

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE MUNDO NOVO
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MICHELI APARECIDA VASCONCELOS SILVA

**Avaliação da atividade genotóxica de extratos de plantas
medicinais: *Randia armata* (Rubiaceae) e *Croton urucurana*
(Euforbiaceae) e de duas lactonas obtidas da *Aniba heringerii*
(Lauraceae).**

Mundo Novo – MS

Outubro de 2015

MICHELI APARECIDA VASCONCELOS SILVA

**Avaliação da atividade genotóxica de extratos de plantas
medicinais: *Randia armata* (Rubiaceae) e *Croton urucurana*
(Euforbiaceae) e de duas lactonas obtidas da *Aniba heringerii*
(Lauraceae).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof^aDr^a Zaira da Rosa Guterres

Mundo Novo – MS

Outubro de 2015

MICHELI APARECIDA VASCONCELOS SILVA

**Avaliação da atividade genotóxica de extratos de plantas
medicinais: *Randia armata* (Rubiaceae) e *Croton urucurana*
(Euforbiaceae) e de duas lactonas obtidas da *Aniba heringerii*
(Lauraceae).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao curso de Ciências Biológicas da
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do
grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

APROVADO EM ____ de _____ de 2015

Prof. Dr. Zaira Da Rosa Guterres – Orientadora – UEMS _____

Prof. Dr. Carlos Alexandre Fernandes – UEMS _____

Prof. Dr. Ana Francisca Gomes da Silva – UEMS _____

Deus tem fortalecido meu coração....

“Em meio as lutas, Deus me tem feito corajoso e valente para enfrentá-las, e quando penso estou fraco é aí que estou forte, pois o poder de Deus se aperfeiçoa em minha fraqueza. E para aqueles que acham que não irei vencer ou não serei capaz, eu deixo um recado: A minha força vem de Deus, Ele me faz vencedor”

(Yla Fernandes)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me concedeu a vida, saúde, sabedoria, coragem, paciência e disposição para enfrentar os obstáculos, pois sem os tais não estaria neste ano concluindo a minha graduação.

Agradeço a minha mãe Nelci e ao meu amado esposo Leandro e os demais familiares, que em todos os momentos me ajudaram, com palavras maravilhosas, orando por mim, sempre que eu achava que não iria conseguir, mas pela graça de Deus e pelo meu esforço consegui chegar ao final deste curso.

Agradeço a minha orientadora Zaira da Rosa Guterres, por ter aceitado me orientar, ter confiança que eu seria capaz de elaborar este trabalho, pela pessoa maravilhosa, por ter tido paciência comigo, por ser essa profissional que admiro tanto e por ter me ajudado nos momentos de dificuldades. Também peço que desculpem minhas falhas, durante a orientação do meu TCC.

Obrigada aos membros da banca que desde o início representaram uma fonte de conselhos e melhorias para um ótimo trabalho.

Agradeço também a Elenir pelo apoio na colaboração de todos os trabalhos, que não foram poucos, a Aline Cristina, Patrícia, Diandra, Daliane, Silmara, Daiane, Josiane, Josimara, Barbara, Jessica, Bruna, Guilherme, Douglas, Mayla e a Marcia da Biblioteca pela paciência, e todos os demais amigos e colegas de classe, pois pela ajuda e disposição e estarem ao meu lado durante todos esses anos.

Agradeço de uma maneira geral a todos os professores e as secretárias, pois sem esta equipe maravilhosa da UEMS de Muno Novo, eu não teria realizado o meu sonho, e a todos os que de alguma forma contribuiu para a minha formação acadêmica.

RESUMO

O Brasil é um país que apresenta uma ampla diversidade de plantas, muitas das quais podem ser utilizadas na prevenção e tratamento de diversas doenças. A família Rubiaceae apresenta espécies com grande valor econômico, exploradas como alimentícias e ornamentais e na indústria farmacêutica. As folhas da *Randia armata* (Sw.) DC. (Rubiaceae), são empregadas pela medicina popular para tratar diversos males, apresentam atividades antimicrobianas e antioxidantes. A medicina popular utiliza folhas, cascas e resinas obtidas do *Croton urucurana* (Euforbiaceae) para tratar inflamações, aftas, feridas externas e câncer. Também foi avaliada a atividade genotóxica de duas lactonas obtidas da *Aniba heringerii* (Lauraceae). Diante da ampla utilização destas plantas para o tratamento de diversas doenças, bem como a falta de informações sobre o potencial genotóxico destas plantas, o objetivo desta pesquisa é de avaliar a possível atividade genotóxica dos seus extratos, utilizando o teste SMART em asas de *Drosophila melanogaster*. Para tanto, foram utilizadas larvas de terceiro estágio de desenvolvimento de *D. melanogaster*, obtidas dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB), tratadas com três concentrações dos extratos e lactonas seguindo o protocolo de genotoxicidade. Foram utilizados, como controle positivo cloridrato de doxorubicina-DXR (0,125 mg/mL) e como controle negativo o solvente (água Milli-Q, 1% de Tween-80 e 3% etanol).

Palavras-chave: Mutagenicidade, Fitoterápico, Ensaio Smart, *Drosopholia melanogaster*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. METODOLOGIA	Erro! Indicador não definido.
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
5. CONCLUSÃO	23
6. REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

Desde tempos imemoráveis as plantas sempre foram utilizadas pela humanidade no tratamento de diversas doenças, mesmo que muitas vezes não haja comprovação de sua eficácia, sua utilização aumentou nas últimas décadas, Junior *et al.* (2005) destaca que a maioria das pessoas acreditam erroneamente que plantas medicinais não oferecem risco algum para a saúde uma vez que são proveniente de fontes naturais. Contudo são necessários alguns cuidados com a utilização de plantas, pois Martins *et al.* (2014) ressalta que algumas plantas podem ser prejudiciais a saúde do homem.

O Brasil é um país privilegiado com uma ampla diversidade de plantas, muitas das quais podem ser utilizadas na prevenção e tratamento de diversas doenças. Acredita-se que as plantas medicinais podem fornecer novas moléculas, abrindo um leque de possibilidade através de estudos com seus constituintes, com aplicação na farmacologia (FRÖHNER *et al.*, 2003). Entre as plantas medicinais destaca-se a *Randia armata* que é uma planta pertencente à família Rubiaceae e a *Croton urucurana* pertence à família Euforbiaceae.

A família Rubiaceae, no Brasil, apresenta 96 gêneros e mais de mil espécies, (MABBERLEY, 1997, BOLZANI *et al.*, 2001), possui espécies de grande importância econômica, que são exploradas como alimentícias (*Coffea arábica* L. e *Genipa americana* L.), ornamentais (*Ixora* spp., *Mussaenda* spp., *Gardenia* spp. etc.), e também na indústria farmacêutica, como por exemplo *Cinchona pubescens* Vahl, produtora de quinina, empregada no tratamento da malária. Outras são tóxicas, tais como *Palicoureae sp Psychotria sp*, popularmente conhecidas como “mata-ratos”, são consideradas venenosas (COELHO *et al.*, 2006).

Plantas pertencentes à família Rubiaceae são utilizadas pela medicina popular no tratamento de diversas enfermidades, tais como: hepatite, apendicite, infecção das vias urinárias e para combater o desenvolvimento de câncer de fígado, pulmão e estômago (XU *et al.*, 1997). Os efeitos medicinais benéficos oriundos das plantas resultam da produção de metabólitos secundários. A família Rubiaceae destaca-se pela presença de metabólitos secundários, tais como alcalóides quinolínicos (quinina e cinchonina), isoquinolínicos (emetina), indólicos (iombina) e bases de purina como a cafeína (STRUWE, 2002; SCHRIPSEMA *et al.*, 2003).

Randia armata (Sw.) DC., conhecida popularmente como limoeiro do mato, suas folhas são empregadas pela medicina popular para tratar diversos males, apresentam

atividades antimicrobiana (SOARES et al., 2006), antioxidante (VIEIRA et al., 2005) e cicatrizante (NOELLI, 1998), é utilizada na indústria cosmética (PAULY; FLEURY, 2002).

Também utilizada como planta medicinal, *Croton urucurana* pertence à família (Euforbiaceae), conhecida popularmente como; “urucurana”, “sangra-d’água”, “sangue-de-drago” e “capixingui”, encontradas em regiões tropicais e temperadas do globo (PIRES et al., 2004).

A Família Euphorbiaceae apresenta 6.300 espécies (GOVAERTS et al., 2000). No gênero *Croton*, são descritas 700 espécies, (HELUANI et al. 2000), tem representantes tanto medicinais, quanto tóxicos; as plantas deste gênero são ricas em metabólitos secundários, dentre esses constituintes ativos encontram-se as proantocianidinas, terpenos, alcalóides, flavonas e outros compostos fenólicos (DAL BÓ, 2004). Apresentam várias atividades biológicas, tais como anti-helmíntica e efeito cardiovascular de *Croton zehntneri* (CAMURÇA-VASCONCELOS et al, 2007), antinociceptiva e antibacteriana de *Croton urucurana* (OLIVEIRA et al., 2008), anti-inflamatória de *Croton cuneatus* (SOÁREZ et al, 2006), anticancerígeno de *Croton flavens*, mutagênica e antioxidante de *Croton lechleri* (LOPES E LOPES et al, 2004). De acordo com Melo et al. (2011), em um levantamento com 84 espécies de plantas medicinais, utilizadas pela população para prevenção do câncer e tumores, a família Euphorbiaceae, estava entre as mais citadas para o tratamento de câncer.

Há vários estudos na literatura quanto à utilização de *Croton urucurana*, principalmente no tratamento de doenças da pele (LOPES et al., 2010), é utilizada na forma de chás feito a partir das folhas, casca e talos, Borba e Macedo (2006) destaca que a *C. urucurana* pode ser utilizada para tratar inflamações e afta, de acordo, Souza e Felfili (2006) a espécie pode ser utilizada até mesmo para o tratamento de câncer e feridas externas.

Do caule de *Aniba heringerii* (Lauraceae) foram isolados diversos metabólitos secundários, entre eles as lactonas de origem policetídica, (3’O-acetil-rubrenolídeo e o rubrenolídeo, Fig1) (TÓFOLI, 2013).

As propriedades medicinais das plantas estão correlacionadas com os tipos de metabólitos secundários, de acordo com Santos et (1989), os metabólitos secundários, substâncias que, embora não tenham qualquer função aparente nos processos metabólicos essenciais, podem ser de enorme interesse, não só para a preservação das espécies vegetais, como também para aplicações fisiológicas ou farmacológicas.

Lactonas são ésteres orgânicos formados a partir da reação de um grupo OH (hidroxila) de uma molécula com um grupo COOH (carboxila) de outra. O nome vem dos lactídeos, substâncias formadas através da desidratação do ácido láctico. Lactonas oriundas de

ácidos alifáticos também podem ser nomeadas pela união do sufixo olídeo ao nome do hidrocarboneto em questão (SANTOS, 1989). Possuem entre outras atividades, poder citotástico, bactericida, fungicida e anti-inflamatório.

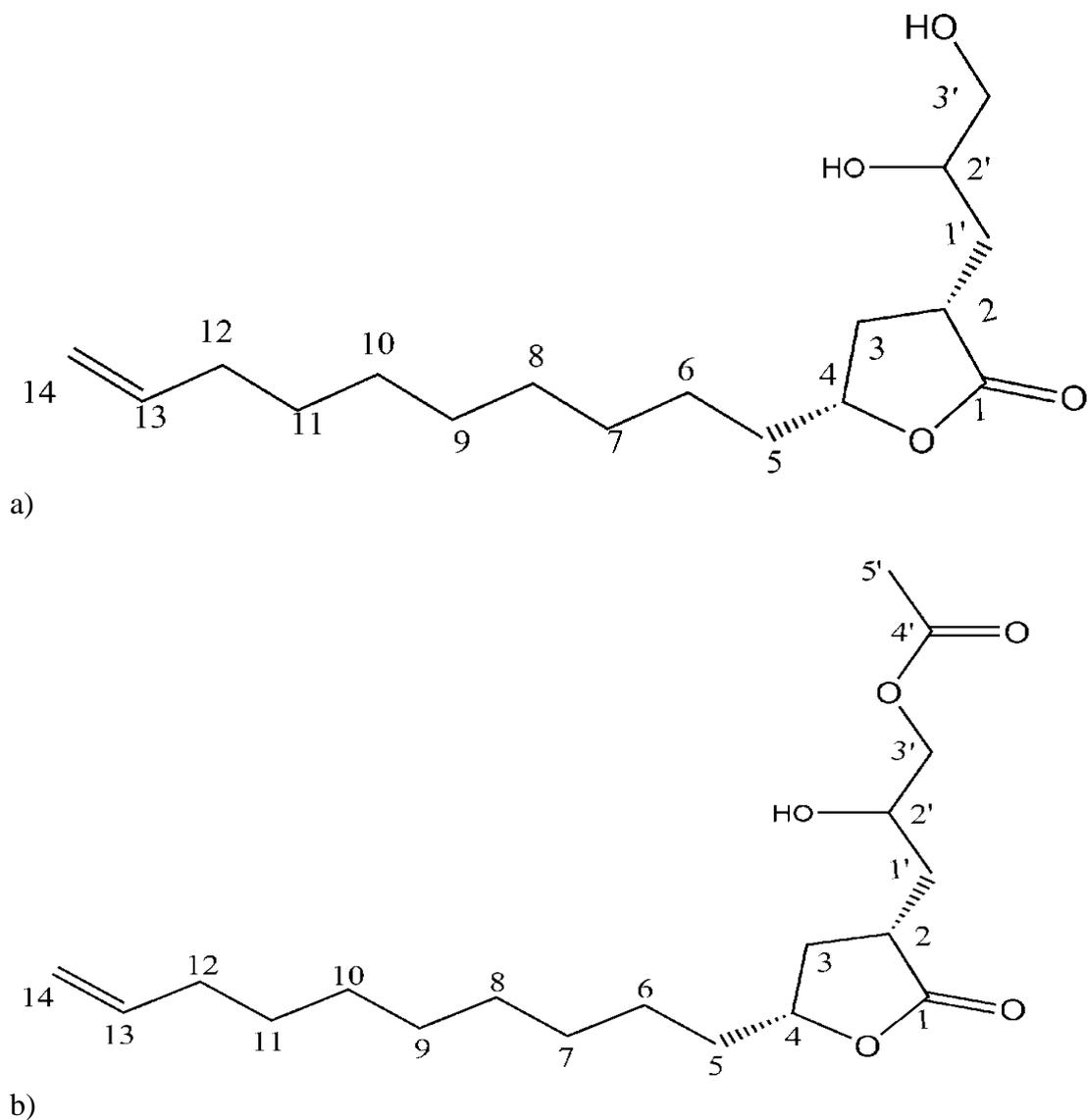


Figura 1-Lactona: estrutura de origem policetídica, a) 3'-O-acetil-rubrenolídeo e o b) rubrenolídeo (TÓFOLI, 2013).

2. OBJETIVOS

Avaliar a possível atividade genotóxica de extratos obtidos da *Randia armata* e *Croton urucuranae* das lactonas por meio do ensaio SMART em células somáticas de *Drosophila melanogaster*

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar as frequências de manchas (mutações) obtidas nos grupos tratados com diferentes concentrações dos extratos obtidos de raiz e caule de *Randia armata* com o controle negativo, nos cruzamentos ST e HB.
- Relacionar as frequências de mutações observadas, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com os extratos de *Croton urucurana*, com a possível atividade genotóxica.
- Determinar as frequências de mutações observadas nos grupos tratados com as lactonas, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Teste para detecção de Mutação e Recombinação Somática – SMART Somatic Mutation And Recombination Test)

O SMART foi realizado por meio de cruzamentos experimentais entre três linhagens mutantes de *D. melanogaster* portadoras dos marcadores genéticos *mwh* (*multiple wing hairs*), que tem manifestação fenotípica caracterizada por três ou mais pêlos por célula da asa, *ORR/flr³* (*ORR/flare³*) que apresenta pelos simples e *flr³* (*flare³*) onde sua manifestação fenotípica é caracterizada por um pelo modificado em forma de chama. Com essas linhagens foram realizados dois diferentes cruzamentos: 1] cruzamento padrão (ST- *standard cross*) entre machos '*mwh*' e fêmeas virgens *flr³* (GRAFet al., 1984), e 2] cruzamento de alta bioativação (HB- *high bioactivation cross*) entre machos '*mwh*' e fêmeas virgens *ORR/flr³* (GRAF e VAN SCHAİK, 1992).

Ambos os cruzamentos produziram indivíduos trans-heterozigotos marcados (MH), com constituição genotípica *mwh/flr³*, e indivíduos heterozigotos balanceados (BH), constituídos por *mwh/TM3, Bd⁸*, que podem ser facilmente reconhecidos pelos aspectos fenotípicos das asas com bordas recortadas (*serate*).

Os indivíduos MH permitem detectar a ocorrência de mutações de ponto, pequenas aberrações cromossômicas e recombinações mitóticas proximais e distais, já a análise dos indivíduos BH permite detectar a ocorrência de mutações de ponto e pequenas aberrações cromossômicas (GUZMÁN-TINCÓN; GRAF, 1995).

Os estoques foram mantidos em frascos contendo meio de cultura de *D. melanogaster* (820 mL de água, 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), 11 g de ágar, 156g de banana, 1 g de nipagin) a temperatura de 22° C e a uma umidade relativa do ar de 65%. Foram selecionadas aproximadamente 400 fêmeas virgens das linhagens *flr*³ e *ORR*, as quais foram cruzadas com aproximadamente 200 machos da linhagem *mwh*, por um período de 48 horas, posteriormente os casais foram transferidos, por um período de 8 horas para frascos contendo uma base sólida de, ágar-ágar, coberta por uma camada de fermento biológico (*S. cerevisiae*) suplementado com açúcar, para coleta de ovos. Após 72 ± 4 horas, as larvas de terceiro estágio de desenvolvimento, foram lavadas com água corrente e coletadas com auxílio de uma peneira de malha fina. Grupos de aproximadamente 100 larvas foram transferidos para tubos de vidro contendo 1,5 g de meio de cultura alternativa (purê de batata instantâneo Yoki®) e tratadas com três concentrações das fases (etanólica, hidrometanólica e acetato de etila) obtidos de *R. armata* e *C. urucurana* e das lactonas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 verifica-se os resultados obtidos no protocolo de genotoxicidade, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB tratados com diferentes concentrações da fase hidrometanólica obtida das raízes da *R. armata*. Na análise das frequências das manchas mutantes, obtidas nos grupos tratados pode-se observar que a formação de clones não difere estaticamente do controle negativo, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB.

Tabela 1- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com fase hidrometanólico obtido de raiz de *Randia armata* (RRH).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg/mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
			0,40 (08) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9	0,92

	RRH 0,625	20	0,35 (07) i	0,15 (03) i	0,00 (00) i	0,35 (07) i	7	0,71
	RRH 1,25	20	0,25 (05) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,25 (05) i	5	0,51
	RRH 2,5	20						
HB	<i>mwh/flr³</i>							
	CN	20	0,35 (07) i	0,10 (02)	0,00 (00)	0,45 (09)	9	0,92
	RRH 0,625	20	0,55 (11) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,55 (11) i	11	1,12
	RRH 1,25	20	0,45 (09) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,55 (11) i	11	1,12
	RRH 2,5	20	0,10 (02) -	0,15 (03) i	0,00 (00) i	0,25 (05) -	5	0,51

^a Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

As frequências de mutações obtidas nos descendentes dos cruzamentos ST e HB tratados com três concentrações da fase acetato de etila obtida da raiz de *R. armata*, estão apresentados na Tabela 2. Verifica-se que as frequências de formações de clones variaram de $0,61$ a $0,81 \times 10^{-5}$, nos descendentes do cruzamento ST e de $1,22$ a $1,33 \times 10^{-5}$ no HB. Estes resultados não diferem estatisticamente do obtido nos respectivos controles, $0,61$ e $0,92$.

Tabela 2- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com o fase acetato de etila obtida da raiz de *R. armata* (RRA).

Cruzamento	Tratamento E Concentração (mg/mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr³</i>							
	CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
	RRA 0,62	20	0,25 (05) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,30 (06) -	6	0,61
	RRA 1,25	20	0,35 (07) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,40 (08) i	8	0,81
	RRA 2,5	20	0,40 (08) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,40 (00) i	8	0,81
HB	<i>mwh/flr³</i>							
	CN	20	0,35 (07)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,45 (09)	9	0,92
	RRA 0,625	20	0,50 (10) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,60 (12) i	12	1,22
	RRA 1,25	20	0,45 (09) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,55 (11) i	11	1,12
		20	0,55 (11) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,65 (13) i	13	1,33

RRA 2,5	20						
---------	----	--	--	--	--	--	--

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

A tabela 3 apresenta os resultados obtidos, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com três concentrações da fase acetato de etila obtido do caule de *R. armata*. Verifica-se que as frequências de formação de clones nos grupos tratados, variaram de 0,30 a 0,51, no ST e de 0,30 a 0,81; não diferem significativamente dos respectivos controles 0,61 no ST e 1,02 no HB.

Tabela 3- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com a fase acetato de etila obtida do caule de *R. armata* (RCA).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg;mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de Formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,30 (10)	6	0,61
	RCA 0,625	20	0,20 (04) i	0,00 (00) i	0,10 (02) i	0,20 (04) -	4	0,40
	RCA 1,25	20	0,10 (02) -	0,00 (00) i	0,20 (04) i	0,15 (03) -	3	0,30
	RCA 2,5	20	0,20 (04) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,25 (05) -	5	0,51
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,10 (02)	0,10 (02)	0,50 (10)	10	1,02
	RCA 0,625	20	0,30 (06) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,40 (08) -	8	0,81
	RCA 1,25	20	0,25 (05) i	0,20 (04) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9	0,92
	RCA 2,5	20	0,10 (02) -	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,15 (03) -	3	0,30

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

Ao analisar os resultados dos cruzamentos ST e HB (Tabela 4), tratados com diferentes concentrações da fase etanólico obtido do caule de *R. armata*, verifica-se, que as frequências de formação de clones variaram 0,71 a $1,02 \times 10^{-5}$ no ST e de 0,81 a $1,02 \times 10^{-5}$ no HB; não diferem estatisticamente dos respectivos controles.

Tabela 4- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com a fase etanólico obtido do caule de *R. armata* (RCH).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg/mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone 10^{-5} células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
	RCA 0,625	20	0,35 (07)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,35 (07)	7	0,71
	RCA 1,25	20	0,40 (08) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,50 (10) i	10	1,02
	RCA 2,5	20	0,25 (05) i	0,10 (02) i	0,05 (01) i	0,40 (08) i	8	0,81
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,35 (07)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,45 (09)	9	0,92
	RCA 0,625	20	0,30 (06)	0,05(01)	0,05 (01) i	0,40 (08)	8	0,81
	RCA 1,25	20	0,40 (08) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9	0,92
	RCA 2,5	20	0,50 (10) I	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,55 (11) i	11	1,02

^a Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

A tabela 5 apresenta os resultados da análise das frequências de formação de clones obtidas nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com diferentes concentrações da fase acetato de etila obtida das folhas de *R. armata*. Verifica-se que as frequências de formação de clones variam de 0,51 a 0,81 no ST e de 0,71 a 1,33 no HB, não diferem estatisticamente dos respectivos controles.

Tabela 5- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com a fase acetato de etila obtido das folhas de *R. armata* (RFA).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg;mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
	RFA 0,625	20	0,15 (03) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,25 (05) i	5	0,51
	RFA 1,25	20	0,35 (07) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,35 (07) i	7	0,71
	RFA 2,5	20	0,35 (07) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,40 (08) i	8	0,81
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,10 (02)	0,10 (02)	0,50 (10)	10	1,02
	RFA 0,625	20	0,55 (11) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,65 (13) i	13	1,33
	RFA 1,25	20	0,35 (07) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,45 (09) i	9	0,92
	RFA 2,5	20	0,35 (07) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,35 (07) -	7	0,71

^a Diagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

Analisando-se os dados obtidos com os tratamentos feitos a partir das fases hidrometanólica e acetato de etila, da raiz; fase etanólica e acetato de etila do caule e a fase acetato de etila das folhas de *R. armata*, nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, verifica-se que não apresentam atividade tóxica, pois o número de indivíduos resultantes no controle negativo, não difere do obtido nos grupos tratados. Este resultado está de acordo com o encontrado por Cunha (2014), quando os referidos extratos foram testados em seis linhagens celulares de adenocarcinoma humano: MCF-7 (ATCC-HTB-22, mama), 786,0 (ATCC-CRL-1932, rim), PC-3 (ATCC-CRL-1435, próstata), NCI/ADR-RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), HT-29 (ATCC HTB-38, cólon), HepG2 (ATCC HB-8065, hepatoma) e não apresentaram atividade citotóxica.

Na literatura há poucos relatos sobre a atividade biológica de *R. armata*, as folhas e raízes são utilizadas para o tratamento da gonorreia (DELPRETE; SMITH; KLEIN, 2005), a casca para combater o reumatismo (SINGH; RAGHUBANSHI; SINGH, 2002), para tratar doenças inflamatórias (CORRÊA, 1984b) e como cicatrizante (NOELLI, 1996).

Em estudos fitoquímicos realizados com as folhas de *R. armata*, verificou-se a presença de catequinas, esteróides, flavonas, taninos e xantonas, o extrato obtido das folhas apresentou atividade antioxidante (VIEIRA et al., 2005) e antimicrobiana contra a *Klebsiella pneumoniae* multirresistente (SOARES, 2006). A partir do caule, foram elucidadas estruturas químicas tais como monoterpenóides do tipo iridoide entre elas o geniposídeo, gardenosídeo e randinosídeo (HAMERSKI et al., 2003).

Os resultados obtidos com as fases de *R. armata*, indicam que não apresentam atividade genotóxica, pois a frequência de formação de clones por divisão celular, nos grupos tratados, não difere estatisticamente do obtido no controle negativo. Este trabalho é o primeiro que avalia a atividade genotóxica de plantas do gênero *Randia*, a não genotoxicidade das fases é relevante, considerando que várias partes da planta são utilizadas pela medicina popular.

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos nos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com diferentes concentrações da fase hidrometanólica do látex do *C. urucurana*,

verifica-se que a frequência de formação de clones obtida no controle negativo foi de 0,61, no ST enquanto que no HB foi de 1,02, os tratados com a fase hidrometanólico, apresentaram frequências de formação de clones, entre 0,20 e 0,71 no ST e de 0,51 e 0,71 no HB; verifica-se que as frequências de mutações encontradas nos grupos tratados não diferem estatisticamente das obtidas no controle negativo.

Tabela 6 Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com fase hidrometanólico obtido do látex *C.urucurana* (LC).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg; mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,00 (00)	0,00 (00)	0,30 (10)	6	0,61
	LC 0,625	20	0,20 (04) i	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,20 (04) i	4	0,40
	LC 1,25	20	0,05 (01) -	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,10 (02) -	2	0,20
	LC 2,5	20	0,30 (06) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,35 (07) i	7	0,71
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,10 (02)	0,10 (02)	0,50 (10)	10	1,02
	LC 0,625	20	0,20 (04) i	0,00 (00) i	0,15 (03) i	0,35 (07) -	7	0,71
	LC 1,25	20	0,20 (04) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,25 (05) -	5	0,51
	LC 2,5	20	0,15 (03) -	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,25 (05) -	5	0,51

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

Os resultados dos testes de genotoxicidade para os indivíduos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com diferentes concentrações da fase acetato de etila obtida do látex do *C. urucurana*, estão apresentados na Tabela 7. Verifica-se que a frequência de formação de clones obtida no controle negativo, no ST é de 0,61, enquanto que nos tratados variou de 0,40 a 0,92. No HB a frequência de formação de clones no controle foi de 1,02, enquanto que nos tratados variou de 0,40 a 0,81.

Tabela 7 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com fase acetato de etila obtido do latex *C. urucurana* (CUA).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mg; mL)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
			ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,00 (00)	0,00 (00)
	CUA 0,625	20	0,15 (03) -	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,25 (05) i	5	0,51
	CUA 1,25	20	0,40 (08) i	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9	0,92
	CUA 2,5	20	0,15 (03) -	0,05 (01) i	0,00 (00) i	0,20 (04) i	4	0,40
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,30 (06)	0,10 (02)	0,10 (02)	0,50 (10)	10	1,02
	CUA 0,625	20	0,15 (03) -	0,10 (02) i	0,05 (01) i	0,30 (06) -	6	0,61
	CUA 1,25	20	0,15 (03) -	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,20 (04) -	4	0,40
	CUA 2,5	20	0,40 (08) -	0,00 (00) i	0,00 (00) i	0,40 (08) -	8	0,81

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^bIncluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

Comparando-se os resultados obtidos no controle negativo nos cruzamentos ST e HB, (Tabelas 6 e 7) verifica-se que não houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos tratados com as fases hidrometanólico e acetato de etila obtidas do látex do *C. urucurana*, não apresentando atividade genotóxica. Este é o primeiro trabalho que avalia a atividade genotóxica do látex do *C. urucurana*. De acordo com Pieters (1993) os constituintes

desta planta são taninos, lignanas e o alcaloide tapsina conhecido pelas suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e citotóxica.

Na literatura são encontrados estudos sobre as atividades farmacológicas de plantas do gênero *Croton*, algumas possuem propriedades medicinais outras tóxicas. Oliveira (2008) avaliou as fases hexânica, etanólica, acetato de etila, diclorometano e clorofórmica obtidas do látex do *C. urucurana*, todas apresentaram atividade antibacteriana *in vitro*.

As folhas e raízes do *Croton heliotropiifolius* são utilizadas para o tratamento de reumatismo, febre, feridas, problemas estomacais entre outros (MACÊDO, 2013). O *Crotonlechleri* é utilizado como planta medicinal para tratar inflamações, feridas e úlceras estomacais (ZAVALLLOS-POLLITO e TOMAZELLO, 2007). O látex do *Croton lechleri*, apresentou atividade mutagênica no teste de Ames, com a linhagem TA 1535 de *Salmonella typhimurium*, com ativação metabólica (LOPES et al., 2004). O *crotoncrassifolius* é utilizado pela medicina popular para tratar câncer, é um potente inibidor da angiogênese, em *zebrafish* e não apresenta atividade citotóxica (HUANG et al., 2015)

O látex do *Croton palanostigma*, apresentou efeito genotóxico, clatogênico e aneugênico, em diferentes células de camundongo, nos ensaios Cometa e Micronúcleo (MAISTRO et al., 2013).

Os resultados obtidos na presente pesquisa indicam que nas concentrações avaliadas o látex do *C. urucurana*, não apresentou atividade genotóxica no ensaio SMART. Este resultado difere dos encontrados com outros sistemas testes para o látex obtido do *C. lechleri* e do *C. palanostigma*, este resultado pode ser atribuído as diferentes constituições químicas do látex das espécies estudadas. A não genotoxicidade dos extratos é relevante, considerando que os extratos de várias partes da planta são utilizados na medicina popular para os mais variados fins.

A tabela 8 apresenta as frequências de formações de clones observadas nos grupos tratados com a lactona, 3’O-acetil-rubrenolídeo, nas concentrações 0,5; 1,0 e 2,0 mM, nos descendentes do cruzamento ST, verifica-se que as frequências variaram de 0,40 a 0,61, não diferem estatisticamente do observado no controle negativo 0,61. No HB, as frequências de formações de clones variaram de 0,92 a 1,23 nos grupos tratados, enquanto o observado no controle negativo foi 0,92. Os resultados obtidos nos descendentes ST e HB tratados com três concentrações do 3’ O-acetil-rubrenolídeo são similares e não diferem estatisticamente dos resultados obtidos nos respectivos controles negativo, não apresentam atividade genotóxica.

Tabela 8- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com a lactona 3’ O-acetil-rubrenolídeo (AR).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mM)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
	AR 0,5	20	0,15 (03) i	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,25 (05) i	5	0,51
	AR 1,0	20	0,15 (03) i	0,05 (01) i	0,10 (02) i	0,30 (06) i	6	0,61
	AR 2,0	20	0,15 (03) i	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,20 (04) i	4	0,40
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,35 (07)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,45 (09)	9	0,92
	AR 0,5	20	0,30 (06) i	0,15 (03) i	0,00 (00) i	0,45 (09) i	9	0,92
	AR 1,0	20	0,45 (09) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,55 (11) i	11	1,02
	AR 2,0	20	0,50 (10) i	0,05 (01)	0,05 (01) i	0,60 (12) i	12	1,23

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würzler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

Analisando-se os resultados obtidos nos descendente dos cruzamentos ST e HB (Tabela 9), tratados com três concentrações da lactona rubrenolídeo (LR) verifica-se que as frequências de formações de clones nos grupos tratados variaram de 0,40 a 0,71 no ST e de 0,30 a 0,61 no HB, não diferindo estatisticamente do observado nos respectivos controles, 0,61 no ST e 0,92 no HB, estes resultados indicam que as respectivas lactonas não possuem atividade genotóxica.

Tabela 9- Frequências de manchas mutantes observadas em asas de *D. melanogaster* dos descendentes dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com a Lactona rubrenolídeo (LR).

Cruzamento	Tratamento e concentração (mM)	N. de Indiv. (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total Manchas <i>mwh</i> ^c (n)	Frequência de formação de clone /10 ⁻⁵ células por divisão
			MSP ^d (1-2 céls) ^b m = 2	MSG ^e (>2 céls) ^b m = 5	MG ^f m = 5	TM ^g m = 2		Observado
ST	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,20 (04)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,30 (06)	6	0,61
	LR 0,5	20	0,15 (03) i	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,20 (04) i	4	0,40
	LR 1,0	20	0,10 (02) i	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,20 (04) i	4	0,40
	LNR2,0	20	0,20 (04) i	0,05 (01) i	0,10 (02) i	0,35 (07) i	7	0,71
HB	<i>mwh/flr</i> ³ CN	20	0,35 (07)	0,10 (02)	0,00 (00)	0,45 (09)	9	0,92
	LR 0,5	20	0,20 (04) -	0,10 (02) i	0,00 (00) i	0,30 (06) -	6	0,61
	LR 1,0	20	0,15 (03) -	0,00 (00) i	0,05 (01) i	0,20 (04) -	4	0,40
	LR 2,0	20	0,05 (01) -	0,05 (01) i	0,05 (01) i	0,15 (03) -	3	0,30

^aDiagnóstico estatístico de acordo com Frei e Würigler (1988): +, positivo; -, negativo; i, inconclusivo. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância a = b = 0,05; ^b Incluindo manchas simples *flr*³ raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Manchas simples pequenas; ^e Manchas simples grandes; ^f Manchas gêmeas; (CN): Controle Negativo.

As lactonas 3' O-acetil-rubrenolídeo e rubrenolídeo, não apresentaram atividade tóxica, nas concentrações avaliadas, pois não ocorreu redução no número de indivíduos dos

grupos tratados quando comparado com o controle negativo. Também não apresentaram atividade genotóxica, pois a frequência de formação de clones observada nos grupos tratados, não difere da observada no controle negativo.

Na literatura há poucos relatos sobre a atividade biológica das lactonas de origem policetídica, especificamente 3' O-acetil-rubrenolídeo e rubrenolídeo, metabólitos secundários, obtidos da planta *Aniba heringerii* (Lauraceae). Em estudos realizados por Garcez et al (2013), as referidas lactonas apresentaram atividade larvicida, frente a larva do *A. aegypti*.

A isobutillactona A (lactona de origem policetídica) induziu efeito citotóxico e genotóxico em uma variedade de linhagens celulares, tais como Hep-2 (carcinoma de faringe humano), CHO-K1 (célula de ovário de hamster), HTC (hepatoma de rato) (GARCEZ et al., 2005) e P-388 (leucemia linfóide de camundongo) (TSAI et al., 2002).

As lactonas 3' O-acetil-rubrenolídeo e rubrenolídeo, não apresentaram atividade genotóxica nas concentrações avaliadas, no ensaio SMART, este resultado difere do encontrado para a isobutillactona A, no ensaio Cometa *in vitro* (GARCEZ et al., 2005). As diferenças observadas podem ser atribuídas a estrutura das moléculas em questão e o tipo de ensaio realizado.

Verifica-se que as lactonas de origem policetídica, são utilizadas para o tratamento de infecções respiratórias como a pneumonia, a bronquite crônica, sinusite aguda, otites e faringites. As referidas lactonas são agentes bacteriostáticos, que atuam pela ligação com o RNA ribossomal subunidade 50S, interferindo na elongação da cadeia peptídica, bloqueando a biossíntese das proteínas bacterianas, (NUSSBAUM et. al. 2006, OESTERHELT.; BRUNNER 2008).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com o protocolo de genotoxicidade, no ensaio SMART nos descendentes dos cruzamentos ST e HB indicam que:

As fases hidrometanólica e acetato de etila, da raiz; fase etanólica e acetato de etila do caule e a fase acetato de etila das folhas de *R. armata*, não apresentam atividade genotóxica,

As fases hidrometanólico e acetato de etila obtidas do látex do *C. urucurana*, não possuem atividade genotóxica.

As lactonas 3' O-acetil-rubrenolídeo e rubrenolídeo, não apresentam atividade genotóxica.

6. REFERÊNCIAS

ANDRIGHETTI-FRÖHMER, C. R. **Avaliação da citotoxicidade, da genotoxicidade e da potencial atividade antiviral da violaceína, produzida pela *Chromobacterium violaceum***. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, p.135.2003.

BOLZANI, V. S., YOUNG C. M., FURLAN, M., CAVALHEIRO, A. J., ARAÚJO, A. R., SILVA, D. H. S., LOPES, M. N. Secondary Metabolites from Brazilian Rubiaceae Plant Species: Chemotaxonomical and biological significance. **Recent Research Development in Phytochemistry**, v.5: p. 19-31. 2001

BORBA, A, M; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 771-782, 2006.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M.; MACIEL, M.V.; COSTA, C.T.; MACEDO, I.T.; OLIVEIRA, L.M.; BRAGA, R.R.; SILVA, R.A.; VIEIRA, L.S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippiasidoides* essential oils. **Veterinary parasitology**, n.148: p. 288-294, 2007.

COELHO, V. P. M., AGRA, M. F., BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. &Schltdl.) K.Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy** v.16 n.2: p.170-177. 2006.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. v. 4, p.765. 1984.

COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, p. 583-586, 2008.

CUNHA, M. C. **Atividade antiproliferativa de espécies vegetais do Pantanal Brasileiro campo**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, p.45. 2014.

DAL BÓ, S. **Avaliação da atividade antinociceptiva da subfração 63 (SF63) obtida a partir das casca da *Croton Celtidifolius* (Euphorbiaceae): estudo do mecanismo de**

ação.Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Santa Catarina, SC, 2004.

DE MELO, Joabe Gomes et al. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

DE SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. **Flora ilustrada catarinense: Rubiaceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, v. 2, p.842. 2005

GAMA, J. R. VASCONCELLOS et al. Fitossociologia de duas fitocenoses de floresta ombrófila aberta no município de Codó, Estado do Maranhão. 2007.

GARCEZ, F.R.; GARCEZ, W.S., MARTINS, M.; MATOS, M.F.; GUTERRES, Z.R., MANTOVANI, M.S.; MISU, C.K.; NAKASHITA, S.T., 2005. Cytotoxic and genotoxic butanolides and lignans from *Aioueatrinervis*. *Planta Med.* 71, p. 923–927. 2005.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L.M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quim**, v. 5, n.3, p.363-393. 2013.

GOVAERTS, R. et al. World checklist and bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae).2000.

GRAF, U.; VAN SCHAIK, N. Improved high bioactivation cross for the wing Somatic and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**, Nova York, v. 271, n. 1, p. 59-71. 1992.

GRAF, U.; WURGLER, F. E.; KATS, A. J.; FREI, H.; JUON, H.; HALL, C. B. E. e KALE, P. G. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**, Reston, v. 6, n. 1, p. 347-377, 1984.

GUZMÁN-RINCON, J e GRAF, U. *Drosophila melanogaster* Somatic Mutation and Recombination test as a biomonitoring. In: BUTTERWORTH, F. M.; CORKUM, C. D.; GUZMÁN-RINCON, J. **Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change**. Plenum, New York, p.169-181. 1995.

HAMERSKI, L.; FURLAN, M.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J. C.; EBERLIN, M.N.; TOMAZELA, D. M.; BOLZANI, V. S. Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, New York, v. 63, p. 397-400, 2003.

HELUANI, C.S., CATALAN, C.A.N., HERNÁNDEZ, L.R., TAPIA, E.B. & NATAN, P.J. Three new diterpenoids based on novel sarcopetalene skeleton from *Croton sarcopetalus*. *Journal of Natural Products*, 63: p. 222-225. 2000.

JUNIOR, Valdir F. Veiga; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

JÚNIOR, Sebastião F. Palmeira et al. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 397-402, 2006.

LOPES, M.I.L.; SAFFI, J.; ECHEVERRIGARAY, S.; HENRIQUES, J.A.P.; SALVADOR, M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. **Journal of Ethopharmacology**, v.95, p. 437-445, 2004.

LÓPEZ, PATRICIA VIOLETA ARAÚJO. Bioprospeção de extratos de *Croton urucurana* Baill e seus fungos endofíticos. 2010.

MABBERLEY, D. J. **The plant book: a portable dictionary of the higher plants**, Cambridge University Press. p. 699.1987.

MACÊDO. D. G. **Bioprospeção, disponibilidade e conservação de plantas medicinais em um enclave de cerrado na chamada do Araripe, Nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Bioprospeção Molecular) – Universidade Regional do Cariri – URCA, Cariri – NT, 2013.

MAISTRO, E. L.; GANTHOUS, G.; MACHADO, M, S.; ZERMIANI, T.; ANDRADE, S. F.; Pires, P. C. P.; PERAZZO. F. F.2013. Dragon's blood *Croton palanostigma* induces genotoxic effects in mice. **Journal of Ethopharmacology**, v. 147, p. 406-411, 2013.

MALLMANN, E. J. J.; VIEIRA, M. G. S.; RIBEIRO, S. P. L.; MELO, T. S.; SOUZA, G. MARTINS, Rodrigo Tomazini et al. Receptores opioides até o contexto atual. **Revista Dor, São**, 2012.

MARTINS, L.; V. A. Avaliação do potencial anticâncer de espécies vegetais de Mato Grosso do Sul. 2014.

NOELLI, F. S. Múltiplos usos de espécies vegetais pela farmacologia Guarani através de informações históricas. In: Simpósio de Etnobiologia e Etnoecologia, 1, 1996, Feira de Santana. Anais... Feira de Santana: DHI/CEM, p. 177-199. 1998.

NUSSBAUM. F.V.; BRANDS. M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HABICH, D. Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry—Exodus or Revival?. **Angew. Chem. Int. Ed**, v. 45, n. 31, p. 5072-5129, 2006.

OLIVEIRA IRIS S., JOAQUIM C. S. LIMA, REGILANE M. SILVA, DOMINGOS T. O. MARTINS. Triagem da atividade antibacteriana in vitro do látex e extratos de *Crotonurucurana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 18 n. 4: p.587-593, 2008.

OESTERHELT, H. B.; BRUNNER, Nina A.; How many modes of action should an antibiotic have?. **Current opinion in pharmacology**, v. 8, n. 5, p. 564-573, 2008.

PAULY, G.; FLEURY, M. Cosmetic containing plant extracts, FR, 6406720, 06 dez. 1999, 18 jun. 2002.

PIRES, M. M. Y.; SOUZA, L. A.; TERADA, Yoko. Biologia floral de *Croton urucurana* Baill.(Euphorbiaceae) ocorrente em vegetação ripária da ilha Porto Rico, Porto Rico, Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 209-215, 2004.

PIETERS, L: Isolation of dihydrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton sp*) as an inhibitor of cell proliferation. **Journal of Natural Products**, v. 56, p. 889-906. 1993.

SILVA, Dulce Helena Siqueira. **Constituintes Químicos de *Iryanthera sagotiana* e *Iryanthera lancifolia***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 1997.

SANTOS, S.M. B. P. Lactonas Sesquiterpénicas. **BOLETIM SPQ**, n. 36, p.1989.

SCHRIPSEMA J.; DAGNINO D.; GOSMANN G. Alcalóides indólicos. In: SIMÕES CMO, SCHENKEL EP. GOSMANN G, MELLO JCP, MENTZ LA, PETROVICK PR (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora da Universidade UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p.679-705.2003.

SINGH, A. K.; RAGHUBANSHI, A. S.; SINGH, J. S. Medical ethnobotany of the tribals of Sonaghati of Sonbhadra district, Uttar Pradesh, India. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 81, p. 31-41, 2002.

SOARES, K. P.; AMORIM, L. N.; NASCIMENTO, K. M.; LIMA-NETO, J. G.; MALLMANN, E. J. J.; VIEIRA, M. G. S.; RIBEIRO, S. P. L.; MELO, T. S.; SOUZA, G. C.; BARRETO, M. B.; BRASIL, N. V. G. P. S.; MENEZES, E. A.; CUNHA, F. A. Atividade de extratos de plantas do Nordeste do Brasil contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de betalactamase de espectro expandido. In: Congresso Brasileiro de Química, 46, 2006, Salvador. **Anais...**

STRUWE L. *Gentianales (Coffees, Dogbanes, Gentians and Milkweeds)*. **Encyclopedia of Lifesciences**, Macmillan publishers, Nature publishing group. 2002

TOFÓLI, D. **Busca de substâncias bioativas em Lauráceas de Mato Grosso do Sul; constituintes fixos e voláteis de *Aniba heringeriivattimo-gil* e *Mezilaurus crassiramea* (Meissner) TaubertexMez**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, 2013.

TSAI, I.L., HUNG, C.H., DUH, C.Y., CHEN, I.S., 2002. Cytotoxic butanolides and secobutanolides from the stem wood of *Formosan Lindera communis*. **Planta Med.** v. 68, p. 142–145. 2002.

HUANG, W.; WANG, J.; LIANG, Y.; GE, W. Guocai Wang, Yaolan Li, Hau Yin Chung. Potent anti-angiogenic component in *Croton crassifolius* and its mechanism of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 185-191, 2015.

VIEIRA, M. G. S.; MAGALHÃES, D. V.; MARTINS-NETO, J. S.; BRASIL, N. V.G. P. S. Estudo fitoquímico e atividade antioxidante dos extratos de *Randia armata*. In: **Reunião Annual SBPC**, p.57, 2005, Fortaleza. **Anais...**

XU, G. J., XU, L. S., WANG, Z. T. In: Species Systematization and Quality Evaluation of Commonly Used Chinese Traditional Drugs (South-China Edition), Fujian Science and Technology Press, Fuzhou, v.4, p. 658, 1997.

ZEEVALLOS-POLLITO, P.A.; TOMAZELLO FILHO, M. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociência**, v. 5, n. 2, p. 177-179, 2007.