBOUDJ, Ouissem *et al.* Phytochemical profiles and evaluation of the biological potential of ethyl acetate and *n* -butanol fractions of the aerial parts of *Cistus albidus* L. Natural Product Research, v. 39, n. 9, p. 2642–2648, 3 maio 2025.

GONTIJO, Vanessa Silva *et al.* Isolation and evaluation of the antioxidant activity of phenolic constituents of the Garcinia brasiliensis epicarp. Food Chemistry, v. 132, n. 3, p. 1230–1235, jun. 2012a.

GONTIJO, Vanessa Silva *et al.* Leishmanicidal, antiproteolytic and antioxidant evaluation of natural biflavonoids isolated from Garcinia brasiliensis and their semisynthetic derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 58, p. 613–623, dez. 2012b.

HAM, Seok Won *et al.* TP53 gain-of-function mutation promotes inflammation in glioblastoma. Cell Death & Differentiation, v. 26, n. 3, p. 409–425, 21 mar. 2019.

HAN, Yunhe *et al.* Inhibiting interferon-γ induced cancer intrinsic TNFRSF14 elevation restrains the malignant progression of glioblastoma. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, v. 43, n. 1, p. 212, 31 jul. 2024.

HANAHAN, Douglas. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. Cancer Discovery, v. 12, n. 1, p. 31–46, 1 jan. 2022.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011.

HASHEMI, Mehrdad *et al.* Progress in targeting PTEN/PI3K/Akt axis in glioblastoma therapy: Revisiting molecular interactions. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 158, p. 114204, fev. 2023.

HEMMINGS, B. A.; RESTUCCIA, D. F. PI3K-PKB/Akt Pathway. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, v. 4, n. 9, p. a011189–a011189, 1 set. 2012.

HILAL, Bisma; KHAN, Mohammad Mansoob; FARIDUDDIN, Qazi. Recent advancements in deciphering the therapeutic properties of plant secondary metabolites: phenolics, terpenes, and alkaloids. Plant Physiology and Biochemistry, v. 211, p. 108674, jun. 2024.

HUANG, Bei; LANG, Xiaoling; LI, Xihong. The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers. Frontiers in Oncology, v. 12, 16 dez. 2022.

HUANG, Manru *et al.* Anti-tumor pharmacology of natural products targeting mitosis. Cancer biology & medicine, v. 19, n. 6, p. 774–801, 15 jun. 2022.

IIDA, Keitaro *et al.* Luteolin suppresses bladder cancer growth via regulation of mechanistic target of rapamycin pathway. Cancer Science, v. 111, n. 4, p. 1165–1179, 24 abr. 2020.

INCA – INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: http://inca.gov.br/estimativa. Acesso em: 14 jan. 2025.

IONTA, Marisa *et al.* 7-Epiclusianone, a Benzophenone Extracted from Garcinia brasiliensis (Clusiaceae), Induces Cell Cycle Arrest in G1/S Transition in A549 Cells. Molecules, v. 20, n. 7, p. 12804–12816, 15 jul. 2015.

JAVID, Hossein *et al.* Emerging roles of microRNAs in regulating the mTOR signaling pathway during tumorigenesis. Journal of Cellular Biochemistry, v. 120, n. 7, p. 10874–10883, 5 jul. 2019.

JOHN, Oliver *et al.* Achacha (Garcinia humilis) Rind Improves Cardiovascular Function in Rats with Diet-Induced Metabolic Syndrome. Nutrients, v. 10, n. 10, p. 1425, 4 out. 2018.

KHALIL, Farah K.; ALTIOK, Soner. Advances in EGFR as a Predictive Marker in Lung Adenocarcinoma. Cancer Control, v. 22, n. 2, p. 193–199, 1 abr. 2015.

KIDA, Hiroshi *et al.* Protective effect of IL-6 on alveolar epithelial cell death induced by hydrogen peroxide. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, v. 288, n. 2, p. L342–L349, fev. 2005.

KIM, Hyeonji *et al.* Quercetin Induces Mitochondrial Mediated Apoptosis and Protective Autophagy in Human Glioblastoma U373MG Cells. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2013, p. 1–10, 2013.

KIM, So-Young; JUNG, Soo-Hyun; KIM, Hee-Sun. Curcumin is a potent broad spectrum inhibitor of matrix metalloproteinase gene expression in human astroglioma cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 337, n. 2, p. 510–516, nov. 2005.

KOUL, Dimpy. PTEN Signaling pathways in glioblastoma. Cancer Biology & Therapy, v. 7, n. 9, p. 1321–1325, 27 set. 2008.

KRITSANAWONG, SOMCHAI *et al.* Antiproliferative and apoptosis induction of α-mangostin in T47D breast cancer cells. International Journal of Oncology, v. 48, n. 5, p. 2155–2165, maio 2016.

KUHN, Kristine A. *et al.* IL-6 Stimulates Intestinal Epithelial Proliferation and Repair after Injury. PLoS ONE, v. 9, n. 12, p. e114195, 5 dez. 2014.

LAHALLE, Airelle *et al.* The p53 Pathway and Metabolism: The Tree That Hides the Forest. Cancers, v. 13, n. 1, p. 133, 4 jan. 2021.

LAMY, Sylvie *et al.* Diet-derived polyphenols inhibit angiogenesis by modulating the interleukin-6/STAT3 pathway. Experimental Cell Research, v. 318, n. 13, p. 1586–1596, ago. 2012.

LANZOTTI, Virginia; CARTENI, Fabrizio. Drugs based on natural compounds: recent achievements and future perspectives. Phytochemistry Reviews, v. 18, n. 4, p. 967–969, 10 ago. 2019.

LI, Hui-Fang; KIM, Jung-Sik; WALDMAN, Todd. Radiation-induced Akt activation modulates radioresistance in human glioblastoma cells. Radiation Oncology, v. 4, n. 1, p. 43, 14 dez. 2009.

LIMA, Renato Abreu; SILVA, Ana Cristina. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de Eugenia uniflora L. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 20, n. 1, p. 381, 24 fev. 2016.

LIU, Ting *et al.* NF-κB signaling in inflammation. Signal Transduction and Targeted Therapy, v. 2, n. 1, p. 17023, 14 jul. 2017a.

LIU, Yan; LI, Chenglong; LIN, Jiayuh. STAT3 as a Therapeutic Target for Glioblastoma. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, v. 10, n. 7, p. 512–519, 1 set. 2010.

LIU, Yue *et al.* Low concentration of quercetin antagonizes the invasion and angiogenesis of human glioblastoma U251 cells. OncoTargets and Therapy, v. Volume 10, p. 4023–4028, ago. 2017b.

LOUIS, David N. *et al.* The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathologica, v. 131, n. 6, p. 803–820, 9 jun. 2016.

LOUIS, David N. *et al.* The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Neuro-Oncology, v. 23, n. 8, p. 1231–1251, 2 ago. 2021.

MA, Yuan *et al.* Targeting Strategies for Enhancing Paclitaxel Specificity in Chemotherapy. Frontiers in Cell and Developmental Biology, v. 9, 29 mar. 2021.

MANN, John. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. Nature Reviews Cancer, v. 2, n. 2, p. 143–148, fev. 2002.

MARTINS, Felipe T. *et al.* Composition, and Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Volatile Oil from the Fruit Peel of *Garcinia brasiliensis*. Chemistry & Biodiversity, v. 5, n. 2, p. 251–258, 22 fev. 2008.

MIŠKOVIĆ ŠPOLJARIĆ, Katarina *et al.* Antioxidant and antiproliferative potentials of phenolic-rich extracts from biotransformed grape pomace in colorectal Cancer. BMC Complementary Medicine and Therapies, v. 23, n. 1, p. 29, 1 fev. 2023.

MOHAMED, Esraa *et al.* PI3K/AKT/mTOR signaling pathway activity in IDH-mutant diffuse glioma and clinical implications. Neuro-Oncology, v. 24, n. 9, p. 1471–1481, 1 set. 2022.

MOHAMMED, Hamdoon A. *et al.* Quercetin Against MCF7 and CAL51 Breast Cancer Cell Lines: Apoptosis, Gene Expression and Cytotoxicity of Nano-Quercetin. Nanomedicine, v. 16, n. 22, p. 1937–1961, 25 set. 2021.

MOSKOT, Marta *et al.* Effects of flavonoids on expression of genes involved in cell cycle regulation and DNA replication in human fibroblasts. Molecular and Cellular Biochemistry, v. 407, n. 1–2, p. 97–109, 24 set. 2015.

MURATA, Ramiro Mendonça *et al.* Antiproliferative effect of benzophenones and their influence on cathepsin activity. Phytotherapy Research, v. 24, n. 3, p. 379–383, 3 mar. 2010.

NALDONI, F. J. *et al.* Antimicrobial Activity of Benzophenones and Extracts from the Fruits of *Garcinia brasiliensis*. Journal of Medicinal Food, v. 12, n. 2, p. 403–407, abr. 2009.

OLMEZ, Inan *et al.* Targeting the mesenchymal subtype in glioblastoma and other cancers via inhibition of diacylglycerol kinase alpha. Neuro-Oncology, v. 20, n. 2, p. 192–202, 22 jan. 2018.

PAN, Min-Hsiung *et al.* Induction of Apoptosis by Garcinol and Curcumin through Cytochrome *c* Release and Activation of Caspases in Human Leukemia HL-60 Cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 49, n. 3, p. 1464–1474, 1 mar. 2001.

PANG, Xiufeng *et al.* Celastrol Suppresses Angiogenesis-Mediated Tumor Growth through Inhibition of AKT/Mammalian Target of Rapamycin Pathway. Cancer Research, v. 70, n. 5, p. 1951–1959, 1 mar. 2010.

PARK, Ki-Su *et al.* Anti-Migration and Anti-Invasion Effects of Curcumin via Suppression of Fascin Expression in Glioblastoma Cells. Brain Tumor Research and Treatment, v. 7, n. 1, p. 16, 2019.

PASARIBU, Yenni Pintauli *et al.* Biological Activity Evaluation and In Silico Studies of Polyprenylated Benzophenones from Garcinia celebica. Biomedicines, v. 9, n. 11, p. 1654, 10 nov. 2021.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, v. 29, n. 9, p. 45e–445, 1 maio 2001.

PIPERI, Christina; PAPAVASSILIOU, Kostas A.; PAPAVASSILIOU, Athanasios G. Pivotal Role of STAT3 in Shaping Glioblastoma Immune Microenvironment. Cells, v. 8, n. 11, p. 1398, 6 nov. 2019.

POSSEBON, Lucas *et al.* Anti-inflammatory actions of herbal medicines in a model of chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 99, p. 591–597, mar. 2018.

QI, Xue Tao *et al.* The Unwanted Cell Migration in the Brain: Glioma Metastasis. Neurochemical Research, v. 42, n. 6, p. 1847–1863, 6 jun. 2017.

REZONJA, Renata *et al.* Oral treatment with etoposide in small cell lung cancer - dilemmas and solutions. Radiology and oncology, v. 47, n. 1, p. 1–13, mar. 2013.

RODRIGUEZ, Gregor A. *et al.* Investigating the therapeutic role and molecular biology of curcumin as a treatment for glioblastoma. Therapeutic Advances in Medical Oncology, v. 8, n. 4, p. 248–260, 25 jul. 2016.

ROOJ, Arun K. *et al.* Glioma-specific Cation Conductance Regulates Migration and Cell Cycle Progression. Journal of Biological Chemistry, v. 287, n. 6, p. 4053–4065, fev. 2012.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.

SALES, Leilane *et al.* Anticancer activity of 7-epiclusianone, a benzophenone from Garcinia brasiliensis, in glioblastoma. BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 15, n. 1, p. 393, 30 dez. 2015.

SANTA-CECÍLIA, Flávia V. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of Garcinia brasiliensis. Journal of Ethnopharmacology, v. 133, n. 2, p. 467–473, jan. 2011a.

SANTA-CECÍLIA, Flávia V. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from Garcinia brasiliensis. European Journal of Pharmacology, v. 670, n. 1, p. 280–285, nov. 2011b.

SARONI ARWA, Phanuel *et al.* Redox-active biflavonoids from Garcinia brasiliensis as inhibitors of neutrophil oxidative burst and human erythrocyte membrane damage. Journal of Ethnopharmacology, v. 174, p. 410–418, nov. 2015a.

SARONI ARWA, Phanuel *et al.* Redox-active biflavonoids from Garcinia brasiliensis as inhibitors of neutrophil oxidative burst and human erythrocyte membrane damage. Journal of Ethnopharmacology, v. 174, p. 410–418, nov. 2015b.

SESTITO, Simona *et al.* New Multitarget Approaches in the War Against Glioblastoma: A Mini-Perspective. Frontiers in pharmacology, v. 9, p. 874, 2018.

SHABESTANI MONFARED, Ghazal; ERTL, Peter; ROTHBAUER, Mario. An on-chip wound healing assay fabricated by xurography for evaluation of dermal fibroblast cell migration and wound closure. Scientific Reports, v. 10, n. 1, p. 16192, 1 out. 2020.

SHAILAJAN, Sunita *et al.* Simultaneous Quantification of Pharmacological Markers Quercetin and Berberine Using High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) from a Polyherbal Formulation Pushyanuga Churna. Journal of AOAC INTERNATIONAL, v. 102, n. 4, p. 1003–1013, 1 jul. 2019.

SI, Feng *et al.* Sophocarpine inhibits the proliferation and induces apoptosis of glioblastoma cells through regulating the miR-21/PTEN/PI3K/AKT axis. Discover Oncology, v. 16, n. 1, p. 138, 8 fev. 2025.

SILVA, Caroline Woelffel *et al.* Chemical characterization of fruits of Garcinia brasiliensis Mart. Ciência Rural, v. 55, n. 5, 2025.

SILVA, Lucas Sylvestre *et al.* Garcinia brasiliensis Leaves Extracts Inhibit the Development of Ascitic and Solid Ehrlich Tumors. Pharmaceuticals, v. 18, n. 1, p. 24, 28 dez. 2024.

ŠKUBNÍK, Jan *et al.* Vincristine in Combination Therapy of Cancer: Emerging Trends in Clinics. Biology, v. 10, n. 9, p. 849, 31 ago. 2021.

SLIKA, Hasan *et al.* Preclinical Models and Technologies in Glioblastoma Research: Evolution, Current State, and Future Avenues. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 22, p. 16316, 14 nov. 2023.

SONG, Min Sup; SALMENA, Leonardo; PANDOLFI, Pier Paolo. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 13, n. 5, p. 283–296, 4 maio 2012.

SOUZA, Helena Ribeiro *et al.* Evaluation of the healing properties of Garcinia brasiliensis extracts in a cutaneous wound model. Journal of Ethnopharmacology, v. 295, p. 115334, set. 2022.

STUPP, Roger *et al.* Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. New England Journal of Medicine, v. 352, n. 10, p. 987–996, 10 mar. 2005.

SUN, Tao. Amentoflavone induces cell cycle arrest apoptosis and autophagy in BV-2 cells. Frontiers in Bioscience, v. 25, n. 4, p. 4835, 2020.

SWAIN, Sandra M.; SHASTRY, Mythili; HAMILTON, Erika. Targeting HER2-positive breast cancer: advances and future directions. Nature reviews. Drug discovery, v. 22, n. 2, p. 101–126, fev. 2023.

TANAKA, Toshio *et al.* Regulation of IL-6 in Immunity and Diseases. *In*: *[S.l.: S.n.]*. p. 79–88.

TANIGUCHI, Koji; KARIN, Michael. NF-κB, inflammation, immunity and cancer: coming of age. Nature Reviews Immunology, v. 18, n. 5, p. 309–324, 22 maio 2018.

TAVANA, Erfan *et al.* Quercetin: A promising phytochemical for the treatment of glioblastoma multiforme. BioFactors, v. 46, n. 3, p. 356–366, 27 maio 2020.

TAYLOR, Henry; LAURENCE, Arian D. J.; UHLIG, Holm H. The Role of PTEN in Innate and Adaptive Immunity. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 9, n. 12, p. a036996, dez. 2019.

THE CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. Nature, v. 455, n. 7216, p. 1061–1068, 23 out. 2008.

VALTER, Markus Maria; WIESTLER, Otmar Dieter; PIETSCH, Torsten. Differential control of VEGF synthesis and secretion in human glioma cells by IL-1 and EGF. International Journal of Developmental Neuroscience, v. 17, n. 5–6, p. 565–577, 8 ago. 1999.

VOVK, Irena; SIMONOVSKA, Breda; VUORELA, Heikki. Separation of eight selected flavan-3-ols on cellulose thin-layer chromatographic plates. Journal of Chromatography A, v. 1077, n. 2, p. 188–194, jun. 2005.

WANG, Zexia *et al.* Curcumin suppresses glioblastoma cell proliferation by p-AKT/mTOR pathway and increases the PTEN expression. Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 689, p. 108412, ago. 2020.

WELLER, Michael *et al.* EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. Nature reviews. Clinical oncology, v. 18, n. 3, p. 170–186, mar. 2021.

WILD, Christopher P.; WEIDERPASS, Elisabete; STEWART, Bernard W. World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention. *[S.l.]*: International Agency for Research on Cancer, 2020.

WU, Qian *et al.* Natural compounds from botanical drugs targeting mTOR signaling pathway as promising therapeutics for atherosclerosis: A review. Frontiers in Pharmacology, v. 14, 20 jan. 2023.

XIN, Ping *et al.* The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases. International Immunopharmacology, v. 80, p. 106210, mar. 2020.

YAN, Hai *et al. IDH1* and *IDH2* Mutations in Gliomas. New England Journal of Medicine, v. 360, n. 8, p. 765–773, 19 fev. 2009.

YAZBECK, Victor *et al.* An overview of chemotoxicity and radiation toxicity in cancer therapy. *In*: *[S.l.: S.n.]*. p. 1–27.

YEO, Erica C. F. *et al.* The Role of Cytokines and Chemokines in Shaping the Immune Microenvironment of Glioblastoma: Implications for Immunotherapy. Cells, v. 10, n. 3, p. 607, 9 mar. 2021.

ZAIDI, M. Raza; MERLINO, Glenn. The Two Faces of Interferon-γ in Cancer. Clinical Cancer Research, v. 17, n. 19, p. 6118–6124, 1 out. 2011.

ZAN, Renato André *et al.* Bioactive properties and phytochemical assessment of Bacupari-anão (*Garcinia brasiliensis* Mart.) leaves native to Rondônia, Brazil. Food & Function, v. 9, n. 11, p. 5621–5628, 2018a.

ZAN, Renato André *et al.* Bioactive properties and phytochemical assessment of Bacupari-anão (*Garcinia brasiliensis* Mart.) leaves native to Rondônia, Brazil. Food & Function, v. 9, n. 11, p. 5621–5628, 2018b.

ZHAORIGETU *et al.* Antiproliferative, Apoptotic Effects and Suppression of Oxidative Stress of Quercetin against Induced Toxicity in Lung Cancer Cells of Rats: *In vitro* and *In vivo* Study. Journal of Cancer, v. 12, n. 17, p. 5249–5259, 2021.