

## Potencial bioativo de ervas-de-passarinho: Efeito do extrato aquoso de folhas de *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. (Santalaceae) na mitose

Bioactive potential of finches: Effect of the aqueous extract of leaves of *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. (Santalaceae) on mitosis

Potencial bioactivo de los pinzones: Efecto del extracto acuoso de hojas de *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. (Santalaceae) sobre la mitosis

Recebido: 11/06/2021 | Revisado: 19/06/2021 | Aceito: 22/06/2021 | Publicado: 05/07/2021

### Arno Rieder

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9027-2549>  
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil  
E-mail: [riederarno@gmail.com](mailto:riederarno@gmail.com)

### Fabiana Aparecida Caldart Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4293-3402>  
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil  
E-mail: [facaldar@gmail.com](mailto:facaldar@gmail.com)

### Maria das Dores dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3005-9324>  
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil  
E-mail: [maria.doracaceres@gmail.com](mailto:maria.doracaceres@gmail.com)

### Kauanne Naysa Alves Pegaiani

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7891-5348>  
Centro Universitário Cândido Rondon, Brasil  
E-mail: [kauannepegaiani@hotmail.com](mailto:kauannepegaiani@hotmail.com)

### Edir de Abreu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7510-8938>  
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil  
E-mail: [profedir.com.br@gmail.com](mailto:profedir.com.br@gmail.com)

### Resumo

Ervas-de-passarinho medicinais são utilizadas também em câncer-terapias. Nesse trabalho avaliaram-se efeitos mitóticos do extrato aquoso de folhas do *Phoradendron piperoides* (Kunth) Trel.. O material vegetal foi coletado em Cáceres, Mato Grosso, Brasil, 2017. Aplicou-se o teste *Allium cepa* L. com três concentrações de extrato aquoso foliar (0, 6 e 18 g do pó de folhas/500 mL de água). As cebolas com raízes recém-emissas ficaram imersas, na solução, por 24 horas (ação) e, por mais 24 horas em água (recuperação). Foram coletadas raízes para microscopia e contagem de células para cálculo dos índices mitóticos (IM%). O IM% na maior concentração foi menor que na intermediária (3,95% c < 16,80% b) e, estas duas, distinguiram-se do controle (60,40% a). A inibição da mitose acentuou-se com o aumento da concentração do extrato. Os IM%, no controle dos ensaios de ação e de recuperação estiveram similares (60,47%), mas maiores que nas demais concentrações; nas doses intermediária (16,80% B < 36,60% A), maior (3,95% B < 46,00% A) e na média geral (27,05% B < 47,71% A) foram menores (p < 0,05) na ação que na recuperação. Por fim evidencia-se que *P. piperoides* possui compostos bioativos, extraídos em água, inibidores da mitose, efeitos dose-dependente e parcialmente reversíveis na recuperação.

**Palavras-chave:** Extratos; Uso popular; Bioatividade; Alterações na mitose; Citotóxico; Recuperação.

### Abstract

Medicinal mistletoes are also used in cancer therapies. Mitotic effects of the aqueous leaf extract of *Phoradendron piperoides* (Kunth) Trel. were evaluated. The plant material was collected in Cáceres, Mato Grosso, Brazil, in 2017. The test with three concentrations of aqueous leaf extract (0, 6 and 18 g of leaf powder/500 mL of water) was applied to *Allium cepa* L. Newly-emitted onion roots were immersed in the solution for 24 hours (action) and another 24 hours in water (recovery). Roots were collected for microscopy and cell counting was used to calculate the mitotic indices (MI%), which showed a lower value at the highest concentration than the intermediate concentration (3.95% c < 16.80% b), both differing from the control (60.40% a). Mitosis inhibition increased with an increase in extract concentration. The mitotic indices in the control of action and recovery tests were similar (60.47%) but higher than in the other concentrations. The indices were higher (3.95% B < 46.00% A) at intermediate doses (16.80% B < 36.60% A) and lower (p < 0.05) in the action than the recovery considering the overall average

(27.05% B < 47.71% A). Thus, *P. piperoides* has bioactive compounds extracted in water that are inhibitors of mitosis, dose-dependent, and partially reversible effects on recovery.

**Keywords:** Extracts; Folk use; Bioactivity; Changes in mitosis; Cytotoxic; Recovery.

### Resumen

Las hierbas medicinales para aves también se utilizan en terapias contra el cáncer. Se evaluaron los efectos mitóticos del extracto acuoso de hojas de *Phoradendron piperoides* (Kunth) Trel. El material vegetal fue recolectado en Cáceres, Mato Grosso, Brasil, 2017. Se aplicó la prueba de *Allium cepa* L. con tres concentraciones de extracto acuoso de hoja (0, 6 y 18 g de polvo de hoja / 500 mL de agua). Las cebollas con raíces recién emitidas se sumergieron en la solución durante 24 horas (acción) y durante otras 24 horas en agua (recuperación). Se recolectaron raíces para microscopía y recuento celular para calcular índices mitóticos (% IM). Este, en la concentración más alta, fue menor que en el intermedio (3,95% c < 16,80% b) y ambos fueron diferentes del control (60,40% a). La inhibición de la mitosis se acentuó con el aumento de la concentración del extracto. Los índices mitóticos, en el control de la acción y las pruebas de recuperación fueron similares (60,47%), pero superiores a las demás concentraciones; en las dosis intermedias (16,80% B < 36,60% A), superiores (3,95% B < 46,00% A) y en la media general (27,05% B < 47,71% A) fueron menores (p < 0,05) en la acción que en la recuperación. Se concluye que *P. piperoides* tiene compuestos bioactivos, extraídos en agua, inhibidores de la mitosis, efectos dosis-dependientes y parcialmente reversibles en recuperación.

**Palabras clave:** Extractos; Uso popular; Bioactividad; Cambios en la mitosis; Citotóxico; Recuperación.

## 1. Introdução

### 1.1 Uso de plantas em cuidados de saúde

A utilização de plantas medicinais é estimulada pela Organização Mundial da Saúde-OMS (Brasil, 2006), sendo usadas mundialmente inclusive na terapia do câncer (Corrêa, Maynié, França & Honório-França, 2006). As plantas medicinais, importantes desde os primórdios, são alvos de pesquisas que podem estimular e orientar o desenvolvimento de produtos medicamentosos promissores e, estão na base em cuidados com a saúde (World Health Organization [WHO], 1998).

Mais da metade dos pacientes com câncer usam terapias alternativas e complementares, mas poucos revelam isto a seus médicos (Smith & Boon, 1999).

A grande maioria da população possui confiança nos métodos da medicina tradicional. Nos países em desenvolvimento, cerca de 80% da população confiam nos produtos derivados de plantas medicinais e os aplicam em cuidados com a saúde (Firmo et al., 2012).

As plantas constituíram a base da medicina tradicional (Gurib-Fakim, 2006) e, as medicinais são usadas com segurança pela população quando há conhecimento e indicação adequada, acompanhada por profissionais da área, sendo importante o usuário saber dos riscos e benefícios envolvidos (Almeida, 2019; Rempel, Maciel, Bergmann, De Morás & Goettens, 2019). O uso de erva medicinal requer qualidade, segurança e eficácia; razão pela qual a avaliação científica exata deve ser previamente realizada para então endossar, ou não, sua aplicação em terapias com plantas (Akwu, Naidoo & Singh, 2019).

Entre as plantas medicinais tem-se ervas-de-passarinho (hemiparasitas, viscos), como espécies das famílias Loranthaceae e Santalaceae, fixadas e crescendo em galhos de árvores, sugando a água e minerais de suas hospedeiras (Cazetta & Galetti, 2007). Há estudos que mencionam o uso popular destas na terapia de várias enfermidades, entre as quais, tumorais e câncer (Smith & Boon, 1999; Lorenzana-Jimenez et al., 2018) inclusive, com eficácia, para câncer da mama (Lorenzana-Jimenez et al., 2018).

Em Mato Grosso (BRA), ervas-de-passarinho são usadas popularmente para tratar o câncer e, para várias outras enfermidades, mais frequentemente para afecções do sistema respiratório (Rieder, Silva, Rodrigues, Rodrigues & Silva, 2015).

Entre os viscos, a espécie amplamente encontrada e utilizada na medicina popular da Europa é o *Viscum album* L. - Santalaceae (Oliveira, 2012). Produtos da espécie são aplicados, por mais de 100 anos, na terapia do câncer (Bonamin, De

Carvalho & Waisse, 2017) e, provavelmente, seja também, a mais estudada no mundo para entender a sua história e esclarecer seu potencial na terapia do câncer.

Na América o gênero *Phoradendron* Nutt. (Santalaceae) também tem importância medicinal e popularmente atribuem-no algumas propriedades farmacológicas como cicatrizante, analgésica e anticancerígena (Bastos et al., 2017) e; no nordeste brasileiro a *P. piperoides* e outras do gênero *Phoradendron* são usadas na terapia da tosse, influenza, distúrbios gastrointestinais, desordens femininas e dor (Vasconcellos et al., 2009) e; também para tratar da pressão arterial elevada (Varela et al., 2004).

Na medicina tradicional mexicana outra *Phoradendron* (*P. robinsoni*) é comumente utilizada para redução da pressão arterial, combate da tosse e fortalecimento do sistema imunológico (Gómez-Cansino, Guzmán-Gutiérrez, Campos-Lara, Espitia-Pinzón & Reyes-Chilpa, 2017).

A *P. piperoides* está na lista de plantas medicinais usadas em Trinidad e Tobago (Barclay, 2012), Peru (Rojas, Caviedes, Lock & Gilman, 2006), Porto Rico (Ashworth, 2000), Argentina (Maiocchi, Petenatti & Delvitto, 2019), Brasil (Dias et al., 2007; Rieder et al., 2015; Silva et al., 2015). É usada como anti-inflamatória, analgésica, para distúrbios gastrointestinais, respiratórios, tratamento de tumores (Guimarães, 2006; Vasconcellos et al., 2009). No Estado de Sergipe (Brasil) a infusão de suas folhas é utilizada no combate à dor e como antibiótico e abortiva (Dias et al., 2007). Guimarães (2006) e Rieder et al. (2015) mencionam que a espécie é também aplicada popularmente na terapia do câncer.

## 1.2 Ocorrências de viscos: ênfase à família Santalaceae e gênero *Phoradendron* Nutt.

Conforme Nickrent, Malécot, Vidal-Russell e Der (2010) a classificação revisada na ordem Santalales (Angiosperma), exceto a família Olacaceae, todas as demais famílias (17) são parasitárias em que evoluíram para o parasitismo aéreo gerando viscos com rica diversidade. Entretanto Nickrent (2013), numa tabela atualizada em 06 mar 2012, apresenta que a ordem Santalales é composta de 149 gêneros e 2307 espécies de hemiparasitas; totaliza também, respectivamente, os números de gêneros e de espécies nas famílias Loranthaceae (76; 1044), Santalaceae (11; 66) e Viscaceae (7; 563). Referenciando a IV Angiosperm Phylogeny Group classification -APG IV (Chase et al., 2016) e Nickrent et al. (2010), Caires (2017) menciona que a família Santalaceae (atualizada) possui 44 gêneros e cerca de 1022 espécies, as quais têm distribuição tropical, subtropical e temperada.

A família Santalaceae está em todo o mundo (Dettke & Milaneze-Gutierrez, 2007) e, nesta, a espécie *Viscum album* é, provavelmente, a mais estudada, è hemiparasita, nativa na Europa, farmaceuticamente rica e um símbolo mitológico (Zuber, 2004).

O gênero *Phoradendron* é exclusivo do continente americano (Dettke & Milaneze-Gutierrez, 2009; Dettke & Waechter, 2014) sendo neotropical (Caires, 2017) e, é o mais numeroso com cerca de 230 (Dettke & Waechter, 2014) a 240 espécies (Caires, 2017). A maior diversidade de espécies de viscos encontra-se na América do Sul (Rizzini, 1978), distribuindo-se do sul dos EUA até a Argentina (Caires, 2017). Polli, Souza e Almeida (2016) citam que o gênero *Phoradendron* também ocorre no leste da Índia.

No Brasil, conforme citações de Caires (2017), a família Santalaceae tem oito gêneros e 68 espécies; no Pará, foram registrados três gêneros e 25 espécies.

O número de espécies do gênero *Phoradendron*, ocorrentes no Brasil é discordante entre alguns autores, o que pode ser justificado pelo avanço de pesquisas no tempo e no espaço. Rigon (2011) registra 60, enquanto Dettke e Caires (2015), mais recentemente, 69 espécies e, bem distribuídas em todos os domínios fitogeográficos.

A espécie *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. tem ocorrência em diferentes regiões brasileiras (De Vasconcelos, Caires & De Melo, 2015; Guarim Neto, 1991; Moreira, Batista & Guarim Neto, 2013). Rigon (2011) constatou 14 espécies do gênero *Phoradendron* ocorrendo no Paraná e entre as quais estava a *P. piperoides*. No Estado de Mato Grosso (MT), Guarim Neto (1991) menciona ter havido coleta de material vegetal da *P. piperoides* nas margens do rio Paraguai, próximo da Ilha de Taiaimã.

No meio urbano de Cáceres (MT), em 2015, foram encontradas duas espécies, a *P. piperoides* (Kunt.) Trel. e a *P. mucronatum* (DC.) Krug & Urb. (Rieder et al., 2015; O.B. Silva et al., 2015) e, recentemente (junho de 2019) foi encontrada e identificada uma terceira espécie, a *P. bathyoryctum* Eichler (A. Rieder, C. S. Caires, O. B. Silva & T. M. Silva., 2019, comunicação por correio eletrônico).

### 1.3 Atividades reveladas por estudos farmacológicos

O câncer causa muitas mortes em adultos no Brasil (De Moraes, Alonso & Oliveira-Filho, 2011). Dessa maneira, a busca de alternativas terapêuticas para esta enfermidade, entre plantas medicinais e, em especial em viscos, se constitui propósito de vários projetos de pesquisa em universidades.

Em estudos com *Viscum album*, Singh et al. (2016) mencionaram que múltiplas atividades terapêuticas derivam da diversidade fitoquímica encontrada em suas partes vegetais. Extratos e substâncias isoladas deste visco proporcionam efeitos favoráveis nas terapias do câncer, de autoimunidade e de processos inflamatórios. Estudos recentes sugerem haver melhora na sobrevida e na qualidade de vida de pacientes tratados, contra câncer, com preparações desse visco (Singh et al., 2016). Estes estudos verificaram que constituintes da *V. album* exibem atividades imunomoduladoras, anti-hipertensiva, antioxidantes, citotóxica, antitumoral, anti-inflamatória, antidiabética, antimicrobiana e sedativa.

O extrato aquoso da folha de *V. album* é anti-hipertensivo, sem afetar frequência cardíaca, provavelmente envolvendo mecanismo simpático (Ofem et al., 2007).

Estas multifunções resultam da heterogênea composição química, constituindo a base para as diversas atividades farmacológicas do visco (Singh et al., 2016), cuja individual, somativa e interativa ação define o resultado bioativo.

Acredita-se que as descobertas das propriedades do *V. album*, do seu potencial e dos benefícios medicinais, em especial na terapia do câncer, estimularam estudos com outras espécies de viscos distribuídos pelo mundo.

Entre as bioatividades pesquisadas de espécies do gênero *Phoradendron*, está o potencial terapêutico para tumores e câncer. Estudos revelam uma diversidade importante de bioatividades, tendo-se: ação hepatoprotetora (*P. obtusissimum*; Velazquez et al., 2014); efeitos citotóxicos ativos em células de câncer de mama (*P. serotinum*; Jacobo-Salcedo et al., 2011); atividade contra carcinoma nasofaringe (*P. vernicosum* Greenm; Caamal-Fuentes et al., 2011); efeito inibitório para NCI-H292 - carcinoma mucoepidermóide pulmonar, MCF-7 - adenocarcinoma de mama humana e HEp-2 - carcinoma epidermóide da laringe (*P. mucronatum*; Bastos et al., 2017); inibição do crescimento celular de NCI-H292 e HEp-2 (*P. microphyllum*; Bastos et al., 2017); citotoxicidade sobre a linhagem tumoral humana HEp-2), antifúngicos diante da *Candida albicans*; não letais no teste de toxicidade aguda; efeitos excitatórios e inibitórios na avaliação comportamental e, auxílio na cicatrização de feridas cutâneas (*P. mucronatum* e *P. mycrophyllum*; Bastos et al., 2017); atividade hemolítica ausente em baixas concentrações (< 250 µg extrato.mL<sup>-1</sup>), mas presente em altas concentrações (500 µg.mL<sup>-1</sup>) (*P. bathyoryctum* Eichler; Martinez et al., 2013); efeito de 50 µg de extrato vegetal neutralizar (39,7 ± 1,99%) radicais livres DPPH e contendo um equivalente a 75.400 ± 3764 µg de ácido ascórbico (*Phoradendron bathyoryctum* Eichler; Martinez et al., 2015); atividade antioxidante de flavonóis (Arokoyo, 2017; Arokoyo, Oyeyipo, Du Plessis, Popoola & Aboua, 2019) encontrada em hemiparasitas, tal como C-glicosilflavonas e 3-desoxiproantocianidinas na espécie *P. liga* (Varela et al., 2001; Varela et al., 2004).

Há vários estudos que abordam propriedades e bioatividades proporcionadas por extratos da espécie *Phoradendron piperoides*, os quais revelam: - efeitos miorelaxantes, antiespasmódicos e, baixa toxicidade aguda do extrato aquoso foliar, sem efeito antinociceptivo em animais cobaias-camundongos (Dias et al., 2007); - atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antioxidante produzidas pelo extrato metanólico, o que requer a identificação e o isolamento dos componentes bioativos (Vasconcellos et al., 2009); - indícios de efeitos antidiabéticos de componentes encontrados na planta (Rostron, 2014; Rodriguez et al., 2008); - efeito inibitório de 40% da atividade da acetilcolinesterase (AChE) apenas do extrato aquoso foliar e, sem este efeito, sobre a enzima, do extrato etanólico (Mota et al., 2012); - altos potenciais antioxidantes (> 75%) nas composições polares (extrato metanólico bruto, fração acetato de etila e partição metanólica) (Vasconcellos et al., 2009); - atividade antimicrobiana do extrato diclorometado da planta inteira, mas inibindo em menos de 50% o crescimento de *Mycobacterium tuberculosis* em cultura radiométrica (Graham et al., 2003).

As atividades do extrato dependem da capacidade do solvente extrair compostos bioativos e da concentração desses nos extratos brutos (Iloki-Assanga et al., 2015).

#### 1.4 Fitoquímica de algumas ervas-de-passarinho

Os principais constituintes bioativos presentes no *V. album* são as lectinas, glicoproteínas, heterodiméricas, polissacarídeos, viscotoxinas, alcalóides, lipídeos, triterpenos, peptídeos, vesículas, flavonoides, ciclitóis e aminas (Singh et al., 2016).

O rendimento na extração para diferentes substâncias bioativas depende também do tipo de extrator. Por exemplo, o maior rendimento de fenóis e flavonóides foram obtidos, com os extratores aquoso e metanólico, no visco *Phoradendron californicum* (Iloki-Assanga et al., 2015). Flavonóides podem ser encontrados em algumas plantas medicinais e obtidos por extratores polares como metanol e água (Arokoyo, 2017). Fenóis e flavonoides são antioxidantes presentes nas plantas e que recuperam danos de estressores ambientais (Djeridane et al., 2006).

Bastos (2015) detectou 51 substâncias pertencentes a diversos grupos químicos nos extratos metanólicos das folhas de *P. microphyllum* e *P. mucronatum*. Havia presença de flavonóides, alcalóides, monoterpénóides, sesquiterpénóides e diterpénóides, triterpenos/esteroides, açúcares redutores e leucoantocianidinas e proantocianidinas condensadas; os compostos em maior percentual foram lupenona (23,07%), lupeol (18,53%) e dimetiltriptamina (18,36%) para *P. microphyllum* e, pentacosane (11,37%), hexacosane (10,72%) e lupenona (10,21%) para *P. mucronatum*. O conteúdo fenólico total dos extratos MeOH de *P. mucronatum* foi maior que o de *P. microphyllum* e, aquele também apresentou atividade antioxidante significativa.

A espécie *P. piperoides* mostrou positividade para teste de peptídeos tóxicos, em triagem prévia de viscos, pelo método de Samuelsson e colaboradores (Larsson, 2007).

Vasconcellos et al. (2009) constataram que o extrato bruto metanólico das folhas de *P. piperoides* bem como a partição acetato de etila, continham alcalóides, flavonóides, saponinas, taninos e triterpenos e; a partição de diclorometano concentrou mais triterpenos; a partição de metanol mais alcalóides, flavonóides, saponinas e taninos, mas pouca quantidade de triterpenos.

Entre os compostos de plantas medicinais há alguns que são farmacologicamente ativos em processos mitóticos.

#### 1.5 O processo da mitose e fatores interferentes

Conforme Moreira (2015) a mitose é o processo de divisão celular para gerar dois núcleos-filhos, contendo cada um, uma cópia de todos os cromossomas do núcleo matriz. Regulada por proteínas, a mitose começa quando as ciclinas atingem as

concentrações necessárias no citoplasma e ativam o fator promotor da mitose (MPF), que inicia a condensação dos cromossomas. Nas células vegetais há ausência de centrômeros, formando-se fusos multipolares. A mitose é dividida em intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase.

Conforme vários autores (Carneiro & Junqueira, 2012; Ablyazizov, 2018; Moreira, 2015) na intérfase ocorre a duplicação do DNA; na prófase, a cromatina condensa-se em cromossomas, o nucléolo desintegra-se; na metáfase, cromossomas atingem máxima condensação e alinham-se no plano equatorial da célula; na anáfase, há divisão pelo centrômero e separação simultânea das cromátides. Os cromossomas iniciam a ascensão ao longo dos feixes de microtúbulos e no final. Dois conjuntos idênticos de cromossomas encontram-se em cada polo da célula; na telófase, inicia-se a organização dos núcleos das células-filhas, forma-se o invólucro nuclear em torno dos cromossomas. As fibras do fuso acromático desorganizam-se, os cromossomas descondensam, o nucléolo é reconstituído e cada célula-filha entra na interfase. Terminada a divisão nuclear (cariocinese) geralmente inicia-se a divisão citoplasmática (citocinese).

Em vegetais, as vesículas de Golgi fundem-se, originando uma parede celular que dividirá a célula em duas. A deposição de celulose à lamela média dá origem às duas paredes celulares, geradas do centro da célula-mãe à periferia (Moreira, 2015).

A experiência observacional evidencia também que a mitose é afetada por fatores intrínsecos, próprios da natureza e da programação do organismo e, extrínsecos, como ambientais, com os quais o ser interage e vive, além de outros desenvolvidos e manipulados pelo homem. Na natureza e em ensaios é observável a interferência da umidade, luz e temperatura, sendo determinantes na regulação do ciclo celular, desde a sua deflagração. Em vegetais, além de suas próprias reservas germinativas, o material de seu cultivo, a aeração, umidade, luminosidade e temperaturas locais também interferem no ciclo celular para a propagação, crescimento e desenvolvimento das plantas.

A literatura oferece estudos que revelam ações de vários fatores interferentes no processo da mitose, entre os quais se tem: atividade de compostos presentes em extratos vegetais verificáveis no teste com raízes de cebola (*A. cepa*) (Bezerra & Oliveira, 2016; Bastos et al., 2017; Akwu et al., 2019; Rieder et al., 2019); indução ou supressão da mitose por fatores físicos e químicos (De Felipe, 2018); estímulo da mitose, através do EGF (Fator de Crescimento Epitélico), agindo em várias linhagens celulares (Consolaro & Consolaro, 2010); impactação no fuso mitótico e segregação cromossômica, principalmente na fase G1 e no controle da transição da fase G1 para a fase S devido a alterações genéticas ou epigenéticas, em genes envolvidos na progressão do ciclo celular (Penna, 2017); danos celulares severos, podem culminar na morte celular, pelo processo apoptótico ou por necrose, que podem ser provocados por estresse oxidativo, anóxia, isquemia, substâncias tóxicas (Meneguelo, 2007); estabelecimento e controle do processo mitótico através das funções de enzimas proteínas quinases dependentes de ciclina-CdK (Carneiro & Junqueira, 2012); atuação de compostos químicos com propriedades farmacológicas afetando a mitose, tal como o agente tiabendazol (TBZ) [2-(4'-tiazolil)-1H-benzimidazol], derivado do bensimidazol, em que seus produtos antiparasitários afetam a mitose, o número de cromossomos, a função do fuso e as estruturas dos microtúbulos (L.P.Silva, 2004); interferência na mitose por agentes naturais (ex.: Hormônios) e patológicos (ex.: Carcinogênicos químicos ou virais) (De Felipe, 2018); interferência na mitose de quimioterápicos (O'Neil et al., 2010); aceleração da mitose pelo aumento da quantidade de ATP promovida pela energia da luz (Clemente, 2018); efeitos anabólicos, como a aceleração da formação óssea, aumento da taxa de proliferação celular provocada pela irradiação com laser de baixa energia (Kawasaki & Shimizu, 2000); atividade antimitótica e antiproliferativa do ácido úsnico (metabólito de líquens) embora isto não se relacione com a formação e/ou estabilização dos microtubulos (O'Neil et al., 2010); interferência de fitocompostos como as fitoestimulinas do *Triticum vulgare* que estimulam a mitose e motilidade dos fibroblastos, reduzindo o tempo de cicatrização de feridas (Souza, Machado, Silva, Zoppa & Cruz, 2004); impacto em órgãos, tecidos e células, como intoxicação do fígado e

rins e, provocando também hipertrofia nuclear e celular, estimulação da mitose, inclusive anormal, com múltiplas inclusões nucleares, formação de policariócitos e proliferação de células do ducto biliar provocado por ação de fungos contendo substâncias tóxicas tal como *Phomopsis rossiana* que gera a lupinose (Gardiner & Petterson, 1972); induções teratogênicas e abortivas, cancerígenas, inibição da mitose mesmo sem paralisar a síntese de DNA, cujos efeitos são provocados por alcalóides da pirrolizidina (PAs), os ésteres pirrólicos (alquilantes), sendo esses as principais toxinas vegetais e seus metabólitos (Prakash, Pereira, Reilly & Seawright, 1999); estabilização de microtúbulos causado por drogas (ex.: taxanos docetaxel e paclitaxel) usadas com êxito na terapia de tumores sólidos (Penna, 2017).

### 1.6 Mecanismos no processo da mitose

Naturalmente há um mecanismo somático de controle da mitose, possibilitado pelas variações do (Em) - potencial transmembrana, estabelecido pela relação no meio de íons Na, K e Ca (De Felipe, 2018). Os mecanismos de ação, mais descritos na literatura dos agentes que afetam a mitose, como Tiabendazol (TBZ), desencadeiam-se nos microtúbulos do fuso celular (L.P. Silva, 2004). Eventos do ciclo celular são desencadeados ou regulados por padrões cíclicos de fosforilação de proteínas, ativando e inativando CdK (proteínas quinases dependentes de ciclina) ao transferirem ATP (adenosina trifosfato), ou GTP (guanósina trifostato) para aminoácidos aceptores desse fosfato (Carneiro & Junqueira, 2012). A proteína-quinase Wee1 fosforila dois aminoácidos do sítio ativo da CdK, inibindo sua atividade e a do complexo do ciclo celular, enquanto a desfosforilação por uma fosfatase Cdc25 inverte este processo e, por um mecanismo de retroalimentação positivo e, o complexo ciclina CdK é capaz de ativar e inativar seu próprio ativador e inibidor (Carneiro & Junqueira, 2012). A elevação na produção de ATP no interior das células, estimulado nas mitocôndrias celulares, induz aceleração da mitose (Santos et al., 2017). Durante a mitose, falhas na correta distribuição dos cromossomos para as células filhas podem resultar em instabilidade genômica, aberrações cromossômicas e desenvolver processos malignos (Penna, 2017) e, esta autora infere que os estudos sobre microtúbulos, cinases e proteínas motoras, deram suporte à produção dos primeiros antimitóticos, que ligavam-se a tubulina, agindo na desestabilização dos microtúbulos, propiciando a terapia do câncer.

As drogas estabilizadoras e supressoras da dinâmica dos microtúbulos do fuso mitótico (Ex.: docetaxel, paclitaxel) induzem paragem no processo da mitose impedindo a sequência de metáfase para a anáfase e, nas paragens por longo período, a célula morre por apoptose, o que é objetivado pelo uso de drogas antimitóticas na quimioterapia (J.F.T.Teixeira, 2015). O bloqueio do ciclo celular e a indução da morte celular por apoptose pode se dar por quimioterápicos que agem nos microtúbulos - estruturas proteicas em que se dá a segregação dos cromossomos na mitose (O'Neil et al., 2010). A apoptose é morte celular decorrente e sinalizada pela diminuição de seu volume, por alterações superficiais (externalização de fosfatidilserina), modificações nucleares (condensação e marginalização da cromatina) e fragmentação do DNA (Meneguelo, 2007).

### 1.7 Efeitos citotóxicos, antimitóticos e recuperação do índice mitótico

Conforme Mazzio, Badisa, Mack, Deiab e Soliman (2014), em alguns casos, a toxicidade de ervas interrompe a proliferação celular e, não de processos antimitóticos; verdadeiramente antimitóticos incluindo paclitaxel, não são citotóxicos, mas interrompem a proliferação de células em rápidas divisões, gerando células citostáticas em contraste com o quantificável crescimento celular em 72 horas.

O processo de proliferação celular normal pode ser alterado mediante a submissão destas à extratos de plantas (Rieder et al., 2019). Estes autores também constataram que tais alterações podem ser parcial ou definitivamente irreversíveis, após cessar o tipo de exposição das mesmas e, algumas situações podem revelar recuperação parcial ou até estimulada, após

retiradas da submissão aos extratos testados e mantidas por certo tempo em condição normal (controle). Situações parecidas estão descritas por outros estudiosos. Louvatel, Arenhart e Zaions (2014) verificaram que duas concentrações ( $C_1=1,5\%$ ;  $C_2=4,5\%$ ) do extrato aquoso de *S. byzantina* C. Koch. (pulmonária) apresentaram, em raízes de *A. cepa*, índices mitóticos (IM%) médios significativamente ( $p < 0,05$ ) decrescentes e inversos em relação às concentrações ( $IM\%_{C_2} < IM\%_{C_1} < IM\%_{C_0}$ ), o que foi confirmado também após recuperação do IM% das raízes em água destilada ( $p < 0,05$ ). No ensaio com extrato aquoso de *T. majus* L. (capuchinha), Louvatel et al. (2014) constataram que os índices também decresceram inversamente às concentrações ( $p < 0,05$ ), mas após recuperação em água destilada, diferiram; suspeitam que nas concentrações maiores deva haver tempo de oportunidade maior de recuperação. Estudos de S.P.C.Teixeira (2011) com o molusco sentinela da qualidade ambiental *Scrobicularia plana* (Família Semelidae) sugerem que o stress a que são submetidos animais cobaias, afeta a normalidade do ritmo celular e o índice mitótico, sendo necessário dar um tempo de adaptação laboratorial, para recuperar os animais e o IM%.

Por haver carência de estudos sobre os efeitos citotóxicos e genotóxicos, antimitóticos, inibidores e recuperadores da mitose induzido por extratos da espécie *Phoradendron piperoides*, objetivou-se testar o efeito do extrato aquoso de folhas deste vegetal na divisão celular por meio do teste em raízes de *Allium cepa*.

## 2. Material e Métodos

Este trabalho com a erva de passarinho *Phoradendron piperoides* é parte das atividades do projeto Mistletoes, do grupo de pesquisa Estudo da Flora Bioativa (FLOBIO), desenvolvido na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus Universitário Jane Vanini (CUJV), Cáceres, Mato Grosso (MT), Brasil (BRA), entre 2017 e 2020.

Trata-se de uma pesquisa científica experimental, de abordagem quantitativa (J.W.Creswell & J.D.Creswell, 2021), cuja execução foi orientada, com adaptações, por um guia de técnicas em citogenética vegetal (Guerra & Souza, 2002).

As folhas da *P. piperoides* (Sp4) foram coletadas em uma planta hospedeira conhecida como Figueira gameleira (*Ficus enormis* (Mart. ex Miq.) Miq., nas coordenadas Lat. Sul 16°11'42" e Long. Oeste de Gr. 57° 40' 51", situado às margens do rio Paraguai, em sua passagem na cidade de Cáceres (MT, BRA). Após a coleta, os materiais foram destinados à identificação botânica e para o preparo de extratos visando efetuar os estudos objetivados, sendo executados nos laboratórios de botânica, química e microscopia da UNEMAT, localizados na Avenida São João s/n e na casa dos projetos, sala 8, Cidade Universitária, Avenida Santos Dumont s/n, Cáceres. As folhas-F coletadas da hemiparasita *P. piperoides* foram desidratadas ao ar livre e depois complementado em estufa a 45 °C. Após, parte destas foram moídas (moinho IKA®, M20), cujo pó foi colocado e lacrado em vidro esterilizado e armazenado em Freezer. Oportunamente, deste pó, definiu-se três dosagens ( $D_0$ ,  $D_6$  e  $D_{18}$ ) utilizando, respectivamente, 0, 6 e 18 gramas para extração por infusão em 500 mL de água destilada previamente aquecida, agitando a mistura com bastão de vidro por 2 min e mantendo-a em repouso por mais 14hs. Após, a mistura foi coada com papel-filtro, via funil, em copo Becker proporcionando-se assim a obtenção das soluções experimentais contendo as dosagens visadas de extrato (E) aquoso (A) foliar (F) de *Phoradendron piperoides* (EAF<sub>FP</sub>), cujo os volumes supriram as demandas dos tratamentos e suas repetições.

As cebolas utilizadas em cada recipiente, que se constituiria em unidade experimental, foram estimuladas previamente para emitirem raízes em copos com 50 mL de água trocada diariamente, até desenvolverem raízes com média de comprimento de 3 cm. A instalação dos tratamentos constituíram-se de 50 ml de solução experimental, acondicionada em recipientes alocados aleatoriamente no quadriculado de espaço experimental, formando um delineamento inteiramente casualizado, contendo, nas primeiras 24 horas, 12 unidades experimentais (Ambiente de ação-Ai: submissão de raízes de cebola a 3 tratamentos de dosagens de EAC<sub>FP</sub>\_  $D_0$ ,  $D_6$ ,  $D_{18}$ ) e, nas seguintes 24 hs oportunizando restauração (Ambiente de recuperação-

Ri: em água destilada) das mesmas unidades experimentais. Após as 24 hs de exposição a cada ambiente experimental (Ai; Ri) foram coletadas raízes das cebolas, sendo imersas em solução Carnoy e acondicionadas em tubos de plásticos de 1,5ml, guardadas em geladeira, até a execução da microscopia, que seguiu a metodologia descrita por Guerra e Souza (2002), com as seguintes adaptações: deixadas por 4 minutos no HCl, seccionou-se a região meristemática (ponta da raiz) com uma lâmina, colocou-se o material sobre a mesma, adicionou-se dois pingos de Azul de Metileno e, após 4 minutos cobriu-se as mesmas com uma lamínula e procedeu-se o esmagamento, pressionando com um bastão de silicone e/ou com um lápis com borracha na extremidade e; em seguida levado ao microscópio para observação e para fotografar as imagens do conjunto de células. A microscopia gerou os dados que alimentaram a análise do processo e do índice mitótico (IM%).

As fotografias obtidas em microscópio óptico (aumento 400x) foram processadas no programa ImageJ para contagem das células por fases mitóticas em que haviam 2000 células por tratamento e, após calculados os índices mitóticos [IM% = 100x (células em divisão) / (total de células)] nas dosagens (Di=0, 6, 18) e ambientes de submissão (Ti, Ri)] apreciados. Os IM% das variáveis foram tratados estatisticamente (ANOVA, F, Duncan, significância  $p < 0,05$ ), para nortear as interpretações e desenvolvimento deste texto acadêmico para publicação.

### 3. Resultados e Discussão

Os resultados dos efeitos mitóticos do extrato EAFPP estão na Tabela 1.

**Tabela 1.** Efeitos Mitóticos (IM%) do Extrato Aquoso Foliar do Visco *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel., (EAFPP) em Raízes de *Allium cepa* L. Submetidas a Três Dosagens (Di= 0, 6, 18) do Extrato em Dois Ambientes (Ação por 24 Horas-Ti e, Seguido por Mais 24hs de Recuperação em Água-Ri), Cáceres, Mato Grosso, Brasil, 2019

Concentrações do extrato EAFPP	Índice Mitótico (IM%) consequente do EAFPP		
	Ambientes de submissão		
Doses [Di=Xi g/500 mL (mg/mL)]	-Ti (Em submissão às Di)	-Ri (Em recuperação, só em água)	Geral
D <sub>0</sub> =0 (0,00)	60,4 a; A	60,55 a; A	60,47 a;
D <sub>1</sub> =6 (12,00)	16,8 b; B	36,60 b; A	26,70 b;
D <sub>2</sub> =18 (36,00)	3,95 c; B	46,00 b; A	24,97 b;
Geral	27,05 B;	47,71 A;	37,38

Nota. Letras maiúsculas na mesma linha comparam colunas e, minúsculas na mesma coluna comparam linhas. Letras iguais ou distintas revelam, respectivamente, similaridade ou não ( $p < 0,05$ ) nas comparações.

Fonte: Autores.

Houve efeito do EAFPP na mitose (Tabela 1). Há outros estudos, com este extrato, que demonstraram diferentes efeitos como: anti-espasmódico, baixa toxicidade (Dias et al., 2007); interferência no trânsito intestinal (Marçal, Almeida & Carvalho, 2007) e na atividade da acetilcolinesterase, induzidos por compostos presentes em extratos vegetais, inibindo-a moderadamente (Mota et al., 2012). Efeitos na mitose em raízes de *A. cepa* foram constatados por diferentes autores (Bezerra & Oliveira, 2016; Bastos et al., 2017; Akwu et al., 2019; Rieder et al., 2019).

A ação do extrato foi de inibição da mitose reduzindo os IM% médios (D<sub>0</sub>: 60,47 a; D<sub>1</sub>: 26,70 b; D<sub>2</sub>: 24,97 b). Esta inibição se deve a constituintes bioativos presentes no extrato testado os quais precisam ser identificados e descritos seus prováveis mecanismo de ação. A inibição ou supressão da mitose pode ser induzida por fatores físicos e químicos (De Felipe, 2018), por certos ácidos de líquens e seus metabólitos (O'Neil et al., 2010), por toxinas vegetais e seus metabólitos

(principalmente alcalóides) (Prakash et al., 1999), pela desestabilização de microtúbulos do fuso mitótico (Penna, 2017; J.F.T.Teixeira, 2015). Em outro extrato, o metanólico e na partição de acetato de etila das folhas *P. piperoides*, Vasconcellos et al. (2009) encontraram forte presença de alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos e triterpenos, mas não houve presença de esteróides. Considerando também outras atividades, Marçal et al. (2007) verificaram haver efeito da infusão das folhas *P. piperoides* no trânsito intestinal em camundongos, reduzindo as contrações significativamente, o que, em hipótese, pode ser devido a um bloqueio de influxo de cálcio através dos canais de cálcios e à ativação do setor adrenérgico. Mota et al. (2012) detectaram atividade inibitória moderada (40%) da acetilcolinesterase com o extrato aquoso de *P. piperoides*. Em duas outras espécies de *Phoradendron* (*P. microphyllum* e *P. mucronatum*), Bastos et al. (2017) identificaram presença de alcalóides e outros compostos como diterpenos, triterpenos, esteróis, álcoois, aldeídos, ácidos graxos e hidrocarbonetos. Bastos et al. (2017) constataram que o extrato hexânico das folhas *P. mucronatum* apresentou efeito inibitório do crescimento de células tumorais humanas.

A inibição do IM% acentuou-se com o aumento das doses, ( $D_0$ : 60,4 a;  $D_1$ : 16,8 b;  $D_2$ : 3,95 c), acenando ser dose-dependente em determinado intervalo de concentração, o que precisa ser melhor estudado. Marçal et al. (2007) verificaram que o extrato aquoso foliar da *P. piperoides* reduziu, significativamente, de maneira dose dependente, as contrações intestinais induzidas por histamina e carbacol.

Os efeitos indicam bioatividade de substâncias presentes neste extrato (EAFPP), Compostos tóxicos presentes na *P. piperoides*, com efeitos na mitose, podem ser produzidos por peptídeos tóxicos (Larsson, 2017). Vasconcellos et al. (2009), entre vários outros compostos, encontraram presença de alcalóides no extrato metanólico foliar desta espécie. Dias et al. (2007) constataram outros efeitos com o extrato aquoso liofilizado das folhas de *P. piperoides*, apresentando-se como anti-espasmódico e de baixa toxicidade aguda em camundongos, mas não revelou efeito antinociceptivo.

Após 24hs de submissão dos tratamentos (Ti) foi avaliado a recuperação em água por mais 24hs e constatado a reativação da divisão celular pelo teste *A. cepa*, confirmado pelo IM% em  $D_1$  e  $D_2$ . Esta reativação não se diferenciou entre as  $D_1$ (36,60% b) e  $D_2$  (46,00% b). Embora trabalhando com outras espécies de plantas Louvatel et al. (2014) encontraram respostas similares ao presente estudo. A toxicidade de plantas pode interromper a proliferação celular, gerando células citostáticas (Mazzio et al., 2014).

Comparando efeito de concentrações de chás, em seu estudo com o tratamento do chá de cogumelo de sol A.A.Silva & Bohm (2012) observaram efeito inibitório no comprimento das raízes de cebola ( $C_2$ :67,14%;  $C_1$ :35,71%) em dois tratamentos com chá de cogumelo de sol (concentrações  $C_2 > C_1$ ) em relação ao controle. Quando avaliado o índice mitótico, as reduções, em  $C_2$  e em  $C_1$  foram, respectivamente, de 57,23% e 50,31% em relação ao controle. O ciclo celular também foi inibido em raízes de cebola expostas a extratos aquosos de outras espécies, como de Losna (*Artemisia absinthium* L e com apenas recuperação parcial, 24hs após as raízes terem sido imersas em água destilada (O.B.Silva et al., 2015). O tanino é um composto que pode produzir efeitos antimitóticos quando raízes de cebola são expostas ao mesmo em soluções de certas concentrações e, se removido de raízes em tempo curto, por água destilada, ainda poderá haver recuperação da mitose que havia sido inibida, o que confere com considerações de R. de.O Teixeira et al. (2003).

#### 4. Considerações Finais

A espécie *P. piperoides* possui compostos bioativos em suas folhas, extraídos em água, que inibiram a mitose de forma dose-dependente, sendo parcialmente reversível.

Sugere-se continuidade e aprofundamento dos estudos para revelar os constituintes químicos, bioatividade dos mesmos, mecanismos de ação, assim como verificar seu potencial na terapia de enfermidades humanas, em especial como anticâncer e, desenvolvimento de produtos terapêuticos.

## Referências

- Abyazizov, S. (2018). *Estudo da função das proteínas MOBI e ASPM na progressão da mitose*. (Dissertação de mestrado). Universidade do Algarve- UAAlg, Faro, Portugal. <http://hdl.handle.net/10400.1/12227>
- Akwu, N. A., Naidoo, Y., & Singh, M. (2019). Cytogenotoxic and biological evaluation of the aqueous extracts of *Grewia lasiocarpa*: An *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*, 125, 371-380. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.009>
- Almeida, J. O. R. D. (2019). *Revisão integrativa: plantas medicinais com potencial efeito nootrópico usadas em pesquisas realizadas no Brasil*. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal de Mato Grosso- UFMT, Sinop, MT, Brasil. <http://bdm.ufmt.br/handle/1/1248>
- Arokoyo, D. S. (2017). *Antidiabetic and profertility mechanisms of aqueous extract of Basella alba in male Wistar rats*. (Thesis PhD). Cape Peninsula University of Technology- CPUT, Bellville, South Africa. <http://etd.cput.ac.za/bitstream/20.500.11838/2769/1/215260066-Arokoyo-Dennis%20Seyi-PhD-Biomedical-Technology-HWSci-2018.pdf>
- Arokoyo, D. S., Oyeyipo, I. P., Du Plessis, S. S., Popoola, O. K., & Aboua, Y. G. (2019). Antioxidant and tyrosinase inhibiting activities of ethylacetate, methanolic and aqueous extracts of *Basella alba* leaves. *Advances in Clinical Toxicology*, 4(4), 1-6. doi: 10.23880/act-16000166
- Ashworth, V. E. (2000). Phylogenetic relationships in Phoradendreae (Viscaceae) inferred from three regions of the nuclear ribosomal cistron. II. The North American species of *Phoradendron*. *Aliso Journal of Systematic and Floristic Botany*, 19(1), 41-53. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20002304172>
- Barclay, G. (2012). *Medicinal plants of Trinidad and Tobago*. Caribbean heritage (pp 235-250). The University of the West Indies Press: Basil Reid
- Bastos, I. V. G. A. (2015). *Phoradendron mucronatum (DC.) Krug & Urb. E Phoradendron microphyllum (Pohl ex DC.) Trel. Componentes químicos e bioatividade*. (Tese doutorado). Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Recife, PE, Brasil. <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/23799?mode=full>
- Bastos, I. V. G. A., Oliveira, T. B., Rodrigues, M. D., Militao, G. C. G., Silva, T. G., Turatti, I. C. C., Lopes, N. P., & Melo, S. J. (2017). Use of GC/MS to identify chemical constituents and cytotoxic activity of the leaves of *Phoradendron mucronatum* and *Phoradendron microphyllum* (Viscaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2), 991-1001. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160586>
- Bezerra, C. M., & 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*, 13(4), 220-228. <https://doi.org/10.5216/ref.v13i4.36887>
- Bonamin, L. V., De Carvalho, A. C., & Waisse, S. (2017). *Viscum album* (L.) in experimental animal tumors: A meta-analysis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13, 2723-2740. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4372>
- Brasil. (2006). Ministério da Saúde. *Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápico*. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Ministério da Saúde. Série B Textos Básicos de Saúde 60 p.
- Caamal-Fuentes, E., Torres-Tapia, L. W., Simá-polanco, P., Peraza-Sánchez, S. R., & Moo-Puc, R. (2011). Screening of plants used in Mayan traditional medicine to treat cancer-like symptoms. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(3), 719-724. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.004>
- Caires, C. S. (2017). Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Santalaceae. *Rodriguésia*, 68(3), 1139-1149. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201768348>
- Caires, C. S. (2018). Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Loranthaceae. *Rodriguésia*, 69(1), 133-146. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869111>
- Carneiro, J., & Junqueira, L. C. (2012). *Biologia Celular e Molecular* (9a ed): Guanabara Koogan.
- Cazetta, E., & Galetti, M. (2007). Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-de-passarinho *Phoradendron rubrum* (L.) Griseb (Viscaceae). *Revista Brasil. Bot.* 30(2), 345-351. <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/20490/S0100-84042007000200017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, W. S., Judd, W. S., Soltis, D. E., & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Clemente, J. I. B. (2018). *Influência da laserterapia na viabilidade de células-tronco do ligamento periodontal cultivadas sobre arcabouços de ácido pólilático* (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal do Rio Grande do Norte- UFRN, Natal, RN, Brasil. <https://monografias.ufrn.br/jspu/bitstream/123456789/8342/1/clemente-jib-tcc-influencia-da-laserterapia-celulas-tronco-do-ligamento-periodontal.pdf>
- Consolaro, A., & Consolaro, M. F. M. (2010). As funções dos Restos Epiteliais de Malassez, o EGF e o movimento ortodôntico ou Por que o movimento ortodôntico não promove a anquiose alveolodentária? *Dental Press J Orthod*, 15(2), 24-32. <http://doi.org/10.1590/S2176-94512010000200003>

- Corrêa, V. S. C., Maynié, J. C., França, E. L., & Honório-França, A. C. (2006). Atividade funcional de fagócitos na presença do fitoterápico “Mais Vida”. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8(2), 26-32. [https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMediciniais/artigo5\\_v8\\_n2.pdf](https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMediciniais/artigo5_v8_n2.pdf)
- Creswell, J. W., & Creswell, J. D. (2021). *Projeto de pesquisa: Métodos qualitativo, quantitativo e misto*. (5a ed.). Penso.
- De Fellipe, J. (2018). *Oncologia Médica- Fisiopatogenia e Tratamento* (1a ed). Ed Sarvier.
- De Moraes, L. G., Alonso, A. M., & Oliveira-Filho, E. C. (2011). Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. *Universitas: Ciência da Saúde*, 9(1), 77-99. <https://doi.org/10.5102/ucs.v9i1.1308>
- De Vasconcelos, G. C. L., Caires, C. S., & De Melo, J. I. M. (2015). Flora da Paraíba, Brasil: Santalaceae. *R Br Iheringia Série Botânica*, 70(2), 203-215. <https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/386>
- Dettke, G. A., & Caires, C. S. (2015). Loranthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Rodriguesia*, 66(4), 1085-1113. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8704>
- Dettke, G. A., & Milaneze-Gutierrez, M. A. (2007). Estudo anatômico dos órgãos vegetativos da hemiparasita *Phoradendron mucronatum* (DC.) Krug & Urb.(Viscaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(S1), 534-536. <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/542/462>
- Dettke, G. A., & Milaneze-Gutierrez, M. A. (2009). Morfoanatomia e venação foliar de seis espécies de *Phoradendron* Nutt. (Viscaceae). *Revista de Biologia Neotropical*, 6(1), 13-23. <https://doi.org/10.5216/rbn.v6i1.12627>
- Dettke, G. A., & Waechter, J. L. (2014). Estudo taxonômico das ervas-de-passarinho da Região Sul do Brasil: II. Viscaceae (*Phoradendron*). *Rodriguesia*, 65(4), 955-985. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201465409>
- Dias, K. S., Almeida, D. S., Silva, A. B., Marques, M. S., Menezes, I. A., Santos, T. C., & Marçal, R. M. (2007). Avaliação dos efeitos miorelaxante, antiespasmódico e antinociceptivo do extrato aquoso da *Phoradendron piperoides* (Kunt.) Trel. (Viscaceae). *Revista Brasileira Farmacognosia*, 17(3), 373-377. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300012>
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algeriam medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Firmo, W.da C. A., De Menezes, V. D. J. M, Castro, P. E. De C., Dias, C. N., Alves, L. P. L., Dias, I. C. L., & Olea, R. S. G. (2012). Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cadernos de pesquisa*, 18(esp), 9095. <http://www.periodicoeletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746/2578>
- Gardiner, M. R., & Petterson, D. S. (1972). Pathogenesis of mouse lupinosis induced by a fungus (*Cytospora spp*) growing on dead lupins. *Journal of Comparative Pathology*, 82(1), 5-13. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(72\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0021-9975(72)90020-5)
- Gómez-Cansino, R., Guzmán-Gutiérrez, S. L., Campos-Lara, M. G., Espitia-Pinzón, C. I., & Reyes-Chilpa, R. (2017). Natural compounds from mexican medicinal plants as potential drug leads for anti-tuberculosis drugs. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1), 31-43. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160298>
- Graham, J. G., Pendland, S. L., Prause, J. L., Danzinger, L. H., Vigo, J. S., Cabieses, F., & Farnsworth, N. R. (2003). Antimycobacterial evaluation of Peruvian plants. *Phytomedicine*, 10(6-7), 528-535. <https://doi.org/10.1078/094471103322331502>
- Guarim Neto, G. (1991). Plantas do Brasil: Angiospermas do Estado de Mato Grosso - Pantanal. *Acta Botanica Brasilica*, 5(1), 25-47. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061991000100003>
- Guerra, M., & Souza, M. J. (2002). Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC.
- Guimarães, A. C. (2006). Aspectos etnobotânicos e químicos das famílias Loranthaceae e Santalaceae - potencialidades terapêuticas das “ervas de passarinho”. *Revista Fitos*, 2(1), 27-47. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18386>
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 1-93. <https://doi:10.1016/j.mam.2005.07.008>
- Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Ângulo, D., Rubio-Pino, J. L., & Haines, D. D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Research Notes*, 8(396), 1-14. <https://doi:10.1186/s13104-015-1388-1>
- Jacobo-salcedo, M. D. R., Castro, A. J. A., Olivo, L. A. S., Alvarez, C. C., Espíndola, L. A. G., Domínguez, F., Carrancá, A. G. (2011). Antimicrobial and cytotoxic effects of Mexican medicinal plants. *Natural Product Communications*, 6(12), 1925-8. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22312741/>
- Kawasaki, K., & Shimizu, N. (2000). Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*, 26(3), 282-91. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9101\(2000\)26:3<282::AID-LSM6>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9101(2000)26:3<282::AID-LSM6>3.0.CO;2-X)
- Larsson, S. (2007). *Mistletoes and thionins: as selection models in natural products drug* (Dissertation of Doctor). Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis. <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:169845/FULLTEXT01.pdf>
- Lorenzana-Jimenez, M., Avila, M. E., Figueroa, A., Mendiola-Almaraz, L., Guerrero, G. A. M., & Lemini, C. (2018). The Mexican mistletoe *Struthanthus venetus* (HBK Blume) inhibits proliferation and synergizes antagonistic actions of Tamoxifen and Fulvestrant in breast cancer MCF-7 cells. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 10(8), 133-141. <https://doi.org/10.5897/JPP2018.0508>

- Louvatel, K., Arenhart, A. R., & Zaions, M. I. M. (2014). Avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade dos extratos de *Stachys byzantina* C. Koch. e *Tropaeolum majus* L., utilizando o sistema teste *Allium cepa*. *Unoesc & Ciência- ACBS*, 5, 23-28. [https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/acbs/article/view/4539/pdf\\_37](https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/acbs/article/view/4539/pdf_37)
- Maiocchi, M. G., Petenatti, E. M., & Delvitto, L. A. (2019). Productos del nordeste argentino destinados a infusiones. In Marciel J. Stadnik, Aline C. Velho, & Suzana E. Zorrilha (Ed.). *Desarrollo sostenible em la producción agroalimentaria*. UFSC
- Marçal, R. M., Almeida, D. S., & Carvalho, A. C. S. (2007). Pharmacological evidence of the mechanisms of action of *Phoradendron piperoides* Kunth (Viscaceae) aqueous extract. *Planta Med*, 73(09), 494. doi: 10.1055 / s-2007-987274
- Martínez, M., Mancuello, C., Pereira, C., González, F., Prieto, R., Rolón, M., & Benítez, B. (2013). Estudio espectrofotométrico de la actividad hemolítica del extracto crudo de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler sobre eritrocitos humanos. *Steviana*, 5, 114-121. [https://www.researchgate.net/publication/310767801\\_Estudio\\_espectrofotometrico\\_de\\_la\\_actividad\\_hemolitica\\_del\\_extracto\\_crudo\\_de\\_Phoradendron\\_bathyoryctum\\_Eichler\\_sobre\\_eritrocitos\\_humanos](https://www.researchgate.net/publication/310767801_Estudio_espectrofotometrico_de_la_actividad_hemolitica_del_extracto_crudo_de_Phoradendron_bathyoryctum_Eichler_sobre_eritrocitos_humanos)
- Martínez, M., Mancuello, C., Ramond, F., & Bednarczuk, O. V. (2015). Actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Phoradendron bathyoryctum* Eichler por el método de captura del radical libre 1, 1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). *Steviana*, 7, 48-56. <https://revistascientificas.una.py/ojs/index.php/stevia/article/view/1213>
- Mazzio, E., Badisa, R., Mack, N., Deiab, S., & Soliman, K. F. A. (2014). High throughput screening of natural products for anti-mitotic effects in MDA-MB-231 human breast carcinoma cells. *Phytotherapy Research*, 28(6), 856-867. <https://doi.org/10.1002/ptr.5065>
- Meneguelo, R. (2007). *Efeitos antiproliferativo e apoptóticos da fosfoetanolamina sintética no melanoma B16F10*. (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/82131/tde-12022008-135651/en.php>
- Moreira, C. (2015). Mitose. *Revista dae Ciência Elementar*, 3(3), 170. <http://doi.org/10.24927/rce2015.170>
- Moreira, R. P. D. M., Batista, C. A. D. S., & Guarim Neto, G. (2013). “Check list” de angiospermas da vegetação marginal da estrada Santo Antônio de Leverger–mimoso, pantanal de Mato Grosso. *Boletim Flovet*, 1(5), 1-21. <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/flovet/article/view/1524>
- Mota, W. M., Barros, M. L., Cunha, P. E. L., Santana, M. V. A., Stevam, C. S., Leopoldo, P. T. G., & Fernandes, R. P. M. (2012). Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. *Revista Brasileira de lantas Medicinai*s, 14(4), 624-628. <https://www.scielo.br/pdf/rbpm/v14n4/08.pdf>
- Nickrent, D. L. (2013). *The parasitic plant connection*. Parasitic Plant Genera and Species, tabela atualizada em 6/III/2012. <http://www.parasiticplants.siu.edu/ParPlantNumbers.pdf>
- Nickrent, D. L., Malécot, V., Vidal-Russell, R., & Der, J. P. (2010). A revised classification of Santalales. *Taxon*, 59(2), 538-558. <https://www.jstor.org/stable/25677612?seq=1>
- Ofem, O.E., Eno, A.E., Imoru, J., Nkanu, E., Unoh, F., & Ibu, J.O. (2007). Effect of crude aqueous leaf extract of *Viscum album* (mistletoe) in hypertensive rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 39, 15-9. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.30756>
- Oliveira, R.P. (2012). *Purificação parcial e análise por CG/EM dos constituintes químicos presentes no extrato hexânico de Struthanthus flexicaulis*. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Juiz de Fora-UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil. Recuperado de <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/2047/1/ramonpratadeoliveira.pdf>
- O'Neill, M. A., Mayer, M., Murray, K. E., Rolim-Santos, H. M. L., Santos-Magalhães, N. S., Thompson, A. M., & Appleyard, V. C. L. (2010). Does usnic acid affect microtubules in human cancer cells? *Brazilian Journal of Biology*, 70(3), 659-664. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010005000013>
- Penna, L. S. (2017). *Análise de novos agentes quimioterápicos em linhagens celulares de câncer gástrico human*. (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/163653/001022167.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Polli, A., Souza, L. A., & Almeida, O. J. G. (2016). Structural development of the fruits and seeds in three mistletoe species of *Phoradendron* (Viscaceae: Santalaceae). *Rodriguesia*, 67(3), 649-659. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667309>
- Prakash, A. S., Pereira, T. N., Reilly, P. E. B., & Seawright, A. A. (1999). Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutation Research*, 443, 53-67. [https://doi.org/10.1016/s1383-5742\(99\)00010-1](https://doi.org/10.1016/s1383-5742(99)00010-1)
- Rempel, C., Maciel, M. J., Bergmann, P. C., De Morás, A. P. B., & Goettens, C. (2019). Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 10(4), 57-82. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.004.0006>
- Rieder, A., Caires, C. S., Silva, O. B., & Silva, T. M. (comunicação por correio eletrônico). Verificação de ocorrência e processo de identificação de uma terceira espécie de *Phoradendron* em Cáceres, Mato Grosso, Brasil, Julho de 2019. Expedição de campo e troca de mensagens com imagens, via email entre 1º e 2º autores. Confirmada: *Phoradendron bathyoryctum* Eichler
- Rieder, A., Rodrigues, F. A. C., Silva, O. B., Santos, M. D. D., Lucatto, M., Silva, T. M., & Mori, A. M. (2019). Mitotic effects of barks and inflorescences extracts of mistletoe *Phoradendron mucronatum* (DC.) Krug & Urb. *Phytomedicine*, 61, 4-5. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.09.112>
- Rieder, A., Silva, O. B., Rodrigues, L. C., Rodrigues, F. A. C., & Silva, D. A. S. (2015). Medicinal use of mistletoes in Mato Grosso, Brazil. *Phytomedicine*, 22(1), 21. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.05.020>
- Rigon, J. (2011). *O gênero Phoradendron Nutt. (Viscaceae) no Estado do Paraná, Brasil* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Paraná- UFPR, Curitiba, PR, Brasil. <https://educapes.capes.gov.br/handle/1884/25766>
- Rizzini, C. T. (1978). El género *Phoradendron* en Venezuela. *Rodriguesia*, 30(46), 33-125. <https://www.jstor.org/stable/23493186>

- Rodríguez, M., Hasegawa, M., González-Mújica, F., Motta, N., Castillo, A., Castillo, J., & Camejo, D. (2008). [U3] Antidiabetic and antiradical activities of plants from Venezuelan Amazon. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(3), 331-338. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300004>.
- Rojas, R., Caviedes, L., Lock, O., & Gilman, R. H. (2006). Anti *Mycobacterium tuberculosis* activity of peruvian plant extracts using a rapid, inexpensive colorimetric assay. In Govil, J.N., Singh, V.K., Arunachalam( Ed.), *Recent Progress in Medicinal Plants*,(vol. 13., Cap 24.) editor: Studium Press LLC
- Rostron, L. A. (2014). *Investigations into the properties of mistletoeS leaves, Phoradendron spp. (Viscaceae) and geophagic material consumed by Ateles geoffroyi (Atelidae) at sites within the Santa Rosa National Park, Costa Rica.*(Thesis doctoral). Liverpool John Moores University- LJMU, Liverpool
- Santos, G. M., Moussa, L., Mendes, M. R. P., & Ramos, J. de. S. (2017). Revisão bibliográfica: efeitos do tratamento laserterapia nas disfunções temporomandibulares. *Rev Pesqui Ação*, 3(2), 84-92.
- Silva, A. A., & Bohm, F. M. L. Z. (2012). Estudos dos efeitos do chá do (cogumelo do sol) no índice mitótico das células meristemáticas do *Allium cepa* L. (cebola). *Diálogos & Saberes*, 8(1), 25-39. <http://seer.fafiman.br/index.php/dialogosesaberes/article/viewFile/267/259>
- Silva, D. C. da., Budó, M. de. L., Schimith, M. D., Heisler, E. V., Simon, B. S., & Torres, G. de. V. (2015). Utilização de plantas medicinais por pessoas com úlcera venosa em tratamento ambulatorial. *Revista de Pesquisa Cuidado é fundamental online*, 7(3), 2985-2997. <http://doi: 10.9789/2175-5361.2015.v7i3.2985-2997>
- Silva, L. P. (2004). *Avaliação genotóxica de líquido de vesícula e extrato salino da forma metacestódea de Taenia solium e de agentes antiparasitários benzimidazólicos.* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Uberlândia- UFU, Uberlândia, MG, Brasil. <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/16610/1/LSilvaTESPRT.pdf>
- Silva, O. B., Rieder, A., Rodrigues, F. A. C., Rodrigues, L. C., & Silva, D. A. S. (2015). Mistletoes found in the urban environment of Cáceres (Mato Grosso, Brazil). *Phytomedicine*, 22(Suppl. 1), S23.
- Singh, B. N., Saha, C., Galun, D., Upreti, D. K., Bayry, J., & Kaveri, S. V. (2016). European *Viscum album*: a potent phytotherapeutic agent with multifarious phytochemicals, pharmacological properties and clinical evidence. *RSC advances*, 6(28), 23837-23857. <https://doi.org/10.1039/C5RA27381A>
- Smith, M., & Boon, H. S. (1999). Counseling cancer patients about herbal medicine. *Patient Education and Counseling*, 38(2), 109-120. [https://doi: 10.1016/s0738-3991\(99\)00058-0](https://doi: 10.1016/s0738-3991(99)00058-0)
- Souza, D. W., Machado, T. S. L., Silva, L. C. L. C., Zoppa, A. L. V., & Cruz, R. S. F. (2004). Ensaio da aplicação de creme à base de *Triticum vulgare* na cicatrização de feridas cutâneas induzidas em equinos. *Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41,215-216.
- Teixeira, J. F. T. (2015). *Interferindo com o "checkpoint" mitótico para potenciar a ação de agentes anti-mitóticos.* (Dissertação de mestrado). Universidade do Algarve-Ualg, Faro, Portugal. <https://core.ac.uk/download/pdf/61526053.pdf>
- Teixeira, R. de. O., Camparoto, M. L., Mantovani, M. S., & Vicentini, V. E. P. (2003). Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in vitro and in vivo assays. *Genetics and Molecular.Biology*, 26(4), 551-555. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572003000400021>
- Teixeira, S. P. C. (2011). *Caracterização do cariótipo do bivalve Scrobicularia plana por técnicas de Genética Clássica e Molecular.* (Dissertação de mestrado) Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto-ICBAS, Porto, Portugal. <https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/26907>
- Varela, B. G., Fernández, T., Ricco, R. A., Zolezzi, P. C., Hajos, S. E., Gurni, A. A., . . . & Wagner, M. L. (2004). *Phoradendron liga* (Gill. ex H. et A.) Eichl. (Viscaceae) used in folk medicine: anatomical, phytochemical, and immunochemical studies. *Journal of Ethnopharmacology* ,94(1), 109-116. <http://DOI: 10.1016 / j.jep.2004.04.027>
- Varela, B. G., Fernández, T., Taira, C., Carlos- Zelozi, P. C., Ricco, R.A., López, E. C., & Silvia-Wagner, M. L. (2001). El "muérdago criollo", *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh-Loranthaceae-. Desde el uso popular hacia el estudio de los efectos farmacológicos. *Dominguezia*, 17(1), 31-50. <http://ojs.dominguezia.org/index.php/Dominguezia/article/view/2001%2017%281%29-4>
- Vasconcellos, C. L. C., Vitória, K. C. D., Andrade, P. A., Cambuí, E. V. F., Lira, A. F., Cavalcante, S. C. H., & Thomazzi, S. M. (2009). Antinociceptive, anti-inflammatory, and antioxidant properties of *Phoradendron piperoides* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 47(7), 645-652.<https://doi.org/10.1080/13880200902917065>
- Velázquez, A., Coronel, C., Campuzano, M., Ibarrola, D. A., Kennedy, M. L., & Hellion-Ibarrola, M. C. (2014). Efecto protector hepático del extracto metanólico de *Phoradendron obtusissimum* (Miquel) Eichler (Viscaceae), sobre la hepatitis inducida por paracetamol en ratones. In: Simpósios Iberoamericano de Plantas Medicinai, VII. e de Investigación em Câncer II. Infarma - Ciênc Farmacêut 27(sup1): 1-313. Poster 2086 p.S7)
- World Health Organization. (1998). *Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review.* Geneva. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63801>
- Zuber, D. (2004). Biological flora of central Europe: *Viscum album* L. *Flora*, 199(3), 181-203. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00147>