



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL



FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA  
REGIÃO CENTRO-OESTE

MARCELO FONTES DA SILVA

**POTENCIAL GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
PLANTAS DO CERRADO E PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE**

CAMPO GRANDE - MS  
2023

MARCELO FONTES DA SILVA

**POTENCIAL GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
PLANTAS DO CERRADO E PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Linha de Pesquisa: A biodiversidade do Pantanal e Cerrado e suas aplicações na saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Bogo

CAMPO GRANDE - MS  
2023



**Ata de Defesa de Dissertação**  
**Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste**  
**Mestrado**

Aos vinte e quatro dias do mês de janeiro do ano de dois mil e vinte e três, às oito horas, na videoconferência (à distância), da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Danielle Bogo (UFMS), Juceli Gonzales Gouveia (UEMS) e Rita de Cassia Avellaneda Guimaraes (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho do aluno: **MARCELO FONTES DA SILVA**, CPF 09536372983, Área de concentração em Tecnologia e Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**POTENCIAL GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DO CERRADO E PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE**" e orientação de Danielle Bogo. A presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra ao aluno que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresse conforme segue:

EXAMINADOR	ASSINATURA	AVALIAÇÃO
Dra. Danielle Bogo (Interno)		<u>Aprovado</u>
Dra. Juceli Gonzalez Gouveia (Externo)		<u>Aprovado</u>
Dr. Paulo Roberto Haidamus de Oliveira Bastos (Interno) (Suplente)		<u>Aprovado</u>
Dra. Rita de Cassia Avellaneda Guimaraes (Interno)		<u>Aprovado</u>
Dra. Zaira Da Rosa Guterres (Externo) (Suplente)		

**RESULTADO FINAL:** Aprovação Aprovação com revisão Reprovação**OBSERVAÇÕES:**

Nada mais havendo a ser tratado, a Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

**Assinaturas:**

\_\_\_\_\_  
Presidente da Banca Examinadora

\_\_\_\_\_  
Aluno

## **DEDICATÓRIA**

Agradeço e dedico essa conquista a Deus por nunca me abandonar e sempre me mostrar que eu posso chegar aonde eu quiser e que sempre será meu guia. A minha Nossa Senhora por abrir todas as portas para que tudo fosse possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu amor, Júnior, por estar todo tempo ao meu lado, por me incentivar, apoiar e segurar em minha mão e alcançarmos juntos todas as vitórias que vieram e que estão por vir, sem você nada seria possível, te amo!!

A meus pais por todo apoio e por proporcionar alcançar tudo o que eu tenho e que terei, por me permitirem sonhar, tudo sempre vai ser por vocês, desde sempre, espero sempre lhes orgulhar!!

Agradeço aos pais que Deus me deu Maria de Fátima e José Amarildo, que são parte do alicerce em nossas vidas, obrigado por tanto.

Agradeço as minhas irmãs Márcia e Cristiane, a irmã que Deus me deu Jéssica, meus cunhados e a todos os meus sobrinhos por serem tão incríveis em minha vida e por sempre acreditar que tudo pode ser possível.

Agradeço imensamente a minha orientadora Dra. Danielle Bogo por ser quem é, mesmo não me conhecendo me abraçou como seu orientando e fez com que fosse possível essa conquista, que Deus e Nossa Senhora sempre lhe abençoe Professora.

Agradeço a todos aqueles presentes na minha defesa, em especial aos membros da banca examinadora que disponibilizam seu tempo para estar presente;

Ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-oeste, nível Mestrado, pela oportunidade e contribuição na formação de mais uma turma e por todo apoio dado na realização de viagens e materiais no desenvolvimento dos nossos trabalhos;

Aos meus amigos e colegas do Programa por me apoiarem e acreditarem em mim.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), que com seu apoio e credibilidade, financiou meus estudos e dos meus colegas, para que nos dedicássemos integralmente no desenvolvimento de trabalhos de qualidade;

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pela oportunidade dada à classe acadêmica de se especializar e alavancar futuros profissionais para o mercado de trabalho com qualidade de ensino.

Agradeço a todos os professores do programa pelos ensinamentos e orientações durante essa jornada, muito obrigado.

Agradeço aos professores Dra. Rita de Cássia, Dra. Juceli Gouveia, Dr. Paulo Haidamus e Dra. Zaira Guterres por participarem de minha banca e contribuir para realização dessa pesquisa, muito obrigado!

Agradeço a Dra Zaira Guterres por me possibilitar o desenvolvimento de um dos ensaios da pesquisa, a senhora é incrível, muito obrigado.

A todos, o meu muito obrigado!

*I was just guessing at numbers and figures  
Pulling the puzzles apart  
Questions of science, science and progress  
Do not speak as loud as my heart  
(The Scientist – Coldplay)*

## RESUMO

Potencialidades biológicas são muito estudadas em plantas medicinais, principalmente no tratamento do câncer, além de ser de suma importância para as questões de saúde pública. O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial, genotóxico e citotóxico de espécies de plantas do cerrado e pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil. Na triagem da atividade antiproliferativa pelo método SRB, o óleo essencial de *Matayba guianensis* foi o que apresentou melhores resultados frente a células neoplásicas B16-F10, MCF-7 e U251, além de apresentar citotoxicidade sobre linhagens normais. A linhagem neoplásica U251 foi também inibida frente aos óleos essenciais testados de *Endlicheria paniculata* e *Siparuna guianensis*. O óleo essencial de *E. paniculata* apresentou atividade citotóxica nas linhagens normais 3T3 e HUVEC, assim como o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* que apresentou atividade apenas nessas linhagens não tumorais. O óleo de *S. guianensis* apresentou atividade citotóxica sobre B16 e U251 e o óleo essencial de *M. guianensis* apresentou os melhores resultados quanto à atividade de inibição total de crescimento após 48 h de exposição, com inibição potente a linhagem tumoral U251 e fracamente na linhagem tumoral MCF7, e a célula normal murina 3T3. O índice de seletividade foi calculado a partir da razão das concentrações que inibem 50% do crescimento celular entre 3T3 e B16 mostrou que não houve seletividade das quatro amostras sobre a linhagem neoplásica murina, indicando que os óleos essenciais não foram seletivos para linhagem B16. Já entre HUVEC e MCF7 e U251, o óleo essencial de *E. paniculata* apresentou melhor resultado com seletividade tanto de carcinoma de mama quanto para glioblastoma humana. Quanto ao teste de mutagenicidade SMART os dados encontrados nos tratamentos feitos com os óleos essenciais de *C. citratus* e *S. guianensis* indicaram que eles não possuem atividade tóxica ou mutagênica. Portanto, com base nos resultados encontrados, concluiu-se que os óleos essenciais de *M. guianensis* e de *S. guianensis* apresentaram compostos bioativos com efeito antitumoral significativo e de melhor resultado para seletividade para células tumorais, respectivamente. Sendo assim, podem ser consideradas como potenciais agentes anticâncer com efeitos promissores na busca de novos fármacos na terapêutica antitumoral.

**Descritores:** Anticarcinógenos. Testes de Mutagenicidade. Plantas medicinais.

## ABSTRACT

Biological potentialities are much studied in medicinal plants, mainly in the treatment of cancer, in addition to being of paramount importance for public health issues. The objective of this study was to evaluate the potential, genotoxic and cytotoxic of plant species from the Cerrado and Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. In screening for antiproliferative activity by the SRB method, the essential oil of *Matayba guianensis* was the one that showed the best results against neoplastic cells B16-F10, MCF-7 and U251, in addition to showing cytotoxicity on normal cell lines. The neoplastic strain U251 was also inhibited against the tested essential oils of *Endlicheria paniculata* and *Siparuna guianensis*. The essential oil of *E. paniculata* showed cytotoxic activity in the normal 3T3 and HUVEC strains, as well as the essential oil of *Cymbopogon citratus* that showed activity only in these non-tumor strains. The oil of *S. guianensis* showed cytotoxic activity on B16 and U251 and the essential oil of *M. guianensis* showed the best results regarding the activity of total inhibition of growth after 48 h of exposure, with potent inhibition of the tumor lineage U251 and weakly on the lineage tumor cell MCF7, and the murine normal cell 3T3. The selectivity index was calculated from the ratio of the concentrations that inhibit 50% of cell growth between 3T3 and B16 showed that there was no selectivity of the four samples on the murine neoplastic lineage, indicating that the essential oils were not selective for the B16 lineage. Between HUVEC and MCF7 and U251, the essential oil of *E. paniculata* showed better results with selectivity for both breast carcinoma and human glioblastoma. As for the SMART mutagenicity test, the data found in the treatments made with the essential oils of *C. citratus* and *S. guianensis* indicated that they do not have toxic or mutagenic activity. Therefore, based on the results found, it was concluded that the essential oils of *M. guianensis* and *S. guianensis* presented bioactive compounds with a significant antitumor effect and a better result for selectivity for tumor cells, respectively. Therefore, they can be considered as potential anticancer agents with promising effects in the search for new drugs in antitumor therapy.

**Descriptors:** Anticarcinogens. Mutagenicity Tests. Medicinal plants.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Mapa de cobertura vegetal do Cerrado .....	19
<b>Figura 2</b>	Mapa de uso e cobertura da terra para o Bioma Pantanal .....	20
<b>Figura 3</b>	Metabolismo secundário das plantas .....	22
<b>Figura 4</b>	Extração de óleo essencial por hidrodestilação .....	25
<b>Figura 5</b>	Variedade de terpenos constituintes de óleos essenciais .....	27
<b>Figura 6</b>	<i>Cymbopogon citratus</i> .....	28
<b>Figura 7</b>	Compostos químicos de maior destaque de <i>Cymbopogon citratus</i>	30
<b>Figura 8</b>	<i>Endlicheria paniculata</i> .....	31
<b>Figura 9</b>	Compostos químicos de maior destaque de <i>Endlicheria paniculata</i> .....	33
<b>Figura 10</b>	<i>Matayba guianensis</i> .....	34
<b>Figura 11</b>	Compostos químicos de maior destaque de <i>Matayba guianensis</i> .	35
<b>Figura 12</b>	<i>Siparuna guianensis</i> .....	36
<b>Figura 13</b>	Compostos químicos de maior destaque de <i>Siparuna guianensis</i>	37
<b>Figura 14</b>	Ciclo de vida e cariótipo de <i>Drosophila melanogaster</i> .....	40
<b>Figura 15</b>	Fórmula estrutural da Doxorubicina .....	46
<b>Figura 16</b>	Esquema de cruzamentos padrão e de alta bioativação entre linhagens de <i>D. melanogaster</i> e suas respectivas proles e constituições genéticas. Linhagem Flare (flr3), linhagem Multiple Wing Hair (mwh), Linhagem Oregon-R Flare, (ORR-flr3), primeiros descendentes da geração parental (F1) .....	50
<b>Figura 17</b>	Atividade antiproliferativa do OEEP ( <i>E. paniculata</i> ) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h .....	55
<b>Figura 18</b>	Atividade antiproliferativa do OESG ( <i>S. guianensis</i> ) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h .....	56

<b>Figura 19</b>	Atividade antiproliferativa do OEMG ( <i>M. guianensis</i> ) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h .....	57
<b>Figura 20</b>	Atividade antiproliferativa do OECC ( <i>C. citratus</i> ) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h .....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Espécies <i>C. citratus</i> , <i>E. paniculata</i> , <i>S. guianensis</i> e <i>M. guianensis</i> e as atividades biológicas já identificadas na literatura a partir de extrações de óleos essenciais .....	43
<b>Tabela 2</b>	Períodos e regiões de coleta das espécies <i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Endlicheria paniculata</i> , <i>Matayba guianensis</i> e <i>Siparuna guianenses</i> .....	44
<b>Tabela 3</b>	Atividade citotóxica, valores de GI <sub>50</sub> * (µg/mL) para óleos essenciais de <i>Endlicheria paniculata</i> (OEEP), <i>Siparuna guianensis</i> (OESG), <i>Matayba guianensis</i> (OEMG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino) .....	53
<b>Tabela 4</b>	Avaliação da atividade citotóxica com valores de TGI (µg mL <sup>-1</sup> ) para atividade antiproliferativa de óleos essenciais de <i>Endlicheria paniculata</i> (OEEP), <i>Siparuna guianensis</i> (OESG), <i>Matayba guianensis</i> (OEMG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino) .....	59
<b>Tabela 5</b>	Valores de Índice de Seletividade (IS)* para atividade de óleos essenciais de <i>Endlicheria paniculata</i> (OEEP), <i>Siparuna guianensis</i> (OESG), <i>Matayba guianensis</i> (OEMG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano) e 786 (adenocarcinoma renal) .....	61
<b>Tabela 6</b>	Frequências de manchas mutantes de <i>Drosophila melanogaster</i> dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação metabólica (HB) após tratamento crônico em terceiro estágio larval com diferentes concentrações (0,125; 0,25; 0,50 mg/mL) de óleos essenciais de <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) e <i>Siparuna guianensis</i> (OESG) e seus respectivos controles negativo (água ultrapura) e positivo (DXR 0,125 mg/mL) .....	62

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b>	Curva dose-resposta de uma amostra teste .....	48
<b>Gráfico 2</b>	Avaliação da atividade citotóxica com valores de $GI_{50}^*$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) para óleos essenciais de <i>Endlicheria paniculata</i> (OEEP), <i>Siparuna guianensis</i> (OESG), <i>Matayba guianensis</i> (OEMG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino) .....	54
<b>Gráfico 3</b>	Avaliação da atividade citotóxica com valores de TGI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para atividade antiproliferativa de óleos essenciais de <i>Endlicheria paniculata</i> (OEEP), <i>Siparuna guianensis</i> (OESG), <i>Matayba guianensis</i> (OEMG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino) .....	60
<b>Gráfico 4</b>	Frequências de manchas mutantes de <i>D. melanogaster</i> dos cruzamentos padrão (ST) a partir do tratamento com o OE OECC ( <i>C. citratus</i> ) .....	64
<b>Gráfico 5</b>	Frequências de manchas mutantes de <i>D. melanogaster</i> dos cruzamentos de alta bioativação (HB) a partir do tratamento com o OECC ( <i>C. citratus</i> ) .....	65
<b>Gráfico 6</b>	Frequências de manchas mutantes de <i>D. melanogaster</i> dos cruzamentos padrão (ST) a partir do tratamento com o óleo essencial de <i>C. citratus</i> .....	66
<b>Gráfico 7</b>	Frequências de manchas mutantes de <i>D. melanogaster</i> dos cruzamentos de alta bioativação (HB) a partir do tratamento com o óleo essencial de <i>C. citratus</i> .....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS

786-0: Adenocarcinoma renal

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

B16-F10: Melanoma murino

BH: Balanceador heterozigoto (*mwh flr<sup>3+</sup> / mwh<sup>+</sup>* TM 3 Bd<sup>S</sup>)

C5: Cinco carbonos

CC<sub>50</sub>: Células não tumorais

Cl<sub>50</sub>: Células tumorais

DDT: Dicloro Difenil Tricloroetano

DMEM: Meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetilsulfóxido

DXR: Doxorrubicina

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

Flr<sup>3</sup>: Linhagem Flare

GI<sub>50</sub>: Concentração que inibe 50% do crescimento celular

HUVEC: Linhagem de célula endotelial de veia umbilical humana

HB: Cruzamento de alta bioativação

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INQUI: Instituto de Química da UFMS

IS: Índice de Seletividade

LP1: Laboratório de Pesquisa I

LC<sub>50</sub>: Concentração para matar 50% das células

MCF7: Linhagem de adenocarcinoma humano de mama

MG: Manchas gêmeas

MH: Marcador heterozigoto (*mwh flr<sup>3+</sup> / mwh+flr<sup>3</sup>*)

MS: Mato Grosso do Sul

MSP: Manchas simples pequenas

MSG: Manchas simples grandes

Mwh: Linhagem Multiple Wing Hair

NIH-3T3: Linhagem de fibroblasto murino

OE(s): Óleo(s) Essencial(ais)

OECC: Óleo essencial de *Cymbopogon citratus*

OEEP: Óleo essencial de *Endlicheria paniculata*

OEMG: Óleo essencial de *Matayba guianensis*

OESG: Óleo essencial de *Siparuna guianensis*

OMS: Organização Mundial da Saúde

ORR-flr<sup>3</sup>: Linhagem Oregon-R Flare

PBS: Tampão Fosfato Salino

RPMI: Meio de cultura Roswell Park Memorial Institute Medium

SFB: Soro Fetal Bovino

SMART: Ensaio para detecção de Mutação e Recombinação Somática

SRB: Corante Sulforodamina B

ST: Cruzamento padrão

U251: Linhagem de glioblastoma humano

UFMS: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

TCA: Ácido Tricloroacético

TGI: Concentração que inibe 100% do crescimento celular

TM: Manchas totais

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	19
2.1	A flora do cerrado e pantanal .....	19
2.2	Uso de plantas para fins medicinais .....	21
2.3	O câncer e os tratamentos naturais .....	24
2.4	Óleos Essenciais .....	25
2.5	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf ( <b>Capim-limão</b> ) .....	28
2.5.1	<u>Aspectos botânicos</u> .....	28
2.5.2	<u>Aspectos químicos</u> .....	29
2.6	<i>Endlicheria paniculata</i> (Spreng.) J.F. Macbr ( <b>Canela</b> ) .....	30
2.6.1	<u>Aspectos botânicos</u> .....	30
2.6.2	<u>Aspectos químicos</u> .....	32
2.7	<i>Matayba guianensis</i> Aublet ( <b>Cambotá</b> ) .....	33
2.7.1	<u>Aspectos biológicos</u> .....	33
2.7.2	<u>Aspectos químicos</u> .....	34
2.8	<i>Siparuna guianensis</i> Aublet ( <b>Negramina</b> ) .....	35
2.8.1	<u>Aspectos biológicos</u> .....	35
2.8.2	<u>Aspectos químicos</u> .....	37
2.9	Cultura de Células .....	38
2.10	Ensaio de Citotoxicidade .....	39
2.11	Ensaio SMART .....	40
3	OBJETIVOS .....	42
3.1	Objetivo Geral .....	42
3.2	Objetivos Específicos .....	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	43
4.1	Tipologia da pesquisa .....	43
4.2	Coleta e identificação das espécies vegetais .....	43
4.3	Obtenção das amostras de óleos essenciais .....	44
4.4	Triagem da atividade antiproliferativa <i>in vitro</i> .....	45
4.5	Teste de citotoxicidade / atividade antiproliferativa .....	45
4.6	Índice de Seletividade .....	48

4.7	<b>Ensaio para detecção de Mutação e Recombinação Somática – SMART</b> .....	49
4.7.1	<u>Linhagens</u> .....	49
4.7.2	<u>Cruzamento</u> .....	50
4.7.3	<u>Tratamento</u> .....	51
4.7.4	<u>Preparação das lâminas e análise microscópica</u> .....	52
4.8	<b>Análise dos dados</b> .....	52
5	<b>RESULTADOS</b> .....	53
5.1	<b>Avaliação da atividade antiproliferativa <i>in vitro</i></b> .....	53
5.2	<b>Índice de Seletividade</b> .....	60
5.3	<b>Ensaio SMART</b> .....	61
5.3.1	<u>Genotoxicidade – Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC)</u> .....	64
5.3.2	<u>Genotoxicidade – Óleo essencial de <i>Siparuna guianensis</i> (OESG)</u> .....	66
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	68
6.1	<b>Avaliação da atividade antiproliferativa <i>in vitro</i> e seletividade</b> .....	68
6.1.1	<u>Óleo essencial de <i>Endlicheria paniculata</i></u> .....	68
6.1.2	<u>Óleo essencial de <i>Siparuna guianensis</i></u> .....	69
6.1.3	<u>Óleo essencial de <i>Matayba guianensis</i></u> .....	71
6.1.4	<u>Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i></u> .....	72
6.2	<b>Ensaio SMART</b> .....	73
6.2.1	<u>Genotoxicidade – Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (OECC)</u> .....	73
6.2.2	<u>Genotoxicidade – Óleo essencial de <i>Siparuna guianensis</i> (OESG)</u> .....	76
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	79
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	80

## 1 INTRODUÇÃO

Os recursos vegetais disponíveis na natureza, há muito tempo, têm sido aproveitados pelo homem, fornecendo elementos essenciais para a manutenção da vida humana e mesmo de todos os outros organismos e esses recursos podem ser utilizados para as mais diversas finalidades, como alimentação, construção, remédios e ornamentação (FERREIRA, 2020). O Brasil é detentor de rica diversidade cultural e étnica que resultou em um acúmulo de conhecimentos e tecnologias tradicionais, entre os quais se destacam o vasto acervo de conhecimentos sobre manejo e o uso de plantas medicinais (BRASIL, 2016).

O interesse pela descoberta de extratos vegetais com diferentes atividades biológicas tem crescido muito e diante deste contexto, plantas que apresentam atividades biológicas, tais como a atividade anti-inflamatória e antineoplásica, são de grande interesse visto que a presença de radicais livres, por exemplo, está associada a diversos fatores como mutação do DNA, oxidação de proteínas e peroxidação lipídica que contribuem para o desenvolvimento de câncer, diabetes, processos inflamatórios e envelhecimento (MARQUES *et al.*, 2017).

Ferramentas metabolômicas e quimiométricas têm desempenhado papel importante na descoberta de compostos bioativos naturais pela exploração e correlação de perfis metabólicos, ou como estratégias de desreplicação para evitar o reisolamento de compostos conhecidos, o que pode garantir resultados satisfatórios para o tratamento e cura de diversas enfermidades (CORTELO *et al.*, 2021).

Atualmente o Ministério da Saúde incentiva o uso de 71 espécies de plantas no Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro para fins medicinais. Porém, o uso de plantas com finalidade medicinal merece atenção, pois grande parte das pesquisas científicas, se configuram para avaliar o potencial farmacológico e não a toxicidade, sendo que muitas comunidades do Estado de Mato Grosso do Sul fazem uso de espécies na medicina popular como a única forma de tratamento e controle de diversos sintomas (MENDONÇA, 2020).

Para suprir suas necessidades de sobrevivência, muitos habitantes do cerrado e pantanal sul-mato-grossense utilizam diversos vegetais que encontram no seu cotidiano. Ao longo do tempo, isto os levou à descoberta de diversas aplicações alimentares e mesmo de usos terapêuticos destas plantas, além de que tal população tem forte miscigenação e influência indígena, povos estes com grande

importância dentro da pesquisa medicinal (MENEZES, 2020).

Embora o Brasil apresente uma das maiores biodiversidades vegetais do mundo, ao mesmo tempo enfrenta desafios e dificuldades de saúde pública, com a presença de endemias e epidemias graves, como a dengue e leishmaniose. Diversos estudos têm sido realizados para descobrir informações sobre a medicina popular local, bem como a busca por plantas que tenham atividade terapêutica eficaz e que possam ser complementares à medicina moderna (ARGENTA *et al.*, 2011; BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012; MELRO *et al.*, 2020).

Nesta perspectiva, plantas que apresentam atividades biológicas, como antineoplásico, toxicidade e mutagenicidade, são de grande interesse. Segundo Michelin *et al.* (2005), em países emergentes, as doenças relacionam-se com falta de saneamento básico, desnutrição e dificuldade de acesso aos medicamentos, onde os usos etnomedicinais e fitoterápicos são amplamente praticados. Muitas plantas são utilizadas para cunho medicinal, porém poucas têm ação comprovada.

Diante desse cenário, fica evidenciada a importância do estudo de espécies do cerrado e pantanal como novas fontes de compostos bioativos que possam servir como potenciais fármacos na terapêutica de diversas doenças, dentre elas o câncer. Portanto, este trabalho teve por objetivo a avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Endlicheria paniculata* (Spreng.) J.F.Macbr, *Matayba guianensis* Aubl e *Siparuna guianensis* Aubl., espécies típicas do cerrado brasileiro e efeito genotóxico *in vivo* destes óleos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

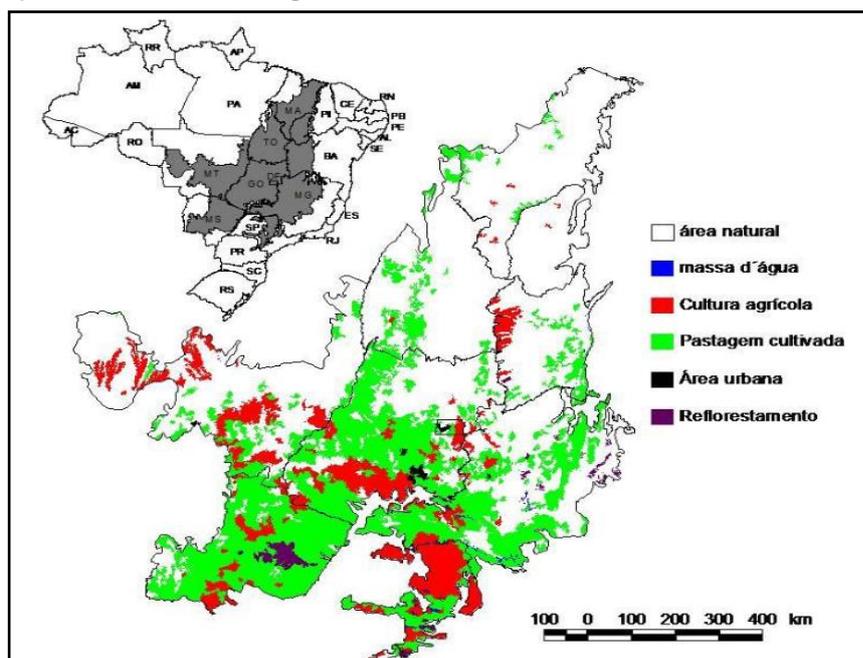
### 2.1 A flora do cerrado e pantanal

O Brasil apresenta rica paisagem natural em seus seis biomas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, sendo o Cerrado o segundo maior bioma, com vasta diversidade de plantas (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2014). Com um clima seco e com chuvas sazonais, o bioma apresenta vegetação de terras altas com solos profundos e com ótima drenagem, onde plantas são adaptadas a essas características, desenvolvendo assim uma produção efetiva de metabólitos secundários que realizam proteção contra herbívoras e patógenos (ROSA, 2021).

No território brasileiro existe uma enorme variedade de plantas. São mais de 46.000 espécies conhecidas de vegetais espalhadas pelos biomas (BRASIL, 2020).

O Cerrado é conhecido como savana brasileira por apresentar uma rica e vasta diversidade química e biológica com a presença de espécies de plantas e microrganismos que podem suportar ambientes extremos como as temperaturas elevadas e pouca presença de água pelo maior período do tempo e sua maior parte localizada principalmente na região central do país (Figura 1) (DANTAS, 2021).

**Figura 1:** Mapa de cobertura vegetal do Cerrado.

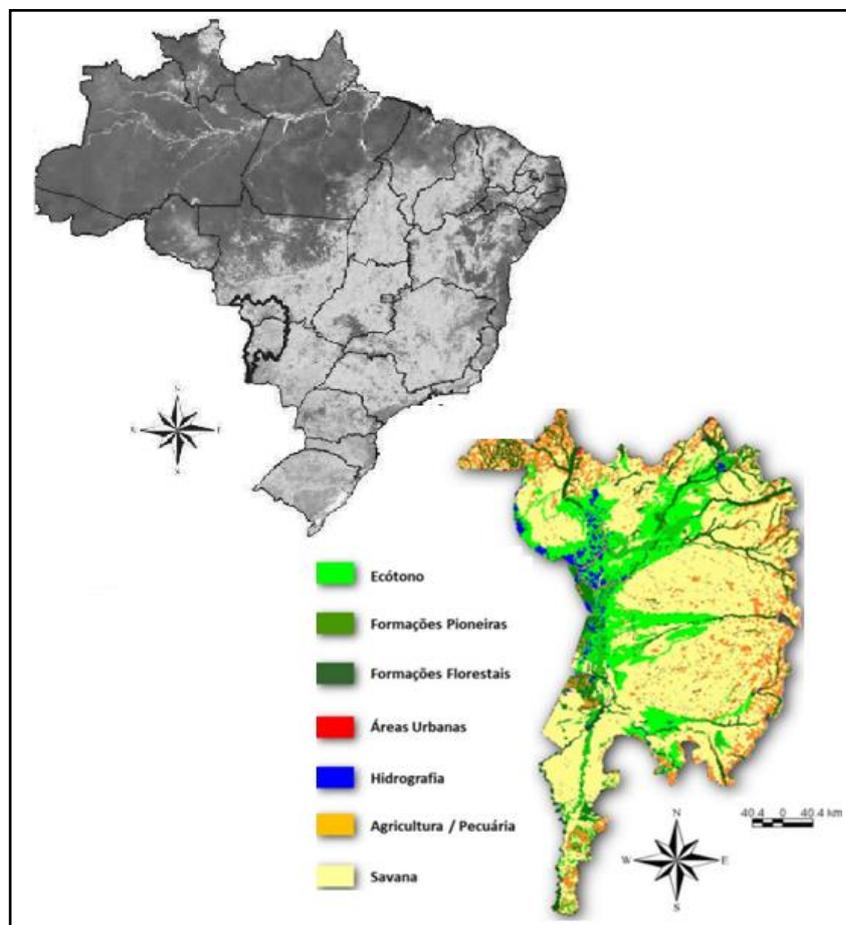


Fonte: EMBRAPA, 2022.

O cerrado apresenta uma vasta quantidade no número de espécie de plantas que se aproxima de 7.000, onde dessas aproximadamente 4.400 são endêmicas apresentando características medicinais, comestíveis e diversas outras finalidades que apresentam como matérias-primas, que contém diferentes fisionomias como as veredas (florestas de palmeiras), os cerradões (floresta de savana), as florestas secas, campos rupestres (campos rochosos de altitude) e áreas abertas com diferentes árvores que variam com as de campo limpo com apenas uma camada herbácea, explicando assim a biodiversidade local (ANTAR; SANO, 2019).

O Pantanal dispõe de dois terços de sua área de abrangência no Brasil, também distribuído entre a Bolívia e o Paraguai e devido a sua localização fitogeográfica apresenta quatro características diferentes de domínio de vegetação como a “floresta amazônica (noroeste), a savana tropical do Cerrado (leste), a savana estépica do Chaco (sudoeste) e a Mata Atlântica” Figura 2 (POTT; POTT, 2004)

**Figura 2:** Mapa de uso e cobertura da terra para o Bioma Pantanal.



**Fonte:** Adaptado de Pereira; Cháves; Silva, 2012.

O Pantanal apresenta ainda características únicas e que faz diferenciar de outros biomas devido a sua grande área úmida de água doce, sendo essa uma das maiores do planeta, além de evidenciar vasta importância na biodiversidade e paisagens naturais, destacando assim sua importância no cenário internacional, conforme (MIRANDA; PARANHO FILHO, POTT, 2018).

Esse bioma apresenta várias moléculas bioativas que foram identificadas no decorrer dos anos sendo fundamentais para diferentes estudos, apontando assim para grandes descobertas, mas devido a sua biodiversidade rica, o Pantanal ainda carece de investigações mais detalhadas onde parte dessa flora se encontra inexplorada podendo assim apresentar grandes riquezas promissoras a fim de corroborar com estudos e evidências que possam vir a desenvolver potenciais medicinais além de comprovar os já utilizados por comunidades locais (DE JESUS, 2020a).

## **2.2 Uso de plantas para fins medicinais**

O uso de plantas medicinais na cura ou alívio de doenças, que para muitos poderia parecer misticismo, feitiçaria ou folclore, torna-se hoje objeto de pesquisas científicas com validade comprovada diante da fitoquímica e da farmacologia. Plantas medicinais são definidas, desta forma, como toda e qualquer tipo de planta que apresente características que visem o benefício daquele que a utiliza para se prevenir, recuperar e combater algo que seja maléfico ao organismo humano (LIMA; PIRES; VIEIRA, 2014).

A utilização de espécies vegetais com fins medicinais tem uma grande importância para o desenvolvimento de novos e modernos fármacos que possam contribuir para o aumento de alternativas eficazes para tratamentos terapêuticos (BRASIL, 2016).

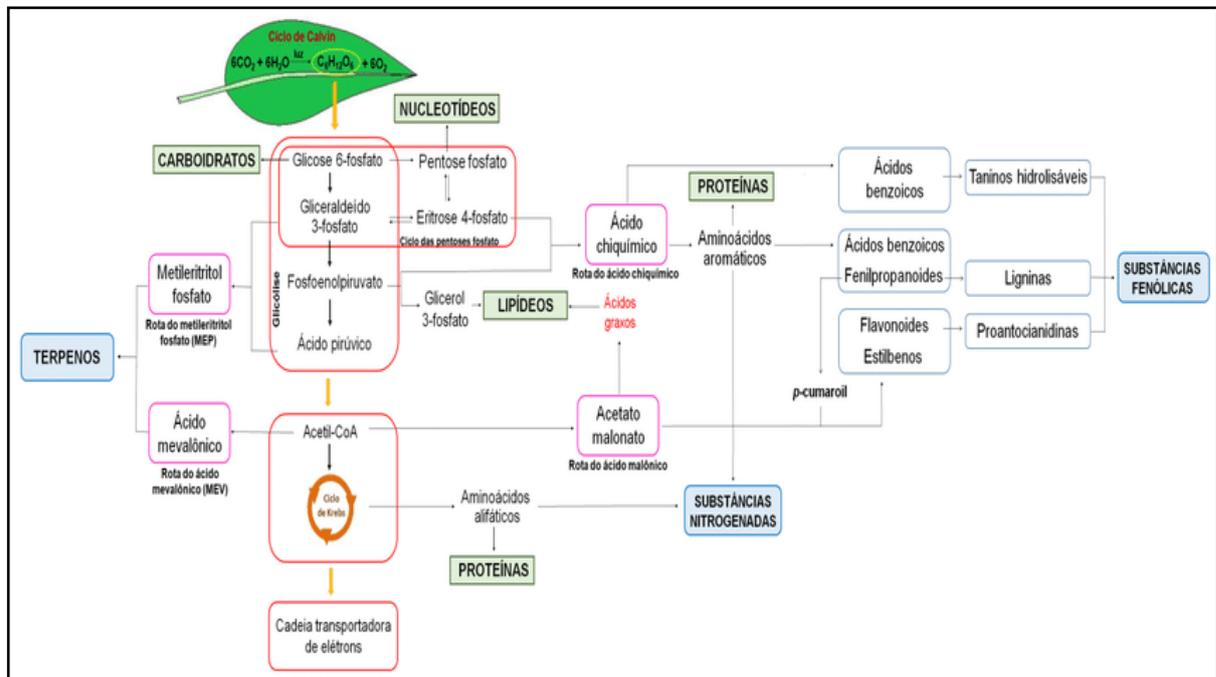
É de grande importância sua utilização não somente como fins terapêuticos, mas também como base de matérias-primas para o desenvolvimento de outros tipos de compostos farmacológicos em grande potencial (BRASIL, 2016).

Para Dluzniewski e Müller (2018) os princípios ativos que são encontrados nas plantas medicinais, que apresentam compostos químicos secundários sintetizados por estas plantas, podem vir a apresentar ação farmacológica em

animais e humanos que visam minimizar doenças e que essa utilização dependerá da dosagem utilizada, forma de preparo e outros fatores para resultar em respostas positivas.

Em relação a estas substâncias secundárias sintetizadas pelos vegetais (Figura 3), estas podem estar concentradas nas raízes, rizomas, ramos, caules, folhas, sementes ou flores que garantem a sobrevivência da planta, apresentando função protetora contra predadores e doenças, atração de polinizadores, dentre outras funções (DLUZNIEWSKI; MÜLLER, 2018).

**Figura 3:** Esquema de metabolismo secundário dos vegetais.



**Fonte:** Coutinho Neto *et al.*, 2017.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define como planta fitoterápica, todo vegetal que apresente ação comprovada contra patologias, vegetais que apresentem possibilidade de precursores de fármacos semissintéticos e que não apresentem risco na sua utilização (ZARDETO-SABEC, 2019).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2014), são considerados remédios tradicionais fitoterápicos aqueles que são extraídos ou transformados em produtos cujo a matéria-prima seja de vegetais que apresentem níveis de uso adequado e seguro comprovado por meio de pesquisas científicas que foram publicadas onde não necessariamente sejam prescritos por profissional

médico para utilização terapêutica pelo paciente, bem como monitoramento de sua utilização.

Nesta mesma perspectiva, Zeni (2017) aponta que as plantas utilizadas para fins terapêuticos sem um acompanhamento médico são um potencial agravante para saúde daquele que deste produto faz uso, onde interações entre plantas possam ser prejudiciais ao ser associadas a utilização de medicamentos, além da possibilidade de alterações em exames de cunho laboratoriais.

No decorrer da história muitas foram as tecnologias e avanços científicos criados pelo homem, bem como a degradação do meio natural em busca por esses avanços, dessa forma a medicina popular praticada por várias culturas sofreram alterações e muitas vezes podem não existir mais. Todo esse processo contribui para modificações que surgiram dentro de culturas, mudando assim hábitos e costumes, colocando assim em risco diversos conhecimentos em torno da utilização de plantas naturais como resposta a agravos de saúde muito praticada pelas populações (NETO, 2014).

A utilização de meios naturais realça e preserva a cultura de determinado local, apresenta crescente desenvolvimento socioeconômico e contribui para preservação ambiental, salientando a natureza como uma responsabilidade de preservação e cuidado um dever de todos, visto a sua importância imensurável. Ao ser utilizada por povos que a valorizam, essa preservação se torna eficaz, pois eles dependem de sua boa conservação e que ela produza para lhes dar um retorno em diferentes aspectos (PRADO, 2019).

A prática da medicina tradicional no país, especificamente no Cerrado de Mato Grosso do Sul, ocorre sob forte influência de diferentes comunidades tradicionais (pantaneiros, quilombolas, pescadores, indígenas, agricultores familiares e raizeiros) a fim de buscarem, além de sua subsistência, tratamentos anti-inflamatórios, anti-helmínticos, e cura de enfermidades como dores abdominais, cânceres e outras (ESPÍRITO SANTO; PASA; ARRIEL, 2022).

Dessa forma, a utilização de espécies botânicas com importância medicinal se torna popular nessas regiões, como é o caso das famílias Poaceae (*Oryza glumaepatula*, *Cymbopogon martinii*), Sapindaceae (*Melicoccus lepidopetalus*, *Cardiospermum corindum*), Lauraceae (*Ocotea pretiosa*, *Laurus nobilis*) e Siparunaceae (*Siparuna monogyna*, *Siparuna glycyarpa*) (POTT; POTT; SOBRINHO, 2004; NETO; MORAIS, 2003; RENNEN, HAUSNER, 1997).

### 2.3 O câncer e os tratamentos naturais

De acordo com o INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA (2020), o câncer abrange mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas que evidencia características em comum a proliferação celular, que invadem diferentes tipos de tecidos, podendo assim se espalhar nos diferentes órgãos e as variações de tipologia de canceres se dá em decorrência das diferentes células existente.

Essa patologia é a principal causa de morte e grande índice de morbidade em vários países, destacando-se o câncer de pulmão (2,1 milhões) seguido pelo câncer de mama (2,1 milhões), cólon e reto (1,8 milhão) e próstata (1,3 milhão) (BERANGER *et al.*, 2022).

Para Mello (2021), no ano 2030, segundo dados da OMS estima-se que o câncer vai alcançar, em todo o mundo, aproximadamente, 27 milhões de novos casos. No Brasil, não diferente, dados apontam para uma incidência de 580 mil novos casos até a data.

Como possibilidade para o tratamento do câncer, os produtos fitoterápicos se apresentam com grandes potenciais farmacológicos na cultura popular, desenvolvendo aspectos para utilização com fim terapêutico, porém, estudos pré-clínicos e clínicos devem ser sempre a primeira opção para a análise das possíveis substâncias ativas de cada planta dita “medicinal”, para que a identificação das semelhanças entre os compostos presentes nos medicamentos convencionais, garantindo a proteção contra possíveis reações adversas (BONOW *et al.*, 2020; CORTELO *et al.*, 2021).

No estado do Mato Grosso do Sul (MS) podemos encontrar diversas espécies vegetais importantes para o combate ao câncer. Há descrições de plantas utilizadas para tratamento popular contra tumores que foram passados de geração em geração pelas diferentes culturas (OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014).

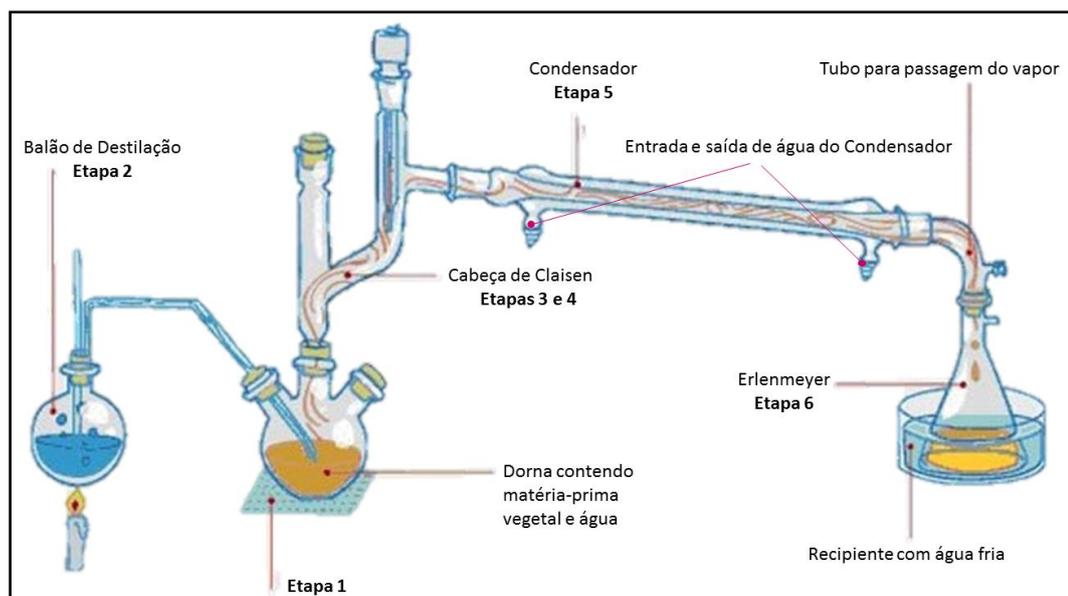
Dentre as espécies encontradas no Estado é possível a citação da negramina (*Siparuna guianensis*), da canela (*Endlicheria paniculata*), do camboatá (*Matayba guianensis*) e do capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*). Espécies essas que apresentam efeitos terapêuticos conhecidos na medicina popular, no qual vêm sendo relatados em estudos desenvolvidos ao longo dos anos. Apesar disso, os potenciais terapêuticos de muitas plantas medicinais ainda são pouco conhecidos, justificando a necessidade de pesquisas (SANTANA, 2015).

## 2.4 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são caracterizados como uma mistura de substâncias complexas extraídas de um espécime vegetal que apresenta diversas propriedades. Surge como uma alternativa para o controle de doenças, possibilitando assim à conservação do meio ambiente e a possibilidade de produtos de maior qualidade no mercado (SILVA *et al.*, 2017).

Desde a década de 30 havia relatos da utilização de OEs, onde o médico Godissart realizava atendimento com aromaterapia clínica em que, através da utilização compostos a base de OEs, tratava úlceras, cânceres de pele, necrose tecidual e outras infecções de pele, cuja extração era através da hidrodestilação (Figura 4) (BRITO *et al.*, 2013).

**Figura 4:** Processo de extração de óleo essencial por hidrodestilação.



**Fonte:** Sereno, 2015.

São formados por diferentes compostos que se apresentam na literatura em diferentes classes como monoterpenos, sesquiterpenos, além de derivados oxigenados que são alteráveis em decorrência do clima onde localiza a planta, composição do solo, forma de extração, ciclo vegetativo, entre outros (LIMA *et al.*, 2019). São utilizados como opção alternativa contra fitopatógenos para o controle de doenças fúngicas, bacterianas em plantas (SILVA *et al.*, 2017).

Porém, estes compostos apresentam uma complexidade para estabelecimento dessas substâncias ativas como sua volatilização, oxidação e armazenamento, o que dificulta sua conservação (MACEDO *et al.*, 2019).

A composição química dos OEs voláteis pode variar entre as partes vegetais coletadas ou até mesmo entre as espécies pois, tanto o local de cultivo, condições de coleta, estabilização e estocagem, além dos fatores edafoclimáticos podem garantir alterações na qualidade dos óleos (MIRANDA *et al.*, 2016).

Além do potencial fitopatogênico, esses metabólitos secundários apresentam características medicinais descrita como potenciais antimicrobianos relacionado aos alimentos (LIMA *et al.*, 2019). Plantas de caráter medicinal tem sido praticada em todo mundo a milhares de anos, onde os OEs se destacam pelas propriedades farmacológicas contra diversos tipos de doenças, sendo metabólito promissor para desenvolvimento de novas drogas (TELES *et al.*, 2020), e na variedade de atividades biológicas com atividade anticancerígenas, antioxidantes, anti-inflamatórias e antibacterianas (OUAKOUAK *et al.*, 2021).

Segundo Yasir *et al.* (2022), parte dos OEs participam da fermentação de alimentos controlando crescimento de microrganismos em decorrência de mecanismos bactericidas com interações hidrofóbicas com estes, coagulação de proteína de membrana e desconstituição do potencial de membrana ocasionando morte célula. Seus principais constituintes são derivados terpênicos, como os fenilpropanoides e os mono e sesquiterpenos.

Para Costa *et al.* (2017), a utilização de OEs está associada à sua composição química que frequentemente são reportados em estudos como “ricas fontes de constituintes de natureza fenólica como importantes recursos etnofarmacológicos para tratar diversas doenças”.

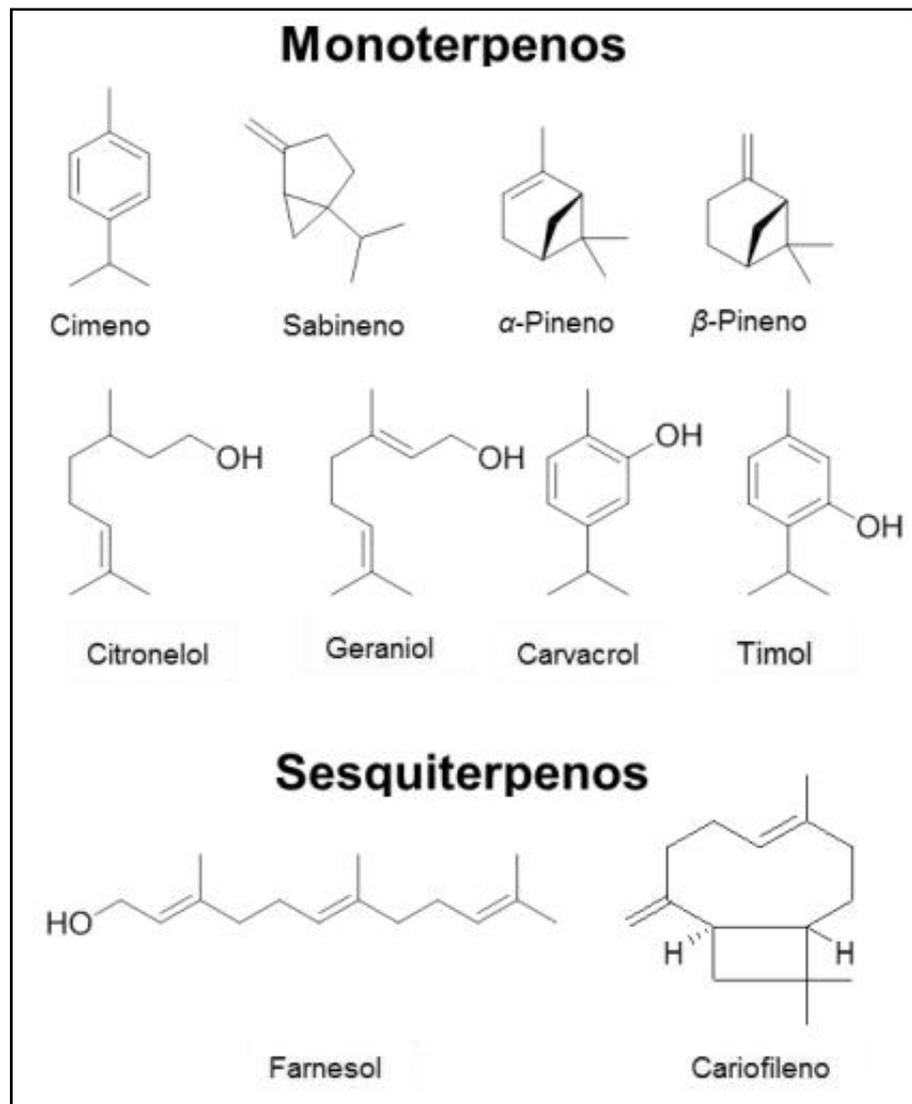
Em seu estudo, De Sá *et al.* (2021) trazem que o geraniol é um álcool monoterpênico acíclico comumente encontrado em OEs, exercendo amplo espectro de atividades farmacológicas, como atividades antiulcerativa, anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral, demonstrando inibir significativamente o crescimento na linhagem celular de câncer de cólon.

O Brasil é um importante produtor e comercializador de OEs para o mundo há décadas e, segundo Bizzo e Rezende (2022), os OEs de diversas espécies já foram exportados no decorrer desses anos como, por exemplo, as espécies nativas de pau-rosa, sassafrás e as exóticas, menta, laranja e eucalipto.

Devido a esse protagonismo, o Cerrado se apresenta como um bioma importantíssimo para aquisição de OEs, visto que apresenta diversas plantas com características aromáticas e compostos promissores para pesquisa, visto que essa aquisição se dá por meio de suas raízes, cascas, folhas, frutos, sementes e grânulos (RODRIGUES *et al.*, 2022).

Os OEs se diferem dos óleos fixos por possuírem triacilglicerídeos onde destaca-se os terpenos que possuem classes estruturais e funcional diferentes produzidos com base de cinco carbonos (C5) e os fenilpropanóides (BORGES; AMORIM, 2020). Sua representação se dá pela Figura 5, onde apresenta a constituição da maioria dos OEs.

**Figura 5:** Variedade de terpenos constituintes de óleos essenciais.



Fonte: Diniz, 2014.

## 2.5 *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (**Capim-limão**)

### 2.5.1 Aspectos botânicos

Conhecida popularmente como capim-limão ou erva-cidreira, pertencente à família Poaceae, a planta se apresenta como uma erva perene encontrada em muitas regiões do mundo. No gênero *Cymbopogon* está incluso mais de 30 espécies de gramíneas (FARIAS *et al.*, 2019).

Nativa da Ásia, se espalhou em todo mundo e se apresenta em maior quantidade em regiões tropicais e savana. Forma densas touceiras de até 3 m de altura, rizomas curtos, folhas eretas, glabros planos mais de 1 m de comprimento, 5 - 15mm face superior larga e mais branca de 4 – 5 mm de comprimento (NEGRELLE; GOMES, 2007) (Figura 6).

**Figura 6:** *Cymbopogon citratus*.



**Fonte:** Rumphius, 2022.

O gênero *Cymbopogon* inclui cerca de 30 espécies de gramíneas perenes aromáticas, sendo a maioria destas nativas da região tropical do Velho Mundo. Originária da Índia, ocorre em todo Brasil, à beira de estradas ou cultivada, adaptando-se muito bem ao clima quente (GOMES; NEGRELLE, 2003).

As principais indicações da planta para a cultura medicinal são analgésicas, antiespasmódica, antidispéptica, hipotensora, antigripal, analgésica, ansiolítica, antimicrobiana, anti-inflamatória e antiproliferativa de células tumorais (FERRO;

PEREIRA, 2018; SILVA *et al.*, 2019), calmante, inseticida, analgésico, antitérmico e antisséptico e isso se dá em decorrência de sua estruturação química que apresenta ácidos fenólicos, flavonoides e alcaloides (SÁ FILHO, 2022).

Estudos recentes apontam atividade antitumoral dos extratos contra carcinomas de próstata, fígado, ovário, cólon e mama (ASSUMPÇÃO; CARVALHO; FERNANDES, 2022; DOLGHI *et al.*, 2021; FEITOZA; TERRA; GRASSELLI, 2021) e OEs em outros estudos apresentam atividade citotóxica contra diferentes linhagens celulares de gliomas, câncer de pulmão, fígado (LOMBREA *et al.*, 2020; TRANG *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2022).

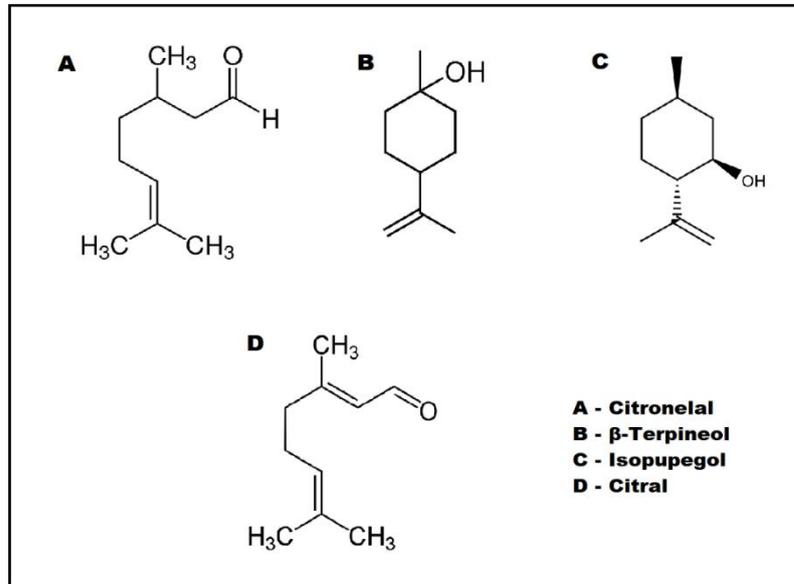
Utilizada na medicina tradicional e como em vários meios de preparo alimentares e cosméticos, se caracteriza pelo aroma agradável marcante (FARIAS *et al.*, 2019). Seu óleo volátil é obtido a partir de suas folhas e utilizada em fusão para o tratamento de alterações do sistema nervoso e utilizada também contra algumas patologias como o sorotipo 1 do vírus da dengue, sarampo, *Herpes simplex*, vírus da hepatite A e norovírus murino (CHIAMENTI *et al.*, 2019).

### 2.5.2 Aspectos químicos

A planta produz metabólitos (OEs), que podem inibir ou retardar o desenvolvimento celular, bem como do crescimento de microrganismos. Essas propriedades “tornam *C. citratus* uma espécie potencialmente benéfica para uso na área de cuidados da saúde” (DOMINGUES; PAIVA, 2021). A análise fitoquímica de várias partes vegetais mostra a presença de compostos principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, sendo produzidos como metabólitos secundários e conhecidos por suas propriedades medicinais (DE LIMA *et al.*, 2019)

A literatura apresenta 18 constituintes para o capim-limão, se destacando o citronelal,  $\beta$ -terpineol e isopulegol, presentes em folhas secas (OLIVEIRA *et al.*, 2017), sendo o citral característico deste óleo, corroborando assim suas atividades biológicas antibacteriana, antioxidante, antifúngica, antinociceptivo periférico e central, sedativo e anti-herpético contra HSV-1 (ALMEIDA *et al.*, 2018) (Figura 7), muito utilizado na medicina popular através de abafamento de folhas secas por possuir indicações medicinais, além da descoberta de que seu OE possui potencial efeito sobre células leucêmicas (GOMES; NEGRELLE, 2003).

**Figura 7:** Compostos químicos de maior destaque de *Cymbopogon citratus*.



Fonte: Merck, 2022.

A composição química dos OEs sofre variações em decorrência das diferenças geográficas, porém estudos revelam que alguns componentes se mostram inalterados como hidrocarbonetos terpenos, álcoois, cetonas, ésteres e principalmente aldeídos (FELIPE; BICAS, 2017).

Existe ainda uma variação na quantidade de OE obtido da folha entre 0,28 a 1,4%, onde o valor máximo registrado foi de 3,0% obtido por hidrodestilação das folhas secas. Além disso, nos isolados e substâncias identificadas nas folhas e raízes do capim-limão, existem alcaloides, saponinas, (âsistosterol, terpenos, álcoois, cetonas, flavonoides, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e açúcares (NEGRELLE; GOMES, 2007).

## 2.6 *Endlicheria paniculata* (Spreng.) J.F. Macbr (**Canela**)

### 2.6.1 Aspectos botânicos

A família Lauraceae apresentam várias características importantes para sociedade como na construção civil, marcenaria, perfumaria e na utilização popular e conforme apontam estudos, uma grande variedade de atividades biológicas, como

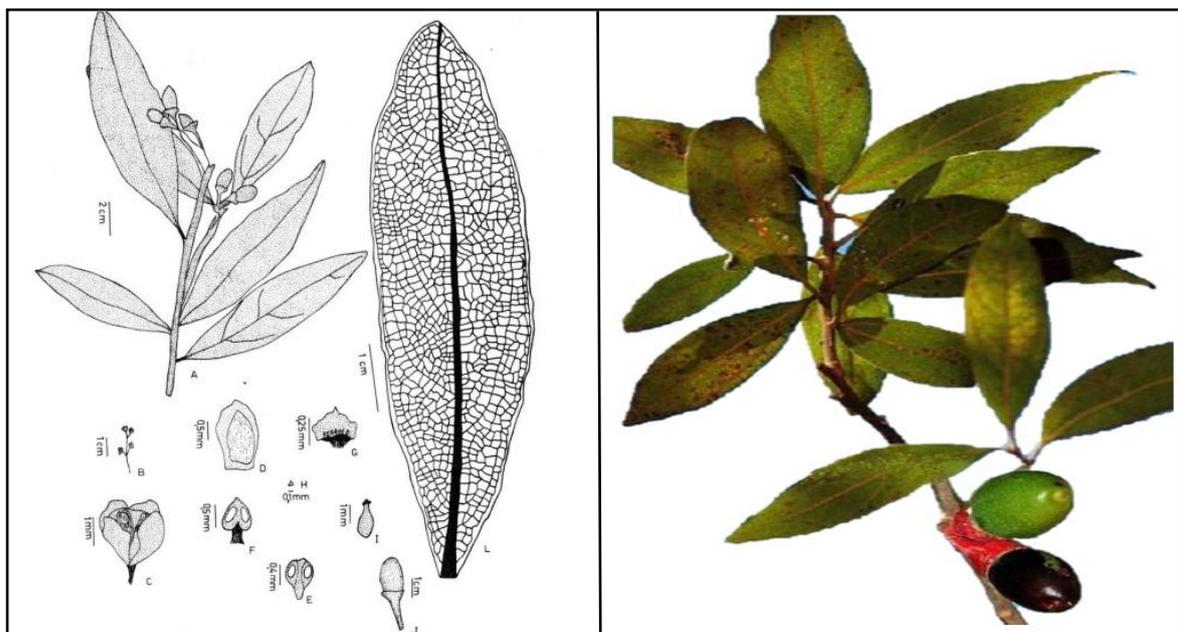
atividades antitumorais, citotoxicidade e antibacteriana (FILHO; FERNANDES; ASSIS, 2015).

Nesta família destaca-se cerca de 50 gêneros e 2500 espécies, sendo 22 gêneros e cerca de 400 espécies ocorrendo no país. Apresenta características complexas sendo assim difícil sua taxonomia por ter um alto número de espécies, necessitando de técnicas específicas para realização desta identificação (SOUZA; LORENZI, 2008).

O gênero *Endlicheria* está localizado em um espaço conhecido como neotropical localizado na América do Sul que se estende desde a Costa Rica até o extremo sul das florestas costeiras do atlântico sudeste do Brasil (CHANDERBALI, 2004).

De acordo com Alcântara *et al.* (2010), a *E. paniculata* é conhecida popularmente como “canela”, “canela-cheirosa”, “canela-do-brejo”, “canela-frade”, “canela-peluda”, “canela-sebo”, “canelão” e “canelinha”, a espécie tem hábito arbóreo, com altura variando de 3 a 10 metros, com folhas simples, filotaxia alterna com margens do limbo inteira e suas nervuras visíveis e apresenta cheiro característico (Figura 8).

**Figura 8:** *Endlicheria paniculata*.



Fonte: Rumphius, 2022.

Apresenta-se distribuída por todo país com características polimórficas de importância da família Lauraceae, família esta que são importantes para produção de OEs que apresentam grande interesse comercial, mas com baixo número de estudos químicos e farmacológicos (ALCÂNTARA *et al.*, 2010).

Apresenta inflorescência entre os meses de junho a novembro e de janeiro a fevereiro, de forma axilar, onde as masculinas são maiores em comparado com as flores femininas com pétalas estreitas. Seus frutos possuem forma epilítica, com cúpula vermelha que contrasta com fruto negro que atrai aos pássaros (WANDERLEY *et al.*, 2003).

Estudos recentes revelam que a prospecção fitoquímica resultou em uma diversidade de metabólitos especializados (secundários), como fenólicos, terpenos, esteroides, além de apresentar neolignanas e esteroides nos extratos em hexano, onde apresenta grande potencial de angiogênese e reparo tecidual (SOUZA, 2020).

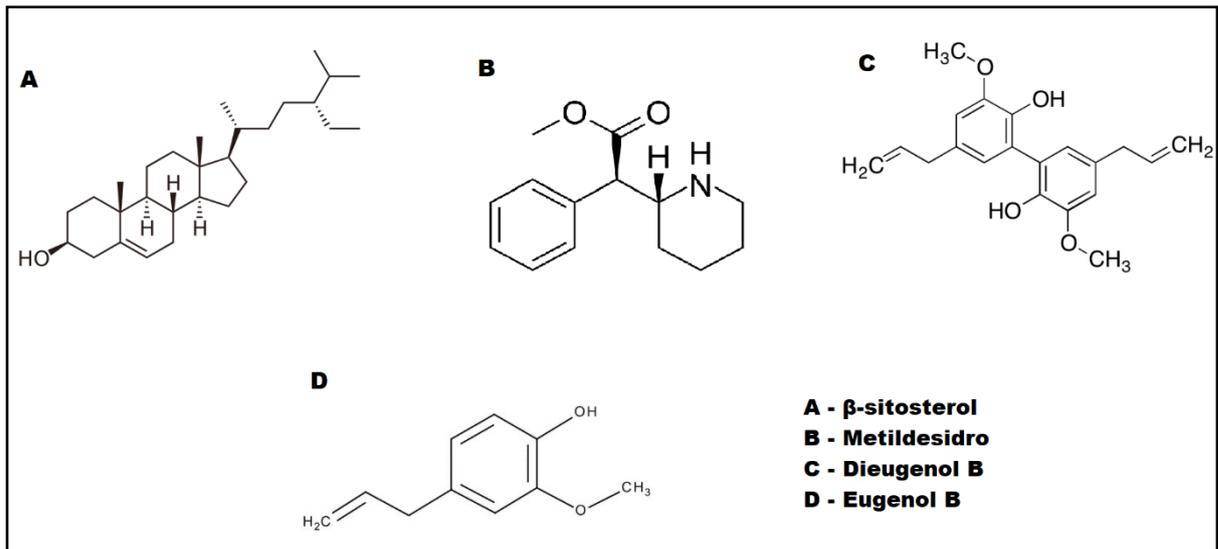
#### 2.6.2 Aspectos químicos

Compostos fenólicos foram encontrados na espécie através de testes histoquímicos e, a partir de teste com Sudan IV (corante para moléculas lipílicas), uma grande quantidade de células com lipídios também foram identificadas, bem como substâncias pécicas pelo teste de Vermelho de Rutênio (GONÇALVES; PINHEIRO; MARTINS, 2013).

Em outro estudo com folhas de *E. paniculata*, identificou-se três compostos distintos, sendo isolado o  $\beta$ -sitosterol, metildesidro, dieugenol B e o eugenol B (Figura 9), sendo então duas neolignanas e um fitoesterol (MACIEL *et al.*, 2002) sendo corroborado por estudos realizados por SOUZA (2021) que encontrou os mesmos compostos e isolou e identificou o estigmasterol, o canferol e o ácido palmítico.

Extratos dos galhos desta planta também foram avaliados em relação a composição química e o potencial biológico. A prospecção fitoquímica demonstrou resultados positivos para diversos metabólitos secundários (esteroides, terpenos e fenólicos) e a identificação de 19 outros compostos (ácidos graxos, ésteres, neolignanas, fenilpropanoides, sesquiterpenos e esteroides), observando que o vegetal acumula neolignanas e esteroides, preferencialmente (SOUZA, 2021).

**Figura 9:** Compostos químicos de maior destaque de *Endlicheria paniculata*.



Fonte: Merck, 2022.

## 2.7 *Matayba guianensis* Aublet (Cambot)

### 2.7.1 Aspectos biológicos

Pertence à família Sapindaceae, ordem Sapindales, ocorrendo em mais de 25 gneros e 411 espécies no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2005).

O gênero *Matayba* ocorre em grande parte da américa desde o México até o norte da Argentina, com 31 espécies, sendo 17 endêmicas; no Brasil, se encontra em diversas formações vegetacionais (BAO; LIMA; LUZ, 2014).

A *M. guianensis*  encontrada no cerrado e apresenta tanto porte arbustivo como arbóreo (SOUZA; LORENZI, 2005). Em sua inflorescência se destacam o indumento de ambas as faces das sépalas e pétalas de ápice obtuso, arredondado ou raramente agudo, pubescentes na face abaxial, glabras na face adaxial e margem ciliada, características essas que a diferenciam de outras espécies. Seus frutos variam conforme tamanho e densidade e se apresentam com tricomas curtos e no endocarpo estes são longos e entrelaçados (BAO; LIMA; LUZ, 2014; COELHO, 2017).

Suas folhas são dispersas em todo o seu ramo, medindo: 1,1-6,1 cm compr., pecíolo (sub)cilíndrico, subglabro a pubescente; raque 1,-21,5 cm compr.,

(sub)cilíndrica, bicanaliculada ou levemente costada, subglabra a pubescente congestas na porção distal do caule, apresenta folículos alternos ou subopostos, cilíndricos a clavados e esparsamente pubescentes (COELHO, 2017) (Figura 10).

**Figura 10:** *Matayba guianensis*.



Fonte: Rumphius, 2022.

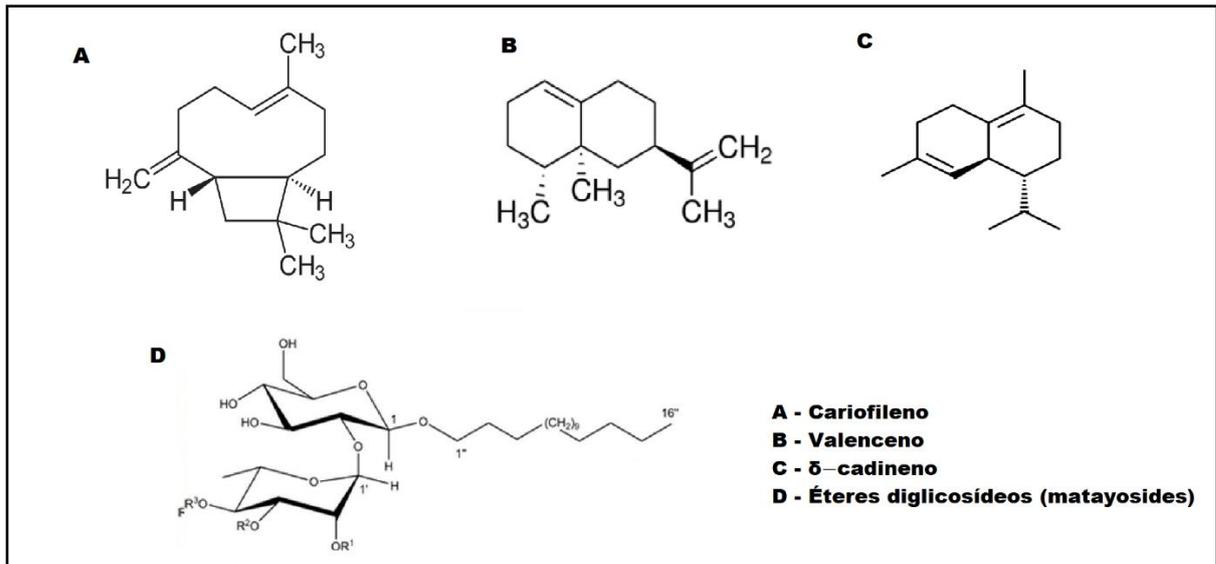
Esta espécie é de grande importância biológica, porém apresenta baixo crescimento ocasionando atraso em sua utilização, pois serve de alimento para diferentes espécies de formigas, utilizadas pelas abelhas e com grande arilo nas sementes (BAO; LIMA; LUZ, 2014).

### 2.7.2 Aspectos químicos

Segundo estudos realizados através de isolamento em folhas, a *Matayba* apresenta 28 componentes, a maioria do tipo sesquiterpênico, e com predominância de hidrocarbonetos sesquiterpenos, como biciclogermacreno (antifúngico), germacreno (auxílio na polinização) D e  $\beta$ -cariofileno, valenceno e  $\delta$ -cadineno (todos com efeitos anti-inflamatório e antioxidante) (XAVIER *et al.*, 2016; DE JESUS *et al.*, 2020b). A presença de éteres diglicosídeos chamados de Matayosides com atividades anticâncer, antimicrobiana, anti-inflamatória, também foram identificados em espécimes de *M. guianensis* (DE ASSIS *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2021),

bem como um sólido amorfo, com mistura de triterpenóides lupeol (ME-2) (agente supressor de glioma) e  $\alpha$ -amirina (ME-3) e  $\beta$ -amirina (ME-4), com propriedades analgésicas e antifúngicas isolados de suas raízes (PUAPAIROJ *et al.*, 2005; SOLDI, 2007;) (Figura 11).

**Figura 11:** Compostos químicos de maior destaque de *Matayba guianensis*.



Fonte: Merck, 2022.

A espécie *M. guianensis* apresenta grande interesse ecológico, uma vez que são utilizadas para reflorestamento de áreas degradadas e uma importante fonte de aleloquímicos como taninos, flavonas, xantonas, chalconas, auronas, flavonóis, leucoantocianidinas e catequinas, exercendo atividade necrosante em estruturas vegetativas de outras espécies vegetais que se desenvolvem próximas a ela (NASCIMENTO *et al.*, 2022).

## 2.8 *Siparuna guianensis* Aublet (Negramina)

### 2.8.1 Aspectos biológicos

Da família Siparunaceae, o gênero *Siparuna* consiste em espécies de arbustos e arvoretas, onde 15 espécies são arbóreas com variação de 20 a 40 metros de altura, com troncos com diâmetros maiores que 120 cm, ocorrendo

principalmente na Amazônia (RENNER; HAUSNER, 2005). A *Siparuna* é muito presente no hemisfério sul, amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais da América, com diversas espécies compondo a “medicina tradicional indígena dessas regiões” (SANTANA, 2015). Apesar do número de espécies classificadas neste gênero, as pesquisas químicas e biológicas são reduzidas.

O gênero contém aproximadamente 70 espécies, ocorrendo na Amazônia brasileira, estando representada por 9 espécies (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2020). Muito conhecida popularmente, é utilizada na medicina popular como anti-inflamatório, inseticidas, contra herpes, reumatismo e diferentes enfermidades, porém com escassos estudos anticâncer (VALENTINI; RODRIGUEZ-ORTIZ; COELHO, 2010).

As folhas são usadas para dor de cabeça e reumatismo e alguns extratos são usados como inseticida. Apresentam pequeno porte, variando entre 1 e 5 metros, galhos espalhados, pouca copa. Suas folhas são simples, 20 cm, com aspecto liso, em pares alinhados, onde essas folhas apresentam cheiro forte, pecíolos de 0,5 a 1,5 cm de comprimento. Suas flores são pequenas, de coloração branca, se portando em cachos. Seus frutos são pequenos e redondos, se portando em cachos junto a base da folha (Figura 12). Ao amadurecerem ficam arroxeados e expõem sua polpa branca com suas sementes (VALENTINI; RODRIGUEZ-ORTIZ; COELHO, 2010).

**Figura 12:** *Siparuna guianensis*.



Fonte: Rumphius, 2022.

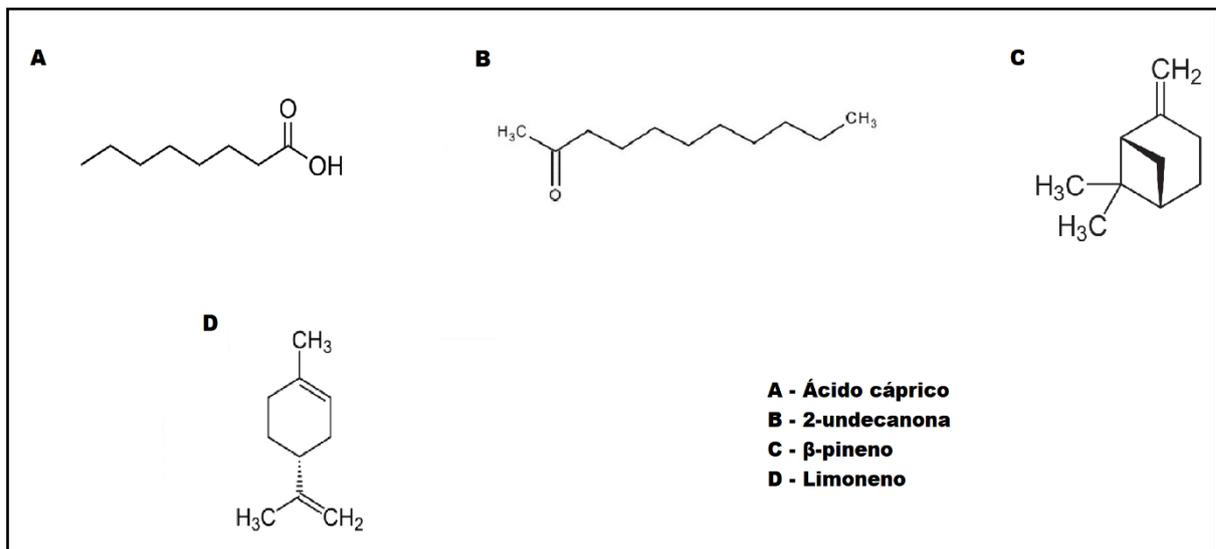
### 2.8.2 Aspectos químicos

Quanto ao perfil fitoquímico, observou-se existência de 55 terpenóides, 12 alcalóides e 8 compostos fenólicos que podem ser substâncias promissoras para estudar as possíveis aplicações de alguns de seus componentes como anticâncer (PORTELLA *et al.*, 2014).

Estudos realizados por Valentini; Rodriguez-Ortiz e Coelho (2010) apresentam que sua composição de óleos das folhas frescas e secas, do caule e frutos, alteram em cada país, até mesmo entre diferentes regiões geográficas no mesmo país, e dentro da mesma região apresentando em comum o ácido cáprico (46,6%) e o 2-undecanona (31,7%).

O óleo da fruta consiste principalmente de 2-undecanona,  $\beta$ -pineno e limoneno (FIGURA 13), contabilizando quase 65% dos constituintes e em espécies colhidas no cerrado apresentaram mais concentrações de metilcetonas e ácidos graxos (VALENTINI; RODRIGUEZ-ORTIZ; COELHO, 2010).

**Figura 13:** Compostos químicos de maior destaque de *Siparuna guianensis*.



Fonte: Merck, 2022.

Segundo Rover (2006), a espécie ainda apresenta saponinas, alcaloides, flavonas, flavonóis, xantonas, taninos, fenóis, catequinas, depsídeos, depsidonas, cumarinas, esteroides, triterpenóides e azulenos em suas folhas, e o OE apresenta  $\alpha$ -terpinoleno,  $\alpha$ -bisabolol, curzerenona, espatulenol, o  $\beta$ -mirceno, germacreno-D e o biciclogermacreno.

## 2.9 Cultura de Células

Utilizado para manutenção das células vivas, o cultivo de células dispõe da conservação de células em laboratório a fim de se realizar estudos (*in vitro*) mantendo-as em condições parecidas com ao do organismo originário em placas ou frascos de caráter estéreis para formulação de experimentos (FRESHNEY, 2005).

A possibilidade do cultivo de células imortalizadas foi possível na década de 50 a partir de células de um adenocarcinoma uterino de Hanrietta Lacks e, desta forma, esse tipo de técnica se popularizou nos laboratórios no mundo, garantindo estudos cada vez mais complexos (LUCY *et al.*, 2009).

Metodologias para examinar culturas celulares são muito utilizadas e conseqüentemente úteis para a ampla gama de testes e ensaios biológicos existentes na ciência (ALMEIDA *et al.*, 2019). No decorrer das últimas décadas, vem se aprimorando e desenvolvendo novas técnicas que possam modificar o estudo com utilização de células onde, por meio destes estudos, é possível novas descobertas farmacológicas, toxicológicas ou terapêuticas em decorrência da utilização de processos biológicos. Esses estudos *in vitro* permitem viabilidade e agilidade no processo científico em busca dessas novas ferramentas (FOLGUERAS-FLATSCHART *et al.*, 2018).

Por meio de experimentos é possível identificar quais os eventos que acontecem com as linhagens celulares onde podem superar controle normal, realizar identificação de bases genéticas, processos fenotípicos que estão presente nessa transformação celular, sendo assim por esses ensaios é possível visualizar e comparar como se dá o comportamento das células neoplásicas em relação das cancerosas, além de identificar esse processo de imortalização e criação de tumores (VILELA *et al.*, 2003).

A cultura de células proporcionou ao mundo acadêmico a possibilidade de estudos em células vivas sem a necessidade de utilização em modelos animais que apresentassem resultados significativos a fim de aumentar os recursos para o desenvolvimento da pesquisa biomédica e da biotecnologia (BOEHM; HAHN, 2004).

Linhagens celulares geradas a partir de células neoplásicas e não neoplásicas também são intensamente utilizadas em estudos pré-clínicos para desenvolver novas abordagens diagnósticas e estudar a biologia de doenças como o câncer em condições laboratoriais (BERZOFKY *et al.*, 2004).

Sendo assim, por mais que as pesquisas tenham avançado, o conhecimento em relação ao comportamento celular *in vitro* é de suma importância e necessita-se de treinamento e conhecimento técnico-científico para manuseá-las e possibilitar a interpretação dos resultados e perfil biológico das células (FRESHNEY, 2002).

## 2.10 Ensaios de Citotoxicidade

Citotoxicidade se refere à toda capacidade de alguma substância alterar o metabolismo das células que estão sendo cultivadas, podendo levar ou não à morte celular. Desta forma, podem inibir ou mesmo diminuir a habilidade do tecido em se renovar, gerando processos degenerativos ou até mesmo apoptóticos (HORTON; MATHEW, 2015).

Assim, a utilização de culturas celulares em ensaios de citotoxicidade se torna alternativa na avaliação de toxicidade de diversos compostos que podem auxiliar no desenvolvimento de fármacos importantes, como os antineoplásicos, uma vez que interferem a atividade antiproliferativa de amostras nestas linhagens (TRINTINAGLIA, 2015).

A caracterização da citotoxicidade *in vitro* é uma prática comum na avaliação biológica de produtos para a saúde e fundamental para a análise inicial da biocompatibilidade deles. Pela exposição de uma cultura celular a determinado biomaterial de interesse, é possível caracterizar reações adversas de citotoxicidade resultantes (MASSON; LOMBELLO, 2016).

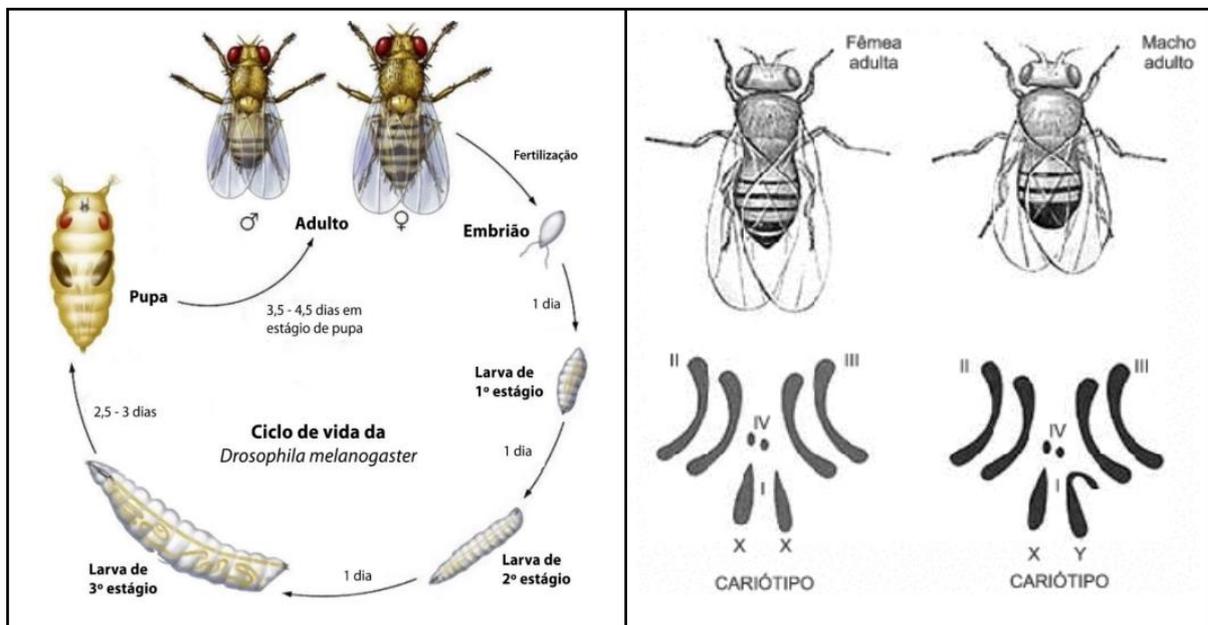
Os métodos *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como poder limitar o número de variáveis experimentais, obter dados significativos mais facilmente além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto. Estudos com estes métodos demonstraram que os testes com culturas celulares podem ser utilizados com sucesso, pois são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade *in vitro* (ROGERO *et al.*, 2003).

## 2.11 Ensaio SMART

O ensaio SMART é uma técnica que, de acordo com Graf *et al.* (1984) garante que se determine de forma simultânea mutações cromossômicas e gênicas, bem como aqueles eventos que se relacionam com recombinação mitótica, que pode demonstrar a contribuição deste último parâmetro para a genotoxicidade que é induzida por fármacos, como os OEs.

As alterações ocorrentes no material genético através de bioensaios desenvolvidos em laboratório demonstram uma relação significativa entre substâncias genotóxicas e o início de alguns processos carcinogênicos (VALADARES *et al.*, 2010) e, desta forma, para testar a capacidade tóxica e mutagênica de OEs opta-se por usar a *Drosophila melanogaster*. Para detectar mutações e recombinação somática utiliza-se este modelo vivo, por ter como vantagens o “curto período de geração, pequeno número de cromossomos, linhagens geneticamente bem caracterizadas e apresentar um espectro de atividade metabólica” (Figura 14) (CARDOSO *et al.*, 2015).

**Figura 14:** Ciclo de vida e cariótipo de *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Barbosa, 2020 (adaptado).

Estudos que utilizam esse inseto, possuidor de alta homologia com organismos superiores, pode nos indicar a capacidade de substâncias, como OEs,

em danificar o material hereditário de seres humanos e/ou apresentar características protetoras deles (DE OLIVEIRA *et al.*, 2019; DE LACERDA NETO *et al.*, 2021; ANAYA-GIL *et al.*, 2022). Dentre as diversas metodologias desenvolvidas com *D. melanogaster*, o teste SMART é uma alternativa eficiente para indicar a ocorrência de alterações no material hereditário dos organismos expostos, provavelmente através da formação de danos no DNA, ou por indução à formação de espécies reativas de oxigênio, com quebras de fitas simples e dupla do DNA e recombinações (SANTOS, 2015).

Desta forma, um dos objetivos desta investigação foi avaliar a atividade mutagênica dos OEs de *C. citratus* e *S. guianensis* por meio do teste SMART em células de asas de *D. melanogaster*, uma vez que, a partir de levantamento bibliográfico, estas espécies vegetais apresentam diversos compostos químicos comprovadamente ativos e de interesse farmacológico.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial, genotóxico e citotóxico de espécies de plantas do cerrado e pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a atividade antiproliferativa *in vitro* das amostras de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Endlicheria paniculata*, *Matayba guianensis* e *Siparuna guianensis*, em linhagens de células neoplásicas: melanoma murino (B16-F10), adenocarcinoma de mama (MCF-7), glioblastoma (U251) e adenocarcinoma renal (786-0);
- b) Avaliar a citotoxicidade das amostras de óleos essenciais de *C. citratus*, *E. paniculata*, *M. guianensis* e *S. guianensis*, em células imortalizadas das linhagens de células endoteliais não tumorais de veia umbilical humana (HUVEC) e de fibroblasto murino (NIH-3T3);
- c) Calcular o índice de seletividade (IS);
- d) Determinar a atividade genotóxica dos óleos de *Cymbopogon citratus* e de *Siparuna guianensis* por meio do ensaio SMART *in vivo*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Tipologia da pesquisa

Tratou-se de um estudo experimental, observacional e quantitativo, no qual a metodologia é padronizada pelo laboratório de Biologia Molecular e Culturas Celulares da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS (MICHELETTI *et al.*, 2011; GARCEZ *et al.*, 2011; FIGUEIREDO *et al.*, 2011).

Foram utilizadas linhagem de células neoplásicas (B16, MCF7, U251 e 786) e não tumorais (HUVEC e 3T3), para a determinação de citotoxicidade, índice de seletividade (HOUGHTON *et al.*, 2007) e ensaio SMART. Todas as linhagens foram mantidas em nitrogênio líquido. Para os testes de citotoxicidade, foram descongeladas e crescidas em incubadora a 37°C (5% de CO<sub>2</sub>) (FRESHNEY, 2005).

### 4.2 Coleta e identificação das espécies vegetais

As espécies vegetais *C. citratus*, *E. paniculata*, *S. guianensis* e *M. guianensis* são indivíduos ainda de pouco destaque nas pesquisas que relacionam atividade citotóxica e genotóxica, porém, apresentam algumas atividades biológicas já identificadas pela literatura (Tabela 1), que demonstram o interesse em se continuar investigando outros potenciais biológicos.

**Tabela 1:** Espécies *C. citratus*, *E. paniculata*, *S. guianensis* e *M. guianensis* e as atividades biológicas já identificadas na literatura a partir de extrações de óleos essenciais.

Espécie vegetal	Família	Atividade biológica	Autores
<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	Analgésicas, antigripal e ansiolítica	Ferro; Pereira, 2018; Silva <i>et al.</i> , 2019.
<i>Endlicheria paniculata</i>	Lauraceae	Antitumorais, citotoxicidade e antibacteriana	Filho; Fernandes; Assis, 2015.
<i>Matayba guianensis</i>	Sapindaceae	Atividade pró-apoptótica	Nascimento <i>et al.</i> , 2022.
<i>Siparuna guianensis</i>	Siparunaceae/ Monimiaceae	Anti-inflamatório, inseticidas, antiviral	Valentini; Rodriguez-Ortiz; Coelho, 2010.

As folhas de *C. citratus*, *E. paniculata*, *S. guianensis* e *M. guianensis* foram coletadas nos períodos e regiões conforme Tabela 2. Folhas e frutos das espécies foram encaminhados para análise de identificação da espécie no Laboratório de Botânica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e as exsiccatas das espécies, sob registro n° 53328, n° 53329, n° 53330 e n° 533231, respectivamente, foram depositadas no Herbário CGMS da UFMS.

**Tabela 2:** Períodos e regiões de coleta das espécies *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Endlicheria paniculata* (Lauraceae) *Matayba guianensis* (Sapindaceae) e *Siparuna guianensis* (Siparunaceae)

<b>Espécie vegetal</b>	<b>Mês/ano da coleta</b>	<b>Região da coleta</b>
<i>Cymbopogon citratus</i>	setembro e outubro de 2022	Campo Grande - MS
<i>Endlicheria paniculata</i>	setembro e outubro de 2022	Corumbá - MS
<i>Matayba guianensis</i>	setembro e outubro de 2022	Bonito - MS
<i>Siparuna guianensis</i>	setembro e outubro de 2022	Corumbá - MS

### 4.3 Obtenção das amostras de óleos essenciais

A extração do OE das espécies *C. citratus*, *E. paniculata*, *M. guianensis* e *S. guianensis* foi realizada a partir de 500 g de folhas vegetais de espécimes colhidas no Pantanal e no Cerrado de Mato Grosso do Sul, Brasil, empregando-se a técnica de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, conforme metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2010). As amostras foram obtidas no Laboratório de Pesquisa I (LP1/INQUI) da UFMS e cedidas pela Dra. Nidia Cristiane Yoshida.

Neste processo a matéria-prima (matriz vegetal), totalmente imersa em água, é colocada no extrator e aquecida até a ebulição. A água e o OE formam uma mistura homogênea, formando duas fases, o óleo menos denso fica na parte de cima (WOLFFENBUTTEL, 2010). Os OEs obtidos foram mantidos sob refrigeração (4 °C) até a análise. As amostras-teste (0,1 g/mL) foram ressuspensas em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente diluídas em meio de cultura (concentração final de DMSO a 0,4 %).

Os OEs foram identificados como: OEEP – Óleo essencial de *Endlicheria paniculata*, OESG - Óleo essencial de *Siparuna guianensis*, OEMG - Óleo essencial de *Matayba guianensis* e OECC - Óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

#### 4.4 Triagem da atividade antiproliferativa *in vitro*

Foram utilizadas para o ensaio de atividade antiproliferativa três linhagens de células tumorais: melanoma murino (B16-F10 - ATCC® CRL - 6322TM), adenocarcinoma humano de mama (MCF-7 - ATCC® HTB-22TM), adenocarcinoma renal humano (786) e glioblastoma humano (U251) e duas linhagens de células não tumorais: fibroblasto murino (NIH-3T3 - ATCC® CRL-1658™) e célula endotelial de veia umbilical humana (HUVEC).

#### 4.5 Teste de citotoxicidade/ atividade antiproliferativa

O processo de descongelamento das linhagens foi realizado em banho-maria a 37°C e a transferência das células dos criotubos foi feita para um tubo cônico de 15 mL, contendo 9 mL de meio DMEM ou RPMI com gentamicina 50 µg/mL e 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). Este tubo foi centrifugado por 4 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi aspirado, sobrando o *pellet* que foi ressuscitado em 5 mL de meio. A suspensão foi transferida para um frasco de cultura de 25 cm<sup>2</sup> e incubado a 37 °C a 5 % de CO<sub>2</sub> até formação de monocamada e 80% de confluência.

Quando o número adequado de células para o experimento foi atingido, aspirou-se o meio do frasco, restando somente as células aderidas no fundo do frasco. As células foram desprendidas com a adição de 0,5mL de tripsina-EDTA (0,25% + EDTA 1 mM) em tampão PBS, pH 7,4. O frasco permaneceu em repouso na incubadora entre 3 e 4 minutos até o total desprendimento das células.

A suspensão de células foi transferida para outro tubo cônico de 15 mL contendo meio completo (meio, antibiótico e SFB 10%), em um volume 3 vezes maior do que aquele usado de tripsina (para a neutralização desta). A seguir, houve centrifugação por 4 minutos a 1000 rpm. Aspirou-se o sobrenadante, restando

somente o *pellet*, que foi ressuspensionado em 2 mL de meio completo, sendo a suspensão usada no processo de contagem celular.

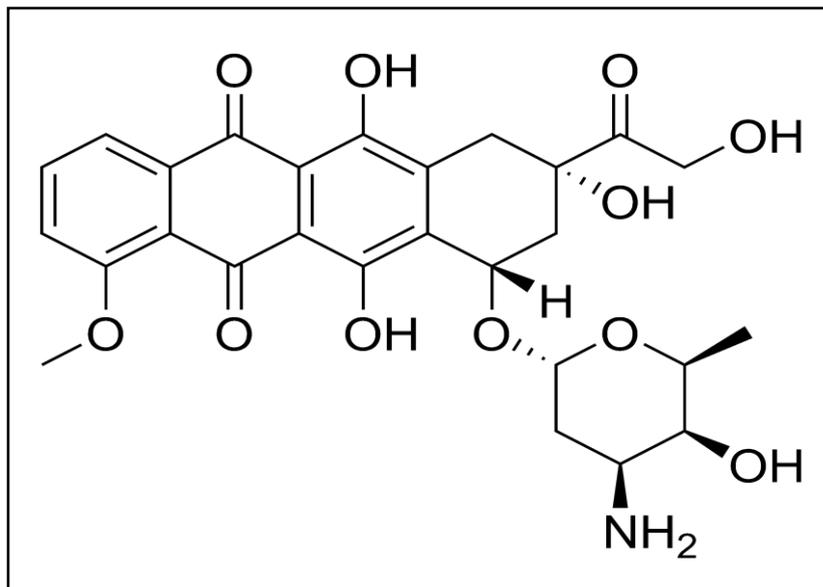
Para a realização da contagem, foi retirada uma alíquota da suspensão a qual foi diluída em *Trypan Blue* (1:5), corante que evidencia células não viáveis e que são excluídas da contagem.

As células diluídas em meio de cultura com *Trypan Blue* foram contadas em Câmara de *Neubauer* (Hemocitômetro), e posterior obtenção de uma suspensão de células com número determinado de células depositado em cada cavidade na placa de 96 poços, denominadas de placa T0 (tempo zero) e placa T (Teste).

A T0 é uma placa onde foi feita a adição em triplicata da suspensão celular de cada linhagem e triplicata do meio de cultura. As placas foram incubadas por 24 horas para a estabilização das células.

Após o tempo determinado, a leitura da placa T0 foi efetuada após a adição do corante Sulforodamina B (SRB) utilizado no teste de citotoxicidade. Na placa T, foi realizada a adição em triplicata de 4 concentrações: 0,25, 2,5, 25 e 250 µg/mL da amostra-teste, previamente dissolvidas em DMSO e diluídas em meio completo (sendo a menor concentração utilizada no teste igual a 0,25% o que não afeta a viabilidade celular). A placa teste contém ainda, o branco de cada concentração da amostra-teste, o controle negativo (células somadas a 100 µL de meio) e controle-positivo Doxorrubicina - DXR (0,025, 0,25, 2,5 e 25 µg/mL) (Figura 15).

**Figura 15:** Fórmula estrutural da Doxorrubicina.



Fonte: Orsolin; Nepomuceno, 2009.

A placa teste foi então incubada por 48 horas e após este tempo foi realizada a leitura do teste de citotoxicidade.

Detalhadamente, a leitura foi precedida das seguintes etapas:

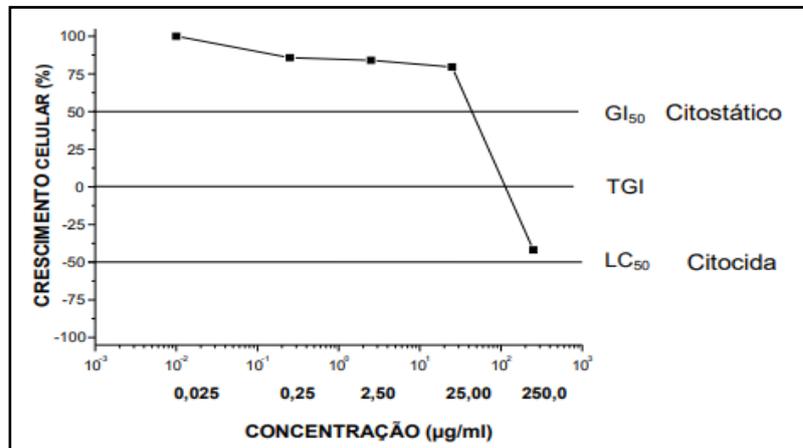
- a) O sobrenadante das cavidades das placas foi aspirado, permanecendo apenas as células nas cavidades. Adicionou 100 µL de ácido tricloroacético (TCA) 20% em cada cavidade, para que as células viáveis se fixem à cavidade, e então, as placas são mantidas ao abrigo da luz em repouso por 30 minutos a 4°C;
- b) Em seguida o sobrenadante foi descartado e as placas lavadas em água corrente e depois de secas, adicionado 100 µL de SRB 0,1% as placas por 30 minutos em temperatura ambiente.
- c) No momento seguinte, as placas foram lavadas quatro vezes com ácido acético 1% para retirar o excesso de corante livre. A seguir adicionou à placa seca 100 µL de tampão Trizma Base (10 mM, pH 10,5), para que ocorra a solubilização do corante ligado às proteínas de membrana das células.

Os experimentos foram realizados em triplicata. Calcularam-se as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos por meio das fórmulas a seguir onde T é a média da absorbância da célula tratada depois de 48 h; T<sub>0</sub> é o controle das células no dia da adição das amostras-teste; C é o controle de célula sem adição das amostras-teste depois das 48h:

- Se  $T > C$ , a amostra-teste estimulou o crescimento e não apresentou GI;
- Se  $T \geq T_0 < C$ , a amostra-teste foi citostática e a fórmula utilizada foi:  $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$ ;
- Se  $T < T_0$ , a amostra-teste foi citocida e a fórmula utilizada foi:  $100 \times [(T-T_0)/(T_0)]$ .

Foi utilizada a curva concentração-resposta, para cada linhagem celular, determinada por meio da análise de regressão não linear (*sigmoidal fitting*) usando o software de *Origin 6.0* (*OriginLab Corporation*, Northampton, MA). Três níveis de efeito são calculados através da regressão sigmoidal: 1) concentração da amostra teste que causa 50% de inibição do crescimento celular (GI<sub>50</sub>); 2) concentração que causa inibição total do crescimento (TGI); 3) concentração que causa 50% de morte celular (LC<sub>50</sub>) (MONKS *et al.*, 1991) (Gráfico 1).

**Gráfico 1:** Curva dose-resposta de uma amostra teste. Valores acima de 0 indicam efeito citostático da amostra teste (inibição do crescimento celular); valores abaixo de 0 indicam efeito citocida da amostra teste (morte celular). GI<sub>50</sub>: concentração que causa 50% de inibição do crescimento celular; TGI: concentração que causa inibição total do crescimento; LC<sub>50</sub>: concentração que causa 50% de morte celular.



Fonte: Lima e Silva, 2018.

O resultado é obtido por absorbância, em leitor de microplacas no comprimento de onda de 540 nm e a porcentagem de crescimento de cada linhagem foi calculada em programa Excel 2003/2007, utilizando as fórmulas de Monks *et al.* (1991), associando-se com os parâmetros de efeito citostático ou citocida. A dose que inibe 50% do crescimento celular (GI<sub>50</sub>) foi determinada no programa para gráficos e análises de dados *Origin* Versão 6.0. Amostras-teste com potente atividade antineoplásica apresentam GI<sub>50</sub> ≤ 30 µg/mL e são consideradas ativas (ITHARAT *et al.*, 2004).

#### 4.6 Índice de Seletividade

O índice de seletividade (IS) corresponde à divisão entre o valor da GI<sub>50</sub> de cada amostra-teste na linhagem de células normais NIH/3T3 e o valor da GI<sub>50</sub> da amostra-teste na linhagem de células neoplásicas (IS= GI<sub>50</sub> 3T3/ GI<sub>50</sub> células neoplásicas). Os IS dos OEs foram obtidos a partir da razão entre os valores da CC<sub>50</sub> (células não tumorais) e CI<sub>50</sub> (células tumorais), conforme a equação:

$$IS = \frac{CC_{50}}{CI_{50}}$$

O índice de seletividade (IS) indica quantas vezes o óleo é mais seletivo em uma linhagem neoplásica em comparação com a normal (BOGO, 2012). O índice de seletividade (IS) com valores maior ou igual a 2,0 é considerado significativo para Suffness e Pezzuto (1991), e atualmente é considerado seletivo quando for maior que 10 conforme Indrayanto; Putra e Suhud (2021).

#### 4.7 Ensaio para detecção de Mutação e Recombinação Somática – SMART

O teste SMART capta mecanismos que podem levar à perda da heterozigose. Através de eventos genéticos, essa perda acontece e leva à homozigose das células filha, logo é um método que pode ser utilizado em um “amplo espectro de agentes genotóxicos, misturas complexas e partículas gasosas” (DE AMORIM, 2016).

##### 4.7.1 Linhagens

Foram utilizadas três linhagens de *D. melanogaster*, denominadas como *flr<sup>3</sup>*, *ORR*; *flr<sup>3</sup>* e *mwh*. Tais linhagens são portadoras de genes marcadores específicos, localizados no cromossomo 3, que permitem monitorar eventos relacionados com mutação gênica, aberrações cromossômicas e recombinação mitótica (POSSENTI; CAMPANA FILHO; LEHMANN, 2005) - cujas características genotípicas são:

- *flr<sup>3</sup>* - *flr<sup>3</sup>/ln(3LR)TM3,ri p<sup>o</sup> sep I(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>S</sup>*
- *ORR;flr<sup>3</sup>* - (*ORR; flr<sup>3</sup> /ln(3LR)TM3, ri p<sup>o</sup> sep I(3)89Aa bx<sup>34e</sup> e Bd<sup>S</sup>*)
- *mwh* - *mwh/mwh*

A linhagem *mwh* é homozigota recessiva para o marcador *mwh* presente no cromossomo 3 na região distal em relação ao centrômero (*mwh*, 3–0,3). O fenótipo do marcador *mwh* expressa-se com três ou mais pelos em cada célula, diferente do wild hair (um único pelo por célula).

Já a linhagem flare-3 apresenta o marcador *flr<sup>3</sup>* no cromossomo 3 em uma região proximal ao centrômero (*flr<sup>3</sup>*, 3–38.9) quando comparado ao marcador *mwh*, e

devido à letalidade na homozigose recessiva ( $flr^3/flr^3$ ), é mantido em hemizigose pela presença do cromossomo balanceador TM3,  $Bd^s$  ( $flr^3/TM3, Bd^s$ ).

Ao ser expresso, o marcador  $flr^3$  leva à formação de pelos mutantes que se assemelham a uma chama de vela ou espinho de roseira. O  $ORR;flr^3$  possui os cromossomos 1 e 2 de uma linha Oregon R(R) resistente ao DDT (dicloro difenil tricloroetano), que são responsáveis por um alto nível constitutivo de citocromo P450 (DE MORAIS *et al.*, 2017)

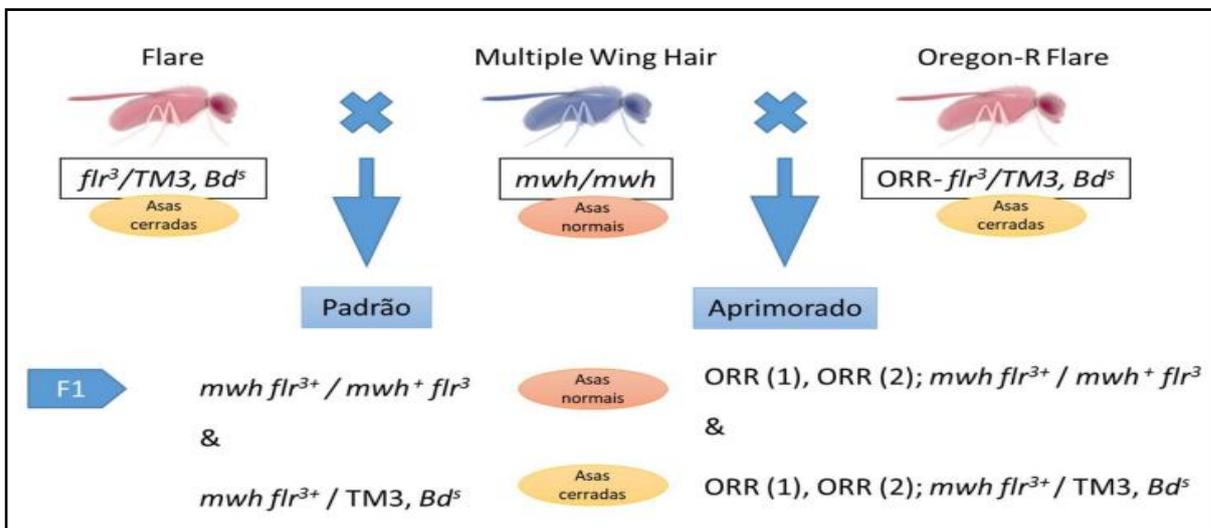
#### 4.7.2 Cruzamento

Foram utilizados dois tipos de cruzamentos:

- Cruzamento padrão (ST): envolvendo fêmeas virgens da linhagem  $flr^3$  cruzadas com machos  $mwh$ . A progênie oriunda deste cruzamento apresenta níveis basais de atividade enzimática e apresenta dois tipos de indivíduos (MH e BH).

- Cruzamento de alta bioativação metabólica (HB) – machos  $mwh$  e fêmeas virgem  $ORR;flr^3$ . A linhagem ORR apresenta alto nível constitutivo de enzimas do tipo citocromo P(CYP)6A2, permitindo a detecção de pró-mutagênicos dependentes de ativação via citocromo P450 (Figura 16).

**Figura 16:** Esquema de cruzamentos padrão e de alta bioativação entre linhagens de *D. melanogaster* e suas respectivas proles e constituições genéticas. Linhagem Flare ( $flr^3$ ), linhagem Multiple Wing Hair ( $mwh$ ), Linhagem Oregon-R Flare, ( $ORR-flr^3$ ), primeiros descendentes da geração parental (F1).



Fonte: Veber (2019).

Os cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) produzem dois tipos de progênie: (MH) marcador heterozigoto ( $mwh\ flr^{3+} / mwh^{+}flr^3$ ), com asas fenotipicamente do tipo selvagem e (BH) balanceador heterozigoto ( $mwh\ flr^{3+} / mwh^{+} TM\ 3\ Bd^S$ ), com asas fenotipicamente serrilhadas.

#### 4.7.3 Tratamento

Como observado em estudos com OEs, além da alta volatilidade, sua fácil oxidação pode comprometer sua persistência no meio, necessitando de um elevado número de extrações em laboratório (FERREIRA *et al.*, 2019), o que justifica a utilização de OEs de apenas duas espécies dentre as quatro trabalhadas neste estudo, sendo escolhidas as espécies com mais potenciais biológicos identificados em pesquisas anteriores: *Cymbopogon citratus* e *Siparuna guianensis*.

Os ovos das fêmeas de ambos os cruzamentos foram coletados por 8 h em frascos de vidro contendo uma camada de ágar-ágar (4% p/v) coberta com uma espessa camada de fermento de padeiro vivo suplementado com sacarose.

Três dias depois, as larvas de terceiro ínstar ( $72 \pm 4$ h) foram retiradas das garrafas, coletadas em uma peneira. Lotes iguais de larvas foram então distribuídos em uma série de frascos preparados com 1,5 g de purê de batata em flocos e 5 mL de diferentes concentrações dos OEs das duas espécies vegetais, em que controles-negativo (água ultrapura, 1% de tween-40 e 3% de etanol) e positivo (DXR 0,125 mg/mL) foram incluídos em ambos os experimentos, conforme esquema:

- Grupo 1: Frascos apenas com o OE de *C. citratus* (OECC) nas concentrações de 1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL.

- Grupo 2: Frascos apenas com o OE de *S. guianensis* (OESG) nas concentrações de 1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL.

Todos os compostos foram testados em dois experimentos independentes, realizados a  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e aproximadamente 60% de umidade. As larvas se alimentaram pelo restante de sua vida larval (~48 h), empuparam e eclodiram como adultas após 7 dias de tratamento. Os grupos tratados foram coletados em etanol 70%.

#### 4.7.4 Preparação das lâminas e análise microscópica

Após a eclosão as moscas foram fixadas em etanol 70% (v/v). As asas fenotipicamente selvagens (MH) de ambos os cruzamentos e sexos foram removidas, montadas em lâminas de vidro com solução de Faure (goma arábica 30 g, glicerol 20 mL, hidrato de cloral 50 g e água destilada 50 mL) e analisadas sob um microscópio composto com ampliação de 400x. A frequência e o tamanho das manchas simples e gêmeas foram registrados. Clones únicos (*mwh* ou *flr<sup>3</sup>*) podem resultar de recombinação mitótica, mutação e aberração cromossômica. Manchas gêmeas (*mwh* e *flr<sup>3</sup>*) são produzidos exclusivamente por recombinação mitótica entre o marcador proximal *flr<sup>3</sup>* e o marcador *mwh* ou entre o locus *flr<sup>3</sup>* e o centrômero do cromossomo 3.

Para cada tratamento, foram analisadas as asas dos adultos trans heterozigotos para os marcadores recessivos *mwh* e *flr<sup>3</sup>* em microscópio óptico. Foram avaliados os compartimentos distais das asas e determinadas as seções e o número de células mutadas. A análise dos tricomas, presentes nas superfícies dorsal e ventral das asas, permitiu a identificação de manchas de pelos mutantes (DE OLIVEIRA *et al.*, 2003), classificadas como: (I) simples *mwh* ou *flr<sup>3</sup>*, quando somente um dos marcadores se expressar; (II) gêmeas quando ambos os fenótipos mutantes - pelos múltiplos (*mwh*) e com a base alargada (*flr<sup>3</sup>*) - estiverem presentes.

#### 4.8 Análise dos dados

A porcentagem de crescimento celular obtida segundo Monks *et al.* (1991) foi utilizada na elaboração de gráficos por regressão não linear para obtenção da  $GI_{50}$  em *software* de análise de dados *Origin* 6.0.

A análise estatística dos dados do ensaio SMART foi feita de acordo com o teste do  $X^2$  para proporções, bicaudal, com nível de significância  $p \leq 0,05$  comparando as frequências obtidas entre os grupos tratados e controle negativo de cada cruzamento.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro*

A citotoxicidade dos OEEP (*Endlicheria paniculata*), OESG (*Siparuna guianensis*), OEMG (*Matayba guianensis*) e OECC (*Cymbopogon citratus*) foram avaliadas nas linhagens neoplásicas MCF7, B16-F10 e U251 e células normais NIH/3T3 e HUVEC. Como controle positivo dos experimentos foi utilizado o quimioterápico DXR (Tabela 3 e Gráfico 2).

**Tabela 3:** Atividade citotóxica, valores de  $GI_{50}^*$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) para óleos essenciais de *Endlicheria paniculata* (OEEP), *Siparuna guianensis* (OESG), *Matayba guianensis* (OEMG) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino).

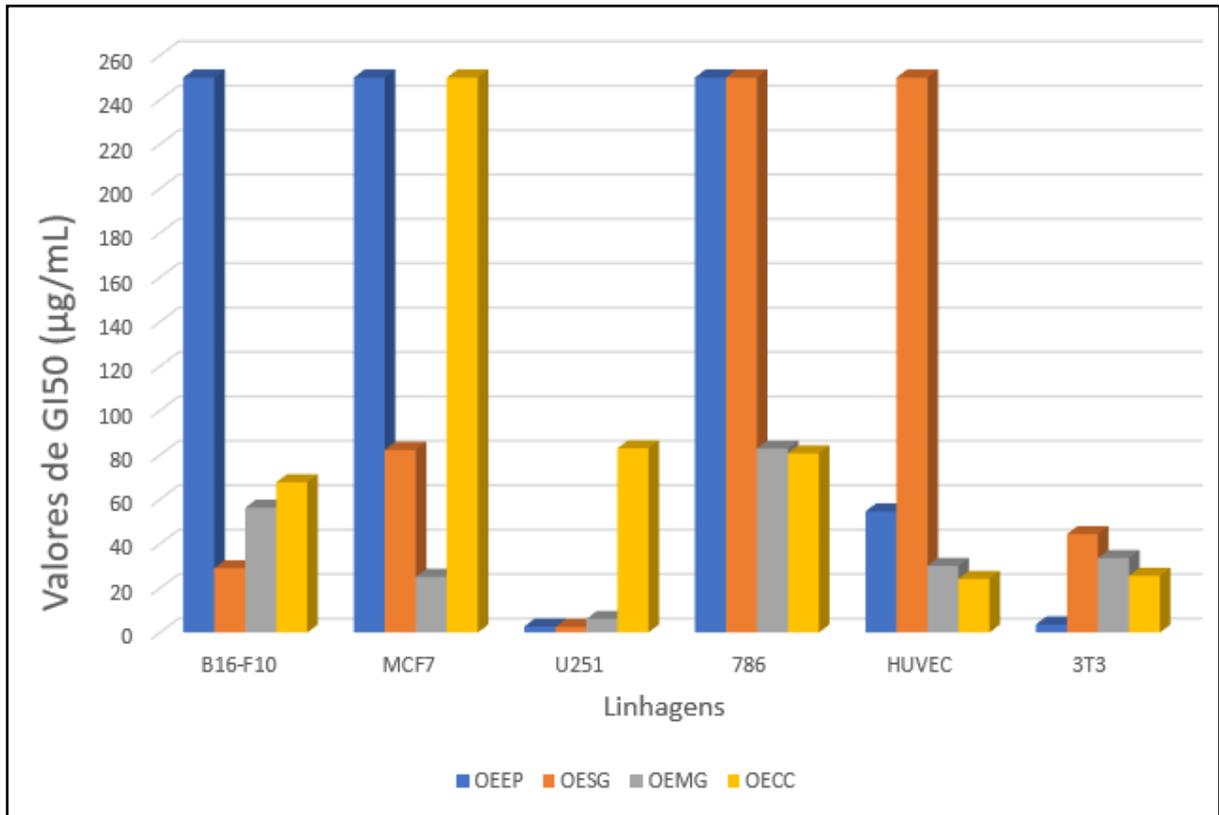
Amostras	Linhagens Celulares					
	B16-F10	MCF7	U251	786	HUVEC	3T3
OEEP	>250	>250	2,71	>250	54,54	3,67
OESG	28,93	82,27	2,55	>250	>250	44,32
OEMG	56,24	25,11	6,15	82,89	30	33,52
OECC	67,68	>250	82,94	80,75	24,20	25,57

\*Concentração que inibe 50% do crescimento celular foi determinada por análise de regressão não-linear utilizando Programa *ORIGIN* 6.0.

A atividade antitumoral dos compostos foi expressa em  $GI_{50}$  (concentração eficaz para inibir 50% do crescimento celular). Como parâmetro de atividade, considera-se como potente atividade antineoplásica  $GI_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$  (ITHARAT *et al.*, 2004). Os compostos foram considerados inativos quando  $GI_{50} > 30 \mu\text{g/mL}$ .

As amostras OEEP, OESG e OEMG foram fortemente ativas na linhagem U251, com  $GI_{50}$  variando de 2,55 a 6,15  $\mu\text{g/mL}$ .

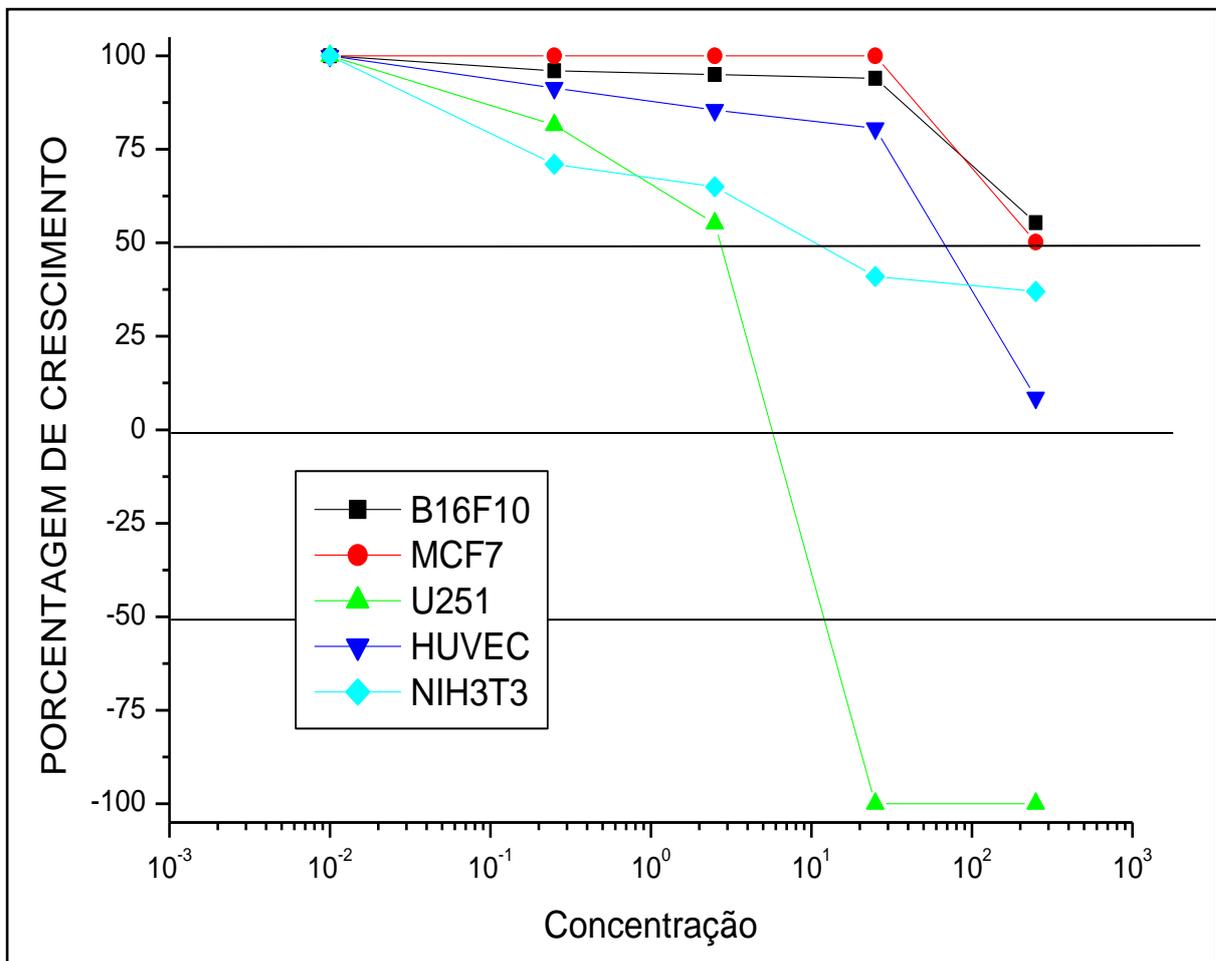
**Gráfico 2:** Avaliação da atividade citotóxica com valores de  $GI_{50}^*$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) para óleos essenciais de *Endlicheria paniculata* (OEEP), *Siparuna guianensis* (OESG), *Matayba guianensis* (OEMG) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino).



O OEEP apresentou atividade citotóxica frente a células neoplásicas U251, com valor de  $GI_{50}$  igual a  $2,71 \mu\text{g/mL}$ . O composto foi inativo em B16-F10 e MCF7, porém citotóxica na linhagem 3T3 e HUVEC.

A Figura 17 mostra a atividade antiproliferativa do OEEP sobre as linhagens neoplásicas e normais e a representação dos pontos relacionados às variáveis  $GI_{50}$ ,  $LC_{50}$  e TGI.

**FIGURA 17:** Atividade antiproliferativa do OEEP (*E. paniculata*) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h.

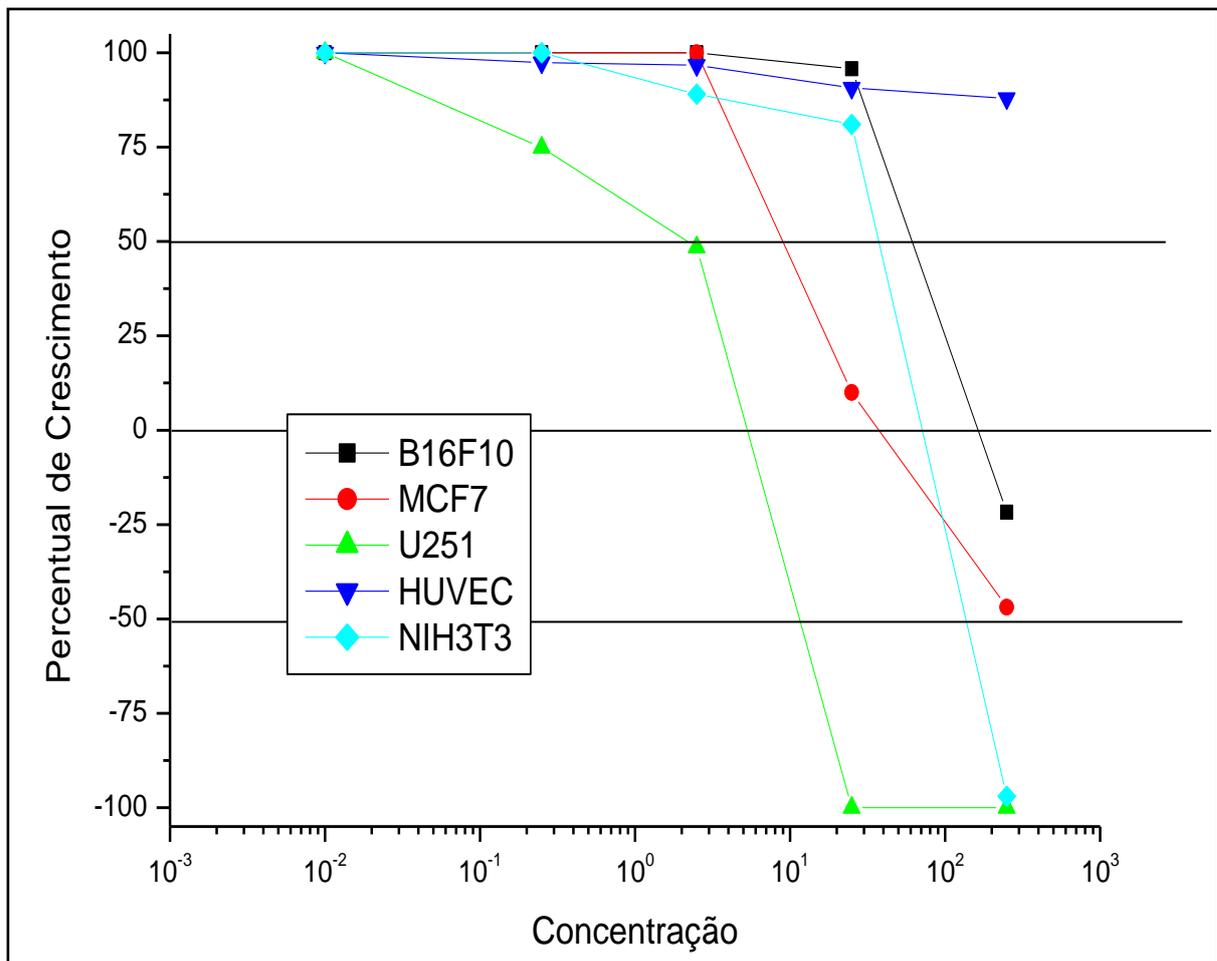


**Fonte:** Dados do programa *Origin 6.0*, 2022.

O OESG apresentou atividade citotóxica sobre a células neoplásicas B16-F10 e U251 com valor de GI<sub>50</sub> iguais a 28,93 µg/mL e 2,55 µg/mL, respectivamente.

A amostra OESG foi inativo em MCF7, HUVEC e 3T3. A Figura 18 mostra a atividade antiproliferativa do OESG sobre as linhagens neoplásicas e normais calculadas no programa de dados *Origin 6.0*.

**FIGURA 18:** Atividade antiproliferativa do OESG (*S. guianensis*) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h.

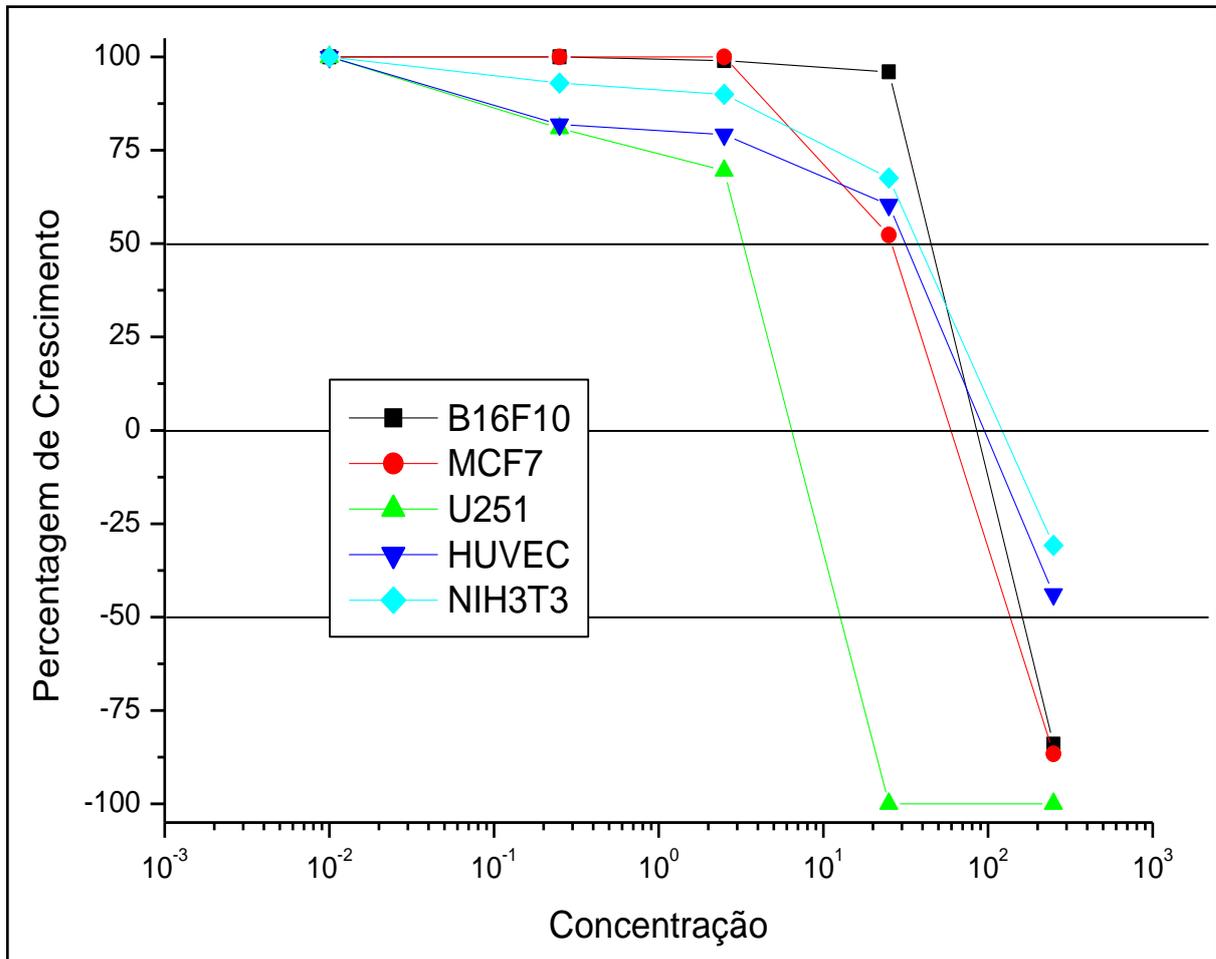


Fonte: Dados do programa *Origin 6.0*, 2022.

O OESG apresentou atividade antiproliferativa em todas as linhagens testadas, sendo também citotóxicas em 3T3 e HUVEC. Foi ativa sobre as linhagens MCF7 e U251 com valor de GI<sub>50</sub> de 25,11 µg/mL e 6,15 µg/mL respectivamente, sendo pouco ativa frente a B16-F10, HUVEC e 3T3.

A Figura 19 mostra a atividade antiproliferativa do OESG sobre as linhagens neoplásicas e normais e a representação dos pontos relacionados às variáveis GI<sub>50</sub>, LC<sub>50</sub> e TGI.

**FIGURA 19:** Atividade antiproliferativa do OEMG (*M. guianensis*) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250 µg/mL) em 48h.

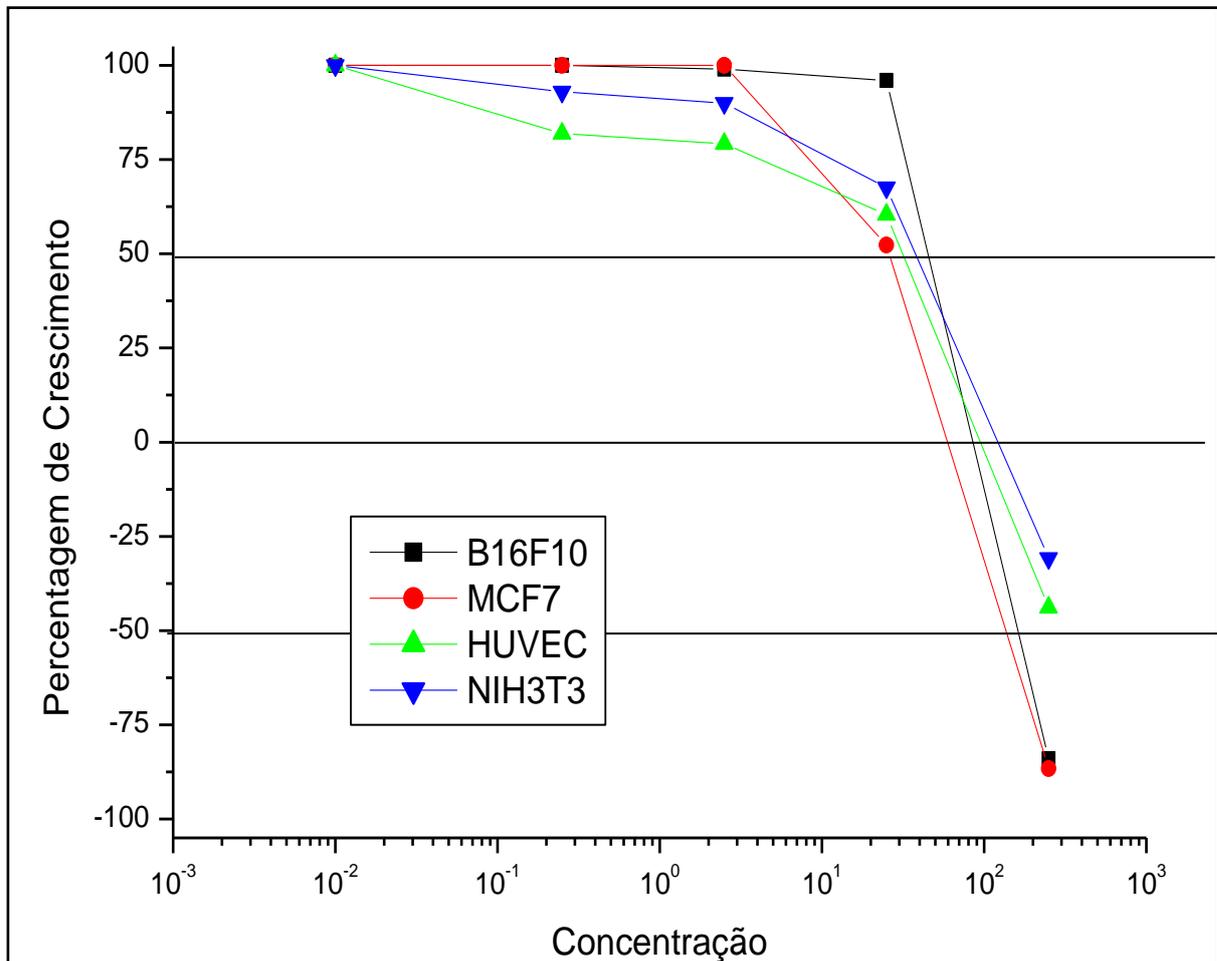


Fonte: Dados do programa *Origin 6.0*, 2022.

O OECC apresentou atividade apenas frente a células não tumorais HUVEC e 3T3, com valores de GI<sub>50</sub> iguais a 24,20 µg/mL e 25,57 µg/mL, sendo inativo frente a B16-F10 e MCF7, em que estes apresentam 67,68 µg/mL e 253,11 µg/mL, respectivamente.

A Figura 20 mostra a atividade antiproliferativa do OECC sobre as linhagens neoplásicas e normais e a representação dos pontos relacionados às variáveis GI<sub>50</sub>, LC<sub>50</sub> e TGI.

**FIGURA 20:** Atividade antiproliferativa do OECC (*C. citratus*) em células neoplásicas expostas a diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25; 250  $\mu\text{g/mL}$ ) em 48h.



Fonte: Dados do programa *Origin 6.0*, 2022.

A TGI expressa a inibição total do crescimento das linhagens celulares após 48 h de exposição. Os valores de TGI foram calculados por análise de regressão não linear usando *ORIGIN* (*OriginLab Corporation*).

Expresso como a concentração da amostra necessária para TGI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), os OEs foram classificados como ativos quando TGI  $\leq 50 \mu\text{g mL}^{-1}$  (DE PAIVA *et al.*, 2020).

Na Tabela 4 observa-se que as amostras dos OEs mais ativas foram a OEMG que inibiram duas linhagens, uma tumoral (MCF7 TGI=26,4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e uma não tumoral (3T3 TGI=46,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

O OEEP foi ativa apenas na linhagem normal de 3T3, causando inibição, cujo TGI = 41,4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As demais amostras de OEs testadas não causaram inibição total de crescimento, uma vez que todos os valores de TGI foram  $> 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Tabela 4:** Avaliação da atividade citotóxica com valores de TGI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para atividade antiproliferativa de óleos essenciais de *Endlicheria paniculata* (OEEP), *Siparuna guianensis* (OESG), *Matayba guianensis* (OEMG) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino).

Amostras	B16-F10 <sup>b</sup>	MCF7 <sup>a</sup>	U251 <sup>a</sup>	786 <sup>a</sup>	HUVEC <sup>c</sup>	3T3 <sup>d</sup>
OEEP	362,18 I	260,83 I	4,16 P	250 I	265,27 I	41,37 F
OESG	230,31 I	240,73 I	4,02 P	250 I	796,20 I	56,80 I
OEMG	169,07 I	26,38 F	5,64 P	240,70 I	51,43 I	46,01 F
OECC	227,11 I	263,29 I	219,20 I	221,64 I	25,73 F	285,23 I

TGI: inibição total do crescimento após 48 h de exposição. Os valores de TGI foram calculados por análise de regressão não linear usando *ORIGIN 8.0* (*OriginLab Corporation*).

<sup>a</sup>Linhagem de célula tumoral humana.

<sup>b</sup>Linhagem de célula tumoral murina.

<sup>c</sup>Linhagem de célula não tumoral humana.

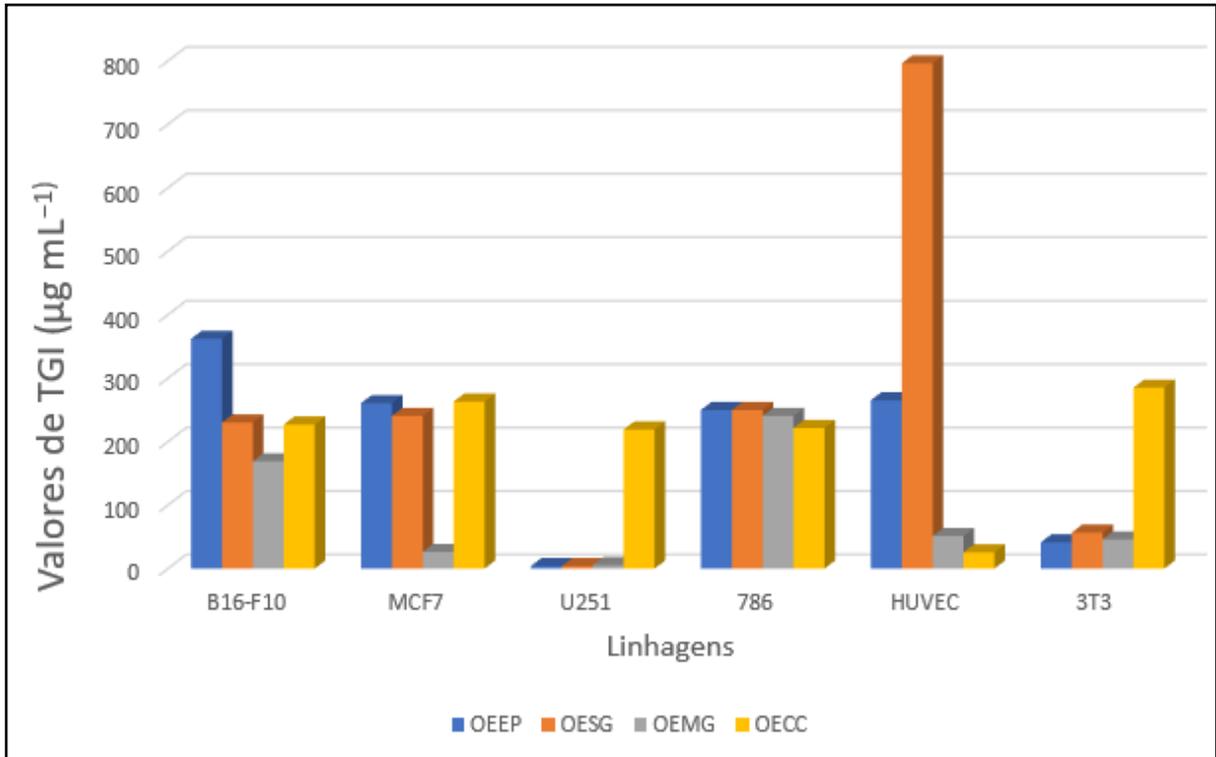
<sup>d</sup>Linhagem de célula normal murina.

Critérios do CSIR: inativo (I,  $\text{TGI} > 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), atividade fraca (F,  $15 \mu\text{g mL}^{-1} < \text{TGI} < 50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), atividade moderada (M,  $6,25 \mu\text{g mL}^{-1} < \text{TGI} < 15 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e atividade potente (P,  $\text{TGI} < 6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

O TGI dos OEEP, OESG, OEMG e OECC foram avaliados em duas linhagens de células tumorais humana (MCF7 e U251) e uma não tumoral (HUVEC); e uma célula tumoral murina (B16-F10) e uma não tumoral murina (NIH/3T3), além da DXR como controle positivo. As concentrações para avaliação de TGI das amostras foram de ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) (Gráfico 3).

Os resultados analisados indicaram que o OEEP apresentou atividade de inibição potente somente na linhagem tumoral (U251,  $\text{TGI} = 4,16 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e fracamente em célula normal murina (3T3,  $\text{TGI} = 41,37 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); o OESG apresentou atividade de inibição potente somente na linhagem tumoral (U251,  $\text{TGI} = 4,02 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); o OEMG inibiu de forma potente a linhagem tumoral (U251,  $\text{TGI} = 5,64 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e fracamente na linhagem tumoral (MCF7,  $\text{TGI} = 26,38 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e na célula normal murina (3T3,  $\text{TGI} = 46,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); o OECC apresentou atividade fraca somente na linhagem não tumoral humana (HUVEC,  $\text{TGI} = 25,73 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

**Gráfico 3:** Avaliação da atividade citotóxica com valores de TGI ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para atividade antiproliferativa de óleos essenciais de *Endlicheria paniculata* (OEEP), *Siparuna guianensis* (OESG), *Matayba guianensis* (OEMG) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano), 786 (adenocarcinoma renal), HUVEC (célula endotelial de veia umbilical humana) e NIH/3T3 (fibroblasto murino).



Dessa forma, as amostras OEEP, OESG e OEMG inibiram potentemente a linhagem celular tumoral U251 e a amostra OEMG foi a que apresentou maior resultado significativo. Todas as outras não descritas apresentaram inatividade.

## 5.2 Índice de Seletividade

O índice de seletividade (IS) com valores maior ou igual a 1,0 e que 10 é considerado significativo (SUFFNESS; PEZZUTO, 1991; INDRAYANTO; PUTRA; SUHUD, 2021).

Os resultados de índice de seletividade (IS) dos compostos frente à linhagem neoplásica murina está indicadas na Tabela 5.

**Tabela 5:** Valores de Índice de Seletividade (IS)\* para atividade de óleos essenciais de *Endlicheria paniculata* (OEEP), *Siparuna guianensis* (OESG), *Matayba guianensis* (OEMG) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em linhagens B16-F10 (melanoma murino), MCF7 (carcinoma de mama), U251 (glioblastoma humano) e 786 (adenocarcinoma renal).

Amostras	B16-F10 <sup>a</sup>	MCF7 <sup>b</sup>	U251 <sup>b</sup>	786 <sup>b</sup>
OEEP	0,01	0,22	0,20	0,22
OESG	1,53	8,18*	264*	1,00
OEMG	0,59	1,22	4,99*	0,36
OECC	0,38	0,09	0,29	0,30

<sup>a</sup>Linhagem de célula tumoral murina.  
<sup>b</sup>Linhagem de célula tumoral humana.  
 \*IS significativos para valores maiores ou iguais a 2,0 (SUFFNESS; PEZZUTO, 1991) e que 10 (INDRAYANTO; PUTRA; SUHUD, 2021).

Observou-se que não houve seletividade das quatro amostras na linhagem B16, pois o IS foi menor que 2,0 e que 10, indicando que os OEs não são seletivos para linhagem B16.

Quanto ao IS dos OEs entre a linhagem não tumoral HUVEC e as linhagens neoplásicas humanas observou-se que o OEEP não apresentou atividade seletiva para células testadas de MCF7 (IS=0,22), U251 (IS=0,20) e 786 (IS=0,22).

O OESG apresentou seletividade nas linhagens do estudo, com IS=8,18 para MCF7 e destaque para a U251, com valor de IS=264. O OEMG apresentou atividade seletiva para U251 (IS=4,99) e o OECC não foi seletiva para nenhuma das linhagens.

### 5.3 Ensaio SMART

O gênero *Drosophila* comporta um grupo de moscas amplamente utilizada para as mais diferentes pesquisas genéticas, por apresentar baixo custo de manutenção e produzir uma numerosa quantidade de descendente viáveis reprodutivamente por cruzamento, com mecanismos genéticos simples e comum a

muitos animais, incluindo o homem, e facilidade na análise dos resultados (MORATORE *et al.* 2009).

A frequência de danos genéticos induzidas pelos óleos OECC e OESG nas concentrações 1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL nos dois diferentes cruzamentos (padrão e alta bioativação) estão indicados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Frequências de manchas mutantes de *Drosophila melanogaster* dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação metabólica (HB) após tratamento crônico em terceiro estágio larval com diferentes concentrações (0,125; 0,25; 0,50 mg/mL) de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (OECC) e *Siparuna guianensis* (OESG) e seus respectivos controles negativo (água ultrapura) e positivo (DXR 0,125 mg/mL).

Genótipos e Tratamentos (mg/mL)	Nº de Ind. (N)	Manchas por indivíduo (nº de manchas) diagnóstico estatístico <sup>a</sup>				Total Mancha mwh <sup>c</sup> (n)
		MSP (1-2 céls) <sup>b</sup> m = 2	MSG (>2 céls) <sup>b</sup> m = 5	MG m = 5	TM <sup>b</sup> m = 2	
<b>Cruzamento ST</b>						
CN	20	0,15 (03)	0,05 (01)	0,05 (01)	0,25 (05)	5
OECC [1,25]	20	0,20 (04)	0,00 (00)	0,10 (02)	0,30 (06)	6
OECC [2,5]	20	0,25 (05)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,25 (05)	5
OECC [5,0]	20	0,20 (04)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,20 (04)	4
OESG [1,25]	20	0,10 (02)	0,05 (01)	0,00 (01)	0,15 (03)	3
OESG [2,5]	20	0,15 (03)	0,05 (01)	0,05 (01)	0,25 (05)	5
OESG [5,0]	20	0,10 (02)	0,10 (02)	0,10 (02)	0,30 (06)	6
<b>Cruzamento HB</b>						
CN	20	0,15 (03)	0,10 (02)	0,05 (01)	0,30 (06)	6
OECC [1,25]	20	0,10 (02)	0,05 (01)	0,05 (01)	0,20 (04)	4
OECC [2,5]	20	0,15 (03)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,25 (05)	5
OECC [5,0]	20	0,20 (04)	0,15 (03)	0,10 (02)	0,45 (09)	9
OESG [1,25]	20	0,20 (04)	0,05 (01)	0,05 (01)	0,30 (06)	6
OESG [2,5]	20	0,25 (05)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,30 (06)	6
OESG [5,0]	20	0,15 (03)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,20 (04)	4

MSP, Manchas simples pequenas; MSG, manchas simples grandes; MG, manchas gêmeas; TM, manchas totais; OECC, óleo essencial de *Cymbopogon citratus*; OESG, óleo essencial de *Siparuna guianensis*; CN, Controle Negativo. Cruzamento ST e HB: *mwh/flr<sup>3</sup>*

<sup>a</sup>Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): -, negativo; m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância  $\alpha = \beta = 0,05$ .

<sup>b</sup>Incluindo manchas simples *flr<sup>3</sup>* raras.

<sup>c</sup>Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Neste estudo, a atividade mutagênica dos OEs de *Cymbopogon citratus* (OECC) e *Siparuna guianensis* (OESG) foi avaliada *in vivo* através dos testes SMART, ambos em células somáticas de *D. melanogaster*. As concentrações

analisadas no presente estudo (1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL) foram selecionadas com base em testes preliminares de sobrevivência em *D. melanogaster*.

A porcentagem de moscas adultas nascidas após o tratamento com três diferentes concentrações (1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL) de cada um dos OEs (OECC e OESG) foi calculado em função do número de moscas adultas nascidas após o tratamento das larvas.

Os dados encontrados nos tratamentos feitos com os OECC e OESG nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, indicam que os mesmos, nas concentrações avaliadas, não possuem atividade tóxica. Este parâmetro foi avaliado para o controle negativo (água ultrapura), onde a taxa de sobrevivência foi de 80%.

A análise microscópica das asas de 20 indivíduos (10 machos e 10 fêmeas) de cada tratamento com as diferentes concentrações de OECC e OESG e respectivos controles, descendentes do cruzamento padrão (ST) e do cruzamento de alta capacidade de ativação metabólica (HB), mostrou que as frequências de manchas mutantes simples pequenas (MSP), manchas simples grandes (MSG), manchas gêmeas (MG) e o total de manchas (TM) observadas nos tratamentos com as diferentes concentrações (1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL) de OECC e OESG, foram estatisticamente não significativas quando comparadas às frequências obtidas em seus respectivos controles negativos (água ultrapura), tanto no cruzamento ST quanto HB.

Uma vez observados os efeitos com presença do controle positivo DXR (0,125 mg/mL) e do negativo (água ultrapura) é possível afirmar que os resultados obtidos com as diferentes concentrações dos óleos OECC e OESG são legítimos e não deficiência ou falha da metodologia empregada.

Nos resultados observados nos descendentes do cruzamento ST, tratados com as três concentrações das diferentes amostras, verificou-se que o controle negativo apresentou uma frequência de manchas mutantes por indivíduo de 0,25, enquanto os grupos tratados apresentaram frequência de mutações variando de 0,15 a 0,30. Resultado similar foi observado com os descendentes do cruzamento HB, as frequências de mutações nos grupos tratados variaram de 0,20 a 0,45, enquanto a observada no controle negativo foi de 0,30.

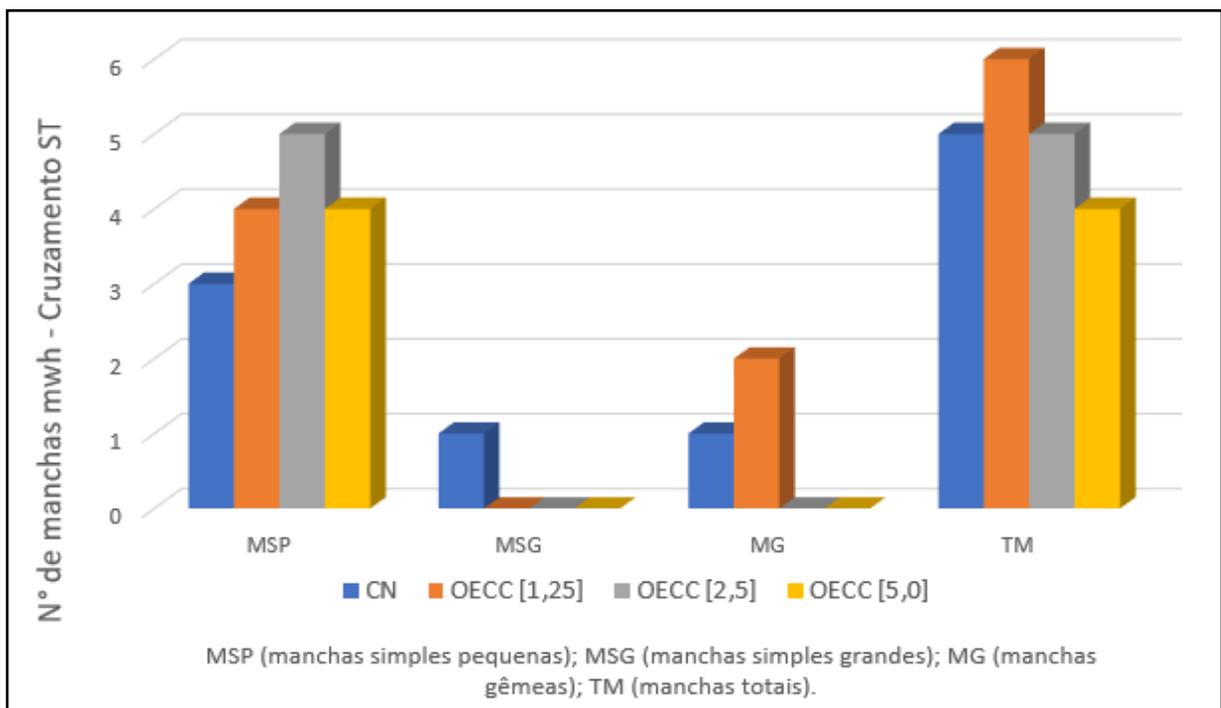
A frequência de manchas mutantes nos indivíduos resultantes dos cruzamentos ST e HB, nos grupos tratados com os OECC e OESG, não diferem estatisticamente do controle negativo ( $p \leq 0,05$ ), não apresentando atividade

mutagênica de ação direta ou indireta, o que foi observado respectivamente nos descendentes do cruzamento ST, os quais apresentam níveis basais da enzima citocromo P450, e nos descendentes HB os quais apresentam altos níveis dessa enzima de metabolização de xenobióticos.

### 5.3.1 Genotoxicidade – Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (OECC)

Estatisticamente os tratamentos não ofereceram papel mutagênico significativo, porém foi possível observar o surgimento de manchas ou a supressão do aparecimento delas, nas diferentes concentrações utilizadas, conforme representado nos Gráfico 4 e 5.

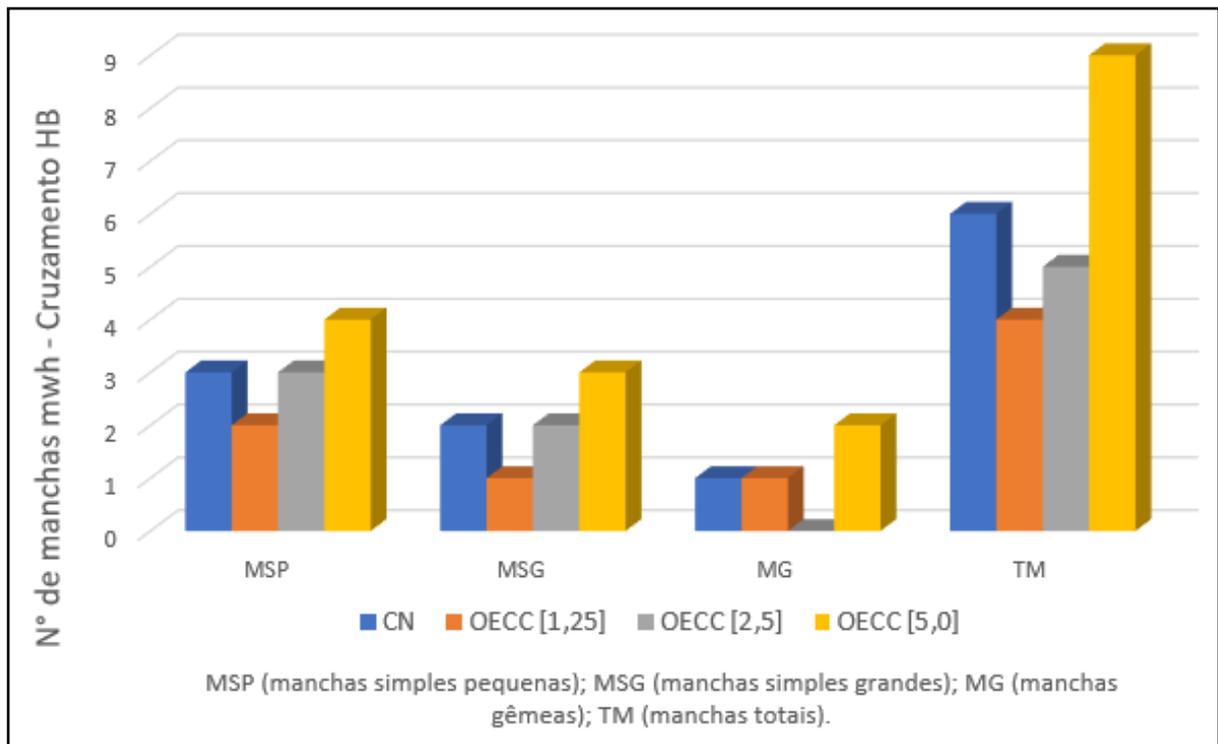
**Gráfico 4:** Frequências de manchas mutantes de *D. melanogaster* dos cruzamentos padrão (ST) a partir do tratamento com o OECC (*C. citratus*).



No cruzamento padrão (ST - fêmeas virgens da linhagem flr<sup>3</sup> cruzadas com machos mwh) os resultados obtidos indicam que na concentração de 1,25 mg/mL o OECC aumentou a frequência de manchas simples pequenas (MSP) e de manchas gêmeas (MG), assim como no total de manchas (TM), quando comparado ao controle negativo; porém não de manchas grandes (MSG).

Na concentração de 2,5 mg/mL houve aumento de MSP ao comparar com o controle negativo, enquanto se manteve estável quanto ao TM. Ao observar a concentração de 5,0 mg/mL pode-se notar que houve aumento de MSP, enquanto TM diminuiu quando comparado ao controle negativo.

**Gráfico 5:** Frequências de manchas mutantes de *D. melanogaster* dos cruzamentos de alta bioativação (HB) a partir do tratamento com o OECC (*C. citratus*).



No cruzamento de alta bioativação metabólica (HB - machos *mwh* e virgem *ORR;flr<sup>3</sup>*) os resultados obtidos indicam que na concentração de 1,25 mg/mL o OECC foi capaz de diminuir a frequência de MSP e de MG, assim como em TM quando comparado ao controle negativo.

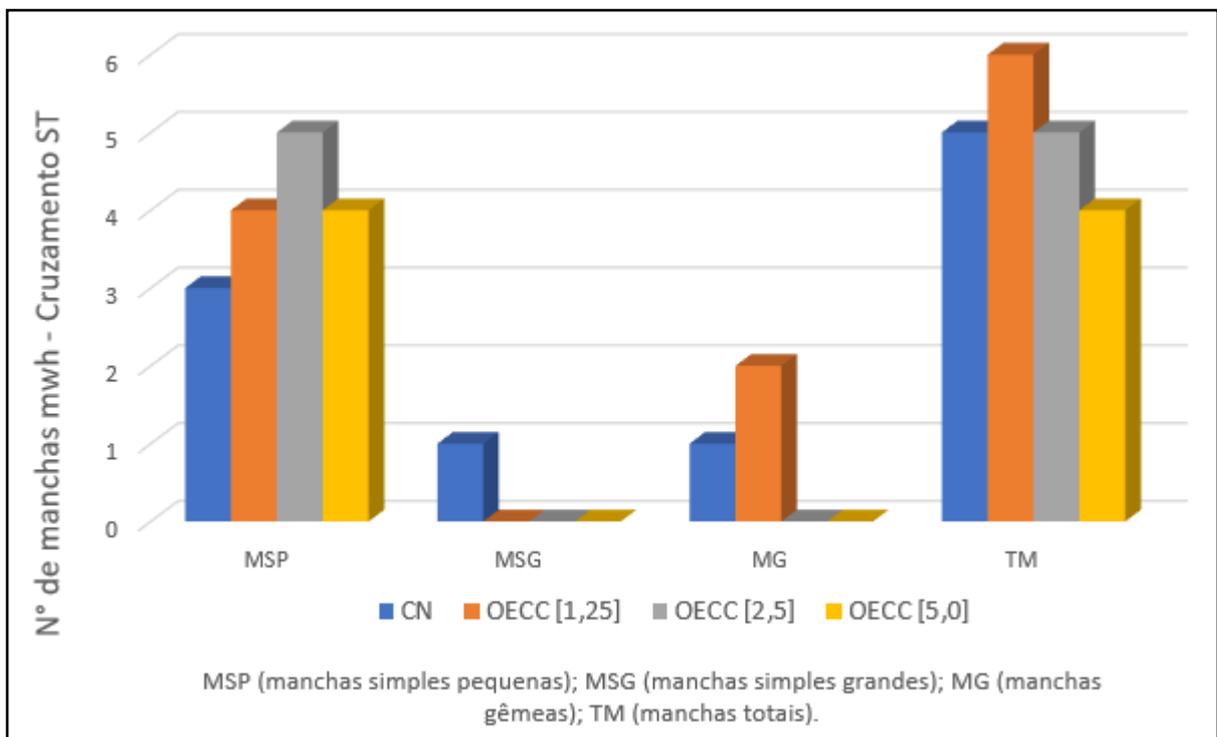
Na concentração de 2,5 mg/mL não houve diferenças quanto a MSP e MSG ao comparar com o controle negativo, enquanto o TM diminuiu quando comparado ao controle negativo.

Ao observar a concentração de 5,0 mg/mL pode-se notar que houve aumento de MSP, MSG e MG, resultando num aumento de TM quando comparado ao controle negativo.

### 5.3.2 Genotoxicidade – Óleo essencial de *Siparuna guianensis* (OESG)

Os cruzamentos e tratamentos utilizando OESG também não ofereceram papel mutagênico estatisticamente significativo, porém observou-se padrões de surgimento e/ou supressão no aparecimento de manchas, nas diferentes concentrações utilizadas, conforme representado nos Gráfico 6 e 7.

**Gráfico 6:** Frequências de manchas mutantes de *D. melanogaster* dos cruzamentos padrão (ST) a partir do tratamento com o OESG (*S. guianensis*).



No cruzamento padrão (ST) os resultados obtidos indicam que a concentração de 1,25 mg/mL o OESG foi capaz de diminuir a frequência de MSP e de TM, quando comparado ao controle negativo.

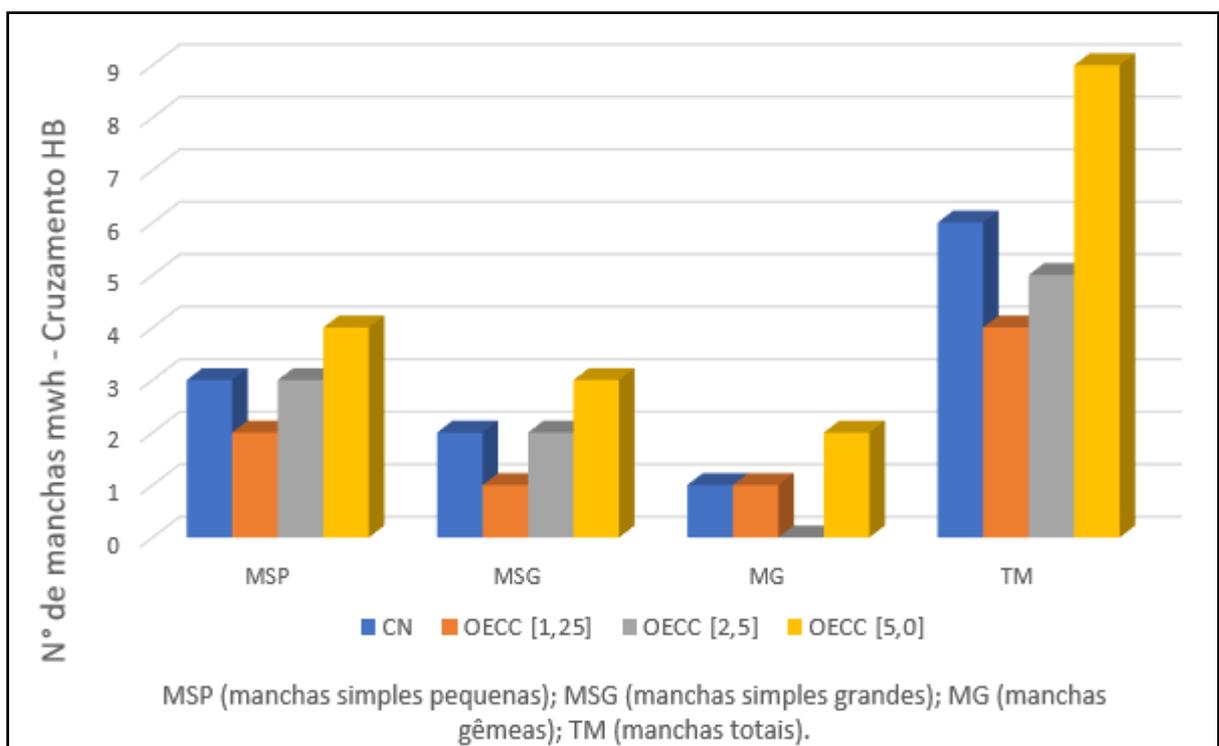
Na concentração de 2,5 mg/mL houve aumento de MG ao comparar com o controle negativo, enquanto se manteve estável quanto ao TM. Ao observar a concentração de 5,0 mg/mL pode-se notar que houve diminuição de MSP, aumento de MSG, MG e de TM quando comparado ao controle negativo.

No cruzamento de alta bioativação metabólica (HB) os resultados obtidos indicam que na concentração de 1,25 mg/mL o OECC foi capaz de aumentar a frequência de MSP enquanto diminuiu em MSG, mantendo estável em MG e TM

quando comparado ao controle negativo. Na concentração de 2,5 mg/mL houve aumento de MSP, enquanto houve diminuição de MSG e MG, mantendo estável o TM quando comparado ao controle negativo.

Ao observar a concentração de 5,0 mg/mL pode-se notar que houve estabilidade quanto à MSP, diminuição em MSP, de MG e de TM quando comparado ao controle negativo.

**Gráfico 7:** Frequências de manchas mutantes de *D. melanogaster* dos cruzamentos de alta bioativação (HB) a partir do tratamento com o OESG (*S. guianensis*).



## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro* e seletividade

#### 6.1.1 Óleo essencial - *Endlicheria paniculata*

As espécies utilizadas neste estudo são comumente utilizadas pela medicina popular do cerrado e pantanal brasileiros, porém estas espécies até o momento não foram estudadas quanto a sua atividade antieoplásica, tão pouco do gênero em questão, *Endlicheria*, sendo então utilizadas bases comparativas para tal discussão aqueles estudos realizados com outras espécies e gêneros da mesma família vegetal, a família Lauraceae.

Conforme analisado neste trabalho, o OEEP apresentou atividade citotóxica frente à U251 (célula neoplásica). Porém, foram inativas em todas as demais linhagens celulares.

Dantas *et al.*, (2022) estudaram o OE das folhas de outra espécie da mesma família Lauraceae (*Ocotea minarum*) e apresentaram resultados parecidos com o presente estudo, uma vez suas plantas também não apresentaram propriedade citotóxica, mutagênica ou toxicidade na grande maioria das linhagens testadas.

Em um estudo realizado com cascas e folhas da espécie *Alseodaphne semecarpifolia* da mesma família Lauraceae cultivada na Índia (solo argiloso e impermeável), Chethankumara *et al.* (2021) apontaram atividade seletivamente tóxica B16-F10 e apresentando baixa toxicidade para células normais.

Ao comparar com os resultados da *E. paniculata* típica em solos de cerrado pode-se inferir que a seletividade para algumas linhagens pode depender dos metabólitos produzidos pelas espécies, uma vez que o solo e o ambiente em torno da planta podem influenciar na qualidade dos compostos produzidos (DE MORAIS, 2017).

O valor de GI<sub>50</sub> de OEEP foi de 2,71 µg/mL para linhagem U251. Unlu *et al.* (2010) relatam atividade anticancerígena de OEs da casca de *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) com valores de GI<sub>50</sub> inferiores a 20 µg/mL para duas linhagens celulares (H-Ras - 5RP7 e fibroblastos embrionárias – F2408), indicando que o OE da *E. paniculata* é cerca de 10 vezes mais ativo que OE da casca de *C. zeylanicum*.

Lillo *et al.* (2021) ao estudarem metabólitos secundários do extrato de fruto e da folha do *Persea lingue* também da família Lauraceae, observou-se que os OEs obtidos garantiram, através dos compostos lipídicos abacatefuranos e acetogeninas, a morte celular em células Jurkat e Katsumi-1 (linhagem de leucemia de linfócitos T) em diferentes ensaios e não altera significativamente células normais, sendo este um resultado importante para a sua potencialidade terapêutica, o que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho, onde os OEs de *E. paniculata* (Lauraceae) foram citotóxicos à célula neoplásica (U251) e inativas em linhagens normais.

#### 6.1.2 Óleo essencial - *Siparuna guianensis*

Estudos relacionados a espécie e ao gênero da planta *Siparuna guianensis* são escassas, sendo necessária a utilização de artigos envolvendo a família botânica Siparunaceae.

Neste estudo, o OESG apresentou atividade citotóxica sobre B16-F10 e U251 e inatividade para células normais. Cavalieri *et al.* (2011) ao pesquisar  $\alpha$ -bisabolol, que é um pequeno álcool sesquiterpênico oleoso presente na *S. guianensis*, verificou, através de ensaios com extratos etanólicos, a inibição de crescimento celular em células neoplásicas como melanoma, adenocarcinoma de mama, fígado, carcinoma pulmonar, câncer pancreático e leucemia. Outro estudo com OE desta mesma espécie também apresentou ação citotóxica frente as células leucêmicas (SILVA, 2020).

Segundo Andrade (2013), estudos realizados com OE de folhas da *Siparuna grandiflora* apresentaram atividade citotóxica *in vitro* em células MCF-7 (IG<sub>50</sub> de 3,16  $\mu$ g/mL), além da identificação de germacrona, germacreno B, cadineno, trans- $\beta$ -elemenona e  $\beta$ -elemeno, elementos estes também presentes em *Siparuna guianensis*, que apresentou IG<sub>50</sub> semelhante a este estudo para B16-F10 e U251 (IG<sub>50</sub>=28 e IG<sub>50</sub>=2,55, respectivamente). Além destes resultados, o autor ainda aponta atividade citotóxica em células RAW 264.7 (macrófagos de rato) a partir dos extratos etanólicos das folhas de *S. guianensis*.

Os OEs extraídos de folhas de *S. guianensis* contém  $\beta$ -mirceno (13,14%), germacreno-D (8,68%) e biciclogermacreno (16,71%), sendo este último já descrito

na literatura como um sesquiterpeno que apresenta ação citotóxica (GRECCO *et al.*, 2015), o que pode justificar a positividade para atividade citotóxica sobre duas das três linhagens tumorais (B16-F10 e U251) testadas neste presente estudo.

Para Gonçalves *et al.* (2012), o OE de *S. tortuosum* apresentam também efeitos citotóxicos e estão relacionados com a presença dos compostos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno, compostos estes presentes na *S. guianensis*, corroborando assim com o descrito neste estudo.

Perés *et al.* (2009) apontaram em seus estudos que OE de *P. gaudichaudianum* (Siparunaceae) apontaram efeitos citotóxicos para linhagens normais, contendo neste OE compostos sesquiterpenos, que são descritos na literatura como inibidores principalmente de linhagens de células tumorais através de mecanismo de ação potencialmente alelopáticos (DA SILVA *et al.*, 2009) e, após levantamento bibliográfico, identificou-se que a *S. guianensis* apresenta diversos compostos sesquiterpenos, o que auxilia a justificar sua alta atividade antineoplásica no presente estudo, porém, não citotóxica para linhagens normais. Quanto à linhagem normal, a *S. guianensis* não foi citotóxica para 3T3 (IG<sub>50</sub>= 44,3  $\mu$ g/mL) e HUVEC (IG<sub>50</sub>= 673  $\mu$ g/mL), enquanto a espécie *P. gaudichaudianum* foi citotóxica (GI<sub>50</sub>=2  $\mu$ g/mL) em célula V79 (fibroblastos de pulmão de hamster chinês).

O OE de *S. guianensis* apresentou seletividade para as linhagens MCF7 e U251, indicando assim ser mais seletiva para células neoplásicas do que para as normais. Em sua investigação, Espiña (2015) identificou pirimidobenzimidazóis como compostos com efeito antitumoral também seletivo para MCF-7 e, desta forma, indica que moléculas isoladas seletivas se tornam promissoras para futuros estudos *in vivo*, uma vez que quando o composto é seletivo para linhagem neoplásica e que não afete linhagem normal, a situação se torna ideal na busca para os esquemas quimioterápicos. Para Delgado *et al.* (2020) moléculas seletivas indicam ser estáveis frente a tipos de linhagens celulares específicas, o que justifica o financiamento de mais pesquisas para estes compostos.

### 6.1.3 Óleo essencial - *Matayba guianensis*

Poucos estudos com a espécie em questão foram encontrados na literatura, por tanto, artigos que trazem estudos realizados com outras espécies e gêneros da mesma família vegetal, a família Sapindaceae, foram utilizados para esta discussão.

Estudos realizados por Zandonai (2007) com extratos de cascas de *Matayba elaeagnoides* (200 µg/mL) demonstraram a presença de éteres diglicosídeos (chamados matayosides), assim como encontrada em *M. guianensis* (BHATTACHARYYA *et al.*, 2017), em que este composto apresenta atividade biológica antimicrobiana e de supressão no crescimento celular através da ativação da via apoptótica intrínseca e também interrompendo o ciclo celular em G1, semelhante ao encontrado no presente estudo, onde o OE apresentou atividade antiproliferativa em todas as linhagens testadas nesta pesquisa.

PATO (2003) observou que compostos encontrados em extratos de folhas de *M. elaeagnoides*, como o lupeol, pode ter ação de inibição de migração de algumas células inflamatórias. A *M. guianensis*, segundo Bhattacharyya *et al.* (2017), também apresenta triterpenóide lupeol, que de acordo com estudos se mostrou um importante agente supressor de células neoplásicas de cabeça e pescoço (SALEEM, 2009), corroborando com a inibição total de crescimento de duas das três linhagens testadas no presente estudo.

O OEMG apresentou atividade antiproliferativa em todas as linhagens testadas nesta pesquisa, e citotóxicas sobre 3T3 e HUVEC. Em estudos realizados com OEs de folhas de *Paullinia pinnata* e *Dissotis multiflora*, plantas da mesma família Sapindaceae, em células Vero (linhagem celular normal derivada do rim do macaco verde africano *Chlorocebus aethiops*) verificou-se atividade citotóxica da primeira, enquanto da segunda não houveram resultados significativos, não apontando efeito genotóxico (AFAGNIGNI *et al.*, 2020) porém, conforme a literatura, deve-se ter cautela em sua utilização, visto que a *P. pinnata* pode ocasionar problemas com toxicidade corroborando com os resultados do presente estudo onde a *M. guianensis* apresentou toxicidade para células normais (HUVEC GI<sub>50</sub>=30 µg/mL e 3T3 GI<sub>50</sub>=33,5 µg/mL).

O OEMG se apresentou citotóxico frente a células normais (3T3 e HUVEC) neste estudo, o que é discordado por Zhang *et al.* (2016) em que em seu trabalho, realizado na China, com OE de *M. guianensis* não houve atividade citotóxica

(GI<sub>50</sub>=50 µg/mL) para células normais REC-293 (célula de rim de embrião humano) pelo método MTT. Tal diferença entre os resultados comparados pode ser explicada pela diferença de linhagens testadas e sobretudo pelo tipo de solo onde houve o cultivo da espécie.

De acordo com Vasconcelos Silva *et al.* (1999), a composição química e o rendimento de OE variam durante o dia, sendo influenciado pela luz e favorecido em condições de maiores estresses hídricos, o que é característico do bioma cerrado, em que a demanda hídrica é menor quando comparada com os solos cultiváveis chineses, indicando que a potência do OE da espécie nativa do cerrado brasileiro é maior que do outro país em discussão.

#### 6.1.4 Óleo essencial - *Cymbopogon citratus*

Os compostos alfa e beta-citral da *C. citratus*, já foram descritos na literatura com propriedades antitumorais através de estudos *in vitro* com atividade antineoplásica em linhagens neoplásicas colorretais, através de doses elevadas de OE, assim como diminuição de confluência celular, indução apoptótica e efeito migratório em células de câncer colorretal (DOLGHI *et al.*, 2021; RUVINOV *et al.*, 2019).

Da mesma forma, em um estudo *in vivo* com *Lactuca sativa*, Souza; Silva e Viccini (2010) identificaram que, ao se utilizar concentrações cada vez mais elevadas de extratos aquosos de *C. citratus* (5, 10, 20 e 30 mg/mL), houve redução de índice mitótico, de percentual de germinação das sementes e até mesmo de desenvolvimento radicular da espécie. Extratos aquosos de *C. citratus* foram também usados em ensaios biológicos *in vivo* sobre protozoários Plasmodium, parasita da malária, cujo efeito mitodepressivo do extrato também se mostrou presente, sendo este efeito diminuído conforme reduzia-se as concentrações dos extratos (WILLIAMS; OMOH, 1996).

Rojas-Armas *et al.* (2020) apontaram que o OE de *C. citratus* apresentou citotoxicidade em células de câncer de mama (MCF-7), de próstata (PC-3) e glioblastoma humano (SF-767), relacionando tal atividade citotóxica ao composto químico citral, muito característico deste óleo, onde este desempenha alta atividade biológica antiproliferação (ALMEIDA *et al.*, 2018).

Ao comparar com os resultados deste presente estudo, onde o OE foi inativo frente a B16-F10 e MCF7, pode-se inferir que as espécies cultivadas nas altas altitudes do Peru e nas diferentes sazonalidades locais no estudo de Rojas-Armas *et al.* (2020) podem produzir compostos alterados quando comparadas com as espécies cultivadas à nível do mar, como o que ocorre no cerrado e pantanal.

De acordo com Gobbo-Neto; Lopes (2007), fatores como desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico e sazonalidade; temperatura e altitude podem influir no metabolismo secundário, assim como as baixas temperaturas clássicas de países altos, têm influências significantes nos níveis de metabólitos secundários.

Valarini; Frighetto e Spadotto (1996) mostraram em seu estudo com suspensão de OE de *C. citratus* a presença de efeitos inibitórios e até inibição total mitótica de sementes de *Digitaria horizontalis*, *Sorghum halepense*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* e *Raphanus raphanistrum*.

Em seu estudo, Suaeyun *et al.* (1997) já traziam que o tratamento com *C. citratus* poderia ser, no futuro, protetivo contra cânceres, uma vez que se observou a inibição significativamente a formação de criptas cancerosas, tanto no estágio de iniciação quanto no estágio de promoção, na mucosa colônica e na camada muscular de cólon de cobaias. Logo, esses resultados sugerem que *C. citratus* pode inibir a proliferação celular.

Ruvinov *et al.* (2019) citam que a espécie *C. citratus* é um potencial agente anticâncer quando utilizado sozinho ou em associação com quimioterápicos, não alterando assim a sua atividade. Em estudos *in vivo* realizados em camundongos, os polissacarídeos possibilitam inibição de tumor e estimulador de secreção de IL-2, IL-6, IL-12 e TNF- $\alpha$ , porém quando realizado *in vitro* não apresentam citotoxicidade direta (BAO *et al.*, 2014), resultados estes que corroboram com o encontrado nesta presente pesquisa.

## 6.2 Ensaio SMART

### 6.2.1 Genotoxicidade – Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (OECC)

Os ensaios citogenéticos vêm sendo realizados em decorrência da grande possibilidade na avaliação de genotoxicidade em condições *in vitro* e *in vivo*. Com

isso é possível avaliar o índice mitótico, formação de micronúcleos e aberrações cromossômicas, usados para quantificar parâmetros citogenéticos para a análise citotóxica e genotóxica (PUGLIESI *et al.*, 2007).

Nos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação metabólica (HB), nos tratamentos feitos com o OE de *C. citratus* neste presente estudo, os resultados obtidos indicam que não houve atividade tóxica, possivelmente por conta das baixas concentrações de OEs utilizadas neste estudo (1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL).

Johnson *et al.*, (2021) demonstraram que *C. citratus* se torna consideravelmente tóxica quando está em alta concentração para *Drosophila melanogaster*. Em seu ensaio, os autores expuseram as moscas a 100 e 200 mg/mL do extrato de folha da planta por 3 h e esta exposição reduziu significativamente a taxa de sobrevivência das moscas durante todo o período de exposição.

Ao comparar estes resultados com os resultados deste presente estudo, em que a taxa de sobrevivência das moscas foi de 80% durante o tratamento com a concentração máxima de 5,0 mg/mL de OE de *C. citratus*, observa-se que, ao modo que a concentração de extrato ou de OE aumenta, a capacidade mutagênica e inibitória aumenta em paralelo.

Nosso estudo indica que nas concentrações testadas, houve atividade inibitória apenas em células não neoplásicas e, ao mesmo tempo, não mutagênicas para *D. melanogaster*, demonstrando a necessidade de estudos posteriores que regulem a concentração adequada para inibir células neoplásicas e não ser genotóxica em ensaios *in vivo*.

O citral é um componente importante presente no perfil químico da *C. citratus*, com propriedades antitumorais e indutoras apoptóticas (DOLGHI *et al.*, 2021; RUVINOV *et al.*, 2019) também foi testado quanto a genotoxicidade com OE de *Lippia alba*, espécie vegetal que também apresenta tal composto, frente à bactéria *Escherichia coli*, e não apresentou efeitos genotóxicos, e sim antigenotóxicos, com efeito protetivo frente as células bacterianas (LÓPES; STASHENKO; FUENTES, 2011).

Em outros testes de mutagenicidade, como o de micronúcleo de camundongo, o citral, em suspensão aquosa (60 mg/kg de peso corporal, por via oral) inibiu significativamente a formação de micronúcleos, que seriam induzidos por compostos mutagênicos, novamente indicando seu potencial de proteção genética (RABBANI *et al.*, 2006), corroborando com o presente estudo, em que o composto

citral encontrado no OE não gerou mutagenicidade em células de *D. melanogaster* e, possivelmente, garantiu proteção genética.

Fuentes *et al.* (2006) também investigaram as atividades antigenotóxicas de extratos de *C. citratus* contra a ação de raios gama sobre células não tumorais humanas, sendo identificada tal atividade contra os raios quando as células foram pré-tratadas com estes extratos, sugerindo uma possível ação protetora antigenotóxica através de mecanismos sequestradores de radicais livres.

Por meio dos extratos etanólicos e aquosos é possível realizar a extração de constituintes e metabólitos secundários, responsáveis estes por possibilitar as ações biológicas dos vegetais. Estes constituintes são influenciados por diferentes fatores como solo e clima (SILVA *et al.*, 2021).

Ruiz *et al.* (1996) indicam que, a partir de extratos aquosos e etanólicos de *C. citratus*, não houve toxicidade em testes sobre *Aspergillus*, bem como genotoxicidade, havendo, porém, atividade antimutagênica relacionada a compostos químicos como citral e beta-mirceno, um componente sesquiterpênico do OE. Inclusive, testes de mutagenicidade *in vitro* indicam fortemente que, assim como o citral, o beta-mirceno não é uma substância genotóxica e sim protetora genética (ZAMITH *et al.*, 1993).

Estudos da ação dos extratos e OEs de *C. citratus* sobre outros vegetais também foram realizados. Em uma pesquisa com *Lactuca sativa*, observou-se que extratos etanólicos, apenas em concentração muito alta (30 mg/mL), de *C. citratus* induziram, além de morte celular radicular, aberrações cromossômicas, com “migração atrasada dos cromossomos, pontes cromossômicas, quebras cromossômicas, viscosidade cromossômica, desvio polar e micronúcleo” (SOUSA; SILVA; VICCINI, 2010).

Akinboro e Bakare (2007) observaram que extratos aquosos de *C. citratus* testados sobre a espécie *Allium cepa* também apresentou efeitos mitodepressivos na divisão celular e distúrbios do fuso mitótico induzidos e, desta forma, os resultados sugerem atividade inibitória e mitodepressiva em altas concentrações (50 µg/mL). Desta forma, tais estudos demonstram a importância em se conhecer as concentrações efetivas tanto para efeitos genotóxicos quanto antigenotóxicos.

Poucos são os estudos relacionados à *C. citratus* e ensaios de mutagenicidade em *D. melanogaster*, porém, a capacidade mutagênica de extratos

etanólicos em outros seres vivos, como em ensaios microbiológicos, se mostrou negativa em concentrações baixas (GILBERT; ALVES; FAVORETO, 2022).

Vinitketkumnuen *et al.* (1994) analisaram o potencial mutagênico de extrato etanólico da espécie sobre a bactéria *Salmonella* e não foram encontradas alterações genéticas. No mesmo estudo, os autores induziram mutações nestas cepas e verificou-se propriedades antimutagênicas nesta planta, reforçando a *C. citratus* como protetora de alterações genéticas, excetuando quando em altas concentrações.

Como já citado, a capacidade inibitória de metabólitos vegetais pode variar conforme as condições ambientais do cultivo vegetal, tratamento, concentração e tipo de composto testado, sejam extratos ou OEs.

Neste estudo, a concentração baixa testada de OE de *C. citratus* pode ter desempenhado um papel biológico tímido, o que auxiliará outros estudos a delimitarem as melhores concentrações para resultados mais satisfatórios.

#### 6.2.2 Genotoxicidade – Óleo essencial de *Siparuna guianensis* (OESG)

Nos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação metabólica (HB) com o OE de *S. guianensis*, os resultados obtidos indicam ausência de atividade tóxica, também possivelmente por conta das baixas concentrações de OEs utilizadas nesta pesquisa. Apesar da grande utilização *S. guianensis* na medicina tradicional, não há muitos estudos disponíveis que comprovem a eficácia dos extratos desta planta quanto à mutagenicidade ou antimutagenicidade. Thomé *et al.* (2012) realizaram estudos com extratos hidroalcoólicos da planta (entre 0,68 e 10,90 mg placa<sup>-1</sup>) e sua ação mutagênica sobre células não tumorais não foi identificada, bem como outras ativações metabólicas. Os estudos envolvendo a mosca *D. melanogaster* e os compostos de *S. guianensis* são muito escassos, sendo este um estudo pioneiro com dados inéditos de citotoxicidade e mutagenicidade.

Estudos paralelos que envolvam a família Siparunaceae e a espécie *S. guianensis* demonstrou que, pesquisas acerca de um sesquiterpeno muito presente no OE das espécies que compõem esse grupo, garantiu resultados promissores sobre a ação biológica que o grupo pode desempenhar. O  $\alpha$ -bisabolol é um composto amplamente encontrado nos OEs de *S. guianensis* e, após um ensaio

biológico com OE desta planta contra carrapatos da espécie *Rhipicephalus microplus*, Diniz (2014) indicou que a presença de inibição de crescimento sobre o aracnídeo, especificamente em larvas e fêmeas, foi significativa, demonstrando a alta atividade deletéria do OE.

Neste presente estudo, os resultados obtidos indicam que a concentração de 5,0 mg/mL (a mais alta do experimento) influenciou, mesmo que timidamente, no aumento de manchas simples grandes; manchas gêmeas; manchas totais, o que pode ser relacionado com a presença do  $\alpha$ -bisabolol, composto que, de acordo com Amaral *et al* (2021), tem a capacidade de inibição de produção de óxido nítrico, de prostaglandinas e a redução na expressão de uma série de genes ainda não totalmente descritos.

Em seu estudo com a espécie *Peumus boldus*, da mesma família da *S. guianensis*, Carmona *et al.* (2017) analisaram que a capacidade mutagênica de diferentes concentrações de extratos aquosos dessa espécie (entre 2,28 e 9,12 mg/ml) não induziu significativamente efeitos mutagênicos em *D. melanogaster*. No entanto, mostrou uma diminuição de manchas mutantes em células somáticas de *D. melanogaster*, indicando efeitos desmutagênicos. Segundo os resultados expostos pelos autores, os efeitos antimutagênicos apresentados podem ser resultados dos diferentes compostos fitoquímicos presentes na família e que possuem potencial antioxidante, como flavonoides, sesquiterpenos e antiocianinas.

Corroborando com estudos que indicam atividade biológica para OE de *S. guianensis*, Ferreira *et al.* (2017) em seu ensaio com duas mariposas (*Galleria mellonella* e *Achroia grisella*), observaram que 0,08  $\mu$ g/mL de OE de *S. guianensis* foram suficientes para que houvesse atividades repelentes contra as larvas e adultos das duas espécies, representando uma ferramenta desejável para substituir o uso de inseticidas sintéticos.

Assim, indícios de que mínimas concentrações de OE de *S. guianensis* são suficientes para garantir alterações celulares e/ou moleculares distorcem dos resultados encontrados em *C. citratus*, em que atividades biológicas, como a mutagênica ou antimutagênica, demandam de altas concentrações para se manifestarem.

Outro estudo envolvendo insetos e que podem auxiliar na compreensão da atividade dos OEs de *S. guianensis*, foi executado por Ferreira *et al.* (2019), onde os autores observaram que o OE também afeta a atividade larvicida de *Aedes aegypti*,

identificando que quanto maior a proporção de OE utilizado no ensaio, maior a atividade larvicida sobre este inseto e, com baixas concentrações de OE no meio, ainda assim haverá atividade mitodepressiva e dessa forma, a utilização de *S. guianensis* se torna uma potencial promissora alternativa de controle larvicida e controle biológico.

A atividade inseticida sobre duas populações de lagartas (*Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*) relacionada à *S. guianensis* também foi encontrada no estudo de Lourenço *et al.* (2018). Desta vez, a atividade larvicida foi associada com necrose e efeitos apoptóticos revelados por ensaios *in vitro* com linhas celulares destas lepidópteras. Segundo os autores, “déficits na reprodução (dissuasão da postura e diminuição da viabilidade dos ovos), desenvolvimento larval (inibição da alimentação) e locomoção (atividades de caminhada de larvas individuais e em grupo)” foram registradas quando expostos ao OE da espécie. Assim, de forma semelhante aos estudos já apresentados nesta discussão, a *S. guianensis* se representa uma ferramenta de manejo promissora contra as principais pragas de lepidópteros.

A capacidade mutagênica e/ou inibitórios em ensaios microbiológicos também foi analisada em alguns trabalhos. De acordo com Andrade (2013) os OEs de *S. guianensis* apresentaram efeito inibitório para as bactérias, ou nenhuma inibição, principalmente quando testadas com bactérias Gram-negativas. Já quando testados com fungos (*Aspergillus* e *Penicillium*), os OEs apresentaram efeito inibitório satisfatório, sendo sempre mais sensíveis ao OE de *S. guianensis* do que de outra espécie estuda em paralelo (*Cinnamodendron dinisii*) (ANDRADE, 2013).

Ensaio realizados com outras espécies da família Siparunaceae frente à *D. melanogaster* apresentaram resultados importantes quando se analisa efeito mutagênico e antimutagênico. Em seu estudo, Pina (2016), ao analisar extratos etanólicos de folhas e caule de *Siparuna poeppigii* em concentração de 50 µg/mL, registrou resultados importantes quanto aos ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade uma vez que, apesar de produzir uma inibição de apenas 25%, os extratos apresentaram  $CI_{50}$  de 12,41 µg/mL, sendo considerada ativa para ensaio de atividade antiplasmódica. Segundo a literatura, estudos realizados com espécies do mesmo gênero apresentaram resultados pouco consideráveis em relação a citotoxicidade, diferenciando-se do OE de *S. guianensis*, que apresentou resultados significativos, sendo considerado citotóxico.

## 7 CONCLUSÃO

Na triagem da atividade antiproliferativa pelo método SRB, o óleo essencial de *Matayba guianensis* (OEMG) foi o que apresentou melhores resultados frente a células neoplásicas B16-F10, MCF-7 e U251, além de apresentar citotoxicidade sobre linhagens normais. A linhagem neoplásica U251 foi também inibida frente aos óleos essenciais testados de *Endlicheria paniculata* e *Siparuna guianensis*, com GI<sub>50</sub> variando de 2.55 a 6.15 µg/mL.

O óleo essencial de *Endlicheria paniculata* apresentou atividade citotóxica nas linhagens normais 3T3 e HUVEC, assim como o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* que apresentou atividade apenas nessas linhagens não tumorais.

O óleo essencial de *Matayba guianensis* apresentou os melhores resultados quanto à atividade de inibição total de crescimento após 48 h de exposição, com inibição potente a linhagem tumoral U251 e fracamente na linhagem tumoral MCF7, e a célula normal murina 3T3.

O IS foi calculado a partir da razão das GI<sub>50</sub> entre 3T3 e B16 mostrou que não houve seletividade das quatro amostras sobre a linhagem neoplásica murina, indicando que os óleos essenciais não foram seletivos para linhagem B16. Já entre HUVEC e MCF7 e U251, o óleo essencial de *Endlicheria paniculata* apresentou melhor resultado com seletividade tanto de carcinoma de mama quanto para glioblastoma humana.

Quanto ao ensaio SMART os dados encontrados nos tratamentos feitos com os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Siparuna guianensis* indicaram que os mesmos, nas concentrações avaliadas de 1,25, 2,5 e 5,0 mg/mL, não possuem atividade tóxica ou mutagênica, uma vez que taxa de sobrevivência das larvas e moscas foi de 80%. A análise microscópica das asas de indivíduos adultos mostrou que as frequências de manchas mutantes foram estatisticamente não significativas.

Portanto, com base nos resultados encontrados, concluiu-se que os óleos essenciais de *Matayba guianensis* e de *Siparuna guianensis* apresentaram-se como potenciais fontes de compostos bioativos com efeito antitumoral significativo e de melhor resultado para seletividade para células tumorais, respectivamente. Sendo assim, podem ser consideradas como potenciais agentes anticâncer com efeitos promissores e essenciais na busca de novos fármacos na terapêutica antitumoral.

## REFERÊNCIAS

- AFAGNIGNI, A. D. *et al.* LC-MS Analysis, 15-Lipoxygenase inhibition, cytotoxicity, and genotoxicity of *Dissotis multiflora* (Sm) Triana (Melastomataceae) and *Paullinia pinnata* Linn (Sapindaceae). **J Trop Med**, v. 18, 2020.
- AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. **Journal of ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 470–475, 2007.
- ALCÂNTARA, I. M. *et al.* Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais das folhas e caule de *Rodostemonodaphne parvifolia* Madriñán(Lauraceae). **Acta Amazônica**, v. 40, n. 3, p. 567-572, 2010.
- ALMEIDA, K. B. *et al.* *In vitro* release and anti-herpetic activity of *Cymbopogon citratus* volatile oil-loaded nanogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 4 p. 495-502, 2018.
- ALMEIDA, V. M. *et al.* Anticancer drug screening: standardization of *in vitro* wound healing assay. **J Bras Patol Med Lab**, v. 55, n. 6, p. 606-619, 2019.
- AMARAL, V. *et al.* Alpha-Bisabolol: a review of bioactive properties antiphlogistic. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021.
- ANAYA-GIL, J. *et al.* *In vivo* evaluation of the toxic activity and genotoxicity of the *Hymenaea courbaril* L.'s resin in *Drosophila melanogaster*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 480-488, 2022.
- ANDRADE, M. A. **Óleos essenciais de *Cinnamodendron dinisii* Schwacke e *Siparuna guianensis* Aublet: composição química, caracterização das estruturas secretoras e avaliação do potencial biológico.** 2013. 226 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- ANTAR, G. M.; SANO, P. T. Angiosperms of dry grasslands and savannahs of Jalapão, the largest conserved Cerrado area in Brazil. **Rodriguésia**, v. 70, 2019.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. **Resolução da diretoria colegiada - RDC N° 26. 2014.** Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf) Acesso em: 18/04/2021.
- ARGENTA, S. C. *et al.* Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.
- ASSUMPÇÃO, I. C. P.; CARVALHO, B. A.; FERNANDES, M. M. Bioprospecting of medicinal plants with anticancer potential in Brazil: characterization and extraction methods. **Rev Fitos**, supl 2, p. 156-175, 2022.
- BARBOSA, N. P. **Avaliação do potencial mutagênico e carcinogênico do dicloridrato de pramipexol em células somáticas de *Drosophila melanogaster*.**

2019. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

BAO, F.; LIMA, L. B. L.; LUZ, P. B. Caracterização morfológica do ramo, sementes e plântulas de *Matayba guianensis* Aubl. e produção de mudas em diferentes recipientes e substratos. **Revista Árvore**, v.38, n.1, p.63-71, 2014.

BERANGER, P. M. *et al.* Analysis of the mortality rate of the main malignant neoplasms in Brazil and their respective international scenarios: a comparative study. **Brazilian Journal of Health Review**, v.5, n.1, p. 3812-3831, 2022.

BERZOFSKY, J. A. *et al.* Progression new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. **The Journal of clinical investigation**, v. 113, n. 11, p. 1515-1525, 2004.

BHATTACHARYYA, S. *et al.* CDKN2A-p53 mediated antitumor effect of Lupeol in head and neck cancer. **Cellular oncology**, v. 40, n. 2, p. 145–155, 2017.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, n. 08, p. 949-958, 2022.

BOEHM, J. S.; HAHN, W. C. Immortalized cells as experimental models to study cancer. **Cytotechnology**, v. 45, n. 2, p. 47-59, 2004.

BOGO, D. **Avaliação da atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo* de compostos de liquens**. 2012. 110f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento) – Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste, Universidade Federal Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2012.

BONOW, C. T. *et al.* Medicinal plants used in self-care by people with cancer in palliative care. **Texto & Contexto – Enfermagem**, v. 29, 2020.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agroecologia**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

BRASIL, Ministério da saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, 2016. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf). Acesso em 18 de abr. de 2021.

BRASIL, Ministério do meio ambiente. Biodiversidade. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>. Acesso em 18 de abr. de 2021.

BRITO, A. M. G. *et al.* Aromaterapia: da gênese a atualidade. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.4, p.789-793, 2013.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de

Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

CARDOSO, M.N. *et al.* Avaliação de atividade mutagênica de amostras de própolis vermelha do Estado de Sergipe (Brasil) pelo Teste de Mutação e Recombinação Somática em *Drosophila melanogaster*. **Scientia Plena**, v. 11, n. 15, 2015.

CARMONA, E. R. *et al.* Antimutagenic evaluation of traditional medicinal plants from South America *Peumus boldus* and *Cryptocarya alba* using *Drosophila melanogaster*. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 80, n. 4, 208-217, 2017.

CAVALIERI, E. *et al.* Pro-apoptotic activity of  $\alpha$ -bisabolol in preclinical models of primary human acute leukemia cells. **Journal of Translational Medicine**, v. 9, p. 45-57, 2011.

CHANDERBALI, A. S. *Endlicheria* (Lauraceae). **Flora Neotropica**, v. 91, p. 1-141, 2004.

CHETHANKUMARA, G. P. 2021 Isolation, characterization and *in vitro* cytotoxicity studies of bioactive compounds from *Alseodaphne semecarpifolia* Nees. **Heliyon**, v. 15, n. 7, 2021.

CHIAMENTI, L. *et al.* Cytotoxicity and antiviral activity evaluation of *Cymbopogon* spp hydroethanolic extracts. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, 2019.

COELHO, R. L. G. *et al.* Revisão taxonômica de *Matayba* sect. *Matayba* (Sapindaceae, Cupanieae). **Rodriguésia**, v. 68, n. 2, p. 411-443, 2017.

CORTELO, P.C. *et al.* Molecular networking strategy: high-throughput screening and chemical analysis of Brazilian Cerrado plant extracts against cancer. **Cells**, v. 10, n. 3, p. 691, 2021.

COSTA, P. S. *et al.* Antimicrobial activity and therapeutic potential of the genus *Lippia* sensu lato (Verbenaceae). **Hoehnea**, v. 44, n. 2, p. 158-171, 2017.

COUTINHO NETO, A. A. *et al.* **Nutrição mineral: avaliando a escassez nutricional em plantas.** In book: VII Botânica no Inverno 2017 Chapter: Capítulo XIX Publisher: São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2017.

DANTAS, F. G. D. S. *et al.* Cytotoxicity, mutagenicity and acute oral toxicity of aqueous *Ocotea minarum* leaf extracts. **Natural product research**, v. 36, n. 4, p. 1138–1142, 2022.

DANTAS, S. B. S.; ALVES, F. A. M.; CHAPLA, V. M. Chemical, diversity and biotechnological potential of endophytic fungi isolated from Brazilian Cerrado plants. **Biota Neotropica**. v. 21, n. 2, 2021.

DA SILVA, C. B. *et al.* Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* LAM (Araliaceae). **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2373-2376, 2009.

DE AMORIM, É. M. **Estudo da mutagenicidade de metabólitos secundários liquênicos, utilizando o teste smart e ensaio cometa em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2016.

DE ASSIS, P. *et al.* Antifungal ether diglycosides from *Matayba guianensis* Aublet. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 5, p. 1414-1416, 2014.

DE JESUS, G. S., *et al.* Antimicrobial potential of essential oils from Cerrado Plants against multidrug-resistant foodborne microorganisms. **Molecules**, Basel, v, 25, n. 14, p. 3296, 2020a.

DE JESUS, G. S.; *et al.* Antimicrobial potential of *Pectis substriata* essential oil (Asteraceae) against drugresistant *Staphylococcus* strains. **Acad Bras Cienc.** v. 92, n. 4, 2020b.

DE LACERDA NETO, L. J. *et al.* Myorelaxant effect of the dysphania ambrosioides essential oil on *Suscrofa domesticus* coronary artery and its toxicity in the *Drosophila melanogaster* model. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 2041, 2021.

DE MORAIS, C. R. Mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of thiamethoxam insecticide and formulated product in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Chemosphere**, v. 187, p. 163-172, 2017.

DE PAIVA, P. P. An ethanolic extract of *Boehmeria caudata* aerial parts displays anti-inflammatory and anti-tumor activities. **Planta Med Int Open**, v. 7, p. 17–25, 2020.

DE OLIVEIRA, J. V. D. *et al.* Avaliação da atividade genotóxica do ICRF-187 através de teste SMART em *Drosophila melanogaster* - estudo piloto. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 2, 2003.

DE OLIVEIRA, M. R. C., *et al.* Chemical characterization and *in vitro* evaluation of antioxidant and toxic effects using *Drosophila melanogaster* model of the essential oil of *Lantana montevidensis* (Spreng) Briq. **Medicina**, v. 55, n. 5, p. 194, 2019.

DE SÁ, R. E. *et al.* Geraniol, a component of essential plant oils - a scientific mapping of its pharmacological Properties. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021.

DELGADO, G. Y. S. *et al.* Compostos quimioterápicos de ouro: uma visão geral dos complexos anticâncer de AU(I/III) em relação à estrutura do ligante. **Química Nova**, v. 43, n. 8, p. 1104-1124, 2020.

DINIZ, J. A. *Siparuna guianensis* Aublet as new source of  $\alpha$ -bisabolol for control of *Rhipicephalus microplus*. 2014. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica

analítica; Agroquímica inorgânica e Físico-química; Agroquímica orgânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

DLUZNIEWSKI, F. S.; MÜLLER, N. T. G. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas no município de Sete de Setembro, Rio Grande do Sul, Brasil. **Perspectiva**, Erechim. v. 42, n.157, p. 49-61, 2018.

DOLGHI, A. *et al.* Phytochemical analysis and *in vitro* cytotoxic activity against colorectal adenocarcinoma cells of *Hippophae rhamnoides* L., *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils. **Plants (Basel)**, v. 14 n. 10, 2021.

DOMINGUES, S. A.; PAIVA, L. F. Atividade antifúngica de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf frente a leveduras do gênero *Candida* sp. **Revista Fitos**, v. 15, n. 1, p. 22-31, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Mapa de cobertura vegetal do Cerrado**. 2022. Disponível em: [https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/todos?p\\_auth=88e8R3vP&\\_buscamidia\\_WAR\\_pcebusca6\\_1portlet\\_autoriaNome=sano-edson-eyji](https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/todos?p_auth=88e8R3vP&_buscamidia_WAR_pcebusca6_1portlet_autoriaNome=sano-edson-eyji). Acesso em: 23 dez. 2022. Acesso em: 20 nov. 2022.

ESPIÑA, D. C. **Investigação do efeito antitumoral de novos compostos pirimidobenzimidazóis em Câncer de Mama: uma abordagem *in vitro***. Dissertação (Mestrado), 2015, 96f. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

ESPÍRITO SANTO, G. R.; PASA, M. C.; ARRIEL, D. A. A. Conhecimento tradicional e o uso das plantas medicinais em comunidade pantaneira mato-grossense. **Revista Biodiversidade**, v. 21, n. 4, p. 49, 2022.

FARIAS, P. K. S. *et al.* Antioxidant activity of essential oils from condiment plants and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria. **Ciência Rural**, v. 49, n. 2, 2019.

**FARMACOPEIA BRASILEIRA**. 4. ed. São Paulo: Ateneu, 2010. parte I, p. 2-7.

FEITOZA, L. Q.; TERRA, F. S.; GRASSELLI, C. S. M. Medicinal plants and their compounds with therapeutic potential in the treatment of cancer: an integrative review. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 67, n. 1, 2021.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Quím. nova esc.** – São Paulo - SP, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERREIRA, A. L. S.; PASA, M. C.; NUNEZ, C. V. A etnobotânica e o uso de plantas medicinais na Comunidade Barreirinho, Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso, Brasil. **Interações**, v. 21, n. 4, 2020.

FERREIRA, T. P. *et al.* Potential use of negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) essential oil to control wax moths and its selectivity in relation to honey bees. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 151-157, 2017.

FERREIRA, T. P. *et al.* Prolonged mosquitocidal activity of *Siparuna guianensis* essential oil encapsulated in chitosan nanoparticles – PLoS. **Negl Trop Dis.**, v.13, n. 8, 2019.

FERRO, D.; PEREIRA, A. M. S. **Fitoterapia: Conhecimentos tradicionais e científicos**, v. 1, 1 ed. São Paulo: Bertolucci, 2018.

FIGUEIREDO, P. O. *et al.* A New Cytotoxic  $\beta$ -Carboline Alkaloid from *Galianthe thalictroides*. **Planta Med.**, v. 77, p. 1852–1854, 2011.

FILHO, A. A.; FERNANDES, H. M. B.; ASSIS, T. J. C. F. Lauraceae's family: A brief review of cardiovascular effects. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 7, p. 22-26, 2015.

FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V. *et al.* A importância do controle de qualidade de culturas utilizadas em ensaios biológicos e no desenvolvimento de pesquisas na área de saúde. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 6, n. 1, p. 96-108, 2018.

FREI, H.; WÜRGLER, F.E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. **Mutation Research**, v. 203, p. 97-308, 1988.

FRESHNEY, R. I. Cell Line provenance. **Cytotechnology**, v. 39, p. 55-67, 2002.

FRESHNEY, R. I. **Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique**. 5<sup>o</sup>ed. New York: Wiley-Liss, Ch.1, Introduction. p 01-09, 2005.

FUENTES, J. L. *et al.* Usefulness of the SOS Chromotest in the study of medicinal plants as radioprotectors. **International journal of radiation biology**, v. 82, n. 5, p. 323–329, 2006.

GARCEZ, F. R. *et al.* Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Med**, v. 77, p. 383-387, 2011.

GILBERT, B.; ALVES, L. F.; FAVORETO, R. F. **Monografias de Plantas Mediciniais Brasileiras e Aclimatadas**: Volume II. Rio de Janeiro: Abifisa; Editora FIOCRUZ, 291 p., 2022.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.). **Botanical and ecological aspects**, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003.

GONÇALVES, M. J. Composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oils of *Seseli tortuosum* L. and *Seseli montanum* subsp. peixotoanum (Samp.) M. Laínz from Portugal. **Industrial Crops and Products**, v. 39, p. 204-209, 2012.

GONÇALVES, R. A.; PINHEIRO, A. B.; MARTINS, A. R. Estudos anatômicos e microquímicos da folha de *Endlicheria paniculata* (Lauraceae). In: VII Encontro de Ciências da Vida, 2013, Ilha Solteira. **Livro de resumos do VII Encontro de Ciências da Vida**, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRAF, U. *et al.* Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environmental and Mutagenesis**, v.6, p.153-188, 1984.

GRECCO, S. S. *et al.* Chemical composition and *in vitro* cytotoxic effects of the essential oil from *Nectandra leucantha* leaves. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 1, p. 133-137, 2015.

HORTON, N. C.; MATHEW, P. A. NKp44 and natural cytotoxicity receptors as damage-associated molecular pattern recognition receptors. **Frontiers in immunology**, v. 6, p. 31, 2015.

HOUGHTON, P. J. *et al.* The pediatric preclinical testing program: description of models and early testing results. **Pediatric blood & cancer**, v. 49, n. 7, p. 928–940, 2007.

INDRAYANTO, G; PUTRA, G. S.; SUHUD, F. Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research. **Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology**, v. 46, p. 273-307, 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Biomass Brasileiros**; Rio de Janeiro, Brasil, 2014. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/> Acesso em: 10 jan. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA. **Grupo de Pesquisa Ecologia e Evolução de Plantas Amazônicas**. 2020. Disponível em: [http://www.botanicaamazonica.wiki.br/labotam/lib/exe/fetch.php?media=reservaducke:pfrd:guia:146\\_pfrd\\_1999\\_monimiaceae\\_3.pdf](http://www.botanicaamazonica.wiki.br/labotam/lib/exe/fetch.php?media=reservaducke:pfrd:guia:146_pfrd_1999_monimiaceae_3.pdf). Acesso em: 09 dez 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, Ministério da Saúde, Brasil. **O que é câncer?** 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em 17 abr. 2021.

ITHARAT, A. *et al.* *In vitro* cytotoxic activity of thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 33-38, 2004.

JOHNSON, T. O. *et al.* Biochemical evaluation and molecular docking assessment of *Cymbopogon citratus* as a natural source of acetylcholine esterase (AChE)-targeting insecticides. **Biochem Biophys Rep**. v. 28, 2021.

LILLO, A. *et al.* Propriedades bioativas de extratos de folhas e frutos de *Persea lingue* Ness (Lauraceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2021.

LIMA, A. B. S. *et al.* Characterization and application of *Lippia alba* (Mill) and *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf. essential oils as natural sanitizers in coriander. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 4, p. 993-998, 2019.

LIMA E SILVA, M. C. B. **Bioprospecção de extratos de frutos do cerrado com potencial antiproliferativo e estudo químico e efeitos tóxico, genotóxico e antitumoral do extrato mais ativo em células neoplásicas de melanoma murino B16-F10. 2018.** 138f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento) – Programa de Pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste, Universidade Federal Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2018.

LIMA, R. A.; PIRES, L. S. dos S.; VIEIRA, N. G. A educação ambiental e o uso de plantas medicinais utilizadas pela população do distrito de União Bandeirante-Rondônia. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM**, Santa Maria, v. 18 n. 4, p.1351-1360, 2014.

LOMBREA, A., *et al.* A recent insight regarding the phytochemistry and bioactivity of *Origanum vulgare* L. essential oil. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 24, 2020.

LÓPEZ, M. A. STASHENKO, E. E.; FUENTES, J. L. Chemical composition and antigenotoxic properties of *Lippia alba* essential oils. **Genetics and molecular biology**, n. 34, n. 3, p. 479-488, 2011.

LOURENÇO, A. M. *et al.* Essential oil of *Siparuna guianensis* as an alternative tool for improved lepidopteran control and resistance management practices. **Scientific reports**, v, 8, 2018.

LUCEY, B. P. *et al.* HeLa cells, and cell culture contamination. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 133, n. 9, p. 1463-1467, 2009.

MACEDO, I. T. F. *et al.* Anthelmintic effect of *Cymbopogon citratus* essential oil and its nanoemulsion on sheep gastrointestinal nematodes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 3, p. 522-527, 2019.

MACIEL, M. A. *et al.* Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARQUES, T. S. *et al.* Determination of the phytochemical profile and evaluation of biological activities of extract of species *Scleronema micranthum* in the Bombacaceae Family. **Revista Fitos**, v. 10, n. 4, 2017.

MASSON, A. O.; LOMBELLO, C. B. Metodologias de avaliação citotóxica: Estudo comparativo segundo tempo de exposição. **XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**, 2016.

MELLO, I. R.; *et al.* Cluster de sintomas e o impacto na qualidade de saúde global de pacientes com câncer avançado. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 67 n. 3. 2021.

MELRO, J. C. L. *et al.* Ethnobotanical study of Medicinal plants used by the population assisted by the “Programa de Saúde da Família”. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 410, 2020.

MENDONÇA, L. A. B. M. *et al.* Toxicity and phytochemistry of eight species used in the traditional medicine of sul-mato-grossense, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 3, p. 574-581, 2020.

MENEZES, G. I. B. *et al.* Popularidade e uso medicinal do pinhão-roxo (*Jatropha gossypifolia* L.) em comunidades ribeirinhas do pantanal do Mato Grosso do Sul, com ênfase em envenenamentos causados por arraias fluviais. Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP). **Diagnóstico e Tratamento**, v. 25, n. 3, p. 100-103, 2020.

MERCK. **Citronellal for synthesis**, 2022. Disponível em: [https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Citronellal,MDA\\_CHEM-814575](https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Citronellal,MDA_CHEM-814575). Acesso em: 20 dez. 2022.

MICHELETTI, A. C. *et al.* Chemical modifications of a natural xanthone and antimicrobial activity against multidrug resistant *Staphylococcus aureus* and cytotoxicity against human tumor cell lines. **Quim. Nova**, v. 34, n.6, p.1014-1020, 2011.

MICHELIN, D. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 15 n. 8, 2005.

MIRANDA, C. A. S. F. *et al.* Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MIRANDA, C. de S.; PARANHO FILHO, A. C.; POTT, A. Changes in vegetation cover of the Pantanal wetland detected by Vegetation Index: a strategy for conservation. **Biota Neotrop.**, Campinas, v. 18, n. 1, 2018.

MONKS, A. *et al.* Feasibility of a highflux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **J Natl Cancer Inst**, v.83, n. 11, p.757-66, 1991.

MORATORE, C, *et al.* Utilização de *Drosophila melanogaster* como bioindicador na avaliação da letalidade de extrato *Denicotiana tabacum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 471-474, 2009.

NASCIMENTO, M. P. *et al.*, Allelopathic activity of *Matayba Guianensis* Aubl. on *Lactuca sativa* L. and *Cenchrus echinatus* L. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, 2022.

NEGRELLE R. R. B.; GOMES E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Chemical composition and biological activities. **Rev. Bras. Plants Med.** v. 9, p. 80–92, 2007.

NETO, F.R.G. *et al.* Estudo Etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela Comunidade do Sisal no município de Catu, Bahia, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.4, p.856-865, 2014.

NETO, G. G. e MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta bot. bras.**, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

OLIVEIRA, J. S. B. *et al.* Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 208-215, 2017.

OLIVEIRA, L. A. R.; MACHADO, R. D.; RODRIGUES, A. J. L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 16, n. 1, p. 32-40, 2014.

OLIVEIRA, R. J. *et al.* Ocorrência, Biossíntese, Síntese e Aplicações de S-Glicosídeos: uma Visão Geral. **Revista Virtual de Química**. 13, n. 1, 2021.

ORSOLIN, P. C.; NEPOMUCENO, J. C. Potencial carcinogênico do açafrão (*Curcuma longa* L.) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. **Revista Do Núcleo Interdisciplinar De Pesquisa E Extensão Do UNIPAM**, v. 6, p. 55-69, 2009.

OUAKOUAK, H. *et al.* Biological properties of essential oils from *Thymus algeriensis* Boiss. **Plants**, v. 10, n. 4, p. 786, 2021.

PATO, K. A. J. Biologically active pentacyclic triterpenes pentacyclic triterpenes and their current medicine signication. **J. App. Biomed.**, v.1, p. 7-12, 2003.

PEREIRA, G.; CHÁVEZ, E. S.; SILVA, M. E. S. O estudo das unidades de paisagem do bioma Pantanal. **Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 7, n. 1, p. 89-103, 2012.

PERÉS, V. F. *et al.* Chemical composition and cytotoxic, mutagenic and genotoxic activities of the essential oil from *Piper gaudichaudianum*. **Kunth leaves**, v. 47, n. 9, p. 2389-2395, 2009.

PINA, N. D. P. V. **Fitoquímica e atividade antiplasmódica de *Siparuna poeppigii* (Tul.) A. DC. (Siparunaceae)**. 2016. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.

PRADO, A. C. C. *et al.* Etnobotânica como subsídio à gestão socioambiental de uma unidade de conservação de uso sustentável. **Rodriguésia**, v. 70, 2019.

PORTELLA, A. C. F. *et al.* Caracterização físico-química do óleo essencial da *Siparuna guianensis* AUBL. **Química Nova**, v. 37, n. 5, 2014.

POSSENTI, S.; CAMPANA FILHO, R. G.; LEHMANN, M. Estudo da toxicidade

genética relacionada ao tratamento combinado de doxorubicina e cardioxane em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, v. 20, p. 39-48, 2005.

POTT, A.; POTT, V.J. Features and conservation of the Brazilian Pantanal wetland. **Wetlands Ecology and Management**. p. 547-552, 2004.

POTT, A. POTT, V. J. SOBRINHO, A. A. B. **Plantas úteis à sobrevivência no Pantanal**. IV Simpósio sobre recursos naturais e Socioeconômico do Pantanal, 2004. Disponível em: <https://quati.cpap.embrapa.br/agencia/simpan/sumario/palestras/ArnildoPott.PDF>. Acesso em: 12 jan. 2023.

PUAPAIROJ, P. *et al.* Cytotoxic activity of lupane-type triterpenes from *Glochidion sphaerogynum* and *Glochidion eriocarpum* two of which Induce Apoptosis. **Planta Med.**, v.71, p.208-213, 2005.

PUGLIESI, G. C. *et al.* 2007. *In vivo* clastogenicity assessment of the *Austroplenckia populnea* (Celastraceae) leaves extract using micronucleus and chromosomes aberration assay. **Cytologia**, v. 72, p 1-6, 2007.

RABBANI, S. I. *et al.* Citral, a component of lemongrass oil inhibits the clastogenic effect of nickel chloride in mouse micronucleus test system. **Pak J Pharm Sci**. v. 19, n. 108-113, 2006.

RENNER, S. S.; HAUSNER, G. Siparunaceae, Monimiaceae. In G. Harling & L. Anderson (eds.) **Flora of Ecuador**, v. 59, n. 1, p. 125, 1997.

RENNER, S. S.; HAUSNER, G. New species of Siparuna (Siparunaceae) IV. A new subcanopy tree from whitesand areas in Brazil and Venezuela. **Novon**, v. 15, n. 1, p. 202-206, 2005.

RODRIGUES, F. A. F. *et al.* Essential oils isolated from popular medicinal plants and spices as alternative antimicrobial and antibiofilm compounds against the pig pathogen *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Ciência Rural**, v. 53, n. 5, 2022.

ROGERO, S. O. *et al.* Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

ROJAS-ARMAS, J. P. *et al.* The essential oil of *Cymbopogon citratus* Stapt and carvacrol: an approach of the antitumor effect on 7,12-Dimethylbenz-[ $\alpha$ ]-anthracene (DMBA)-Induced Breast Cancer in Female Rats. **Molecules**, v. 25, p. 3284, 2020.

ROSA, M. N. *et al.* Bioprospecting of natural compounds from Brazilian Cerrado biome plants in human cervical cancer cell lines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3383, 2021.

ROVER, M. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de Siparuna guianensis Aubl.** 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, 2006.

RUIZ, A. R. *et al.* Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 52, n. 3, 123–127, 1996.

RUMPHIUS, G.E. Illustrations. **Herbarium amboinense**, v. 5, p. 181, 2022. Disponível em: [http://plantgenera.org/volume.php?id\\_volume=1998&id\\_publication=919&query\\_type=volume&mobile=0&uhd=0&size=0&SID=gfjhd8m8s44278equip1666u9td&lay\\_out=0&group=0&hd=0&thumbnails\\_selectable=0&query\\_broad\\_or\\_restricted=broad](http://plantgenera.org/volume.php?id_volume=1998&id_publication=919&query_type=volume&mobile=0&uhd=0&size=0&SID=gfjhd8m8s44278equip1666u9td&lay_out=0&group=0&hd=0&thumbnails_selectable=0&query_broad_or_restricted=broad). Acesso em: 22 dez. 2022.

RUVINOV, I. *et al.* Lemongrass extract possesses potent anticancer activity against human colon cancers, inhibits tumorigenesis, enhances efficacy of folfox, and reduces its adverse effects. **Integrative cancer therapies**, v. 18, 2019.

SÁ FILHO, G. F. **Avaliação da indução da neuroplasticidade e do potencial antimicrobiano dos extratos metanólicos da catingueira (*Cenostigma bracteosum*) e da canafístula (*Senna trachypus*) plantas nativas da caatinga**. 2022. 145f. Tese (Doutorado em Psicobiologia) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer Lett.**, v. 28, n. 285(2), p. 109-115, 2009.

SANTANA, T. C. de. **Uso do extrato de folhas do Jatobá (*Hymenaea martiana* Hayne) na redução das contagens de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em leite cru**. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.

SANTOS, V. T. dos. **Estudo dos mecanismos moleculares do reparo de quebra de duplas fitas no DNA mitocondrial**. 2015. 125f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SERENO. **Métodos de extração dos óleos essenciais**: destilação a vapor. Missouri Botanical Garden, 2015. Disponível em: [http://plantgenera.org/illustration.php?id\\_illustration=164209&mobile=0&code\\_category\\_taxon=1](http://plantgenera.org/illustration.php?id_illustration=164209&mobile=0&code_category_taxon=1). Acesso em: 20 dez. 2022.

SILVA, A. I. *et al.* Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do *Croton blanchetianus*. **Revista Brasileira Multidisciplinar - ReBraM**, v. 24, n. 1, p. 134-142, 2021.

SILVA, E. O. *et al.* Óleos essenciais no controle da pinta bacteriana e na ativação de respostas bioquímicas em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 3, p. 212-217, 2017.

SILVA, N. B. *et al.* Anti-biofilm and hemolytic effects of *Cymbopogon citratus* (dc) stapf essential oil. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 19, n. 5011, 2019.

SILVA, R. O. *et al.* Cytotoxicity assessment of *Siparuna cymosa* essential oil in the presence of myeloid leukemia cells. **Rev. Virtual Quim.**, v. 12, n. 6, p. 1381-1388, 2020.

SOLDI, C. **Derivados sintéticos dos triterpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina e avaliação das propriedades analgésicas e antifúngicas.** 2007. 103f. Dissertação (Mestrado em Química) - Pós-graduação Integrada em Química Orgânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SOUZA, R. A. C. Dehydrodieugenol B and hexane extract from *Endlicheria paniculata* regulate inflammation, angiogenesis, and collagen deposition induced by a murine sponge model. **Fitoterapia**, v. 147, 2020.

SOUZA, R. A. C. **Estudo fitoquímico das folhas e galhos de *Endlicheria paniculata* e avaliação das atividades biológicas dos extratos e neolignanas.** 2021. 328 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

SOUSA, S. M.; SILVA, P. S.; VICCINI, L. F. Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemon grass) aqueous extracts in vegetal test systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 305-311, 2010

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógramas nativas e exóticas no Brasil**, baseado na APG II. Nova Odessa, Instituto Plantarum, São Paulo, Brasil, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógramas nativas e exóticas no Brasil**, baseado na APG II. Nova Odessa, Instituto Plantarum, São Paulo, Brasil, 2008.

SUAHEYUN, R. *et al.* Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) on formation of azoxymethane - induced DNA adducts and aberrant crypt foci in the rat colon. **Carcinogenesis**, v.18, n.5, p. 949- 955,1997.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. Assays related to cancer drug discovery in K. Hostettmann (ed.), **Methods in Plant Biochemistry**, v. 6, Assays for Bioactivity, Academic Press,London, 71–33, 1991.

TELES, A. M. *et al.* *Aniba rosaeodora* (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 24, 2020.

THOMÉ, R. G., *et al.* Evaluation of healing wound and genotoxicity potentials from extracts hydroalcoholic of *Plantago major* and *Siparuna guianensis*. **Experimental biology and medicine**, v. 237, n. 12, p. 1379–1386, 2012.

TRANG, D. T. *et al.* Essential oils of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) induces apoptosis and cell cycle arrest in A549 lung cancer cells. **BioMed research international**, 2020.

- TRINTINAGLIA, L. Ensaio de citotoxicidade como ferramentas para avaliar a qualidade da água da bacia do Rio do Sinos. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, 2015.
- UNLU, M., E. *et al.* Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3274–3280, 2010.
- VALADARES, B. L. B. *et al.* Teste de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*: uma importante ferramenta na avaliação de genotoxicidade ambiental e na avaliação de agentes mutagênicos e antimutagênicos naturais e sintéticos. **Tópicos em Ciências Naturais e da Saúde**. Caratinga: UNEC, p. 233-250, 2010.
- VALARINI, P. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; SPADOTTO, C. A. 1996. Potential of the medicinal herbage *Cymbopogon citrates* for the control of pathogens and weeds in irrigated bean crop. **Cientifica**, v. 24, p. 199-214, 1996.
- VALENTINI, C. M. A.; RODRÍGUEZ-ORTÍZ, C. E.; COELHO, M. F. B. *Siparuna guianensis* Aublet (negramina): uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 96-104, 2010.
- VASCONCELOS, S. M. G. *et al.* Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, v. 70, n. 1, p. 32-34, 1999.
- VEBER, B. **Avaliação do potencial mutagênico do fungicida clorotalonil em *Drosophila melanogaster***, Mestrado em Ciências Fisiológicas - Fisiologia Animal Comparada. Universidade Federal do Rio Grande, 2019.
- VILELA, M. J. *et al.* Determinação de padrões de crescimento de células em cultura. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 1, pp. 67-72, 2003.
- VINITKETHKUMNUEN, U. *et al.* Antimutagenicity of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) to various known mutagens in salmonella mutation assay. **Mutat Res.** v. 341, p. 71-75, 1994.
- WANDERLEY, M. G. L. *et al.* Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. **Rima**, São Paulo, v. 3, 2003.
- WILLIAMS, G. O.; OMOH, L. E. Mitotic effects of the aqueous leaf extract of *Cymbopogon citratus* in *Allium cepa* root tips. **Cytobios**, v. 87, n. 350, p. 161–168, 1996.
- WOLFFENBUTTEL. A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromoterapia: abordagem técnica e científica**. São Paulo: Roca, 2010.

XAVIER, M. N. *et al.* Composição química do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, n. 5, p. 1433-1448, 2016.

YASIR, M. *et al.* Anti-bacterial activity of essential oils against multidrug-resistant foodborne pathogens isolated from raw milk. **Brazilian Journal of Biology.**, v. 84, 2022.

ZAMITH, H. P. *et al.* Absence of genotoxic activity of beta-myrcene in the *in vivo* cytogenetic bone marrow assay. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 26, n. 1, 93–98, 1993.

ZANDONAI, R. H. **Análise da atividade citotóxica e linfoproliferativa de extratos metanólicos de plantas medicinais sobre células esplênicas murinas.** 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Substâncias Bioativas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2007.

ZARDETO-SABEC; G. *et al.* Plantas medicinais como alternativa no tratamento do câncer. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR.** v. 27, n.3, p.75-80, 2019.

ZENI, A. L. B. *et al.* Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.

ZHANG, W. Q. *et al.* Polyvalent effect enhances diglycosidic antiplasmodial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 121, p. 640–648, 2016.

ZHAO, H. *et al.* Peppermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, 2022.