



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA, GENOTÓXICA E
ANTIGENOTÓXICA DO ÓLEO DA *CARAPA GUIANENSIS*
(ANDIROBA)**

SUSY RICARDO LEMES PONTES

**Goiânia - GO
Dezembro de 2014**



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA, GENOTÓXICA E
ANTIGENOTÓXICA DO ÓLEO DA *CARAPA GUIANENSIS*
(ANDIROBA)**

SUSY RICARDO LEMES PONTES

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

**Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós- Graduação –
Nível mestrado em Genética, da Pró -
Reitoria de Pesquisa e Pós- Graduação
da Pontifícia Universidade Católica de
Goiás para obtenção do título de
Mestre.**

Goiânia - GO

Dezembro de 2014

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

Pontes, Susy Ricardo Lemes.

P814a Avaliação das atividades angiogênica, genotóxica e antigenotóxica do óleo da *Carapa guianensis* (andiroba) [manuscrito] / Susy Ricardo Lemes Pontes – Goiânia, 2014. xii, 87 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Genética, 2014.

“Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis”.
Bibliografia.

1. Óleo de andiroba. 2. Micronúcleo. I. Título.

CDU 665.3:575(043)

DEDICATÓRIA

Com muito carinho, dedico aos meus pais, Eliete Maria Simão e Percival Ricardo, pela compreensão, apoio e contribuição para minha formação acadêmica.

Ao meu esposo, Carlos César Pontes, que sempre me incentivou para a realização de meus ideais, me encorajando e ajudando a enfrentar os momentos difíceis da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir este feito, mesmo diante de todas as dificuldades ocorridas.

A meus pais, Eliete Maria e Percival Ricardo, por terem me ajudado nas dificuldades e por todo apoio fornecido durante o curso de mestrado.

Ao professor e orientador Paulo Roberto de Melo Reis pelas sábias instruções, apoio e determinação durante a realização deste trabalho.

Aos alunos Maria Alice e Dwight Assis pelo apoio na realização experimento.

À aluna do Laboratório de Radiobiologia e Mutagênese da Universidade Federal de Goiás, Cristiene Carneiro, pela colaboração e dedicação nas atividades desenvolvidas no laboratório.

À Pontifícia Universidade Católica de Goiás, a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação. Ao Mestrado de Genética e ao Corpo Docente pelos ensinamentos e à Secretária Alessandra pelo atendimento cordial e atencioso.

“Quanto maior o conhecimento, menor o ego, quanto maior o ego, menor o conhecimento.” (Albert Einstein)

RESUMO

De acordo com a OMS, cerca de 80% da população mundial, de algum modo, faz uso de plantas medicinais como medicamento, e apenas 30% é feito por indicação médica. Atualmente, a intensa procura por terapias alternativas, como a fitoterapia, se deve à ineficiência de alguns produtos sintéticos, ao alto custo de medicamentos alopáticos e à busca por tratamentos menos agressivos ao organismo. Os compostos vegetais responsáveis por atuar no combate de doenças são os metabólitos secundários. Dentre eles se destacam os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. No Brasil, o óleo extraído da semente da *Carapa guianensis* tem sido usado como fitoterápico apresentando aplicabilidade na cicatrização de ferimentos, tratamento de doenças febris, inflamações e dores. Seus principais constituintes e possivelmente os responsáveis por sua atividade biológica são os ácidos graxos e compostos limonóides. Em virtude do amplo uso e das características do óleo da semente de andiroba, este estudo objetivou investigar suas possíveis atividades angiogênica, genotóxica e antígenotóxica. Para avaliar a angiogênese foi utilizado o modelo experimental da MCA. Na genotoxicidade e antígenotoxicidade foram realizados ensaios *in vivo*, em camundongo através do teste de micronúcleo. Os resultados do ensaio na MCA indicaram que o óleo provocou aumento significativo da rede vascular ($p < 0,05$) em relação aos controles neutro e inibidor. No teste do micronúcleo, o efeito antígenotóxico do óleo nas doses de 250, 500 e 1000 mg/Kg p.c., foi verificado em todos os grupos de tratamento, uma vez que o número de micronúcleos foi menor ($p < 0,05$) em relação aos controles positivos CP e MMC. Através dos métodos e condições empregados, os resultados deste estudo sugerem que o óleo de andiroba não é genotóxico e apresenta importante potencial fitoterapêutico, com atividade angiogênica e antígenotóxica.

Palavras-chave: *Carapa guianensis*, angiogênica, antígenotoxicidade, micronúcleo.

ABSTRACT

According to WHO, about 80% of world population, somehow, makes use of medicinal plants as medicine, and only 30% is done by medical indication. Currently the intense search for alternative therapies such as herbal medicine, is due to the inefficiency of some synthetic products, the high cost of allopathic and the search for less harmful to body treatments. The plant compounds responsible for serving in combat diseases are the secondary metabolites. The most outstanding terpenes; phenolic compounds and nitrogen compounds. In Brazil, the extracted oil of *Carapa guianensis* seed has been used as an herbal medicine, is applied in wound healing, treatment of febrile diseases, inflammation and pain. Its main constituents and possibly responsible for its biological activity are the fatty acids and limonoids compounds. In view of the wide and use and Andiroba oil plant characteristics, this study aimed to investigate the possible angiogenic, genotoxic and antigenotoxic activities. To assess angiogenesis was used the experimental model of MCA. Genotoxicity and antigenotoxicity tests were carried out in vivo, in mice through the micronucleus test. The test results on the MCA indicated that the oil caused a significant increase in vascular network ($p < 0.05$) compared to neutral controls and inhibitor. In the micronucleus test, the effect of the oil antigenotoxic at doses of 250, 500 and 1000 mg/kg b.w. Was observed in all treatment groups, since the number of micronuclei was lower ($p < 0.05$) in the positive controls CP and MMC. With the methods and conditions employed, the results of this study suggest that the andiroba oil is not genotoxic and has important potential Physiotherapy, with angiogenic and antigenotoxic activity.

Keywords: *Carapa guianensis*, angiogenic, antigenotoxicity, micronucleus.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Fórmula molecular dos principais terpenos..... | 8 |
| Figura 2- Classes de compostos fenólicos | 9 |
| Figura 3 - Exemplos de alcaloides | 10 |
| Figura 4 - Exemplos de Glicosídeos cianogênicos..... | 11 |
| Figura 5 - Estrutura de um Glucosinolato | 11 |
| Figura 6 - Estrutura condensada do aminoácido não proteico L-canavanina | 12 |
| Figura 7- Biomas Brasileiros | 14 |
| Figura 8 - Tronco da Andiroba dispondo-se de forma cilíndrica e coloração acinzentada..... | 19 |
| Figura 9 - Madeira de andiroba | 20 |
| Figura 10 - Folhas e flores da andiroba..... | 21 |
| Figura 11- Fruto da andiroba e semente da andiroba | 21 |
| Figura 12 - Principais constituintes do óleo de andiroba | 23 |
| Figura 13 - Compostos limonóides isolados do óleo de andiroba | 24 |
| Figura 14 - Representação do processo angiogênico | 25 |
| Figura 15 - Ligação entre as moléculas de VEGF e seus receptores | 27 |
| Figura 16 - Mecanismo de ação de antioxidantes primários | 32 |
| Figura 17- Abertura circular na base maior do ovo com uso de micro-retífica | 38 |
| Figura 18 - Remoção da membrana da casca para exposição da MCA | 39 |
| Figura 19 - Estrutura do ovo embrionado de galinha | 40 |
| Figura 20 - Rede vascular formada na membrana corioalantóide do ovo embrionado de galinha após o tratamento com óleo de andiroba juntamente com os controles. . | 47 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Principais terpenos encontrados nos vegetais. | 7 |
| Tabela 2 - Substâncias administradas nos grupos de tratamento..... | 43 |
| Tabela 3 - Percentual de vascularização obtido no tratamento com óleo de andiroba e controles..... | 46 |
| Tabela 4 - Frequência de EPCMN e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos co-tratados em 24 horas com três doses do óleo de andiroba e os controles mitomicina e ciclofosfamida..... | 49 |
| Tabela 5 - Frequência de EPCMN e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos pré-tratados por cinco dias com duas doses do óleo de andiroba antes da exposição à ciclofosfamida..... | 50 |
| Tabela 6 - Frequência de EPCMN e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos pós-tratados em 24 horas com duas doses do óleo de andiroba após exposição à ciclofosfamida..... | 51 |

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|---------------|---|
| α | Alfa |
| μg | Micrograma |
| μL | Microlitros |
| A.C. | Antes de Cristo |
| aFGB | Fator ácido de crescimento de fibroblastos |
| Bcl | B-cell lymphoma |
| bFGB | Fator básico de crescimento de fibroblastos |
| COX-2 | Ciclo-oxigenase 2 |
| CP | Ciclofosfamida |
| DXR | Doxorrubicina |
| EFG | Fator de Crescimento Epidérmico |
| NM | Eritrócito Normocromático |
| EPC | Eritrócito Policromático |
| MNEPC | Micronúcleo em Eritrócito Policromático |
| FGF | Fator de Crescimento de Fibroblasto |
| g | Grama |
| IBPM | Instituto Brasileiro de Plantas Medicinais |
| IGF | Fator de Crescimento semelhante à Insulina |
| IL | Interleucina |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| Inpe | Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais |
| i.p. | Intraperitoneal |
| JNK | Cinase Jun-N-terminal |
| MAPK | Proteínas quinases ativadas por mitógenos |
| MCA | Membrana Corioalantóide |
| Mg | Miligrama |
| mm | Milímetro |
| MMC | Mitomicina C |
| MIP3 | Quimiocina 3 |
| mL | Mililitro |

| | |
|--------------|--|
| MN | Micronúcleos |
| N° | Número |
| NaCL | Cloreto de Sódio |
| NF-Kb | Fator Nuclear Kappa b |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| p.c. | peso corporal |
| pg | Página |
| PDGF | Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas |
| PI3K | Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato-3-quinase |
| ERO | Espécies Reativas ao Oxigênio |
| TGBa | Fator de Crescimento Transformante a |
| TGFb | Fator de Crescimento Transformante b |
| TNF α | Fator de Necrose Tumoral α |
| UICC | União Internacional contra o Câncer |
| UV | Ultravioleta |
| VEGF | Fator de Crescimento do Endotélio Vascular |
| VEGFR | Receptor do Fator de Crescimento do Endotélio Vascular |

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| RESUMO..... | VI |
| ABSTRACT..... | VII |
| LISTA DE FIGURAS | VIII |
| LISTA DE TABELAS | IX |
| LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS..... | X |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO | 5 |
| 2.1. Plantas Medicinais | 5 |
| 2.2. Metabólitos Secundários | 6 |
| 2.2.1. Compostos terpenos | 7 |
| 2.2.2. Compostos fenólicos | 8 |
| 2.2.3. Compostos nitrogenados..... | 10 |
| 2.4. Plantas Medicinais do Brasil..... | 13 |
| 2.5. Bioma Amazônia | 14 |
| 2.5.1. Plantas medicinais na Amazônia..... | 16 |
| 2.6. Família Meliaceae | 18 |
| 2.6.1. <i>Capara guianensis</i> | 19 |
| 2.6.2. Composição e propriedades farmacêuticas de andiroba..... | 22 |
| 2.7. O Processo de Angiogênese..... | 25 |
| 2.7.1. Vegetais estimuladores e inibidores de angiogênese..... | 28 |
| 2.8. Vegetais com atividade genotóxica e antigenotóxica | 30 |
| 3 OBJETIVOS | 34 |
| 3.1. OBJETIVOS GERAIS | 34 |
| 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 34 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 35 |
| 4.1. Óleo da semente de andiroba | 35 |
| 4.2. Avaliação da atividade angiogênica na MCA | 35 |
| 4.2.1. Ovos Embrionados | 35 |
| 4.2.2. Controles para o teste da MCA | 35 |
| 4.3. Teste do Micronúcleo | 36 |
| 4.3.1. Camundongos | 36 |

| | |
|---|----|
| 4.3.2. Controles e Reagentes..... | 36 |
| 4.4. Metodologias utilizadas | 38 |
| 4.4.1. Procedimento experimental..... | 38 |
| 4.4.2. Análise histológica na MCA..... | 39 |
| 4.4.3. Avaliação das atividades genotóxica e antigenotóxica do óleo de andiroba pelo teste do micronúcleo..... | 40 |
| 4.5. Análise de dados | 44 |
| 5 RESULTADOS | 46 |
| 5.1. Atividade angiogênica pelo teste da MCA..... | 46 |
| 5.2. Atividade genotóxica e antigenotóxica pelo teste do micronúcleo..... | 48 |
| 5.2.1. Co-Tratamento | 48 |
| 5.2.2. Pré-Tratamento | 50 |
| 5.2.3. Pós-Tratamento..... | 51 |
| 6 DISCUSSÃO | 52 |
| 6.1. Atividade angiogênica do óleo de andiroba..... | 52 |
| 6.2. Atividade genotóxica e antigenotóxica do óleo de andiroba..... | 53 |
| 7 CONCLUSÕES | 59 |
| REFERÊNCIAS..... | 60 |
| ANEXO A - Ata Complementar | 87 |

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas pelo homem, como alimento e tratamento de doenças, é conhecido desde a antiguidade (PEREIRA & CARDOSO, 2012). A referência mais remota sobre o uso das plantas como fim terapêutico data mais de sessenta mil anos, sendo as primeiras descobertas realizadas por estudos arqueológicos nas ruínas do Irã (REZENDE e COCCO, 2002).

Atualmente, em diversos países em desenvolvimento, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de um terço da população mundial não possui acesso a medicamentos essenciais, e em áreas mais pobres da África e Ásia, por exemplo, esse valor chega a 50% da população. Nestas regiões, é, portanto, frequente o uso da medicina tradicional devido sua fácil manipulação (WHO, 2002).

Ainda, conforme a OMS, aproximadamente 80% da população mundial, de algum modo, faz uso de plantas medicinais como medicamento, e apenas 30% é feito por indicação médica (ABIFISA, 2007).

Durante o processo de evolução, as plantas desenvolveram recursos naturais que lhes garantem defesa, como a produção de substâncias química, tóxica e genotóxicas contra ataques de bactérias, fungos, insetos e animais predadores (CASTRO *et al.*, 2004). Alguns chás e infusões de determinadas plantas medicinais, por exemplo, podem apresentar substâncias tóxicas com atividade mutagênica. Por outro lado, o consumo de plantas pode reduzir efeitos de agentes mutagênicos que estejam agindo sobre o organismo humano (BAGATINI *et al.*, 2007).

Um elemento mutagênico pode variadas vezes ocasionar uma carcinogênese, onde há o processo de conversão de uma célula normal para uma célula maligna que posteriormente pode originar um tumor (HIGA, 2007).

Conforme o Instituto Nacional do Câncer – INCA, anualmente, cerca de 12,7 milhões de indivíduos são diagnosticados com câncer em todo o mundo e 7,6 milhões vão a óbito. No Brasil, foram estimados 576.580 novos casos da doença para 2014 (INCA, 2013). Segundo a União Internacional contra o Câncer - UICC, estima-se um total de 26 milhões de novos casos novos e 17 milhões de mortes até 2030 sendo a maior parte dos casos ocorrente nos países em desenvolvimento (INCA, 2011).

Inúmeras substâncias foram descritas como mutagênicas e carcinogênicas. Dentre elas estão as hidrazinas, flavonoides, furocumarinas, quinonas, alcaloides de pirrolozidina, glicosídeos cardiotônicos e teobrominas (PEREIRA, 1992; KHAN *et al.*, 2005; MEI *et al.*, 2005; VARANDA, 2006). Por outro lado, substâncias como os alcaloides, apesar de sua conhecida genotoxicidade, possuem alto potencial farmacológico através de atividades antimicrobiana, antiplasmodial e antitumoral (FREDERICH *et al.*, 1999; VARANDA, 2006).

Grande parte dos compostos mutagênicos e carcinogênicos tem relação na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) as quais apresentam importante papel em processos degenerativos, lesões no DNA, mutações ligadas ou não ao câncer, problemas cardíacos e envelhecimento (AMES *et al.*, 1993; MOHAN & MELTZ, 1994; ANDERSON *et al.*, 1995).

Diversas espécies vegetais tiveram seu potencial mutagênico avaliado, apresentando resultados negativos, como as aparas de bambu, camadas intermédias aos talos de *Bambusa tuldoides*, *Sinocalamus beecheyana* e *Phyllostachys nigra*, plantas pertencentes à família Gramineae (VARANDA, 2006).

Sabe-se, através de estudos, que existem muitos componentes biológicos ativos nas aparas de bambu, como triterpenóides, saponinas e esteróis (CHEN *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2004). Outros estudos evidenciaram que o extrato hidroalcoólico da *Ocotea duckei* Vattimo, planta do nordeste do Brasil popularmente conhecida por “louro-de-cheiro”, apresenta efeito mutagênico nas linhagens TA97a, TA100 e TA102 da bactéria de *Salmonella typhimurium* (MARQUES *et al.*, 2003).

Por outro lado, alguns vegetais possuem substâncias de propriedades antimutagênicas como os carotenoides (Vitamina A), licopeno, ácido ascórbico (Vitamina C), ácido elágico, o tocoferol (Vitamina E), polifenóis, compostos sulfídricos, cálcio, fibras, etc. (GOODMAN & GILMAN, 2003; HIRAMATSU *et al.*, 2004; MALIK *et al.*, 2005; FAGUNDES, 2012; MARCHIORI *et al.*, 2013). Grande parte dos compostos antigenotóxicos presentes em alimentos, têm função antioxidante atuando no sequestro de ERO (KHAN, 2005; GUTERRES, 2009; COSTA, 2012).

Além da atividade protetora ao DNA, é possível encontrar vegetais que apresentam propriedades angiogênicas. A angiogênese é o processo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes; se dá em vários passos que ocorrem normalmente em funções corporais, tais como a

cicatrização de feridas, a embriogênese, o ciclo reprodutor feminino, e o desenvolvimento de uma circulação de sangue colateral após a oclusão de vasos. Também, ocorre nos processos patológicos, como a invasão de tumor e metástases, artrite reumatóide e psoríase (SAFATLE *et al.*, 2002; REGE *et al.*, 2005).

Atualmente, muitas terapias envolvendo a atividade antiangiogênica têm sido utilizadas para tratar o câncer (NEDAEINIA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2014; XU & FU, 2014). Um novo flavonoide, Kushecarpin D, presente na raiz da *Sophora flavescens*, planta de uso medicinal da cultura chinesa, apresenta efetiva atividade antiangiogênica através de ações inibitórias da proliferação celular (interrupção do ciclo celular na fase G2), migração, adesão celular e a formação do tumor (PU *et al.*, 2014).

Estudos relacionados com a atividade antiangiogênica de substâncias presentes em diversos vegetais comprovam que o extrato etanólico bruto da *Salvia (Salvia triloba)*, por exemplo, possui alta função antiangiogênica com potenciais efeitos quimioterápico e / ou quimiopreventivo (ZIHLIF *et al.*, 2013).

No Brasil, dentre as inúmeras plantas de uso medicinal, está a Andiroba (*Carapa guianensis*) a qual apresenta diversos benefícios às populações residentes na Amazônia, devido ao intenso uso na indústria madeireira, valor ecológico e propriedades medicinais do óleo extraído das suas sementes (COSTA & MARENCO, 2007).

Suas peculiares propriedades físico-químicas conferem ação anti-inflamatória, além de combater afecções do trato respiratório e faringite, laringite, tosse, gripe, pneumonia, bronquite, disfunções musculares, reumatismo, artrite e fadiga muscular, etc.; apresentando ainda ação como bloqueador solar (HAMMER & JOHNS 1993; PENNAFORTE 2003; BOUFLEUER, 2004; FERRARI *et al.*, 2007).

Diante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar os possíveis efeitos angiogênico e genotóxico/antigenotóxico do óleo da *Carapa guianensis* (Andiroba). O interesse pelos recursos vegetais tem ganhado destaque em pesquisas de desenvolvimento de medicamentos e alternativas para o tratamento de diversas doenças.

Considerando que inúmeras pesquisas científicas têm apresentado as atividades biológicas da andiroba, assim como de outras plantas, espera-se que a investigação das atividades angiogênica, genotóxica e antigenotóxica do óleo da

andiroba, possam colaborar significativamente para um melhor entendimento de tais fenômenos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Plantas Medicinais

A medicina tradicional se baseia em inúmeras práticas de saúde, conhecimento e crenças compostos por medicamentos oriundos de plantas, animais e minerais, além de terapias espirituais, técnicas manuais e exercícios adaptados a fim de condicionar o bem-estar ou para tratar, diagnosticar e prevenir doenças (SOUZA, 2007). Na atualidade, é notável uma intensa procura por terapias alternativas devido à ineficiência de alguns produtos sintéticos, o alto custo de medicamentos alopáticos e à busca por tratamentos menos agressivos ao organismo (RIBEIRO, 2005).

Dentre as terapias complementares mais buscadas, destaca-se o uso de ervas medicinal (incluindo chás), medicina tradicional chinesa (conhecida como Ayurveda), relaxamento e meditação, terapias espirituais e psíquicas, dietas (vitaminas, cogumelos, minerais, etc.) e reflexologia (CEOLIN *et al.*, 2011; SPADACIO & BARROS, 2008; HENDERSON & DONATELLE, 2004; KÜLKAMP *et al.*, 2007).

Desde 4.000 A.C., existem registros históricos sobre a utilização de plantas medicinais para o tratamento de doenças. No museu da Pensilvânia (EUA) está o primeiro registro médico que é datado de 2.100 A.C. e contém inúmeras fórmulas com trinta tipos de drogas de origem vegetal, animal ou mineral (HELFAND & COWEN, 1990).

O primeiro manuscrito chinês sobre plantas medicinais (500 A.C.) descreve nomes, dosagem e prescrições de uso de plantas para tratar doenças. O uso de algumas dessas plantas ainda permanece, como o Ginseng (*Panax spp*), *Ephedra spp*, *Cassia spp* e *Rheum palmatum L.*, sendo inclusive utilizadas como fontes em indústrias farmacêuticas (DUARTE, 2006).

São consideradas plantas medicinais ou fitoterápicos, aqueles que possuem compostos utilizados como fins terapêuticos, ou mesmo para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos. São chamados de “princípios ativos” ou “metabólitos secundários” os compostos químicos que conferem o efeito terapêutico (MARTINS *et al.*, 2003).

O uso de produtos naturais, como extratos de plantas medicinais, se intensificou nas últimas décadas principalmente, devido ao elevado custo dos medicamentos sintéticos. Em países desenvolvidos, os medicamentos a base de plantas (fitoterápicos) vêm apresentando importante crescimento e relevância. Desde 1978, a OMS tem realizado investimentos públicos em fitoterápicos, com crescentes observações no aceite da fitoterapia por profissionais de saúde, bem como o aumento de seu uso pela população (SILVEIRA *et al.*, 2008).

Ainda segundo a OMS, cerca de 80% da população mundial utiliza medicamentos de origem natural como recurso terapêutico (OMS, 2002). Neste sentido, é estimado que o mercado farmacêutico tradicional tenha um crescimento mundial de 3% a 4% anualmente, e o de fitoterápicos de 6% a 7% (SOUZA & MACIEL 2010).

Considera-se que as vendas de fármacos derivados de plantas crescem em 10% ao ano. Um valor estimado de US\$ 550 milhões foi alcançado somente no ano de 2001 (KNAPP, 2001) e os países que mais consomem os produtos naturais do Brasil são Estados Unidos e Alemanha (REUTERS, 2002).

Os principais usos de fitoterápicos envolvem o tratamento de resfriados (66%), gripe (38%), doenças do trato digestivo ou intestinal (25%), dores de cabeça (25%), insônia (25%), úlcera estomacal (36%), nervosismo (21%), bronquite (15%), doenças de pele (15%), fadiga e exaustão (12%) (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2005). Além disso, diversas plantas medicinais e outros produtos naturais são largamente aplicados na aceleração cicatricial de feridas cutâneas (EURIDES *et al.*, 1998).

2.2. Metabólitos Secundários

Inúmeros são os compostos vegetais responsáveis por atuar no combate de doenças. Estes compostos, denominados metabólitos secundários, são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas além de favorecerem a sobrevivência e continuidade da espécie vegetal dentro do ecossistema através dos mecanismos de defesa. Vale ressaltar que os compostos vegetais primários (lipídios, proteínas, carboidratos, nucleotídeos e aminoácidos) são fundamentais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção das células (FURLAN, 1999).

Os principais constituintes secundários são: terpenos (piretroides, óleos essenciais, cardenolídeos, saponinas), compostos fenólicos (lignina, fitoalexinas, taninos) e compostos nitrogenados (CORRÊA *et al.*, 2008).

2.2.1. Compostos Terpenos

Os terpenos são compostos que apresentam em sua formação, repetições de uma molécula de cinco átomos de carbono denominada isopreno, e são classificados conforme o número de unidades de isopreno em sua composição (Tabela 1). Sua fórmula molecular (Figura 1) é $(C_5H_8)_n$, e estão agrupados através do número dessas unidades (DELAMARE & TOSCAN, 2014). São precursores de quatro classes de hormônios vegetais: as citocininas, ácido abscísico, giberelinas e os brassinoesteróides (LIMA, 2014).

Tabela 1. Principais terpenos encontrados nos vegetais.

| Isopropenos | Nº de átomos de Carbono | Nome | Exemplos |
|-------------|-------------------------|---------------|------------------|
| 1 | 5 | Isopropeno | Citocininas |
| 2 | 10 | Monoterpeno | Óleos essenciais |
| 3 | 15 | Sesquiterpeno | Lactonas |
| 4 | 20 | Diterpeno | Giberelinas |
| 6 | 30 | Triterpeno | Saponinas |
| 8 | 40 | Tetraterpeno | Carotenóides |
| N | N | Polisopropeno | Borracha |

Fonte: RIGOTTI & HIGUTI (2011).

Os terpenos compõem uma das maiores e mais diversas classes de metabólitos secundários com cerca de 55.000 compostos. A vasta diversidade estrutural que esta classe de produtos naturais representa possui um elevado número de propriedades biológicas já descritas como: atividade antimicrobiana, antioxidante, inseticida, anti-câncer e anti-malária (VIEGA-JUNIOR, 2003; DELAMARE & TOSCAN, 2014; LIMA 2014).

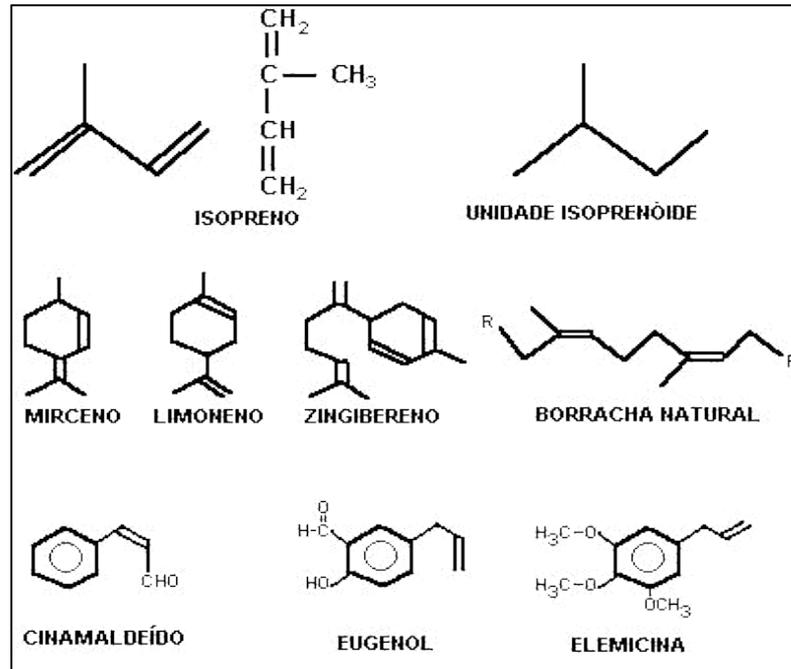


Figura 1. Fórmula molecular dos principais Terpenos
 Fonte: VIEGAS-JUNIOR, 2003.

2.2.2. Compostos Fenólicos

Os fenólicos apresentam, quimicamente, um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Sua ocorrência natural ocorre de forma conjugada com mono e polissacarídeos através de um ou mais grupos fenólicos, podendo também ocorrer como derivados funcionais (ésteres) (LEE *et al.*, 2005).

Existem cerca de 10.000 tipos de compostos fenólicos, os quais se dividem em diferentes classes conforme sua estrutura química (Figura 2): ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e taninos (LEE *et al.*, 2005; BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

Estes compostos são essenciais para o crescimento e reprodução dos vegetais uma vez que são atrativos de polinizadores. Além disso, eles se formam sob condições de estresse, como infecções, fermentos, radiações ultravioleta (UV), etc. Também, estão inseridos na categoria de neutralizadores de radicais livres, sendo eficientes na prevenção da autoxidação (NACZK & SHAHIDI, 2004).

Nos alimentos, os fenólicos são responsáveis pela caracterização de cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa, sendo encontrados principalmente em frutas cítricas (ANGELO & JORGE, 2007).

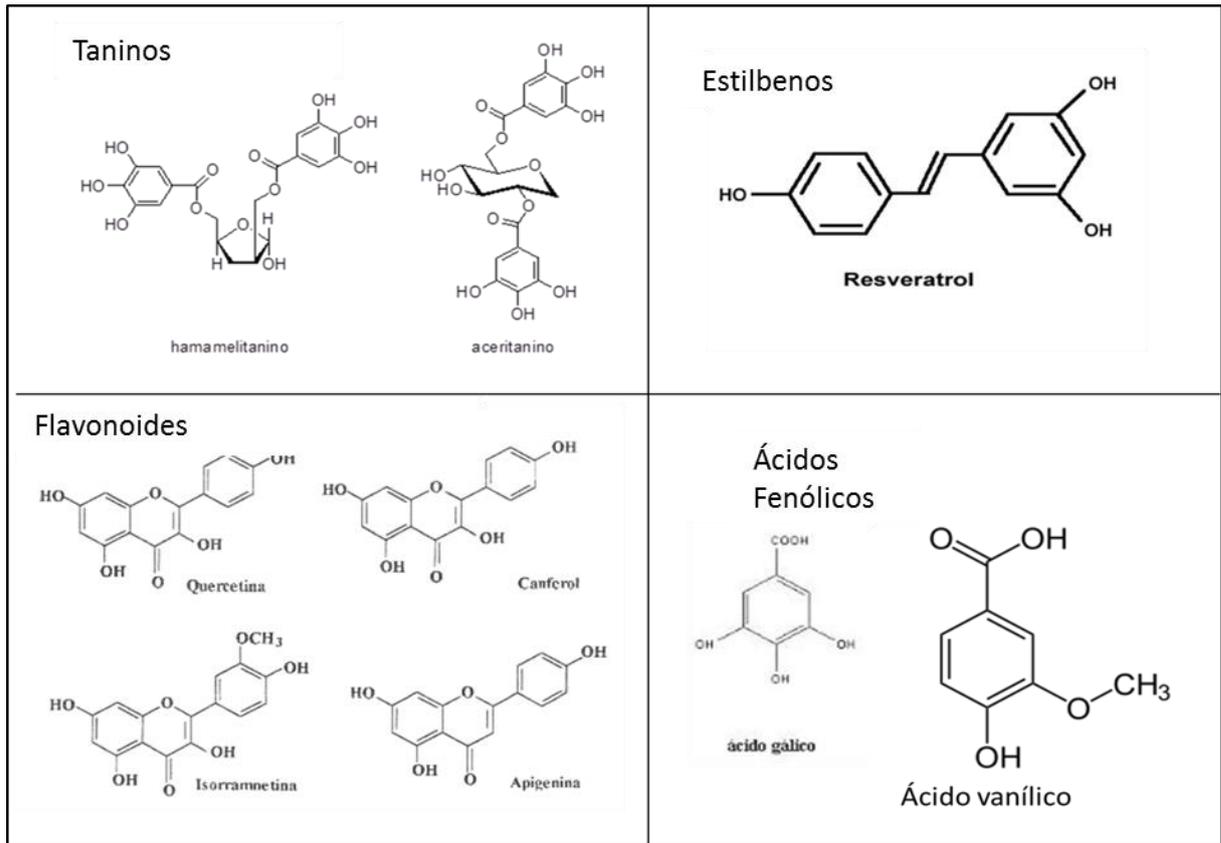


Figura 2. Classes de compostos fenólicos

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA & BASTOS (2001); LÓPEZ et al. (2006); NEMEN & SENNA (2011).

Alguns compostos fenólicos simples, como as furonocumarinas, quando ativados pela luz UV são inseridos na fita dupla do DNA e se ligam às bases pirimídicas (citosina e timina) bloqueando o processo de transcrição e separação do DNA, o que leva à morte celular (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Pesquisa com outra classe destes compostos, os flavonoides, evidenciam possuem sua potencial atividade antioxidante, anticâncer e efeito protetor aos sistemas renal, cardiovascular e hepático (FERRARI & TORRES, 2002; MARTÍNEZ *et al.*, 2002; BEHLING *et al.*, 2004; GALVÃO, 2009).

2.2.3. Compostos Nitrogenados

Estes metabólitos apresentam em sua estrutura o nitrogênio e são sintetizados a partir de aminoácidos comuns. Os principais representantes para este

grupo de compostos são: 1) alcaloides, 2) glicosídeos cianogênicos, 3) glucosinolatos e 4) aminoácidos não proteicos (ASSIS *et al.*, 2009).

1) Os alcaloides são amplamente reconhecidos em virtude de seus efeitos farmacológicos em animais. Nos vegetais, eles têm função de defesa contra predadores, devido sua toxicidade geral e efeito dissuasor (DIAS *et al.*, 2003).

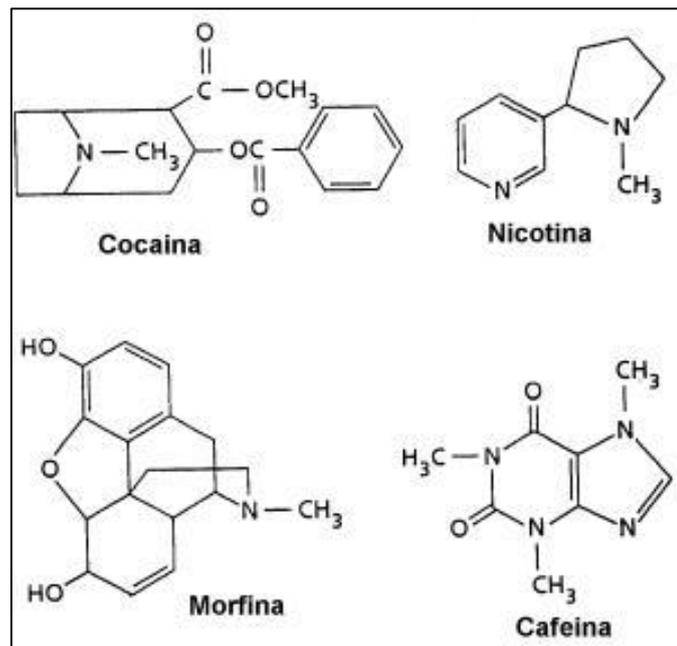


Figura 3. Exemplos de alcaloides

Fonte: PERES, 2004

2) Os glicosídeos cianogênicos (Figura 4) são compostos vegetais responsáveis pela liberação de ácido cianídrico (HCN) quando estes sofrem algum dano. São considerados um mecanismo de defesa vegetal uma vez que atuam na inibição da cadeia respiratória de predadores. Os compostos que quando hidrolisados por enzimas, formam açúcares, ácidos graxos, aldeído ou cetona e ácido cianídrico, são classificados como glicosídeos cianogênicos (SCHVARTSMAN 1992; BUHRMESTER *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2005).

A cianogênese não é considerada um método efetivo de defesa, mas sim um sistema conservativo, já que os compostos envolvidos são reciclados e a planta necessita sofrer algum dano físico para que este processo ocorra (SANTOS *et al.*, 2005).

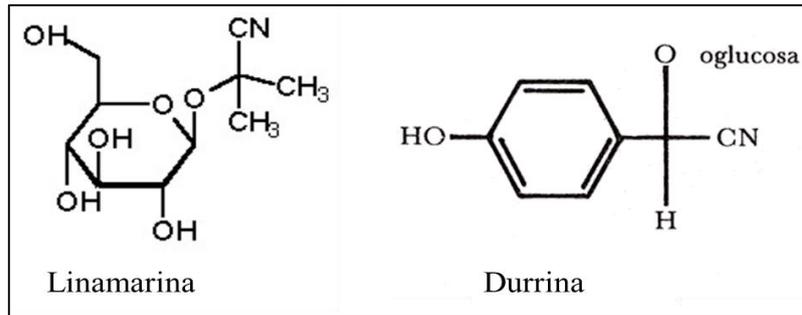


Figura 4. Exemplos de Glicosídeos Cianogênicos
 Fonte: GALINARO & FRANCO, 2011.

3) Os compostos glucosinolatos (Figura 5), também denominados Tioglicosídeos, são compostos orgânicos (glicosídeos) de enxofre responsáveis pelo característico sabor amargo e picante em vegetais, especialmente naqueles da família Brassicacea (Cruciferae), além de constituírem um mecanismo de defesa (BONES & ROSSITER, 1996).

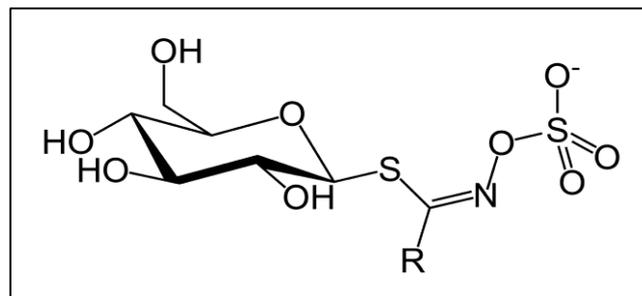


Figura 5. Estrutura de um Glucosinato
 Fonte: GOBBO-NETO & LOPES, 2007.

Em geral, o estresse hídrico promove alterações nas concentrações de metabólitos secundários em plantas podendo gerar um aumento na produção de glucosinolatos, além de outros compostos (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Há potencial atividade anticancerígena, *in vitro*, dos glucosinolatos em cânceres de pâncreas, mama e próstata. Este efeito tem sido associado ao fato de que alguns glucosinolatos restauram a função do gene supressor da proteína p21, induzindo a apoptose das células tumorais (ASHOK & TIWARI, 2004; AGGARWAL & ICHIKAWA, 2005).

4) Os aminoácidos não-proteicos são aqueles não adicionados em proteínas. Eles estão dispostos na forma livre e agem como substâncias protetoras exercendo sua toxicidade de inúmeros modos. Alguns inibem a síntese ou a absorção de aminoácidos proteicos; outros são erroneamente incorporados às proteínas gerando a produção de enzima não funcional (XAVIER-FILHO, 1993; YAMADA, 2004).

O aminoácido não proteico L-canavanina (Figura 6), por exemplo, está presente na semente de *Canavalia ensiformis* e é tóxico para bactérias, insetos e outros invertebrados, sendo incorporado em proteínas que perdem sua funcionalidade (NAKAGIMA *et al.*, 2001).

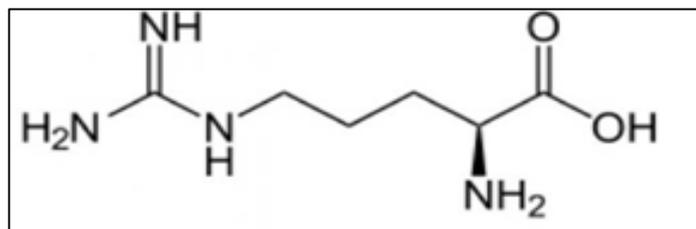


Figura 6. Estrutura condensada do aminoácido não proteico L-canavanina
Fonte: NAKAGIMA *et al.*, 2001.

Cerca de 300 aminoácidos não proteicos já foram isolados de vegetais, e sua importância está principalmente na medicina, nutrição e agricultura (SOARES & MACHADO, 2007).

Existem fatores de alta influência sobre o conteúdo dos metabólitos secundários. Dentre eles se destaca a sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude e poluição atmosférica (MORAIS, 2009).

As variações sazonais, por exemplo, interferem no conteúdo de quase todas as classes de metabólitos secundários, como óleos essenciais, lactonas sesquiterpênicas, ácidos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, flavonóides, saponinas, alcaloides e taninos, onde os casos de maiores relatos envolvem plantas e/ou metabólitos utilizados na terapêutica (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

2.4 Plantas Medicinais do Brasil

O Brasil possui a mais rica flora do mundo, com mais de 56.000 espécies de plantas o que representa quase 19% da flora mundial (GIULIETTI *et al.*, 2005). Entretanto, mesmo apresentando a maior diversidade vegetal do mundo, apenas 8% do total de espécies no país foi estudado para pesquisas de compostos bioativos e 1.100 tiveram sua propriedade medicinal avaliada (GUERRA *et al.*, 2001).

Dentro da biodiversidade brasileira, alguns exemplos importantes de plantas medicinais são: *Ilex paraguariensis* (mate), *Myroxylon balsamum* (bálsamo de Tolu), *Paullinia cupana* (guaraná), *Psidium guajava* (guava), *Spilanthes acmella* (jambu), *Tabebuia* sp. (lapacho), *Copaifera* sp.(copaíba), *Arnica montana* (arnica), *Stryphnodendron barbatiman* (barbatimão), *Peumus boldus* (boldo), *Curcuma longa* (açafraão), *Zingiber zingiber* (gengibre), (FAKIM, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

As plantas *Spiranthera odoratissima* (manacá), *Achyrocline satureioides* (marcela), *Myracrodruon urundeuva* (aroeira-do-sertão), apresentam compostos que lhes conferem atividade anti-inflamatória (MATOS *et al.*, 2003; GOES *et al.*, 2005; FACHINETTO *et al.*, 2007). As plantas *Baccharis trimera* (carqueja), *Bidens pilosa* (picão), *Matricaria recutita* (camomila) e *Calendula officinalis* (calêndula) são reconhecidas e amplamente utilizadas no tratamento de úlceras e feridas (GIL *et al.*, 2000; SARTORI *et al.*, 2003; DIAS *et al.*, 2009).

O efeito cicatrizante já foi detectado nas espécies *Jatropha multifida* (flor-de-coral), *Caryocar coriaceum* (pequi), *Caesalpinia ferrea* (jucá) e *Mauritia flexuosa* (buriti) (BUCH *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010; BATISTA *et al.*, 2012).

Também, a atividade antimicrobiana já foi descrita nas espécies *Syzygium Cumini* (jambolão), *Eucalyptus citriodora* e *grandis* (eucalipto) e, *Cymbopogon citratus* (capim-cidreira) (ESTANILAU *et al.*, 2001; SCHUCK *et al.*, 2001; LOGUERGIO *et al.*, 2005).

Entretanto, mesmo diante de inúmeras pesquisas, as plantas medicinais brasileiras são consumidas por usuários e comerciantes, em sua maioria, com a existência de pouca ou nenhuma evidência científica sobre suas propriedades farmacológicas. Além disso, a toxicidade destas plantas é considerada um problema

de saúde pública. Os efeitos colaterais dos fitoterápicos, possíveis adulterações e ação sinérgica são comuns (MACIEL *et al.*, 2002; VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

Outro fator a ser ressaltado é o de que as pesquisas realizadas para avaliar o uso seguro de plantas e fitoterápicos são principiantes, bem como o controle de órgãos oficiais em relação à comercialização nas feiras, mercado e lojas de produtos naturais (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2005).

Ainda assim, dados do Instituto Brasileiro de Plantas Mediciniais (IBPM) indicam que, no Brasil, o mercado de fitoterápicos movimenta cerca de 500 milhões de dólares anualmente (BANDEIRA *et al.*, 2011). Cerca de apenas 37% dos alopáticos disponíveis são consumidos pela população brasileira uma vez que a maioria depende quase que somente de fitoterápicos (FUNARI & FERRO, 2005).

2.5 Bioma Amazônia

Ocupando cerca de 60% do espaço brasileiro, o bioma Amazônia (Figura 7) concentra a maior biodiversidade do mundo. Com um território de 4,2 milhões de km², o bioma está localizado nos estados do Pará, Amazonas, Amapá, Acre, Rondônia e Roraima e algumas partes do Maranhão, Tocantins e Mato Grosso. Além de incluir terras estrangeiras como Guianas, Suriname, Venezuela, Equador, Peru e Bolívia (IBGE, 2004; MMA, 2014).



Figura 7. Biomas Brasileiros
Fonte: PMDBBS, 2011.

A floresta tropical Amazônica, também denominada Latifoliada equatorial, se divide em montanhosa andina, fluvial alagada e de terra firme. O relevo variado e o clima quente/úmido caracteriza o ambiente amazônico (VESENTINI, 2007).

A diversidade de espécies animais e vegetais é ampla. Atualmente, existem cerca de 40 a 300 espécies de árvores por hectare. Sua fauna inclui 163 espécies de anfíbios identificadas, no entanto, o número real pode ser maior. O mesmo se aplica para as 240 espécies de répteis conhecidas (KERR *et al.*, 2001; SILVANO & SEGALLA, 2005; RODRIGUES, 2005).

Há também cerca de 1.300 aves na Amazônia, o que representa 13% das 9.900 espécies existentes no mundo. Entre os mamíferos, 311 espécies (6% do total mundial) foram catalogadas. A ictiofauna da Amazônia apresenta 1.800 espécies (7% da esfera mundial) (MARINI & GARCIA, 2005; BARROS *et al.*, 2011; FONSECA *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, um elevado número de novas espécies de primatas ocorreu no bioma. Dentre elas, estão o sagui-anão-da-coroa-preta e o sauim-de-cara-branca (FONSECA *et al.*, 2012). O grupo com maior riqueza de espécies e ao mesmo tempo menos conhecido é o dos artrópodes. Pesquisadores acreditam que mais de 70% das espécies deste filo ainda não apresentam nomes científicos (PERES, 2005).

Mesmo com sua vasta diversidade, o bioma tem sido alvo de intensas ações antrópicas as quais têm gerado um alto índice de desmatamento. Segundo dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (Inpe), um total de 3.036km² de floresta na Amazônia legal (área que engloba os estados brasileiros) foi perdido no período de agosto de 2013 a julho de 2014. Este valor é considerado 9,8% acima em relação ao período anterior de avaliação (agosto de 2012 a julho de 2013) do desmatamento (INPE, 2014a, b).

De 2011 a 2013, uma área total de 38.718 km² foi perdida e o estado do Mato Grosso apresentou os maiores índices de degradação (INPE, 2014b). Em virtude do desmatamento, cerca de 87 exemplares da flora amazônica estão ameaçadas de extinção. Segundo o Livro Vermelho da Flora do Brasil, as estimativas sobre a extinção de espécies de plantas na Amazônia são de 5% a 9% até o ano 2050, e para a redução do habitat das mesmas é de 33% até 2030 (MARTINELLI & MORAES, 2013).

Múltiplas determinantes levam ao complexo processo de desmatamento do bioma amazônia. Para Margulis (2000), os principais grupos indutores deste processo são os ganhos ligados ao uso da terra no bioma (ocasionados por aumento dos preços da terra e madeira, redução dos salários rurais e variações no valor dos insumos); as políticas públicas com disponibilidade de recursos creditícios baratos, além das políticas de incentivo fiscais (SUDAM); o acesso facilitado a áreas de fronteira através da construção de rodovias e outras obras; e a macroeconomia (crescimento do Produto Interno Bruto e da população) (MARGULIS, 2000).

Atualmente, para coibir o desmatamento, o governo brasileiro fiscaliza as áreas desmatadas após a identificação destas pelo satélite do Sistema de Detecção de Desmatamento em Tempo Real (Deter) pelo Inpe (BARRETO, 2013). No entanto, existe pouca ação preventiva. Além disso, arrecada-se menos de 1% do valor total das multas. O método mais efetivo contra o desmatamento tem sido o confisco de bens (madeira, grãos e gado) produzidos ilegalmente em áreas desmatadas (ARAÚJO *et al.*, 2013).

2.5.1 Plantas medicinais na Amazônia

A Amazônia detém a maior concentração de espécies de fitoterápicos no mundo. Neste sentido, o interesse por ervas e plantas deste bioma com uso medicinal e de cosmetológico tem aumentado. Cerca de mais de 25 mil espécies existentes no bioma já foram catalogadas e apresentam suas propriedades conhecidas (VIEIRA *et al.*, 2005).

Pesquisas com a planta *Paullinia cupana*, popularmente conhecida por Guaraná, demonstram que em virtude da alta concentração de taninos e metilxantinas (cafeína, traços de teobromina e teofilina), ela apresenta ação imunomoduladora e antiinflamatória. Também, seu extrato aquoso, administrado via oral e parenteral, inibe, *in vitro* e *in vivo*, a agregação plaquetária pela redução da síntese de tromboxano (BYDLOWSKI *et al.*, 1988; MIRANDA & METZNER, 2010).

O vegetal *Ptychopetalum olacoides* (muirapuama), já foi descrito por suas atividades antioxidante, protetora em amnésia induzida por escopolamina e antimicrobiana. Tais efeitos são atribuídos à presença de ácidos graxos, esteroides e xantinas (MONTRUCCHIO *et al.*, 2005).

Outro vegetal de origem amazônica e com amplo uso no Brasil é a *Copaifera* sp (copaíba). O óleo extraído de seu tronco apresenta respaldo científico e é popularmente utilizado contra mais de 50 tipos de doenças (ASSAYAG, 2009). As principais propriedades terapêuticas são: atividade anti-inflamatória (FREIRE *et al.*, 2006; PACHECO *et al.*, 2006; RAMOS, 2006; SILVA *et al.*, 2006), ação cicatrizante (VEIGA - JUNIOR *et al.*, 2002; RAMOS, 2006), potencial antisséptico (CASCON, 2004; RIGAMONTE - AZEVEDO *et al.*, 2004), antitumoral (MACIEL *et al.*, 2002; ARAÚJO - JUNIOR *et al.*, 2005), antibacteriano (DRUMOND *et al.*, 2004; GONÇALVES *et al.*, 2005; PIERI, 2007) e analgésico (GURGEL, 2004; CHIUCHETTA *et al.*, 2005; PACHECO *et al.*, 2006).

A *Hevea brasiliensis* (seringueira) é outro importante vegetal da amazônia com uso comercial e terapêutico. Sua principal importância econômica é dada ao seu produto principal, a borracha. Esta é produzida a partir do látex natural da seringueira e apresenta propriedades exclusivas e excedentes às de qualquer outro polímero, ainda que seja de seu análogo sintético (RIPPEL, 2005).

Com a atividade indutora de vasos sanguíneos (angiogênese) por parte do látex natural desta planta (MRUÉ, 2000; MRUÉ *et al.*, 2004), inúmeras outras aplicações médicas passaram a ser investigadas resultando na observação de outras importantes atividades. Exemplo disso são estudos sobre o uso do látex natural de *Hevea brasiliense* para a produção de próteses vasculares (GRISOTTO, 2003); potencialização do processo cicatricial em lesões de animais como bovinos e equinos, e de úlceras presentes nos pés de indivíduos diabéticos (FRADE *et al.*, 2001; SOARES *et al.*, 2004); implante e neoformação óssea em alvéolos dentários (BALABANIAN *et al.*, 2006), dentre outros.

2.6 Família Meliaceae

A família Meliaceae apresenta espécies de alto interesse agrônomico, ecológico, econômico e ornamental com elevado potencial madeireiro no mundo. Está distribuída nos trópicos de todo o planeta, com uma reduzida presença em zonas temperadas (JOLY, 1987).

No mundo, são conhecidos 50 gêneros distribuídos entre 575 espécies as quais ocorrem, principalmente na região neotropical (MUELLNER *et al.*, 2003). No

Brasil, sete gêneros (*Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea*, *Trichilia* e *Khaya*) e 100 espécies são ocorrentes (GUIMARÃES *et al.*, 2004).

Plantas pertencentes à Meliaceae são arbóreas de alto porte, com folhas grandes. Possuem crescimento apical (da raque), sem estípulas, às vezes com pulvinos na base, pinadas, bipinadas ou unifoliadas (MUELLNER, 2003).

Suas flores são pequenas actinomorfas, em inflorescências paniculadas, hermafroditas, cíclicas, diclamídeas, de simetria radical. As sépalas e pétalas são livres e seus estames se dispõem em número duplo ao das pétalas com filetes alargados e soldados em um tubo, com as anteras fixas na porção superior interna. Seu ovário súpero apresenta de 4 a 5 carpelos com lóculos de 1 ou 2 óvulos (GEMTCHÚJNICOV, 1976; JOLY, 1987).

Seu fruto se classifica como drupa e suas sementes aladas estão presas à columela. O embrião em geral, é reto, com cotilédones planos e com eixo radícula-hipocótilo incluso ou externo. No gênero *Carapa*, os cotilédones são muito crassos, fusionados entre si (BARROSO, 1991).

Em termos econômicos, a madeira das Meliaceae possui grande qualidade e são utilizadas industrialmente na produção de moveis, barcos e navios. Por suas propriedades físicas e mecânicas a madeira da espécie *Carapa guianensis* atingiu o mercado de países como o Japão, Estados Unidos e Alemanha (MENDONÇA *et al.*, 2007).

Com a exploração mundial das espécies de Meliaceae, uma redução acentuada na população desta família tem ocorrido. No Brasil, esta exploração está concentrada na região amazônica e tem provocado elevado impacto na estrutura genética e populacional em regiões endêmicas (GOUVÊA, 2005).

2.6.1 *Capara Guianensis*

Pertencente à família Meliaceae, a *Carapa guianensis* é vulgarmente denominada de andiroba, andirobeira, andirobinha, andiroba-do-igapó, carape, jandiroba, nandiroba e penaiba. Seu nome tem origem do Tupi-Guarani: “landi” = óleo e “rob”= amargo. Ocorre no sul da América Central, assim como na Colômbia, Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, Brasil, Peru, Paraguai e nas ilhas do Caribe (INPA, 2003; ENRIQUEZ *et al.*, 2003).

No Brasil, sua ocorrência abrange a bacia Amazônica em florestas de terra firme e naquelas transitoriamente alagadas (várzeas e igapós), ao longo de rios adjacentes aos manguezais. As árvores podem alcançar até 55 metros de altura e apresentam um tronco (Figura 8) cilíndrico e reto de 30 metros, podendo ou não apresentar raízes tabulares (INPA, 2003). Sua copa é densa e formada por ramos eretos ou de leve curvatura, com tamanho médio. O súber é consistente e de coloração acinzentada ou avermelhada na espécie *Carapa procera* (LEITE, 1997).



Figura 8. Tronco da andiroba dispondo-se de forma cilíndrica e coloração acinzentada
Fonte: DANTAS, 2012.

A madeira produzida da andiroba (Figura 9) é relativamente pesada com densidade de $0,73\text{g/cm}^3$, apresenta consistência sólida, mas se fende com facilidade. A superfície é levemente áspera de textura média e pouco resistente a perturbações, entretanto imexível por insetos (AMBROZIN *et al.*, 2006).



Figura 9. Madeira da andiroba
Fonte: Embrapa Amazônia Oriental, 2007.

As folhas da andiroba (Figura 10) são compostas, alternadas e paripinadas, com vestígio de folíolo terminal, tomentoso e glandular. Apresentam em média de 30 a 90 cm de comprimento e de 4 a 18 cm de largura (BARROSO, 1991). Possuem folíolos opostos ou sub-opostos de 3 a 10 pares e apresentam margens inteiras de tom verde-escuro em sua superfície superior. Também apresentam nectários extrafloral na extremidade das folhas, atraindo, principalmente, formigas (INPA, 2003; BARROSO, 1991).

As flores da andiroba (Figura10) são pequenas, com pétalas de até oito mm de comprimento. São unissexuais, sésseis (sem pedúnculo), glabras (sem pelos), de cor branca a creme, e levemente perfumada. Apresentam 4 meras (4 sépalas, 8 pétalas e 16 estames) (PENNINGTON *et al.*, 1981).

A floração ocorre duas vezes ao ano nos meses de agosto-outubro e janeiro-fevereiro, enquanto os frutos amadurecem entre junho-julho e fevereiro-março (LORENZI, 1992; AMBROZIN *et al.*, 2006).

O fruto da andiroba (Figura 11) é globoso, lenhoso, deiscente ou indeiscente e com 4 a 6 valvas que se separam quando fruto sofre impacto por queda (LORENZI, 1992).



Figura 10. Folhas e flores da andiroba
A - Folhas; B – Flores. **Fonte:** CARDOSO, 2012

As sementes (Figura 11) apresentam coloração marrom, com laterais anguladas. Estão presentes no mesmo fruto e podem apresentar uma grande tamanhos variados. Também, possuem um hilo maior sem proeminência e com resíduos de tecidos placentários. Seus cotilédones são ligados formando uma única massa o que impossibilita a percepção e separação das duas partes (FISCH, 1990).



Figura 11. Fruto e semente da andiroba
A – Fruto; B – Semente; **Fonte:** BRASNATUS, 2013.

O óleo extraído das sementes da andiroba é utilizado em indústrias de cosmético e farmacêuticas. Os principais produtos obtidos são shampoos, sabonetes, creme facial, hidratantes, pomadas, capsulas oleosas e emulsões (ENRIQUEZ, 2003; BOUFLEUER, 2004; FERRARI *et al.*, 2007). Os produtos são

revendidos nas feiras livres no norte do Brasil e apresentam alto impacto na economia de alguns estados desta região (MENDONÇA *et al.*, 2007).

Além disso, o óleo também apresenta importante uso como repelente (MIOT *et al.*, 2004). Seu uso também se estende na prevenção do câncer de pele, pois segundo a informação de populares, o óleo apresenta efeito protetor à pele contra danos do sol. No entanto, estudos indicam que o mesmo não possui atividade fotoprotetora (FERRARI *et al.*, 2007).

Uma árvore de andiroba produz de 50 a 200 Kg de semente ao ano (SHANLEY *et al.*, 1998). Quando as sementes são acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em câmara úmida ou seca, com baixa temperatura, elas adquirem maior durabilidade permanecendo viáveis por um período de até sete meses (FERRAZ & SAMPAIO, 1996).

2.6.2 Composição e propriedades farmacêuticas do óleo da Andiroba

Os principais estudos relacionados à composição do óleo de andiroba indicam que este é constituído, principalmente, por ácidos graxos como: oleico (57%), palmítico (25,3%), mirístico (17,9 – 18,1%), linoléico (4,9% - 9,2%), esteárico (10,45%) e traços de araquídico (Figura 12) (ORELANNA *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2006). Além disso, há presença de uma fração insaponificável (2 a 5%) formada por substâncias denominadas meliacinas ou limonóides as quais caracterizam o sabor amargo do óleo e provavelmente são responsáveis pela atividade biológica do mesmo (AMBROZIM *et al.*, 2006).

Até o momento, são conhecidos sete compostos limonóides (Figura 13) isolados do óleo de andiroba. São eles: 17 β -hidroxiazadiradiona, 6 α -acetoxi-gedunina, 7-deacetoxi-7-oxogedunia, deacetilgedunina, andirobina, gedunina, metil-angolesato (AMBROZIN *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2009).

Os limonóides são terpenos da subclasse tetra-nor-triterpenoides oxigenados. São insolúveis em água, mas solúveis em hidrocarbonetos, álcool e acetona (ROY & SARAF, 2006; MOHAMAD *et al.*, 2009).

Estudos sobre a ação dos tetranortriterpenóides da andiroba indicam que estes apresentam elevado efeito anti-inflamatório e antialérgico, pois inibem a

ativação e migração de leucócitos, impedindo a ação de diferentes mediadores pró-inflamatórios (FERRARIS, 2012).

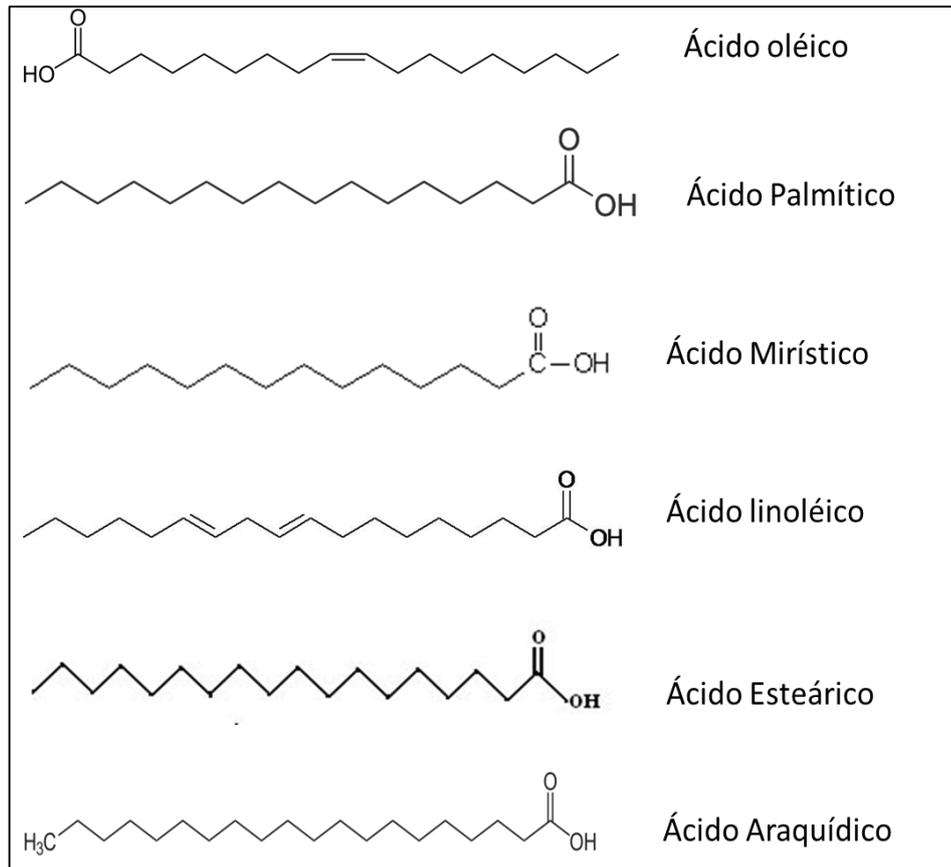


Figura 12. Principais constituintes do óleo de Andiroba
Fonte: Adaptado de MIRANDA-JR, 2010; ORELANNA *et al.*, 2004.

Alguns limonóides da andiroba, como a azadiractina apresentam elevada atividade inseticida (MATOS *et al.*, 2009). A gedunina possui efeito antiplasmódico frente ao *Plasmodium falciparum* (KIRANDEEP *et al.*, 2009). O limonóides 6 α -acetoxigedunina extraído do óleo de andiroba apresenta alta atividade contra efeitos da malária (PEREIRA *et al.*, 2014).

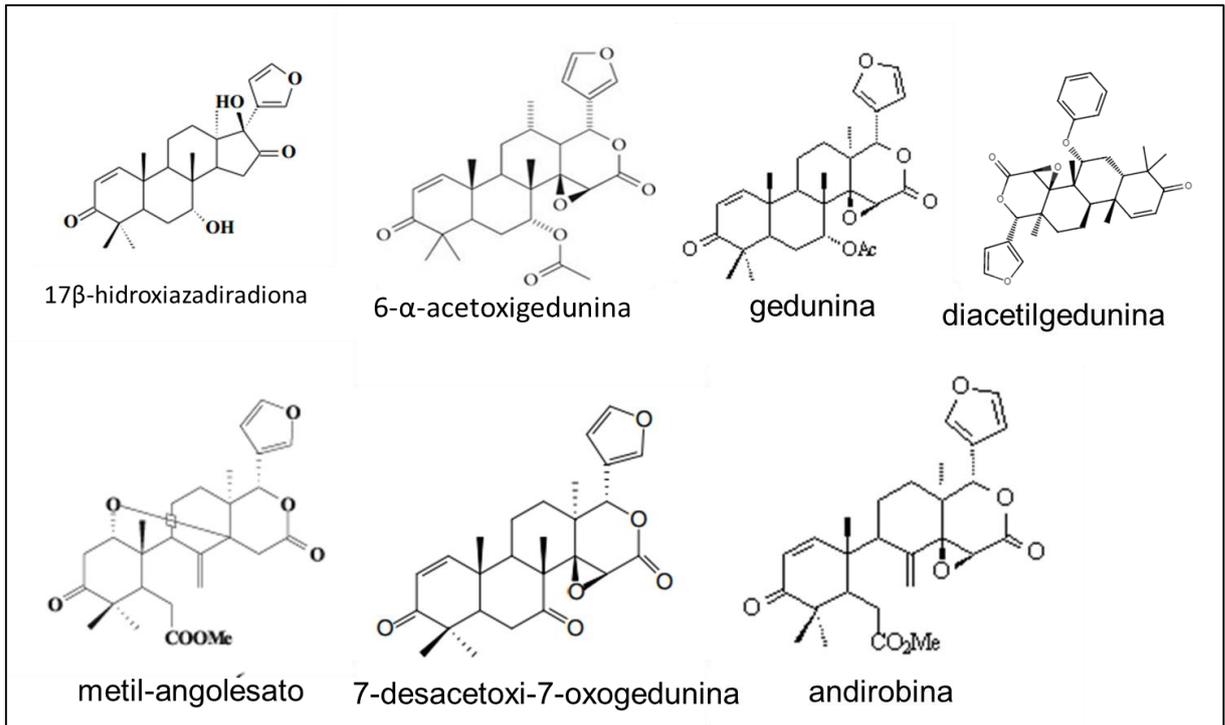


Figura 13. Compostos limonóides isolados do óleo de andiroba

Fonte: Adaptado de MIRANDA-JR, 2010.

Os óleos essenciais, como os extraídos da andiroba, em virtude de seus inúmeros constituintes (terpenos, fenilpropanóides, etc.), apresentam aplicabilidade em inúmeras áreas, com destaque na terapêutica. Estudos realizados com óleos de diversos vegetais já detectaram que as principais atividades apresentadas por estes são: antimicrobiana, angiogênica, antinociceptiva, antioxidante e antiinflamatória (NASCIMENTO *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007; WOLFFENBÜTTE, 2007; PESSOA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2014).

2.7 O Processo de Angiogênese

A angiogênese consiste no desenvolvimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes. Ela começa no local lesado da parede de vasos sanguíneos e atinge as fases de ativação, proliferação de células endoteliais e migração (KARAMYSHEVA, 2008).

Em adultos, a formação e o crescimento de novos vasos estão sob preciso controle. Este processo sofre ativação em condições estritamente definidas, como na cicatrização de feridas, ovulação, nidação, crescimento, dentre outros. Por outro lado, existe uma angiogênese patológica a qual está relacionada com o surgimento de doenças como artrite, psoríase, retinopatia diabética, degeneração macular e neoplasias malignas (FOLKMAN, 1971; SAFATLE *et al.*, 2002).

O processo angiogênico é regulado por um complexo sistema de controle formado por fatores pró- e antiangiogênicos e envolve algumas etapas (Figura 14).

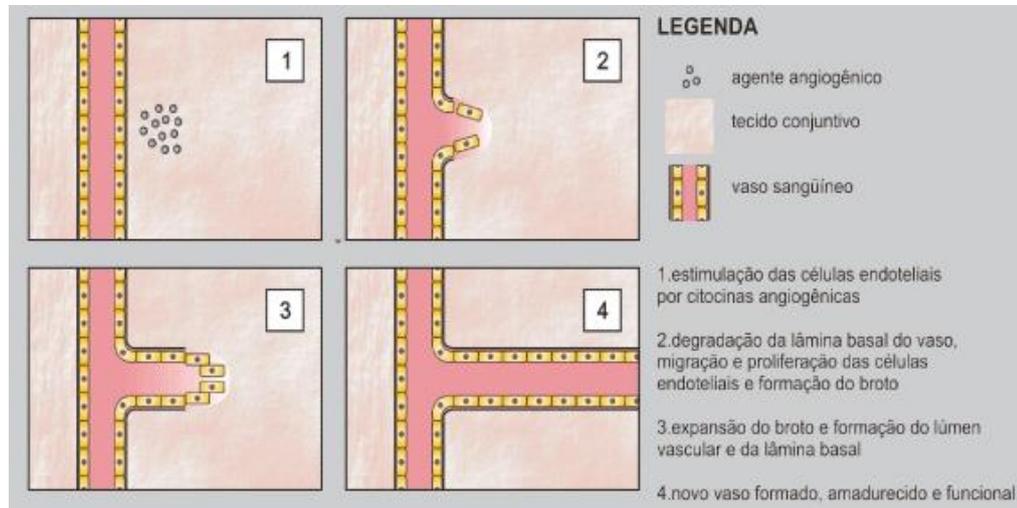


Figura 14. Representação do processo angiogênico

Fonte: SILVA *et al.*, 2007.

Quando as citocinas angiogênicas estimulam as células endoteliais do vaso-mãe, a lâmina basal destas células sofre degradação por proteases. Deste modo, as células endoteliais são dirigidas ao estroma perivascular onde se proliferam e iniciam o brotamento capilar. Com a expansão do broto, este assume uma estrutura tubular e nova lamina basal. Com a proliferação do endotélio, os túbulos

microvasculares se interligam por anastomose e originam a cadeia circulatória (GIANIS & RÜBSAN, 1997; SILVA *et al.*, 2007).

As células endoteliais apresentam rápida capacidade de divisão em resposta a estímulos fisiológicos, os quais podem resultar na ativação de angiogênese. Neste sentido, inúmeros peptídeos são conhecidos por apresentarem atividade reguladora de angiogênese, como o fator ácido de crescimento de fibroblastos (aFGB), fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF), a angiogenina, o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), dentre outros (KARAMYSHEVA, 2008; VALIATTI *et al.*, 2011).

Os estudos mais recentes assumem que o evento crítico na regulação da angiogênese é a cascata de sinalização envolvendo o VEGF. Esta conclusão é baseada nas propriedades biológicas deste fator (KARAMYSHEVA, 2008). O VEGF é um fator de sobrevivência para células endoteliais *in vitro* e *in vivo* uma vez que ele impede a apoptose destas células na ausência de nutrientes. Além disso, o VEGF apresenta efeito indutor na expressão de proteínas anti-apoptóticas (Bcl- 2 e A1) em células endoteliais (JACQUES *et al.*, 1999). Sua capacidade de indução do aumento de permeabilidade vascular é cerca de 50.000 vezes superior à histamina (COTRAN *et al.*, 1999).

A família de VEGF (Figura 15) apresenta seis membros: VEGF- A, VEGF- B, VEGF- C, VEGF- D, VEGF- E e PlGF. Destes, o VEGF- A possui maior atividade no processo angiogênico. Estes fatores podem ativar um ou mais dos receptores conhecidos (VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3). As proteínas transmembrânicas VEGFR-1 (Flt-1) e VEGFR-2 (Flt-2) são receptores de alta afinidade de VEGF com domínio tirosina-quinase e são expressas, talvez exclusivamente, no endotélio vascular (POURGHOLAMI & MORRIS, 2008).

A ligação entre VEGF e seus receptores medeiam o processo angiogênico, conduzindo à dimerização do receptor e uma subsequente transdução de sinal (HICKLIN & ELLIS, 2005). Essa ligação inibe o fluxo de cálcio citoplasmático e aumenta sua concentração, altera a forma, e promove divisão e migração celular (FERRARA, 2004).

Com o aumento da permeabilidade venosa, as proteínas plasmáticas vão para o meio extravascular e deste modo, ocorre a coagulação do fibrinogênio e formação de gel de fibrina a qual é utilizada como matriz contingente para o crescimento de novos vasos sanguíneos (FOLKMAN, 1986; DVORAK, 1995).

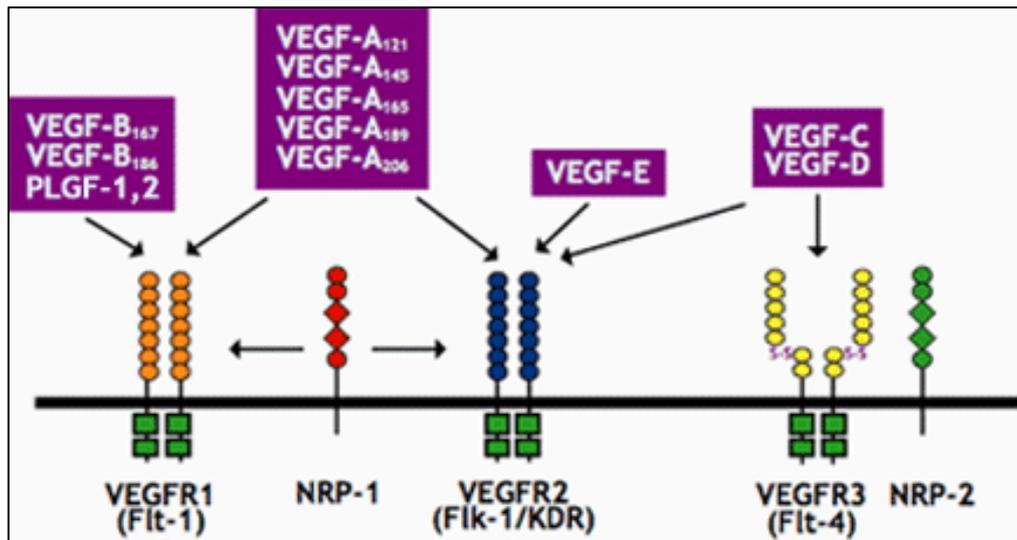


Figura 15. Ligação entre as moléculas de VEGF e seus receptores

Fonte: HICKLIN & ELLIS, 2005.

O aumento da permeabilidade vascular parece anteceder e acompanhar a angiogênese em diversos processos fisiológicos e patológicos, o que torna o VEGF um importante mediador de angiogênese (NAGY *et al.*, 2008).

O VEGF é um mediador-chave da angiogênese em cânceres, onde sua regulação é efetuada pela expressão de oncogenes, fatores de crescimento (Fator de Crescimento Epidérmico - EGF, Fator de Crescimento Transformante - TGF α e TGF β , Fator de Crescimento semelhante à Insulina 1, Fatores de Crescimento de Fibroblastos – FGF e IGF-1, Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas - PDGF, etc.) e hipóxia. Para que um tumor cresça além de 1-2 mm, é necessária a presença de vasos sanguíneos para um maior fornecimento de nutrientes e oxigênio uma vez que as células neoplásicas apresentam um metabolismo acentuado (FORSYTHE *et al.*, 1996; CARMELIET, 2003; CARMELIET, 2000; VIRREY *et al.*, 2008).

Os vasos tumorais formados sob a influência de VEGF são estruturalmente e funcionalmente anormais. Eles estão dispostos de forma irregular, tortuosa, e não estão organizados em vênulas, arteríolas e capilares. Além disso, são permeáveis e hemorrágicos, o que leva a alta pressão intersticial (JAIN *et al.*, 2002).

Estas características fazem com que o fluxo sanguíneo do tumor seja baixo, o que resulta em hipóxia e maior produção de VEGF. O papel central deste fator na produção de vasos tumorais se tornou um importante alvo na terapia anticâncer (CARMELIET, 2005; ALVARENGA *et al.*, 2014).

A ativação do fator VEGFR-3 tem sido observada em diferentes tipos de tumores, tais como o melanoma. Nestes casos, os elevados níveis de expressão de VEGFR-3 e seus ligantes (VEGF-C e VEGF-D) estão associados com metástases (KIRKIN *et al.*, 2001; PEPPER *et al.*, 2003). Nas células de melanoma M21, este fator ativa as integrinas $\alpha V\beta 3$, que estão envolvidas na adesão e migração celular (BYZOVA *et al.*, 2000).

Os receptores VEGFR são altamente expressos em casos de mesotelioma (STRIZZI *et al.*, 2001). Também, este fator estimula a proliferação e migração de células leucêmicas humana (DIAS *et al.*, 2000). A indução da ativação e crescimento de células MAPKs (Proteínas quinases ativadas por mitógenos) em linhagens celulares de câncer pancreático humano (VON MARSCHALL *et al.*, 2000). Em células de cancro da mama (T-47D), o VEGF estimula a CPAM (malformação congênita das vias aéreas pulmonares) e enzimas PI3K (Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato-3-quinase) as quais participam de funções celulares, como o crescimento, proliferação, diferenciação, motilidade celular (PRICE *et al.*, 2001).

Deste modo, percebe-se que além de sua importante função no processo de angiogênese, o VEGF também atua na biologia de várias linhagens celulares tumorais (CARMELIET, 2005).

2.7.1 Vegetais estimuladores e inibidores de angiogênese

Em virtude da grande importância da angiogênese em processos fisiológicos e patológicos, inúmeras pesquisas relacionadas à descoberta de fatores angiogênicos e antiangiogênicos estão sendo realizadas. Neste sentido, se destacam os estudos envolvendo plantas medicinais (DIAS *et al.*, 2003).

A atividade angiogênica de várias plantas já foi constatada em estudos experimentais, auxiliando, principalmente, no entendimento do processo cicatricial de lesões. Um importante exemplo é o látex oriundo da planta *Hevea brasiliensis*, o qual possui importantes componentes químicos (proteínas, ácidos aminados, etc.) que induzem a angiogênese e a neoformação em tecidos biológicos. Além disso, a membrana da borracha natural favorece o processo cicatricial e a vascularização (AGOSTINI, 2009).

Outras pesquisas envolvendo a *Hevea brasiliensis* demonstram que uma proteína (chaperonina) presente neste vegetal induz o aumento da permeabilidade vascular, angiogênica e acelera o processo cicatricial, além de promover a proliferação celular da linhagem Hek293T (Human Embryonic Kidney 293 cells) (MENDONÇA, 2008).

O extrato etanólico das flores de *Calendula officinalis* (calêndula) e de *Arrabidaea chica* (crajiuru) apresentam atividade angiogênica e cicatrizante em feridas cutâneas de ratos (PARENTE, 2008; JORGE, 2013).

A aloína (peptídeo encontrado no extrato do parênquima clorofiliano da *Aloe barbadensis*) induz a vasculo/angiogênese *in vitro* superando o efeito do fator angiogênico FGFb na formação de vasos primários (BERTI, 2008).

Por outro lado, os estudos mais recentes com plantas medicinais têm buscado a descoberta de compostos antiangiogênicos os quais são apontados como inibidores de tumor. Com a descoberta da relação entre o processo angiogênico e a formação de tumores, alguns medicamentos de origem vegetal, que inibem a angiogênese, já estão em uso. Cerca de 60 a 75% dos fármacos utilizados no tratamento de neoplasias e doenças infecciosas, têm de fontes naturais (VEIGA-JR *et al.*, 2005). Esta nova classe de fármacos visa impedir o desenvolvimento de tumores através da inibição da angiogênese, gerando menos efeitos colaterais quando comparados a alguns quimioterápicos (FOLKMAN, 2006).

Um importante exemplo é o medicamento Gencitabina o qual, quando associado com a emodina (tipo de antraquinonas - composto fenólico, presente em alguns vegetais) apresenta elevada ação inibitória da proliferação de células cancerígenas pancreáticas *in vivo* e *in vitro* (HE *et al.*, 2009).

As antraquinonas presentes no vegetal *Rheum rhabarbarum* (ruibarbo), possuem atividade inibidora de angiogênese através de um mecanismo que, provavelmente, envolve a diminuição de fatores pró-angiogênicos, como citocinas pró-inflamatórias em macrófagos e inibição de NF-kB (Fator Nuclear Kappa B), MAPK, e PI3K (HU *et al.*, 2014).

Também, o artesunato, derivado semissintético do composto sesquiterpênico artemisinina o qual é extraído da planta *Artemisia annua* L., apresenta potencial atividade no tratamento anticâncer, pelo mecanismo antiangiogênico. Estudos indicam seu efeito contra leucemia mieloide crônica *in vitro* e *in vivo*, em concentrações de 0,75-100 µg/mL (ZHOU *et al.*, 2007). Além disso, este composto

possui baixa toxicidade o que demonstra que este pode ser um antileucêmico promitente (BRANDAO *et al.*, 2010).

Em ensaio *in vivo* utilizando membrana corioalantóide (MCA) de embriões de galinha, três glicosídeos flavonóides: rutina (quercetina 3-O-rutinosídeo), campferol (3-O-robinobiosídeo) e campferol (3-O-rutinosídeo), extraídos do extrato aquoso das folhas da planta *Melia azedarach* apresentam elevado efeito anti-angiogênico em (KUMAZAWA *et al.*, 2013).

Ensaio com o extrato de diclorometano da casca de *Garcinia amplexicaulis* mostrou que a presença de tocotrienóis, triterpenos e xantonas inibem, *in vitro*, a angiogênese, adesão e migração de células endoteliais induzida por VEGF (LAVAUD *et al.*, 2013).

Os demais estudos que objetivam avaliar a potencial atividade anticâncer de plantas medicinais em linhagens celulares humana têm contribuído para o avanço das pesquisas atuais, além de auxiliar na escolha de outros modelos e estudos de mecanismos de ação (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

4.2. Vegetais com atividade genotóxica e antigenotóxica

Durante o processo evolutivo, os vegetais desenvolveram meios naturais que lhes fornecem defesa contra o ataque de predadores, bactérias, fungos e insetos. Estes recursos se tratam de substâncias químicas com atividades tóxica e genotóxica (FERRER *et al.*, 2009).

Dentre os compostos vegetais de maior toxicidade destacam-se os alcaloides pirrolizidínicos, os glicosídeos cianogênicos, teobrominas, flavonoides e alguns óleos voláteis. Eles causam hepatotoxicidade, carcinogênese, teratogênese e genotoxicidade (KHAN *et al.*, 2005; VARANDA, 2006; RIET – CORREA *et al.*, 2011).

Cerca de 3% das plantas que possuem flores apresentam os alcaloides pirrolizidínicos, considerados os compostos mais tóxicos. As famílias mais comuns que apresentam este princípio ativo são Asteraceae, Fabaceae e Boraginaceae (WIEDENFELD & EDGAR, 2011).

As substâncias genotóxicas interagem com os ácidos nucléicos e produzem mudanças em sua estrutura ou função (CRUZ & FREITAS, 2010). As mutações ocasionadas em células germinativas podem originar danos hereditários, e quando

ocorrentes em células somáticas, o efeito mais comum é a formação de tumores (benignos ou malignos) (ARUOMA, 2003).

Os compostos genotóxicos estão distribuídos nos ecossistemas e são deslocados e acumulados por meio das cadeias tróficas, causando alterações genéticas ou atividades genotóxicas em indivíduos ou populações expostas (VARANDA, 2006). Grande parte destes compostos possui relação com a formação de EROS as quais têm importante contribuição em processos degenerativos, lesões no DNA, mutações relacionadas ao câncer, problemas cardíacos e envelhecimento (MOHAN & MELTZ, 1994; ANDERSON *et al.*, 1995).

Alguns vegetais que provocam genotoxicidade já foram descritos. O extrato metanólico da folha de *Strychnos pseudoquina*, por exemplo, apresentam efeito genotóxico *in vivo* devido a alta quantidade de alcaloides (SILVA *et al.*, 2005). O extrato metanólico de *Byrsonima crassa* induz a mutagenicidade em virtude da presença de flavonoides, como a amentoflavona (CARDOSO *et al.*, 2006).

Mesmo com determinadas plantas medicinais apresentando compostos tóxicos de atividade mutagênica, o consumo das mesmas pode diminuir os efeitos de agentes mutagênicos que estejam agindo sobre o organismo humano (BAGATINI *et al.*, 2007).

Muitos vegetais apresentam substâncias com propriedades antígenotóxicas. Dentre elas estão os carotenoides (Vitamina A e licopeno), flavonoides, alcaloides (triptofol), compostos fenólicos (curcumina), ácido ascórbico (vitamina C), ácido elágico, ácido gálico, ácido tânico, ácido oleanólico, ácidos graxos insaturados, dentre outros (SASAKI *et al.*, 1994; ANDERSON *et al.*, 1995; NAKASUGI & KOMAI, 1998; SIPPEL *et al.*, 1998; ANTUNES & ARAÚJO, 2000; NEJI *et al.*, 2005; GUTERRES, 2009; BERNI *et al.*, 2012; MARCHIORI *et al.*, 2013).

A maior parte das substâncias vegetais com ação antígenotóxica, tem função antioxidante (Figura 16) onde atuam no sequestro de ERO (RAMALHO & JORGE, 2006; ALVES *et al.*, 2007).

Os antioxidantes primários (compostos fenólicos) removem ou inativam os radicais livres que se formam durante a iniciação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, impedindo a reação em cadeia (SIMIC & JAVANOVIC, 1994). Alguns vegetais com ação antioxidante são a *Malpighia glabra* (acerola), *Euterpe oleracea* (açai), *Rubus* L. (amora) e *Fragaria x ananassa* Duch. (morango) (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

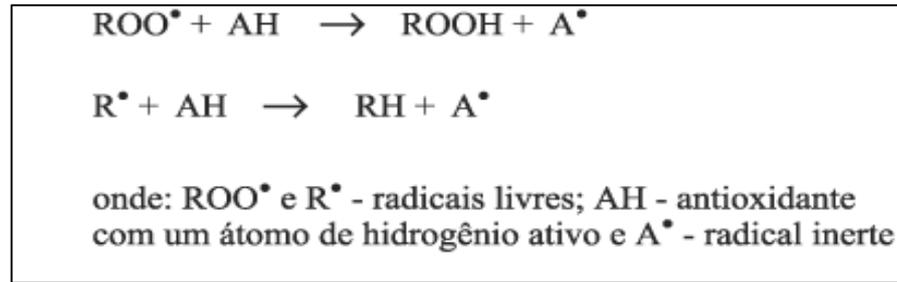


Figura 16. Mecanismo de ação de antioxidantes primários
Fonte: RAMALHO & JORGE, 2006.

Um recente estudo apontou que o aparecimento de lesões no material genético está relacionado à redução do consumo de frutas, pois importantes compostos naturais, como a vitamina C, influenciam na capacidade de reparo do DNA levando ao aparecimento de tais lesões (SLYSKOVA *et al.*, 2014).

Também, pesquisas com o óleo essencial de *Curcuma longa* (açafrão) demonstram que este apresenta importante efeito antimutagênico, *in vitro*, através da inibição de isoformas de enzimas (citocromo P450) ativadoras de carcinógenos como o tabaco e azida sódica (LIJU *et al.*, 2014).

Cardeni e colaboradores (2000) verificaram que o chá preto das folhas de *Camellia sinensis* reduz a indução de focos neoplásicos intestinais de ratos, provocados pelo azoximetano. O látex de *Synadenium umbellatum*, em concentrações entre 10 e 30 mg/kg, reduz o efeito mutagênico provocado pela mitomicina em camundongos (MELO-REIS *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos presentes na semente do cravo (*Syzygium aromaticum* L.) possuem atividade antimutagênica para algumas cepas bacterianas (*Salmonella typhimurium* TA98 e TA100) através de seu efeito antioxidante que elimina os radicais 2,2 difenil-1-picril-hidrazila - DPPH e inibe a peroxidação do ácido linoleico (SULTANA *et al.*, 2014).

O flavonoide Rutina (vitamina P) reduz a hiperplasia epidérmica de camundongos quando estes são expostos à radiação UV. Este composto inibe significativamente a expressão da enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2), induzida por raios UV, e a síntese de óxido nítrico, ambos atuantes em processos inflamatórios. Especificamente, a rutina atenua a fosforilação das proteínas p38 (MAP) quinase e cinase Jun-N-terminal (JNK) as quais atuam na produção de citocinas pró-inflamatórias (interleucinas IL-1 β , TNF α e IL-6), na indução de COX-2 e expressão do óxido nítrico (CHOI *et al.*, 2014; ZARUBIN & HAN, 2005).

O intenso uso de vegetais pela população se deve pelas inúmeras propriedades farmacológicas e biológicas dos mesmos. Inúmeros compostos químicos e seus efeitos já foram descritos na literatura e a investigação por novos vegetais de caráter farmacológico têm aumentado. Diante disso, o presente estudo se objetivou em avaliar os efeitos genotóxico e antigenotóxico do óleo da semente de *Carapa guianensis* (Andiroba), além de investigar sua possível atividade angiogênica.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivos Gerais

- Avaliar as possíveis atividades angiogênica, genotóxica e/ou antigenotóxica, do óleo da semente de *Carapa guianensis* (Andiroba).

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar se o óleo da semente de andiroba apresenta genotoxicidade mediante a realização de experimentos “*in vivo*”, utilizando como método experimental, o teste de micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.
- Avaliar a possível atividade antigenotóxica do óleo da semente de andiroba mediante realização de experimentos “*in vivo*”, pelo tratamento do óleo da planta junto a dois compostos genotóxicos, Mitomicina C (MMC) e Ciclofosfamida (CP), utilizando o teste de micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.
- Avaliar o possível efeito angiogênico do óleo da semente de andiroba mediante realização de testes laboratoriais “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental a membrana corioalantóide (MCA) do ovo embrionado de galinha.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Óleo da semente de Andiroba

O óleo foi adquirido no comércio de Brasília-DF pela empresa MUNDO DOS ÓLEOS LTDA, CNPJ: 14.571.630/0001-20. O óleo foi produzido e distribuído pela mesma empresa, incluso no lote: ANR 50-1/739 e com validade em 30 de março de 2015. A densidade calculada do óleo foi de 1000 mg/mL.

4.2. Avaliação da atividade angiogênica na MCA

O ensaio da MCA é comumente usado em estudos da angiogênese comum e até mesmo com enxerto de células tumorais (KURZS *et al.*, 1994; MALIK *et al.*, 2000). Também permite verificar o potencial de irritação de solventes, além de agentes estimulantes e inibidores da angiogênese, bem como a toxicidade de drogas em termos de morte do embrião ou atividades adversas na MCA, como inflamação e neovascularização (RIBATTI *et al.*, 1996; PARSONS-WINGERTER *et al.*, 1998, 2000; VINARDELL & MITJANS, 2006; VARGAS *et al.*, 2007).

4.2.1. Ovos embrionados

Foram utilizados 100 ovos férteis de galinha (*Gallus domesticus*) linhagem Rhoss, adquiridos na granja da chácara São Domingos a qual se localiza no Km 9 da estrada velha para Bela Vista, Vale dos Pampas, Aparecida de Goiânia. Deste total, 16 amostras foram analisadas.

4.2.2. Controles para o teste da MCA

a) Controle negativo: Soro fisiológico (Arboreto®), lote 09087212, com validade em fevereiro de 2016.

b) Controle inibidor: Solução de dexametasona 4mg/mL - Aché Laboratórios Farmacêuticos®, Lote nº 2.668, com validade em abril de 2016.

c) Controle indutor: soro do látex da *Hevea brasiliensis* - REGEDERM®. Produzido pela empresa Pelenova Biotecnologia S.A. Lote nº 00100287, com validade em janeiro de 2016.

4.3. Teste do Micronúcleo

4.3.1. Camundongos

Para realizar os testes de genotoxicidade e antigenotoxicidade foram utilizados 75 camundongos machos, saudáveis, da espécie *Mus musculus* linhagem Swiss Webster, oriundo do Biotério da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, apresentando peso corpóreo entre 30 e 40 gramas e faixa etária entre 45 e 60 dias.

Os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno, forradas com maravalha, conforme padrões internacionais. Receberam água e ração balanceada *ad libitum*. A maravalha foi trocada a cada três dias.

Os camundongos ficaram em sala de experimentação arejada com temperatura média de 21°C, com sistema de ventilação, ciclo de claro- escuro (claridade 07: 00 - 19: 00, escuro 19: 00 - 07: 00).

Foram necessários 55 camundongos para os testes de genotoxicidade e antigenotoxicidade, além de 20 animais para os controles negativo e positivo. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (Protocolo nº 0003-1/2014).

4.3.2. Controles e reagentes

a) Controle negativo (diluidor do óleo de andiroba) - Óleo de Soja: produzido pela empresa Granol®.

- b) Controle positivo - Mitomicina C: fabricado por Bristol Myers Squibb®, Lote 360.170.2., fabricado em março de 2013, com validade em fevereiro de 2015.
- c) Controle positivo - Ciclofosfamida: fabricado por Baxter Healthcare®, em outubro de 2013, Lote 3J709, com validade de três anos.
- d) Soro Bovino Fetal: Laborclin®, lote 221619, com validade em fevereiro de 2015.
- e) Corante para células hematológicas segundo Leishman (eosina, azul de metileno). Preparado realizado no Laboratório da Área de Saúde (LAS) da PUC.

4.4 Metodologias utilizadas

4.4.1. Procedimento experimental para avaliação “*in vivo*” da atividade angiogênica

Os ovos embrionados de galinha foram incubados em estufa automática a temperatura de 38°C e em ambiente úmido (65%), e deslocados lateralmente a cada 15 minutos, durante os cinco primeiros dias de incubação. No quinto dia, foi realizada, na casca do ovo, uma abertura circular (1,0 cm de diâmetro) em sua base maior (onde está localizada a câmara de ar) com auxílio de uma micro-retífica Dremel (Figura 17) (RIBATTI *et al*, 1996).



Figura 17. Abertura circular na base maior do ovo com uso de micro-retífica
Fonte: Acervo da autora/2014.

Após a realização da abertura na casca do ovo, foi utilizado seringa e solução salina estéreis, para deposição de uma gota de NaCl (0,9% p/v) a fim de auxiliar na retirada da membrana da casca, para exposição da MCA já vascularizada (Figura 18).



Figura 18. Remoção da membrana da casca para exposição da MCA

Fonte: Acervo da autora/2014.

Ao final do 13° dia de incubação, discos de papel de filtro com 1cm de diâmetro, receberam 3 μ L da substância teste (óleo de andiroba - 1000 mg) e dos controles negativo (água destilada), inibidor (solução de dexametasona) e indutor (Regederm®).

Os discos foram depositados diretamente sobre a membrana de forma cuidadosa. Todos os ovos voltaram para a incubação até o 16° dia, quando então foram retirados da incubadora (RIBATTI *et al.*, 2001).

4.4.2. Análise histológica da MCA

A membrana corio-alantóide do ovo de galinha com a rede vascular neoformada foi fixada em solução de formol a 10% e incluída em bloco de parafina. Posteriormente, foram preparados cortes histológicos e corados com solução de hematoxilina-eosina, segundo técnica clássica padronizada (RIBATTI *et al.*, 2001).

O material foi observado em microscopia óptica comum em aumento de 40x e as imagens das MCAs foram fotografadas por uma câmara digital (Sony Cyber-shot 6.0 mega pixels), em condições padronizadas, adaptada a uma lupa. A área percentual de cada amostra de MCA foi quantificada pelo processamento da

imagem utilizando programa de domínio público Gimp for Windows (versão 2.0.5) e Image J (versão 1.28) para visualização dos vasos sanguíneos (WILTING *et al.*, 1991).

As imagens foram processadas de forma que a saturação, luz e contraste proporcionaram melhor resolução dos vasos sanguíneos, os quais foram quantificados em pixels correspondentes. O nível de vascularização do campo de imagem observado é correspondente à quantidade de pixels selecionada (MANSUR *et al.*, 2006).

No ensaio da MCA, a rede vascular da membrana corioalantóide do embrião de galinha é utilizada como uma região sensível a estímulos angiogênicos e antiangiogênicos. A MCA é altamente vascularizada e se forma através da fusão das membranas córion e alantoide (Figura 19) (GALDOS-RIVEROS *et al.*, 2010).

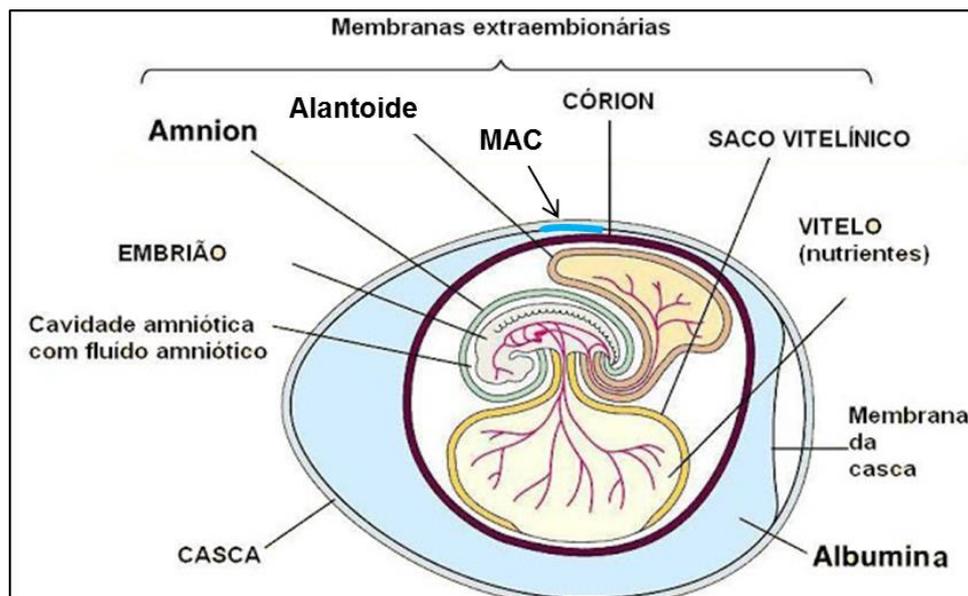


Figura 19. Estrutura do ovo embrionado de galinha
 Fonte: Adaptado de MARTINS, 2013.

4.4.3. Avaliação das atividades genotóxica e antígenotóxica do óleo de andiroba pelo teste do micronúcleo

Foram realizados ensaios “*in vivo*”, em camundongo através do teste de micronúcleo. Este teste é utilizado para detectar danos cromossômicos induzidos por agentes genotóxicos. Os micronúcleos (MN) são formados na anáfase, onde

cromátides e fragmentos cromossômicos acêntricos se atrasam em relação aos elementos com centrômeros, quando estes se ligam aos polos do fuso. Após a telófase, os cromossomos não danificados e os fragmentos de centrômeros dão origem aos núcleos filhos. Os elementos que se atrasam são também incluídos nas células filhas, mas muitos se transformam em um ou vários núcleos secundários, muito menores que o núcleo principal denominados de micronúcleos (SCHMID, 1975).

Em conformidade com o teste do micronúcleo de Schmid (1975) com adaptação de Berni et al (2012), os camundongos foram divididos em 15 grupos de cinco animais cada. Em seguida, foram pesados e marcados individualmente. Os grupos consistiram em Pré-tratamento (grupos 1, 2, 3, 4 e 5 da Tabela 2), Co-tratamento (grupos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 da Tabela 2) e Pós-tratamento (grupos 14 e 15 da Tabela 2).

Na avaliação antigenotóxica do óleo da semente de andiroba pelo pré-tratamento, dois grupos com cinco animais cada, foram tratados com o óleo nas doses de 250 e 500 mg/kg de peso corporal (p.c.), via intraperitoneal (ip), respectivamente, durante cinco dias, seguido pela administração do controle positivo (Ciclofosfamida – CP- na dose de 50 mg/kg p.c.), via ip, duas horas após o último tratamento com o óleo de andiroba. Um grupo controle teste foi tratado apenas com o óleo de andiroba na dose de 500 mg/kg p.c., via ip, por cinco dias, afim de verificar seu possível efeito genotóxico.

O grupo controle positivo recebeu uma dose única de 50 mg/kg p.c. da CP, via ip, e o grupo controle negativo foi tratado com óleo de soja (substância veículo) via ip, na proporção de 0,1 ml/10g de p. c. por cinco dias. Todos os animais foram eutanasiados 24 horas depois do tratamento com a CP.

Para avaliar a antigenotoxicidade do óleo de andiroba pelo pós-tratamento, dois grupos de animais foram inicialmente tratados, via ip, com a CP na dose de 50 mg/kg p.c., e após 6 e 12 horas foram administradas as doses de 250 e 500 mg/kg p.c., via ip, do óleo de andiroba respectivamente.

O grupo controle positivo foi tratado com a CP na dose de 50/kg p.c. via ip, enquanto o negativo recebeu a substância veículo uma única vez (óleo de soja ip na proporção de 0,1 ml/10g p.c.). Decorrido um período de 24 horas após a injeção da CP, os animais foram eutanasiados.

Na avaliação da antigenotoxicidade pelo co-tratamento, três grupos de animais receberam, uma única vez, as doses de 250, 500 e 1000 mg/kg p.c. via ip do óleo de andiroba concomitante à administração, via ip, da CP (dose de 50 mg/kg p.c.). Outros três grupos de animais receberam as mesmas doses do óleo de andiroba relatados anteriormente, respectivamente, concomitante à administração da Mitomicina C (MMC na dose de 4 mg/kg p.c. via ip). Um grupo de animais recebeu, via ip, apenas a dose de 1000 mg/kg p.c. do óleo de andiroba, funcionando assim como um grupo controle teste.

Para o controle positivo do co-tratamento, dois grupos de animais foram tratados via ip com a dose de 50 mg/kg p.c. da CP e 4 mg/kg p.c. da MMC, respectivamente. Ressalta-se que um único grupo controle da CP foi utilizado para os três tipos de tratamento antigenotóxico empregados neste estudo.

Também, o grupo controle negativo foi o mesmo utilizado para o pós-tratamento. Todos os animais desse grupo foram eutanasiados 24 horas após os respectivos tratamentos.

A tabela da página seguinte representa os grupos e doses utilizadas neste estudo para o teste do MN.

Tabela 2. Substâncias administradas nos grupos de tratamento

| | Grupos | Substâncias e doses administradas / período de tratamento |
|--------------------------|--|--|
| Grupos de pré-tratamento | 1 | Óleo da semente de andiroba à 250mg/kg e CP à 50mg/kg / 5 dias |
| | 2 | Óleo da semente de andiroba à 500mg/kg e CP à 50mg/kg / 5 dias |
| | 3 | Controle positivo - CP à 50mg/kg / 24 horas |
| | 4 | Controle teste - óleo da semente de andiroba à 500mg/kg / 5 dias |
| | 5 | Controle negativo* - Substância veículo / 5 dias |
| Grupos de Co-tratamento | 6 | Óleo da semente de andiroba à 250mg/kg e CP à 50mg/kg / 24 horas |
| | 7 | Óleo da semente de andiroba à 500mg/kg e CP à 50mg/kg / 24 horas |
| | 8 | Óleo puro da semente de andiroba (1000mg/kg) e CP à 50mg/kg / 24 horas |
| | 9 | Óleo da semente de andiroba à 250mg/kg e MMC à 4mg/kg / 24 horas |
| | 10 | Óleo da semente de andiroba à 500mg/kg e MMC à 4mg/kg / 24 horas |
| | 11 | Óleo puro da semente de andiroba (1000mg/kg) e MMC à 4mg/kg / 24 horas |
| | 12 | Controle - Óleo puro da semente de andiroba (1000mg/kg) / 24 horas |
| | 13 | Controle Positivo - MMC à 4mg/Kg / 24 horas |
| 14 | Controle negativo* - Substância veículo / 24 horas | |
| Grupos de Pós-tratamento | 15 | Óleo da semente de andiroba à 250mg/kg ⁻¹ e CP à 50mg/kg / Pós-tratamento de 24 horas |
| | 16 | Óleo da semente de andiroba à 500mg/kg ⁻¹ e CP à 50mg/kg / Pós-tratamento de 24 horas |

*Óleo de soja (0,1 ml/10g p.c.). **Fonte:** Acervo da autora/2014.

O processo de eutanásia ocorreu por deslocamento cervical. A epífise proximal do fêmur foi cortada e a medula óssea hematopoiética aspirada com soro

bovino fetal. Após a homogeneização da medula no soro, esta foi centrifugada a 300 x g por cinco minutos. O sobrenadante foi parcialmente descartado e a preparação laminar foi feita com o precipitado. Após a secagem das lâminas, estas foram coradas em solução de Leishmann (RIBEIRO *et al.*, 2003).

As lâminas foram analisadas avaliando-se 1000 eritrócitos policromáticos e computados simultaneamente com a frequência dos eritrócitos normocromáticos em duas lâminas para cada animal e sendo estas examinadas em objetivas de imersão (SILVA e SILVA, 2003).

Após o processo de eutanásia os animais foram embalados e congelados por 30 dias, após esse período os mesmos foram descartados em lixo hospitalar.

O teste do MN é o ensaio, *in vivo*, mais amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) e aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal), sendo internacionalmente aceito como parte da bateria de testes recomendada para a avaliação do potencial mutagênico e para o registro de novos produtos químicos que entram anualmente no mercado mundial. Este teste foi desenvolvido em eritrócitos de medula óssea de camundongos (SCHIMID, 1971).

A frequência MN é analisada em eritrócitos policromáticos (EPC, eritrócitos jovens) de medula óssea de camundongos, mas pode, também, ser analisada em eritrócitos normocromáticos (ENC, eritrócitos maduros) (HEDDLE, 1973).

4.5. Análise de dados

Para analisar a atividade genotóxica ou antigenotóxica do óleo da semente de andiroba, foi realizado através da comparação das frequências dos resultados obtidos dos grupos tratados com os grupos de controle positivos, o teste t de Student. Esses resultados também foram comparados ao grupo de controle negativo pelo mesmo teste.

O valor de p foi considerado significativo quanto menor que 0.05 ($p < 0.05$). Para avaliar a ação de citotóxica, considerou-se a relação de micronúcleos presentes em EPC e ENM das amostras que receberam o óleo de andiroba, nas três concentrações utilizadas, comparando-a aos controles positivos pelo teste de qui-quadrado.

Na análise da atividade angiogênica ou antiangiogênica do óleo de andiroba, os resultados dos grupos foram comparados pela Análise de Variância (ANOVA) e complementados pelo Método de Comparação múltipla de Holm-Sidak. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5 RESULTADOS

5.1. Atividade angiogênica pelo teste da MCA

No teste da MCA foi observada a possível atividade angiogênica do óleo puro da semente de andiroba (concentração de 1000 mg), assim como do controle negativo (água destilada), controle inibidor (solução de dexametasona) e controle indutor (Regederm®).

A tabela abaixo apresenta os valores percentuais de vascularização obtida em amostras de MCAs após tratamento com óleo de andiroba juntamente com os controles.

Tabela 3. Percentual de vascularização obtido no tratamento com óleo de andiroba e controles

| Nº | Controle indutor (Regederm®) | Controle Negativo (H ₂ O) | Controle inibidor (Dexametasona®) | Teste Óleo de Andiroba |
|---------------|------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 1 | 45,3 | 28,3 | 9,8 | 57,3 |
| 2 | 49,1 | 29,7 | 13,4 | 56,9 |
| 3 | 48,5 | 32,2 | 11,7 | 43,7 |
| 4 | 52,6 | 29,4 | 15,1 | 45,3 |
| 5 | 54,2 | 35,4 | 9,3 | 52,4 |
| 6 | 47,3 | 28,5 | 12,4 | 49,8 |
| 7 | 53,6 | 32,9 | 9,6 | 51,3 |
| 8 | 43,5 | 33,7 | 13,2 | 50,6 |
| 9 | 52,8 | 35,2 | 15,6 | 47,2 |
| 10 | 42,4 | 24,2 | 10,5 | 52,2 |
| 11 | 49,2 | 23,8 | 11,7 | 54,3 |
| 12 | 51,7 | 35,3 | 9,2 | 47,7 |
| 13 | 41,3 | 28,6 | 12,2 | 51,9 |
| 14 | 56,5 | 27,1 | 14,6 | 53,7 |
| 15 | 54,2 | 32,4 | 9,2 | 46,1 |
| 16 | 46,7 | 31,6 | 10,4 | 53,7 |
| Média | 49,3 | 30,5 | 11,7 | 50,7 |
| Desvio Padrão | 4,4 | 3,6 | 2,1 | 3,9 |

Os dados encontrados, demonstram que as 16 amostras tratadas com óleo de andiroba apresentaram valor médio de rede vascular em 50,7%. Este valor quando comparado aos detectados nos controles negativo e inibidor foi maior, apresentando diferença estatística significante ($p < 0,05$). Entretanto, não foram constatadas diferenças entre as percentagens da rede vascular formada pelo óleo de andiroba e o controle indutor ($p > 0,05$), uma vez que, a média percentual da rede vascular analisada nestes estes grupos, foi semelhante.

Quando comparados os controles positivo e neutro, foi constatada diferença significativa ($p < 0,05$). Em relação ao controle inibidor, apresentou a redução da vascularização na MCA do ovo embrionado de galinha em relação ao controle neutro ($p < 0,05$).

Na Figura 20, é possível verificar a rede vascular dos controles e teste. O óleo de andiroba apresentou um aumento significativo na formação da rede vascular indicando atividade angiogênica.

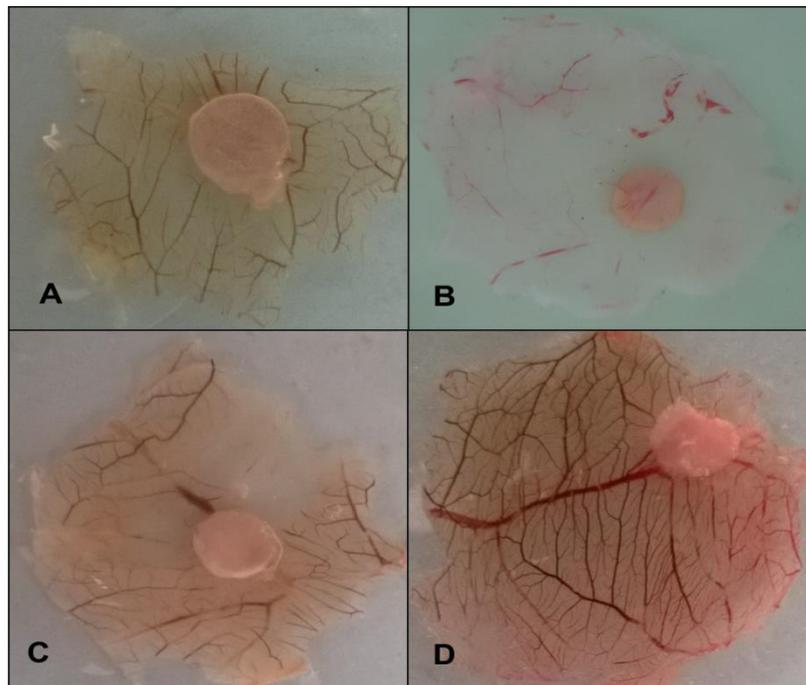


Figura 20. Rede vascular formada na membrana corioalantóide do ovo embrionado de galinha após o tratamento com óleo de andiroba juntamente com os controles.

A – Controle negativo. B - Controle inibidor. C – Controle indutor. D – Teste (óleo da semente de andiroba). (Fotografia obtida com câmera digital Sony Cyber-Shot – 6.0 mega pixels).

5.2. Avaliação da atividade genotóxica e antigenotóxica pelo teste do micronúcleo

5.2.1. Co-tratamento

No teste do MN utilizando o co-tratamento, foi possível observar que os grupos que receberam as três doses (250, 500 e 1000 mg.kg) do óleo de andiroba apresentaram uma redução significativa do número de MNs em relação aos controles positivos (CP e MMC).

Comparando os grupos co-tratados com óleo de andiroba (grupos 3, 4 e 5 da Tabela 4) junto a CP com os grupos de MMC (grupos 7, 8 e 9 da Tabela 4) observa-se que não houve diferença ($p > 0,05$) entre eles.

Por outro lado, todos os grupos co-tratados com óleo de andiroba e controles apresentaram o valor da relação EPC/ENC significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparados aos controles negativo e a dose pura (1000 mg.kg p.c. do óleo de andiroba).

O grupo co-tratado com a maior dose do óleo (1000 mg.kg p.c.) e MMC (grupo 9 da Tabela 4) apresentou o menor número de MN em relação ao controle positivo aplicado. Além disso a relação EPC/ENC deste grupo foi a maior (0,7) quando comparada aos grupos tratados com as menores doses.

A dose teste (1000 mg.kg p.c.) do óleo de andiroba, não apresentou diferença ($p > 0,05$) em relação ao controle negativo, sendo semelhantes a relação EPC/ENC e o número de MNs encontrados em ambos os grupos.

Os dois grupos de controle positivo (CP e MMC) apresentaram semelhança no número de MNs ($p > 0,05$) e na relação EPC/ENC.

Tabela 4. Frequência de MNEPC e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos co-tratados em 24 horas com três doses do óleo de andiroba e os controles mitomicina e ciclofosfamida.

| Grupos | Tratamentos | MNEPC | | | |
|--------|--|---------------|-------------------------------|---|--------------------|
| | | Nº de animais | Dados Individuais MN /1000EPC | Média ± Valor de P no desvio padrão MN/1000 EPC | Relação EPC/ENC |
| 1 | Controle negativo * | 5 | 3-2-3-5-4 | 3,4 ± 1,01 ^{a c} | 0,9 ^{a c} |
| 2 | CP** | 5 | 18-20-17-18-19 | 18,4 ± 1,02 | 0,5 |
| 3 | Óleo de andiroba (250 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 15-17-17-16-13 | 15,4 ± 1,49 ^a | 0,6 ^a |
| 4 | Óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 15-12-16-11-15 | 13,8 ± 1,93 ^a | 0,61 ^a |
| 5 | Óleo de andiroba (1000 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 12-11-17-13-15 | 13,6 ± 2,15 ^a | 0,62 ^a |
| 6 | MMC*** | 5 | 19-20-23-21-19 | 20,4 ± 1,5 | 0,5 |
| 7 | Óleo de andiroba (250 mg.kg p.c.) + MMC (4 mg/kg) | 5 | 11-15-13-14-12 | 16,4 ± 1,41 ^c | 0,6 ^c |
| 8 | Óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.) + MMC (4 mg/kg) | 5 | 14-13-12-14-15 | 14 ± 1,01 ^c | 0,62 ^c |
| 9 | Óleo de andiroba (1000 mg.kg p.c.) + MMC (4 mg/kg) | 5 | 13-11-11-12-14 | 12,2 ± 1,16 ^c | 0,7 ^c |
| 10 | Óleo de andiroba (1000 mg.kg p.c.)**** | 5 | 4-2-3-4-6 | 3,8 ± 1,32 ^f | 0,9 ^f |

^a e ^b quando comparado à CP; ^c e ^d quando comparado à MMC; ^e Houve diferença significativa quando comparado ao controle negativo ($p < 0,05$); ^f Não houve diferença significativa quando comparado ao controle negativo ($p > 0,05$).

*Controle negativo: óleo de soja (0,1 ml/10g p.c.); **Controle Positivo: CP (50 mg.kg p.c.);

Controle Positivo: MMC (4 mg.kg p.c.); *Controle teste

5.2.2 - Pré-tratamento

Os resultados do pré-tratamento (Tabela 5) indicaram que a dose teste do óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.) utilizada como controle teste, não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) no número de micronúcleos quando comparada ao controle negativo.

Verificou-se que as doses de 250 e 500 mg.kg do óleo de andiroba com o uso de CP (50 mg.kg) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) no número de micronúcleos em relação aos valores detectados no controle positivo, sendo que a dose de 500 mg.kg apresentou maior redução no número de micronúcleos (média 7,6), além de apresentar a maior relação EPC/ENC.

Tabela 5. Frequência de MNEPC e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos pré-tratados por cinco dias com duas doses do óleo de andiroba antes da exposição à ciclofosfamida.

| Grupos | Tratamentos | Nº de animais | MNEPC | | |
|--------|---|---------------|-------------------------------|---|-------------------|
| | | | Dados Individuais MN /1000EPC | Média \pm Valor de P no desvio padrão MN/1000 EPC | Relação EPC/ENC |
| 1 | Controle negativo* | 5 | 4-3-4-2-3 | 3,2 \pm 0,48 ^a | 0.93 ^a |
| 2 | CP** | 5 | 18-20-17-18-19 | 18,4 \pm 1,02 ^c | 0.51 ^c |
| 3 | Óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.)*** | 5 | 3-3-3-2-2 | 2,6 \pm 0,48 ^d | 0.92 ^d |
| 4 | Óleo de andiroba (250 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 9-10-12-12-11 | 10,8 \pm 1,16 ^a | 0.68 ^a |
| 5 | Óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 8-8-7-6-9 | 7,6 \pm 1,02 ^a | 0.75 ^a |

^a Houve diferença significativa quando comparado com o controle positivo ($p < 0,05$); ^b Não houve quando comparado com o controle positivo ($p > 0,05$); ^c Houve diferença ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo; ^d Não houve diferença ($p > 0,05$) quando comparado ao controle negativo ($p < 0,05$).

*Óleo de soja (0,1 ml/10g p.c.); **Controle positivo: Ciclofosfamida (50 mg/kg); ***Controle teste

5.2.3. Pós-tratamento

Detectou-se no pós-tratamento (Tabela 6) que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os controles positivo e negativo.

A média de MNs detectada no grupo tratado com óleo de andiroba na dose de 250 mg.Kg foi de 14,4. Este valor quando comparado ao encontrado no controle positivo (18,4) foi menor apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

O grupo tratado com óleo de andiroba na dose de 500 mg.Kg apresentou uma média de 13,2 MNs, evidenciando que houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle positivo.

Tabela 6. Frequência de MNEPC e relação EPC/ENC da medula óssea de camundongos pós-tratados em 24 horas com duas doses do óleo de andiroba após exposição à ciclofosfamida.

| Grupos | Tratamentos | Nº de animais | MNEPC | | |
|--------|---|---------------|-------------------------------|---|-------------------|
| | | | Dados Individuais MN /1000EPC | Média \pm Valor de P no desvio padrão MN/1000 EPC | Relação EPC/ENC |
| 1 | Controle negativo* | 5 | 3-2-3-5-4 | 3,4 \pm 1,01 ^a | 0,93 ^a |
| 2 | Controle positivo** | 5 | 18-20-17-18-19 | 18,4 \pm 1,02 | 0.51 |
| 3 | Óleo de andiroba (250 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 15-14-12-16-15 | 14,4 \pm 1,35 ^a | 0.61 ^a |
| 4 | Óleo de andiroba (500 mg.kg p.c.) + CP (50 mg/kg) | 5 | 12-12-15-14-13 | 13,2 \pm 1,16 ^a | 0.63 ^a |

^a Houve diferença significativa quando comparado com o controle positivo ($p < 0,05$); ^b Não houve quando comparado ao controle positivo ($p > 0,05$).

*Controle negativo: óleo de soja (0,1 ml/10g p.c.); **Controle Positivo: ciclofosfamida (50 mg.kg p.c.).

Observando todos os tratamentos empregados, é possível verificar que o óleo de andiroba promoveu reduções significativas ($p < 0,05$) no número de MNs em relação aos controles MMC e CP utilizados neste estudo. Desta forma, infere-se que este óleo apresenta atividade genoprotetora.

6 DISCUSSÃO

6.1. Atividade angiogênica do óleo de andiroba

Com o objetivo de avaliar a atividade angiogênica e antiangiogênica do óleo da semente de andiroba, este estudo utilizou como modelo experimental a MCA do ovo embrionado de galinha.

Os resultados encontrados neste estudo permitiram observar que o óleo puro (1000 mg/mL) da semente de andiroba promoveu nas amostras de MCA testadas, um aumento significativo da rede vascular neoformada em relação aos controles neutro e inibidor.

A atividade de células inflamatórias apresenta importante efeito na indução de fatores angiogênicos (citoquinas, ILs, VEGF, dentre outros) os quais atuam na iniciação e expansão de respostas inflamatórias, promovendo o desenvolvimento de capilares pré-existentes e neoformação vascular na MCA (MAY *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*, 2010). Neste sentido, alguns estudos apontam que o óleo de andiroba promove a ativação de fatores angiogênicos os quais contribuem para sua atividade cicatricial (PENNAFORTE, 2003).

Esta atividade se deve à composição fotoquímica do óleo da semente de andiroba. A presença de ácidos graxos, triterpenos e compostos limonóides ativos neste óleo, pode estar relacionada à atividade angiogênica detectada na MCA (ORELANNA *et al.*, 2004; DIAS *et al.*, 2000).

Relatos na literatura evidenciam que os ácidos graxos são precursores da biossíntese de inúmeros mediadores lipídicos relacionados ao processo inflamatório (KENDALL & NICOLAOU, 2013). Eles são importantes aceleradores do processo cicatricial através de sua atuação como agentes quimiotáticos para leucócitos, promoção da angiogênese e hidratante de feridas (NABAS *et al.*, 2009).

Estes ácidos de modo geral, apresentam importante função na modulação de sinalização de fatores pré-inflamatórios (cálcio, proteína quinase C e TNF- α). O ácido oleico, bem como o palmítico e linoleico são mediadores pró-inflamatórios, uma vez que induzem a liberação de citocinas, por neutrófilos, durante processos cicatriciais e desta forma estimulam rapidamente a produção dos fatores de

crescimento e promovem a neovascularização (MAY & CALDER, 1993; ZIBOH *et al.*, 2000; SOLDATI *et al.*, 2002; MARQUES *et al.*, 2004; HATANAKA & CURI, 2007).

Testes *in vivo* também demonstram que o ácido oleico possui capacidade indutora da ativação do fator de transcrição NF- κ B (responsável pelo controle da expressão de genes atuantes na resposta inflamatória) e de TNF- α (interage com receptores de células endoteliais elevando a permeabilidade vascular afim de que os leucócitos acessem o local infeccionado – resposta inflamatória localizada). Além disso, ele aumenta a expressão e concentração de interleucinas (IL-1b, IL-6 e MIP-3^a), citocinas (CINC-2 $\alpha\beta$) e VEGF (MAGDALON, 2011; RODRIGUES, 2011).

Além dos ácidos graxos, os compostos triterpenos e limonóides, também presentes no óleo de andiroba, apresentam importantes propriedades biológicas. Estudos demonstram que estas substâncias atuam na inibição da enzima COX-2 a qual converte o ácido aracdônico para a via das prostaglandinas (KUMER & COELHO, 2002). A COX-2 apresenta papel regulatório na angiogênese através da indução do VEGF (GRUDZINSKI *et al.*, 2006; PARENTE, 2008).

6.2. Atividade genotóxica e antigenotóxica do óleo de andiroba

Este experimento avaliou a potencial atividade genotóxica do óleo de andiroba via ip em camundongos Swiss em duas doses, 500 e 1000 mg/kg⁻¹ p.c., utilizadas como controle teste em grupos de pré e co-tratamento respectivamente, e comparadas a um controle negativo e dois positivos (apenas no co-tratamento). A análise dos resultados encontrados apontou que o óleo não apresenta genotoxicidade nas doses e condições testadas.

A frequência do número de MNEPC dos grupos tratados apenas com o óleo de andiroba em relação os grupos de controle negativo não apresentou diferença ($p > 0,05$), revelando não haver genotoxicidade no óleo.

No teste do MN, além da frequência de EPCs micronucleados, os valores de EPC em relação aos outros eritrócitos devem ser avaliados. Uma considerável redução na frequência de EPC indica citotoxicidade na medula óssea, onde ocorre um bloqueio na divisão e maturação de células nucleadas na eritropoiese (MacGREGOR *et al.*, 1987). Neste sentido, a relação EPC/ENC é determinada no intuito de avaliar citotoxicidade na medula óssea (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Observou-se, no presente estudo, que os valores encontrados na relação EPC/ENC dos grupos tratados com as doses testes (500 e 1000 mg.kg p.c. usadas no pré e co-tratamento respectivamente) indicaram que não houve redução na frequência de EPC, sendo esta relação semelhante à detectada nos controles negativos. Este achado evidencia que o óleo de andiroba não gerou citotoxicidade na medula óssea dos camundongos.

Achados semelhantes ao presente estudo foram detectados por Arrebola et al (2012) testando as doses de 400, 1000 e 2000 mg/kg do óleo de andiroba, por 14 dias, via gavagem, através do método do MN.

Gomes e colaboradores (2013) também verificaram, pelo teste de Ames, que as doses 50, 100, 1000 e 5000 mg/kg do óleo de andiroba não causam mutagenicidade em linhagens (TA97, TA98, TA100, TA102 e TA1535) de *Salmonella enterica*. No entanto, as menores diluições apresentam citotoxicidade, o que pode mascarar uma possível atividade mutagênica do óleo.

Neste estudo, os grupos controle positivo (CP - usada nos três tipos de tratamentos; e MMC – usada apenas no co-tratamento) apresentaram elevada frequência de MNEPC em relação os grupos de controle teste e controle negativo, fato que evidencia o efeito genotóxico das substâncias utilizadas.

A CP, droga amplamente utilizada no tratamento de câncer de mama, é usada como controle positivo em inúmeros estudos, em virtude de suas comprovadas atividades citotóxica, clastogênica e mutagênica sobre células da medula óssea, tanto em modelos *in vivo* como *in vitro* (MOREIRA *et al.*, 2004). Os resultados aqui obtidos corroboram com tais estudos evidenciando os efeitos citotóxico e genotóxico desta substância.

A MMC (antibiótico isolado de *Streptomyces caespitosus*) é um agente alquilante biorredutor o qual bloqueia a replicação de DNA e RNA e inibe a síntese proteica. Através de uma ação metabólica enzimática com efeito redutor, os metabólitos formados alquilam o DNA por meio de ligações cruzadas. Estes compostos propiciam a formação de superóxidos, os quais geram danos de caráter oxidativo no DNA (WALLAU *et al.*, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2005).

Ambas as substâncias induzem a formação de quebras cromossômicas (clastogênese) e geram ligações cruzadas (cross-linking) no DNA, tanto inter como intra-fita, promovendo, deste modo, um bloqueio na replicação do material genético

e transcrição de RNA, com potenciais atividades na sobrevivência e função celular (FREITAS, 1997; MOREIRA *et al.*, 2004).

O alto número de micronúcleos encontrados em ambos os grupos controle positivo (CP e MMC) deste estudo, também firma a confiabilidade e sensibilidade deste modelo animal (ARENCIBIA *et al.*, 2012). Ressalta-se que, neste estudo, não houve diferenças significativas entre os números de MNs detectados nos grupos tratados CP e MMC.

Os resultados obtidos nos grupos de co-tratamento que receberam as doses de 250, 500 e 1000 mg/kg⁻¹ p.c. do óleo de andiroba, demonstraram que o número de MNs foi significativamente menor ($p < 0,05$) em relação aos controles CP e MMC. Além disso, a relação EPC/ENC foi estatisticamente maior nestes grupos em comparação à detectada nos controles positivos.

As mesmas observações foram, também, encontradas nos grupos de pós e pré-tratamento; nestes dois grupos foram usadas as doses de 250 e 500 mg/kg⁻¹ p.c. do óleo de andiroba e apenas a CP como controle positivo. Estes dados sugerem que o óleo apresentou atividade antígeno-tóxica diante dos controles positivos utilizados.

O efeito dose-dependente foi verificado em todos os tratamentos aplicados. Entre as três doses testadas, a mais efetiva para a atividade antígeno-tóxica foi a de 500 mg/kg⁻¹ p.c. utilizada no pré-tratamento, uma vez que esta apresentou o menor número de MNs e maior relação EPC/ENC.

Estudos sobre diferentes atividades de óleos essenciais de plantas medicinais apontam o efeito dose dependente. Pelo teste do MN, Ribeiro (2010) detectou que óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) analisado em três doses (100, 200 e 300 mg/Kg p.c.) inibe danos ao DNA provocados pela DXR (doxorubicina), sendo a maior inibição observada na dose de 300 mg/Kg p.c. Pelo mesmo ensaio, Costa (2010) também observou que o óleo da polpa de bocaiuva (*Acrocomia aculeata*), nas concentrações de 5 e 20%, reduz a frequência de MN provocados pelo uso do agente mutagênico Colchicina, onde a concentração de 20% possui maior inibição na frequência de MN

Zanandrea *et al* (2004) verificou que o óleo puro de orégano (*Origanum vulgare*) apresenta maior atividade contra fungos patogênicos do arroz quando comparado aos valores de suas diluições (1:2, 1:4 e 1:8). Mendonça e Onofre (2009) observaram, também, que o óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) inibe o

crescimento bacteriano (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) conforme sua diluição, sendo a concentração de 100% mais eficiente para o efeito antibacteriano em relação a outras diluições (5, 12, 25 e 50%).

Uma vez que a alteração de dose causa interferência no efeito de determinado tratamento, ocorre a dose-dependência (VARGAS *et al.*, 2010). Como verificado neste estudo, a maior dose do óleo de andiroba (500 mg/Kg p.c.) utilizada no pré e pós-tratamento promoveu maiores reduções no número de MNs em comparação à menor dose (250mg/Kg p.c.). No co-tratamento, a dose de 1000 mg mg/Kg p.c. foi mais eficiente para este efeito em relação as doses menores.

Outro importante fator de influência para a atividade antigenotóxica verificada no presente estudo está relacionado à composição do óleo de andiroba. Sua principal constituição é representada pelos ácidos graxos: oleico (57%), palmítico (25,3) e mirístico (17,9 – 18,1%) (ORELANNA *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2006).

Algumas pesquisas tem apontado o efeito antigenotóxico de óleos vegetais, dentre eles os azeites de canola e oliva, os quais, assim como o óleo de andiroba, apresentam elevados teores de ácidos graxos monoinsaturados e compostos. O ácido oleico, por exemplo, promove redução nos níveis de lipoperoxidação, além de possuir efeito antioxidante (TRUEBA *et al.*, 2004; EVANGELISTA *et al.*, 2004; COSTA, 2012).

Há relatos de que o ácido oleico inibe quimicamente tumores induzidos na pele, estômago, mama e cólon. Além disso, em tumores mamários, esta inibição ocorre independentemente do tipo de substância cancerígena ou mesmo pelo tipo e quantidade de gordura utilizada (KRITCHEVSKY, 2000).

Evangelista e colaboradores (2004) verificaram que o efeito anticlastogênico do azeite de oliva e de canola, estão relacionados aos compostos antioxidantes presentes, como o ácido linoleico, os quais atuam como antimutagênicos, pelo sequestro de radicais livres, inibindo deste modo, os danos oxidativos causados por ROS.

A peroxidação lipídica (incorporação de um radical livre sobre os ácidos graxos da membrana celular, podendo levar a ruptura de sua estrutura, mutações no DNA, perda de trocas metabólicas e morte celular) pode estar envolvida nos mecanismos de envelhecimento, surgimento de câncer e agravos na toxicidade de xenobióticos (VANNUCCHI *et al.*, 1998).

Neste sentido, Costa (2012) detectou pelo ensaio do MN, que o óleo de *Acrocomia aculeata* (bocaiuva), rico em ácido oleico, é capaz inibir os danos genotóxicos promovidos pela colchicina e verificou que tal efeito foi gerado pela redução de lipoperoxidação causada por este agente mutagênico.

No presente estudo, foram utilizados dois agentes mutagênicos: CP e MMC. A MMC sofre uma ativação redutiva a qual gera metabólitos intermediários (semiquinona ou hidroquinona) que se ligam ao DNA por alquilação através de ligações cruzadas entre as duas fitas complementares (OLIVEIRA & ALVES, 2002).

É importante salientar que os radicais intermediários semiquinona e hidroquinona, ao reagirem com oxigênio molecular, formam radicais livres (ânions superóxido, hidroxilas ou peróxidos de hidrogênio) os quais apresentam citotoxicidade decorrente da lipoperoxidação ou por injúrias aos ácidos nucleicos, podendo ser anulada por enzimas e outros componentes com atividade antioxidante (VERWIJ & PINEDO, 1990). Neste sentido, infere-se que o ácido oleico, o qual representa cerca de 57% da composição do óleo de andiroba, tenha inibido a atividade destes metabólitos reativos gerados tanto pela MMC quanto a CP. Segundo Costa (2012), este ácido graxo possui alto potencial na inibição de ERO.

Assim como a MMC, a CP também é um alquilante do DNA. No entanto, ela necessita ser metabolizada pela fosfamidase (enzima microsomal hepática), para que seus metabólitos exerçam o efeito alquilante celular (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Apesar de inúmeros estudos investigarem o potencial antigenotóxico de vegetais, os mecanismos da antigenotoxicidade até o momento não estão totalmente esclarecidos, sendo difícil indagar sobre a natureza dos compostos químicos responsáveis por esta atividade.

Pesquisas sugerem que o efeito antimutagênico pode ser decorrente da ação antioxidante ou pela interferência de um ou mais princípios ativos nas vias metabólicas, onde os agentes genotóxicos atuam (KNASMÜLLER *et al.*, 2002; RESENDE *et al.*, 2007; VINOD *et al.*, 2011).

Pelos resultados observados na avaliação da atividade antigenotóxica, testada com doses fixas em camundongos tratados via ip, é possível sugerir a viabilidade no uso do óleo da semente de andiroba em futuros fármacos. O efeito antigenotóxico do óleo de andiroba observado nos diferentes tratamentos empregados neste estudo evidencia que este apresenta potencial atividade genoprotetora. Outros estudos referentes ao mecanismo de reparo do óleo de

andiroba diante de substâncias genotóxicas devem ser conduzidos a fim de melhor esclarecer este processo.

9 CONCLUSÃO

- O óleo da semente de andiroba apresentou atividade angiogênica na MCA;
- Não apresentou atividade genotóxica;
- Apresentou atividade antígenotóxica de efeito dose-dependente, diante dos efeitos genotóxicos provocados pela mitomicina C e ciclofosfamida;

REFERÊNCIAS

ACHEN, M. G.; WILLIAMS, R. A.; MINEKUS, M. P. Localization of vascular endothelial growth factor-D in malignant melanoma suggests a role in tumour angiogenesis. **The Journal of Pathology**, v. 193, p. 147-154, 2001.

AGGARWAL, B. B.; ICHIKAWA, H. Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives. **Cell Cycle**, v. 4, p. 1201-1215, 2005.

AGOSTINI, D. L. da S. **Caracterização dos constituintes do látex e da borracha natural que estimulam a angiogênese**. 2009. 103f. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia de Materiais) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Presidente Prudente, 2009.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. 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**, v.28, n.1, 2005.

ALVARENGA, E. C.; CAIRES, A.; LADEIRA, L. O.; GAMERO, E. J. P.; ANDRADE, L. M.; PAZ, M. T. L.; LEITE, M. de F. Potenciais alvos terapêuticos contra o câncer. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 1, 2014.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. da S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos & Ciência - Revista da Rede de Ensino FTC**, v. 5, n. 12, 2007.

AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C. HEBLING, M. J. A.; BACCI JÚNIOR, M. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, n.3, p. 542-547, 2006.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **PNAS**, v. 90, p. 7915-7922, 1993.

ANDERSON, D.; BASARAN, N.; BLOWERS, A.; EDWARDS, A. J. The effect of antioxidants on bleomycin treatment *in vitro* and *in vivo* genotoxic assays. **Mutation Research**, v. 329, p. 37-47, 1995.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANTUNES, L. M. G.; ARAUJO, M. C. P. Mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, 2000.

ARAUJO, E.; BARRETO, P.; BRITO, B. A impunidade de crimes ambientais em áreas protegidas federais na Amazônia. *Iamazon*, 58p., 2009.

ARAÚJO JÚNIOR, F. A.; BRAZ, M. N.; NETO, O. G. da R.; COSTA, F. A.; BRITO, M. V. H. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 93-9, 2005.

ARENCIBIA, D. F.; ROSARIO, L. A.; VIDAL, A. Comparación entre líneas de ratones en el ensayo de aberraciones cromosómicas en médula ósea. **Revista MVZ Córdoba**, v. 17, n. 2, p. 2957-2963, 2012.

ARREBOLA, D. F. A.; FERNÁNDEZ, L. A. R.; ROCHE, L. D.; LAURENCIO, A. A.; FERNÁNDEZ, Y. E. S.; NOVOA, A. V. Evaluación genotóxica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de micronúcleos en ratones Balb/c. **Revista de Toxicología en Línea**, p. 1-13, 2012.

ARUOMA, O. I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidante actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v. 523, p. 9-20, 2003.

ASHOK, B. T.; TIWARI, R. K. Cruciferous vegetables and cancer chemoprevention. **Nutrition and Cancer**, v. 41, n. 1-2, p. 17-28, 2001.

ASSAYAG, D. **Copaíba é nova aposta da medicina fitoterápica**. Programa Farmácia da Terra, 2009. Disponível em: <<http://g1.globo.com/globoreporter/0,,LS0-16627-76248,00.html>>. Acesso em: 21 Jun 2014.

ASSIS, C. M.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; CAMPOS, I. P. de A.; SUFFREDINI, I. B. Isolamento e avaliação da atividade biológica dos alcalóides majoritários de *Tabernaemontana angulata* Mart. ex Müll. Arg., Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO - ABIFISA, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. Net. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br>>. Acesso em: 18 abr. 2014.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n. 3, p. 444-447, 2007.

BALABANIAN, C. A.; J. COUTINHO-NETTO, T. L.; LAMANO-CARVALHO, S. A.; BRENTGANI, L. G. Biocompatibility of natural latex implanted into dental alveolus of rats. **Journal of Oral Science**, v. 48, n. 4, p. 201-205, 2006.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BANDEIRA, J. M.; BARBOSA, F. F.; BARBOSA, L. M. P.; RODRIGUES, I. C. S.; BACARIN, M. A.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, 2011.

BARRETO, P. **Como combater o recente aumento do desmatamento na Amazônia.** Jornal online O ECO. 2013. Disponível em: <<http://www.oeco.org.br/paulo-barreto/27177-como-combater-o-recente-aumento-do-desmatamento-na-amazonia>>. Acesso em: 15 Maio 2014.

BARROS, D. F.; ZUANON, J.; de MENDONÇA, F. P.; SANTO, H. M. V. E.; GALUCH, A. V.; ALBERNAZ, A. L. M. The fish fauna of streams in the Madeira – Purus interfluvial region, Brazilian Amazon. **Journal of species lists and distribution**, v. 7, n. 6, p. 768-773, 2011.

BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L.; LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** vol. II. Imprensa Universitária. Viçosa. 377p., 1991.

BATISTA, J. S.; SILVA, A. E.; RODRIQUES, C. M. F.; COSTA, K. M. F. M.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; NUNES, F. V. A. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* wittm) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n. 3, p. 441-447, 2010.

BATISTA, L. S.; OLINDA, R. S.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.

BEHLING, E. B. Flavonóide quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.15, n.3, p.285-292, 2004.

BERNI, A.; GROSSI, M.R.; PEPE, G.; FILIPPI, S.; MUTHUKUMAR, S.; PAPESCHI, C.; NATARAJAN, A.T.; PALITTI, F. Protective effect of ellagic acid (EA) on micronucleus formation induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in mammalian cells, in vitro assays and in vivo. **Mutation Research**, v. 4, n. 746, p. 60-65, 2012.

BERTI, F.V. **Efeito da aloína e do extrato do parênquima clorofiliano da *Aloe barbadensis* na viabilidade de células tumorais e na formação de vasos sanguíneos.** 2008. 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BONADIO, D. N.; NETO, J. O.; CHAGAS, A. C. de S.; RABELO, M. D.; FEITOSA, K. A. Avaliação da atividade acaricida de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae)

sobre larvas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: ANAIS DA V JORNADA CIENTÍFICA - EMBRAPA SÃO CARLOS - Agosto de 2013, SP – Brasil.

BONES, A. M.; ROSSITER, J. T. The myrosinase-glucosinolate system - an innate defense system in plants. **Physiologia plantarum**, v. 97, n. 1, p. 194-208, 1996.

BOUFLEUER, N. T. **Aspectos ecológicos de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet., meliaceae), como subsídio ao manejo e conservação**. 2004. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2004.

BRANDAO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química nova**, v. 33, n. 6, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cadernos de Atenção Básica, Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica, v. 31. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas_integrativas_complementares_plantas_medicinais_cab31.pdf>. Acesso em: 07 maio 2014.

BRAUN, P.; SILVA, A. L.; MARTINS, B. S.; MAI, N.; NUNES, D. S. Ação protetora de marapuama (*Ptychopetalum olacoides*) em amnésia induzida por escopolamina. In: XVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - 2005, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BUCH, D. R.; ARANTES, A. B.; CAMPELO, P. M. S. Verificação da atividade cicatrizante do exudato de folhas de *Jatropha multifida* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 2, p. 142-145, 2008.

BUHRMESTER, R.A.; EBINGER, J.E.; SEIGLER, D.S. Sambunigrin and cyanogenic variability in populations of *Sambucus canadensis* L. (Caprifoliaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 689-695, 2000.

BYDLOWSKI, S. P.; YUNKER, S. L.; SUBBIALI, M. T. A novel property of an aqueous extract (*Paullinia cupana*): Inhibition of platelet aggregation *in vitro* and *in vivo*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 21, p. 535-538, 1988.

BYZOVA, T. V.; GOLDMAN, C. K.; PAMPORI, N.; THOMAS, K. A.; BETT, A.; SHATTIL, S. J.; PLOW, E. F. A mechanism for modulation of cellular responses to VEGF: activation of the integrins. **Molecular Cell**, v.6, p. 851-860, 2000.

CADERNI, G.; DE FILIPPO, C.; LUCERI, C.; SALVADORI, M.; GIANNINI, A.; BIGGERI, A.; REMY, S.; CHEYNIER, V.; DOLARA, P. Effects of black tea, green tea and wine extracts on intestinal carcinogenesis induced by azoxymethane in F344 rats. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 11, p. 1965-1969, 2000.

CARDOSO, C. R. P.; CÓLUS, I. M. S.; BERNARDI, C. C.; SANNOMIYA, M.;

CARMELIET, P. Angiogenesis in health and disease. **Nature Medicine**, v. 9, n. 6, p. 653-660, 2003.

CARMELIET, P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. **Nature Medicine**, v.6, n. 3, 2000.

CARMELIET, P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. **Oncology**, v. 69, n. 3, p. 4-10, 2005.

CASCON, V. Copaíba - *Copaifera* spp. In: CARVALHO, J.C.T. Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 480p.

CASTRO, D. B.; SANTOS, D. B.; FERREIRA, H. D.; SANTOS, S. C.; CHEN-CHEN, L. Atividades mutagênica e citotóxica do extrato de *Cochiospermum regium* Mart. (algaõzinho-do-campo) em camundongos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n. 3, p. 5-19, 2004.

CASTRO, L. H.; SANTOS, O., P.; BIAGGIO, R., M.; BELTRAME JÚNIOR, M. Extração e estudo de óleos essenciais da semente da Andiroba. In: X ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA E VI ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, p. 201-204. São José dos Campos. 2006

CEOLIN, T.; HECK, R. M.; BARBIERI, R. L.; SCHWARTZ, E.; MUNIZ, R. M.; PILLON, C. N. Plantas medicinais: transmissão do conhecimento nas famílias de agricultores de base ecológica no Sul do RS. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.45, n. 1, 2011.

CHEN, Q.; WU, L. J.; WANG, J.; LI, H. Chemical studies on the constituents of *Lophatherum gracile* Brongn. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, v. 19, p. 23-24, 2002.

CHIUCHETTA, S. J. R.; OLIVEIRA, U.D.; MARINS, J. de F. Avaliação do ciclo celular de *Aspergillus nidulans* exposto ao extrato da planta *Copaifera officinalis* L. **Revista Saúde e Biologia**, v. 1, n. 2, p. 42-47, 2005.

CHOI, K. S.; KUNDU, J. K.; CHUN, K. S.; NA, H. K.; SURH, Y. J. Rutin inhibits UVB radiation-induced expression of COX-2 and iNOS in hairless mouse skin: p38 MAP kinase and JNK as potential targets. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 559, p. 38-45, 2014.

CORRÊA, P. G.; PIMENTEL, R. M. de M.; CORTEZ, J. S. de A.; XAVIER, H. S. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais Brasileiras. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 3, 2008.

COSTA, G. L. de A. **Avaliação do potencial mutagênico, antimutagênico e antioxidante do óleo da polpa de *Acrocomia aculeata* (arecaceae)**. 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, 2012.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v. 37, p. 229-234, 2007.

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

COTRAN, R.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Pathologic Basis of Disease** - cap 8. 6ª edição. WB Saunders. Philadelphia. 1999.

CRUZ, A. B.; de FREITAS, R. A. Toxicologia in vitro: Principais modelos utilizados. In: **V Simposio Iberoamericano de Plantas Mediciniais**, Ponta Grossa, PR, 2012. Disponível em: <http://www.vsipm.com.br/html/arquivos_menu2/cursos/Curso_7_2.pdf>. Acesso em: 22 Jun 2014.

DANTAS, M. Manaus ainda possui árvores nativas na área urbana. G1 Amazonas. 2012. Disponível em: <<http://g1.globo.com/am/amazonas/noticia/2012/07/manaus-ainda-possui-arvores-nativas-na-area-urbana.html>>. Acesso em: 21 Abr. 2014.

DELAMARE, A. P. L.; TOSCAN, C. M. **Atividade antimicrobiana e antioxidante de terpenoides**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

DIAS, A. M.; ABAD, M. J.; FERNANDEZ, L.; RECUERO, C.; VILLAESCUSA, L.; SILVAN, A. M.; BERMEJO, P. In vitro anti-inflammatory activity of iridois and triterpenoid compounds isolated from *Phillyrea latifolia* L. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 23, n. 11, p. 1307-1313, 2000.

DIAS, C. S.; SILVA, I. G.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; BRAZ-FILHO, R.; BARBOSA-FILHO, J. M. Isolamento e identificação de novos alcalóides de *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 11, 2003.

DIAS, L. F. de T.; de MELO, E. S.; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 309-314, 2009.

DIAS, S.; HATTORI, K.; ZHU, Z.; HEISSIG, B.; CHOY, M.; A PISTA W.; WU, Y.; CHADBURN, A.; HYJEK, E.; GILL, M.; HICKLIN, D. J.; WITTE, L.; MOORE, M. A.; RAFII, S. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 106, p. 511-521, 2000a.

DOUKAS, C. N.; MAGLOGIANNIS, I.; CHATZIOANNOU, A.; PAPAPETROPOULOS, A. Automated Angiogenesis Quantification through advanced Image Processing Techniques. *Engineering in Medicine and Biology*

Society, EMBS Annual International Conference of the IEEE. New York City, USA, 2006b.

DOUKAS, C.N.; MAGLOGIANNIS, I.; CHATZIOANNOU, A.; LOUTRARI, H. A Computer Based Tool for Tumor Growth and Inhibition Detection using Angiogenesis Quantification. 2006a. [periódico na Internet]. [citado 2007 Nov 03]; Disponível em: <<http://medlab.cs.uoi.gr/itab2006/proceedings/Medical%20Imaging/77.pdf>>. Acesso em: 26 Maio 2014.

DRUMOND, M.R.S.; CASTRO, R. D.; ALMEIDA, R. V.; PEREIRA, M. S.; PADILHA, W. W. Comparative study in vitro of the antibacterial activity from phytotherapeutic products against cariogenic bacteria. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 4, n. 1, p. 33-8, 2004.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multi – Ciência**, v. 7, p. 17, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; dos SANTOS, R. J.; GENOVESE, R. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DVORAK, H. F.; BROWN, L. F.; DETMAR, M.; DVORAK, A. M. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. **American Journal of Pathology**, v. 146, n.5, p. 1029-1039, 1995.

ENRIQUEZ, G.; SILVA, M.A.; CABRAL, E. **Biodiversidade da Amazônia**: usos e potencialidades dos mais importantes produtos naturais do Pará. Belém: EMBRAPA, 2003.

ESTANILAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PEÑA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Composição química e atividade dos óleos essenciais de cinco espécies de *eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; BELLETI, M. E.; da SILVA, L. A. F.; FIORAVANTE, M. C.; NETO, N. S. T. Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii*). **Veterinária Notícias**, v. 4, n. 1, p.77-82, 1998.

EVANGELISTA, C. M.; ANTUNES, L. M.; FRANCESCATO, H. D.; BIANCHI, M. L. Effects of the olive, extra virgin olive and canola oils on cisplatin-induced clastogenesis in Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1291-1297, 2004.

FACHINETO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; da SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 49-54, 2007.

FAGUNDES, G. E. **Influência de sucos de hortaliças fonte de luteína e beta-caroteno sobre a genotoxicidade induzida por agentes alquilantes em camundongos.** 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, 2012.

FERRARA, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. **Endocrine Reviews**, v.25, n.4, p. 81-611, 2004.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. da. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, n.3, p. 375-382, 2002.

FERRARI, M, OLIVEIRA, M. S. C; NAKANO, A., K; ROCHA FILHO, P. A. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 626-630, 2007.

FERRARIS, F. K. **Estudo da atividade antialérgica e anti-inflamatória de tetranortriterpenóides de *Carapa guianensis* Aublet.** 2012. 117f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, 2012.

FERRAZ, I. D. K.; SAMPAIO, P. T. B. Métodos simples de armazenamento das sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet. e *Carapa procera* D.C. – Meliaceae). **Acta Amazonica**, v. 26, n. 3, p. 137-144, 1996.

FERRER, A. P.; PARRA, A. V.; RUIZ, A. R.; LÓPEZ, A. G.; MONTERO, A. R.; HURTADO, Y. V.; GONZÁLEZ, M. L.; RODRÍGUEZ, C.; CARBALLO, C. Plantas medicinales. Diez años de evaluaciones toxicogenéticas en el CIDEM. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 8, n. 5, p. 428-434, 2009.

FISCH, S.T.V. **Comparações morfológicas e fisiológicas durante os processos de germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* D.C. - Meliaceae.** 1990. 98f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1990.

FOCHESATTO, C.; de ANDRADE, A.; SIQUEIRA, I. R.; TORRES, I.; SILVA, A. L.; NETTO, C. A. Atividade antioxidante de *Ptychopetalum olacoides* Bentham (olacaceae) em cérebros de camundongos. RESUMO DO XIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRS, Porto Alegre, 2001.

FOLKMAN J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. **New England Journal of Medicine**, v. 285, p. 1182-1186, 1971.

FOLKMAN, J. Angiogenesis. **Annual Review of Medicine**, v.57, p.1-18, 2006.

FOLKMAN, J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes memorial Award lecture. **Cancer Research**, v. 46, n. 2, p. 467-73, 1986.

FONSECA, A. P. P.; PAGLIA, A. P.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R. **Annotated Checklist of Brazilian Mammals**. 2ª ed. Occasional Papers in Conservation Biology, 2012.

FORSYTHE, J. A.; JIANG, B. H.; IYER, N. V.; AGANI, F.; LEUNG, S. W.; KOOS, R. D.; SEMENZA, G. L. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. **Molecular and Cellular Biology**, v. 16, n. 9, p. 4604, 4613, 1993.

FRADE, M. A.; VALVERDE, R. V.; de ASSIS, R. V.; COUTINHO-NETTO, J. FOSS, E. N. T. Chronic phlebopathic cutaneous ulcer: a therapeutic proposal. **International Journal of Dermatology**, v. 40, n. 3, p. 238-40. 2001.

FREDERICH, M.; HAYETTE, M. P.; TITS, M.; DE MOL, P.; ANGENOT, L. In vitro activities of *Strychnos* alkaloids and extracts against *Plasmodium falciparum*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.43, p.2328-331, 1999.

FREIRE, D.B.; BRITO-FILHA, C. R. da.; ZILSE, G. A. C. Efeito dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa* sp.) e copaíba (*Copaifera* sp.) sobre forídeos, pragas de colméias, (Díptera: Phoridae) na Amazônia central. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 3, p. 365-368, 2006.

FREITAS, A. M. de. **Estudo das aberrações cromossômicas em células da medula óssea de pacientes portadores de anemia de Fanconi**. 1997. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p. 178-182, 2005.

FURLAN, M. R. Cultivo de plantas medicinais. 2. ed. Cuiabá: SEBRAE/MT, 1999. 140 p. (Coleção Agroindústria, 13). **Biblioteca(s)**: Embrapa Amazônia Ocidental.

GALDOS-RIVEROS, A.C.; REZENDE, L.C.; PESSOLATO, A.G.T.; MIGLINO, M.A. A relação biológica entre o saco vitelino e o embrião. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 6, n. 11, p. 1-13, 2010.

GALINARO, C. A.; FRANCO, D. W. Formação de carbamato de etila em aguardentes recém-distiladas; proposta para seu controle. **Química Nova**, v.34, n. 6, 2011.

GALVAO, A. L. B. Estresse oxidativo nos estágios finais da doença renal crônica em pequenos animais. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n.3, 2009.

GEMTCHÛJNICOV, I. D. de. **Manual de Taxonomia Vegetal: Plantas de Interesse Econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 368p. 1976.

GIANNIS, A.; RÛBSAM, F. Integrin antagonists and other low molecular weight compounds as inhibitors of angiogenesis: new drugs in cancer therapy. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 36, n. 6, p. 588-590, 1997.

GIL, B. A.; CASTILLO, R. M.; ROQUE, C. G.; FERNÁNDEZ, D. F. Extracto acuoso de *Calendula officinalis*. Estudio preliminar de sus propiedades. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.5, n.1, 2000.

GIULIETTI, A. M.; RAYMOND, M. H.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY M. G. L., van den BERG, C. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n.3, p. 632-639, 2005.

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

GOES, A. C. A. de M.; RODRIGUES, L. V.; de MENEZES, D. B.; do PATROCÍNIO, M. F. G.; CAVALCANTE, A. R. M. S. Análise histológica da cicatrização da anastomose colônica, em ratos, sob ação de enema de Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. all.) a 10%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n.2, p. 144-151, 2005.

GOMES, E. M.; LIMA, C. F. A.; OLIVEIRA, L. L.; MACEDO, A. F.; ANTONIASSI, R.; WILHEN, A.; FELZENSZWALB, I.; CAF, A. Avaliação da mutagenicidade do óleo fixo de *Carapa guianensis* (Meliaceae, Aublet 1982). In: 18º CONGRESSO BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA, 2013, Porto Alegre. Os desafios da toxicologia frente às novas tecnologias. Porto Alegre: UFRGS, 2013.

GONÇALVES, A.L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10ª edição. McGraw-Hill Interamericana do Brasil. Rio de Janeiro. 2003.

GOUVÊA, C. F. **Estudo do desenvolvimento floral em espécies arbóreas da família Meliaceae**. 2005. 134f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GRISOTTO, P. C. **Desenvolvimento de uma nova prótese vascular derivada de látex natural e sua utilização na substituição da artéria femoral de cães**. 2003. 157f. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, 2003.

GRUDZINSKI, M.; CAMBRUZZI, E.; LAHUDE, E.; SAVARIS, R. F.; PEDRINI, J. L.; ZETTLER, C. G. Expressão da COX-2 e CD105 no câncer de mama e sobrevida livre de doença. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 4, 2006.

GURGEL, C.B.F.M. A fitoterapia indígena do Brasil colonial (os primeiros dois séculos). In: ENCONTRO REGIONAL DE HISTÓRIA, 11., 2004. **Anais eletrônicos**. Rio de Janeiro: UFF, 2004. Disponível em: <<http://www.uff.br/ichf/anpuhrio/Anais>>. Acesso em: 24 jun. 2014.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/ Editora da UFSC, Capítulo 1, p.13-26, 2001.

FAKIM, A. G. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1-93, 2006.

GUTERRES, Z. da. R. **Investigação das atividades Mutagênica, Antimutagênica e Antioxidante de extratos etonólicos de *Aoiueatrinervis*, *Nectandracissiflora*, *Ocoteaminarum* (Lauraceae) e dos Alcalóides Triptofol, Ocoteína e Dicentrina**. 2009. 239f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2009.

HAMMER, M. L. A.; JOHNS, E. A. Tapping an Amazon plethora: four medicinal plants of Marajo island, Para (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 40, n. 1, p. 53-75, 1993.

HATANAKA, E.; CURI, R. Fatty acids and wound healing: a review. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 2, p. 53-58, 2007.

HE, Z. H.; HE, M. F.; MA, S. C.; BUT, P. H. J. Anti-angiogenic effects of rhubarb and its anthraquinone derivatives. **Ethnopharmacology**, v. 121, n. 313, 2009.

HEDDLE, J. A. A. Rapid *in vivo* test for chromosome damage. **Mutation Research**, v. 18, p. 187-192, 1973.

HELFAND, W. H.; COWEN, D. L. **Pharmacy – an illustrated history**, Harry N. Abrams, New York, 1990.

HENDERSON, J.W.; DONATELLE, R. J. The relationship between cancer locus of control and complementary and alternative medicine use by women diagnosed with breast cancer. **Psychooncology**, v. 12, n. 1, p. 59-67, 2003.

HICKLIN, D. J.; ELLIS, L. M. Reprinted with permission from the American Society of Clinical Oncology. **Journal Clinical Oncology**, v. 23, p. 1011-1027, 2005.

HIGA, R. A. **Estudo da ação antineoplásica do Ipê roxo na carcinogênese induzida pelo azoximetano em camundongos**. 2007. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

HIRAMATSU, N.; XIUFEN, W.; TAKECHI, R.; ITOH, Y.; MAMO, J.; PAL, S. Antimutagenicity of Japanese traditional herbs, gennoshoko, yomogi, senburi and iwa-tobacco. **Biofactors**, v. 22, p. 123-125, 2004.

HU, B.; ZHANG, H.; MENG, X.; WANG, F.; WANG, P. Aloe-emodin from rhubarb (*Rheum rhabarbarum*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 3, 14, p. 846–853, 2014.

Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia – INPA, nº1, 2003. Andiroba - *Carapa guianensis* Aubl. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/sementes/iT/1_Andiroba.pdf>. Acesso em: 21 Abr 2014.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE. Sistema Detecção de Desmatamento em Tempo Real. Alertas do DETER somam 1.264 km² em bimestre. Disponível em: <http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=3693>. Acesso em: 12 Set. 2014.

_____. Mapeamento da Degradação Florestal na Amazônia Brasileira – DEGRAD. Resultados de 2007 a 2013. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/degrad/>>. Acesso em: 12 Set. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. 2004. Mapa de Biomas do Brasil, primeira aproximação. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 23 Jun 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA – INCA. Beleza Terapêutica: A valorização da autoestima como auxiliar no tratamento do câncer. Revista Rede Câncer, abril de 2013.

_____. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 118 p., 2011.

JACQUES, E. N.; CHRISTENSEN, J.; MOONEY, D. J.; POLVERINI, P. J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. **The American Journal of Pathology**, v. 154, n. 2, p. 375-384, 1999.

JAIN, R. K.; MUNN, L. L.; FUKUMURA, D. Dissecting tumour pathophysiology using intravital microscopy. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 4, p. 266-276, 2002.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 8° ed. São Paulo: Editora Nacional. 777p, 1987.

JORGE, M. P. **Atividade cicatrizante de microencapsulados de extrato bruto etanólico de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot**. 2013. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, 2013.

KARAMYSHEVA, A. F. Mechanisms of Angiogenesis. **Biochemistry**, v. 73, n. 7, p. 751-762, 2008.

KENDALL, A. C.; NICOLAOU, A. Bioactive lipid mediators in skin inflammation and immunity. **Progress in Lipid Research**, v. 52, p. 141-164, 2013.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; da SILVA, A. C.; de ASSIS, M. da G. P. **Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica** In: Biodiversidade, Pesquisa e Desenvolvimento na Amazônia, Parcerias Estratégicas, Ministério da Ciência e Tecnologia, 12: 20-41, 2001.

KHAN, T. H.; PRASAD, L.; SULTANA, A.; SULTANA, S. Soy isoflavones inhibits the genotoxicity of benzo(a)pyrene in Swiss albino mice. **Human & Experimental Toxicology**, v. 24, p. 149-155, 2005.

KIRANDEEP, K.; MEENAKSHI, J.; TARANDEEP, K.; JAIN, R. Antimalarials from nature. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 3229–3256, 2009.

KIRKIN, V.; MAZITSCHKEK, R.; KRISHNAN, J.; STEFFEN, J.; WALTENBERGER, J.; PEPPER, M. S.; GIANNIS, A.; SLEEMAN, J. P. Characterization of indolinones which preferentially inhibit VEGF-C- and VEGF-D-induced activation of VEGFR-3 rather than VEGFR-2. **European Journal of Biochemistry**, v. 268, n. 21, p. 5530–5540, 2001.

KNAPP, L. Fitoterapia abre novos campos de pesquisa. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, n. 22170, p. 6, 2001.

KNASMÜLLER, S.; STEINKELLNER, H.; MAJER, B. J.; NOBIS, E. C.; SCHARF, G.; KASSIE, F. Search for dietary antimutagens and anticarcinogens: Methodological aspects and extrapolation problems. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p. 1051-1062, 2002.

KRITCHEVSKY, D. Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. **The British Journal of Nutrition**, v. 83, n. 5, p. 459-465, 2000.

KÜLKAMP, I. C.; BURIN, G. D.; de SOUZA, M. H, M.; da SILVA, P.; PIOVEZAN, A. P. Aceitação de práticas não-convencionais em saúde por estudantes de medicina da Universidade do Sul de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 31, n. 3, 2007.

KUMAZAWA, S.; HUBOTA, S.; YAMAMOTO, H.; OKAMURA, N.; SUGIYAMAB, Y.; KOBAYASHIA, H.; NAKANISHI, M.; OHTA, T. Antiangiogenic activity of flavonoids from *Melia azedarach*. **Natural Product Communications**, v.8, n.12, p.1719-1720, 2013.

KUMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498-512, 2002.

KURZS, J.; WILTING, B.; CHRIST, K. **Multivariate characterization of the blood vessel morphogenesis in the avian chorioallantoic membrane (CAM):** cell proliferation, length, density and fractal dimension. In: T.F. Nonnenmacher, G.A. Losa, E.R. Weibel, *Fractals in biology and medicine*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1994.132-140p.

LAVAUD, A.; RICHOMME, P.; LITAUDON, M.; ANDRIANTSITOHAINA, R.; GUILLET, D. Antiangiogenic tocotrienol derivatives from *Garcinia amplexicaulis*. **Journal of Natural Products**, v.76, n.12, p.2246-52, 2013.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum*) and thyme leaves (*Thymes vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LEITE, A. M. C. **Ecologia de *Carapa guianensis* aublet (MELIACEAE):** “Andiroba”. Belém: EMBRAPA, 1997.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. Chemopreventive activity of turmeric essential oil and possible mechanisms of action. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 15, n. 16, p. 6575-80, 2014.

LIMA, G. S. **Estudo da atividade tripanossomicida e leishmanicida de extrato, frações e terpenos de *Croton cajuara* Benth.** 2014. 76 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em agropecuária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

LOPEZ, F. A.; MONDRAGÓN, L. del V.; HERNANDEZ, G. P. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: Pueden ser una alternativa terapéutica?. **Archivos de Cardiología do México**, v. 76, n. 4, 2006.

LOQUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; de VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H. 1992. **Árvores brasileiras:** Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo. Edt. Plantarum, 368p.

MACGREGOR, J. T. et al. Guidehnes for the conduct of micronucleus assays im mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research**, v. 189, p. 103-112, 1987.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; MARTINS, J. R.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, 2002.

MACKINNON, S.; DURST, T.; ARNASON, J., T. Antimalarial Activity of Tropical Meliaceae Extracts and Gedunin Derivatives. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 336-341, 1997.

MAGDALON, J. **Efeitos dos tratamentos com os ácidos oleico ou linoleico *in vitro* e *in vivo* sobre a produção de mediadores inflamatórios por macrófagos.** 2011. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, SP, 2011.

MALIK, A.; AFAG, F.; SAFARAZ, S.; ADHAMI, V. M.; SVED, D. N.; MUKHTAR, H. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. **PNAS**, v. 102 n. 41, p.14813–14818, 2005.

MALIK, A.; MEYHOFER-MALIK, A.; BERG, C. H.; BOHM, W.; KANZI-RAPP, K.; DIEDRICH, K.; RUCK, A. Fluorescence diagnosis of endometriosis on the chorioallantoic membrane using 5-aminolaevulinic acid. **Human Reproduction**, v.15, n .3, p. 584-588, 2000.

MANSUR, P. H.; CURY, L. K. P.; DESTRO-FILHO, J. B.; RESENDE, E. S.; DESTRO, J. P. B. Análise de registros eletrocardiográficos associados ao infarto agudo do miocárdio. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 2, 2006.

MARCHIORI, P. M.; FREITAS, P. R.; KALIL, I. C.; BRASIL, G. A.; RONCHI, S. N. Efeitos quimiopreventivo e antimutagênico *in vivo* do extrato hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L. **Revista Cubana de plantas medicinales**, v. 18, n.3, p.381-390, 2013.

MARGULIS, S. Quem são os agentes dos desmatamentos na Amazônia e por que eles desmatam. Paper conceitual. Brasília: Banco Mundial (2000). Disponível em: <<http://www.amazonia.org.br/arquivos/13213.pdf>>. Acesso em: 18 Jun 2014.

MARINI, M. A.; GARCIA, F. I. Conservação de aves no Brasil. **Mega diversidade**, v.1, n. 1, p. 95-102, 2005.

MARQUES, R. C. P.; MEDEIROS, S. R. B.; DIAS, C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGNEZ-LIMA, L. F. Evaluation of the mutagenic potential of yangabin and of the hydroalcoholic extract of *Ocotea duckei* by the Ames test. **Mutation Research**, v. 536, n. 1-2, p. 117-20, 2003.

MARQUES, S.R.; PEIXOTO, C. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; SILVA – JR, V. A. The effects of topical application of sunflower-seed oil on open wound in lambs. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 3, p. 91-103, 2004.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil.** Centro Nacional de Conservação da Flora (2013). Disponível em: <<http://cncflora.jbrj.gov.br/LivroVermelho.pdf>>. Acesso em: 12 Jun 2014.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v.17, p.271-278, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. **Plantas medicinais.** Viçosa, MG: UFV, 2003. 220 p.

MATOS, A. P.; NEBO, L.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; da SILVA, M. F. das G. F. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. Catigua* (Meliaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1553-1556, 2009.

MATOS, L.G.; SANTOS, L. D. A. R.; VILELA, C. F.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. Atividades analgésica e/ou anti-inflamatória da fração aquosa do extrato etanólico das folhas da *Spiranthera odoratissima* A. St. Hillaire (manacá). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 15-16, 2003.

MAY, A. E.; SEIZER, P.; GAWAZ, M. Platelets: Inflammatory Firebugs of vascular walls. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.28, p.5-10, 2008.

MAY, C. L.; CALDER, P. C. Unsaturated fatty acids inhibit lymphocyte protein kinase C activity. **Biochemical Society Transactions**, v. 21, n. 4, 1993.

MEI, N.; GUO, L.; FU, P. P.; HEFLICH, R. H.; CHEN, T. Mutagenicity of comfrey (*Symphytum officinale*) in rat liver. **British Journal of Cancer**, v.92, p. 873-5, 2005.

MELO-REIS, P. R.; ANDRADE, L. S.; SILVA, C. B.; ARAÚJO, L. M. M.; PEREIRA, M. S.; MRUE, F.; CHEN-CHEN, L.. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax látex. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 1, p. 189-194, 2010.

MELO-REIS, P.R.; BEZERRA, L.S.A.; VALE, M.M.A.; CANHÊTE, R.F.R.; CHEN-CHEN, L. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica do látex de *Synadenium umbellatum* Pax pelo teste do micronúcleo em camundongos. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, 2011.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba - *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19 n. 2b, 2009.

MENDONÇA, R. J. **Caracterização biológica de uma fração angiogênica do látex natural da seringueira – *Hevea brasiliensis***. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

MENDONÇA, R.J. de. **Purificação e caracterização de uma proteína angiogênica, indutora de fibroplasia e cicatrizante presente no Látex Natural da Seringueira *Hevea brasiliensis***. 2008. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

MIOT, H. A.; BATISTELLA, R. F.; BATISTA, K. de A.; VOLPATO, D. E. C. ; AUGUSTO, L. S. T.; MADEIRA, N. G.; HADDAD – JR, V.; MIOT, L. D. B. Estudo comparativo da eficácia tópica do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) e DEET 50% como repelente para *Aedes* sp. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 5, 2004.

MIRANDA-JR, R. N. C. **Avaliação da atividade antiplasmódica *in vitro* dos óleos de Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e Pimenta-de-macaco (*Piper aduncum***

L). 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

MIRANDA, M. V.; METZNER, B. S. *Paullinia cupana*: revisão da matéria médica. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 1-2, p. 1-17, 2010.

Ministério do Meio Ambiente – MMA. Amazônia. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/amaz%C3%B4nia>>. Acesso em: 6 Maio 2014.

MOHAMAD, K.; HIRASAWA, Y.; LITAUDON, M.; AWANG, K.; HADI, H. A.; TAKEYA, K.; EKASARI, W.; WIDYAWARUYANTI, A.; ZAINI, N, C.; MORITA, H. Ceramicines B–D, new antiplasmodial limonoids from *Chisocheton ceramicus*. **Bioorganic & Medicinal Chemical**, v. 17, p. 727–730, 2009.

MOHAN, N.; MELTZ, M. L. Induction of nuclear factor after low dose ionizing radiation involves a reactive oxygen intermediate signaling pathway. **Radiation Research**, v. 140, n. 1, p. 97-104, 1994.

MONTRUCCHIO, D. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; MONACHE, F. D.; CARVALHO, J. L. S. Componentes químicos e atividade antimicrobiana de *Ptychopetalum olacoides* Benth. **Visão acadêmica**, v.6, n.2, 2005.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MOREIRA, L. M. de A.; ARAÚJO, L. M. P.; CORDEIRO, A. P. B.; GUSMÃO, F. A. F. Teste de linfócitos humanos no reconhecimento do efeito clastogênico e citotóxico da 5-fluorouracil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 3, n. 1, p. 5-12, 2004.

MRUÉ, F. **Neoformação tecidual induzida por biomembrana de látex natural com polilisina. Aplicabilidade em neoformação esofágica e da parede abdominal. Estudo experimental em cães.** 2000. 112f. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

MRUÉ, F.; NETTO, J. C.; CENEVIVA, R.; LACHAT, J. J.; THOMAZINI, J. A.; TAMBELINI, H. Evaluation of the biocompatibility of a new biomembrane. **Materials research**, v. 7, n.2, p.277-283, 2004.

MUELLNER A. N. R; SAMUEL, R; JOHNSON, S, A.; CHEEK, M; PENNINGTON, T, D. Molecular phylogenetics of Meliaceae based on nuclear and plastid DNA sequences. **American Journal of Botany**, v. 90, p. 471-480, 2003.

NABAS, F.; CONTESINI, F. J.; MENIN, S. E. A.; ANTÔNIO, M. A.; BIGHETTI, A. E.; ARAÚJO, C. E. P. Efeito antiedematogênico de óleos contendo ácidos graxos ômega-3 e 6 em camundongos. **RBM Revista Brasileira de Medicinal**, v. 66, n. 4, p. 92-96, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v. 1054, n. 1/2, p. 95-111, 2004.

NAGY J. A.; BENJAMIN, L.; ZENG, H.; DVORAL, A. M.; DVORAK, H. F. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. **Angiogenesis**, v. 11, n. 2, p. 109-119, 2008.

NAKAGIMA, N.; HIRADATE, S.; FUJI, Y. Plant growth inhibitory activity of L-canavanine and its mode of action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 1, 2001.

NAKASUGI, T.; KOMAI, J. Antimutagens in the Brazilian Folk Medicinal Plant Carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n. 2560, 1998.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA-JR, A. M.; TRNDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NEDAEINIA, R.; AVAN, A.; MANIAN, M.; SALEHI, R.; CHAYOUR, M.M. EGFR as a potential target for the treatment of pancreatic cancer: dilemma and controversies. **Current Drug Targets**, v. 15, n. 14, 2014.

NEGI, A. S.; DAROKAR, M. P.; CHATTOPADHYAY, S. K.; GARG, A.; BHATTACHARYA, A. K.; SRIVASTAVA, V.; KHANUJA, S. P. S. Synthesis of a novel plant growth promoter from gallic acid. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 1243-1247, 2005.

NEMEN, D.; SENNA, E. L. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. **Química Nova**, v. 34, n. 3, 2011.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p.1022-37, 2003.

OLIVEIRA, A.F.; BATISTA, J.S.; PAIVA, E.S.; SILVA, A.E.; FARIAS, Y.J.M.D.; DAMASCENO, C.A.R.; BRITO, P.D.; QUEIROZ, S.A.C.; RODRIGUES, C.M.F.; FREITAS, C.I.A. Avaliação da atividade cicatrizante do jucá (*Caesalpinia férrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*) em lesões cutâneas de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.3, p.302-310, 2010.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, 2011.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: Uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 976-984, 2002.

OMS – Organização Mundial da Saúde. **Tradicional Medicines Strategy: 2002-2005**, Geneva, 2002.

ORELANNA, B. J. P.; KOBAYASHI, E. DE S.; LOURENÇO, G. DE M. Terapia alternativa através do uso da andiroba. **Lato & Sensu**, v. 5, n. 1, p. 136-141, 2004.

PACHECO, T.A.R.C.; BARATA, L. E. S.; DUARTE, M. C. T. Antimicrobial activity of copaíba (*Copaifera* spp) balsams. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, p.123-4, 2006.

PARENTE, A. M. L. P. **Contributo para o estudo da angiogênese em tumores mamários caninos: influência do fator de crescimento vascular do endotélio e da Ciclooxigenase 2**. Dissertação (Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial) – Universidade de Trás - os – Montes e Alto Douro, 2012.

PARENTE, L. M. L. **Atividades angiogênica, antiinflamatória, cicatrizante e antibacteriana do extrato etanólico e frações das flores da *Calendula officinalis* L. cultivadas no brasil**. 2008. 72f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

PARSONS-WINGERTER, P.; ELLIOTT, K. E.; CLARK, J. I.; ANDREW, G.; FARR, A. G. Fibroblast growth factor-2 selectively stimulates angiogenesis of small vessels in arterial tree. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 20, p. 1250-1256, 2000.

PARSONS-WINGERTER, P.; LWAI, B.; YANG, M .C.; ELLIOTT, K. E.; MILANINIA, A.; REDLITZ, A.; CLARK, J. I.; SAGE, E. H. A novel assay of angiogenesis in the quail chorioallantoic membrane: stimulation by bFGF and inhibition by angiostatin according to fractal dimension and grid intersection. **Microvascular Research**, v. 55, n. 3, p. 201-214, 1998.

PENNAFORTE, R.J. **Estudo da atividade antiinflamatória de duas espécies de plantas amazônicas**. 2003. 70 f. Dissertação de Mestrado - Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003.

PENNINGTON, T.D.; STULES, B.T.; TAYLOR, D.A.H. **Meliaceae**. Flora Neotropica, v. 28, p. 406-419, 1981.

PEPPER, M. S.; TILLE, J. C.; NISATO, R. Lymphangiogenesis and tumor metastasis. **Cell Tissue Research**, v. 314, p. 167-177, 2003.

PEREIRA, T. B.; ROCHA e SILVA, L. F.; AMORIN, R. C.; MELO, M. R.; ZACARDI, R. C. de S.; EBERLIN, M. N.; LIMA, E. S. In vitro and in vivo anti-malarial activity of limonoids isolated from the residual seed biomass from *Carapa guianensis* (andiroba) oil production. **Malaria Journal**, v. 13, n. 317, 2014.

PEREIRA, C. A. B. 1992. Plantas tóxicas e Introdução na veterinária. Editora UFG-Go.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PERES, C. A. Porque precisamos de mega reservas na Amazônia. **Mega diversidade**, v.1, n. 1, p. 174-180, 2005.

PERES, Lázaro E. P. In: *Metabolismo secundário*. São Paulo: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2004.

PESSOA, W. S.; ESTEVÃO, L. R. de M.; SIMÕES, R. S.; de BARROS, M. E. G.; MENDONÇA, R. de S. Effects of angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.27, n.10, 2012.

PIERI, F.A. **Efeito (in vitro/ in vivo) do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães (*Canis lupus Familiaris*)**. 2007. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, 2007.

Projeto de Monitoramento do Desmatamento dos Biomas Brasileiros por Satélite – PMDBBS. 2001. Disponível em: <<http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/amazonia/Amazonia.htm>>. Acesso em 12 Set 2014.

POURGHOLAMI, M. H.; MORRIS, D. L. Inhibitors of vascular endothelial growth factor in cancer. **Cardiovascular & Hematological Agents Medicinal Chemistry**, v.6, p.343-347, 2008.

PRICE, D. J.; MIRALEM, T.; JIANG, S.; STEINBERG, R.; AVRAHAM, H. Role of vascular endothelial growth factor in the stimulation of cellular invasion and signaling of breast cancer cells. **Cell growth & differentiation**, v. 12, p. 129-135, 2001.

PU, L. P.; CHEN, H. P.; CAO, M. A.; ZHANG, X. L.; GAO, Q. X.; YAN, C. S.; WANG, C. M. The antiangiogenic activity of Kushecarpin D, a novel flavonoid isolated from *Sophora flavescens* Ait. **Life Sciences**, n. 93, v. 21, p. 791-797, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, 2006.

RAMOS, M.F.S. **Desenvolvimento de microcápsulas contendo a fração volátil de copaíba por spray-drying: estudo de estabilidade e avaliação farmacológica**. 2006. 132f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

REGE, T. A.; FEARS, C. Y.; GLADSON, C. L. Endogenous inhibitors of angiogenesis in malignant gliomas: nature's antiangiogenic therapy. **Neuro-oncology**, v. 7, n. 2, p. 106-121, 2005.

RESENDE, F. A.; ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; SENEDESE, J. M.; SOUSA, J. P.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by *Baccharis dracunculifolia*. **Mutation Research**, v. 634, p. 112-118, 2007.

REUTERS. Brasil terá primeiro banco de dados de plantas medicinais. Folha Online, Brasil, 2002. Disponível em: <<http://www.uol.com.br/folha/reuters/ult112u12329.shl>>. Acesso em: 08 maio 2014.

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista Escola de Enfermagem**, v. 36, n. 3, p.282-288, 2002.

RIBATTI, D.; NICO, B.; VACCA, A.; RONCALI, L.; BURRI, P. H.; DJONOV, V. Chorioallantoic membrane capillary bed: a useful target for studying angiogenesis and anti-angiogenesis in vivo. **The Anatomical record**, v. 264, n. 4, p. 317-324, 2001.

RIBATTI, R.; VACCA, A.; RONCALI, L.; DAMMACCO, F. The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for *in vivo* Research on angiogenesis. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 40, p. 1189-1197, 1996.

RIBEIRO, J. C. **Avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico da polpa de açaí. (*Euterpe oleracea* Mart) e do óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) in vivo.** 2008. 120f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeiro Preto, SP, 2010.

RIBEIRO, A. Q.; LEITE, J. P. V.; DANTAS – BARROS, A. M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 65-70, 2005.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores in vivo. **Mutagênese Ambiental**. Ed. ULBRA. Canoas, 2003.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Editora Ulbra. Canoas: 1ª edição, 2003.

RIET-CORREA F.; MEDEIROS R.M.T.; SCHILD, A. L. A review of poisonous plants that cause reproductive failure and malformations in the ruminants of Brazil. **Journal of Applied Toxicology**, v. 32, p. 245-254, 2011.

RIGAMONTE - AZEVEDO, O.C.; WADT, P. G. S.; WADT, L. H. de O. **Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina.** Rio Branco: EMBRAPA, MAPA, 2004. 28p.

RIGOTTI, M.; HIGUTI, A. **Metabolismo Secundário.** Farmacobotânica. Disponível em: <<http://farmacobotanica.xpg.uol.com.br/aula6.html>>. Acesso em: 28 Abr 2014.

RIPPEL, M. M. **Caracterização microestrutural de filmes e partículas de látex de borracha natural.** 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química - UNICAMP, Campinas, 2005.

RODRIGUES, H.G. **Modulação do processo de cicatrização pelos ácidos oleico e linoleico**. 2011. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, SP, 2011.

RODRIGUES, M. T. Conservação dos répteis brasileiros: Os desafios para um país megadiverso. **Mega diversidade**, v.1, n. 1, p. 87-94, 2005.

ROY, A.; SARAF, F. Limonoids: Overview of Significant Bioactive Triterpenes Distributed in Plants Kingdom. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n.2, p. 191-201. 2006.

SAFATLE, A. M. V.; BARROS, P. S. M.; MALUCELLI, B. E.; GUERRA, J. L. Implante de duas membranas biológicas em microbolsa corneana como modelo experimental de angiogênese. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 189-195, 2002.

SAMPAIO, P. de T. B. Andiroba (*Carapa guianensis*). In: CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. de T. B.; CLEMENT, C. R. Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de 87 utilização. Manaus: **Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico**, p. 243-251. 2000.

SANTOS, C. D.; TIJERAS, R. A.; SEROYA, M.; SEBBAGH, S.; SLIMANE, K.; FAIVRE, S.; de GRAMONT, A.; RAYMOND, E. Effects of preset sequential administrations of sunitinib and everolimus on tumour differentiation in Caki-1 renal cell carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 11, n. 111, 2014.

SANTOS, M.G.; CARVALHO, C. E. M.; KELECOM, A.; RIBEIRO, M. L. R. da C.; de FREITAS, C. V. C.; da COSTA, L. M.; FERNANDES, L. V. de G. Cianogênese em esporófitos de pteridófitas avaliada pelo teste do ácido pícrico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, 2005.

SARTORI, L.R.; FERREIRA, M.S.; PERAZZO, F.F.; MANDALHO LIMA, L.; CARVALHO, J.C.T. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 17-19, 2003.

SASAKI, Y.F., SAKAGUCHI, M., YAMAGISHI, T., YAMADA, H., SHIRASU, Y. Bio-anticlastogenic effects of unsaturated fatty acids included in fish oil - docosahexaenoic acid, docosapentaenoic acid, and eicosapentaenoic acid – in cultured Chinese hamster cells. **Mutation Research**, v. 320, n.1/2, p. 9-22, 1994.

SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v.31, p. 9-15, 1975.

SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVA, E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, p. 45-49, 2001.

SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. São Paulo, Sarvier. 1992.

SHANLEY, P.; CYMERYS, M.; GALVÃO, J. **Frutíferas da mata na vida amazônica**. Belém: INPA, 1998, 127 p.

SILVA, F.H.; OLIVEIRA, M. F. A.; BRAGA, M.; YOUNG, C. M.; BOLZANI, V. da S.; LOPES, E. M. C.; TORES, L. M. B. Estudo do óleo essencial e extrato hidrometanólico de *Copaifera langsdorffii* Desf (Caesalpinaceae) do cerrado e mata atlântica. In: 29º REUNIÃO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2006. Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos**. São Paulo: Instituto de Química da USP, 2006. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/29ra>>. Acesso em: 24 jun. 2014.

SILVA, J. C. da, SILVA, S. da C. **Avaliação do possível efeito genotóxico do Gergelim (*Sesamum indicum* L.) através do Teste de Micronúcleos, em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar)**. Trabalho de Monografia. 2003. Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande (PB): 2003.

SILVA, M. A.; RAFACHO, B. P.; HIRUMA-LIMA, C. A.; ROCHA, L. R. M.; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W. Evaluation for *Strychnos pseudoquina* St. Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, p. 881-5, 2005.

SILVA, V. P; OLIVEIRA, R. R; FIGUEIREDO, M. R. Isolation of limonoids from seeds of *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) by high-speed countercurrent chromatography. **Phytochemical Analysis**, v.20, n. 1, p. 77-81. 2009.

SILVANO, D. L.; SEGALLA, M. V. Conservação de anfíbios no Brasil. **Mega diversidade**, v.1, n. 1, p. 79-86, 2005.

SILVEIRA, P. F. da.; BANDEIRA, M. A. M. ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, 2008.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. **Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis**. In: HO, C. T.; OSAWA, T.; HUANG, T. M.; ROSEN, R. T. Food Phytochemicals for Cancer Prevention: Washington, 1994, p. 20.

SIPPEL, C.; LEHMANN, M.; REGULY, M. L.; de ANDRADE, H. H. R. O ácido tânico e sua relação com a anti ou co-genotoxicidade: dependência da sequência de administração e do metabolismo da genotoxina. In: X SCIENTIFIC INITIATION MEETING , Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.

SLYSKOVA, J.; LORENZO, Y.; KARLSEN, A.; CARLSEN, M. H.; NOVOSADOVA, V.; BLOMHOFF, R.; VODICKA, P.; COLLINS, A. R. Both genetic and dietary factors underlie individual differences in DNA damage levels and DNA repair capacity. **DNA repair**, v. 16, p. 66-73, 2014.

SOARES, A. M. dos S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n. 1, p. 9, 2007.

SOARES, S. C.; CURSI, I. B.; ANDRADE, F. F.; CAMPOS, E. M.; CARVALHO, M. T. F.; COUTINHO-NETTO, J.; FOOS, N. T.; FRADE, M. A. Úlcera de perna: Tratamento e cicatrização. **Revista de Medicina do Hospital Universitário de Juiz de Fora**, v. 30, n. 2-3, p. 16-19. 2004.

SOLDATI, L.; LOMBARDI, C.; ADAMO, D.; TERRANEGRA, A.; BIANCHIN, C.; BIANCHI, G.; VEZZOLI, G. Arachidonic acid increases intracellular calcium in erythrocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 293, n. 3, p. 974-978, 2002.

SOUSA, T. C. de.; MAIA-FILHO, A. L. M.; de ARAÚJO, K. S.; LOPES, L. da S.; SILVA, H. R.; RODRIGUES, J. S.; da COSTA, C. L. S. Anti-inflammatory Effect of Pequi Oil (*Caryocar brasiliense*) in Acute Respiratory Distress Syndrome. **Journal of Medical Biomedical & Applied Science**, v. 1, n. 1, 2014.

SOUZA, F. S.; MACIEL, C. da. C. S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **VEREDAS FAVIP - Revista Eletrônica de Ciências**, v. 3, n. 2, 2010.

SOUZA, T. J. T.; APEL, M. A.; BORDIGNON, S.; MATZENBACHER N. I.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.368-372, 2007.

SPADACIO, C.; BARROS, N. F. Uso de medicinas alternativas e complementares por pacientes com câncer: revisão sistemática. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n.1, 2008.

STAHL, A.; CONNOR, K. M.; SAPIEHA, P.; WILLET, K. L.; KRAH, N. M.; DENNISON, R. J.; CHEN, J.; GUERIN, K. I.; SMITH, L. E. H. Computer-aided quantification of retinal neovascularization. **Angiogenesis**, v. 12, n. 3, p. 297-301, 2009.

STRIZZI, L.; CATALANO, A.; VIANALE, G.; ORECCHIA, S.; CASALINI, A.; TASSI, G.; PUNTONI, R.; MUTTI, L.; PROCOPPIO, A. **The Journal of Pathology**, v. 193, p. 468-475, 2001.

SULTANA, B.; ANWAR, F.; MUSHTAG, M.; ASLAM, M.; IJAZ, S. In vitro antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum* L.) seed extracts. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciencies**, v. 27, n. 4, p. 893-899, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3º ed. Porto Alegre, Artmed. 2004.

TRUEBA, G. P.; SÁNCHEZ, G. M.; GIULIANI, A. Oxygen free radical and antioxidant defense mechanism in câncer. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, p. 2029-2044, 2004.

VALIATTI, F. B.; CRISPIM, D.; BENFICA, C.; VALIATTI, B. B.; KRAMER, C. K.; CANANI, L. H. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis and diabetic retinopathy. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.55, n.2, p.106-113, 2011.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; FRANCO, M. V. M. J.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO-JR, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina** (Ribeirão Preto. Online), v. 31, n. 1, 1998.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n.1, p.1-7, 2006.

VARGAS, F. S.; OLIVEIRA, C. F.; GIRO, E. M. A.; SACRAMENO, L. V. S.; SPOLIDORIO, D. M. P.; COSTA, C. A. S. Efeito antimicrobiano e citotóxico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* sobre células odontoblastóides. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 19, n. 49, p. 101-107, 2010.

VARGAS, A.; ZEISSER, L. M.; LANGE, N.; GURNY, R.; DELIE, F. The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the *in vivo* evaluation of drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.59, p.1162-1176, 2007.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O Gênero *Copaifera* L. **Química nova**, v. 25, n. 2, p. 273-86, 2002.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VEIGA-JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 18, v. 2, p. 308-313, 2008.

VERWEIJ, J.; PINEDO, H. B. "Mitomycin C: mechanism of action, usefulness and limitations". **Anti-Cancer Drugs**, v. 1, p. 5-13, 1990.

VESENTINI, J.W. Geografia, Ed. Afiliada, São Paulo, 2007.

VIEGAS – JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, 390-400, 2003.

VIEIRA, I. C. G.; da SILVA, J. M. C.; de TOLETO, P. M. Estratégias para evitar a perda de biodiversidade na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n. 54, 2005.

VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Mutagenic activity promoted by amentoflavone and methanolic extract of *Byrsonima crassa* Niedenzu. **Toxicology**, v. 225, p. 55-63, 2006.

VINARDELL, M. P.; MITJANS, M. The chorioallantoic membrane test as a model to predict the potential human eye irritation induced by commonly used laboratory solvents. **Toxicology in Vitro**, v. 20, n. 6, p. 1066-1070, 2006.

VINOD, V.; TIWARI, P. K.; MESHARAM, G. P. Evaluation of mutagenic and antimutagenic activities of neem (*Azadirachta indica*) seed oil in the *in vitro* Ames *Salmonella*/microsome assay and *in vivo* mouse bone marrow micronucleus test. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, p. 931-937, 2011.

VIRREY, J. J.; DONG, D.; STILES, C.; PATTERSON, J. B.; PEN, L.; NI, M.; SCHONTHAL, A. H.; CHEN, T. C.; HOFMAN, F. M.; LEE, A. S. Stress Chaperone GRP78/BiP Confers Chemoresistance to Tumor-Associated Endothelial Cells. **Molecular Cancer Research**, v. 6, n. 8, p. 1268- 1275, 2008.

VON-MARSCHALL, Z.; CRAMER, T.; HOCKER, M.; BURDE, R.; PLATH, T.; SCHIRNER, M.; HEIDENREICH, R.; BREIER, G.; RIECKEN, E. O.; WIEDENMANN, B.; ROSEWICZ, S. De novo expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer: evidence for an autocrine mitogenic loop. **Gastroenterology**, v. 119, p. 1358-1372, 2000.

WALLAU, A. D.; LEORATTI, M. C. V.; CAMPOS, M. Mitomicina C e "Excimer laser". **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 6, 2005.

WIEDENFELD, H.; EDGAR, J. Toxicity of pirrolizidine alkaloids to humans and ruminants. **Phytochemistry Review**, v. 10, p. 137-151, 2011.

WILTING, J.; CHRIST, B.; BOKELOH, M. A modified chorioallantoic membrane (CAM) assay for qualitative and quantitative study of growth factors. Studies on the effects of carriers, PBS, angiogenin, and bFGF. **Anatomy and Embryology**, v. 183, n. 3, p. 259-71, 1991.

WOLFFENBÜTTE, A. N. Óleos Essenciais. **Informativo CRQ-V**, v. 11, n. 10, p. 6-7, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Promoting Rational Use of Medicines: Core Components - WHO Policy Perspectives on Medicines, n. 005, 2002. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh3011e/>>. pdf. Acesso em: 22 abr. 2014.

XAVIER-FILHO. **Sementes e suas defesas contra insetos**. Projeto Multinacional de Biotecnologia e Alimentos. Organizações dos Estados Americanos, p. 1-3, 1993.

XU, X.; FU, C. Mechanism exploration and future prospects of antiangiogenic agents improving tumor blood supply and oxygenation. **Chinese Journal of gastrointestinal surgery**, v. 17, n.11, p. 1148-1150, 2014.

YAMADA, T. Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo manejo da cultura?. **POTAFOS – Informações Agronômicas**, n. 108, 2004.

ZANANDREA, I.; JULIANO D. S.; ANDRÉA, B. M.; JULIANE, L.; Veridiana K. B. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimentos micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 01, p. 14-16, 2004.

ZARUBIN, T.; HAN, J. Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. **Cell Research**, v. 15, p. 11–18, 2005.

ZHANG, Y.; WUA, X.; REN, Y.; FU, J. Safety evaluation of a triterpenoid-rich extract from bamboo shavings. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 42, p. 1867–75, 2004.

ZHAO, J. Q.; WANG, Y. M.; ZHU, H. T.; LI, S. H.; CHENG, R. R.; YANG, C. R.; XU, M.; ZHANG, Y. J. Highly oxygenated limonoids and lignans from *Phyllanthus flexuosus*. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 4, n. 4, p. 233-242, 2014.

ZHOU, H. J.; WANG, W. O.; WU, G. D.; LEE, J.; LI, A. Artesunate inhibits angiogenesis and downregulates vascular endothelial growth factor expression in chronic myeloid leukemia K562 cells. **Vascular Pharmacology**, v.47, n. 131, 2007.

ZIBOH, V. A.; MILLER, C. C.; CHO, Y. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of antiinflammatory and antiproliferative metabolites. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 361-366, 2000.

ZIHLIF, M.; AFIFI, F.; ABU-DAHAB, R.; ABDUL, A. M. M.; SOMRAIN, H.; SALEH, M. M.; NASSAR, Z. D.; NAFFA, R. The antiangiogenic activities of ethanolic crude extracts of four *Salvia* species. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 358, 2013.

ANEXO A – Ata Complementar



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 97/2014

MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: SUSY RICARDO LEMES

DEFENDIDA EM 19 DE DEZEMBRO DE 2014 E APROVADA COM CONCEITO.....A

O título foi alterado () não () sim _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis
(presidente-orientador)

Prof. Dr. Nelson Jorge da Silva Junior / PUC Goiás
(membro interno)

Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres / UEG
(membro externo)