



**FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO  
AMBIENTE**

**FABIANE FÃO**

**EXTRAÇÃO, ANÁLISE DE POTENCIAL  
MUTAGÊNICO DA SEIVA DA CASCA DE *Croton  
lechleri* (Müll. Arg) NA CIDADE DE ARIQUEMES,  
RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL.**

**Fabiane Fão**

**EXTRAÇÃO, ANÁLISE DE POTENCIAL  
MUTAGÊNICO DA SEIVA DA CASCA DE *Croton  
lechleri* (Müll. Arg) NA CIDADE DE ARIQUEMES,  
RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL.**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Licenciatura em Química da Faculdade de Educação e Meio Ambiente- FAEMA, como requisito parcial a obtenção do título de licenciado em Química.  
Prof. Orientador: Ms. Renato André Zan.

**Fabiane Fão**

**EXTRAÇÃO, ANÁLISE DE POTENCIAL  
MUTAGÊNICO DA SEIVA DA CASCA DE *Croton  
lechleri* (Müll. Arg) NA CIDADE DE ARIQUEMES,  
RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL.**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Licenciatura em Química da Faculdade de Educação e Meio Ambiente-FAEMA, como requisito parcial a obtenção do título de licenciado em Química.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Orientador Ms. Renato André Zan  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente

---

Prof.Ms. Fábيا Maria Pereira de Sá  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente

---

Prof.Es. Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente

Ariquemes, 14 de junho de 2011

Dedico esta conquista aos meus pais, como uma pequena forma de reconhecimento por tudo que fizeram e ainda fazem por mim para que eu chegasse até aqui.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me dar forças nos momentos mais difíceis, a toda minha família que contribuiu em todos os sentidos para a minha formação a quem devo tudo isso que sou e conquistei.

A minha madrinha Filomena M<sup>a</sup>. Minetto Brondani, inspiração a qual tive para cursar Química, ao meu Orientador Prof. Ms. Renato André Zan, pela atenção, paciência e contribuição dedicados a este trabalho e por sua amizade.

Agradeço a todos os colegas de sala, em especial Rosana pela paciência e por todos os momentos vividos durante esses quatro anos juntas.

Não podendo esquecer de agradecer em especial a Sandrinha, Cleiton e Suelen, pela imensa contribuição para que eu pudesse finalizar a etapa deste trabalho.

Minha imensa gratidão pela colaboração de todos vocês.

*"Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar nos sonhos que se têm, ou que os seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém, quem acredita sempre alcança..."*

*Renato Russo*

## RESUMO

Grande parte das espécies vegetais brasileiras ainda não foi estudada do ponto de vista químico e farmacológico. Químicos orgânicos começaram a analisar substâncias extraídas de vegetais, e que se caracterizam por ser potencialmente tóxicas. No estado de Rondônia muitas plantas são usadas na Medicina popular para o tratamento de enfermidades, entre elas a espécie *Croton lechleri*, conhecida na região como sangue-de-dragão, produtora de látex cuja composição química é rica no alcalóide taspina, reconhecido por sua ação antiinflamatória, analgésica e cicatrizante. Assim, a avaliação do seu potencial mutagênico é necessária no intuito de verificar a segurança do uso feito pela população nas quantidades comumente utilizadas. A partir da casca da planta foi preparado um extrato metílico, o qual foi submetido ao sistema de teste de micronúcleo em *A. cepa*, muito usado em estudos de citotoxicidade de plantas medicinais. Os resultados obtidos mostraram que, em pequenas concentrações, não houve atividades mutagênica, já em concentrações maiores, esta atividade foi observada, alertando quanto ao uso indiscriminado de fitoterápicos. Entretanto, mais estudos precisam ser realizados para que se avalie os riscos-benefícios da utilização do extrato da *C. lechleri* a curto e a longo prazo observações mais conclusivas.

**Palavras-chave:** Mutagenicidade, *Croton lechleri*, micronúcleo, *Allium cepa*

## ABSTRACT

Great part of the Brazilian vegetable species was not yet studied of the chemical and pharmacological point of view. Organic chemists started to analyze substances extracted of vegetables, and that are characterized for being potentially toxics. In Rondônia's State many plants are used in the popular medicine for the illnesses treatment, come in her the species *Croton Lechleri* well-known in the region as blood-of-dragon, latex producer whose chemical composition is rich in alkaloid taspina, recognized by its action anti-inflammatory, analgesic and healing. Thus the evaluation of your potential mutagenic is necessary in intuit of verifying the use safety done by the population in the usually used quantities. From the plant peel was ready a methyl extract, which was submitted micronucleus test system in *A. cepa*, very used in cytotoxicity studies of medicinal plants. The results obtained, they showed that in small concentrations there were activities mutagenic, already in concentrations larger, this activity was observed, alerting regarding the indiscriminate use of herbal. However further studies they need to be accomplished for more conclusive observations.

Keywords: Mutagenicity, *Croton lechleri*, micronucleus, *Allium cepa*



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Árvore da coleta da <i>C. lechleri</i> .....	16
Figura 2- Estrutura taspina.....	17
Figura 3- Formação de micronúcleo.....	18
Figura 4- Visualização de formação de micronúcleo em célula, microscopia óptica aumento de 400 X.....	19
Figura 4- Casca da <i>C.lechleri</i> e álcool metílico .....	222
Figura 5- Rotaevaporação e obtenção do extrato. ....	233
Figura 6- a) Bulbos em frasco para germinação, b) 50 Bulbos postos a germinar..	244
Figura 7- a) Bulbos germinados, b) Bulbos germinados .....	244
Figura 8- a) Corte dos meristemas da <i>A. cepa</i> , b) esfregaços nas lâminas .....	255
Figura 9- Coloração das lâminas no Kit Panótipo Rápido .....	255
Figura 10- a) Lâminas coradas, b) Lâminas coradas. ....	266
Figura 11- Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de <i>A.cepa</i> , por dosagem em amostra de extrato.....	29

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
2.1 HISTÓRICO DO USO DE PLANTAS .....	13
2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E BOTÂNICAS DA <i>C.lechleri</i> .....	155
2.3 MUTAGENICIDADE.....	17
2.3 TESTE DE MICRONÚCLEO.....	189
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	21
3.1 GERAL .....	21
3.2 ESPECÍFICOS.....	21
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	222
4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO .....	22
4.2 ANÁLISE MUTAGÊNICA.....	23
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	266
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	27
5.1. EXTRATO.....	27
5.2 MICRONÚCLEO.....	27
<b>CONCLUSÃO</b> .....	30
<b>REFERENCIA</b> .....	31

## INTRODUÇÃO

Grande parte do mundo em desenvolvimento, cerca de 70-95% da população depende de medicamentos tradicionais para a atenção básica. No entanto, a investigação científica é necessária para fornecer a evidência adicional de sua segurança e eficácia (WHO, 2011). Extratos vegetais, assim como, moléculas isoladas têm desempenhado um papel importante na descoberta de novas drogas (SUFFREDINI e DALLY, 2001).

Grande parte das espécies vegetais brasileiras ainda não foi estudada do ponto de vista químico e farmacológico, o que representa um grande potencial econômico, a ser explorada. O Brasil se destaca por sua biodiversidade e, por isso, torna-se imprescindível à avaliação das potencialidades químicas das plantas brasileiras, em especial das espécies vegetais da região amazônica (CECHINEL FILHO e ROSENO, 1998).

Com o aumento considerável na demanda de novos compostos, atualmente, muitos estudos na área de produtos naturais têm sido conduzidos com o biomonitoramento de seus extratos vegetais. Grupos de pesquisa especializados em investigar atividades biológicas estão se formando ou mesmo se consolidando, desempenhando um importante papel na busca de moléculas que possa potencial para se tornar uma nova droga (SUFFREDINI e DALLY, 2001).

Para algumas dessas plantas que apresentam propriedades medicinais, não têm o conhecimento suficiente sobre seus princípios ativos, podendo conter substâncias tóxicas, o que torna errado o conceito de que plantas são remédios naturais, portanto livres efeitos tóxicos. Assim torna-se necessário o conhecimento científico das características de determinadas plantas, bem como o seu potencial mutagênico, uma vez que, as plantas vêm sendo usadas como fitoterápico sem nenhum conhecimento dos seus efeitos em longo prazo podendo ocasionar possíveis conseqüências a quem faz uso das mesmas (VIEIRA et al, 2000).

A avaliação do potencial mutagênico é necessária para aumentar a segurança do uso de plantas com fins terapêuticos (STURBELLE, 2010).

Para que fosse possível o desenvolvimento deste estudo, foi levado em consideração a possibilidade de realização dos mesmos, a infra-estrutura da

Instituição e a importância do mesmo na busca por novos fármacos, no estudo da relação estrutura química, atividade biológica e também no conhecimento da biodiversidade do bioma amazônico do Estado de Rondônia.

A triagem de extratos de plantas da Amazônia para a procura de produtos naturais bioativos por ensaios biológicos simples irá estabelecer um modelo para novas investigações nesse campo para preservar, estudar e explorar racionalmente o bioma amazônico do Estado de Rondônia, além de fornecer conhecimentos para uma exploração racional de substâncias bioativas das plantas (DI STASI e HIRUMALIMA, 2002).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DO USO DE PLANTAS

Há muito que nosso país vem sendo alvo de pesquisas internacionais, nos campos mais variados da biologia, da farmácia, da química etc. O Brasil em termos de biodiversidade é considerado o país com maior número de espécies no mundo. Esta riqueza de espécies reflete-se, de acordo com vários autores, no potencial de existência de novo medicamentos (SANTOS, 2009, p.25-26).

A busca racional de princípios bioativos em plantas tem bases etnofarmacológicas, folclóricas, e também, o estudo e a aplicação das plantas medicinais têm base científica e histórica. O estudo das plantas com propriedades terapêuticas relata-se desde o século passado aos dias atuais, avaliando o conhecimento indígena e de outras populações somado aos conhecimentos fitoquímicos e farmacológicos (POLITTO, 2004). Sob este aspecto, é importante ressaltar que o sucesso das investigações na área de princípios ativos naturais depende principalmente, do grau de interação entre a botânica, a química e a farmacologia (CECHINEL FILHO e ROSENO, 1998).

Uma grande parte da composição química das plantas de uso medicinal brasileiras ainda é desconhecida pela ciência. Dados recentes afirmam que cerca de 99% das plantas medicinais do Brasil ainda não têm seus princípios ativos catalogados (SANTOS, 2009).

Por muito tempo, as plantas medicinais e seus extratos constituíram a maioria dos medicamentos. Foi somente no século XIX que os químicos começaram a questionar sobre as verdadeiras propriedades dos extratos obtidos de fontes vegetais, sendo então, o impulso da curiosidade a grande alavanca do progresso da química de produtos naturais. A partir daí, os químicos orgânicos começaram a separar purificar e finalmente, analisar as substâncias produzidas por esses vegetais. Aos poucos, a utilização dos extratos e beberagens foi substituída pela utilização das substâncias ativas isoladas (princípios ativos) (SCHENKEI; GOSMANN e PETROVICK, 2007).

Por exemplo, o uso do quinina em lugar de extratos de quina e da digoxina ou digitoxina em lugar de extratos de *Digitalis* impuseram-se pelas vantagens relativas à reprodutibilidade dos efeitos, pela constância da composição, maior eficácia, segurança e mesmo pela qualidade dos produtos, visto a maior facilidade em se estabelecer especificações para uma substância única em relação a uma mistura complexa de substâncias (SCHENKEI et al, 2007, p. 373-375 ).

Por outro lado, efeitos colaterais decorrentes do uso de medicamentos obtidos por síntese eram frequentes, os custos eram, geralmente, altos. Não existia vantagem em tratar rápida e eficientemente um mal introduzindo outro. A retomada das práticas da fitoterapia teve um novo impulso quando a Assembléia Geral da Organização Mundial da Saúde (OMS) deu início a um programa incentivando o uso de plantas medicinais (WHO, 2000).

Segundo WHO 2011, os medicamentos tradicionais, incluindo fitoterápicos, foram, e continuam a ser, utilizados em todos os países ao redor do mundo com alguma capacidade. Na realização de pesquisas e de avaliação da medicina tradicional o conhecimento e a experiência obtida através da longa história das práticas estabelecidas deve ser respeitada.

A utilização de plantas medicinais principalmente no Brasil tem origem na cultura dos diversos grupos indígenas. A pesquisa por princípios ativos obtidos de plantas medicinais pode gerar a descoberta de novos compostos úteis ao desenvolvimento de novas drogas. Como exemplos clássicos têm-se: o *curare*, mistura de composto extraídos de plantas da América do Sul, utilizadas por tribos indígenas na caça e pesca, aplicada em pontas de lanças e de onde também se extrai a d- tubocurarina, usada como um potente relaxante muscular. A quinina, usada pelos índios como remédio para febre conhecida como “a casca de febre dos índios”, foi utilizada no tratamento de malária (SUFFREDINI e DALLY, 2001).

Substâncias extraídas de plantas desempenham um papel significativo para o desenvolvimento da pesquisa de novos compostos bioativos o que envolve estudos por meio de métodos fitoquímicos, os quais englobam isolamento e purificação de novas substâncias bem como a determinação estrutural e posteriormente sínteses total e parcial, necessária para validar o medicamento (THOMAS, 2010).

Compostos puros foram facilmente obtidos e modificações estruturais permitiram a produção de drogas cada vez mais potentes e seguras. (BOGO, 2009). A partir daí na década de 80 foram desenvolvidos novos métodos de isolamento de

substâncias ativas, possibilitando a extração de substâncias em extratos vegetais, ressurgindo o interesse por compostos de origem vegetal que pudessem ser utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos (DUTRA, 2009). Os bioensaios constituem a primeira abordagem na busca e caracterização dos constituintes químicos e da potencialidade farmacológica de uma substância ou extrato vegetal (PACHÚ, 2007).

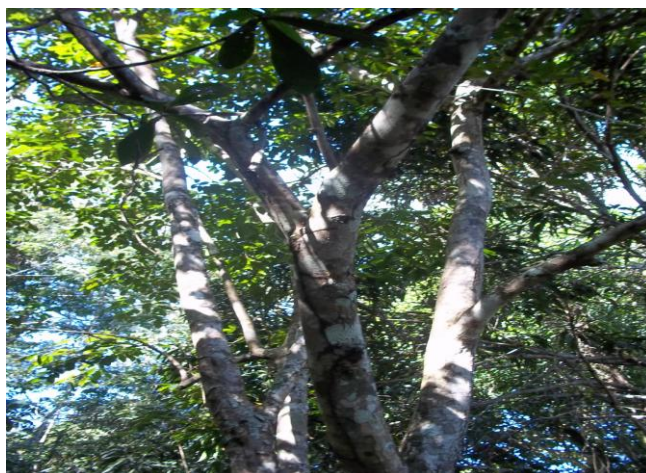
O uso milenar de plantas medicinais mostrou, ao longo dos anos, que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, pesquisas mostram que muitas delas possuem substâncias agressivas e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. Estudos multidisciplinares, associando ensaios fitoquímicos e farmacológicos, tornam-se cada vez mais importantes para a definição dos potenciais terapêuticos e tóxicos de extratos vegetais (VALDIR JUNIOR; PINTO e MACIEL, 2005).

A utilização de espécies vegetais ou mesmo de moléculas isoladas em tratamento de doenças tem exigido investigações em relação à sua atividade tóxica. Os organismos vivos estão freqüentemente expostos a diferentes substâncias mutagênicas que podem causar danos celulares, podendo ser induzidos por agentes químicos, físicos ou biológicos que afetam processos vitais, bem como, alterações cromossômicas. Pelo fato de causarem lesões no material genético podem causar mutações e aberrações cromossômicas, esses agentes são normalmente conhecidos como genotóxicas ou carcinogênicos (COSTA e MENK, 2000).

Muitas plantas conhecidas no estado de Rondônia são usadas, na Medicina Natural para o tratamento de doenças tropicais como: infecções fúngicas, bacterianas, esquistossomose, leishmaniose, malária, dentre outras. Na busca de substâncias com potencial farmacológico o conhecimento de suas características físico-químicas é fundamental para o desenvolvimento de nova droga. A avaliação do potencial mutagênico das plantas medicinais é necessária para aumentar a segurança no uso feito pela população (STURBELLE et al, 2010).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E BOTÂNICAS DA *Croton lechleri*.

Na Amazônia, existem inúmeras espécies de plantas que possuem propriedades medicinais. (OSAKADA, 2009). A família *Euphorbiaceae* é umas das maiores das *Angiospermae*, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, dentre suas espécies se destaca a espécie *C. lechleri*, conhecida como sangue-de-dragão (figura 1), sua árvore pode chegar até 20 m de altura (SMITH, 2006).



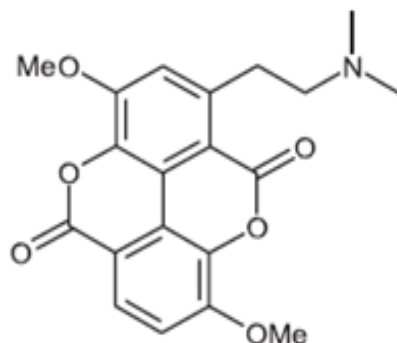
**Figura 1- Árvore da coleta da *C. lechleri***

**Fonte- Arquivo pessoal**

A espécie *C. lechleri* é utilizada como planta medicinal há séculos pelas comunidades indígenas da Amazônia, sua casca produz um látex viscoso cor de sangue, conhecido por este motivo como sangue-de-dragão. A planta apresenta também outros nomes vernaculares como sangue-de-drago e sangue-de-dragão (no Brasil), sangre de grado (na Bolívia, Peru e Equador). Com fins terapêuticos para a cura de diversas enfermidades, apresentando atividade antiinflamatório, cicatrizante de feridas, antidiarréica, analgésico bucal e para a cura de úlceras estomacais (ZEVALLOS-POLLITO e TOMAZELLO FILHO, 2007).

Diversos compostos químicos são extraídos da *C. lechleri*, seus principais princípios ativos são o 3',4-O-dimetilcedrusina, que atua sobre os radicais livres e a taspina (figura 2), um alcalóide incomum com uma estrutura dilactone com um átomo de nitrogênio não incluído em um anel heterocíclico. (ROSSI et al, 2011)





**Figura 2- Estrutura taspina**

Fonte- SALATINO; SALATINO e NEGRI, 2007

Além de compostos fenólicos, também se obtém, a proantocianidinas, diterpenos, catequinas, epicatequina, galocatequina e epigalocatequina, obtida da casca e conhecida como um potente inibidor da toxina da cólera (LOPES e LOPES et al, 2004).

Estudos químicos e biológicos das propriedades do látex da planta em estudo mostram que o extrato bruto de *C. lecheleri* apresenta atividade cicatrizante em desordens cutâneas e se revelou forte antiinflamatório, além de apresentar propriedades anti-tumoral e anti-mutagênica, podendo inibir a proliferação de células leucêmicas nos humanos (OSAKADA, 2009).

### 2.3 MUTAGENICIDADE

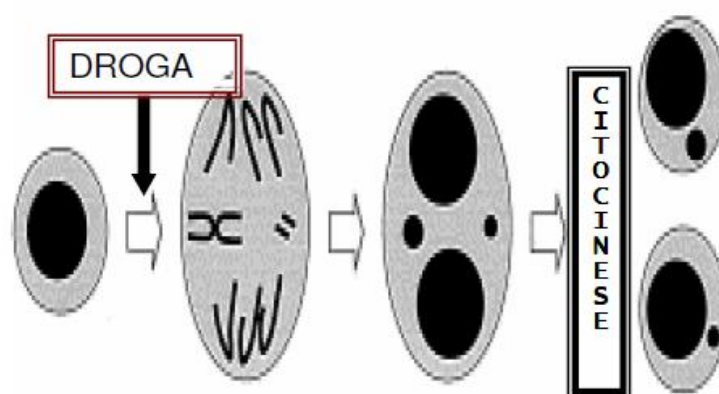
Toda substância, pode ser considerada um agente tóxico, isso vai depender das condições de exposição. É necessário conhecer suas condições de uso seguro e de seu limite de tolerância (RODRIGUES, 2005).

A toxicidade é relacionada com a detecção, composição química e ação biológica de substâncias tóxicas, a toxicidade de uma substância pode ser considerada como a capacidade de ser prejudicial, causando dano grave ao organismo. Os efeitos tóxicos, só se manifestam em organismos se o agente tóxico alcançar locais específicos do organismo, em concentrações e tempo suficiente para produzir algum tipo de efeito (BARROS; DAVINO, 2008). A via de administração,

duração e frequência de exposição, é os fatores mais importantes que influenciam a toxicidade ao organismo mesmo ele, sendo encontrado no interior das células, não está livre de sofrer constantes alterações e mutações (RABELLO-GAY, 1991).

A mutação é definida como qualquer alteração no DNA, podendo ser súbita e herdável, uma vez ocorrida, é mantida e transmitida às moléculas-filhas na estrutura do material genético, e na maioria das vezes, pode desenvolver uma série de problemas maléficis, mas para a sobrevivência da espécie, a mutação também é uma fonte de variabilidade genética dos seres vivos, decorrente de modificações estruturais no material genético. Sendo normal certa quantidade de número de mutações no organismo, normal para o funcionamento das células (ALMEIDA NETO et al, 2005).

As mutações podem ser observadas através da formação de micronúcleos são pequenos corpos contendo DNA, localizados no citoplasma, se manifestam em células por divisão, com resultados de quebras cromossômicas, formando fragmentos acêntricos, ou com seqüências de cromossomos inteiros que não se prendem ao fuso mitótico e dessa forma, não chegam aos pólos das células durante a mitose ou a meiose (MILLER, 1973). Um cromossomo inteiro ou fragmento cromossômico acêntrico não se integra ao novo núcleo (por não estar unido), este também pode constituir um pequeno núcleo individual, chamado de micronúcleo (figura 3), (COSTA, 2006).

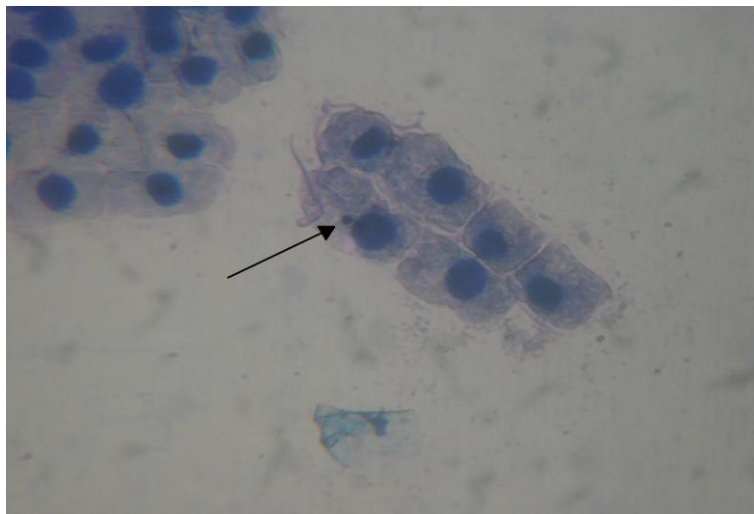


**Figura 3- Formação de micronúcleos em célula**  
 Fonte- SILVA, et al. 2011

## 2.4 TESTE DE MICRONÚCLEOS

O teste de micronúcleos detecta mutagênese em organismos eucariotos do tipo clastogênese, aneugênese e danos no fuso mitótico. Os micronúcleos são identificados em qualquer tipo de célula, podendo os micronúcleos ser avaliados para diagnóstico de doenças hematológicas em células epiteliais da boca, do trato urinário e também monitorar ambientes através de teste com roedores e plantas (LIRA, 2007).

Para que o micronúcleo seja visualizado é necessária uma divisão celular após a ocorrência mutagênica (figura 4), sendo, necessário fazer o cultivo celular, ou usar células que estão se multiplicando constantemente, como a medula óssea (VILLELA et al, 2003).



**Figura 4- Visualização de formação de micronúcleo em célula, microscopia óptica aumento de 400 X.  
Fonte: MENEGUETTI, et al. 2011**

O sistema de teste de micronúcleo em raízes da espécie *A. cepa* (cebola), é definido como sendo um dos melhores para estudos de monitoramento ambiental e mutagenicidade de plantas medicinais, por sua sensibilidade e exatidão, e, porque as raízes da *A. cepa* possuem processo de divisão celular similar aos do homem (GAVRONSKI, 2008). Na região do vale do Jamarí, o método utilizando raízes da *A. cepa*, foi adaptado para aplicabilidade em estudos ambientais e farmacológicos,

sendo o mesmo descrito por Meneguetti e validado pela Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA) (MENEGUETTI, et al 2011).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Analisar a mutagenicidade do extrato metílico de *C. lechleri* (sangue-de-dragão), através do teste de micronúcleo em *A. cepa*.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Revisão bibliográfica da *C. lechleri*;
- Preparar o extrato metílico da seiva da casca da planta *C. lechleri*;
- Análise mutagênica da planta *C. lechleri*.

## 4 METODOLOGIA

A etapa experimental compreende a obtenção do extrato vegetal da espécie *C. lechleri* e realização de ensaio biológico para avaliar o potencial mutagênico do extrato.

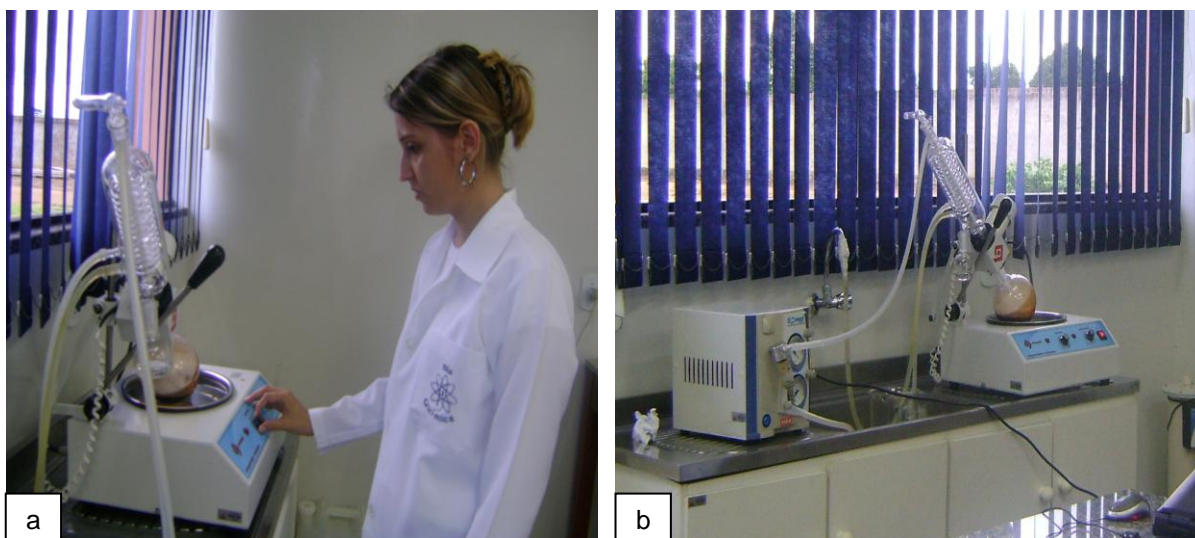
### 4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO

As cascas da planta em estudo foram obtidas na chácara 36, situada na RO 257, Km 12 da cidade de Ariquemes Rondônia, na data de 16/03/2011. E as análises realizadas no laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente- FAEMA.

Após a coleta, seguiu-se para a preparação do extrato. As cascas foram cortadas em tamanhos pequenos, para aumentar a superfície de contato, e, em seguida deixadas em contato com o solvente em um becker pelo período de dois dias (figura 5). O solvente utilizado foi o álcool metílico ou metanol que, devido as suas características de polaridade, possibilita a extração de um maior número de compostos, o qual foi armazenado em recipiente fechado em temperatura ambiente até o momento dos ensaios posteriores. Para a obtenção de um extrato puro, foi feito a evaporação do solvente, sendo utilizado aparelho evaporador rotativo da marca QUIMIS (figura 6).



**Figura 5- Casca da *C. lechleri* e álcool metílico**  
Fonte - Arquivo pessoal



**Figura 6- a) Rotaevaporação e obtenção do extrato, b) Rotaevaporação e obtenção do extrato**  
**Fonte: Neiva Saori Nakamura**

#### 4.2 ANÁLISE MUTAGÊNICA

Os testes de micronúcleo foram realizados segundo a metodologia descrita por MENEGUETTI et al, (2011). Foi utilizados exemplares de *A. cepa* cebolas de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinadas e saudáveis, adquiridas no mercado municipal do município de Ariquemes, Rondônia, Brasil, tendo início no dia 29/04/2011 e término no dia 07/05/2011.

Os bulbos foram postos a germinar, por um período de 6 (seis) dias a temperatura de 25°C, em frascos apropriados, com a parte inferior mergulhada em solução contendo 50 mL de água destilada e o extrato vegetal em teste, em cinco concentrações diferentes, com 10 repetições cada (figura 7). O primeiro experimento contendo apenas água destilada, os seguintes 0,1mL; 0,3 mL; 0,6 mL e 1 mL de extrato da planta.



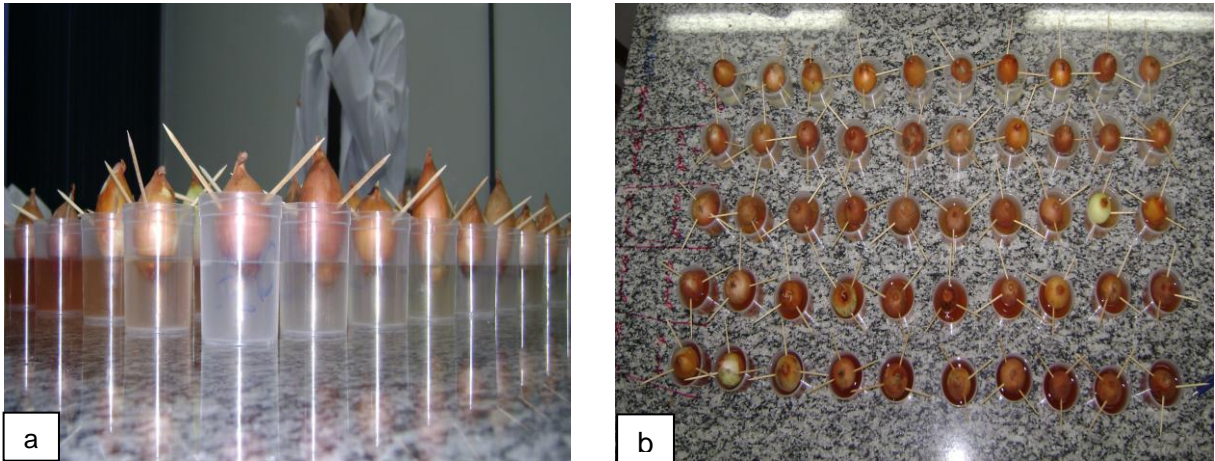


Figura 7- a) Bulbos em frasco para germinação, b) Bulbos postos a germinar  
 Fonte- Alessandra Corrêa Pompeu e Cleiton Costa de Farias

Quando as raízes atingiram o comprimento de 0,5 a 3 cm (figura 8), foram coletadas para análise de micronúcleos, lavadas em água destilada, hidrolisadas com HCl a 1mol/L por 10 minutos em banho-maria a 60C<sup>o</sup> e após, sendo os tubos de ensaio resfriados em água corrente.

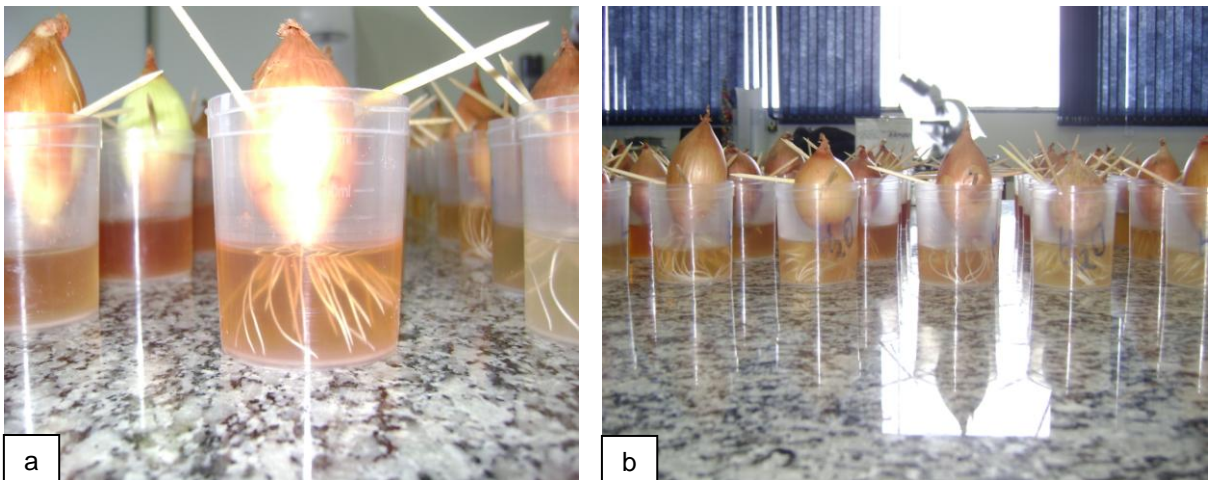
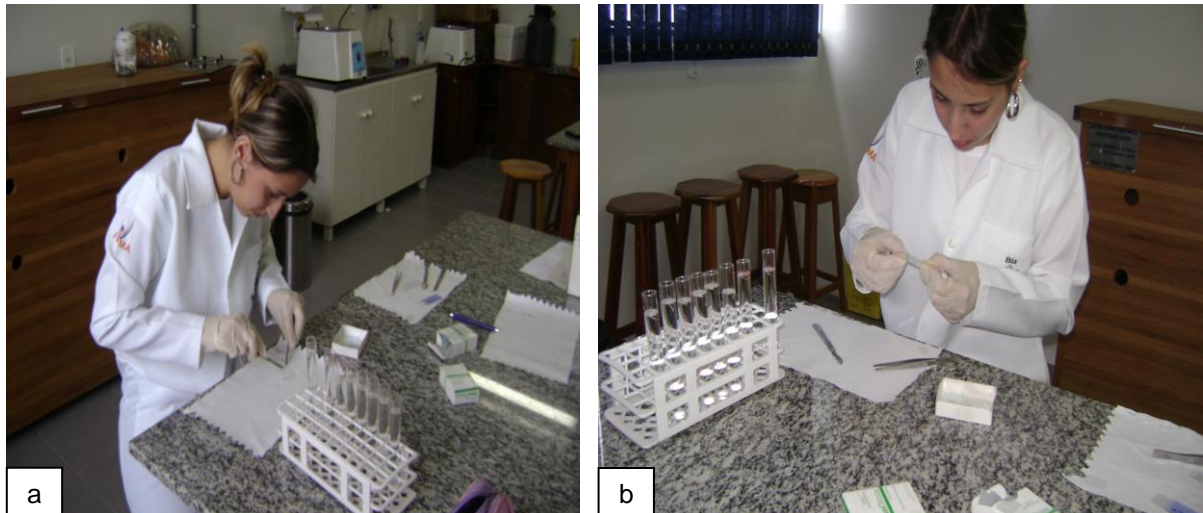


Figura 8- a) Bulbos germinados, b) Bulbos germinados  
 Fonte- Alessandra Corrêa Pompeu e Suelen de Souza Mendes

Após a lavagem dos meristemas hidrolisados em água destilada foram feitos esfregaços em duas lâminas para todas as concentrações, totalizando 100 lâminas (figura 9) e após 30 minutos de secagem as lâminas foram coradas com o Kit Panótico Rápido LB que é composto de três recipientes: o primeiro com triarilmetano a 0,1 %, o segundo com xatenos a 0,1% e o terceiro com tiazinas a 0,1 %, sendo as



lâminas mergulhadas 10 vezes em cada recipiente com submersão de 1 segundo de duração na seqüência acima descrita (figura 10).

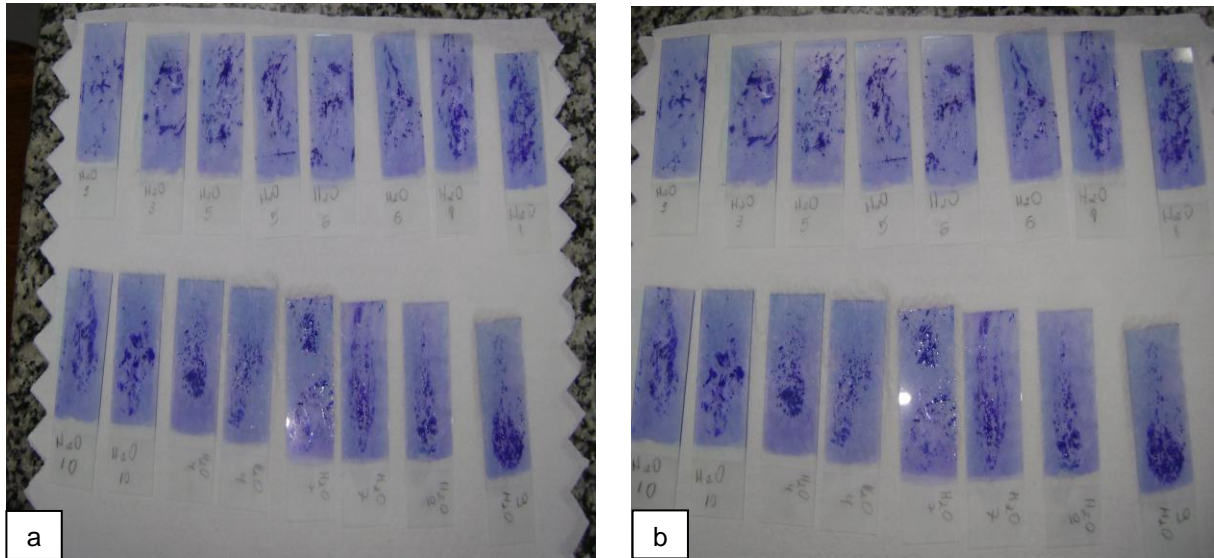


**Figura 9- a) Corte dos meristemas da *A. cepa*, b) Esfregaços nas lâminas**  
Fonte- Patric de Oliveira Poletto



**Figura 10- Coloração das lâminas no Kit Panótipo Rápido**  
Fonte- Patric de Oliveira Poletto

Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água destilada e seca à temperatura ambiente. Em cada repetição das doses, foram preparadas duas lâminas com um total de 100, sendo 20 para cada dose (figura 11).



**Figura 11- a) Lâminas coradas, b) Lâminas coradas**  
**Fonte- Alessandra Corrêa Pompeu**

A avaliação das lâminas consistiu na observação da presença de micronúcleos em 1000 células em interfase por bulbo em microscopia óptica e com aumento de 400 X.

#### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado variância (ANOVA) teste TUKEY, feito pelo Software Graphad PRISM 5.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 EXTRATO

Após a retirada do solvente (álcool metílico), com o uso de evaporador rotativo a uma temperatura constante de 60°C, sendo esse processo repetido por três vezes para obter o máximo possível de extrato puro, obteve-se uma quantidade de 63,5 g de extrato a partir de uma quantidade de 356,4 g da casca da planta estudada, tendo um rendimento de 17, 8 % de extrato puro. O líquido obtido após todo o processo de rotaevaporação era viscoso e de cor vermelho escuro.

### 5.2 MICRONÚCLEO

Os resultados obtidos através da análise mutagênica do extrato obtido da seiva da *C. lechleri*, estão representados na tabela abaixo. (tabela 1)

**Tabela 1. Número e média de micronúcleo, em *A. cepa* a cada 1000 células por lâminas e tratamentos.**

	H <sub>2</sub> O	0,1 mL	0,3 mL	0,6mL	1mL
Frasco 01	3	5	3	16	33
	3	8	9	15	28
Frasco 02	5	9	1	11	16
	4	8	9	12	49
Frasco 03	4	9	5	14	35
	13	4	4	7	32
Frasco 04	8	5	9	8	40
	7	3	6	9	19
Frasco 05	6	7	4	8	39
	6	9	13	10	25
Frasco 06	4	9	16	17	69
	3	4	12	25	58
Frasco 07	6	8	3	17	19
	2	4	5	12	25
Frasco 08	4	5	6	13	30
	7	11	6	8	34
Frasco 09	1	14	8	15	72
	8	9	4	16	66
Frasco 10	8	6	8	4	54
	12	11	16	8	51
Total	114	148	147	245	794
Média	5,7	7,4	7,35	12,25	39,7

Observando os dados da tabela acima, nota-se a presença de 5,7 micronúcleos por lâminas no controle, contendo H<sub>2</sub>O, mostrando que o mesmo está dentro da normalidade. Para os tratamentos contendo 0,1 mL, 0,3mL, 0,6mL, de

extrato obteve-se respectivamente 7,4; 7,35 e 12,25 micronúcleos por 1000 células ( $P>0,05$ ), levando em consideração o desvio padrão, sendo que, não houve significância estatística dos mesmos em relação ao controle negativo (figura 11).

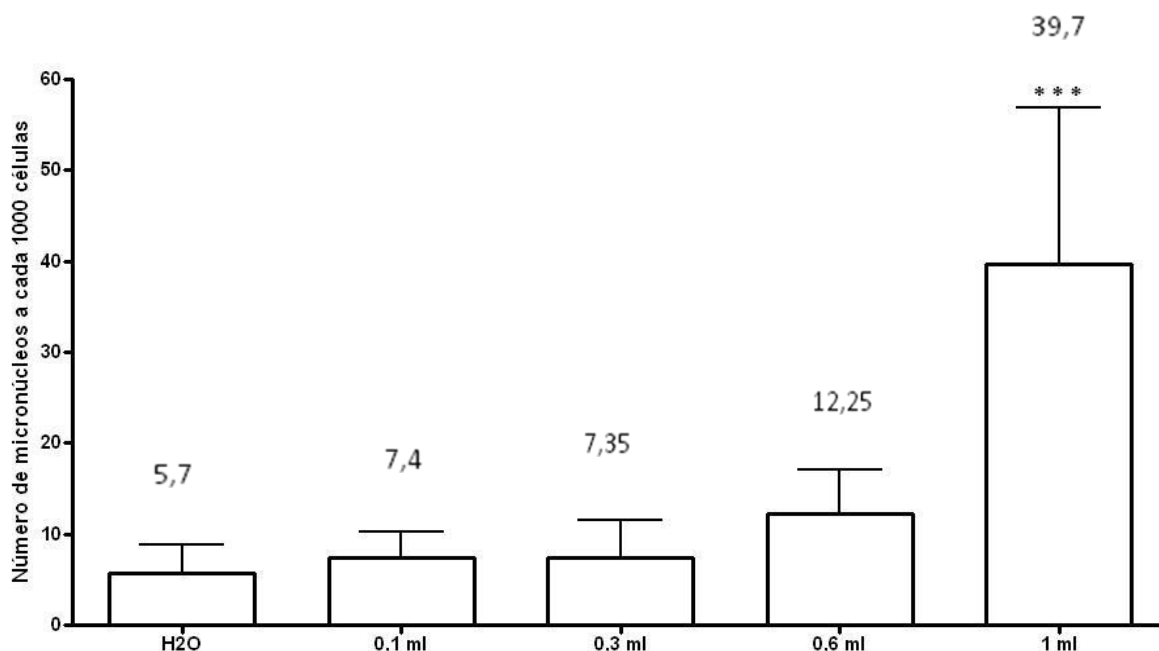


Figura 12- Média de números de micronúcleo encontrados em 1000 células de *A. cepa*, por dosagem em amostra de extrato. Significativo para \*\*\* ( $P<0,001$ ).

Os resultados mostram que, as doses de 7,4; 7,35 e 12,25 não provocam ação mutagênica, não aumentando assim, a probabilidade de mutagênese pelo uso dos mesmos nas respectivas doses. Já para o tratamento, contendo 1mL do extrato o índice de micronúcleo por 1.000 células foi de 39,7 sendo ( $P<0,001$ ) obtendo-se uma alta significância estatística (figura 12). Os resultados mostram que a dose de 1mL tem um alto índice de potencial mutagênico.

Com os resultados pode-se observar que os resultados mostram que o uso de fitoterápicos sem análises prévias dos seus efeitos toxicológicos e mutagênicos podem a curto e longo prazo provocar danos irreversíveis.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o extrato da seiva da casca de *C. lechleri* em pequenas concentrações de 0,1 mL, 0,3mL, 0,6mL para 50 ml de H<sub>2</sub>O não apresentou qualquer atividade mutagênica, não trazendo nenhum risco para o quem faz uso da mesma. No entanto, o resultado obtido com o uso da concentração em 1mL, demonstrou claramente um alto índice de ação mutagênica, o que evidencia o potencial mutagênico desta espécie de planta.

Entretanto, faz-se necessário estudo que avaliem o riscos-benefícios da utilização do extrato de sangue-de-dragão em longo prazo. Além disso, cabe ressaltar que estes resultados são preliminares e futuros estudos precisam ser realizados para investigações mais conclusivas.

## REFERENCIAS

ALMEIDA NETO, Jorge Xavier de et al. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) *IN VIVO*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 5, n. 2, 2005. Disponível em < <http://eduep.uepb.edu.br/rbct/sumarios/pdf/mutagenese.pdf>>. Acesso em: 06/02/2011.

BARROS, Silvia Berlanga de M; DAVINO, Solange C. Avaliação da toxicidade. *In*: Oga, Seizi; CAMARGO, Márcia Maria de Almeida; BATISTUZZO, José Antonio de Oliveira. **Fundamentos de Toxicologia**. 3.ed. São Paulo. Ed. Atheneu, 2008. p.59-70.

BOGO, Danielle. **Avaliação *in vitro* da atividade antineoplásica do ácido lecanórico e de seus produtos de modificação estrutural**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre. Campo Grande, 2009. 67 p. Disponível em: < [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=137989](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=137989)>. Acesso em: 13/09/2010.

CECHINEL FILHO, Valdir; ROSENDO, A. Yunes. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, vol.21, n.1, 1998. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v21n1/3475.pdf>>. Acesso em: 15/11/2010.

CONCEIÇÃO, Heraclito Eugenio Oliveira et al. Crescimento e desenvolvimento de *Derris urucu* (Kilip et Smith) macbride na ausência de macronutrientes em solução nutritiva. **Ciência Agrotécnica, Lavras**, v.26, n.3, 2002. Disponível em:< [http://www.editora.ufla.br/site/\\_adm/upload/revista/26-3-2002\\_04.pdf](http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/26-3-2002_04.pdf)>. Acesso em: 16/03/2011.

COSTA, Renata Maria Augusto; MENK, Carlos Frederico. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. 2000. 26p. Disponível em: < <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio12/biomonitor.pdf>>. Acesso em: 06/08/2010

COSTA, Ronaldo de Jesus. **Avaliação *in vitro* do potencial mutagênico de *Bidens pilosa* Liné (picão-preto) e de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) por meio de ensaio cometa e teste de micronúcleo**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Londrina, 2006. 98 p. Disponível em:<[http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=32810](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=32810)>. Acesso em: 16/02/2011.

DI STASI, Luis Claudio; HIRUMA-LIMA, Clélia Akiko. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. UNESP. 2ª ed. 592 p. São Paulo, 2002. Disponível

em: < <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/up000036.pdf>>. Acesso em: 21/03/2011.

DUTRA, Maria da Glória. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu – Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente do Centro Universitário de Anápolis-UniEVANGÉLICA como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Anápolis, 2009. 112p. Disponível em: < [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=141964](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=141964)>. Acesso em: 15/03/2011.

GAVRONSKI, Léia. **Avaliação da Mutagenicidade de Amostras de Água do Rio dos Sinos através do Teste *Allium cepa*.** Dissertação para obtenção do Título de Mestre em Toxicologia Aplicada. Canoas, 2008. Disponível em: < [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=116000](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=116000)>. Acesso em: 17/04/2011.

LOPES e LOPES, Maria Inez, et al. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. **Journal of Ethnopharmacology.** v 95, p. 437-445. 2004. Disponível em: < [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=MIimg&\\_imagekey=B6T8D-4DK6CGK-4-1&\\_cdi=5084&\\_user=972049&\\_pii=S0378874104004210&\\_origin=search&\\_zone=rslt\\_list\\_item&\\_coverDate=12%2F31%2F2004&\\_sk=999049997&wchp=dGLzVlb-zSkWA&md5=fa41ba425a998531c5c6c01a1d04bbcd&ie=/sdarticle.pdf](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T8D-4DK6CGK-4-1&_cdi=5084&_user=972049&_pii=S0378874104004210&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_coverDate=12%2F31%2F2004&_sk=999049997&wchp=dGLzVlb-zSkWA&md5=fa41ba425a998531c5c6c01a1d04bbcd&ie=/sdarticle.pdf)>. Acesso em: 07/05/2011.

MENEGUETTI, D. U. O; et al **Adaptation of the technical micronucleus in *Allium cepa*, to future analysis of mutagenicity og the rivers of the vale do Jamari-Rondônia, Brasil.** Congresso Brasileiro da Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental, São Paulo, 2011. Disponível em: < <http://www.congressosbmcta.com.br/2011/apresentacao>>. Acesso em: 07/07/2011.

MILLER, Robert C. **The Micronucleus Test as an *in Vivo* Cytogenetic Method.** Environmental Health Perspectives. Institute for Medical Research Camden, New Jersey, 1973. p167-170. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1475553/pdf/envhper00503-0168.pdf>>. Acesso em 07/07/2011.

OSAKADA, Ayumi. **Desenvolvimento inicial de sangue-de-dragão (*Croton lechleri* MULL. ARG) sob diferentes classes de solos, corretivos e níveis de luminosidade na Amazônia central.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS. Manaus, Amazonas. Fevereiro, 2009. 75p. Disponível em: < [http://tede.inpa.gov.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=331](http://tede.inpa.gov.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=331)>. Acesso em: 05/03/2011.



PACHÚ, Clésia Oliveira. **Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos**. Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de Doutora em Engenharia de Processos. Campina Grande. Paraíba, junho 2007, 117p. Disponível em: <[http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=158017](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=158017)>. Acesso em: 07/12/2010.

POLLITO, Percy Amilcar Zevalos. **Dendrologia, anatômica do lenho e “status” das espécies lenhosas dos gêneros *cinchona*, *Croton* e *Uncaria* no estado do Acre, Brasil**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Recursos Florestais, com opção em Silvicultura e Manejo Florestal. Piracicaba, Estado de São Paulo. Brasil. Março 2004. 200p. Disponível em:<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11150/tde-19072004-171748/en.php>>. Acesso em: 15/11/2010.

RABELLO-GAY, M. Nazareth. **Genetic Toxicológica: Bases e Metas**. Instituto Butantan, São Paulo, 1991. p. 323- 328. Disponível em: < <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/002826/02826-23.pdf> >. Acesso em 07/07/2011.

RODRIGUES, Néborá Liz Vendramin Brasil. **Testes de toxicidade aguda através de bioensaios no extrato solubilizado dos resíduos classe II A – Não inertes e classe II B – Inertes**. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, pelo curso de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, área de concentração Engenharia Ambiental, da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005. 123 p. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/esa/v12n1/a02v12n1.pdf>>. Acesso em: 10/08/2010.

ROSSI, Damião; et al. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) stems bark essential oil: A new functional food ingredient. **Food Chemistry**. v.126, p.837-848, 2011. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=1766643114&\\_sort=r&\\_st=13&view=c&\\_acct=C000049646&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=972049&md5=8b2a3fc8c5bb9236cb2fa8837f905041&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=1766643114&_sort=r&_st=13&view=c&_acct=C000049646&_version=1&_urlVersion=0&_userid=972049&md5=8b2a3fc8c5bb9236cb2fa8837f905041&searchtype=a)>. Acesso em: 15/04/2011.

SALATINO, Antonio; SALATINO, Maria L. Faria; NEGRI, Giuseppina. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton species* (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 18. n.1, p.11-33, 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/jbchs/v18n1/01.pdf>>. Acesso em: 15/11/2010.

SANTOS, Fernando Santiago dos. **As plantas Brasileiras, os jesuítas e os indígenas do Brasil: história e ciência na trianga brasílica (séc. XVII-XVIII)**. Casa do Novo Autor. p. 25-26, São Paulo, 2009. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/ea000465.pdf>. Acesso em: 27/11/2010.

SCHENKEL, Eloir Paulo; GOSMANN Grace; PETROVICK Pedro Ros. Produtos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Medicamentos. *In*: Simões, Claudia Maria

de Oliveira (Org.) et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis. Ed.UFRGS, 2007. p. 371-400.

SILVA, F. C; et al. Avaliação de mutagênese provocada por sulfato de ferro através do teste micronúcleo em células da medula óssea de camundongos. **Revista científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, 2.ed, n.1, p.13-22, 2011.

SMITH, Brian A. A new species of *Croton* (*Euphorbiaceae*) from Ecuador. Department of Environmental Studies, Emory University, 400 Dowman Drive, Atlanta Georgia. Novon. **A journal for botanical nomenclature from the Missouri Botanical Garden**. v. 16, n. 1, p. 273-274, 2006. Disponível em :< <http://www.biodiversitylibrary.org/item/41804>>. Acesso em: 17/03/2011.

STURBELLE, Régis T; et al. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20. n. 3, p. 415. 2010. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n3/a19v20n3.pdf>>. Acesso em: 05/03/2011.

SUFFREDINI, Ivana Barbosa; DALLY, Douglas C. **O Rio Negro como Cenário na Busca de Novos Medicamentos**. cap. 8, p. 254-280, 2001 Disponível em: < <http://ecologia.ib.usp.br/guiaigapo/images/livro/RioNegro08.pdf>>. Acesso em: 02/12/2011.

THOMAS, Gareth. **Química Medicinal: uma introdução**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2010, p. 1-5

TUROLLA, Monica Silva Reis; NASCIMENTO, Elizabeth de Souza. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. v. 42, n.2, abr/jun. 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v42n2/a15v42n2.pdf>>. Acesso em: 07/12/2010.

VALDIR JUNIOR, F. Veiga; PINTO, Angelo, C; MACIEL, Maria. Aparecida M. Plantas Medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. Disponível em:< [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0100-40422005000300026&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0100-40422005000300026&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 27/02/2011.

VIEIRA, Alesom; et al. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. **Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 3, n. 1, 2009. Disponível em: < <http://www.ccaa.ufma.br/revistatropica/ArtigosV3N1/EfeitoGenotoxico.pdf>>. Acesso em: 02/04/2011

VILLELA, V. I; LAU, A; et al. Bioensaios para o Monitoramento de Genotoxicidade Ambiental. *In*: Silva J, Edrtmann B, Henriques JAP (Org.). **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003, p. 158-159.

WHO-THE WORLD MEDICINES SITUATION 2011. **Traditional Medicines: Global Situation, Issues And Challenges**. WHO/EMP/MIE/ 2011. v. 2, n.3. p. 1-2. Geneva. Disponível em:<

[http://www.who.int/medicines/areas/policy/world\\_medicines\\_situation/WMS\\_ch18\\_wTraditionalMed.pdf](http://www.who.int/medicines/areas/policy/world_medicines_situation/WMS_ch18_wTraditionalMed.pdf)>. Acesso em: 25/04/2011.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION GENEVA. **General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, 2000**, n.1. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip42e/whozip42e.pdf>>. Acesso em: 25/04/2011.

ZEVALLOS-POLLITO, Percy A; TOMAZELLO FILHO, Mario. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 177-179, jul 2007. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewArticle/261>>. Acesso em 15/05/2011.