

Revista Interdisciplinar

Ciências e Saúde



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS
E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas



SEÇÃO 4

Volume 4

Número 4

Edição 2017



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

APRESENTAÇÃO

O II Simpósio Nordestino de Recursos Naturais e Potencialidades Terapêuticas – II RENAPTE. Na sua segunda edição, priorizamos nossa atenção as propriedades terapêuticas de produtos naturais da nossa região em especial aos do Piauí. Neste contexto, enfatizamos a necessidade de considerar os produtos naturais utilizados pela medicina popular como potencial alvo de estudo de sua eficácia farmacológica, e desta forma promover uma aproximação da ciência com o saber popular.

O II RENAPTE, se confirmou como uma excelente oportunidade de interação entre professores, pesquisadores, profissionais e estudantes das mais diversas áreas das ciências biológicas e saúde além de biotecnologia. Promoveu-se discussões de alto nível com pesquisadores renomados das regiões nordeste do país. Nosso objetivo foi alcançado uma vez que, tivemos 76 trabalhos apresentados nos 3 dias do evento e cerca de 250 participantes.

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira

Presidente do Evento

O texto é de responsabilidade dos autores. As modificações realizadas pela comissão científica constaram, apenas, de adequação à formatação exigida pelo evento científico.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

COMISSÃO ORGANIZADORA

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Presidente do Evento)

Profa. Dra. Rita de Cássia M. Oliveira

Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos

Porfa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida

COMISSÃO CIENTÍFICA

Profa. Dra. Salete Maria Cipriano da Rocha

Prof. Dr. Francisco de Assis Oliveira

Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva

Profa. Dra. Elisângela Cláudia Alves Oliveira

Profa. Dra. Maria José dos Santos Soares

Profa. MSc. Julianne Viana Freire Portela

Profa. MSc. Kalynca Kayla Viana Aragão

Profa. MSc. Alessandra Maria Braga Ribeiro

Profa. MSc. Any Carolina Cardoso Guimarães Vasconcelos

ORGANIZADORA DO ANAIS

Profa. MSc. Julianne Viana Freire Portela

Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais – NPPM

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Engate SG15, Ininga.

CEP 64049-550. Teresina-PI.

Tel: (86) 3215-5872



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

SUMÁRIO

| SEÇÃO 1 | |
|---|----|
| FARMACOLOGIA BÁSICA | |
| Análise da atividade lectínica de dez cultivares de feijão caupi | 07 |
| Bergenina isolada de <i>Peltophorum dubium</i> : potencial antioxidante <i>in vitro</i> e regulação da resposta inflamatória em macrófagos peritoneais de camundongos | 13 |
| FARMACOLOGIA PRÉ-CLÍNICA | |
| Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de <i>Psidium guineense</i> Swartz (Myrtaceae) em camundongos | 19 |
| Avaliação da atividade antinociceptiva da casca do fruto de <i>Platonia insignis</i> MART. (BACURI) em modelo de neuropatia induzida pela constrição do nervo ciático | 22 |
| Atividade antinociceptiva da quercetina em modelo experimental de neuropatia diabética | 27 |
| Avaliação dos efeitos de <i>Bauhinia pulchella</i> BENTH. em animais diabéticos | 31 |
| Efeito do extrato etanólico de <i>Bauhinia pulchella</i> BENTH e do carnaubadiol na glicação protéica <i>in vitro</i> | 36 |
| Atividade antinociceptiva <i>in silico</i> de compostos identificados em <i>Borreria verticillata</i> | 41 |
| Avaliação da atividade antiedematogênica do <i>p</i> -cumarato de etila em modelos animais | 46 |
| Atividade anti-inflamatória de <i>Persea americana</i> | 51 |
| Avaliação da atividade relaxante da espécie <i>Combretum mellifluum</i> Eichler do cerrado nordestino em traquéia isolados de rato | 56 |
| Investigação do efeito vasorrelaxante do γ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato | 60 |
| Estudo da ação farmacológica do mentofurano no sistema gastrointestinal de roedores | 65 |
| Atividade espasmolítica do extrato etanólico das folhas de <i>Combretum mellifluum</i> Eichler em anéis de aorta isolada de rato | 69 |
| Ação antinociceptiva do terpinoleno em modelos de neuropatia por injúria nervosa | 74 |
| Avaliação da atividade toxicológica e antinociceptiva do óxido de rosa em roedores | 78 |
| Avaliação oxidativa, antioxidante, de prevenção e reparo de danos oxidativos ao DNA em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> tratadas com acetato de nerila | 82 |
| Investigação da atividade espasmolítica do nerol em corpo cavernoso isolado de rato | 87 |
| Investigação do mecanismo tocolítico do extrato etanólico das cascas do caule de <i>Platonia insignis</i> Mart. em útero de rata | 92 |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

| SEÇÃO 2 | |
|--|-----|
| ETNOFARMACOLOGIA E FITOTERAPIA | |
| Prospecção tecnológica das atividades cardiovasculares da <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> | 97 |
| Efeito do gojy berry sobre o perfil lipídico e glicemia de camundongos submetidos a um modelo de obesidade neuroendócrina | 102 |
| Avaliação do extrato hidroalcoólico padronizado de <i>Myracrodruon urundeuva</i> em modelo experimental de hipercolesterolemia induzida por triton em camundongos | 106 |
| Avaliação do uso de açúcar na terapia tópica de feridas | 110 |
| Avaliação da performance reprodutiva de ratos tratados com o extrato etanólico da <i>Richeria grandis</i> Vahl. (<i>Phyllanthaceae</i>) | 115 |
| Atividade anti-helmíntica do Extrato Etanólico da <i>Ipomoea carnea</i> (canudo) em <i>Ascaridia galli</i> | 119 |
| Prospecção tecnológica das atividades biológicas do borneol com ênfase na cardioproteção | 123 |
| Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato da folha de amendoeira (<i>Terminalia catappa</i> L.) | 128 |
| Screening do efeito vasorrelaxante de duas espécies vegetais do Cerrado brasileiro | 133 |
| Avaliação da genotoxicidade de <i>Combretum leprosum</i> : teste <i>Allium cepa</i> | 136 |
| FARMACOGNOSIA | |
| Avaliação <i>in vitro</i> do potencial antimicrobiano e <i>screening</i> de toxicidade dos extratos alcoólicos das folhas de <i>Phyllanthus niruri</i> L. | 142 |
| QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS | |
| Avaliação da estabilidade de pré-formulações contendo óleo de babaçu (<i>Orbignya phalerata</i> Martius) | 147 |
| Caracterização de bixina extraída de sementes de urucum e avaliação da atividade antioxidante | 152 |
| Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> , <i>Cymbopogon citratus</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i> frente à cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> | 157 |
| Síntese do O-acetil-anacardato de eugenila derivado do ácido anacárdico presente no líquido da casca da castanha de caju | 162 |
| Caracterização química e potencial antiacetilcolinesterase de ésteres metílicos de ácidos graxos de fração lipídica da semente da <i>Annona muricata</i> | 166 |
| Óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum campechianum</i>): química e potencial antioxidante como ingrediente funcional | 171 |
| Prospecção fitoquímica e potencial biológico da folha e semente de algodão (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) | 176 |
| SEÇÃO 3 | |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

| PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS | |
|---|-----|
| Elaboração de iogurtes a base de leite de búfala com diferentes frutas | 181 |
| Análise de rotulagem de cereais matinais: enfoque na informação nutricional | 185 |
| Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato seco padronizado de <i>Lecythis pisonis</i> Camb (Lecythidaceae) e <i>Vitex agnus castus</i> L. (Verbenaceae) | 190 |
| Obtenção e caracterização do extrato seco por aspersão de <i>Lecythis pisonis</i> Camb. | 194 |
| Análise físico-química e microbiológica do pólen de abelhas nativas | 198 |
| Obtenção e caracterização de microemulsões transdérmicas de cetamina utilizando um óleo vegetal para alívio da dor pós-operatória | 203 |
| Aproveitamento da casca do maracujá-amarelo (<i>Passiflora Edulis F. Flavicarpa</i>) para produção de biscoitos | 208 |
| BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS NATURAIS | |
| Ação de <i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth e antibióticos contra <i>Corynebacterium diphtheriae</i> e toxicidade <i>in vitro</i> | 213 |
| Atividades antioxidante e antibacteriana contra <i>Corynebacterium diphtheriae</i> de <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsley) Gray e bioensaio toxicológico em <i>Artemia salina</i> | 217 |
| Aplicações farmacológicas e tecnológicas da goma do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.) – um produto obtido da flora brasileira | 221 |
| Avaliação da atividade antimicrobiana da piocianina em linhagens do grupo coliforme | 226 |
| Prospecção tecnológica de peptídeos extraídos de rã com ênfase em análogos da bombesina | 230 |
| Investigação da atividade espasmolítica da goma do cajueiro pura e modificada em útero isolado de rata | 235 |
| Microemulsões transdérmicas para dor neuropática: uma prospecção tecnológica e científica | 241 |
| POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS | |
| Efeitos da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i>) na pele após incisão cirúrgica experimental na pata de ratas | 248 |
| Avaliação da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i>) sobre o fígado, rim e baço em ratas com periodontite crônica induzida | 253 |
| Efeitos da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i>) no músculo estriado esquelético após injúria experimental na pata de ratas | 256 |
| Avaliação da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i>) sobre a periodontite induzida em ratos | 261 |
| SEÇÃO 4 | |
| TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS | |
| Potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico das folhas de <i>Poincianella bracteosa</i> (Tul.) L.P. Queiroz | 266 |
| Citogenotoxicidade e mutagenicidade das folhas de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill em <i>Allium cepa</i> L. e <i>Mus musculus</i> L. | 271 |
| Prospecção fitoquímica e potencial antimutagênico das cascas e folhas de | 276 |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

| | |
|--|-----|
| <i>Poincianella bracteosa</i> (Tul.) L.P. Queiroz | |
| Efeito modular de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill. sobre a mutagenicidade da doxorubicina em células somáticas de <i>Drosophila melanogaster</i> | 281 |
| Efeito modulador das folhas de <i>Poincianella bracteosa</i> em células somáticas de <i>Drosophila melanogaster</i> | 285 |
| Toxicidade <i>in vitro</i> do extrato etanólico das vagens de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> | 289 |
| Toxicidade gestacional do extrato etanólico das vagens de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> | 293 |
| Atividade citogenotóxica do extrato etanólico da folha de <i>Momordica charantia</i> L. em teste vegetal <i>Allium cepa</i> | 298 |
| Screening citogenotóxico do extrato etanólico do caule de <i>Mauritia flexuosa</i> L. | 302 |
| Avaliação preliminar do potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico da folha de <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth | 306 |
| Avaliação da toxicidade aguda do óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. em ratos (<i>Rattus norvegicus</i> linhagem Wistar) | 311 |
| Avaliação da toxicidade aguda da goma do angico, extraída do exsudato de <i>Anadenanthera columbrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb) Altsul em camundongos | 316 |
| Análise da toxicidade aguda da goma do cajueiro, um heteropolissacarídeo complexo extraído do exsudato de <i>Anacardium occidentale</i> L., em camundongos | 321 |
| Estudo da toxicidade de <i>Combretum leprosum</i> : teste <i>Allium cepa</i> | 326 |
| TEMAS TRANSVERSAIS | |
| Prospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico e tratamento do Alzheimer | 331 |
| Tratamento da leishmaniose e o uso terapêutico do extratos de <i>Casearia sylvestris</i> : uma prospecção tecnológica | 336 |
| Diagnóstico de infecção por Zika Vírus e microcefalia em gestantes: uma prospecção tecnológica | 340 |
| Bioprospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico do Papiloma Vírus Humano (HPV) e câncer do colo do útero | 344 |
| Biomarcadores de desordens neurológicas comuns em idosos: uma prospecção tecnológica | 349 |
| Encapsulação de probióticos com ênfase no uso da goma do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i>) como material de parede: uma prospecção tecnológica | 354 |
| Potencial biotecnológico da atividade anti-inflamatória e cicatrizante do alfa-bisabolol: um estudo de prospecção | 359 |
| Atividade antimicrobiana aplicada ao extrato aquoso da <i>Phyllanthus niruri</i> : comparação entre diferentes estabelecimentos de Teresina-PI | 364 |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico das folhas de *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz

Alyne Pereira Lopes¹, Regina Maria Silva Sousa², Luciana Maria Fortes Magalhães Castelo Branco Couto¹, Johnny do Nascimento Alves¹, Maria das Dores Alves de Oliveira³, Francielle Alline Martins², Pedro Marcos de Almeida¹

¹Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Estadual do Piauí (UESPI/ FACIME), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: alyne-lobes1@hotmail.com; ²Centro de Ciências da Natureza (CCN), Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: franufv@yahoo.com.br; ³Centro de Ciências da Natureza (CCN), Instituto Federal do Piauí (UFPI), Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais, Teresina, PI, Brasil. E-mail: maralves013@gmail.com

Introdução

A espécie arbórea *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz. (Fabaceae), conhecida como catingueira, encontra-se nos biomas da Caatinga e Cerrado (MAIA-SILVA et al., 2012), sendo distribuída nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (LEWIS, 2015). Essa espécie tem sido amplamente utilizada pela população para diferentes potencialidades terapêuticas. As folhas e cascas são utilizadas no tratamento de infecções catarrais, diarreias e cólicas intestinais e as flores para resfriado, gripe e prisão de ventre (MAIA-SILVA et al., 2012). O chá das folhas duas vezes ao dia é usado com finalidade de combater gases e má digestão (CHAVES e BARRO, 2012). Além disso, estudos fitoquímicos são incipientes, evidenciando até o momento apenas a presença de taninos nas cascas e de compostos fenólicos nas raízes (MONTEIRO et al., 2014). Várias são as vantagens terapêuticas da *P. bracteosa*, no entanto, fitoquímicos presentes nesta planta podem ser tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil fitoquímico, analisar o efeito citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato etanólico das folhas de *P. bracteosa* em células meristemáticas de *Allium cepa* L. (cebola) e mutagênico nas células sanguíneas de *Mus musculus* L. (camundongos).

Metodologia

Folhas de *P. bracteosa* foram coletadas na Embrapa (Teresina-PI), em agosto de 2016. Exemplos foram identificados e depositados no Herbário Afrânio Fernandes da Universidade Estadual do Piauí (UESPI, Teresina), sob o número de voucher HAF 03635. Sementes de *A. cepa* cv. Vale Ouro IPA-11 foram cedidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA, Recife, PE). Os camundongos machos Swiss (*M. musculus*) foram provenientes do biotério da Faculdade de Ciências Médicas da UESPI. O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UESPI 5117/16) com cinco grupos (cinco animais por grupo). Folhas de *P. bracteosa* foram secas em estufa (45°C) durante cinco dias. Posteriormente, as mesmas foram trituradas até a obtenção de um pó. O pó (800 g) foi submetido à extração em 1 L de álcool etílico (96%) e rotaevaporado ($\leq 40^{\circ}\text{C}$) até obtenção do extrato



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

etanólico bruto. O perfil fitoquímico do extrato foi realizado no Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais do Instituto Federal do Piauí (IFPI). Para a prospecção fitoquímica, diferentes metabólitos primários e secundários foram testados segundo Randau et al. (2004). Em seguida, o pó do extrato foi diluído em solução a 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) e água destilada e colocado em banho ultrassônico durante 6 h. O material foi filtrado, obtendo-se quatro concentrações (2, 4, 8 e 16 mg/mL). As raízes de *A. cepa*, previamente germinadas, foram expostas aos controles, negativo (DMSO 1%) e positivo (Metilmetanosulfonato, 10 mg/L) e as quatro concentrações citadas do extrato durante 24 h. As raízes foram fixadas em metanol: ácido acético (3:1) por 24 h, hidrolisadas em HCl 1N (10 min.) a 60° C, lavadas em água destilada e coradas com Reativo de Schiff, por 2 h no escuro. Um total de 5000 células meristemáticas, 500 células por lâminas foram analisadas em microscópio óptico (400 x) para avaliar o efeito citotóxico (índice mitótico), genotóxico (alterações cromossômicas) e mutagênico (células portadoras de micronúcleos) do extrato. Na genotoxicidade, foram avaliadas alterações cromossômicas (AC) resultantes de interferências no fuso mitótico (efeito aneugênico), como C-metáfase, aderência cromossômica, perda cromossômica, anáfase multipolar e metafase poliploide, e/ou efeitos clastogênicos (fragmentos cromossômicos e pontes cromossômicas) (BIANCHI; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2016). Os micronúcleos (MN) podem surgir de efeitos aneugênicos e/ou clastogênicos (ALMEIDA et al., 2016). Em camundongos, a solução 1% de DMSO e água destilada e a ciclofosfamida (100 mg/kg) foram administradas aos camundongos como controle negativo (CN) e positivo (CP), respectivamente. Três concentrações do mesmo extrato etanólico (2, 4 e 8 mg/mL) também foram administradas aos camundongos. A via de administração do DMSO/água destilada e extrato foi por gavagem (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo), enquanto a ciclofosfamida foi via intraperitoneal (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo). Após 24 e 48 h, o sangue da cauda de cada animal foi coletado para o preparo de duas lâminas por animal. As lâminas foram secas em temperatura ambiente, fixadas em metanol (5 min.), coradas com Giemsa (15 min.) e lavadas com água destilada. A presença de MN em cada animal foi realizada pela contagem de 2000 eritrócitos normocromáticos para cada tempo de coleta em microscópio óptico (1000 x). Após os tempos de coleta, todos os animais foram sacrificados com altas doses de tiopental sódico. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido “a posteriori” pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$) no programa BioEstat 5.3.

Resultados e Discussão

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico de *P. bracteosa* indicou a presença de saponinas, taninos e açúcares redutores. No ensaio *A. cepa*, o MMS, um agente alquilante, utilizado neste estudo como CP, induziu níveis significativos na média total de AC e MN (Tabela 1) como observados na literatura (ALMEIDA et al., 2016; BIANCHI; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2016). Nos tratamentos, nenhuma das concentrações testadas foram



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

citotóxicas (índice mitótico) em relação ao CN (Tabela 1). Possivelmente, os fitoquímicos presentes no extrato não interferiram no processo de síntese de DNA ou no bloqueio da fase G2/M do ciclo celular, permitindo a entrada das células em divisão. Resultados similares também foram observados nas folhas de *Schinus terebinthifolius Raddi* com a presença de taninos e flavonoides, que são responsáveis pelo aumento da atividade antioxidante (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). Além disso, a composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas foi similar aos compostos do extrato etanólico da raiz, que apresentaram também atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimutagênicas (KARIMI et al., 2012; CRUZ et al., 2015). Em termos genotóxicos, a média total das AC foi significativa apenas na maior concentração (16 mg/mL) (Tabela 1). Contudo, nenhuma das AC (origem aneugênica e/ou clastogênica) avaliadas individualmente no presente estudo foram significativas nesta ou nas menores concentrações do extrato (dados não mostrados). Esta análise reforça a ação protetora dos compostos citados nas células meristemáticas de *A. cepa*, não interferindo com o processo de condensação da cromatina, polimerização das fibras do fuso e/ou com a citocinese das células (ALMEIDA et al., 2016; BIANCHI; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2016). Além disso, a presença não significativa de perdas e/ou quebras cromossômicas no presente estudo resultou em valores médios não significativos de MN (Tabela 1) nas concentrações avaliadas, uma vez que os MN são resultantes da ocorrência dessas AC (FERNANDES et al., 2009). Adicionalmente, resultado similar quanto a presença não significância de MN também foi observada nas células sanguíneas de camundongos após os dois tempos de coleta (24 e 48 h) quando comparados ao CN (Tabela 2) nas três concentrações (2, 4 e 8 mg/mL) do extrato, reforçando a não interferência dos fitoquímicos citados na segregação e/ou quebras cromossômicas. Além disso, a ciclofosfamida utilizada como CP, apresentou MN significativos (Tabela 2) como esperado (ARALDI et al., 2015).

Tabela 1 - Médias do índice mitótico, total de alterações cromossômicas e micronúcleos em células meristemáticas de *Allium cepa*, após exposição ao extrato etanólico das folhas de *Poincianella bracteosa* por 24 h.

| Concentrações (mg/mL) | Índice Mitótico (Média ± DP) | Alterações Cromossômicas (Média ± DP) | Micronúcleos (Média ± DP) |
|-----------------------|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| CN (DMSO 1%) | 161,53 ± 32,71 | 3,77 ± 2,61 | 0,63 ± 0,12 |
| 2 | 174,75 ± 53,15 | 3,24 ± 2,48 | 0,27 ± 0,43 |
| 4 | 170,23 ± 28,44 | 5,20 ± 2,95 | 1,09 ± 0,80 |
| 8 | 119,69 ± 38,46 | 5,87 ± 3,84 | 1,96 ± 1,60 |
| 16 | 144,24 ± 29,68 | 7,02 ± 2,86* | 1,72 ± 0,80 |
| MMS (10 mg/L) | 200,77 ± 38,28 | 17,18 ± 7,33** | 12,92 ± 4,18** |

CN: controle negativo. DMSO: Dimetilsulfóxido. Controle positivo: Metilmetanosulfonato (MMS). DP: desvio-padrão. *Significativo no teste de Kruskal-Wallis seguido "a posteriori" pelo teste de Student-Newman-Keuls (**p < 0,01; *p < 0,05). Resultados referentes a análise de 5000 células por concentração. **Fonte:** próprio autor.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tabela 2 - Média de eritrócitos micronucleados em células sanguíneas de camundongos (*Mus musculus*) após tratamento com três diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *P. bracteosa*, após 24 e 48 h.

| Concentrações (mg/mL) | Células Analisadas | Eritrócitos Micronucleados (Média ± DP) | |
|--------------------------|-----------------------|--|---------------|
| | | 24 h | 48 h |
| CN (DMSO 1%) | 10000 | 5,8 ± 2,49 | 8,8 ± 2,59 |
| 2 | 10000 | 5,4 ± 2,07 | 9,0 ± 1,87 |
| 4 | 10000 | 5,6 ± 3,65 | 9,0 ± 2,24 |
| 8 | 10000 | 5,6 ± 1,34 | 10,4 ± 1,67 |
| Ciclofosfamida | 10000 | 33,4 ± 6,23** | 37,4 ± 9,29** |

CN: controle negativo. DMSO: Dimetilsulfóxido. Controle positivo: Ciclofosfamida (100 mg/kg). DP: desvio-padrão. *Significativo no teste de Kruskal-Wallis seguido "a posteriori" pelo teste de Student-Newman-Keuls (**p < 0,01; *p < 0,05). **Fonte:** próprio autor.

Conclusão

Os resultados evidenciaram que possivelmente os fitoquímicos identificados não interferiram no ciclo celular e não provocaram alterações nas fibras do fuso (alterações cromossômicas) em *A. cepa* e nem danos mutagênicos (MN) nos dois bioensaios. No entanto, mais estudos são necessários para verificar como ocorre a interação bioquímica e o possível efeito protetor dos fitoquímicos do extrato de *P. bracteosa*.

Palavras-chave: Compostos fitoquímicos. Terapêutica. Plantas medicinais.

Referências

- ALMEIDA, P.M. et al. Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p.1-8, 2016.
- ARALDI, R. P., MELO, T. C., MENDES, T. B., et al. Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: a review. **Biomedicine e Pharmacotherapy**. v. 72, p. 74-82, 2015.
- BIANCHI, J.; FERNANDES, T.C.C.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. **Chemosphere**, v. 144, p. 475-483, 2016.
- CHAVES, E.M.F.; BARROS, R.F.M. Diversidade e uso de recursos medicinais do carrasco na APA da Serra da Ibiapaba, Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v.14, p. 476-486, 2012.
- CRUZ, R. C. D. et al. Bioatividade da raiz de *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz (Fabaceae) sobre larvas do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**. v.13, n.4, p.259-64, 2015.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

FEDEL-MIYASATO, L.E.S. et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: A comparative study. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 3411-3425, 2014.

FERNANDES, T.C.C. et al. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent-Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 1680-1686, 2009.

KARIMI, E. et al. Phenolic compounds characterization and biological activities of *Citrus aurantium* bloom. **Molecules**. v.17, p:1203–18, 2012.

LEWIS, G.P. *Poincianella* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB109774>>. Acesso em: 09 Dez. 2015.

MAIA-SILVA, C. et al. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**. 1. ed. - Fortaleza, Ce: Editora Fundação Brasil Cidadão, 191p. 2012.

MONTEIRO, J.M. et al. Does total tannin content explain the use value of spontaneous medicinal plants from the Brazilian semi-arid region? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 116-123, 2014.

RANDAU, K.P. et al. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* H.B.K. and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 89-96, 2004.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Citogenotoxicidade e mutagenicidade das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill em *Allium cepa* L. e *Mus musculus* L.

João Gabriel Silva Morais¹, Caio Felipe Norberto Siqueira², Pedro Igor Barros Santos², Rafael de Oliveira Magalhães², Joaquim Soares da Costa Júnior³, Francielle Aline Martins¹, Pedro Marcos de Almeida²

¹Centro de Ciências da Natureza (CCN), Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: pedromarcosalmeida@yahoo.com.br; ²Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Estadual do Piauí (UESPI/FACIME), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: alyne-lynes1@hotmail.com; ³Centro de Ciências da Natureza (CCN), Instituto Federal do Piauí (UFPI), Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais, Teresina, PI, Brasil. E-mail: maralves013@gmail.com

Introdução

Jatropha mollissima (Pohl) Baill, conhecida como pinhão bravo, é endêmica da região semiárida do nordeste do Brasil e amplamente utilizada na terapia popular (CREPALDI et al., 2016). O látex *in natura* possui atividade antimicrobiana e pode ser utilizado para tratar picadas de cobras e cicatrizar feridas (OLIVEIRA et al., 2010). As folhas são antioxidantes (MELO et al., 2010), apresentam potencial anti-helmíntico (RIBEIRO et al., 2014) e diminui os efeitos locais induzidos pelo veneno de cobras (GOMES et al., 2016). Embora *J. mollissima* tenha diversas potencialidades terapêuticas, diferentes constituintes químicos, como diterpenos e a ricina presentes nas folhas (GOMES et al., 2016) podem ser potencialmente tóxicos e/ou mutagênicos. Assim, a avaliação dos efeitos tóxicos de qualquer extrato de plantas com potencial medicinal deve ser realizada para analisar os riscos desses à saúde humana a curto e longo prazo. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil fitoquímico, analisar o efeito citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato etanólico das folhas de *J. mollissima* (EEFJm) em células meristemáticas de *Allium cepa* L. (cebola) e mutagênico nas células sanguíneas de *Mus musculus* L. (camundongos).

Metodologia

Folhas de *J. mollissima* foram coletadas em Parnaíba (PI) e os exemplares foram identificados e depositados no Herbário Afrânio Fernandes da Universidade Estadual do Piauí (UESPI, Teresina), sob o número de voucher HAF 03111. Sementes de *A. cepa* cv. Vale Ouro IPA-11 foram cedidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA, Recife, PE). Os camundongos machos Swiss (*M. musculus*) foram provenientes do biotério da Faculdade de Ciências Médicas da UESPI. O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UESPI 5116/2016) com cinco grupos (cinco animais por grupo). Folhas de *J. mollissima* foram secas em estufa (45°C) durante cinco dias. Posteriormente, as mesmas foram trituradas, submetidas à extração em álcool etílico (96%) e rotaevaporadas ($\leq 40^\circ\text{C}$) até obtenção do EEFJm. O perfil fitoquímico do extrato foi realizado no Laboratório de Química Orgânica e



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Produtos Naturais do Instituto Federal do Piauí (IFPI). Para a prospecção fitoquímica, diferentes metabólitos primários e secundários foram testados segundo Randau et al. (2004). Em seguida, o EEFJm foi diluído em solução a 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) e água destilada e colocado em banho ultrassônico (10 h). O material foi filtrado, obtendo-se cinco concentrações (0,01, 0,1, 1, 10 e 100 mg/mL). Raízes de *A. cepa*, previamente germinadas, foram expostas aos controles, negativo (DMSO 1%) e positivo (Metilmetanosulfonato, 10 mg/L) e as cinco concentrações citadas do extrato durante 24 h. As raízes foram fixadas em metanol: ácido acético (3:1) por 24 h, hidrolisadas em HCl 1N (10 min.) a 60° C, lavadas em água destilada e coradas com Reativo de Schiff, por 2 h no escuro. Um total de 5000 células meristemáticas, 500 células por lâminas foram analisadas em microscópio óptico (400 x) para avaliar o efeito citotóxico (índice mitótico), genotóxico (alterações cromossômicas) e mutagênico (células portadoras de micronúcleos) do extrato. Na genotoxicidade, foram avaliadas alterações cromossômicas (AC) resultantes de interferências no fuso mitótico (efeito aneugênico), como C-metáfase, aderência cromossômica, perda cromossômica, anáfase multipolar e metáfase poliploide, e/ou efeitos clastogênicos (fragmentos cromossômicos e pontes cromossômicas) (BIANCHI; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2016). Os micronúcleos (MN) podem surgir de efeitos aneugênicos e/ou clastogênicos (ALMEIDA et al., 2016). Em camundongos, a solução a 1% de DMSO e água destilada e a ciclofosfamida (100 mg/kg) foram administradas aos camundongos como controle negativo (CN) e positivo (CP), respectivamente. Três das cinco concentrações citadas do extrato etanólico (1, 10 e 100 mg/mL) também foram administradas aos camundongos. A via de administração do DMSO/água destilada e extrato foi por gavagem (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo), enquanto a ciclofosfamida foi pela via intraperitoneal (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo). Após 24 e 48 h, o sangue da cauda de cada animal foi coletado para o preparo de duas lâminas por animal. As lâminas foram secas em temperatura ambiente, fixadas em metanol (5 min.), coradas com Giemsa (15 min.) e lavadas com água destilada. A presença de MN em cada animal foi realizada pela contagem de 2000 eritrócitos normocromáticos para cada tempo de coleta em microscópio óptico (1000 x). Após os tempos de coleta, todos os animais foram sacrificados com altas doses de tiopental sódico. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido “a posteriori” pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$) no programa BioEstat 5.3.

Resultados e Discussão

A prospecção fitoquímica do EEFJm indicou a presença de flavonoides, alcaloides, açúcares redutores, triterpenos e esteroides. No ensaio *A. cepa*, o MMS, utilizado como CP, induziu níveis significativos na média total de AC e MN (Tabela 1), como observados na literatura (ALMEIDA et al., 2016; BIANCHI; FERNANDES; MARIN-MORALES, 2016). Nos tratamentos, o efeito citotóxico foi significativo apenas na maior concentração (100 mg/mL) em



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

relação ao CN (Tabela 1). Possivelmente, os fitoquímicos nesta concentração podem ter atuado de forma isolada e/ou sinérgica, alterando a dinâmica do ciclo celular, como observados nas folhas de *J. gossypifolia* (ALMEIDA et al., 2016). Em termos genotóxicos, a média total das AC foi significativa nas menores (0,01 e 0,1 mg/mL) e na maior (100 mg/mL) concentração (Tabela 1). Provavelmente, os danos genotóxicos podem estar associados com a variação na quantidade de fitoquímicos nas concentrações citadas. Desta forma, assim como observados por Bianchi; Fernandes; Marin-Morales (2016), nas menores concentrações do extrato, a menor quantidade de fitoquímicos poderia ter provocado a menor estimulação de respostas por enzimas antioxidantes (efeito protetor). Enquanto, as concentrações intermediárias teriam quantidade suficiente de resposta e na maior concentração, a maior quantidade de compostos teria atuado de forma prejudicial. Adicionalmente, as AC (origem aneugênica e/ou clastogênica) avaliadas individualmente no presente estudo não foram significativas (dados não mostrados), indicando o possível reparo das mesmas (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). Contudo, o reparo das AC não foi suficiente, o que explicaria as concentrações com média total genotóxica. Além disso, a presença significativa de MN (0,01 e 10 mg/mL) (ação mutagênica) (Tabela 1) também reforça a presença de alterações que não sofreram reparo (LEME e MARIN-MORALES (2009). Em camundongos, o EEFJm não apresentou MN significativos em nenhuma das concentrações (1, 10 e 100 mg/mL), após 24 h (Tabela 2). Além disso, após 48 h, houve redução significativa de MN em relação ao CN (Tabela 2). Possivelmente, a ausência da mutagenicidade está relacionada com a presença dos metabólitos da folha, principalmente os flavonoides e açúcares redutores, com atividade antioxidante, que podem neutralizar os efeitos deletérios causados por radicais livres ao genoma (NAVAS-LOPEZ et al., 2014). Além disso, a maior metabolização de agentes terapêuticos nos camundongos realizada pela maior quantidade de enzimas presentes no citocromo P450 em relação ao *A. cepa* (LEME e MARIN-MORALES, 2009) poderia justificar a diferença observada quanto a mutagenicidade em 10 mg/mL. Desta forma, devido ao maior metabolismo em mamíferos, pode-se formular a hipótese de que os fitoquímicos do EEFJm (mutagênicos nessa concentração em *A. cepa*) foram metabolizados de forma mais eficiente em camundongos do que na planta, impedindo a presença de possíveis danos ao genoma.

Tabela 1 - Médias do índice mitótico, total de alterações cromossômicas e micronúcleos em células meristemáticas de *Allium cepa*, após exposição ao extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima*, por 24 h.

| Concentrações (mg/mL) | Índice Mitótico (Média ± DP) | Alterações Cromossômicas (Média ± DP) | Micronúcleos (Média ± DP) |
|-----------------------|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| CN (DMSO 1%) | 157,91 ± 44,40 | 0,80 ± 0,90 | 0,66 ± 0,95 |
| 0,01 | 175,25 ± 49,00 | 2,63 ± 1,48** | 3,64 ± 3,50* |
| 0,1 | 227,88 ± 35,77 | 2,42 ± 1,73* | 2,24 ± 2,43 |
| 1 | 141,39 ± 25,33 | 1,56 ± 1,21 | 1,05 ± 0,93 |
| 10 | 154,60 ± 41,78 | 1,28 ± 1,57 | 2,24 ± 2,02* |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

| | | | |
|----------------------|------------------|---------------|---------------|
| 100 | 437,92 ± 37,13** | 3,54 ± 3,34** | 1,26 ± 0,85 |
| MMS (10 mg/L) | 212,31 ± 36,89 | 2,50 ± 2,03* | 7,92 ± 9,82** |

CN: controle negativo. DMSO: Dimetilsulfóxido. Controle positivo: Metilmetanosulfonato (MMS). DP: desvio-padrão. *Significativo no teste de Kruskal-Wallis seguido "a posteriori" pelo teste de Student-Newman-Keuls (**p < 0,01; *p < 0,05). Resultados referentes a análise de 5000 células por concentração. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 2 - Média de eritrócitos micronucleados em células sanguíneas de camundongos machos (*Mus musculus*) após tratamento com três diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima*, após 24 e 48 h.

| Concentrações (mg/mL) | Células Analisadas | Eritrócitos Micronucleados (Média ± DP) | |
|--------------------------|-----------------------|--|---------------|
| | | 24 h | 48 h |
| CN (DMSO 1%) | 10000 | 6,70 ± 4,67 | 7,50 ± 3,41 |
| 1 | 10000 | 4,90 ± 2,13 | 2,90 ± 0,99** |
| 10 | 10000 | 7,20 ± 2,49 | 3,70 ± 1,95* |
| 100 | 10000 | 11,40 ± 5,54 | 3,60 ± 1,78* |
| Ciclofosfamida | 10000 | 31,00 ± 15,57** | 31,60 ± 9,77* |

CN: controle negativo. DMSO: Dimetilsulfóxido. Controle positivo: Ciclofosfamida (100 mg/kg). DP: desvio-padrão. *Significativo no teste de Kruskal-Wallis seguido "a posteriori" pelo teste de Student-Newman-Keuls (**p < 0,01; *p < 0,05). **Fonte:** próprio autor.

Conclusão

Os resultados evidenciaram que possivelmente os fitoquímicos interferiram no ciclo celular e provocaram AC e MN em algumas das concentrações avaliadas em *A. cepa* e ausência de MN em camundongos. Adicionalmente, mais estudos dessa espécie com outros bioensaios são necessários para elucidar o mecanismo de ação no ciclo celular e na formação de alterações cromossômicas.

Palavras-chave: Compostos fitoquímicos. Terapêutica. Plantas medicinais.

Referências

ALMEIDA, P.M. et al. Genotoxic potential of leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p.1-8, 2016.

BIANCHI, J.; FERNANDES, T.C.C.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. **Chemosphere**, v. 144, p. 475-483, 2016.

CREPALDI, C. G. et al. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semi-arid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 157-165, 2016.

FEDEL-MIYASATO, L.E.S. et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: A



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

comparative study. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 3411-3425, 2014.

GOMES, J. A. S. et al. Aqueous leaf extract of *Jatropha mollissima* (Pohl) Bail decreases local effects induced by *Bothropic* venom. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-13, 2016.

LEME, D.M.; MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p.71-81, 2009.

MELO, G. et al. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. **Molecules**, v. 15, p. 8534-8542, 2010.

NAVAS-LOPEZ, J. F. et al. Phenolic content variability and its chromosome location in tritordeum. **Frontiers in Plant Science**. v.5, n.10, p. 1-10, 2014.

OLIVEIRA, F. C. S. et al. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v. 12, p. 282-301, 2010.

RANDAU, K.P. et al. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* H.B.K. and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 89-96, 2004.

RIBEIRO, A. R. et al. Estudo da atividade anti-helmíntica do extrato etanólico de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill.(Euphorbiaceae) sob *Haemonchus contortus* em ovinos no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 1051-1055, 2014.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Prospecção fitoquímica e potencial antimutagênico das cascas e folhas de *Poincianella bracteosa* (Tul.) L.P. Queiroz.

Mariana Leite Pereira¹, Anna Catharina Feitosa Couto¹, Eduarda Norberto Siqueira¹, Jéssica Ohana de Alencar Ferraz¹, Maria das Dores Alves de Oliveira², Francielle Aline Martins³, Pedro Marcos de Almeida¹

¹Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Estadual do Piauí (UESPI/ FACIME), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: pedromarcosalmeida@yahoo.com.br; ²Centro de Ciências da Natureza (CCN), Instituto Federal do Piauí (UFPI), Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais, Teresina, PI, Brasil. E-mail: maralves013@gmail.com; ³Centro de Ciências da Natureza (CCN), Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Departamento de Genética, Laboratório de Genética, Teresina, PI, Brasil. E-mail: franufv@yahoo.com.br

Introdução

Poincianella bracteosa (Tul.) L.P. Queiroz. (Fabaceae), conhecida como catingueira, encontra-se nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (LEWIS, 2015). Essa espécie é utilizada na medicina popular para diferentes fins terapêuticos. Cascas e folhas são usadas no tratamento de infecções, diarreias, cólicas intestinais, hepatite e anemia e as flores são utilizadas para resfriado, gripe e prisão de ventre (MAIA-SILVA et al., 2012). Além disso, foi comprovada atividade larvicida (*Aedes aegypti*) do extrato aquoso da parte aérea (caule e folhas) (SANTOS et al., 2015). Estudos fitoquímicos nesta espécie são incipientes, evidenciando até o momento apenas a presença de taninos nas cascas (MONTEIRO et al., 2014) e de compostos fenólicos nas raízes (SILVA et al., 2015). Ressalta-se a importância desses e de outros compostos antioxidantes encontrados em diferentes plantas medicinais (ROCHA et al., 2016) que inibem a formação de radicais livres, que em excesso podem ocasionar danos ao DNA e, dessa forma, encontram-se envolvidos em patologias, como o câncer (MENDES, COSTA, MATEUS, 2015). Nesse sentido, as plantas medicinais podem desempenhar ações capazes de prevenir e/ou reparar alterações genômicas (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). Além disso, estima-se que 60% das drogas anticâncer são derivadas direta ou indiretamente de plantas medicinais, o que explica a grande quantidade de pesquisas que demonstram defesas naturais na modulação do reparo genômico (ROCHA et al., 2016). Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e o potencial antimutagênico dos extratos das cascas e folhas de *P. bracteosa* em células sanguíneas de camundongos pelo teste de micronúcleos (MN).

Metodologia

Cascas e folhas de *P. bracteosa* foram coletadas na EMBRAPA (Teresina - PI) e exemplares foram identificados e depositados no Herbário Afrânio Fernandes da Universidade Estadual do Piauí (UESPI, Teresina), sob o número de voucher HAF 03635. Camundongos machos Swiss (*Mus musculus*) foram provenientes do biotério da Faculdade de Ciências Médicas da UESPI. O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

UESPI 05902/15) com cinco animais por grupo. Cascas e folhas foram secas em estufa (45°C) durante cinco dias. Posteriormente, as mesmas foram trituradas, separadamente, até a obtenção de um pó. O extrato aquoso das cascas (EAC) e o extrato aquoso das folhas (EAF) foram preparados separadamente. Para cada extrato, 160 mg de cada pó foi diluído em 1 L de água destilada, permanecendo sob fervura durante 10 minutos. Em seguida, cada extrato obtido foi diluído em água destilada de modo a obter três doses (10, 20 e 40 mg/kg). A prospecção fitoquímica do EAC e EAF foi realizada pelo método colorimétrico no Instituto Federal do Piauí (IFPI-Teresina) para identificar os principais metabólitos primários e secundários segundo Randau et al. (2004). A antimutagenicidade para cada extrato foi realizada de forma simultânea (extrato e agente mutagênico). No controle negativo (CN), foi administrada água destilada. No controle positivo (CP), foi administrada a ciclofosfamida (CICLO, 50 mg/Kg, agente mutagênico). No tratamento simultâneo de cada extrato, foi administrado o extrato (EAC ou EAF) em três doses (10, 20 e 40 mg/kg) e a CICLO, ao mesmo tempo. A via de administração da água destilada e extrato foi por gavagem (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo), enquanto a CICLO foi via intraperitoneal (0,1 mL da solução/10 g peso corpóreo). Após 24, 48 e 72 h, o sangue da cauda de cada animal foi coletado para o preparo de duas lâminas por animal. As lâminas foram secas em temperatura ambiente, fixadas em metanol (5 min.), coradas com Giemsa (15 min.) e lavadas com água destilada. A presença de MN em cada animal foi realizada pela contagem de 2000 eritrócitos normocromáticos para cada tempo de coleta em microscópio óptico (1000 x). A porcentagem de redução de danos de micronúcleos (%RDMN) foi obtida pela diferença entre as médias do CP e tratamentos dividido pela diferença entre as médias do CP e CN, multiplicado por 100 (WATERS et al., 1990). Após os tempos de coleta, todos os animais foram sacrificados com altas doses de tiopental sódico. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido “a posteriori” pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$) no programa BioEstat 5.3.

Resultados e Discussão

A partir dos resultados obtidos, verificou-se que a CICLO (CP) resultou em MN significativos quando comparada ao CN (Tabelas 1 e 2). No EAC, após 24 e 72 h observou-se a redução significativa de MN nas maiores doses (20 e 40 mg/Kg) quando comparada com o CP (Tabela 1). Em 48 h, houve redução significativa de MN apenas em 40 mg/Kg (Tabela 1). Além disso, a %RDMN variou de 25,7 a 105,8 (Tabela 1). Enquanto no EAF, em todos os tempos de coleta e nas três doses (10, 20 e 40 mg/Kg), houve redução significativa de MN (Tabela 2) e a %RDMN variou de 61,67 a 134,07. Esses resultados mostram a maior eficiência do EAF no efeito protetor contra ação mutagênica da CICLO. O perfil fitoquímico no presente estudo evidenciou a presença de taninos e açúcares redutores nos dois extratos e de alcaloides no EAF. Possivelmente, os fitoquímicos atuaram de forma sinérgica e/ou isolados, bloqueando ação de mutágenos, decorrentes do metabolismo da ciclofosfamida, no DNA



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

(MELLADO-GARCÍA et al., 2016). Os fitoquímicos citados podem ter atuado como compostos antioxidantes (TANIA et al., 2016), anti-inflamatórios e antimutagênicos, que neutralizam os radicais livres, sequestram íons metálicos e estimulam enzimas antioxidantes capazes de atuar de forma mais eficaz para evitar os danos causados pela CICLO (MELLADO-GARCÍA et al., 2016). Resultados similares quanto ao efeito protetor foram relatados por Rocha et al. (2016). Adicionalmente, o menor efeito protetor do EAC na menor concentração (10 mg/Kg) nos três tempos de coleta (Tabela 1) pode estar associada a baixa biodisponibilidade dos fitoquímicos durante a metabolização desse extrato. Mesmo assim, o EAC nessa concentração apresentou efeito protetor moderado (25 a 40%), enquanto todos outros valores de %RDMN que estão acima de 40%, indicaram a forte antimutagenicidade tanto no EAC como no EAF, como proposto por Verschaeve e Staden (2008).

Tabela 1. Média de eritrócitos micronucleados em células sanguíneas de camundongos (*Mus musculus*) após tratamento simultâneo com três diferentes concentrações do extrato aquoso das cascas de *P. bracteosa* e ciclofosfamida.

| Tratamento | Eritrócitos Micronucleados (Média ± Desvio Padrão) | | | %RDMN | | |
|------------------------------|---|--------------|-------------|-------|-------|------|
| | 24 h | 48 h | 72 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| CN | 6,5 ± 1,1** | 10,0 ± 2,2** | 6,8 ± 2,9** | - | - | - |
| CP | 27,1 ± 2,7 | 25,5 ± 2,8 | 20,2 ± 3,4 | - | - | - |
| 10 mg/Kg + Ciclofosfamida | 21,8 ± 5,3 | 21,5 ± 1,1 | 16,4 ± 4,0 | 25,7 | 25,8 | 28,7 |
| 20 mg/Kg + Ciclofosfamida | 13,2 ± 2,2* | 16,7 ± 2,5 | 7,9 ± 2,9* | 67,5 | 56,7 | 91,8 |
| 40 mg/Kg + Ciclofosfamida | 11,1 ± 2,6* | 9,1 ± 1,6* | 8,1 ± 2,1* | 77,7 | 105,8 | 90,0 |

CN (Controle Negativo): água destilada. CP (Controle Positivo): ciclofosfamida (50 mg/Kg). %RDMN: porcentagem de redução de danos de MN. – (não avaliado). *Significativo no teste de Kruskal-Wallis com teste de Student-Newman-Keuls a posteriori (* p < 0,05; ** p < 0,01) quando comparados com o CP. Os resultados referem-se à análise de 10.000 células. **Fonte:** próprio autor.

Tabela 2. Média de eritrócitos micronucleados em células sanguíneas de camundongos (*Mus musculus*) após tratamento simultâneo com três diferentes concentrações do extrato aquoso das folhas de *P. bracteosa* e ciclofosfamida.

| Tratamento | Eritrócitos Micronucleados (Média ± Desvio Padrão) | | | %RDMN | | |
|------------------------------|---|-------------|-------------|-------|------|-------|
| | 24 h | 48 h | 72 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| CN | 6,3 ± 1,7** | 4,9 ± 1,3** | 6,9 ± 1,3** | - | - | - |
| CP | 17,9 ± 3,4 | 10,9 ± 2,2 | 16,0 ± 2,6 | - | - | - |
| 10 mg/Kg + Ciclofosfamida | 8,8 ± 2,2** | 6,6 ± 1,6* | 3,8 ± 1,5** | 78,5 | 71,7 | 134,1 |
| 20 mg/Kg + Ciclofosfamida | 6,2 ± 1,7** | 5,6 ± 1,4** | 8,0 ± 2,1** | 100,8 | 88,3 | 87,9 |
| 40 mg/Kg + Ciclofosfamida | 7,8 ± 2,8** | 7,2 ± 1,7* | 9,4 ± 2,2* | 87,1 | 61,7 | 72,5 |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

CN (Controle Negativo): água destilada. CP (Controle Positivo): ciclofosfamida (50 mg/Kg). %RDMN: porcentagem de redução de danos de MN. – (não avaliado). *Significativo no teste de Kruskal-Wallis com teste de Student-Newman-Keuls a posteriori (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$) quando comparados com o CP. Os resultados referem-se à análise de 10.000 células. **Fonte:** próprio autor.

Conclusão

A partir das análises realizadas observou-se resultados favoráveis ao potencial antimutagênico nas maiores doses do EAC e em todas as doses do EAF de *P. bracteosa* no tratamento simultâneo. Ressalta-se ainda a importância de mais estudos para assegurar o potencial efeito protetor dos extratos de *P. bracteosa* no DNA.

Palavras-chave: Compostos fitoquímicos. Terapêutica. Plantas medicinais.

Referências

FEDEL-MIYASATO, L.E.S. et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: A comparative study. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 3411-3425, 2014.

LEWIS, G.P. *Poincianella* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB109774>>. Acesso em: 09 Dez. 2015.

MAIA-SILVA, C. et al. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga**. 1. ed. - Fortaleza, Ce: Editora Fundação Brasil Cidadão, 191p. 2012.

MELLADO-GARCÍA, P. et al. Genotoxicity of a thiosulfonate compound derived from *Allium* sp. intended to be used in active food packaging: In vivo comet assay and micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 800, p. 1-11, 2016.

MENDES, V., COSTA, V., MATEUS, N. Involvement of the modulation of cancer cell redox status in the anti-tumoral effect of phenolic compounds. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 5, p. 1-9, 2015.

MONTEIRO, J.M. et al. Does total tannin content explain the use value of spontaneous medicinal plants from the Brazilian semi-arid region? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 116-123, 2014.

RANDAU, K.P. et al. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* H.B.K. and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 89-96, 2004.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

ROCHA et al. Analysis of the anti-inflammatory and chemopreventive potential and description of the antimutagenic mode of action of the *Annona crassiflora* methanolic extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, p. 35-47, 2016.

SANTOS, I. P. C. et al. Bioatividade de extratos aquosos da parte aérea de *Poincianella bracteosa* sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, p. 2908-2915, 2015.

SILVA, P. S. et al. Avaliação dos constituintes químicos e da capacidade antioxidante da raiz da *Poincianella bracteosa*. **X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia V Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco da UNIVASF**. 16-19 de setembro de 2015, Juazeiro-BA.

TANIA, M.P. et al. Antioxidant effect of plant extracts of the leaves of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray on the free radical DPPH. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, p. 1182-1189, 2016.

VERSCHAEVE, L.; STADEN, J.V. Mutagenic and antimutagenic properties of extracts from South African traditional medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 575-587, 2008.

WATERS, M.D. et al. Antimutagenicity profiles for some model compounds. **Mutation Research**, v. 238, p. 57-85, 1990.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Efeito modular de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. sobre a mutagenicidade da doxorubicina em células somáticas de *Drosophila melanogaster*

Cleidiane Macêdo Santos¹, Kelvim Crist Araújo Rocha¹, Maria do Socorro de Brito Lopes¹, Francisco Soares Santos Filho¹, Pedro Marcos de Almeida², Francielle Alline Martins¹

¹Centro de Ciências da Natureza/CCN, Universidade Estadual do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

cledianemacedo100@hotmail.com; ² Centro de Ciências da Saúde/ FACIME, Universidade Estadual do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

Introdução

O uso de plantas/fitoquímicos no combate ao *Aedes aegypti* tem sido uma estratégia alternativa a utilização de inseticidas sintéticos no mundo todo. Estudos recentes revelaram atividade larvicida satisfatória do extrato foliar do pinhão bravo (*Jatropha mollissima*), no entanto, antes da recomendação e uso, estudos do potencial toxicológico deste ao ambiente e à saúde humana devem ser realizados (ARAÚJO et al., 2014).

Dentre os métodos disponíveis para avaliação do potencial toxicogenético destacam-se os testes SMART (Somatic Mutation and Recombination Test). O SMART é um teste para detecção de mutação somática e recombinação, é uma técnica que utiliza o organismo *Drosophila melanogaster* e baseia-se no fato de que, durante o início do desenvolvimento embrionário das moscas, grupos de células (discos imaginais) proliferam mitoticamente até se diferenciarem em estruturas do corpo da mosca adulta (olhos, asas, etc.) e caso ocorra uma alteração genética em uma das células primordiais dos discos imaginais, esta alteração será detectada como uma mancha de pelos mutantes, na asa da mosca adulta (GUZMÁN-RINCÓN e GRAF, 1995).

Tendo em vista o potencial uso do pinhão bravo como planta biolarvicida e a necessidade eminente de avaliação dos possíveis riscos ambientais e à saúde humana desse extrato, o presente estudo teve como objetivo principal a análise do potencial mutagênico e/ou antimutagênico do extrato foliar etanólico de *J. mollissima* em células somáticas *D. melanogaster*.

Metodologia

Folhas de *J. mollissima* foram coletadas no município de Luís Correia – PI, secas em estufa à 45°C e em seguida pulverizadas. O pó foi solubilizado em etanol absoluto e após 72h filtrado e submetido à rotaevaporação em pressão reduzida e temperatura de 60°C. Após seco com o auxílio de Speed Vacuum a 45 °C, o extrato etanólico (EE) foi avaliado em cinco concentrações: 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 mg/mL e o perfil fitoquímico determinado como descrito por BARBOSA et al. (2001).

Machos da linhagem mwh de *D. melanogaster*, com constituição cromossômica mwh/mwh foram cruzados com fêmeas virgens da linhagem flr3



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

(flare), com constituição genética flr3/ln (3LR)TM3, ripp sep l(3)89Aabx34e e Bds. Larvas de terceiro estágio de desenvolvimento, 72 ± 4 horas, foram transferidas para frascos de vidros contendo 1,5 g de meio de cultura alternativo (purê de batata instantâneo, Yoki®) e 5 mL das diferentes concentrações do EE isoladamente ou em associação com a doxorubicina (DXR-0,125mg/mL). Como controle negativo foi utilizado água destilada e como controle positivo DXR isoladamente.

Os adultos emergentes foram coletados e conservados em etanol 70%. As asas das moscas foram extraídas com auxílio de pinça e analisadas em microscópio óptico de luz para observação e quantificação da presença dos diferentes padrões de manchas mutantes.

Os dados de mutagenicidade foram analisados por meio do teste Binomial condicional (Teste de Kastenbaum Bowman) a 5% de probabilidade, descrito por Frei e Würzler (1988). Para a análise estatística da antimutagenicidade, as frequências de cada tipo de mancha por mosca, foram comparadas aos pares (DXR vs. Extrato + DXR), usando o teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (FREI e WÜRGLER, 1995).

Resultados e Discussão

No ensaio, observou-se que as frequências de manchas no controle positivo, em todas as categorias avaliadas, foram significativamente maiores quando comparadas ao controle negativo. Este resultado demonstrou que o teste SMART é sensível o suficiente para detectar a presença de agentes mutagênicos (FERNANDES et al., 2014).

As diferentes concentrações do EE, quando comparadas ao controle negativo, não apresentaram diferenças significativas em relação ao número total de manchas, manchas pequenas, grandes ou gêmeas. Indicando que o EE não foi capaz de causar dano direto ao DNA (Tabela 1).

Efeito antimutagênico foi observado nos co-tratamentos com diferentes concentrações do EE em associação com a DXR. Os dados mostraram redução significativa na frequência de todas as categorias de manchas para todas as concentrações avaliadas, sugerindo um efeito modulador ao dano causado pela DXR no DNA das células somáticas de *D. melanogaster*. O efeito citotóxico da DXR é atribuído à sua transformação em radicais livres de semiquinona, levando à morte celular por danos ao DNA (FELÍCIO et al., 2011). Então podemos considerar que o EE quando combinado com a DXR atuou como estabilizador dos radicais livres induzidos pela DXR.

A presença de flavonoides e açúcares redutores evidenciada na análise fitoquímica corrobora com esta potencial atividade antioxidante do EE, visto que estes compostos atuam retardando ou impedindo os danos oxidativos, causados pelos radicais livres, que podem levar ao mau funcionamento das células (SILVA et al., 2017).

Observou-se ainda, a presença de alcaloides e triterpenos. Nos vegetais os alcaloides desempenham a função de defesa contra predadores (GALLARRETA et al., 2016). Alguns alcaloides são inseticidas e agem como repelentes em herbívoros (FUMAGALI et al., 2008). Juntamente com os flavonoides, terpenos e alcaloides são considerados os principais grupos de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

metabólitos das plantas, responsáveis pela atividade inseticida a vários insetos (PARMAR et al., 1997) inclusive *A. aegypti*, o que pode explicar a atividade larvicida de *J. mollissima* relatada por Araújo et al. (2014).

Tabela 1 - Frequência de manchas mutantes nas asas de *Drosophila melanogaster* tratadas com extrato foliar de *Jatropha mollissima*.

| Tratamentos (mg/mL) | N | Frequência de manchas por indivíduo ^{a,b} | | | |
|--|----|--|---------------------------|-------------|---------------|
| | | MSP (1-2 céls) m = 2 | MSG (>2 céls) m = 5 | MG m = 5 | TM m = 2 |
| Controle Negativo | 30 | 2,93(88) | 0,13(04) | 0,03(01) | 3,10(93) |
| EE 0,01 | 30 | 2,03(61) - | 0,13(04) i | 0,00(00) i | 2,17(65) - |
| EE 0,1 | 30 | 2,63(79) - | 0,13(04) i | 0,00(00) i | 2,77(83) - |
| EE 1 | 30 | 2,73(82) - | 0,07(02) i | 0,00(00) i | 2,57(77) - |
| EE 10 | 30 | 2,30(69) - | 0,20(06) i | 0,07(02) i | 2,57(77) - |
| EE 100 | 30 | 3,77(113) f+ | 0,50(15) i | 0,03(01) i | 4,30(129) f+ |
| DXR 0,125 (Controle Positivo) | 30 | 31,87(956) + | 14,20(426) + | 1,73(52) + | 47,80(1434) + |
| DXR 0,125 + EE 0,01 | 30 | 4,40(132)* | 1,10(33)* | 0,23(07)* | 5,73(172)* |
| DXR 0,125 + EE 0,1 | 30 | 2,47(74)* | 0,77(23)* | 0,47(14)* | 3,70(111)* |
| DXR 0,125 + EE 1 | 30 | 3,73(112)* | 0,83(25)* | 0,47(14)* | 5,03(151)* |
| DXR 0,125 + EE 10 | 30 | 2,10(63)* | 0,53(16)* | 0,30(09)* | 2,93(88)* |
| DXR 0,125 + EE 100 | 30 | 3,30(99)* | 0,60(18)* | 0,37(11)* | 4,27(128)* |

Fonte: dados experimentais

^a Diagnóstico estatístico pelo Teste de Kastenbaum Bowman (Frei e Würigler, 1988): - negativo; +positivo; i inconclusivo e f+ fraco positivo; Níveis de significância a = b = 0,05 vs. controle negativo (água destilada).

^b Diagnóstico estatístico de acordo com o teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (Frei e Würigler; 1995): * p < 0.05 vs. controle positivo (Doxorrubicina - DXR).

m: fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos; EE: extrato etanólico de *J. mollissima*

Conclusão

O extrato etanólico de *Jatropha mollissima* não apresentou atividade mutagênica nas concentrações avaliadas, dessa forma, este foi considerado um promissor bioinseticida no combate ao *A. aegypti*. Adicionalmente, atividade antimutagênica do extrato foi observada, evidenciando um potencial uso deste extrato também no combate ao câncer. Embora promissores, estudos adicionais com outros modelos experimentais são úteis para confirmar a segurança e atividade do extrato de *J. mollissima* para mamíferos.

Palavras-chave: Mutagênese. Toxicidade. *Jatropha*



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Referências

ARAÚJO, J. R. S. et al. Bioatividade de extratos foliares contra larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). In: **Anais do 2º Simpósio Regional de Diversidade Biológica**, p. 123-130, 2014.

FELÍCIO, L. P. et al. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. SMART/wing. **Genetic and Molecular Research**, v. 10, p. 16-24, 2011.

FERNANDES, F. H. et al. Assessment of the (anti)genotoxicity of brown propolis extracts from Brazilian Cerrado biome in a *Drosophila melanogaster* model. **Food Research International**, v. 62, p. 20-26, 2014.

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

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

FUMAGALI, E. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos e plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 627-641, 2008.

GALLARRETA, M. S. et al. Avaliação qualitativa da presença de alcaloides em *Bougainvillea glabra choisy*. In: **Anais do VII Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal do Pampa**, v. 8 p., 2016.

GUZMÁN-RICÓN, J., GRAF, U. *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. In: Butterworth FM et al. (eds). **Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental changes**. Phenunm Press, New York, p. 169-181, 1995.

PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the Genus Piper. **Pytochemistry**, v.46, p. 597-673, 1997.

SILVA, M. G. G. et al. Atividade antioxidante e quantificação de compostos fenólicos bioativos da espécie do semiárido *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud. In: **Anais do Encontro Anual da Biofísica** p. 96-97, 2017.

Agradecimentos

Somos gratos à Secretaria Estadual de Desenvolvimento Econômico e Tecnológico do Estado do Piauí (SEDET-PI) pelo financiamento e aquisição de equipamentos que possibilitaram o desenvolvimento deste estudo.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Efeito modulador das folhas de *Poincianella bracteosa* em células somáticas de *Drosophila melanogaster*

Maria do Socorro de Brito Lopes², Regina Maria Silva Sousa¹, José Rafael Silva Araújo², Joaquim Soares da Costa Júnior³, Francisco Soares dos Santos Filho¹, Pedro Marcos de Almeida⁴ Francielle Aline Martins¹

¹ Centro de Ciências da Natureza, Universidade Estadual do Piauí, Teresina-PI, Brasil. profafrancielle@yahoo.com.br;

²Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.; ³ Centro de Ciências da Natureza, Instituto Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.; ⁴ Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

Introdução

Poincianella bracteosa (Tul.) L.P. Queiroz. (Fabaceae), popularmente conhecida como "pau-de-rato" e/ou "catingueira" é uma árvore de porte médio, que pode alcançar de 3 a 10 m de altura (QUEIROZ, 2009) endêmica do Brasil, encontra-se nos Biomas da Caatinga e Cerrado (MAIA-SILVA et al. 2012) e distribuída nas regiões Norte (Tocantins), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí) e Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso) (LEWIS, 2015).

A casca, flor, folha, raiz e caule são preparados nas formas de garrafada, infusão e xarope e utilizados na terapia popular no tratamento de gastrite, azia, problemas gástricos, tosse, bronquite, asma, infecções respiratórias, gripe, cólica, febre, flatulência, diarreia, diabetes, diurético, antipirético, expectorante e afrodisíaco (ALBUQUERQUE et al., 2007; CARTAXO et al., 2010).

Considerando a sensibilidade de Teste SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) para detecção de mutação somática em *D. melanogaster* e a utilização de *P. bracteosa* na medicina tradicional, o presente estudo objetivou a avaliar o potencial antimutagênico do chá das folhas de catingueira em danos induzidos pela doxorubicina ao DNA de células somáticas de *D. melanogaster*.

Metodologia

Folhas de *P. bracteosa* foram colocadas em estufa para secagem a 48°C. O material seco das folhas foi triturado em liquidificador e em seguida 3,2 g foram solubilizados 100 mL. A solução foi fervida por 10 minutos e em seguida filtrada e armazenada a 4°C por 24 h. O extrato foi avaliado em quatro concentrações: 2; 4; 8 e 16mg/mL combinadas com Cloridrato de Doxorubicina (DXR-0,125mg/mL). DXR é um agente quimioterápico utilizado no tratamento de várias neoplasias humanas, em *D. melanogaster*, no teste SMART, a doxorubicina induz efeitos mutagênicos e recombinogênicos, sendo muito utilizada como controle como indutor nas avaliações antimutagênicas.

Dois cruzamentos foram realizados: (1) cruzamento padrão (Standard - ST), com níveis basais de enzimas de metabolização (citocromo P450), e (2) o



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

cruzamento de alta bioativação (HB), com níveis elevados de enzimas de metabolização (citocromo P450).

Para o ST, machos da linhagem mwh (multiple wing hairs), com constituição cromossômica mwh/mwh, foram cruzados com fêmeas virgens da linhagem flr3 (flare), com constituição genética flr3/ln (3LR)TM3, ripp sep l(3)89Aabx34e e Bds. Para o HB, machos mwh foram cruzados com fêmeas virgens ORR; flr3, com constituição genética ORR/ORR; flr3/ln (3LR)TM3,ri pp sep l(3)89Aabx34e e Bds (GRAF & VAN SCHAİK, 1992).

Após cruzamento, larvas de terceiro estágio de desenvolvimento, 72 ± 4 horas, foram transferidas para frascos de vidros contendo 1,5 g de purê de batata instantâneo, Yoki® e 5 mL das diferentes concentrações do extrato da folha de *P. bracteosa* em associação com DXR (0,125mg/mL). Como controle negativo foi utilizada água destilada e como controle positivo apenas a DXR.

Os adultos emergentes dos cruzamentos ST e HB foram coletados e conservados em etanol 70%. As asas das moscas foram extraídas com auxílio de lupa binocular e de pinças entomológica, pareadas em lâminas e observadas ao microscópio para quantificação da presença dos diferentes padrões de manchas mutantes nas asas das moscas (tipo e o tamanho das mesmas).

Para a análise estatística da antimutagenicidade as frequências de cada tipo de mancha por mosca, foram comparadas aos pares (DXR isoladamente vs. Extrato + DXR), usando o teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (FREI E WÜRGLER, 1995).

Resultados e Discussão

Como esperado o controle positivo promoveu um aumento significativo no número de manchas para todas as categorias avaliadas quando comparado com o controle negativo ($p < 0,05$) nos dois cruzamentos avaliados, ST e HB. Este resultado demonstrou que o teste SMART é sensível o suficiente para detectar a presença de agentes mutagênicos (FERNANDES et al., 2014).

Nos descendentes do cruzamento ST foi observada diminuição significativa do número de manchas gêmeas em todas as concentrações avaliadas, as manchas gêmeas surgem exclusivamente por eventos recombinogênico, desta forma esses dados sugerem que o chá atua na modulação da ocorrência desse efeito induzido pela DXR (ARAÚJO, 2008) (Tabela 1). Para a maior concentração avaliada, 16mg/mL, observou-se ainda o aumento significativo de manchas simples pequenas e grandes, o que demonstra um efeito potencializador do chá sobre a ação mutagênica da DXR.

No cruzamento HB observou-se a diminuição da frequência de manchas simples pequenas e no total de manchas para todas as concentrações em estudo (Tabela 1), sugerindo um efeito modulador ao dano causado pela DXR no DNA das células somáticas de *D. melanogaster*, assim como observado por (DUTRA, 2007).

A diferença entre os cruzamentos ST e HB está relacionada ao nível de CYP450. Descendentes do cruzamento ST possuem níveis basais de CYP450, enquanto os descendentes do cruzamento HB apresentam alta expressividade das enzimas CYP450. Este conjunto de enzimas envolve o metabolismo de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

vários compostos endógenos e xenobióticos. Algumas drogas são inativas através desta biotransformação, no entanto, alguns metabólitos gerados neste processo podem apresentar aumento das suas propriedades ativas (SATURNINO et al., 2017). Isto explica por que o efeito do chá foi diferente nos cruzamentos ST e HB, pois neste os produtos gerados da metabolização do chá atuaram na modulação dos efeitos da DXR, enquanto naquele a ingestão do chá na concentração 16 mg/ml interagiu diretamente com a DXR, potencializando seu efeito.

Tabela 1 - Frequência de manchas mutantes nas asas de *Drosophila melanogaster* dos cruzamentos ST e HB tratadas com o chá de *Poincianella bracteosa* em associação com a Doxorubicina (DXR-0,125 mg/ml)

| Tratamentos | | Nº | Manchas por indivíduo diagnóstico estatístico ^{a,b} | | | |
|----------------------|-------------|----|--|--------------------------------------|----------------|------------------|
| DXR (mg/ml) | Chá (mg/ml) | | Manchas pequenas (1-2 células) | Manchas simples grandes (>2 células) | Manchas gêmeas | Total de manchas |
| Cruzamento ST | | | | | | |
| 0 | 0 | 20 | 0,85 (17) | 0,00 (00) | 0,05 (01) | 0,90 (18) |
| 0,125 | 0 | 20 | 6,31 (123)+ | 3,28 (64)+ | 3,38 (66)+ | 12,97 (253)+ |
| 0,125 | 2 | 20 | 5,45 (109) | 4,40 (88) | 0,45 (09)* | 10,30 (206) |
| 0,125 | 4 | 20 | 6,25 (125) | 3,50 (70) | 0,10 (02)* | 9,85 (197) |
| 0,125 | 8 | 20 | 9,40 (188) | 6,45 (129) | 0,40 (08)* | 16,25 (325) |
| 0,125 | 16 | 20 | 17,10 (342)* | 9,60 (192)* | 1,10 (22)* | 27,80 (556)* |
| Cruzamento HB | | | | | | |
| 0 | 0 | 20 | 2,55 (51) | 0,00 (00) | 0,00 (00) | 2,55 (00) |
| 0,125 | 0 | 20 | 14,95 (299) | 0,75 (15) | 0,00 (00) | 15,70 (314) |
| 0,125 | 2 | 20 | 5,35 (107)* | 4,15 (83)* | 0,20 (04) | 9,70 (194)* |
| 0,125 | 4 | 20 | 4,35 (87)* | 1,70 (34) | 0,45 (09) | 6,50 (130)* |
| 0,125 | 8 | 20 | 2,40 (48)* | 0,65 (13) | 0,15 (03) | 3,20 (64)* |
| 0,125 | 16 | 20 | 1,65 (33)* | 0,10 (02) | 0,10 (02) | 1,85 (37)* |

Fonte: dados experimentais próprios

^a Diagnóstico estatístico pelo Teste de Kastenbaum Bowman (Frei e Würigler, 1988): - negativo; +positivo; Níveis de significância $a = b = 0,05$ vs. controle negativo (água destilada).

^b Diagnóstico estatístico de acordo com o teste U de Mann, Whitney e Wilcoxon (Frei e Würigler; 1995): * $p < 0.05$ vs. controle positivo (Doxorubicina - DXR).

m: fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos.

^c Calculado de acordo com Abraham (1994): $[(DXR - chá + DXR / DXR) \times 100]$.

Conclusão

O chá das folhas de *P. bracteosa* em altas concentrações atua potencializando o dano ao DNA induzido pela DXR em células somáticas de *D. melanogaster*, no entanto, a metabolização do mesmo gera subprodutos que apresentam efeito modulador, capazes de diminuir a ocorrência de mutações, sendo assim, embora promissores, estudos posteriores são necessários para identificar e isolar quais são esses metabólitos secundários responsáveis por esta inibição que futuramente poderão ser explorados pela indústria farmacêutica.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Palavras-chave: Chá medicinal. Genotoxicidade. Toxicidade

Referências

ARAÚJO, B. C. Efeito protetor do chá verde (*Camellia sinensis*) contra a ação genotóxica da doxorubicina, em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

DUTRA, E. S, DIAS, C. D.; ARAÚJO, B.C. ; CASTRO, A. J. S.; NEPOMUCENO, J. C.. Effect of organic tomato (*Lycopersicon esculentum*) extract on the genotoxicity of doxorubicin in the *Drosophila* wing spot test. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, p. 133-137, 2009.

FERNANDES FH, GUTERRES ZR, GARCEZ WS, LOPES SM, CORSINO J, GARCEZ FG. 2014. Assessment of the (anti)genotoxicity of brown propolis extracts from Brazilian Cerrado biome in a *Drosophila melanogaster* model. **Food Res Int** 62: 20-26.

FREI H, WÜRGLER FE 1995. Optimal experimental design and simple size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. **Mutat Res** 334: 247 – 258.

GRAF U, VAN SCHAİK N. 1992. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test of *Drosophila melanogaster* **Mutat Res** 271: 59-67.

LEWIS GP. *Poincianella* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB109774>>. Acesso em: 09 Dez. 2015.

MAIA-SILVA C et al. 2012. **Guia de plantas: visitadas por abelhas na Caatinga. 1. ed. Fortaleza-Ce: Editora Fundação Brasil Cidadão, 191p.**

QUEIROZ LP. 2009. **Leguminosas da caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 467p.

SATURNINO RS, MACHADO NM, LOPES JC & NEPOMUCENO JC. 2017. Assessment of the mutagenic, recombinogenic, and carcinogenic potential of amphotericin B in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Drug Chem Toxicol, Early Online**: 1–7.

Agradecimentos

Agradecimentos ao PIBIC-CNPq pela concessão da bolsa de estudos.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Toxicidade *in vitro* do extrato etanólico das vagens de *Enterolobium contortisiliquum*

Emanuelle Karine Frota Batista³, Ingrid dos Santos Farias⁴, Auan Rangel Oliveira de Vasconcelos², Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva³

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. emanuellefrota@yahoo.com.br

¹Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

³Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

Introdução

Os estudos toxicológicos *in vitro* são uma opção na triagem em busca de plantas que possuam efeitos tóxicos; pois além de diminuir custos e obter respostas rápidas, possibilitam a identificação preliminar de plantas com potencial efeito tóxico e permitem a redução dos animais utilizados na experimentação (BEDNARCZUK et al., 2010). Muitos testes são utilizados para avaliar a toxicidade sistêmica aguda dos animais, e também para classificar e rotular apropriadamente substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade (LOPES, 2006).

As plantas tóxicas de interesse pecuário são aquelas que, quando ingeridas pelos animais, em condições naturais, causam danos à saúde ou mesmo morte dos animais (ROSSETI; CORSY, 2009). No Brasil, foram descritas cerca de 130 espécies de plantas tóxicas, mas esse número vem crescendo continuamente. Na região Nordeste são conhecidas pelos menos 38 plantas tóxicas, com algumas delas sendo importantes para bovinos, caprinos e ovinos (TOKARNIA et al., 2012). Na pecuária, as ingestões de plantas tóxicas representam significativa causa de prejuízos econômicos, uma vez que influenciam diretamente na produção animal (BARBOSA et al., 2007; MELLO et al., 2010).

Deste modo, vários estudos têm sido realizados, na tentativa de identificar o nível de toxicidade de plantas. A *E. contortisiliquum*, conhecida como tamboril ou orelha-de-negro, tem ampla distribuição no Brasil e causa intoxicação pela ingestão de favas na época da seca provocando transtornos digestivos, fotossensibilização hepatogênica e abortos (LORENZI, 2002; MELLO et al., 2010; BEZERRA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012; SANT'ANA et al., 2014).

A partir destas considerações, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o extrato etanólico das vagens de *E. contortisiliquum*, com relação atividade citotóxica frente *Artemia salina* e atividade hemolítica.

Materiais e método

Foram coletados os frutos de *E. contortisiliquum* em propriedades no município de Monsenhor Gil. O material vegetal foi dessecado em estufa, triturados em moinho, submetido a maceração a frio, com etanol PA, filtrado e concentrado em evaporador rotativo a 40°C, liofilizado, acondicionado em frascos de vidro âmbar e conservado à temperatura de 4-8°C.

Para a análise a atividade citotóxica frente *Artemia salina*, foi utilizada a metodologia de Meyer et al. (1982) adaptada. Os cistos de *A. salina* foram



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

incubados em água do mar artificial na concentração de 0,5 mg/mL, mantida sob aeração e agitação constantes, em uma temperatura entre 26 a 30 °C, iluminação de 20 W e o pH entre 8 a 9, por 48 horas para a eclosão dos mesmos. Após a eclosão dos cistos, 10 larvas de *A. salina* foram transferidas para tubos contendo água artificial do mar, com extrato etanólico das vagens de *E. contortisiliquum* (EEtOH-Ec) nas seguintes concentrações: 1, 10, 100 e 1000 µg/mL, em triplicata. Foi utilizado água do mar artificial como controle negativo. Os náuplios foram incubados por 24 horas, decorrido este período de contato os sobreviventes foram contados. Os dados foram analisados pelo método Probits com confiança de 95%. Os resultados foram expressos por média ± desvio padrão, analisados de forma independente. Os ensaios foram analisados por ANOVA - One-way - seguido de aplicação do teste Tukey utilizando o programa Graph Pad versão 5.0. As diferenças significativas foram consideradas como $p < 0,05$.

O EEtOH-Ec foi submetido a dois ensaios de atividades hemolíticas. No primeiro, foram utilizadas placas de ágar-sangue (Newprov®). As amostras foram preparadas a 1.000 µg/mL e impregnadas em discos estéreis nº 1 com 7 mm de diâmetro (Whatmann®). Discos impregnados com o solvente foram utilizados como controle negativo, e o Triton X-100 a 1.000 µg/mL como um controle positivo. Depois da evaporação dos solventes, os discos foram distribuídos nas placas, que foram incubadas a 36°C por 24 horas. Após este período verificou-se a formação de halo de hemólise. Os halos foram então medidos e os resultados expressos como média dos halos encontrados em triplicata (KALEGARI et al., 2011).

O segundo método seguiu metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010) com adaptações. Para este método preparou-se, com sangue de carneiro desfibrinado (Newprov®), uma suspensão a 2% em tampão fosfato pH 7,4. O EEtOH-Ec foi testado em concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/mL. Um volume de 1,0 mL da suspensão de sangue foi adicionado a cada tubo contendo as amostras que foram lentamente homogeneizadas, seguido de repouso por 30 minutos. Decorrido este tempo, foram homogeneizadas novamente e mantidas em repouso durante mais 150 minutos. Depois, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 3.000 rpm. A água destilada foi utilizada como controle positivo e tampão fosfato como controle negativo. O resultado foi descrito como presença ou ausência de hemólise baseado na tonalidade do sobrenadante após centrifugação. A presença de um precipitado de glóbulos vermelhos indicou resultado negativo.

Resultados e discussão

Um dos métodos alternativos amplamente utilizados em triagem de substâncias de origem vegetal é o método que utiliza o microcústáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos ativos em extratos vegetais (SILVA et al., 2005), mas que pode ser utilizado para expressar a toxicidade de um extrato (LIMA et al., 2002).

O extrato das vagens de *E. contortisiliquum* apresentou toxicidade nas concentrações de 10, 100 e 1000 µg/mL, sendo capaz de causar a morte de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

51,07%, 72,44% e 100%, respectivamente, das larvas de *A. salina* durante as primeiras 24 horas de exposição (tabela 1).

Tabela 1 - Mortalidade média (%) de náuplios de *Artemia salina* de acordo com as concentrações do extrato de *Enterolobium contortisiliquum* ($\mu\text{g/mL}$)

| Concentração | Média (%) | Erro Padrão (\pm) |
|--------------|-----------|-----------------------|
| 0 (controle) | 13,05 | 3,38 |
| 1,0 | 38,25a | 6,96 |
| 10,0 | 51,07 a | 12,08 |
| 100,0 | 72,44 ab | 5,51 |
| 1000,0 | 100,0 abc | 0,00 |

a – diferença estatística significativa em relação grupo controle, b – diferença em relação ao grupo 1 $\mu\text{g/mL}$, c – diferença em relação ao grupo 10 $\mu\text{g/mL}$. (ANOVA, Tukey. $p < 0,05$).

Fonte: próprio autor

Com os dados de mortalidade obtidos, determinou-se a CL50, isto é, a concentração que causa mortalidade em 50% dos organismos durante o período observado. O EEtOH-Ec foi testado nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ e controle negativo com solução salina. A análise do ensaio testado conferiu para o CL50 para o EEtOH-Ec foi a partir de 10 $\mu\text{g/mL}$. De acordo com Nguta et al. (2011), tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de CL50 menores que 100 $\mu\text{g/mL}$ apresentam alta toxicidade. Sendo assim, o EEtOH-Ec mostrou atividade tóxica frente o microcrustáceo *A. salina*.

Com relação aos resultados obtidos nos ensaios de atividade hemolítica, as amostras do EEtOH-Ec apresentaram hemólise. No teste onde foi utilizada a suspensão de células sanguíneas foi observada coloração vermelha sem presença precipitado de células nas concentrações de 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando que as amostras testadas promoveram a hemólise. Estes resultados foram confirmados pelo método de difusão em ágar, em que houve a formação do halo de hemólise com o uso do EEtOH-Ec semelhante ao observado no Triton X-100 (tabela 2).

Tabela 2 - Avaliação da atividade hemolítica em ágar sangue do extrato etanólico de *Enterolobium contortisiliquum*

| Tratamento | Média | Erro Padrão (\pm) |
|----------------------------------|----------|-----------------------|
| Controle negativo | 0,0 | 0 |
| Controle positivo (Triton X-100) | 22,0 a | 0,58 |
| EEtOH-Ec 1000 $\mu\text{g/mL}$ | 17,23 ab | 0,88 |

Resultados expressos em média \pm E.P.M. ANOVA seguida de Tukey, $p < 0,05$. a – quando difere do grupo controle negativo; b - quando difere do grupo controle negativo.

Fonte: próprio autor

Conclusão

Concluiu-se que o extrato etanólico das vagens de *Enterolobium contortisiliquum* apresentou forte toxicidade no bioensaio com o microcrustáceo *A. salina* e nos ensaios de atividade hemolítica.

Palavras-chave: plantas tóxicas. Hemólise. *Artemia salina*.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Referências bibliográficas

BARBOSA, R. R. et al. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. **Acta Veterinaria Brasilica**; v. 1, n. 1, p. 1-7, 2007.

BEDNARCZUK, V. O. et al. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, 2010.

BEZERRA, C. W. C. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos da microregião do cariri cearense. **Ciência Rural**, vol. 42, p. 1070-1076, 2012.

LIMA, N.M.F. et al. Toxicity of lapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni cercariae*, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. **Acta Tropica**, v. 83, n. 1, p. 43-47, 2002.

LOPES, S. G. **Fundamento da Toxicologia Clínica**. São Paulo: Editora Atheneu, 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. V.2. 2ªed. Editora Plantarum. Nova Odessa – SP. 2002. 368 p.

MELLO, G. W. S. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 30, p. 1-9, 2010.

MEYER, B. N., *et al.* Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v.45, p.31-34, 1982.

NGUTA, J. M. et al. Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacology online**, v. 2, p. 458-278, 2011.

ROSSETI, A. C. P. A.; CORSY, M. **Projeto CAPIM – Pesquisa e Extensão**; Departamento de Zootecnia, ESALQ-USP. 2009.

SANT'ANA, F. J. F. et al. Plantas tóxicas para ruminantes do Sudoeste de Goiás. **Ciência Rural**, v.44, n.5, p.865-871, 2014

SILVA, T. M. S. et al. Molluscicidal activity of some Brazilian *Solanum* spp. (*Solanaceae*) against *Biomphalaria glabrata*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**. V. 99, n. 4, p. 419–425, 2005.

TOKARNIA, C. H. et al. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2ª ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2012. 566p.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Toxicidade gestacional do extrato etanólico das vagens de *Enterolobium contortisiliquum*

Emanuelle Karine Frota Batista⁵, Ingrid dos Santos Farias⁶, Auan Rangel Oliveira de Vasconcelos², Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva³

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. emanuellefrota@yahoo.com.br; ²Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.; ³Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

Introdução

A *E. contortisiliquum* é conhecida como timbaúva, tamboril ou orelha-de-negro. É uma árvore com ampla distribuição no Brasil (LORENZI, 2002; TOKARNIA et al., 2012). A intoxicação por essas plantas ocorre após a ingestão de favas na época da seca, quando há escassez de forragem nas propriedades, levando o gado a procurar alternativas alimentares no pasto. São descritos sinais clínicos caracterizados por transtornos digestivos, fotossensibilização hepatógena e abortos (MELLO et al., 2010; BEZERRA et al., 2012; SANT'ANA et al., 2014). A forma digestiva desta intoxicação é causada por acidose e, portanto, a sua ocorrência deve ser associada à ingestão de favas em um curto período de tempo por animais que não estavam ingerindo a planta anteriormente (OLINDA et al., 2015). Os abortos não foram reproduzidos experimentalmente. Entretanto, em cobaias (*Cavia porcellus*), a planta induziu abortos em animais sem sinais clínicos, mas com lesões hepáticas (BONEL-RAPOSO et al., 2008).

Apesar do extensivo estudo relacionada às plantas tóxicas do Brasil, ainda há carência de informações relacionadas à forma de como estas são tóxicas (RIET-CORREA et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012; PESSOA et al., 2013), seja pela morte de animais, redução na produção ou interferência na reprodução sob a forma de abortos, sendo desejável obter informações que possam contribuir para seu controle e profilaxia.

Materiais e método

Foram coletados os frutos de *E. contortisiliquum* em propriedades no município de Monsenhor Gil. O material vegetal foi dessecado em estufa, triturados em moinho, submetido a maceração a frio, com etanol PA, filtrado e concentrado em evaporador rotativo a 40°C, liofilizado, acondicionado em frascos de vidro âmbar e conservado à temperatura de 4-8°C.

Para a avaliação da toxicidade gestacional do extrato etanólico de *E. contortisiliquum* (EEtOH-Ec) foram utilizadas 24 ratas Wistar (*Ratus norvegicus*) e 12 ratos machos adultos, provenientes do Biotério Central da UFPI. Os animais foram acasalados na proporção de um macho para duas fêmeas. Foram feitos esfregaços vaginais diários para confirmação da gestação, dada pela presença do tampão vaginal ou de espermatozoides no lavado vaginal, sendo este o primeiro dia da gestação (MULLER, 2011). Depois, as ratas foram divididas em grupos (N=6) e tratadas com: veiculo (água



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

destilada), EEtOH-Ec (250, 500 e 1000 mg/Kg), por gavagem, durante período de gestação.

Avaliou-se o tempo de prenhez (dias), sexo dos filhotes, número de filhotes vivos e natimortos. O peso total da ninhada foi registrado nos dias 1, 3, 5, 7 e 9 após o nascimento, para determinar o ganho de peso. As crias foram examinadas quanto aparecimento de pelos, desdobramento das orelhas, erupção dos dentes incisivos, abertura dos olhos e início da puberdade (descida dos testículos ou abertura vaginal). A prole foi avaliada pela observação da atividade motora, sensorial e exploratória dos animais em campo aberto (CALLIARI, 1998) nos dias 10, 13, 16, 18 e 21 da lactação, por 1:30 minutos, registrando-se os seguintes parâmetros: Locomoção, Levantar e Limpeza. Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em experimentação animal sob o número 057/15.

Resultados e discussão

O Tempo de prenhez e o número de filhotes nascidos vivos não tiveram diferenças significativas entre os grupos tratados, entretanto, na dose de 500 e 1000 mg/kg houve filhotes nascidos mortos, podendo sugerir toxicidade do extrato sobre a gestação dessa progênie (tabela 1).

Tabela 1 - Desempenho reprodutivo de ratas tratadas com extrato etanólico de *Enterolobium contortisiliquum* durante o período gestacional.

| GRUPO | DOSE mg/Kg | PARÂMETRO | | | | |
|----------|---------------|---------------------|---------------------------|------------------------------|-----------|-----------|
| | | TEMPO DE PRENHEZ | FILHOTES NATIVIVO S | Nº DE FILHOTES NATIMORTOS | SEXO | |
| | | | | | MACHO | FÊMEA |
| CONTROLE | | 22,33±0,33 | 8,67±0,33 | 0 | 3,00±1,00 | 5,67±0,88 |
| EEtOH-Ec | 250 | 23,33±0,33 | 9,00±1,73 | 0 | 3,67±0,33 | 5,33±2,03 |
| | 500 | 23,33±0,33 | 6,00±1,68 | 4 | 3,67±0,67 | 4,00±0,57 |
| | 1000 | 23,00±0,58 | 9,67±3,38 | 3 | 5,00±2,51 | 4,67±1,20 |

Fonte: CCA/UFPI. Resultados expressos em média ± E.P.M. ANOVA seguida de S.N.K. p<0,05.

O período de gestação é uma das fases mais sensíveis do ciclo reprodutivo. Nesse período, a maioria dos agentes atravessa a placenta e, pode resultar em efeitos importantes sobre um organismo embriofetal, alvo secundário desses agentes (DAMASCENO et al., 2008).

A avaliação do ganho de peso das ninhadas foi registrada a partir do 2º até o 9º dia pós-nascimento. Nesse período, as progênies não apresentaram diferenças significativas em relação ao peso e ao ganho de peso da ninhada, quando comparado os tratamentos (tabela 2). Nas ninhadas cuja rata era tratada com 1000 mg/kg de EEtOH-Ec, nota-se um menor ganho de peso em relação ao controle no período entre o 2º e 9º dias pós-natal. Os filhotes foram pesados individualmente entre o 10º e 21º DPN, havendo diferença significativa no ganho de peso entre os Grupos Tratados e Controle, que apresentou menor ganho de peso no período. A partir do 10º DPN os filhotes ficam mais ativos, além de se alimentar do leite materno buscam as migalhas de ração deixadas pela rata, facilitando o ganho de peso individual.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tabela 2 - Avaliação do ganho de peso dos filhotes de ratas tratadas com extrato etanólico de *Enterolobium contortisiliquum* durante o período gestacional.

| PARÂMETROS | CONTROLE | EEtOH-Ec | | |
|---------------------------------|------------|--------------|---------------|---------------|
| | | 250 mg/Kg | 500 mg/Kg | 1000 mg/Kg |
| PESO DA NINHADA (DPN) | | | | |
| 2 ^o | 49,20±0,75 | 56,13±12,87 | 45,07±0,89 | 50,47±17,19 |
| 3 ^o | 61,20±3,03 | 72,27±15,33 | 55,00±4,91 | 62,13±19,88 |
| 5 ^o | 81,90±5,21 | 79,80±16,17 | 75,27±8,96 | 77,47±22,74 |
| 7 ^o | 104,9±7,45 | 113,7±21,65 | 91,13±5,91 | 92,60±25,50 |
| 9 ^o | 130,6±9,97 | 136,2±25,47 | 114,5±7,03 | 114,9±30,65 |
| GANHO DE PESO NO PERÍODO | 81,40±9,38 | 80,07±12,62 | 69,43±6,15 | 64,43±9,38 |
| PESO INDIVIDUAL | | | | |
| 10 ^o | 12,99±0,56 | 8,13±0,70 a | 10,68±0,56 ab | 14,24±0,78 bc |
| 13 ^o | 16,30±1,02 | 13,08±0,20 a | 16,85±0,57 | 14,01±0,23 ac |
| 15 ^o | 14,29±0,88 | 18,06±0,33 a | 18,16±0,72a | 16,72±0,25 a |
| 17 ^o | 20,16±0,98 | 19,26±0,19 | 22,46±0,33 ab | 19,08±0,28 c |
| 19 ^o | 24,16±0,91 | 21,47±0,23 a | 24,60±0,62 c | 27,13±1,77 b |
| 21 ^o | 27,63±1,26 | 26,68±0,28 | 30,21±1,27 | 29,26±1,28 |
| GANHO DE PESO NO PERÍODO | 14,64±0,82 | 18,55±0,74 a | 19,53±0,89 a | 15,02±0,60 bc |

Fonte: CCA/UFPI. Resultados expressos em média ± E.P.M. ANOVA seguida de S.N.K., p<0,05. a – quando difere do grupo controle; b - quando difere do grupo 250 mg/Kg; c – quando difere do 500 mg/Kg.

Não houve alteração no tempo de crescimento piloso, desdobramento de orelhas, abertura dos olhos, erupção dos incisivos e abertura vaginal dos filhotes de ratas tratadas com EEtOH-Ec. Apenas o parâmetro descida dos testículos, nos grupos de 250mg/Kg e 1000mh/Kg, diferiram do grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3 - Avaliação do desenvolvimento físico (em dias) dos filhotes de ratas tratadas com extrato etanólico de *Enterolobium contortisiliquum* durante o período gestacional.

| PARÂMETROS | CONTROLE | EEtOH-Ec | | |
|----------------------------------|------------|--------------|------------|--------------|
| | | 250 mg/Kg | 500 mg/Kg | 1000 mg/Kg |
| PELOS | 5,67±0,33 | 5,33±0,33 | 5,33±0,33 | 7,00±0,57 |
| DESDOBRAMENTO DAS ORELHAS | 2,67±0,33 | 3,57±0,33 | 3,67±0,33 | 3,67±0,67 |
| ABERTURA DOS OLHOS | 15,00±0,57 | 14,33±0,67 | 13,33±0,33 | 14,67±0,88 |
| ERUPÇÃO DOS INCISIVOS | 12,33±0,33 | 10,67±0,33 | 11,00±0,57 | 11,67±0,67 |
| DESCIDA DOS TESTÍCULOS | 24,33±0,33 | 20,67±0,33 a | 22,33±1,20 | 20,50±0,50 a |
| ABERTURA VAGINAL | 41,33±0,33 | 38,00±0,57 | 41,00±1,00 | 37,67±3,84 |

Fonte: CCA/UFPI. Resultados expressos em média ± E.P.M. ANOVA seguida de S.N.K., p<0,05. a – quando difere do grupo controle.

A partir do 10^o dia foi realizada a avaliação da atividade motora dos filhotes e a deambulação espontânea e observou-se que a medida que se aproximou do 21^o dia pós natal, a atividade neuromotora se evidenciara mais, havendo ainda uma variação intergrupo (tabela 4).



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tabela 4 - Avaliação da atividade neuromotora: Locomoção, Levantar e Limpeza dos filhotes de ratas tratadas com extrato etanólico de *Enterolobium contortisiliquum* durante o período gestacional.

| PARÂMETROS | CONTROLE | EEtOH-Ec | | |
|------------------|------------|--------------|--------------|----------------|
| | | 250 mg/Kg | 500 mg/Kg | 1000 mg/Kg |
| LOCOMOÇÃO | | | | |
| 10° | 2,07±0,23 | 2,70±0,44 | 1,87±0,55 | 1,11±0,22 b |
| 13° | 4,54±0,45 | 5,22±0,42 | 7,26±0,84 a | 3,56±0,45 c |
| 15° | 11,04±1,10 | 5,22±0,88 a | 7,26±0,85 | 7,39±0,83 |
| 17° | 21,47±1,95 | 15,22±1,51 a | 12,96±1,25 a | 4,46±1,09 abc |
| 19° | 18,65±1,13 | 13,52±1,31 | 16,48±1,18 | 28,53±3,14 abc |
| 21° | 22,18±1,95 | 14,07±1,35 a | 16,91±1,68 | 21,00±2,05 b |
| LEVANTAR | | | | |
| 10° | 1,56±0,31 | 0,52±0,18 a | 1,87±0,48 c | 0,28±0,14ac |
| 13° | 2,27±0,33 | 4,59±0,43 a | 2,52±0,39 c | 2,37±0,32 b |
| 15° | 3,85±0,57 | 6,78±0,52 a | 5,65±0,62 | 5,54±0,68 |
| 17° | 3,23±0,59 | 3,93±0,41 | 8,00±0,93 ab | 4,61±0,75 c |
| 19° | 9,00±0,89 | 8,07±1,08 | 6,59±0,56 | 11,20±0,89 c |
| 21° | 4,65±0,64 | 7,36±0,79 | 7,22±0,83 | 7,75±0,72 |
| LIMPEZA | | | | |
| 10° | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 | 0,04±0,04 | 0,0±0,0 |
| 13° | 0,46±0,18 | 0,18±0,07 | 0,04±0,04 | 0,28±0,08 |
| 15° | 0,31±0,11 | 1,00±0,14 a | 0,43±0,11 b | 0,54±0,09 b |
| 17° | 0,65±0,12 | 1,11±0,14 | 0,91±0,15 | 1,23±0,17 |
| 19° | 1,31±0,12 | 1,67±0,17 | 1,52±0,15 | 1,27±0,15 |
| 21° | 1,88±0,17 | 1,48±0,11 | 1,65±0,21 | 1,25±0,12 |

Fonte: CCA/UFPI. Resultados expressos em média±E.P.M. ANOVA seguida de S.N.K., p<0,05. a– quando difere do grupo controle; b – quando difere do grupo 250 mg/Kg; c – quando difere do 500 mg/Kg.

Conclusão

Concluiu-se que o extrato etanólico das vagens de *Enterolobium contortisiliquum* possui ação tóxica já que causou fetotoxicidade: morte fetal, decréscimo do peso corporal ao nascer e diminuição da atividade comportamental exploratória e sensorial na prole de ratas tratadas com esse.

Palavras-chave: toxicidade reprodutiva. ratas. extrato etanólico.

Referências bibliográficas

BEZERRA, C. W. C. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos da microregião do cariri cearense. **Ciência Rural**, vol. 42, p. 1070-1076, 2012.

BONEL-RAPOSO, J. et al. Intoxicação aguda e abortos em cobaias pelas favas de *Enterolobium contortisiliquum* (Leg. Mimosoideae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 28, p. 593-596, 2008.

CALLIARI, M. R. M. Effects of prenatal exposure to restraint stress and monocrotophos on behavioral and physical development in the rat. **Genetics and Molecular Biology**, vol. 21, p.171, 1998.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

DAMASCENO, D.C. et al. **Anomalias congênitas**: estudos experimentais. Belo Horizonte: Coopmed, 2008. 102p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 2ªed. Editora Plantarum. Nova Odessa-SP. 2002. 368 p.

MELLO, G. W. S. et al. Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 30, p. 1-9, 2010.

MULLER, J. B. B. S. **Abordagem farmacológica da *Copaifera luetzelburgii*, Harms. com ênfase em toxicologia reprodutiva: estudo *in vivo* e *in vitro***. 2011. 80f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

OLINDA, R. G. et al. Intoxicação por *Enterolobium contortisiliquum* em bovinos na região Nordeste do Brasil¹. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 44-48, 2015.

PESSOA, C. R. M.; MEDEIROS, R. M. T.; RIET-CORREA, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 33, n. 6, p. 752-758, 2013.

RIET-CORREA, F. et al. Sheep poisoning by *Panicum dichotomiflorum* in Northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 29, p. 94-98, 2009.
SANT'ANA, F. J. F. et al. Plantas tóxicas para ruminantes do Sudoeste de Goiás. **Ciência Rural**, v.44, n.5, p.865-871, 2014.

TOKARNIA, C. H. et al. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2ª ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2012. 566p.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Atividade citogenotóxica do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L. em teste vegetal *Allium cepa*

Lucas de Oliveira Lima⁷, Gabriela Corrêa Morais¹ Eloisa Assunção de Sousa Cunha¹, Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão¹, João Samy Nery Souza², Aldeídia Pereira de Oliveira³, Elisângela Cláudia Alves de Oliveira¹

¹Universidade Federal do Piauí – Campus Amílcar Ferreira Sobral, Floriano – PI, Brasil. lucasoliveira0303@gmail.com ;

² Universidade Federal do Piauí- Campus Cinobelina Elvas, Bom Jesus- PI, Brasil.; ³Universidade Federal do Piauí – Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

A utilização de plantas medicinais pela humanidade é tão antiga quanto a sua própria história (LAROCCA, 2016). Apesar do desenvolvimento de novas tecnologias aplicadas à saúde, referentes ao tratamento de doenças, a interação entre homem e plantas medicinais permaneceram estáveis ao longo do tempo, possivelmente pelo melhor custo-benefício que essa utilização traz (ARNOUS et al., 2005).

A espécie *Momordica charantia* L., também conhecida como melão de São Caetano ou melão amargo, pertencente à família Cucurbitaceae, é uma trepadeira de crescimento rápido, presente no Brasil em Estados do Nordeste como Piauí e Maranhão. Suas folhas podem ser usadas para distúrbios do sistema digestório, hepático e como antipirético (PIO CÔRREA, 1984), além de apresentar propriedades anti-virais, anti-fertilidade, antitumorais e agir como imunomodulador (GROVER, 2004). Também tem sido amplamente utilizada como alimento (ZHANG, 2015).

Tendo em vista o uso popular recorrente de *M. charantia* L. para diversos fins terapêuticos e a carência de conhecimento científico de suas propriedades farmacológicas e toxicológicas (FIRMO et al, 2011), se faz necessário estudos que comprovem a segurança de sua utilização, como a análise de seu potencial citogenotóxico e mutagênico, a fim de que se compreenda melhor a interação desta espécie com a célula e o seu material genético.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L., em sistema teste *Allium cepa*.

Metodologia

Para avaliação citogenotóxica e mutagênica do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L., utilizaram-se cebolas de tamanho pequeno e uniforme, saudáveis e não germinadas.

Os bulbos de *A. cepa* foram colocados para enraizarem em frascos com água destilada por 48h, à 25°C e constante aeração, até a obtenção de raízes com cerca de 1,0 cm de comprimento. Para análise de cada concentração do extrato (9, 81 e 243 µg/mL), utilizaram-se cinco bulbos que foram tratados por



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

24 horas. Decorrido este período, as raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy também por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água destilada, seguida de hidrólise em HCL 1N por 5 min para a preparação das lâminas.

A coloração das amostras foi realizada de acordo com o protocolo proposto por Guerra e Sousa (2002) adicionando-se uma gota de orceína acética à 1% e cobrindo-as com uma lamínula, para análise em microscópio óptico em um aumento de 400X. Foram observadas células em diferentes fases do ciclo celular e a presença de alterações cromossômicas. Para análise de citotoxicidade foram calculados os valores de índice mitótico.

Resultados e Discussão

Os resultados da análise citogenética do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia L.*, estão expressos na tabela 1, onde são apresentados o total de células em interfase e em divisão, os valores de índice mitótico e o número de células em cada uma das fases da mitose.

Tabela 1 - Análise da citotoxicidade das amostras em diferentes concentrações do extrato etanólico obtido da folha de *Momordica charantia L.*

Dados expressos em média \pm DP. O “*” indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para $p < 0,05$. IM: índice mitótico, P: Prófase, M: Metáfase, A: Anáfase e T: Telófase.

| Tratamentos | Células em Intérfase | Células em Divisão | % IM | P | M | A | T |
|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|-------|------|-----|-----|
| 0 $\mu\text{g/mL}$ | 3660 | 1340 | 8,52 \pm 2,20 | 493 | 389 | 306 | 152 |
| 9 $\mu\text{g/mL}$ | 2618* | 2382* | 47,64 \pm 4,48* | 2104* | 149* | 37* | 83* |
| 81 $\mu\text{g/mL}$ | 2756* | 2244* | 44,88 \pm 10,54* | 2088* | 70* | 21* | 65* |
| 243 $\mu\text{g/mL}$ | 3519 | 1481 | 29,82 \pm 1,31 | 1353* | 56* | 22* | 57* |

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para o índice mitótico (IM), demonstraram um aumento significativo nas concentrações de 9 $\mu\text{g/mL}$ e 81 $\mu\text{g/mL}$, quando comparados ao controle negativo (CN). Também foi verificado uma diminuição no número de células em intérfase com conseqüente aumento no número de células em divisão, nestas duas concentrações em comparação ao CN, sugerindo a presença de alterações no ciclo celular das células tratadas.

Com relação as fases da divisão celular, o número de prófase aumentou em todas as concentrações testadas, enquanto em metáfase, anáfase e telófase, foi possível observar uma diminuição significativa nestes valores.

O índice mitótico (IM) é um parâmetro que avalia a proporção de células em divisão em relação às células que estão em intérfase, e além disso tem sido usado para investigar a citotoxicidade de diversos agentes (LEME E MARIN-MORALES 2009). IM elevado em relação ao CN indica aumento na



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

divisão celular, dessa forma essa alteração pode ser prejudicial ao organismo, levando à uma proliferação celular desordenada e até mesmo à formação de tecidos tumorais em mamíferos (HOSHINA, 2002).

O aumento significativo do IM apresentado neste estudo nas concentrações 9 µg/mL e 81 µg/mL, pode indicar uma possível atividade proliferativa do extrato nestas concentrações, por estimular a entrada das células em mitose e ainda por induzir o acúmulo de células em prófase.

Para avaliar o potencial genotóxico e mutagênico do extrato etanólico obtido da folha de *Momordica charantia* L., foram analisadas a presença de aberrações cromossômicas (AC). A tabela 2 expressa a frequência de AC obtidas após o tratamento de células meristemáticas expostas às concentrações de 9 µg/ml, 81 µg/ml, 243 µg/ml.

Tabela 2 – Análise da genotoxicidade das amostras obtidas em diferentes concentrações do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L.

| Tratamentos | Aberrações Cromossômicas |
|-------------|--------------------------|
| 0 µg/mL | 2 ± 0,64 |
| 9 µg/mL | 6,4 ± 2,19* |
| 81 µg/mL | 5,2 ± 2,11* |
| 243µg/mL | 3,6 ± 1,30* |

Dados expressos em média ± DP. O “*” indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para p <0,05.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para a frequência de aberrações cromossômicas demonstraram aumento significativo em todas as concentrações em relação ao controle negativo. As principais aberrações encontradas foram ponte, atraso e quebra cromossômica. Não foi identificada a presença de micronúcleos nas células meristemáticas dos bulbos de *Allium cepa* analisadas após o tratamento.

O potencial genotóxico de uma amostra é avaliado através da detecção de aberrações cromossômicas (AC) dada pela frequência aumentada nas células tratadas ou expostas em relação ao CN (BAGATINI et al., 2007). Assim, os dados obtidos neste trabalho sugerem que possa estar ocorrendo um acúmulo de lesões à molécula de DNA estimulando à proliferação celular e por fim culminando em mutações cromossômicas.

Conclusão

Em conjunto, os resultados obtidos na análise do extrato etanólico da folha de *Momordica charantia* L. sobre o bioensaio vegetal *Allium cepa*, apontam um efeito proliferativo, genotóxico e mutagênico para praticamente todas as concentrações testadas.

Palavras-chave: Análise citogenética. Índice mitótico. Aberrações cromossômicas.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Referências

ARNOUS, A.H.; SANTOS, A.S.; BEINNER, R.P.C. Plantas medicinais de uso caseiro-conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, p.1-6, 2005.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. de; TEDESCO, s. B. Divulgação Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 444-447, 2007.

FIRMO, W. da C. A. et al., Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**, v. 18, p. 90-95, 2011.

GROVER JK, YADAV SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: **A review. J Ethnopharmacol.** V. 93, p. 123-132, 2004.

GUERRA M.; SOUZA M.J. Como observar cromossomos - Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana, 1. **Ed. FUNPEC**, Ribeirão Preto, 2002.

HOSHINA, M. M. Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro - município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa*. Monografia (Bacharelado e Licenciatura - Ciências Biológicas) – **Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista**. Rio Claro, 2002.

LAROCCA, D. GONÇALVES. L326 e Estudos botânicos de espécies medicinais utilizadas no tratamento da malária e dengue / Diene Gonçalves Larocca. – Alta Floresta: **Unemat**, 2016.

LEME, D.M., Marin-Morales, M.A., *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p.71-81, 2009.

PIO CORRÊA, M. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. 6v. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura**, IBDF, p. 777, 1984.

ZHANG CZ, FANG EF, ZHANG HT, LIU LL, YUN JP. *Momordica Charantia* lectin exhibits antitumor activity towards hepatocellular carcinoma. **Invest New Drugs**. v. 33, p. 1-11, 2015.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Screening citogenotóxico do extrato etanólico do caule de *Mauritia flexuosa* L.

Leandra Oliveira Magalhães⁸, Lucas de Oliveira Lima¹, Eloísa Assunção de Sousa Cunha¹, Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão¹, João Samy Nery Souza²
Aldeídia Pereira de Oliveira³, Elisângela Cláudia Alves de Oliveira¹

¹ Universidade Federal do Piauí – Campus Amílcar Ferreira Sobral, Floriano – PI, Brasil.

leandra09oliveira@outlook.com; ² Universidade Federal do Piauí- Campus Cinobelina Elvas, Bom Jesus- PI, Brasil.;

³ Universidade Federal do Piauí – Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

Os produtos naturais à base de plantas têm sido utilizados desde os tempos remotos, como mostra a própria história das civilizações (MOURA et al., 2016). Ainda hoje, milhões de pessoas em países em desenvolvimento dependem de plantas medicinais para os seus cuidados primários de saúde, principalmente em regiões minoritárias, em áreas remotas e pobres do planeta (CHANG, 2017).

Entretanto, a falta de informação e o uso indiscriminado desses recursos, podem provocar efeitos nocivos ao homem (LEITE e CROZARA, 2015). Além de inúmeros efeitos adversos, as plantas podem ser tóxicas em nível celular ou ao material genético, podendo ainda ser mutagênicas, carcinogênicas e/ou teratogênicas (VERRI, 2017).

Dentre as plantas medicinais encontradas na nossa região, destaca-se a *Mauritia flexuosa* L., o buriti, também conhecido por miriti, carandá-guaçú e palmeira dos brejos (VIEIRA et al., 2011). A árvore desta espécie é restrita à América do Sul e bem distribuída por toda a região amazônica e central do Brasil (RIBEIRO et al., 2014). O buriti e seus derivados são ricos em composto antioxidantes, sendo considerado uma importante fonte de carotenoides, ácido ascórbico e compostos fenólicos (MELO et al., 2008). Os usos mais citados do buriti são para tratamento de infecções de garganta, picadas de insetos e infecções de úberes (RIBEIRO et al, 2014). O óleo apresenta propriedades fotoprotetoras (BATISTA, 2012), e atividade antimutagênica significativa (RIBEIRO et al, 2014).

Considerando a escassez de informações na literatura quanto a segurança e/ou toxicidade de extratos da palmeira *Mauritia flexuosa* L. e visto que essa planta é largamente utilizada pela população local, o objetivo desse trabalho é investigar o potencial citotóxico e genotóxico do extrato etanólico do caule da *Mauritia flexuosa* L.

Metodologia

O bioensaio utilizado nesta pesquisa foi o *Allium cepa*. Bulbos de *A. cepa* foram colocados para enraizarem em frascos com água destilada por 48h, à 25°C e constante aeração, até a obtenção de raízes com cerca de 1,0 cm de comprimento. Para análise de cada concentração do extrato (9, 81 e 243



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

µg/mL), utilizaram-se cinco bulbos que foram tratados por 24 horas. Decorrido este período, as raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy também por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água destilada, seguida de hidrólise em HCL 1N por 5 min para a preparação das lâminas. A coloração das amostras foi realizada de acordo com o protocolo proposto por Guerra e Sousa (2002). A análise se deu em microscópio óptico em um aumento de 400X. Foram observadas células em diferentes fases do ciclo celular e a presença de alterações cromossômicas, além de calculados os valores de índice mitótico.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 expressa os resultados da análise citogenética do extrato etanólico obtido do caule de *Mauritia flexuosa* L. em três concentrações (9; 81; 243 µg/mL), através do teste *Allium cepa*. São apresentados na tabela, o total de células em intérfase e em divisão, os valores dos índices mitóticos e o número de células em cada uma das fases da mitose.

Como parâmetro de citotoxicidade, foi utilizado o índice mitótico (IM), que é dado pela razão entre o número de células em divisão pelo número total de células, multiplicado por 100.

Tabela 1: Análise da citotoxicidade das amostras em diferentes concentrações do extrato etanólico obtido do caule de *Mauritia flexuosa* L.

| Tratamentos | Células em Intérfase | Células em Divisão | % IM | P | M | A | T |
|-------------|----------------------|--------------------|---------------|-------|------|-----|-----|
| 0 µg/mL | 3660 | 1340 | 26,8 ± 0,4 | 493 | 389 | 306 | 152 |
| 9 µg/mL | 2436* | 2564* | 51,28 ± 5,46* | 2349* | 167* | 21* | 27* |
| 81 µg/mL | 3366 | 1634 | 34,68 ± 10,78 | 1455* | 98* | 17* | 64* |
| 243 µg/mL | 2449* | 2551* | 51,02 ± 1,40* | 2436* | 74* | 12* | 29* |

Dados expressos em média ± DP. O "*" indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para p <0,05. IM: índice mitótico, P: Prófase, M: Metáfase, A: Anáfase e T: Telófase.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para o índice mitótico mostram um aumento significativo nos valores das concentrações de 9 µg/mL e 243 µg/mL em relação ao controle negativo, apontando aumento da proliferação celular. Verificou-se também um aumento de células em divisão com uma consequente diminuição do número de células em intérfase para essas mesmas concentrações, indicando a presença de alterações no ciclo celular das células tratadas.

Em relação às fases do ciclo celular, nota-se um aumento expressivo de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

células em prófase em todas as concentrações. Já em metáfase, anáfase e telófase observa-se uma diminuição significativa em todas as concentrações em relação ao controle negativo.

Para avaliar o potencial genotóxico do extrato etanólico do caule de *M. flexuosa* foram analisadas a presença de aberrações cromossômicas (AC) também através do ensaio *Allium cepa*. A tabela 2 expressa a frequência de AC obtidas após o tratamento das células meristemáticas expostas às concentrações de 9, 81 e 243 µg/mL da amostra.

Tabela 2: Análise da genotoxicidade das amostras obtidas em diferentes concentrações do extrato etanólico do caule de *Mauritia flexuosa* L.

| Tratamentos | Aberrações Cromossômicas |
|-------------|--------------------------|
| 0 µg/mL | 2 ± 0,67 |
| 9 µg/mL | 7,75 ± 5,48* |
| 81 µg/mL | 8,4 ± 5,79* |
| 243 µg/mL | 6,8 ± 2,62* |

Dados expressos em média ± DP. O “*” indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para $p < 0,05$.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para a frequência de aberrações cromossômicas demonstraram um aumento significativo para todas as concentrações em relação ao controle negativo, inferindo a atividade genotóxica do extrato etanólico do caule da espécie *M. flexuosa* L.

Segundo MACHADO (2013), índice mitótico maior que o controle negativo resulta em estímulo a divisão celular, que produz proliferação rápida e por vezes descontrolada, podendo levar à formação de tumores em mamíferos. Já as aberrações cromossômicas podem interferir em processos celulares essenciais, além de estarem associadas ao câncer, ao envelhecimento, à morte celular e a diversas patologias (BARBOSA, 2014). Portanto, para ambos os parâmetros analisados, os resultados obtidos neste trabalho alertam para o risco oriundo da utilização indiscriminada da espécie *M. flexuosa*.

Conclusão

Os resultados preliminares obtidos na análise do extrato etanólico do caule de *M. flexuosa* L. sobre o bioensaio vegetal *Allium cepa* apontam tanto efeito proliferativo como atividade genotóxica, ao menos nas condições e concentrações utilizadas neste trabalho.

Palavras-chave: *Allium cepa*. Proliferação celular. Mutagenicidade.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Referências

BARBOSA, B. F. F. Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e antimutagenicidade do fruto da palmeira Jaçara (*Uuterpe edulis* Martius) em ratos Wistar. **Dissertação (Mestrado em Toxicologia) - Faculdade Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP**. Ribeirão Preto, São Paulo, p. 82, 2014.

BATISTA, J. S. et al. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuora*. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.

CHANG, N.; LUO, Z.; SONG, H. Indigenous Uses and Pharmacological Activity of Traditional Medicinal Plants in Mount Taibai, China. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2017.

LEITE, Mariana da C.; CROZARA, Mariza A. Fitoterapia e o uso indiscriminado do chá de *cannabis sativa*. **III Simpósio de Assistência Farmacêutica**, 2015.

MACHADO, A. T. Avaliação do potencial mutagênico do efluente do terminal petroquímico almirante Soares Dutra (Osório – RS-Brasil) através do sistema teste *Allium cepa*. **Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do sul e Universidade Estadual do Rio Grande do sul**. Rio Grande do sul, p. 45, 2013.

MELO, K. S.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Comportamento reológico da polpa do buriti com leite. **Rev. Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n.2, p. 197-206, 2008.

MOURA, A. P. G. et al. Essential oil from fruit of *Xylopia langsdorffiana*: antitumour activity and toxicity. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 12, p.3093–3102, 2016.

RIBEIRO, E. M. G. de A. et al. Conhecimento etnobotânico sobre o buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) em comunidades rurais do município de Currais, Sul do Piauí, Brasil. **Gaia Scientia**, p. 28-35, 2014.

VERRI, A. M., MOURA, A. A., MOURA, V. M. Testes citogenéticos na avaliação da genotoxicidade de produtos naturais provindos de plantas medicinais. **Revista UNINGÁ**, v. 30, n.1, p. 55-61, 2017.

VIEIRA, D. A.; FACÓ, L. R.; CECY, A. Buriti: Um fruto do Cerrado considerado uma planta de uso múltiplo. **Cenarium Farmacêutica**, n. 4, p. 11-22, 2011.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Avaliação preliminar do potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth

Gabriela Corrêa Morais¹, Leandra Oliveira Magalhães¹, Eloísa Assunção de Sousa Cunha¹, Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão¹, João Samy Nery Souza², Aldeídia Pereira de Oliveira³, Elisângela Cláudia Alves de Oliveira¹

¹Universidade Federal do Piauí – Campus Amílcar Ferreira Sobral, Floriano – PI, Brasil.

gabrielacorreamorais@gmail.com; ² Universidade Federal do Piauí- Campus Cinobelina Elvas, Bom Jesus- PI, Brasil.;

³Universidade Federal do Piauí – Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

As plantas têm sido consideradas a muito tempo um arsenal terapêutico da humanidade (BENZIE; WACHTEL-GALOR, 2011). Em muitas comunidades, estes produtos naturais apresentam-se como uma alternativa para a substituição de drogas sintéticas devido às suas comprovadas atividades farmacológicas, como capacidade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2011), antialérgica, antiviral, anti-mutagênica e antifúngica (VENTUROSO et al., 2011).

Entretanto, um dos principais problemas enfrentados na utilização de plantas medicinais tradicionais é a crença de que estas são seguras, isentas de reações adversas e de efeitos tóxicos (CLARKE; RATES; BRIDI, 2007). Algumas são, porém, reconhecidas por apresentarem capacidade citotóxica (SILVA et al., 2016) genotóxica e/ou mutagênica, fazendo-se necessário estudos acerca das espécies vegetais utilizadas pela população (VARANDA, 2006).

Croton heliotropiifolius Kunth, conhecida popularmente como velame (DÓRIA et al, 2010), velame preto (SARAIVA et al., 2015), velaminho ou velame-de-cheiro, é uma planta endêmica do Nordeste do Brasil pertencente à família das Euforbiáceas e ao gênero *Croton* (PALMEIRA-JÚNIOR et al., 2006). Tal espécie é utilizada na Medicina tradicional no combate ao sarampo, febre, sintomas da menopausa, dores e inflamações gerais, distúrbios da pele, tosse, gripe, sinusite, rinite, pneumonia, tuberculose, infecções e inflamações pulmonares, gengivite e feridas na boca (GOMES; BANDEIRA, 2012; SARAIVA et al., 2015).

Tendo em vista o uso popular recorrente de *Croton heliotropiifolius* Kunth para diversos fins terapêuticos e a carência de estudos que comprovem a segurança de sua utilização, faz-se necessária a análise de seu potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico, a fim de que se compreenda melhor a interação desta espécie com o material genético da célula.

Metodologia

O bioensaio utilizado nesta pesquisa foi o *Allium cepa*. Para avaliação citotóxica, genotóxica e mutagênica do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth, utilizaram-se cebolas de tamanho pequeno e uniforme, saudáveis e não germinadas.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Os bulbos de *A. cepa* foram colocados para enraizarem em frascos com água destilada por 48h, à 25°C e constante aeração, até a obtenção de raízes com cerca de 1,0 cm de comprimento. Para análise de cada concentração do extrato (9, 81 e 243 µg/mL), utilizaram-se cinco bulbos que foram tratados por 24 horas. Decorrido este período, as raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy também por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água destilada, seguida de hidrólise em HCL 1N por 5 min para a preparação das lâminas.

A coloração das amostras foi realizada de acordo com o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002) adicionando-se uma gota de orceína acética à 1% e cobrindo-as com uma lamínula, para análise em microscópio óptico em um aumento de 400X. Foram observadas células em diferentes fases do ciclo celular e a presença de alterações cromossômicas. Para análise de citotoxicidade foram calculados os valores de índice mitótico.

Resultados e discussão

Para avaliação do potencial citotóxico do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth, foi realizada a análise citogenética das amostras através do bioensaio *Allium cepa*. São apresentados na Tabela 1 o total de células em interfase e em divisão, os valores de índice mitótico e o número de células em cada uma das fases da mitose.

Tabela 1 – Análise da citotoxicidade das amostras em diferentes concentrações do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth.

| TRATAMENTOS | Células em Intérfase | Células em divisão | % IM | P | M | A | T |
|-------------|----------------------|--------------------|--------------|-------|-----|-----|------|
| CN | 3660 | 1340 | 26,8 ± 0,36 | 493 | 389 | 306 | 152 |
| 9 µg/mL | 2860* | 2140* | 42,8 ± 9,04* | 2050* | 37* | 19* | 34* |
| 81 µg/mL | 1449* | 3551* | 71,0 ± 5,41* | 3423* | 52* | 39* | 37* |
| 243 µg/mL | 3240 | 1760 | 35,2 ± 2,84 | 1579* | 66* | 13* | 102* |

Dados expressos em média ± DP. O “*” indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para $p < 0,05$. CN: Controle negativo; IM: Índice mitótico; P: Prófase; M: Metáfase; A: Anáfase e T: Telófase.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para o índice mitótico (IM) mostram um aumento significativo para as concentrações de 9 µg/mL e 81 µg/mL, em relação ao controle negativo (CN). Observou-se também uma diminuição no número de células em intérfase com conseqüente aumento no número de células em divisão nestas duas concentrações em comparação ao CN, sugerindo a presença de alterações no ciclo celular das células tratadas.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

No que diz respeito às fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), observa-se um aumento significativo em todas as concentrações testadas no número de células em prófase em comparação ao controle, principalmente na concentração de 81 $\mu\text{g/mL}$. Já em metáfase, anáfase e telófase observa-se uma diminuição significativa em todas as concentrações em relação ao CN.

Um IM mais elevado que os valores obtidos para o CN é interpretado como um aumento na divisão celular que pode ser prejudicial ao organismo, levando à uma proliferação celular desordenada e até mesmo à formação de tecidos tumorais em mamíferos (HOSHINA, 2002). O aumento do IM verificado no presente trabalho principalmente para as concentrações de 9 $\mu\text{g/mL}$ e 81 $\mu\text{g/mL}$ indica, portanto, que houve indução da atividade mitótica das células expostas, levando inclusive ao acúmulo de células em prófase, conduzindo as células a um caminho de proliferação. Embora a concentração de 243 $\mu\text{g/mL}$ não tenha apresentado diferença estatística em relação ao CN, é possível observar uma tendência ao aumento nos seus valores de IM. O maior número de células em prófase em relação as demais fases do ciclo celular, pode indicar que possíveis lesões ao DNA geradas pelos tratamentos podem estar dificultando a montagem do aparato mitótico. Dessa forma, danos provocados ao DNA celular pelo tratamento com o extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth podem ser severos, não sendo totalmente corrigidos na fase de intérfase.

Para avaliar o potencial genotóxico do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth foram analisadas a presença de aberrações cromossômicas (AC) através do bioensaio *Allium cepa*. A Tabela 2 expressa a frequência de AC obtidas após o tratamento das células meristemáticas expostas às concentrações de 9, 81 e 243 $\mu\text{g/mL}$ da amostra.

Tabela 2 - Análise da genotoxicidade das amostras obtidas em diferentes concentrações do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth.

| TRATAMENTOS | AC |
|----------------------|----------------|
| CN | 2 \pm 0,70 |
| 9 $\mu\text{g/mL}$ | 1,3 \pm 1 |
| 81 $\mu\text{g/mL}$ | 2,6 \pm 0,50 |
| 243 $\mu\text{g/mL}$ | 7 \pm 1,1* |

Dados expressos em média \pm DP. O “*” indica significância estatística das concentrações testadas em comparação ao controle negativo para $p < 0,05$. CN: Controle negativo; AC: Aberrações cromossômicas.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os resultados obtidos para a frequência de AC demonstraram um aumento significativo apenas para a concentração de 243 $\mu\text{g/mL}$ em relação ao CN. As principais aberrações cromossômicas observadas foram alterações em anáfase (atrasos e pontes) e em telófase (atrasos e perdas).



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

A ação genotóxica e mutagênica de uma amostra é avaliada através da detecção de frequência aumentada de AC nas células tratadas em relação ao CN (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007). Os resultados obtidos neste trabalho confirmam, portanto, o potencial genotóxico e mutagênico do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth, pelo menos para a concentração de 243 µg/mL. Os dados sugerem que o possível acúmulo de lesões ao DNA na intérfase não mata as células, mas, ao contrário, as estimulam à proliferação. Uma vez que não foram reparadas, estas lesões originam as mutações detectadas no presente ensaio para a mais alta concentração testada.

Conclusão

Os resultados preliminares obtidos na análise do extrato etanólico da folha de *Croton heliotropiifolius* Kunth sobre o bioensaio vegetal *Allium cepa* apontam um efeito proliferativo para as concentrações de 9 µg/mL e 81 µg/mL, bem como um efeito genotóxico e mutagênico para a concentração de 243 µg/mL, nas condições analisadas.

Palavras-chave: *Allium cepa*. Índice mitótico. Aberrações cromossômicas.

Referências

- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 444-447, 2007.
- BENZIE, Iris F. F.; WACHTEL-GALOR, Sissi. **Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- CLARKE, J. H. R.; RATES, S. M. K.; BRIDI, R. Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez. **Infarma**, v. 19, p. 41-48, 2007.
- DÓRIA, G. A. A. et al. Study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 615-620, 2010.
- GOMES, T. B.; BANDEIRA, F. P. S. F. Uso e diversidade de plantas medicinais em uma comunidade quilombola no Raso da Catarina, Bahia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 796-809, 2012.
- GUERRA, Marcelo; SOUZA, Maria José de. **Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. 1 ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.
- HOSHINA, M. M. **Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro - município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa***. 2002.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

52 f. Monografia (Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Rio Claro, 2002.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM; R. A. review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, p. 217–233, 2011.

PALMEIRA-JÚNIOR, R. S. F. et al. Constituintes químicos das folhas de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 397-402, 2006.

SARAIVA, M. E. et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 171, p. 141-153, 2015.

SILVA, A. L. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e antioxidante da espécie vegetal *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 307-315, 2016.

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

VENTUROSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 18-23, 2011.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Avaliação da toxicidade aguda do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. em ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar)

Josynaria Araújo Neves⁹, Josyanne Araújo Neves¹, Celyane Alves Piauilino¹
Everton Moraes Lopes¹, Benedito Pereira de Sousa Neto¹, Rita de Cassia
Meneses Oliveira¹⁰

¹Programa de doutorado *RENORBIO*, ponto focal, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais – NPPM, Teresina, PI, Brasil. josynarial@hotmail.com; ¹⁰Universidade Federal do Piauí – UFPI, Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais – NPPM, Teresina, PI, Brasil.

Introdução

Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos de baixo peso molecular, voláteis e aromáticos (COBELLIS et al., 2015) com ampla utilização devido a suas propriedades biológicas resultantes da ação de seus diferentes constituintes ou sinergismos destes (CUNHA; ROQUE; NOGUEIRA, 2012; CABRAL et al., 2015).

Rosmarinus officinalis L., conhecida popularmente por alecrim, é uma planta consumida mundialmente em decorrência de seus benefícios à saúde humana. Suas folhas são, frequentemente, utilizadas na cozinha mediterrânea e na medicina tradicional como anti-inflamatórias, diuréticos, antimicrobianas e também na cosmética (RIBEIRO-SANTOS et al., 2015). Baseados nos potenciais terapêuticos e na utilização de OEs, estudos toxicológicos são indispensáveis e complementares para ampliar o conhecimento da espécie em estudo. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a toxicidade oral aguda do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (OE-Ro), em ratos Wistar.

Metodologia

O óleo essencial de *R. officinalis* L. (OE-Ro) foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (150-200 g), provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais - NPPM/UFPI, mantidos sob condições controladas de temperatura (22 ± 1 °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação e água. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (078/2015), a eutanásia dos animais foi em conformidade com Conselho Federal de Medicina Veterinária (Resolução nº 1000/2012).

Os animais foram divididos em dois grupos (n=5/grupo). Ao grupo controle foi administrada dose isovolumétrica de salina (NaCl 0,9%). O segundo grupo, foi tratado com a dose de 2.000 mg/kg de OE-Ro, ambos por via oral. O peso corporal (g) dos animais foi verificado no primeiro e no décimo quarto dia pós-administração (salina ou OE-Ro) para evolução ponderal da massa. Os animais foram examinados diariamente quanto aos aspectos clínicos, incluindo a postura, convulsões/tremores, consistência e aspecto das fezes, fechamento da pálpebra, piloereção, aspecto da pele e pêlos, estresse,



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

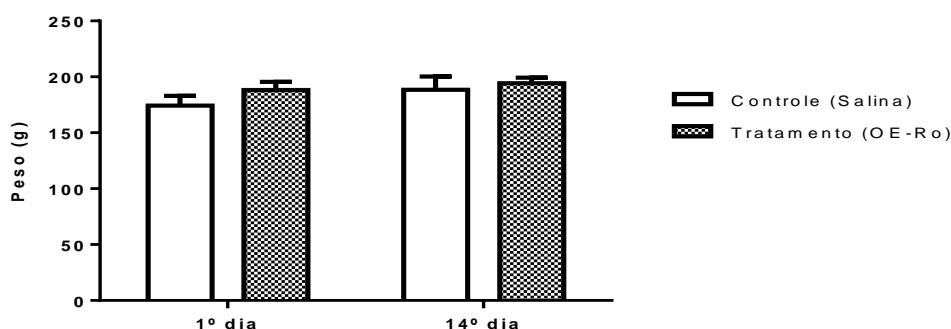
salivação, olhos e comportamento, efetuando-se assim avaliação *screening* hipocrático. Esses parâmetros foram avaliados nos intervalos de 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h e 4 h após a administração e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. A coleta do sangue foi realizada por punção da artéria abdominal, utilizando scalp nº 21. Os parâmetros bioquímicos foram determinados no analisador Bioquímico (Labmax Plenno® Labtest) para os testes de glicose, alanina-aminotransferase, aspartato-aminotransferase, creatinina, uréia, colesterol total e triglicérides. No décimo quarto dia ocorreu a eutanásia e foi feita a pesagem dos órgãos para determinar os valores absolutos. Os resultados foram expressos através de média \pm desvio padrão. Fez-se a estatística através da análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de t, $p < 0,05$, usando *software* GraphPad Prism6®.

Resultados e Discussão

No presente estudo não ocorreram mortes após a administração de 2.000 mg/kg de OE-Ro, durante os 14 dias. E também não foram observadas mudanças comportamentais anormais. Os resultados mostraram que o OE-Ro, na dose estudada, possui baixa toxicidade aguda, evidenciada pela ausência de sinais clínicos relevantes no *screening* toxicológico, bem como ausência de morte durante todo o período de observação. O *screening* hipocrático é um ensaio bastante útil e habitualmente usado na triagem preliminar de plantas para detectar atividades farmacológicas e toxicológicas (LUCIO et al., 2000).

Outros sinais de toxicidade podem se expressar pela alteração da massa relativa dos órgãos, alterações bioquímicas sanguíneas e hematológicas (GONZALEZ; SILVA, 2003). O peso dos animais não apresentou nenhuma diferença entre os grupos controle e OE-Ro. Os valores obtidos no primeiro e no décimo quarto dia foram de 174,2 \pm 8,74; 188,4 \pm 11,81 para o controle e 188,2 \pm 7,31; 194,2 \pm 5,06 nos animais tratados (OE-Ro), respectivamente (Figura 1).

Figura 1 - Evolução ponderal (média \pm desvio padrão) dos animais tratadas com salina ou e óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L., por via oral.



Fonte: Autoria própria.

Não foram observadas diferenças significativas pelo Teste t para o peso dos órgãos, em comparação ao grupo controle, dos animais tratados com OE-Ro na dose de 2.000 mg/kg (Tabela 1).



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tabela 1 – Efeito da administração aguda do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (2000 mg/kg) sobre o peso dos órgãos (g) de ratos fêmeas. Dados expressos em média de gramas±desvio padrão, diferença significativa em relação ao grupo controle para OE-Ro ($p < 0,05$) em $n=5$.

| Órgãos | Grupo Controle (g) | Grupo OE-Ro (g) |
|----------|--------------------|-----------------|
| Estômago | 1,13±0,07 | 1,31±0,05 |
| Baço | 0,50±0,04 | 0,54±0,03 |
| Fígado | 6,96±0,45 | 7,25±0,43 |
| Rins | 1,58±0,02 | 1,58±0,06 |
| Coração | 0,75±0,03 | 0,79±0,04 |
| Pulmão | 1,24±0,04 | 1,32±0,06 |

Fonte: Autoria própria.

Aguilar e colaboradores (2008) testaram OE de alecrim, oralmente, em ratos fêmeas durante 91 dias na dose de 2.400 mg/kg na dieta, seguido por 28 dias sem tratamento. Passados os 91 dias, constatou-se aumento do peso do fígado, quando comparado ao grupo controle, porém, nenhuma alteração macro ou microscópica foram observadas.

Os parâmetros bioquímicos dos ratos Wistar realizados por este estudo estão representados na Tabela 2. As médias dos valores obtidos não apresentaram alterações significativas entre os animais do grupo OE-Ro e o controle, indicando ausência de alterações orgânicas.

Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar fêmeas, alterados significativamente (ANOVA seguido de Teste t, $p < 0,05$) pelo tratamento com dose única (v.o.) de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (OE-Ro) em comparação ao controle e referência.

| Parâmetros (unidade) | Controle | OE-Ro | Referência* |
|----------------------|-------------|-------------|---------------|
| ALT (U/L) | 55 ± 3,96 | 47 ± 4,94 | 41,0 ± 7,63 |
| AST (U/L) | 137 ± 10,40 | 158 ± 26,59 | 132,7 ± 27,23 |
| COL (mg/dL) | 88 ± 4,13 | 96 ± 5,59 | 75,1 ± 12,29 |
| CREA (mg/dL) | 0,50 ± 0,01 | 1 ± 0,03 | 0,5 ± 0,07 |
| GLI (mg/dL) | 281 ± 38,92 | 253 ± 34,62 | 106,2 ± 20,25 |
| TRI (mg/dL) | 96 ± 14,33 | 71 ± 12,17 | 69,8 ± 20,75 |
| UUV(mg/dL) | 46 ± 3,02 | 44 ± 1,65 | 43,7 ± 7,42 |

Fonte: Autoria própria. Dados expressos em média±desvio padrão. ANOVA seguido de Teste t, $p < 0,05$. *Valores de referências de Melo et al. (2012). Legenda: ALT- alanina-aminotransferase; AST- aspartato-aminotransferase; COL- colesterol total; CREA- creatinina; GLI- glicose; TRI- triglicérides e UUV- ureia.

Os valores médios dos testes bioquímicos realizados neste estudo apresentam-se com dosagens dentro da faixa preconizada pelo estudo realizados por Melo et al. (2012) em animais não-tratados oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. De maneira geral, os parâmetros bioquímicos estudados apresentaram similaridade, exceto para o controle glicêmico (GLI), onde ocorreu aumento no controle (281 ± 38,92 mg/dL). Esses autores reportam que os parâmetros bioquímicos e hematológicos não apresentaram similaridades entre faixas de valores devido a diferentes



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

metodologias adotadas, equipamento, reagentes e utilização da análise manual ou automatizada. Além das diferenças na dieta, tempo de jejum e estresse durante a coleta. Mesmo assim, tais avaliações toxicológicas são empregadas como ponto de partida para diversos estudos.

A administração de OE-Ro na dose de 2.000 mg/kg não resultou em efeito tóxico nos animais, pois não foi observado níveis significativos ($p < 0,05$) no grupo tratado com OE-Ro quando comparados ao grupo controle. Esse resultado corrobora com obtidos por Anadón et al. (2008) em estudo de toxicidade aguda com extratos desta espécie por via oral na dose de 2.000 mg/kg. Onde concluíram que os extratos apresentaram baixa toxicidade, pois foram bem tolerados, não sendo registrados efeitos significativos nos valores de bioquímica, peso dos órgãos ou mortalidade durante o período de observação de duas semanas.

Com os resultados obtidos, observa-se que a toxicidade oral aguda do OE-Ro pode ser categorizada como “categoria 5”, ou seja, toxicidade letal aguda maior que 2000 mg/kg, segundo o Guia OECD 423 (OECD, 2001). Para que os resultados da toxicidade sejam considerados pelas agências regulatórias, esses testes devem seguir protocolos internacionalmente aceitos, como os publicados pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (*Organization for Economic Co-operation and Development-OECD*).

Conclusão

O óleo essencial de *R. officinalis* (OE-Ro) não promoveu mortalidade em ratas fêmeas Wistar na dose de 2.000 mg/kg, tendo toxicidade letal aguda maior que essa dose, existindo margem de segurança para o uso do OE-Ro como agente terapêutico. Ressalta-se que a ausência de sinais de toxicidade nesse modelo não autoriza o uso terapêutico da planta, pois estudos toxicológicos adicionais ainda são necessários.

Palavras-chave: Recursos naturais. Toxicidade. Análise bioquímica.

Referências

AGUILAR, F. et al. Scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission on 74 the use of rosemary extracts as a food additive. **The EFSA journal**, v. 721, p.1-29, 2008.

ANADÓN, A. et al. Acute oral safety study of Rosemary extracts in rats. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 4, p. 790-795, 2008.

COBELLIS, G. et al. Use of *Rosmarinus officinalis* in sheep diet formulations: Effects on ruminal fermentation, microbial numbers and in situ degradability. **Small Ruminant Research**, v. 126, p.10-18, 2015.

CUNHA, P. A.; ROQUE, O.; NOGUEIRA, M. Plantas Aromáticas e óleos



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

essenciais. Composição e aplicações. Fundação Calouste Gulbenkian.
Farmacognosia e Fitoquímica, Lisboa, p. 678. 2012.

LUCIO, E. M. R. A. et al. Avaliação toxicológica aguda e creening hipocrático da epilsopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf.
Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 9, n. 10, p. 23-25, 2000.

MELO, M. G. D. et al. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattusnovergicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe, **ScientiaPlena**, v. 8, n.9, p. 049903, 2012.

OECD (*Organization for economic co-operation and development*) 2001.
Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Guideline: 423. http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL423.pdf. Acesso em jun. de 2016.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. A novel insight on na ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Trends in Food Science &Technology**, v. 45, p. 355-368, 2015.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Avaliação da toxicidade aguda da goma do angico, extraída do exsudato de *Anadenanthera columbrina* var. *cebil* (Griseb) Altsul em camundongos

Andreza Ketly da Silva Araújo¹, Thiago de Souza Lopes Araújo¹, André Luis Fernandes Lopes¹, Bruna Novaes Costa¹, Bruno Iles¹, Gabriella Pacheco¹, Jand Venes Rolim Medeiros²

^{1,2}Laboratório da Farmacologia da Inflamação e Desordens Gastrointestinais, UFPI-Parnaíba-PI; E-mail: dezaketly@hotmail.com

Introdução

A diversidade na flora do cerrado brasileiro possibilita encontrar várias espécies com potencial biotecnológico, as quais são utilizadas desde fins medicinais até econômicos. Uma dessas espécies é a *Anadenanthera columbrina* var. *cebil* (Griseb) Altsul conhecida como angico vermelho, pertencente à família Fabaceae (LORENZI, 2002). Apesar de o vegetal ser relativamente desconhecido quanto aos seus efeitos tóxicos partes da planta são bastante utilizadas na medicina popular, como por exemplo, a casca, mostrando propriedades terapêuticas como tônico amargo, depurativo, hemostático, adstringente e usado ainda em contusões, debilidades, tuberculose, raquitismo e hemorragias em geral (LORENZI, 1998). Um derivado desta planta que vem ganhando destaque é o seu exsudato, popularmente chamado de goma. As gomas naturais são polissacarídeos (biopolímeros) extraídos de exsudatos de troncos de árvores, de sementes, de algas ou por fermentação microbológica (CORREA, 1926). De acordo com estudos etnofarmacológicos a goma angico (GA), é bastante utilizada na medicina popular como emoliente peitoral, em afecções bronco-pulmonares, tosse, bronquites, asma e faringite, logo facilita a expectoração (LORENZI, 1998). No entanto ainda não existem estudos relatando os possíveis efeitos tóxicos que GA possa vir a apresentar. Portanto este presente trabalho tem como objetivo avaliar os níveis de toxicidade aguda da goma de *Anadenanthera columbrina* var. *cebil* (Griseb) (angico vermelho) utilizando o *Acute Toxic Class Method* (OECD) para teste de dose aguda tóxica (Diretriz 423) (OECD, 2001).

Metodologia

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animal da Universidade Federal do Piauí (CEE/UFPI #023/14), seguindo as normas estabelecidas pela *Acute Toxic Class Method* 423 (OECD, 2001) que regem os ensaios de toxicidade *in vivo*. A goma foi purificada como um sal de sódio, obtendo uma solução a 5% (p/v), segundo o descrito por (SILVA et al., 2006). Foram utilizados camundongos fêmeas (variedade Swiss) divididos em dois grupos (n = 5 animais): Controle, que recebeu solução salina (2,5ml/kg); Teste, que recebeu uma dose única de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

2000 mg/kg de GA, ambos tratados por via oral (gavagem) e posteriormente avaliados de acordo com os parâmetros do *screening hipocrático* em intervalos durante o dia da avaliação da droga (10 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 24h) e diariamente por um período de quatorze dias, observando parâmetros relativos ao sistema sensorial, sistema psicomotor, sistema nervoso central e sistema nervoso autônomo seguindo o proposto por (BRITO, 1994). Durante os 14 dias o consumo de água e de ração, bem como a produção de excretas e aspecto fecal foram avaliados. Após os 14 dias os animais foram colocados em jejum pelo período de 12 horas e logo em seguida foram anestesiados para a coleta de sangue por punção cardíaca para posterior determinação dos parâmetros bioquímicos (níveis de creatinina, ureia, proteínas totais, ALT [aspartato aminotransferase] e AST [alanina aminotransferase]) e hematológicos (número total de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos e plaquetas). Após eutanásia, os animais foram dissecados para pesagem (massa relativa) e avaliação macroscópica dos órgãos.

Resultados e Discussão

Segundo Batista e colaboradores (2012), acredita-se que as espécies oriundas da flora brasileira apresentam vantagens na área de prospecção de moléculas bioativas. Entretanto, apesar da ampla utilização, seu uso é baseado apenas em conhecimentos populares, faltando evidências experimentais que comprovem o potencial terapêutico, mecanismos de ação e até mesmo sua toxicidade.

No presente estudo o tratamento com a GA na dose de 2000 mg/kg, por via oral não alterou o consumo de água, consumo de ração, produção de excretas e aspectos fecais em relação ao grupo controle durante os 14 dias de avaliação (Tabela 1).

Tabela 1 - Média dos valores obtidos no consumo de água, consumo de ração, produção de excretas e aspecto fecal avaliados por 14 dias, em camundongos fêmeas, tratados com salina 0,9% e Goma do Angico (GA, 2.000mg/kg, v.o.).

| Tratamento | Dose | Consumo de água (ml/dia/grupo) | Consumo de ração (g/dia/grupo) | Produção de excretas (g/dia/grupo) | Aspecto Fecal (0-3) |
|------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|---------------------|
| Controle | 2,5 (ml/kg) | 29,08±1,46 | 19,23±0,69 | 17,33±1,30 | 0 |
| GA | 2.000 (mg/kg) | 31,31±1,99 | 22,15±2,28 | 18,11±1,15 | 0 |

Os valores são apresentados como média ± EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05 vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student. As pontuações para aspecto fecal foram atribuídas usando o método de Dicarlo e colaboradores (1994). Fezes normais = 0, fezes semissólidas = 1, fezes pastosas em pequena/moderada quantidade = 2, fezes aquosas em grande quantidade = 3.

Além disso, não foram encontradas diferenças estatísticas significantes entre os grupos testados em relação à massa corporal e a massa relativa dos órgãos, ambas importantes parâmetros na avaliação de toxicidade (Tabela 2). (BRITO, 1994). Tais resultados corroboram com os obtidos por Okoye e



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

colaboradores (2012) em modelo experimental de coelho, onde outra goma vegetal, agora extraída do exsudato de *Anacardium occidentale* L (cajuieiro) se mostrou não tóxica, mesmo com doses superiores a 2000 mg/kg (OKOYE et al., 2012), demonstrando a biocompatibilidade e segurança deste material.

Tabela 2 - Efeito da Goma do Angico (GA, 2.000 mg/kg, v.o.) no ganho de Massa Corporal (g) e na Massa relativa dos órgãos (%) em camundongos fêmeas após 14 dias consecutivos. Os valores são apresentados como média \pm EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05

| Tratamento | Massa Corporal (g) | | Massa relativa dos órgãos (%) | | | | |
|-----------------------|--------------------|------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | Antes | Depois | Fígado | Coração | Baço | Rins | Intestino Delgado |
| Controle, 2,5 (ml/kg) | 17,60 \pm 0,74 | 22,00 \pm 0,63 | 4,81 \pm 0,08 | 0,65 \pm 0,07 | 0,41 \pm 0,04 | 1,19 \pm 0,06 | 6,90 \pm 0,41 |
| GA, 2.000 (mg/kg) | 20,00 \pm 0,63 | 25,60 \pm 0,74 | 4,66 \pm 0,10 | 0,48 \pm 0,02 | 0,53 \pm 0,03 | 1,19 \pm 0,06 | 5,78 \pm 0,19 |

vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student. A massa relativa dos órgãos foi calculada como a relação da massa do órgão/massa corporal após o tratamento x 100.

A resposta do corpo a substâncias tóxicas normalmente se manifesta por mudanças hematológicas e bioquímicas. Sendo assim, testes de avaliação da lesão hepática, tais como AST, ALT e proteínas totais são úteis para determinar o grau de dano para este órgão, da mesma forma, a ureia e a creatinina são indicadores sensíveis de função renal (OBIDAH et al., 2009). Nesta pesquisa, nenhuma alteração nos níveis das enzimas e proteínas hepáticas e renais de camundongos tratados foi observada, corroborando com os resultados obtidos na análise macroscópica (massa relativa) do fígado e dos rins. (Tabela 3). Os índices hematimétricos também não sofreram alterações significativas.

Tabela 3 - Análises hematológicas e bioquímicas de sangue e plasma (respectivamente) após administração oral em dose única da Goma do Angico (GA; 2.000 mg/kg) em camundongos fêmeas após 14 dias consecutivos.

| Parâmetros | Controle | GA |
|--|------------------|---------------------|
| | | (2.000 mg/kg, v.o.) |
| Eritrócitos (milhões/mm ³) | 6,31 \pm 0,46 | 6,59 \pm 0,63 |
| Hemoglobina (g/dL) | 10,65 \pm 0,69 | 10,34 \pm 0,30 |
| Hematócrito (%) | 33,00 \pm 0,89 | 33,00 \pm 1,89 |
| Hematológicos | -VCM (fL) | 53,57 \pm 4,56 |
| | -HCM (pg) | 17,21 \pm 1,57 |
| | -CHCM (g/dL) | 32,28 \pm 1,87 |
| | | 31,65 \pm 1,60 |



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

| | | | | |
|-------------|----------------------------|-------------------------|---------------|------------|
| | Leucócitos/mm ³ | 4.150±294,10 | 5.310±1121,00 | |
| | -Segmentados (%) | 53,00±1,67 | 56,00±1,51 | |
| | -Monócitos (%) | 3,40±1,07 | 5,00±1,61 | |
| | -Linfócitos (%) | 41,60±2,73 | 36,00±3,43 | |
| | -Eosinófilos (%) | 2,00±1,04 | 3,00±0,77 | |
| | Plaquetas/μL | 764.800 | 770.200 | |
| Bioquímicos | | Creatinina (mg/gL) | 0,53±0,11 | 0,38±0,08 |
| | Função Renal | Ureia (mg/gL) | 26,05±2,20 | 30,61±3,32 |
| | | Proteínas Totais (g/dL) | 3,53±0,18 | 3,53±0,10 |
| | Função Hepática | ALT (TGP) (U/L) | 56,43±7,74 | 47,04±6,30 |
| | | AST (TGO) (U/L) | 24,50±4,05 | 19,40±3,57 |

Os valores são apresentados como média ± EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05 vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student.

No *screening* hipocrático, nenhuma alteração motora e/ou sensorial foi observada, sugerindo que a mortalidade provocada pelo tratamento, mesmo em altas doses da GA é improvável, evidenciando a segurança no uso deste biopolímero.

Conclusão

No presente estudo não se observou mudança comportamental, morte, mudanças no peso corporal entre os grupos testados. Além disso, não foram observadas alterações nos parâmetros bioquímicos avaliados, fatores importantes para determinar dano hepático e renal. De acordo com a Orientação 423 (2001) da OCDE, a GA se encontra no nível de toxicidade não classificado, com isso pode-se inferir que este biopolímero não apresenta toxicidade ou é pouco tóxico, apresentando uma dose letal média (DL50) superior a 2000 mg/kg.

Palavras-chave: Toxicidade. Goma do angico. Fabaceae.

Referências

BRITO, A. S. Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo. Ed. **Unicamp**, Campinas, 1994.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

CORREA, M. P. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, **Imprensa Nacional**, Rio de Janeiro (1926).

LORENZI, H. (1998). Árvores Brasileira. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa. Ed Plantarum**, V. 1, 367p.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4 ed. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2002. v.1, 368 p.

OBIDAH, W.; SAAD, U.A; Wurochekke, U.A. Toxic effects of aqueous stem bark extract of *Cassia sieberiana* on some biochemical parameters in rats, Afr. **J. Biochem. Res.** v.3, p. 229–231, 2009.

OKOYE, E. I.; ONYEKWELI, A. O.; FATOKI, O. O. Evaluation of LD50 of Cashew Gum and the Comparative Study of its Functionality in Cotrimoxazole Granule and Tablet Formulations. Br. J. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 3, p. 156-164, 2012b.

Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: **Organisation for Economic Cooperation and Development**; 2001.

SILVA, D. A.; FEITOSA, J. P.A.; MACIEL, J. S.; PAULA, H. C. B; DE PAULA, R. C. M. Characterization of crosslinked cashew gum derivatives. **Carbohydr. Polym.**, v. 66, p. 16–26, 2006.

BATISTA, J.S.; OLINDA, R.G.; MEDEIROS, V.B.; RODRIGUES, C.M.F.; OLIVEIRA, A.F.; PAIVA, E.S.; FREITAS, C.I.A.; MEDEIROS, A.C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v.42, n.1, 2012.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Análise da toxicidade aguda da goma do cajueiro, um heteropolissacarídeo complexo extraído do exsudato de *Anacardium occidentale* L., em camundongos

Bruna Novaes Costa¹; Thiago de Souza Lopes Araújo¹; Ana Patrícia de Oliveira¹; Kerolyne de Melo Nogueira¹; Gabriella Pacheco¹; Matheus Sombra de Alencar¹; Jand Venes Rolim Medeiros¹

¹Laboratório da Farmacologia da Inflamação e Desordens Gastrointestinais- LAFIDG/ Universidade Federal do Piauí- UFPI – Parnaíba/PI – Brasil. brunabio2015@gmail.com

Introdução

A grande diversidade química e biológica das plantas, animais e micro-organismos tornam os produtos naturais a maior fonte de insumos com aplicabilidade na indústria farmacêutica.

Uma planta com grande valor econômico e medicinal é a *Anacardium occidentale* L. (família: Anacardiaceae), nativa da América tropical e comumente conhecida como cajueiro (AGRA et al., 2007). Entre os materiais obtidos a partir do cajueiro, a goma do cajueiro (GC) tem se destacado por apresentar inúmeras aplicações nas áreas industriais e de conhecimento científico. A GC consiste em um heteropolissacarídeo (arabinogalactana ácida), exsudado naturalmente ou por incisões no tronco e nos ramos da árvore como goma ou resina de coloração amarelada (MENESTRINA et al., 1998). Em estudos pré-clínicos *in vivo* a GC apresentou resultados terapêuticos satisfatórios, por exemplo, potencializando o processo de cicatrização de lesões cutâneas em camundongos (SCHIRATO et al., 2006), protegendo a mucosa gástrica e intestinal contra lesões induzidas por AINES (anti-inflamatórios não-esteroides) (CARVALHO et al., 2015) e apresentando atividade antidiarreica em roedores (ARAÚJO et al., 2015).

Sabendo de sua grande importância e aplicabilidade principalmente na área farmacológica o presente trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade aguda da GC de acordo com o *Acute Toxic Class Method* (OECD) para teste de dose aguda tóxica (Diretriz 423).

Metodologia

O projeto teve aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará (Protocolo nº 11/2013). O experimento seguiu conforme as especificações da OECD 423 que regem os ensaios de toxicidade *in vivo*. Foi utilizada solução de 5% (p/v) de goma purificada para o experimento. Foram utilizados dez camundongos fêmeas (variedade Swiss) onde foram divididos em dois grupos, um grupo controle (n = 5 animais) que recebeu solução salina e um grupo teste (n = 5 animais) que recebeu a goma do cajueiro já purificada na dose de 2.000 mg/kg. Ambos foram tratados por via oral em dose única e submetidos a observação seguindo os parâmetros do *screening hipocrático* em intervalos variados no dia da administração da droga (10 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 12h e 24h) e, a partir



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

de então, diariamente, até o décimo quarto dia. No *screening* foram analisados o sistema sensorial (irritabilidade, reflexo palpebral, reflexo auricular, aperto da cauda), sistema psicomotor (reflexo de endireitamento, força para agarrar, ataxia, contorção), sistema nervoso central (anestesia, tremores, convulsão) e sistema nervoso autônomo (piloereção, ptose palpebral, cianose, defecação, lacrimação) seguindo o proposto por BRITO (1994). A massa corporal, o consumo de água e ração e a produção de excretas foram avaliados durante todo experimento. No 15^o dia os animais foram postos em jejum durante 12 horas e depois foram anestesiados para a coleta de sangue por punção cardíaca para determinação dos parâmetros bioquímicos e hematológicos. Após a eutanásia os órgãos (fígado, pâncreas, coração, rins, baço e intestino delgado) foram retirados e pesados verificando a massa relativa. Na avaliação bioquímica foram determinados os valores de ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e proteínas totais seguindo protocolo prévio de acordo com as instruções do fabricante (Labtest, São Paulo, Brasil). Na avaliação hematológica foram analisados os valores de eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos.

Resultados e Discussão

Os testes de toxicidade aguda oral, segundo o Guia 423 das diretrizes da Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (OECD, 2001), são utilizados para avaliar efeitos adversos que ocorrem em um breve período da administração oral de uma substância em dose única ou múltiplas doses fornecidas durante 24 horas, sendo capaz de fornecer subsídios referentes aos riscos à saúde após uma exposição de curta duração (BRITO, 1994).

No presente estudo não houve morte ou qualquer outro sinal de toxicidade nos animais controle ou tratados com a dose de 2000 mg/kg durante todo o estudo. O consumo de água, de ração, a produção de excretas e o aspecto fecal não tiveram alterações significativas (Tabela 1) em ambos os grupos analisados. No *screening* hipocrático, nenhuma alteração motora e/ou sensorial foi observada.

Nenhuma alteração no peso corporal dos animais ou o peso relativo dos órgãos foi observado, ambos os fatores importantes no estudo da toxicidade. A análise macroscópica dos órgãos analisados, sensíveis ou importantes no metabolismo e excreção de xenobióticos, não apresentaram alterações significativas entre os grupos (Tabela 2). Resultados semelhantes foram observados em estudos de toxicidade aguda em ratos conduzidos por Gyedu-Akoto e colaboradores (2008), onde foi demonstrada que a GC extraída de cajueiros africanos se mostrou não tóxica em doses superiores a 5000 mg/kg.

A resposta do corpo a substâncias tóxicas comumente se manifesta por mudanças fisiológicas no sangue. Tanto os resultados bioquímicos quanto hematológicos tiveram resultados semelhantes ao grupo controle, ou seja, se mantiveram normais sem alterações, demonstrando a biocompatibilidade e segurança deste material (Tabela 3).



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tabela 1 - Média dos valores obtidos no consumo de água, consumo de ração, produção de excretas e aspecto fecal avaliados por 14 dias, em camundongos fêmeas, tratados com salina 0,9% e Goma do Cajueiro (GC, 2.000mg/kg, v.o.).

| Tratamento | Dose | Consumo de água (ml/dia/grupo) | Consumo de ração (g/dia/grupo) | Produção de excretas (g/dia/grupo) |
|------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Controle | 2,5 (ml/kg) | 29,08±1,46 | 19,23±0,69 | 17,33±1,30 |
| GC | 2.000 (mg/kg) | 32,69±1,66 | 21,54±1,75 | 21,30±2,43 |

Legenda: Os valores são apresentados como média ± EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05 vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student.

Tabela 2 - Efeito da Goma do Cajueiro (GC, 2.000 mg/kg, v.o.) no ganho de Massa Corporal (g) e na Massa relativa dos órgãos (%) em camundongos fêmeas após 14 dias consecutivos.

| Tratamento | Dose | Massa Corporal (g) | | Massa relativa dos órgãos (%) | | | | |
|------------|---------------|--------------------|------------|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------------|
| | | Antes | Depois | Fígado | Coração | Baço | Rins | Intestino Delgado |
| Controle | 2,5 (ml/kg) | 17,60 ±0,74 | 22,00±0,63 | 4,81±0,08 | 0,65±0,07 | 0,41±0,04 | 1,19±0,06 | 6,90±0,41 |
| GC | 2.000 (mg/kg) | 20,80±0,80 | 24,80±0,80 | 4,80±0,12 | 0,54±0,02 | 0,54±0,04 | 1,16±0,06 | 6,66±0,30 |

Legenda: Os valores são apresentados como média ± EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05 vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student. A massa relativa dos órgãos foi calculada como a relação da massa do órgão/massa corporal após o tratamento x 100.

Tabela 3 - Análises hematológicas e bioquímicas de sangue e plasma (respectivamente) após administração oral em dose única da Goma do Cajueiro (GC; 2.000 mg/kg) em camundongos fêmeas após 14 dias consecutivos.

| Parâmetros | | Controle | GC (2.000 mg/kg, v.o.) |
|------------------|--|--------------|------------------------|
| Hematológicos | Eritrócitos (milhões/mm ³) | 6,31±0,46 | 6,02±0,62 |
| | Hemoglobina (g/dL) | 10,65±0,69 | 13,08±1,50 |
| | Hematócrito (%) | 33,00±0,89 | 35,00±1,76 |
| | -VCM (fL) | 53,57±4,56 | 60,34±6,08 |
| | -HCM (pg) | 17,21±1,57 | 22,27±2,56 |
| | -CHCM (g/dL) | 32,28±1,87 | 38,08±5,35 |
| | Leucócitos/mm ³ | 4.150±294,10 | 5.270±663,40 |
| | -Segmentados (%) | 53,00±1,67 | 56,00±1,51 |
| | -Monócitos (%) | 3,40±1,07 | 5,00±1,61 |
| | -Linfócitos (%) | 41,60±2,73 | 36,00±3,43 |
| -Eosinófilos (%) | 2,00±1,04 | 3,00±0,77 | |
| Plaquetas/μL | 764.800 | 765.200 | |
| Bioquímicos | Função Renal | | |
| | Creatinina (mg/gL) | 0,53±0,11 | 0,55±0,08 |
| | Ureia (mg/gL) | 26,05±2,20 | 25,12±1,27 |
| | Função Hepática | | |
| | Proteínas Totais (g/dL) | 3,53±0,18 | 3,52±0,14 |
| ALT (TGP) (U/L) | 56,43±7,74 | 59,06±3,08 | |
| AST (TGO) (U/L) | 24,50±4,05 | 20,20±1,39 | |

Legenda: Os valores são apresentados como média ± EPM. Número de animais/ grupo: cinco. *P <0,05 vs. Grupo controle (salina), Teste t de Student. Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT).

Sendo assim, de acordo com o Guia 423 da OECD (OECD, 2001), a GC pode ser classificada na categoria 5, substância com uma dose metal média (DL50) superior a 2000 mg/kg.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos através da metodologia empregada neste trabalho, concluiu-se que a GC não apresentou sinais de intoxicação e nem alterações, motoras, fisiológicas ou comportamentais nas doses administradas aos animais. O valor DL50 para a administração oral da GC foi estimado em maior que 2000 mg/kg, podendo ser enquadrada na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS, sendo considerada de baixa toxicidade. Sendo, portanto, seguro dar continuar aos estudos em outros testes pré-clínicos contendo a goma.

Palavras-chave: Testes de toxicidade. Gomas vegetais. *Anacardium occidentale*.

Referências

- AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 17, p. 114-140, 2007.
- ARAÚJO, T.S.L.; COSTA; D.S.; SOUSA, N.A.; SOUZA, L.K.M.; ARAÚJO, S.; OLIVEIRA, A.P.; SOUSA, F.B.M.; SILVA, D.A; BARBOSA, A.L.R; LEITE, J.R.S.A.; MEDEIROS, J.V.R. Antidiarrheal activity of cashew gum, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents, **J. Ethnopharmacol.** V. 174, p. 299– 307, 2015.
- BRITO, A. S. Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo. **Ed. Unicamp**, Campinas, 1994.
- RODRIGUES, J. A. G.; QUEIROZ, I. N. L.; QUINDERÉ, A. L. G.; VAIRO, B. C.; MOURÃO, P. A. S.; BENEVIDES, N. M. B. Um polissacarídeo sulfatado dependente de antitrombina isolado da alga verde *Caulerpa cupressoides* possui efeitos anti- e prótrombótico in vivo. **Ciênc. Rural**, v. 41, p. 634-39, 2011.
- CARVALHO, N. S.; SILVA, M. M.; SILVA, R. O.; NICOLAU, L. A. D.; SOUSA, F. B. M.; DAMASCENO, S. R. B.; SILVA, D.; BARBOSA, A. L. R.; MEDEIROS, J. V. R. Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. **Drug Develop. Res.**, v. 76, p. 143-151, 2015.
- Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; LIMA FILHO, J. L.; LEÃO, A. M. A. C.; PORTO, A. L. F. The polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. in the inflammatory phase of the cutaneous wound healing. **Ciênc. Rural**, v. 36, p. 149-154, 2006.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Estudo da toxicidade de *Combretum leprosum*: teste *Allium cepa*

Valéria Moura de Carvalho^{1,2}, Raidan Costa Rodrigues¹, Elizângela de Carvalho Nunes¹, Sâmia Katya Barros Guimarães¹, Antonio Lima Braga² Jadielson dos Santos³, Kelly Maria Rêgo da Silva⁴

Acadêmicos do Curso de Biomedicina Centro Universitário UNINOVAFAP¹; Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Mauricio de Nassau Campus Aliança-PI²; Bacharel em Biomedicina pela Universidade Federal do Piauí³
Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Mauricio de Nassau – PI, Especialista na área de Microbiologia Clínica⁴ valeriamouracarvalho@hotmail.com

Introdução

A partir do século XIX a humanidade se deparou diante do diverso e inesgotável arsenal terapêutico presente nas plantas medicinais devido a descoberta de substâncias ativas, que em estado natural ou após sofrerem processos de transformação química, possuem atividade biológica, muitas vezes já confirmadas pelo uso popular e comprovados cientificamente.

Nos países em desenvolvimento as doenças estão relacionadas com a falta de saneamento básico, desnutrição e dificuldade de acesso aos medicamentos.

Diversos vegetais têm sido utilizados com fins láticos e curativos de infecções, entre eles encontram-se aqueles que são objetos deste estudo. Atualmente muitos trabalhos vêm sendo realizados em busca de novas plantas com atividade tóxica.

Combretum leprosum (Combretaceae) é um arbusto ou pequena árvore que cresce no Nordeste do Brasil, onde é conhecido como mufumbo, mofumbo, cipoaba e pente-de-macaco. Na medicina popular, os extratos de diferentes partes da planta são utilizados por suas propriedades supostamente expectorantes, hemostáticas, sedativas e afrodisíacas.

Os estudos farmacológicos com extratos e compostos isolados de diferentes partes da planta sugerem que as atividades biológicas de *C. leprosum* incluem também efeitos, antiulcerogênico, antiinflamatório e antiproliferativo, e contra a forma promastigota de *Leishmania amazonenses*.

O conhecimento sobre a toxicidade das plantas tóxicas é importante para o homem, pois várias espécies podem ter uso medicinal e espécies forrageiras tóxicas causam prejuízo à produção animal. Diante disso o presente estudo tem como objetivo verificar a toxicidade de extrato aquoso de *C. leprosum*.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Metodologia

Para a avaliação da toxicidade nesse trabalho foi utilizada a metodologia de *Allium cepa* devido ao seu baixo custo, as análises tiveram início no dia 1º de agosto e término no dia 4 de setembro do ano de 2016, os bulbos foram postos para germinar com a parte inferior mergulhada em solução contendo 50 mL de H₂O destilada e o extrato vegetal em teste, por um período de 7 dias. Logo após, foram feitas lâminas e analisadas em microscópio para contagem de células.

Resultados e Discussão

O índice mitótico geral observado foi de interfase 48,94%; prófase 49,64%; metáfase 4,54%; anáfase 3,84% e telófase 1,06 %. Com esses valores é possível constatar que o extrato aquoso de *C. leprosum*. nas concentrações utilizadas nesse teste tem atividade tóxica.

De acordo com Pereira et al. (2017), os efeitos tóxicos da *C. leprosum* podem alterar o índice mitótico, ou seja o número total de células que se dividem no ciclo celular, com isso pode resultar no aumento do mesmo, assim levando à proliferação celular desordenada e à formação de tecidos tumorais; pode também fazer com que haja uma diminuição do índice mitótico, caracterizando a ação química no crescimento e no desenvolvimento do organismo exposto.

Ainda de acordo com os autores, além da avaliação das preparações florestais para efeitos citotóxicos, a casca de *C. leprosum* também foi utilizada para estimar a toxicidade dos ratos. O extrato hidroalcoólico de casca mostrou toxicidade aguda quando administrado por via oral e intraperitoneal em camundongos machos. Este extrato não mostrou toxicidade reprodutiva em ratos fêmeas; não promoveu atividade estrogênica ou antiestrogênica ou toxicidade nos estágios embrionários (implantação, fertilização ou organogênese), sem mortalidade fetal.

O epicatequina, um composto isolado da fração hidroalcoólica de *Combretum leprosum* é conhecido principalmente por suas propriedades antioxidantes e vários estudos avaliaram o uso desta substância no tratamento de doenças cardiovasculares e como prevenção de câncer. A possível ação antinociceptiva do epicatequina foi demonstrada, uma vez que tem a capacidade de bloquear os canais de sódio, estruturas que estão intimamente ligadas à ativação de fibras sensoriais. (LOPES ET AL. 2012).

Com base nos resultados no estudo de Silva et al. (2015) destaca-se que o composto estudado lupane que é isolado a partir de *C. leprosum* tem citotoxicidade moderada, não induz a produção de TNF- α e IL-10 e não atua em topoisomerasas humanas.

Conclusão

Este trabalho reforça a necessidade de se ter um conhecimento maior sobre as propriedades químicas dos extratos que são utilizados



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

popularmente para tratar várias patologias sem um conhecimento certo sobre as propriedades químicas e seus efeitos.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Toxicidade

Referências

AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, 324 Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.

AJASA, A. M. O. et al. Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of 327 Nigeria. **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 67–71, 2004.

BORGES, C. S. et al. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, n. 3, p. 15-20, 2011.

HUKWUJEKWU, J. C.; VAN STADEN, J. Cytotoxic and genotoxic effects of water extract 357 of *Distephanus angulifolius* on *Allium cepa* Linn. **South African Journal of Botany**, v. 92, 358 p. 147–150, 2014.

DAMASCENO, M. M.; SOUTO, J. S.; SOUTO, P. C. Etnoconhecimento de espécies 361 forrageiras no semi-árido da Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental**, v. 7, n. 3, p. 219-228, 362 2010.

DE LIMA, Érica Ribeiro et al. AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO E TRITERPENÓLICO LUPANO OBTIDOS DE *COMBRETUM LEPROSUM* CONTRA MICROORGANISMOS. **SABER CIENTÍFICO**, v. 3, n. 1, p. 53-69, 2011.

CARITÁ, R.; MARIN MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722–725, 2008.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. DE; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, 2004. p. 519-535.

LUZ, A.C et al. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 4, p.635-642, 2012.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de 431 estudos multidisciplinares. **Química Nova**, vol.25, n.3, pp.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

429-438, 2002

LOPES L.S.; MARQUES R.B.; FERNANDES H.B.; PEREIRA S.S.; AYRES M.C.; CHAVES M.H.; ALMEIDA F.R.; Mechanisms of antinociceptive action of (-)-epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart. & Eic. in rodents. **Journal of Biomedical Science**. 19: 68-73, 2012.

PEREIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. C.; BARROSO COELHO, L. C. B.; SILVA, M. D.; Insights on Pharmacological Properties of *Combretum leprosum* Mart. **Biotechnology Journal International**. Nº17(VOL.3): PAG.1-13, 2017.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

TEMAS TRANSVERSAIS



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Prospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico e tratamento do Alzheimer

Higor Raniely Pereira de Oliveira ¹, Bruna Layra Silva ¹, Breyson Felipe Oliveira Lima Lucas Balbino de Sousa Veras¹, Mizael Araujo Lima¹, Keyla Velucya Leal Pereira¹, Aldenora Maria Ximenes Rodrigues²¹³

¹Graduandos de Biomedicina da Faculdade Uninassau, Teresina-PI, Brasil. higor_oliver996@hotmail.com; ³ Doutoranda em Biotecnologia – Universidade federal do Piauí – Renorbio, Teresina-PI, Brasil

Introdução

O crescimento gradativo de tecnologias permitiu ao homem novas maneiras de realizar procedimentos e transformar a matéria a fim de atender as suas necessidades, e esta prática torna-se tão antiga quanto à própria humanidade (SANTOS et al., 2014). A prospecção tecnológica é um meio de mapear o desenvolvimento científico e tecnológico utilizando informações de patentes e obras, e sua relevância é de grande influência na indústria, economia, identificação de inovações e conhecimento científico de determinada área (AMPARO et al., 2012). Essa ferramenta constitui-se de grande interesse para o mapeamento de diversos fatores, inclusive do diagnóstico e tratamento de doenças, como o Alzheimer (DA), doença advinda de alterações neurológicas de caráter crônico progressivo e irreversível, que na maioria dos casos se apresenta déficit de memória e cognitivo (ZHAO, 2012).

A (DA) é mais observada em pessoas idosas, levando a morte de neurônios ocasionando uma redução em volume do cérebro, inclusive do córtex e do hipocampo, bloqueando a capacidade da assimilação de memórias recentes e comprometendo a capacidade funcional dos portadores. Esta patologia encontra-se disseminada no Brasil e no mundo, de modo que somente em 2012 havia 35,5 milhões de portadores de (DA) no mundo, e cerca de 65,7 milhões até 2030 (COUTINHO et al., 2012). Assim, torna-se um evidente problema de saúde pública, com a capacidade de se tornar a doença do futuro, deste modo, é de importância o rastreamento dos avanços científicos e tecnológicos para a compreensão e perspectivas do diagnóstico e tratamento do Alzheimer no Brasil e no mundo.

O presente estudo objetivou quantificar e analisar através de uma prospecção tecnológica os avanços tecnológicos industriais aplicados ao diagnóstico e tratamento do Alzheimer.

Materiais e métodos

As buscas para a confecção da atual prospecção se realizou com base nos pedidos de patentes depositados no Banco de Patentes Latino-americanas



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

(LATIPAT), no banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI), no European Patent Office (EPO), no World Intellectual Property Organization (WIPO) e no United States Patent and Trademark Office (USPTO), no ano de 2017, utilizando os descritores “Inovação tecnológica”, “Tratamento do Alzheimer” e “Diagnóstico do Alzheimer” em inglês e/ou português e que datavam de 2010 a 2017. O termo em inglês foi utilizado para as bases internacionais, enquanto que os termos em português foram utilizados para a busca de documentos em base nacional, sendo considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no título e/ou resumo. Sendo descartados documentos duplicados. A análise dos documentos consistiu na avaliação da distribuição de patentes por base tecnológica e por Classificação Internacional de Patentes (CIP), A61k.

Resultados e discussão

Primeiramente, foi utilizado o descritor “inovação tecnológica” para que, em primeira instância, fosse analisada a quantificação de depositados que se restringiam aos avanços tecnológicos. Deste modo, a base tecnológica que obteve maiores resultados foi a (EPO), com 349 documentos encontrados (**Tabela 1**).

Tabela 2- depósitos por descritores nas bases tecnológicas, de 2010 a 2017.

| DESCRITOR | LATIPAT | INPI | EPO | WIPO | USPTO |
|----------------------|---------|------|-----|------|-------|
| Inovação Tecnológica | 0 | 2 | 349 | 290 | 13 |

Fonte: Autores (2017).

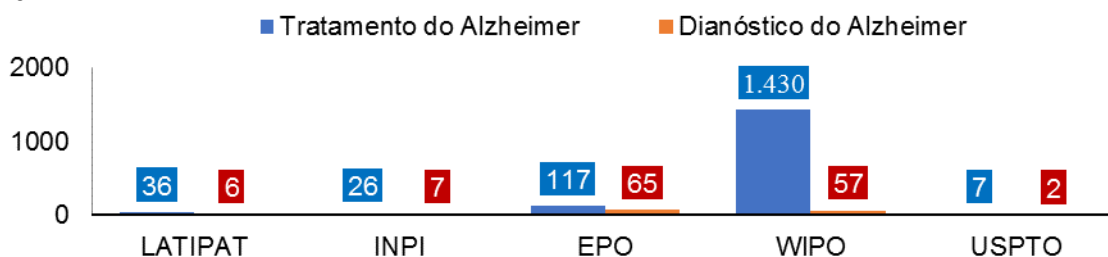
As buscas consistiram com o descritor de modo isolado e após a análise dos títulos e resumos dos documentos para classificar aquelas que de fato forneciam em seu conteúdo informacional as inovações tecnológicas voltadas ao Alzheimer, e os números de estudos fidedignos que integram este estudo diminuiriam consideravelmente. A literatura sugere que são existentes estudos com inovações tecnológicas, mas somente uma pequena quantidade é aplicada ao Alzheimer. Porém, quando utilizado os termos associados, os resultados foram maiores e mais fidedignos sendo referente ao Alzheimer, e embora necessariamente não possuíssem o termo avanço no seu título, o estudo trazia algo novo dentro do diagnóstico ou tratamento da (DA). Os documentos encontrados com os descritores “Tratamento do Alzheimer” e “Diagnóstico do Alzheimer” foram utilizados para termo de comparação e a compreensão de qual vertente mais se avança (**Gráfico 1**).



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Gráfico 1- Comparação entre avanços no diagnóstico e tratamento do Alzheimer, de 2010 a 2017

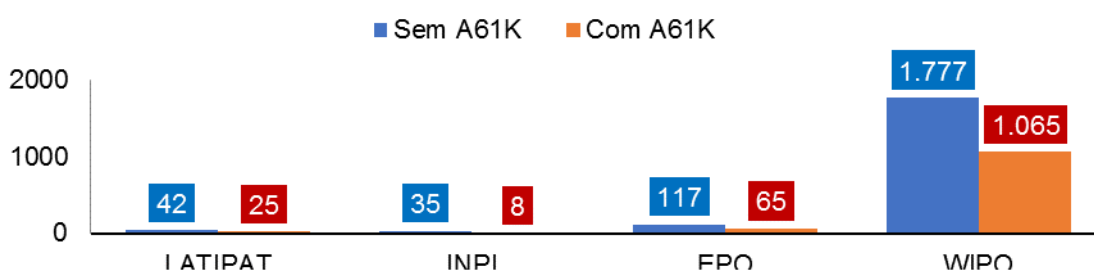


Fonte: Autores (2017).

Após a análise dos depositados com os descritores acima, foi observado que embora o diagnóstico da (DA) seja necessário, atualmente, o que mais avança é o tratamento para esta patologia. De modo que, em todas as bases tecnológicas o tratamento do Alzheimer manteve-se em maiores quantidades, sendo que, de 2.407 documentos totalizados com as três palavras-chave, 1.616 correspondiam ao tratamento do Alzheimer, representando (67,13%) do resultado total.

A primeira busca ocorreu sem a utilização previa da avaliação de Classificação Internacional de Patentes (CIP), e depois foram classificados com o (CIP) para comparação de quantos dos depositados fidedignamente eram destinados principalmente para produtos com atividade terapêutica à área da saúde (**Tabela 2**).

Tabela 2- classificação de depósitos por (CIP), de 2010 a 2017.



Fonte: Autores (2017).

Quando as buscas foram refinadas pela classificação (CIP) o número de depósitos foi reduzido em todas as bases tecnológicas, porém, os resultados encontram-se satisfatório para o numero inicial das buscas. Na base tecnológica LATIPAT dos 42 produtos encontrados com o descritor “Tratamento do Alzheimer” e “Diagnóstico do Alzheimer” 16 eram redigidos em português. Na INPI todos eram redigidos em português, sendo 15 produtos depositados por brasileiros. Já na USPTO todos os depositados eram redigidos



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

em inglês e cerca de (50%) dos achados com o descritor “Tratamento do Alzheimer” eram acompanhados do diagnóstico do Alzheimer.

Dentre os documentos analisados foi encontrado um depósito na (INPI) de Prioridade Unionista dos Estados Unidos (US) onde era utilizado um método inovador para o tratamento da doença de Alzheimer utilizando compostos derivados de *6-estradiol* substituído, que é um hormônio sexual e esteroide. E na (EPO) um documento depositado pelo (US), intitulado de “Diagnostic test for alzheimer's disease based on identification of a proteolytic pathway”, Um método para detectar níveis circulantes de péptidos beta amilóides em um indivíduo por administração de um ou mais inibidores de uma via proteolítica extracelular no sangue e detecção dos péptidos beta amilóides no sangue ou uma fração no paciente. Estes documentos revelam os avanços no diagnóstico e tratamento do Alzheimer.

Conclusão

De acordo com as bases consultadas, foi possível observar que as inovações tecnológicas aplicadas ao diagnóstico e tratamento da (DA) encontram-se em ascensão, principalmente quanto ao tratamento. A (EPO) possui a maior quantidade em achados referente aos avanços tecnológico e diagnóstico da (DA), entretanto, a WIPO lidera em depositados com o descritor “Tratamento do Alzheimer”. De 1.971 depósitos analisados nas cinco bases tecnológicas, 1.163 destes foram classificados como A61k. E embora não sendo um dos países com maiores investimentos em pesquisas, o Brasil possui quantidade moderada de publicações e depósitos relacionados ao Alzheimer.

Palavras-Chave

Inovação tecnológica; Tratamento do Alzheimer; Diagnóstico do Alzheimer.

Referências

AMPARO, K.K.S.; RIBEIRO, M.C.O.; GUARIEIRO, L.L.N. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. **Perspectivas Em Ciência Da Informação**. v. 17, p. 195-209, 2012.

COUTINHO, E. S. F., & LAKS, J. Saúde mental do idoso no Brasil: a relevância da pesquisa epidemiológica. **Cad Saúde Pública**. v.28,n.3,p.412-12, 2012.

ENDECE LLC. Métodos para o tratamento da doença de Alzheimer utilizando compostos derivados de *6-estradiol* substituído. Disponível em



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

[<https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodigoPedido=1394116&SearchParameter=TRATAMENTO ALZHEIMER&Resumo=&Titulo=>] 2014.ZHANG YUESHENG [US]; YANG LU [US]; LI YUN [US]; BHATTACHARYA ARUP [US]. Diagnostic test for alzheimer's disease based on identification of a proteolytic pathway.Disponível em_[https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=2&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20170105&CC=WO&NR=2017004385A1&KC=A1#], 2017.

SANTOS, M. M. D; BOING, E; OLIVEIRA, Z. A. C. D; CREPALDI, M. A. Diagnóstico pré-natal de malformação incompatível com a vida: implicações psicológicas e possibilidades de intervenção. **Revista Psicologia e Saúde**, v. 6, n. 1,p. 64-73,2014.

ZHAO, Q.; TANG, X. C. Effects of huperzine A on an acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. **Eur J Pharmacol.**;v.455 (2-3):101-7. 2012.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Tratamento da leishmaniose e o uso terapêutico do extratos de *Casearia sylvestris* : uma prospecção tecnológica

Higor Raniely Pereira de Oliveira ¹, Bruna Layra Silva ¹, Breyson Felipe Oliveira Lima Lucas Balbino de Sousa Veras¹, Mizael Araujo Lima¹, Keyla Velucya Leal Pereira¹, Aldenora Maria Ximenes Rodrigues²

¹Graduandos de Biomedicina da Faculdade Uninassau, Teresina-PI, Brasil.
hgor_oliver996@hotmail.com; ³ Doutoranda em Biotecnologia – Universidade federal do Piauí – Renorbio, Teresina-PI, Brasil.

Introdução

O Brasil é o país com maior predomínio de casos de Leishmaniose no continente americano, há registro em todas as regiões, sendo mais prevalentes as regiões Norte, ¹⁴Nordeste e Centro-Oeste como regiões endêmicas (BATISTA et al., 2014). A transmissão ocorrer através do mosquito da família dos flebotomíneos que albergam os protozoários do gênero *Leishmania*, sendo a Leishmanioses classificada como uma doença tropical, encontrada principalmente em países em desenvolvimento, afetando principalmente as comunidades mais humildes como menos acesso aos serviços de saúde. O nordeste do Brasil é a região com maior índice, geralmente nas periferias das zonas urbanas. (LISBOA et al., 2015).

O tratamento da Leishmaniose Visceral exige o emprego de um esquema terapêutico de ampla eficácia, porém o pequeno número de opções terapêuticas, e seu tratamento é limitado, pela alta toxicidade e alto custo ou a resistência do protozoário, a droga de primeira escolha para o tratamento são os antimoniais pentavalentes, e a droga de segunda linha a anfotericina B. os pacientes confirmados devem ser acompanhados durante toda a evolução clínica, no intuito de reduzir a gravidade ou toxicidade do medicamento (CALDAS et al., 2013).

Os extratos de *Casearia sylvestris* pode ser uma alternativa promissora com atividade leishmanicida (Antinarell et al., 2015).

Este trabalho tem por finalidade relacionar as pesquisas já desenvolvidas e patenteadas, referentes ao Tratamento da Leishmaniose e o uso terapêutico do Extratos de *Casearia sylvestris*, no sentido de analisar a participação do País nos depósitos de pedidos de patentes em bancos de inovação e tecnologia nacional e internacionais nos últimos anos.

Metodologia

A prospecção foi realizada com base nos pedidos de patentes depositados no European Patent Office (EPO), na World Intellectual Property Organization (WIPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO), no banco de



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI) e no Banco de Patentes Latino americanas (LATIPAT). A pesquisa foi realizada em julho de 2017 e foram utilizadas como palavras-chave os termos “Leishmaniose visceral”, “*Casearia sylvestris*” e “tratamento”. sendo considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no título e/ou resumo. Foram quantificados os pedidos de patente existentes entre 2010a 2017.

Resultados e Discussões

Primeiramente, foi avaliado o número de pedidos de patentes depositados por base de dados de acordo com os descritores individualmente (**tabela 1**). Os resultados demonstram que a base WIPO apresenta o maior número de patentes depositadas até o momento, seguido pela INIPI. As bases EPO,USPTO e LATIPAT não apresentaram número de patentes depositadas para o descritor “Leishmaniose visceral” e “ *Casearia sylvestris*”.

Tabela 1 – Número de patentes depositadas por base de dados envolvendo os termos utilizados.

| PALAVRAS-CHAVE | EPO | WIPO | | LATIPAT | |
|----------------------------|-----|---------|-------|---------|--------|
| | | USPTO | INPI | | |
| Leishmaniose visceral | 0 | 179 | 0 | 23 | 0 |
| <i>Casearia sylvestris</i> | 0 | 10 | 0 | 3 | 0 |
| Tratamento | 2 | 100.218 | 50625 | 1045 | 31.524 |

Fonte: autoria própria

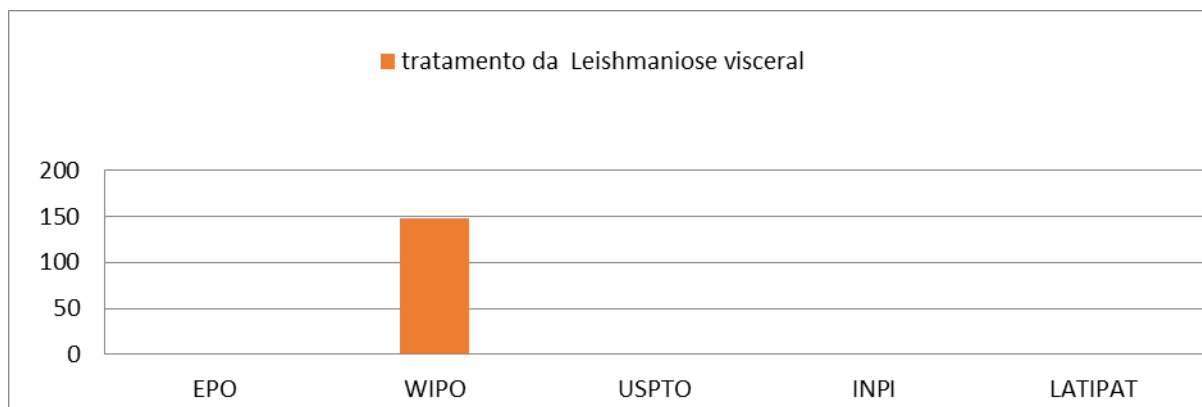
Considerando as informações anteriores, foi feita uma busca com os descritores de maneira associada para as mesmas bases de dados (**gráfico 1**). Os resultados demonstram que a base de dados WIPO apresentou números significativos de patentes depositadas até o momento (147), esta foi a única que apresentou resultados para os termos associados “Tratamento de Leishmaniose Visceral”. A associação desses termos não gerou resultado em nenhuma das bases A análise dos documentos consistiu na avaliação da distribuição de patentes por base tecnológica e por Classificação Internacional de Patentes (CIP), A61k. Resultando em 42 depósito



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Gráfico 1- Número de patentes depositadas por base de dados envolvendo termos associados.

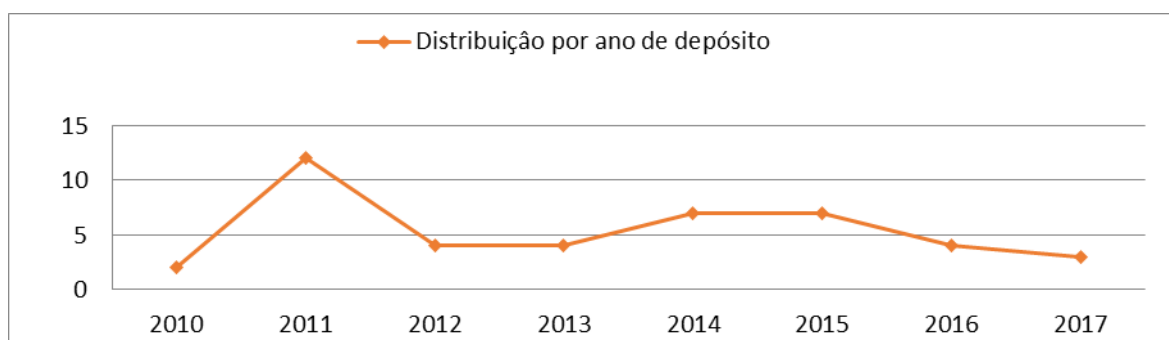


Fonte: autoria própria

4.1 Distribuição de patentes por ano de depósito

Utilizando-se os termos inter-relacionados “Tratamento” e Leishmaniose visceral na base de dados WIPO, verificou-se (gráfico 2) que Houve uma diminuição do numero de patentes depositadas no anos de 2017 (3) e 2016 (4) em relação aos anos de 2015 e 2014 ambos (7) e os anos 2013 e 2012 (2) O o ano de 2011 aprestou o maior numero de patentes depositadas (12) e 2010 o menor (2).

Gráfico 2- Distribuição por ano de depósito.



Fonte: autoria própria

5. Conclusão

Através destes estudos de prospecção tecnológica, foi constatado que o depósito de patentes envolvendo a utilização “Tratamento” e Leishmaniose visceral atingiu o número máximo de patentes em 2011, apresentando resultados apenas para a Base WIPO. A pesquisa foi refinada com a CIP A61k,



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

não observou-se trabalhos relacionados *Casearia sylvestris* no tratamento da Leishmaniose visceral.

Referências

ANTINARELLI, M.R.L., PINTO, C.N., SCIO, E., COIMBRA, E.S. *Antileishmanial activity of some Brazilian plants, with particular reference to Casearia sylvestris*. Anais da Academia Brasileira de Ciências. v.87 n.2, p.733-742, 2015.

BATISTA, F.M.A., MACHADO, F.F.O.A., SILVA, J.M.O., MITTMANN, J., BARJA, P.R., SIMION, A.R. *Leishmaniose: perfil epidemiológico dos casos notificados no estado do Piauí entre 2007 e 2011* **Revista Univap**. v. 20, n. 35, 2014.

CALDAS, A.J.M., LISBÔA, L.L.C., SILVA, P.F., COUTINHO, N.P.S., SILVA, T.C. Perfil das crianças com leishmaniose visceral que evoluíram para óbito, falha terapêutica e recidiva em hospital de São Luís, Maranhão **Revista de Pesquisa em Saúde**, v.14, n.2, p.91-95, 2013. 14(2): 91-95, 2013.

LISBOA, A.R., LEITE, F.C., LEITE, F.C., SOUSA, J.B.G. *Análise epidemiológica de leishmaniose visceral em cidades do sertão paraibano no período de 2010 a 2014* **Revista FAMA de Ciências da Saúde**. v. 1, n. 2, p. 27-39, 2015.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Diagnóstico de infecção por Zika Vírus e microcefalia em gestantes: uma prospecção tecnológica

Keyla Velucya Leal Pereira¹⁵, Breyson Felipe Oliveira Lima¹, Bruna Layra Silva¹, Higor Raniely Pereira de Oliveira¹, Lucas Balbino de Sousa Veras¹, Mizaél Araújo Lima¹, Aldenora Maria Ximenes Rodrigues¹⁶

¹ Graduandos de Biomedicina da Faculdade Uninassau, Teresina – PI, Brasil. keylaleal2014@outlook.com

¹ Doutoranda em Biotecnologia – Universidade Federal do Piauí – Renorbio, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus de RNA pertencente à família Flaviviridae, tendo como vetor o mosquito *Aedes aegypti*, sendo também o principal transmissor da dengue, chikungunya e febre amarela. Apresenta-se clinicamente como uma síndrome febril aguda e surgimento de exantema pelo corpo. O primeiro caso foi notificado na Nigéria, em 1954. Em 2007, ocorreu a primeira epidemia fora do continente africano. Ao Brasil, o vírus chegou em 2013, mas foi a partir de 2015 que ganhou destaque pela possibilidade de estar associado à Microcefalia. Em 2016, estudos comprovaram a presença do ZIKV em 31 países na Américas, na África e na região ocidental do Pacífico (HERLING et al., 2016).

No Brasil, segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde Brasileiro (2017), foram notificados 13.835 casos suspeitos de alterações no crescimento e desenvolvimento possivelmente relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas. Do total, 5.892 foram descartados, 2.753 foram confirmados e 141 foram classificados como prováveis para relação com infecção congênita durante a gestação.

O diagnóstico tem sido realizado por PCR-RT que busca a presença do RNA viral em amostras biológicas ou através da detecção sorológica por ELISA ou imunofluorescência, o que muitas vezes se torna inviável pelo curto período de tempo que a carga viral fica circulante no sangue (LONGA et al., 2017).

A Prospecção tecnológica é um meio sistemático muito importante, pois pode ser aplicada no mapeamento de desenvolvimento de projetos científicos e tecnológicos, influenciando positivamente a indústria, a economia e a sociedade (AMPARO et al., 2012).

Este trabalho tem como objetivo quantificar e analisar através de uma prospecção tecnológica estudos desenvolvidos e patenteados, relacionados ao diagnóstico de infecção por Zika Vírus, analisando a participação do Brasil quanto a depósitos de pedidos de patentes referentes ao tema em bancos de inovação e tecnologia nacional e internacionais nos últimos anos.

Metodologia

As buscas para realização da presente prospecção foram feitas com base nos pedidos de depósitos de patentes no European Patent Office (EPO), na World Intellectual Property Organization (WIPO), no United States Patent



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

and Trademark Office (USPTO), no Banco de Patentes Latinoamericanas (LATIPAT) e no banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI). A pesquisa foi realizada em julho de 2017 e para isso foram utilizados os seguintes termos como descritores, bem como a associação entre eles: “Diagnóstico”, “Infecção por Flaviviridae” e “Microcefalia”. Para a busca nos bancos de dados internacionais (EPO, WIPO, e USPTO) utilizaram-se os termos em inglês, no LATIPAT em espanhol e no banco nacional (INPI), em português, sendo que a seleção dos documentos foi realizada por meio dos termos encontrados no título e/ou resumo. Foram quantificados os pedidos de patente existentes entre 2007 a 2017. Na associação dos termos também foram analisadas as patentes por país de depósito e Classificação Internacional de Patentes (CIP), A61K.

Resultados e Discussão

Inicialmente, foi quantificado o número de pedidos de depósitos de patentes por base de dados utilizando os descritores de forma individual. Para o descritor “Diagnóstico”, os resultados obtidos mostram que a base que apresenta o maior número de patentes depositadas de 2007 a 2017 é a EPO, seguida pela WIPO e pela LATIPAT. As bases INPI e USPTO apresentaram um número de patentes depositadas bem inferior aos demais bancos de dados para o mesmo descritor. Para o descritor “Infecção por Flaviviridae”, as bases de dados WIPO e EPO obtiveram resultados maiores quando comparadas as demais. Por último, para o descritor “Microcefalia”, nas bases de dados INPI, USPTO e LATIPAT não foram encontrados nenhum pedido de depósito de patente (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Número de depósitos de patentes por banco de dados envolvendo os descritores individuais, de 2007 a 2017.

| DESCRITOR | INPI | LATIPAT | WIPO | EPO | USPTO |
|---------------------------|------|---------|--------|--------|-------|
| Diagnóstico | 1645 | 6613 | 73.766 | 88.103 | 1670 |
| Infecção por Flaviviridae | 3 | 21 | 355 | 191 | 3 |
| Microcefalia | 0 | 0 | 85 | 321 | 0 |

Fonte: Autoria Própria (2017)

Baseado nos resultados anteriores e para os mesmos bancos de dados foi realizada uma busca com os descritores associados, analisando também a Classificação Internacional de Patentes (CIP). Os resultados encontrados para a associação “Diagnóstico e Infecção por Flaviviridae” demonstram que a base de dados WIPO e EPO apresentam patentes depositadas até o momento, 10 e 3 respectivamente. As demais bases não apresentaram nenhum resultado para o mesmo termo. Para o termo “Diagnóstico e Microcefalia”, a base EPO apresentou 2 patentes depositadas e a WIPO, apenas 1 depósito. O confronto dos termos “Infecção por Flaviviridae e Microcefalia” não gerou resultado em nenhuma das bases. Do total de 11 patentes da WIPO, 3 apresentam categoria A61K, enquanto na EPO, das 5 encontradas, 3 se enquadram na mesma categoria (**Gráfico 1**). A categoria A61K compreende patentes que tratam sobre preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas (INPI, 2017b).

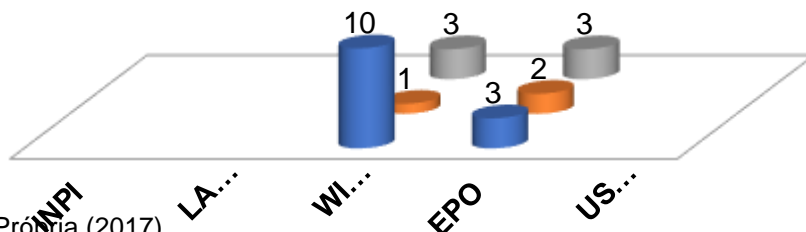


II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Gráfico 1 - Número de depósitos de patentes por banco de dados envolvendo descritores associados e Classificação Internacional de Patentes (CIP), de 2017 a 2017.

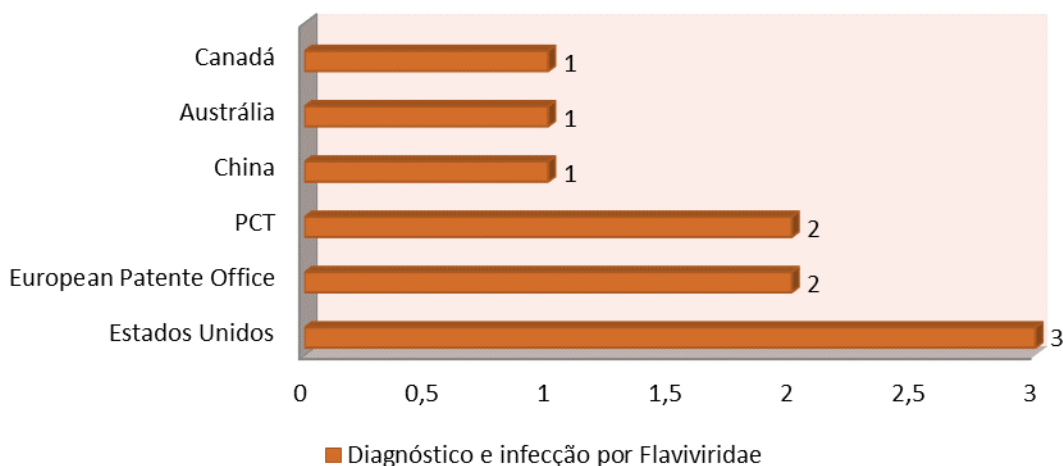
■ Diagnóstico e Infecção por Flaviviridae ■ Diagnóstico e Microcefalia ■ A61K



Fonte: Autoria Própria (2017)

Analisando as publicações de patentes por país para o termo associado “Diagnóstico e Infecção por Flaviviridae” e dentro do recorte temporal especificado, os resultados obtidos mostram que os Estados Unidos lideram com três publicações, em seguida European Patent Office e PCT cada um com duas e China, Austrália e Canadá com uma publicação cada (**Gráfico 2**). Os dados quantificados sugerem que os Estados Unidos investem mais tanto em pesquisas quanto em depósitos de patentes, no entanto, a diferença entre os outros países não é tão grande, mostrando que o interesse em investir em pesquisas por parte deles também existe.

Gráfico 2 – Depósitos de patentes por país, de 2007 a 2017.



Fonte: Autoria Própria (2017)

Conclusão

Através dos estudos realizados e dos resultados obtidos foi possível observar que o número de depósitos de patentes pelos termos individuais é maior quando comparados com a quantidade de depósitos com a associação dos mesmos termos. O total de depósitos para o diagnóstico da infecção por Flaviviridae e para o diagnóstico da microcefalia ainda é menor nos cinco bancos de dados pesquisados. O país com mais depósitos de patentes é os Estados Unidos, o que sugere maior investimento e interesse por pesquisas e proteção das mesmas. Pode-se ressaltar ainda, que apesar do número significativo de casos no Brasil mencionado anteriormente, o país não possui



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

nenhuma patente publicada nas bases de dados, ficando clara a importância de incentivos nessa área, já que o diagnóstico é o principal método confirmatório da infecção.

Palavras-chave: Diagnóstico. Infecção por Flaviviridae. Microcefalia.

Referências

AMPARO, K.K.S.; RIBEIRO, M.C.O.; GUARIEIRO, L.L.N. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. **Perspectivas Em Ciência Da Informação**. v. 17, p. 195-209, 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Monitoramento integrado de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo vírus zika e outras etiologias infecciosas, até a Semana Epidemiológica 20/2017**

Volume 48 n° 18, 2017. Disponível em:

<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/boletim-epidemiologico>>. Acessado em 22 de julho de 2017.

HERLING, J. D.; VIEIRA, R. G.; BECKER, T. O. F.; SOUZA, V. A. I.; CORTELA, D. C. B. Infecção por zika vírus e nascimento de crianças com microcefalia: revisão de literatura. **Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina - Número 5**. Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT (Cáceres). 2016 jan.-jul. (p. 59-75).

Instituto Nacional de Propriedade Industrial (**INPI**). Classificação- Patentes. Disponível em: <http://www.inpi.gov.br/portal/artigo/classificacao_patentes>. Acessado em 22 de julho de 2017b.

LONGA, L.C.D.; LEITE, L.S.; CARVALHO, M. da S. Levantamento de cenários de proteções e pesquisa e desenvolvimento para zika referentes à diagnóstico, tratamento e prevenção. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 10, n. 2, p.273-284, abr./jun. 2017.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Bioprospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico do Papiloma Vírus Humano (HPV) e câncer do colo do útero

Keyla Velucya Leal Pereira¹⁷, Breyson Felipe Oliveira Lima¹, Bruna Layra Silva¹, Higor Raniely Pereira de Oliveira¹, Lucas Balbino de Sousa Veras¹, Mizael Araújo Lima¹, Aldenora Maria Ximenes Rodrigues²

¹ Graduandos de Biomedicina da Faculdade Uninassau, Teresina – PI, Brasil. keylaleal2014@outlook.com;

²Doutoranda em Biotecnologia – Universidade Federal do Piauí – Renorbio, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

O Papiloma Vírus Humano (HPV) é um vírus da família Papillomaviridae, É um vírus transmitido sexualmente sendo considerado um problema de saúde pública. São reconhecidos mais de 100 tipos de vírus, 45 deles podem infectar o trato genital. Baseado no seu potencial oncogênico, é dividido em dois grupos: baixo e alto risco (KENNE, 2014). O câncer do colo do útero está relacionado principalmente com os tipos 16 e 18 que são responsáveis por aproximadamente 70% dos casos de câncer cervical uterino no mundo (SANTOS, 2013). A infecção ocorre quando há uma penetração do vírus através de lesões nas células epiteliais do colo do útero, liberando seu material genético e iniciando um processo de replicação (LIBERA, 2016).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (2017), estima-se o surgimento de 16.340 novos casos de câncer do colo uterino com 5.430 mortes. É o terceiro tumor mais frequente na população feminina e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil.

O diagnóstico do HPV pode ser realizado por métodos clínicos e moleculares. O diagnóstico clínico (Papanicolau) é uma técnica de triagem (não confirmatória), que busca células já malignizadas ou em processo de malignização. O diagnóstico através de técnicas moleculares é tido como confirmatório caracterizado pela detecção da carga (DNA) viral do HPV, permitindo a identificação específica do tipo do vírus (SÁ, 2016).

Este trabalho tem como objetivo quantificar e analisar através de uma bioprospecção tecnológica estudos desenvolvidos e patenteados, relacionados ao diagnóstico do Papiloma Vírus Humano (HPV), analisando a participação do Brasil quanto à pesquisa e depósitos de pedidos de patentes referentes ao tema em bancos de inovação e tecnologia nacional e internacionais nos últimos anos.

Metodologia

A seleção de dados para realização da atual bioprospecção foi feita com base nos pedidos de depósitos de patentes no European Patent Office (EPO), na World Intellectual Property Organization (WIPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO), no Banco de Patentes Latinoamericanas



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

(LATIPAT) e no banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI). A coleta de dados foi realizada em julho de 2017 e para isso foram utilizados os seguintes descritores, bem como a associação entre eles: “Diagnóstico”, “HPV” e “Câncer do colo do útero”. O descritor “HPV” foi usado tanto na base nacional quanto nas bases internacionais sem nenhuma alteração e o descritor “Diagnóstico” foi analisado de forma geral. Para a busca nos bancos de dados internacionais (EPO, WIPO, e USPTO) utilizaram-se os termos em inglês, no LATIPAT em espanhol e no banco nacional (INPI), em português, sendo que a escolha das patentes foi realizada por meio dos termos encontrados no título e/ou resumo. Foram quantificados os pedidos de patente existentes entre 2010 a 2017. Na associação dos termos também foram analisadas as patentes por ano de depósito, por país de depósito e Classificação Internacional de Patentes (CIP), A61K, em que a seção A está relacionada com as necessidades humanas e preparações para finalidades médicas.

Resultados e Discussão

A princípio, foi feita a quantificação do número de pedidos de depósitos de patentes por base de dados utilizando os descritores individualmente. Para o descritor “Diagnóstico”, os resultados obtidos mostram que a base que apresenta o maior número de patentes depositadas de 2010 a 2017 é a WIPO, seguida pela EPO e pela LATIPAT. Para o mesmo descritor, as bases INPI e USPTO apresentaram um número de patentes depositadas significativamente inferior aos bancos de dados WIPO e EPO. Para os descritores “HPV” e “Câncer do colo do útero” separadamente, as bases de dados INPI, USPTO e LATIPAT obtiveram resultados menores em relação às demais, evidenciando poucos investimentos nesse sentido (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Número de depósitos de patentes por banco de dados envolvendo os descritores individuais, de 2010 a 2017.

| DESCRITOR | INPI | LATIPAT | WIPO | EPO | USPTO |
|-------------------------|------|---------|--------|--------|-------|
| Diagnóstico | 1217 | 4635 | 61.416 | 51.466 | 2.178 |
| HPV | 38 | 97 | 1857 | 1536 | 61 |
| Câncer do colo do útero | 5 | 17 | 156 | 138 | 2 |

Fonte: Autoria Própria (2017)

Baseado nos resultados anteriores e para os mesmos bancos de dados foi realizada uma busca utilizando os descritores de forma associada, sendo quantificada também a Classificação Internacional de Patentes (CIP). Os resultados encontrados para a associação “Diagnóstico do HPV” demonstram que a base de dados WIPO (117) e EPO (68) apresentam uma maior quantidade de patentes depositadas até o momento. As bases INPI e LATIPAT

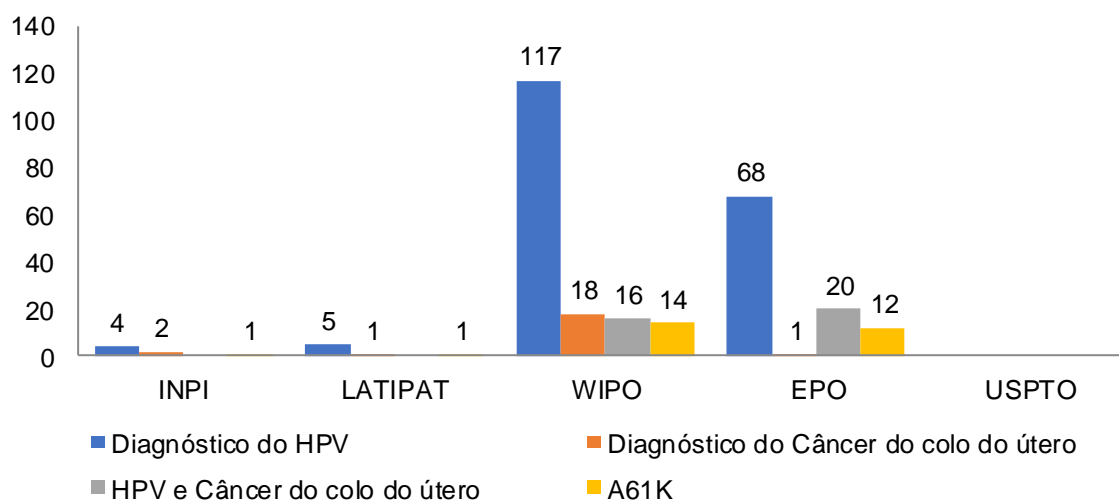


II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

apresentam como resultado, 4 e 5 respectivamente. Para a associação “Diagnóstico do Câncer do colo do útero”, a base WIPO apresentou 18 patentes depositadas, seguida pelo INPI com 2 e EPO e LATIPAT com 1 patente cada. Na associação “HPV e Câncer do colo do útero” apenas a EPO (20) e WIPO (16) mostraram resultados. A base USPTO não apresentou resultado para nenhuma das associações. Do total de 151 patentes da WIPO, 14 apresentam categoria A61K e na EPO, das 89 encontradas, 12 se enquadram na mesma categoria. Nas bases INPI e LATIPAT, do total de 6 encontradas em cada, ambas apresentam somente 1 patente classificada na categoria A61K. (**Gráfico 1**).

Gráfico 1 - Número de depósitos de patentes por banco de dados envolvendo descritores associados e Classificação Internacional de Patentes (CIP), de 2010 a 2017.



Fonte: Autoria Própria (2017).

Utilizando-se as associações dos termos “Diagnóstico do HPV” e “Diagnóstico do Câncer do colo do útero” nas bases de dados EPO, WIPO, INPI e LATIPAT os resultados obtidos mostram que do total de 216 patentes depositadas nessas bases, o ano de maior publicação foi 2010 com (40) depósitos, passando a (37) em 2011, (29) em 2012, (31) em 2013, (19) em 2014, (29) em 2015 e (22) em 2016. A partir do ano de 2016 houve uma redução significativa no número de depósitos com (9) em 2017 até o período da pesquisa (**Gráfico 2**).

Analisando as publicações de patentes por país para o termo associado “Diagnóstico do HPV” e dentro do recorte temporal 2010 a 2017, os resultados obtidos mostram que os Estados Unidos (26) é o país que mais publica e protege suas patentes, em seguida o Canadá com 7, China e Austrália com 5 cada um, Japão e Federação Russa com 3 cada, Espanha com 2 e com 1 publicação estão Portugal, Dinamarca, República da Coreia e México. (**Gráfico 3**). O Brasil não apresentou nenhuma patente publicada dentro do recorte temporal estabelecido. Apesar dos países analisados apresentarem publicações de patentes, percebe-se pela grande diferença entre dados obtidos

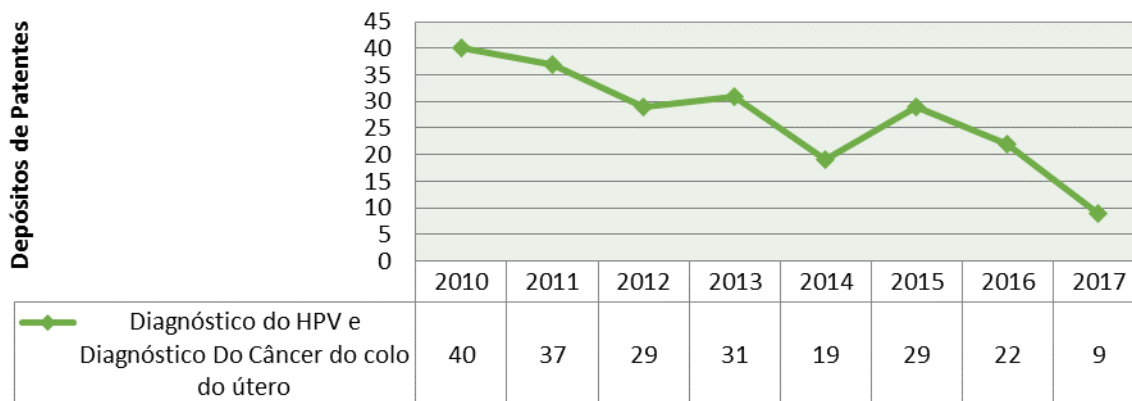


II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

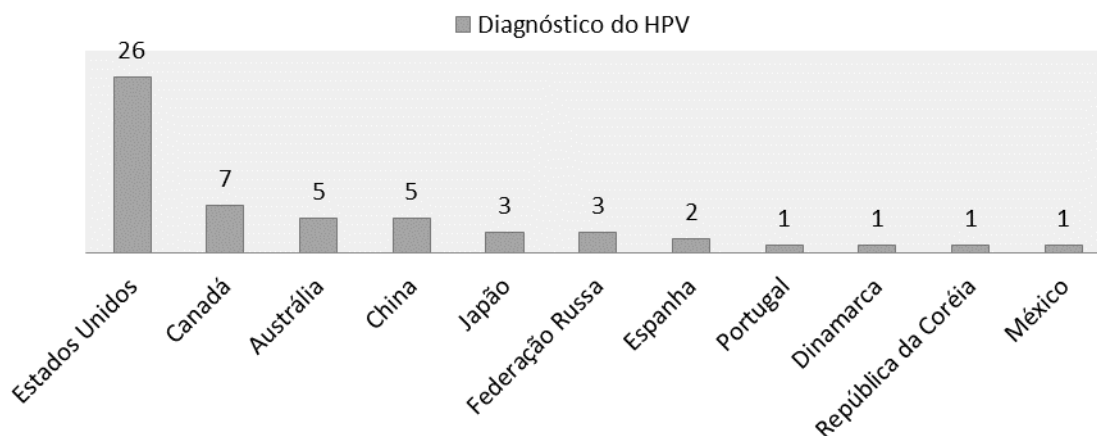
que os Estados Unidos ainda é o país com maior interesse e investimento em pesquisas e proteção das mesmas.

Gráfico 2 – Distribuição de patentes por ano de depósito nas bases EPO, WIPO, INPI e LATIPAT.



Fonte: Autoria Própria (2017).

Gráfico 3 – Depósitos de patentes por país, de 2010 a 2017.



Fonte: Autoria Própria (2017)

Conclusão

De acordo com os estudos realizados e dados quantificados nos cinco bancos de dados pesquisados foi possível determinar que o número de depósitos de patentes para o “Diagnóstico do HPV” e “Diagnóstico do Câncer do colo do útero” ainda é significativamente inferior em alguns bancos se comparado à gravidade da situação. O país com mais depósitos de patentes é os Estados Unidos, o que sugere maior investimento e interesse por pesquisas e proteção das mesmas. Diante do que foi abordado, conclui-se que o Brasil, apesar do alto número estimado de novos casos referido anteriormente, o país



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

possui poucas ou nenhuma patente publicada nas bases de dados, ficando evidente o pouco incentivo nessa área, já que o diagnóstico é o principal método confirmatório da infecção pelo HPV e da neoplasia.

Palavras-chave: Diagnóstico. HPV. Câncer do colo do útero.

Referências

Instituto Nacional do Câncer (**INCA**). Câncer do colo de útero [online].

Disponível em:

<http://www.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio.>

Acessado em 21 de Julho de 2017a.

KENNE, E. L.; GASSEN, M.; SANTOS, C. E.; REIS, L. N.; BULLÉ, D. J.;
RENNER, J. D. P. Diagnóstico molecular de HPV em amostras cérvico-vaginais
de mulheres que realizam o papanicolaou. **CINERGIS** - ISSN 2177-4005.
2014;15(4):201-206.

LIBERA, L. S.; ALVES, G. N.; SOUZA, H. G.; CARVALHO, M. A. Avaliação da
infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) em exames citopatológicos.
RBAC. 2016;48(2):138-43.

SÁ, R. O; SÁ, I. M. L. C.; JÚNIOR, A. L. G. Diagnóstico molecular do Papiloma
Vírus Humano (HPV): uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC** – ISSN:
2237-0722. São Cristóvão/SE – 2016. Vol. 6/n. 1/ p.2851-2860.

SANTOS, U. M.; SOUZA, S. B. Papanicolaou: diagnóstico precoce ou
prevenção do câncer cervical uterino? **Revista Baiana de Saúde Pública**.
v.37, n.4, p.941-951 out./dez. 2013.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Biomarcadores de desordens neurológicas comuns em idosos: uma prospecção tecnológica

Breyson Felipe Oliveira Lima¹, Keyla Velucya Leal Pereira¹, Bruna Layra Silva¹, Higor Raniely Pereira de Oliveira¹, Lucas Balbino de Sousa Veras¹, Mizaél Araújo Lima¹, Aldenora Maria Ximenes Rodrigues²

¹ Graduandos de Biomedicina da Faculdade Uninassau, Teresina – PI, Brasil. breysonfelipe@gmail.com

² Doutoranda em Biotecnologia – Universidade Federal do Piauí – Renorbio, Teresina – PI, Brasil.

Introdução

O crescimento da população idosa vem ocorrendo de modo acelerado em todo o mundo (PAVARINI, 2015), no Brasil, projeções indicam que a proporção de idosos pode atingir quase 15% em 2020 (IBGE, 2004). Associado ao envelhecimento populacional está o aumento na prevalência de doenças crônicas como as doenças neurológicas, dentre elas, a demência e o acidente vascular encefálico merecem atenção especial, pois estas provocam limitações que comprometem a qualidade de vida dos idosos (PAVARINI, 2008). A incidência de demência em idosos brasileiros alcança a taxa de 13,8 por 1000 habitantes/ano (REYS, 2006), é uma importante causa de morte nos Estados Unidos com mais de 71.000 óbitos por ano (PALECEK, 2010). As doenças cerebrovasculares são a terceira causa de óbito em países desenvolvidos, perdendo somente para outras doenças cardiovasculares e para o câncer, estatísticas mostram que é a primeira causa de óbito no Brasil (GAGLIARDI, 2001). Pessoas com demência e outras doenças neurológicas podem apresentar comprometimento funcional e cognitivo por um longo período antes da morte e também desenvolver disfagia, desnutrição, pneumonia e imobilidade, tornando-se parcial ou totalmente dependentes (MARTINS, 2012). Os biomarcadores são parâmetros biológicos objetivos, acessíveis e de fácil medição que se correlacionam com a presença ou com a gravidade da doença (GASSER, 2009), podem ser marcadores genéticos, proteicos, imagiológicos ou ainda testes olfativos ou do sono. Idealmente, espera-se que um biomarcador proteico reflita o processo degenerativo da doença, sendo validado por diagnóstico neuropatológico, e que apresente uma sensibilidade e especificidade para a diferenciação de outros quadros similares propiciando valores preditivos positivos consistentes (SCHLOSSMACHER, 2010).

Este trabalho tem por finalidade mapear as pesquisas já desenvolvidas e patenteadas, referentes aos biomarcadores de desordens neurológicas comuns em idosos, no sentido de analisar a participação do país nos depósitos de pedidos de patentes em bancos de inovação e tecnologia nacional e internacionais nos últimos anos.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Metodologia

A prospecção foi realizada com base nos pedidos de patentes depositados no European Patent Office (EPO), na World Intellectual Property Organization (WIPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO), no banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI) e no Banco de Patentes Latinoamericanas (LATIPAT). A pesquisa foi realizada em julho de 2017 e foram utilizadas como palavras-chave os termos “Biomarcadores”, “Desordens neurológicas” e “Neuropatologias”. Os termos em inglês foram utilizados para as bases internacionais, enquanto os termos em português foram utilizados para a busca de documentos em base nacional, sendo considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no título e/ou resumo. Foram quantificados os pedidos de patente existentes entre 2007 a 2017.

Resultados e Discussão

Primeiramente, foi avaliado o número de pedidos de patentes depositados por base de dados de acordo com os descritores individualmente (**Tabela 1**). Os resultados demonstram que a base WIPO apresenta o maior número de patentes depositadas até o momento, seguido pela EPO e pela LATIPAT de forma geral. As bases USPTO e INPI apresentaram um número de patentes depositadas significativamente inferior aos demais bancos de dados para o descritor “Biomarcadores”. Para o descritor “desordens neurológicas”, as bases de dados LATIPAT e INPI obtiveram resultados significativamente inferiores quando comparadas as demais. Por fim, as bases de dados INPI e LATIPAT trouxeram apenas 2 resultados para o descritor “neuropatologias”, enquanto a base USPTO não apresentou nenhum.

Tabela 1 – Número de patentes depositadas por base de dados envolvendo os termos utilizados.

| PALAVRAS-CHAVE | EPO | WIPO | USPTO | INPI | LATIPAT |
|------------------------|------------|-------------|--------------|-------------|----------------|
| Biomarcadores | 11,353 | 11,461 | 237 | 88 | 753 |
| Desordens neurológicas | 6,371 | 6,894 | 70 | 11 | 31 |
| Neuropatologias | 14 | 21 | 0 | 2 | 2 |

Fonte: Autoria Própria (2017)

Considerando as informações anteriores, foi feita uma busca com os descritores de maneira associada para as mesmas bases de dados (**Gráfico 1**). Os resultados demonstram que a base de dados WIPO apresenta o maior número de patentes depositadas até o momento (42), seguida pela base dados EPO (8), estas foram as únicas que apresentaram resultados para os termos associados “biomarcadores de desordens neurológicas”. O confronto dos termos “biomarcadores de neuropatologias” não gerou resultado em nenhuma das bases. Nenhuma das patentes encontradas na base de dados EPO se

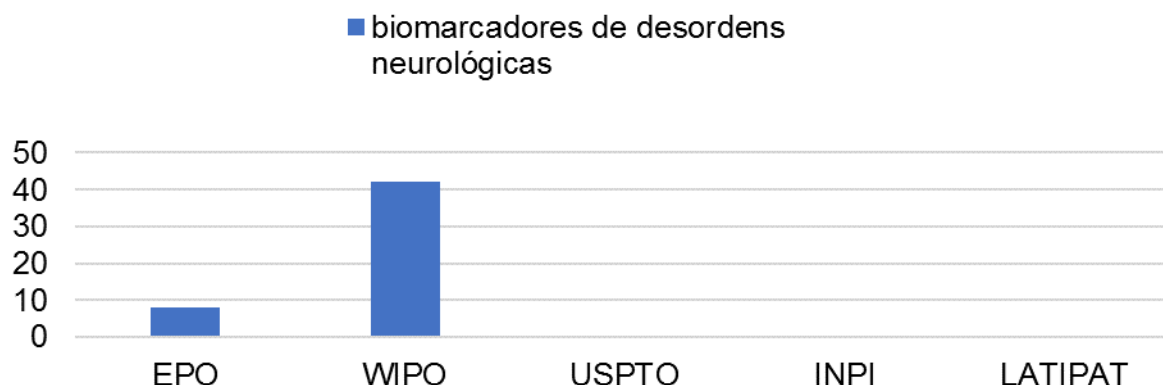


II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

enquadravam na categoria “A61K”, que trata de preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas, enquanto na base de dados WIPO constavam 4 pedidos de patentes na categoria.

Gráfico 1- Número de patentes depositadas por base de dados envolvendo termos associados.



Fonte: Autoria Própria (2017)

Utilizando-se o cruzamento dos termos “biomarcadores de desordens neurológicas” nas bases de dados EPO e WIPO, verificou-se (**Gráfico 2**) que existiu um aumento na quantidade de publicações a partir de 2013 (4), passando a (7) em 2014 e (12) em 2015. A partir de 2015 houve um declínio na quantidade de publicações, chegando a (9) em 2016 e (3) em 2017 até o período da pesquisa. Os pedidos de patente da categoria “A61K” datavam (2) em 2015, (1) em 2013 e (1) em 2010.

Gráfico 2- Distribuição por ano de depósito.



Fonte: Autoria Própria (2017)

Os Estados Unidos (US) foi o país com a maior quantidade de publicações (24), o que representa cerca de 57% do total de publicações para o recorte temporal delimitado e as palavras-chave confrontadas “biomarcadores de desordens neurológicas”. Em seguida vieram a Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WO) com 12 publicações, a Oficina Europeia de Patentes (EP) com 7, o Canadá (CA) com 5, a Austrália

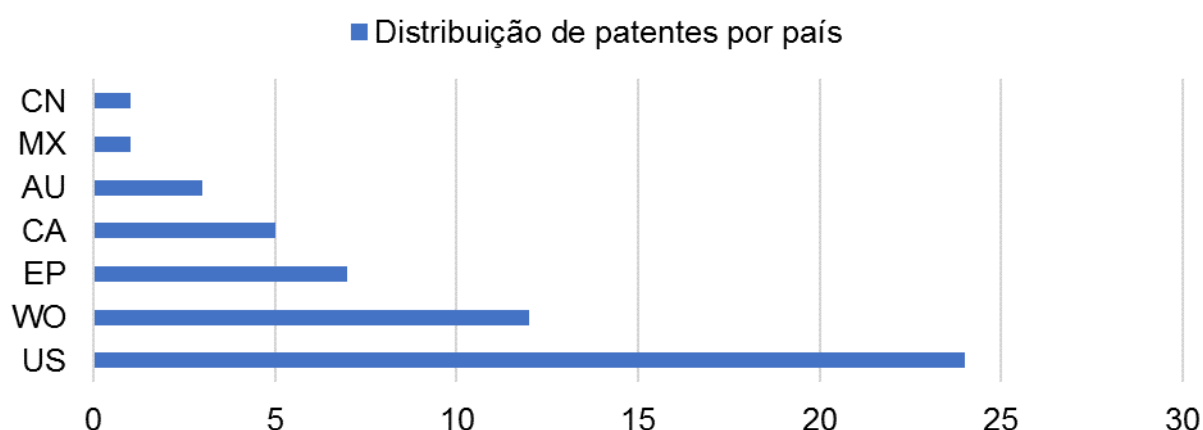


II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

(AU) com 3, o México (MX) e a China (CN) com 1 publicação (**Gráfico 3**). Os pedidos de patente da categoria “A61K” eram (2) dos US, (1) da EP e (1) da WO.

Gráfico 3 - Distribuição de patentes por país.



Fonte: Autoria Própria (2017)

Conclusão

Através destes estudos de prospecção tecnológica, foi constatado que o depósito de patentes envolvendo a utilização de biomarcadores em desordens neurológicas desde 2007, atingiu o número máximo de patentes em 2015. Estados Unidos é considerado o principal país depositário, com 24 patentes na WIPO e EPO. Contudo, o Brasil não possui patentes depositadas nas mesmas bases, deixando em evidência a importância do incentivo a publicações na área. A subclasse selecionada para refinar a pesquisa foi a A61K, onde se encontraram apenas 4 pedidos de patentes, onde datavam 2 em 2015, 1 em 2013 e 1 em 2010, sendo 2 do US (2015 e 2010), 1 da EP (2015) e 1 da WO (2013). Sendo assim, foi verificado que a quantidade de publicações ainda encontra-se escassa para área de biomarcadores e suas aplicações quanto às desordens neurológicas comuns em idosos na área de interesse.

Palavras-chave: Biomarcadores. Desordens neurológicas. Neuropatologias.

Referências

GAGLIARDI R. J. et al. Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares. Primeiro Consenso Brasileiro do tratamento da fase aguda do acidente vascular cerebral. Arq Neuropsiquiatr. 2001;59(4):972-80.

GASSER, T. Genomic and proteomic biomarkers for Parkinson disease. Neurology 2009;72(7 Suppl):S27-31



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Diretoria de Pesquisa. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Projeção da população do Brasil por sexo e idade para o período de 1980 a 2050 - revisão 2004: metodologia e resultados. Rio de Janeiro: IBGE; 2004

MARTINS, A. S.; DE REZENDE, N. A.; DA GAMA TORRES, H. O. Sobrevida e complicações em idosos com doenças neurológicas em nutrição enteral. **Revista da Associação Médica Brasileira (English Edition)**, v. 58, n. 6, p. 691-697, 2012.

PALECEK, E.J, TENO, J. M., CASARETT, D.J., HANSON, L.C., RHODES, R.L., MITCHELL, S.L. Comfort feeding only: a proposal to bring clarity to decision-making regarding difficulty with eating for persons with advanced dementia. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58(3):580-4.

PAVARINI, S.C.I., MENDINEUROONDO, M.S.Z., BARBAM, E., VAROTO, V.A.G., FILIZOLA, C.L.A. A arte de cuidar do idoso: Gerontologia como profissão? *Texto & Contexto Enferm.* 2005;14(3):398-402.

PAVARINI, S.C.I., MENDIONDO, E.M., MONTAÑO, M., ALMEIDA, D.M.F., MENDIONDO, M.S.Z., BARHAM, E.J. et al. Sistema de informações geográficas para a gestão de programas municipais de cuidado a idosos. *Texto & Contexto Enferm.* 2008;17(1):17-25

REYS, B.N., BEZERRA, A.B., VILELA, A.L., KEUSEN, A.L., MARINHO, V., PAULA, E. et al. Diagnóstico de demência, depressão e psicose em idosos por avaliação cognitiva breve. *Rev Assoc Med Bras.* 2006;52(6):401-4.

SCHLOSSMACHER, M.G., MOLLENHAUER, B. Biomarker research in Parkinson's disease: objective measures needed for patient stratification in future cause-directed trials. *Biomark Med.* 2010;4(5):647-50.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Encapsulação de probióticos com ênfase no uso da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) como material de parede: uma prospecção tecnológica

Bruna Novaes Costa¹; Thiago de Souza Lopes Araújo¹; Ana Patrícia de Oliveira¹; Bruno Iles¹; Luan Kelves Miranda de Souza¹; Gabriella Pacheco¹; Jand Venes Rolim Medeiros¹⁹

¹Laboratório da Farmacologia da Inflamação e Desordens Gastrointestinais- LAFIDG/ Universidade Federal do Piauí- UFPI – Parnaíba/PI – Brasil. brunabio2015@gmail.com

Introdução

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) probióticos são definidos como “microorganismos vivos, que quando ingeridos ou aplicados localmente em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro”, como equilíbrio da microbiota intestinal além de se mostrarem eficazes no tratamento de várias disfunções da barreira intestinal, porém para isso é necessário que, após sua ingestão, eles atinjam o intestino ainda vivos e em quantidades suficientes. Dessa forma, técnicas de encapsulação de microrganismos probióticos vem sendo utilizadas nos últimos anos para melhorar sua entrega e sobrevivência em condições adversas como a exposição à ácidos gástricos e sais biliares que pode diminuir sua viabilidade (KOLYBABA, 2007; FAO/WHO, 2001).

Dentre diversos materiais que vêm sendo estudados para a aplicação como agente encapsulante as gomas aparecem como potenciais candidatas por suas favoráveis características químicas, solubilidade e processos de isolamento e purificação. Nesse contexto, a Goma do Cajueiro (GC) um heteropolissacarídeo presente no exsudato do cajueiro (*Anacardium occidentale*, família Anacardiaceae.), oferece uma importante aplicabilidade como material de parede na síntese de microcápsulas (OLIVEIRA et al., 2014).

Dessa forma, este trabalho objetivou-se realizar um estudo de prospecção tecnológica e científica sobre a encapsulação de microrganismos probióticos, com especial enfoque para a eventual aplicação da GC enquanto material de parede, realizando uma busca nos pedidos de patente e artigos científicos em nível nacional e internacional.

Metodologia

Esta pesquisa foi realizada tendo por base um levantamento de pedidos de patentes depositados nos principais bancos de dados: United States Patent and Trademark Office (USPTO), European Patent Office (EPO), World Intellectual Property Organization (WIPO) e no Banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil. O levantamento foi realizado em maio de 2016, sendo investigados todos os documentos de patentes disponíveis para consulta até a data de realização da referida pesquisa (15/05/2016). Utilizou-se como palavras-chave os termos “encapsulação e probiótico” combinados ou não com o termo “goma do



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

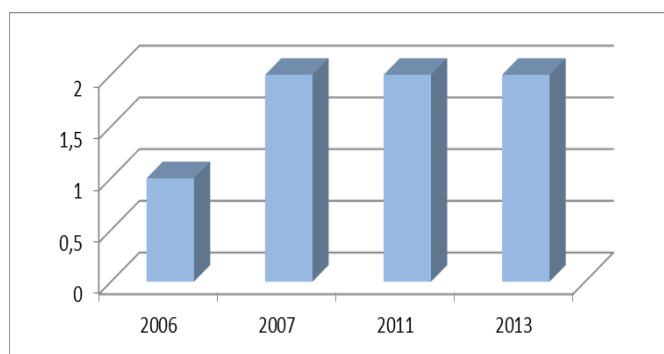
cajueiro”, juntamente com o operador booleano “and” em todas as bases, eventualmente associando-se os termos com o uso de aspas (“ ”). Para as bases de dados internacionais foram utilizadas as palavra-chave em inglês

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo de prospecção tecnológica referem-se a todos os depósitos de patentes efetuados sobre o tema em questão. Utilizando os descritores Encapsulação and Probiótico encontraram-se 7, 19, 18 e 0 patentes depositadas na base de dados USPTO, EPO, WIPO, INPI, respectivamente. Utilizando os descritores Encapsulação AND Probiótico AND Goma do cajueiro não foram encontradas nenhuma patente depositada.

A busca na base de dados USPTO detectou sete resultados abrangendo os termos associados “encapsulação e probiótico”. Quando observado a nação de origem das patentes, verificou-se que os Estados Unidos detêm todos os pedidos de depósito neste banco de dados. Analisando a distribuição das patentes na base de dados, verificou-se que estas se concentram entre os anos de 2006 e 2013 (figura 1). Tais documentos referem-se a formulações contendo probióticos encapsulados, utilizados principalmente para terapia de aves e mamíferos com doenças infecciosas, demonstrando as vantagens desta tecnologia na preservação da vida destes microrganismos durante a passagem através do estômago, permitindo a sua liberação no intestino.

Figura 1 – Resultados obtidos para a busca pelo termo “encapsulação e probiótico” na base de patentes USPTO quanto aos períodos ou anos de ocorrência dos depósitos dos pedidos de patente.



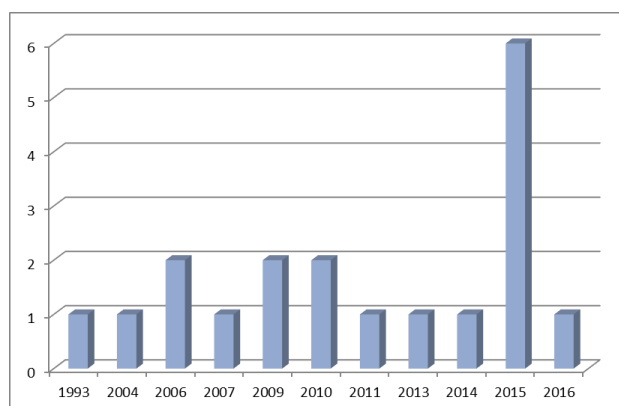
Na base de dados EPO foram encontrados 19 documentos de patentes para os termos associados “encapsulação e probiótico”, relacionados, em grade maioria, à proteção de sistemas e processos de encapsulação empregados para aumentar a taxa de sobrevivência das células probióticas durante o armazenamento e administração oral. Na busca por país, foi possível observar que os Estados Unidos e a Rússia totalizam mais da metade dos pedidos de depósitos realizados (52,63%), seguidos pelo Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (10,52%).

Figura 2 - Resultados obtidos para a busca pelo termo “encapsulação e probiótico” na base de patentes EPO, quanto aos períodos ou anos de ocorrência dos depósitos dos pedidos de patente.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

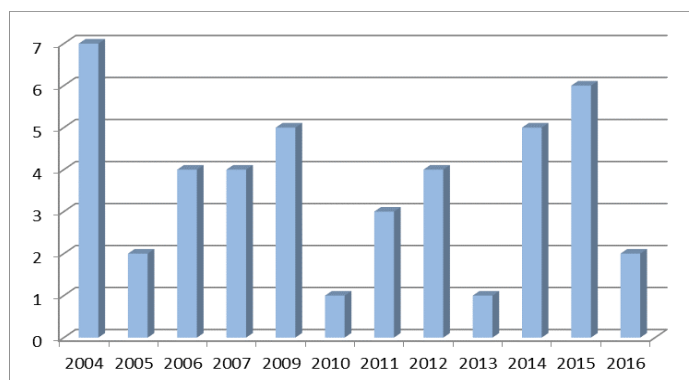
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas



A partir de 2006 até o ano de 2016, houve a maior concentração dos pedidos de depósitos na EPO, com um total de 18 documentos (90%). Tais dados representam uma evolução recente em relação às tecnologias inovadoras envolvendo a encapsulação de microrganismos probióticos. Quando aplicado os termos associados: “encapsulação e probiótico e goma do cajueiro” não foram obtidos resultados.

A busca na base de dados de patentes WIPO retornou 44 resultados envolvendo os termos associados “encapsulação e probiótico”. Tais pedidos foram registrados, em maior número nos Estados Unidos (31,81%), no Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (PCT) (20,45%) e no Canadá (13,63%), a partir do ano de 2004. Nota-se que a distribuição dos documentos quanto ao ano de depósito se mostrou relativamente homogênea, com o ano de 2004 possuindo o maior número de depósitos, e os anos de 2010 e 2013 o menor número, com um depósito cada (Figura 2). Quanto a patentes relacionadas à aplicação da GC utilizado na tecnologia de encapsulação de probióticos, não se obteve resultados, demonstrando a ausência de registros de inovação referente ao uso deste polissacarídeo como material de parede na tecnologia abordada.

Figura 3 - Resultados obtidos para a busca pelo termo “encapsulação e probiótico” na base de patentes WIPO, quanto aos períodos ou anos de ocorrência dos depósitos dos pedidos de patente.



A busca realizada na base de dados de patentes nacionais do INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial) não retornou nenhum resultado



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

para os termos associados “encapsulação e probiótico”, evidenciando a inexistência de tecnologias inovadoras no país sobre o tema em questão.

Quanto à Classificação Internacional de Patentes (CIP) nas bases USPTO, EPO e WIPO, constatou-se que os documentos encontrados foram incluídos predominantemente nas categorias: A61, A23 e C12, relativas respectivamente, à ciência médica e veterinária, ou higiene; alimentos ou gêneros alimentícios e seu tratamento; compostos orgânicos e sua preparação química, seguido pelas categorias: B01 (processos ou aparelhos físicos ou químicos em geral); C07 (química orgânica); A01 (agricultura, silvicultura e pecuária); e B82 (nanotecnologia).

A partir desses dados, mostra-se a importância científica e o pioneirismo que as pesquisas envolvendo a goma do cajueiro em tecnologias de encapsulação podem trazer para comunidade científica, não só nas pesquisas para desenvolvimento de probióticos encapsulados resistentes as condições do trato gastrointestinal, mas também as suas ações benéficas em organismos vivos.

Conclusão

A análise dos dados demonstra domínio dos Estados Unidos em relação aos pedidos de patentes referentes à tecnologia de encapsulação de probióticos em diversas áreas temáticas, com destaque para indústria alimentícia. No entanto, de acordo com a busca a goma do cajueiro ainda aparece inexplorada para utilização como agente encapsulante de células probióticas o que reforça o caráter inovador das pesquisas que envolvem o uso deste polissacarídeo enquanto agente encapsulante de células probióticas.

Tendo em vista as inúmeras vantagens descritas sobre a encapsulação de células probióticas e dos benefícios da utilização de polímeros naturais advindos de plantas amplamente distribuídas no Brasil, como a Goma do Cajueiro, espera-se que pesquisadores possam associar essas tecnologias, pois é perceptível o seu grande potencial biotecnológico. Além disso, percebe-se a necessidade de um maior investimento científico em estudos na área, uma vez que a utilização dessa técnica poderia também surgir como nova alternativa terapêutica, e gerar um crescimento no registro de patentes, o que contribuirá para o desenvolvimento tecnológico do país.

Palavras-chave: Encapsulação. Probióticos. Anacardiaceae.

Referências

FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Experts' Report**, 2001

KOLYBABA, M.; TABIL, L. G.; PANIGRAHI, S.; CRERAR, W. J.; POWELL, T.; WANG, B. Biodegradable Polymers: Past, Present, and Future. **Trends Food Sci. Tech.** v. 14, p. 71-78, 2007.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

OLIVEIRA, E. F.; DE PAULA, H. C.B., DE PAULA, R. C.M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids Surf. B.**, v. 113, p. 146– 151, 2014. DOI:10.1016/j.colsurfb.2013.08.038



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Potencial biotecnológico da atividade anti-inflamatória e cicatrizante do alfa-bisabolol: um estudo de prospecção

Letícia de Sousa Chaves¹, André Luis Fernandes Lopes¹, Esley da Silva Santos¹, Gabriella Pacheco¹, Ana Patrícia de Oliveira¹, Priscila de Sousa Vieira², Jand Venes Rolim Medeiros³

^{1,3} Laboratório da Farmacologia da Inflamação e Desordens Gastrointestinais, LAFIDG UFPI, Parnaíba-PI.

Email: leticiabiomed17@hotmail.com

²Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são considerados uma boa fonte na obtenção de novas drogas. Acredita-se que cerca de um terço dos medicamentos mais vendidos e prescritos no mundo seja de origem natural (CALIXTO, 2003). Na maioria dos casos, essas substâncias naturais são responsáveis por gerar compostos que podem ser usados como drogas, auxiliando no tratamento de patologias (GULLO *et al.*, 2006).

Estudos recentes demonstram que substâncias naturais que possuem terpenos, terpenóides e sesquiterpenos em seus constituintes, apresentam uma infinidade de atividades biológicas significativas, dentre quais, a maior parte se encontra principalmente em óleos essenciais (PICHESKY *et al.*, 2006).

O alfa-bisabolol é um álcool sesquiterpeno proveniente do óleo essencial de camomila (*Matricaria recutita*), e pode estar presente em algumas outras espécies. Comumente o alfa-bisabolol é utilizado na indústria de cosméticos e produtos dermatológicos, porém recentemente pesquisas demonstram que o sesquiterpeno possui ampla atividade farmacológica, atuando na cicatrização, e nos processos anti-inflamatórios atuando na inibição de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6 (MAURYA *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2011).

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma prospecção tecnológica de trabalhos e publicações sobre a utilização do Alfa-bisabolol, sobretudo suas aplicações farmacológicas anti-inflamatórias e cicatrizantes, uma vez que essa substância vem sendo bastante estudada por oferecer potencial para desenvolvimentos de novas drogas com atividades curativas.

METODOLOGIA

No presente estudo, a prospecção foi baseada na pesquisa de patentes. Foram utilizadas para isso a busca destas nas bases de dados na World Intellectual Property Organization (WIPO), Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), e United States Patent and Trademark Office (USPTO). A busca foi feita utilizando a palavra-chave “Alpha-bisabolol”, “Alpha-bisabolol and anti-inflammatory” e “Alpha-bisabolol and healing”, selecionando patentes que apresentavam a palavra nos títulos ou resumos. Vale ressaltar que a



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

pesquisa principalmente como enfoque a utilização medicinal do sesquiterpeno. Os dados foram analisados e plotados utilizando o excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando as palavras chaves que relacionavam a utilização do alfa-bisabolol em atividades farmacológicas como atividade anti-inflamatória e cicatrizante, obteve-se os resultados expressos na tabela1

Tabela 1: Resultado das patentes encontradas utilizando-se as palavras-chave, em cada base de informação tecnológica.

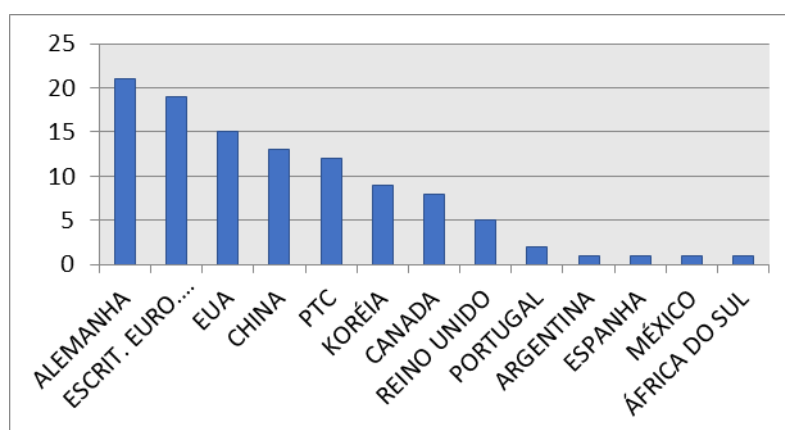
| PALAVRAS-CHAVE | WIPO | USPTO | EPO | INPI |
|--|------|-------|-----|------|
| <i>Alpha-bisabolol</i> | 109 | 8 | 108 | 7 |
| <i>Alpha bisabolol and anti-inflammatory</i> | 2 | 3 | 0 | 2 |
| <i>Alpha bisabolol and healing</i> | 2 | 0 | 0 | 1 |

Fonte: Autoria Própria, 2016

A busca na base de dados do WIPO, retornou 109 resultados envolvendo o termo “alpha-bisabolol. Porém deve-se observar que tais resultados referem-se, em grande parte, a proteção de formulações farmacêuticas, com aplicação na área de cosméticos e tratamento de afecções da pele.

No gráfico 1, nota-se que a maior parte dos pedidos envolvendo o presente termo foi registrada na Alemanha (19,26%), no Escritório Europeu de Patentes (17,43%) e nos Estados Unidos (13,76%).

Gráfico 1 - Resultados obtidos para a busca pelo termo “alpha-bisabolol” na base de patentes WIPO, quanto aos países de depósito dos pedidos de patente.



Fonte: autoria própria (03/2016).

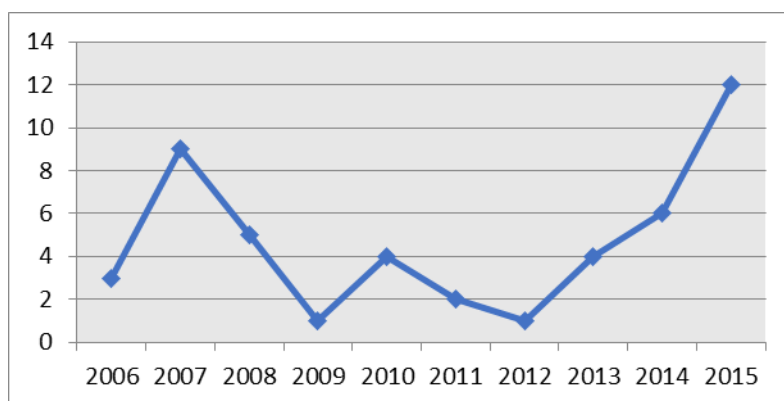
Os pedidos de depósito de patente registrados nessa base envolvendo o composto alpha-bisabolol apontam para registros a partir do ano de 2006, tendo no ano de 2015 o maior número de pedidos de depósito, como mostrado na Gráfico 2.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

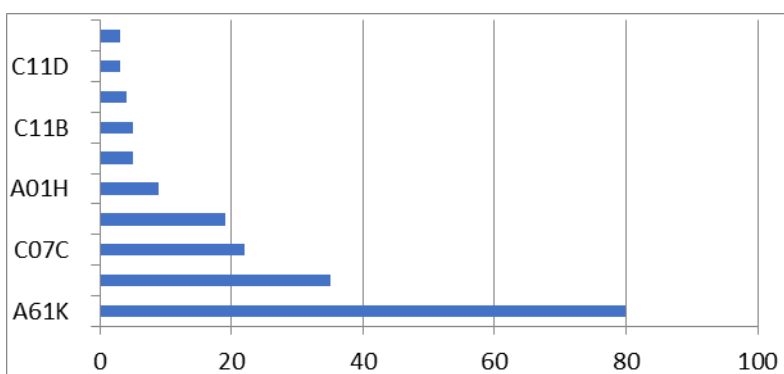
Gráfico 2 - Resultados obtidos para a busca pelo termo “alpha-bisabolol” na base de patentes WIPO, quanto aos anos de ocorrência dos depósitos dos pedidos de patente.



Fonte: autoria própria (03/2016)

Em uma busca orientada pela CIP, “Classificação Internacional de Patentes” (Gráfico 3), observa-se que a maior proporção dos pedidos de depósito de patentes nesta base de dados para o termo alpha-bisabolol encontra-se distribuída entre as seguintes categorias: A61 (saúde, resguardo de vidas, ciência médica ou veterinária e higiene) e C07 (química orgânica, purificação, separação, estabilização ou uso de aditivos). Assim, vê-se o grande potencial deste no tratamento de diversas afecções.

Gráfico 3. Resultados obtidos para a busca pelo termo “alpha-bisabolol” na base de patentes WIPO, quanto à CIP.



Fonte: autoria própria (03/2016).

Ao realizar a busca com o termo “Alpha bisabolol and anti-inflammatory” a base retornou 2 registros relativos a república da Coréia. Tais registros referem-se a uma composição com diversos componentes como o Alpha bisabolol, e outros extratos de vegetais e algas, que tem a função de proteger a pele, reduzindo a inflamação, e melhorando a aparência da pele (1020040049704); e a outra patente também sobre uma composição cosmética utilizada como loção para pele, contendo o agente anti-inflamatório alpha-bisabolol (1019950016700). Esses resultados mostram a aplicação da



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

atividade anti-inflamatório do agente pesquisado, mostrando seu grande potencial como agente tópico no tratamento de feridas.

Dessa forma, buscou-se também patentes relacionadas com a atividade cicatrizante do alpha-bisabolol, haja vista que substâncias que apresentam atividade anti-inflamatória são potências cicatrizantes. A busca pelo termo “*Alpha bisabolol and healing*” na base WIPO resultou em 1 patentes, depositada pelo Reino Unido. Esta patente contempla uma composição farmacêutica contendo alpha-bisabolol, que pode ser utilizada como agente cicatrizante em úlceras gástricas (1391492). Desta forma, vê-se que o alpha-bisabolol apresenta-se aplicável como cicatrizante em úlceras gástricas, e que tem grande potencial que ser utilizado em outros tipos de cicatrização.

A busca na base de dados USPTO retornou 8 resultados de pedidos de depósito de patente utilizando o termo ‘alpha-bisabolol’. Os dados gráficos referentes aos resultados não foram apresentados devido à baixa proporção de documentos depositados. Tais resultados referem-se à proteção de processos que visam a conversão ou remoção de substâncias a partir de composições contendo alfa-bisabolol, bem como processos de preparação e purificação da referida substância em análise. Além disso, os resultados obtidos apontam descrições de composições farmacêuticas contendo alfa-bisabolol como um estabilizante da mucosa gástrica, demonstrando atividade anti-inflamatória e antiúlcera, além de composições cosméticas utilizadas no tratamento de acne e manchas na pele.

A busca realizada na base de patentes do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) retornou 7 resultados com o descritor “Alfa Bisabolol”. Essas patentes são relacionadas principalmente com a utilização do composto de forma tópica, importante para a indústria farmacêutica e cosmética. Quanto a busca com o descritor “alfa-bisabolol e anti-inflamatório”, resultou nas mesmas patentes presentes na base WIPO, relativos à sua utilização na proteção da pele.

CONCLUSÃO

Diante do que foi exposto e discutido, observa-se que há um grande número de pesquisas, estudos e patentes referente ao composto alfa-bisabolol, porém há poucos estudos voltados para atividades anti-inflamatória e cicatrizante, bem como sua aplicação tecnológica, apesar da sua grande disponibilidade, principalmente no Brasil, que apresenta uma vasta biodiversidade. O composto possui um alto potencial para utilização no âmbito da saúde, por isso sua investigação para essa finalidade é também de extrema importância.

PALAVRAS-CHAVE: Alfa-bisabolol. Anti-inflamatório. Cicatrizante.

REFERÊNCIAS

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciênc. Cult.**, v. 5, n. 3, Julho/Setembro, 2003.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

GULLO, V. P., MCALPINE, J., BAKER, L. D., PETERSON, F. Drug Discovery from natural products. **Journal of Industry and Microbiology and Biotechnology**. V, 33, p. 523-531, 2006.

MAURYA, A.K., SINGH, M., DUBEY, V., SRIVASTAVA, S., LUQMAN, S., BAWANKULE, D.U. α -(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. **Curr. Pharm. Biotechnol.** 15, 173–181, 2014

PICHERSKY, E., NOEL J. P., DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. **Science**, 311:808–811, 2006.

ROCHA, N.F.M., RIOS, E.R.V., CARVALHO, A.M.R., CERQUEIRA, G.S., LOPES, A. de A., LEAL, L.K.A.M., DIAS, M.L., DE SOUSA, D.P., DE SOUSA, F.C.F., 2011. Anti-nociceptive and antiinflammatory activities of (-)- α -bisabolol in rodents. **Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.** 384, 525–533, 2011



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Atividade antimicrobiana aplicada ao extrato aquoso da *Phyllanthus niruri*: comparação entre diferentes estabelecimentos de Teresina-PI

Paulo Sérgio da Paz Silva Filho¹, Monaliza Buana Rodrigues¹, Lennara Pereira Mota¹, Ivaniele Jusce Dias¹, Brenda Rafaela Santos de Loiola¹, Iara Nadine Vieira Da Paz Silva², Kelly Maria Rêgo da Silva³.

Estudante de Biomedicina - Faculdade Mauricio de Nassau¹; Estudante de Enfermagem - Centro de Ensino Unificado de Teresina (CEUT)²; Especialista Em Microbiologia - INCURSOS³.

Introdução

O *Phyllanthus niruri*, pertencente à família Phyllanthaceae, conhecido popularmente como quebra-pedra, erva-pombinha, quebra-pedra verdadeiro, quebra-pedra-roxo. Seu uso em medicina popular é como remédio para os rins, a fim de eliminar pedras dos rins e para urinar mais (SIQUEIRA et al, 2012). Estudos demonstram que sua administração promove relaxamento dos ureteres, que aliado a uma ação analgésica, facilita a descida dos cálculos, geralmente sem dor nem sangramento, aumentando também a filtração glomerular e a excreção de ácido úrico, justificando assim a credence popular (AMORAS, 2016). Sendo assim o presente trabalho objetiva avaliar a atividade antibacteriana da *Phyllanthus niruri* sobre cinco bactérias patogênicas a saúde humana, De 3 estabelecimentos diferentes, sendo elas: *E. coli*; *P. Aeruginosa*; *Enterococcus*; *s. aureus* e *k. Pneumoniae*.

Figura 1 – Planta *Phyllanthus niruri*.



Fonte: <https://alchetron.com>



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Metodologia

Primeiramente foi preparado o extrato aquoso na concentração de 20% dos 3 estabelecimentos, em seguida as bactérias já descritas na introdução foram semeadas em ágar mueller hinton, ao todo cinco placas cada uma com uma bactéria. Em seguida foi feito um buraco no centro de cada meio para inoculação do extrato, foram adicionadas 100 µl do extrato em cada buraco e as placas foram incubadas em estufa por 24h.

Resultados e Discussão

Devido ao crescente número de bactérias que veem adquirindo resistências aos antibióticos usuais é crescente a necessidade de buscar na natureza por produtos naturais que possuam atividade sobre as bactérias (DOS SANTOS et al, 2013).

Após as 24 horas as placas foram retiradas e analisadas, as placas semeadas com *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus*, e *k. pneumoniae* não se observou formação de alo ao redor do extrato, já na placa semeada com *S. Aureus* dos 3 estabelecimentos obteve a formação de um alos com cerca de: estabelecimento 1: 22 mm, estabelecimento 2: 26 mm. Estabelecimento 3: 23 mm, sendo assim, pode-se observa a inibição da *S. aureus* pelo extrato aquoso de *Phyllanthus niruri*.

Tabela 1 - Principais resultados tabulados.

| BACTÉRIAS | EST. 1 | EST. 2 | EST. 3 |
|----------------------|--------|--------|--------|
| <i>E. coli</i> | X | X | X |
| <i>P. aeruginosa</i> | X | X | X |
| <i>Enterococcus</i> | X | X | X |
| <i>k. pneumoniae</i> | X | X | X |
| <i>S. Aureus</i> | 22 mm | 26 mm | 23 mm |

Fonte: resultados obtidos com a partica.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Figura 1 – Formação de alo no antibiograma



Fonte: <https://es.slideshare.net>

Conclusão

Das cinco bactérias analisadas apenas a *S. aureus* foi sensível ao extrato em uso nos 3 estabelecimentos, estudos semelhantes a esse são importantes para se determinar se o extrato em uso tem realmente a atividade desejada. É necessários estudos mais profundos para se determinar a genotoxicidade e toxicidade desta substância que é culturalmente utilizada para tratar doenças.

Palavras-chave: antibiograma. chá de quebra-pedra. *Phyllanthus niruri*.

Referências:

SIQUEIRA, S. M. et al. O QUEBRA-PEDRA E SUAS PROPRIEDADES MEDICINAIS.

CIMPLAMT- Centro de informações sobre medicamentos plantas medicinais e tóxicas, v. II, ed. 11, 2012.

AMORAS, F. C. *Estação Científica (UNIFAP)*, Editorial, v. 6, n. 1, 2016.

DOS SANTOS, Tássia Klosowski Pacheco et al. Identificação e perfil antimicrobiano de bactérias isoladas de urina de gestantes atendidas na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Prudentópolis, Paraná. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 181-192, 2013.



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

www.uifarpi.com.br/renapte

REALIZAÇÃO:



APOIO:



Ministério da
Educação





II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

EDIÇÃO

Editor-chefe

Viriato Campelo

Editores e avaliadores

Ivisson Lucas Campos da Silva

Laís Rocha Lima

Brenna Emannuella de Carvalho