

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

GUILHERME FAGUNDES DE MATTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Randia armata*
(RUBIACEAE) E DO FLAVONOIDE *miricitrina*.**

Mundo Novo – MS

Outubro/2016

GUILHERME FAGUNDES DE MATTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Randia armata*
(RUBIACEAE) E DO FLAVONOIDE *miricitrina*.**

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 Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Zaira da Rosa Guterres

Mundo Novo – MS

Outubro/2016

GUILHERME FAGUNDES DE MATTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Randia armata*
(RUBIACEAE) E DO FLAVONOIDE *miricitrina*.**

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 Licenciado em Ciências Biológicas.

APROVADO EM ____ de _____ de 2016

Prof^ª. Dra. Zaira da Rosa Guterres – Orientadora- UEMS _____

Prof^ª. Dra. Ana Francisca Gomes da Silva – UEMS _____

Prof^º. Dr. Carlos Alexandre Fernandes – UEMS _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pois sem ele nada disso seria possível.

Agradeço aos meus pais Anizia Ramalho de Oliveira Fagundes e Lourenço Fagundes de Mattos, por toda paciência que eles tiveram comigo e incentivo durante a minha graduação e principalmente nos momentos finais da minha graduação.

A minha irmã Viviane Fagundes de Mattos, que mesmo estando ausente de casa, sempre me motivou a continuar na graduação, e sempre me incentivou a fazer pesquisa.

A professora Zaira da Rosa Guterres, por ter aceitado me orientar e ter confiado e acreditado que eu seria capaz de realizar esse trabalho, pelo tempo que dedicou a me orientar e pelo conhecimento compartilhado.

A todos os meus colegas e amigos de Faculdade e fora dela que acreditaram em mim, e por acreditarem que eu seria capaz, e que me apoiaram durante esse caminho percorrido.

*“[...]Toda a nossa ciência,
comparada à realidade,
é primitiva e inocente;
e, portanto,
é o que temos de mais valioso.”*

(Albert Einstein)

RESUMO

Randia armata(Sw) DC.conhecida popularmente como “limoeiro do mato” pertencente à família Rubiaceae, foi selecionada para estudos da atividade antigenotóxica, em virtude de apresentar metabólitos secundários, alguns com estrutura inédita, os quais demonstraram relevante atividade biológica *in vitro*. A *miricitrina* é um flavonóide, que apresenta um bom efeito em modelos de drogas antipsicóticas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito antigenotóxico de extratos obtidos de *R. armata*, sendo avaliados o extrato etanólico e a fase acetato de etila, considerando-se que em estudos anteriores a atividade genotóxica foi avaliada e também avaliar a atividade genotóxica e antigenotóxica do flavonoide *miricitrina*. Para tanto foi utilizado o ensaio SMART em células somáticas de *Drosophila melanogaster* utilizando-se o cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação metabólica (HB). Em relação a *R. armata* os resultados obtidos nos descendentes do cruzamento ST indicam que os extratos etanólicos das folhas e do caule associados à DXR, reduziram significativamente as mutações ocasionadas por DXR. No cruzamento HB, verificou-se que os extratos das folhas quando associados à DXR, causaram efeito sinérgico, isto é potencializaram o efeito da DXR, enquanto que os extratos do caule reduziram os efeitos genotóxicos. Já a fase acetato de etila tanto do caule como da raiz não apresentaram resultados significativos estatisticamente, sendo que algumas concentrações foram consideradas tóxicas por terem induzido a morte dos indivíduos. Esses resultados sugerem que os extratos das folhas e do caule apresentam atividades diferentes, provavelmente devido aos diferentes metabólitos secundários encontrados. Já a diferença entre a fase acetato de etila e o extrato etanólico, pode estar relacionado aos diferentes metabólitos secundários isoladas em cada tipo de extrato (etanólico e fase acetato de etila). Estudos fitoquímicos estão em andamento para identificar os componentes majoritários de cada extrato. Os resultados observados com o flavonoide *miricitrina*, em relação a sua genotoxicidade, nas concentrações estudadas não diferiram estatisticamente do controle e em relação à avaliação do potencial antigenotóxico tanto para o cruzamento ST quanto para o HB o flavonoide apresentou redução do número de manchas mutantes, apresentando um efeito protetor.

Palavras-chave: Atividade sinérgica, *Drosophila melanogaster*, SMART, toxicidade.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Obtenção dos extratos	10
3.2 Teste SMART	11
3.3 Análise estatística	12
4. RESULTADOS	12
4.1 Avaliação antigenotóxica da <i>Randia armata</i>	12
4.1.1 Extrato etanolico	12
4.1.2 Fase acetato de etila.....	15
4.2 Avaliação genotóxica do flavonoide miricitrina	18
4.3 Avaliação antigenotóxica do flavonoide miricitrina	20
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas para tratar e curar diversas doenças, sendo essa uma prática observada facilmente em países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil que apresenta uma grande riqueza de plantas medicinais (PERON et al., 2008), com uma flora bastante diversificada em toda a sua extensão, sendo que essa vegetação apresenta diversas características cujos princípios ativos da maioria das plantas medicinais ainda são desconhecidos (VARANDA, 2006), porém mesmo na ausência de conhecimento dos princípios ativos dessas plantas, as mesmas, são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (VEIGA-JUNIOR et al., 2005).

Na flora brasileira encontram-se diversas famílias que são referidas como medicinais, dentre elas as famílias Apocynaceae, Combretaceae, Fabaceae, Rubiaceae entre outras (NETO; MORAIS, 2003), entretanto o conhecimento popular sobre plantas que são referidas como medicinais apesar de muito valioso pode ser muito perigoso, pois a utilização indevida de certas espécies para fins medicinais pode acarretar efeitos colaterais e até mesmo a morte do indivíduo (BOSCOLO; VALLE, 2008).

A família Rubiaceae possui 9 000 espécies distribuídas em 550 gêneros, sendo seus principais gêneros *Psychotria*, *Galium*, *Ixora*, *Pavetta*, *Hedyotis*, *Tarenna*, *Randia*, *Gardenia*, *Palicourea*, *Mussaenda*, *Borreria* e *Rondeletia* (JUDD et al., 2009). Essa família possui grande importância econômica, possuindo espécies que são exploradas como alimentícias, ornamentais e farmacêutica, entretanto também possui espécies que são referidas como medicinais e/ou tóxicas e algumas que são consideradas venenosas (COELHO et al., 2006).

A família Rubiaceae possui diversas espécies que são referidas como medicinais, dentre elas temos a espécie *Chiococca alba* que apresenta as atividades antitumoral e analgésica (GAZDA, 2004), *Posoqueria acutifolia* que apresenta potencial anti-inflamatório e analgésico (SOUZA et al., 2007) e *Guettarda pophliana* que apresenta potencial anti-inflamatório (TESTA et al., 2012).

Neste estudo foi utilizada a espécie *Randia armata*, planta essa pertencente à família Rubiaceae, sendo conhecida popularmente como “limoeiro do mato”. O gênero *Randia* apresenta de 250 espécies (JUDD et al., 2009), porém esse gênero é pouco referido na literatura em estudos voltados para a farmacologia. Sendo que para a espécie *R. armata* foi verificado sua eficácia sobre o parasita *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (SANTOS et al., 2013) e em relação ao gênero Gallardo-Casas (2012) afirma que a espécie *Randia aculeata* atua no combate contra picadas de serpentes inibindo a necrose do tecido muscular, mesmo que parcialmente, além de evitar a diminuição dos níveis de plaquetas.

As plantas durante o seu metabolismo podem produzir diversas substâncias químicas (BOSCOLO; VALLE, 2008), sendo assim, o metabolismo das plantas pode ser dividido em metabolismo primário e metabolismo secundário. O metabolismo secundário da planta é responsável por produzir substâncias que apresentem atividade biológica com o objetivo de proteger a planta, sendo que essas substâncias podem ser divididas em três famílias de moléculas principais, que são os compostos fenólicos, terpênicos e esteroides, e os alcaloides (FUMAGALI et al., 2008).

Os compostos fenólicos são aqueles que possuem estruturas variáveis, dentre os compostos fenólicos pode-se destacar os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, curaminas, entre outros (SHAHIDI; NACZK, 1995 apud ANGELO; JORGE, 2007).

Os flavonoides são substâncias de origem natural, que podem ser encontrados dentro de uma dieta humana regular, estando presentes em vegetais, legumes, frutas entre outros produtos (LOPES et al. 2000), podendo ser subdivididos em classes, sendo algumas delas a classe das flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanas, chalconas, isoflavonas entre outras (BRAVO, 1998), sendo que são conhecidos cerca de 4.200 tipos diferentes de flavonoides.

Diversos ensaios “*in vivo*” como “*in vitro*” comprovam e determinam as atividades biológicas dos flavonoides, bem como, capacidade antioxidativa, atividade anti-inflamatória, efeito vasodilatador, ação antialérgicas, entre outras (LOPES et al. 2000)

Além de possuírem atividades de interesse farmacológico, também existe um interesse econômico pelos flavonoides, pelo fato de que alguns flavonoides apresentam cor, podendo assim ser utilizados como pigmentos, importantes no processo de tanagem de couro, e podendo também conferir cor e valor nutricional para alguns alimentos (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

A miricitrina (Fig 1) é um flavonoide pertencente a classe dos flavonóis (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004), podendo ser encontrado em *Manilkara zapota* (MA et al., 2003), e em folhas de *Eugenia uniflora* (SCHMEDA-HIRSCHMANN, 1995 apud AURICCHIO, 2003). Esse flavonoide apresenta um bom efeito nos modelos de drogas antipsicóticas, não induzindo agudamente efeitos extrapiramidais, sendo considerado um bom alvo farmacológico, podendo ser usado para o tratamento de doenças que apresentam psicose (PEREIRA, 2011).

Como não há dados na literatura especializada sobre os efeitos antígeno-tóxicos para extratos obtidos de *Randia armata* e do potencial genotóxico e ou antígeno-tóxico do flavonoide miricitrina, portanto, justifica-se avaliar esses efeitos e encontrar nos resultados dos testes laboratoriais evidências que comprovem ou refutem sua eficácia conforme preconizado pelo uso popular.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos antígenotóxico de extratos obtidos de caule e folha de *Randia armata* e os efeitos genotóxico e antígenotóxico do flavonoide miricitrina por meio do ensaio SMART em células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

2.2 Objetivos específicos

- Relacionar a concentração utilizada do extrato bruto e da fase acetato com os efeitos antígenotóxicos.
- Comparar o efeito genotóxico da miricitrina em diferentes concentrações.
- Evidenciar o potencial antígenotóxico da miricitrina com a diminuição da frequência de manchas mutantes observadas no teste SMART.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos extratos

O extrato etanólico (caule e folhas) e a fase acetato de etila (caule e folhas), ambos de *Randia armata* (Figura 1), foram preparados e fornecidos pela Aymee Portela. O flavonoid emiricitrina (Figura 2) foi isolada por Patrick da Silva Mirowski, ambos são Doutorandos em Química (Ênfase em Produtos Naturais), no Laboratório de Pesquisa 1 (LP1) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande - MS, Brasil.



Figura 1. *Randia armata* (PAULUS, 2005).

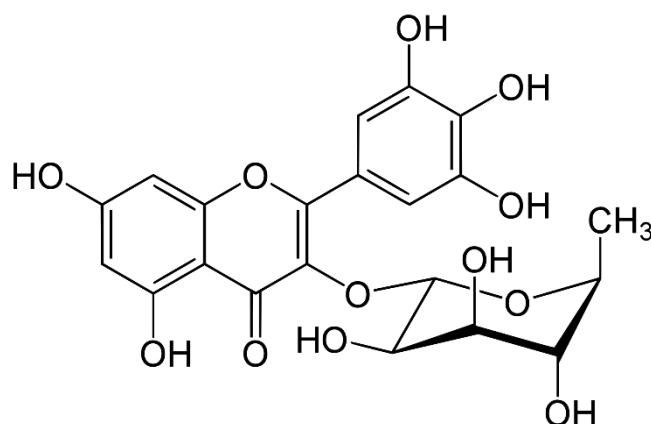


Figura 2. Estrutura do flavonoide miricitrina.

3.2 Teste SMART

O SMART foi realizado por meio de cruzamentos experimentais entre as linhagens (*mwh*, *flr³* e *ORR*) de *D. melanogaster*, com estas linhagens foram realizados dois diferentes cruzamentos: 1] cruzamento padrão (ST – *standard cross*) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens “*flr³*” (GRAF *et al.*, 1984); 2] cruzamento de alta bioativação (HB – *high bioactivationcross*) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens “*ORR; flr³*” (GRAF; VAN SCHAİK, 1992). Ovos dos dois cruzamentos foram coletados por 8 horas em frasco contendo base de ágar-ágar coberta com uma camada de fermento biológico suplementado com açúcar. Larvas de terceiro estágio de desenvolvimento 72 ± 4 h foram lavadas com água corrente, coletadas e transferidas para frascos de vidros contendo 1,5g de meio de cultura e tratadas secundo dois protocolos (Genotoxicidade e Antigenotoxicidade).

1. Genotoxicidade - o flavonoide miricitrina foi avaliado nas concentrações $0,5 \cdot 10^{-2}$, $1,0 \cdot 10^{-2}$ e $2,0 \cdot 10^{-2}$ mM.

2. Antigenotoxicidade, em experimentos independentes o flavonoide miricitrina e o extrato e fase obtidos de *Randia armata*, foram associados ao cloridrato de doxorrubicina. O cloridrato de doxorrubicina (DXR), na concentração de 0,125 mg/mL, foi utilizado como controle positivo, e como controle negativo – solvente (água Milli-Q, 1% de Tween-80 e 3% etanol), sendo que para o flavonoide miricitrina foram avaliadas as concentrações de $0,25 \cdot 10^{-2}$, $0,5 \cdot 10^{-2}$ e $1,0 \cdot 10^{-2}$ mM, enquanto que para o extrato etanólico e a fase acetato de etila de *R. armata* foram avaliadas as concentrações 0,62, 1,25 e 2,3 mg/mL. Adultos emergentes portadores dos dois tipos de genótipos: *mwh + / + flr³* ou *mwh + / + TM3, Bd^s*, foram coletados e fixados em etanol 70%, posteriormente as asas foram montadas entre lâminas e lamínulas e analisadas, quanto á ocorrência de diferentes tipos de manchas mutantes, em microscópios ópticos.

3.3 Análise estatística

Os resultados observados do extrato etanólico e fase acetato de etila de *R. armata* e os observados do flavonoide miricitrina foram avaliados estatisticamente por meio do teste Binomial Condicional (KASTEMBAUN; BOWMAN,1970), com nível de significância $\alpha=\beta=0,05$. As frequências de cada tipo de mancha mutante por mosca foram comparadas com os respectivos controles negativos, possibilitando a caracterização dos resultados como positivos, fraco-positivos, negativos ou inconclusivos (FREI; WÜRGLER, 1988). Na aplicação prática do método de decisão, além da hipótese nula, elabora-se uma hipótese alternativa específica, que requer uma frequência de mutação m vezes maior no tratado, do que a obtida no controle negativo.

A hipótese nula postula que não há diferença na frequência de mutações entre o controle negativo e o indivíduo tratado, enquanto que a hipótese alternativa postula *a priori*, que os resultados no tratamento têm um aumento nas frequências de mutações que é m vezes maior que a frequência espontânea observada no controle. Além disso, podem acontecer casos em que ambas as hipóteses deverão ser rejeitadas. Isto significa que o tratamento induziu uma resposta genotóxica fraca, com uma frequência de danos que é significativamente menor que m vezes a frequência obtida no controle negativo (FREI e WÜRGLER, 1995).

Em relação ao protocolo de genotoxicidade, para a substância ser considerada tóxica o número total de manchas mwh^c nas concentrações estudadas tem que ser igual a $2 \times CN + 1$. Já em relação ao protocolo de antigenotoxicidade, considera-se uma substância com efeito protetor, aquela concentração que reduzir o número total de manchas acima de 30% quando a mesma for comparada com o controle positivo.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação antigenotóxica da *Randia armata*.

4.1.1 Extrato etanólico

A tabela 1 apresenta as frequências de manchas mutantes por indivíduos, obtidas das análises dos descendentes do cruzamento padrão (ST) e do cruzamento de alta bioativação (HB), tratados com o extrato etanólico obtidos da folha de *R. armata* associado com doxorrubicina.

Em relação ao cruzamento ST pode – se verificar que no controle negativo a frequência de manchas por indivíduo foi de 0,45 enquanto que no controle positivo (DXR) foi de 11,05. Verificando – se que os tratamentos com os extratos associados à doxorrubicina, a concentração de 0,62 mg/mL apresentou o valor de 5,45 em relação a frequência do número

de manchas, ou seja, valor menor quando comparado com o controle positivo que foi de 11,05, apresentando redução do número de manchas de 54,37%. Já na concentração de 1,25 mg/mL do mesmo cruzamento, a frequência de manchas foi de 5,20, valor esse inferior se comparado com a concentração de 0,62 mg/mL, sendo que a redução do número de manchas nesta concentração foi de 55,29%, enquanto que a concentração de 2,5 mg/mL apresentou a frequência de manchas de 7,55 valor esse superior quando comparado as concentrações de 0,62 e 1,25 mg/mL, porém ainda inferior ao encontrado no controle positivo, apresentando redução de 31,33% em relação ao número total de manchas.

O cruzamento HB apresentou o valor de 0,60 em relação à frequência de manchas no controle negativo, enquanto que o controle positivo apresentou frequência de 7,45. Quando observado os tratamentos, também associados à doxorrubicina, a concentração de 0,62 mg/mL apresentou uma frequência de manchas de 11,90, valor esse superior ao controle positivo que foi de 7,45 apresentando portanto indução de mutação de -57,14%. Já a concentração de 1,25 mg/mL ocasionou uma frequência de manchas de 13,60, sendo que apresentou a indução de mutação de -81,63%, enquanto que a concentração de 2,5 mg/mL a frequência de manchas foi de 9,05, valor esse inferior quando comparado as frequências encontradas nas concentrações de 0,62 e 1,25 mg/mL, porém esse valor ainda é superior ao do controle positivo e portanto, essa concentração também apresentou indução do número total de manchas, que foi de -34%.

Tabela 1. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com extrato etanólico de folhas de *R.armata* (EF) associado à doxorrubicina.

Genótipos e Conc. (mg/mL)	N. de ind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total manc hasm wh ^c	R↓ I↑ %
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2		
<i>mwh/flar</i> ³							
ST							
C.N.	20	0,35 (07)	0,00 (00)	0,10 (02)	0,45 (09)	09	
DXR	20	4,85 (97) +	3,05 (61) +	3,15 (63) +	11,05 (221) +	217	
EF 0,62+DXR	20	1,40 (28) +	1,70 (34) +	2,35 (47) -	5,45 (109) +	99	54,37↓
EF 1,25+DXR	20	1,95 (39) +	1,60 (32) +	1,65 (33) +	5,20 (104) +	97	55,29↓
EF 2,5+DXR	20	3,70 (74) f+	1,75 (35) +	2,10 (42) +	7,55 (151) f+	146	31,33↓
HB							
C.N.	20	0,55 (11)	0,00 (00)	0,05 (01)	0,60 (12)	12	
DXR	20	2,65 (53) +	3,10 (62) +	1,70 (34) +	7,45 (149) +	147	
EF 0,62+DXR	20	5,20 (104) +	3,65 (73) -	3,05 (61) +	11,90 (238) f+	231	-57,14↑
EF 1,25+DXR	20	6,50 (130) +	4,10 (82) -	3,00 (60) +	13,60 (272) +	267	-81,63↑
EF 2,5+DXR	20	3,90 (78) +	2,70 (54) -	2,45 (49) i	9,05 (181) f+	181	-34↑

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; % R (↓): porcentagem de redução; % I (↑): porcentagem de indução.

A tabela 2 apresenta a proporção do número de manchas mutantes por indivíduos, obtidos através das análises dos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados como extrato etanólico obtido a partir do caule de *R. armata* associado à doxorrubicina. Em relação ao cruzamento ST, podemos observar que a frequência do número de manchas do controle negativo foi de 0,45 enquanto que no controle positivo foi de 11,05.

Ainda em relação ao cruzamento ST, podemos verificar que a concentração de 0,62 mg/mL desse extrato apresentou uma frequência de manchas de 2,45, valor esse muito inferior quando comparado com o controle positivo que foi de 11,05, portanto essa concentração apresentou redução de 78,80% do número de manchas. Em relação a concentração de 1,25 mg/mL a frequência foi de 4,35, apresentando redução de 62,67% do número de manchas, enquanto que a concentração de 2,5 o valor foi de 5,10 em relação a frequência de manchas, reduzindo 58,52% do número total de manchas em relação ao controle positivo.

Observando-se o cruzamento HB, podemos verificar que a frequência de manchas do controle negativo foi de 0,60 enquanto que o controle positivo foi de 7,45. Já em relação à concentração de 0,62 mg/mL a frequência de manchas foi de 3,30, valor esse inferior quando

comparado com o valor de 7,45 do controle positivo, sendo que apresentou redução de 59,18% do número total de manchas, em relação ao controle positivo, enquanto que a concentração de 1,25 mg/mL apresentou a frequência de 4,75, valor esse superior ao encontrado na concentração de 0,62 mg/mL, reduzindo 38,09% do número de manchas mutantes.

Em relação à concentração de 2,5 mg/mL a frequência de manchas foi de 7,10 valor esse muito próximo ao do controle positivo que foi de 7,45, sendo que devido a esse valor muito próximo a redução do número de manchas não apresentou valor estatisticamente significativo.

Tabela 2. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com extrato etanólico do caule de *Randia armata* (EC) associado à doxorubicina.

Genótipos e Conc. (mg/mL)	N. de ind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total mancha smwh ^c	R↓ I↑ %
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2		
<i>mwh/flar</i> ³							
ST							
C.N	20	0,35 (07)	0,00 (00)	0,10 (02)	0,45 (09)	09	
DXR	20	4,85 (97) +	3,05 (61) +	3,15 (63) +	11,05 (221) +	217	
EC 0,62+DXR	20	0,95 (19) +	0,65 (13) +	0,85 (17) +	2,45 (49) +	46	78,80↓
EC 1,25+DXR	20	1,10 (22) +	1,35 (27) +	1,40 (28) +	4,35 (87) +	81	62,67↓
EC 2,5+DXR	20	1,50 (30) +	2,15 (43) +	1,45 (29) +	5,10 (102) +	90	58,52↓
HB							
C.N	20	0,55 (11)	0,00 (00)	0,05 (01)	0,60 (12)	12	
DXR	20	2,65 (53) +	3,10 (62) +	1,70 (34) +	7,45 (149) +	147	
EC 0,62+DXR	20	1,35 (27) +	0,95 (19) +	1,00 (20) +	3,30 (66) +	66	59,18↓
EC 1,25+DXR	20	1,50 (30) +	1,25 (25) +	2,00 (40) -	4,75 (95) f+	91	38,09↓
EC 2,5+DXR	20	2,70 (54) -	1,65 (33) +	2,75 (55) +	7,10 (142) -	140	-

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; % R (↓): porcentagem de redução; % I (↑): porcentagem de indução.

4.1.2 Fase acetato de etila

A tabela 3 apresenta as frequências de manchas mutantes por indivíduos, obtidas das análises dos descendentes dos cruzamentos ST e HB, tratados com a fase acetato de etila, que foram obtidos das folhas de *R. armata* associados a DXR.

No cruzamento ST podemos observar que a frequência de manchas mutantes por indivíduo no controle negativo foi de 0,60 enquanto que no controle positivo a frequência foi 13,20. Já nas concentrações, a menor delas 0,62 mg/mL, apresentou frequência de 12,20,

valor esse inferior quando comparado com o controle positivo, apresentando redução de 8,23% do número de manchas mutantes quando comparado com o controle positivo. Na concentração 1,25 mg/mL a frequência de manchas foi de 13,70, valor esse superior ao do controle positivo, apresentando indução no número de manchas mutantes de -4,31%. Enquanto que a concentração de 2,5 mg/mL apresentou frequência de 10,45, valor esse inferior ao controle positivo que foi de 13,20 e também a menor frequência encontrada entre as concentrações, para o cruzamento ST, entretanto apresentou redução de apenas 21,56% em relação ao número de manchas mutantes, quando comparado com o controle positivo, não sendo considerado significativo.

Em relação ao cruzamento HB o controle positivo apresentou frequência de manchas mutantes de 12,45, sendo que a menor concentração, 0,62 mg/mL a frequência foi de 9,80 valor esse inferior ao do controle positivo apresentando redução de 26,10% do número de manchas mutantes, quando comparado com o controle positivo, entretanto esse valor não é significativo.

A concentração de 1,25 mg/mL foi considerada tóxica pois induziu a morte dos indivíduos, sendo que foi possível a análise de apenas 3 que sobreviveram, devido a isso as proporções encontradas nessa concentração foram inconclusivas, não devendo ser levadas em consideração. A concentração de 2,5 mg/mL também induziu a morte dos indivíduos, sendo possível a análise de apenas 10, mesmo assim a proporção do número de manchas mutantes obtidos nessa concentração foi de 11,90 valor esse muito próximo ao do controle positivo que foi de 12,45, entretanto as frequências obtidas nessa concentração também não podem ser levadas em consideração.

Tabela 3. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com fase acetato de etila obtidos da folha de *R.armata*(FF) associado à doxorrubicina.

Genótipos e Conc. (mg/mL)	N. de ind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total mancha smwh ^c	R↓ I↑ %
		MSP (1-2 céls) ^b m = 2	MSG (>2 céls) ^b m = 5	MG m = 5	TM m = 2		
<i>mwh/flar</i> ³							
ST							
C.N.	20	0,45 (09)	0,15 (03)	0,05 (01)	0,60 (13)	12	
DXR	20	1,95 (39) +	4,55 (91) +	6,70(134) +	13,20 (264) +	255	
FF 0,62+DXR	20	2,85 (57) +	3,90 (78) -	5,45 (109) -	12,20(244) -	234	8,23↓
FF 1,25+DXR	20	3,50 (70) +	4,45 (89) -	5,75(115) -	13,70 (274) -	266	- 4,31↑
FF 2,5+DXR	20	1,80 (36) -	4,70 (94) -	3,95 (79) +	10,45(209) f+	200	21,56↓
HB							
C.N.	20	0,60 (12)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,65 (13)	13	
DXR	20	1,25 (25) +	5,60(112) +	5,60(112) +	12,45 (249) +	249	
FF 0,62+DXR	20	1,50 (30) -	4,45 (89) -	3,85(77) f+	9,80 (196) f+	184	26,10↓
FF 1,25+DXR	03	1,33 (04) i	2,67 (08) +	3,33 (10) i	7,33 (22) +	22	-
FF 2,5+DXR	10	2,50 (25) +	4,40 (44) -	5,00 (50) -	11,90 (119) -	112	-

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; % R (↓): porcentagem de redução; % I (↑): porcentagem de indução.

A tabela 4 apresenta os resultados obtidos a partir das análises dos descendentes obtidos dos cruzamentos ST e HB que foram tratados com a fase acetato de etila obtidos do caule de *R. armata* associados à DXR.

No cruzamento ST podemos observar que a frequência de manchas mutantes para o controle positivo foi de 13,20, já para a concentração de 0,62 mg/mL foi de 18,90, valor esse superior ao controle positivo, sendo assim essa concentração induziu o aumento de manchas mutantes em - 36,86%, quando associado à DXR. Já em relação à concentração de 1,25 mg/mL de mesmo cruzamento não foi possível a análise dos indivíduos, pois a mesma foi 100% letal, em relação a concentração de 2,5 mg/mL durante a realização dos experimentos que as larvas de *D. melanogaster* quando entraram em contato com a substância em tal concentração migraram para a parede do frasco, ou seja não se alimentaram da substância, devido a esse fator tal concentração não foi levada em consideração, podendo esse fator estar relacionado com a presença de alguma substância tóxica.

Em relação ao cruzamento HB a frequência de manchas mutantes no controle positivo foi de 12,45, para a menor concentração 0,62 mg/mL a frequência foi de 14,83 valor esse superior ao encontrado no controle positivo, entretanto esses valores não podem ser levados

em consideração pois essa proporção foi obtida a partir da análise de apenas 6 indivíduos, ou seja, essa concentração induziu a morte dos indivíduos, sendo assim considerada tóxica. Em relação as concentrações de 1,25 mg/mL foi novamente 100% letal, enquanto que para a concentração de 2,5 mg/mL as larvas também não se alimentaram com a substância a ser testada.

Tabela 4. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com fase acetato de etila obtidos do caule de *R.armata*(FC) associado à doxorubicina.

Genótipos e Conc. (mg/mL)	N. de ind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total mancha smwh ^c	R↓ I↑ %
		MSP (1-2 céls) ^b <i>m</i> = 2	MSG (>2 céls) ^b <i>m</i> = 5	MG <i>m</i> = 5	TM <i>m</i> = 2		
<i>mwh/flar</i> ³							
ST							
C.N.	20	0,45 (09)	0,15 (03)	0,05 (01)	0,60 (13)	12	
DXR	20	1,95 (39) +	4,55 (91) +	6,70(134) +	13,20 (264) +	255	
FC 0,62+DXR	20	2,55(51) -	6,75(135)f+	9,70(194)f+	18,90(379) f+	349	-36,86↑
FC 1,25+DXR	00	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	-	-
FC 2,5+DXR	00	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	-	-
HB							
C.N.	20	0,60 (12)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,65 (13)	13	
DXR	20	1,25 (25) +	5,60(112) +	5,60(112) +	12,45 (249) +	249	
FC 0,62+DXR	06	1,50 (09) -	6,33 (38) -	6,83(41) -	14,83 (89) -	83	-
FC 1,25+DXR	00	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	-	-
FC 2,5+DXR	00	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	00 (00) i	-	-

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; % R (↓): porcentagem de redução; % I (↑): porcentagem de indução.

4.2 Avaliação genotóxica do flavonoide miricitrina

A tabela 5 apresenta os resultados obtidos a partir das análises dos descendentes obtidos dos cruzamentos ST e HB que foram tratados com o flavonoide miricitrina, não estando associado com a doxorubicina, portanto são concentrações não tóxicas.

Para o protocolo de genotoxicidade os resultados obtidos são comparados com o controle negativo, que para o cruzamento ST apresentou 0,45 de frequência de manchas mutantes e o HB foi de 0,60. Em relação ao cruzamento ST a menor concentração 0,5 .10⁻²mM ocasionou uma frequência de manchas mutantes igual a 0,65, enquanto que a concentração de 1,0 .10⁻²mM foi de 0,60 e a concentração de 2,0 .10⁻²mM apresentou frequência de 0,70, ou seja, para esse cruzamento todas as concentrações apresentaram

proporção de manchas mutantes superiores ao controle negativo. Entretanto pode-se afirmar que nenhuma das concentrações avaliadas, para esse cruzamento, é genotóxica, pois os resultados obtidos em cada concentração não diferem estatisticamente do controle.

Em relação ao cruzamento HB a menor concentração, $0,5 \cdot 10^{-2}$ mM, apresentou frequência de 0,60 de manchas mutantes, valor esse igual ao do controle negativo, já a concentração $1,0 \cdot 10^{-2}$ mM apresentou frequência de 0,55, valor inferior quando comparado com o controle negativo, para a maior concentração a de $2,0 \cdot 10^{-2}$ mM a frequência de manchas mutantes foi de 0,70, porém esses valores não diferem estatisticamente do controle.

Apesar de em ambos os cruzamentos as concentrações estudadas apresentarem frequências de manchas mutantes maiores ou iguais às encontradas no controle negativo, o número total de manchas *mwh*^c de cada concentração, não diferem estatisticamente do controle negativo. Portanto esses resultados sugerem que nas concentrações avaliadas este flavonoide não apresenta potencial genotóxico.

Tabela 5. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com Miricitrina (Mir).

Genótipos e Conc. (mM)	N. deind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c
		MSP (1-2 céls) ^b <i>m</i> = 2	MSG (>2 céls) ^b <i>m</i> = 5	MG <i>m</i> = 5	TM <i>m</i> = 2	
<i>mwh/flar</i> ³						
ST						
C.N.	20	0,40 (08)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,45 (09)	09
Mir [0,5 10 ⁻²]	20	0,60 (12)+	0,05 (01)+	0,00(00)+	0,65 (13)+	13
Mir [1,0 10 ⁻²]	20	0,55 (11)+	0,00 (00)+	0,05(01)+	0,60 (12)+	12
Mir [2,0 10 ⁻²]	20	0,60 (12)+	0,05 (01)+	0,05(01)+	0,70 (14)+	14
HB						
C.N.	20	0,45 (09)	0,10 (02)	0,05 (01)	0,60 (12)	12
Mir [0,5 10 ⁻²]	20	0,55 (11)+	0,05 (01)+	0,00(00)+	0,60 (12)+	12
Mir [1,0 10 ⁻²]	20	0,50 (10)+	0,05 (01)+	0,00(00)+	0,55 (11)+	11
Mir [2,0 10 ⁻²]	20	0,60 (12)+	0,10 (02)+	0,00(00)+	0,70 (14)+	12

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas;

4.3 Avaliação antígeno-tóxica do flavonoide miricitrina

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos a partir das análises dos cruzamentos ST e HB tratados com o flavonoide miricitrina associado à doxorubicina, sendo que a frequência de manchas mutantes no cruzamento ST foi de 9,20 e a frequência do HB foi de 8,70, em seus respectivos controle positivo.

No cruzamento ST os indivíduos tratado com $0,25 \cdot 10^{-2}$ mM de miricitrina associado à doxorubicina, a frequência de manchas mutantes foi de 3,80 valor esse inferior quando comparado com o controle positivo que foi de 9,20 sendo que nessa concentração ocorreu redução de 58,79% do número de manchas mutantes quando comparado com o controle positivo.

Já a concentração de $0,5 \cdot 10^{-2}$ mM apresentou frequência de 1,70 em relação ao número de manchas mutantes, sendo que essa concentração quando comparado ao controle positivo apresentou redução de 81,31% do número de manchas mutantes. Enquanto que a maior concentração a de $1,0 \cdot 10^{-2}$ mM apresentou uma frequência intermediária, quando comparado com as três concentrações avaliadas, 2,30 em relação ao número de manchas mutantes, sendo que a mesma apresentou redução de 76,37%.

Em relação ao cruzamento HB, a maior concentração $1,0 \cdot 10^{-2}$ mM foi a que apresentou menor frequência de manchas mutantes sendo 2,60 sendo inferior ao controle positivo que foi de 8,70, sendo que a mesma apresentou redução do número de manchas de 69,59%, portanto essa concentração foi a que apresentou maior efeito antígeno-tóxico no cruzamento de alta bioativação, seguido pela concentração $0,5 \cdot 10^{-2}$ mM que apresentou frequência de 4,05 em relação a proporção do número de manchas mutantes, reduzindo 52,63%. A menor concentração $0,25 \cdot 10^{-2}$ mM foi a que apresentou menor atividade antígeno-tóxica, apresentando 4,60 em relação a frequência de manchas mutantes, reduzindo 46,19% das mutações quando comparado com o controle positivo.

Tabela 6. Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes de *D. melanogaster* dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB) tratados com Miricitrina (Mir) associado à DXR.

Genótipos e Conc. (mM)	N. de ind (N)	Manchas por indivíduo (nº. de manchas) diag.estatístico ^a				Total mancha smwh ^c	R↓ I↑ %
		MSP (1-2 céls) ^b <i>m</i> = 2	MSG (>2 céls) ^b <i>m</i> = 5	MG <i>m</i> = 5	TM <i>m</i> = 2		
<i>mwh/flar</i> ³							
ST							
C.N.	20	0,40 (08)	0,05 (01)	0,00 (00)	0,45 (09)	09	
DXR [0.2]	20	2,40 (48) +	3,60 (72) +	3,20 (64) +	9,20 (184) +	182	
Mir [0.25] +DXR	20	1,15 (23) +	0,60 (12) +	1,05 (21) +	3,80 (76) +	75	58,79↓
Mir [0.5] + DXR	20	1,80 (18) +	0,55 (11) +	0,25 (05) +	1,70 (34) +	34	81,31↓
Mir [1.0] + DXR	20	1,80 (18) +	0,70 (14) +	0,70 (14) +	2,30 (46) +	45	76,37↓
HB							
C.N.	20	0,45 (09)	0,10 (02)	0,05 (01)	0,60 (12)	12	
DXR [0.2]	20	2,65 (53) +	3,35 (67) +	2,70 (54) +	8,70 (174) +	171	
Mir [0.25] +DXR	20	1,20 (24) +	2,05 (41) +	1,35 (27) +	4,60 (92) +	92	46,19↓
Mir [0.5] + DXR	20	0,95 (19) +	1,70 (34) +	1,40 (28) +	4,05 (81) +	81	52,63↓
Mir [1.0] + DXR	20	0,90 (18) +	1,00 (20) +	0,70 (14) +	2,60 (52) +	52	69,59↓

^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 $\alpha = \beta = 0,05$;

^bIncluindo manchas simples *flr*³raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; % R (↓): porcentagem de redução; % I (↑): porcentagem de indução.

5. DISCUSSÃO

Se compararmos as tabelas 1 e 2 em relação ao cruzamento ST, podemos verificar que os extratos etanólicos obtidos a partir do caule de *R. armata* tiveram uma maior atividade antigenotóxica reduzindo o número de manchas de 58,52% a 78,80% nas concentrações analisadas, enquanto que nos extratos obtidos a partir das folhas a redução do número de manchas variou entre 31,33% e 55,29%, sendo que nos extratos obtidos do caule a porcentagem de redução maior foi verificado na concentração de 0,62 mg/mL enquanto que nos extratos obtidos das folhas foi na concentração de 1,25 mg/mL. Em relação à menor redução, em ambos os extratos foi verificado na concentração de 2,5 mg/mL.

Em relação ao cruzamento HB, quando comparamos as tabelas 1 e 2 podemos verificar que nos extratos obtidos das folhas todas as concentrações induziram ao aumento no número de mutações, em relação ao controle positivo, potencializando assim o efeito genotóxico da doxorubicina, ou seja, neste caso apresentou atividade sinérgica, enquanto que nos extratos obtidos do caule de mesmo cruzamento, nenhuma das concentrações induziu ao aumento do número de manchas em relação ao controle positivo, sendo que as duas menores concentrações, 0,62 e 1,25 mg/mL, reduziram o número de manchas em 59,18% e 38,09%

respectivamente, enquanto que a concentração de 2,5 mg/mL apesar de não ter apresentado uma redução do número de manchas significativas, também não induziu ao aumento do número de manchas.

Quando comparados os dados obtidos dos extratos de folha (Tabela 1) com os do caule (Tabela 2) podemos notar uma diferença em relação ao número de manchas reduzidas, sendo que os extratos obtidos a partir do caule apresentaram uma maior atividade antigenotóxica em relação aos extratos obtidos a partir das folhas, podendo este fator estar relacionado com metabólitos secundários obtidos em cada extrato.

Se compararmos os resultados obtidos das análises dos co-tratados com fase acetato de etila da folha (tabela 3) com os co-tratados com a fase acetato de etila do caule (tabela 4), podemos verificar que tanto folha quanto caule não apresentaram potencial antigenotóxico significativo, sendo que para a fase acetato de etila obtido do caule na concentração de 1,25 mg/mL foi considerada letal, tanto para o cruzamento ST quanto para o HB, já na fase acetato de etila obtido da folha apenas foi letal no cruzamento HB.

Ambos os tratamentos (extrato etanólico e fase acetato de etila), quando associados à doxorrubicina apresentaram efeito sinérgico, ou seja, potencializaram o efeito tóxico da doxorrubicina, sendo que essa atividade sinérgica também foi observada por Guterres et al. (2015) em estudos do extrato aquoso das partes aéreas de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), tanto no cruzamento ST quanto no HB, e por Fernandes et al. (2014) em extratos etanólicos da própolis.

Entretanto, Silva (2015) afirma que a fase acetato de etila obtido das folhas e do caule de *R. armata* não apresentaram potencial genotóxico. Essa diferença entre a fase acetato de etila e o extrato etanólico pode estar ligado às diferentes substâncias que foram extraídas em cada extrato, sendo que em comunicação pessoal Aymee Portela, informou ter obtidos iridóides, na fase acetato de etila; Souza et al. (2013) em seus estudos fitoquímicos com a família Rubiaceae, afirma que algumas espécies, das quais estudou, apresentam iridóides, e Bolzani et al. (1996) afirma que iridóides podem apresentar atividade antifúngica.

Santos et. al. (2013) em seus estudos sobre a eficácia de plantas medicinais sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* afirma que *Randia armata* apresenta uma eficácia moderada. Em se tratando do gênero *Randia*, Gallardo-Casas et al. (2012) afirma que *Randia aculeata* atua inibindo a necrose do tecido muscular, mesmo que parcialmente, em casos de picadas de cobras, além de evitar a diminuição do número de plaquetas.

Em relação às atividades biológicas apresentadas pela família Rubiaceae, Souza et al. (2007) observou o efeito anti-inflamatório do extrato metanólico de *Posoqueria acutifolia*

sendo que o mesmo foi avaliado por meio do edema de pata de ratos induzido por carragenina. Souza et al. (2007) afirma ainda que o extrato metanólico de *P. acutifolia* possui atividades analgésicas sobre o sistema nervoso periférico e central.

Ainda em relação às atividades biológicas apresentadas pela família Rubiaceae Gazda (2004) em estudo do perfil químico realizado em cromatografia líquida de alta eficiência e detecção por ultravioleta, afirma que *Chiococca alba* indicou a presença de iridóides e/ou seco-iridóides e afirma que as raízes de *C. alba* demonstram uma boa atividade analgésica por via oral no modelo de inibição do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético por via intraperitoneal. Gazda (2004) afirma ainda que o extrato etanólico das raízes de *C. alba* sobre o teste com microcrustáceo apresenta atividade citotóxica atribuindo esse fator a atividades antitumorais.

Testa et al. (2012) avaliou a atividade anti-inflamatória para o extrato bruto das folhas de *Guettarda pohliana* Müll. Arg. e de suas frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica e do extrato bruto das raízes e suas frações acetato de etila e hidrometanólica, sendo que foi avaliado através do modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos, sendo que o mesmo concluiu que tanto o extrato bruto das folhas quanto das raízes e das respectivas frações obtidas a partir desses extratos apresentam atividade anti-inflamatória sobre o edema induzido por óleo de cróton.

Os resultados encontrados para a avaliação da atividade genotóxica do flavonoide miricitrina corroboram com os obtidos por Hobbs et al. (2015), os quais utilizaram o ensaio de mutação reversa com as linhagens TA98, TA100, TA97a, TA1535 de *Salmonella* e com a linhagem WP2 uvrA (pKM101) de *Escherichia coli*, para avaliar a ação da miricitrina, verificaram que este flavonóide não induziu mutações gênicas. Os ensaios do Micronúcleo e Cometa foram empregados em fêmeas de camundongos da linhagem B6C3F1 tratadas com miricitrina para avaliar os possíveis danos genéticos, os resultados obtidos indicaram que a miricitrina não apresenta potencial genotóxico *in vivo*. Também estão de acordo com os resultados obtidos por Sotibrán et al. (2011), quando avaliaram o potencial genotóxico do ácido clorogênico, kaempferol, quercetina e quercetina 3-d-glicosídeo, e com Fernandes et al. (2015) para o flavonoide vitexina, sendo que nenhum desses flavonoides apresentou atividade genotóxica, nas células somáticas de *Drosophila melanogaster*.

Em relação à avaliação antigenotóxica do flavonoide miricitrina, podemos dizer que esse flavonoide apresentou potencial antigenotóxico, pois em todas as concentrações avaliadas, o flavonoide reduziu o número de manchas mutantes acima de 30%, sendo que chegou a reduzir até 81,31% na concentração $0,5 \cdot 10^{-2}$ mM do cruzamento ST. Esse potencial

antigenotóxico da miricitrina, quando associado à DXR, no ensaio SMART, pode ser atribuído a sua ação antioxidante, pois um dos mecanismos genotóxicos da DXR é a produção de radicais livres.

Os antioxidantes, segundo Pereira et al. (2009), possuem reconhecida ação contra o estresse oxidativo, auxiliando assim na prevenção de carcinomas e outros males que podem acometer seres humanos. Contudo Bianchi e Antunes (1999) destacam que compostos antioxidantes devem estar presentes em concentrações ideais, pois em excesso tornam-se tóxicos podendo interferir na atividade enzimática e estrutural de uma célula.

Os flavonoides como a miricitrina possuem a capacidade de sequestrar as espécies reativas de oxigênio (DOMITROVIT et al., 2015), exercendo assim a atividade antimutagênica, antioxidante e antitumoral (CHEN et al., 2013), a atividade antigenotóxica obtida no ensaio SMART, está de acordo com os resultados encontrados por Edenharter e Grünhage (2003). A miricitrina é um flavonóide que também tem a capacidade de inibir proteínas quinases como a PI-3K, PKC, inibe a ativação do NF- κ B, diminui a produção de óxido nítrico e induz a apoptose. Tem propriedade analgésica e anti-inflamatória (MEOTTI et al., 2007). As ações biológicas dos flavonoides nos organismos estão relacionadas com a estrutura química destes que são semelhantes às bases dos ácidos nucleicos, coenzimas, hormônios esteroides e neurotransmissores (HAVSTEE, 2002).

6. CONCLUSÃO

- O extrato etanólico obtidos das folhas no cruzamento ST apresentou uma boa atividade antigenotóxica, entretanto após a metabolização dessa substância (cruzamento HB) a mesma teve efeito sinérgico, potencializando o efeito tóxico da DXR.
- O extrato etanólico obtido a partir do caule apresentou ótima atividade antigenotóxica, sendo que em ambos os cruzamentos apresentou redução do número de manchas, sendo que após metabolizado (cruzamento HB) as menores concentrações tiveram as reduções mais significativas.
- Os resultados para o extrato etanólico sugerem que as folhas e o caule apresentam atividades diferentes, possivelmente devido aos diferentes constituintes químicos encontrados nas folhas e caule.
- A fase acetato de etilade pois de metabolizada, tanto para caule quanto para raiz não apresentou atividade antigenotóxica, além disso, foi considerada tóxica por ter induzido a morte dos indivíduos.

- A diferença observada entre a fase acetato de etila e o extrato etanólico pode estar associada aos diferentes metabólitos secundários que foram obtidos.
- O flavonoide *miricitrina* não apresentou atividade genotóxica, sendo que na investigação sobre seu potencial antigenotóxico os resultados foram positivos, sendo que o mesmo apresentou significativas reduções de manchas mutantes, tanto para o cruzamento ST quanto para o cruzamento HB.

REFERÊNCIAS

- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BOLZANI, V. D.S.; TREVISAN, L. M. V.; IZUMISAWA, C.M.; YOUNG, M. C. M. Antifungal iridoids from the stems of *Tocoyena formosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, p. 157-160, 1996.
- BOSCOLO, O. H.; SENNA-VALLE, L. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia. Série Botânica**, Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 263-277, 2008.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolismo, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.
- CHEN, W., FENG, L., SHEN, Y., SU, H., LI, Y., ZHUANG, J., ZHANG, L., ZHENG, X. 2013. Myricitrin inhibits acrylamide-mediated cytotoxicity in human Caco-2 cells by preventing oxidative stress. **Biomed Research International**, 2013.
- 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**, v. 16, n.1, p. 170-177, 2006.
- DOMITROVIC, R., RASHED, K., CVIJANOVIC, O., VLADIMIR-KNEZEVIC, S., SKODA, M., VISNIC, A. Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. **Chemico-Biological Interactions**. p. 21-29, 2015.
- EDENHARDER, R., GRUNHAGE, D. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. **Mutation Research**. p. 1-18, 2003.
- FERNANDES, F. H.; GUTERRES, Z. R.; GARCEZ, W. S.; LOPES, S. M.; CORSINO, J. GARCEZ, F. R. Assessment of the (anti)genotoxicity of brown propolis extracts from Brazilian Cerrado biome in a *Drosophila melanogaster* model. **Food Research International**, 2014.

FERNANDES, L. M. Efeitos citotóxico, citoprotetor, genotóxico e antigenotóxico do flavonoide vitexina avaliados, *in vitro*, em células MCF-7 e HEPG2/C3A e, *in vivo*, em asas de *Drosophila melanogaster*. Tese apresentada ao programa de Pós Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, 2015.

FREI, H.; WÜRGLER, F. E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. **Mutation Research**. 203: 297-308, 1988.

FREI, H.; WÜRGLER, F. E. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. **Mutation Research**. 334, 247–258, 1995.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em culturas de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 627-641, 2008.

GALLARDO-CASAS, C. A.; GUEVARA-BALCÁZAR, G.; MORALES-RAMOS, E.; TADEO-JIMÉNEZ, Y. GUTIÉRREZ-FLORES, O.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, N.; VALADEZ-OMANA, M. T.; VALENZUELA-VARGAS, M.T.; CASTILLO-HEANIMALS, M.C. Ethnobotanic study of *Randiaaculeata* (Rubiaceae) in Jamapa, Veracruz, México, and its anti-snake venom effects on mouse tissue. **The journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diaseases**, v. 18, p. 287-294, 2012.

GAZDA, V. E. Abordagem química e estudo da atividade biológica das raízes de *Chiococca alba* (L.) HITCHC. (Rubiaceae). Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro- UFRJ, 2004.

GRAF, U., VAN SCHAİK, N. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *D. melanogaster*. **Mutation Research**, p.59-67, 1992.

GRAF, U.; WURGLER, F. E.; KATS, A. J.; FREI, H.; JUON, H.; HALL, C. B.; KALE, P. G. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Environmental Mutagenesis** 6: 153-188, 1984.

GUTERRES, Z. R.; ZANETTI, T. A.; LOPES, T. F. S.; SILVA, A. F. G. Genotoxic and AntigenotoxicPotencial of *Mordicacharantia* Linn (Cucurbitaceae) in the Wing Spot Test of *Drosophila melanogaster*. **Journal of Medicinal Food**, 2015.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol & Therapeutics**. p. 67-202, 2002.

HOBBS, C.A.; SWARTZ, C., MARONPOT, R., DAVIS, J., RECIO, L., KOYANAGI, M., HAYASHI, S.M.Genotoxicity evaluation of the flavonoid, myricitrin, and its aglycone, myricetin. **Food and Chemical Toxicology**. v. 83 p.283-292, 2015.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLONG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**.Porto Alegre: Artmed, 2009.

KASTENBAUM, M.A., K. O. BOWMAN. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. **Mutation Research**. 9: 527– 549, 1970.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S. Farmacologia de flavonoides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasil, v. 17, p. 18-22, 2000.

MA, J.; LUO, X. D.; PROTIVA, P.; YANG, H.; MA, C.; BASILE, M.J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E.J. Bioactive novel polyphenols from the fruit of *Manilkara zapota* (Sapodilla). **Journal of Natural Products**. v. 66. n. 7, p. 983-986, 2003.

MEOTTI, F.C.; POSSER, T.; MISSAU, F. C.; PIZZOLATTI, M.G.; LEAL, R. B.; SANTOS, R. S. Involvement of p38MAPK on the antinociceptive action of myricitrin in mice. **Biochemical Pharmacology**, p. 924–931, 2007.

NETO, G. G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n.4, p. 561-584, 2003.

PAULUS, R. I. Caracterização morfológica e métodos para superação de dormência de sementes de *Randia armata* (De Candolle SW.). Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissionalizante da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, 2005.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 231-247, 2009.

PEREIRA, M., **Avaliação do potencial efeito antipsicótico da miricitrina em modelos animais**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR, 2011.

PERON, A. P.; FELIPES, J.; MATTGE, G. I.; CANTAGALLI, L. B.; MARIUCCI, R. G.; VICENTINI, V. E. P. Avaliação mutagênica das plantas medicinais *Baccharis trimera* Less e *Solanum melongena* L., em células de medula óssea de Ratos Wistar. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 2, p. 127-130, 2008.

SANTOS, L. B.; SOUZA, J. K.; PAPASSONI, B.; BORGES, D. G. L.; JUNIOR, G. A. D.; SOUZA, J. M. E.; CAROLLO, C. A.; BORGES, F. A. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 532-538, 2013.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *Calycorectes*, Campomanesia, 1995 apud AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, p. 55-61, 2003.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. 1995 apud ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve visão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 1-9, 2007.

SILVA, M. A. V. Avaliação da atividade genotóxica de plantas medicinais: *Randiaarmata* (Rubiaceae) e *Crotonurucurana* (Euforbiaceae) e de duas lactonas obtidas de *Anibahegerii* (Lauraceae). Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2015.

SOTIBRÁN, A. N. C.; ORDAZ-TÉLLEZ, M. G.; RODRIGUEZ-ARNAIZ, R. Flavonoids and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**. p. 60-65, 2011.

SOUZA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; ALMEIDA, B. H., MIRANDA, M. A.; FILGUEIRAS, R. C.; CAMPO, A. C.; SILVÉRIO, M. S. Efeitos farmacológicos e toxicológicos do extrato de *Posoqueria acutifolia* Mart. (Rubiaceae) em roedores. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 28, n. 1, p. 51-56, 2007.

SOUZA, R. K. D.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos de espécies de Rubiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. 140 – 156, 2013

TESTA, G.; OLIVEIRA, P. R. N., SILVA, C. C.; SCHUQUEL, I. T. A.; SANTIN, S. M. O.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; ARRUDA, L. L. M.; BERSANI-AMADO, C. A. Constituintes químicos das folhas e avaliação da atividade anti-inflamatória de extratos das raízes e folhas de *Guettardapohliana*Müll.Arg. (Rubiaceae). **Química Nova**. v. 35, n. 3, p. 527-529, 2012.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006.

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

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Editora da UFRGS, 2004. cap. 23, pág. 578-614.