

Prospecção química do extrato alcoólico das folhas de *Antonia ovata* Pohl (Loganiaceae) e avaliação do seu efeito carcinogênico em células somáticas de *Drosophila melanogaster*

Chemical prospection of the alcoholic extract of the leaves of Antonia ovata Pohl (Loganiaceae) and evaluation of its carcinogenic effect in somatic cells of Drosophila melanogaster

Raphael Carlos Rosa Pereira

Graduando do curso de Engenharia Química (UNIPAM).

E-mail: contatoraphaelpereira@gmail.com

Maria Perpetua Oliveira Ramos

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: perpetor@unipam.edu.br

Mirley Alves Vasconcelos

Professora coorientadora (UNIPAM).

E-mail: mirleyav@unipam.edu.br

Resumo: *Antonia ovata pohl* (Loganiaceae) é uma espécie encontrada no Cerrado brasileiro, que tem ação ictiotóxica. Objetivou-se avaliar a carcinogenicidade do extrato alcoólico das folhas da *A. ovata* em células somáticas de *Drosophila melanogaster* e fazer a sua prospecção química. Realizou-se o teste *wts* em *D. melanogaster*, provenientes do cruzamento de fêmeas *wts/TM3* com machos *mwh/mwh*, tratadas com os controles negativo (etanol - 5%), positivo (Doxorrubicina - 0,4mM) e concentrações do extrato (0,625; 1,25 e 2,5 mg/ml). A prospecção seguiu as seguintes metodologias: saponinas (espuma-agitação), flavonoides (fita de Mg), taninos (reação com FeCl₃), cumarinas (observação UV), triterpenos e esteroides (Liebermann-Burchard). Constatou-se que não houve diferenças significativas na frequência de tumores nas concentrações utilizadas, além da presença de flavonoides, saponinas, cumarinas, esteroides e taninos. Nas presentes condições, o extrato etanólico de *A. ovata* não induziu formação de tumores em *D. melanogaster* devido à ação antioxidante dos flavonoides e taninos presentes.

Palavras-chave: Antioxidante. Câncer. Gene *wts*.

Abstract: *Antonia ovata pohl* (Loganiaceae) is a species found in the Brazilian Cerrado, being relevant due to its ichthyotoxic action. The objective of this study was to evaluate the carcinogenicity of the alcohol extract of *A. ovata* leaves in *Drosophila melanogaster* somatic cells and conduct its chemical prospection. The *wts* test was performed in *D. melanogaster* from *wts/TM3* females crossbreed with *mwh/mwh* males, treated with negative controls (ethanol-5%), positive (Doxorubicin- 0,4mM) and extract concentrations (0.625, 1.25 and 2, 5 mg / ml). The prospection used the following methodologies: saponins (foam-agitation), flavonoids (Mg tape),

tannins (reaction with FeCl_3), coumarins (UV observation), triterpenes and steroids (Liebermann-Burchard). It was observed that there were no significant differences in the frequency of tumors at the concentrations used, besides the presence of flavonoids, saponins, coumarins, steroids and tannins. In these circumstances, the *A. ovata* ethanolic extract does not induce tumor formation in *D. melanogaster* due to the antioxidant action of present flavonoids and tannins.

Keywords: Antioxidant. Cancer. *wts* gene.

1 INTRODUÇÃO

Devido à sua grande biodiversidade, a flora brasileira é considerada uma das mais ricas do mundo, com mais de 56.000 espécies, sendo 4.756 de Algas, 33.297 de Angiospermas, 1.571 de Briófitas, 5.719 de fungos, 29 de Gimnospermas e 1361 de Samambaias e Licófitas (FORZZA, 2019). O conhecimento sobre plantas medicinais em muitas comunidades e em grupos étnicos brasileiros é importante. As observações populares referentes a determinadas plantas para fins medicinais são gatilho para estudos na área fitoquímica e fitoterápica, tendo em vista que pesquisadores estão cada vez mais interessados na descoberta dos constituintes químicos dessas plantas.

Sabe-se que as plantas da família *Loganiaceae* são conhecidas pelo seu conteúdo de alcaloides e iridoides. Além disso, há apenas um representante dessa família que apresenta saponinas em seu conteúdo, o gênero denominado *Antonia* (ALABDULMAGID *et al.*, 2010).

De acordo com Luitgards-Moura *et al.*, (2002), essa espécie é muito utilizada por comunidades indígenas na região de Roraima para a pesca, devido ação ictiotóxica nos peixes causada por saponinas provenientes de *Antonia ovata* Pohl. Além disso, seu estudo comprova a ação inseticida da planta em *Lutzomyia longipalpis*.

Os conhecimentos populares aliados à comprovação científica servem de estímulo para a preservação do bioma em questão, já que se aproveitam, de forma eficiente, os benefícios naturais e apoiam-se estudos relacionados à etnobotânica.

Veiga Júnior *et al* (2005) relatam que a utilização de plantas por finalidade medicinal é bastante comum para o tratamento de doenças, como processos inflamatórios e até mesmo o câncer. Algumas ervas medicinais podem atuar positivamente, aumentando os efeitos metabólicos. No entanto, eles ressaltam a importância de se avaliar o efeito toxicológico das ervas medicinais, sendo necessários estudos para que sejam ampliados os conhecimentos das plantas medicinais, como agem, quais são os seus efeitos tóxicos e colaterais.

Desta forma, analisando as propriedades desse vegetal e sua fácil aquisição, é relevante o desenvolvimento de pesquisas que avaliem o seu possível efeito carcinogênico em diferentes organismos modelos.

Sendo assim, este trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito carcinogênico do extrato alcoólico das folhas de *A. ovata*, por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*), em células somáticas de *Drosophila melanogaster*, além de realizar a análise fitoquímica desse extrato para determinação das principais classes presentes na planta.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CÂNCER E QUIMIOPREVENÇÃO

Nas últimas décadas, ocorreu aumento expressivo da incidência de câncer em todo o mundo. Ele ocorre quando há um crescimento desordenado de células em órgãos e tecidos, podendo se espalhar por metástase. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. (INCA, 2019).

Hábitos alimentares podem se relacionar diretamente com o surgimento de câncer. Nesse sentido, estudos estão sendo realizados com os chamados Alimentos Funcionais, que, de acordo com Padilha e Pinheiro (2004), são alimentos que, além do enfoque nutricional, promovem ações benéficas ao bom funcionamento do organismo, como exercer ação metabólica ou fisiológica que contribua para a saúde física e para a diminuição de morbidades crônicas, devido à sua composição fitoquímica.

Dessa forma, os fitoquímicos atuam potencialmente com mecanismos de ação anticarcinogênicos, como os antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-hormonais e antiangiogênicos. (Key *et al.*, 2002). Sendo assim, o surgimento de medicamentos provenientes de produtos naturais, os fitoterápicos, auxilia no tratamento e na quimioprevenção do câncer.

Apenas os medicamentos fitoterápicos industrializados para uso humano são registrados na ANVISA. Para o registro de medicamentos fitoterápicos, existe regulamentação específica desde 1967: Portaria nº 22, seguindo até a norma vigente RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. (ANVISA, 2015).

Vale destacar a espécie conhecida como *Antonia ovata Pohl*, muito utilizada pela medicina popular para diversas finalidades, com o propósito de trazer bem-estar.

2.2 *Antonia ovata Pohl*

Proveniente da família *Loganiaceae*, o gênero *Antonia* possui diversas espécies, mas é a *Antonia ovata Pohl* uma das mais popularmente encontradas no Brasil, no Cerrado e nas Savanas de Roraima, onde é encontrada na forma de arbusto, de acordo com o estudo de Miranda e Absy (2000).

Segundo estudo de Luitgards-Moura *et al.* (2002), *Antonia ovata Pohl* faz parte de um grupo de plantas conhecido pelo seu efeito ictiotóxico, genericamente denominado de timbó. A utilização de plantas com essa propriedade é muito comum nas tribos indígenas da Amazônia, para fins pesqueiros. Seu uso, de acordo com Alabdul Magid *et al.* (2010), é devido à presença saponinas em sua composição. Esse metabólito especial teve comprovação de seu efeito tóxico em peixes, em estudo de Tabarelli e Bonoldi (1945), manifestando-se em cinco fases sucessivas: excitação, asfixiamento, depressão inicial, depressão adiantada e morte dos peixes.

Tendo em vista as diferentes propriedades já encontradas nos extratos de *Antonia ovata Pohl*, é de grande relevância a investigação de outras propriedades como

o possível efeito carcinogênico em *D. melanogaster*, por meio do teste para detecção dos clones de tumor epitelial.

2.3 *Drosophila melanogaster*

O uso de insetos no monitoramento de danos genéticos causados por agentes químicos, especialmente *Drosophila melanogaster*, é muito utilizado. Essa mosca tem sido utilizada intensivamente para pesquisas de mutação e em testes de curto prazo para identificar carcinógenos (Vogel *et al.*, 1999).

Nepomuceno (2015) caracteriza a *D. melanogaster* como um modelo bem estabelecido para estudo genético por vários motivos: (i) ter uma geração curta de aproximadamente 10 dias a 25°C, (ii) seu caráter morfológico tem sido facilmente detectável, (iii) possui grande número de mutantes e variedades genéticas, (iv) os meios de cultura são baratos e simples e (v) é capaz de ativar efeitos de mutação e carcinogênese *in vivo*.

A referida mosca da fruta apresenta características genéticas homólogas aos mamíferos, entre elas a homologia entre o gene supressor de tumor *wts*, presente na mosca, com o gene *last1* presente em seres humanos (NISHIYAMA *et al.*, 1999). A deleção desse gene *wts* resulta no desenvolvimento de tumores por todo o corpo das moscas (ROCHA *et al.*, 2015). Nesse contexto, é de grande relevância a utilização da *D. melanogaster* na avaliação do potencial carcinogênico de compostos, por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 EQUIPAMENTOS E COMPOSTOS QUÍMICOS

3.1.1 Para o teste de WARTS (WTS) - Doxorrubicina (DXR)

O Cloridrato de Doxorrubicina (DXR), com fórmula molecular $C_{27}H_{29}O_{11}HCl$ (CAS 25316-40-9), é um fármaco que está presente no mercado com vários nomes comerciais, entre eles Adriblastina® RD, sendo este fabricado e embalado por Activis Italy S.p – Nerviano, Milão/Itália. É registrado, importado e distribuído por Pfizer Laboratório Ltda. É apresentado sob forma de ampolas de 50mg, com os seguintes compostos em sua constituição: cloridrato de doxorrubicina, manitol e lactose. Em todos os experimentos, foram utilizados 25ml de água de osmose reversa como solvente para diluir 0,03538g de DXR, resultando em uma concentração de 0,4mM, sendo a DXR o controle positivo.

3.1.2 Estudo Químico

Para estudo químico, foram utilizados balança marca AD200 – Marte Científico e instrumentação industrial LTDA; estufa Icamo, modelo 5 – qualidade Famo; liquidificador de alta rotação, dois litros Metvisa de modelo LAR2127CCS; rotavapor –

Fisatom; refratômetro Biobrix; mufla marca SP Labori (modelo SP – 1200); câmara UV SL 204; espalhador de sílica; estufa para esterilização e secagem EL 1.6.

Os reagentes utilizados foram os seguintes: clorofórmio P.A – Synth; solução Dragendorff; hidróxido de amônio - Vetec; hidróxido de sódio - Vetec; anidrido acético - Vetec; ácido sulfúrico – Êxodo; ácido clorídrico- Moderna; solução alcoólica de cloreto de ferro; difenilboriloxietilamina (NP) – Sigma aldrich; solução de polietilenoglicol; etanol - Dinâmica; solução alcoólica de cloreto de ferro; reagente Benedict; hexano P.A ACS – Êxodo científico; acetato de etila marca Vetec; metanol marca Dinâmica; acetona P.A - Êxodo; peróxido de hidrogênio - Vetec; sílica gel 60 (0,2 – 0,5 mm) – Vetec; sílica gel 60 para cromatografia em camada fina– marca Vetec.

3.2 ESTUDO QUÍMICO DAS FOLHAS DE *Antonia ovata Pohl*

O estudo químico foi realizado no Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). A obtenção do extrato alcoólico, o isolamento e purificação das substâncias, bem como a prospecção química foram realizados no Laboratório de Química Orgânica.

3.2.1 Coleta e identificação do material vegetal

O material vegetal foi coletado na região de Tabocas – MG, em março de 2018. Ramos floridos da planta em estudo foram coletados para confecção de exsiccatas e para a constituição de parte do acervo botânico do Laboratório de Ensino e Pesquisa Herbário *Mandevilla* sp. A confirmação da espécie e confecção de exsicata seguiram técnicas usuais em herborização.

3.2.2 Obtenção da matéria vegetal triturada e do extrato etanólico

O material coletado foi submetido à secagem natural por uma semana. Após esse período, as folhas secas à temperatura ambiente foram colocadas em estufa de ar circulante a uma temperatura de aproximadamente 40°C, por 48 horas, até desidratação do material e obtenção de peso constante. A seguir, o material foi triturado e submetido à extração por meio de percolação. O material foi filtrado, e o solvente foi reduzido e recuperado em rotaevaporador. O extrato obtido foi dividido em duas partes. Uma parte foi usada para realização da prospecção, fracionamento e purificação dos constituintes químicos. A outra parte foi utilizada para avaliar o seu efeito carcinogênico, por meio do teste *wts*.

3.3 WARTS (WTS) - TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

Para realização do teste *wts* (*warts*), foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts* e *mwh*) portadoras dos marcadores genéticos *warts* (*wts*, 3-100) e *multiple wing hairs*, (3-03), respectivamente. A linhagem *wts* foi disponibilizada por

Bloomington *Drosophila* Stock Center, da Universidade de Indiana nos Estados Unidos (USA), registrada sob o número Bloomington/7052.

Os estoques das moscas são cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, sendo mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *D. melanogaster*. Esse meio é composto por 820 mL de água, 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), 11 g de ágar, 156 g de banana e 1g de nipagin. As linhagens são conservadas dentro de uma incubadora B.O.D. 411 D, a uma temperatura em torno de 25° C e 60% de umidade.

Para obtenção de larvas heterozigotas de 72 horas *wts+/+mwh*, foi realizado o cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3,Sb¹* com machos *mwh/mwh*. As larvas descendentes desse cruzamento foram tratadas com soluções constituídas de 5mL do extrato alcoólico das folhas de *Antonia ovata Pohl*, nas concentrações de 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL e 0,625 mg/mL, isoladamente. Nesse experimento, foram utilizados os controles negativo (etanol 5%) e positivo (Doxorrubicina 0,4 mM). Os frascos de tratamento, além de conterem os agentes químicos mencionados, possuíam também 1,5 g de purê de batata.

Nessa etapa do tratamento, as larvas ficaram expostas aos agentes químicos testados, por um período crônico de aproximadamente 48 horas, até ocorrer a empupação. Após o tratamento, as moscas foram coletadas e armazenadas em frascos devidamente identificados, contendo etanol (C₂H₆O) 70%. Somente as moscas adultas de pelos longos e finos foram analisadas, ou seja, somente aquelas portadoras do gene *wts*, com o balanceador cromossômico (*TM3, Sb¹*) ausente.

No momento da análise, os indivíduos foram transferidos para uma placa escavada contendo glicerina (Glicerol, C₃H₈O₃), analisados em lupa estereoscópica para visualização e contagem da presença de tumores. Para registrar a frequência de tumores, foi utilizada uma planilha padrão que separa quantitativamente a ocorrência de tumores nas regiões do corpo.

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das concentrações testadas e os controles (positivo e negativo) foram calculadas utilizando-se o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, empregando-se o nível de significância $\alpha=0,05$.

3.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS ESPECIAIS

Os ensaios químicos para avaliar a presença de diferentes metabólitos especiais foram realizados por meio de métodos convencionais de identificação desses compostos, através de mudança de cor e/ou formação de precipitados: saponinas (teste de espuma-agitação), flavonoides (reação de ácido clorídrico com fita de magnésio), taninos (reação com cloreto férrico), cumarinas (extração com éter etílico, observação sob UV) e triterpenos e esteroides (reação de Liebermann-Burchard).

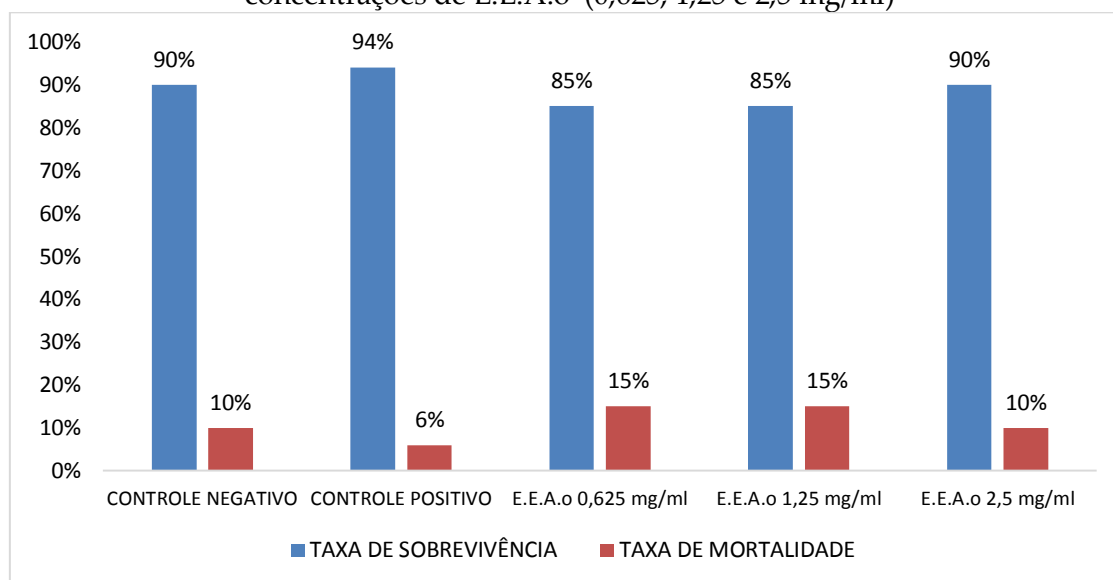
A interpretação do resultado dos testes de prospecção fitoquímica foi realizada pela observação de resultados característicos esperados, indicando-se resultados positivos ou negativos, respeitando-se as particularidades de cada substância avaliada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 WARTS (WTS) - TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

Foi realizado teste de toxicidade do extrato das folhas de *A. ovata* nas concentrações de 0,625, 1,25 e 2,5 mg/mL, a fim de se assegurar a utilização dessas concentrações de forma que houvesse maior taxa de nascimento e menor taxa de mortalidade de *D. melanogaster*. O gráfico 1 mostra que a taxa de mortalidade não foi superior a 15 %. Dessa forma, o extrato alcoólico das folhas de *A. ovata* não se mostrou tóxico nas concentrações em estudo, assegurando a utilização dessas concentrações no experimento em questão.

Gráfico 1: Taxas de mortalidade e sobrevivência de *Drosophila melanogaster* expostas ao controle negativo (Etanol 5%), ao controle positivo (Doxorrubicina) e três concentrações de E.E.A.o (0,625; 1,25 e 2,5 mg/ml)



Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Após a coleta das *D. melanogaster* sobreviventes, a contagem e a análise dos tumores epiteliais, foi elaborada a Tabela 1, que apresenta a frequência de tumores em cada parte do organismo analisada: olhos, cabeça, corpo, asas, pernas e halteres, além do total de tumores encontrados no controle positivo de Doxorrubicina (DXR - 0,4 mM) e no negativo de Etanol 5%.

Tabela 1: Frequência dos clones tumores epiteliais observada em *Drosophila melanogaster*, heterozigoto para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas isoladamente com os controles negativo (Etanol 5%), positivo Doxorubicina (DXR - 0,4mM) e três diferentes concentrações do Extrato Etanólico de *Antonia ovata Pohl* (E.E.A.o – 0,625; 1,25 e 2,5 mg/ml)

| Tratamentos | | | Nº de moscas analisadas | Número de tumores analisados | | | | | | Total | Frequência (Nº de tumores/mosca) |
|--------------------|-------------|---------------|-------------------------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-------------|-------------------------------------|
| E.E.A.o (mg/ml) | DXR (mM) | Etanol (%) | | Olho | Cabeça | Asa | Corpo | Perna | Halter | | |
| 0 | 0 | 5 | 150 | 0,10(15) | 0,05(7) | 0,31(46) | 0,43(65) | 0,13(20) | 0,04(6) | 1,06(158) | 1,06 (158) |
| 0 | 0,4 | 0 | 150 | 0,13(20) | 1,10(165) | 4,97(745) | 2,50(375) | 1,91(286) | 0,53(80) | 11,14(1664) | 11,14 (1664)* |
| 0,625 | 0 | 0 | 150 | 0,17(25) | 0,04(6) | 0,35(52) | 0,57(86) | 0,15(23) | 0,09(14) | 1,37(204) | 1,37 (204) |
| 1,25 | 0 | 0 | 150 | 0,07(9) | 0,12(20) | 0,51(66) | 0,60(73) | 0,17(26) | 0,11(16) | 1,58(208) | 1,58 (208) |
| 2,5 | 0 | 0 | 150 | 0,09(14) | 0,06(9) | 0,33(50) | 0,75(113) | 0,09(14) | 0,09(14) | 1,43(212) | 1,43 (212) |

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância $p \leq 0,05$.

* Valor considerado diferente do controle negativo ($p < 0,05$).

DXR, doxorubicina.

Fonte: Elaborado pelo autor (2019).

A Tabela 1 mostra que houve diferenças significativas na frequência de tumores encontrada no controle positivo (DXR – 0,4 mM) se comparada ao controle negativo. Tal resultado pode ser comprovado devido ao mecanismo de ação da Doxorubicina. De acordo com Kaiserová *et al.* (2006), a característica proeminente da DXR é a indução do estresse oxidativo, devido à formação de espécies reativas de oxigênio, que causam danos a células cardíacas e neoplásicas.

Além disso, Kaiserová *et al.* (2006) apontam que esses danos ocorrem devido tanto à presença de mitocôndrias, que são alvo das espécies reativas de oxigênio, quanto à fraca defesa antioxidante que as células possuem.

A referida tabela mostra ainda que não houve alteração significativa na frequência de tumores nas três concentrações do extrato alcóolico das folhas de *Antonia ovata*, se comparada ao controle negativo. Assim fica expressa ausência de atividade carcinogênica exercida por este extrato alcóolico.

Tendo em vista esses resultados expressos na tabela 1, verificou-se a necessidade da realização de testes de prospecção química do extrato em estudo, para a identificação de compostos que, possivelmente, tenham contribuído para essa ausência de carcinogenicidade.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS ESPECIAIS

Com base nos testes de identificação de metabólitos especiais, foi elaborada a Tabela 2, que apresenta os resultados obtidos nos testes, a fim de se evidenciar a presença de flavonoides, cumarinas, triterpenos, esteroides, taninos e saponinas bem como as evidências de resultado positivo.

Tabela 2: Metabólitos especiais nas folhas de *Antonia ovata* Pohl

| Metabólito | Teste | Evidência | Resultado |
|-----------------------|--|--|-----------|
| Flavonoides | Shinoda | Mudança de coloração (avermelhada) | ++ |
| Cumarinas | NaOH 10% | fluorescência em luz UV (λ ~365 nm) | + |
| Cumarinas | KOH e Metanol | fluorescência em luz UV (λ ~365 nm) | + |
| Triterpenos | Liebermann-Burchard | mudança de coloração (vermelho → marrom) | - |
| Esteroides | Liebermann-Burchard | Mudança de coloração (verde → azul) | ++ |
| Taninos hidrolisáveis | Cu(CH ₃ COO) ₂ 10% | Precipitado esbranquiçado | - |
| Taninos hidrolisáveis | FeCl ₃ 2% | Mudança de coloração (azul) | - |
| Taninos condensados | FeCl ₃ 2% | Mudança de coloração (verde) | ++ |
| Saponinas | Teste de espuma | Formação de espuma | ++ |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Tendo em vista os resultados apresentados na tabela 2, as folhas de *Antonia ovata Pohl* possuem flavonoides, cumarinas, esteroides, taninos condensados e saponinas. Nesse sentido, a presença de cumarinas, de acordo com Ruivo (2012), permite aplicações da planta na fitoquímica e na fitocosmética devido à sua atuação como antioxidante, inibidor de agregação plaquetária e anti-inflamatório e como estimulante da circulação venosa e protetor do tecido cutâneo.

De acordo com Queiroz (2009), os esteroides ou fitoesteróis podem ser aplicados na indústria farmacêutica no controle de colesterol, como método anticoncepcional, além de aplicações na cosmética ou uso como suplementos alimentares. Conforme Castejon (2011), as saponinas são também derivadas dos esteroides, sendo estruturas com caráter anfifílico, com parte lipofílica e parte hidrofílica. Saponinas, segundo Castejon (2011), podem se relacionar a atividades hemolíticas, molusquicidas e ictiotóxicas, o que se observa também no estudo de Alabdul Magid *et al.* (2010).

Segundo Ruivo (2012), os flavonoides são importantes para o aumento da resistência capilar. Além de possuírem propriedades antioxidantes, calmantes, desenvolvendo ação anti-inflamatória, são utilizados na cosmética, em produtos que protegem a pele do stress oxidativo, atuando como agentes antienvhecimento. Conforme Castejon (2011), os taninos estão sendo atribuídos a atividades antibacterianas, reparação de tecidos e cicatrização de feridas, estimulação de células fagocíticas e ação antioxidante.

Machado *et al.* (2008) relacionam as moléculas de radicais livres à ocorrência de tumores, fato que pode ser comprovado devido à capacidade de essas moléculas atacarem as biomoléculas como o DNA. Griffiths *et al.* (2017) mencionam a ocorrência significativa de tumores sujeitos a mutações nos genes do ciclo celular, como os genes supressores de tumor, que podem ser ocasionadas por diversos agentes, como os radicais livres.

Nesse contexto, os antioxidantes, por serem compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de biomoléculas, como o DNA, evitam o início ou a propagação das reações de oxidação em cadeia (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004) e a ocorrência de divisões celulares descontroladas, responsáveis pelos tumores.

Tendo em vista a presença significativa de flavonoides e taninos, evidenciada na prospecção química do extrato alcoólico de *Antonia ovata Pohl*, o presente trabalho sugere que esses metabólitos podem ter sido impactantes nos resultados da ausência de carcinogenicidade em *Drosophila melanogaster*, devido à sua comprovada atuação antioxidante (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; PESSUTO *et al.* 2009).

5 CONCLUSÃO

As folhas de *Antonia ovata Pohl* possuem características químicas e biológicas importantes, como a presença de metabólitos especiais encontrados em seu extrato alcoólico nos testes realizados. A presença de flavonoides, saponinas, cumarinas, esteroides e taninos torna-a utilizável na indústria farmacêutica, na aplicação tanto em medicamentos quanto em produtos cosméticos.

Nessas condições experimentais, não foi constatada atividade carcinogênica em *D. melanogaster* quando aplicadas as concentrações de extrato alcoólico de *Antonia ovata* Pohl de 0,625; 1,25 e 2,5 mg/ml. Esse resultado pode estar relacionado à presença dos flavonoides e taninos encontrados em maior quantidade no extrato da planta.

Como foi realizada a análise carcinogênica do extrato aplicado isoladamente, esse trabalho sugere pesquisas futuras em relação à atividade anticarcinogênica, por exemplo, com aplicação do extrato em organismos de forma associada à Doxorubicina (DXR – 0,4 mM).

REFERÊNCIAS

ALABDUL MAGID, A., BOBICHON, H., LALUN, N., LONG, C., MORETTI, C., LAVAUD, C., Cytotoxic triterpenoid saponins from the stem bark of *Antonia ovata*. *Phytochemistry*, v. 71, p. 429–434, 2010.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Consolidado de normas da COFID (Versão V)**. Brasília, jan. 2015. 737p.

CASTEJON, F.V. **Taninos e Saponinas**. 2011. 29 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. *Visão Acadêmica*, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

FORZZA, R. C. **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 1 mar. 2019.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; CARROL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução à genética**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 737 p.

INCA: Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **O que é câncer?** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Rio de Janeiro. Acesso em: 01 mar. 2019.

KAISEROVÁ, H.; HARTOG, G. J. M. den; SIMUNEK, T.; SCHRÖTEROVÁ, L.; KVASNICKOVA, E.; BAST, A. Iron is not involved in oxidative stress-mediated cytotoxicity of doxorubicin and bleomycin. *British Journal Of Pharmacology*, p. 920-930, 2006.

KEY T. J.; ALLEN, N. E.; SPENCER, E. A., TRAVIS, R.C. The effect of diet on risk of cancer. *Lancet*, v.360, p.861-8, 2002.

LUITGARDS-MOURA, J.F., BERMUDEZ, E. G. C., ROCHA, A. F. I. da; TSOURIS, P., ROSA-FREITAS, M.G. Preliminary assays indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazonica* (Papilionaceae), ichthyotoxic plants used for fishing in Roraima,

- Brazil, have an insecticide effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, p.737-742, 2002.
- MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.
- MIRANDA, I. S.; ABSY, M. L. FISIONOMIA DAS SAVANAS DE RORAIMA, BRASIL. **Acta Amazônica, Manaus**, v. 3, n. 30, p.423-440, 2000.
- NEPOMUCENO, J. C. Using the *Drosophila melanogaster* to Assessment Carcinogenic Agents through the Test for Detection of Epithelial Tumor Clones (Warts). **Advanced Techniques In da Biology & Medicine**, v.3, 149 p. 2015.
- NISHIYAMA, Y.; HIROTA, T.; MORISAKI, T.; HARA, T.; MARUMOTO, T.; IIDA, S.; MAKINO, K.; YAMAMOTO, H.; HIRAOKA, T.; KITAMURA, N.; SAYA, H. A human homolog of *Drosophila* warts tumor suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. **FEBS Letters**, v. 459, n.2, p. 159-165, 1999.
- PADILHA, P. C.; PINHEIRO, R. L. O Papel dos Alimentos Funcionais na Prevenção e Controle do Câncer de Mama. **Revista Brasileira de Cancerologia – INCA**, v. 3, n. 50, p.251-260, jan. 2004.
- PESSUTO, M. B.; COSTA, I.C.; SOUZA, A.B.; NICOLI, F.M.; MELLO, J.C.P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p.412-416, 26 jan. 2009.
- QUEIROZ, G. S. **Análise de Esteroides em Extratos Vegetais e Estudo Fitoquímico e Biológico Preliminar de *Brunfelsia uniflora***. 2009. 56 f. Relatório de Estágio - Curso de Química, Departamento de Química, Ufsc, Florianópolis, 2009.
- ROCHA, A. A. O.; ALVES, G. C. C.; ORSOLIN, P. C. Efeito modulador do Roacutan®(isotretinoína) sobre a carcinogenicidade da doxorubicina, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**, v. 12, n. 2, p. 201-212, 2015.
- RUIVO, J. S. P. **Fitocosmética: aplicação de extratos vegetais em cosmética e dermatologia**. 2012. 96 f. Mestrado - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.
- TABARELLI, N. J. F.; BONOLDI, V. DA AÇÃO DA SAPONINA SOBRE PEIXES: GUARUS (*Poecilia* sp.) E ACARÁS (*Geophagus* sp.). **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, v. 3, n. 1, p.19-26, dez. 1945.

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

VOGEL, E. W.; GRAF, U.; FREI, H. J.; NIVARD, M. M. The results of assays in *Drosophila* as indicators of exposure to carcinogens. **IARC Sci Publ**, v.146, p.427- 470, 1999.