



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

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANGIOGÊNICA/ANTIANGIOGÊNICA
E MUTAGÊNICA/ANTIMUTAGÊNICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DA *Lantana camara* (Cambará)**

Goiânia

©2017

ALINE CARNEIRO GOMES FIGUEIRA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANGIOGÊNICA/ANTIANGIOGÊNICA
E MUTAGÊNICA/ANTIMUTAGÊNICA DO ÓLEO
ESSENCIAL DA *Lantana camara* (Cambará)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado em Genética – MGene da Pontifícia Universidade Católica, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre(a) em Genética.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

Goiânia

©2017

F475a Figueira, Aline Carneiro Gomes
Avaliação das atividades angiogênica/antiangiogênica
e mutagênica/antimutagênica do óleo essencial da *Lantana
camara* (Cambará) [manuscrito]/ Aline Carneiro Gomes
Figueira.--2017.
85 f.; il. 30 cm

Texto em português com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto
Sensu em Genética, Goiânia, 2017
Inclui referências f. 64-80

1. Genética vegetal. 2. Plantas medicinais. 3. Lantana.
4. Essencias e óleos essenciais. 5. Mutagenica x teste.
6. Medicina popular. I.Reis, Paulo Pereira dos. II.Pontifícia
Universidade Católica de Goiás. III. Título.

CDU: 615.89(043)



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 130/2017

MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: ALINE CARNEIRO GOMES FIGUEIRA

DEFENDIDA EM 13 DE MARÇO DE 2017 E Aprovada COM CONCEITO.....A

O título foi alterado (X) não () sim _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Roberto de Melo Reis

PUC Goiás (Presidente)

Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva

PUC Goiás

Prof. Dra. Luciane Madureira de Almeida

Membro externo (UEG)

Dedico este trabalho a Deus, à minha mãe, e ao meu professor orientador.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço a Deus, por estar sempre presente em todos os momentos de minha vida, sempre me guiando e me protegendo. Ele que sempre me amou, e por várias vezes me carregou no seu colo me cobrindo com teu manto.

À minha mãe, **Maria Dulcinea Carneiro**, pelo seu amor incondicional de mãe, pelas várias vezes que me deu forças para continuar em frente, mesmo quando parecia perdido.

Ao meu professor orientador, Prof. Dr. **Paulo Roberto de Melo Reis**, pois sempre estive ao meu lado me guiando, e com paciência foi me transmitindo seus conhecimentos, mostrando a direção certa a ser seguida. Mais que professor, ele foi como um pai pra mim, como um amigo, sempre me incentivando e me consolando nos momentos mais difíceis, mas que também dividiu inúmeros momentos de alegria. Enfim, não tenho palavras para expressar minha gratidão. Muito obrigada por tudo professor!!

À toda equipe do LEB (Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos) da área V da PUC – GO. Em especial agradecer à **Maria Alice Montes de Sousa, Ana Paula Vilela Machado Maia, Hiago Vieira de Jesus, Lucas Rodrigues Sampaio, Susy Ricardo Lemes Pontes**, por colaborarem com a realização dos experimentos com os ovos embrionados de galinha, e por colaborarem também na realização dos ensaios do micronúcleo e cometa.

À **Ana Paula**, que sempre se colocou à disposição para conversarmos, me dar forças e apoio psicológico e/ou emocional. Agradeço também por sempre estar auxiliando na concessão e esterilização de materiais necessários à realização dos experimentos.

À **Maria Alice**, que sempre estive ao meu lado me ajudando na realização dos experimentos com os ovos embrionados de galinha, micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos e ensaio cometa.

Ao **Lucas Sampaio**, pelas vezes em que fizemos trabalhos juntos, pela amizade, companheirismo e pela troca de idéias.

À **Susy Ricardo**, por colaborar nos testes de angiogênese, e pelo auxílio no trabalho, sempre se colocando à disposição com suas sugestões, as quais visaram melhorar a qualidade do presente trabalho.

Ao professor Dr. **Cláudio Carlos da Silva**, por toda sua colaboração neste trabalho em relação ao ensaio cometa. Ele que cedeu o espaço do núcleo de pesquisas Replicon, disponibilizando também alunos que colaboraram muito na realização do ensaio cometa. Além da concessão do espaço físico e dos alunos, agradeço ao professor Cláudio pelo seu apoio, ensinamentos transmitidos, sugestões e críticas feitas, sempre visando enriquecer o trabalho.

Os alunos do Replicon a quem eu quero agradecer são: **João Antônio Xavier Manso, Calebe Bertolino Marins de Campos, Sabrina Sara Moreira Duarte, Jakeline Soares Fortes e Lucas Henrique Nascimento Silva Rodrigues**. Em especial ao **João Manso**, pela sua colaboração na realização do ensaio cometa, análises estatísticas, e pelas vezes que se colocou à disposição para esclarecer as dúvidas pertinentes a este ensaio.

Ao **Claudio Braz da Silva, Matheus Masson Nunes** e à **Aline da Silva Rosa** (pessoas especiais do bloco H da área IV da PUC – Goiás), pelos seus conselhos, troca de idéias, e por de uma forma ou outra contribuírem na construção deste trabalho.

À secretária do Mestrado em Genética, **Alessandra Malta de Oliveira**, por suas orientações em relação à documentação que por vezes precisou ser entregue à secretaria.

Aos professores **Cláudio Carlos da Silva, Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura, e Luciane Madureira de Almeida**, por aceitarem o convite de compor a banca examinadora deste trabalho.

À FAPEG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás, pela concessão da bolsa de mestrado correspondente à Chamda Pública de nº 03/2016.

Enfm, agradeço a todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram na realização desta pesquisa.

“A vida é cheia de surpresas, algumas boas outras realmente ruins... mas Deus coloca pessoas no nosso caminho para nos reerguer, e quando isso acontece estenda seu braço e se levante, não fique ai embaixo esperando a vida passar, vá atrás dos seus sonhos, ninguém pode realiza los por você, então lute, sangre, marque seu corpo, fira seu interior, afinal cicatrizes são marcas de uma vitória!! Todos nós temos um lugar ao sol..” (Fernanda Milano).

“Ser feliz é sentir o sabor da água, a brisa no rosto, o cheiro de terra molhada. É extrair das pequenas coisas grandes emoções. É encontrar todos os dias motivos para sorrir mesmo se não existirem grandes fatos. É rir de suas próprias tolices. É não desistir de quem se ama, mesmo se houver decepções. É ter amigos para repartir as lágrimas e dividir as alegrias. É ser um amigo do dia e um amante do sono. É agradecer a Deus pelo espetáculo da vida...” (Augusto Cury).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 <i>Lantana camara</i>	19
2.2 Metabólitos secundários.....	21
2.3 Óleos essenciais.....	23
2.4 Constituintes majoritários da <i>Lantana camara</i>	25
3 ANGIOGÊNESE.....	28
3.1 Regulação da angiogênese.....	32
3.2 Membrana corioalantoide para avaliação da angiogênese.....	34
4 GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE.....	36
4.1 Teste do micronúcleo.....	37
4.2 Teste cometa.....	39
5 OBJETIVOS.....	43
5.1 Objetivos gerais.....	43
5.2 Objetivos específicos.....	43
6 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
6.1 Materiais.....	44
6.1.1 Óleo essencial das folhas de <i>Lantana camara</i>	44
6.2 Ovos embrionados de galinha.....	44
6.3 Camundongos.....	45
6.3.1 Aspectos éticos.....	45
6.3.2 Tempo de testagem dos ensaios.....	45
6.3.3 Grupos e Tratamentos.....	45
6.3.4 Padronização do ambiente.....	45
6.3.5 Condições de alojamento e higienização.....	46
6.3.6 Condições de Alimentação dos animais.....	46
6.3.7 Forma de Contenção dos animais.....	46

7 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	47
7.1 Procedimento experimental para avaliação “ <i>in vivo</i> ” da atividade angiogênica/antiangiogênica na membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha.....	47
7.1.1 Análise das imagens.....	48
7.1.2 Análise estatística.....	48
7.2 Procedimento experimental para avaliação “ <i>in vivo</i> ” da atividade mutagênica/antimutagênica através do teste do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.....	48
7.2.1 Análise citogenética.....	49
7.2.2 Análise estatística.....	49
7.3 Procedimento experimental para avaliação “ <i>in vivo</i> ” da atividade genotóxica/antigenotóxica através do teste do cometa em células sanguíneas de camundongos.....	50
7.3.1 Análise citogenética.....	50
7.3.2 Análise estatística.....	51
8 RESULTADOS.....	52
8.1 Angiogênese na membrana corioalantoide (MCA).....	52
8.2 Ensaio do Micronúcleo.....	53
8.2.1 Mutagenicidade e citotoxicidade avaliada pelo ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.....	53
8.2.2 Antimutagenicidade e anticitotoxicidade avaliada pelo ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.....	54
8.3 Ensaio do Cometa.....	55
8.3.1 Genototoxicidade e antigenotoxicidade avaliada pelo ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos.....	55
9 DISCUSSÃO.....	58
9.1 Angiogênese na membrana corioalantoide (MCA).....	58
9.2 Ensaio do Micronúcleo.....	59
9.3 Ensaio do Cometa.....	61
10 CONCLUSÕES.....	63
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
12 APÊNDICES.....	81

12.1 Soluções e reagentes utilizadas na avaliação da atividade angiogênica na MCA...	81
12.2 Soluções e reagentes utilizadas na avaliação das atividades mutagênica, antimutagênica, citotóxica e anticitotóxica através do ensaio do micronúcleo em medula óssea de camundongos.....	81
12.3 Soluções e Reagentes utilizadas na avaliação das atividades genotóxica e antigenotóxica através do ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos.....	81
13 ANEXOS.....	83
13.1 Certificado de Aprovação da CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) da PUC – Goiás.....	83
13.2 Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais PUC – Goiás.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Visão geral e visão detalhada do arbusto de <i>Lantana camara</i>	20
Figura 2 – <i>Lantana camara</i>	20
Figura 3 – Resumo dos processos de angiogênese por brotamento e intussuscepção.....	29
Figura 4 – Etapas da angiogênese por brotamento.....	30
Figura 5 – Células endoteliais em tip cells, stalk cells e phalanx cells.....	31
Figura 6 – Atuação das <i>tip cells</i> e <i>stalk cells</i> na angiogênese.....	32
Figura 7 – Relação dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos mais conhecidos.....	33
Figura 8 – Ovo embrionado de galinha e suas respectivas membranas.....	35
Figura 9 – Formação de micronúcleo por agentes clastogênicos e agentes aneugênicos.....	37
Figura 10 – Esfregaço de medula óssea com eritrócitos normocromáticos, e eritrócitos policromáticos micronucleados mostrando a diferença no coloração dos dois tipos eritrocitários.....	39
Figura 11 – Estrutura de um cometa com cabeça e cauda.....	41
Figura 12 – Análise de células pelo ensaio cometa.....	41
Figura 13 – Redes vasculares das membranas após o tratamento com os controles e a substância teste (óleo essencial de <i>Lantana camara</i>) no 16º dia do experimento.....	53
Figura 14 – Núcleos de células sanguíneas de camundongos expostos às diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Lantana camara</i>	55
Figura 15 – Resultado do Ensaio Cometa para o parâmetro comprimento da cauda em células sanguíneas de <i>Mus musculus</i> expostas “ <i>in vivo</i> ” às diferentes doses do óleo essencial de <i>Lantana camara</i> evidenciando efeitos genotóxicos para as doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média e desvio padrão obtido na quantificação dos parâmetros comprimento, tamanho e números de junções dos vasos sanguíneos dos grupos controles e grupo testado com o Óleo de Cambará.....	52
Tabela 2 – Frequência de MN/EPC e relação entre EPC/ENC após 24 horas do tratamento com óleo essencial da <i>Lantana camara</i> em diferentes doses e controles.....	54
Tabela 3 – Frequência de EPCMN e relação entre EPC/ENC após 24 horas de tratamento simultâneo de diferentes doses do óleo essencial da <i>Lantana camara</i> com doxorrubicina.....	55
Tabela 4 – Médias e desvios padrões dos parâmetros analisados pelo ensaio cometa para avaliação da genotoxicidade em células sanguíneas de camundongos.....	56
Tabela 5 – Médias e desvios padrões dos parâmetros analisados pelo ensaio cometa para avaliação da antigenotoxicidade em células sanguíneas de camundongos.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
a.C	Antes de Cristo
ANOVA	Análise de Variância
cm	Centímetros
CAD	Desoxirribonuclease Ativada por Caspase
CAM	Chorioallantoic Membrane
CEP	Código de Endereçamento Postal
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COX-2	Ciclooxigenase 2
CNPJ	Cadastro Nacional de Pessoas Jurídicas
CRF	Conselho Regional de Farmácia
FGFb	Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico,
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DOXO	Doxorrubicina
ICAD	Inibidor da Desoxirribonuclease Ativada por Caspase
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
ENC	Eritrócito Normocromáticos
EPC	Eritrócto Policromáticos
EPCMN	Eritrócitos Policromáticos Micronucleados
g/mL	Gramas por Mililitro
H ₂ O	Água
Km	Kilômetros
LEB	Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos
M	Concentração Molar
mA	Miliamperes
MCA	Membrana Corioalantoide
mg/Kg	Miligrama/Kilograma
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
mL	Mililitro

MMPs	Metaloproteinases de Matriz
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
O.E.L.C	Óleo Essencial de <i>Lantana camara</i>
pB	Pares de Base
pH	Potencial de íons de hidrogênio em solução
p/v	Peso/Volume
PBS	Tampão Fosfato Salino
PLGF	Fator de Crescimento Placentário
PubMed/MEDLINE	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
RGB	Red, Green, Blue
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SciELO	Scientific Electronic Library Online
SCGE	Single Cell Gel Eletrophoresis
TGF	Fator de Crescimento Transformante
TRIS BASE	Tris Hidroximetil Aminometano
USB	Universal Serial Bus
V	Volts
VEGFs	Fatores de Crescimento Vascular Endotelial
VEGFRs	Receptores dos Fatores de Crescimento Vascular Endotelial

RESUMO

A *Lantana camara*, popularmente conhecida como Cambará, é uma planta que possui diversos usos medicinais e propriedades biológicas como ação anti-inflamatória, cicatrizante de feridas, antioxidante, analgésica, antitumoral, entre outras. Apesar de possuir muitas atividades benéficas, a *Lantana camara* também possui efeitos maléficos, sendo considerada embriotóxica e hepatotóxica em alguns animais. Diante disto, o presente trabalho teve por objetivos a avaliar a atividade angiogênica do óleo essencial de *Lantana camara* (O.E.L.C) através do ensaio da membrana corioalantoide (MCA) no ovo embrionado de galinha; avaliar a atividade mutagênica e antimutagênica, citotóxica e anticitotóxica, genotóxica e antigenotóxica do O.E.L.C utilizando o ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos e ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos. Na avaliação da atividade angiogênica na MCA o O.E.L.C foi testado na concentração de 4,25 mg/ml. Na avaliação das atividades mutagênica, citotóxica, e genotóxica os camundongos foram individualmente tratados com doses intraperitoneais do O.E.L.C (300 mg/kg, 600 mg/kg, 1200 mg/kg). Na avaliação das atividades antimutagênica, anticitotóxica e antigenotóxica os camundongos foram tratados com doses do O.E.L.C (300 mg/kg, 600 mg/kg, 1200 mg/kg) juntamente com doxorrubicina 2 mg/kg. Os resultados da avaliação da atividade angiogênica na MCA mostram que o O.E.L.C aumentou significativamente a formação de novos vasos sanguíneos quando comparados ao controle positivo ($p < 0,05$). Os resultados da avaliação das atividades mutagênica e citotóxica mostraram que o O.E.L.C apresentou efeitos mutagênicos, citotóxicos e genotóxicos nas doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg quando comparadas ao controle negativo ($p < 0,05$). Os resultados da avaliação das atividades antimutagênica, anticitotóxica e antigenotóxica mostraram que o O.E.L.C não apresentou efeitos antimutagênicos, anticitotóxicos e antigenotóxicos ($p > 0,05$) para nenhuma das doses administradas quando comparadas ao controle positivo. Conclui-se que nas condições experimentais da presente pesquisa o óleo essencial da *Lantana camara* (O.E.L.C) apresentou atividades angiogênica, mutagênica, citotóxica e genotóxica.

PALAVRAS-CHAVE: Cometa. Genotoxicidade. Membrana corioalantoide. Micronúcleo. Mutagenicidade.

ABSTRACT

The *Lantana camara*, popularly known as “Cambará”, is a plant that has many medicinal uses and biological properties as anti-inflammatory, wound healing, antioxidant, analgesic, antitumor actions, among others. Despite having many beneficial activities, the *Lantana camara* also has ill effects and is considered embryotoxic and hepatotoxic in some animals. On this, the present work aims to evaluate the angiogenic activity of the essential oil of *Lantana camara* (O.E.L.C) using the chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay; evaluate the mutagenic and antimutagenic, anticytotoxic and cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic activities of O.E.L.C using the micronucleus test in hematopoietic bone marrow of mice and comet assay in blood cells of mice. In the evaluation of angiogenic activity at MCA the O.E.L.C was tested at a concentration of 4,25 mg/ml. In the evaluation of mutagenic, cytotoxic, genotoxic activities the mice were individually treated with intraperitoneal doses of O.E.L.C (300 mg/kg, 600 mg/kg, 1200 mg/kg). In the evaluation of antimutagenic, anticytotoxic, antigenotoxic activities the mice were treated with doses of O.E.L.C (300 mg/kg, 600 mg/kg, 1200 mg/kg) together with doxorubicin 2 mg/kg. The results of the evaluation the angiogenic activity in the CAM show that O.E.L.C significantly increased the formation of new blood vessels when compared to the positive control ($p < 0.05$). The results evaluation of mutagenic and cytotoxic activities showed that the O.E.L.C exhibited mutagenic, cytotoxic and genotoxic effects at doses of 600 mg/kg and 1200 mg/kg when compared to the negative control ($p < 0.05$). The results of the evaluation of the antimutagenic, anticytotoxic and antigenotoxic activities showed that O.E.L.C did not exhibited antimutagenic, anticytotoxic and antigenotoxic effects ($p > 0.05$) for any of the administered doses when compared to the positive control. It is concluded that the experimental conditions of the present research the essential oil of *Lantana camara* (O.E.L. C) exhibited angiogenic activity, and mutagenic, cytotoxic and genotoxic activities.

KEYWORDS: Comet. Chorioallantoic membrane. Genotoxicity. Micronucleus. Mutagenicity.

1 INTRODUÇÃO

Há milhares de anos, o ser humano busca recursos naturais que possam auxiliá-lo na sua sobrevivência. A observação dos usos empíricos das plantas medicinais e a busca por novas substâncias ativas provenientes de espécies vegetais vêm gerando e ampliando o conhecimento sobre suas ações na prevenção, tratamento e cura de enfermidades (SILVA M. 2013; LUZ et al. 2012; VALE, 2012; FOGGIO et al. 2006).

Por volta de 2600 a.C, foram localizados na Mesopotâmia os primeiros relatos escritos acerca do uso e preparo das plantas medicinais para tratamento de enfermidades. Estas anotações já relatavam o uso de algumas plantas com finalidades terapêuticas. Na Grécia antiga, foram catalogadas cerca 1100 plantas medicinais, sendo que 500 foram registradas Hipócrates e Teofrasto, e 600 por Dioscórides. Entretanto, o isolamento do primeiro princípio ativo ocorreu a partir da *Papaver somniferum* (Papoula), em 1803 (VALE, 2012; SILVA FRANCISCA 2012; MELO-REIS, 2009).

Entretanto, as substâncias vegetais que entram em contato com as células de um ser vivo, podem produzir tanto efeitos benéficos quanto adversos, colaterais e/ou tóxicos. Dentre as várias substâncias que podem apresentar toxicidade estão os alcaloides pirrolizidínicos, presentes no *Senecio brasiliensis*, popularmente chamado de “flor das almas”, ou “Maria-mole” e o *Symphytum officinale*, conhecido como “Confrei” (DIAS et al. 2013; SANDINI et al. 2013).

Devido ao fato de as plantas constituírem uma importante fonte de princípios ativos, e com a finalidade de suprir a diferença existente entre os investimentos em pesquisa e a quantidade de novas drogas terapêuticas que tem chegado ao comércio, atualmente as indústrias farmacêuticas têm aumentado a busca por novos fármacos, sendo que diversos estudos de caracterização biológica, fitoquímica, e efeitos colaterais têm sido realizados (ALENCAR et al. 2013; ZANUTTO, 2013; VARANDA, 2006; ALEXANDRE et al. 2004).

Além disso, também há a presença de um forte estímulo publicitário que diz assegurar os seus efeitos benéficos, este fato por sua vez, tem levado a um aumento do uso popular de plantas medicinais por parte das pessoas. Com isso, é de fundamental importância o conhecimento acerca de suas ações sobre o corpo humano, pois apesar de apresentarem propriedades medicinais, elas podem apresentar toxicidade (ALENCAR et al. 2013; ZANUTTO, 2013; VARANDA, 2006; ALEXANDRE et al. 2004).

Durante o desenvolvimento de novos fármacos são feitos diversos testes com a finalidade de avaliar as atividades farmacológicas de uma substância. O ensaio da membrana corioalantoide no ovo embrionado de galinha é importante pois permite a avaliação do potencial

angiogênico/antiangiogênico da substância. Os resultados obtidos na avaliação da atividade angiogênica/antiangiogênica fornecem informações importantes que abrem caminho para o desenvolvimento de novos fármacos utilizados em processos angiogênicos dependentes como cicatrização de feridas, retinopias diabéticas, desenvolvimento de tumores, revascularização de tecidos e órgãos, entre outras. Muitos vegetais possuem substâncias que apresentam atividades angiogênicas. Angiogênese é o processo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir de brotos endoteliais preexistentes (MELO-REIS et al. 2010; CAPELOZZI, 2009; REGE et al. 2005).

Na literatura existem relatos de plantas medicinais que induzem a formação de novos vasos sanguíneos, dentre essas podem ser citadas a *Hevea brasiliens* (*seringueira*), *Synadenium umbellatum* (Cola-nota), *Euphorbia tirucalli* (Avelós), *Hancornia speciosa* (Mangabeira), *Aloe vera* (Babosa), *Lafoensia pacari* (Pacari), *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão), *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo), *Calendula officinalis* (Calêndula), *Schinus terebinthifolius* (Aroeira), *Memora nodosa* (Silva Manso), plantas do gênero *Copaifera* sp, *Pterodon emarginatus* (Sucupira), *Curcuma longa* (Açafrão), *Carapa guianensis* (Andiroba), entre outras (ARAÚJO et al. 2016; CARNEIRO et al. 2016b; CHAVES D. et al. 2016; MORAES et al. 2016; ARAÚJO et al. 2015; BESSA G. et al. 2015; ALMEIDA L. et al. 2014; PONTES, 2014; ESTEVÃO et al. 2013; TRESVENZOL et al. 2013; PARENTE et al. 2011; MELO-REIS et al. 2010; SILVA E. et al. 2009).

Apesar de apresentarem muitas atividades biológicas benéficas, as plantas medicinais também podem possuir compostos com atividades citotóxicas, mutagênicas e/ou genotóxica que podem interagir com o DNA ocasionando ou não o surgimento de mutações nas células. A avaliação da mutagenicidade, citotoxicidade e genotoxicidade pode ser feita através dos ensaios do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos, e pelo teste cometa. Ambas as metodologias são amplamente aceitas pelas agências regulatórias, bem difundidas e bastante empregadas pela comunidade científica, fornecendo também dados sobre o risco e segurança ao se fazer o uso de uma substância (CAMPOS et al. 2016; BARROS A. 2013; TERRAZAS, 2013; VARANDA, 2006).

As plantas não são tão inócuas quanto parecem, pois podem apresentar atividades mutagênicas e/ou genotóxica como: *Myrciaria tenella* (Cambuí), *Smilax campestris* (Salsaparrilha), *Ocotea duckei* (Louro de Cheiro), *Paullinia cupana* (Guaraná), *Annona coriácea* (Araticum), entre outras. Além disso, algumas plantas também apresentam propriedades citotóxicas e/ou genotóxicas. Dentre as plantas que apresentam ambas as

propriedades podem ser citadas a *Synadenium umbellatum* (Cola-nota), *Hypericum adenotrichum* (espécie popularmente conhecida na Turquia como “Kantaran”), *Bauhinia platypetala* (Pata de Vaca), *Plectranthus barbatus* (Boldo-Nacional), entre outras (AZTOPAL, et al. 2016; BEZERRA et al. 2016; DINELLY; SARIMAHMUT et al. 2016; KASIMOĞULLARI et al. 2014; ZANETTE-SILVA et al. 2014; OLIVEIRA S. et al. 2013; KALIORA; KOUNTOURI, 2012; SANTOS F. et al. 2012a; SANTOS F et al. 2012b; MELO-REIS et al. 2011; BARBOSA-FILHO et al. 2008; SCHNEIDER et al. 2008; SOUSA O. et al. 2007; VARANDA, 2006; FAGUNDES F. et al. 2005; COSTA; NASCIMENTO, 2003;).

Uma espécie vegetal importante e que apresenta atividades biológicas descritas na literatura é a *Lantana camara*. Presente em diversos países tropicais e subtropicais, a *Lantana camara* pertence à família Verbenaceae e é popularmente conhecida Cambará, sendo muito utilizada na medicina popular para o tratamento de neoplasias, úlceras, cicatrização de feridas, catapora, entre outras enfermidades. Além disso, apresenta propriedades cicatrizantes, anti-inflamatória, antisséptica, antitumoral, entre outras (LONARE et al. 2012).

Apesar de possuir muitas atividades e propriedades terapêuticas, a *Lantana camara* é uma planta que apresenta princípios ativos que podem causar toxicidade como é o caso dos lantadenos (triterpenóides pentacíclicos presentes em sua composição fitoquímica). Ao ser ingerida a *Lantana camara* pode causar lesões hepáticas e de fotossensibilização em animais que se alimentam de pasto como bovinos, ovelhas, cavalos entre outros (LONARE et al. 2012).

Devido ao fato da *Lantana camara* ser uma espécie que apresenta muitas propriedades e indicações terapêuticas, mas também possui atividades tóxicas já descritas em outras pesquisas, o presente estudo teve por objetivos avaliar as possíveis atividades angiogênicas/antiangiogênicas do óleo essencial da *Lantana camara* utilizando como modelo experimental a membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha. Além disso, objetivou-se também avaliar as possíveis atividades mutagênicas/antimutagênicas, citotóxicas/anticitotóxicas, e genotóxica/antigenotóxicas através do teste do micronúcleo em medula óssea de camundongos, por meio do ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Lantana camara*

A *Lantana camara* é uma planta que apresenta flores de coloração variada e perenes. Além de ser uma espécie utilizada para fins decorativos, ela também possui diversas indicações na medicina popular sendo empregada inclusive na aromoterapia, despertando assim seu interesse na indústria farmacêutica, perfumaria e cosméticos. Ela possui várias denominações populares, sendo que os nomes mais conhecidos são Camará, Cambará, Cambará-de-Cheiro e Chumbinho. Descrita por Linnaeus em 1753, sistematicamente a *Lantana camara* pertence ao reino Plantae, filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Lamiales, família Verbenaceae, gênero *Lantana*, espécie *Lantana camara*. Esta família possui aproximadamente 2600 espécies e 100 gêneros que por sua vez estão difundidas em diversos locais que possuem clima tropical e subtropical, e localidades temperadas em ambos os hemisférios (HIASA, 2013; PRIYANKA; JOSHI, 2013; KALITA et al. 2012; JULIARD et al. 2006).

Espécie nativa da América central, ilhas do Caribe, e norte da América do Sul, a *Lantana camara* pode ser encontrada em diversos países como a Nova Zelândia, Flórida, México, Brasil, Trindade, Jamaica, existem também relatos de sua existência em alguns países africanos como o Quênia, Uganda, Tanzânia, e sul da África (DASH et al. 2014; PRIYANKA; JOSHI, 2013; KALITA et al. 2012; LONARE et al. 2012).

Trata-se de um arbusto odorífero, forte, cujo crescimento pode atingir até 2 - 4 metros de altura. Em regiões de clima tropicais e subtropicais, com altitudes máximas de 2.000 metros, a *Lantana camara* cresce naturalmente em beira de estradas e rios. De maneira geral apresenta galhos tetragonais, com pequenos espinhos tortuosos e espalhados. As folhas são ásperas, opostas, ovais, possuem cheiro forte, são capazes de irritar a pele quando tocadas. As flores são pequenas, consistem de inflorescências compactas, em formato de cúpula variando de 2 a 3 cm de diâmetro, que por sua vez são constituídas de 20 a 40 flores, apresentam coloração variada, podendo ser brancas, rosas, amarelas, laranjas e vermelhas, apresentando as vezes duas cores juntas. Os frutos são tóxicos podendo ser letais, do tipo drupa, inicialmente possuem coloração verde, posteriormente tornam-se, roxos e pretos. As sementes germinam rápido e facilmente. As raízes são fortes e produzem novos brotos mesmo após novas podas. Uma visão geral do arbusto e da *Lantana camara* está representada nas figuras 1 e 2 respectivamente (DASH et al. 2014; PRIYANKA; JOSHI, 2013; KALITA et al. 2012; LONARE et al. 2012).



Figura 1 – Visão geral e visão detalhada do arbusto de *Lantana camara*.

[A] Visão geral do arbusto *Lantana camara*; [B] Visão detalhada do arbusto de *Lantana camara*. Foto feita com um Smartphone Samsung Galaxy J5 Duos câmera de 13 megapixels.

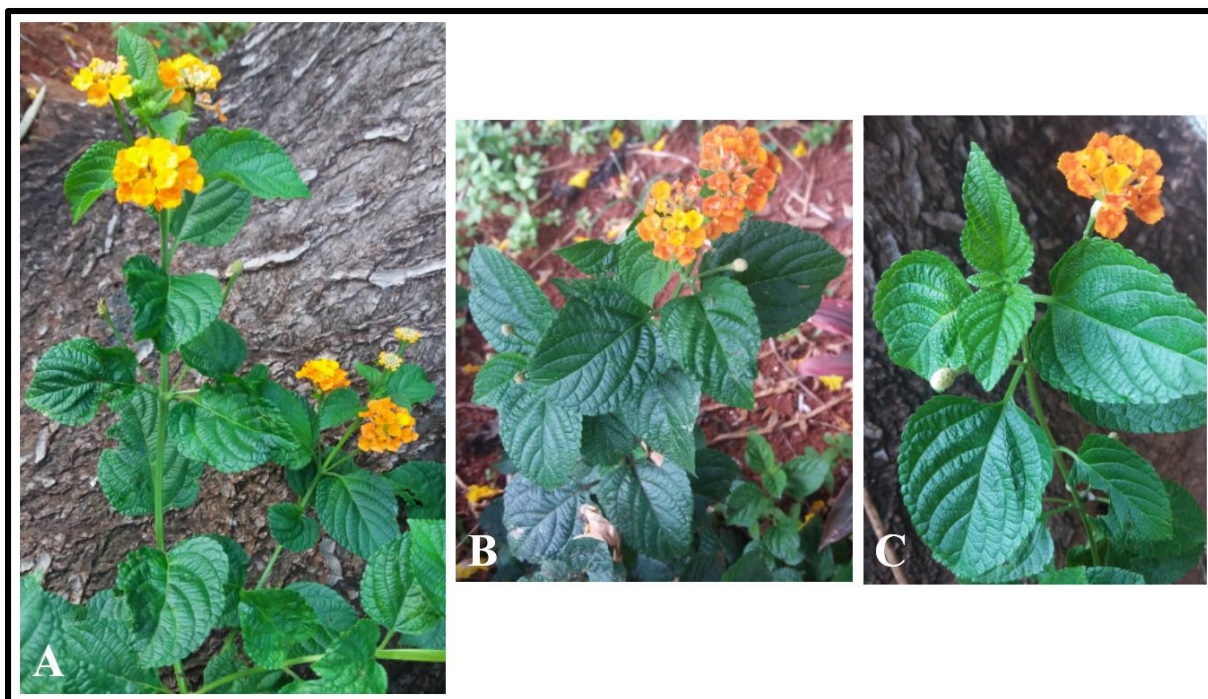


Figura 2 - *Lantana camara*.

[A] Visão geral dos galhos, flores, e disposição das folhas; [B] e [C] Visão detalhada das folhas, flores e frutos. Foto obtida com um Smartphone Samsung Galaxy J5 Duos câmera de 13 megapixels.

A *Lantana camara* possui diversas atividades biológicas, dentre as quais podem ser citadas propriedades antiespasmódica intestinal, antifúngica, anti-hiperglicêmica, anti-hipertensiva, anti-inflamatória, antimicrobiana, antimutagênica, antineoplásica, antioxidante,

antiparasitária, antipirética, antiproliferativa, antiulcerogênica, citotóxica, hemolítica, hepatoprotetora, inseticida, larvicida, leishmanicida, modulatória da resistência-bacteriana, repelente e tripanomicida (BARROS L. et al. 2016; OMOREGIE et al. 2015; MEDEIROS et al. 2012; COSTA et al. 2009; SONIBARE; EFFIONG, 2008; BARRE et al. 1997; DUA et al. 1996).

Na medicina popular é usada no tratamento de edemas, febre, tétano, catapora, sarampo, lesões oculares, tosses, asma, bronquite, coceira, cortes, cicatrização de feridas, úlceras, secreções do trato respiratório, eczema, malária, reumatismo, dor de dente, sangramento uterino, resfriados, gripe, asma, hipertensão, tumores e câncer. Em Madagascar, as folhas do Cambará são utilizadas contra diarreia, dores de estômago, malária, feridas, hemorragias, problemas sexuais e hipertensão, já as raízes são empregadas no tratamento de parasitas intestinais (RABEARIVONY et al. 2015; RAKOTOARIVELO et al. 2015; RANDRIAMIHARISOA et al. 2015; SILVA T. et al. 2015; REDDY et al. 2013; KUMARASAMYRAJA et al. 2012).

2.2 Metabólitos secundários

Os compostos biologicamente ativos são substâncias que são produzidos através do metabolismo das plantas. Metabolismo é o conjunto de reações e modificações químicas de síntese e processamento que ocorrem no interior da células dos seres vivos. As substâncias oriundas desse processo são conhecidas como metabólitos, e são classificados como metabólitos primários e metabólitos secundários (NETO, 2015; SILVA CIBELE 2014).

Os metabólitos primários são substâncias que exercem funções extremamente importantes para a sobrevivência e o desenvolvimento das plantas tais como respiração e fotossíntese. Dentre os metabólitos primários podem ser citados: carboidratos, lipídeos, fosfolipídeos, ácidos graxos, proteínas e ácidos nucleicos (SILVA CIBELE 2014; CHAVES T. 2012; BESSA T. et al. 2007).

Já os metabólitos secundários são compostos de baixo peso molecular, que apresentam estrutura complexa, são sintetizados em baixas quantidades e em estruturas celulares específicas e em diferentes etapas do desenvolvimento, o que faz com que o isolamento e purificação sejam mais complexos. Estes compostos são classificados em três grandes grupos: compostos fenólicos (flavonoides, taninos e ligninas), terpenos e alcaloides. Outros exemplos incluem as antraquinonas, cumarinas, esteróis, óleos essenciais, saponinas, carotenoides

(SILVA CIBELE 2014; COUTINHO, 2013; POMPILHO et al. 2013; CHAVES T. 2012; MONTANARI, 2010; BESSA T. et al. 2007).

Embora possam não estar diretamente relacionados com o crescimento e desenvolvimento das plantas, os metabólitos secundários desempenham importantes funções na defesa das plantas contra os microrganismos, insetos e animais predadores, competição contra outras plantas, radiações, carência de minerais, alterações de fatores abióticos como temperatura, luz, umidade e quantidade de água. Além disso, eles também auxiliam na polinização e transporte e disseminação de sementes no meio ambiente por animais, e controle no desenvolvimento de sementes (BERTÊ, 2013; CHAVES T. 2012).

Os metabólitos secundários são formados por diferentes vias metabólicas, as quais produzem substâncias que apresentam diversas fórmulas moleculares e estruturas químicas. Essas substâncias são formadas a partir do metabolismo da glicose através de dois intermediários principais (ácido chiquímico e o acetato). O ácido chiquímico produz os aminoácidos que levarão à formação de compostos aromáticos. Já os compostos resultantes do acetato podem ser classificados de acordo com a via do ciclo do ácido cítrico, via do mevalonato, e produtos da condensação do acetato. Alguns metabólitos como por exemplo as antraquinonas, flavonoides e taninos condensados não são sintetizados somente por meio do ácido chiquímico e do acetato, mas podem ser o resultado da combinação de uma ou mais vias metabólicas (POMPILHO et al. 2013; CHAVES T. 2012).

A maioria das atividades apresentadas pelas plantas são exercidas por princípios ativos presentes nos metabólitos secundários. A ampla gama de atividades biológicas exercidas por estes compostos tem motivado inúmeras pesquisas em diversas áreas da ciência em buscas de novas substâncias úteis à civilização humana, sendo que muitos desses compostos têm despertado o interesse da indústria farmacêutica na busca e desenvolvimento de novos fármacos. Além disso esses princípios ativos são comercialmente interessantes em outros setores como perfumaria, alimentício, agrônômico, entre outros (PEREIRA; CARDOSO, 2012; BARREIRO; BOLZANI, 2009; FOGGIO et al. 2006; VIEGAS JR et al. 2006).

Já outros metabólitos são substâncias ativas, que por sua vez apresentam atividades terapêuticas como o taxol (diterpeno presente na *Taxus brevifolia*, possui atividades anticancerígenas); a vincristina e vimblastina (alcaloides encontrados na *Catharantus roseus*, utilizados na terapia contra algumas neoplasias como câncer de ovário, linfomas de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, entre outros) e a hipericina (diantrona isolada a partir de flores de

Hypericum perforatum L, utilizada como antidepressivo para quadros leves à moderados) (SILVA CIBELE 2014; COUTINHO, 2013; CHAVES T. 2012; ALVES, 2001).

Além disso, os metabólitos também possuem aplicabilidade no setor agrônomo, como por exemplo alguns inseticidas, como é o caso da rotenona 1 (retenóide encontrado em espécies dos gêneros *Derris*, e *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea*). Outras substâncias inseticidas são as piretrinas (presentes em flores do gênero *Chrysanthemum*, mais frequentemente na espécie *Chrysanthemum cinerariifolium*), as quais são amplamente utilizadas contra insetos em geral devido ao fato de serem fotossensíveis, posteriormente foram desenvolvidos os piretróides, os quais se apresentam mais estáveis à luz solar (SOUZA L. 2008).

2.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são frações líquidas, odoríferas e voláteis à temperatura ambiente provenientes do metabolismo secundário das plantas. São lipofílicos, paladar picante, costumam ser transparentes ou levemente amarelados, e apresentam sensibilidade à luz, calor, umidade e metais. Podem ser denominados também como óleos voláteis (devido à volatilidade, o odor se espalha rapidamente por todo o local), óleos etéreos (apresentarem solubilidade em solventes orgânicos apolares, como o éter), e essências (possuem odor agradável e geralmente forte) (SILVEIRA, 2012; GARLET, 2007).

Os óleos essenciais são encontrados em diversas partes das plantas, produzidos e armazenados em estruturas especializadas externas (tricomas secretores e osmóforo) e internas (como canais oleíferos ou bolsas lisígenas). Possuem composição química complexa apresentando diferentes substâncias, sendo que na maioria das vezes os constituintes majoritários são os responsáveis pelas atividades biológicas exercidas, contudo essas atividades também ser provenientes de interação sinérgica entre os compostos. As substâncias ativas presentes nos óleos essenciais apresentam diferentes grupamentos químicos como álcoois, cetonas, aldeídos entre outros. As principais classes de constituintes que compõe os óleos essenciais costumam ser os terpenos e os fenilpropanoides (FERREIRA A. 2014; SILVEIRA, 2012).

A extração dos óleos essenciais pode ser feita através de várias metodologias, sendo que as mais conhecidas são a passagem a frio, hidrodestilação, destilação por arraste à vapor, prensagem, enfloração, headspace (microdestilação em fase sólida), e extração com fluidos supercríticos (AZEVEDO, 2014; SILVEIRA, 2012; SILVA D. 2008).

Devido ao fato de possuírem diversos compostos ativos em sua composição os óleos essenciais apresentam diversas propriedades terapêuticas. Dentre as muitas atividades encontradas podem ser citadas: atividades antisséptica, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, rubefaciente, revulsiva, cicatrizante, antioxidante, analgésica, estimulante do sistema imunológico, sedativa, antidepressiva, anticonvulsivante, ansiolítica, anticolinesterásica, anti-helmíntica, antiproliferativa, antitumoral, estimulantes das secreções digestivas, atividades gastropotetora, antiulcerosa, carminativa e antiespasmódica intestinal, miorelaxante, atividade mucolítica, expectorante e broncodilatadora (FERREIRA A. 2014; SILVA D. 2008; CAVALEIRO, 2007).

Devido às suas características aromáticas e terapêuticas, os óleos essenciais constituem uma fonte interessante de matéria prima principalmente para a indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia, produtos de limpeza. São muito usados com o intuito de conferir sabor e aroma às formulações de produtos de higiene, cosméticos perfumes, fragrâncias e fixadores de fragrâncias, adjuvantes em medicamentos, fármacos, aromatizantes de bebidas e alimentos, solvente de resinas e borrachas, produção de tintas, pigmentos e adesivos, podem ser empregados também como aromatizantes de ambientes e na aromaterapia (SILVEIRA, 2012; BRITO, 2010; STEFFENS, 2010; SILVA D. 2008).

Como exemplo de óleos essenciais que possuem aplicação industrial podem ser citados o óleo de Copaíba (árvores do gênero *Copaifera* sp), óleo essencial de mentas ou hortelãs (espécies do gênero *Mentha*), óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), óleo essencial de lavanda (*Lavanda officinalis*), entre outros (BRITO, 2010; GARCIA et al. 2009; PIERI et al. 2009; GARLET, 2007; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

O óleo de copaíba é muito empregado na indústria de perfumes como fixador de aromas combinando notas frescas e acres com notas florais. Apresenta propriedades emolientes, antibacteriana e anti-inflamatória sendo muito empregado em formulações cosméticas como cremes, xampus, sabonetes, entre outras. Também é utilizado como secativo no envernizamento de superfícies, solventes em pinturas, e aditivos na fabricação de borrachas sintéticas e alimentos (PIERI et al. 2009; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

Um outro óleo essencial que possui aplicações industriais é o óleo essencial das espécies de *Mentha* L., que por sua vez possui diversos constituintes químicos em sua composição, sendo que os principais são o mentol, mentona, carvona, linalol, acetato de linalina e a pulegona. Devido ao fato de possuir sabor e aroma agradável o mentol é muito utilizado como aromatizante na indústria de alimentícia, sendo muito empregado na fabricação de balas,

pastilhas, gomas de mascar, licores. Também pode ser usado em medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos, cigarros, enxaguantes bucais, formulações cosméticas e produtos de limpeza (SANTOS P. 2014; GARLET, 2007).

2.4 Constituintes majoritários da *Lantana camara*

Juntamente com os fenilpropanoides, os terpenos constituem as principais classes de metabólitos secundários encontrados em óleos essenciais. Os terpenoides estão presentes em inúmeras espécies de plantas constituindo ao todo mais de 22.000 compostos, podem ser produzidos também por outros seres vivos como organismos marinhos, micro-organismos e inclusive fungos. Nas plantas sua síntese ocorre a partir da molécula de Acetil CoA, podendo acontecer tanto pela via metabólica do ácido mevalônico quanto pela via do metileritritol fosfato (FERREIRA A. 2014; SANTOS P. 2014; SILVEIRA, 2012).

Os terpenos classificam-se conforme a quantidade de isoprenos presentes em sua estrutura química. Isoprenos são hidrocarbonetos constituídos por cinco carbonos ligados entre si possuindo duas ligações duplas (C_5H_8). Podem ser divididos em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpeno, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos e tetraterpenos. Dentre estas classes, as mais encontradas em óleos essenciais são monoterpenos (formados por duas unidades de isopreno – C_{10}) e os sesquiterpenos (compostos por três unidades de isopreno – C_{15}). Podem ser classificados ainda segundo o tipo de cadeia carbônica apresentada (cadeia aberta ou acíclica; cadeia fechada ou cíclica), função dos grupamentos químicos, presença ou não de insaturações na cadeia carbônica, e de acordo com a quantidade de anéis presentes na estrutura molecular (monocíclicos, bícíclicos, entre outros) (FERREIRA A. 2014; SANTOS P. 2014; SILVEIRA, 2012).

Os terpenos possuem muitas atividades descritas, dentre as quais podem ser citadas atividades anticancerígena, antisséptica, possuem atividades contra bactérias, vírus e fungos, atividade antihiperlipidêmica, anti-inflamatória, anagésica, anestésica, antiespasmódica, carminativa, secretolítica, antioxidante, antiofídica, antiparasitária, pesticida, inseticida, herbicida. Dentre os diversos terpenos presentes na *Lantana camara*, alguns exercem importantes atividades como antitumoral (por exemplo o Lantadeno A e Lantadeno B, ácido oleanólico e ácido ursólico), atividade antimitogênica (22 β -Dimethylacryloyloxylantanoic acid), atividade anti-inflamatória (ácido oleanônico, ácido oleanólico, ácido ursólico) (KULIK, 2014; PADUCH et al. 2007; SHARMA O. et al. 2007).

Os terpenos atuam em processos fundamentais das plantas como fotossíntese, transporte de elétrons, regulação do desenvolvimento celular, defesa, reprodução, atração de animais polinizadores e dispersores de sementes. Apresentam também grande interesse comercial sendo empregados pelas indústrias como matérias-primas, fragrâncias, nutracêuticos e fármacos (GERALDES, 2010).

Já os fenilpropanoides, também chamados de compostos fenólicos, são compostos que possuem como característica a presença de um grupamento fenol (hidroxila ligado à um anel aromático), podendo serem formados tanto pela via metabólica do ácido chiquímico quanto pela via metabólica do mevalonato. Esta classe possui grande potencial antioxidante, auxiliando assim na prevenção de patologias relacionadas aos radicais livres e oxidação de lipoproteínas, como por exemplo a trombose, também atuam na prevenção do câncer e modulam respostas fisiológicas como a inflamação por exemplo (LEMOS, 2006).

Dois dos fenilpropanoides que vêm despertando o interesse nos pesquisadores é o ácido cafeico e o ácido rosmárico. Estes compostos apresentam muitas propriedades terapêuticas, dentre as quais pode-se citar antidepressiva, antioxidante, antiespasmódica, antimicrobiana, além disso são utilizados na terapia de várias patologias como asma, úlcera, entre outras (LEMOS, 2006).

A literatura apresenta diversos estudos que fizeram a prospecção fitoquímica do óleo essencial de *Lantana camara*. De acordo com estas pesquisas, as principais classes de compostos presentes são monoterpênicos, sesquiterpenos, e hidrocarbonetos alifáticos. No óleo essencial de Madagascar existem inúmeros constituintes químicos, sendo que os mais abundantes são davanona, β -cariofileno, α -curcumeno, sabineno, linalool, α -humuleno, β -bisaboleno, γ -cadineno, 1,8-cineol, biciclogermacreno e óxido de cariofileno (KHAN et al. 2016; COSTA J. et al. 2009; RANDRIANALJAONA et al. 2006; RANDRIANALJAONA et al. 2005; NGASSOUM et al. 1999).

A davanona é um sesquiterpeno que se apresenta como o principal constituinte do óleo de *Artemisia pallens* (mais conhecida como davana) podendo ser encontrado também na espécie *Tanacetum vulgare*, possui propriedades antifúngicas e antiespasmódicas sendo importante também na indústria de perfumes (SABITHA et al. 2010; MORRISON et al. 2009).

O β -cariofileno é um sesquiterpeno bicíclico presente no óleo essencial de muitas plantas, especialmente em plantas condimentares (especiarias) e plantas aromáticas como cravo, canela, alecrim, entre outros. Costuma possuir compostos isômeros, o issocariofileno e o α -humuleno (também chamado de α -cariofileno), sendo que nos óleos essenciais das plantas

frequentemente se apresenta como uma mistura desses dois isômeros. É muito empregado como aditivo flavorizante e aromatizante em alimentos e produtos cosméticos e farmacêuticos como confeites, bebidas, cremes dentais, sabonetes, entre outros (SHARMA C. et al. 2016; SILVA FLÁVIA 2014).

Este sesquiterpeno encontrado no óleo essencial de *Lantana camara* apresenta muitas propriedades farmacológicas, as principais são analgésico, anti-inflamatório, antioxidante, cardioprotetor, antitussígeno, vasorrelaxante, antiespasmódico, antiasmático, antirreumático, anticolinesterásico, anticancerígeno, citotóxico, antiparasitário, mosquicida, antiviral, antifúngico, antibacteriano e antiapoptótico (SHARMA C. et al. 2016).

3 ANGIOGÊNESE

Os vasos sanguíneos são estruturas em formato de tubo, formadas por apenas uma camada de células endoteliais interligadas que são envoltas por uma matriz extracelular e células de suporte. Possuem como principal função o transporte de inúmeras substâncias, moléculas, e células como glóbulos vermelhos e brancos, oxigênio, nutrientes, entre outros. São classificados de acordo com o seu calibre, estrutura e função, podendo serem formados através de dois principais processos denominados de vasculogênese e angiogênese (POLLI, 2015; BORBA, 2012).

Vasculogênese é o processo de surgimento de novos vasos sanguíneos que ocorre a partir da proliferação local de angioblastos e hemangioblastos (células progenitoras de células endoteliais), os quais vão se diferenciar em células endoteliais. As células endoteliais se organizam em agregados celulares (ilhotas sanguíneas) dando origem a uma nova rede vascular. Já a angiogênese é o processo em que vasos capilares pré-existentes dão origem ao desenvolvimento de novos brotos endoteliais formando assim novos vasos sanguíneos (POLLI, 2015; BORBA, 2012; MELO-REIS, 2009).

Posteriormente, durante angiogênese, essa rede vascular primitiva (formada durante a vasculogênese) passa por um processo de remodelamento no qual há uma combinação de eventos de morte e regressão vascular com interligação e ramificação dos vasos sanguíneos previamente formados. Após o processo de remodelamento, essa rede vascular será considerada madura e estabilizada, promovendo assim o aporte de macro e micronutrientes ao tecidos e órgãos do corpo humano. O desenvolvimento embrionário é um processo fisiológico em que ambos os processos (vasculogênese e angiogênese) estão envolvidos na formação de novos vasos sanguíneos, pois, durante o seu desenvolvimento o coração e os grandes vasos se desenvolvem através da vasculogênese, já o suprimento sanguíneo necessário para o desenvolvimento de órgãos como fígado, pulmão e coração é feito através da angiogênese (MENEGHELLI, 2013; BERTI, 2008).

A angiogênese é um processo que pode acontecer tanto em processos fisiológicos quanto em processos patológicos. Em processos fisiológicos, a angiogênese é resultante do equilíbrio entre fatores angiogênicos e fatores anti-angiogênicos, levando assim à formação de novos vasos sanguíneos de forma ordenada, transitória, e altamente regulada por estes fatores. Em condições fisiológicas, a formação de novos vasos sanguíneos ocorre em inúmeras situações como reparo e regeneração tecidual (cicatrização de feridas, regeneração endometrial após a menstruação), ovulação, desenvolvimento da placenta, surgimento e crescimento de

vasos colaterais em tecidos isquêmicos, entre outros (PRADO, 2014; FERREIRA C. 2013; MELO-REIS, 2009).

Já em processos patológicos, a angiogênese é resultante do desequilíbrio entre os fatores angiogênicos e fatores anti-angiogênicos, levando dessa forma ao surgimento e desenvolvimento desordenado, duradouro, e desregulado de novos vasos sanguíneos. Como exemplos de situações em que a angiogênese patológica está presente podem ser citados a retinopatia diabética, artrite reumatoide, crescimento de tumores, hemangiomas, entre outros (PRADO, 2014; FERREIRA C. 2013; MELO-REIS, 2009).

A angiogênese é um processo que acontece como resposta à estímulos locais como inflamação, hipóxia, isquemia, feridas, entre outros. Esses estímulos então liberam fatores pró-angiogênicos como FGFb (fator de crescimento de fibroblasto básico), VEGFs (fatores de crescimento vascular endotelial), interleucinas, ciclooxygenase 2 (COX-2), entre outros. O surgimento e desenvolvimento de novos vasos sanguíneos pode ocorrer por brotamento ou intussuscepção. A figura 3 representa um resumo dos processos de angiogênese por brotamento e intussuscepção (POLLI, 2015; FERREIRA C. 2013; MENEGHELLI, 2013; BERTI, 2008).

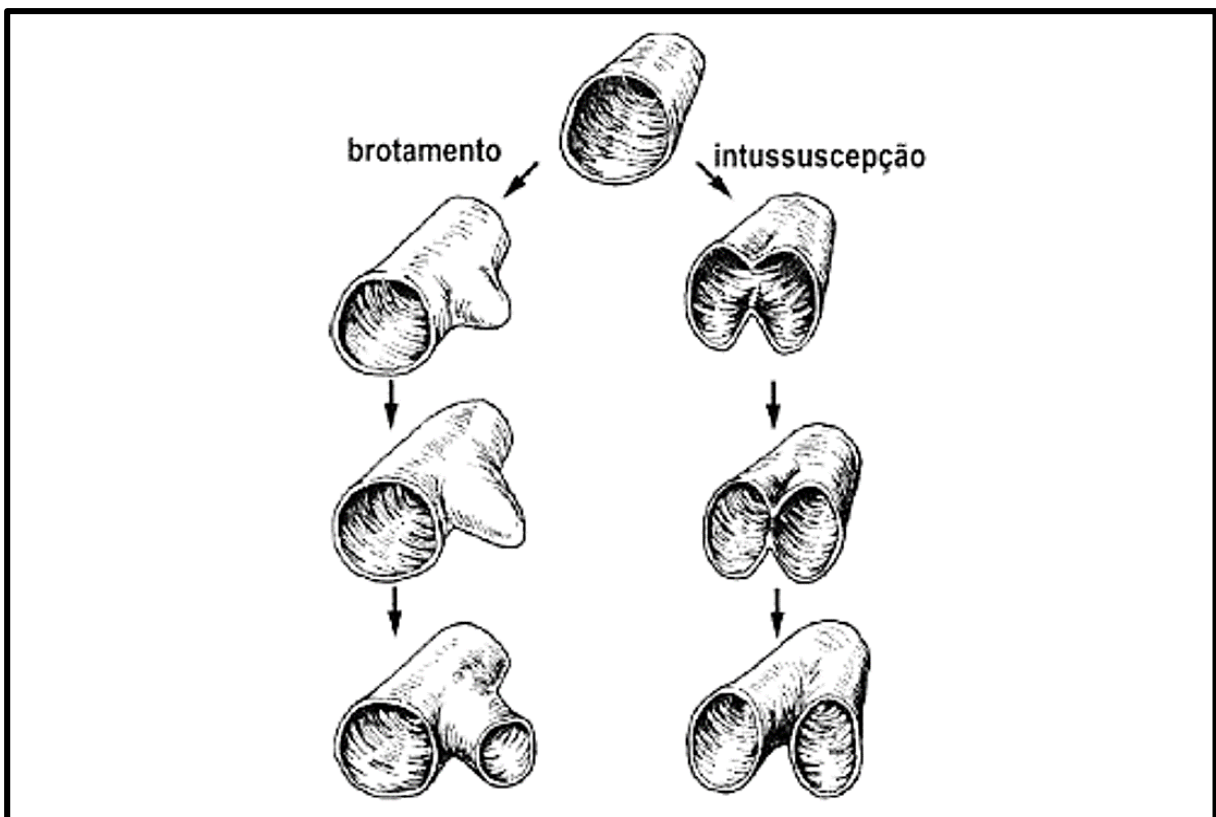


Figura 3 – Resumo dos processos de angiogênese por brotamento e intussuscepção.
FONTE: Adaptada de MENEGHELLI, 2013.

A angiogênese por brotamento ocorre por meio da proliferação e migração de células endoteliais do vaso sanguíneo previamente existente, levando assim à formação de um broto vascular conectado ao vaso pré-existente. Na angiogênese por intussuscepção, as células endoteliais dos lados opostos se estendem interiormente no lúmen vascular até se encontrarem formando assim um septo e dividindo longitudinalmente o vaso em sanguíneo em dois (BAMPI, 2014; MADI, 2014; FERREIRA C. 2013).

Na angiogênese por brotamento, fatores pró-angiogênicos aumentam a permeabilidade vascular e depositam fibrina extravascular, o que leva à desestabilização do endotélio vascular do vaso sanguíneo já existente e quiescente. Essa desestabilização vascular promove então uma remoção dos pericitos adjacentes às células endoteliais. Após a retirada dos pericitos ocorre a ativação das células endoteliais, que após ativadas liberam enzimas proteolíticas como as metaloproteinases de matriz (MMPs). Essas enzimas proteolíticas degradam então a membrana basal e matriz extracelular. Após a ação das enzimas as proteolíticas, as células endoteliais são libertas na membrana basal ficando assim expostas. Depois de expostas na membrana basal, as células endoteliais perdem suas junções, e logo após começam a se proliferar e a migrar em direção à matriz extracelular degradada. A figura 4 representa as etapas da angiogênese por brotamento (POLLI, 2015; SILVA FRANCISCA 2012; FERREIRA P. 2007).

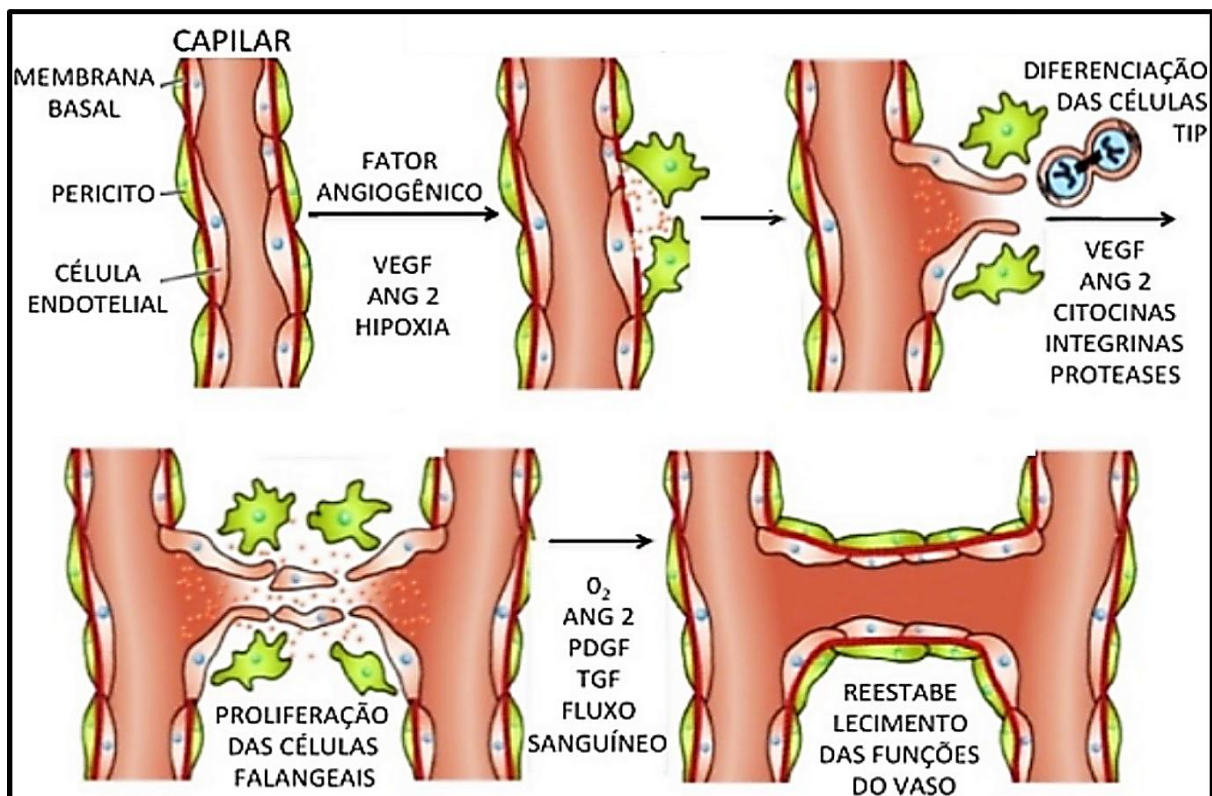


Figura 4 – Etapas da angiogênese por brotamento.
 FONTE: Adaptada de POLLI, 2015.

Durante a migração celular as células endoteliais vão sendo paralelamente ordenadas, sendo que esse deslocamento celular é liderado pelas “*tip cells*” (células endoteliais que sofreram um processo de diferenciação celular e possuem capacidade invasiva e migratória). As *tip cells* então projetam filópodes (extensões citoplasmáticas) direcionados ao estímulo angiogênico, liderando assim o surgimento e desenvolvimento de um novo vaso sanguíneo. Após a formação do novo vaso sanguíneo, as *stalk cells* (células de suporte) são responsáveis por estabilizar o vaso sanguíneo recém-formado. Essa estabilização vascular é feita pelas *stalk cells*, as quais agem se proliferando, formando junções e o lúmen vascular, alongando assim os vasos sanguíneos recém formados. No processo de formação de novos vasos sanguíneos existe ainda a atuação de um outro tipo de células conhecido como *phalanx cells* (células falanges). A formação da camada mais interna que reveste os vasos sanguíneos recém-formados ocorre através das *phalanx cells*, as quais se alinham em uma única camada melhorando dessa forma o fluxo sanguíneo, a perfusão e oxigenação tecidual. Esse processo é repetido até o equilíbrio entre os fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos seja reestabelecido. A figura 5 representa diferenciação das células endoteliais em *tip cells*, *stalk cells* e *phalanx cells*. Já a figura 6 representa a atuação das *tip cells* e *stalk cells* na angiogênese (LACERDA, 2015; POLLI, 2015; VIEIRA, 2014; MENEGHELLI, 2013; RIBATTI; CRIVELLATO, 2012; SOUZA E. 2011;).

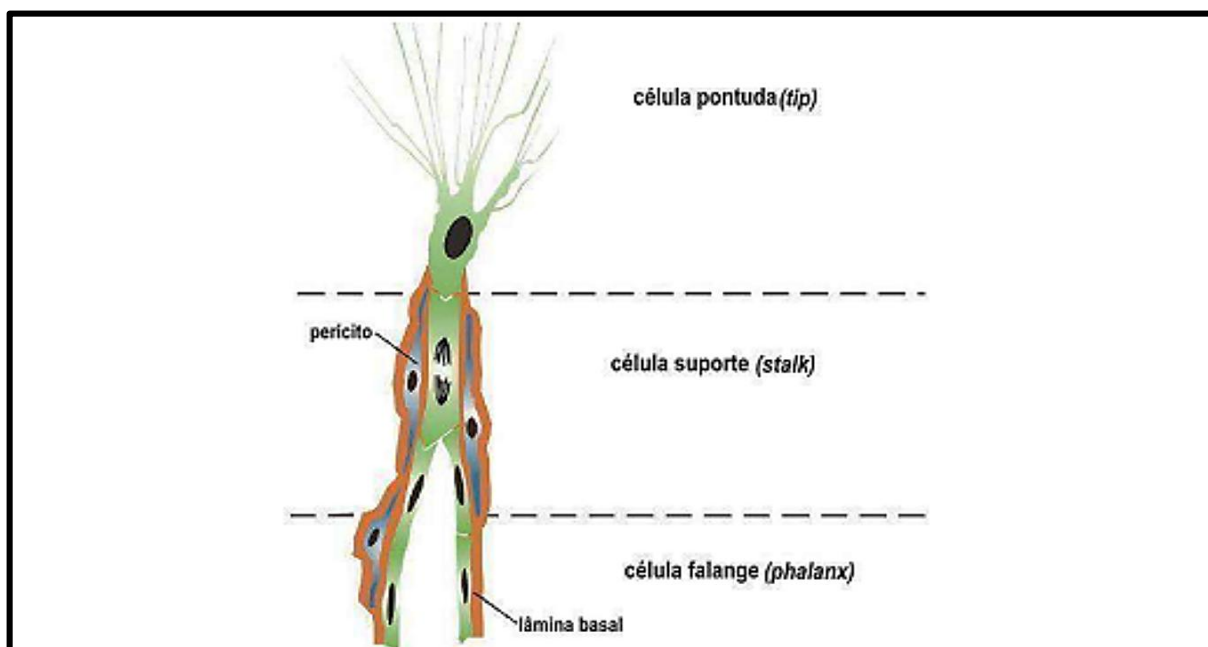


Figura 5 – Células endoteliais em *tip cells*, *stalk cells* e *phalanx cells*.
FONTE: Adaptado de MENEGHELLI, 2013.

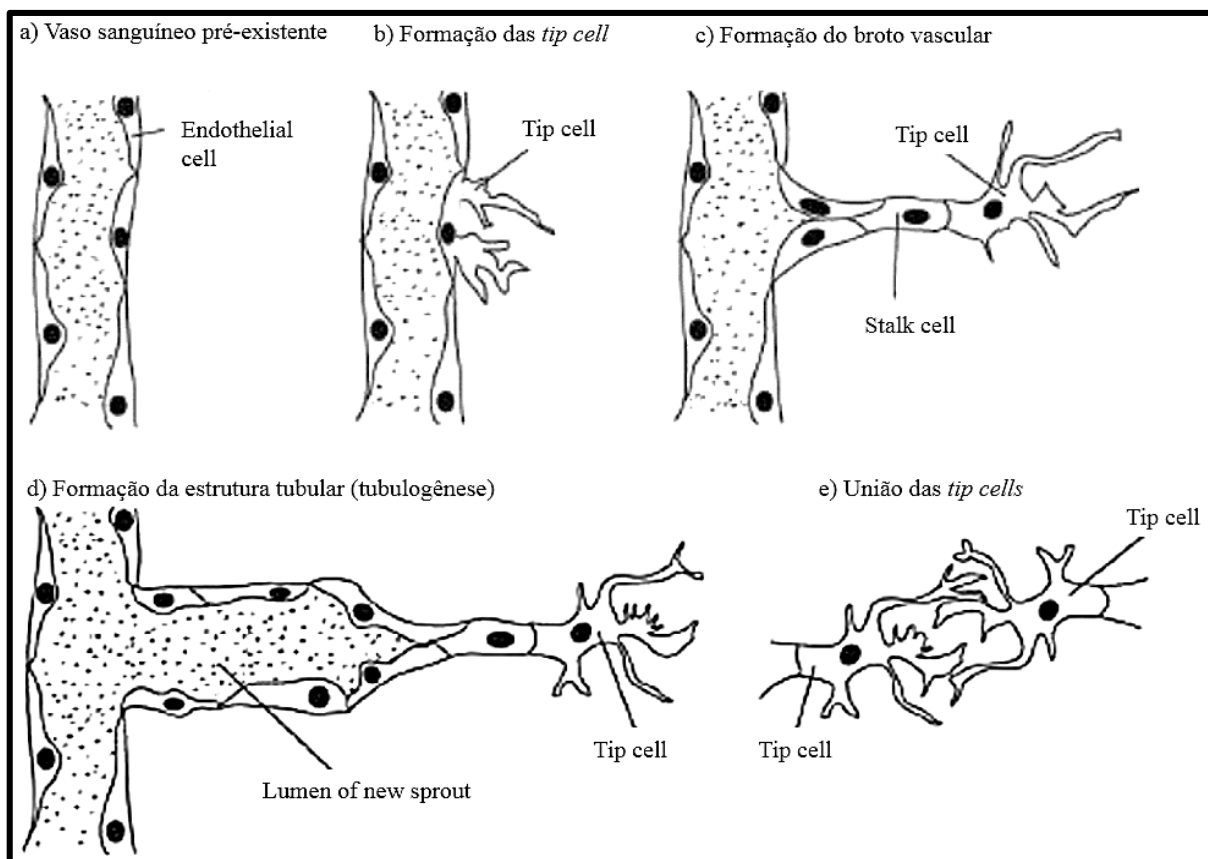


Figura 6 – Atuação das *tip cells* e *stalk cells* na angiogênese.
 FONTE: Adaptado de VIEIRA, 2014.

3.1 Regulação da angiogênese

Como dito anteriormente, nos processos fisiológicos a angiogênese é um processo altamente ordenado e regulado, havendo portanto um equilíbrio entre os fatores pró-angiogênicos (fatores angiogênicos) e anti-angiogênicos (angiostáticos). Já nos processos patológicos, há um desequilíbrio dos fatores envolvidos na angiogênese levando assim ao surgimento desregulado de novos vasos sanguíneos, o que constitui um fator importante no desenvolvimento de quadros clínicos relacionados à angiogênese patológica, como por exemplo o desenvolvimento de algumas neoplasias, entre outros (FERREIRA C. 2013; MENEGHELLI, 2013; BERTI, 2008).

A regulação do processo de formação de novos vasos sanguíneos é feita pela interação entre fatores os angiogênicos e anti-angiogênicos. Alguns dos vários fatores que estimulam a angiogênese (fatores angiogênicos) podem ser citados são os fatores de crescimento de fibroblastos (FGF-1, FGF-2), fatores de crescimento endotelial vascular (VEGFs, incluem seis membros: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, e o fator de crescimento placentário - PLGF), fator de crescimento transformante (TGF- α , TGF- β), angiopoietinas, entre

outros. Já alguns dos vários fatores anti-angiogênicos (angiostáticos) que podem ser citados são a trombospondina-1, angiostatina, endostatina, entre outros. Além da atuação dos fatores angiogênicos e anti-angiogênicos, a angiogênese envolve a participação de outras moléculas como citocinas, quimiocinas, enzimas, caderinas, integrinas, selectinas, fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos (interleucinas e prostaglandinas) e células endoteliais. A relação dos fatores angiogênicos (ativam a angiogênese) e fatores angiostáticos (inibem a angiogênese) mais conhecidos é apresentada na figura 7 (POLLI, 2015; PRADO, 2014; FERREIRA C. 2013; BORBA, 2012; BERTI, 2008; FERREIRA P. 2007).

Ativadores	Inibidores
Fator de Crescimento Endotelial Vascular(VEGF)	Trombospondina
Fator de crescimento de fibroblastos - básico (FGF2)	Angiostatina
Metalloproteinase da matriz(MMP)	Endostatina
Angiopietina (Ang)	
Angiogenina	Canstatina
Fator de crescimento plaquetário (PLGF)	
Timidinafosforilase	Condromobulina-1
Angiogenina	Heparinases
Ciclooxigenase2 (COX 2)	Fator derivado do epitélio pigmentado
Fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF)	Ácido retinóico
Fator de crescimento transformante (TGF-β)	Retinoides
Fator de Necrose Tumoral α (TNF α)	Interferon-γ
Integrinas	Fator derivado do epitélio pigmentado
Interleucinas: IL -1α e IL-8	Troponina – derivada da cartilagem
Molécula de Adesão Celular Plaqueta-Endotelio (PECAM-1)	Interleucina: IL-4, IL-12

Figura 7 – Relação dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos mais conhecidos.
 FONTE: BORBA, 2012.

Alguns dos mais importantes e mais estudados fatores envolvidos na angiogênese são os membros da família dos fatores de crescimento vascular endotelial (VEGF), que juntamente com seus receptores (VEGFRs) possuem importantes papéis na regulação da angiogênese. O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) foi sequenciado e isolado por Ferrara e Henzel em 1989. Com o passar dos anos foram descobertos seis membros dessa família: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e o fator de crescimento placentário (PLGF, também conhecido como PIGF). Os membros da família da VEGF se ligam com três receptores do tipo quinase: VEGFR-1, VEGFR-2, e VEGFR-3 (POLLI, 2015; BAMPI, 2014; MENEGHELLI, 2013; BORBA, 2012; FERREIRA P. 2007).

O VEGF é o principal membro dessa família e está envolvido tanto em processos fisiológicos quanto patológicos. Dentre os muitos efeitos que o VEGF exerce sobre a angiogênese podem ser citados aumento da permeabilidade vascular, estímulo da proliferação e sobrevivência das células endoteliais, aumento da expressão de enzimas proteolíticas (proteases e metaloproteinases) e mudanças na expressão de moléculas de adesão. Os principais efeitos do VEGF na angiogênese são mediados pelo receptor VEGFR-2. O VEGFR-1 parece influenciar negativamente a angiogênese pois ele suprime a sinalização do receptor VEGFR-2. O VEGFR-3 é um receptor que fundamentalmente age e é expresso nos vasos linfáticos (POLLI, 2015; BAMPI, 2014; MENEGHELLI, 2013; BORBA, 2012; FERREIRA P. 2007).

3.2 Membrana corioalantoide para avaliação da angiogênese

Atualmente existem diversos modelos experimentais “*in vivo*”, “*ex vivo*”, e “*in vitro*” para se analisar influência de um ou mais substâncias sobre a angiogênese. Dentre as muitas metodologias experimentais “*in vivo*” existente atualmente podem ser citadas o ensaio da membrana corioalantoide (MCA) de *Gallus domesticus*, neovascularização da córnea de coelhos, implante subcutâneo (Gelfoam® ou do plug de Matrigel®) em ratos e camundongos, modelo experimental em *Danio rerio* (peixe-zebra), entre outros (POLLI, 2015; MENEGHELLI, 2013).

A membrana corioalantoide (MCA) do ovo embrionado de galinha é uma membrana é uma membrana formada no quarto dia do desenvolvimento embrionário através da fusão da mesoderme com a ectoderme coriônica. Altamente vascularizada, a membrana corioalantoide apresenta papel fundamental no desenvolvimento embrionário, sendo que duas das funções da MCA são intermediar as trocas gasosas e levar de oxigênio ao embrião auxiliando assim na respiração do embrião, entre outras. O desenvolvimento normal do embrião dura 21 dias, sendo

que até o décimo-primeiro dia a rede vascular apresenta forte e constante desenvolvimento, após o décimo-primeiro dia há uma importante redução no desenvolvimento dessa rede vascular. A partir do décimo-terceiro dia não há mais o crescimento dos vasos sanguíneos, e a partir dessa etapa (a partir do décimo-terceiro dia de desenvolvimento) a MCA já pode ser usada para avaliar a influência de substâncias na angiogênese. A figura 8 representa o ovo embrionado de galinha e suas respectivas membranas (FERREIRA C. 2013; MELO-REIS, 2009).

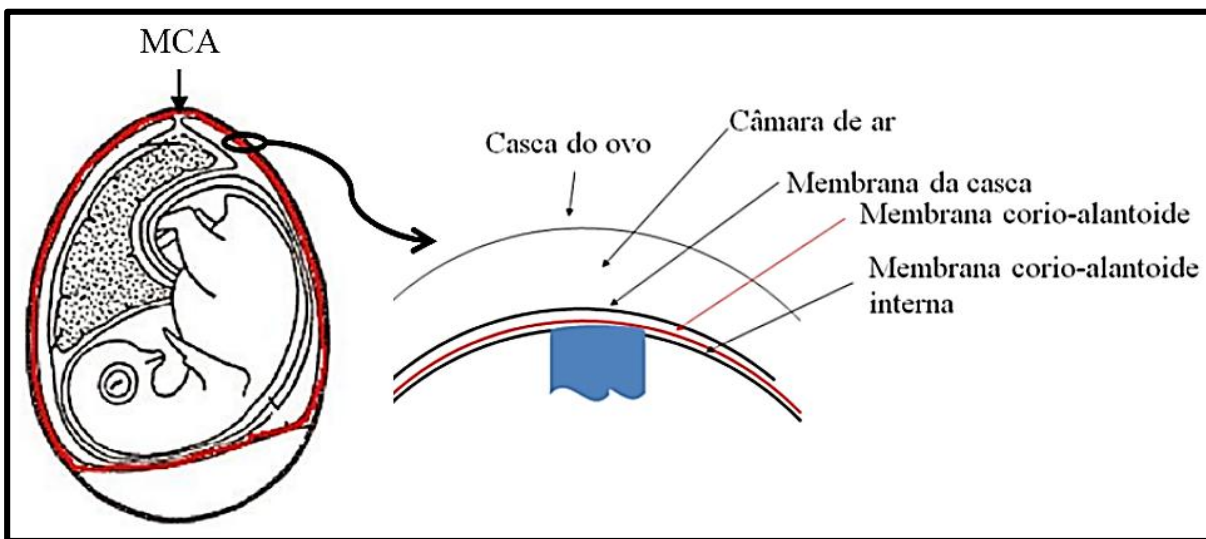


Figura 8 – Ovo embrionado de galinha e suas respectivas membranas.

FONTE: Adaptada de MELO-REIS, 2009. A figura à esquerda representa o ovo embrionado de galinha, nesta figura a sigla MCA significa membrana corioalantoide. Já a figura da direita ilustra as membranas do ovo embrionado de galinha.

Dentre as vantagens apresentadas pelo modelo experimental da MCA podem ser citadas a reprodutibilidade, baixo custo financeiro, facilidade na execução e na visualização da rede vascular, simplicidade na rotina de incubação em estufas (PRADO, 2014; MELO-REIS, 2009; BERTI, 2008).

4 GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE

Frequentemente os seres vivos estão expostos à diversos agentes físicos, químicos e biológicos que podem interagir com o material genético levando à alterações genéticas. Essas alterações podem ser a nível gênico ou cromossômico podendo alterar ou não os processos fisiológicos. Entretanto, os seres vivos possuem um sistema de reparo de DNA o qual é responsável por detectar, controlar e corrigir as alterações sofridas pelo código genético garantindo assim sua a estabilidade e a sobrevivência da célula ou organismo (CARVALHO, 2014; TERRAZAS, 2013; FAGUNDES G. 2012).

O sistema de reparo pode reparar ou não as alterações sofridas pelo DNA, sendo que quando essas mudanças conseguem ser reparadas elas são chamadas de alterações genotóxicas, não sendo portanto permanentes. Entretanto, quando estas alterações não conseguem ser reparadas elas se tornam permanentes, passando a serem chamadas de mutações e podendo ou não serem transmitidas às futuras gerações, essas alterações permanentes são chamadas de alterações mutagênicas (CARVALHO, 2014; TERRAZAS, 2013; FAGUNDES G. 2012).

Contudo, existem agentes que possuem a capacidade de prevenir modificações genéticas, esses agentes são conhecidos agentes antígenotóxicos ou antimutagênicos. Agente antígenotóxico ou antimutagênico é toda substância que, independentemente do mecanismo de ação evita danos ao DNA, diminuindo dessa forma a frequência de mutações espontâneas ou induzidas. Os agentes antimutagênicos podem agir através da desmutagênese ou bioantimutagênese. Na desmutagênese, os agentes mutagênicos são diretamente inativados por ação química ou enzimática, inibindo que pró-mutagênicos ativados através do metabolismo ou sequestrando moléculas reativas. Na bioantimutagênese, os agentes antimutagênicos agem modulando o reparo e replicação do DNA, dessa forma os antimutagênicos inibem possíveis falhas do sistema de reparo que podem levar a erros (SILVA CAROLINA 2015; FAGUNDES G. 2012; MELO-REIS, 2009).

Existem disponíveis testes bem definidos e amplamente aceitos pelas agências regulatórias e comunidade científica para se avaliar a genotoxicidade e/ou mutagenicidade de um agente físico, químico ou biológico. Dentre esses testes podem ser citados os testes do cometa e o teste do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos. Uma das diferenças entre esses dois testes é que o teste do cometa detecta lesões que podem ser reparadas, enquanto do micronúcleo detecta lesões permanentes (BARROS A. 2013; TERRAZAS, 2013).

4.1 Teste do micronúcleo

O teste do micronúcleo foi originalmente desenvolvido em 1971 por Schmid e colaboradores, sendo posteriormente modificado por Heddle em 1973. É um teste mutagênico mas que atualmente vem sendo muito utilizado para a avaliação de aberrações cromossômicas estruturais e numéricas causadas por agentes clastogênicos (agente que causam quebras cromossômicas) e agentes aneugênicos (agentes que causam aneuploidia ou segregação cromossômica anormal). A figura 9 ilustra como ocorre a formação de micronúcleos por agentes clastogênicos e agentes aneugênicos (TERRAZAS, 2013; GONÇALVES, 2012; VALE, 2012).

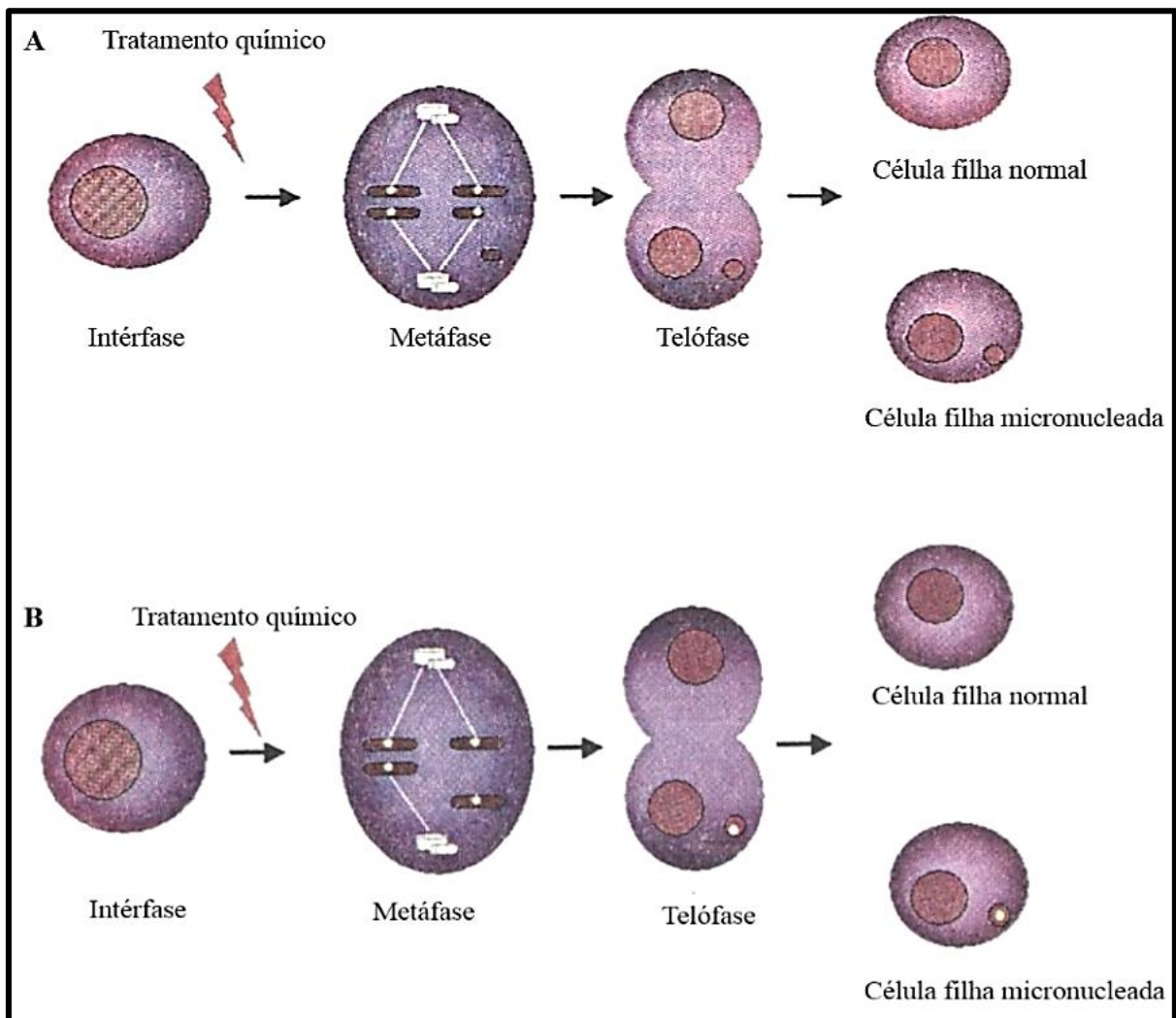


Figura 9 – Processo de formação de micronúcleo por agentes clastogênicos e agentes aneugênicos.

FONTE: Adaptada de RIBEIRO, 2003. A figura [A] ilustra o processo de formação de micronúcleo por agentes clastogênicos; A figura [B] ilustra o processo de formação de micronúcleos por agentes aneugênicos.

Micronúcleos são pequenos corpúsculos de cromatina que aparecem nas células filhas como consequência de danos genéticos nas células parentais que não foram reparados ou sofreram reparação errônea. Esses pequenos corpúsculos cromatídicos se parecem com um pequeno núcleo e estão situados no citoplasma ficando separados do núcleo principal, sendo provenientes de fragmentos de cromossomos acêntricos (cromossomos que não possuem centrômero) ou cromossomos inteiros que, devido à danos no centrômero ou defeitos na citocinese se atrasaram durante a migração para os polos da anáfase não sendo portanto inseridos no núcleo recém formado na telófase (COSTA E. 2015; GONÇALVES, 2012; CARMO, 2009; MELO-REIS, 2009; ROLL, 2005).

Algumas das características do micronúcleo em relação ao núcleo principal são: ser separado, possuir menor tamanho e mesma intensidade de coloração, ou eventualmente, ser mais escuro, e não apresentar refringência (COSTA E. 2015; BIANCHI, 2008).

O teste do micronúcleo deve ser preferencialmente feito em células que estejam em altas e constantes taxas de divisões celulares como por exemplo os eritrócitos policromáticos produzidos pela medula óssea e presentes no sangue periférico de mamíferos. Dentre as características que favorecem o uso de eritrócitos (hemácias) no teste do micronúcleo estão a elevada rotatividade (precisam de contínua reposição), serem células anucleadas, e por permitirem serem diferenciados em eritrócitos policromáticos pela presença de RNA (GONÇALVES, 2012).

Durante a maturação dos eritroblastos em eritrócitos policromáticos o núcleo principal dos eritroblastos é expulso restando apenas os micronúcleos no citoplasma. Os eritrócitos policromáticos (EPC - eritrócitos jovens) ainda são imaturos, sendo que após a maturação ele serão chamados de eritrócitos normocromáticos (ENC - eritrócitos maduros). Um dos tipos celulares mais usados para a detecção do micronúcleo em estudos “*in vivo*” são os eritrócitos policromáticos da medula óssea de camundongos ou ratos, sendo que a presença de micronúcleos em eritrócitos policromáticos representa dano recente pois este tipo de eritrócito não possui núcleo e possuem curto período de vida, sendo o ciclo de divisão dessas células é em torno de 22 a 24 horas. A figura 10 representa um esfregaço de medula óssea com eritrócitos normocromáticos, e eritrócitos policromáticos micronucleados mostrando a diferença no coloração dos dois tipos eritrocitários (CARNEIRO 2016a; VALE, 2012; ALMEIDA M. 2008; BIANCHI, 2008).

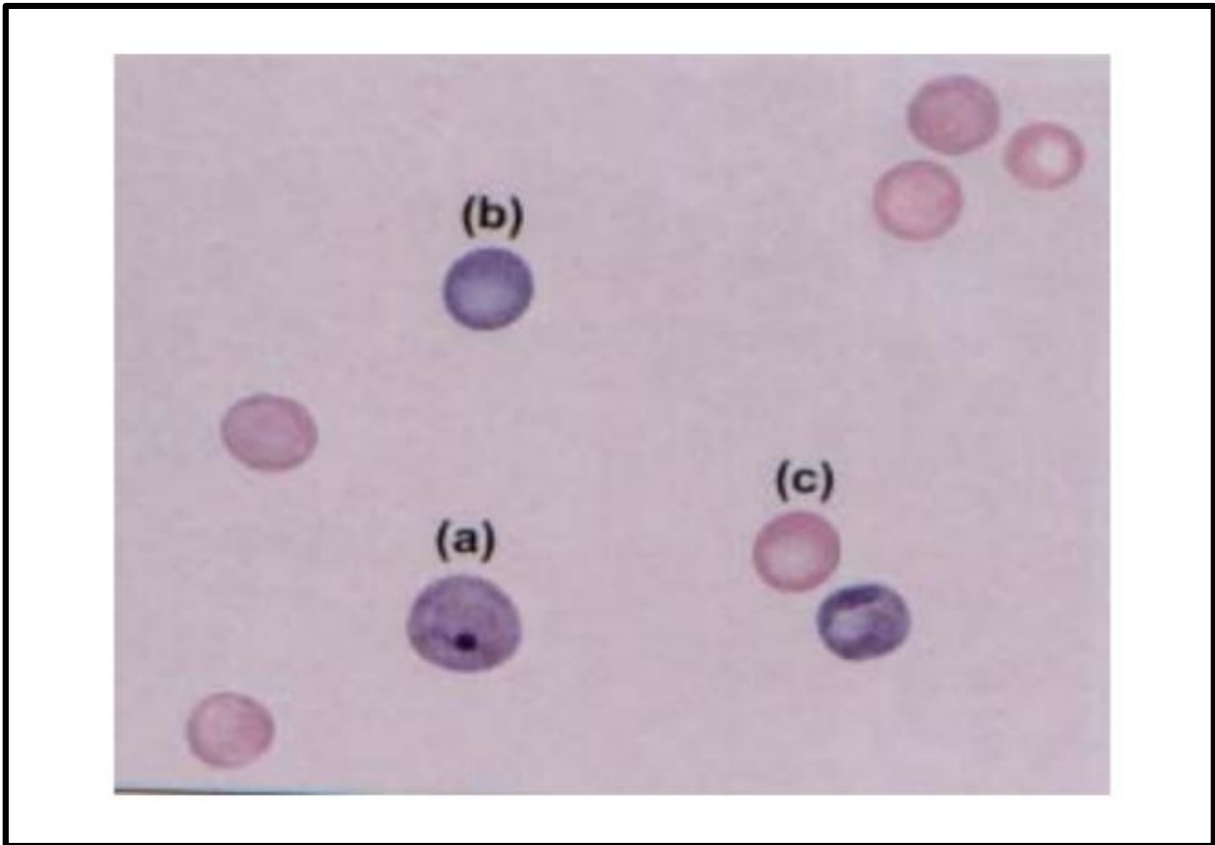


Figura 10 – Esfregaço de medula óssea com eritrócitos normocromáticos, e eritrócitos policromáticos micronucleados mostrando a diferença na coloração dos dois tipos eritrocitários. FONTE: RIBEIRO, 2003. A célula (a) representa um eritrócito policromático micronucleado; A célula (b) representa um eritrócito policromático; A célula (c) representa um eritrócito normocromático.

No ensaio do micronúcleo em medula óssea é feita a contagem de micronúcleos em 2000 eritrócitos policromáticos (EPC). A contagem do total de EPC, e do total de ENC permite o cálculo da relação EPC/ENC, determinando assim a citotoxicidade ou depressão celular causada por um agente. Contudo, uma diminuição na quantidade EPC refletirá também na redução da relação EPC/ENC (VALE, 2012).

Dentre as vantagens apresentadas pelo ensaio do micronúcleo podem ser citadas a fácil análise dos resultados, financeiramente econômico, detecta vários tipos de danos citogenéticos sendo que os micronúcleos são de fácil identificação, oferece a possibilidade de avaliar a citotoxicidade do agente testado, pode ser feito tanto em estudos “*in vitro*” quanto “*in vivo*” desde que as células usadas em proliferação (SANTOS N. 2015; BIANCHI, 2008).

4.2 Teste cometa

O ensaio cometa (SCGE - Single Cell Gel Eletrophoresis), também chamado de eletroforese de célula única, foi desenvolvido pela primeira vez por Östling e Johanson em 1984 com a finalidade de detectar possíveis danos sofridos pelo DNA. Nessa primeira versão do

ensaio cometa, após a corrida eletroforética em condições neutras era possível apenas a detecção de danos ao DNA de fita dupla. Posteriormente a metodologia do ensaio cometa foi adaptada por Singh e colaboradores em 1988. Na metodologia adaptada por Singh e colaboradores, a técnica do ensaio cometa é feita condições alcalinas utilizando uma solução tampão com pH acima de 13, sendo possível detectar danos tanto em fita dupla quanto em fita simples, lesões em sítios álcali-lábeis, locais de reparo por excisão e crosslinks (OLIVEIRA M. 2014; BARROS A. 2013; TERRAZAS, 2013; SILVA J. 2007).

O teste cometa é uma metodologia utilizada para detectar danos genéticos induzidos por diferentes tipos de agentes, sendo que as lesões identificadas através desta metodologia podem ou não virem a ser corrigidas. Dessa forma, o ensaio cometa também é usado em estudos de reparo do DNA podendo conseguir dados sobre a cinética e o tipo lesão corrigida. Entretanto, o ensaio cometa não permite avaliar a precisão do processo de reparo (FAGUNDES G. 2012; MELO-REIS, 2009).

Na metodologia do ensaio cometa primeiramente as células obtidas de um ser vivo são embebidas em uma solução em uma solução contendo gel de agarose e lise. Após serem embebidas no gel de agarose com a solução lise, as membranas celulares sofrem um processo de lise e suas proteínas nucleares são extraídas. Como o DNA possui mais peso que os outros componentes que restaram, este tende a ficar retido em uma estrutura conhecida como nucleoide (conjunto de alças enoveladas de DNA que não possuem histonas e que ficam aderidas a matriz nuclear remanescente). Essas células então são submetidas à uma corrida em gel de eletroforese, o que faz com que o DNA (possui cargas elétricas negativas) fragmentado livre migre em direção ao polo positivo e se afaste do núcleo principal, formando assim a cauda e dando à célula a aparência de um cometa com cabeça (região nuclear) e cauda (constituída pelos fragmentos de DNA). Os cometas formados através da corrida eletroforética podem então ser corados e analisados por microscopia de fluorescência usando corantes fluorescentes como brometo de etídio, iodeto de propídio e *Syber Green*, ou podem ser analisados em microscopia óptica usando corantes como nitrato de prata ou Giemsa. A figura 11 representa a estrutura de um cometa com a cabeça e cauda (SANTOS N. 2015; OLIVEIRA M. 2014; BARROS A. 2013; LEITE et al. 2013; MENEZES, 2011; MELO-REIS, 2009).

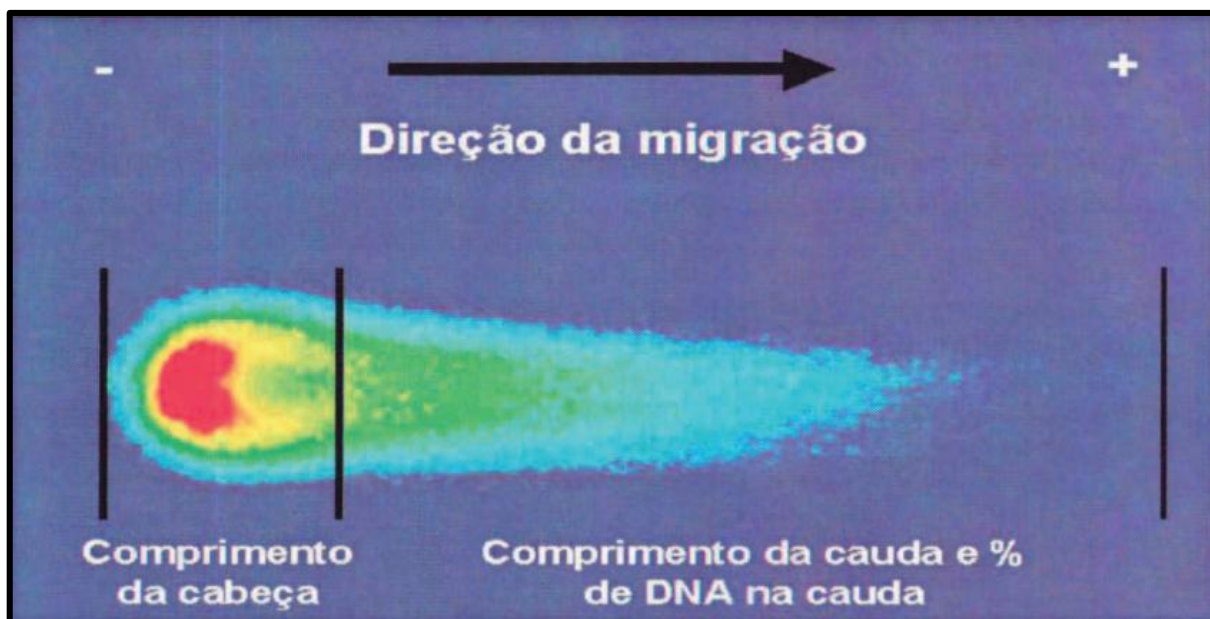


Figura 11 – Estrutura de um cometa com cabeça e cauda.
 FONTE: OLIVEIRA M. 2014.

No ensaio cometa, a avaliação do DNA fragmentado é medida através da corrida desses fragmentos na eletroforese com posterior análise da cabeça e da cauda do cometa formado, sendo que, quanto maior quantidade de quebras de DNA, maior será extensão da migração do DNA lesado. A análise dos cometas formados pode ser feita tanto visualmente quanto automatizada utilizando-se softwares específicos para essa finalidade. Durante a análise dos cometas as células normais (células que não possuem dano detectável no DNA) apresentam núcleo redondo. Enquanto que as células possuem danos detectáveis no DNA apresentam uma cauda constituída por fragmentos de DNA de diferentes tamanhos. A figura 12 apresenta a análise de células pelo cometa (MENEZES, 2011; CARMO, 2009; MELO-REIS, 2009).

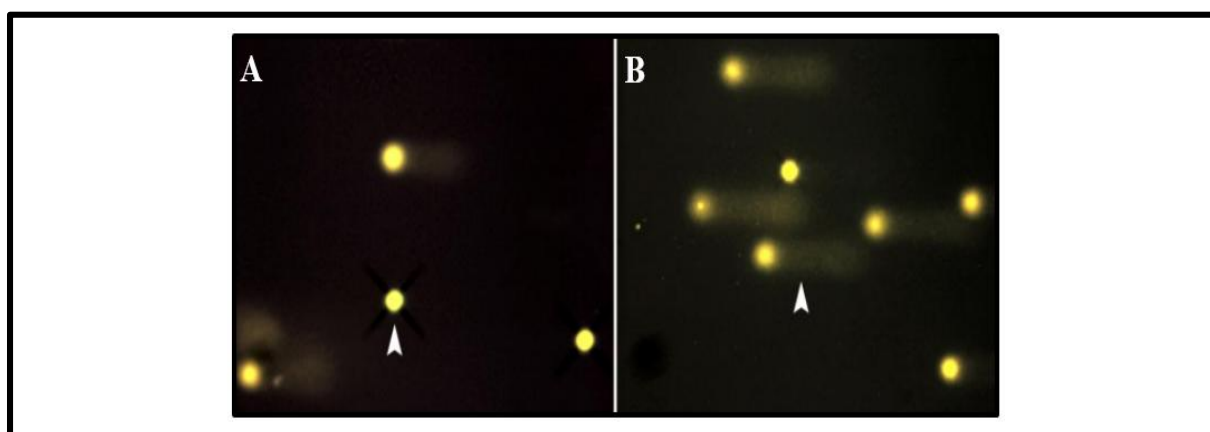


Figura 12 – Análise de células pelo ensaio cometa.
 FONTE: Adaptada de MELO-REIS, 2009 p 31. Na figura [A] a seta demonstra uma célula normal. Na figura [B] a seta demonstra uma célula em “cometa”.

Dentre as vantagens apresentadas pelo ensaio cometa podem ser citadas a versatilidade celular a ser usada nos experimentos, requer pouca quantidade de células para análise, as células a serem utilizadas não precisam estar em divisão, possui grande sensibilidade e flexibilidade, é uma metodologia financeiramente econômica e rápida, e possui fácil aplicação (CARVALHO, 2014; FAGUNDES G. 2012).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivos gerais

O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade angiogênica e/ou antiangiogênicas e o potencial mutagênico e/ou antimutagênico do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará).

5.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a possível atividade angiogênica e/ou antiangiogênica do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará) mediante realização de testes laboratoriais “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental a membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha.
- ✓ Avaliar o potencial mutagênico do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará) mediante a realização de experimentos “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental o teste de micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.
- ✓ Avaliar o potencial genotóxico do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará) mediante a realização de experimentos “*in vivo*”, utilizando como modelo experimental o teste cometa em células sanguíneas de camundongos.
- ✓ Avaliar o potencial antimutagênico do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará) mediante realização de experimentos “*in vivo*”, pelo tratamento simultâneo do óleo essencial e de um composto sabidamente genotóxico, doxorrubicina, utilizando-se o teste de micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos.
- ✓ Avaliar o potencial antígenotóxico do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* (Cambará) mediante realização de experimentos “*in vivo*”, pelo tratamento simultâneo do óleo essencial e de um composto sabidamente genotóxico, doxorrubicina, utilizando-se como modelo experimental o teste cometa em células sanguíneas de camundongos.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Materiais

6.1.1 Óleo essencial das folhas de *Lantana camara*

O óleo essencial das folhas de *Lantana camara* foi fabricado pela Argila Ind. e Com. de Cosméticos Ltda, CNPJ N^o: 06.204.801/0001-55, localizada em Juiz de Fora – MG, sob responsabilidade do farmacêutico Rodrigo Prota Venâncio, CRF – MG 22231. Ele foi adquirido da empresa distribuidora Laszlo Aromaterapia Ltda, CNPJ N^o: 07.997.093/0001-10, localizada em Belo Horizonte – MG.

Foram comprados dois frascos do óleo essencial das folhas de *Lantana camara*, sendo que cada frasco contém 10,1 ml, 100% puro e natural, extraído pelo método de arraste à vapor, a partir das folhas da planta, origem Madagascar. Os dois frascos pertencem ao lote 002322, validade em novembro de 2018, produto sob isenção de registro.

✓ Controles utilizadas no ensaio da membrana corioalantoide:

1. Controle inibidor: Dexametasona solução injetável 4 mg/mL - Decadron®, Aché Laboratórios Farmacêuticos, Lote n^o: 1513259, validade em dezembro de 2017.
2. Controle neutro: Água para Injeção, Samtec Biotecnologia Ltda, Lote: CIA, validade em junho de 2018.
3. Controle positivo: Regederm®, Pele Nova Biotecnologia, Lote n^o: 00134061, validade em fevereiro de 2018.

✓ Controles utilizados no ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos, e ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos:

1. Controle negativo: Óleo de Soja Liza ®, Cargill Agrícola S.A, Lote: 05 R, validade em novembro de 2016.
2. Controle positivo: Doxorubicina pó liofilizado injetável 10mg - Oncodox®, Cipla Limited, Lote n^o: 140294, validade em julho de 2017.

6.2 Ovos embrionados de galinha

Foram adquiridos ovos férteis de galinha (*Gallus domesticus*).

6.3 Camundongos

Para realizar os testes do micronúcleo e teste cometa foram utilizados 40 camundongos machos heterogênicos, saudáveis, da espécie *Mus musculus* “out bread” 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 no dia do experimento.

6.3.1 Aspectos éticos

O presente estudo teve a provação da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Protocolo 9217091215.

6.3.2 Tempo de testagem dos ensaios

Os ensaios foram realizados no tempo de 24 horas após a inoculação das substâncias (testes e controles).

6.3.3 Grupos e tratamentos

Foram preparadas diluições a partir do óleo essencial das folhas de *Lantana camara* em concentrações compatíveis para a aplicação das doses de 300, 600 e 1.200 mg/kg de peso do animal. O controle negativo foi o óleo de soja e o controle positivo foi a solução de doxorrubicina na dose de 2,0 mg/kg.

Cada grupo foi constituído por 5 camundongos *Mus musculus* para os ensaios pretendidos:

- 1 - Grupo Teste da mutagenicidade – 15 camundongos
- 2 - Grupo Teste da antimutagenicidade – 15 camundongos
- 3 – Grupo controle positivo - 5 camundongos
- 4 – Grupo controle negativo - 5 camundongos

Totalizando 40 animais

6.3.4 Padronização do ambiente

Os animais foram adaptados ao espaço físico do Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos (LEB) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, situado na Rua 232, Nº 128 – Setor Universitário – Área V – 3º andar, sala 5 (Próximo à Praça Botafogo) CEP 74605-140, Goiânia – GO.

A adaptação dos animais ao ambiente proposto priorizou o bem-estar, de forma que as gaiolas ficaram próximas umas das outras para diminuir o estresse entre os animais. A luminosidade, a temperatura, a intensidade de ruído e a umidade relativa do ar foram as do ambiente geral. O experimento teve início após o período de sete dias de ambientação, conforme preconizado pelos comitês de ética.

6.3.5 Condições de alojamento e higienização

Os animais foram alojados em caixa tipo gaiola de prolipileno de dimensões 30x20x13 cm. Cada gaiola abrigou no máximo 05 (cinco) animais. As gaiolas foram forradas com maravalha. A higienização foi realizada a cada 02 dias com troca da maravalha.

6.3.6 Condições de alimentação dos animais

Os camundongos foram alimentados com ração comercial Marca ALGOMIX indicada para animais de laboratório (ratos e camundongos). O teste do micronúcleo não exige restrição alimentar. Portanto, foram fornecidos alimentos sólidos (ração ALGOMIX) e água filtrada à vontade (*ad libitum*). Consumo aproximado de 05 gramas/animal/dia.

6.3.7 Forma de contenção dos animais

Os animais foram contidos manualmente durante a inoculação das substâncias testes e controle. Os animais foram adequadamente contidos de forma manual adotando-se os seguintes passos:

- 1) O camundongo foi retirado da gaiola e suspenso pela base da cauda, apoiando-o imediatamente sobre uma superfície onde pudesse se agarrar (tampa da caixa de outra gaiola). A utilização da tampa da gaiola como ponto de apoio para o camundongo favorece ao animal que nela se agarra, o que, por sua vez, dá a quem vai conter o animal firmeza para a realização das contenções posteriores.
- 2) Após a colocação do camundongo sobre a tampa da gaiola, segurou-se a pele da região dorso-cervical, entre os dedos indicador e polegar. Este procedimento inicial de imobilização da cabeça do camundongo tem como propósito de conferir segurança e firmeza a quem a realiza, pois deste modo, evita-se que o animal vire-se e morda.
- 3) A cauda do camundongo foi fixada entre os outros dedos e a palma da mão, para a limitação total de seus movimentos. Deste modo, pôde-se então proceder à administração de drogas via intraperitoneal.

7 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

7.1 Procedimento experimental para avaliação “*in vivo*” da atividade angiogênica/antiangiogênica na membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha

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 de incubação 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. Os realização do teste foi feita dentro de uma câmara de fluxo laminar, em ambiente previamente esterilizado com luz ultravioleta para não haver contaminações recíprocas (RIBATTI et al. 1996).

Após a realização da abertura na casca do ovo (utilizando-se seringa e solução salina estéreis) foi depositada uma gota (NaCl 0,9% p/v) de forma a auxiliar na retirada da membrana da casca, expondo a MCA já vascularizada. A abertura, então, foi vedada com fita adesiva transparente e o ovo novamente incubado, porém, sem agitação periódica e com a base furada voltada para cima.

Ao final do 13° dia de incubação, discos de papel de filtro, veiculando 3 µL do óleo essencial a ser testado e com os controle (negativos, indutores, inibidores), foram depositados diretamente sobre a membrana de forma cuidadosa. O ambiente foi totalmente estéril. Todos os ovos voltaram para a incubação até o 16° dia, quando foram retirados da incubadora (RIBATTI et al. 2001).

No 16° dia, foi adicionado solução de formol (3,7% v/v) até a abertura na casca do ovo, aguardou-se então 15 minutos. As MCAs foram cuidadosamente cortadas e retiradas mantidas em placa de Petri com solução de formol. Posteriormente, foram obtidas imagens por equipamento digital sobre um fundo azul claro, em tamanho 640 x 480 pixels e formato de RGB 24 bites, padronizados com objetivo de analisar e quantificar a rede vascular (WILTING et al. 1991).

Foram utilizadas uma câmera Sony Cyber-shot DCS-T300 10.1 megapixels com adaptação de uma lupa, o zoom utilizado foi de 1.7. As imagens também foram feitas utilizando um Microscópio Digital Usb Zoom 1000X Luz Led Câmera de 2.0 megapixels Foto e Vídeo Mc 1000. Este microscópio digital foi ligado a um computador usando o software *AMCAP versão 9.016* para a captura das imagens.

7.1.1 Análise das imagens

Posteriormente as iamgens foram então selecionadas e recortadas com o auxílio do programa *Paint versão 6.1*. Estas foram recortadas em um tamanho padronizado de 225 x 235 pixels de modo a não permitir que o disco de papel não aparecesse na imagem evitando-se assim erros nas quantificações. Logo em seguida as redes vasculares das membranas foram quantificadas utilizando o software *AngioQuant versão 1.33*. Os parâmetros analisados foram comprimento, calibre e número de junções dos vasos sanguíneos (NIEMISTO et al. 2005; BOETTCHER et al. 2010).

7.1.2 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi feita utilizando o software *BioEstat versão 5.3*. Calculou-se a média e o desvio padrão dos parâmetros analisados nos tratamentos através da análise descritiva. Os valores durante a quantificação das redes vasculares das membranas foram comparados entre si pela análise de variância ANOVA (um critério) – teste *Tukey*. As diferenças obtidas foram consideradas significativamente estatísticas quando apresentaram $p < 0,05$. O intervalo de confiança adotado neste estudo foi de 95% (CARNEIRO et al. 2016b).

7.2 Procedimento experimental para avaliação “*in vivo*” da atividade mutagênica/antimutagênica através do teste do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos

O experimento teve início após o período de sete dias de ambientação no Laboratório de Estudos Experimentais e biotecnológicos, Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde e Mestrado em Genética, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, conforme preconizado pelos comitês de ética

Cada grupo foi constituído por 5 camundongos albinos *Mus Musculus* que foram tratados, intraperitoneal, com as doses de 300, 600 e 1200 mg/kg do óleo essencial da *Lantana camara*, no tempo de 24 horas. O grupo controle negativo foi tratado com água óleo de soja, enquanto que o grupo controle positivo recebeu dose única intraperitoneal de 2 mg/kg, de doxorrubicina. Para a avaliação da antimutagenicidade, foram administrados as doses de 300, 600 e 1200 mg/kg do óleo essencial da *Lantana camara*, concomitantemente com dose de 2 mg/kg de doxorrubicina, no tempo de 24 horas.

Decorridas as 24 horas, os camundongos anestesiados com Tiopental (30 mg/kg) e logo em seguida fez-se a eutanásia por deslocamento cervical. Os fêmures foram retirados, as

epífises dos fêmures foram seccionadas, e a medula óssea lavada com 1 mL de soro fetal bovino. Após homogeneizada no soro, a medula foi centrifugada a 1.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi parcialmente descartado. O precipitado de células foi aspirado homogeneizado com uma pipeta de Pasteur e uma gota de suspensão celular foi colocada na lâmina de vidro onde foi confeccionado o esfregaço das células da medula óssea hematopoiética. Após secas, as lâminas foram fixadas em metanol absoluto por 5 minutos e coradas por corante Panótico Rápido (Laborclin®).

7.2.1 Análise citogenética

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico comum Nikon (Eclipse E200) com a finalidade de se detectar prováveis micronúcleos nos eritrócitos policromáticos (EPC) da medula óssea dos animais tratados. Para a visualização das células foi utilizada objetiva de imersão (1000x), sendo que para cada animal foram utilizadas duas lâminas analisando-se 2.000 EPC por lâmina. Para a avaliação citotoxicidade ou anticitotoxicidade, foi feita a contagem de eritrócitos policromáticos (EPC) e eritrócitos normocromáticos (ENC). A determinação da razão EPC/ENC foi feita de acordo com Schmid (1975).

7.2.2 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi feita utilizando o software *BioEstat versão 5.3*. Para cada um dos tratamentos foi feito o cálculo da média e o desvio padrão através da estatística descritiva. As frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) obtidas em cada tratamento foram comparadas com o grupo controle negativo (para avaliação da mutagenicidade) ou controle positivo (para avaliação da antimutagenicidade) pela análise de variância ANOVA (um critério) – teste *Tukey* (MELO-REIS et al. 2011; CARNEIRO et al. 2016b).

A frequência de EPC e ENC de cada um dos tratamentos foi comparada com o grupo controle negativo (para avaliação da citotoxicidade) ou positivo (para avaliação da anticitotoxicidade) pela análise de variância ANOVA (um critério) – teste *Tukey*.

Para ambas as análises (frequência de EPCMN, e frequência de EPC e ENC), valores de $p < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes. O intervalo de confiança usado nesta pesquisa foi de 95%.

7.3 Procedimento experimental para avaliação “*in vivo*” da atividade genotóxica/antigenotóxica através do teste do cometa em células sanguíneas de camundongos

O teste do cometa seguiu a técnica descrita por Singh et al. (1998) com adaptações. Para a realização do ensaio cometa foram preparadas lâminas previamente cobertas com agarose normal melting point a 1,5%. Após a eutanásia dos camundongos, foi coletado cerca de 1mL de sangue dos camundongos através de punção cardíaca utilizando-se uma seringa de 3mL previamente heparinizada e transferiu-se o sangue coletado para um eppendorf de 2mL. Posteriormente foi retirada da amostra de sangue uma alíquota de 15µL e misturou-se com 120µL agarose low melting point a 0,5%. Logo em seguida essa mistura foi depositada na lâmina previamente com agarose normal melting point e cobertas com lamínula, colocadas dentro de refrigeradores por 10 minutos. Posteriormente, as lamínulas foram delicadamente retiradas e as lâminas foram mergulhadas em solução de lise no refrigerador a uma temperatura de 4°C durante 24 horas.

Após as 24 horas, as lâminas foram colocadas ordenadamente na cuba horizontal de eletroforese que estava envolvida em gelo, sendo acrescentado tampão de eletroforese em condições alcalinas (pH 13) até cobrir as lâminas. Aguardou-se 25 minutos para que ocorresse a desnaturação do DNA. Logo em seguida a eletroforese foi realizada durante 25 minutos a 1V/cm a 300 mA. Após o termino da eletroforese as lâminas foram delicadamente retiradas e procedeu-se à neutralização das lâminas por 3 vezes durante 5 minutos com solução TRIS a 0,4 M e pH 7,5. Após secas, foi utilizado etanol para a fixação das lâminas. Todas as etapas do ensaio cometa foram realizadas ao abrigo da luz.

As lâminas foram coradas com cerca de 10 a 15 µL de brometo de etídio a 2%, depositando-o sobre o material e espalhando-o por meio de uma lamínula, que foi colocada sobre a lâmina, para análise subsequente. A captura das imagens ocorreu por meio da vídeo-microscopia de epifluorescência Axioplan-Imaging® (Carl Zeiss, Alemanha) com ajuda de uma objetiva de 10x empregando-se o software ZEN 2.3®.

7.3.1 Análise citogenética

A análise das lâminas foi feita em duplicata analisando-se 50 nucleoides por lâmina (100 por animal e 500 por tratamento). Os danos genômicos foram calculados mediante o emprego da ferramenta *Open comet versão 1.3*, a qual é vinculada ao software *Image J*. Os parâmetros analisados foram o comprimento da cauda, porcentagem de DNA na cauda, e momento da cauda de olive (GYORI et al. 2014).

7.3.2 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi feita utilizando o software *BioEstat versão 5.3*. Para a análise do padrão de distribuição das amostras foram realizados os testes Shapiro-Wilk observando-se o valor encontrado de p ($p < 0,05$ - amostras que não apresentam distribuição normal; $p > 0,05$ - amostras que apresentam distribuição normal). Posteriormente procedeu-se à Análise de Variância dos parâmetros analisados por meio dos seguintes testes: ANOVA (um critério); Análise de variância: *Kruskal-Wallis*; e Análise de variância: *Kruskal-Wallis* – comparações pelo método de *Dunn* (SERPELONI et al. 2008)

Os testes empregados na análise de variância foram definidos de acordo com o valor de p encontrado na distribuição dos dados. Para dados que não apresentaram distribuição normal foi aplicado Teste de *Kruskal-Wallis*. Já para dados que apresentaram distribuição normal foi aplicado ANOVA (um critério).

8 RESULTADOS

8.1 Angiogênese na membrana corioalantoide (MCA)

Neste estudo, analisou-se o possível efeito do óleo essencial de *Lantana camara* na concentração de 4,25 mg/ml, utilizando como modelo experimental a membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha (MCA). As redes vasculares das membranas foram analisadas no 16º dia do experimento após o tratamento com as substâncias analisadas.

As redes vasculares das MCAs foram quantificadas usando o software *AngioQuant*. Foram analisados três parâmetros: comprimento dos vasos sanguíneos, calibre dos vasos sanguíneos, e número de junções. As médias e os desvios padrões obtidos através da quantificação são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Média e desvio padrão obtido na quantificação dos parâmetros comprimento, tamanho e números de junções dos vasos sanguíneos dos grupos controles e grupo testado com o Óleo de Camará.

Substâncias testadas	Comprimento	Calibre	Número de junções
Dexametasona (Controle inibidor)	651,0 ± 105,3 ^a	2477,3 ± 559,6 ^e	3,5 ± 1,1 ⁱ
Água para injeção (Controle neutro)	1507,5 ± 115,8 ^b	4474,5 ± 463,3 ^f	15,9 ± 2,3 ^j
Regederm (Controle positivo)	2150,2 ± 106,7 ^c	6730,5 ± 720,1 ^g	33,7 ± 2,5 ^k
Teste (óleo essencial de <i>Lantana camara</i>)	2751,9 ± 139,8 ^d	8816,8 ± 706,0 ^h	55,8 ± 2,3 ^l

ANOVA (um critério) – teste *Tukey*.

Letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Ao se analisar os parâmetros avaliados (comprimento, calibre e número de junções) observa-se que houve diferença significativa quando os grupos controle inibidor e controle neutro foram comparados com o controle positivo ($p < 0,05$). Também foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) quando o óleo essencial na concentração estudada (4,25 mg/ml) foi comparado com o controle positivo. Esta diferença foi confirmada através da análise variância ANOVA (um critério) – teste *Tukey*, o qual apresentou valores de $p < 0,05$ ao comparar os parâmetros avaliados entre os grupos controle.

A figura 13 apresenta redes vasculares das membranas após o tratamento com os controles e a substância teste (óleo essencial de *Lantana camara*) no 16º dia do experimento.

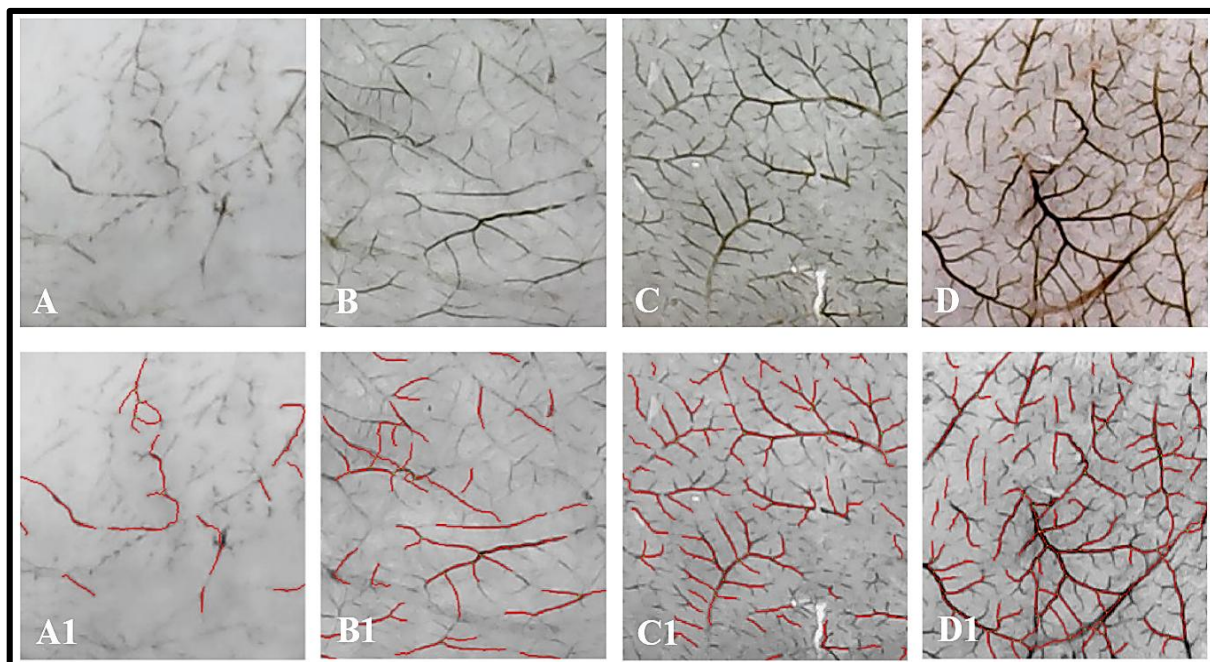


FIGURA 13 – Redes vasculares das membranas após o tratamento com os controles e a substância teste (óleo essencial de *Lantana camara*) no 16º dia do experimento.

Imagens representativas da rede vascular formada após de tratamento com controle e testes (óleo essencial) no 16º dia. Imagens representativas da rede vascular das membranas corioalantoides (MCAs) antes e após a quantificação com o *AngioQuant*. A e A1: MCA tratada com dexametasona (controle inibidor); B e B1: MCA tratada com água (controle neutro); C e C1: MCA tratada com Regederm® (controle positivo); D e D1: MCA tratada com teste (óleo essencial de *Lantana camara*).

8.2 Ensaio do Micronúcleo

8.2.1 Mutagenicidade e citotoxicidade avaliada pelo ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos

A avaliação das atividades mutagênica/antimutagênica, e citotóxica foi realizada pelo testes do micronúcleo na medula óssea hematopoiética de camundongos.

Os resultados da frequência de EPCMN, média, desvio padrão e relação EPC/ENC para a mutagenicidade e citotoxicidade são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Frequência de MN/EPC e relação entre EPC/ENC após 24 horas do tratamento com óleo essencial da *Lantana camara* em diferentes doses e controles.

Doses do óleo essencial de <i>Lantana camara</i> (mg/kg peso corporal)	Número de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)		Relação EPC/ENC Média ± DP
		Dados Individuais MN/2000 EPC	MN/2000 EPC Média ± DP	
300	5	2-4-2-4-2	2,8 ± 1,10 ^a	0,85 ± 0,09 ^c
600	5	5-6-6-7-8	6,4 ± 1,14 ^b	0,78 ± 0,08 ^d
1200	5	13-14-11-12-11	12,2 ± 1,30 ^b	0,64 ± 0,06 ^d
Óleo de soja (controle negativo)*	5	3-1-2-1-2	2,2 ± 0,84 ^a	0,96 ± 0,12 ^c
Doxorrubicina (controle positivo)**	5	20-17-18-25-14	18,8 ± 4,09	0,50 ± 0,10

ANOVA (um critério) – teste *Tukey*.

Letras iguais não possuem diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados ao controle negativo (óleo de soja); Letras diferentes possuem diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados ao controle negativo (óleo de soja). *Controle negativo: óleo de soja; ** Controle positivo: doxorrubicina (2 mg/kg peso corporal).

Na tabela 2 observa-se que o óleo essencial da *Lantana camara* apresentou atividades mutagênicas e citotóxicas. As doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg apresentaram diferenças significantes ($p < 0,05$) na frequência de EPCMN quando comparadas ao grupo controle negativo. Entretanto, a dose de 300 mg/kg não apresentou diferença quando comparada ao grupo controle negativo. Já na avaliação da citotoxicidade através da relação EPC/ENC, as doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quando comparadas ao controle negativo. Porém, a dose de 300 mg. kg⁻¹ não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) quando comparada ao controle negativo.

8.2.2 Antimutagenicidade e anticitotoxicidade avaliada pelo ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos

Na avaliação da antimutagenicidade e anticitotoxicidade, observa-se que as diferentes doses (300, 600 e 1200 mg/kg) do óleo essencial da *Lantana camara* administradas concomitantemente com doxorrubicina (2 mg/kg) não apresentaram atividades antimutagênica e nem anticitotóxica. Não foi detectado diferença significativa quando comparadas ao controle positivo. Não havendo interferência do óleo essencial na ação mutagênica da doxorrubicina. Já na avaliação da anticitotoxicidade através da relação EPC/ENC, nenhuma das doses testadas e tratadas simultaneamente com a doxorrubicina apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) quando comparadas ao controle positivo, não havendo portanto, interferência do óleo essencial na ação citotóxica da doxorrubicina.

Os resultados da frequência de EPCMN, média, desvio padrão e relação EPC/ENC para a antimutagenicidade e anticitotoxicidade são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Frequência de EPCMN e relação entre EPC/ENC após 24 horas de tratamento simultâneo de diferentes doses do óleo essencial da *Lantana camara* com doxorubicina.

Doses do óleo essencial de <i>Lantana camara</i> (mg/kg peso corporal) administradas concomitantemente com Doxorubicina (mg/kg peso corporal)	Número de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)		Relação EPC/ENC Média ± DP
		Dados Individuais MN/2000 EPC	MN/2000 EPC Média ± DP	
300 + 2,0	5	20-11-16-10-18	15,0 ± 4,36 ^a	0,51 ± 0,11 ^c
600 + Doxo	5	13-15-23-14-17	16,4 ± 3,97 ^a	0,46 ± 0,08 ^c
1200 + Doxo	5	9-17-15-11-13	13,0 ± 3,16 ^a	0,57 ± 0,10 ^c
Óleo de soja (controle negativo)*	5	3-1-2-1-2	2,2 ± 0,84	0,96 ± 0,12
Doxorrubicina (controle positivo)**	5	20-17-18-25-14	18,8 ± 4,09 ^a	0,50 ± 0,10 ^c

ANOVA (um critério) – teste *Tukey*.

Letras iguais não possuem diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados ao controle positivo (doxorubicina 2 mg/kg); *Controle negativo: óleo de soja; ** Controle positivo: doxorubicina (2 mg/kg peso corporal).

8.3 Ensaio do Cometa

8.3.1 Gentotoxicidade e antigenotoxicidade avaliada pelo ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos

A porcentagem de DNA na cauda do cometa, o comprimento da cauda do cometa e o momento da cauda de *olive* foram os parâmetros considerados na análise do potencial genotóxico utilizando o ensaio cometa, conforme descrito na literatura (MENEZES, 2011).

A figura 14 apresenta a imagem de núcleos de células sanguíneas de camundongos expostas às diferentes concentrações do óleo essencial de *Lantana camara*.

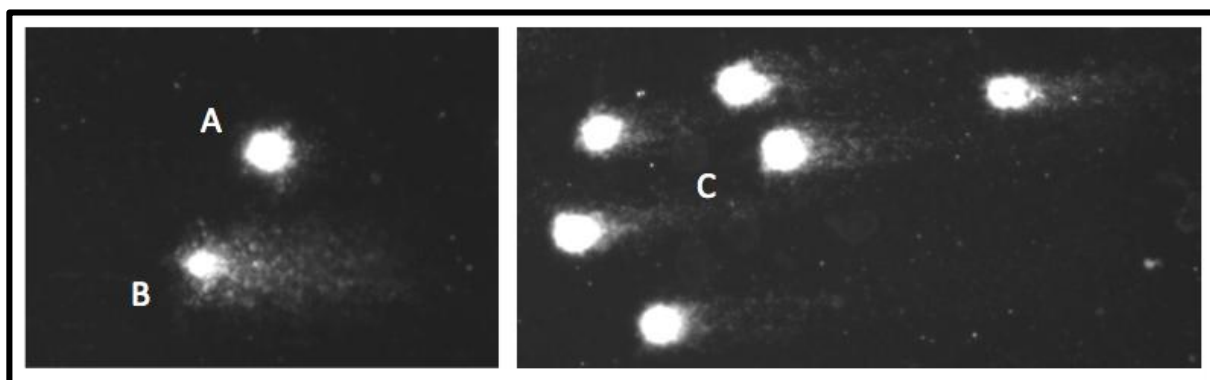


Figura 14 – Núcleos de células sanguíneas de camundongos expostos às diferentes concentrações do óleo essencial de *Lantana camara*.

Em [A] núcleo sem danos genômicos. Em [B] núcleo exibindo dano intenso. Em [C] diversos núcleos exibindo danos genômicos moderados.

Na avaliação da genotoxicidade, para cada dose (300 mg/kg, 600 mg/kg e 1200mg/kg), 05 camundongos (*Mus musculus*) receberam aplicações intraperitoneais do óleo essencial de *Lantana camara*. Os resultados obtidos a partir das amostras de sangue extraídas dos animais tratados apenas com o óleo essencial de *Lantana camara* foram comparados com os resultados oriundos de animais expostos ao óleo de soja, densidade de 0,891 g/mL (controle negativo).

Na avaliação da antigenotoxicidade do óleo essencial de *Lantana camara*, os animais receberam as mesmas doses descritas anteriormente concomitante com a aplicação de 2 mg/kg de doxorrubicina (agente indutor de danos genotóxicos). Os parâmetros obtidos em amostras de sangue oriundas de animais que receberam os tratamentos com óleo essencial e doxorrubicina foram comparados com os mesmos parâmetros obtidos de animais que receberam apenas a doxorrubicina.

Os resultados obtidos na avaliação da genotoxicidade estão apresentados na tabela 4, e indicam a porcentagem de DNA na cauda do cometa, o comprimento da cauda e o momento da cauda de *olive*.

Tabela 4 – Médias e desvios padrões dos parâmetros analisados pelo ensaio cometa para avaliação da genotoxicidade em células sanguíneas de camundongos.

Grupos analisados	Comprimento da cauda	Porcentagem de DNA na cauda	Momento da cauda de Olive
Controle Negativo	13,56 ± 1,36	15,32 ± 2,41	2,61 ± 0,86
300 mg/kg	21,39 ± 12,23	13,65 ± 2,39	3,21 ± 1,78
600 mg/kg	25,08 ± 7,84 [#]	14,16 ± 2,98	4,14 ± 1,73
1200 mg/kg	30,27 ± 15,10 [#]	15,07 ± 4,21	5,21 ± 3,10

Teste ANOVA (um critério); Análise de variância: *Kruskal-Wallis*; e Análise de variância: *Kruskal-Wallis* – comparações pelo método de *Dunn*.

Diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados com o controle negativo (óleo de soja).

A figura 15 ilustra os resultados da genotoxicidade observada (apenas para o parâmetro comprimento de cauda) em amostras de sangue obtidas a partir de animais expostos às diferentes doses de óleo essencial de *Lantana camara*, evidenciando diferenças significativas quando comparados com os resultados observados no sangue dos camundongos expostos ao óleo de soja (controle negativo).

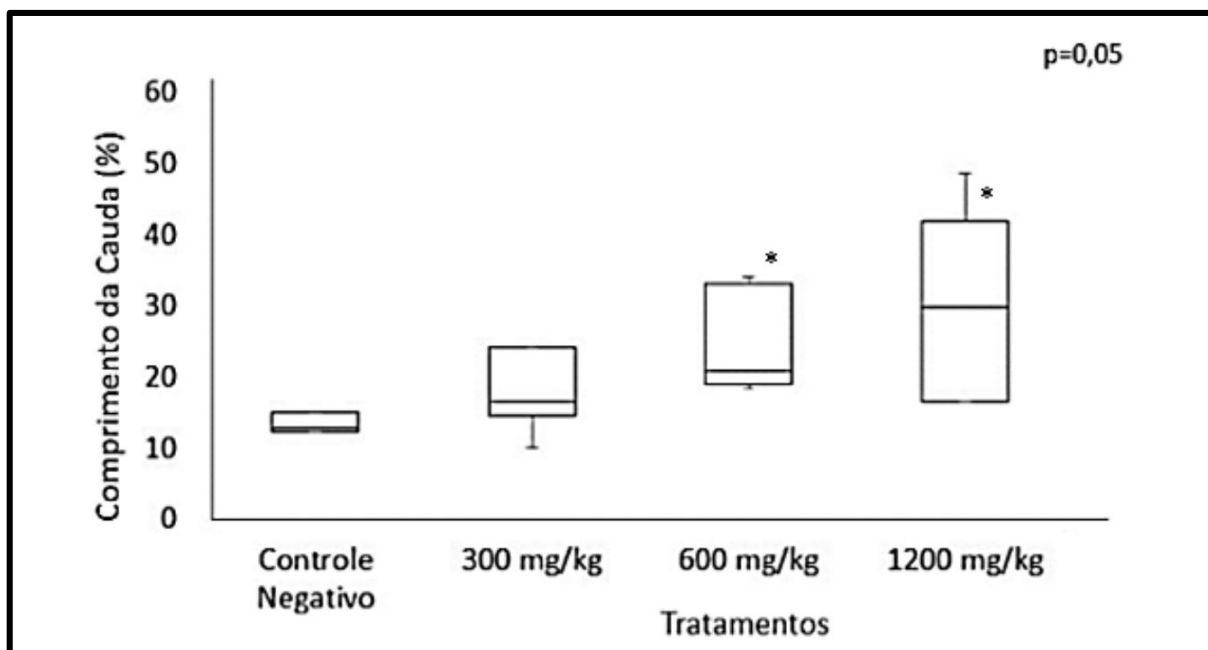


Figura 15 – Resultado do Ensaio Cometa para o parâmetro comprimento da cauda em células sanguíneas de *Mus musculus* expostas “*in vivo*” às diferentes doses do óleo essencial de *Lantana camara* evidenciando efeitos genotóxicos para as doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg. * Diferença significativa ($p = 0,05$) quando comparados com o controle negativo (óleo de soja).

Os resultados da avaliação de antigenotoxicidade do óleo essencial de *Lantana camara*, para os mesmos parâmetros avaliados, estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 – Médias e desvios padrões dos parâmetros analisados pelo ensaio cometa para avaliação da antigenotoxicidade em células sanguíneas de camundongos.

Grupos analisados	Comprimento da cauda	Porcentagem de DNA na cauda	Momento da cauda de Olive
Controle Positivo	15,70 ± 3,86	13,95 ± 2,69	2,63 ± 0,88
300 mg/kg + Doxo	16,30 ± 5,7	13,61 ± 3,47	3,12 ± 1,66
600 mg/kg + Doxo	12,78 ± 4,32	12,70 ± 5,17	2,33 ± 1,83
1200 mg/kg + Doxo	18,54 ± 2,35	15,49 ± 4,26	3,36 ± 1,23

Teste ANOVA (um critério); Análise de variância: *Kruskal-Wallis*; e Análise de variância: *Kruskal-Wallis* – comparações pelo método de *Dunn*.

9 DISCUSSÃO

9.1 Angiogênese na membrana corioalantoide (MCA)

Ao fazer a pesquisa de artigos científicos nas bibliotecas especializadas como, PubMed/MEDLINE, SciELO e outras, foram encontrados poucos estudos sobre o potencial angiogênico da *Lantana camara*. Essa carência de estudos envolvendo preparações (extratos, óleos essenciais, tinturas e outras) da *Lantana camara* revela que a presente pesquisa ainda não foi apresentada cientificamente.

Assim, os resultados da presente pesquisa são importantes, pois a comprovação da atividade angiogênica do óleo essencial da *Lantana camara* abre possibilidade para futuras pesquisas, permitindo assim o desenvolvimento de novos produtos com finalidade terapêutica para o homem. De fato, desenvolver um produto que favoreça a angiogênese, favorece também a cicatrização de feridas, e regeneração de órgãos e tecidos. O presente trabalho é inédito, original e com grandes possibilidade de desenvolvimento produtos de inovação.

Na análise dos resultados verificou-se que o óleo essencial de *Lantana camara* aumentou a formação de novos vasos sanguíneos na MCA quando comparado aos grupos controle inibidor, negativo e positivo. Também foi constatado aumento significativo ($p < 0,05$) nos parâmetros analisados (tamanho, calibre e número de junções dos vasos sanguíneos) quando grupo testado com óleo essencial de *Lantana camara* foi comparado aos grupos controles.

A angiogênese é uma etapa importante no processo de cicatrização de feridas, pois através dos novos vasos sanguíneos formados ocorre o transporte de nutrientes e oxigênio até a lesão, favorecendo assim o processo cicatricial. Dentre as inúmeras propriedades terapêuticas apresentadas pela *Lantana camara* pode-se destacar a atividade antissépticas, anticancerígenas, é utilizada no tratamento de feridas, hanseníase (LONARE et al. 2012; LI et al. 2003).

Mekala et al. (2014) avaliaram a atividade cicatrizante do extrato etanólico das folhas de *Lantana camara* em feridas de ratos diabéticos e em seus resultados verificou-se que essa atividade depende da dose administrada. Já Nayak et al. (2008) avaliaram a atividade cicatrizante do extrato etanólico das folhas de *Lantana camara* em feridas de queimaduras de ratos, porém em sua pesquisa não houve confirmação da atividade cicatrizante avaliada.

Apesar da divergência dos autores citados anteriormente, estudos demonstram que o uso de extratos etanólico e extratos acetato de etila das folhas, e/ou tinturas do caule da *Lantana camara* favorecem o processo de cicatrização de feridas de ratos. Os resultados encontrados na literatura corroboram com a atividade angiogênica constatada na presente pesquisa com o

óleo essencial da *Lantana camara* na MCA (SULTANA et al. 2016; KUMAR et al. 2015; SHONU; AMIT, 2012; ABDULLA et al. 2009; NAYAK et al. 2009).

Sugere-se que a atividade angiogênica promovida pelo óleo essencial da *Lantana camara* na MCA possa estar relacionada a um possível estímulo inflamatório exercido pelo óleo essencial de Cambará. A ocorrência de um estímulo inflamatório na MCA desencadeia a migração de células inflamatórias como citocinas, macrófagos e leucócitos, entre outros. Estas células inflamatórias por sua vez ativam fatores de crescimento angiogênicos como fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), angiopietinas, fator de crescimento de fibroblastos (FGF). Estes fatores de crescimento angiogênicos são responsáveis por regular a formação de novos vasos sanguíneos desempenhando papel fundamental na cicatrização de feridas (LI et al. 2003).

De acordo com Vargas et al. (2007), a presença de inflamação e neovascularização na MCA são alguns dos efeitos adversos exercidos por substâncias tóxicas. Acredita-se ainda que essa toxicidade se deva a compostos terpênicos presentes na composição do óleo essencial, os quais devido ao seu caráter lipofílico atravessam facilmente as membranas, celulares podendo assim danificá-las.

Conclui-se que nas condições experimentais da presente pesquisa, o óleo essencial da *Lantana camara* apresentou atividades angiogênicas na membrana corioalantoide do ovo embrionado de galinha.

9.2 Ensaio do Micronúcleo

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial mutagênico e antimutagênico, citotóxico e anticitotóxico do óleo essencial da *Lantana camara* pelo ensaio do micronúcleo em medula óssea hematopoiética de camundongos. Os resultados demonstraram que o óleo essencial da *Lantana camara* tem atividade mutagênica e atividade citotóxica nas doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg. Estes resultados estão de acordo com os estudos de Satyal et al. (2016) que encontrou atividade citotóxica em células normais de pulmão humano. Entretanto, diverge do Barre et al. (1997), que encontrou atividade antimutagênica no extrato clorofórmico da *Lantana camara*. A divergência dos resultados pode ser explicada pela grande diversidade de composição química da espécie vegetal, diferenças na dose testada, organismo e/ou linhagem celular utilizada, dosagem administrada, entre outros.

Produtos originados dos vegetais com a finalidade terapêutica têm despertado o interesse de pesquisadores do mundo inteiro, principalmente quanto ao propósito de comprovar

a eficácia farmacológica e uso seguro. Ao se desenvolverem, as plantas criaram seus próprios mecanismos de defesa ao sintetizarem substâncias químicas tóxicas e mutagênicas contra ataques de microrganismos, insetos e animais predadores (CASTRO et al. 2004).

De fato, muitas substâncias de origem vegetal são utilizadas pela população sem qualquer comprovação da eficácia e das propriedades farmacológicas. Além disso, há o entendimento de que os produtos originados das plantas são naturais, portanto isento de reações adversas. Essa percepção é equivocada, podendo haver efeitos colaterais graves (intoxicação, interação, danos celulares e moleculares) que podem colocar em risco a integridade física e provocar danos à saúde do usuário (CAMPOS et al. 2016).

Estudos científicos mostraram que a *Lantana camara* possui diferentes atividades farmacológicas, dentre estas podem ser citadas atividade antibiótica, antisséptica, antitérmica, atua na prevenção de tumores e no tratamento de neoplasias. A maioria desses efeitos é atribuída aos terpenos, encontrados em diversas espécies do gênero *Lantana*. Entretanto, informações sobre a mutagenicidade e citotoxicidade são limitadas, havendo poucos estudos sobre risco da utilização e segurança, principalmente do óleo essencial (FERREIRA A. 2014; SILVA D. 2008; CAVALEIRO, 2007; BARRE et al. 1997).

O óleo essencial de *Lantana camara* apresenta compostos terpênicos em sua composição. Terpenos são substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas nos quais predominam os mono e sesquiterpenos. Os sesquiterpenos têm sido relatados como tendo atividade mutagênica e citotóxica. De acordo com o fabricante, os principais compostos presentes no óleo avaliado nesta pesquisa são os monoterpenos (correspondendo a 43%) e sesquiterpenos (correspondendo a 32%) (LASZLO, 2015; FERREIRA A. 2014; SANTOS P. 2014; SUNDUFU; SHOUSHAN, 2004; SILVEIRA, 2012; SHOUSHAN, 2004).

Os resultados do presente trabalho mostraram que óleo essencial da *Lantana camara* apresentou atividades mutagênica e citotóxica para as doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg no período de 24 horas, por ter aumentado a frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados e diminuição da relação entre Eritrócitos policromáticos e eritrócitos normocromáticos, respectivamente. O aumento da frequência de micronúcleos em relação ao controle negativo (óleo de soja) relaciona-se ao efeito tóxico para o metabolismo celular e danos ao DNA e, provavelmente indução mutagênica. Entretanto, para a dose de 300 mg/kg não produziu qualquer toxicidade a medula óssea do camundongo, ou seja, não houve efeito mutagênico e nem citotóxico (LUZ et al. 2012).

O dano ao DNA deve-se, provavelmente, a um efeito mutagênico do óleo essencial da *Lantana camara* quando em doses maiores (600 e 1200 mg/kg). Neste sentido, vale ressaltar que alguns sesquiterpenos apresentam atividade por proteínas indutoras de espécies reativas de oxigênio (ROS – espécies reativas de oxigênio) na célula. Não há evidências de que o dano ao DNA induzido por sesquiterpeno possa ser resultado da interação direta com a molécula do DNA, mas sugere-se um mecanismo apoptótico, como é o caso de muitos agentes antineoplásicos (BERRA et al. 2006; RAMOS et al. 2002; AHMED et al. 1999).

No presente trabalho, foi detectada a atividade mutagênica e citotóxica do óleo essencial da *Lantana camara*. Entretanto, não houve efeito protetor ao material genético e nem à célula induzidos pela doxorrubicina. O ensaio da atividade antimutagênica não revelou diminuição da frequência dos micronúcleos nos animais tratados com concentrações de 300, 600 e 1200 mg/kg do óleo essencial e concomitantemente com doxorrubicina na concentração 2,0 mg/kg em comparação ao controle positivo. Também não houve diminuição do efeito citotóxico.

9.3 Ensaio do Cometa

O ensaio cometa tem sido amplamente usado para se avaliar danos genômicos induzidos pela exposição às substâncias potencialmente genotóxicas. Trata-se de um teste sensível e rápido, constituindo uma excelente ferramenta para os estudos de genética toxicológica, medicina diagnóstica e terapêutica, biomonitoramento da exposição ambiental e também como um dentre os diversos testes realizados nas indústrias farmacêuticas para investigar novas drogas. O ensaio cometa permite detectar se uma substância causa quebras nas fitas simples e/ou duplas de DNA, crosslinks, analisar o sistema de reparo em lesões álcali-lábeis (ARALDI et al. 2015; JHA, 2008; SILVA J. 2007).

Diferentes parâmetros de análise do ensaio cometa podem ser utilizados para se avaliar o dano no DNA. Neste estudo foram utilizados os parâmetros comprimento de cauda, porcentagem de DNA na cauda e momento da cauda de *olive*. O comprimento da cauda é um dos parâmetros que indicam que determinada substância em análise induziu danos ao DNA, visto que há migração dos fragmentos do DNA lesionado, os quais se apresentam dispersos ao longo da cauda formada, evidenciando assim, um aspecto de cometa à célula (SILVA J. 2007; COURA, 2004).

Ao analisar os resultados verificou-se que o óleo essencial de *Lantana camara* induz danos genotóxicos, no entanto evidenciados somente no parâmetro comprimento de cauda (conforme apresentado na tabela 4) para as concentrações de 600 mg/kg e 1200 mg/kg. Para os

parâmetros analisados (porcentagem de DNA na cauda e momento da cauda de *olive*), o ensaio cometa não foi capaz de indicar os danos genotóxicos. Animais expostos à dose de 300 mg/kg não exibiram danos genômicos em nenhum dos parâmetros estudados.

Dados da literatura indicam que a *Lantana camara* ativa as caspases, estas por sua vez estimulam a apoptose com conseqüente morte celular. As caspases ativam uma diversidade de enzimas apoptóticas, principalmente as endonucleases endógenas. Essas enzimas apoptóticas medeiam a fragmentação do DNA em sítios internucleossômicos (HAN et al. 2015; SRIVASTAVA et al. 2010; YOSHIDA et al. 2006;).

De acordo com Srivastava et al. (2010), o extrato da *Lantana camara* testado a 44,75 µg/mL induz à apoptose de células HeLa com subseqüente acumulação de fragmentos de DNA de 180 a 200 pb (pares de base). A clivagem de ICAD (Inibidor da Desoxirribonuclease Ativada por Caspase) em CAD (Desoxirribonuclease Ativada por Caspase) leva à fragmentação do DNA considerada como evento tardio da apoptose.

Dessa forma, a genotoxicidade observada pelo ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos tratados com óleo essencial de *Lantana camara* pode estar associada a ativação das caspases. Conseqüentemente, a ativação das caspases leva à fragmentação do DNA expressando no aumento das médias do comprimento de cauda quando comparada ao controle negativo.

Na avaliação da antigenotoxicidade, os resultados do ensaio do cometa não evidenciaram uma atividade antigenotóxica, visto que as médias dos parâmetros avaliados nas células expostas às diferentes concentrações do óleo essencial de *Lantana camara* não foram estatisticamente diferentes dos resultados encontrados nas células dos animais não expostos.

Portmann et al. (2012) testou extratos aquosos (infusão e decocção) de duas plantas da família Verbenaceae (*Lippia turbinata* e *Aloysia citriodora*) nas concentrações de 0,05 e 0,5 mg/mL em cultura de linfócitos do sangue periférico humano.

Da mesma forma, como no presente estudo com *Lantana camara*, também pertencente à família Verbenaceae, Portmann et al. (2012) não observou diferenças significativas para os parâmetros que indicam danos genotóxicos entre os grupos expostos e controle negativo.

No entanto, de acordo com Portmann et al. (2012), foi possível identificar uma atividade antigenotóxica exercida pelos extratos da *Lippia turbinata* e *Aloysia citriodora*, mas ressalta que são necessárias pesquisas adicionais para comprovar essa atividade.

10 CONCLUSÕES

- ✓ O óleo essencial de *Lantana camara* causou a formação de novos vasos sanguíneos, apresentando assim atividades angiogênicas na MCA;

- ✓ Apresentou efeitos mutagênicos, citotóxicos e genotóxicos para as doses de 600 mg/kg e 1200 mg/kg) tanto para o ensaio do micronúcleo em medula óssea de camundongos quanto no ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos.

- ✓ Não apresentou efeitos antimutagênicos, anticitotóxicos e antigenotóxicos para nenhuma das doses testadas tanto no ensaio do micronúcleo em medula óssea de camundongos quanto no ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLA, M. A.; HASSANDARVISH, P.; ALI, H. M.; et al. 2009. **Acceleration of Wound Healing Potential by *Lantana camara* Leaf Extract in Experimental Rats.** *Research Journal of Medical Sciences*, v. 3, n. 2, p. 75-79.

AHMED, A. A.; MAHMOUD, A. A.; EL-GAMAL, A. A. 1999. **A Xanthanolate diol and a dimeric xanthanolate from *Xanthium* species.** *Planta medica*, v. 65, n. 05, p. 470-472.

ALENCAR, M. V. O. B.; SILVA, M. B. S.; PAZ, M. F. C. J.; et al. 2013. **Genotoxicidade e nefrotoxicidade da *Morinda citrifolia* em estudos pré-clínicos: riscos à saúde pública.** *Revista Interdisciplinar*, v. 6, n. 1, p. 1-8.

ALEXANDRE, R. F.; RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. M.; et al. *Avaliação das informações disponibilizadas na internet sobre medicamentos fitoterápicos à base de *Hypericum perforatum* L.* In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE INFORMÁTICA EM SAÚDE - CBIS; RIBEIRÃO PRETO: SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFORMÁTICA EM SAÚDE, 2004.

ALMEIDA, Mara Ribeiro de. *Estudo citogenético em camundongos C57BL/6 selvagens e knockout para o gene da galectina-3 tratados com o carcinógeno.* Tese (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2008.

ALMEIDA, L. M.; FLORIANO, J. F.; RIBEIRO, T. R.; et al. 2014. ***Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity.** *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 25, n. 9, p. 2153-2162.

ARALDI R, P.; MELO, T. C.; MENDES, T. B.; et al. 2015. **Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 72, p. 74-82.

ARAÚJO, L. A.; ASSUNÇÃO, L. A.; SILVA-JÚNIOR, N. J.; et al. 2015. **Angiogenic activity of sucupira (*Pterodon emarginatus*) oil.** *Scientia Medica*, v. 25, n. 2, p. 1-8.

ARAÚJO, L. A.; ARAÚJO, R. G. M.; GOMES, F. O.; et al. 2016. **Physicochemical/photophysical characterization and angiogenic properties of *Curcuma longa* essential oil.** *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 88, n. 3, p. 1889-1897.

AZEVEDO, Bianca Oliveira de. *Crescimento, produção e composição química do óleo essencial de *Martianthus leucocephalus* (Mart. ex Benth.) J. F. B. Pastore em condições de Feira de Santana, Bahia, Brasil*. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade de Feira de Santana, Feira de Santana, 2014.

AZTOPAL, N.; ERKISA, M.; CELIKLER, S.; et al. 2016. **Antigrowth and Apoptosis Inducing Effects of *Hypericum Olympicum* L. and *Hypericum Adenotrichum* Spach. on Lung Cancer Cells In Vitro: Involvement of DNA Damage**. *Journal of Food Biochemistry*, p. 1-8.

ALVES, H. M. 2001. **A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos**. *Cadernos Temáticos de química nova na escola*, v. 3, n. 3, p. 11-15.

BAMPI, Vinícius Faccin. *Efeitos do maleato de sunitinibe e da quimioterapia metronômica na microangioarquitetura do carcinoma oral de células escamosas em bolsa jugal de hamster sírio*. Tese (Doutorado em Medicina) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

BARBOSA-FILHO, J. M.; CUNHA, R. M.; DIAS, C. S.; et al. 2008. **GC-MS Analysis and cardiovascular activity of the essential oil of *Ocotea duckei***. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 1, p. 37-41.

BARRE, J. T.; BOWDEN, B. F.; COLL, J. C.; et al. 1997. **A bioactive triterpene from *Lantana camara***. *Phytochemistry*, v. 45, n. 2, p. 321-324.

BRREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. 2009. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**. *Quim. Nova*, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARROS, Aline Lima de. *Avaliação dos efeitos toxicológicos após exposição aguda e subaguda ao inseticida diflubenzuron em roedores*. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

BARROS, L. M.; DUARTE, A. E.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; et al. 2016. **Chemical Characterization and Trypanocidal, Leishmanicidal and Cytotoxicity Potential of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) Essential Oil**. *Molecules*, v. 21, n. 2, p. 1-9.

BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M.; MASCIO, P. D. 2006. **Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular**. *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1340-1344.

BERTÊ, Rosiana. *Verbena litoralis* Kunth (Verbenaceae) micropropagação, estaquia e análise de flavonoides e cumarinas. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

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

BESSA, T.; TERRONES, M. G. H.; SANTOS, D. Q. 2007. **Avaliação fitotóxica e identificação de metabólitos secundários da raiz de *Cenchrus echinatus***. *Horizonte Científico*, v. 1, n. 1, p. 1-17.

BESSA, G.; MELO-REIS, P. R.; ARAÚJO, L. A.; et al. 2015. **Angiogenic activity of latex from *Euphorbia tirucalli* Linnaeus 1753 (Plantae, Euphorbiaceae)**. *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, n. 3, p. 752-758.

BEZERRA, C. M.; DINELLY, C. M. N.; OLIVEIRA, M. A. S. 2016. **Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso de malva-santa *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa***. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 13, n. 4, p. 220-228.

BIANCHI, J. 2008. *Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida malation, utilizando os sistemas teste de Allium cepa e células de mamíferos*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, SP, 2008.

BOETTCHER, M.; GLOE, T.; WIT, C. 2010. **Semiautomatic quantification of angiogenesis**. *Journal of Surgical Research*, v. 162, n. 1, p. 132-139.

BORBA, Fernanda Katharine de Souza Lins. *Estudo da atividade dos sulfatos de condroitina e glucosamina na formação de vasos sanguíneos em modelos in vitro e in vivo*. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

BRITO, Hélio Rodrigues de. *Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpúrea* L. e *Spondias* sp (cajarana do sertão)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2010.

CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; et al. 2016. **Toxicidade de espécies vegetais**. *Rev. bras. plantas med*, v. 18, n. 1, supl. 1, p. 373-382.

CAPELOZZI, V. L. 2009. **Papel da imuno-histoquímica no diagnóstico do câncer de pulmão.** *J Bras Pneumol*, v. 35, n. 4, p. 375-382.

CAVALEIRO, C. Plantas aromáticas e óleos essenciais em farmácia e medicina. In: FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO J. G.; PEDRO, L. G. **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Mediciniais. Curso (Curso Teórico Prático)**, 3ª Ed. Lisboa, Portugal: Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa – Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007, p. 55-62.

CARMO, Carolina Almeida do. *Clastogenicidade e/ou aneugenicidade do hormônio androgênico nandrolona (Deca-Durabolin®) em camundongos.* Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2009.

CARNEIRO, Cristiene Costa. *Avaliação das atividades genotóxica, antigenotóxica, citotóxica, anticitotóxica, angiogênica e antiangiogênica de elagitaninos utilizando ensaios in vitro e in vivo.* Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016a.

CARNEIRO, C. C.; SANTOS, S. C.; LINO JÚNIOR, R. S.; et al. 2016b. **Chemopreventive effect and angiogenic activity of punicalagin isolated from leaves of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.** *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 310, p. 1-8.

CARVALHO, Wanessa Fernandes. *Avaliação de danos genéticos e correlação com polimorfismos nos genes GSTM1 e GSTT1 em trabalhadores ocupacionalmente expostos a agrotóxicos em municípios goianos com intensa atividade agrícola.* Dissertação (Mestrado em Genética) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2014.

CASTRO, D. B., SANTOS, D. B., FERREIRA, H. D., et al. 2004. **Atividades mutagênica e citotóxica do extrato de *Cochiospermum regium* Mart. (algodãozinho-do-campo) em camundongos.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 6, n. 3, p. 15-19.

CHAVES, Thiago Pereira. *Variação sazonal na produção de metabólitos secundários e na atividade antimicrobiana de espécies vegetais do semiárido brasileiro.* Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

CHAVES, D. A.; LEMES, S. R.; ARAÚJO, L. A.; et al. 2016. **Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*).** *Rev. bras. plantas med*, v. 18, n. 2, p. 524-530.

COURA, Gustavo dos Santos. *Protocolo preliminar da cultura de fibroblastos de gengiva humana: avaliação da viabilidade celular e dos possíveis danos causados ao DNA*. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

COUTINHO, Anderson. *Extração de tanino em folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo (Melia azedarach L.) com diferentes tipos de solventes*. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) – Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Campo Mourão, 2013.

COSTA, M. C. C. D.; NASCIMENTO, S. C. 2003. **Atividade citotóxica de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae)**. *Acta Farm. Bonaerense*, v. 22, n. 2, p. 155-158.

COSTA, J. G. M.; SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; et al. 2009. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 3, p. 710-714.

COSTA, Edigleyce de Lima. *Análise toxicológica, citotóxica e mutagênica de extratos aquosos de *aspidosperma pyrifolium* (apocynaceae)*. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

DASH, S. S.; BAG, B. G.; HOTA, P. 2004. ***Lantana camara* Linn leaf extract mediated green synthesis of gold nanoparticles and study of its catalytic activity**. *Applied Nanoscience*, v. 5, n. 3, p. 343-350.

DIAS, N. S.; SILVA, T. C.; FILHO, G. P. B.; et al. 2013. **Estudo dos efeitos mutagênicos e citotóxicos do confrei (*symphytum officinale*) no ciclo celular de *Allium cepa***. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. X, n. 3, p. 20-29.

DUA, V. K.; Gupta, N. C.; Pandey, A. C.; et al. 1996. **Repellency of *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers against *Aedes* mosquitoes**. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 12, n. 3, p. 406-408.

ESTEVIÃO, L. R. M.; MENDONÇA, F. S.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; et al. 2013. **Effects of aroeira (*Schinus terebinthifoliu* Raddi) oil on cutaneous wound healing in rats**. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 28, n. 3, p. 202-209.

FAGUNDES, F. A.; OLIVEIRA, L. B.; CUNHA, L. C.; et al. 2005. *Annona coriacea* induz efeito genotóxico em camundongos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 1, p. 24-29.

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

FERREIRA, Pablo Gomes. *Avaliação do efeito da membrana de látex de Hevea brasiliensis no reparo de defeito da parede abdominal de rato*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2007.

FERREIRA, Cyntia Silva. *Atividade anti-angiogênica de inibidores de tripsina em membrana corioalantóica de gallus domesticus*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013.

FERREIRA, Ana Rita Alves. *Uso de óleos essenciais como agentes terapêuticos*. Trabalho (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; et al. 2006. **Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar**. *Multiciência: Construindo a História dos Produtos Naturais*, v. 7, p. 1-8.

GARCIA, C. C.; GERMANO C.; OSTI, N. M.; et al. 2009. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de melaleuca**. *Rev. Bras. Farm.*, v. 90, n. 3. p. 236-240.

GARLET, Tânea Maria Bisognin. *Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de Mentha L. (Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

GERALDES, Diogo Manuel Amaral. *Biotransformação de monoterpenos por raízes transgênicas de Anethum graveolens*. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) – Universidade de Lisboa, 2010.

GONÇALVES, Caroline Dal Pont. *Avaliação dos danos genotóxicos ao dna de camundongos expostos a hortaliças cultivadas sobre depósitos controlados de rejeitos de carvão*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.

GYORI, B. M.; VENKATACHALAM, G.; THIAGARAJAN. P. S.; et al. 2014. **OpenComet: an automated tool for comet assay image analysis**. *Redox biology*, v. 2, p. 457-465.

HAN E. B.; CHANG B. Y.; JUNG Y. S.; et al. 2015. ***Lantana camara* Induces Apoptosis by Bcl-2 Family and Caspases Activation.** *Pathol. Oncol. Res*, v. 21, p. 325-331.

HIASA, Grazielle Ruzene de Oliveira. *Caracterização farmacognóstica das variedades de Lantana camara L.* Monografia (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP, 2013.

JHA, A. N. 2008. **Ecotoxicological applications and significance of the comet assay.** *Mutagenesis*, v. 23, n. 3, p. 207–221.

JULIARD, C.; BENJAMIN C.; SASSANPOUR, M.; et al. 2006. **Madagascar Aromatic and Medicinal Plant Value Chain Analysis: Combining the Value Chain Approach and Nature, Health, Wealth and Power Frameworks.** *United States Agency for International Development*, 2006. Disponível em: <http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnadh969.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2016.

KALIORA, A. C., KOUNTOURI, A. M. Chemopreventive activity of Mediterranean medicinal plants. In: GEORGAKILAS, Alexandros G. Georgakilas (Ed.), **Cancer Prevention-From Mechanisms to Translational Benefits.** Rijeka, Croatia: InTech, 2012 p. 261–284.

KALITA, S.; KUMAR, G.; KARTHIK, L.; et al. 2012. **A Review on Medicinal Properties of *Lantana camara* Linn.** *Research J. Pharm and Tech*, v. 5, n.6, p. 711-715.

KASIMOĞULLARI, S. Ç.; ORAN, S.; ARI, F.; et al. 2014. **Genotoxic, cytotoxic, and apoptotic effects of crude extract of *Usnea filipendula* Stirt. in vitro.** *Turkish Journal of Biology*, v. 38, n. 6, p. 940-947.

KHAN, M.; MAHMOOD, A.; ALKHATHLAN, H. Z. 2016. **Characterization of leaves and flowers volatile constituents of *Lantana camara* growing in central region of Saudi Arabia.** *Arabian Journal of Chemistry*, v. 9, n. 6, p. 764-774.

KULIK, Juliana Danna. *Estudo fitoquímico e das atividades biológicas de *Forsteronia velloziana* (A.DC) Woodson (Apocynaceae).* Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

KUMAR, V.; KAUR, A. P.; UMA, V. K.; et al. 2015. **An evaluation of the wound healing and anti-microbial property of the tincture of *Lantana camara*.** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 7, n. 5, 313-316.

KUMARASAMYRAJA, D.; JEGANATHAN, N. S.; MANAVALAN, R. 2012. Pharmacological Review of *Lantana camara* .L Review Article. **Int. J. Pharm & Ind. Res**, v. 02, n. 01, p. 1-5.

LACERDA, Jéssica Zani. *Investigação da ação da proteína anexina A1 sobre o processo de angiogênese induzido pelo fator de crescimento do endotélio vascular: modelos experimentais in vivo e in vitro*. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.

LASZLO. Óleo essencial de *Lantana camara*. Reponsável Técnico Rodrigo Prota Venâncio. Juiz de Fora: Argila Ind. e Com. de Cosméticos Ltda, 2015. Rótulo do Frasco.

LEITE, K. A. S.; ZANDONATO, V. V.; FLUMINHAN, A. 2013. **Avaliação da genotoxicidade provocada por fatores ambientais em *Tradescantia pallida* cv *purpurea* através do ensaio cometa**. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista*, v. 9, n. 11, p. 399-417.

LEMOS, Siomara Dias da Costa. *Avaliação de eliciadores do metabolismo dos fenilpropanóides em *Melissa officinalis* L. (lamiaceae)*. Dissertação (Biologia Celular e Molecular) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LI, J.; ZHANG, Y-P.; KIRSNER, R. S. 2003. **Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix**. *Microscopy research and technique*, v. 60, n. 1, p. 107-114.

LONARE, M. K.; SHARMA, M.; HAJARE, S. W.; et al. 2012. ***Lantana camara*: Overview on Toxic to Potent Medicinal Properties**. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 3, n. 9, p. 3031-3035.

LUZ, A. C.; PRETTI, I. R.; DUTRA, J. C. V.; et al. 2012. **Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo**. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 635-642.

MADI, Ana Paula. *Análise microscópica quantitativa da influência do processo inflamatório na angiogênese tumoral*. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Bauru, 2014.

MENEGHELLI, Cristiane. *Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico de própolis catarinense na formação de vasos sanguíneos*. Tese (Doutorado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

MEDEIROS, L. B. P.; ROCHA, M. S.; LIMA, S. G.; et al. 2012. **Chemical constituents and evaluation of cytotoxic and antifungal activity of *Lantana camara* essential oils.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 6, p. 1259-1267.

MEKALA, S.; KUMAR, N. M.; DAS, L.; et al. 2014. **Evaluation of wound healing activity of ethanolic extract of *Lantana camara* in streptozotocin induced diabetic rats.** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n. 1, p. 631-633.

MELO-REIS, Paulo Roberto de. *Avaliação das atividades genotóxica, antigenotóxica, angiogênica e potencial de cicatrização do látex da *Synadenium umbellatum* Pax.* Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

MELO-REIS, P. R.; ANDRADE, L. S.; SILVA, C. B.; et al. 2010. **Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex.** *Braz. J. Biol.*, v. 70, n. 1, p. 189-194.

MELO-REIS, P. R.; BEZERRA, L. S. A.; VALE, M. A. A. B.; et al. 2011. **Assessment of the mutagenic and antimutagenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex by micronucleus test in mice.** *Brazilian Journal of Biology*, v. 71, n. 1, p. 169-174, 2011.

MENEZES, Karla Mendonça. *Genotoxicidade e equoterapia no controle postural de portadores de esclerose múltipla.* Dissertação (Mestrado em Distúrbios da Comunicação Humana) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

MONTANARI, Ricardo Marques. *Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de anacardiaceae, siparunaceae e verbenaceae.* Tese (Programa de Pós-Graduação em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

MORAES, P. S. P.; CARVALHO, C. S.; CHAVES, D. A.; et al. 2016. **Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo).** *Estudos*, v. 43, n. 1, p. 55-62.

MORRISON, K. C.; LITZ, J. P.; SCHERPELZ, K. P.; et al. 2009. **A concise, biomimetic total synthesis of (+)-davanone.** *Organic Letters*, v. 11, n. 20, p. 2217-2218.

NAYAK, B. S.; RAJU, S. S.; RAMSUBHAG, A. 2008a. **Investigation of wound healing activity of *Lantana camara* L. in Sprague dawley rats using a burn wound model.** *International journal of applied research in natural products*, v. 1, n. 1, p. 15-19.

NAYAK, B. S.; RAJU, S. S.; EVERSLEY, M.; et al. 2009. **Evaluation of wound healing activity of *Lantana camara* L. – a preclinical study.** *Phytotherapy research*, v. 23, n. 2, p. 241-245.

NETO, João da Rocha Lins. *Potencial antioxidante de plantas da flora pernambucana.* Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

NGASSOUM, M. B.; YONKEU, S.; JIROVETZ, L.; et al. 1999. **Chemical composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar.** *Flavour and fragrance journal*, v. 14, n. 4, p. 245-250.

NIEMISTO, A.; VALERIE DUNMIRE, V.; YLI-HARJA, O.; et al. 2005. **Robust quantification of in vitro angiogenesis through image analysis.** *IEEE transactions on medical imaging*, v. 24, n. 4, p. 549-553.

OLIVEIRA, S. S.; GIGLIO, A. B. D.; LERNER, T. G.; et al. 2013. ***Paullinia cupana* para o controle de fogachos em pacientes com câncer de mama: um estudo piloto.** *Einstein*, v. 11, n. 4, p. 435-438.

OLIVEIRA, Macxuell Rosa dos Reis. *Avaliação de danos genômicos de agentes de saúde de controle de endemias (dengue) do município de aparecida de Goiânia (GO).* Dissertação (Mestrado em Genética) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2014.

OMOREGIE, E. H.; ALIYU, I. J.; DORIS, E. U.; et al. 2015. **Phytochemical screening chromatographic profiling and pharmacognostic analysis om leaves of *Lantana camara* Linn.** *International Journal of Basic and Applied Sciences*, v. 4, n. 4, p. 206-211.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; et al. 2007. **Terpenes: substances useful in human healthcare.** *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, v. 55, n. 5, p. 315-327.

PARENTE, L. M. L.; ANDRADE, M. A.; BRITO, L. A. B.; et al. 2011. **Angiogenic activity of *Calendula officinalis* flowers L. in rats.** *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 26, n. 1, p. 19-24.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. D. 2012. **Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes.** *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. 4, p. 146-152.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. 2009. **Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 4, p. 465-472.

POLLI, Viviane Aparecida Balvedi. *Ação dos extratos foliares aquoso e hidroalcoólico de *Cissus verticillata* L. na formação de vasos sanguíneos em modelos de estudo in vivo e in vitro.* Tese (Doutorado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

POMPILHO, W. M.; BORGES, F. V.; MIGUEL, E. C. 2013. **Biotecnologia e biodiversidade: as florestas brasileiras como fonte de novos fármacos com antitumorais.** *Acta Scientiae e Technicae*, v. 1, n. 1, p. 1-14.

PONTES, Susy Ricardo Lemes. *Avaliação das atividades angiogênica, genotóxica e antigenotóxica do óleo da *Carapa guianensis* (andiroba).* Dissertação (Mestrado em Genética) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2014.

PORTMANN, E.; NIGRO, M. M. L.; REIDES, C. G.; et al. 2012. Aqueous extracts of *Lippia turbinata* and *Aloysia citriodora* (Verbenaceae): assessment of antioxidant capacity and DNA damage. *International journal of toxicology*, v. 31, n. 2, p. 192-202.

PRADO, Maria Rosa Machado. *Produção de composto bioativo a base de polissacarídeo e proteína com atividades angiogênica e anti-inflamatória utilizando cultura mista de bactérias e leveduras do kefir tibetano em soro de leite.* Tese (Doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

PRIYANKA, N.; JOSHI, P. K. 2013. **A review of *Lantana camara* studies in India.** *International Journal of Scientific and Research Publications*, v. 3, n. 10, p. 1-11.

RABEARIVONY, A. D.; KUHLMAN, A. R.; RAZAFIARISON, Z. L.; et al. 2015. **Ethnobotanical study of the medicinal plants known by men in Ambalabe, Madagascar.** *Ethnobotany Research and Applications*, v. 14, p. 123-138.

RAKOTOARIVELO, N. H.; RAKOTOARIVONY, F.; RAMAROSANDRATANA, A. V.; et al. 2015. **Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar.** *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, v. 11, n. 1, p. 1-16.

RAMOS, A.; RIVERO, R.; VISOZO, A.; et al. 2002. **Parthenin, a sesquiterpene lactone of *Parthenium hysterophorus* L. is a high toxicity clastogen.** *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 514, n. 1, p. 19-27.

RANDRIAMIHARISOA, M. N.; KUHLMAN, A. R.; JEANNODA, V.; et al. 2015. **Medicinal plants sold in the markets of Antananarivo, Madagascar.** *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, v. 11, n. 1, p. 1-12.

RANDRIANALIJAOA, J. A.; RAMANOELINA, P. A. R.; RASOARAHONA, J. R. E.; et al. 2005. **Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. Essential oils from Madagascar.** *Analytica Chimica Acta*, v. 545, n. 1, p. 46-52.

RANDRIANALIJAOA, J. A.; RAMANOELINA, P. A. R.; RASOARAHONA, J. R. E.; et al. 2006. **Chemical compositions of aerial part essential oils of *Lantana camara* L. Chemotypes from Madagascar.** *Journal of Essential Oil Research*, v. 18, n. 4, p. 405-407.

REDDY, N. M. 2013. *Lantana camara* Linn. **Chemical Constituents and Medicinal Properties: A Review.** *Scholars Academic Journal of Pharmacy (SAJP)*, v. 2, n. 6, p. 445-448.

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

RIBATTI, D.; VACCA, A.; LRONCALI, L.; et al. 1996. **The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for *in vivo* Research on angiogenesis.** *The International Journal of Developmental Biology*, v. 40, n.6, p. 1189-1197.

RIBATTI, D.; NICO, B.; VACCA, A.; et al. 2001. **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.

RIBATTI D.; CRIVELLATO E. 2012. **“Sprouting angiogenesis”, a reappraisal.** *Development Biology*, v. 372, n. 2, p.157-165.

RIBEIRO, Lucia Regina. Teste do micronúcleo em medulla óssea de roedores *in vivo*. In: RIBEIRO, Lucia Regina; SALVADORI, Daisy Maria Fávero; MARQUES, Edmundo Kanan. **Mutagênese Ambiental.** Canoas: Ulbra, 2003. p. 173-200.

ROCHA, Ronicely Pereira da. *Avaliação do teor e da composição do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e *Thymus vulgaris* submetidos a processos de secagem e armazenamento.* Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.

ROLL, Rutilene Jacondino. *Avaliação da genotoxicidade das xantanas produzidas pelas cepas 06 e 24 de Xanthomonas campestris pv pruni através do ensaio cometa e teste de micronúcleos*. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

SABITHA, G.; PRASAD, M. N.; BHIKSHAPATHI, M.; et al. 2010. **Stereospecific total synthesis of (+)-davane acid, (+)-nordavaneone and (+)-davaneone**. *Synthesis*, v. 2010, n. 5, p. 0807-0810.

SANDINI, T. M.; BERTO, M. S. U.; SPINOSA, H. S. 2013. **Senecio brasiliensis e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana**. *Revista Biotemas*, v. 26, n. 2, p. 83-92.

SANTOS, F. J. B.; LIMA, S. G.; CERQUEIRA, G. S.; et al. 2012a. **Chemical composition and anxiolytic-like effects of the *Bauhinia platypetala***. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 3, p. 507-516.

SANTOS, F. J. B.; MOURA, D. J.; PÉRES, V. F.; et al. 2012b. **Genotoxic and mutagenic properties of *Bauhinia platypetala* extract, a traditional Brazilian medicinal plant**. *Journal of ethnopharmacology*, v. 144, n. 3, p. 474-482.

SANTOS, Polliana Barbosa Pereira dos. *Preparação e caracterização físico-química de complexos de inclusão de limoneno em α e β -ciclodextrina*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

SANTOS, Nilton Cesar Nogueira dos. *Avaliação da genotoxicidade e da citotoxicidade de produtos utilizados na terapia pulpar de dentes decíduos com o uso do teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos e do ensaio cometa em linfócitos humanos*. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

SARIMAHMUT, M.; BALIKCI, N.; CELIKLER, S.; et al. 2016. **Evaluation of genotoxic and apoptotic potential of *Hypericum adenotrichum* Spach. in vitro**. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 74, p. 137-146.

SATYAL, P.; CROUCH, R. A.; MONZOTE, L.; et al. 2016. **The Chemical Diversity of *Lantana camara*: Analyses of Essential Oil Samples from Cuba, Nepal, and Yemen**. *Chem. Biodiversity*, v. 13, n. 3, p. 336-342, 2016.

SERPELONI, J. M., DOS REIS, M. B., RODRIGUES, J.; et al. 2008. **In vivo assessment of DNA damage and protective effects of extracts from *Miconia* species using the comet assay and micronucleus test**. *Mutagenesis*, v. 23, n. 6, p. 501-507.

SCHMID, W. 1975. **The micronucleus test**. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, v. 31, n. 1, p. 9-15.

SCHNEIDER, N. F. Z.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; et al. 2008. Estudo dos compostos voláteis e atividade antimicrobiana da *Myrciaria tenella* (cambuí). **Rev. Bras. Farm**, v. 89, n. 2, p. 131-133.

SHARMA, O. P.; SHARMA, S.; PATTABHI, V.; et al. 2007. **A review of hepatotoxic plant *Lantana camara***. *Critical reviews in toxicology*, v. 37, n. 4, p. 313-352.

SHARMA, C.; KAABI, J. M. A.; NURULAIN, S. M.; et al. 2016. **Polypharmacological properties and therapeutic potential of β -caryophyllene: a dietary phytocannabinoid of pharmaceutical promise**. *Current Pharmaceutical Design*, v. 22, n. 21, p. 3237-3264.

SHONU, J.; AMIT, J. 2012. **Comparative wound healing activity of different leaf extracts of *Lantana camara* linn.** *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, v. 1, p. 32-39.

SILVA J. 2007. **O uso do ensaio cometa para o ensino de genética toxicológica**. *Genética na escola*, v. 2, p. 30-33.

SILVA, Débora Granemann e. *Isolamento e caracterização do óleo essencial da *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Erva cidreira) e investigação da atividade biológica*. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SILVA, E. A.; MARUYAMA, W. I.; OLIVEIRA, A. C.; et al. 2009. **Efeito de diferentes substratos na produção de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa*)**. *Revista Brasileira de Fruticultura*, p. 925-929.

SILVA, Francisca Hildemagna Guedes da. *Avaliação da angiogênese inflamatória em camundongos induzida por antígenos da cepa Y do *Trypanosoma cruzi**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2012.

SILVA, Marcelly Nascimento. *Da Terra Para o Coração: A Utilização de Plantas Medicinais em Distúrbios Cardíacos*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, 2013.

SILVA, Flávia Benini da Rocha. *Avaliação dos componentes de óleos essenciais 1,8-cineol, β -cariofileno, e α -humuleno como possíveis repelentes para Aedes (Stegomyia) aegypti (Diptera:culicidae)*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

SILVA, Cibele Maria Alves da. *Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos*. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

SILVA, Carolina Ribeiro e. *Genética toxicológica da chalcona sulfonamida (cpn): evidências de genotoxicidade e antimutagenicidade em diferentes sistemas-teste in vivo e in vitro*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

SILVA, T. S. C.; SUFFREDINI, I.B.; RICCI, E.L.; et al. 2015. **Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Lantana camara* L. extract in mice**. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v. 17, n. 2, p. 224-229.

SILVEIRA, Sheila Mello da. *Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos vegetais e óleos essenciais e aplicação do óleo essencial de louro (L. nobilis) como agente conservador natural em embutido carne frescal*. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SINGH, N. P.; MCCOY, M. T., TICE, R. R.; et al. 1988. **A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells**. *Experimental cell research*, v. 175, n. 1, p. 184-191.

SONIBARE, O. O.; EFFIONG, I. 2008. **Antibacterial activity and cytotoxicity of essential oil of *Lantana camara* L. leaves from Nigeria**. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 15, p. 2618-2620.

SOUSA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; KAPLAN, M. A. C. 2007. **Propriedades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico de folhas de *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae)**. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 6, p. 872-877.

SOUZA, Lorena Alessandra Dias de. *Concentrado emulsionável de Melia Azedarach (Meliaceae) no controle de Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)*. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SOUZA, Eliane Silva de. *Avaliação dos aspectos imunobiológicos das células progenitoras endoteliais na anemia falciforme*. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

SRIVASTAVA, P.; KASOJU, N.; UTPAL BORA, U.; et al. 2010. **Accumulation of betulinic, oleanolic, and ursolic acids in in vitro cell cultures of *Lantana camara* L. and their significant cytotoxic effects on HeLa cell lines.** *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 15, n. 6, p. 1038-1046.

STEFFENS, Andréia Hoeltz. *Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.* Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SULTANA, S. S.; SWAPNA, G.; LAKSHMI, G. S. S.; et al. 2016. **Formulation and evaluation of herbal emulgel of *Lantana camara* leaves extract for wound healing activity in diabetic rats.** *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, v. 6, n. 8, p. 6404-6417.

SUNDUFU, A. J.; SHOUSHAN, H. **Chemical composition of the essential oils of *Lantana camara* L. occurring in south China.** *Flavour and fragrance journal*, v. 19, n. 3, p. 229-232.

TERRAZAS, Peterson Menezes. *Estudo do potencial genotóxico da Gutiferona A em diferentes células de camundongos in vivo.* Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2013.

TRESVENZOL, L. M. F.; PARENTE, L. M. L.; LINO JÚNIOR, R. S.; et al. 2013. **Avaliação da toxicidade aguda e da atividade cicatrizante dos extratos etanólicos das folhas e raízes da *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers (Bignoniaceae).** *Rev. Bras. Pl. Med.*, v. 15, n. 3, p. 423-430.

VALE, Camila Regina do. *Avaliação da Atividade Tóxica, Genotóxica e Antigenotóxica de *Hymenaea courbaril* L. em Camundongos e *Drosophila melanogaster*.* Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

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

VARGAS, A.; Zeisser-Labouèbe, M.; Lange, N.; et al. 2007. **The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the in vivo evaluation of drug delivery systems.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, n. 11, p. 1162-1176.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. 2006. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337.

VEIGA JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C. 2002. **O Gênero *Copaifera* L.** *Química Nova*, v. 25, n. 2, p. 273-286.

VIEIRA, Puebla Cassini. *Ensaio pré-clínico da desintegrina recombinante DisBa-01 na angiogênese inflamatória induzida por implantes sintéticos em camundongos*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

WILTING, J.; CHRIST, B.; BOKELOH, M. 1991. **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. 259-271.

YOSHIDA, A.; POMMIER, Y.; UEDA, T. 2006. **Endonuclease activation and chromosomal DNA fragmentation during apoptosis in leukemia cells.** *International Journal of Hematology*, v. 84, n. 1, p. 31-37.

ZANETTE-SILVA Larissa; PAITACH, Renan Lopes; FAVERI, Sarita Borges de. Efeito de fatores estruturais do ambiente sobre a variação fenotípica de espinhos em salsaparrilha, *Smilax campestris* (Smilacaceae). In: BATILANI-FILHO, Moacyr; ZANETTE-SILVA, Larissa; SEGAL, Bárbara.; et al. **Ecologia de campo: abordagens no mar, na terra e em águas continentais**. Florianópolis: UFSC/PPGE, 2014. p. 222-229.

ZANUTTO, Fabiana Volpe. *Estudo Químico e Atividades Mutagênica e Antiradicalar de *Paepalanthus Chiquitensis* Herzog (Eriocaulaceae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

12 APÊNDICES

12.1 Soluções e reagentes utilizadas na avaliação da atividade angiogênica na MCA

- ✓ Cloreto de sódio 0,9%.
- ✓ Formol 3,7%.

12.2 Soluções e reagentes utilizadas na avaliação das atividades mutagênica, antimutagênica, citotóxica e anticitotóxica através do ensaio do micronúcleo em medula óssea de camundongos

- ✓ Tiopental sódico 1,0 g.
- ✓ Soro fetal bovino.
- ✓ Corante Panótico Rápido.
- ✓ Óleo de imersão.

12.3 Soluções e Reagentes utilizadas na avaliação das atividades genotóxica e antigenotóxica através do ensaio cometa em células sanguíneas de camundongos

- ✓ Obtenção das amostras
 1. Tiopental sódico 1,0 g.
 2. Heparina sódica 5.000 UI/mL.

- ✓ Preparo da solução de lise (estoque) 1000 mL
 1. H₂O deionizada.
 2. NaCl (Cloreto de Sódio) 2,5 M.
 3. EDTA (Ácido Etilenodiaminotetracético) 100mM.
 4. TRIS 10 mM.
 5. NaOH (Hidróxido de sódio).
 6. Lauril Sarcosinato de sódio.

- ✓ Solução de lise (uso) 100 mL
 1. TRITON X-100.
 2. DMSO (Dimetilsulfóxido).
 3. Solução Estoque.

- ✓ Tampão de eletroforese
 1. NaOH (Hidróxido de sódio) 300mM.

2. EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) 200 mM.
 3. Água deionizada.
- ✓ Tampão de neutralização
1. TRIS BASE (Tris Hidroximetil Aminometano).
 2. Água deionizada.
- ✓ Solução de coloração (estoque) 20%
1. Brometo de etídio.
 2. Água deionizada.
- ✓ PBS (Tampão Fosfato Salino) 1000 mL
1. Água deionizada.
 2. NaCl 2,5 M.
 3. EDTA 100 mM.
 4. TRIS 10 mM.
 5. NaOH.
- ✓ Agarose normal
1. Agarose normal.
 2. PBS.
- ✓ Agarose de baixo ponto de fusão
1. Agarose de baixo ponto de fusão.
 2. PBS.

13 ANEXOS

13.1 – Certificado de Aprovação da CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) da PUC – Goiás.



**PUC
GOIÁS**

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA/ANTIANGIOGÊNICA E MUTAGÊNICA/ANTIMUTAGÊNICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Lantana camara* L. (Cambará)", protocolado sob o CEUA nº 9217091215, sob a responsabilidade de **Aline Carneiro Gomes Figueira e equipe; Aline Carneiro Gomes Figueira; Paulo Roberto De Melo Reis** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEUA/PUC GOIÁS) em reunião de 19/02/2016.

We certify that the proposal "EVALUATION OF ANGIOGENIC/ANTIANGIOGENIC AND MUTAGENIC/ANTIMUTAGENIC ACTIVITIES FROM LEAVES EXTRACT OF *Lantana camara* L. (Cambará)", utilizing 40 Heterogenics mice (40 males), protocol number CEUA 9217091215, under the responsibility of **Aline Carneiro Gomes Figueira and team; Aline Carneiro Gomes Figueira; Paulo Roberto De Melo Reis** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Pontifical Catholic University of Goiás (CEUA/PUC GOIÁS) in the meeting of 02/19/2016.

Vigência da Proposta: de 03/2016 a 03/2017

Área: Mestrado Em Genética - Mgene

Procedência: Biotério Central

Espécie: Camundongos heterogênicos

Gênero: Machos

idade: 45 a 60 dias N: 40

Linhagem: Swiss Webster

Peso: 30 a 40 g

Resumo: A muitos anos o homem vem utilizando as plantas medicinais para o tratamento de diversas enfermidades. Apesar das plantas possuírem diversas propriedades medicinais, elas também possuem a capacidade de causar efeitos tóxicos. A *Lantana camara* L., popularmente conhecida como cambará, é uma planta que possui diversos usos medicinais. Uma das diversas atividades que ela possui é a atividade cicatrizante. Entretanto, ela também pode ocasionar efeitos maléficos, nos fetos por exemplo ela causa anormalidades esqueléticas, sendo considerada embriotóxica. Além disso, ela também pode ocasionar outros efeitos tóxicos, como por exemplo hepatotoxicidade e causar lesões de fotossensibilização em alguns animais. Diante do exposto acima, o presente trabalho realizará testes para avaliar a atividade angiogênica e o potencial de mutagênico ou antimutagênico (ensaios de micronúcleo e cometa) do extrato das folhas de *Lantana camara* L. (Cambará) em diferentes concentrações. Os estudos da atividade angiogênica contribuem para a utilização terapêutica de cicatrização de feridas. Já a atividade antiangiogênica será importante no desenvolvimento da terapêutica antitumoral. A avaliação da toxicidade das plantas contribui tanto para a sua utilização segura quanto para a elaboração de novas formas de tratamento. Os testes micronúcleo e ensaio cometa tem a vantagem de serem tecnicamente rápidos e de baixo custo financeiro, sendo que os resultados obtidos são amplamente aceitos na comunidade científica.

Goiânia, 19 de fevereiro de 2016

Marta Regina Magalhães

Profa. Dra. Marta Regina Magalhães
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



**PUC
GOIÁS**

Comissão de Ética no Uso de Animais

Goiânia, 03 de junho de 2016
CEUA N [9217091215](#)

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Aline Carneiro Gomes Figueira

Área: Genética

Paulo Roberto De Melo Reis (orientador)

Título do projeto: "AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA/ANTIANGIOGÊNICA E MUTAGÊNICA/ANTIMUTAGÊNICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE Lantana camara L. (Cambará)".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais PUC GOIÁS

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 16/maio/2016) do protocolo de estudo acima referenciado.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Devido a carência de condições laboratoriais adequadas, não será possível preparar o extrato das folhas de Lantana camara (Cambará). Portanto, para executar o projeto será necessário a utilização de outra substância para o teste, no caso empregará o óleo essencial da Lantana camara (Cambará)".

Comentário da CEUA: "Aprovado, após avaliação da emenda.".

Profa. Dra. Marta Regina Magalhães
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profa. Dra. Graziela Torres Blanch
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pontifícia Universidade Católica de Goiás