

Efeito modulador da pimenta bode (*Capsicum chinense*) por meio do teste para detecção de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*

Modulating effect of bonnet pepper (*Capsicum chinense*) through detection of epithelial tumors test in *Drosophila melanogaster*

Hanne Saad Carrijo Tannous¹, Tamiris Alves Menezes Bernardes², Priscila Capelari Orsolin³, Ph.D.

Objetivo: Analisar o efeito modulador do extrato da pimenta bode por meio do teste para detecção de tumores epiteliais (ETT) em *Drosophila melanogaster*. **Métodos:** O tratamento das larvas foi realizado com três concentrações de extrato da pimenta bode, sendo elas 0,5%, 1% e 2%, utilizadas isoladamente ou em associação à doxorrubicina, além dos controles positivo e negativo. **Resultados e Conclusão:** O teste para a detecção de clones de tumores epiteliais em *D. melanogaster* permitiu identificar a propriedade moduladora da pimenta bode sobre a ação carcinogênica da DXR. Além disso, foi observado efeito dose dependente em relação às reduções nas frequências tumorais e as concentrações analisadas.

Palavras-chave: *Capsicum chinense*. *Drosophila melanogaster*. Efeito modulador.

Objective Analyze the modulating effect of bonnet pepper extract through detection of epithelial tumors test (ETT) in *Drosophila melanogaster*. **Method:** The treatment of the larvae was done with three concentrations of bonnet pepper extract isolated, being 0.5%, 1% and 2%. **Results and Conclusion:** The test for the detection of clones of epithelial tumors in *D. melanogaster* allowed to identify modulating property of bonnet pepper. Also, a dose-dependent effect was observed in relation to the reductions in tumor frequencies and the analyzed concentrations.

Keywords: *Capsicum chinense*. *Drosophila melanogaster*. Modulating effect

^{1, 2} Acadêmicas do Curso de Medicina - Centro Universitário de Patos de Minas.

³ Doutorado e Mestrado em Genética e Bioquímica - Universidade Federal de Uberlândia (2015, 2013). Graduação em Ciências Biológicas - Centro Universitário de Patos de Minas (2006). Docência no Ensino Superior. Pesquisas na área de Genética, como ênfase em mutagênese e carcinogênese.

INTRODUÇÃO

Durante a vida ocorrem mortes celulares, tanto por processos fisiológicos, quanto por processos patológicos e, por isso, a multiplicação celular é essencial para que os tecidos sejam repostos, a fim de manter sua integridade e função¹. Portanto, é preciso que haja um equilíbrio entre morte e renovação celular. É necessário, também, que as células se especializem de forma estrutural e funcional. Portanto, esses dois processos são fundamentais para a manutenção da homeostase².

O ciclo celular tem como finalidade a duplicação do DNA e, conseqüentemente, a divisão celular e a proliferação. Por ser composta por diversas fases e eventos importantes, a regulação desse ciclo deve ser altamente eficaz, sendo efetuada tanto por sinais intrínsecos do genoma, quanto por sinais externos³. Quando esses mecanismos de controle e regulação não ocorrem de forma adequada, surgem as neoplasias. As células tumorais, portanto, são originadas de células normais que perderam o controle da multiplicação e diferenciação, além de se tornarem não responsivas aos sinais de apoptose⁴.

O câncer é considerado um grave problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, devido a sua alta taxa de incidência, prevalência e

mortalidade⁵. A mais recente estimativa mundial, ano 2018, aponta que ocorreram no mundo 18 milhões de casos novos de câncer (17 milhões sem contar os casos de câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de óbitos (9,5 milhões excluindo os cânceres de pele não melanoma). O câncer de pulmão é o mais incidente no mundo (2,1 milhões), seguido pelo câncer de mama (2,1 milhões), cólon e reto (1,8 milhão) e próstata (1,3 milhão)⁶.

Vale ressaltar que dentre os fatores protetores e causadores de câncer, alguns alimentos se encaixam na linha causadora, contribuindo em até 35% para o aparecimento desta doença, enquanto outros apresentam efeito protetor⁷. Nos últimos anos, tem-se estudado muito as substâncias anticarcinogênicas presentes em diferentes alimentos e a maioria dos achados levam aos fitoquímicos presentes nas frutas e vegetais⁸.

Nesse contexto, acredita-se que a pimenta bode esteja inclusa na categoria protetora⁹, mas nenhum estudo foi realizado até o momento para comprovar esse efeito em *Drosophila melanogaster*. Esta pimenta pertence ao gênero *Capsicum* e a espécie *Capsicum chinense*, sendo utilizada por grande parte da população brasileira em diversos campos, além da culinária¹⁰.

Em pimentas, a pungência deve-se à presença de amidas chamadas capsaicinoides¹¹. Segundo Rosa *et al.*¹², a atividade antioxidante dos capsaicinoides inibe a peroxidação de

lipídios, com desempenho semelhante ao tocoferol (vitamina E), justificando o seu uso como antioxidante natural.

Além desse efeito, de acordo com Leung¹³, a capsaicina, em ação conjunta com o β -caroteno e as vitaminas A e C, atua na diminuição dos níveis de gorduras no sangue, possui ação expectorante, ajudando a descongestionar vias respiratórias¹⁴, além de possuir ação anti-inflamatória¹⁵.

A pimenta bode é muito usada, principalmente na região Sudeste do Brasil. Pimentas do gênero *Capsicum* têm em sua composição os capsaicinoides em maior abundância, os quais são responsáveis pelas propriedades anti-inflamatória, antimutagênica e antitumoral, o que se deve ao fato dessa substância ser um composto fenólico¹⁶.

O ensaio genético utilizado no presente trabalho foi desenvolvido usando a *D. melanogaster* como organismo modelo. A *D. melanogaster* é um inseto com cerca de 3mm de comprimento, conhecido popularmente como mosca das frutas, por ficar ao redor de frutas apodrecidas. É um organismo eucarionte, pertencente à ordem Díptera, com $2n=8$ cromossomos, sendo 3 pares de autossomos e 1 par sexual. Depois da fertilização, leva-se um dia até que o ovo ecloda e saia a larva (no primeiro de três estágios), levando no total três dias para completar a fase larval e mais cinco dias para se tornar um adulto fértil¹⁷.

Essa mosca foi introduzida no mundo da genética em 1909, no laboratório de Thomas Hunt Morgan. Desde então, intensas pesquisas a tornaram um dos eucariontes mais bem compreendidos¹⁸. Essa mosca possui relativa homologia genética com o organismo humano e, adicionalmente, um número significativo de genes estudados na mosca confirmou ser homólogo de genes supressores tumorais humanos. Nesse contexto, a importância da *Drosophila* como organismo modelo para a genética humana é demonstrada pela descoberta de que cerca de 60% dos genes causadores de doenças em humanos, bem como 70% dos genes do câncer, têm contrapartes nessa mosca¹⁹.

Pesquisadores que utilizam *Drosophila* em seus experimentos defendem que há fatores indutores de tumor nesse inseto semelhantes ao de células humanas. O controle do ciclo celular também é similar e envolve o gene *wts*, que é homólogo ao gene supressor de tumor em humanos LATS1. Quando esse gene é mutado, surgem lesões epiteliais visíveis, chamadas de “verrugas” ou tumores, que se espalham por todo o corpo da mosca adulta²⁰.

Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo principal de analisar o efeito modulador da pimenta bode (*C. chinense*) por meio do teste para detecção de tumores epiteliais (ETT) em *D. melanogaster*.

METODOLOGIA

AGENTES QUÍMICOS

Pimenta bode

Foram preparadas três concentrações (0,5, 1% e 2%) de extratos aquosos de capsaicinoides (CAPS), cuja principal substância é a capsaicina, nomeada pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) como 8-metil-N-vanilil-1-6-nonamida, com fórmula molecular $C_{18}H_{27}NO_3$ e peso molecular 305,42 g/mol.

A pimenta bode foi obtida comercialmente na cidade de Patos de Minas, Minas Gerais, e levada ao Laboratório de Química do Centro Universitário de Patos de Minas, onde se efetuou a preparação dos extratos, seguindo o protocolo descrito por Guimarães *et al.*²¹. No que concerne à preparação, os extratos foram obtidos por meio de maceração aquosa de fruto inteiro, polpa e sementes. Foram triturados em liquidificador 20 g do material vegetal (fruto, polpa ou semente) e adicionados 1 litro de água osmose reversa.

A solução preparada permaneceu em repouso e sob refrigeração por 24 horas. Posteriormente, a solução foi filtrada e armazenada em recipiente fechado, mantidos sob refrigeração e ao abrigo da luz, até ser utilizada. Essa solução primária correspondeu à maior concentração testada: 2%. A partir dessa solução foram elaboradas as demais concentrações dos extratos (1% e 0,5%), por diluição em água osmose reversa (ultrapura).

Doxorrubicina

O agente indutor de tumor (controle positivo) utilizado na presente pesquisa foi a doxorrubicina, comercializada como Adriblastina®. A mesma é produzida pelo laboratório Pfizer sob a forma de pó liofilizado injetável de 50mg em embalagem contendo 1 frasco-ampola. Este composto foi utilizado na concentração de 0,4 mM. A doxorrubicina (DXR) pertence ao grupo das antraciclina, classe de antibióticos. É um composto antitumoral empregado no tratamento de diferentes tipos de câncer. Porém, seu uso clínico é limitado em função de sua cardiotoxicidade^{22,23}.

Alguns dos mecanismos propostos para explicar a atuação das antraciclina sobre as células tumorais são: (1) a intercalação com a molécula de DNA, levando à inibição do processo de transcrição; (2) geração de espécies reativas de oxigênio, provocando dano ao DNA ou peroxidação lipídica; (3) formação de ligações cruzadas na cadeia do DNA; (4) interferência com a abertura e separação das cadeias do DNA através de ação sobre a helicase; (5) efeitos diretos na membrana celular, alterando sua permeabilidade e fluidez; (6) dano ao DNA e indução de apoptose por meio da inibição da topoisomerase II²⁴.

A redução dos danos induzidos pela DXR tem sido demonstrada em vários estudos

envolvendo sua associação com diferentes agentes por meio de testes genéticos utilizando a *D. melanogaster*^{25,26}, organismo teste empregado na realização da presente pesquisa.

TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMORES EPITELIAIS EM *Drosophila melanogaster*

Duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts* e *mwh*) portadoras dos marcadores genéticos *warts* (*wts*, 3-100) e *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-03) foram manipuladas durante os testes do presente trabalho. Os estoques destas linhagens são cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, mantidas 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 com temperatura em torno de 25°C e 60% de umidade.

Procedimento experimental

Para realização do tratamento, machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens *wts/TM3,Sb1* foram colocados (simultaneamente) em recipientes adequados para que o cruzamento acontecesse e, posteriormente, houvesse a postura de ovos e obtenção de larvas heterozigotas *wts+/+mwh*. As larvas descendentes desse cruzamento foram tratadas

com 5mL de cloridrato de doxorrubicina, Adriblastina® (controle positivo), água ultrapura (controle negativo) e com o extrato aquoso de pimenta bode em três diferentes concentrações (0,5%; 1% e 2%).

Sendo assim, as larvas de 3º estágio foram recolhidas do meio de cultura e separadas, inicialmente, em dois grupos: 50% das larvas foram dispostas em tubos de ensaio contendo 1,5g de purê de batata instantâneo e sem tempero (meio alternativo para *D. melanogaster*) e extrato de pimenta bode nas três concentrações testadas, isoladamente (sem associação com o controle positivo). Além disso, parte dessas larvas foi tratada com o controle negativo. A outra metade das larvas também foi disposta em tubos de ensaio, porém contendo 1,5g de purê de batata e DXR (concentração de 0,4 mM). Por sua vez, esse grupo foi separado em dois subgrupos: metade dos tubos foi disponibilizada para controle positivo e a outra metade recebeu as três concentrações separadas do extrato de pimenta bode em sistema de cotratamento com a DXR (essas concentrações estavam, portanto, em associação simultânea com o controle positivo).

Todos os tubos de ensaio foram vedados e mantidos na incubadora a 25±2°C e umidade relativa de 60±3%, por aproximadamente uma semana, período necessário para o desenvolvimento das larvas em moscas adultas. Após a metamorfose, as moscas

adultas, devidamente separadas por concentrações, foram coletadas e armazenadas em frascos identificados contendo etanol a 70%. Posteriormente, foram selecionadas para análise apenas as moscas que, em termos de fenotipagem, caracterizam-se pela presença de tricomas finos e longos. Por não possuírem o gene em estudo, as moscas com tricomas grossos e curtos não foram analisadas, sendo descartadas.

As moscas foram analisadas individualmente, com o auxílio de lupa estereoscópica e sobre uma placa escavada contendo glicerina. Todos os tumores nas regiões da cabeça, olhos, asas, corpo, pernas e halteres foram analisados e contabilizados.

Análise estatística

As diferenças estatísticas reveladas pelas frequências de tumores das três concentrações testadas, além dos controles positivo e negativo, foram calculadas utilizando o teste *U*, de Mann-Whitney, empregando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos indivíduos tratados com extrato aquoso de pimenta bode nas três diferentes concentrações testadas (0,5%, 1% e 2%), as frequências de

crescimento tumoral foram, respectivamente, 0,24; 0,16 e 0,21

tumor/mosca. A frequência de tumores no controle negativo, água ultrapura, por sua vez, foi 0,12 tumor/mosca (Tabela 1). Ao analisar esses valores, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as frequências obtidas nas concentrações de pimenta bode e o controle negativo, o que reflete a ausência de efeito carcinogênico da pimenta bode.

Por outro lado, nos indivíduos tratados com o extrato aquoso da pimenta bode nas concentrações de 0,5%; 1% e 2%, associado à DXR, as frequências tumorais foram, respectivamente, 4,30; 3,27 e 1,66 tumores por mosca. Nos indivíduos tratados apenas com o controle positivo, DXR, a frequência foi de 7,42 tumores por mosca. Com isso, observa-se uma redução, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), nas frequências tumorais dos indivíduos tratados com as três concentrações de pimenta bode em relação à frequência de tumores do controle positivo, o que evidencia que a pimenta bode teve efeito modulador sobre a ação carcinogênica da DXR. Além disso, é possível perceber que esse efeito foi dose dependente, ou seja, quanto maior a concentração de pimenta bode utilizada, maior a modulação observada e, conseqüentemente, maior redução na frequência tumoral.

Tabela 1 - Frequência de tumores observados nos descendentes heterozigotos de *Drosophila*

melanogaster tratados com água ultrapura, doxorubicina (DXR) e pimenta bode (PB) em três concentrações aquosas isoladas e associadas à DXR.

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste Mann-Whitney. Nível de significância $p = 0,05$

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

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

DXR, Doxorubicina.

PB, Pimenta bode.

Concen- trações	Indivíduos (moscas)	Tumores encontrados						Total	Frequência
		O	Cabeç	Asa	Corp	Pern	Halte		
		l	a		o	a	r		
		h							
		o							
Controle	200	0	8	4	11	0	2	25	0,12
Água									
DXR 0,4 mM	200	3	111	738	460	118	21	148	7,42*
PB 0,5%	200	1	12	3	30	1	2	49	0,24
PB 1%	200	1	4	5	19	1	2	32	0,16
PB 2%	200	2	6	6	20	8	0	42	0,21
PB 0,5% + DXR	200	1	64	373	245	135	33	860	4,30**
PB 1% + DXR	200	9	51	320	177	77	20	654	3,27**
PB 2% + DXR	200	3	14	154	113	44	5	333	1,66**

Diversos estudos mostraram efeitos benéficos da pimenta bode em relação a diferentes tipos de linhagens tumorais. Cao *et al.*²⁷ observaram a ação moduladora da capsaicina no câncer de pulmão de não-pequenas células. Os referidos autores verificaram que essa substância induz a ativação autorregulatória da *p53-SMAR1* e a “*down-regulation*” do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Esse fator é altamente importante no processo de angiogênese, o qual é essencial para crescimento tumoral e metástase.

Surch, Lee e Lee²⁸ também observaram efeito benéfico da capsaicina em relação ao câncer, porém especificamente na carcinogênese de pele. No que diz respeito à formação de tumor, os autores observaram que a capsaicina melhorou a carcinogênese de pele em animais, quando administrada simultaneamente com um agente indutor/promotor de tumor.

Embora os mecanismos envolvidos nessa ação moduladora da pimenta bode não tenham sido diretamente avaliados nessa pesquisa, hipóteses podem ser levantadas para explicar os resultados obtidos. Uma via que poderia explicar essa inibição tumoral é atividade apoptótica da pimenta bode. Estudos *in vitro* demonstraram que a capsaicina induz a apoptose de algumas linhagens de células de câncer humano,

desempenhando um importante papel na limitação da progressão do câncer²⁹.

Por meio das análises de células leucêmicas cultivadas com capsaicina, observou-se, *in vitro*, o bloqueio do crescimento dessas células através do aprisionamento do ciclo celular nas fases G_0 e G_1 . E também, a capsaicina provocou a apoptose das células leucêmicas através do gene BAX (gene ativador de apoptose). Em resposta ao sinal da capsaicina, esse gene é induzido e transportado do citosol para a mitocôndria, levando a célula com DNA alterado à apoptose³³.

Outro fator que pode estar relacionado com a atividade modulatória da pimenta bode é a presença de compostos antioxidantes em sua composição, que conferem às pimentas também ação antimutagênica. Um estudo verificou a propriedade modulatória de outra pimenta do gênero *Capsicum*, a *Capsicum annuum*, por meio do SMART (Somatic Mutation and Recombination Test), também realizado em *D. melanogaster*. Os resultados do referido estudo mostraram que a pimenta foi efetiva em reduzir eventos mutacionais induzidos por agentes pró-mutagênicos. Os autores sugerem que a supressão da ativação ou interação metabólica com os grupos ativos de mutagênicos pode ser o mecanismo pelos quais as pimentas *Capsicum* exercem sua ação modulatória³⁴.

Os antioxidantes fenólicos presentes na pimenta bode são como sequestradores de radicais livres e também podem agir como quelantes de metais³⁰, atuando tanto na etapa de iniciação, como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários, originados da ação destes antioxidantes, são relativamente estáveis por causa da ressonância do anel aromático contida nestas substâncias³¹. Os compostos fenólicos e alguns de seus derivados são, portanto, eficazes para que não ocorra a oxidação lipídica. Porém, devido a sua alta toxicidade para humanos, poucos alimentos são permitidos³⁰. Os capsaicinóides encontrados na espécie *C.*

chinense são a capsaicina, a dihidrocapsaicina e a nordihidrocapsaicina. A primeira corresponde ao principal composto por estar presente em maior quantidade, seguida da segunda e da terceira, respectivamente³².

CONCLUSÃO

O teste para a detecção de clones de tumores epiteliais em *D. melanogaster* permitiu identificar a ausência de carcinogenicidade e o efeito modulador da pimenta bode sobre a ação carcinogênica da DXR, como proposto nos objetivos desta pesquisa. Sendo assim, ao associar o extrato de pimenta bode com DXR, nas três concentrações (0,5, 1 e 2 %), verificou-se redução nas frequências tumorais em comparação com à DXR isolada, comprovando seu potencial modulador. Ainda, vale ressaltar que foi observada resposta dose dependente. Ou seja, quanto maior a concentração de pimenta bode utilizada, menores foram as frequências tumorais observadas (nos tratamentos associados).

REFERÊNCIAS

- ¹JORDE, L. B; CAREY, J. C; BAMSHAD, M. **J. Genética Médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- ²BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo: Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro. 2011, p.77-89; 219-275.

- ³NUSSBAUM, R. L.; MCIANNES, R. R.; WILLARD, H. F. **Thompson & Thompson-Genética médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Saraiva, 2008.
- ⁴ABBAS, A. K. *et al.* **Robins & Cotran-Bases patológicas das doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro. 2010.
- ⁵INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **ABC do câncer**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2015.
- ⁶INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Números de câncer**– Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>> Acesso em: 17 Jan. 2020.
- ⁷GARÓFOLO, A. *et al.* Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Revista de Nutrição. Campinas**, v.17, p.491-505, out./dez., 2004.
- ⁸BOYER, J.; LIU, R. **Apple phytochemicals and their health benefits**. Nova York, maio, 2004. Disponível em: <<http://www.nutritionj.com/content/3/1/5>>. Acesso em: 10 out. 2015.
- ⁹ROMAN, A. L. C. **As pimentas *Capsicum l.* no cotidiano de uma comunidade de várzea (Rio Amazonas)**, Santarém, Pará, Brasil. 2010.
- ¹⁰POZZOBON, M. T. *et al.* Comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* Jacq. do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Revista Brasileira de Biociência**, v.13, n.2, p. 96-100, abr./jun. 2015.
- ¹¹REIFSCHNEIDER, F. J. B. ***Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.
- ¹²ROSA, A. *et al.* Antioxidant Activity of Capsinoids. **J. Agric. Food Chem.**, v.50, n.25, p. 7396-7401, nov. 2002.
- ¹³LEUNG, F. W. Capsaicin-sensitive intestinal mucosal afferent mechanism and body fat distribution. **Life Sciences**, v.83, p.1-5, 2008.
- ¹⁴XU, Q. *et al.* Assessment of antifouling effectiveness of two natural product antifoulants by attachment study with freshwater bacteria. **Environmental Science and Pollution Research**, v.12, p.278-284, 2005.
- ¹⁵TEWKSBURY, J. J. *et al.* Evolutionary ecology of pungency in wild chilies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, p.11808–11811, 2008.
- ¹⁶AMRUTHRAJ, N. J. *et al.* In vitro studies on anticancer activity of capsaicinoids from capsicum chinense against human hepatocellular carcinoma cells. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.6, n.4, 2014.

- ¹⁷GOMES, A. P. L. **Protocolo - Utilização de Drosophilaem Genética**. Departamento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2001. Disponível em: <<http://www.ordembilogos.pt/Publicacoes/Biologias/Droshort%20--%2001Jan01.pdf>>.
- ¹⁸SNUSTAD, D. P; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de genética**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- ¹⁹GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução a genética**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- ²⁰EEKEN, J. C. J. *et al.* Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor suppressor gene *wts*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, n.40, p.277-282, 2002.
- ²¹GUIMARÃES, S. S. *et al.* Ação repelente, inseticida e fago-inibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.4, p. 322-328, 2014.
- ²²HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman's- the pharmacological basis of therapeutics**. 10. ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- ²³SANTOS, A. C. S. *et al.* Cardioncologia: anormalidades eletrocardiográficas em pacientes com cardiomiopatia pós-uso de doxorubicina. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 22, n.5, p. 281- 288, 2009.
- ²⁴TAKEMURA, G.; FUJIWARA, H. Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy From the Cardiotoxic Mechanisms to Management. **Progress in Cardiovascular Diseases**, Philadelphia, v.49, n.5, p.330-352, 2007.
- ²⁵COSTA, W. F.; NEPOMUCENO, J. C. Protective effects of a mixture of antioxidant vitamins and minerals on the genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 47, p.18-24, 2006.
- ²⁶ORSOLIN, P. C.; SILVA-OLIVEIRA, R. G.; NEPOMUCENO, J. C. Assessment of the mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of orlistat in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p.2598–2604, 2012.
- ²⁷CAO, S. *et al.* Anti-Cancer Effects and Mechanisms of Capsaicin in Chili Peppers. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p.3075-3081, 2015.
- ²⁸SURH, Y.J.; LEE, E.; LEE, J.M. The Capsaicin Study. **Mutation Research**, v.41, p.259-267, 2002.
- ²⁹LUO, X. J.; PENG, J.; LI, Y. J. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, v.650, 1-7, 2011.

³⁰SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **CRCCritical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

³¹NAWAR, W. W. Lipids. *In*: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1985. p.139-244.

³²SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora Universidade/UFRGS, 2001.

³³ITO, K. *et al.* Induction of Apoptosis in Leukemic Cells by Homovanillic Acid Derivative, Capsaicin, through Oxidative Stress: Implication of Phosphorylation of p53 at Ser-15 Residue by Reactive Oxygen Species. **Cancer Research**, v.64, p.1071-1078, 2004

³⁴ELLISON, N. The blanching effects on the drying rates and the colour of hot red pepper. **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, p.2974-2980, 1997.