

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE

FABIANA ANDREIA PADIA MANIÇOBA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA, DA GENOTOXICIDADE E DA
ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO EXTRATO METANÓLICO DAS
FOLHAS DE *Aristolchia nevesarmondiana* E DO EXTRATO METANÓLICO
OBTIDO POR BIOTRANSFORMAÇÃO**

CAMPO GRANDE
2025

FABIANA ANDREIA PADIA MANIÇOBA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA, DA GENOTOXICIDADE E DA
ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO EXTRATO METANÓLICO DAS
FOLHAS DE *Aristolochia nevesarmondiana* E DO EXTRATO METANÓLICO
OBTIDO POR BIOTRANSFORMAÇÃO**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de mestre pela Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, linha de pesquisa Processo Saúde-Doença na Região Centro-Oeste: Aspectos Biopsicossociais, Socioculturais, Ecoambientais, Epidemiológicos e Clínicos.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Danielle Bogo

Co-orientador: Prof^º. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira.

CAMPO GRANDE
2025

FABIANA ANDREIA PADIA MANIÇOBA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA, DA GENOTOXICIDADE E DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO EXTRATO METANÓLICO DAS FOLHAS DE *Aristolochia nevesarmondiana* E DO EXTRATO METANÓLICO OBTIDO POR BIOTRANSFORMAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre pela Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, linha de pesquisa Processo Saúde-Doença na Região Centro-Oeste: Aspectos Biopsicossociais, Socioculturais, Ecoambientais, Epidemiológicos e Clínicos.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Danielle Bogo

Co-orientador: Prof^º. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira.

A banca examinadora, após a avaliação do trabalho, atribuiu ao candidato o conceito

Campo Grande-MS, 21 de Fevereiro de 2025.

BANCA EXAMINADORA NOTA/CONCEITO

Danielle Bogo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição – UFMS

Luciana Miyagusku – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição – UFMS

Rita de Cássia Avellaneda Guimarães – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição – UFMS

À Deus, por meio dEle e para
Ele são todas as coisas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Pai e amigo fiel, ofereço minha mais profunda gratidão. Durante toda esta trajetória, foste meu amparo constante, minha fonte de força e fé inabaláveis. Como diz a Tua palavra, "Alegrai-vos sempre, orai sem cessar e em tudo dai graças" (1 Tessalonicenses 5:18), e assim, com coração agradecido, posso afirmar: obrigada, Senhor! Minha vida, bem como tudo o que faço e sou, pertence a Ti.

À minha madrinha, Wamildes Vieira Rosa Gomes pelos valores e princípios repassados, pelo incentivo ao longo de minha vida acadêmica e por torcer pela minha evolução pessoal e profissional. Qual tenho orgulho de tê-la como um verdadeiro presente de Deus por ser a única Mãe que tive de fato neste mundo, obrigada por todas as suas orações, elas me fortaleceram.

Ao meu pai, Manoel Ademar Maniçoba, cuja a sua escolaridade se restringiu a quarta série do ensino primário e que, mesmo residindo em uma das comunidades mais vulneráveis de Campo Grande-MS, durante minha infância, ele frequentemente me trazia para brincar, quase todos os finais de semana, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Hoje compreendo que, por meio desse gesto simples, mas repleto de significado, ele me procurava indicar o caminho a ser trilhado, incentivando-me a buscar incessantemente uma mudança em minha realidade e a construção de uma trajetória profissional sólida.

À minha melhor amiga, o meu único e verdadeiro amor neste mundo, Maria Helena Rosa Gomes, dirijo minha mais profunda gratidão. Não há palavras que possam expressar plenamente o reconhecimento por todas as formas, muitas delas inimagináveis, pelas quais salvou minha vida. Hoje, entendo com clareza que sou o reflexo do seu legado mais genuíno e significativo.

Ao meu melhor amigo neste mundo Luis Antonio Vieira Gomes da Silva, que há 16 anos tem sido meu verdadeiro alicerce e fonte de força. Sua presença constante, apoio incondicional e incentivo têm me inspirado a buscar continuamente meu aprimoramento acadêmico. Em todos os momentos, os quais nunca permitiu que eu desistisse de acreditar em meus sonhos e objetivos, sendo a minha fortaleza inabalável ao longo desta trajetória.

À minha amiga estimada Cleide Aparecida do Prado Vieira, expresso a mais profunda gratidão por ter alimentado os meus sonhos, objetivos, alma e corpo, já há 22 anos, ao

ter-me mostrado, de maneira tão singular, o caminho dos estudos como uma ferramenta transformadora para alterar totalmente o meu foco e trajetória. Sua orientação, fundamentada no incentivo ao aprendizado e ao conhecimento, revelou-me que, independentemente da minha condição social, eu possuía, sim, o direito de lutar, aspirar a uma formação universitária e construir uma carreira profissional digna.

À minha orientadora Profa. Dra. Danielle Bogo e toda a sua equipe, agradeço por ter me aceitado para nortear o meu aprendizado no mestrado, sou realmente grata por sua generosidade em compartilhar suas experiências, pelos ensinamentos profundos, pela humanidade e compreensão que demonstrou ao longo deste processo, pelo apoio, bem como por incentivar meu desenvolvimento tanto pessoal quanto profissional.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira e a toda a sua equipe, por me acolher no Laboratório CETROGEN. Reconheço o compromisso e a dedicação incansáveis que o senhor investiu na criação e no desenvolvimento deste laboratório. Sinceramente, obrigado por disponibilizar reagentes e técnicas analíticas essenciais para a realização deste estudo, pelos valiosos ensinamentos compartilhados, pela sabedoria e serenidade nas nossas interações, e por todo o apoio fundamental na elaboração deste trabalho.

Manifesto minha profunda gratidão ao Dr. Albert Schiaveto de Souza, à Dra. Débora Marchetti Chaves Thomaz, à Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro, ao Dr. Paulo Robson de Souza, ao Dr. Valter Aragão do Nascimento, ao Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira, à Kelle Cássia Luz Slavec, ao Diego Azevedo Zoccal Garcia, à Alleisa Ferreira Riquelme, ao José Francisco Ríboli, à Verônica Assalin Zorgetto Pinheiro, à Aparecida Rios Soares e ao Valter José da Silva por desempenharem um papel essencial nesta minha trajetória acadêmica. Seu apoio incondicional, incentivo constante e palavras de acolhimento foram decisivos para que eu não desistisse de meus estudos e da condução no delineamento experimental deste trabalho. A sua cumplicidade e dedicação serviram como pilares fundamentais ao longo deste percurso.

Expresso meu mais profundo respeito e sincera gratidão a todos os animais que sacrificaram suas vidas em benefício do desenvolvimento deste trabalho voltado ao avanço científico.

À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, agradeço pelo auxílio financeiro deste Projeto de Pesquisa, assim como à CAPES pelo suporte pecuniário por meio da concessão de minha bolsa de estudos.

Manifesto a minha real gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, vinculado à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, assim como a todos os docentes que integram essa valiosa iniciativa acadêmica.

A todos que, de maneira direta ou indireta, influenciaram um papel na execução deste trabalho, minha sincera gratidão, o meu MUITO OBRIGADA!

Como bem expressou Clarice Lispector: "Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza chega mais longe." Este trabalho só foi possível graças à colaboração e ao apoio de todos vocês, que caminharam ao meu lado ao longo dessa jornada.

...No próximo ano, espalharei em meu peito sementes de girassol e cobrirei a cabeça com ervas aromáticas, para que a minha pele transpire luz e a minha boca profira perfumes. Não me privarei de suculentas alegrias e só darei a meu corpo o que empanturra o espírito...

(Frei Betto, 2002).

RESUMO

A família Aristolochiaceae, à qual pertence *Aristolochia nevesarmondiana*, apresenta uma ampla distribuição global e histórico de uso na medicina tradicional para tratar diversos tipos de patologias, tais como: asma, distúrbios imunológicos, cólicas, intoxicações, doenças pulmonares, diabetes, dores estomacais e câncer. O melanoma é um dos tipos mais agressivos de câncer de pele, com projeções alarmantes de aumento na incidência global. Nesse contexto, investigações sobre substâncias bioativas têm sido conduzidas para identificar novas abordagens terapêuticas. Este estudo avaliou a atividade antiproliferativa *in vitro* e os efeitos *in vivo* dos extratos metanólicos de *Aristolochia nevesarmondiana* (EMFAn) e do material biotransformado pela lagarta *Battus polydamas* (EMBAn). Os ensaios *in vitro* mostrou que EMBAn apresentou melhor atividade biológica contra células tumorais, embora com baixa seletividade ($IS \leq 1$) variando de 0,5 em melanoma murino (B16-F10) a 1,39 no adenocarcinoma de mama triplo-negativo (MDA-MB-231). A citotoxicidade em células normais (NCI/3T3) indicou valores de GI_{50} de 275,01 $\mu\text{g/mL}$ para EMFAn e 275,47 $\mu\text{g/mL}$ para EMBAn, sugerindo perfis citotóxicos semelhantes em células não tumorais. Nos ensaios *in vivo*, a toxicidade aguda do EMBAn em camundongos BALB/C não apresentou diferenças estatísticas significativas no ganho de peso entre os grupos tratados (2.000 a 50 mg/kg) e os controles, tanto para machos ($p = 0,5653$) quanto para fêmeas ($p = 0,112$). A análise da atividade antitumoral demonstrou que, embora o EMFAn tenha mostrado tendência à redução tumoral, os efeitos não foram estatisticamente significativos e houve alta taxa de mortalidade nos animais tratados. O EMBAn, por outro lado, exibiu um perfil de toxicidade mais seguro. A avaliação genotóxica indicou que o EMFAn promoveu um aumento significativo na formação de micronúcleos ($p < 0,01$), evidenciando maior potencial genotóxico em comparação ao EMBAn. Diante dos resultados, o EMBAn surge como uma alternativa promissora para futuras investigações devido ao seu potencial terapêutico e menor toxicidade. No entanto, estudos adicionais são necessários para aprimorar sua seletividade, compreender seus mecanismos de ação e avaliar sua viabilidade clínica no tratamento do melanoma.

Descritores: melanoma experimental; b16-f10; camundongos Balb c; testes de mutagenicidade; *Battus polydamas*.

ABSTRACT

The Aristolochiaceae family, to which *Aristolochia nevesarmondiana* belongs, has a wide global distribution and a historical use in traditional medicine for treating various pathologies, such as asthma, immune disorders, colic, intoxications, lung diseases, diabetes, stomach pain, and cancer. Melanoma is one of the most aggressive types of skin cancer, with alarming projections of increasing global incidence. In this context, investigations into bioactive substances have been conducted to identify new therapeutic approaches. This study evaluated the *in vitro* antiproliferative activity and *in vivo* effects of methanolic extracts from *Aristolochia nevesarmondiana* (EMFAn) and the material biotransformed by the caterpillar *Battus polydamas* (EMBAn). The *in vitro* assays showed that EMBAn exhibited better biological activity against tumor cells, although with low selectivity ($IS \leq 1$), ranging from 0,5 in murine melanoma (B16-F10) to 1,39 in triple-negative breast adenocarcinoma (MDA-MB-231). Cytotoxicity in normal cells (NCI/3T3) indicated GI_{50} values of 275,01 $\mu\text{g/mL}$ for EMFAn and 275,47 $\mu\text{g/mL}$ for EMBAn, highlighting similar cytotoxic profiles in non-tumor cells. In the *in vivo* assays, the acute toxicity of EMBAn in BALB/C mice showed no statistical differences in weight gain between treated groups (2.000 to 50 mg/kg) and controls, both in males ($p = 0,5653$) and females ($p = 0,112$). An analysis of antitumor activity demonstrated that although EMFAn showed a tendency to reduce tumors, the effects were not statistically significant, and high mortality rates were observed in treated animals. EMBAn, on the other hand, exhibited a safer toxicity profile. The genotoxic evaluation indicated that EMFAn significantly increased micronucleus formation ($p < 0,01$), highlighting a greater genotoxic potential compared to EMBAn. Given the results, EMBAn emerges as a promising alternative for future investigations due to its therapeutic potential and lower toxicity. However, additional studies are necessary to improve its selectivity, understand its mechanisms of action, and assess its clinical feasibility in melanoma treatment.

Descritores: melanoma, experimental; b16-f10; Balb c mice; mutagenicity tests; *Battus polydamas*.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de distribuição geográfica de quatro espécies de <i>Aristolochia</i> com camada altitudinal no estado do Espírito Santo.....	29
Figura 2 – Visão geral da <i>Aristolochia nevesarmondiana</i>	33
Figura 3 –Visão geral da <i>Aristolochia nevesarmondiana</i>	33
Figura 4 – Estrutura química dos ácidos aristolóquicos AAI a AAII	35
Figura 5 –Formação de adutos de DNA com bases púricas (adenina e guanina) por ácido aristolóquico I e II isolados de espécies de <i>Aristolochia</i>	35
Figura 6 – <i>Battus polydamas archidamas</i>	39
Figura 7 –Indivíduo da tribo Troidini (gênero <i>Battus</i>).....	39
Figura 8 –Borboleta <i>Battus polydamas</i>	39
Figura 9 –Representação esquemática do processo de bioconversão.....	40
Figura 10 –Nevos.....	44
Figura 11 –Melanomas com assimetria característica, irregularidade de bordas, variação de cor e grande diâmetro.....	46
Figura 12 – Estágios 0, I e II do melanoma.....	48
Figura 13 – Peso médio e volume médio dos tumores (gramas) nos camundongos BALB/C, de acordo com o grupo de tratamento.....	67

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 –Produtos naturais ou fármacos derivados de plantas utilizados na terapia do câncer.....	26
Tabela 2 – Classificação de substâncias baseado em critérios do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação dos produtos químicos após o teste de toxicidade oral aguda.....	50
Tabela 3 – Diretrizes da OECD e princípios norteadores para a avaliação de toxicidade oral aguda.....	51
Tabela 4 – Atividade antiproliferativa (GI_{50}) e índice de seletividade (IS) de EMFAn e EMBAAn em células neoplásicas e fibroblasto murino (NIH/3T3).....	61
Tabela 5 – Evolução da massa corpórea e ganho ponderal, em camundongos machos e fêmeas, nos grupos controle e grupos tratados com as doses únicas de 2.000 mg/kg, 1.000 mg/kg, 500 mg/kg, 300 mg/kg e 50 mg/kg.....	62
Tabela 6 – Valores referentes ao Peso e Volume Tumoral dos nódulos obtidos dos camundongos BALB/C após tratamento com EMFAn e EMBAAn.....	66
Tabela 7 – Frequência de micronúcleos no sangue periférico de camundongos BALB/C após 24 horas de serem tratados com EMFAn e do EMBAAn.....	70
Tabela 8 – Média do peso inicial e final dos animais dos grupos experimentais.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácidos Aristolóquicos
AAN	Nefropatia por ácido aristolóquico
ADG	Alcalóide ADG
AL	Aristolactamas
AL-DNA	Adutos de DNA derivados do ácido aristolóquico, responsáveis por promover danos genotóxicos e mutações no material genético
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil
ATC	Método de Toxicidade Aguda de Classe
BRAFV600E	Mutação pontual no gene <i>BRAF</i> que resulta na substituição do aminoácido valina por glutamato na posição 600
B16F10	Células carcinoma murino
CGs	Cardenolídeos
GM07492	Células de fibroblastos humanos
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CT	Chiniy-tref
DL50	Dose Letal Mediana
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DMSO	Dimetilsulfóxido
EEA15	Extrato Metanólico das Folhas de <i>A. nevesarmondiana</i>
EEA16	Extrato Metanólico de Biotransformação de <i>A. nevesarmondiana</i>
EMA	European Medicines Agency da União Europeia
EMBA _n	Extrato Metanólico de Biotransformação de <i>A. nevesarmondiana</i>

EMFAn	Extrato Metanólico das Folhas de <i>A. nevesarmondiana</i>
EN	Em perigo
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration dos Estados Unidos
FDP	Teste de Dose Fixa
g	Gramma
GHS	Sistema Globalmente Harmonizado
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HT-29	carcinoma de cólon – 29
IUCN	Guidelines for application of IUCN (2010) Red List criteria at regional and national levels. Version 4.0
i.p	Intraperitoneal
kg	Quilograma
LMED	Laboratório de Modelos Experimentais de Doenças
MCF-7	Células câncer de mama – 7
LAAO	L-amino oxidase ácida
mg	Miligrama
MCF-7	Adenocarcinoma humano de mama
MDA – R3	Adenocarcinoma triploresistente variante R3
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama triplonegativo
MHRA	Agência Reguladora de Medicamentos e Produtos de Saúde
mL	Mililitro
MS	Ministério da Saúde

NAD(P)H	Enzima que utiliza o cofator nicotinamida adenina dinucleotídeo [fosfato] em reações de oxidorredução
nm	Nanômetro
OECD	<i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i> (Organização para a Cooperação de Desenvolvimento Económico)
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.c	Peso corpóreo
PET scan	Tomografia por emissão de pósitrons
PN	Produtos naturais
PNPMF	Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
P53	Gene supressor de tumor essencial para a regulação do ciclo celular e prevenção de mutações genéticas
P450	Superfamília de enzimas envolvidas na metabolização de xenobióticos e na bioativação de vários compostos pró-carcinogênicos
RAS	Proteína G com forma inativa ligada ao GDP e forma ativa ligada ao GTP
RenisUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
RPM	Rotações por minuto
RNA	Ácido Ribonucleico
SFB	Soro Fetal Bovino
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SRB	Sulforodamina B
SULTs	Sulfotransferases de mamíferos
SULT1A	Isoforma envolvida na sulfatação de substâncias como hormônios 1A
SULT1B1	Isoforma envolvida na sulfatação de substâncias como hormônios 1B1 tireoidianos e compostos fenólicos
SUS	Sistema Único de Saúde
T	Teste

T0	Tempo zero
TCM	Traditional Chinese Medicine
UDP	Teste Up and Down
U251	Glioma
UV	Radiação ultravioleta
v.o.	Via oral
μL	Microlitro
μm	Micrometro
3T3	Fibroblasto murino

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 PLANTAS MEDICINAIS E SUAS APLICAÇÕES	22
2.2 QUIMIOTERÁPICOS BASEADOS EM PLANTAS	25
2.3 FAMÍLIA ARISTOLOCHIACEAE	27
2.4 <i>Aristolochia nevesarmodiana</i>	32
2.5 ÁCIDOS ARISTOLÓQUICOS.....	34
2.6 <i>Batus polydamas</i>	36
2.7 BIOTRANSFORMAÇÃO E BIOCONVERSÃO.....	40
2.8 CÂNCER	42
2.9 TOXICIDADE	49
2.10 GENOTOXICIDADE	51
3 OBJETIVOS	53
3.1 OBJETIVO GERAL.....	53
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	53
4 MATERIAL E MÉTODOS	54
4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	54
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	54
4.2.1 Ensaio <i>In Vitro</i>	54
4.2.1.1 Ensaio de Citotoxicidade	54
4.2.1.2 Determinação do Índice de Seletividade	56
4.3.1 Ensaio <i>In Vivo</i>	56
4.3.1.1 Ensaio Toxicidade Oral Aguda	56
4.4 Ensaio Avaliação Antitumoral	57
4.4.1 Delineamento Experimental	57
4.4.2 Ensaio Micronúcleo	58
4.4.3 Análise Estatística	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1 ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	60
5.1.1 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE SELETIVIDADE	60
5.2.1 ENSAIO TOXICIDADE ORAL AGUDA	62

5.2.2 ENSAIO AVALIAÇÃO ANTITUMORAL	66
5.2.3 ENSAIO MICRONÚCLEO	70
6 CONCLUSÃO.....	74
REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) confirma a relevância na abordagem das práticas adotadas pela medicina tradicional, de forma complementar e integrativa em diferentes nações, destacando sua contribuição para a promoção da saúde, o bem-estar da população, a prestação de cuidados em diferentes tipos de enfermidades centrados no paciente e na ampliação da cobertura universal de saúde. A incorporação adequada da medicina tradicional aos sistemas de saúde pode resultar em benefícios, otimizando os estágios clínicos e ampliando serviços direcionados no tratamento voltados ao cuidado dos pacientes, especialmente no âmbito da atenção primária (WHO, 2023). Além disso, a OMS registra que os medicamentos tradicionais, complementares e alternativos oferecem vários benefícios. A África tem uma longa história nesta matéria devido a extensa abordagem em utilização da medicina tradicional e dos seus praticantes, os quais desempenham um papel importante na prestação de cuidados às populações (WHO, 2020). No entanto, destaca-se a importância de regulamentar e normatizar essas práticas para garantir sua segurança e eficácia (Brasil, 2012).

No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, estabelecida em 2006, busca garantir à população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva (Brasil, 2024). Sendo representada pela Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (ReniSUS), que possui a sua base na Política e no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) que visa expandir as opções terapêuticas ao aprimorar a forma de assistência à saúde oferecida aos usuários no Sistema Único de Saúde (SUS). Sua abordagem geral, está direcionada em ofertar amplamente um acesso seguro ao uso racional de plantas medicinais e diferentes tipos de produtos fitoterápicos amplamente utilizados pela população brasileira (Brasil, 2016).

A família Aristolochiaceae abriga uma espécie selvagem, a *Aristolochia baetica* (*A. baetica*), cujas raízes são tradicionalmente empregadas pela medicina popular marroquina no tratamento do câncer. Um estudo foi conduzido para investigar sua possível atividade contra a neoplasia de mama humano, analisando-se quatro tipos de extratos de diferentes polaridades desta planta. As análises laboratoriais *in vitro* foram realizadas para avaliar o seu efeito antiproliferativo nas células MCF-7 (Chaouki *et al.*, 2010). No entanto, quando buscamos estudos sobre a atividade biológica dos constituintes da espécie *Aristolochia nevesarmondiana*, observamos que até o momento não foi encontrada na literatura qualquer relato ou mesmo a descrição de seus compostos fitoquímicos.

A toxicidade das plantas pertencentes a esse gênero está relacionada à presença das suas substâncias constituintes derivadas dos ácidos aristolóquicos (AAs), o qual foi observado em um estudo que aborda a ação biológica que desencadeia em uma condição denominada nefropatia por ácido aristolóquico (NAA), caracterizada por causar quadros clínicos de fibrose no túbulo-intersticial ou malignidades uroteliais e até a chegar numa insuficiência Renal crônica, essas manifestações já foram observadas tanto em camundongos quanto em seres humanos (Jelaković *et al.*, 2019).

Como resultado voltado a relevância dos impactos toxicológicos associados aos ácidos aristolóquicos, a biotransformação surge como uma estratégia promissora para modificar estruturalmente compostos naturais complexos, reduzindo sua toxicidade e potencializando efeitos terapêuticos desejáveis. Esse processo, além de ecologicamente viável, tem sido amplamente empregado para alterar estruturas de diferentes produtos naturais bioativos. Este processo permite a acumulação significativamente aumentada do produto desejado, sendo que o precursor deve estar presente na natureza e ser facilmente isolado em quantidade suficiente em fonte natural de uma forma economicamente viável (Macedo, 2020).

Diante do exposto esse trabalho de estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade aguda, genotoxicidade e atividade antiproliferativa do extrato metanólico das folhas de *Aristolochia nevesarmondiana* e do extrato metanólico obtido por biotransformação em modelo *in vitro* e *in vivo*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS E SUAS APLICAÇÕES

O conhecimento e o uso de plantas medicinais acompanham a humanidade desde tempos ancestrais, sendo amplamente disseminadas nas práticas tradicionais. Embora suas propriedades sejam reconhecidas globalmente, estima-se que menos de 1% das espécies nativas tenham sido investigadas de forma abrangente (Rodrigues; Amaral, 2012; Messias *et al.*, 2015). Nem todas as plantas apresentam características terapêuticas; entretanto, aquelas que possuem tais propriedades podem conter centenas de substâncias com potenciais aplicações, abrangendo desde o setor farmacêutico até o agrônomo (Brewer, 2011; Almeida, 2017).

A utilização de plantas medicinais acompanha a trajetória evolutiva humana, datando de períodos historicamente medievais sendo reconhecido o seu uso ancestral antes de haver à escrita e mantendo-se significativa até a atualidade em diversas partes do mundo (Brasil, 2012). As plantas medicinais englobam todos os vegetais que apresentam propriedades terapêuticas, sejam eles usados integralmente ou em partes específicas, sendo amplamente utilizados pela população (Barata, 2005; Carneiro *et al.*, 2014). Para muitas populações, esses vegetais representam a opção de tratamento mais acessível em comparação aos medicamentos alopáticos (Carneiro *et al.*, 2014). A OMS também considera plantas medicinais aquelas espécies vegetais que, independentemente do uso popular, contêm substâncias bioativas com efeitos terapêuticos comprovados (Brasil, 2012; Carneiro *et al.*, 2014).

A eficácia das plantas amplamente utilizadas na medicina popular (Cragg; Newman, 2005), tem norteado pesquisas no conhecimento etnofarmacológico. Esse saber tradicional tem possibilitado a identificação de diversas classes de biomoléculas e seus derivados, os quais hoje possuem uma ampla aplicação em diferentes contextos (Almeida *et al.*, 2005; Costa-Lotufo *et al.*, 2010).

De acordo com Elisabetsky e Souza (2007), ao observar o conceito da etnofarmacologia, que é um campo pertencente à etnobiologia, sendo uma área que dedica-se à exploração e investigação científica interdisciplinar de agentes biológicos ativos, as quais são tradicionalmente utilizadas por sua ação em tratamentos de patologias e reconhecidas por comunidades locais. Esse ramo combina o conhecimento obtido dessas comunidades com análises laboratoriais, abrangendo estudos químicos e farmacológicos para compreender melhor as propriedades e potencialidades de diferentes tipos de substâncias.

No entanto, pode-se afirmar que a etnofarmacologia não lida com crenças

supersticiosas, mas sim, com o saber popular vinculado a práticas desenvolvidas na medicina tradicional (Univisosa, 2012). Um estudo publicado em 2015 destaca a importância da etnofarmacologia na valorização dos saberes tradicionais e na bioprospecção de fitoterápicos para o Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil. De acordo com Sales (2015), o qual destaca primordialmente que a etnofarmacologia representa uma estratégia para o resgate dos saberes e na geração de conhecimento científico e tecnológico voltados para o uso sustentável de plantas medicinais.

Em suma, ao observar o campo da saúde pública que vêm enfrentando desafios complexos tanto no setor farmacêutico quanto no agrônomo, especialmente devido ao surgimento constante de novas doenças e ao aumento de organismos resistentes aos tratamentos disponíveis. A fitoterapia voltada para mitigar essas questões envolvem desde a busca por novos medicamentos até o desenvolvimento de agentes de defesa agrícola com menor impacto para a saúde humana. Esses estudos, inseridos nas ciências de produtos naturais (PN), são de grande relevância e representam um desafio contínuo para a comunidade científica (Messias *et al.*, 2015).

Dentre as áreas de pesquisa em desenvolvimento, destacam-se o isolamento e a identificação de novas substâncias bioativas, bem como a avaliação de suas propriedades terapêuticas. Além disso, há esforços para validar métodos analíticos modernos que assegurem o controle de qualidade dos produtos obtidos, assim como para estabelecer relações entre o desenvolvimento das plantas e a qualidade dos compostos que elas contêm (Rodrigues; Amaral, 2012).

Estudos recentes indicam que uma proporção significativa dos compostos catalogados em bases de dados de produtos naturais possui potencial como modelos para o desenvolvimento de novas formulações farmacológicas. Por exemplo, o *Dictionary of Natural Products* é uma base de dados abrangente que inclui informações sobre aproximadamente 230.000 produtos naturais, fornecendo dados químicos, físicos e estruturais detalhados (Gómez-García; Medina-Franco, 2022). Além disso, o *Natural Products Atlas* oferece acesso aberto a uma vasta coleção de produtos naturais derivados de bactérias e fungos, permitindo aos pesquisadores visualizar a diversidade química do mundo natural (Npatlas, 2024). Ióca, Allard e Berlinck (2014) ressaltam a importância da colaboração entre diferentes disciplinas na condução de pesquisas interdisciplinares de caráter internacional, visando fortalecer o estudo focado nos PN. A aplicação de técnicas espectroscópicas em conjunto com métodos estatísticos e/ou computacionais, por exemplo, pode facilitar o isolamento e a identificação das substâncias bioativas. Além disso, essa integração de abordagens pode promover uma análise multifatorial,

permitindo a investigação das interações entre produtos naturais e sistemas biológicos (Funari *et al.*, 2013).

Na pesquisa relacionada a PN derivados de matéria-prima vegetal, o Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, com mais de 46.000 espécies de plantas conhecidas. Dessas, aproximadamente 25.000 são endêmicas, ou seja, ocorrem exclusivamente no país (Agência Brasil, 2021). A diversidade vegetal brasileira é distribuída entre diversos biomas, como a Mata Atlântica abrigando mais de 17.000 espécies, seguida pela Amazônia e pelo Cerrado, essa variedade de espécies representa cerca de 10% da flora mundial, reforçando a importância do Brasil no cenário global de biodiversidade (The North Face, 2021). Desde a década de 1980, a potencialidade da flora brasileira no que se refere ao uso de plantas medicinais tem sido abordada de maneira otimista, ressaltando vantagens como a ampla disponibilidade de matéria-prima, o fácil acesso a essas espécies e a riqueza das substâncias bioativas que podem ser isolados a partir delas (Simões; Schenkel, 2002).

A partir da identificação de uma substância com atividade biológica derivada de uma planta, inicia-se o processo de pesquisa e desenvolvimento de produtos como os fármacos, cosméticos e biodefensivos. Esse processo começa com a avaliação das propriedades das moléculas obtidas por meio de ensaios *in vitro*. No caso dos fármacos, a etapa seguinte envolve estudos pré-clínicos, que compreendem bioensaios *in vivo*, a análise do metabolismo e investigações farmacocinéticas e farmacodinâmicas em modelos animais, culminando na fase clínica, o qual os testes passam a ser conduzidos e administrados em humanos (Lombardino; Lowe, 2004; Ferreira *et al.*, 2009; Guido; Andricopulo; Oliva, 2010). Para o desenvolvimento de biodefensivos, o processo é dividido em três etapas principais: pesquisa inicial, desenvolvimento do produto e, por fim, avaliação e registro (Ferraz, 2018).

O desenvolvimento de novos medicamentos é um processo complexo e demorado, com uma taxa de sucesso relativamente baixa. Estima-se que, de milhares de moléculas sintetizadas, apenas uma pequena fração progride por todas as etapas de teste e regulamentação para se tornar um medicamento aprovado (Talkscienc, 2023). De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), as barreiras enfrentadas pelos desafios significativos ao desenvolvimento de novos produtos, entre os quais se incluem o extenso período necessário para aprovação, os elevados custos envolvidos e a baixa taxa de sucesso nos processos de pesquisa e desenvolvimento. Estima-se que a transição de um candidato no estágio pré-clínico para o clínico demande um intervalo de aproximadamente 10 a 15 anos (WHO, 2022).

Em um contexto geral, a cada 160.000 moléculas investigadas, apenas 200 a 300 são selecionadas para a primeira fase de avaliação, cinco para a fase seguinte, e, por fim, apenas

uma chega à última etapa, onde é submetida a rigorosas avaliações para obtenção de registro (Ferraz, 2018).

Em suma, durante o desenvolvimento inicial de fármacos, compostos potencialmente úteis são estudados em animais para avaliar seus efeitos desejados e a sua toxicidade. Aqueles que se mostram eficazes e seguros tornam-se candidatos para estudos em seres humanos. No entanto, muitas substâncias são descartadas devido a efeitos adversos ou falta de eficácia durante as fases do seu desenvolvimento (Lynch, 2022).

2.2 QUIMIOTERÁPICOS BASEADOS EM PLANTAS

Diversas substâncias têm sido identificadas por sua influência sobre o controle subjacente ao desenvolvimento patológico, tais como antioxidantes, agentes anti-inflamatórios, moduladores metabólicos e intervenções em vias das cascatas que promovem a apoptose (Iqbal *et al.*, 2019).

Frequentemente, os fitoquímicos derivados de plantas com propriedades medicinais vêm despertando o interesse de pesquisas globais. E estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo* têm investigado a ação dos efeitos potenciais desses compostos, os quais abrangem ações antioxidantes, antiproliferativas, anti-inflamatórias e antiangiogênicas, tendo como alvo o enfrentamento do câncer cutâneo (Iqbal *et al.*, 2019). Embora os avanços tecnológicos em terapias anticâncer tradicionais tenham proporcionado progressos, ainda persiste a necessidade de novas abordagens terapêuticas mais precisas e direcionadas, devido às limitações das terapias convencionais (Zafar *et al.*, 2024).

Como anteriormente destacado, a avaliação preliminar das propriedades de uma planta é crucial seja voltada para o desenvolvimento subsequente de estudos, independentemente da área de aplicação. No entanto, em termos gerais, deve ser observado a existência dos metabólitos secundários que podem ser extraídos com diferentes tipos de princípios ativos, os quais são classificados em três principais categorias: terpenos, flavonoides e alcaloides (Shahidi, 1997; Croteau; Kutchan; Lewis, 2000; Taiz; Zeiger, 2002; Shahidi; Naczki, 2003; Shahidi; Ho, 2005). Os terpenos demonstram propriedades inseticidas, antimicrobianas, hepatoprotetoras, analgésicas, hemolíticas, anti-inflamatórias, cardiovasculares e antitumorais (Ikeda; Murakami; Ohigashi, 2008; Simões *et al.*, 2010; Luz *et al.*, 2014). Em geral, quando isolamos a ação dos flavonoides que apresentam atividades voltadas ao controle de doenças renais, doenças cerebrovasculares, doenças crônico-degenerativas, diabetes e apresentando efeitos antineoplásicos (Dornas *et al.*, 2007). Já os alcaloides apresentam atividades como ação

antibacteriana, antifúngica, antiplasmódica, antitumoral, analgésica, anticolinérgica, diurética e antitussígena (Henrique; Nunomura; Pohlit, 2010; Bessa *et al.*, 2013).

No entanto, substâncias como a camptotecina, um inibidor da topoisomerase 1, e vimblastina, que atua sobre a tubulina, pertencem à classe dos alcaloides e foram originalmente obtidas de espécies vegetais. Após a primeira década deste milênio, que abrange uma gama de estudos com diversos vegetais contendo propriedades potencialmente citotóxicas para fins na utilização em quimioterapia, sendo suas vias de ação e métodos de isolamento de tipos bem diferenciados (Lu *et al.*, 2012).

Notavelmente, os alcaloides despontam como as principais substâncias alvo desses estudos, exibindo, além das atividades acima mencionadas, uma rica diversidade de alvos farmacológicos. Em busca da caracterização desses alvos moleculares, foram desenvolvidas novas metodologias de pesquisa. A exploração desses agentes naturais extraídos constitui o ponto de partida primordial para a identificação de compostos isolados dotados de potencial anticâncer, delineando-se, posteriormente, modificações moleculares por meio de variadas abordagens farmacêuticas (Lu *et al.*, 2012). Na área da oncologia, diversas substâncias foram descobertas e novos fármacos foram introduzidos nos protocolos terapêuticos, como pode ser observado na Tabela 1 (Costa-Lotufo *et al.*, 2010).

Tabela 1 – Produtos naturais ou fármacos derivados de plantas utilizados na terapia do câncer.

Fármacos	Fonte	Alvo Molecular	Indicação Terapêutica
Vimblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina	<i>Catharanthus roseus</i>	Tubulina/Microtúbulos	Leucemia linfoblástica aguda; câncer de testículo; doença de Hodgkin
Paclitaxel, docetaxel	<i>Taxus brevifolia</i>	Tubulina/Microtúbulos	Câncer de mama
Podofilotoxina	<i>Podophyllum peltatum</i>	Topoisomerase II	Câncer de pulmão, ovário e testículo; leucemia linfocítica aguda
Etoposídeo, teniposídeo	<i>Podophyllum peltatum</i>	Topoisomerase II	Câncer de pulmão, ovário e testículo; leucemia linfocítica aguda

Camptotecina	<i>Camptotheca accuminata</i>	Topoisomerase I	Câncer de cólon
Irinotecano, topotecano	<i>Camptotheca accuminata</i>	Topoisomerase I	Câncer de cólon

Fonte: Adaptado de Costa-Lotufo *et al.*, 2010.

Além disso, certos compostos extraídos de plantas têm se mostrado fontes essenciais de diversos agentes anticancerígenos amplamente utilizados na prática clínica, como a camptotecina e seus derivados (topotecano e irinotecano), etoposídeo (um derivado da epipodofilotoxina), paclitaxel (taxol), vinblastina e a vincristina. Em geral, novos agentes promissores estão em desenvolvimento clínico com atividades específicas contra alvos moleculares relacionados ao tratamento clínico de neoplasias, como o fosfato de combretastatina A4 e o flavopiridol (Cragg; Newman, 2005).

2.3 FAMÍLIA ARISTOLOCHIACEAE

A família Aristolochiaceae encontra-se inserida em uma superordem Magnoliiflorae, que é reconhecida por suas características morfológicas a classificando como uma das Angiospermas mais primitivas. Esta família é constituída por sete gêneros que englobam plantas classificadas como arbustos, cipós, herbáceas e subarbustos e que estão distribuídas mundialmente, ocupando várias regiões climáticas distintas. Possui um domínio de distribuição amplo que engloba predominantemente as zonas subtropicais e tropicais, com algumas representações em áreas de clima temperado no hemisfério norte (Gonzalez; Stevenson, 2002). Em geral, de acordo com o Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020, a classificação destas plantas está diretamente correlacionada por fazer parte do reino plantae, filo traqueophyta e classe magnoliopsida (SIBBR, 2020).

Em geral, nas regiões das Américas Central e do Sul, as plantas pertencentes a este gênero desempenham um papel significativo na medicina tradicional, representando uma fonte relevante de recursos medicinais (Heinrich *et al.*, 2009). Algumas espécies desta família são utilizadas como alvo para a base do tratamento alternativo em diversas condições de saúde, tais como: asma, afecções imunes, cólicas, casos de envenenamento, distúrbios pulmonares, diabetes e dores de estômago (Lans, 2007).

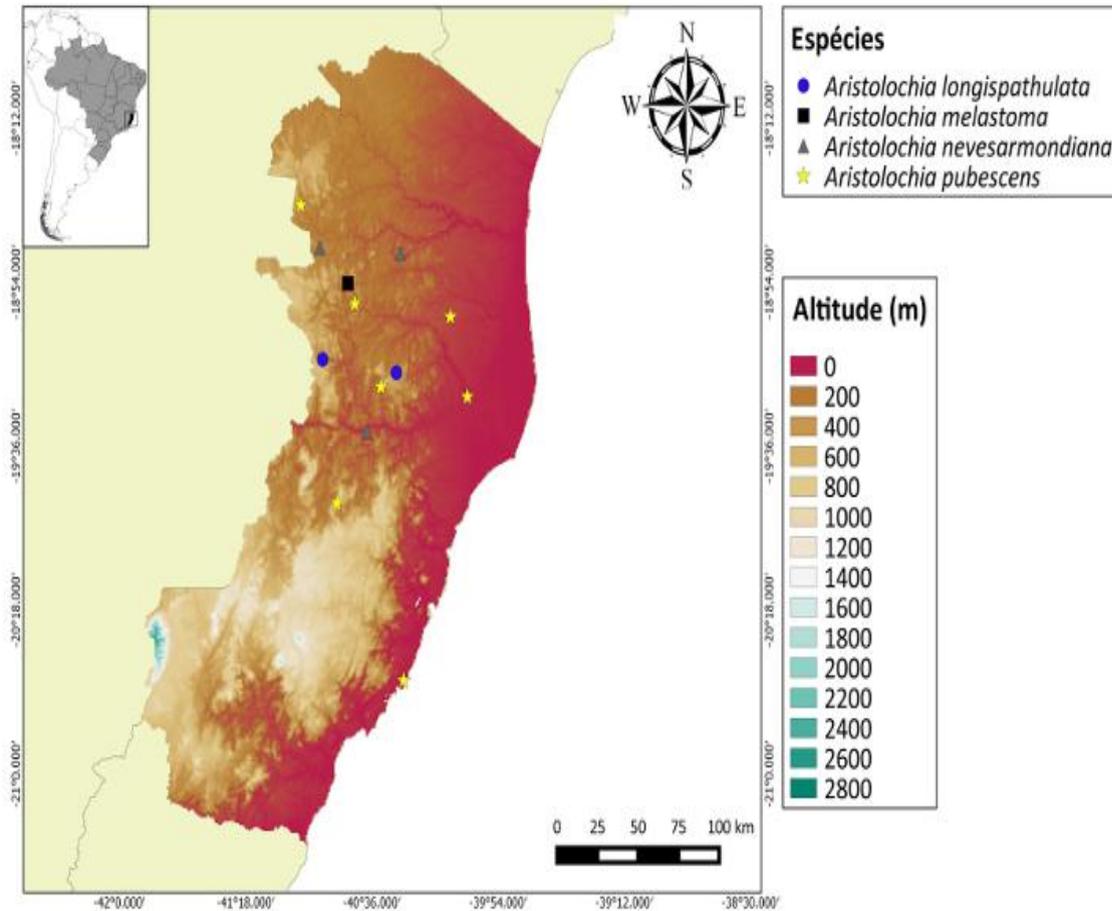
O gênero *Aristolochia* ocupa uma posição significativa tanto em termos numéricos

quanto no âmbito do seu uso medicinal no contexto de toda a família Aristolochiaceae. Compreendendo espécies herbáceas de caráter arbustivo, perene ou subarbustivo, e caracterizadas por sua riqueza em óleos essenciais, o qual, está amplamente distribuída ao longo das regiões tropicais da África, Ásia, América do Sul (Boufford; Hsieh, 2003), América do Norte, além da Austrália (Hou, 1996; Kuo; Li; Wu, 2012), e em regiões montanhosas e áreas rurais do Irã (Ardalan *et al.*, 2015). Frequentemente, apresentam características de trepadeiras escandentes, entrelaçadas ou, em alguns casos, lianas. Geralmente, possuem rizomas ou porta-enxertos prostrados ou tuberosos, e suas folhas são alternadas, pinadas, polimórficas ou lobadas (Hou, 1996; Kuo; Li; Wu, 2012). A maior parte dessas espécies é encontrada na região tropical, embora existam algumas exceções que se distribuem até a Escandinávia, ao norte do Japão e no norte do Canadá. Elas podem se desenvolver como ervas rasteiras de pequeno porte, trepadeiras ou, em alguns casos, assemelham-se a arbustos (Hutchinson, 1973; Watson; Dallwitz, 1992; Gonzalez F., 1999; Kuo; Li; Wu, 2012).

Em suma, a Aristolochiaceae constitui uma família inserida na ordem Piperales (APG IV, 2016; Freitas; Alves-Araújo, 2017), englobando uma soma aproximada de 600 espécies (González, 1990; Freitas; Alves-Araújo, 2017). Dentre esses gêneros, *Aristolochia* apresenta uma maior diversidade, totalizando cerca de 550 espécies catalogadas (González, 2012; Freitas; Alves-Araújo, 2017), que estão distribuídas aos principais centros de diversidade no Haiti e no Brasil (González, 2000).

Embora as Aristolochiaceae apresentem uma distribuição quase global, possuem em nossa flora alguns de seus representantes mais notáveis e ornamentais. Acredita-se que o Brasil abrigue tanto as maiores quanto as menores espécies do gênero *Aristolochia*. Vale ressaltar, contudo, que apenas três dos sete gêneros que compõem essa família foram registrados em território brasileiro (Hoehne, 1942). De modo que, no Brasil a família Aristolochiaceae é representada exclusivamente pelo gênero *Aristolochia*, compreendendo um total de 93 espécies, das quais 39 são documentadas na região da Mata Atlântica (BFG, 2015). De acordo com a figura 1, somente no estado do Espírito Santo, já foram registradas e catalogadas 20 espécies: *A. arcuata*, *A. assisii*, *A. bahiensis*, *A. chamissonis*, *A. cymbifera*, *A. cynanchifolia*, *A. elegans*, *A. gigantea*, *A. aff. gigantea*, *A. gracilipedunculata*, *A. hypoglauca*, *A. labiata*, *A. longispathulata*, *A. melastoma*, *A. nevesarmondiana*, *A. pubescens*, *A. subglobosa*, *A. tamnifolia*, *A. trilobata* e *A. Zebrina* (Freitas; Alves-Araújo, 2017).

Figura 1 – Mapa de distribuição geográfica de quatro espécies de *Aristolochia* com camada altitudinal no estado do Espírito Santo



Legenda: *Aristolochia longispathulata* (●); *Aristolochia melastoma* (■); *Aristolochia nevesarmondiana* (▲); *Aristolochia pubescens* (↔). Fonte: Joelcio Freitas e Anderson Alves-Araújo, 2017.

De acordo com Hoehne (1942), estas plantas são conhecidas popularmente como 'Ábutua', 'Bejuca-de-la-estrela', 'Jarrinha', 'Milhones', 'Parreira-Brava', 'Papo-de-perú', 'Raiz-Pereira' ou simplesmente 'Mata-porcos', apresentando diferentes tipos de propriedades medicinais. E sendo amplamente utilizada no tratamento dos distúrbios relacionados ao sistema estomacal e intestinal.

As *Aristolochias* destacam-se principalmente por suas propriedades terapêuticas. Contudo, o nome dessa planta origina-se de seu uso milenar como um facilitador do parto, estimulante da atividade uterina, emenagogo ou mesmo pelo seu efeito tóxico reconhecido, que no passado foi regularmente empregada no uso de ser um abortivo. Os antigos árabes e gregos referiam-se a ela como "Bom-parto" ou "Facilita-parto", evidenciando sua utilidade na medicina tradicional. No Brasil, os povos indígenas também reconheceram as virtudes curativas deste gênero de plantas, embora, com respeito, às nomeassem "Anhangapotira", que significa "flor-do-diabo" ou mesmo "flor-das-almas". Devido ao odor forte e desconforto de algumas

espécies, os indígenas também as chamavam de "*Urubú-caá*", termo que traduzido significa "*erva-de-urubu*" (Hoehne, 1942).

Devido ao seu extenso uso na medicina popular, as espécies da família Aristolochiaceae, despertaram um interesse científico significativo devido à sua toxicidade e composição química. Tradicionalmente, até a década de 1990, acreditava-se no seu real valor medicinal, e essas plantas foram empregadas como agentes diuréticos e digestivos, para tratamento em picadas ofídicas, entre diversos outros fins terapêuticos. Os diferentes tipos de espécies desse gênero abrigam uma riqueza de mais de 688 compostos biologicamente ativos, incluindo principalmente os ácidos aristolóquicos, alcaloides, flavonoides, lignanas, terpenoides e quinolinas (Paulert; Zonetti; Rosset, 2017).

Ao ser amplamente utilizada pela medicina por mais de 2500 anos, as formulações que continha essas ervas, como o Pós de Portland, uma preparação britânica do século XVIII para o tratamento da gota. Embora esse exemplo pareça peculiar, a análise do uso histórico das espécies de *Aristolochia* demonstra a persistência da nefropatia por ácido aristolóquico (AAN) como uma condição iatrogênica ao longo do tempo. No entanto, foram obtidas evidências de que os indivíduos que utilizavam os Pós de Portland podem ter ingerido quantidades tóxicas de ácido aristolóquico (AA), um agente associado ao desenvolvimento de AAN e câncer. No entanto, fatores como o uso prolongado, a latência dos efeitos adversos e a ausência de regulamentação eficaz foram determinantes para a manutenção desse tratamento ao longo dos séculos (Tomlinson; Fernandes; Grollman, 2020).

De acordo com Kuo, Li e Wu (2012), as pesquisas farmacológicas e fitoquímicas realizadas sobre as espécies do gênero *Aristolochia* revelaram a presença de 164 compostos, classificados em diversas categorias, incluindo ácidos e ésteres aristolóquicos, amidas, aporfinas, aristolactamas, benzilisoquinolinas, benzenoides, cumarinas, éteres bifenílicos, esteroides, flavonoides, isoquinolinas, protoberberinas, lignanas, terpenoides, tetralonas, entre outros, com uma ampla gama de atividades fisiológicas.

De acordo com Hoehne (1942), as plantas desta família contêm óleos essenciais (eugenol, metileugenol, borneol, satrol, azuleno e pinema) extraídos nos rizomas de algumas espécies, sem mensurar seus diferentes tipos de ceras. Da *A. argentea*, isolou-se fitosterina-palmitato, e da *A. siphon*, obtém-se um óleo que solidifica a 25-30°C. Algumas espécies apresentam princípios amargos, como o "Asaron". A "Aristolochina", substância ativa das raízes de *A. cymbifera*, *A. brasiliensis* e *A. grandiflora*, é amarelada, solúvel em álcool e quase insolúvel em outros solventes. Também é conhecido como "AA" e pode estar associado a compostos como "Aristina", de onde se extraem outros ácidos.

Os AA demonstram um potencial papel inibitório em relação ao veneno ofídico L-amino oxidase ácida (LAAO). Em virtude da notória atividade genotóxica associada a este tipo de ácido, é possível explorar para essa ação fisiológica de toxicidade, ao utilizar o derivado artificial sem toxicidade que contém grupos cloro e hidroxila (Bhattacharjee *et al.*, 2017).

Conforme pode ser verificado no estudo sobre a espécie *A. baetica*, que constitui um membro de caráter selvagem pertencente a esta família, originário do território marroquino, cujas raízes foram utilizadas tradicionalmente contra a atividade cancerígena. O extrato aquoso derivado das raízes desta espécie foi submetido a uma triagem fitoquímica qualitativa preliminar, visando a identificação dos seus componentes subjacentes às suas atividades biológicas. Esta avaliação revelou a presença de alcaloides, flavonoides, polifenóis, saponinas e taninos (Bourhia *et al.*, 2019).

No entanto, os isolados provenientes da *A. moupinensis* resultaram na obtenção de cinco aristolactâmicos, enquanto seis aristolactâmicos e três aristolóquicos foram isolados de *A. cathcartii* ambos foram obtidos a partir da planta completa. Notavelmente, Aristolactama I, Aristolactama AII, Ácido Aristolóquico A e Ácido Aristolóquico BII foram identificados em ambas as espécies. Alcaloides do tipo aristolactâmico, juntamente com derivados de AA, produziram uma distribuição abrangente em todas as espécies pertencentes a este gênero. É digno de nota que o aristolactâmico é um nível crucial na via biossintética para a formação do AA. Além disso, os compostos aristolóquicos presentes nestas espécies apresentam uma estrutura química distinta, sendo responsáveis pelas suas propriedades biológicas comuns (Zhang *et al.*, 2016).

De acordo com Das e Kumar (2018), o alcaloide ADG, presente na *A. indica*, possui destacada importância biológica devido à sua capacidade de se ligar a ácidos nucleicos, sendo apontado como um candidato promissor para aplicações farmacêuticas, especialmente em terapias antineoplásicas. Esse composto estabelece complexos intercalativos com DNA, promovendo a conversão da conformação Z para a B e exibindo afinidade elevada com tríplices de DNA, embora desestabilize tríplices de RNA. A interação com RNA reforça seu potencial na criação de antivirais para doenças graves, como HIV e Hepatite C. Por ter uma maior afinidade por DNA e RNA do que por proteínas, apresenta vantagens para o direcionamento terapêutico a alvos específicos. Tais características posicionam o ADG como um forte candidato ao desenvolvimento de novos fármacos naturais voltados ao direcionamento de ácidos nucleicos.

De acordo com Heinrich *et al.* (2009), as espécies pertencentes ao gênero, têm sido amplamente empregadas em contextos medicinais em várias regiões do mundo, suscitando

preocupações de ordem etnofarmacológica e de saúde pública. Diante dessa situação, torna-se essencial a implementação de uma análise sistemática do teor de tolerância aos AA presente nestas espécies, visando avaliar a potencialidade do risco associada às suas aplicações terapêuticas. Consideravelmente na China e na Europa, a relação entre o tratamento com as espécies de *Aristolochia* tem sido estabelecida, pela necessidade de investigar a ocorrência de patologias nefropáticas em diferentes regiões do mundo, primordialmente devido a relatos descritos na Índia e na América Central, onde o seu uso é uma prática comum na medicina tradicional. Segundo Wang *et al.* (2018), após a exposição prolongada à *A. manshuriensis* Kom no estudo *in vivo* realizado em modelo animal resultou em prejuízos na função renal, alterações hematológicas associadas à anemia e indução de tumores em vários tecidos, incluindo os gástricos, subcutâneos, renais e vesicais.

2.4 *Aristolochia nevesarmodiana*

O Cerrado brasileiro é reconhecido como um *hotspot* de biodiversidade global. Muitas espécies vegetais desse bioma são empregadas na alimentação e no tratamento de várias doenças; contudo, o uso empírico não é suficiente para garantir sua segurança. Entre uma ampla diversidade de plantas de uso popular, destaca-se o gênero *Aristolochia*, que ocorre com frequência nas regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil. A relevância destas plantas para a pesquisa advém de seu extenso histórico na medicina popular, onde é utilizado no tratamento de várias doenças. As suas folhas são o órgão vegetal mais empregado, sendo comumente consumidas na forma de chá, preparado por infusão (Araújo, 2021).

A *A. nevesarmodiana* pertence à subseção Hexandrae dentro do gênero *Aristolochia*, e apresenta características peculiares pelo aspecto glabro da superfície externa das suas flores, pelo limbo peltado e por ter uma base foliar truncada. O que pode ser constatado, é que possui uma distribuição geográfica restrita à região da Mata Atlântica, abrangendo os estados de São Paulo e Rio de Janeiro (BFG, 2015).

A espécie *Aristolochia nevesarmodiana* Hoehne, descrita em 1925, foi registrada em uma Floresta Estacional Semidecidual no Espírito Santo (Figuras 2 e 3). Trata-se de uma planta herbácea, prostrada ou trepadeira, com ramos cilíndricos e entrenós de 1,2 a 5,5 cm. Suas folhas deltóides apresentam face superior glabra, inferior pubérula, base truncada a subcordada e ápice agudo. As inflorescências são solitárias e sem brácteas. O perianto esverdeado possui listras externas em tons de vinho, com flor tubular e limbo elíptico amarelado. O ginostêmio é curto e estipitado, e o fruto é uma cápsula cilíndrica e prostrada com sementes ovais. Conforme os

critérios da IUCN (2010), esta espécie está devidamente classificada como Em Perigo (EN), devido à sua área de distribuição limitada (Freitas; Alves-Araújo, 2017).

Figura 2 – Visão geral da *Aristolochia nevesarmondiana*.



Fonte: Peixoto, 2020.

Figura 3 – Visão geral da *Aristolochia nevesarmondiana*.



Fonte: Freitas; Alves-Araújo, 2017.

2.5 ÁCIDOS ARISTOLÓQUICOS

A Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer, vinculada à OMS, classificou o AA como um carcinógeno de classe 1, equiparando-o a substâncias como o amianto e a radiação solar, em análises realizadas em 2002 e 2010. No Reino Unido, o uso de *Aristolochia* passou a ser restrito em 1997, com a Agência Reguladora de Medicamentos e Produtos de Saúde (MHRA) impondo uma proibição definitiva em 1999 para produtos contendo este composto. Em 2002, os AA foram detectados em quatro produtos comercializados na medicina tradicional chinesa. Em 2003 e 2004, novas apreensões ocorreram, incluindo uma remessa de 90.000 comprimidos contendo a substância desta planta (Krell; Stebbing, 2013).

O "AA", também conhecido como "Aristolochina" ($C_{32}H_{22}O_{13}$), é uma substância que se caracteriza por seu sabor intensamente amargo e por suas propriedades ácidas marcantes. Sua toxicidade é superior à de "Aloina", com a qual apresenta algumas semelhanças. Essa substância foi isolada das sementes de *A. clematitis* e das raízes de *A. rotunda*, ambas espécies comumente encontradas no sul da Europa. A "Aristolochina" caracteriza-se por formar cristais de cores amareladas, que adquirem cores alaranjadas quando formam blocos maiores. Eles apresentam baixa solubilidade em água quente, mas dissolvem-se facilmente em solventes como éter, clorofórmio, acetona e álcool. Em meio alcalino, permanecem dissolvidos, mas se precipitam na presença de diferentes tipos de ácidos (Hoene, 1942).

Os AAs constituem uma classe de compostos químicos derivados de ácidos nitrofenantreno carboxílicos, amplamente encontrados em várias plantas medicinais desta família. Essas substâncias, ao serem utilizadas, apresentam um elevado potencial tóxico, sendo associadas a sérios efeitos adversos no organismo humano. Estudos demonstram que esta substância pode desencadear hepatotoxicidade irreversível, comprometendo a função hepática de forma permanente. Além disso, sua nefrotoxicidade, caracterizada por danos ao tecido renal, frequentemente evolui para um quadro de insuficiência renal progressiva. No âmbito genotóxico, estes ácidos são capazes de causar danos ao DNA, aumentando a predisposição para mutações que podem culminar em células neoplásicas malignas, fato que ressalta seu potencial carcinogênico. Esses achados enfatizam a importância de avaliar cuidadosamente o uso de ervas contendo AAs em formulações terapêuticas, devido aos riscos significativos para a saúde (Zhang *et al.*, 2022).

É relevante destacar, conforme sugerido por Sidorenko (2020), que o AA está associado a duas principais toxicidades: em casos de insuficiência renal crônica e na carcinogênese. Estudos recentes têm levantado a hipótese de uma correlação entre o uso de *Aristolochia* e o

desenvolvimento de diversos tipos de tumores em seres humanos.

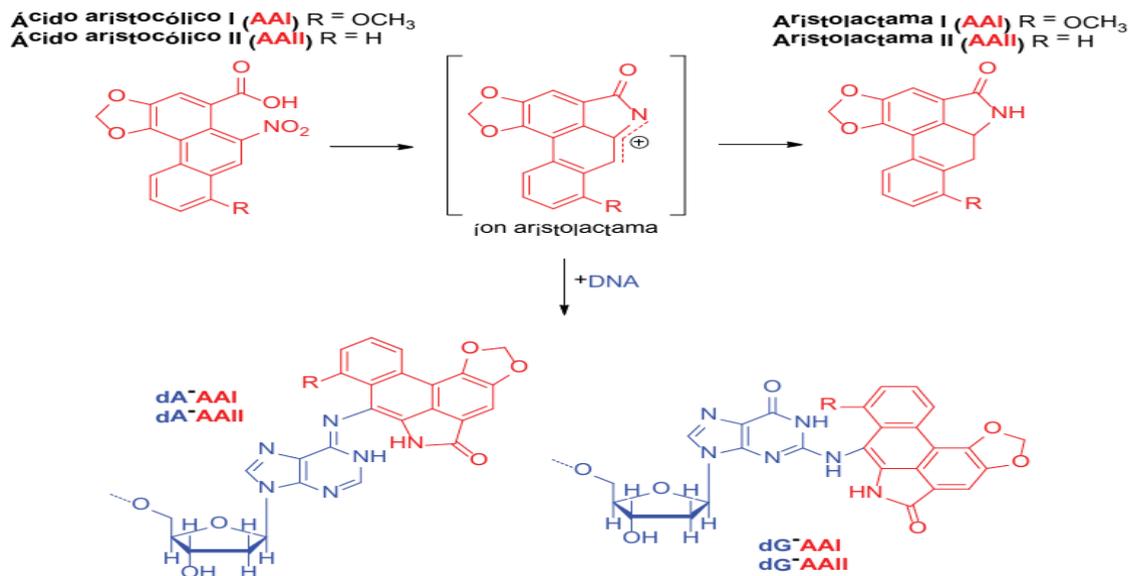
De acordo com Krell e Stebbing (2013), o mecanismo pelo qual estas ervas induz a oncogênese está sendo progressivamente elucidado conforme as figuras 4 e 5. Após sua absorção no trato gastrointestinal, esta substância passa por transformações químicas que resultam na formação de um composto eletrofílico capaz de se ligar ao DNA, gerando adutos específicos. Esses adutos foram identificados em modelos animais expostos à *Aristolochia*, bem como em pacientes com nefropatia associada ao AA e em indivíduos com câncer do trato urinário superior vinculado à tratamentos com esta espécie de planta. A formação desses adutos provoca mutações no DNA, o que pode alterar genes como RAS e P53, favorecendo a alteração celular neoplásica.

Figura 4 – Estrutura química dos ácidos aristolóquicos AAI e AAI.



Fonte: Paulert, Zonetti e Rosset, 2017.

Figura 5 – Formação de adutos de DNA com bases púricas (adenina e guanina) por ácido aristolóquico I e II isolados de espécies de *Aristolochia*.



Em azul o DNA e em vermelho o ácido aristolóquico. Adaptado de Debelle *et al.*, 2008. Fonte: Paulert, Zonetti e Rosset, 2017.

O AA é um pró-carcinógeno que necessita de nitrorredução para gerar adutos AL-DNA. As células de mamíferos possuem um conjunto de enzimas capazes de realizar essa nitrorredução, com diversas delas demonstrando a capacidade de sua bioativação. Entre essas enzimas, destacam-se vários citocromos P450, a NAD(P)H desidrogenase, a xantina desidrogenase, a prostaglandina-endoperóxido sintase 2 e a citocromo P450 oxidorreductase (Stiborová *et al.*, 2014; Rosenquist; Grollman, 2016). As sulfotransferases de mamíferos (SULTs) têm a capacidade de catalisar a sulfatação da N-hidroxiaristolactama, um intermediário no processo de redução do AA. Esse processo resulta na formação de um éster sulfoniloéster, o qual, em condições fisiológicas, perde o grupo sulfonil, gerando intermediários altamente reativos que formam adutos com o DNA. Em contraste, a N-hidroxiaristolactama apresenta uma interação limitada com o DNA. As isoformas de sulfotransferases humanas SULT1A e SULT1B1 estão implicadas no metabolismo de fase II dessa substância (Sidorenko *Et al.*, 2014; Rosenquist; Grollman, 2016).

Embora muitas espécies desta família tenham sido proibidas para uso medicinal em diversos países, seu consumo popular continua em algumas regiões da Ásia. Além disso, em nações ocidentais, os produtos utilizados amplamente na medicina tradicional chinesa (TCM), contendo essas substâncias ainda são adquiridos de fontes não regulamentadas, representando um risco extremamente significativo à saúde pública. A "história da *Aristolochia*", o qual estudos comprovaram que o uso crônico desta espécie de planta em diferentes tipos de tratamentos causou quadros clínicos de nefropatias. Desta forma, destaca o equívoco de que substâncias naturais são sempre seguras, uma ideia amplamente difundida pela mídia e por certos grupos. Este cenário sublinha os perigos dessa concepção e reforça a responsabilidade de profissionais da saúde, produtores e jornalistas em desmistificar tais crenças, as quais já podem ter contribuído para causar diferentes patologias e a morte de muitas pessoas (Ernst, 2012).

2.6 *Batus polydamas*

A espécie de borboleta *B. polydamas* faz parte da ordem Lepidoptera, classificada na família das Papilionidae, sub-família Papilioninae e tribo Troidini (Scalco, 2014). A *B. polydamas polydamas* (Linnaeus, 1758) possui uma distribuição geográfica que caracteriza-se por ser amplamente recorrente nas Américas, desde a Argentina ao sul do Texas no Território dos Estados Unidos até as Antilhas, incluindo também o Brasil, onde é encontrada na Caatinga e na Mata Atlântica (Aléssio, 2019). Sendo identificada primordialmente na região Neotropical

(Zevieski, 2021), e por todo o continente americano, desde o nível do mar até altitudes de 1300 metros (Tyler; Brown; Wilson, 1995).

Por ter uma distribuição considerada cosmopolita, inclui cerca de 551 espécies de borboletas (Häuser et al., 2005). Conhecida popularmente como “Borda-de-ouro”, habita áreas de borda e regiões abertas, incluindo florestas em estágios de perturbação, praças com cobertura vegetal nativa e flores de jardins urbanos. Em suma, apresenta um ciclo de vida livre e passa por metamorfose completa, compreendendo as fases de ovo, lagarta, pupa e adulto (Zevieski, 2021).

Reconhecida como um grupo monofilético, a tribo Troidini destaca-se pela morfologia uniforme de suas larvas e pupas (Miller, 1987). As larvas possuem uma característica sinapomórfica, o osmetério, uma estrutura eversível localizada na cabeça dos indivíduos imaturos, que é ativada como mecanismo de defesa (Reed; Sperling, 2006). As borboletas adultas dessa tribo são lentas no voo e exibem marcas vermelhas ou amarelas em suas asas e corpos (Brown; Damman; Feeny, 1981).

Os adultos desta espécie se distinguem de outras devido possuírem corpo de coloração negra, com asas que variam de 43 a 47 mm, apresentando manchas submarginais amarelas na superfície dorsal. As androcônias, de tom pálido, localizam-se na margem interna das asas posteriores (Núñez Bustos, 2010), as quais, apresenta pontos amarelo-esverdeados nas margens das asas anteriores e posteriores, não exibindo dimorfismo sexual (Racheli, 1992). As fêmeas depositam seus ovos usualmente no ápice dos novos ramos das plantas hospedeiras (Morais; Brown, 1991). Conforme descrito por Brown, Damman e Feeny (1981), as larvas gregárias apresentam cores variando do amarelo ao marrom, com manchas vermelho-escuras ou bege, podendo também exibir marcas estriadas mais claras ou escuras nos estágios finais. As pupas, por sua vez, possuem coloração verde ou marrom claro, com uma forma convexa na região dorsal. Em temperaturas baixas, especialmente no inverno, pode ocorrer diapausa (Racheli, 1992).

Segundo Zevieski (2021), passam por cinco estágios de desenvolvimento mais conhecidos como instares, com dimensões que variam de 0,32 cm no primeiro instar a 4,82 cm no quinto. No primeiro estágio, apresentam cabeça de cor preta e corpo marrom. No segundo estágio, desenvolvem pequenos tubérculos alaranjados nas regiões dorsal e lateral. Nos três últimos estágios, as larvas exibem cores que variam do bordô escuro ao marrom-avermelhado, podendo ou não apresentar listras escuras ao longo do corpo, sendo essa variação de coloração a principal característica que distingue os diferentes estágios de desenvolvimento.

A espécie *B. polydamas* (Linnaeus, 1758) é um inseto especializado fitófago, cujas

larvas consomem exclusivamente diversas espécies do gênero *Aristolochia*. Seus ovos, esféricos e de coloração amarela, medem cerca de 1 mm e são depositados em grupos de 3 a 14, alinhados em um único plano. As larvas permanecem nesta fase por cerca de 14 dias antes de se tornarem pupas. Machos e fêmeas adultos possuem aparência similar, e o ciclo de vida completo, em condições controladas de laboratório, que dura entre 29 e 38 dias (Aléssio, 2019). No entanto, A *B. polydamas archidamas* (Boisduval, 1836), a única espécie da família Papilionidae encontrada no Chile, distingue-se por suas larvas, que se alimentam unicamente de plantas do mesmo gênero, reconhecidas por sua alta toxicidade, das quais extraem ao realizar o sequestro das suas toxinas (Palma-Onetto; Parra; González-Teuber, 2020).

Diversas espécies de borboletas aposemáticas e mariposas de hábitos diurnos acumulam compostos indigestos ou tóxicos provenientes de suas plantas hospedeiras, em vez de sintetizarem diretamente suas próprias substâncias de defesa. Apesar da variedade expressiva em suas trajetórias de vida, essas espécies compartilham certas características comuns quanto ao uso de metabólitos secundários vegetais, que lhes proporcionam uma proteção eficaz contra predadores. Notadamente, a presença destes compostos fitoquímicos, os quais podem ter influenciado a evolução de estratégias sequestrantes amplamente disseminadas entre os lepidópteros (Nishida, 2002).

A preparação tradicional "Chiniy-tref" (CT) é amplamente utilizada pela medicina popular na Ilha da Martinica, nas Índias Ocidentais Francesas, e atualmente é consumida principalmente por via oral para prevenir ou combater popularmente o que é conhecido como "manifestações do mal". Este preparado é comumente produzido de maneira simples, através da maceração de larvas da borboleta endêmica *B. polydamas* (ssp.) cebriones (Dalman, 1823) em rum comercial, ocasionalmente acompanhadas por uma folha de sua planta hospedeira, a *Aristolochia* (Riffault-Valois et al., 2019).

No entanto, diversas espécies de borboletas pertencentes à tribo Troidini (Figuras 6, 7 e 8) estão listadas na Lista Brasileira de Animais em Extinção (Machado; Drummond; Paglia, 2008), o que se deve em parte à sua dependência de habitats preservados ou semi-preservados, sendo comumente encontradas nas bordas ou no interior de florestas úmidas e nas proximidades de corpos d'água, como em córregos (Núñez Bustos, 2010).

Figura 6 – *Battus polydamas archidamas*

Legenda: De 1–4. *B. polydamas archidamas*. (1) Ovos na folha de *A. chilensis*, (2) Larvas recém-eclodidas (primeiro instar). (3) Larva completamente desenvolvida (quinto instar). (4) Quinto instar em corte sagital, expondo seu tubo digestivo e glândulas labiais. Abreviações: g, intestino; lg, glândula labial; r, reto; tt, troncos traqueais. Fonte: Palma-Onetto, 2020.

Figura 7 – Indivíduo da tribo Troidini (gênero *Battus*)

Notas: Indivíduo da tribo Troidini (gênero *Battus*) predando *A. hypoglauca* no ramo (a) e folhas (b).
Fonte: Joelcio Freitas e Anderson Alves-Araújo, 2017.

Figura 8 – Borboleta *Battus polydamas*

Fonte: Sharp, 2014.

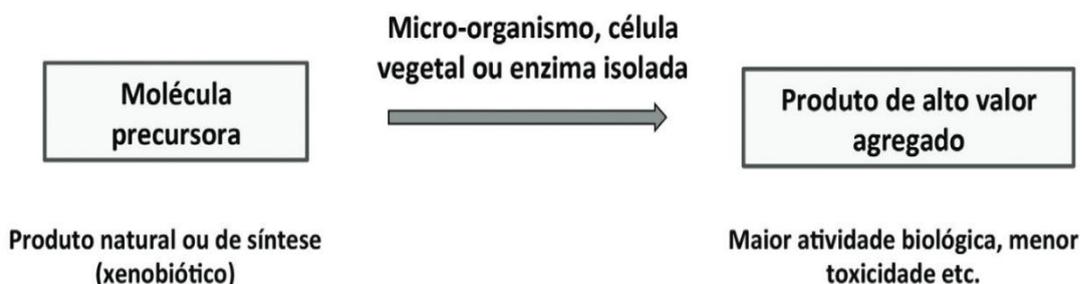
2.7 BIOTRANSFORMAÇÃO E BIOCONVERSÃO

A biotransformação se estabelece como uma técnica eficaz e ecologicamente viável para promover modificações em compostos naturais complexos. Ao longo das duas últimas décadas, tem sido empregada uma variedade de abordagens para alterar as estruturas de diferentes tipos de produtos naturais bioativos (Zhou *et al.*, 2022). A etapa específica do "metabolismo" conhecida como biotransformação envolve a conversão de uma substância química em outra por um sistema biótico, geralmente mediado por enzimas. Os sistemas biológicos possuem diversos mecanismos para metabolizar e desintoxicar xenobióticos (Hansen; Shane, 1994).

Em geral, o processo de biotransformação apresenta uma alternativa eficaz para a produção de compostos que não podem ser sintetizados por métodos químicos tradicionais, utilizando reações altamente específicas e direcionadas ao realizar de forma geral a estereosseletividade para se obter a configuração estereoisomérica desejada. Mais significativamente, essas reações oferecem a oportunidade de gerar grandes quantidades de substâncias "semelhantes aos naturais" (biodegradável) gerada a partir de matérias-primas, o que se torna crucial diante da crescente demanda dos consumidores por "produtos naturais" (Collins; Kennedy, 1999).

Em suma, bioconversão refere-se aos processos nos quais microrganismos, enzimas isoladas ou células vegetais são empregados para transformar uma molécula precursora, geralmente um xenobiótico, em um produto com alto valor agregado. A biotransformação envolve um número reduzido de reações, geralmente apenas uma ou algumas, resultando em um produto cuja estrutura química é semelhante ou relacionada à do substrato original, algo que não ocorre na fermentação. Nesse processo, a molécula a ser transformada é introduzida em um sistema biológico já estabelecido (Figura 9), e o produto obtido frequentemente possui um valor agregado que justifica a aplicação da sua conversão biológica (Ferrara; Siani; Bon, 2017).

Figura 9 – Representação esquemática do processo de bioconversão.



Fonte: Ferrara, Siani e Bon, 2017.

Quando observado o contexto metabólico em geral, além de desempenhar funções como a conversão de alimentos em energia, a biossíntese de componentes celulares e a eliminação de resíduos nitrogenados, também se inclui a biotransformação de substâncias químicas estranhas, conhecidas como xenobióticos. Essa biotransformação ocorre através de uma série de processos catalisados por enzimas, os quais modificam as propriedades físico-químicas destas substâncias. Como resultado, tais compostos tornam-se mais acessíveis às células, apresentam maior absorção através das membranas biológicas e são eliminadas por vias como urina ou bile, sendo frequentemente conjugadas para aumentar sua hidrofiliabilidade e/ou peso molecular. As enzimas responsáveis por essa biotransformação de xenobióticos são comumente referidas como enzimas metabolizadoras de fármacos (Saghir; Ansari; Munir, 2022).

No processo de biotransformação as monooxigenases microsossomais são sistemas enzimáticos versáteis que têm a capacidade de oxidar esteroides endógenos, lipídios, prostaglandinas e xenobióticos. Sistemas enzimáticos endógenos frequentemente transferem grupos de conjugação, ativando tanto o agente de conjugação quanto o xenobiótico para estágios de alta energia. Enzimas dessa natureza medeiam a conjugação de substratos como álcoois, arilaminas, esteroides, fenóis e sais biliares. O rearranjo do epóxido resulta na formação de cloroetanol, que se conjuga posteriormente com a glutatona. Na biotransformação de xenobióticos, a acilação envolve a ativação do acetato, que é transferida para uma amina, ou a ativação direta de um xenobiótico para um ácido, permitindo uma conjugação posterior com um aminoácido endógeno. Além disso, as O-metiltransferases, N-metiltransferases e tiol S-metiltransferases também desempenham um papel significativo a este processo (Hansen; Shane, 1994).

Certos insetos realizam modificações bioquímicas em parte dos compostos químicos que sequestram antes de armazená-los. No caso das borboletas monarca, alguns cardenolídeos (CGs) de menor polaridade presentes nas plantas hospedeiras são convertidos em análogos mais polares, como a transformação de usaridina em calotropina ou calactina, através de processos enzimáticos específicos (Marty; Krieger, 1984; Groeneveld *et al.*, 1990; Nishida, 2002).

Devido aos AAs constituírem uma classe de ácidos nitrofenantreno carboxílicos encontrados em diversas plantas do gênero *Aristolochia*, sendo amplamente conhecidos por induzir efeitos tóxicos irreversíveis no fígado, nos rins, além de apresentarem potencial genotóxico e carcinogênico (Zhang *et al.*, 2022). Neste contexto, a biotransformação pode auxiliar a sua utilização por resultar na diminuição, ausência de alteração ou aumento de constituintes da sua atividade farmacológica (Hansen; Shane, 1994).

Em relação a diversos xenobióticos, a toxicidade está relacionada com o composto

original, e a biotransformação desempenha um papel de desintoxicação; entretanto, em algumas situações, a biotransformação pode converter certos xenobióticos em metabólitos reativos eletrofílicos, levando à formação de ligações covalentes mutagênicas/carcinogênicas entre esses metabólitos eletrofílicos e proteínas/DNA (Hansen; Shane, 1994).

De acordo com Nogueira *et al.* (2021), os extratos foliares de *A. triangularis* e *A. gibertii* mostraram-se citotóxicos em uma linhagem de fibroblastos humanos nas células GM07492, mas extratos das fezes das larvas de *B. polydamas*, que consumiram essas folhas, foram inativos. A bioconversão demonstrou-se eficaz na detoxificação das folhas de aristoloquiáceas, renovando o interesse farmacológico nestas espécies de plantas. A redução da toxicidade após a digestão pelas larvas também sugere que esses insetos possuem estratégias para contornar as defesas químicas de suas plantas hospedeiras.

No processo de bioconversão das espécies *A. esperanzae*, *A. gibertii* e *A. rigens* pelas larvas de *B. polydamas* resultou na formação de 21 compostos, com destaque para lignanas e diterpenos. Essa abordagem demonstrou eficiência na diminuição da toxicidade, no aumento do potencial antioxidante e na redução das atividades hemolítica e citotóxica, apontando um método viável e promissor para a obtenção de substâncias mais seguras (Do Prado Schneidewind *et al.*, 2024).

2.8 CÂNCER

A *American Cancer Society* estima 2 milhões de novos casos de câncer e 611 mil mortes nos EUA em 2024. Embora a mortalidade tenha caído até 2021, evitando 4 milhões de mortes desde 1991, alguns tipos de neoplasias estão aumentando, especialmente entre jovens adultos (Siegel; Giaquinto; Jemal, 2024). Essa é uma enfermidade com a segunda principal causa de morte global e deverá se tornar mais prevalente, especialmente em casos metastáticos. Embora os tumores tenham características que favorecem sua sobrevivência e proliferação, as diferenças genômicas que definem clones metastáticos ainda são pouco compreendidas, sem padrões mutacionais preditivos da metástase (Kiri e Ryba, 2024).

O câncer é compreendido como um conjunto de patologias que afetam o organismo em diferentes níveis de organização biológica. Essas doenças podem ser desencadeadas por fatores intrínsecos, relacionados ao próprio organismo, ou por elementos externos. Em termos gerais, esta neoplasia resulta de uma alteração genética em uma ou mais células, que passa a induzir seu comportamento descontrolado. Esse crescimento exacerbado compromete o funcionamento normal dos tecidos e órgãos, podendo, em casos extremos, levar ao óbito (Costa-Lotufô, 2010).

Notoriamente, um estudo buscou indicar que a formação de células cancerígenas pode estar associada à exposição a diversos compostos presentes no cotidiano, abrangendo contextos ambientais, alimentares, medicinais e sociais (Prado, 2014).

No entanto, por ser uma classe abrangente de enfermidades que pode ter origem em praticamente todos os tecidos ou órgãos, caracterizada pelo crescimento desordenado de células aberrantes, as quais excedem os limites espaciais predefinidos, infiltrando-se em outras regiões do corpo e/ou disseminando-se para órgãos distantes. Este fenômeno culmina na metástase, que é responsável pela maior parcela das fatalidades relacionadas a este tipo de doença. Além disso, termos como as neoplasias e tumor maligno são usados como sinônimos para se referir a esta doença (World Health Organization, 2022a).

Em suma, o levantamento estimado desta enfermidade relata um contingente de 9,6 milhões de óbitos, correspondendo a uma proporção de 1 em cada 6 mortes no ano de 2018. Configurando-se como uma patologia caracterizada por ter uma evolução contínua, causando um quadro consideravelmente perturbador de ordem emocional, física, financeira aos indivíduos com diagnóstico, núcleos familiares, comunidades e estruturas de saúde. A realidade de muitos sistemas de saúde situados em nações de renda baixa é de testemunhal evidência sua limitação obrigatória para a gestão dessas demandas, realizada na manutenção para o acesso de um grande contingente de pacientes aos diagnósticos precisos e a tratamentos de alta qualidade em um prazo devidamente oportuno. Em contrapartida, quando observamos os estudos de dados nos países desenvolvidos dotados dos sistemas de saúde mais resilientes, têm-se observado um aumento nas taxas de sobrevivência em relação a diversas categorias das neoplasias. Esse progresso é atribuível à implementação de medidas de detecção precoce, à aplicação de terapias de alta qualidade e à expansão das medidas de atendimento integral (World Health Organization, 2022b).

A formação e a progressão de células cancerígenas podem ser impulsionadas por disfunções na atividade dos fatores de sua transcrição, que pode resultar em uma expressão gênica aberrante (Hasan *et al.*, 2024). A complexidade do tumor é atribuída à heterogeneidade intratumoral e à plasticidade celular, que representam desafios significativos para o seu tratamento efetivo. A diversidade entre as células oncogênicas influencia diretamente a progressão, a disseminação e a resistência aos tratamentos. A plasticidade celular, entendida como a habilidade das células neoplásicas de modificar sua identidade em resposta a alterações ambientais e genéticas, desempenha um papel crucial na sua persistência e evolução. Essa capacidade adaptativa favorece a heterogeneidade tumoral, afetando o curso da doença e a eficácia das abordagens terapêuticas (Cordani *et al.*, 2024).

O melanoma cutâneo é uma forma de câncer de pele altamente agressiva, originada nos melanócitos da epiderme, e está relacionado a taxas elevadas de mortalidade e morbidade (Zhang; Ostrowski; Fisher, 2024). Do ponto de vista citológico, a sua especificidade de ser um tumor maligno é caracterizado por uma membrana nuclear espessa e irregular, além da presença de núcleos proeminentes (Pavri *et al.*, 2016).

Sendo uma neoplasia altamente agressiva ao constituir a principal causa de óbitos entre as malignidades dérmicas. Nos últimos anos, a incidência dessa condição tem apresentado um aumento contínuo. Embora o melanoma primário se desenvolva predominantemente na pele, também pode surgir, de maneira menos frequente, em outras regiões, como na órbita ocular e nas mucosas (Faria; Amaria; Patnana, 2023), as manifestações primárias extracutâneas podem ocorrer também em sítios como os gastrointestinais, geniturinários, leptomeníngeos e linfáticos (Ahmed; Qadir; Ghafoor, 2020). Uma parte considerável nestes casos se desenvolve a partir de lesões precursoras, que são proliferações clonais benignas de melanócitos, conhecidas como nevos conforme mostra a figura 10. Mutações oncogênicas semelhantes são observadas tanto em nevos benignos quanto em melanomas, sugerindo uma possível relação molecular entre essas lesões e o seu desenvolvimento (Zhang; Ostrowski; Fisher, 2024).

Figura 10 – Nevos



Fonte: Zhang, Ostrowski e Fisher, 2024.

O melanoma é reconhecido como o tipo mais grave de câncer de pele. No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou 8.980 novos casos da doença em 2023 (Governo

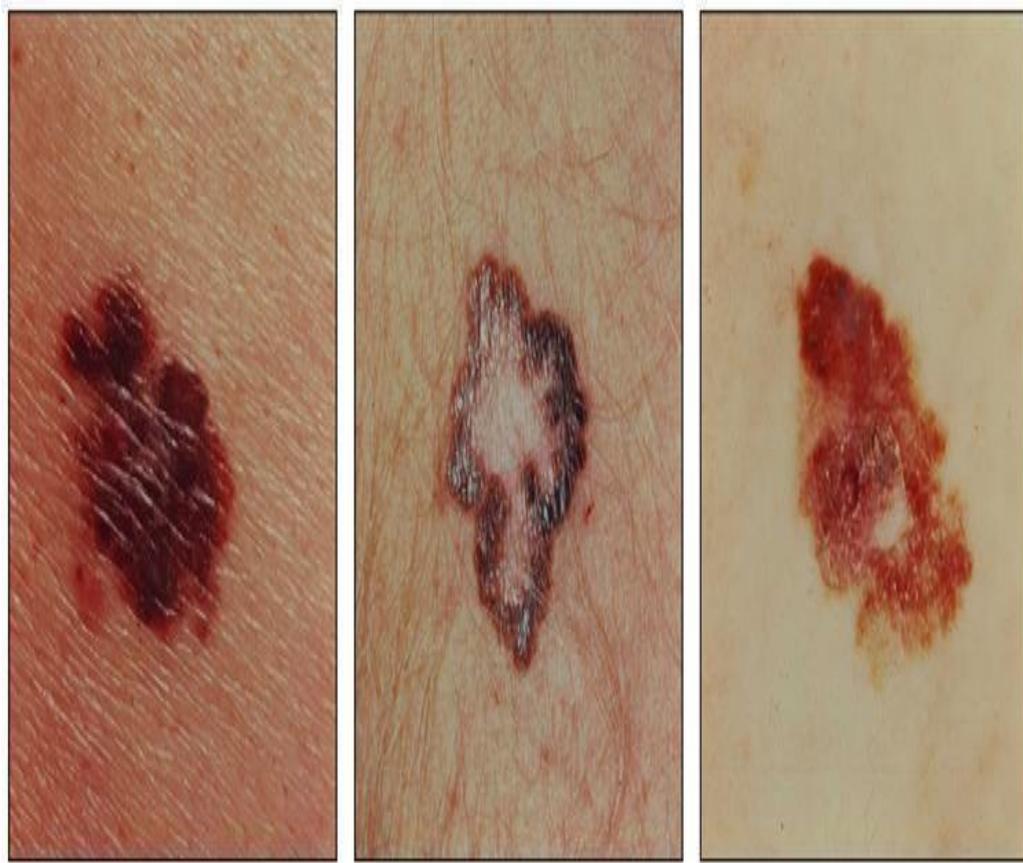
do Estado de São Paulo, 2024). Estudos indicam que as mortes por melanoma no país podem aumentar 80% até 2040, passando de 2.624 para 4.731 casos anuais (TJCC, 2023). Globalmente, a previsão é de mais de 35 milhões de novos casos deste tipo de neoplasia em 2050, um aumento de 77% em relação aos 20 milhões estimados em 2022 (WHO, 2024). Classificado como o quinto tipo de neoplasia mais prevalente entre os homens e o sexto entre as mulheres (Ahmed; Qadir; Ghafoor, 2020).

Diversos fatores clínicos podem auxiliar na identificação de pacientes com maior risco de desenvolver o melanoma, como o histórico de exposição solar, o fototipo da pele, antecedentes familiares ou pessoais de melanoma, além da presença de nevos, sejam adquiridos ou congênitos. Embora a conexão entre o melanoma e a radiação ultravioleta (UV) ainda não esteja completamente esclarecida, há uma associação evidente entre o desenvolvimento desta doença e episódios de queimaduras solares com formação de bolhas, especialmente na infância (Elwood; Jopson, 1997).

No entanto, embora seja um fator desencadeador a intensidade e duração da exposição solar ao longo da vida, características fenotípicas específicas desempenham um papel crucial na avaliação do risco para este tipo de patologia. A coloração dos cabelos e dos olhos reflete o grau de pigmentação cutânea, fator que influencia a capacidade de defesa da pele contra os danos solares. Indivíduos com cabelos ruivos ou loiros e olhos claros, como os azuis, apresentam maior susceptibilidade ao melanoma em relação àqueles com coloração capilar e ocular mais escura (D'arcy; Holman; Armstrong, 1984; Ammirati; Hruza, 2005). A predisposição ao desenvolvimento de sardas também está associada ao risco aumentado de melanoma, possivelmente indicando uma resposta insuficiente da pele à exposição solar e uma menor tolerância aos danos causados pela radiação UV (Marks, 1995; Ammirati; Hruza, 2005).

O melanoma, é uma neoplasia cutânea originada das células pigmentares, tem sido objeto de investigação abrangente, em especial no contexto da resposta imune frente aos tumores, e tem servido como paradigma no desenvolvimento de novas abordagens imunoterapêuticas. Tal destaque decorre, em parte, da elevada carga mutacional observada neste distúrbio celular, a qual amplia tanto sua imunogenicidade quanto a infiltração de células do sistema imunológico nos sítios neoplásicos, comparativamente a outros tipos de câncer. A resposta imunológica aos melanomas engloba um intrincado conjunto de componentes de acordo com a figura 11. À medida que a neoplasia progride, acumula uma série crescente de alterações genéticas e epigenéticas, algumas com as quais indicaram a imunogenicidade das células oncogênicas e o processo de infiltração destas células imunes (Kalaora *et al.*, 2022).

Figura 11 – Melanomas com assimetria característica, irregularidade de bordas, variação de cor e grande diâmetro.



Fonte: ABBASI *et al*, 2004.

A interação complexa e intensamente sensível entre a exposição à radiação UV e a gênese do melanoma traz consigo uma dinâmica intrincada, sendo que a exposição solar intermitente emerge como um elemento exacerbador notório no aumento do risco de sua ocorrência. Características arquitetônicas distintivas deste tipo de câncer maligno compreendem assimetria, densidade notória celular, padrões de crescimento confluentes e a delimitação circunscrita completa. Quanto à característica citológica desta neoplasia, observa-se a presença de membranas energéticas espessas e irregulares, combinadas a nucléolos proeminentes. Abordagens preventivas incluem a mitigação da exposição à luz solar bem como à radiação UV (Ahmed; Qadir; Ghafoor, 2020).

O melanoma cutâneo é uma neoplasia originada a partir dos melanócitos dérmicos, caracterizando-se por sua significativa propensão à disseminação metastática. A era da genética molecular e da aplicação da técnica de sequenciamento de próxima geração têm elucidado o protagonismo das espécies oncogênicas, um exemplo da variante BRAFV600E, em numerosos casos, conferindo validade ao papel das linhagens induzidas por radiação UV na instauração do

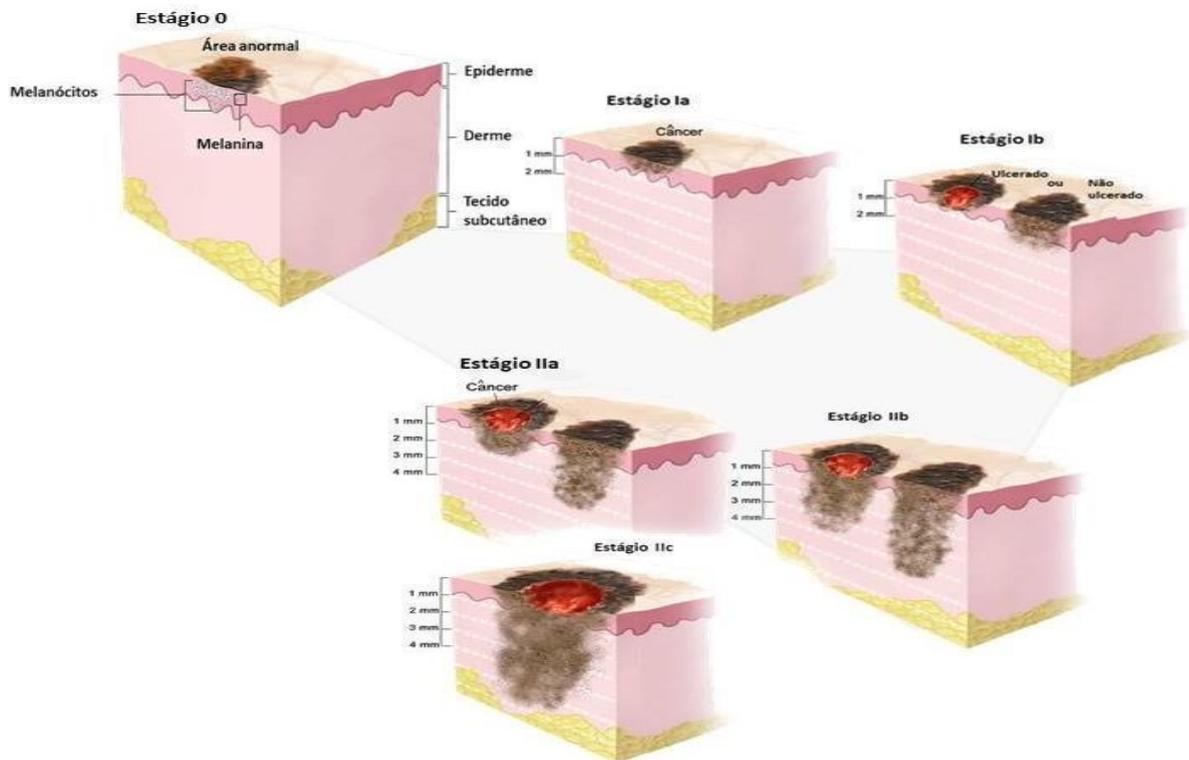
processo melanomatoso. Além disso, essa abordagem tem propiciado a identificação de diversos eventos moleculares subjacentes ao seu desenvolvimento. Alguns estudos clínicos vêm buscando novos tratamentos mais eficazes para exercer um diferencial a obter melhores resultados terapêuticos, proporcionando aumento substancial nas taxas de remissão em casos do melanoma metastático (Ostrowski; Fisher, 2021).

Contudo, deve ser observado que a progressão das células oncológicas também propicia a instauração de um período de resistência que, por conseguinte, culminam no escape imunológico tumoral. A compreensão imune entre as células que compõem essa neoplasia e o sistema imunológico, bem como das alterações em evolução constante que ocorrem no âmbito destas linhagens celulares malignas, no sistema imunológico e no microambiente, emerge como elemento essencial para o delineamento de novas abordagens aos tratamentos antioncogênicos. No entanto, estudos recentes sugerem que fatores extrínsecos adicionais, como o microbioma, podem desempenhar um papel relevante na modulação da resposta imunológica aos melanomas (Kalaora *et al.*, 2022).

Após o diagnóstico inicial, são realizados exames para determinar se as células tumorais se espalharam para outras áreas do corpo, um processo conhecido como estadiamento, que visa estabelecer o estágio da doença (0–IV), desta forma, nortear a abordagem do planejamento terapêutico. Este processo envolve uma avaliação clínica detalhada, que inclui o exame físico para verificar sinais gerais de saúde, histórico de hábitos de vida, condições médicas anteriores, análise dos sintomas específicos da doença e os tratamentos prévios. Além disso, é realizado um mapeamento dos linfonodos, incluindo a biópsia do linfonodo sentinela, e exames de imagem, como tomografia computadorizada do tronco, tomografia por emissão de pósitrons (PET scan), ou mesmo através da ressonância magnética nuclear. Os resultados dessas investigações são combinados com os achados da biópsia neoplásica para determinar o estágio preciso do melanoma (NCI, 2024).

O estágio 0 é denominado melanoma *in situ*, caracterizado pela presença de melanócitos anormais limitados à epiderme, com potencial em evolução para um câncer invasivo, que pode se disseminar para os tecidos adjacentes. Os estágios I e II são subdivididos com base no tamanho do tumor e/ou na presença de ulceração (Figuras Ia e Ib). No estágio III, a característica oncológica pode apresentar qualquer espessura, com ou sem ulceração, e envolver um ou mais gânglios linfáticos. Já no estágio IV, o câncer se espalhou para outras áreas do corpo, como nos ossos, linfonodos, fígado, intestino delgado, pulmões e cérebro (Figuras IIa, IIb e IIc), conforme a figura 12 (Winslow, 2023).

Figura 12 – Estágios 0, I e II do melanoma



Fonte: Adaptado de Winslow, 2023.

O diagnóstico para o melanoma deve ser realizado por meio de uma avaliação clínica detalhada das lesões pigmentadas, feita por profissionais de saúde especializados nesta área. Entre as características morfológicas indicativas de malignidade, destacam-se a assimetria, o crescimento conflituoso, a alta celularidade e a borda mal definida. Contudo, o protocolo para o tratamento e o acompanhamento do paciente acometido por esta doença pode variar segundo o estágio da neoplasia e a manifestação primária. Sendo frequentemente tratado por meio de uma abordagem terapêutica convencional que engloba procedimentos como a bioquimioterapia, a implementação de terapias imunomoduladoras, pelo uso da interleucina 2 (IL-2), além da terapia gênica (Ahmed; Qadir; Ghafour, 2020), e o tratamento cirúrgico por biópsia excisional (Pavri *et al.*, 2016).

Atualmente, a imunoterapia é considerada o “padrão-ouro” no manejo do melanoma. Agentes anti-PD-1, como nivolumabe e pembrolizumabe, são aprovados para o tratamento adjuvante de pacientes com melanoma que apresentam envolvimento linfonodal e que foram submetidos à ressecção completa da doença. Estudos recentes confirmam a eficácia da imunoterapia adjuvante no melanoma, reforçando seu papel central no tratamento dessa neoplasia (Congresso ESMO, 2024). Em termos preventivos, destaca-se primordialmente a

relação para a necessidade de uma redução na exposição à radiação UV e à luz solar. A identificação precoce das células cancerígenas cutâneas acarreta consideravelmente para a redução da mortalidade e na morbidade dos pacientes a curto e longo prazo (Ahmed; Qadir; Ghafoor, 2020).

2.9 TOXICIDADE

As pesquisas voltadas à toxicidade aguda são conduzidas para avaliar o risco de novas substâncias em causar prejuízos à saúde humana, seja por exposição direta ou indireta. Esses estudos são amplamente reconhecidos como procedimentos-padrão na análise toxicológica, sendo, em sua maioria, realizados com roedores (Valadares, 2007; OECD, 2022).

Desde o ano de 1992, a OECD adotou o Teste de Dose Fixa (FDP) (OECD 420) como alternativa ao protocolo anterior (OECD 401). Diferente do guideline 401, o FDP visava principalmente avaliar a toxicidade em vez de focar na mortalidade, embora naquela época não tenha ocorrido uma substituição definitiva. No entanto, em 1996, foi introduzido o Método de Toxicidade Aguda de Classe (ATC), representado pela diretriz OECD 423, oferecendo uma segunda alternativa ao guideline 401. Em suma, apesar da redução do uso de animais, o objetivo final do ATC ainda era a avaliação da mortalidade em resposta à exposição a substâncias. Mas que somente em 1998 surgiu o Teste "Up and Down" (UDP), incorporado na diretriz OECD 425, com a finalidade de avaliar sinais de toxicidade, definir uma relação entre a dose-resposta e conseguir estimar a DL_{50} (Valadares, 2007).

Os ensaios classificam as amostras avaliadas com base nos parâmetros toxicológicos observados nos resultados e nos critérios (Tabela 1) do Sistema Globalmente Harmonizado (GHS) (ANVISA, 2013). Esse processo não apenas auxilia na identificação do potencial tóxico em órgãos específicos, como também permite a estimativa de letalidade e a definição dos perfis toxicocinéticos e da relação dose-resposta da substância administrada, em uma ou mais doses, em um intervalo inferior a 24 horas. Após a administração, os animais permanecem sob observação por 14 dias consecutivos (Purchase *et al.*, 1998; Valadares, 2007; ANVISA, 2013).

Contudo, ao ser analisada extensas discussões acerca do teste de DL_{50} , que determina a dose letal capaz de causar a morte de 50% dos animais em estudos experimentais, várias modificações foram implementadas nas diretrizes 420, 423 e 425. Essas diretrizes atualmente orientam os ensaios de toxicidade aguda e são fundamentais para a identificação do perfil tóxico de novas substâncias, bem como para se obter uma estimativa mais precisa da DL_{50} (ANVISA, 2013; OECD, 2022).

Desta forma, conforme indicado na Tabela 2, o teste de Doses Fixas (OECD 420), o Método de Classificação de Toxicidade Oral Aguda (OECD 423) e o método "UDP" (OECD 425) foram recomendados e incorporados para a avaliação toxicológica de substâncias. Embora cada um apresente uma metodologia distinta, os três métodos possuem objetivos similares. A seleção do método apropriado deve estar fundamentada em evidências científicas e alinhada às diretrizes dos órgãos reguladores voltados à área da pesquisa e a análises amplamente criteriosas (Creton *et al.*, 2010; ANVISA, 2013).

Tabela 2 – Classificação de substâncias baseado em critérios do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação dos produtos químicos após o teste de toxicidade oral aguda.

Toxicidade	Extrema	Alta	Moderada	Pouca	Improvável
Categoria	1	2	3	4	5
Dose em mg/kg	≤ 5	> 5 - 50	> 50 - 300	> 300 – 2000	> 2000 - 5000

Fonte: ANVISA, 2013.

A determinação da toxicidade visa avaliar o potencial de novas substâncias e produtos em causar danos à saúde devido ao seu uso. Testes que investigam a toxicidade sistêmica aguda são empregados para classificar corretamente estes compostos, conforme estipulado pela legislação, com base em seu real potencial a causar um quadro de toxicidade, ou mesmo até a letalidade. Além de possibilitar realizar uma avaliação de letalidade, nos estudos de toxicidade aguda sistêmica investigam outros parâmetros, tais como a análise da toxicocinética, relação dose-resposta e a identificação do potencial tóxico em órgãos específicos. Ademais, a avaliação da toxicidade aguda pode fornecer informações relevantes adicionais fundamentais, como a comparação da toxicidade entre substâncias da mesma classe ou subprodutos, determinação de doses para estudos posteriores de toxicidade, as indicações sobre o mecanismo de ação tóxica, previsão das consequências de exposições acidentais ou tratamentos inadequados, diagnóstico e tratamento de reações adversas e o estabelecimento de padrões para a avaliação de métodos alternativos aos testes em animais experimentais (Purchase *et al.*, 1998; Blaauboer, 2003; Coecke *et al.*, 2005; Prieto *et al.*, 2006). De acordo com a tabela 3, os testes para a avaliação da toxicidade devem ser conduzidos em laboratório sob condições controladas para analisar e estimar a toxicidade de plantas e/ou seus compostos que afetam de alguma forma o modelo de estudo (Turkez; Arslan; Ozdemir, 2017).

Tabela 3 – Diretrizes da OECD e princípios norteadores para a avaliação de toxicidade oral aguda.

	Teste de Dose Fixa OECD 420	Toxicidade aguda de classe OECD 423	Teste “Up and down” OECD 425
Dose	5, 50, 300 e 2000 mg/kg – 5 animais por dose fixa	5, 50, 300 e 2000 mg/kg – 3 animais por dose fixa	Dose inicial estimada (175 mg/kg) fator de progressão de 3.2 – 1 animal / ou 2000 mg/kg – 1 animal – observação 48 horas.
Princípio	Identificar a menor dose que cause toxicidade	Identificar a menor dose que cause letalidade /mortalidade	Estimar DL ₅₀
Objetivo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estimar a faixa da DL₅₀; 2. Observar sinais da toxicidade oral aguda; 3. Analisar efeitos tóxicos nos órgãos - alvo. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estimar a faixa da DL₅₀; 2. Observar sinais da toxicidade oral aguda; 3. Analisar efeitos tóxicos nos órgãos - alvo. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estimar a faixa da DL₅₀; 2. Observar sinais da toxicidade oral aguda; 3. Analisar efeitos tóxicos nos órgãos - alvo.

Fonte: Adaptado: Botham, 2004.

2.10 GENOTOXICIDADE

A Toxicogenética, ou Genética Toxicológica, é um campo especializado dentro da Toxicologia que examina os efeitos genotóxicos causados por agentes químicos e físicos no organismo após ocorrer alguma forma de exposição aguda ou crônica. Esse estudo visa identificar danos potenciais às moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) decorrentes dessa exposição (Queiroz *et al.*, 2013; De Lima *et al.*, 2016).

A análise de genotoxicidade de certas substâncias, realizada isoladamente de outros ensaios, não deve ser interpretada como um indicador direto de carcinogenicidade. Embora esses estudos de genotoxicidade frequentemente estejam vinculados a etapas iniciais ou intermediárias do processo tumorigênico, seus achados servem apenas como suporte para avaliar a possível tendência carcinogênica associada ao uso de substâncias, sejam elas de origem natural ou sintética (Ribeiro, 2003).

Consideram-se genotóxicos os compostos, sejam de origem natural ou sintética, que ao interagirem com o DNA provocam danos estruturais ou funcionais, os quais podem ou não se consolidar no material genético, levando a mutações. Esses danos ao DNA podem ser mensurados por meio de testes realizados tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Além disso, a exposição

prolongada a agentes genotóxicos eleva o risco de desenvolvimento tumoral (ANVISA, 2013). É importante destacar que compostos classificados como genotóxicos nem sempre apresentam caráter mutagênico, uma vez que lesões no DNA podem ser reparadas pelo sistema de correção do próprio organismo. Entretanto, todos os compostos que induzem mutações genéticas são necessariamente considerados genotóxicos (Hayashi *et al.*, 1990; De Flora; Ferguson, 2005).

Conforme as diretrizes das autoridades reguladoras do Japão, Europa e EUA, estudos voltados para produtos farmacológicos requerem investigações pré-clínicas para avaliar o seu potencial de efeitos genotóxicos e mutagênicos em seres humanos (Brambilla; Martelli, 2006; Ku *et al.*, 2007). Embora os ensaios *in vitro* tenham suas limitações, uma vez que as culturas celulares carecem dos mecanismos de defesa presentes em sistemas imunológicos e não realizam nenhum tipo de biotransformação, a combinação desses ensaios com testes *in vivo* é recomendada. Essa abordagem reduz as variáveis, além de ser mais econômica e otimizada (Hartung; Daston, 2009). É crucial fortalecer e aprimorar os testes de toxicidade genética, pois eles têm a capacidade de avaliar os riscos à saúde humana mostrando o potencial das substâncias que avançaram em adequações terapêuticas de tratamentos disponibilizados pela indústria ou no sistema de saúde (Turkez; Arslan; Ozdemir, 2017).

Os agentes genotóxicos, de acordo com seus efeitos, podem ser classificados nas seguintes categorias: 1) Genotóxicos, que induzem danos ao DNA; 2) Mutagênicos, responsáveis por promover lesões e mutações genéticas; 3) Carcinogênicos, que provocam o desenvolvimento de câncer; e 4) Teratogênicos, que causam anomalias congênitas (Natarajan, 1993; Saks *et al.*, 2017).

Considerando as evidências de que as mutações estão diretamente associadas à instabilidade genômica, ao desenvolvimento de câncer e a doenças congênitas, conforme descrito em diversos estudos, agências regulatórias como FDA, EMA e ANVISA estabeleceram a importância da implementação de testes de genotoxicidade. Esses testes visam avaliar os potenciais riscos associados ao consumo de novas substâncias, além de contribuir para a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos e fitoterápicos (Ribeiro, 2003; ANVISA, 2013).

Em suma, ensaios biológicos são frequentemente utilizados como indicadores de genotoxicidade, uma vez que permitem quantificar e qualificar lesões gênicas, mutações genéticas e danos cromossômicos (Barbisan *et al.*, 2003; Ribeiro, 2003). Sendo o ensaio de micronúcleo em sangue periférico o teste mais comum utilizado para avaliar a mutagenicidade e a genotoxicidade (Hayashi *et al.*, 1990).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a toxicidade aguda, genotoxicidade e atividade antiproliferativa do extrato metanólico das folhas de *Aristolochia nevesarmondiana* e do extrato metanólico obtido por biotransformação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a atividade antiproliferativa *in vitro* do extrato metanólico das folhas de *Aristolochia nevesarmondiana* (EMFAn) e o extrato metanólico obtido por biotransformação (material fecal) de lagartas *Battus polydamas* alimentadas com as folhas de *A. nevesarmondiana* (EMBAn);
- Determinar a GI₅₀ *in vitro* do extrato metanólico das folhas de *Aristolochia nevesarmondiana* (EMFAn) e o extrato metanólico obtido por biotransformação (material fecal) de lagartas *Battus polydamas* alimentadas com as folhas de *A. nevesarmondiana* (EMBAn);
- Determinar a citotoxicidade dos extratos em linhagens de células normais (NCI/3T3: fibroblasto murino);
- Investigar a toxicidade aguda do EMBAn em camundongos BALB/C;
- Avaliar a atividade antitumoral do EMFAn e do EMBAn em camundongos BALB/C;
- Avaliar o efeito genotóxico do EMFAn e do EMBAn em camundongos BALB/C.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos metanólicos das folhas de *A. nevesarmondiana* e das fezes das borboletas *B. polydamas* foram extraídas individualmente e exaustivamente por maceração com metanol. Após as etapas de filtração simples, as soluções de metanol obtidas foram concentradas sob pressão reduzida para obter os extratos das fezes e das folhas (NOGUEIRA et al., 2021), sob coordenação do professor Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira, da Universidade Federal da Grande Dourados, que gentilmente forneceu as amostras para os ensaios.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Ensaio *In Vitro*

4.2.1.1 Ensaio de Citotoxicidade

Para o teste de citotoxicidade, as células armazenadas em nitrogênio líquido (melanoma murino (B16F10), e fibroblasto murino (3T3), adenocarcinoma humano de mama (MCF-7), Glioma (U251), carcinoma de cólon (HT-29), Carcinoma de mama triplonegativo (MDA-MB-231) e carcinoma triplorresistente variante R3 (MDA – R3)) foram descongeladas e utilizadas no experimento. O processo de descongelamento foi realizado em banho-maria a 37°C, transferindo-se as células dos criotubos para um tubo cônico de 15 mL contendo 9 mL de meio DMEM ou RPMI, suplementado com gentamicina (50 µg/mL) e 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). Esse tubo foi centrifugado por 4 minutos a 1000 RPM, o sobrenadante aspirado, e o *pellet* ressuscitado em 5 mL de meio. A suspensão celular foi reservada para um frasco de manutenção de 25 cm² e incubado a 37°C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂, até atingir aproximadamente 80% de confluência.

Quando a densidade celular necessária foi atingida, o meio de cultura foi aspirado, restando apenas as células aderidas ao fundo do frasco. Essas células foram então desprendidas com a adição de 0,5 mL de tripsina-EDTA (0,25% + EDTA 1 mM) com adição de PBS (pH 7,4) e incubadas por 3 a 4 minutos, até o desprendimento total. A suspensão celular foi adicionada em outro tubo cônico de 15 mL contendo meio completo (meio, antibiótico e 10% de SFB) em volume três vezes maior que o de tripsina, para neutralização. Em seguida, foi

realizada uma centrifugação por 4 minutos a 1000 rpm, o sobrenadante foi aspirado e o *pellet* ressuspendido em 2 mL de meio completo, sendo essa suspensão utilizada para a contagem celular.

Para a contagem, uma alíquota de suspensão foi diluída em Trypan Blue (1:5), um corante que diferencia células viáveis de não viáveis. As células diluídas foram contadas na Câmara de Neubauer (hemocitômetro) e ajustadas a uma densidade específica. Em seguida, as células foram semeadas em placas de 96 poços, formando duas placas: T0 (tempo zero) e T (teste). Na placa T0, a suspensão celular foi adicionada em triplicata para cada linhagem, assim como triplicatas de meio de cultura. Ambas as placas foram incubadas por 24 horas para estabilização celular.

Após esse período, foi feita a leitura na placa T0, utilizando o corante Sulforodamina B (SRB) para o teste de citotoxicidade. Na placa de teste, foram adicionadas, em triplicata, quatro concentrações da amostra-teste (0,25, 2,5, 25 e 250 $\mu\text{g/mL}$), previamente dissolvidas em DMSO e diluídas em meio completo (com concentração máxima de DMSO de 0,25%, sem efeitos nas projeções celulares). A placa de teste também incluía controles: branco para cada concentração, controle negativo (células + 100 μL de meio) e controle positivo com doxorrubicina (0,025, 0,25, 2,5 e 25 $\mu\text{g/mL}$). A placa foi incubada por 48 horas antes da leitura final.

Na leitura, utilizou-se SRB, um corante que possui afinidade pelas proteínas celulares. Dessa forma, quanto maior for a densidade celular, maior será a quantidade de proteínas e, conseqüentemente, mais forte ficará a coloração que será analisada por absorvância em espectrofotômetro. O procedimento incluiu: aspiração do sobrenadante das cavidades, adição de 100 μL de TCA 20% em cada cavidade para fixação celular (com descanso por 30 minutos a 4°C), lavagem com água corrente, adição de 50 μL de SRB 0,1% diluído em ácido acético 1% (repouso por 30 minutos), lavagem com ácido acético 1% para remoção do excesso de corante, e adição de 100 μL de corante Trizma Base (10 mM, pH 10,5) para solubilização de corante ligado às proteínas celulares.

A leitura da absorvância foi realizada em leitor de microplacas a 540 nm, calculando-se a porcentagem de crescimento celular para cada linhagem no software Excel 2003/2007, conforme fórmulas de Monks *et al.* (1991). A dose que inibe 50% do crescimento celular (GI_{50}) foi determinada usando o software Origin versão 6.0. Amostras com $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ foram definidas como ativas (Itharat *et al.*, 2004).

A partir da determinação do GI_{50} , foi estabelecida a concentração utilizada nos ensaios subsequentes.

4.2.1.2 Determinação do Índice de Seletividade

O Índice de Seletividade (IS) foi utilizado para avaliar a seletividade de um composto por uma linhagem neoplásica em comparação com uma linhagem normal, sendo uma medida de relevância potencial para ensaios clínicos. No estudo realizado, o IS foi calculado como a razão entre o GI₅₀ do composto-teste na linhagem 3T3 de células normais e o GI₅₀ na linhagem neoplásica conforme a equação:

$$IS = \frac{\text{GI}_{50} \text{ da amostra na linhagem normal}}{\text{GI}_{50} \text{ da amostra na linhagem neoplásica}}$$

O IS igual ou superior a 2,0 foi considerado significativo (Suffness, 1990; Alexandrino *et al.*, 2019; Fetter *et al.*, 2022).

4.3.1 Ensaio *In Vivo*

4.3.1.1 Ensaio Toxicidade Oral Aguda

O estudo foi conduzido no Laboratório de Modelos Experimentais de Doenças (LMED) da Faculdade de Medicina na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), seguindo o método *Acute Toxic Class* (OECD, 2001, com modificações). Foram utilizados 36 camundongos BALB/C, sendo 18 machos e 18 fêmeas adultas (aproximadamente 8 semanas de idade), alocados em caixas de polipropileno forradas com maravalha de *Pinus sp.* autoclavado. Os animais foram submetidos a um ciclo de luz e escuro de 12 horas (12 horas de luz e 12 horas de escuridão, com as luzes desligando às 18h e ligando às 6h), temperatura controlada de 22 ± 2°C, umidade de 55 ± 10%, e alimentação fornecida por ração comercial e água filtrada *ad libitum*. Todos os espécimes foram provenientes do Biotério Central da UFMS, após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMS (CEUA, protocolo nº 1.323/2024), em conformidade com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Durante os 14 dias de avaliação, no caso de mortalidade de 50% ou mais dos animais, novos experimentos foram prolongados, ajustando-se as doses conforme uma ordem progressiva (2.000 mg/kg, 1.000 mg/kg, 500 mg/kg, 300 mg/kg e 50 mg/kg). O extrato metanólico obtido por biotransformação a partir do material fecal de lagartas *Battus polydamas* alimentados com as folhas de *A. nevesarmondiana* (AMBAn) foi utilizado para os tratamentos, avaliando alterações comportamentais em relação ao Sistema Nervoso Central (SNC), Sistema

Nervoso Autônomo (SNA) e presença ou ausência de óbitos, de acordo com o modelo descrito por Almeida *et al.* (1999).

Os camundongos BALB/C de ambos sexos, com peso entre 25-35 g, foram divididos em grupos: grupo veículo (3 machos e 3 fêmeas) tratado com DMSO a 2% e o grupo tratado com AMBAn (3 machos e 3 fêmeas), administrados via oral na dose de 2.000 mg/kg e demais doses em progressão subsequentes (OECD, 2001). Os animais foram monitorados por 4 horas após a administração dos extratos, com observações nos primeiros 30 minutos, 1, 2, 3 e 4 horas, e os resultados foram comparados ao controle negativo. Esses mesmos animais foram acompanhados diariamente por 14 dias para verificar a ocorrência de óbitos, parâmetro utilizado para a determinação do DL₅₀. Adicionalmente, o peso dos animais, o consumo de ração e de água foram avaliados diariamente.

No 14º dia de experimentação, antes da eutanásia, os animais foram anestesiados com aparelho de anestesia inalatória (Bonther®), utilizando 10% de isoflurano. Após o procedimento, fígado e rins foram coletados, pesados e examinados macroscopicamente.

4.4 Ensaio Avaliação Antitumoral

4.4.1 Delineamento Experimental

Foram utilizados 40 camundongos machos da linhagem BALB/C saudáveis, com aproximadamente 8 semanas e peso médio (25 a 35 g), foram obtidos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) após aprovação do protocolo pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, nº 685/ 2015), em conformidade com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O modelo experimental consiste na formação de nódulos subcutâneos por meio da inoculação de uma suspensão contendo células B16-F10 (1×10^6 células em 0,2 mL de PBS) na região interescapular dos camundongos separados em 4 grupos (n = 10) cada. Decorridos 10 dias após a inoculação, os animais receberam o tratamento somente de uma dose por via intraperitoneal (0,2 mL) com EMFAn e EMBAn. O grupo controle negativo foi tratado com PBS adicionado 5% de azeite, enquanto o grupo controle positivo recebeu doxorrubicina na dose de 2 mg/kg.

Onze dias após a administração da única dose do tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia utilizando uma solução de isoflurano a 10%. Os nódulos tumorais foram excisados para avaliação dos parâmetros de peso (g) e volume (mm³), conforme metodologia descrita por Gomes Neto *et al.* (2002), Alexandrino *et al.* (2019) e Fetter *et al.* (2022). A partir

desses dados, foi calculado uma porcentagem de inibição do crescimento tumoral em grupos submetidos a diferentes tratamentos.

O EMFAn e o EMBAAn foram diluídos em azeite de oliva, e as doses a serem testadas foram condicionais com base nos resultados do teste de toxicidade aguda. Para cada um dos extratos, três doses foram selecionadas, desde que demonstrassem atividade antiproliferativa contra as células B16F10 *in vitro*.

Os tumores foram excisados e pesados, e seus diâmetros foram medidos com um paquímetro digital. Seus volumes foram calculados utilizando a fórmula de Aço (Steel, 1977; Navarro *et al.*, 2018; Salomão *et al.*, 2023): $((D \times d)^2/2)$, onde D e d representam os diâmetros maior e menor, respectivamente (Schuh, 2004; Navarro *et al.*, 2018).

4.4.2 Ensaio Micronúcleo

O ensaio do micronúcleo foi realizado no Laboratório CETROGEN conforme descrito por Hayashi *et al.* (1990), com modificações propostas por Oliveira *et al.* (2013), sob coordenação do professor Dr. Rodrigo Juliano Oliveira, da Faculdade de Medicina na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, que gentilmente forneceu os equipamentos e os reagentes para o ensaio. Para a execução do teste, foram utilizados 40 µL de sangue periférico retirado da veia caudal dos camundongos, depositados em lâminas previamente cobertas com 20 µL de Alaranjado de Acridina (1,0 mg/mL). Em seguida, as lâminas foram recobertas com lâminulas de vidro. O material foi armazenado em freezer a -20 °C por um período mínimo de quinze dias. Posteriormente, as lâminas foram analisadas em microscópio de fluorescência, com aumento de 40x, utilizando filtro de barreira de 420-490 nm e filtro de barreira de 520 nm. Foram avaliadas 2.000 células por animal, conforme metodologia descrita por Hoff Brait *et al.* (2015).

4.4.3 Análise Estatística

A análise dos dados da porcentagem de crescimento celular obtida segundo Monks *et al.* (1991) foi utilizada na elaboração de gráficos por regressão não linear para obtenção da GI₅₀ em software de análise de dados Origin 6.0.

Os resultados obtidos do volume e peso dos tumores no ensaio *in vivo* de atividade anticâncer foram expressos como média ± erro padrão da média e comparados com os controles por meio da análise de variância (ANOVA) seguidos pelo pós-teste de Tukey. Os valores foram

considerados significativos quando $p < 0,05$.

Na toxicidade oral aguda, aos dados obtidos aplicaram-se os testes de análise de variância (ANOVA) seguido de teste Tukey. Considerou-se valores significativos para $p < 0,05$, com resultados expressos pela média \pm erro padrão da média.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos agentes utilizados no tratamento quimioterápico de grande potencial terapêutico têm origem em recursos naturais. As plantas desempenharam um papel fundamental no desenvolvimento de muitos medicamentos utilizados no tratamento de diversas condições de saúde. Estima-se que cerca de 75% dos medicamentos sintéticos disponíveis derivam, direta ou indiretamente, de compostos isolados de espécies vegetais (Newman; Cragg, 2016). Este trabalho apresentou, de forma pioneira, uma análise comparativa sobre a capacidade de o EMFAn e o EMBAAn para inibir o crescimento tumoral do melanoma. Além disso, foi avaliada sua atividade antitumoral em células de melanoma murino B16-F10, bem como os efeitos toxicogênicos e a toxicidade aguda desses extratos em camundongos da linhagem BALB/C.

5.1 ENSAIOS *IN VITRO*

5.1.1 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE E DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE SELETIVIDADE

Os extratos metanólico das folhas de *A. nevesarmondiana* e o das fezes da lagarta *Batus polydamas* alimentadas com as folhas de *A. nevesarmondiana* foram avaliados quanto à citotoxicidade nas seguintes linhagens tumorais: melanoma murino (B16-F10), adenocarcinoma humano de mama (MCF-7), Glioma (U251), carcinoma de cólon (HT-29), Carcinoma de mama triplonegativo (MDA-MB-231), carcinoma triplorresistente variante R3 (MDA – R3). Também foram testados em uma linhagem de células normais, fibroblasto murino (NIH/3T3). Como controle positivo dos experimentos foi utilizado o quimioterápico Doxorubicina.

De acordo com a Tabela 4, os valores de GI_{50} (concentração necessária para inibir 50% do crescimento celular) e os índices de seletividade (IS) dos compostos EMFAn e EMBAAn em diversas linhagens celulares neoplásicas e em fibroblastos murinos (NIH/3T3).

Tabela 4 – Atividade antiproliferativa (GI₅₀) e índice de seletividade (IS) de EMFAn e EMBAAn em células neoplásicas e fibroblasto murino (NIH/3T3).

Linhagens celulares	EMFAn		EMBAAn		Doxorrubicina	
	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS
NIH/3T3	275,01		275,47		0,55	
B16-F10	277,37	0,99	549,94	0,50	0,025	22,00
MCF-7	483,41	0,56	278,88	0,98	0,05	11,00
HT-29	376,29	0,73	301,86	0,91	0,09	6,10
U251	583,54	0,47	429,25	0,64	0,034	16,10
MDA-R3	325,26	0,84	351,96	0,78	14,3	0,04
MDA-MB231	274,31	1,00	384,96	1,39	14,7	0,004

Valores GI₅₀ (µg/ml) para os EMFAn e EMBAAn nas diferentes linhagens neoplásicas e linhagem de células de fibroblasto murino (NIH/3T3).

Linhagem não tumoral: fibroblasto murino (NIH/3T3).

Índice de seletividade (IS): GI₅₀ da linhagem imortalizada de fibroblasto murino (NIH/3T3) dividida pela GI₅₀ da linhagem neoplásica.

Linhagens tumorais: melanoma murino (B16-F10), adenocarcinoma humano de mama (MCF-7), Glioma (U251), carcinoma de cólon (HT-29), Carcinoma de mama triplonegativo (MDA-MB-231), carcinoma triplonegativo variante R3 (MDA – R3). Fonte: Própria do Autor.

A Tabela 4 apresenta os valores de GI₅₀ e os índices de seletividade (IS) dos compostos EMFAn e EMBAAn em diversas linhagens celulares neoplásicas e em fibroblastos murinos (NIH/3T3). O GI₅₀ para o EMFAn na linhagem NIH/3T3 foi de 275,01 µg/mL, enquanto para o EMBAAn foi de 275,47 µg/mL, mostrando que ambas as composições possuem citotoxicidade semelhante em células não tumorais. Em relação às linhagens tumorais, o EMFAn apresentou GI₅₀ variando de 274,31 µg/mL (MDA-MB-231) a 583,54 µg/mL (U251), com IS entre 0,47 (U251) e 1,00 (MDA-MB-231). O EMBAAn exibiu GI₅₀ entre 278,88 µg/mL (MCF-7) e 549,94 µg/mL (B16-F10), com IS variando de 0,5 (B16-F10) a 1,39 (MDA-MB-231). A GI₅₀ é a concentração necessária para inibir 50% do crescimento celular (Silva *et al.* 2016).

O índice de seletividade é uma medida crucial para avaliar a segurança de compostos antitumorais, pois valores próximos ou inferiores a 1 indicam baixa seletividade para células tumorais em relação às não tumorais, indicando potencial toxicidade sistêmica (Ugwu; Conradie, 2023). Pelos dados obtidos podemos inferir que estas amostras não apresentam seletividade (IS menor que 2.0) nas linhagens testadas sugerindo potencial citotóxico (Suffines, 1991; IndraYantro, 2021).

Os dados indicam que tanto o EMFAn quanto o EMBAAn possuem atividade antiproliferativa em diversas linhagens tumorais, porém com baixa seletividade, conforme

evidenciado pelos IS próximos ou inferiores a 1. Em suma, para a linhagem MDA-MB-231, o EMFAn apresentou IS de 1,00, enquanto o EMBAn apresentou IS de 1,39, recomendando uma ligeira preferência do EMBAn por células tumorais dessa linhagem. É importante notar que, para o desenvolvimento de agentes quimioterápicos eficazes, busca-se um IS elevado, ou seja, que haja maior toxicidade para células tumorais do que para células normais (Ugwu; Conradie, 2023). Portanto, os compostos EMFAn e EMBAn, apesar de exibirem atividade antiproliferativa, necessitam ainda mais estudos na busca de modificações estruturais ou formulações que aumentem sua seletividade para células cancerígenas, minimizando efeitos adversos em células saudáveis.

5.2 ENSAIOS *IN VIVO*

5.2.1 ENSAIO TOXICIDADE ORAL AGUDA

Ao realizar a análise geral dos dados obtidos nos resultados do ensaio de toxicidade oral aguda tanto para os camundongos machos e fêmeas, evidenciou-se não ter ocorrido sinais de toxicidade sistêmica com uma variação no ganho ponderal nos diferentes grupos experimentais tratados com o EMBAn, que pode ser associada ao impacto metabólico e à segurança das doses administradas (Tabela 5).

Tabela 5 - Evolução da massa corpórea e ganho ponderal, em camundongos machos e fêmeas, nos grupos controle e grupos tratados com as doses únicas de 2000 mg/kg, 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 300 mg/kg e 50 mg/kg.

Grupos	Peso corporal (g)		Ganho de massa corporal	
	Inicial	Final	Média (g)	Porcentagem (%)
Machos				
Grupo 1 - (Controle negativo)	25,70	26,43	0,73	2,84
Grupo 2 - 2000 mg/kg	21,40	21,66	0,26	1,21
Grupo 3 - 1000 mg/kg	26,80	27,83	1,03	3,84
Grupo 4 - 500 mg/kg	21,40	22,6	1,20	5,61
Grupo 5 - 300 mg/kg	28,36	27,8	-0,56	-1,97
Grupo 6 - 50 mg/kg	22,46	22,83	0,37	1,68
Fêmeas				
Grupo 1 - (Controle negativo)	27,03	26,83	0,20	0,74
Grupo 2 - 2000 mg/kg	23,53	24,26	0,73	3,10

Grupo 3 - 1000 mg/kg	27,80	28,00	0,20	0,72
Grupo 4 - 500 mg/kg	22,7	23,53	0,83	3,66
Grupo 5 - 300 mg/kg	26,9	27,6	0,70	2,60
Grupo 6 - 50 mg/kg	23,06	23,96	0,90	3,90

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas para o ganho de peso entre os grupos tratados. Para Grupo Machos (p) = 0,5653 e Fêmeas (p) = 0,112. Fonte: Própria do Autor.

A análise dos resultados para os camundongos machos nos diferentes grupos experimentais indica uma variação no ganho ponderal. Os dados sugerem que, em doses mais baixas e intermediárias, o composto visualmente não apresentou um quadro de toxicidade significativa. O grupo controle negativo apresentou um aumento ponderal de 2,84%, um valor que está dentro da faixa normal esperada para esta espécie no grupo de não tratados. Os ganhos de massa corporal ao longo de períodos experimentais curtos está de acordo com o que é usualmente encontrado nesse tipo de roedor, o que confirma que o aumento registrado neste grupo está dentro dos parâmetros fisiológicos esperados. O ganho ponderal observado sugere a ausência de efeitos adversos decorrentes apenas da manipulação dos animais, reforçando a confiabilidade dos resultados experimentais (Hedrich; Bullock, 2004).

Desta forma, reflete diretamente na ausência de efeitos adversos devido à falta em qualquer tipo de intervenção, um comportamento esperado para grupos controles conforme descrito na literatura (Hedrich; Bullock, 2004). No grupo tratado de EMBA com 2.000 mg/kg, observou-se o menor ganho ponderal (1,21%) entre os grupos tratados, indicando que a dose elevada pode ter causado um leve impacto no metabolismo dos animais, resultando em uma recuperação ponderal mais lenta. Doses mais altas podem afetar o metabolismo dos camundongos, levando a uma recuperação de peso mais lenta ou atenuada após o tratamento com substâncias potencialmente tóxicas, mas sem efeitos adversos agudos (Gad, 2006). Isso é corroborado por Saleem *et al.* (2017), o qual relatam que doses de 2.000 mg/kg podem ser adequadas para a avaliação de segurança, mas devem ser monitoradas quanto a potenciais alterações. O grupo de EMBA com 1.000 mg/kg apresentou um ganho ponderal de 3,84%, o que sugere que essa dose foi bem tolerada, com efeitos metabólicos mínimos. Estudos como o de Jatoth *et al.* (2025) confirmam que doses menores que de 2.000 mg/kg, são frequentemente melhor toleradas pelos camundongos e não geram efeitos adversos evidentes. A boa recuperação ponderal neste grupo reforça a segurança dessa dose, que parece estar dentro dos limites seguros para o composto testado. Esse valor também é compatível com estudos que apontam que doses intermediárias frequentemente resultam em ganho ponderal reduzido sem indicativos claros de toxicidade, como discutido por Wellington *et al.*, (2022) que evidenciam

respostas metabólicas limitadas em doses menores que 2.000 mg/kg. O maior ganho ponderal percentual (5,61%) foi registrado no grupo tratado com 500 mg/kg de EMBAn, o que destaca a ausência de efeitos deletérios significativos nesta dose. Wellington *et al.*, (2022) afirmam que doses mais baixas podem promover efeitos metabólicos positivos, estimulando uma recuperação homeostática sem interferir nas funções fisiológicas dos animais. O ganho ponderal elevado sugere que a dose de 500 mg/kg é segura e bem tolerada, proporcionando uma resposta metabólica favorável. O grupo tratado com 300 mg/kg de EMBAn apresentou uma perda ponderal de -1,97%, indicando uma possível resposta adversa leve ou um ajuste metabólico em função da dose. Como preconizado pela OECD a perda de peso pode ocorrer em doses subcríticas devido a uma menor tolerância dos animais ou alterações nos processos metabólicos induzidos pela substância (OECD, 2001). O efeito de perda ponderal leve sugere que, embora a dose não tenha sido fatal, o organismo pode ter enfrentado dificuldades em manter o equilíbrio homeostático. O ganho ponderal moderado de 1,68% observado neste grupo de EMBAn com 50 mg/kg sugere que a dose foi bem tolerada e não causou toxicidade relevante. Esse valor está de acordo com a literatura, que sugere que doses baixas como essa geralmente não induzem efeitos adversos significativos.

De acordo com o estudo de Wellington *et al.* (2022), confirmam que doses menores são associadas à segurança do composto, sem alteração significativa na saúde dos animais. A análise dos dados de ganho ponderal para os machos sugere que as doses de EMBAn com 1.000 mg/kg e 500 mg/kg foram as mais bem toleradas, com ganhos ponderais positivos e ausência de sinais de toxicidade significativa. A dose de EMBAn com 2.000 mg/kg, embora tenha mostrado um ganho ponderal menor, não apresentou efeitos adversos agudos. Em contrapartida, a dose de 300 mg/kg resultou em perda ponderal, sugerindo um leve impacto metabólico adverso, possivelmente devido a menor tolerância dos animais. Já a dose de EMBAn com 50 mg/kg foi considerada segura, com um ganho ponderal moderado, sem sinais de toxicidade relevante. De acordo com a literatura, doses de até 50 mg/kg são frequentemente associadas à ausência de efeitos adversos, que descrevem a segurança de baixas doses em animais adultos (Shaikh; Sancheti; Sathaye, 2012).

No entanto, a análise dos resultados para os camundongos fêmeas o grupo controle negativo apresentou um ganho ponderal de 0,74%, que está dentro dos valores esperados para camundongos não tratados. Esse valor é consistente com a literatura o qual sugere que camundongos de controle podem apresentar ganhos ponderais leves devido à variação natural entre os indivíduos (Gad, 2006). As fêmeas tratadas com 2.000 mg/kg de EMBAn apresentaram um ganho ponderal de 3,10%, sugerindo boa tolerância à dose sem efeitos adversos

significativos. Saleem *et al.* (2017) relatam que doses elevadas geralmente não geram efeitos metabólicos graves, especialmente em fêmeas.

O ganho ponderal de 0,72% registrado no grupo de EMBA_n com 1.000 mg/kg sugere boa tolerância à dose, embora com uma resposta metabólica mais modesta em comparação aos machos. Estudos de Wellington *et al.*, (2022) sugerem que, em fêmeas, a resposta ao tratamento pode ser menos pronunciada em doses intermediárias. Já no grupo de EMBA_n com 500 mg/kg apresentaram um ganho ponderal de 3,66%, o que está dentro dos valores considerados seguros e sem sinais de toxicidade significativa. Isso é consistente com os achados de Wellington *et al.*, (2022) ao qual afirmam que doses baixas são frequentemente associadas à recuperação metabólica sem alterações adversas. Esse achado é consistente com os estudos de Wellington *et al.*, (2022) que relatam que doses de 500 mg/kg administrados em fêmeas são bem toleradas e geralmente resultam em um ganho ponderal sem sinais de toxicidade.

O ganho ponderal moderado de 2,60% no grupo de EMBA_n com 300 mg/kg indica uma resposta metabólica adequada, com sinais limitados de efeitos adversos. Segundo Kharat, Nambiar e Kharat (2019), observam que doses intermediárias podem gerar respostas de ganho ponderal mais variadas, sem evidências de toxicidade significativa. O ganho ponderal de 3,90% foi o maior entre as fêmeas, sugerindo que está dose de EMBA_n com 50 mg/kg foi bem tolerada e considerada segura. De acordo com Shaikh, Sancheti e Sathaye, (2012), relataram que doses mais baixas geralmente resultam em ganhos ponderais elevados sem efeitos adversos significativos. Este valor também é corroborado por Sharmila *et al.* (2022), o qual indicam que no geral, as doses de 50 mg/kg administradas em fêmeas são frequentemente associadas ao aumento ponderal sem qualquer alteração adversa significativa.

A comparação geral entre os grupos demonstrou que as doses de EMBA_n com 1.000 mg/kg e 500 mg/kg EMBA_n foram as mais bem toleradas, tanto para machos quanto para fêmeas, com ganhos ponderais positivos e ausência de sinais de toxicidade significativa. A dose com 300 mg/kg de EMBA_n, no entanto, resultou em uma leve perda ponderal nos machos, sugerindo maior sensibilidade a essa dose em comparação com as fêmeas. Isso é condizente com a literatura, que sugere que doses mais baixas podem afetar o metabolismo de maneira diferente entre sexos, conforme mencionado por Freeland *et al.* (2012) que observam variações no impacto de doses em camundongos machos e fêmeas.

A análise global dos resultados sugere que EMBA_n apresenta um perfil de segurança aceitável nas doses mais baixas e intermediárias. As doses mais altas, como a de 2.000 mg/kg, embora bem toleradas inicialmente, podem começar a afetar o metabolismo dos machos, o que precisa ser monitorado em estudos de longo prazo. Em doses mais altas, o impacto no

metabolismo, especialmente nos machos, pode ser mais evidente, mas sem perda ponderal significativa. Esses resultados estão em concordância com os achados de outros estudos sobre segurança pré-clínica, que demonstram que compostos administrados em doses baixas a intermediárias geralmente não causam efeitos adversos graves (Wellington *et al.*, 2022). Em geral, a ausência de perda ponderal acentuada nos grupos com as doses mais baixas e intermediárias reflete a baixa toxicidade do EMBA_n, corroborando com as conclusões de Shaikh, Sancheti e Sathaye (2012) sobre a segurança de compostos químicos em modelos pré-clínicos.

Vale destacar que a perda de peso é um sinal indicativo de toxicidade, se não houve perda de massa significativa podemos inferir que a amostra testada pode ser menos tóxica ou apresenta baixo nível de toxicidade (Wellington *et al.*, 2022).

5.2.2 ENSAIO AVALIAÇÃO ANTITUMORAL

Para avaliar a relevância biológica dos resultados *in vitro*, confirmando a atividade antiproliferativa *in vivo*, foi realizado o ensaio de melanoma murino em camundongos BALB/C inoculados com células B16-F10.

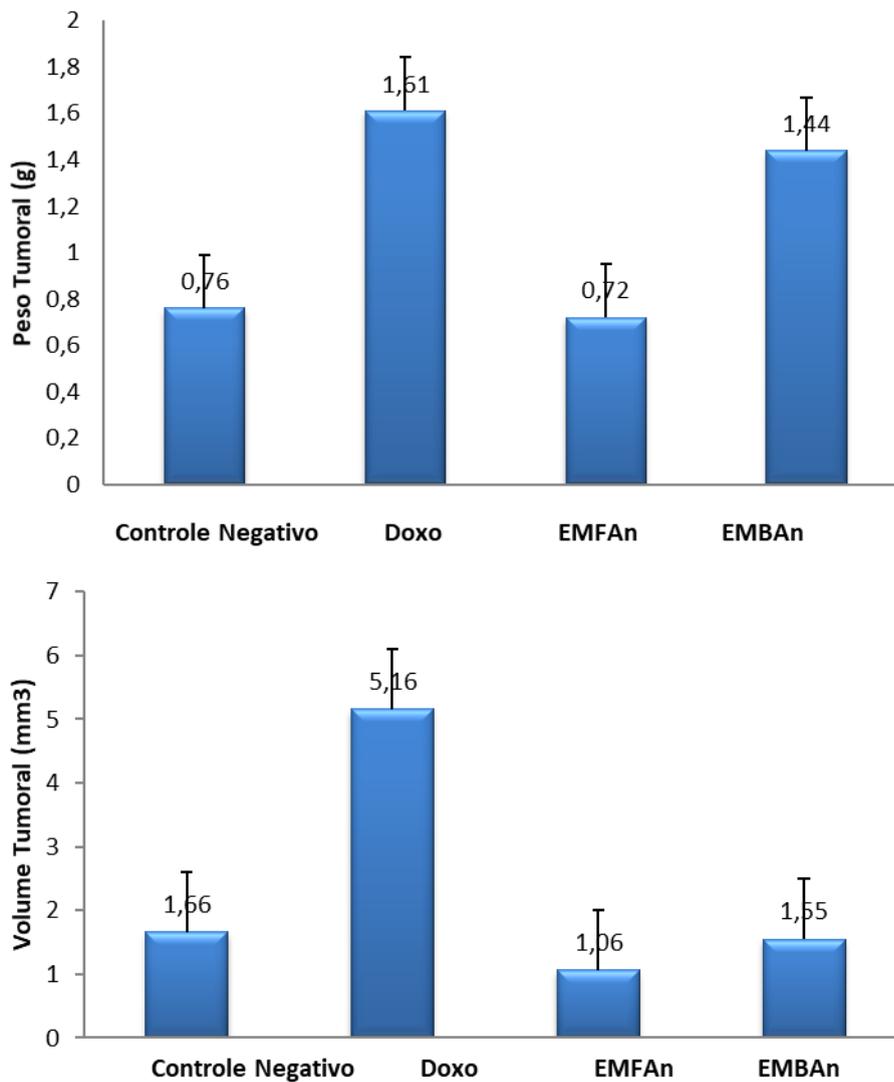
Os resultados encontrados de cada tratamento são mostrados na tabela 6 e na figura 16, abaixo descritos:

Tabela 6 – Valores referentes ao Peso e Volume Tumoral dos nódulos obtidos dos camundongos BALB/C após tratamento com EMFA_n e EMBA_n.

Grupos tratados	Peso (g)	Volume (mm³)
Controle Negativo (PBS)	0,76 ± 0,2 ^a	1,66 ± 0,94 ^b
Controle Positivo (Doxorrubicina)	1,61 ± 0,4 ^a	5,16 ± 2,0 ^b
EMFA_n	0,72 ± 0,6 ^a	1,06 ± 0,7 ^b
EMBA_n	1,44 ± 0,6 ^a	1,55 ± 1,0 ^b

Os dados estão expressos como média ± erro padrão da média. Letras iguais na mesma coluna indicam não haver diferença estatística significativa entre os grupos (p > 0,05). Fonte: Própria do Autor.

Figura 16 – Peso médio e volume médio dos tumores (gramas) nos camundongos BALB/C, de acordo com o grupo de tratamento.



Não houve diferença estatisticamente significativa (ANOVA) $p > 0,05$.
 Fonte: Própria do Autor.

Os valores de peso e volume tumoral observados nos camundongos tratados i.p com EMFAn e EMBAn foram comparados aos grupos controle negativo (PBS) e controle positivo (Doxorrubicina). Como indicado na Tabela 6 e representado graficamente na Figura 16, observa-se que os tratamentos com EMFAn e EMBAn apresentaram efeitos moderados sobre a redução do peso e volume tumoral, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas em comparação aos grupos controle ($p > 0,05$).

O grupo tratado com EMFAn apresentou um peso tumoral médio de $0,72 \pm 0,6$ g, o menor entre os grupos, inclusive menor que o controle negativo ($0,76 \pm 0,2$ g). Esse dado sugere um potencial efeito antiproliferativo da amostra EMFAn, embora os valores não sejam

estatisticamente diferentes (ANOVA, $p > 0,05$). Por outro lado, o tratamento com EMBA_n resultou em um peso tumoral médio de $1,44 \pm 0,6$ g, mais elevado do que o grupo tratado com EMFA_n e próximo ao controle positivo (Doxorrubicina), que apresentou o maior peso tumoral médio ($1,61 \pm 0,4$ g). Isso pode ser atribuído à toxicidade não específica da Doxorrubicina, que, apesar de seu uso como quimioterápico padrão, pode não apresentar eficácia uniforme em todas as condições experimentais (Pugazhendhi *et al.*, 2018). Em suma, o comportamento sugere que EMBA_n pode não possuir um efeito tão pronunciado na redução do peso tumoral quanto o EMFA_n, uma observação consistente com a literatura que aborda variações na eficácia de substâncias bioativas dependendo de suas estruturas químicas e mecanismos de ação (Biesalski *et al.*, 2009).

Quanto ao volume tumoral, o grupo tratado com EMFA_n obteve uma média de $1,06 \pm 0,7$ mm³, enquanto o EMBA_n apresentou $1,55 \pm 1,0$ mm³. Ambos os valores foram inferiores ao controle positivo (Doxorrubicina), que registrou o maior volume tumoral médio ($5,16 \pm 2,0$ mm³). Apesar do volume tumoral estar próximo ao controle negativo, o peso tumoral foi maior, o que pode indicar um acúmulo de tecido não relacionado à massa tumoral, como edema, ou uma resposta inflamatória local ao tratamento (Onuchic; Chammas, 2010). Esses dados corroboram a tendência observada no peso tumoral, sugerindo que EMFA_n apresenta maior potencial de redução tumoral em comparação ao EMBA_n. Entretanto, a ausência de significância estatística ($p > 0,05$) indica que esses compostos podem necessitar de ajustes estruturais ou alterações na dosagem para potencializar seus efeitos. Segundo Boça *et al.* (2024), as substâncias bioativas podem requerer formulações otimizadas ou combinações sinérgicas para alcançar maior eficácia terapêutica em modelos tumorais. No entanto, devido à alta taxa de óbito ocorrido nos camundongos do grupo EMFA_n, desta forma refletiu diretamente em uma redução real do número dos dados obtidos o que interferiu na análise geral da estatística realizada.

Embora a Doxorrubicina seja um quimioterápico amplamente utilizado e eficaz, os dados deste estudo indicam um aumento no peso e volume tumoral médio no grupo tratado com esse agente em comparação ao controle negativo e aos compostos EMFA_n e EMBA_n. Tal achado pode ser explicado por fenômenos de resistência tumoral adquirida ou características específicas do modelo experimental utilizado, conforme descrito na literatura (Cox; Weinman, 2016). Estudos prévios sugerem que a toxicidade sistêmica da Doxorrubicina pode influenciar negativamente a resposta terapêutica em alguns casos (Pugazhendhi *et al.*, 2018).

Após 24 horas de administrar os extratos, observou-se que apenas no grupo de EMFA_n via i.p., os animais apresentaram pelo ericado, urina escura (colúria), diarreia e prolápsos retais,

o que levou a morte de 50 % dos animais deste grupo. Os sinais observados, como pelo erigido e colúria, são indicadores comuns de estresse fisiológico e possível disfunção hepática ou renal em modelos murinos. A colúria, por exemplo, é frequentemente associada a alterações hepáticas graves e também relacionado com lesão renal, como o aumento de bilirrubinas no sangue, que pode ser desencadeado por hepatotoxicidade, conforme destacado por (Rizk *et al.*, 2017).

A diarreia, combinada ao prolapso retal, indica irritação gastrointestinal grave, possivelmente mediada por uma resposta inflamatória exacerbada ou alteração no microbioma intestinal dos animais. Compostos com potencial tóxico podem gerar lesões na mucosa intestinal, aumentar a permeabilidade intestinal e provocar inflamação, resultando nos sinais clínicos observados. O prolapso retal, embora menos frequente, é um reflexo secundário comum a diarreias intensas e prolongadas em roedores (Gad, 2006).

A taxa de mortalidade de 50% neste grupo sugere uma toxicidade aguda preocupante para o composto do EMFAn na dose administrada. Uma mortalidade significativa associada a sinais clínicos graves, como os observados neste estudo, pode estar relacionada a efeitos tóxicos diretos sobre órgãos vitais, incluindo fígado, rins e intestinos (Gad, 2006; Hedrich; Bullock, 2004). Além disso, a administração intraperitoneal pode exacerbar o impacto sistêmico, pois facilita a absorção direta do composto na circulação sistêmica, aumentando sua biodisponibilidade e toxicidade. Nos últimos anos, a farmacologia desta espécie tem se concentrado principalmente nos ácidos aristolóquicos, conhecidos por sua nefrotoxicidade, que estão associados à nefropatia causada pelo consumo da erva chinesa, uma condição que foi reconhecida em 1992 (Kuo; Li; Wu, 2012). No entanto, conforme os princípios das boas práticas em pesquisa animal (3Rs: Redução, Refinamento e Substituição), é fundamental minimizar o sofrimento animal (OECD, 2018).

Apesar dos resultados promissores, a ausência de significância estatística limita conclusões definitivas sobre a eficácia dos EMFAn e EMBAn. Contudo, a redução consistente no peso e volume tumoral observada no EMFAn demonstrou uma tendência de redução do crescimento tumoral, alinhando-se com estudos prévios que sugerem a atividade antiproliferativa de compostos naturais (Zhou *et al.*, 2023). De acordo com Hambley (2009), a busca por substâncias bioativas que apresentem seletividade tumoral e baixa toxicidade é uma abordagem promissora na oncologia experimental, sendo necessária a realização de estudos adicionais para investigar sua ação em maior profundidade e para otimizar sua eficácia. Embora sem apresentar resultados como os obtidos do EMFAn os grupos tratados com EMBAn apresentarão redução dos efeitos tóxicos e ainda, não houve óbito de nenhum animal indicando que a biotransformação pode ter sido um fator relevante na ausência de toxicidade deste extrato.

5.2.3 ENSAIO MICRONÚCLEO

Após o tratamento realizado com ambos os extratos, foi observado um aumento significativo na frequência de micronúcleos no grupo tratado com o EMFAn em relação aos grupos controle negativo e positivo e com o grupo tratado com o EMBAAn, o que sugere um potencial efeito genotóxico desta substância. Em contrapartida, o tratamento com o EMBAAn não apresentou diferença significativa da formação de micronúcleos em relação ao grupo controle negativo, diminuindo desta forma, no extrato de biotransformação uma ausência de genotoxicidade detectável nas condições experimentais utilizadas (Tabela 7).

Tabela 7 – Frequência de micronúcleos no sangue periférico de camundongos BALB/C após 24 horas de serem tratados com EMFAn e do EMBAAn.

Grupos tratados	Número de indivíduos por grupo (n)	Número de óbitos por grupo	Média ±EPM	Valor de p
Controle Negativo (PBS)	10	1	11,22 ± 0,66	<0,01*
Controle Positivo (Doxorrubicina)	10	2	49,87 ± 1,5	ns
EMBAAn	10	0	11,5 ± 0,9	<0,01*
EMFAn	10	6	110,75 ± 5,7	<0,01*

*Estatisticamente significativo ao nível de 1% (ANOVA, pós teste de Tukey). EPM = erro padrão da média.

Fonte: Própria do Autor.

A Tabela 7 apresenta a frequência de micronúcleos no sangue periférico de camundongos BALB/c após 24 horas de tratamento com o EMFAn e EMBAAn. Observa-se que o grupo controle negativo (PBS) apresentou uma média de 11,22 ± 0,66 micronúcleos, enquanto o controle positivo (Doxorrubicina) exibiu uma média significativamente superior, de 49,87 ± 1,5 micronúcleos. O grupo tratado com o EMFAn apresentou uma média de 110,75 ± 5,7 micronúcleos, registrando um aumento significativo na relação com os demais grupos. Em contrapartida, o grupo tratado com EMBAAn mostrou uma média de 11,5 ± 0,9 micronúcleos, semelhante ao controle negativo.

A análise estatística revelou que as diferenças entre os grupos foram significativas ao nível de 1% ($p < 0,01$), conforme determinado pela ANOVA seguida do pós-teste de Tukey. Esses resultados sugerem que o tratamento com EMFAn induziu um aumento substancial na frequência de micronúcleos, tendo um potencial efeito de genotoxicidade. Por outro lado, o EMBAn não mostrou um efeito genotóxico significativo, apresentando resultados comparáveis ao controle negativo. A frequência de micronúcleos é um biomarcador amplamente utilizado para avaliar danos genotóxicos em células, sendo indicativo de quebras cromossômicas ou disfunções no fuso mitótico (Navarro *et al.*, 2014; Navarro *et al.*, 2018).

A doxorubicina é um agente quimioterápico amplamente utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer. No entanto, sua administração está associada a efeitos genotóxicos significativos, como evidenciado pelo aumento na frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos. Estudos anteriores corroboram esses achados, demonstrando que a doxorubicina pode induzir danos ao DNA, resultando em elevação da frequência de micronúcleos em modelos murinos (Almeida Junior *et al.*, 2020).

A elevação na frequência de micronúcleos observados no grupo tratado com doxorubicina indica um efeito genotóxico pronunciado, alinhado com relatos na literatura que associam o uso deste medicamento a danos genômicos. Esses resultados ressaltam a necessidade de monitoramento cuidadoso dos efeitos adversos da doxorubicina e a consideração de estratégias para mitigar sua genotoxicidade em contextos clínicos (Boriollo *et al.*, 2017).

A alta taxa de mortalidade observada no grupo tratado com o EMFAn (seis óbitos, sendo que cinco animais morreram após a administração do extrato em dez indivíduos), pode estar associada à toxicidade sistêmica deste extrato, possivelmente relacionada ao seu efeito genotóxico, evidenciado pelo aumento na frequência de micronúcleos e pela alta mortalidade observada. A ausência de óbitos no grupo EMBAn não demonstrou ter efeitos genotóxicos detectáveis nas condições experimentais, o que reforça a hipótese de menor toxicidade desta substância em comparação ao EMFAn. De acordo com Yalçın *et al.* (2010) o extrato da semente de uva (GSE) atenuou os danos genotóxicos na medula óssea e restaurou o índice mitótico, demonstrando potencial na proteção contra os efeitos deletérios causados em quadros associados a ação tóxica com atividade genotóxica de alguns tipos de substâncias (Yalçın *et al.*, 2010).

Tabela 8 – Média do peso inicial e final dos animais dos grupos experimentais.

Grupos	Peso corporal (g)		Ganho de massa corporal	
	Inicial	Final	Média (g)	Porcentagem (%)
Controle Negativo (PBS)	26,60	28,54	1,94	7,19
Controle Positivo (Doxorrubicina)	28,34	30,27	1,93	6,81
EMFAn	26,72	27,87	1,15	4,30
EMBAn	26,98	28,80	1,82	6,75

Não houve diferença estatística significativa entre as médias dos pesos dos grupos tratados, tanto peso inicial ($p = 0,1129$) quanto final ($p = 0,1791$). Fonte: Própria do Autor.

A tabela 8 apresentada descreve os pesos corporais iniciais e finais dos animais em diferentes grupos experimentais, bem como os ganhos de massa corporal e as respectivas porcentagens de ganho para cada grupo. A análise dos dados sugere que, embora as médias dos ganhos ponderais variem entre os grupos, não houve diferença estatística significativa entre as médias dos pesos iniciais e finais de todos os grupos, conforme indicam os valores de p obtidos ($p = 0,1129$ para o peso inicial e $p = 0,1791$ para o peso final). A seguir, será discutida a interpretação desses resultados à luz da literatura científica relevante.

O grupo Controle Negativo, que não recebeu nenhum tratamento além do veículo PBS, apresentou um ganho ponderal médio de 1,94 g, correspondente a um aumento de 7,19% no peso corporal. Esse aumento está dentro da faixa esperada para camundongos controle negativo (Hedrich; Bullock, 2004). O ganho observado no grupo Controle Negativo sugere uma resposta fisiológica normal, sem interferência de compostos exógenos.

O grupo Controle Positivo, tratado com doxorrubicina, apresentou um ganho de massa corporal médio de 1,93 g (6,81%), levemente inferior ao do grupo Controle Negativo. A doxorrubicina é um agente quimioterápico conhecido por causar efeitos adversos significativos, incluindo perda de peso em modelos experimentais, como relatado por Biondo *et al.* (2016). No entanto, o ganho ponderal observado neste grupo é compatível com o efeito atenuado da doxorrubicina, que pode não ter induzido perda significativa de peso no presente estudo, possivelmente devido à dosagem ou à duração do tratamento. Freitas *et al.* (2024) destacam que a doxorrubicina pode gerar variações no ganho ponderal dependendo da dosagem administrada, e neste caso, o efeito parece ser leve, sem perdas substanciais de peso.

O grupo tratado com o EMFAn apresentou um ganho ponderal médio de 1,15 g,

correspondente a 4,30%. Este ganho foi o menor entre os grupos, sugerindo que o composto pode ter um efeito moderado na recuperação ponderal dos animais. Embora o ganho de peso seja significativamente mais baixo que o do Controle Negativo e Controle Positivo, a ausência de efeitos adversos graves é indicada pelos valores de p que sugerem que o tratamento não causou alteração estatisticamente significativa no peso final dos animais. De acordo com Cansian (2017), compostos em ensaios iniciais podem causar respostas mais brandas no metabolismo, o que é consistente com os resultados obtidos no presente estudo.

O grupo tratado com EMBA_n obteve um ganho ponderal médio de 1,82 g (6,75%), valor que se aproxima ao observado no Controle Negativo e no Controle Positivo. Este ganho ponderal sugere que o EMBA_n não causou efeitos metabólicos adversos substanciais e foi bem tolerado pelos animais. Estudos semelhantes, como os de Cansian (2017) indicam que extratos em doses moderadas frequentemente não induzem alterações significativas no ganho ponderal, a menos que existam efeitos tóxicos evidente. O fato de o EMBA_n ter mostrado resultados comparáveis aos grupos controle sugere que ele não exerceu efeitos adversos marcantes sobre o metabolismo dos camundongos.

Não houve diferença estatística significativa entre os pesos iniciais ($p= 0,1129$) nem finais ($p= 0,1791$) dos grupos experimentais, indicando que, embora os ganhos de massa corporal tenham variado entre os extratos utilizados, essa variação não foram suficientemente pronunciados para alcançar a significância estatística. Isso pode sugerir que as intervenções realizadas, pelo EMFA_n e o EMBA_n, não causaram alterações substanciais nos parâmetros de peso corporal dos animais, de acordo com os critérios estatísticos aplicados. Em suma, foi o que pode ser observado no estudo de avaliação toxicológica, o qual mostrou que a ausência de diferenças significativas pode ser indicativa de baixa toxicidade ou ausência de efeitos metabólicos profundos do extrato analisado, o que pode ser o caso nos grupos tratados por EMFA_n e o EMBA_n (Santos, 2022).

6 CONCLUSÃO

A análise de citotoxicidade *in vitro* do EMFAn e do material biotransformado por *Battus polydamas* (EMBAn), ao realizar a comparação dos resultados sugere que o EMBAn demonstrou uma melhor atividade biológica em células tumorais, apesar de apresentar uma baixa seletividade ($IS \leq 1$), com IS variando em linhagens celulares de 0,5 em melanoma murino (B16-F10) a 1,39 no Adenocarcinoma de mama triplonegativo (MDA-MB- 231).

A determinação da GI_{50} *in vitro* nos extratos, observou-se que ocorreu um maior potencial antiproliferativo do EMBAn, o qual apresentou variações de citotoxicidade entre 278,88 $\mu\text{g/mL}$ no adenocarcinoma humano de mama (MCF-7) e 549,94 $\mu\text{g/mL}$ em melanoma murino (B16-F10).

A análise para a citotoxicidade dos extratos em linhagens de células normais (NCI/3T3: linhagem celular de fibroblasto murino), o GI_{50} de EMFAn foi de 275,01 com um potencial muito próximo ao GI_{50} 275,47 do EMBAn, mostrando que ambos os extratos possuem citotoxicidade semelhante em células não tumorais.

A investigação da toxicidade aguda do EMBAn em camundongos BALB/c não foram observadas diferenças estatísticas significativas para o ganho de peso entre os grupos tratados de 2.000 a 50 mg/kg e os grupos controle negativo e positivo, tanto para machos ($p = 0,5653$) quanto para as fêmeas ($p = 0,112$).

Na avaliação da atividade antitumoral nos ensaios *in vivo*, o EMBAn apresentou um perfil de toxicidade mais seguro em comparação ao EMFAn, que induziu efeitos adversos graves levando a uma alta taxa de mortalidade. Apesar da tendência de redução tumoral observada no EMFAn, os resultados não foram estatisticamente significativos.

A avaliação do efeito genotóxico do EMFAn e do EMBAn em camundongos BALB/c indicou que o grupo tratado com EMFAn apresentou a maior média na formação de $110,75 \pm 5,7$ micronúcleos. Com uma diferença estatisticamente significativa em comparação aos grupos controle ($p < 0,01$).

Dessa forma, EMBAn pode ser uma alternativa promissora para investigações futuras, por conta do seu potencial terapêutico e menor toxicidade. São necessários estudos adicionais para aperfeiçoar a seletividade dos extratos, e entender melhor seus mecanismos de ação e avaliar sua viabilidade para uso clínico no tratamento do câncer.

REFERÊNCIAS

ABBASI, N. R.; SHAW, H. M.; RIGEL, D. S.; *et al.* Early diagnosis of cutaneous melanoma: revisiting the ABCD criteria. *JAMA*, v. 292, n. 22, p. 2771-2776, 2004. Disponível em: <https://www.cancer.gov/types/skin/hp/melanoma-treatment-pdq#cit/section_1.1>. Acesso em: 06 jan, 2025.

AGÊNCIA BRASIL. **Mais de 25 mil espécies da flora só existem no Brasil, mostra estudo.** *Agência Brasil*, 3 fev. 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2021-02/mais-de-25-mil-especies-da-flora-so-existem-no-brasil-mostra-estudo>. Acesso em: 6 jan. 2025.

AHMED, B.; QADIR, M. I.; GHAFOR, S. Malignant melanoma: 678–689skin cancer-diagnosis, prevention, and treatment. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 291–297, 2020. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2020028454. Disponível em: <http://www.dl.begellhouse.com/journals/6dbf508d3b17c437,7b107f23667462f0,6971f7cb0e03a2e5.html>. Acesso em: 9 ago. 2023.

ALÉSSIO, F. *Battus polydamas polydamas* - Portal de Zoologia. 26 mar. 2019. Disponível em: <https://www.portal.zoo.bio.br/media386>. Acesso em: 11 nov. 2024.

ALEXANDRINO, C. A. F.; HONDA, N. K.; MATOS, M. D. F. C.; PORTUGAL, L. C.; SOUZA, P. R. B. D.; PERDOMO, R. T.; GUIMARÃES, R. D. C. A.; KADRI, M. C. T.; SILVA, M. C. B. L.; BOGO, D. Antitumor effect of depsidones from lichens on tumor cell lines and experimental murine melanoma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 449–456, jul. 2019. DOI 10.1016/j.bjp.2019.04.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X18305593>. Acesso em: 3 dez. 2024.

ALEXANDROV, L. B.; ZHIVAGUI, M. Mutational signatures and the etiology of human cancers. *In*: BOFFETTA, Paolo; HAINAUT, Pierre (ed.). **Encyclopedia of Cancer**. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2018. ISBN 9780128124857 (eBook).

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais**. 2017. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2017. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/handle/10284/6104>. Acesso em: 5 jan. 2025.

ALMEIDA JUNIOR, S. D.; BRANQUINHO, G. N.; SANTOS, L. A. S.; SILVA, L. H. D. D.; CRUZ, R. C. R.; DIAS, F. G. G.; FURTADO, R. A. Avaliação do potencial quimioprotetor do fruto de *Psidium guajava* contra os efeitos genotóxicos da doxorubicina. **Cadernos Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 422–425, set. 2020. DOI 10.1590/1414-462x202028030501. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-462X2020000300422&tlng=pt. Acesso em: 8 fev. 2025.

ALMEIDA, R.; FALCÃO, ACGM; DINIZ, RST; QUINTANS, JR. LJ; POLARI, RM; BARBOSA-FILHO, JM; AGRA, MF; DUARTE, JC; FERREIRA, CD; ANTONIOLLI, AR; ARAÚJO, CC. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacia**, [s. l.], v. 80, p. 72–76,

1999. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573387450472414592>. Acesso em: 6 mar. 2024.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 118–129, fev. 2005. DOI 10.1590/S0100-40422005000100021. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000100021&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 29 out. 2024.

AMINI, A.; MESBAH, G.; TASH SHAMSABADI, F.; ZEYGHAMI, M. A.; SAFDARI, Y. Tumour induction in BALB /c mice for imaging studies: An improved protocol. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, [s. l.], v. 27, n. 13, p. 1880–1886, jul. 2023. DOI 10.1111/jcmm.17792. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.17792>. Acesso em: 13 nov. 2024.

AMMIRATI, C. T.; HRUZA, G. J. Clinical presentations of cutaneous melanoma. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 33–46, fev. 2005. DOI 10.1016/j.fsc.2004.04.009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1064740604000604>. Acesso em: 6 nov. 2024.

ANVISA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos - Versão 2.pdf** — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/pesquisa-clinica/manuais-e-guias/guia-para-a-conducao-de-estudos-nao-clinicos-de-toxicologia-e-seguranca-farmacologica-necessarios-ao-desenvolvimento-de-medicamentos-versao-2.pdf/view>. Acesso em: 17 maio 2023.

APG IV. The Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 181, n. 1, p. 1–20, maio 2016. DOI 10.1111/boj.12385. Disponível em: <https://academic.oup.com/botlinnean/article-lookup/doi/10.1111/boj.12385>. Acesso em: 16 ago. 2023.

ARAÚJO, Flávio Henrique Souza de. **Avaliação da toxicidade aguda, potenciais genotóxicos, imunomodulatórios e investigação dos efeitos anti-hiperglicêmicos do infuso liofilizado das folhas de Aristolochia triangularis Cham.** 2021. 237 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2021. Disponível em: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/4917>. Acesso em: 21 nov. 2024.

ARAÚJO, F. H. S. D.; FIGUEIREDO, D. R. D.; AUHAREK, S. A.; PESARINI, J. R.; MEZA, A.; GOMES, R. D. S.; MONREAL, A. C. D.; ANTONIOLLI-SILVA, A. C. M. B.; LIMA, D. P. D.; KASSUYA, C. A. L.; BEATRIZ, A.; OLIVEIRA, R. J. In vivo chemotherapeutic insight of a novel isocoumarin (3-hexyl-5,7-dimethoxy-isochromen-1-one): Genotoxicity, cell death induction, leukometry and phagocytic evaluation. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 665–675, set. 2017. DOI 10.1590/1678-4685-gmb-

2016-0316. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572017000400665&lng=en&tlng=en. Acesso em: 14 jun. 2023.

ARDALAN, M.; KHODAIE, L.; NASRI, H.; JOUYBAN, A. Herbs and hazards: risk of aristolochic acid nephropathy in Iran. **Iranian journal of kidney diseases**, [s. l.], v. 9, n. 1, jan. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25599730/>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BARATA, L. E. S. Empirismo e ciência: fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, [s. l.], v. 57, n. 4, p. 4–5, dez. 2005. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0009-67252005000400002&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 29 out. 2024.

BARBISAN, L.; SCOLASTICI, C.; MIYAMOTO, M.; SALVADORI, D.; RIBEIRO, L.; DA EIRA, A.; DE CAMARGO, J. Effects of crude extracts of *Agaricus blazei* on DNA damage and on rat liver carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. **Genetics and molecular research: GMR**, [s. l.], v. 2, n. 3, 30 set. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14966678/>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BESSA, N. G. F. de; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 15, n. 4, suppl 1, p. 692–707, 2013. DOI 10.1590/S1516-05722013000500010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722013000500010&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 29 out. 2024.

BFG. The Brazil Flora Group Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, [s. l.], v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015. DOI 10.1590/2175-7860201566411. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602015000401085&lng=en&tlng=en. Acesso em: 16 ago. 2023.

BHATTACHARJEE, P.; BERA, I.; CHAKRABORTY, S.; GHOSHAL, N.; BHATTACHARYYA, D. Aristolochic acid and its derivatives as inhibitors of snake venom L-amino acid oxidase. **Toxicon**, [s. l.], v. 138, p. 1–17, nov. 2017. DOI 10.1016/j.toxicon.2017.08.003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010117302398>. Acesso em: 15 ago. 2023.

BIESALSKI, H.-K.; DRAGSTED, L. O.; ELMADFA, I.; GROSSKLAUS, R.; MÜLLER, M.; SCHRENK, D.; WALTER, P.; WEBER, P. Bioactive compounds: Safety and efficacy. **Nutrition**, [s. l.], v. 25, n. 11–12, p. 1206–1211, 2009. DOI 10.1016/j.nut.2009.06.014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0899900709002603>. Acesso em: 21 jan. 2025

BIONDO, L. A.; LIMA JUNIOR, E.A.; SOUZA, C.O.; CRUZ, M.M.; CUNHA, R.D.C.; ALONSO-VALE, M.I.; OYAMA, L. M.; NASCIMENTO, C. M. O.; PIMENTEL, G. D.; SANTOS, R. V. T dos; LIRA, F. S.; ROSA NETO, J. C. Impact of Doxorubicin Treatment on the Physiological Functions of White Adipose Tissue. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 3, p.

e0151548, 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0151548. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0151548>. Acesso em: 21 jan. 2025

BITTENCOURT, Christiane Meyre da Silva. **Análise fitoquímica e farmacológica de plantas medicinais selecionadas da flora catarinense: Aleurites moluccana, Bauhinia microstachya e Marrubium vulgare**. 2003. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2003. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/85430>. Acesso em: 06 nov. 2024.

BLAAUBOER, B. J. Biokinetic and toxicodynamic modelling and its role in toxicological research and risk assessment. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 31, n. 3, p. 277-281, maio/jun. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15612871/>. DOI: 10.1177/026119290303100310. PMID: 15612871. Acesso em: 04 mar. 2024.

BNDES. **Como surge um novo medicamento?** 13 abr. 2018. Disponível em: <https://www.bndes.gov.br/wps/portal/site/home/conhecimento/noticias/noticia/novos-medicamentos-cgee>. Acesso em: 3 jan. 2025.

BORIOLO, M. F. G.; SILVA, T. A.; RODRIGUES-NETTO, M. F.; SILVA, J. J.; MARQUES, M. B.; DIAS, C. T. S.; HÖFLING, J. F.; RESCK, M. C. C.; OLIVEIRA, N. M. S. Reduction of doxorubicin-induced genotoxicity by *Handroanthus impetiginosus* in mouse bone marrow revealed by micronucleus assay. **Brazilian Journal of Biology**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 1–12, 10 jul. 2017. DOI 10.1590/1519-6984.18515. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842018000100001&lng=en&tlng=en. Acesso em: 8 fev. 2025.

BOUFFORD, D. E.; HSIEH, C.-F. (org.). **Flora of Taiwan = Taiwan zhi wu zhi**. 2. ed. Taipei: Department of Botany, National Taiwan University, 2003.

BOURHIA, M.; HAJ SAID, A. A.; CHAANOUN, A.; EL GUEDDARI, F.; NAAMANE, A.; BENBACER, L.; KHLIL, N. Phytochemical screening and toxicological study of *Aristolochia baetica* Linn roots: histopathological and biochemical evidence. **Journal of Toxicology**, [s.l.], v. 2019, p. 1–7, 3 fev. 2019. DOI: 10.1155/2019/8203832. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jt/2019/8203832/>. Acesso em: 15 ago. 2023.

BOȚA, Mihaela *et al.* Exploring Synergistic Interactions between Natural Compounds and Conventional Chemotherapeutic Drugs in Preclinical Models of Lung Cancer. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 598, 2024. DOI 10.3390/ph17050598. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/5/598>. Acesso em: 21 jan. 2025

BRAIT, D. R. H.; MATTOS VAZ, M. S.; DA SILVA ARRIGO, J.; BORGES DE CARVALHO, L. N.; SOUZA DE ARAÚJO, F. H.; VANI, J. M.; DA SILVA MOTA, J.; CARDOSO, C. A. L.; OLIVEIRA, R. J.; NEGRÃO, F. J.; KASSUYA, C. A. L.; ARENA, A. C. Toxicological analysis and anti-inflammatory effects of essential oil from *Piper vicosanum* leaves. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 699–705, dez. 2015. DOI 10.1016/j.yrtph.2015.10.028. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273230015301124>. Acesso em: 12 nov. 2024.

BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of antihypertensive agents. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, [s. l.], v. 612, n. 2, p. 115–149, mar. 2006. DOI 10.1016/j.mrrev.2005.12.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383574206000020>. Acesso em: 4 mar. 2024.

BRASIL. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p. graf., ilus., tab. (Série A. Normas e Manuais Técnicos, Cadernos de Atenção Básica, 31).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. 2 ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas medicinais e fitoterápicos**. Portal do Governo Brasileiro. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-medicinais-e-fitoterpicos>. Acesso em: 7 jan. 2025.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 221–247, jul. 2011. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>. Acesso em: 29 out. 2024.

BROWN, K. S. J.; DAMMAN, A. J.; FEENY, P. Troidine swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) in Southeastern Brazil: natural history and foodplant relationships. **The Journal of Research on the Lepidoptera**, [s.l.], 1981. Disponível em: [https://www.semanticscholar.org/paper/Troidine-Swallowtails-\(Lepidoptera%3A-Papilionidae\)-KSJr-Aj/7ab419c9f2496b6d34a5247a908a4bd554831ebb](https://www.semanticscholar.org/paper/Troidine-Swallowtails-(Lepidoptera%3A-Papilionidae)-KSJr-Aj/7ab419c9f2496b6d34a5247a908a4bd554831ebb). Acesso em: 12 nov. 2024.

CANSIAN, Ana Carolina Campi. **Efeitos da ingestão de capsinóides sobre a adiposidade corporal em ratos Wistar**. 2017. Mestrado em Clínica Médica - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017. DOI 10.11606/D.17.2017.tde-30032017-100952. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17138/tde-30032017-100952/>. Acesso em: 21 jan. 2025

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P. da; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais** (2238-3565), [s. l.], v. 3, n. 2, p. 44–75, 2014. Disponível em: <https://www.revista.ueg.br/index.php/sapiencia/article/view/2954>. Acesso em: 29 out. 2024.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação

estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 99–105, fev. 1998. DOI 10.1590/S0100-40421998000100015. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421998000100015&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 6 nov. 2024.

CHAOUKI, W.; LEGER, D. Y.; ELJASTIMI, J.; BENEYTOU, J.-L.; HMAMOUCHE, M. Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 269–274, mar. 2010. DOI 10.3109/13880200903096588. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880200903096588>. Acesso em: 5 mar. 2024.

COECKE, S.; BLAAUBOER, B. J.; ELAUT, G.; FREEMAN, S.; FREIDIG, A.; GENSMANTEL, N.; HOET, P.; KAPOULAS, V. M.; LADSTETTER, B.; LANGLEY, G.; LEAHY, D.; MANNENS, G.; MENEGUZ, A.; MONSHOUWER, M.; NEMERY, B.; PELKONEN, O.; PFALLER, W.; PRIETO, P.; PROCTOR, N.; ... SANDT, J. J. M. van de. 3.9. Toxicokinetics and metabolism. **Alternatives to Laboratory Animals**, [s. l.], 1 jul. 2005. DOI 10.1177/026119290503301s15. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/026119290503301s15>. Acesso em: 4 mar. 2024.

COLLINS, A. M.; KENNEDY, M. J. Biotransformations and bioconversions in New Zealand: past endeavours and future potential. **Australasian Biotechnology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 86–94, 1999.

CORDANI, M.; DANDO, I.; AMBROSINI, G.; GONZÁLEZ-MENÉNDEZ, P. Signaling, cancer cell plasticity, and intratumor heterogeneity. **Cell Communication and Signaling**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 255, s12964-024-01643–5, 3 maio 2024. DOI 10.1186/s12964-024-01643-5. Disponível em: <https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12964-024-01643-5>. Acesso em: 6 nov. 2024.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A. D.; MORAES, M. O. D. The contribution of natural products as source of new anticancer drugs: Studies carried out at the National Experimental Oncology Laboratory from the Federal University of Ceará. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 2, n. 1, 2010. DOI 10.5935/1984-6835.20100006. Disponível em: https://rvq.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=570&nomeArquivo=v2n1a06.pdf. Acesso em: 29 out. 2024.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 100, n. 1–2, p. 72–79, ago. 2005. DOI 10.1016/j.jep.2005.05.011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874105003259>. Acesso em: 29 out. 2024.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Orgs.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists; Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2000. (Tutorial Chemistry Texts). DOI 10.1039/9781847551535. Disponível em: <https://books.rsc.org/books/monograph/312/>. Acesso em: 5 nov. 2024.

D'ARCY, C.; HOLMAN, J.; ARMSTRONG, B. K. Pigmentary traits, ethnic origin, benign nevi, and family history as risk factors for cutaneous malignant melanoma. **Journal of the National Cancer Institute**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 257–266, 1984.

DAS, A.; KUMAR, G. S. Natural Aristolochia Alkaloid Aristololactam- β -D-glucoside: interaction with biomacromolecules and correlation to the biological perspectives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 1022–1034, 13 jun. 2018. DOI 10.2174/1389557518666180222170050. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/160052/article>. Acesso em: 8 nov. 2024.

DE FLORA, S.; FERGUSON, L. R. Overview of mechanisms of cancer chemopreventive agents. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [s. l.], v. 591, n. 1–2, p. 8–15, dez. 2005. DOI 10.1016/j.mrfmmm.2005.02.029. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0027510705003192>. Acesso em: 12 nov. 2024.

DE LIMA, F. F.; LIMA TOLOUEI MENEGATI, S. E.; KARENINA TRAESEL, G.; SOUZA DE ARAÚJO, F. H.; HONAISSER LESCANO, C.; MORAES PEIXOTO, S.; MAO SILVA, F. A.; HEREDIA VIEIRA, S. C.; DO CARMO VIEIRA, M.; OESTERREICH, S. A. Study on the cytotoxic, genotoxic and clastogenic potential of *Attalea phalerata* Mart. ex Spreng. oil pulp in vitro and in vivo experimental models. **Andrade PLOS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. e0165258, 20 out. 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0165258. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0165258>. Acesso em: 12 nov. 2024.

DO PRADO SCHNEIDEWIND, F. C. C.; DE CASTILHO, P. F.; GALVÃO, F.; DE ANDRADE DOS SANTOS, J. V.; DA SILVA DANTAS, F. G.; NEGRI, M.; DA SILVA PINTO, L.; MORAES, C. A. F.; FREITAS, J.; DE SOUZA, P. R. B.; NOGUEIRA, C. R.; DE OLIVEIRA, K. M. P. Effects of bioconversion by *Battus polydamas* on the chemical composition of *Aristolochia* spp. and evaluation of antimicrobial activity and biocompatibility. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 175, p. 105949, jun. 2024. DOI 10.1016/j.fitote.2024.105949. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X24001321>. Acesso em: 8 nov. 2024.

DORNAS, W.; OLIVEIRA, T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.; SANTOS, A.; NAGEM, T. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, 2007. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/500>. Acesso em: 21 nov. 2024.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Ciência e Cultura**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 35–36, set. 2003. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0009-67252003000300021&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 5 nov. 2024.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. *In*: SIMÕES, C. M. O. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFRGS; Florianópolis, SC: Ed. da UFSC, 2007. p. [inserir páginas do capítulo]. 1102 p.

ELWOOD, J. M.; JOPSON, J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. **International journal of cancer**, [s. l.], v. 73, n. 2, p. 198–203, 1997.

ERNST, E. Aristolochia, a herbal treatment to die for? **Maturitas**, [s. l.], v. 73, n. 2, p. 85–86, out. 2012. DOI 10.1016/j.maturitas.2012.06.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378512212002228>. Acesso em: 4 abr. 2024.

ESMO. Adjuvant immunotherapy confirms its efficacy in melanoma. [s. d.]. **Daily Reporter**. Disponível em: <https://dailyreporter.esmo.org/esmo-congress-2024/latest-news/adjuvant-immunotherapy-continues-to-confirm-its-efficacy-in-melanoma>. Acesso em: 8 fev. 2025.

FARIA, S. C.; AMARIA, R. N.; PATNANA, M. Melanoma. In: **Oncologic Imaging: a Multidisciplinary Approach**. [S. l.]: Elsevier, 2023. p. 630–655. DOI 10.1016/B978-0-323-69538-1.00037-9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323695381000379>. Acesso em: 6 nov. 2024.

FERRARA, M. A.; SIANI, A. C.; BON, E. P. D. S. Processos de bioconversão aplicados à obtenção de fármacos e intermediários. In: RESENDE, R. R. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4**. 1. ed. [S. l.]: Editora Blucher, 2017. p. 137–172. DOI 10.5151/9788521211150-04. Disponível em: <http://openaccess.blucher.com.br/article-details/processos-de-bioconversao-aplicados-a-obtencao-de-farmacos-e-intermediarios-20255>. Acesso em: 13 nov. 2024.

FERRAZ, A. A segurança que os avanços científicos trazem para a agricultura. **AgroANALYSIS**, [s. l.], v. 38, n. 10, p. 45–45, 2018. Disponível em: <https://periodicos.fgv.br/agroanalysis/article/view/79526>. Acesso em: 29 out. 2024.

FERREIRA, F. G.; POLLI, M. C.; FRANCO, Y. O.; FRACETO, L. F. Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s. l.], v. 6, n. 1, 31 mar. 2009. DOI 10.5216/ref.v6i1.5857. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/5857>. Acesso em: 29 out. 2024.

FETTER, B. Z.; DOURADO, D. M.; BOGO, D.; MATIAS, R.; GUTERRES, Z. R. Therapeutic potential of Smilax Fluminensis ethanolic extract: antitumoral activity in murine melanoma cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 477, n. 1, p. 181–189, jan. 2022. DOI 10.1007/s11010-021-04272-5. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11010-021-04272-5>. Acesso em: 3 dez. 2024.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO-JR., A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M. G.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; ... ZAPPI, D. (Orgs.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Andrea Jakobsson Estúdio, 2010. v. 1.

_____, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO-JR., A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M. G.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; ... ZAPPI, D. (Orgs.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Andrea Jakobsson Estúdio, 2010. v. 2

FREELAND, M. M.; ANGULO, J.; DAVIS, A. L.; FLOOK, A. M.; GARCIA, B. L.; KING, N. A.; MANGIBIN, S. K.; PAUL, K. M.; PROSSER, M. E.; SATA, N.; BENTLEY, J. L.; OLSON, L. E. Sex differences in improved efficacy of doxorubicin chemotherapy in Cbr1+/- mice. **Anti-Cancer Drugs**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 584–589, 2012. DOI 10.1097/CAD.0b013e3283512726. Disponível em: <https://journals.lww.com/00001813-201207000-00002>. Acesso em: 21 jan. 2025

FREITAS, J.; ALVES-ARAÚJO, A. Flora do Espírito Santo: Aristolochiaceae. **Rodriguésia**, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 1505–1539, dez. 2017. DOI 10.1590/2175-7860201768501. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602017000701505&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 16 ago. 2023.

FREITAS, P. A. de; FALANGA, D. C. F.; LANDIM, R. C. de S. L.; DUARTE, L. S. F.; OLIVEIRA, K. A. de; NASCIMENTO, N. R. F. do; OLIVEIRA, A. C. de. Rutina reduz perda de tecido adiposo induzida pela doxorubicina e melhora atividade antioxidante. **Nutrivisa - Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. e12545, 2024. DOI 10.59171/nutrivisa-2024v11e12545. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/nutrivisa/article/view/12545>. Acesso em: 21 jan. 2025

FUNARI, C. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. D. S. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, [s. l.], v. 36, n. 10, p. 1605–1609, 2013. DOI 10.1590/S0100-40422013001000019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013001000019&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 29 out. 2024.

FUNARI, C. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. D. S. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, [s. l.], v. 36, n. 10, p. 1605–1609, 2013. DOI 10.1590/S0100-40422013001000019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013001000019&lng=pt&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 29 out. 2024.

GAD, Shayne C. (org.). **Animal Models in Toxicology**. 0. ed. [S. l.]: CRC Press, 2006. DOI 10.1201/9781420014204. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781420014204>. Acesso em: 21 jan. 2025

GARAVITO, Favio Antonio González. **Flora de Colombia. Aristolochiaceae**. 1990. 184p. Dissertação (Mestrado em Área de Conhecimento) – Nome da Instituição, Local, Ano.

GONZÁLEZ, F. González F (1990) Flora de Colombia. Aristolochiaceae. Monografia nº 12. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá. 184p. 1990. Disponível em: https://www.academia.edu/71995730/Flora_do_Cear%C3%A1_Brasil_Aristolochiaceae_s_s. Acesso em: 16 ago. 2023.

GOMES NETO, A.; PESSOA, B. B. G. D. P.; AGUIAR, S. A. D.; FURTADO, B. M.; MORAES, M. O.; RIBEIRO, R. D. A. Modelo de tumor de pulmão em rato com o carcinosarcoma de Walker. **Acta Cirúrgica Brasileira**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 12–22, fev. 2002. DOI 10.1590/S0102-86502002000100003. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502002000100003&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 1 abr. 2024.

GONZÁLEZ, F. **Uma análise filogenética das Aristolochioideae (Aristolochiaceae)**. 1999. Tese (Doutorado em Biologia) – The City University of New York, [S.l.], 1999.

GONZALEZ, F. A.; STEVENSON, D. W. A Phylogenetic analysis of the subfamily Aristolochioideae (Aristolochiaceae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, [s. l.], v. 26, n. 98, p. 25–59, 2002. Disponível em: <https://go.gale.com/ps/i.do?p=IFME&sw=w&issn=03703908&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA498583674&sid=googleScholar&linkaccess=abs>. Acesso em: 10 ago. 2023.

GONZÁLEZ, Favio. A New species of Aristolochia (Aristolochiaceae) from Bahia, Brazil. **Novon**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 371, 2000. DOI 10.2307/3392989. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3392989?origin=crossref>. Acesso em: 16 ago. 2023.

GONZÁLEZ, Favio. Florística y sistemática filogenética innecesariamente disyuntas: el caso de aristolochia, euglypha y holostylis (aristolochiaceae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, [s. l.], v. 36, n. 139, p. 193–202, jun. 2012. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0370-39082012000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es. Acesso em: 16 ago. 2023.

GÓMEZ-GARCÍA, Alejandro; MEDINA-FRANCO, José L. Progress and Impact of Latin American Natural Product Databases. **Biomolecules**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 1202, 2022. DOI 10.3390/biom12091202. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/9/1202>. Acesso em: 2 fev. 2025

GROENEVELD, H. W.; STEIJL, H.; VAN DEN BERG, B.; ELINGS, J. C. Rapid, quantitative HPLC analysis of *Asclepias fruticosa* L. and *Danaus plexippus* L. cardenolides. **Journal of chemical ecology**, [s. l.], v. 16, p. 3373–3382, 1990.

GUIDO, Rafael V. C.; ANDRICOPULO, Adriano D.; OLIVA, Glaucius. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 167-180, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/mXZ9PsJTF5r9qrp4xFtTCVv/?lang=pt>. Acesso em: 29 out. 2024.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Dezembro laranja: melanoma é o tipo mais grave de câncer de pele**. São Paulo, 2024. Disponível em: <https://capital.sp.gov.br/web/saude/w/dezembro-laranja-melanoma-%C3%A9-o-tipo-mais-grave-de-c%C3%A2ncer-de-pele>. Acesso em: 3 jan. 2025.

HAMBLEY, Trevor W. Is Anticancer Drug Development Heading in the Right Direction?. **Cancer Research**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 1259–1262, 2009. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-08-3786. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/69/4/1259/552752/Is-Anticancer-Drug-Development-Heading-in-the>. Acesso em: 21 jan. 2025

HANSEN, L. G.; SHANE, B. S. Xenobiotic metabolism. *In*: COCKERHAM, L. G.; SHANE, B. S. **Basic Environmental Toxicology**. 1. ed. [S. l.]: CRC Press, 1994. p. 49–105. DOI 10.1201/9781315138091-3. Disponível em:

<https://www.taylorfrancis.com/books/9781351464635/chapters/10.1201/9781315138091-3>. Acesso em: 17 ago. 2023.

HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B. de (org.). **Plantas medicinais**: do curso de plantas medicinais. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente. Divisão Técnica Escola Municipal de Jardinagem, 2010. 248 p., il. Inclui bibliografia. ISBN 978-85-98140-03-2. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sms-2714>. Acesso em: 29 out. 2024.

HARTMANN, A. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 45–51, 1 jan. 2003. DOI 10.1093/mutage/18.1.45. Disponível em: <https://academic.oup.com/mutage/article-lookup/doi/10.1093/mutage/18.1.45>. Acesso em: 12 nov. 2024.

HARTUNG, T.; DASTON, G. Are in vitro tests suitable for regulatory use? **Toxicological Sciences**, [s. l.], v. 111, n. 2, p. 233–237, out. 2009. DOI 10.1093/toxsci/kfp149. Disponível em: <https://academic.oup.com/toxsci/article-lookup/doi/10.1093/toxsci/kfp149>. Acesso em: 4 mar. 2024.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 111–129, fev. 2015. DOI 10.1038/nrd4510. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd4510>. Acesso em: 29 out. 2024.

HASAN, A.; KHAN, N. A.; UDDIN, S.; KHAN, A. Q.; STEINHOFF, M. Deregulated transcription factors in the emerging cancer hallmarks. **Seminars in Cancer Biology**, [s. l.], v. 98, p. 31–50, jan. 2024. DOI 10.1016/j.semcancer.2023.12.001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X2300158X>. Acesso em: 6 nov. 2024.

HÄUSER, C. L.; JONG, R.; LAMAS, G.; ROBBINS, R. K.; SMITH, C.; VANE-WRIGHT, R. I. **Papilionidae – revised GloBIS/GART species checklist** (2nd draft). 2005. Disponível em: <http://www.insects-online.de/frames/papilio.htm>. Acesso em: 23 jun. 2024.

HAYASHI, S.; RUDELL, A.; SINCLAIR, D.; GRIGLIATTI, T. Chromosomal structure is altered by mutations that suppress or enhance position effect variegation. **Chromosoma**, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 391–400, out. 1990. DOI 10.1007/BF01726690. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF01726690>. Acesso em: 8 jun. 2023.

HEINRICH, M.; CHAN, J.; WANKE, S.; NEINHUIS, C.; SIMMONDS, M. S. J. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2—A global assessment based on bibliographic sources. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 125, n. 1, p. 108–144, ago. 2009. DOI 10.1016/j.jep.2009.05.028. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874109003468>. Acesso em: 17 ago. 2023.

HEDRICH, Hans J.; BULLOCK, Gillian R. (org.). **The laboratory mouse**. Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press, 2004. (The handbook of experimental animals).

HENRIQUE, M. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcaloides indólicos de cascas de *Aspidosperma vargasii* e *A. desmanthum*. **Química Nova**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 284–287, 2010. DOI 10.1590/S0100-40422010000200010. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000200010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 5 nov. 2024.

HOEHNE, F. C. **Flora Brasileira**: vol. XV, II Aristolochiaceas. [s. l.], 1942. Disponível em: <http://bibdig.biblioteca.unesp.br/handle/10/26178>. Acesso em: 16 ago. 2023.

HOFF BRAIT, D. R.; MATTOS VAZ, M. S.; DA SILVA ARRIGO, J.; BORGES DE CARVALHO, L. N.; SOUZA DE ARAÚJO, F. H.; VANI, J. M.; DA SILVA MOTA, J.; CARDOSO, C. A. L.; OLIVEIRA, R. J.; NEGRÃO, F. J.; KASSUYA, C. A. L.; ARENA, A. C. Toxicological analysis and anti-inflammatory effects of essential oil from *Piper vicosanum* leaves. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 699–705, dez. 2015. DOI 10.1016/j.yrtph.2015.10.028. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273230015301124>. Acesso em: 21 abr. 2024.

HOU, D. (org). **Flora of Taiwan: Angiospermae volume two** 2. ed. Taipei: Department of Botany, National Taiwan University, 1996.

HUTCHINSON, J. **As famílias de plantas com flores**. 3. ed. Oxford: Clarendon Press, 1973.

IJAZ, S.; AKHTAR, N.; KHAN, M. S.; HAMEED, A.; IRFAN, M.; ARSHAD, M. A.; ALI, S.; ASRAR, M. Plant derived anticancer agents: a green approach towards skin cancers. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 1643–1651, jul. 2018. DOI 10.1016/j.biopha.2018.04.113. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332218318560>. Acesso em: 9 ago. 2023.

IKEDA, Y.; MURAKAMI, A.; OHIGASHI, H. Ursolic acid: an anti- and pro-inflammatory triterpenoid. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 52, n. 1, p. 26–42, jan. 2008. DOI 10.1002/mnfr.200700389. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.200700389>. Acesso em: 5 nov. 2024.

IÓCA, L. P.; ALLARD, P.-M.; BERLINCK, R. G. S. Thinking big about small beings – the (yet) underdeveloped microbial natural products chemistry in Brazil. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 646, 2014. DOI 10.1039/c3np70112c. Disponível em: <https://xlink.rsc.org/?DOI=c3np70112c>. Acesso em: 29 out. 2024.

IQBAL, J.; ABBASI, B. A.; AHMAD, R.; BATOOL, R.; MAHMOOD, T.; ALI, B.; KHALIL, A. T.; KANWAL, S.; AFZAL SHAH, S.; ALAM, M. M.; BASHIR, S.; BADSHAH, H.; MUNIR, A. Potential phytochemicals in the fight against skin cancer: current landscape and future perspectives. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 109, p. 1381–1393, jan. 2019. DOI 10.1016/j.biopha.2018.10.107. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332218338538>. Acesso em: 9 ago. 2023.

ISHII, K.; IWATAKI, M.; MATSUOKA, K.; IMAI, I. Proposal of identification criteria for resting spores of *Chaetoceros* species (Bacillariophyceae) from a temperate coastal sea. **Phycologia**, v. 50, n. 4, p. 351–362, jul. 2011. DOI 10.2216/10-36.1. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2216/10-36.1>. Acesso em: 8 jun. 2023.

ITHARAT, A.; HOUGHTON, P. J.; ENO-AMOOQUAYE, E.; BURKE, P. J.; SAMPSON, J. H.; RAMAN, A. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 90, n. 1, p. 33–38, jan. 2004. DOI

10.1016/j.jep.2003.09.014. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874103003349>. Acesso em: 29 ago. 2023.

JATOTH, R.; DHANABAL, S. P.; SENTHIL, V.; GANESH, T.; SELVARAJ, J.; VENKATESAN, P. S. Acute oral toxicity study of novel polyherbal formulations by using wistar rats and Swiss albino mice as per OECD 425 TG. **Phytomedicine Plus**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 100672, 2025. DOI 10.1016/j.phyplu.2024.100672. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2667031324001465>. Acesso em: 21 jan. 2025

JELAKOVIĆ, B.; DIKA, Ž.; ARLT, V. M.; STIBOROVA, M.; PAVLOVIĆ, N. M.; NIKOLIĆ, J.; COLET, J.-M.; VANHERWEGHEM, J.-L.; NORTIER, J. L. Balkan endemic nephropathy and the causative role of aristolochic acid. **Seminars in Nephrology**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 284–296, maio 2019. DOI 10.1016/j.semnephrol.2019.02.007. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0270929519300130>. Acesso em: 15 ago. 2023.

KALAORA, S.; NAGLER, A.; WARGO, J. A.; SAMUELS, Y. Mechanisms of immune activation and regulation: lessons from melanoma. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 195–207, abr. 2022. DOI 10.1038/s41568-022-00442-9. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/s41568-022-00442-9>. Acesso em: 9 ago. 2023.

KHARAT, Amol; NAMBIAR, Vidya; KHARAT, Kiran R. Antitumor and Antioxidant Potential of Ethyl Acetate Extract of *Ixora Singaporensis* Hort Against Ehrlich Ascites Carcinoma Tumor. [s. l.], 2019. Disponível em:

https://www.ijpbs.com/ijpbsadmin/upload/ijpbs_5d42c7c4aa4ad.pdf. Acesso em: 21 jan. 2025

KIRI, S.; RYBA, T. Cancer, metastasis, and the epigenome. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 154, 2 ago. 2024. DOI 10.1186/s12943-024-02069-w. Disponível em:

<https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-024-02069-w>. Acesso em: 6 nov. 2024.

KRELL, D.; STEBBING, J. Aristolochia: the malignant truth. **The Lancet Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 25–26, jan. 2013. DOI 10.1016/S1470-2045(12)70596-X. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S147020451270596X>. Acesso em: 4 abr. 2024.

KO, M. G. DE LUCA; Rosália Regina; Oliveira, Gabriel M. Camundongo de Laboratório. *In: Valderez Valero, Vania Mattraia e Gui MiKo. (orgs.). Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório*. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2017, p. 169-201

KU, W. W.; BIGGER, A.; BRAMBILLA, G.; GLATT, H.; GOCKE, E.; GUZZIE, P. J.; HAKURA, A.; HONMA, M.; MARTUS, H.-J.; OBACH, R. S.; ROBERTS, S. Strategy for genotoxicity testing--metabolic considerations. **Mutation research**, [s. l.], v. 627, n. 1, 2 mar. 2007. DOI 10.1016/j.mrgentox.2006.10.004. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17141553/>. Acesso em: 4 mar. 2024.

KUO, P.-C.; LI, Y.-C.; WU, T.-S. Chemical constituents and pharmacology of the Aristolochia (馬兜鈴 mǎdōu líng) species. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 249, dez. 2012. DOI 10.1016/s2225-4110(16)30111-0.

Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3942903/>. Acesso em: 8 nov. 2024.

LANS, C. Comparison of plants used for skin and stomach problems in Trinidad and Tobago

with Asian ethnomedicine. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 3, dez. 2007. DOI 10.1186/1746-4269-3-3. Disponível em: <https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-3-3>. Acesso em: 17 ago. 2023.

LIMA, J. S.; LA REZA, D.; TEIXEIRA, S.; COSTA, C. Pesquisa clínica: fundamentos, aspectos éticos e perspectivas. **Revista da SOCERJ**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 225–233, 2003. Disponível em: http://sociedades.cardiol.br/socerj/revista/2003_04/a2003_v16_n04_art01.pdf. Acesso em: 5 fev. 2025.

LYNCH, S. Desenvolvimento de fármacos. **MSD Manual**. Nova Jersey, EUA: Merck & Co., 2023. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/farmacologia-cl%C3%ADnica/conceitos-em-farmacoterapia/desenvolvimento-de-f%C3%A1rmacos>. Acesso em: 3 jan. 2025.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery — then and now. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 3, n. 10, p. 853–862, out. 2004. DOI 10.1038/nrd1523. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd1523>. Acesso em: 29 out. 2024.

LU, J.-J.; BAO, J.-L.; CHEN, X.-P.; HUANG, M.; WANG, Y.-T. Alkaloids isolated from natural herbs as the anticancer agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2012, p. 1–12, 2012. DOI 10.1155/2012/485042. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/485042/>. Acesso em: 9 ago. 2023.

LUZ, H. S.; SANTOS, A. C. G.; LIMA, F.C; MACHADO, K. R. G. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocynaceae), da mesorregião leste maranhense. **Rev. bras. plantas med**, [s. l.], p. 657–662, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000700004. Acesso em: 5 nov. 2024.

MACEDO, M. J. **Desenvolvimento de rotas biotecnológicas para a obtenção de compostos de aroma**. 2020. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufvjm.edu.br/items/f3538618-4147-41f0-be6d-f9042cb8dc5a>. Acesso em: 3 jan. 2025.

MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2008. Disponível em: <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/handle/123456789/5153>. Acesso em: 12 nov. 2024.

MARKS, R. An overview of skin cancers. **Cancer**, v. 75, n. S2, p. 607–612, 1995.

MARQUES, L. G. A.; VIEIRA NETO, J. de B.; SALES, S. L. A.; COSTA, P. M. da S.; GUIMARÃES, C. de J.; MANSO, M. P.; PEREIRA, J. V. de M.; PESSOA, C. do Ó.; OTHERS. O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas. Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/51651>. Acesso em: 5 fev. 2025.

MARTINES, M. A. U. Resorcinolic lipid 3-heptyl-3,4,6-trimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one is a strategy for melanoma treatment. **Life Sciences**, [s. l.], v. 209, p. 300–312, set. 2018. DOI 10.1016/j.lfs.2018.08.022. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320518304685>. Acesso em: 5 mar. 2024.

MARTY, M. A.; KRIEGER, R. I. Metabolism of uscharidin, a milkweed cardenolide, by tissue homogenates of monarch butterfly larvae, *Danaus plexippus* L. **Journal of chemical ecology**, v. 10, p. 945–956, 1984.

MENDONÇA, R. T.; MARINHO, J. L. Medicamentos e Agrotóxicos: um estudo comparativo. **Revista Estudos - Revista de Ciências Ambientais e Saúde (EVS)**, v. 35, n. 3, p. 465–479, 2008. DOI 10.18224/est.v35i3.745. Disponível em:

<https://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/745>. Acesso em: 5 nov. 2024.

MENG, X.; CHEN, J.; ZHANG, Z.; LI, K.; LI, J.; YU, Z.; ZHANG, Y. Non-invasive optical methods for melanoma diagnosis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 34, p. 102266, jun. 2021. DOI 10.1016/j.pdpdt.2021.102266. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1572100021000922>. Acesso em: 6 nov. 2024.

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C.; SANTOS, B. R.; GUIMARÃES, M. F. M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 76–104, mar. 2015. DOI 10.1590/1983-084X/12_139. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000100076&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 9 nov. 2023.

MILLER, J. S. Phylogenetic studies in the Papilioninae (Lepidoptera, Papilionidae). **Bulletin of the AMNH**, v. 186, article 4. [s. l.], 1987. Disponível em: <http://hdl.handle.net/2246/911>. Acesso em: 12 nov. 2024.

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; VAIGRO-WOLFF, A. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, [s. l.], v. 83, n. 11, p. 757–766, 1991.

MORAIS, A. B. B. D.; BROWN, K. S. Larval foodplant and other effects on troidine guild composition (Papilionidae) in southeastern Brazil. **The Journal of Research on the Lepidoptera**, [s. l.], v. 30, n. 1–2, p. 19–37, 1991. DOI 10.5962/p.266633. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/part/266633>. Acesso em: 12 nov. 2024.

NATARAJAN, A. T. Mechanisms for induction of mutations and chromosome alterations. **Environmental Health Perspectives**, [s. l.], v. 101, n. suppl 3, p. 225–229, 1993. DOI 10.1289/ehp.93101s3225. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.93101s3225>. Acesso em: 12 nov. 2024.

NAVARRO, S. D.; PESSATTO, L. R.; MEZA, A.; DE OLIVEIRA, E. J. T.; AUHAREK, S. A.; VILELA, L. C.; DE LIMA, D. P.; DE AZEVEDO, R. B.; KASSUYA, C. A. L.; CÁCERES, O. I. A.; DA SILVA GOMES, R.; BEATRIZ, A.; OLIVEIRA, R. J.; NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to

2014. **Journal of natural products**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NAVARRO, S. D.; PESSATTO, L. R.; MEZA, A.; DE OLIVEIRA, E. J. T.; AUHAREK, S. A.; VILELA, L. C.; DE LIMA, D. P.; DE AZEVEDO, R. B.; KASSUYA, C. A. L.; CÁCERES, O. I. A.; DA SILVA GOMES, R.; BEATRIZ, A.; OLIVEIRA, R. J.; MARTINES, M. A. U. Resorcinolic lipid 3-heptyl-3,4,6-trimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one is a strategy for melanoma treatment. **Life Sciences**, [s. l.], v. 209, p. 300–312, set. 2018. DOI 10.1016/j.lfs.2018.08.022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320518304685>. Acesso em: 4 fev. 2025.

NACIONAL CANCER INSTITUTE. **General information about melanoma**. 11 jan. 2024. [pdqCancerInfoSummary]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/types/skin/hp/melanoma-treatment-pdq>. Acesso em: 12 nov. 2024.

NISHIDA, R. Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 57–92, jan. 2002. DOI 10.1146/annurev.ento.47.091201.145121. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ento.47.091201.145121>. Acesso em: 12 nov. 2024.

NOGUEIRA, C. R.; SILVA, J. D. A. D.; VIEIRA, M. D. C.; CARDOSO, C. A. L.; CARVALHO, R. A. D.; AMARAL, C. S. T.; AMARAL, A. C. Cytotoxicity and the bioconversion strategy of *Aristolochia* spp. **Arquivos do Instituto Biológico**, [s. l.], v. 88, p. e00622019, 2021. DOI 10.1590/1808-1657000622019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572021000100201&tIng=en. Acesso em: 8 nov. 2024.

NUÑEZ BUSTOS, Ezequiel. **Mariposas de la ciudad de Buenos Aires y alrededores**. Edição fotográfica: Roberto Güller. Buenos Aires (Argentina): Vazquez Mazzini Editores, 2010. 262 p.

OECD. **Test No. 425**: acute oral toxicity: up-and-down procedure. OECD Guidelines for the testing of chemicals, Section 4. Paris: OECD Publishing, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264071049-en>. Acesso em: 5 jan. 2025. Disponível em: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure_9789264071049-en. Acesso em: 12 nov. 2024.

_____. **Sistema Harmonizado de Classificação Integrada para a Saúde Humana e Perigos Ambientais de Substâncias e Misturas Químicas**. 2001. Disponível em: <https://www.oecd.org/ehs/class/HCL6.htm>. Acesso em: 29 ago. 2023.

OLIVEIRA, R. J.; SALLES, M. J. S.; SILVA, A. F. da; KANNO, T. Y. N.; LOURENÇO, A. C. dos S.; LEITE, V. da S.; MATIAZI, H. J.; PESARINI, J. R.; RIBEIRO, L. R.; MANTOVANI, M. S. In vivo evaluation of the antimutagenic and antigenotoxic effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* in acute treatment with multiple doses. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 36, p. 413–424, 2013. DOI 10.1590/S1415-47572013005000028. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/gmb/a/Cv7pT6phR7Ksfq7fTZtmXLQ/?lang=en>. Acesso em: 26 abr. 2023.

OMS. **OMS apoia medicina tradicional comprovada cientificamente | OMS | Escritório Regional para a África.** [S. l.], 2025. Disponível em: <https://www.afro.who.int/pt/news/oms-apoia-medicina-tradicional-comprovada-cientificamente>. Acesso em: 2 fev. 2025.

OMS. **Falta de inovação deve prejudicar desempenho dos antibióticos e ganhos em saúde - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde.** [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/22-6-2022-falta-inovacao-deve-prejudicar-desempenho-dos-antibioticos-e-ganhos-em-saude>. Acesso em: 2 fev. 2025.

ONUCHIC, Ana Cláudia; CHAMMAS, Roger. Câncer e o microambiente tumoral. **Revista de Medicina**, [s. l.], v. 89, n. 1, p. 21–31, 2010. DOI 10.11606/issn.1679-9836.v89i1p21-31. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/46269>. Acesso em: 21 jan. 2025

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Carga global de câncer aumenta em meio à crescente necessidade de serviços.** Pan American Health Organization, 1 fev. 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/1-2-2024-carga-global-cancer-aumenta-em-meio-crescente-necessidade-servicos>. Acesso em: 3 jan. 2025.

OSTROWSKI, S. M.; FISHER, D. E. Biology of melanoma. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 29–56, 2021. DOI 10.1016/j.hoc.2020.08.010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889858820301088>. Acesso em: 8 ago. 2023.

PALMA-ONETTO, V.; PARRA, L. E.; GONZÁLEZ-TEUBER, M. Morphological description of larval stages of Battus Polydamas Archidamas, including notes on its eggs and defensive gland. **The Journal of the Lepidopterists' Society**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 154, 2020. DOI 10.18473/lepi.74i3.a2. Disponível em: <https://bioone.org/journals/the-journal-of-the-lepidopterists-society/volume-74/issue-3/lepi.74i3.a2/Morphological-Description-of-Larval-Stages-of-Battus-polydamas-archidamas-Including/10.18473/lepi.74i3.a2.full>. Acesso em: 11 nov. 2024.

PAULERT, R.; ZONETTI, P. C.; ROSSET, I. G. Aristolochia não é planta medicinal de uso interno: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 409-418, 2017. Disponível em: https://www.sbpmed.org.br/admin/files/papers/file_cKDis31P4uUI.pdf. Acesso em: 28 nov. 2024.

PAVRI, S. N.; CLUNE, J.; ARIYAN, S.; NARAYAN, D. Malignant melanoma: beyond the basics. **Plastic & Reconstructive Surgery**, [s. l.], v. 138, n. 2, p. 330e–340e, 2016. DOI 10.1097/PRS.0000000000002367. Disponível em: <https://journals.lww.com/00006534-201608000-00042>. Acesso em: 28 nov. 2024.

PEIXOTO, M. Aristolochia nevesarmondiana. 2020. Disponível em: <https://www.brazilplants.com/aristolochiaceae/aristolochia-nevesarmondiana.html>. Acesso em: 11 nov. 2024.

PFAFFL, M. W.; HORGAN, G. W.; DEMPFLER, L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. **Nucleic acids research**, [s. l.], v. 30, n. 9, 5 jan. 2002. DOI 10.1093/nar/30.9.e36.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11972351/>. Acesso em: 30 ago. 2023.

PRADO, B. B. F. D. Influência dos hábitos de vida no desenvolvimento do câncer. **Ciência e Cultura**, [s. l.], v. 66, n. 1, p. 21–24, 2014. DOI 10.21800/S0009-67252014000100011.

Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000100011&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 2 dez. 2024.

PRIETO, P.; BAIRD, A. W.; BLAAUBOER, B. J.; RIPOLL, J. V. C.; CORVI, R.; DEKANT, W.; DIETL, P.; GENNARI, A.; GRIBALDO, L.; GRIFFIN, J. L.; HARTUNG, T.; HEINDEL, J. J.; HOET, P.; JENNINGS, P.; MAROCCHIO, L.; NORABERG, J.; PAZOS, P.; WESTMORLAND, C.; WOLF, A.; ... PFALLER, W. The assessment of repeated dose toxicity in vitro: a proposed approach: The report and recommendations of ECVAM workshop 56. **Alternatives to Laboratory Animals**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 315–341, 2006. DOI 10.1177/026119290603400307. Disponível em:

<https://research.vu.nl/en/publications/the-assessment-of-repeated-dose-toxicity-in-vitro-a-proposed-appr>. Acesso em: 4 mar. 2024.

PUGAZHENDHI, A.; EDISON, T. N. J. I.; VELMURUGAN, B. K.; JACOB, J. A.; KARUPPUSAMY, I. Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. **Life Sciences**, [s. l.], v. 200, p. 26–30, 2018. DOI 10.1016/j.lfs.2018.03.023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320518301309>. Acesso em: 21 jan. 2025.

PURCHASE, I. F.; BOTHAM, P. A.; BRUNER, L. H.; FLINT, O. P.; FRAZIER, J. M.; STOKES, W. S. Workshop overview: scientific and regulatory challenges for the reduction, refinement, and replacement of animals in toxicity testing. **Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology**, [s. l.], v. 43, n. 2, 1998. DOI 10.1006/toxs.1998.2450. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9710950/>. Acesso em: 4 mar. 2024.

QUEIROZ, F. M. D.; MATIAS, K. W. D. O.; CUNHA, M. M. F. D.; SCHWARZ, A. Evaluation of (anti)genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 135–148, 2013. DOI 10.1590/S1984-82502013000100015. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502013000100015&lng=en&tlng=en. Acesso em: 12 nov. 2024.

RACHELI, T.; PARISSET, L. **Il Genere Battus (Lepidoptera, Papilionidae): tassonomia e storia naturale**. Roma: Università degli Studi "La Sapienza", 1992. 163 p. (Fragmenta Entomologica; v. 23, suplemento). Disponível em: <https://www.pemberleybooks.com/product/il-genere-battus-lepidoptera-papilionidae-tassonomica-e-storia-naturale/2784/>. Acesso em: 12 nov. 2025.

RIBEIRO, Lucia Regina. **Mutagenese Ambiental**. Canoas, RS: Editora Da Ulbra, 2003.

RIBEIRO, Lucia Regina; SALVADORI, Daisy Maria Fávero; MARQUES, Edmundo Kanan. **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 2003. 356 p. Disponível em: https://minerva.ufrj.br/F/?func=direct&doc_number=000879717&local_base=UFR01. Acesso em: 8 jan. 2025.

REED, Robert D.; SPERLING, Felix A.H. **Papilionidae: the swallowtail butterflies**. Version 07 July 2006. The Tree of Life Web Project, 2006. Disponível em:

<http://tolweb.org/Papilionidae/12177/2006.07.07>. Acesso em: 12 nov. 2024.

RIFFAULT-VALOIS, L.; WATTEZ, C.; LANGRAND, J.; BOUCAUD-MAITRE, D.; GASLONDE, T.; COLAS, C.; NOSSIN, E.; BLATEAU, A.; MICHEL, S.; CACHET, X. Health risk associated with the oral consumption of “Chiniy-tref”, a traditional medicinal preparation used in Martinique (French West Indies): qualitative and quantitative analyses of aristolochic acids contained therein. **Toxicon**, [s. l.], v. 172, p. 53–60, out. 2019. DOI 10.1016/j.toxicon.2019.10.241. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004101011930724X>. Acesso em: 12 nov. 2024.

RIZK, M. Z.; ALI, S. A.; HAMED, M. A.; EL-RIGAL, N. S.; ALY, H. F.; SALAH, H. H. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles: Effect of dose and time on biochemical disturbance, oxidative stress and genotoxicity in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 90, p. 466–472, 2017. DOI 10.1016/j.biopha.2017.03.089. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332217300896>. Acesso em: 21 jan. 2025

RODRIGUES, A. G.; AMARAL, A.C.F. Cadernos de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. **Cadernos de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica**. [S. l.: s. n.], 2012. p. 151–151. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas_integrativas_complementares_plantas_medicinais_cab31.pdf. Acesso em: 29 out. 2024.

ROSENQUIST, T. A.; GROLLMAN, A. P. Mutational signature of aristolochic acid: clue to the recognition of a global disease. **DNA Repair**, [s. l.], v. 44, p. 205–211, 2016. DOI 10.1016/j.dnarep.2016.05.027. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568786416301070>. Acesso em: 4 abr. 2024.

ROVOZZO, G. C.; BURKE, C. N. **A manual of basic virological techniques**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1973 (Prentice-Hall biological techniques series).

SAGHIR, S. A.; ANSARI, R. A.; MUNIR, S. T. Fate of chemicals following exposure III: metabolism (biotransformation). **Reference Module in Biomedical Sciences**. [S. l.]: Elsevier, 2022. p. B9780128243152000506. DOI 10.1016/B978-0-12-824315-2.00050-6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128243152000506>. Acesso em: 17 ago. 2023.

SAKS, Mohamed; UPRETI, Sabita; SV, Rajendra; DANG, Raman. Genotoxicity: mechanisms, testing guidelines and methods. **Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, Juniper Publishers Inc.**, v. 1, n. 5, p. 133-138, 2017. Disponível em: <https://www.journals.globalpharma.org>. Acesso em: 17 ago. 2025.

SALEEM, U.; AMIN, S.; AHMAD, B.; AZEEM, H.; ANWAR, F.; MARY, S. Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja* Roxb. roots in albino mice as per OECD 425 TG. **Toxicology Reports**, [s. l.], v. 4, p. 580–585, 2017. DOI 10.1016/j.toxrep.2017.10.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214750017300720>. Acesso em: 21 jan. 2025.

SALES, Maria Diana Cerqueira; SARTOR, Elisiane de Bona; GENTILLI, Raquel de Matos Lopes. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de

fitoterápicos. **Salus Journal of Health Sciences** [online], v. 1, n. 1, p. 17-26, 2015. Disponível em: <http://www.salusjournal.org>. Acesso em: 3 jan. 2025.

SALOMÃO, E. D. A.; NASCIMENTO, V. A. D.; DE OLIVEIRA, C. F. R.; SILVA, I. S.; GUIMARÃES, R. D. C. A.; BOGO, D. Investigating effects of IR-780 in animal models of B16-F10 melanoma: new approach in lung metastasis. **Molecules**, [s. l.], v. 28, n. 19, p. 6942, 5 out. 2023. DOI 10.3390/molecules28196942. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/19/6942>. Acesso em: 3 dez. 2024.

SANTOS, Mirelly Marques Romeiro. **Avaliação da toxicidade aguda e subaguda e efeitos metabólicos de *Astrocaryum huaimi* Mart. em ratos diabéticos**. 2022. 97 f. Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste - UFMS, Campo Grande, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/5111>. Acesso em: 20 jan. 2025

SCALCO, Vanessa Willems. **Biologia populacional e uso de planta hospedeira em *Battus polydamas polydamas* e *Battus polystictus polystictus* (Troidini, Papilionidae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/104759>. Acesso em: 11 nov. 2024.

SHAIKH, Mohd Farooq; SANCHETI, Jayant; SATHAYE, Sadhana. Phytochemical and pharmacological investigations of *Eclipta alba* (Linn.) Hassak leaves for antiepileptic activity. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 4, n. Suppl. 4, p. 319–323, 2012.

SHARMILA K.P.; SHILPA S. SHETTY; KUMARI, S.; MADHYASTHA HARISHKUMAR; ASHWINI PRABHU; SATHEESH KUMAR BHANDARY B. *Oroxylum indicum* stem bark extract exerts antitumor potential against Ehrlich's ascites carcinoma in Swiss albino mice. **Biomedicine**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 686–692, 12 set. 2022. DOI 10.51248/v42i4.1559. Disponível em: <https://biomedicineonline.org/index.php/home/article/view/1559>. Acesso em: 21 jan. 2025.

SHARP, Charles J. **Gold rim swallowtail (*Battus polydamas polydamas*)**. 13 dez. 2014, 10:04:47. Fotografia. Disponível em: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gold_rim_swallowtail_\(Battus_polydamas_polydamas\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gold_rim_swallowtail_(Battus_polydamas_polydamas).jpg). Acesso em: 8 jan. 2025.

SCHUH, J. C. L. Trials, Tribulations, and Trends in Tumor Modeling in Mice. **Toxicologic Pathology**, [s. l.], v. 32, n. 1_suppl, p. 53–66, jan. 2004. DOI 10.1080/01926230490424770. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1080/01926230490424770>. Acesso em: 13 mar. 2024.

SHAHIDI, F. (ed.). **Phytochemicals in foods and natural health products**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 2005. DOI: 10.1021/bk-2005-0909. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/book/10.1021/bk-2005-0909>. Acesso em: 5 nov. 2024.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. DOI 10.1201/9780203508732. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9780203508732>. Acesso em: 5 nov. 2024.

SIBBR. Subspecies: *Battus polydamas polydamas*. 2020. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/162409>. Acesso em: 11 nov. 2024.

SIBBR. **Species: *Aristolochia nevesarmondiana* (Jarrinha)**. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/284569>. Acesso em: 01 jan. 2025.

SIDORENKO, V. S. Biotransformation and toxicities of Aristolochic acids. In: ZHARKOV, D. O. (org.). **Mechanisms of Genome Protection and Repair**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2020. v. 1241, p. 139–166. DOI 10.1007/978-3-030-41283-8_9. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-41283-8_9. Acesso em: 28 out. 2024.

SIDORENKO, V. S.; ATTALURI, S.; ZAITSEVA, I.; IDEN, C. R.; DICKMAN, K. G.; JOHNSON, F.; GROLLMAN, A. P. Bioactivation of the human carcinogen Aristolochic acid. **Carcinogenesis**, [s. l.], v. 35, n. 8, p. 1814–1822, 2014.

SIEGEL, R. L.; GIAQUINTO, A. N.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2024. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 12–49, jan. 2024. DOI 10.3322/caac.21820. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21820>. Acesso em: 4 abr. 2024.

SILVA, F. C. *et al.* Antitumor effect of depsidones from lichens on tumor cell lines and experimental murine melanoma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 4, p. 303–312, jul.-ago. 2019. DOI: 10.1016/j.bjp.2019.04.005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/RgmjjF5HFF5rYDXbVstdQRc/?lang=en>. Acesso em: 3 jan. 2025.

SILVA, N. L. A. da; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. da. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 6, n. 2, 2010. Disponível em: <https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/22>. Acesso em: 29 out. 2024.

SILVA, S. L. D.; NASCIMENTO, A. A. D.; RIBEIRO, E. F. B.; RIBEIRO, R. B.; ALVES, C. M.; SANTOS, A. M. D.; BURMANN, A. P. R.; MIRA NETO, R. D. A. Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). **Acta Amazonica**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 73–80, mar. 2016. DOI 10.1590/1809-4392201501746. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672016000100073&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 20 jan. 2025.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 12, p. 35–40, 2002. DOI 10.1590/S0102-695X2002000100005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/C6JRLYGD9Q584JvF3cJpPcp/>. Acesso em: 29 out. 2024.

SIMÕES, C. M. O. (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFRGS; Florianópolis, SC: Ed. da UFSC, 2007. p. 1102
Disponível em: <https://bibliotecadebiomedicina.blogspot.com/2019/01/livro-farmacognosia->

da-planta-ao.html. Acesso em: 5 nov. 2024.

SPIVAK, Graciela. New developments in comet-FISH. **Mutagenesis**, v. 30, n. 1, p. 5–9, jan. 2015. DOI 10.1093/mutage/geu036. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/geu036>. Acesso em: 12 nov. 2024.

SPRADA, E. SPRADA, E. Toxicologia. Instituto Federal do Paraná – Educação a Distância: Rede e-Tec Brasil, Curitiba-PR, 2013. Disponível em: <https://proedu.rnp.br/handle/123456789/1438?show=full..> Acesso em: 11 nov. 2024.

STEEL, P. H. Bristol regional sewage treatment works; past, present and future. **Chartered Munic.Engineer**, [s. l.], v. 104, n. 1, p. 5–12, 1977.

STIBOROVÁ, M.; FREI, E.; SCHMEISER, H. H.; ARLT, V. M.; MARTÍNEK, V. Mechanisms of enzyme-catalyzed reduction of two carcinogenic nitro-aromatics, 3-nitrobenzanthrone and aristolochic acid I: experimental and theoretical approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 10271–10295, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3rd ed. Sunderland (Mass.): Sinauer, 2002.

TALK SCIENCE. **Desenvolvimento de Novos Medicamentos**: o papel crucial da química analítica. *Talk Science*, 30 ago. 2023. Disponível em: <https://www.talkscience.com.br/industria-farmaceutica/desenvolvimento-de-novos-medicamentos>. Acesso em: 3 jan. 2025.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J.-C.; SASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 206–221, 6 jun. 2000. DOI 10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35:3<206::AID-EM8>3.0.CO;2-J. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(2000\)35:3<206::AID-EM8>3.0.CO;2-J](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35:3<206::AID-EM8>3.0.CO;2-J). Acesso em: 8 jun. 2023.

THE NORTH FACE. Estudo mostra que 25 mil tipos de plantas só existem no Brasil. Blog The North Face, 12 fev. 2021. Disponível em: <https://blog.thenorthface.com.br/curiosidade/estudo-mostra-que-25-mil-tipos-de-plantas-so-existem-no-brasil/>. Acesso em: 7 jan. 2025.

TOMLINSON, T.; FERNANDES, A.; GROLLMAN, A. P. Aristolochia herbs and iatrogenic disease: the case of Portland's Powders. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, [s. l.], v. 93, n. 2, p. 355, 29 jun. 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7309663/>. Acesso em: 8 nov. 2024.

TURKEZ, H.; ARSLAN, M. E.; OZDEMIR, O. Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 1089–1098, 3 out. 2017. DOI 10.1080/17425255.2017.1375097. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17425255.2017.1375097>. Acesso em: 4 mar. 2024.

TYLER, H. A.; BROWN, KEITH S. JR.; WILSON, KENT H. Swallowtail butterflies of the

Americas: a study in biological dynamics, ecological diversity, biosystematics, and conservation. *The Quarterly Review of Biology*: No 4. **The Quarterly Review of Biology**, [s. l.], v. Vol 70, 1 dez. 1995. DOI 10.1086/419219. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/419219>. Acesso em: 12 nov. 2024.

UCHÔA, I. S.; MAGALHÃES, M. D. A. V. Teste de Micronúcleo um importante Biomarcador Celular. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 3851–3857, 2020. DOI 10.34119/bjhrv3n2-208. Disponível em: <http://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/9413/7939>. Acesso em: 8 fev. 2025.

UGWU, David Izuchukwu; CONRADIE, Jeanet. Anticancer properties of complexes derived from bidentate ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 246, p. 112268, 2023. DOI 10.1016/j.jinorgbio.2023.112268. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013423001502>. Acesso em: 20 jan. 2025

UNIVIÇOSA. Revista Eletrônica de Farmácia publica estudo etnobotânico de pesquisadores do FARMAPET. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s.l.], 26 abr. 2012. Disponível em: <https://www.univicosa.com.br/uninoticias/acervo/75e384c1-6b12-43ec-a971-990ab4f44f61>. Acesso em: 6 jan. 2025.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste dl50“. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s. l.], v. 3, n. 2, 23 out. 2007. DOI 10.5216/ref.v3i2.2083. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/2083>. Acesso em: 12 nov. 2024.

WANG, L.; DING, X.; LI, C.; ZHAO, Y.; YU, C.; YI, Y.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; PAN, C.; LIU, S.; HAN, J.; TIAN, J.; LIU, J.; DENG, N.; LI, G.; LIANG, A. Oral administration of *Aristolochia manshuriensis* Kom in rats induces tumors in multiple organs. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 225, p. 81–89, out. 2018. DOI 10.1016/j.jep.2018.07.001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874118305701>. Acesso em: 8 nov. 2024.

WATSON L; DALLWITZ MJ. **As famílias de plantas com flores**. Melbourne: CSIRO Publicatoins. [S. l.: s. n.], 1992.

WELLINGTON, E. O.; ONYEIKE, E. N.; PETERS, D. E.; OTOBO, M. B.; FELIX, D.; OGBOMADE, S. J. Acute, Sub-acute and Chronic Toxicity Evaluation of Aqueous Extract of the Aerial Parts of *Leonurus cardiaca* in Normal Non-pregnant Female Wistar Albino Rats per OECD 425 TG. **Journal of Applied Life Sciences International**, [s. l.], , p. 1–17, 18 out. 2022. DOI 10.9734/jalsi/2022/v25i6580. Disponível em: <https://journaljalsi.com/index.php/JALSI/article/view/580>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (org.). **Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines**. Manila: World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Classification of Diseases 11th Revision. fev. 2022a. **ICD-11**. Disponível em: <https://icd.who.int/en>. Acesso em: 24 maio 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Palliative care**. 22 jun. 2022b. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/palliative-care>. Acesso em: 5 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Promoting the Role of Traditional Medicine in Health Systems: A Strategy for the African Region 2001-2010**. Brazzaville: WHO Regional Office for Africa, 2000. Disponível em: https://www.afro.who.int/sites/default/files/sessions/working_documents/AFRC50.9%20PRO MO_0.pdf. Acesso em: 7 jan. 2025.

YADAV, K.; SINGH, D.; SINGH, M. R.; MINZ, S.; PRINCELY EBENEZER GNANAKANI, S.; SUCHETA; YADAV, R.; VORA, L.; SAHU, K. K.; BAGCHI, A.; SINGH CHAUHAN, N.; PRADHAN, M. Preclinical study models of psoriasis: state-of-the-art techniques for testing pharmaceutical products in animal and nonanimal models. **International Immunopharmacology**, [s. l.], v. 117, p. 109945, abr. 2023. DOI 10.1016/j.intimp.2023.109945. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576923002655>. Acesso em: 13 nov. 2024.

YALÇIN, E.; ORUÇ, E.; ÇAVUŞOĞLU, K.; YAPAR, K. Protective Role of Grape Seed Extract Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Genotoxicity in Albino Mice. **Journal of Medicinal Food**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 917–925, ago. 2010. DOI 10.1089/jmf.2009.0162. Disponível em: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2009.0162>. Acesso em: 8 fev. 2025.

ZAFAR, A.; KHAN, M. J.; ABU, J.; NAEEM, A. Revolutionizing cancer care strategies: immunotherapy, gene therapy, and molecular targeted therapy. **Molecular Biology Reports**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 219, dez. 2024. DOI 10.1007/s11033-023-09096-8. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11033-023-09096-8>. Acesso em: 6 nov. 2024.

ZEVIESKI, A. M. **Borda-de-ouro (Battus polydamas)**. 2021. Fauna digital do Rio Grande do Sul. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/faunadigitalrs/borda-de-ouro-battus-polydamas/>. Acesso em: 11 nov. 2024.

ZHANG, H.-C.; LIU, R.; AN, Z.; LI, H.; ZHANG, R.; ZHOU, F. Aristolactam-type alkaloids and aristolochic acids from *Aristolochia moupinensis* and *Aristolochia Cathcartii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, [s. l.], v. 65, p. 198–201, abr. 2016. DOI 10.1016/j.bse.2016.02.028. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030519781630045X>. Acesso em: 15 ago. 2023.

ZHANG, S.-H.; WANG, Y.; YANG, J.; ZHANG, D.-D.; WANG, Y.-L.; LI, S.-H.; PAN, Y.-N.; ZHANG, H.-M.; SUN, Y. Comparative Analysis of Aristolochic Acids in *Aristolochia* Medicinal Herbs and Evaluation of Their Toxicities. **Toxins**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 879, dez. 2022. DOI 10.3390/toxins14120879. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6651/14/12/879>. Acesso em: 8 nov. 2024.

ZHANG, Y.; OSTROWSKI, S. M.; FISHER, D. E. Nevi and melanoma. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 38, n. 5, p. 939–952, out. 2024. DOI 10.1016/j.hoc.2024.05.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889858824000546>. Acesso em: 6 nov. 2024.

ZHOU, J.; QIAO, X.; GUO, D.; YE, M. Biotransformation of natural products and its significance in drug development. **Evidence-Based Validation of Herbal Medicine**. [S. l.]: Elsevier, 2022. p. 755–770. DOI 10.1016/B978-0-323-85542-6.00032-9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323855426000329>. Acesso em: 17 ago. 2023.



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA, TOXICIDADE AGUDA e GENOTOXICIDADE DO EXTRATO METANÓLICO DAS FOLHAS DE *Aristolochia nevesarmondiana* E DO EXTRATO METANÓLICO OBTIDO POR BIOTRANSFORMAÇÃO", registrada com o nº 1.323/2024, sob a responsabilidade de Danielle Bogo - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/UFMS) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL, em reunião de 06/08/2024.

Finalidade	() Ensino	(x) Pesquisa
Vigência da Autorização	01/09/2024 a 01/07/2025	
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogênico / balb/c	
Nº de animais	76 (58 machos e 18 fêmeas)	
Peso/Idade	25 a 30g / 50 dias	
Sexo	Machos e Fêmeas	
Origem	Biotério Central UFMS	

Fábio José Carvalho Faria

Coordenador da CEUA/UFMS

Campo Grande, 12 de agosto de 2024

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Fabio Jose Carvalho Faria, Presidente de Comissão**, em 14/08/2024, às 09:36, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5024403** e o código CRC **989E29F4**.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone: (67) 3345-7925

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.014287/2024-78

SEI nº 5024403