

ANÁLISE DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E MUTAGÊNICA DO EXTRATO AQUOSO DAS PARTES AÉREAS DE *Uncaria tomentosa* EM TESTE DE *Allium cepa*

ANALYSIS OF CYTOTOXIC ACTIVITY AND MUTAGENIC OF AQUEOUS EXTRACT OF *Uncaria tomentosa* PARTS OF AIR IN *Allium strain* TEST

Jefte Perez Ancia^{1*}, Natália Faria Romão².

1. Graduando em Biomedicina. Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná – CEULJI/ULBRA

2. Docente do curso de Ciências Biológicas. Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná – CEULJI/ULBRA

* Autor Correspondente: ANCIA, J. P. – CEULJI/ULBRA. Rua Elias Cardoso Balau, 1131 Bloco 1 apto 306, CEP: 76950-400 Ji-Paraná/RO – Brasil. E-mail: jeftejipa@hotmail.com

Recebido: 03/11/2015; Aceito 26/11/2015

RESUMO

A *Uncaria tomentosa* (unha de gato) é uma planta da família Rubiaceae, muito utilizada como planta medicinal para tratamentos de várias doenças, por exemplo o câncer, artrite e afecções cutâneas. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de citotoxicidade e mutagenicidade *in vivo* do extrato aquoso de *Uncaria tomentosa* no sistema teste *Allium cepa*. Para avaliar esses efeitos as partes utilizadas da planta, foram obtidos em mercado de produtos naturais da região, sendo em forma de chá e extrato, a qual formaram os grupos testes controle negativo, controle positivo, chá 100% e 50 %, extrato 100% e 50%, com 10 repetições cada. Os resultados demonstraram que os chás e extratos inibiram o crescimento radicular de forma significativa, no entanto, com menor proporção no extrato 50%, assim como diminuíram o índice mitótico, mostrando-se potencialmente citotóxico, porém não houve formação de micronúcleos significativa. Sugere-se então, que a *Uncaria tomentosa* exerce influências diretas no ciclo de divisão celular e crescimento radicular de *Allium cepa*, além de não provocar efeito mutagênico, haja vistos os resultados encontrados neste estudo.

Palavras-chave: *Allium cepa*, índice mitótico, micronúcleos, *Uncaria tomentosa*.

ABSTRACT

The *Uncaria tomentosa* (cat's claw) is a plant of the family Rubiaceae, widely used as medicinal plant for treatment of various diseases, for example cancer, arthritis, and skin disorders. This study aimed to evaluate the effects of cytotoxicity and *in vivo* mutagenicity of the aqueous extract of *Uncaria tomentosa* in the test system *Allium strain*. To evaluate these effects parties used the plant were obtained in health food market in the region, being in the form of tea and extract, which formed the negative control test groups, positive control, 100% and 50% tea, extract 100% and 50%, with 10 repetitions each. The results showed that the teas and extracts inhibited root growth significantly, however, with smaller proportion in the extract 50%, and decreased mitotic index, being potentially cytotoxic, but no significant formation of micronuclei. It is suggested therefore that the *Uncaria tomentosa* exerts direct influence on cell division cycle and root growth of *Allium strain* in addition to not cause mutagenic effect, there is seen the results of this study.

Key Words: *Allium strain*, mitotic index, micronucleus, *Uncaria tomentosa*.

1. INTRODUÇÃO

A *Uncaria tomentosa* é uma espécie de planta pertencente à família Rubiaceae, sendo um arbusto do tipo trepador, com folhas compostas, ovais e opostas, popularmente conhecida como “unha de gato” por apresentar espinhos curvados [1, 2, 3]. O consumo da *Uncaria tomentosa* ocorre não apenas em forma de chás e extratos, que são preparados através de decocção das cascas e raízes da planta, mas principalmente como substância farmacológica sob as formas de cápsulas, comprimidos e associações com outros compostos [4, 5].

Considerada uma planta medicinal nativa das Américas, sendo encontrada em toda a Amazônia[1]. Na medicina popular essa planta é utilizada para o tratamento de várias doenças entre elas o câncer, gastrite, reumatismo, artrite e certas afecções epidérmicas como, a candidose oral [6,7]. O extrato e o chá da planta apresentam atividades antiinflamatórias, imunomodulatórias e antioxidantes, sendo assim, utilizada de forma indiscriminada e sem os devidos cuidados estabelecidos para consumo [4,5].

Em estudos sobre os metabólitos presentes na *U. tomentosa*, foram identificados alcaloides oxindólicos, N-oxi-oxindólicos e indólicos, triterpenos glicosilados, taninos e 17 tipos de flavonoides, sendo estes responsáveis por suas atividades biológicas e farmacológicas, comprovadas em pesquisas anteriores e por seu uso tradicional [7, 8, 9]. A eficiência de tais atividades do material vegetal e dos fitoterápicos derivados do gênero *Uncaria*, em especial de *U. tomentosa*, seria

dependente da quantidade e do perfil desses alcaloides que pode variar de acordo com a parte da planta, época de coleta e tipo de extrato analisado, sendo ainda estes alcaloides marcadores utilizados para aferir a qualidade da espécie [1].

Já os compostos flavonoides, intimamente ligados aos processos fisiológicos de plantas, são maioria dos compostos presentes em *Uncaria tomentosa*, regulando o crescimento, apresentando mecanismos de proteção frente a patógenos e radiação solar, e grande diversidade e atividades biológicas, mas ainda com possíveis danos mutagênicos e celulares desconhecidos [10]. Eles possuem estrutura química ideal para o sequestro de radicais livres, tendo atividades antioxidantes melhores e mais efetivas que as vitaminas C e E, porém, depende também de outros fatores para que exerçam essas atividades, por exemplo a quantidade presente [11]. Vários estudos evidenciaram os efeitos de proteção dos flavonoides frente a diversas doenças crônicas, como as cardiovasculares, tendo estas ações antioxidantes, antiinflamatórias, antitrombogênicas, biocidas, anticarcinogênicas e ainda melhorando o sistema vascular, onde os alimentos que os contêm são considerados alimentos funcionais ou nutracêuticos, pois representam ação farmacológica para o organismo animal [12].

Mas diante de tantas propriedades biológicas, há uma necessidade de aprofundar as investigações dos mecanismos destes compostos vegetais, tendo em vista que muitos alcaloides são descritos na literatura como tóxicos e apresentam efeitos alelopáticos, sendo que os flavonoides em

grandes quantidades também podem ser tóxicos, inclusive para os seres humanos, no entanto, em pequenas quantidades eles podem ser farmacologicamente úteis [13]. Por esses motivos justifica-se o interesse pelo estudo sobre a toxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade da *U. tomentosa*.

Sabe-se que a toxicidade está relacionada com a detecção, composição química e ação biológica de substâncias tóxicas, portanto a capacidade de causar danos prejudiciais graves a um organismo, onde fatores importantes a serem considerados são a via de administração, a duração e frequência de exposição ao composto [14]. Por vezes, esses danos de substâncias tóxicas interferem no material genético das células, causando uma citotoxicidade e mutações.

As mutações são tidas como fonte extremamente importante na variabilidade genética dos seres vivos, e são definidas como alterações súbitas e herdáveis na estrutura do material genético [15, 16, 17]. Muitos compostos químicos e físicos altamente tóxicos presentes nas plantas podem causar mutações induzidas e danos celulares, como o aparecimento de micronúcleos que são pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma próximo ao núcleo, que se formam na telófase e são resultantes de fragmentos cromossômicos acêntricos, originados de quebras isocromatídicas, cromatídicas, ou de disfunções do fuso mitótico, podendo aparecer mais de uma vez por células [16,18].

O teste de micronúcleos detecta mutagênese em organismos eucariotos do tipo clastogênese,

aneugênese e danos no fuso mitótico. Eles são identificados em qualquer tipo celular, podendo 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 [14, 15, 16,].

Para detectar processos mutagênicos, muitas metodologias foram elaboradas e descritas ao longo da evolução das técnicas de biologia molecular [18], sendo o teste de *Allium cepa* um excelente bioindicador para o primeiro *screening* da genotoxicidade e mutagenicidade de plantas medicinais [19]. Este teste visa elucidar através de mutações celulares e crescimento radicular, os possíveis efeitos de plantas e compostos diversos [20]. Conforme Sturbelle e colaboradores [21] o sistema teste *Allium cepa* é bem aceito para estudo de efeitos citotóxicos de plantas medicinais, pois as raízes ficam em contato com a substância testada, o que permite verificações de concentrações diferentes. As alterações cromossômicas e as da divisão das células meristemáticas da raiz de cebola são então, frequentemente utilizadas para alertar a população sobre o consumo e efeitos das plantas e seus produtos.

Apesar de vários estudos revelarem as propriedades terapêuticas da *Uncaria tomentosa*, há uma carência de comprovações científicas empregando protocolos estabelecidos por agências regulamentadoras internacionais, para a avaliação dos possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e mutagênicos [2]. Que junto ao grande interesse comercial dessas plantas, torna fundamental para

que se possa monitorar a qualidade do material vegetal e dos fitoterápicos derivados [1].

Assim, o presente estudo objetivou determinar se há potencial de citotoxicidade em *Uncaria tomentosa*, *in vivo* através do teste de *Allium cepa* buscando elucidar e investigar o crescimento de raízes, as fases de divisão celular e o índice mitótico e, também a formação de micronúcleos, verificando assim se há nível de mutagenicidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo experimental *in vivo* com modelo vegetal, onde os testes foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná – CEULJI/ULBRA no município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia.

Foram utilizados o chá, constituído de partes aéreas, sólidas e secas para preparo por infusão e o extrato, a qual é uma solução aquosa das partes aéreas de *Uncaria tomentosa*, ambos vendidos sob a denominação de fitoterápicos e adquiridos em comércios de produtos naturais da região.

Para a realização do experimento, os exemplares de *A. Cepa* foram adquiridas em mercado popular do município de Ji-Paraná, sendo estes de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinados e saudáveis. Os bulbos foram postos para germinar com a parte inferior mergulhada em solução teste e controle, por um período de 72 horas em temperatura de 24°C [14]. .

O experimento teve como controle negativo (CN) água destilada e como controle positivo (CP)

Sulfato de Cobre na concentração de 0,006 mg/L que segundo Ferreira e Matsubara [22], Barbosa e Colaboradores [23], Silva e Colaboradores [16] e Guecheva [24], trata-se de um metabólito do oxigênio altamente tóxico e causador de danos para as células eucarióticas. As concentrações testes utilizadas foram: chá 100% (C100) e 50% (C50), preparado por infusão, onde o material foi deixado em contato com água destilada a uma temperatura constante de 90°C por um período de 15 minutos de acordo com Aiache e Colaboradores [25], e extrato 100% (E100) e 50% (E50). O extrato obtido já pronto como fitoterápico, sem descrição do modo de preparo, foi diluído 20 ml em 1L de água destilada, equivalente a duas colheres em cada litro – indicado para consumo diário no rótulo do produto, este considerado como amostra E100%. As concentrações 50% das soluções testes foram obtidas através de diluição 1:1 com água destilada. Para cada concentração teste e controle utilizou-se 10 cebolas, totalizando 60 bulbos controlados.

Após 48 horas os meristemas foram coletados e colocados em solução 3:1 de metanol/ácido acético por 12 horas para facilitar a fixação, posteriormente realizou-se hidrólise dos mesmos em solução de HCl 1mol/L por 5 minutos em banho-maria a uma temperatura de 60°C seguido da lavagem em água destilada. As lâminas foram feitas em duplicata e coradas com o Kit Panótico Rápido LB (composto de três recipientes): um contendo triarilmetano 0,1%, o segundo com xantenos a 0,1% e o terceiro com tiazinas a 0,1%. Realizou-se o squash após a adição da lamínula para facilitar a visualização das células

meristemáticas. Neste método descrito por Meneguetti e Colaboradores [14], a qualidade das lâminas elaboradas é equivalente às preparadas seguindo metodologia indicada por Fiskejõ [26].

A análise das lâminas deu-se por microscopia óptica, com objetiva de 100x e ocular de 10x tendo um aumento de 1000x. As variáveis pesquisadas foram: formação de micronúcleos, sendo observadas a cada 1000 células por lâmina, como foram em duplicata totalizando 2000 células de cada bulbo, e o índice mitótico (IM) que foi calculado segundo Oliveira e Colaboradores [27] e Pires e Colaboradores [28] onde para cada tratamento, divide-se o número de células em mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase) pelo número total de células (interfase) multiplicando-se o resultado por 100. O crescimento de raízes foi analisado conforme descrito por Guerra e Souza [29] onde o comprimento foi medido após 5 dias com o auxílio de um paquímetro.

Para análise estatística foi utilizado o programa Prism 5.1 sendo efetuada a Análise de

Variância seguida do Teste de Tukey com nível de significância de $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados para a média de crescimento radicular dos meristemas de *Allium cepa* demonstram que no grupo controle negativo (CN) a média foi de $2,28 \pm 1,26$ cm, enquanto no grupo tratado com sulfato de cobre (CP) a média foi de $1,1 \pm 0,48$ cm. O grupo tratado com o chá 100% (C100) revelou um crescimento de $0,25 \pm 0,097$ cm, o grupo tratado com o chá 50% (C50) revelou um crescimento de $0,42 \pm 0,17$ cm, o grupo tratado com Extrato 50% (E50) revelou um crescimento de $2,03 \pm 0,78$ cm e o grupo tratado com Extrato 100% (E100) $0,7 \pm 0,54$ cm. A análise estatística mostra que houve uma diminuição no crescimento das raízes dos tratamentos C50, C100 e E100 comparado ao controle negativo sendo altamente significativos onde $p < 0,05$, conforme apresentado na figura 1.

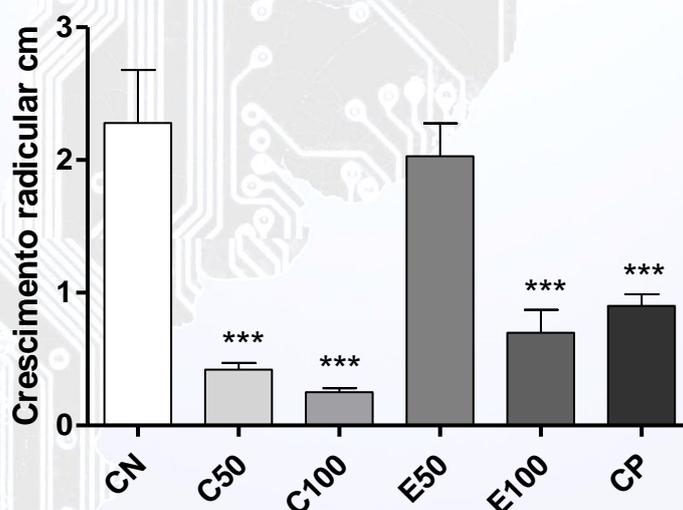


Figura 1 – Média do Crescimento radicular de *Allium cepa* nos controles e nos grupos tratados com *Uncaria tomentosa*. ***Valor altamente significativo ($p < 0,05$).

Estudos realizados por Macedo [20] que avaliou o crescimento radicular em *Allium cepa* em tratamentos com extratos de *Abelmoschus esculentus* (Quiabo) planta não pertencente à família da *U. tomentosa*, onde a toxicidade foi avaliada pelo controle de crescimento das raízes, obtiveram um valor médio de crescimento radicular menor que o controle negativo. Resultados semelhantes aos de Kuras [8] que em seus estudos com *U. tomentosa*, a qual também percebeu uma diminuição no crescimento radicular, relacionando este efeito a uma possível toxicidade dos extratos da *U. tomentosa* comprovando ainda em seu trabalho que a toxicidade pode ser revertida após determinado período de tempo em água.

Com relação às fases da mitose, não houve dados significativos quanto às divisões celulares, estando o maior número de células em interfases como se observa na Tabela 1. Fachinetto e colaboradores [19] em seus estudos afirmam que

altas concentrações de alguns compostos tenham um efeito inibitório ou estimulatório no ciclo celular, neste estudo os extratos de *U. tomentosa* nas concentrações utilizadas inibiram o crescimento radicular, conseqüentemente o número de células em divisão. Confirmam-se então os resultados obtidos no estudo realizado por Kuras [8], onde houve atividades antimitóticas de *U. tomentosa*, exercendo uma particular interferência e inibição das células meristemáticas em divisão. Essas características são consideradas por Sheng e colaboradores [30] uma grande evidência das atividades antitumorais dos extratos de *Uncaria tomentosa*. Eles demonstram através de seu estudo com células tumorais tratadas com os extratos da planta, uma indução seletiva de apoptose, sendo este um dos fatores possíveis pela não ocorrência de divisões observada com os resultados do presente estudo.

Tabela 1 – Número de células em mitose e índice mitótico conforme tratamento aplicado sobre o sistema teste de *Allium cepa*.

Tratamento	Interfase	Fase Mitótica				IM
		Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
CN	19729	88	40	65	78	1,35
CP	19623	70	66	182	57	1,87
C50	19859	22	16	65	18	0,61*
C100	19870	58	13	33	23	0,63*
E50	19895	36	24	5	34	0,5*
E100	19988	6	1	2	3	0,06**

Em relação ao índice mitótico, observa-se que houve uma diminuição deste nas maiores concentrações dos extratos, como em estudo de Camparoto [31] onde as análises de células meristemáticas de *Allium cepa* demonstraram que concentrações mais elevadas de extrato de *M. ilicifolia* (Espinheira-santa) planta da família Celastraceae promoveram redução no índice mitótico e nenhum surgimento de alterações cromossômicas. Estudo com *Psychotria birotula*, realizado por Frescura e Colaboradores [32], pertencente à mesma família de *U. tomentosa*, também apresentou redução de índice mitótico após exposição em teste de *Allium cepa*. O que sugere um potencial citotóxico dos extratos da *U. tomentosa*, visto que a atividade de citotoxicidade pode ser indicada pelo aumento ou diminuição do índice mitótico das células submetidas a sua

exposição [33], e ainda atividades antiproliferativas atribuído aos diferentes compostos químicos presentes na planta [19].

Com relação à formação de micronúcleos, os dados na Figura 2 demonstram que os tratamentos com os extratos de *U. tomentosa* apresentaram poucos micronúcleos nas células dos meristemas germinados de *A. cepa* quando comparados ao grupo controle positivo, apresentando valores estatisticamente significativos, $p < 0,05$.

Foi observado que quanto maior a concentração do extrato, menor foi o índice de micronúcleos, mesmo não sendo este um resultado estatisticamente significativo com a comparação entre os extratos, mantido praticamente os mesmos níveis nos controles C100, E50 e E100, que são mais concentrados.

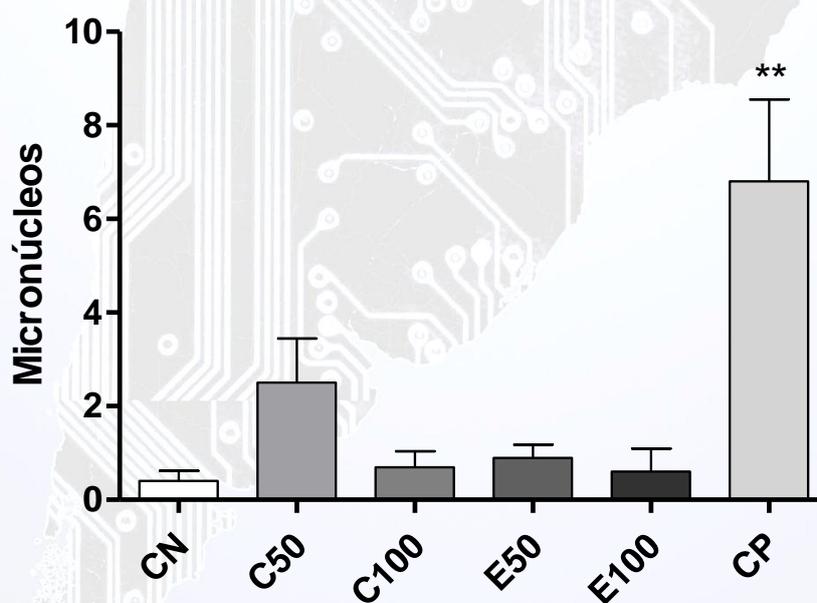


Figura 2 - Total de micronúcleos formados a cada 2000 células analisadas em função do tratamento aplicado sobre o sistema teste *A. cepa*.

Caon [7] defende em seu trabalho uma atividade desmutagênica e protetora da *U. tomentosa*, atribuída ao sinergismo entre os alcaloides e pela redução da oxidação causadas pelos extratos desta planta. Em estudos com o cafeeiro que também é uma Rubiaceae, e contém componentes fenólicos com atividades antioxidantes, Lima [34] ressalta que quando a bebida é administrada como um todo e não como componentes isolados, mesmo em doses baixas de um determinado composto, pode exercer um efeito protetor importante se diferentes componentes interagirem aditivamente, isso pode explicar os resultados obtidos neste estudo com *U. tomentosa* com diminuição dos micronúcleos pela atividade dos compostos alcaloides e flavonoides presentes na planta.

O baixo nível de formação de micronúcleos na *Uncaria tomentosa* deve-se aos seus compostos flavonoides que segundo Sturbele e colaboradores [21] e Talhi e Silva [10] atuam sequestrando os radicais livres de oxigênio, sendo, portanto, considerados antioxidantes.

Segundo Sandoval [3] há na *U. tomentosa* disponibilidade de excelentes propriedades antioxidantes e uma potente e efetiva inibição da produção de TNF α (fator de necrose tumoral alfa), a citotoxina associada com a ativação do sistema imune e inflamação. A supressão de regulação redox-sensíveis da expressão do gene pode muito bem ser a chave para entender o potencial terapêutico da *Uncaria tomentosa*.

Rosa e colaboradores [35] também destacaram em estudo, substâncias antioxidantes

presentes em *Palicourea rígida*, planta da família da *U. tomentosa*, contribuindo significativamente para o conhecimento químico das Rubiáceas que pode representar mais uma fonte promissora de fitoantioxidante para futura aplicação em fitoterápicos que possam combater os radicais livres e doenças associadas.

Júnior [36] em um estudo pioneiro, mostrou que o chá ayahuasca, utilizado em rituais religiosos e constituído de duas espécies de plantas da família de *U. tomentosa* não é genotóxica nem citotóxica sugerindo um potencial efeito ansiolítico e antidepressivo nas doses mais baixas, o que abre a perspectiva de investigação de utilização ou princípios ativos presentes para constituição de terapia humana em diferentes concentrações para validação e contribuição do estudo terapêutico das plantas Rubiaceae.

Alguns trabalhos, como o de Vattimo e Silva [37], salientam sobre um efeito protetor da *U. tomentosa*. Neste estudo sobre a função renal de ratos, onde um pré-tratamento com extratos da planta promoveram proteção celular funcional relacionado às atividades antioxidantes, conclui que a *U. tomentosa* pode ser considerada como fitoterápico por apresentar possibilidades terapêuticas de ação antioxidante e antiinflamatória. Estando a concentração intimamente relacionada com as atividades biológicas protetoras do extrato da *Uncaria tomentosa* [38].

4. CONCLUSÕES

Conclui-se neste estudo que os extratos aquosos de *U. tomentosa* (unha de gato) inibiram o crescimento radicular das células meristemáticas do sistema teste *Allium cepa* e exerceram interferência nas fases mitótica, apresentando atividades citotóxicas. Os extratos testados ainda revelam uma indução da inibição do índice mitótico e houve baixa atividade mutagênica com pouca formação de micronúcleos.

5. REFERÊNCIAS

- [1] VALENTE, P. M. M. Unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. e *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel.]: um panorama sobre seus aspectos mais relevantes. **Revista Fitos**, v.2, n. 01, 2006.
- [2] MENDES, P. F. **Avaliação dos possíveis efeitos tóxicos e imunotóxicos da *Uncaria tomentosa* em ratos.** [Dissertação] Universidade de São Paulo, 2014.
- [3] SANDOVAL, M. et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. **Phytomedicine.**, v. 9, n. 4, p. 325-337, 2002.
- [4] SÁ, D. S. et al. Atividade Antimicrobiana da *Uncaria Tomentosa* (Willd) D. C. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.**, v. 35(1): p.53-57, Minas Gerais, 2014.
- [5] VALENTE, L. M. M. et al. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcalóides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, 16 (2): p. 216-223 abr./jun. 2006.
- [6] KALEJAIY, A. O.; EROWELE G. I. Pharmacology and therapeutic uses of cat's claw. **Am J Health-Syst Pharm.**, v. 66, Jun 1, 2009.
- [7] CAON, Thiago et al. Antimutagenic and antiherpetic activities of different preparations from *Uncaria tomentosa* (cat's claw). **Food and Chemical Toxicology.**, v. 66, p. 30-35, 2014.
- [8] KURAS M, et al. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **J. Ethnopharmacol.**, v.107, n. 2, p. 211-21, 2006.
- [9] KURAS M, et al. Effect of Alkaloid-Free and Alkaloid-Rich preparations from *Uncaria tomentosa* bark on mitotic activity and chromosome morphology evaluated by *Allium Test*. **J Ethnopharmacol.**, v.121, n.1, p. 140-7, 2009.
- [10] TALHI, O.; SILVA, A. M. Advances in c-glycosylflavonoid research. **Current Organic Chemistry, Bentham Science Publishers.**, v. 16, n. 7, p. 859–896, 2012.
- [11] ALVES, C. Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Diálogos & Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC.** Ano V, n. 12, 2007.
- [12] LIMA, M. A. et al. Determinação de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante da pimenta dedo-de-moça (*capsicum baccatum* var. *pedulum*) comercializada na cidade de Imperatriz – MA. In: **VII CONNEPI – Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**, Palmas, 2012.
- [13] SANTOS, A.C. et al. Estrutura secretoras da lâmina foliar de amapá amargo (*Parahancornia fasciculata*, Apocynaceae) histoquímica e doseamento de flavonoides. **Acta Amazonica.**, v.43, n.4, p. 407 – 414, 2013.
- [14] MENEGUETTI, D. U. O.; SILVA, F.C.; ZAN, R.A.; RAMOS, L.J. Adaptation of the micronucleus technique in *Allium cepa*, for mutagenicity analysis of the Jamari river valley, western Amazon, Brazil. **J Environ. Anal., Tox**, v. 2, n.2, 2012..
- [15] MENEGUETTI, D. U. de O. et al. Análise Citotóxica e Mutagênica do Extrato Aquoso de *Maytenus guyanensis* Klotzsch Ex Reissek

(Celastraceae) Chichuá (Xixuá) Amazônico. **Ciência e Natura, Santa Maria**, v. 36 n. 3 set-dez, p. 301–309, 2014.

[16] SILVA, F. C.; BARROS, M.A.B.; VIANA, R.R.; ROMÃO, N.F.; OLIVEIRA, M.S.; MENEGUETTI, D.U.O. 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.**, v. 2, n. 1, p.13-22, 2011.

[17] BENTO, F.S. **DNA: segredos e mistérios**. 2d: Sarvier. São Paulo, 2001.

[18] OLIVEIRA, A. A.; ROMÃO, N. F. Growth inhibition and Pro-apoptotic Action of *Eleusine indica* (L) Gaertn Extracts in *Allium* test. **European Journal of Medicinal Plants.**, 8(3):p. 121-127, 2015.

[19] FACHINETTO, J. M. et al. **Efeito anti-proliferativo das infusões de Achyrocline satureioides (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa***. 2007.

[20] MACEDO, J. F. M; SILVA, M. S.; ALVES W.S. Estudo da Genotoxicidade do Extrato de *Abelmoschus esculentus* (Quiabo) Pelo Teste *Allium Cepa*. **Revista Saúde em Foco, Teresina.**, v. 1, n. 1, art. 2, p. 15-28, jan. / jul. 2014.

[21] STURBELLE, R. T. et al. Evaluation mutagenic and antimutagenic activity of *Aloe vera* in *Allium cepa* test and micronucleus test in human binucleated lymphocytes. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 20, n. 3, p. 409–415, 2010.

[22] FERREIRA, A.; MATSUBARA, L. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira.**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

[23] BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição.**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

[24] GUECHEVA, T. N. **Avaliação do Potencial Tóxico e Genotóxico do Sulfato de Cobre em**

Planária: Utilidade deste Organismo para Biomonitoramento Ambiental. [Tese de Doutorado] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

[25] AIACHE, J. M.; AIACHE, S; RENOUX. **Iniciação ao conhecimento do medicamento - 2ª edição**. Org. Andrei Editora. São Paulo, 1998.

[26] FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas, Blackwell Publishing.**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985.

[27] OLIVEIRA, V. et al. Efeito do herbicida trifluralin sobre a germinação de sementes e índice mitótico em raízes de milho (*Zea mays*). **Revista Unimar.**, v. 18, n. 1, p. 537–544, 1996.

[28] PIRES, W. C.; F. C. PEREIRA; LACERDA, E. P. S. Estudo da genotoxicidade do extrato bruto da *Psychotria prunifolia* (rubiacea) pelo sistema-teste *Allium cepa*. **63ª Reunião Anual da SBPC**. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/4449.htm> Acesso em: 06/05/2015.

[29] GUERRA, M.; SOUZA, M. d. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.

[30] SHENG, Y. *et al.* Induction of apoptosis and inhibition of proliferation in human tumor cells treated with extracts of *Uncaria tomentosa*. **Anticancer Res.**, 18, 3363-8, 1998.

[31] CAMPAROTO, M. L.; TEIXEIRA, R. O.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bonemarrow cells. **Genet. Mol. Biol.**, v. 25, n. 1, p. 85-89, 2002.

[32] FRESCURA, V. D.; TEDESCO S. B. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (müll. arg.) briton e *Psychotria birotula smith & downs* (rubiaceae)** [DISSERTAÇÃO DE MESTRADO] Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2012.

[33] CARVALHO, R.O. et al. Diesel emissions significantly influence composition and mutagenicity of the ambient particles: a case study in São Paulo, Brazil. **Environmental Research.**, v.98, p.1-7, 2005.

[34] LIMA, A. R. **Efeito da descafeinação do café sobre a atividade antioxidante e prevenção de lesão hepática em ratos.** [Dissertação de Mestrado] UFLA – Lavras, 2008.

[35] ROSA, J. M. da et al. **Efeito alelopático de Salix sobre a germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Raphanus sativus*.** 2013.

[36] JUNIOR, W. M. **Estudo do perfil genotóxico, citotóxico, neurocomportamental e bioquímico da ayahuasca em ratos *wistar* tratados com dose única.** [Dissertação de Mestrado] UNB, Brasília, 2014.

[37] VATTIMO, M. D. F. F., e SILVA, N. O. D. (2011). *Uncaria tomentosa* and acute ischemic kidney injury in rats. **Revista da Escola de Enfermagem da USP.**, v.45, n.1, p.194-198, 2010.

[38] IMMICH, B. F. **Avaliação das atividades Mutagênica, Antimutagênica e Antioxidante de Extrato e Frações Biologicamente Ativas de *Uncaria tomentosa*.** [MONOGRAFIA] Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.