INFLUÊNCIA DE EXTRATOS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) E PITANGA (*Eugenia uniflora* L.) NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DE BIOTRANSFORMAÇÃO HEPÁTICAS DE RATOS

EXTRACT INFLUENCE OF AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART) AND BRAZILIAN CHERRY (*Eugenia uniflora* L.) AT THE ACTIVITY OF HEPATIC BIOTRANSFORMATION ENZYMES OF RATS

Taís da Silva Rosa^{1*}, Maria Carolina Neves de Souza², Soraia John da Silva³, Cristiane Martins Cardoso⁵

1. Msc., Doutoranda do curso de Pós graduação em Química da UFRRJ.

2. Graduada em Medicina Veterinária pela UFRRJ.

3. Msc., Doutoranda do curso de Pós graduação em Química da UFRRJ.

4. Prof. Dsc. Da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

*Autora correspondente: tais.rosa@alf.ifmt.edu.br

RESUMO

As enzimas Citocromo P450 (CYP) e Glutathione S-transferase (GST) participam do processo de metabolização celular de compostos xenobióticos tornando-os menos tóxicos e facilitando sua eliminação (biotransformação). Durante esse processo, a ação da CYP pode ativar compostos potencialmente tóxicos prejudicando o funcionamento celular. Melhores resultados de desintoxicação podem ser alcançados diminuindo a ação da CYP e aumentando a ação da GST, responsável pela eliminação da maioria destes compostos. Estudos têm sido realizados no intuito de avaliar efeitos que componentes bioativos de vegetais realizam sobre a atividade das enzimas de biotransformação. Há varias frutas ricas em compostos que, isolados, são reportados como moduladores de atividade enzimática incluindo enzimas biotransformadoras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de compostos de açaí e pitanga em inibir a atividade de CYP e aumentar a atividade de GST hepática de ratos, buscando otimizar o processo de biotransformação. A atividade de enzimas da família de CYP (PROD, EROD, MROD e ECOD) foi determinada fluorimetricamente utilizando substratos específicos, e a atividade de GST foi realizada por ensaio espectrofotométrico utilizando o substrato CDNB. Foram utilizados nos ensaios extratos de etéreos de açaí e pitanga. Dentre os extratos testados, apenas o extrato etéreo de açaí promoveu modulação parcialmente satisfatória, já que o extrato de

pitanga não demonstrou influência sobre as enzimas. O extrato de açaí inibiu expressivamente a atividade de CYP, possivelmente diminuindo a ativação de compostos tóxicos, porém também foi inibidor da GST diminuindo a capacidade celular de eliminação destes compostos.

Palavras-chave: Citocromo P450, GST, biotransformação, açaí, pitanga.

ABSTRACT

The Cytochrome P450 enzymes (CYP) and Glutathione S-transferase (GST) participate in the process of cellular metabolism of xenobiotic compounds making them less toxic and facilitating their elimination (biotransformation). During this process, the action of CYP can activate potentially toxic compounds impairing the cellular function. Better detoxification results can be achieved by decreasing the action of CYP and increasing the action of GST, responsible for the elimination of most of these compounds. Studies have been carried out to evaluate the effects of bioactive components of plants on the activity of biotransforming enzymes. There are several fruits rich in compounds that, isolated, are reported as modulators of enzymatic activity including biotransforming enzymes. The aim of this work was to evaluate the capacity of açaí and brazilian cherry composts in inhibiting the activity of CYP and increasing the activity of hepatic GST of rats, searching to optimize the biotransformation process. The activity of enzymes of the CYP family (PROD, EROD, MROD and ECOD) was determined fluorimetrically using specific substrates and the GST activity was performed by spectrophotometric assay using the CDNB substrate. Ethereal extracts of açaí and brazilian cherry were used in the tests. Among the extracts tested, only the ethereal extract of açaí promoted partially satisfactory modulation, since the extract of brazilian cherry did not show influence on the enzymes. The extract of açaí inhibited the activity of CYP expressively, possibly decreasing the activation of toxic compounds, however also inhibited GST by decreasing the cellular capacity of elimination of toxic compounds.

Keywords: Cytochrome P450, GST, Biotransformation, açaí, brazilian cherry.

1. INTRODUÇÃO

A eliminação de substâncias prejudiciais ao organismo ocorre principalmente por ação enzimática, tendo a participação de enzimas como as pertencentes à família Citocromo P450 (CYP) e Glutathione S-transferase (GST). Essas enzimas podem ter

localização hepática e extra-hepática e participam do processo de biotransformação de xenobióticos (compostos estranhos ao organismo), convertendo substâncias originalmente lipofílicas em metabólitos mais hidrofílicos e facilitando sua excreção [1].

A desintoxicação enzimática de xenobióticos pode ser dividida em duas fases distintas, porém estritamente relacionadas [2]. Na primeira fase do processo, a conversão desses compostos em produtos altamente reativos ocorre através da introdução de um ou mais grupamentos hidroxila no substrato. O produto gerado a partir do metabolismo xenobiótico decompõe-se em um agente eletrofílico altamente reativo, podendo então reagir com biomoléculas essenciais e diminuir ou impedir o desenvolvimento celular [3]. Na segunda fase do metabolismo ocorre a conjugação com um substrato endógeno, por exemplo a glutatona, através de enzimas como Glutathione S-Transferases (GST), UDP-Glucuroniltransferases (UGT), que promovem a inativação dos produtos formados durante a primeira fase.

Este processo pode levar à perda do potencial tóxico de diversos compostos, do efeito farmacológico de diversas drogas ou, contrariamente, pode ativá-las. Grande parte das substâncias consideradas potencialmente carcinogênicas necessitam serem ativadas metabolicamente no organismo para hajam efetivamente como carcinogênicas. As reações de ativação metabólica de compostos cancerígenos são catalisadas por várias enzimas, as enzima de fase I do processo de biotransformação [3].

De fato, a eliminação de compostos cancerígenos e redução de efeitos mutagênicos por compostos promotores ou inibidores é de importância crucial para retardar efeitos biológicos negativos e prejudiciais ao desenvolvimento celular, elucidando mecanismos associados ao surgimento de várias patologias. Algumas isoformas de CYP encontradas no cérebro podem estar envolvidas no fator de susceptibilidade para o desenvolvimento da doença de Parkinson. O CYP2E1 que está associado com a produção de radicais livres e formação de toxinas endógenas metaboliza n-hexano, levando a formação do metabólito neurotóxico 2,5-hexanodiona que pode explicar casos de parkinsonismo induzido por solvente [4,5].

Portanto, muitos estudos estão sendo realizados voltados para a avaliação dos efeitos de compostos bioativos sobre o mecanismo de ação de enzimas de biotransformação, seja na inibição das enzimas da família do CYP ou na ativação de GST [6]. Historicamente, creditou-se ao consumo de vegetais e particularmente frutas

o benefício à saúde [7]. Vários estudos foram e continuam sendo realizados a fim de propor que compostos bioativos, principalmente fenólicos, exercem efeitos positivos em doenças crônicas, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas [8].

Estudos *in vitro* indicam a modulação da atividade de isoformas de CYP por flavonoides amplamente distribuídos em plantas comestíveis, frutas e vegetais; que podem ser consumidos diariamente em grandes quantidades. Já foi observado por Rashid et al. [9] que, quando administrados oralmente, flavonoides como a flavona, tangeritina e nobilitina inibem a atividade de algumas famílias de CYPs, nos órgãos onde são encontradas.

Constituintes do sumo de *grapefruit* são conhecidos por modular alguns sistemas de CYP de mamíferos tais como as isoenzimas CYP 3A4 intestinal e CYP 2A6 hepática, reduzindo a biotransformação de drogas aumentando a biodisponibilidade destas [10]. Estudos indicam que um único copo de suco de *grapefruit* pode aumentar significativamente a biodisponibilidade oral de uma variedade de medicamentos comumente usados. Presume-se que o mecanismo deste efeito envolve a diminuição ou retardo no metabolismo desses medicamentos, a partir da diminuição da atividade de enzimas da família CYP, uma vez que muitos dos medicamentos avaliados parecem ser bem absorvidos quando tomados na ausência do sumo de *grapefruit* [11].

Relacionados a segunda fase do processo de biotransformação, estudos mostram que extratos brutos de diversos vegetais tem sido relacionado como ativadores da GST. Em ensaios *in vitro*, quando em células de mamíferos, os extratos de alguns vegetais testados se mostraram eficazes na indução da GST. Outros estudos reportam a ativação da GST em tecidos animais e associam-na como fator de prevenção de doenças como câncer, uma vez que esta ativação diminui o tempo de exposição do organismo ao composto considerado prejudicial [12].

Frutas e outros vegetais possuem em sua composição, diversas substâncias antioxidantes e outros compostos, cujas atividades benéficas à saúde têm sido bem comprovadas nos últimos anos. Substâncias antioxidantes como compostos fenólicos, contribuem para os efeitos benéficos destes alimentos. Somando-se a isto, estudos têm demonstrado que compostos bioativos naturais possuem efeitos significativos na diminuição de doenças como o câncer, e evidências epidemiológicas demonstram que o consumo de alimentos considerados fontes de compostos bioativos, diminui a

possibilidade de ocorrência de doenças cardiovasculares, efeito causado possivelmente por propriedades antioxidantes que estes compostos possuem[13].

A capacidade de componentes de alimentos de regular ou modular a expressão de enzimas biotransformadoras sugere que essas enzimas podem representar um elo essencial entre a alimentação e a prevenção de doenças ou possibilitando a extração e purificação destes componentes para posterior utilização ou um maior controle de seu consumo [14]. Frutas são reconhecidas fontes de compostos bioativos como flavonoides e outros capazes de modular a atividade de enzimas de biotransformação. Uma das melhores fontes são pitanga, que contém quercetina, kaempferol e miricetina [2,15]; e açaí, que contém grande quantidade de polifenóis, mais notadamente antocianidinas e flavonoides, e dentre estes se destacam a quercetina, a orientina e seus derivados e proantocianidinas [16,17].

Muitos destes compostos estão presentes no sumo de *grapefruit*, que é relatado em diversos estudos por interferir com o sistema do CYP de mamíferos, reduzindo sua atividade metabólica [18, 19, 20,21]. Limonoides presentes nas frutas cítricas tem como principal mecanismo de ação a indução da GST [22].

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade modulatória de extrato etéreo de açaí e de pitanga sobre a atividade de enzimas, CYP e GST, de forma a inibir a ação da primeira e ativar a segunda. Desta forma, estes resultados culminariam no aumento da eficiência do processo de biotransformação e diminuição da ativação de compostos possivelmente cancerígenos, aumentando o processo de excreção dos produtos hidrofílicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. OBTENÇÃO DE FRAÇÃO ENZIMÁTICA CEREBRAL DE RATOS

As amostras de cérebro de ratos Wistar machos foram descongeladas, pesadas e homogeneizadas em homogeneizador Potter-Elvehjem teflon/vidro, numa proporção de 1,0 g de cérebro para 4,0 mL de solução tampão gelada (fosfato de potássio 0,1 M, de pH 7,0, contendo sacarose 0,25 M). Os homogeneizados foram centrifugados a 9.000 x g por 45 minutos a 4 °C. Os sobrenadantes desta primeira centrifugação foram transferidos para novos tubos e ultracentrifugados em ultracentrífuga Hitachi, a 100.000 x g por 90 minutos a 4 °C. O sobrenadante, fração citosólica, foi recolhido,

aliquotado e armazenado em freezer (aproximadamente -20°C) até sua utilização nos ensaios de atividade enzimática.

2.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PROTEICA NA FRAÇÃO SOLÚVEL DE CÉREBRO DE RATO.

A determinação da concentração proteica foi realizada segundo método Peterson [23]. Os resultados foram expressos em atividade específica, padronizado para a concentração de proteínas solúveis estimada, utilizando como padrão 10µg e 100µg de albumina sérica bovina (BSA) e utilizados no cálculo das atividades enzimáticas específicas.

2.3. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE PITANGA E AÇAÍ.

2.3.1. Obtenção dos extratos brutos de pitanga e açaí

Os compostos bioativos presentes na polpa “*in natura*” triturada de açaí e de pitanga obtidos comercialmente, foram extraídos com éter de petróleo P.A. na proporção de 1:5 (g da amostra: mL de água) durante 1 hora em agitador magnético à temperatura ambiente. A solução foi filtrada a vácuo em funil de Büchner e o resíduo líquido centrifugado a 3.000 rpm por 2 minutos para decantação de sólidos mais finos. Os extratos etéreos obtidos foram utilizados no estudo da influência sobre a atividade enzimática [24].

2.3.2 Determinação da atividade de GST não específica

A atividade da enzima GST foi determinada segundo metodologia descrita por Habig et al. [25]. O ensaio foi realizado em duplicata, em meio reacional contendo tampão fosfato de potássio (0,1 M, pH 6,0) e fração citosólica, na presença de 100 µL de glutathione reduzida (GSH) 50 mM. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL de 1-cloro 2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 100 mM (preparado em etanol) utilizado como substrato. O ensaio na ausência da enzima, foi realizado para verificar a taxa de reações não-enzimáticas. A reação foi acompanhada espectrofotometricamente, a 340nm, durante 3 minutos. Controles positivos foram feitos da mesma forma que nos testes, não havendo, no entanto, a adição dos extratos. Para o cálculo da atividade específica da GST foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar $9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2.3.3 Determinação da atividade de enzimas da família Citocromo P450 (CYP)

Para determinação da atividade das enzimas da família CYP foram adotadas metodologias que utilizam substratos específicos para cada isoenzima, sujeitas a reações de O-desalquilação.

O ensaio para atividade de 7-ethoxycoumarin O-desetilase (ECOD) foi feita segundo protocolo utilizado por Greenlee & Poland [26]. Onde a atividade da enzima será dada pela formação de 7-hydroxycoumarina extraída em fase alcalina, acompanhada fluorimetricamente. As atividades serão expressas como a quantidade de produto formado em picomoles por miligrama por minuto.

A determinação das atividades de etoxiresorufina, metoxiresorufina, pentoxiresorufina O-desetilase (EROD, MROD e PROD, respectivamente) em concentração de 1 mM, nas frações microssomal e mitocondrial serão realizadas segundo protocolo descrito por Burke et al. [27]. A determinação das velocidades de reação de desalquilação dos diferentes substratos serão realizadas através do registro fluorimétrico do acúmulo da resorufina, produto final da reação. A velocidade de reação será medida diretamente pela fluorescência crescente da mistura de reação, excitação 550 nm e emissão 582 nm; abertura da fenda, 5 nm; sensibilidade baixa, e expressa como picomoles de resorufina produzida / mg de proteína na fração microssomal / minuto de reação.

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tratamento estatístico dos resultados obtidos foi realizado utilizando o teste t de Student para comparação de médias, tendo como parâmetro o valor de p 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA GST SOB INFLUENCIA DO EXTRATO ETÉREO DE AÇAÍ E DE PITANGA

Glutathione S-transferase é uma família de enzimas que participam do processo de metabolização de xenobióticos tornando-os menos tóxicos e facilitando sua eliminação. Juntamente com o tripeptídeo glutathione (GSH), as GSTs desempenham um papel importante no sistema de defesa das células contra os compostos eletrofílicos [28]. Muitos estudos têm sido voltados para a avaliação dos efeitos que componentes de frutas, como flavonoides, e outras substâncias possivelmente bioativas tem sobre a atividade da GST, seja ativando ou inibindo-a [12]. Dependendo do alvo de estudo, conhecer substâncias que inibam e que ativem a atividade de GST

é importante e pode mudar condições de tratamento ou de consumo das frutas que contém esses compostos, visando aumentar ou diminuir a permanência dos mesmos nas células.

Neste trabalho foram feitos testes com o extrato etéreo de açaí e de pitanga, duas frutas muito consumidas na alimentação humana e utilizadas como matéria-prima para diversos produtos, incluindo cosméticos. A Figura 1 ilustra graficamente os valores de atividade da GST citosólica hepática de ratos em ensaios contendo extrato etéreo de açaí e de pitanga.

Figura 1: Atividade de GST citosólica hepática de rato com adição dos extratos etéreo de pitanga e açaí, comparados ao controle (atividade de GST sem adição dos extratos). *Segundo o teste t de Student todos os valores diferem significativamente do controle ($p < 0,05$).

Diante dos resultados obtidos com os testes foi possível perceber que, nas condições da reação (CDNB 100 mM e extrato 5 μ L), houve redução da atividade da GST utilizando tanto o extrato etéreo de açaí quanto de pitanga, quando comparada ao controle. Isto indica que esses extratos possuem compostos capazes de modular a atividade da enzimática avaliada.

Os metabólitos bioativos que predominam no açaí são antocianinas e flavonoides, dentre eles a quercetina e o dihidrokaempferol [16]. Segundo Rohman et al. [29] derivados de quercetina e cumarinas presentes em bulbos de cebola interagem significativamente com GST intracelular. Além disso, a quercetina promove uma

inibição tempo-dependente da atividade da GST [28]. No estudo conduzido por Sahu et al. [29] a atividade de GST hepática de ratos foi inibida quando incubada com kaempferol, substância encontrada na pitanga. Esses dados indicam que a redução da atividade da GST cerebral de rato pode ser influenciada por esses compostos bioativos presentes nos extratos testados.

3.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS DA FAMÍLIA CITOCROMO P450 SOB INFLUENCIA DO EXTRATO ETÉREO DE AÇAÍ E DE PITANGA

Microsossomos hepáticos podem conter diferentes enzimas CYP, de diferentes famílias e subfamílias que apresentam, geralmente, semelhança de mais de 40% em suas sequencias de aminoácidos. Essas enzimas catalisam a O-desalquilação de seus substratos, tendo como produto comum a resorufina, composto fluorescente. Substratos específicos podem ser utilizados nos ensaios para identificar diferentes famílias de CYP. Etoxiresorufina e metoxiresorufina são metabolizadas preferencialmente por isoenzimas da subfamília 1A, enquanto que isoenzimas da subfamília 2B catalisam a O-desalquilação do composto pentoxiresorufina [32].

Foram realizados ensaios com a intenção de avaliar como o extrato etéreo de açaí e de pitanga influenciam essas enzimas. A Figura 2 ilustra o resultado de atividade de pentoxiresorufina O-desetilase (PROD) obtido com a utilização dos extratos etéreos de açaí e pitanga comparado ao resultado de atividade obtido sem adição dos extratos.

Figura 2: Efeito do tratamento *in vitro* de extrato etéreo de açaí e pitanga sobre a atividade de enzimas citocromo P450 hepáticas de rato. A: pentoxiresorufina O-desetilase (PROD), B: metoxiresorufina O-desetilase (MROD), C: etoxiresorufina O-desetilase (EROD) e D: etoxicumarina O-desetilase (ECOD). Os resultados foram comparados ao controle (sem adição dos extratos). *Segundo o teste t de Student o valor difere significativamente do controle ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados, o extrato etéreo de açaí inibiu em, aproximadamente, 20% a atividade da PROD. Já com o extrato etéreo de pitanga, a inibição foi de apenas 3%, não considerada significativamente diferente do controle. Esses resultados indicam que a enzima PROD é modulada por compostos bioativos presentes no extrato etéreo de açaí e não por aqueles presentes no extrato de pitanga.

Apesar de aparentar ter maior atividade que a enzima anterior, a MROD mostra ser influenciada de forma bem semelhante que aquela. De acordo com os resultados, o extrato etéreo de açaí apresentou maior capacidade modulatória que o de pitanga, com uma inibição de, aproximadamente, 25%.

Comparativamente às atividades das famílias de CYP mencionadas anteriormente, a EROD citosólica hepática mostra maior atividade e, quando submetida à presença dos extratos etéreos de açaí e pitanga, maior inibição. A

inibição produzida pelo extrato de açaí foi mais expressiva (88%) do que aquela observada com o extrato de pitanga (cerca de 11%).

De todas as famílias de CYP testadas neste trabalho, a ECOD foi a que apresentou atividade de 10 vezes até 500 vezes maior que as demais enzimas. Porém, semelhantemente, foi modulada de forma expressiva e inibitória apenas pelos compostos bioativos presentes no extrato etéreo de açaí (80% de inibição).

De forma geral, o extrato etéreo de pitanga mostrou pouca influência sobre as atividades de todas as famílias de CYP testadas. Já o extrato etéreo de açaí mostrou maior influência, reduzindo a atividade das enzimas nos ensaios realizados. A diferença na composição dos extratos utilizados pode ter originado os resultados de modulação encontrados, indicado diferentes interações entre as enzimas testadas e os compostos bioativos presentes nesses extratos.

Estudos *in vitro* indicam a possibilidade de inibição do CYP por flavonoides amplamente distribuídos em plantas comestíveis, frutas e vegetais que podem ser consumidos diariamente em grandes quantidades. Quando administrados oralmente, flavonoides naturais como a flavona, tangeritina e nobilitina podem modular a atividade de alguns CYP em humanos e ratos [9]. Constituintes do sumo de *grapefruit* são conhecidos por interagir com o sistema de CYP de mamíferos tais como as isoenzimas CYP 3 A4 intestinal e CYP2 A6 hepática, reduzindo a biotransformação de drogas e aumentam sua disponibilidade [10].

Comparativamente, o extrato de pitanga se mostrou com capacidade modulatória inferior ao extrato de açaí, tanto para enzimas de biotransformação de fase I quanto de fase II. Desta forma, apenas o extrato de açaí apresentou resultado possivelmente mais adequado à modulação do processo de biotransformação, de forma a diminuir a ativação de compostos xenobióticos.

4. CONCLUSÕES

De forma geral, o extrato etéreo de açaí se mostrou mais promissor que o de pitanga, visando alterar as fases de biotransformação de compostos xenobióticos. Porém, levando em consideração a intenção de diminuir a concentração celular destes compostos, o extrato de açaí apresentou ação mais expressiva sobre a atividade de enzimas da família CYP (fase I) do que sobre a enzima GST (fase II).

A ação inibitória do extrato de açaí sobre a enzima GST não indica a possibilidade de utilização dos compostos presentes neste extrato para aumentar a

velocidade do processo de excreção de xenobióticos. Porém, a ação também inibitória deste extrato sobre a enzima P450 indica que o mesmo tem potencial para ser utilizado na redução da ativação de compostos possivelmente tóxicos, durante o processo de biotransformação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] GANDOLFI, A. J. & SIPES, I. G. Biotransformation of toxicants. In: Casarett and Doull's. **Toxicology: The Basic Science of Poisons** (C. D., KLAASSEN, org), pp. 88 – 126, 4th edition, New York, McGraw-Hill, Inc, 1991.
- [2] HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em Alimentos. **Alim. Nutr.**, v.19, n. 1, p. 97-108, 2008.
- [3] FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, p. 61-68, 1997.
- [4] MIKSYS, S. L.; TYNDALE, R. F. Drug-metabolizing cytochrome P450s in the brain. **Rev Psychiatr Neurosci**; 27(6), 2002.
- [5] RIEDL, A. G.; WATTS, P. M.; JENNER, P. AND MARSDEN, C. D. P450 Enzymes and Parkinson's Disease: The Story So Far. **Movement Disorders**, Vol. 13, No. 2, 1998.
- [6] EDENHARDER, R.; SAGER, J.W.; GLATT, H.; MUCKEL, E.; PLATT, K.L. Protection by beverages, fruits, vegetables, herbs, and flavonoids against genotoxicity of 2-acetylaminofluorene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in metabolically competent V79 cells. **Mutation Research** 521 (2002) 57–72.
- [7] STEINMETZ, K. A. AND POTTER, J. D. Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. **Cancer Causes and Control**, 2, 325 – 357, 1991.
- [8] CALADO, J.C.P.; PAULA, A.A.; OLIVEIRA, E.A.; LETRA, M.H.S.; SAWAYA, A.C.H.F.; MARCUCCI, M.C. Flavonoid Contents and Antioxidant Activity in Fruit, Vegetables and Other Types of Food. **Agricultural Sciences**, v. 6, p. 426-435, 2015.
- [9] RASHID, J.; McKINSTRY, C.; RENWICK, A. G.; DIRNHUBER, M.; WALLER, D. G.; GEORGE, C. F. Quercetin, an in vitro inhibitor of CYP3A, does not contribute to the interaction between nifedipine and grapefruit juice. **Br J clin Pharmac**; 36: 460-463, 1993.
- [10] RUNKEL, M.; BOURIAN, M.; TEGTMEIER, M.; LEGRUM, W. The character of inhibition of the metabolism of 1,2-benzopyrone (coumarin) by grapefruit juice in human. **Eur J Clin Pharmacol** 53: 265±269, 1997.

- [11] LOWN, K. S.; BAILEY, D. G.; FONTANA, R. J.; JANARDAN, S. K.; ADAIR, C. H.; FORTLAGE, L. A.; BROWN, M. B.; GUO, W. AND WATKINS P. B. Grapefruit Juice Increases Felodipine Oral Availability in Humans by Decreasing Intestinal CYP3A Protein Expression. **The American Society for Clinical Investigation**, Inc. Volume 99, Number 10, 2545–2553, 1997.
- [12] TORRES, M. C. L.; SOARES, N. F. F.; MAIA, J. F. Parâmetros cinéticos da glutathione s-transferase e sua ativação por extratos de vegetais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 24(2): 243-248, abr.-jun, 2004.
- [13] GALIJATOVIC, A.; OTAKE, Y.; WALLE, U. K.; WALLE, T. **Pharmaceutical Research**, Vol. 18, No. 3, 2001.
- [14] CLAPPER, M. L.; SZARKA, C. E.; PFEIFFER, G. R. ; GRAHAM, T. A.; BALSHEM, A. M.; LITWIN, S.; GOOSENBERG, E. B.; FRUCHT, H.; ENGSTROM, P. F. Preclinical and Clinical Evaluation of Broccoli Supplements as Inducers of Glutathione S-Transferase Activity. **Clinical Cancer Research**. Vol. 3, 25-30, January 1997.
- [15] VICTORIA, F.N.; LENARDÃO, E.J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R.G.; ALVES, D.; SILVA, W.P.; MOTTA, A.S.; NASCENTE, P.S. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 2668–2674, 2012.
- [16] HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) – A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters** 4, 10- 21, 2011.
- [17] YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA FILHO, D.F.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M.J.; FÁVARO, D.I.T.; VASCONCELLOS, M.B.A.; PIMENTEL, S.A.; CARUSO, M.S.F. Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazônica**, v. 41(4), p. 545 – 552, 2011.
- [18] BAILEY, D. G. ; ARNOLD, J. M. O.; MUNOZ, C. AND SPENCE, J. D. Grapefruit juice – felodipine interaction: Mechanism, predictability, and effect of naringin. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. Junho, 1993.
- [19] MERKEL, U.; SIGUSCH, H.; HOFFMANN, A. Grapefruit juice inhibits 7-hydroxylation of coumarin in healthy volunteers. **Eur J Clin Pharmacol** 46:175-177, 1994.
- [20] HO, P. C.; SAVILLE, D J.; COVILLE, P. F.; WANWIMOLRUK, S. Content of CYP3A4 inhibitors, naringin, naringenin and bergapten in grapefruit and grapefruit juice products. **Pharmaceutica Acta Helvetiae** 74; 379–385, 2000.
- [21] GIRENNAVAR, B.; JAYAPRAKASHA, G. K.; JADEGOUD, Y.; OWDAB, G. A. N. AND PATILA, B. S. Radical scavenging and cytochrome P450 3A4 inhibitory activity of bergapten and geranylcoumarin from grapefruit. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 15; 3684–3691, 2007.

- [22] FERRARI, B. C. K.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira De Cancerologia**, 48(3): 375-382, 2002.
- [23] PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. **Analytical Biochemistry**, v. 83, n. 2, p. 346-356, 1977.
- [24] BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27(4), p. 902-908, 2007.
- [25] HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic in mercapturic acid formation. **The J. of Biol. Chemistry**, v.249, n.22, p.7130-7139, 1974.
- [26] GEENLEE, F. W. & POLAND, A. An improved assay of 7-ethoxycoumarin O-deethylase activity: induction of hepatic enzyme activity in C57BL/6J and DBA/2J mice by phenobarbital, 3-methyl-cholanthrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. Vol. 205, 1978.
- [27] BURKE, M. D.; THOMPSON, S.; ELCOMBE, C. R.; HALPERT, J.; HAAPARANTA, T.; MAYER, R. T. Ethoxy-, pentoxy- and benzyloxyphenoxazones and homologues: a series of substrates to distinguish between different induced cytochromes P-450. **Biochemical Pharmacology**. Volume 34, Issue 18, 3337-3345. 1985.
- [28] van ZANDEN, J. J.; HAMMAN, O. B.; van IERSEL, M. L.P.S.; BOEREN, S.; CNUBBEN, N. H.P.; Lo BELLO, M.; VERVOORT, J.; van BLADEREN, P. J.; RIETJENS, I. M.C.M. Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin. **Chemico-Biological Interactions** 145, 139_ 148, 2003.
- [29] ROHMAN, M. M.; HOSSAIN, M. D. and FUJITA, M. Inhibitory interactions of glutathione derivatives, coumarins and quercetins with dominant onion bulb glutathione S-transferases: a structural analysis. **Nature and Science**. 2010.
- [30] SAHU, S.C.; GRAY, G. C. Pro-oxidant activity of flavonoids: effects on glutathione and glutathione S-transferase in isolate rat liver nuclei. **Cancer Letters**. 104, 193 – 196, 1996.
- [31] WERCK-REICHHART, D.; FEYEREISEN, R. Cytochromes P450: a success story. **Genome Biology**, 2000.
- [32] PARKINSON, A. Biotransformation of xenobiotics. In **Casarett & Doull's toxicology**, ed. C. Klaassen, 133-224. New York, 2001.