

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

THALITA ALVES ZANETTI

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GENOTÓXICA E/OU
ANTIGENOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO E ETANÓLICO
DAS PARTES AÉREAS E FRUTO DE *Momordica charantia*
LINN. (CUCURBITACEAE)**

Mundo Novo – MS

Outubro de 2012

THALITA ALVES ZANETTI

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GENOTÓXICA E/OU
ANTIGENOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO E ETANÓLICO
DAS PARTES AÉREAS E FRUTO DE *Momordica charantia*
LINN. (CUCURBITACEAE)**

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.

Orientadora: Prof^a Dr^a Zaira da Rosa Guterres

Mundo Novo – MS

Outubro de 2012

THALITA ALVES ZANETTI

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GENOTÓXICA E/OU
ANTIGENOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO E ETANÓLICO
DAS PARTES AÉREAS E FRUTO DE *Momordica charantia*
LINN. (CUCURBITACEAE)**

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 2012

Prof^ª. Dr. Zaira Da Rosa Guterres - Orientadora – UEMS _____

Prof^ª. Dr^ª. Ana Francisca Gomes da Silva- UEM _____

Prof^ª. MSc Cassia F. Yano - UEMS _____

A Deus por tudo que me proporciona na vida.

À minha mãe, a qual amo muito, pelo
exemplo de vida e família.

A meu irmão por tudo que me ajudou até hoje.

Ao meu namorado Cleyton, pelo carinho, compreensão e
companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pelo dom da vida, pelo seu amor infinito, sem Ele nada sou.

Agradeço a minha mãe, Maria Regina, meu maior exemplo. Obrigada por cada incentivo e orientação, pelas orações em meu favor, pela preocupação para que estivesse sempre andando pelo caminho correto.

Ao meu irmão Erickson e meus amigos de laboratório que no decorrer desses anos deixaram os longos dias de análises mais divertidos, em especial a Adrivanio, Marcos Rogério, Sandra, Rayane e Tiago.

Aos meus tios, tias, avós e primos que sempre estiveram presentes. Ao meu namorado Cleyton, por todo amor, carinho e compreensão que tem me dedicado.

À professora Zaira da Rosa Guterres que, com muita paciência e atenção, dedicou do valioso tempo para me orientar em cada passo deste trabalho.

Aos meus colegas de classe, em especial a Simone, Ronaldo, Ewhelyne, Alessandro, Márcia Rosa, Luis, Jessica, Marcos Silva e Rafael, a quem aprendi a amar e construir laços eternos. Obrigada por todos os momentos em que fomos estudiosos, brincalhões, cozinheiros e cúmplices. Porque em vocês encontrei verdadeiros irmãos. Obrigada pela paciência, pelo sorriso, pelo abraço, pela mão que sempre se estendia quando eu precisava. Esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

Aos meus amigos, Elquer, Paula, Willian, Viviane, Sarah, Márcia, Marinês, Gislaine e Diego por todo apoio e cumplicidade. Porque mesmo quando distante, estavam presentes em minha vida.

Obrigada a todos que, mesmo não estando citados aqui, tanto contribuíram para a conclusão desta etapa e para a Thalita que sou hoje.

RESUMO

A *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) - popularmente conhecida como Melão de São Caetano é uma planta utilizada de diversas formas pela medicina popular. Tem propriedades antibacteriana, antifúngica, anti-helmintica, antidiabéticas, antiviral e antimalárica. Também é usada no tratamento da hanseníase, dor abdominal e de cálculos renais, para combater a pneumonia, psoríase e sarna. Diante da ampla utilização desta planta para o tratamento de diversas doenças, bem como a falta de informações sobre o potencial genotóxico e/ou antigenotóxico, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade genotóxica e/ou antigenotóxica de extrato aquoso e etanólico obtidos dos frutos e partes aéreas de *M. charantia* L. por meio do teste de mancha em asa de *Drosophila melanogaster* (SMART-Somatic Mutation And Recombination Test). Foram utilizadas larvas de *D. melanogaster* de terceiro estágio de desenvolvimento obtidas dos cruzamentos padrão (ST) e de alta bioativação (HB), tratadas seguindo dois protocolos (genotoxicidade e antigenotoxicidade). No protocolo de genotoxicidade, o extrato aquoso obtidos do fruto de *M. charantia* L. foi avaliado em quatro concentrações (2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg/mL) e o extrato aquoso e etanólico das partes aéreas em três concentrações (2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL). Para a avaliação de antigenotoxicidade os extratos aquosos obtidos de ambas as partes de *M. charantia* L. foram avaliados em três concentrações, sendo 2,5; 5,0; 10 mg/mL do fruto e 1,25; 2,5; 5,0 mg/mL das partes aéreas. Estes foram associados com cloridrato de doxorrubicina (DXR) na concentração de 0,125 mg/mL. Em ambos os protocolos foram utilizados, como controle positivo DXR (0,125 mg/mL) e como controle negativo o solvente: água Milli-Q, 1% de Tween-80 e 3% etanol. Os resultados indicam que as partes aéreas da *M. charantia* L. não possuem atividade genotóxica, mas quando associados ao agente químico DXR, tem efeito sinérgico, potencializando a genotoxicidade do DXR. O extrato aquoso dos frutos na maior concentração (20,0 mg/mL) apresentou atividade citotóxica e genotóxica. As concentrações associadas ao DXR, verifica-se que no cruzamento ST a concentração intermediária (5,0 mg/mL) potencializou a genotoxicidade do DXR e no cruzamento de alta atividade metabólica (HB) exerceu atividade antigenotóxica.

Palavras-chave: Fitoterápico. Drosófila. SMART.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	7
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1.	Coleta e obtenção dos extratos	10
2.2.	Somatic mutation and recombination test – SMART (Teste para detecção de mutação e recombinação somática)	10
2.3.	Manutenção do meio, obtenção e coleta de larvas, tratamentos e análise	11
2.4.	Análise estatística	12
3.	RESULTADOS	13
4.	DISCUSSÃO	23
5.	CONCLUSÃO	26
	REFÊRENCIA	27

1. INTRODUÇÃO

A família *Cucurbitaceae* pertence à ordem Cucurbitales e esta dividida em duas subfamílias – Zanonioideae e Cucurbitoidae – compreende cerca de 118 gêneros e 825 espécies (MATTHEWS; ENDRESS, 2004). Historicamente é uma das mais importantes famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos, fibras e fitoterápicos (MONTES-HERNANDEZ; EGUIARTE, 2002).

As principais espécies pertencem aos gêneros *Cucurbita* (abóboras, abobrinhas e morangas), *Cucumis* (pepinos, melões, e maxixe), *Sechium* (chuchu), *Citrulus* (melancia), *Lageraria* (abobrinha d-água ou marimba), *Luffa* (bucha) e *Momordica* (Melão de São Caetano) (GONZAGA et al., 1999). Os gêneros *Cucurbita* (Linnaeus, 1753), *Sechium* (Browne, 1756) e *Cyclanthera* (Achrader, 1831) são originários do continente Americano. Os outros gêneros são originários da África e da Ásia tropical (ALMEIDA, 2002).

Os frutos das plantas da família Cucurbitaceae são ricos em água e açúcares e as sementes em gordura, proteína, tiamina, niacina, cálcio, fósforo, ferro e magnésio. Estas plantas desempenham um importante papel na alimentação humana, especialmente nas regiões tropicais onde o consumo é muito elevado. Algumas espécies apresentam propriedades terapêuticas enquanto que de outras são isolados diversos compostos tóxicos, os mais estudados são as cucurbitacinas e triterpenoides tetracíclicos oxigenados (ALMEIDA, 2002).

A *Momordica charantia* Linn, popularmente conhecida como Melão de São Caetano ou Melão Amargo, é uma planta trepadeira que cresce em áreas tropicais, incluindo partes da Amazônia, leste da África, Ásia e Caribe, é cultivada em toda a América do Sul, sendo utilizada como alimento e medicamento (TAYLOR, 2002).

O nome latino *Momordica* significa “mordida”, pois as bordas das folhas são irregulares, parecendo como se tivessem sido picados. Todas as partes da planta, incluindo a fruta, possuem gosto muito amargo (TAYLOR, 2002). As folhas, talos, raízes, frutos e sementes são utilizados de diversas formas pela medicina popular (MAIA et al., 2008).

A *M. charantia* L. tem propriedades antibacteriana, antifúngica, anti-helmintica (PEREIRA et al., 2006), abortiva, antiviral (incluindo contra a infecção pelo HIV), anticonceptiva e antimalárica. Também é usada no tratamento da hanseníase, da gota, dor abdominal e de cálculos renais, como laxante, para combater a pneumonia, psoríase, reumatismo e sarna (GROVER; YADAV, 2004).

O pericarpo do fruto é rico em beta caroteno e licopeno, o suco do fruto pode reduzir os níveis de glicose no sangue (antidiabético) (RODRIGUEZ et al., 1975), do caule de *M.*

charantia L. foram isolados triterpenoides multiflorano e dois triterpenoides cucurbitano o quais apresentaram atividade antioxidante (LIU et al., 2010).

A eficácia do extrato de *M. charantia* L. foi avaliada como um agente anticâncer, em células humanas de câncer de mama, linhagem MCF-7 e de tecido glandular mamário, linhagem MDAMB-231, como modelo *in vitro*. De acordo com os autores, percebeu-se uma inibição significativa do crescimento celular do câncer de mama. Os autores sugerem que o extrato desta planta poderá ser, utilizado como um suplemento dietético para a prevenção do câncer de mama (RAY et al., 2010).

Atualmente a estratégia alternativa utilizada para prevenir ou reverter o câncer é o consumo de agente anticancerígenos e antigenotóxico (PAOLINI; NESTLE, 2003). Assim, estudos de genotoxicidade e antigenotoxicidade podem ajudar a avaliar a segurança de muitas plantas utilizadas pela medicina popular (CARVALHO, 2009).

Dentre inúmeros ensaios de genotoxicidade, há o Somatic Mutation And Recombination Test (SMART), que foi desenvolvido por Graf et al., (1984) o qual permite detectar a perda da heterozigose dos marcadores genéticos identificados nos fenótipos expressos nos tricomas das asas da *Drosophila melanogaster* (mosca de fruta) (GRAF et al., 1998). A *D. melanogaster*, foi reconhecida como um organismo experimental ideal para estudos genéticos, devido ao seu pequeno tamanho, fácil manutenção em laboratório, pequeno tempo de geração, grande progênie e baixo número de cromossomos (GRAF; VAN SCHAİK, 1992).

Os compostos a serem analisados pelo SMART podem ser substâncias puras ou misturas complexas, como partículas aéreas, extratos de plantas, bebidas e várias outras substâncias (GRAF et al., 1984).

Dalouh e colaboradores (2010), utilizando o teste SMART, avaliou a genotoxicidade e antigenotoxicidade do óleo da semente *Argania spinosa* (Óleo de Argan). Os resultados mostraram que o Óleo de Argan não apresentou atividade genotóxica, mais sim, antigenotóxica. Contudo, os autores sugerem o consumo do Óleo de Argan para impedir lesões no DNA humano induzidas por agentes mutagênicos. Da mesma forma, Franchi e colaboradores (2008), avaliaram a ausência de efeito tóxico-genético do suco de *Morinda citrifolia* (Noni). Os resultados obtidos demonstraram que o suco do Noni não apresentou efeito tóxico-genético.

Considerando a ampla utilização da *M. charantia* L. na alimentação e pela medicina popular para o tratamento de diversas doenças, além da ausência de informações sobre as possíveis atividades genotóxicas e/ou antigenotóxicas atribuídas a esta planta, este trabalho

teve como objetivo avaliar a atividade genotóxica e/ou antigenotóxica de extrato aquoso e etanólico das partes aéreas e extrato aquoso do fruto de *M. charantia* L, por meio do ensaio SMART em células somáticas de *D. melanogaster*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta e obtenção dos extratos

Os frutos da *M. charantia* L. foram coletadas pela acadêmica do curso de Ciências Biológicas da UEMS, unidade de Mundo Novo, Marcia Rosa Pereira da Silva, em uma chácara no município de Mundo Novo – MS.

O extrato aquoso dos frutos (MCF Aq) foi preparado imediatamente antes do uso, para tanto, foi liquidificado com água, filtrado e utilizado em temperatura ambiente nos experimentos.

As partes aéreas (folhas, gavinhas e talos) da *M. charantia* L. foram coletadas pelo prof. Dr. Waldir Silva Garcez, na Chácara dos Poderes, em Campo Grande – MS, identificadas pelo prof. Dr. Arnildo Pott, e uma excisata foi depositada no herbário da UFMS. Após as coletas, o material botânico foi prensado e seco a temperatura ambiente. Posteriormente foi moído até chegar à consistência de um pó fino, a este foi adicionado etanol, permanecendo em fusão por duas semanas, posteriormente filtrado e concentrado ao rota-evaporador, até completa redução do etanol.

Os extratos aquosos e etanólicos das partes aéreas (MCP Aq e MCP Et) foram preparados imediatamente antes do uso, da seguinte forma: [1] O extrato etanólico foi diluído em 1% de Tween-80, 3% etanol e água; [2] O extrato aquoso foi preparado em infusão com água fervente (100° C), por 20 minutos, posteriormente filtrado e utilizado em temperatura ambiente nos experimentos.

2.2 Somatic Mutation And Recombination Test – Smart (Teste Para Detecção De Mutação E Recombinação Somática)

Para a detecção da atividade genotóxica, Graf et al., (1984) descreveram o teste em células somáticas de *Drosophila melanogaster*, baseado em mutações encontradas nos tricomas (pelos) que revestem as asas de *D. melanogaster*.

O SMART foi realizado por meio de cruzamentos experimentais entre linhagens: (*mwh*, *flr*³ e *ORR/flr*³) de *D. melanogaster* existentes no Laboratório de Citogenética e Mutagênese, Unidade de Mundo Novo (UEMS). Com essas linhagens foram realizados dois diferentes cruzamentos: 1] cruzamento padrão (ST- *standard cross*) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens *flr*³ (GRAF et al., 1984) e 2] cruzamento de alta bioativação (HB- *high bioactivation cross*) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens *ORR/flr*³ (GRAF; 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, Bd^s*, que pode 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.

2.3 Manutenção do meio, obtenção e coleta de larvas, tratamentos e análises

Os estoques foram mantidos em frascos contendo meio de cultura de *Drosophila melanogaster* (820 mL de água, 25 g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), 11 g de ágar-ágar, 156 g 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 *flr³* 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 segundo dois protocolos (genotoxicidade e antigenotoxicidade).

No protocolo de genotoxicidade, o extrato aquoso e etanólico das partes aéreas foram avaliados em três concentrações (2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL) e o extrato aquoso do fruto em quatro concentrações (2,5; 5,0, 10,0 e 20,0 mg/mL). Para a avaliação de antigenotoxicidade, o extrato aquoso obtido das partes aéreas de *M. charantia* L. foi avaliado nas concentrações 2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL e o extrato aquoso do fruto nas concentrações de 1,25; 2,5 e 5,0 mg/mL. Estes foram associados com cloridrato de doxorrubicina (DXR) na concentração de 0,125 mg/mL. Como controle negativo foi utilizado o solvente (composto por água Milli-Q, 1% de tween-80 e 3% de etanol) e como controle positivo foi utilizado o cloridrato de doxorrubicina na concentração de 0,125 mg/mL.

Adultos emergentes portadores dos dois tipos de genótipos: *mwh + / + flr³* (trans-heterozigoto marcado - MH) e *mwh + / + TM3, BdS* (heterozigoto balanceado – BH) foram coletados e fixados em etanol 70%.

As asas foram destacadas e montadas entre lâminas e lamínulas com solução de Faure (30 g goma arábica, 50 g de hidrato de cloral, 100 mL de água e 20 mL de glicerol) e analisadas quanto á ocorrência de diferentes tipos de manchas mutantes, em microscópios ópticos com magnificação de 400 X.

2.5 Análise estatística

Para avaliar a significância estatística dos resultados obtidos, foi realizado o procedimento proposto por Frei; Würgler (1988), uma análise de múltiplas decisões que gera quatro diferentes diagnósticos: positivo, fraco positivo, negativo ou inconclusivo (nível de significância $p < 0,05$). A frequência de cada tipo de mancha mutante por indivíduo de uma série tratada foi comparada com seu respectivo controle negativo, usando o teste Binomial Condicional de Kastembaum e Bowman (1970). Para avaliar resultados negativos, fatores de multiplicação (m) foram introduzidos no teste. São eles: $m = 2$ para manchas simples pequenas e total de manchas, devido às suas altas frequências espontâneas e $m = 5$ para manchas simples grandes e gêmeas, que raramente surgem de forma espontânea (FREI; WÜRGLER 1988; FREI et al., 1992; GRAF et al., 1984). Desta forma são estabelecidos os critérios para o diagnóstico positivo, que requer uma frequência de mutações no tratado que seja m vezes maior que a frequência obtida no controle negativo (ANDRADE.; LEHMANN, 2003).

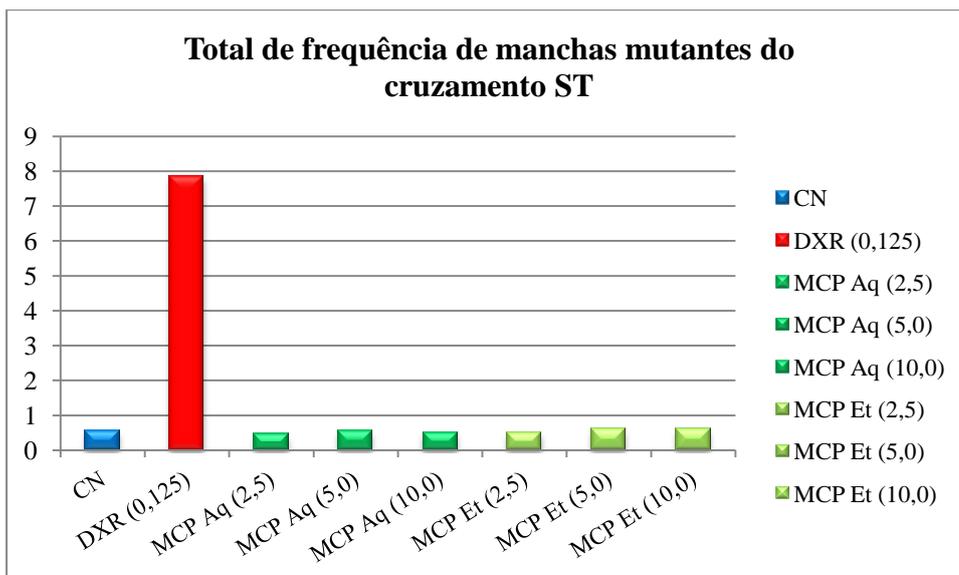
3. RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento ST, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso e etanólico, obtido das partes aéreas de *M. charantia* L. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle negativo foi de 0,55, enquanto que os grupos tratados com extrato aquoso apresentaram frequências de mutação variando de 0,45 a 0,55. Semelhante resultado foi obtido com o extrato etanólico, cujas frequências de manchas mutantes variaram de 0,50 a 0,60. Observa-se que 90% das manchas mutantes, estão classificadas como simples pequena formada por até duas células. Entretanto, os indivíduos tratados com cloridrato de doxorubicina (DXR) apresentaram uma frequência de manchas mutantes de 7,85, distribuídas em todas as categorias, manchas simples pequena, manchas simples grande e manchas gêmeas. No cruzamento ST, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com os extratos, estão próximo do valor obtido no controle negativo (Figura 1).

Tabela 1 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) após tratamento com extrato aquoso (MCP Aq) e o extrato etanólico (MCP Et) obtido de partes aéreas de *M. charantia* L.

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total mwh ^c
ST		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(n)
CN	20	(0,45) 09	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,55) 11	11
DXR (0,125)	20	(3,55) 71	(1,95) 39	(2,35) 47	(7,85) 157 +	152
MCP Aq (2,5)	20	(0,40) 08	(0,05) 01		(0,45) 09 -	09
MCP Aq (5,0)	20	(0,50) 10	(0,05) 01		(0,55) 11 -	11
MCP Aq (10)	20	(0,45) 09	(0,05) 01		(0,50) 10 -	10
MCP Et (2,5)	20	(0,40) 08	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,50) 10 -	10
MCP Et (5,0)	20	(0,45) 09	(0,10) 02	(0,05) 01	(0,60) 12 -	12
MCP Et (10)	20	(0,60) 12			(0,60) 12 -	12

^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 Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*. MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



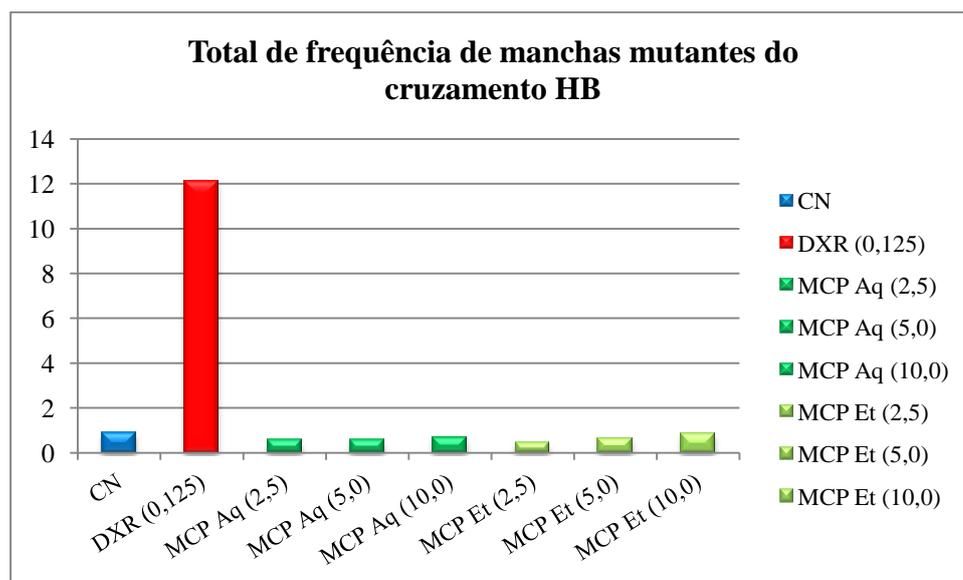
CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCP Et- *M. charantia* extrato etanólico, MCP Aq- *M. charantia* extrato aquoso.
 Figura 1- Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento padrão (ST).

A tabela 2 apresenta os resultados do cruzamento HB, cujos descendentes foram tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido das partes aéreas de *M. charantia* L. Observa-se que a frequência de manchas mutantes no controle negativo foi de 0,90, enquanto que a observada nos grupos tratados com o extrato aquoso variou de 0,55 a 0,70. Resultados semelhantes foram obtidos com o extrato etanólico, cujas frequências de mutações variaram de 0,45 a 0,85. Verifica-se que a frequência de mutações encontradas nos grupos tratados não difere estatisticamente das obtidas no controle negativo. Entretanto, os indivíduos tratados com DXR apresentaram uma frequência de mutação de 12,10, distribuídas em todas as categorias de manchas. No cruzamento HB, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com os extratos, estão abaixo do valor obtido no controle negativo (Figura 2).

Tabela 2 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento alta capacidade de bioativação (HB) após tratamento com extrato aquoso (MCP Aq) e etanólico (MCP Et) obtido de partes aéreas de *M. charantia* L.

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total <i>mwh</i> ^c
HB		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(<i>n</i>)
CN	20	(0,75) 15	(0,10) 02	(0,05) 01	(0,90) 18	18
DXR (0,125)	20	(5,60) 112	(3,45) 69	(12,10) 61	(12,10) 242 +	238
MCP Aq (2,5)	20	(0,40) 08	(0,15) 03		(0,55) 11 -	11
MCP Aq (5,0)	20	(0,50) 10	(0,05) 01		(0,55) 11 -	11
MCP Aq (10)	20	(0,60) 12	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,70) 14 -	14
MCP Et (2,5)	20	(0,35) 07	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,45) 09 -	09
MCP Et (5,0)	20	(0,45) 09	(0,10) 02	(0,10) 02	(0,65) 13 -	13
MCP Et (10)	20	(0,75) 15	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,85) 17 -	17

^a Diagnóstico 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 $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCP Et- Parte aérea de *M. charantia* L. extrato etanólico, MCP Aq- Parte aérea de *M. charantia* L. extrato aquoso.

Figura 2 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento de alta bioativação (HB).

A tabela 3 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento ST, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido do fruto da *M. charantia* L. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle negativo foi de 0,40, enquanto que os grupos tratados apresentaram frequências de mutação variando de 0,45 a 0,95. Observa-se que 88% das manchas mutantes, estão classificadas como simples pequena formada por até duas células. Entretanto, os indivíduos

tratados com cloridrato doxorubicina (DXR) apresentaram uma frequência de manchas mutantes de 35,55, distribuídas em todas as categorias, manchas simples pequena, manchas simples grande e manchas gêmeas.

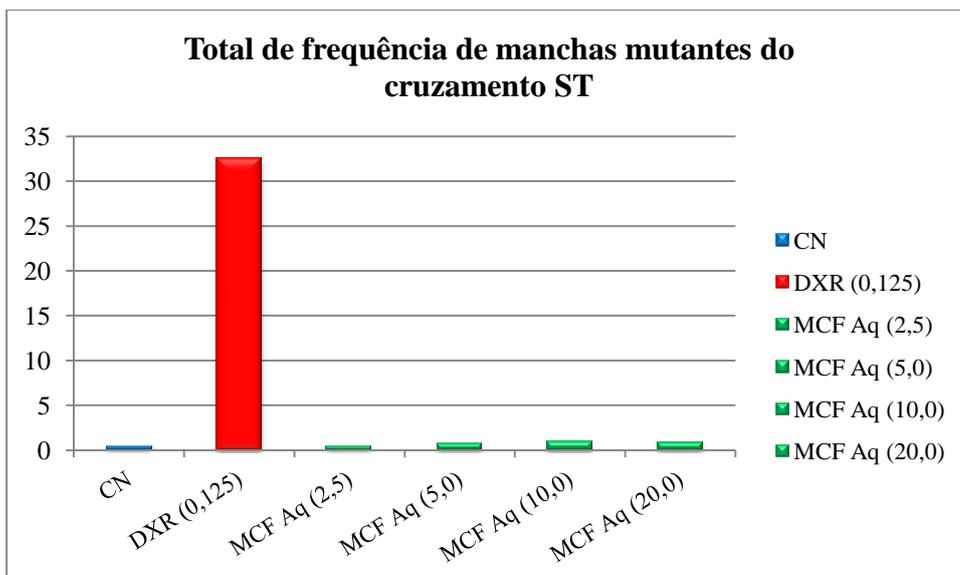
No cruzamento ST, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com as concentrações de 2,5 e 5,0 mg/mL dos extratos, não diferem estatisticamente da observada no controle negativo. Entretanto a frequência de mutação observada nos indivíduos tratados com 10,0 mg/mL, difere significativamente do valor obtido no controle negativo, este resultado indica que nesta concentração o extrato exerceu efeito genotóxico (Figura 3).

Os indivíduos tratados com a concentração (20,0 mg/mL), apresentaram um índice de sobrevivência em torno de 30%, quando comparado com o controle negativo. Este resultado indica que em alta concentração o extrato apresenta atividade citotóxica, resultando na sobrevivência de poucos indivíduos. Portanto o número de indivíduos analisados foi menor, diminuindo assim, a frequência total de manchas mutantes observadas (0,86).

Tabela 3 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) após tratamento com extrato aquoso obtido do fruto de *M. charantia* L.

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total mwh^c (n)
ST		m = 2^a	m = 5^a	m = 5^a	m = 2^a	
CN	20	(0,30) 06	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,40) 8	7
DXR (0,125)	20	(15,35) 307	(9,10) 182	(8,10) 162	(32,55) 651	637
MCF Aq (2,5)	20	(0,40) 08 i		(0,05) 01 i	(0,45) 09 i	9
MCF Aq (5,0)	20	(0,65) 13 i	(0,05) 01 i		(0,70) 14 i	14
MCF Aq (10,0)	20	(0,85) 17 +	(0,10) 02 i		(0,95) 19 +	19
MCF Aq (20,0)	14*	(0,71) 10 i	(0,14) 02 i		(0,86) 12 i	12

^a Diagnóstico 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 $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; * Citotóxico; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCF Aq- Fruto de *M. charantia* L. extrato aquoso.

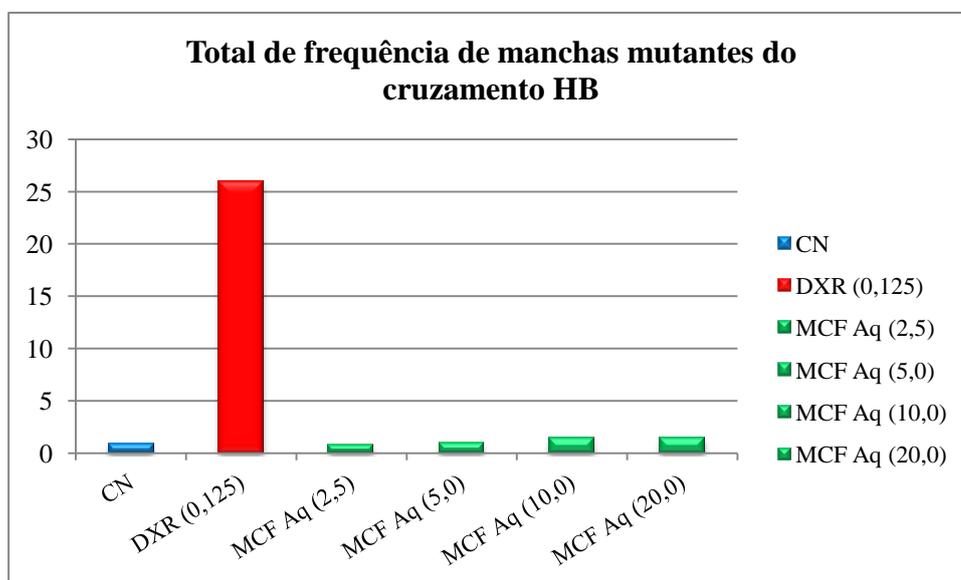
Figura 3 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento padrão (ST).

A tabela 4 apresenta os resultados do cruzamento HB, cujos descendentes foram tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido do fruto de *M. charantia* L. Observa-se que a frequência de manchas mutantes no controle negativo foi de 0,90, enquanto que a observada nos grupos tratados com o extrato variou de 0,80 a 1,45. Verifica-se que a frequência de mutações encontradas nos grupos tratados com 2,5 e 5,0 mg/mL do extrato não difere estatisticamente da obtida no controle negativo. Entretanto, os indivíduos tratados com as concentrações de 10 e 20mg/mL apresentam uma frequência de mutação maior do que a observada no controle negativo, porém estatisticamente inconclusivo, quando comparado com o controle negativo. Os indivíduos tratados com DXR apresentaram uma frequência de mutação de 26, distribuídas em todas as categorias de manchas (Figura 4).

Tabela 4 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento alta capacidade de bioativação (HB) após tratamento com extrato aquoso do fruto da *M. charantia* L.

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total <i>mwh</i> ^c
HB		m = 2 ^a	m = 5 ^a	m = 5 ^a	m = 2 ^a	(n)
CN	20	(0,60) 12	(0,30) 06		(0,90) 18	17
DXR (0,125)	20	(5,3) 106	(9,1) 182	(11,6) 232	(26,0) 520	506
MCF Aq (2,5)	20	(0,70) 14 i	(0,05) 01 -	(0,05) 01 i	(0,80) 16 -	16
MCF Aq (5,0)	20	(0,90) 18 i	(0,05) 01 -		(0,95) 19 -	18
MCF Aq (10,0)	20	(1,25) 25 +	(0,10) 02 -	(0,05) 01 i	(1,40) 28 i	28
MCF Aq (20,0)	20	(1,32) 27 +	(0,10) 02 -		(1,45) 29 i	29

^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 Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCF- Fruto de *M. charantia* L. extrato aquoso.

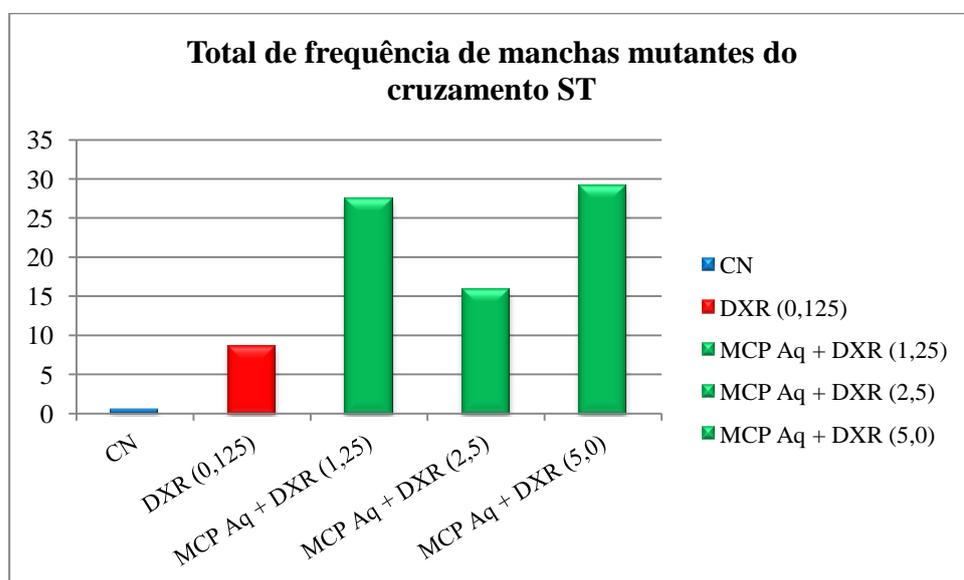
Figura 4 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento de alta bioativação (HB).

A tabela 5 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento ST, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido das partes aéreas de *M. charantia* L. associados com DXR. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle positivo foi de 8,65, enquanto que os grupos tratados com extrato aquoso apresentaram frequências de mutação variando de 15,90 a 29,13 distribuídas em todas as categorias (mancha simples pequena, manchas simples grande e manchas gêmeas). No cruzamento ST, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com o extrato associado ao DXR, esta acima do valor obtido no controle positivo (Figura 5).

Tabela 5 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) após tratamento com extrato aquoso obtido de partes aéreas de *M. charantia* associados ao DXR (MCP Aq + DXR).

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total <i>mwh</i> ^c
ST		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(n)
CN	20	(0,40) 8	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,50) 10	10
DXR (0,125)	20	(3,20) 64 +	(2,20) 44 +	(3,25) 65 +	(8,65) 173 +	173
MCP Aq + DXR (1,25)	20	(10,90) 218 +	(9,90) 198 +	(6,65) 133 +	(27,45) 549 +	543
MCP Aq + DXR (2,5)	20	(8,20) 164 +	(4,15) 83 -	(3,55) 71 -	(15,90) 318 -	312
MCP Aq + DXR (5,0)	8*	(12,13) 97 -	(10,88) 87 -	(6,13) 49 -	(29,13) 233 -	214

^a Diagnóstico 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 $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; * Citotóxico; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCP Aq + DXR- Partes aéreas de *M. charantia* L.: extrato aquoso associados com DXR.

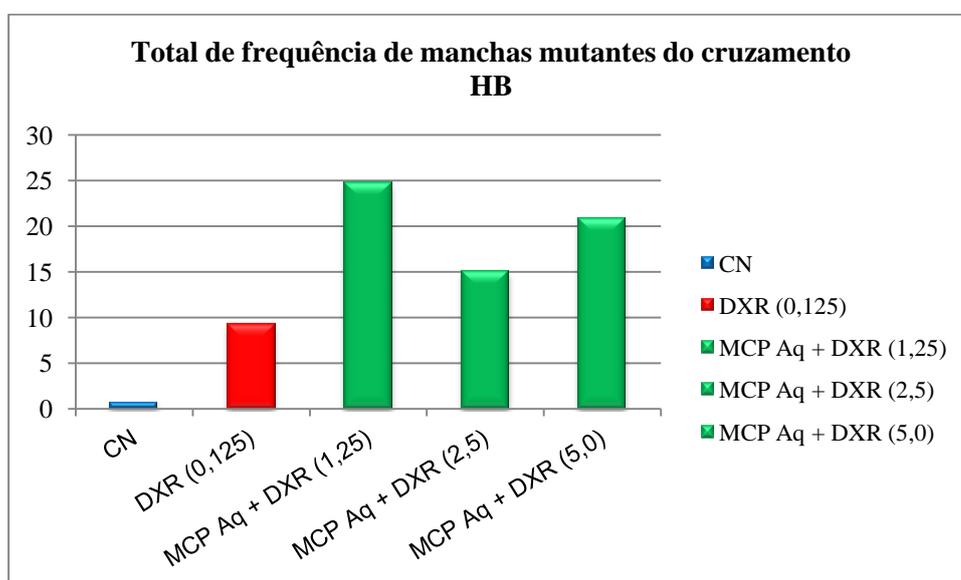
Figura 5 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento padrão (ST).

A tabela 6 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento HB, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido das partes aéreas de *M. charantia* L. associados com DXR. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle positivo foi de 9,25, enquanto que os grupos tratados com extrato aquoso apresentaram frequências de mutação variando de 15,05 a 24,78 distribuídas em todas as categorias (manchas simples pequenas, manchas simples grande e manchas gêmeas). No cruzamento HB, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com o extrato associado ao DXR, estão acima do valor obtido no controle positivo (Figura 6).

Tabela 6 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento alta capacidade de bioativação (HB) após tratamento com extrato aquoso obtido das partes aéreas de *M. charantia* associados ao DXR (MCP Aq + DXR).

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total mwh ^c
HB		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(n)
CN	40	(0,70) 28			(0,70) 28	28
DXR (0,125)	40	(3,90) 156 +	(1,95) 78 +	(3,40) 136 +	(9,25) 370 +	362
MCP Aq + DXR (1,25)	40	(7,88) 315 +	(7,28) 291 +	(9,63) 385 +	(24,78) 991 +	931
MCP Aq + DXR (2,5)	40	(5,40) 216 f+	(4,53) 181 +	(5,13) 205 f+	(15,05) 602 f+	579
MCP Aq + DXR (5,0)	40	(7,40) 296 +	(5,63) 225 +	(7,80) 312 +	(20,83) 833 +	812

^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 Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCP Aq + DXR- Partes aéreas de *M. charantia* L.: extrato aquoso associados com DXR. Figura 6 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento de alta bioativação (HB).

A tabela 7 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento ST, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido do fruto de *M. charantia* L. associados com DXR. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle positivo foi de 32,55, enquanto que os grupos tratados com os extratos apresentaram frequência de mutação variando de 30,10 a 38,80 distribuídas em todas as categorias (mancha simples pequena, manchas simples grande e manchas gêmeas).

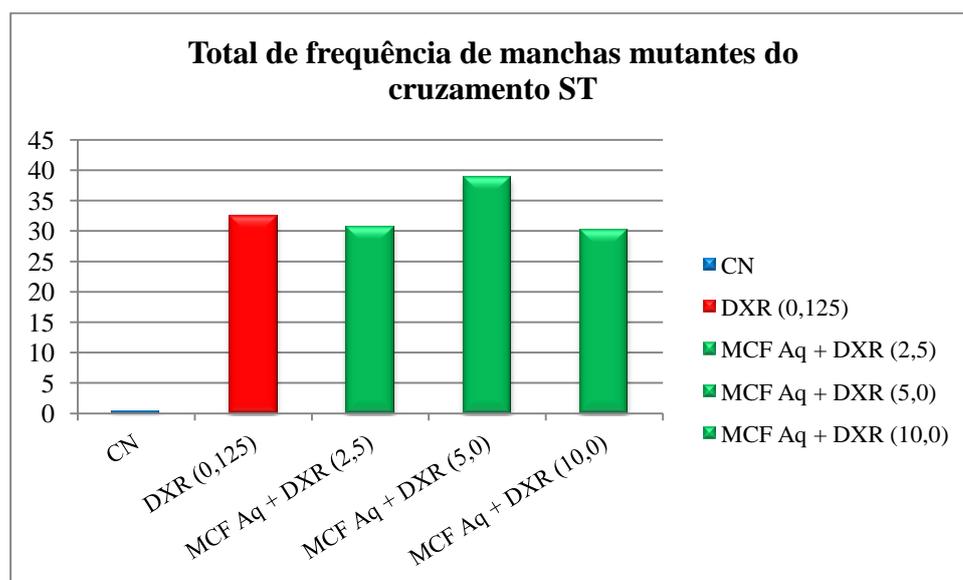
No cruzamento ST, os valores das frequências de mutações, com o extrato nas concentrações de 2,5 mg/mL e 10,0 mg/mL associados ao DXR, não difere estatisticamente do valor obtido no controle positivo. Entretanto a concentração intermediária (5,0 mg/mL)

apresenta um aumento significativo de mutações em relação ao observado no controle positivo (Figura 7).

Tabela 7 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (ST) após tratamento com extrato aquoso do fruto de *M. charantia* associados ao DXR (MCF + DXR).

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total mwh ^c
ST		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(n)
CN	20	(0,30) 06	(0,05) 01	(0,05) 01	(0,40) 08	08
DXR (0,125)	20	(15,35) 307 +	(9,10) 182 +	(8,10) 162 +	(32,55) 651 +	637
MCF Aq + DXR (2,5)	20	(9,60) 192 f+	(11,65) 233 f+	(9,10) 182 -	(30,65) 613 -	599
MCF Aq + DXR (5,0)	20	(14,15) 293 -	(11,45) 229 f+	(13,20) 264 f+	(38,80) 776 f+	743
MCF Aq + DXR (10,0)	20	(11,80) 236 f+	(7,10) 142 f+	(11,20) 224 f+	(30,10) 602 -	584

^a Diagnóstico 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 $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCF Aq + DXR- Fruto de *M. charantia* L.: extrato aquoso associados com DXR.

Figura 7 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento padrão (ST).

A tabela 8 apresenta os resultados da análise das frequências de manchas mutantes obtidas nos descendentes do cruzamento HB, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso obtido do fruto de *M. charantia* L. associados com DXR. Verifica-se que a frequência de mutações obtidas no controle positivo foi de 26,00, enquanto que os grupos tratados com extrato aquoso associado ao DXR apresentaram frequências de mutações variando de 13,60 a 21,55 distribuídas em todas as categorias (manchas simples pequenas,

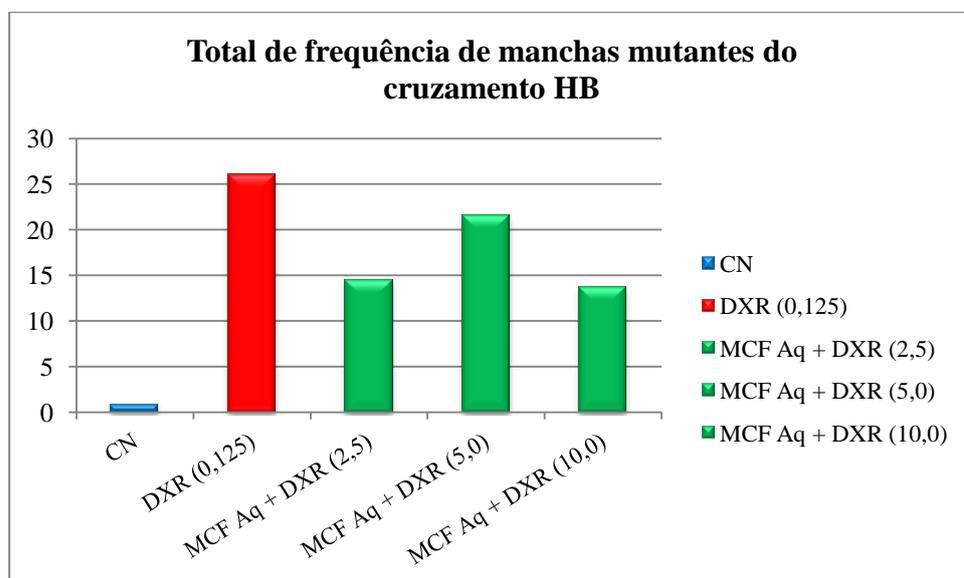
manchas simples grande e manchas gêmeas). No cruzamento HB, os valores das frequências de mutações, dos grupos tratados com o extrato, não estão acima do valor obtido no controle positivo (Figura 8).

No cruzamento HB, os valores das frequências de mutações apresentaram uma diminuição significativa em relação ao controle positivo, principalmente na concentração maior e menor, a concentração intermediária (5,0 mg/mL) observou-se uma diminuição sendo considerada fraco positiva quando comparada com o controle positivo (Figura 8).

Tabela 8 - Frequências de manchas mutantes observadas em asas de descendentes trans-heterozigotos marcados (*mwh/flr³*) de *D. melanogaster* do cruzamento padrão (HB) após tratamento com extrato aquoso do fruto de *M. charantia* associados ao DXR (MCF + DXR).

Concentração mg/mL ⁻¹	Indiv. (N)	MSP (1-2 céls) ^b	MSG (>2 céls) ^b	MG	TM	Total mwh ^c
HB		<i>m</i> = 2 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 5 ^a	<i>m</i> = 2 ^a	(n)
CN	20	(0,60) 12	(0,30) 06		(0,85) 17	0
DXR (0,125)	20	(5,30) 106 +	(9,10) 182 +	(11,60) 232 +	(26,00) 520 +	506
MCF Aq + DXR (2,5)	20	(4,80) 96 -	(3,05) 61 +	(6,65) 133 +	(14,50) 290 +	283
MCF Aq + DXR (5,0)	20	(4,30) 86 -	(6,05) 121 f+	(11,20) 224 -	(21,55) 431 f+	412
MCF Aq + DXR (10,0)	20	(3,95) 79 f+	(4,60) 92 +	(5,05) 101 +	(13,60) 272 +	261

^a Diagnóstico 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 $\alpha = \beta = 0,05$; ^b Incluindo manchas simples *flr³* raras; ^c Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas; ^d Apenas manchas simples *mwh* podem ser observadas nos indivíduos heterozigotos *mwh/TM³*, já que o cromossomo balanceador *TM³* não contém o gene mutante *flr³*; MSP: Mancha simples pequena; MSG: Mancha simples grande; MG: Mancha gêmea; TM: Total de manchas.



CN – Controle negativo, DXR – Doxorubicina, MCF Aq + DXR- Fruto de *M. charantia* L.: extrato aquoso associados com DXR.

Figura 8 - Frequência de manchas por indivíduos resultantes do cruzamento de alta bioativação (HB).

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o extrato aquoso e etanólico das partes aéreas de *M. charantia* L. em ambos os cruzamentos (Figura 1 e 2), indicam que nas condições experimentais descritas, não exercem atividade genotóxica, pois as frequências de mutações observadas, nos grupos tratados, não diferem significativamente quando comparadas com o controle negativo. Entretanto, os resultados obtidos com o extrato aquoso dos frutos (Figura 3 e 4) indicam que o mesmo exerce atividade citotóxica e genotóxica nas maiores concentrações, pois as frequências de mutações observadas, nos grupos tratados com as maiores concentrações, diferem significativamente quando comparadas com o controle negativo.

Comparando-se os resultados de genotoxicidade obtidos no cruzamento ST (Figura 1 e 3), com o cruzamento HB (Figura 2 e 4) que apresenta altos níveis da enzima citocromo P-450 de metabolização de xenobióticos, verifica-se que os resultados obtidos com os extratos preparados com as partes aéreas e frutos são similares, pois ambos exerceram suas atividades independentemente da ação das enzimas de metabolização. Os resultados obtidos com os extratos das partes aéreas indicaram que não são genotóxicos após a metabolização e os resultados obtidos com os extratos dos frutos são genotóxicos em altas concentrações independentemente da metabolização (GRAF; VAN SCHAIK, 1992).

Os trabalhos relacionados à genotoxicidade e antigenotoxicidade de extratos obtidos de frutos da *M. charantia* L. utilizando os sistemas testes (*Allium cepa*, AMES, Miconúcleo e Aberração Cromossômica) indicam que nas menores concentrações o extrato não exerce atividade genotóxica, mas sim antigenotóxica.

Os resultados obtidos nessa pesquisa estão de acordo com os encontrados por Hanusch e colaboradores (2009), quando avaliaram a atividade mutagênica de extratos etanólicos obtidos de todas as partes da planta de *M. charantia* L. (folha, caule, raiz, polpa do fruto, porção carnosa da semente e casca do fruto), nas concentrações de 10, 25, 50 e 70 mg/L utilizando o bioensaio do *Allium cepa*. Os maiores índices de alterações cromossômicas foram encontrados nas raízes dos bulbos de *A. cepa*, expostos aos extratos da raiz, porção carnosa da semente e casca de *M. charantia* L., sendo assim considerados genotóxicos nesse sistema teste.

Sumanth; Chowdary (2010) avaliaram a atividade antigenotóxica de extratos aquosos obtidos de frutos de *M. charantia* L., utilizando o ensaio do micronúcleo e o teste de aberração cromossômica em medula óssea de camundongos. Os animais foram tratados com 900 mg/Kg por via oral por 24, 48 e 72 horas. Os camundongos tratados com o extrato

apresentaram uma diminuição significativa na frequência de micronúcleos ou de aberrações cromossômicas, estatisticamente diferente da observada no controle positivo (Ciclofosfamida, 100 mg/Kg), este resultado indica que nesta concentração o extrato possui atividade antigenotóxica

Varella e colaboradores (2001), avaliaram a mutagenicidade e antimutagenicidade do extrato etanólico de *M. charantia* L. em diferentes concentrações (0,64, 1,27, 2,55 e 3,84 mg/placa) por meio do teste de AMES, utilizando as linhagens TA100, TA98 e TA102 de *Salmonella typhimurium*, com ativação microssomal (ativação metabólica). Nas concentrações avaliadas, o extrato não apresentou atividade mutagênica, mas atuou como antimutagênico.

No presente trabalho, utilizando o ensaio SMART, a concentração de 10,0 e 20,0 mg/mL do extrato aquoso do fruto foi citotóxica e genotóxica. Os resultados obtidos na presente pesquisa são relevantes, pois os agentes anticâncer apresentam tais atividades. A atividade citotóxica pode ser atribuída a compostos tóxicos, cucurbitacinas e triterpenóides tetracíclicos oxigenados encontrados nesta planta (ALMEIDA, 2002).

Os resultados obtidos com o extrato aquoso das partes aéreas associado com DXR (Figura 5 e 6), indicam que nas condições experimentais descritas, exercem atividade sinérgica, pois as frequências de mutações observadas nos grupos tratados, diferem significativamente quando comparadas com o controle positivo (DXR) potencializando o efeito genotóxico deste quimioterápico. Os resultados obtidos com o extrato aquoso dos frutos no cruzamento padrão (Figura 7), nas concentrações 2,5 e 10 mg/mL indicam que o extrato não protegeu o DNA dos danos genotóxicos ocasionados por DXR, a concentração de 5 mg/mL apresentou efeito sinérgico potencializando a ação genotóxica deste quimioterápico.

Comparando-se os resultados obtidos com os trabalhos descritos na literatura onde extratos de *M. charantia* L. exerceram atividade antigenotóxicas em diversos sistemas teste; os resultados encontrados na presente pesquisa podem ser atribuídos aos metabólitos secundários encontrados neste extrato, os quais em altas concentrações e na presença de DXR potencializaram seu efeito genotóxico no ensaio SMART, provavelmente por inibirem enzimas envolvidas na metabolização e detoxificação do DXR. Na concentração de 10 mg/mL (Figura 7), verificou-se uma redução das mutações, essa redução pode ser atribuída a ativação das enzimas de reparo do DNA.

Alguns metabólitos secundários foram avaliados no ensaio SMART, como a Cubebina. Rezende e colaboradores (2011) avaliaram a mutagenicidade e recombinogenicidade da cubebina utilizando esse ensaio. Quando avaliada sozinha, a

cubebina não induziu mutações e recombinações e quando associada com DXR, em baixas concentrações reduziu as frequências de manchas provocadas pelo DXR, mais em altas concentrações potencializou o efeito mutagênico do DXR. Os autores sugerem que a Cubebina pode atuar como um sequestrador de radicais livres (antioxidantes) em baixas concentrações e um pró-oxidante em concentrações mais elevadas quando interage com o sistema enzimático que catalisa a desintoxicação metabólica do DXR.

Os resultados do presente trabalho (Figura 5, 6 e 7) podem ser atribuídos a tais compostos pró-oxidantes. Liu e colaboradores (2010) isolaram do caule de *M. charantia* L. compostos triterpenoides multiflorano e dois triterpenoides cucurbitano os quais apresentaram atividade antioxidante, contudo esses compostos podem ter essa ação em baixas concentrações e serem pró-oxidantes em altas concentrações interagindo com o sistema enzimático que catalisa a desintoxicação metabólica de DXR.

Souza e colaboradores (2009) avaliaram a genotoxicidade e antigenotoxicidade de uma preparação comercial do pó da casca e caule de *Tabebuia impetiginosa* também utilizando o teste SMART. Verificou-se que o pó não modificou as frequências espontâneas de manchas mutantes em ambos os cruzamentos, quando comparado ao controle negativo. Entretanto, quando associados com DXR, a *T. impetiginosa* foi tóxica em ambos os cruzamentos na concentração mais alta, e no cruzamento HB potencializou o efeito genotóxico do DXR. Os autores propuseram que essa ação se deve à constituintes da *T. impetiginosa* que podem interagir com os sistemas de enzimas que catalisam a desintoxicação metabólica do DXR ou constituintes que geram radicais superóxidos e que estimulam a oxidação microsomal do NAD (P) H.

Observou-se no presente estudo que os extratos obtidos da planta *M. charantia* L. apresentam substâncias com características “Janus”, termo empregado para denominar substâncias que se comportam como agentes genotóxicos e antigenotóxicos dependendo dos tipos celulares ou doses utilizadas (VON BORSTEL; HIGGINS et al., 1998). Tavares e colaboradores (2006) observaram o fenômeno “Janus” no extrato etanólico da própolis verde, pois este extrato em menor concentração inibiu as lesões causadas por DXR, enquanto que nas maiores houve aumento de danos genéticos.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com os extratos das partes aéreas e do fruto de *M. charantia* L. na presente pesquisa, somados aos encontrados na literatura especializada, nos permite concluir que os extratos aquoso e etanólico das partes aéreas não possuem atividade genotóxica quando avaliados puros, mas associados ao agente químico DXR, ele potencializa a genotoxicidade do mesmo. Entretanto, o extrato aquoso do fruto apresenta atividade citotóxica e genotóxica em altas concentrações. Porém, em menores concentrações, quando associados ao DXR reduz a ação genotóxicas deste composto.

Contudo, novos estudos devem ser feitos para confirmar os efeitos sinérgicos, genotóxicos e citotóxicos encontrados nos extratos desta planta. Assim como o efeito moderador de genotoxicidade dessa planta, onde os extratos poderão ser avaliados em associação com outros agentes quimioterápicos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. P. F. Cucurbitáceas hortícolas. Faculdade de Ciências, **Universidade do Porto**. Porto, p. 1-2, 2002. Disponível em: <<http://dalmeida.com/hortnet/apontamentos/Cucurbitaceas.pdf>>. Acesso em: 03 ago. 2010.

ANDRADE, H. H. R.; LEHMANN, M. Teste para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*. In RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**, Canoas: Editora ULBRA, Edição Única, p. 281-307, 2003.

CARVALHO, N. C. **Avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico de *Melissa officinalis***. 2009. 45f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade do Extremo Sul Catarinense, Craniúna

DALOUH, A.; AMKISS, S.; SKALI, S. N.; ABRINI, J.; IDAOMAR, M. Genotoxicity and antigenotoxicity studies of commercial *Argania spinosa* seed oil (argan oil) using the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **African Journal of Food Science**, Nairobi, v. 4, n. 7, p. 434 – 439, 2010.

FRANCHI, L. P.; GUIMARÃES, N. N.; LEHMANN, M.; ANDRADE, H. H. R.; CUNHA, K. S. Ausência de efeito tóxico-genético de *Morinda citrifolia* (Noni) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, GO, v. 5, n. 3, p. 46 - 53, 2008.

FREI, H.; CLEMENTS, J.; HOWE, D.; WÜRGLER, F. E. The genotoxicity of the anti-cancer drug mitoxantrone in somatic and germ cells of *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, Nova York, v. 279, p. 21-33, 1992.

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**, Nova York, v. 203, p. 297-308, 1988.

GONZAGA, V.; FONSECA, J. N. L.; BUSTAMANTE, P. G.; TENENTE, R. C. V. Intercâmbio de germoplasma de cucurbitáceas. **Revista da Sociedade de Olericultura do Brasil**, Brasília, v. 17, p. 06-09, 1999.

GRAF, U.; VAN SCHAIK, N. Improved high bio activations cross for the wing somatic mutations and recombination test in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**, Nova York, n. 271, p. 59-67, 1992.

GRAF, U.; ABRAHAM, S. K.; RINCÓN-GUZMÁN, J.; WURGLER, F. E. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**, Nova York, v. 402, p. 203-209, 1998.

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

GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 123–132, 2004.

HANUSCH, A. L.; MIRANDA, C. T.; VIEIRA, S. S.; SANT'ANNA, P. L.; MACHADO, R. C.; MANFRIM, M. G.; COSTA, M. B.; SILVA, C. C.; CRUZ, A. D. Atividade mutagênica de extratos de *Momordica charantia* L. (cucurbitaceae) utilizando *Allium cepa* como sistema teste. In: Congresso Brasileiro de Genética, 55., 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Genética, 2009. p. 70 – 70.

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

LIU, C. H.; YEN, M. H.; TSANG, S. F.; GAN, K. H.; HSU, H. Y. e LIN, C. N. Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia*. **Food Chemistry**, Barking. v. 118, p. 751–756, 2010.

MAIA, R. R.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA JUNIOR, J. P.; ALBUQUERQUE, A. C. L.; PEREIRA, L. F.; MACEDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, A. V. Efeito antimicrobiano do extrato de *Momordica charantia* Linn isolado e em associação com antibióticos sobre *Staphylococcus aureus* multirresistentes. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido, UFCG**, Patos, v. 04, n. 1, p. 12-17, 2008.

MATTHEWS, M. L.; ENDRESS, P. K. Comparative floral structure and systematics in Cucurbitales (Corynocarpaceae, Coriariaceae, Tetramelaceae, Datisceae, Begoniaceae, Cucurbitaceae, Anisophylleaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres. v. 145, n. 2, p. 129–185, 2004.

MONTES-HERNANDEZ, S.; EGUIARTE, L. E. Genetic structure and indirect estimates of gene flow in three taxa of Cucurbita (Cucurbitaceae) in western Mexico. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 89, p. 1156-1163, 2002.

PAOLINI, M.; NESTLE, M. Pitfalls of enzyme-based molecular anticancer dietary manipulations: food for thought. **Mutation Research**, Nova York, v. 543, n. 3, p. 181-189, 2003.

PEREIRA, L. F.; HIGINO, J. S.; SOUZA, I. A.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, M. S. V. Efeito antimicrobiano dos extratos de *Momordica charantia* Linn. e *Psidium Gecajava* Linn. isolados e em associação sobre linhagens de *Staphylococcus aureus*. In: Encontro de Iniciação Científica da UFPB, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2006. P. 72 – 72.

RAY, R. B.; CHOUDHURI, A. E STEELE, P.; NERURKAR, P. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis. **Cancer Research**, Philadelphia. v. 70, n. 5, p. 1925–1931, 2010.

REZENDE, A. A. A.; SILVA, M. L. A.; TAVARES, D. C.; CUNHA, W. R.; REZENDE, K. C. S.; BASTOS, J. K.; LEHMANN, M.; ANDRADE, H. H. R.; GUTERRES, Z. R.; SILVA, L. P.; SPANÓ, M. A. The effect of the dibenzylbutyrolactolic lignan (-)-cubebin on doxorubicin mutagenicity and recombinogenicity in wing somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Food and Chemical Toxicology**, Kansas City. v. 49 p. 1235–1241, 2011.

RODRIGUEZ, D. B.; LEE, T. C.; CHICHESTER C. O. Comparative study of the carotenoid composition of the seeds of ripening *Momordica charantia* and Tomatoes. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 56, n. 5, p. 626-629, 1975.

SOUZA, N. C.; REZENDE, A. A. A.; SILVA, R. M. G.; GUTERRES, Z. R. GRAF, U.; KERR, W. E.; SPANÓ, M. A. Modulatory effects of *Tabebuia impetiginosa* (Lamiales, Bignoniaceae) on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 32, p. 382-388, 2009.

SUMANTH, M. M.; CHOWDARY, G. N. Antimutagenic activity of aqueous extract of *Momordica charantia*. **International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research**, Lanchow. v. 1, n. 4, p.42-46, 2010.

TAVARES, D. C.; MAZZARON BARCELOS, G. R.; SILVA, L. F.; CHACON TONIN, C. C.; BASTOS, J. K. Propolis-induced genotoxicity and antigenotoxicity in Chinese hamster ovary cells. **Toxicology In Vitro**, Roma, v. 20, n. 7, p. 1154-1158, 2006.

TAYLOR, L. Technical data report for bitter melon (*Momordica charantia*). **Herbal Secrets of the Rainforest**, 2 ed, [S.I.] 103p. 2002.

VARELLA, S. D.; GONÇALVES, E. R.; BIELLA, C. A.; VARANDA, E. A.; SACRAMENTO, L. V. S. Avaliação do extrato de *Momordica charantia* em *Salmonella typhimurium*: mutagenicidade e antimutagenicidade. **Revista Ciência Farmacêutica**, Araraquara-Jaú. v. 22, n. 1, p. 41-56, 2001.

VON BORSTEL, R. C.; HIGGINS, J. A. Janus carcinogens and mutagens. **Mutation Research**, Nova York, v. 402, n. 1-2, p. 321-329, 1998.