



Avaliação do efeito mutagênico do extrato hidroalcoólico bruto, por meio de bioensaios *in vivo* e prospecção fitoquímica de *Cecropia glaziovii* Sneth (embaúba), Cecropiaceae

Victor S. Stange,^{*1} Tarsila D. U. H. Gomes,¹ Marcieni A. de Andrade,^{*2}
Maria do Carmo P. Batitucci¹

¹Laboratório de Citogenética Vegetal, Mutagênese e Produtos Naturais,
Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo,
Av. Marechal Campos 514, Bairro Maruípe, 29040-090 Vitória-ES, Brasil

²Laboratório de Genética Vegetal e Produtos Naturais, Departamento de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Marechal Campos 514,
Bairro Maruípe, 29040-090 Vitória-ES, Brasil

RESUMO: O gênero *Cecropia* é conhecido popularmente por “embaúba” e apresenta várias espécies medicinais, sendo que estudos com a espécie *C. glaziovii* Sneth indicam que o extrato aquoso apresenta efeitos broncodilatador, anti-hipertensivo e antidepressivo, provavelmente, atribuídos às catequinas, procianidinas e flavonóides. O presente estudo objetivou avaliar os potenciais efeitos tóxico, citotóxicos, clastogênicos e aneugênicos do extrato bruto hidroalcoólico de folhas de *C. glaziovii*, por meio da dose letal média (DL₅₀), da análise de micronúcleo em células de medula óssea de roedores e do teste com *Allium cepa* e realizar a prospecção fitoquímica. Os resultados demonstraram que as concentrações testadas não causaram toxicidade aguda, nem apresentaram atividade clastogênica e aneugênica, sugerindo que o extrato de *C. glaziovii* não interferem na divisão celular. A prospecção fitoquímica indicou a presença de taninos, flavonóides, fenóis, antraquinonas, cumarinas, catequinas, proteínas, açúcares redutores, depsídeos/depsídonas e triterpenos. Mesmo assim, esses resultados não prescrevem o consumo terapêutico da espécie, sem continuidade da sua avaliação e do cumprimento de todas as etapas pré-clínicas e clínicas.

Unitermos: *Cecropia glaziovii*, Cecropiaceae, mutagênese, micronúcleos, planta medicinal.

ABSTRACT: “Evaluation of mutagenic effect of crude hydroalcoholic extract, using *in vivo* alive bioassays and phytochemical screening of *Cecropia glaziovii* Sneth (embaúba), Cecropiaceae”. The genus *Cecropia* is as known popularly “embaúba” and presents several medical species. Studies with the species *C. glaziovii* Sneth indicates that the hydroalcoholic extracts presents bronchodilator, anti-hypertensive and antidepressive effects, probably due its contents catechins, procyanidins and flavonoids. The aim of this study was to assess the potential toxic, cytotoxic, clastogenic and aneugenic effects of the crude hydroalcoholic extract of leaves of *C. glaziovii*, by means of the determination of the median lethal dose (LD₅₀), the analysis of micronucleus in cells from bone marrow of rodents and through the *Allium cepa* assay, and also to performe the phytochemical screening. The results showed that at the concentrations tested no cause acute toxicity, as well as no clastogenic and aneugenic activity, was observed suggesting that the extract of *C. glaziovii* do not interfere in cell division. The phytochemical screening indicated the presence of tannins, flavonoids, phenols, anthraquinones, coumarins, catechins, proteins, reducing sugars, depsides, depsidons and triterpenes. However, these results do not prescribe therapeutic consumption of the species, without keeping its evaluation and the achievement of all pre-clinical and clinical stages.

Keywords: *Cecropia glaziovii*, Cecropiaceae, mutagenicity, micronucleus, medicinal plant.

INTRODUÇÃO

A família Cecropiaceae é composta por espécies utilizadas para fins medicinais, distribuídas em seis gêneros, sendo *Cecropia* o mais importante. Este gênero é conhecido popularmente por embaúba e formado por 75 espécies tropicais encontradas ao redor de florestas densas, lagos e áreas devastadas (Tanae et al., 2007). No Brasil, a espécie *Cecropia hololeuca* Miq. está presente entre as plantas medicinais da lista oficial da Farmacopéia (Brandão et al., 2006; 2008), mas no uso popular a espécie *C. peltata* é empregada para casos de tosse, bronquite, asma e diabetes (Di Stasi et al., 2002), hipertensão (Lans, 2006) e diabetes (Agra et al., 2007; 2008), *C. pachystachya* usada em casos de problemas de coração (Nunes et al., 2003), *C. obtusifolia* para controle de diabetes tipo 2 (Andrade-Cetto & Wiedenfeld, 2001; Herrera-Arellano et al., 2004) e anti-inflamatória para casos de reumatismo comprovada em estudo farmacológico (Perez-Guerrero et al., 2001).

Alguns estudos farmacológicos desenvolvidos no Brasil foram realizados com a espécie *C. glaziovii* Sneth, indicando que o extrato aquoso apresentou efeito broncodilatador (Delarcina Júnior et al., 2007), anti-hipertensivo (Lima-Landman et al., 2007) e antidepressivo (Rocha et al., 2007a), provavelmente atribuídos aos compostos majoritários catequinas, procianidinas e flavonóides presentes nesse extrato (Tanae et al., 2007). Estes dois últimos compostos também foram os responsáveis por comprovar a ação anti-hipertensiva dessa espécie em estudo de Luengas-Caicedo (2002), desenvolvido com animais e humanos. Andrade-Cetto & Wiedenfeld (2001) identificaram a presença da flavona isoorientina e ácido clorogênico como prováveis compostos envolvidos no efeito hipoglicemiante de *C. obtusifolia*.

Dentre os testes de avaliação toxicológica preconizados pelas agências internacionais e instituições governamentais, o ensaio de micronúcleos em ratos *in vivo* é amplamente recomendado para avaliação e registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram no mercado mundial, sendo útil como um estudo toxicológico preliminar (Ribeiro et al., 2003; Vasconcelos et al., 2007; Ruiz et al., 2008; Tagliati et al., 2008; Paulo et al., 2009), uma vez que os resultados produzidos são considerados fortemente relevantes no contexto humano (Morita et al., 1997). Outro teste que se destaca é o teste com cebola (*Allium cepa*), uma vez que suas raízes ficam em contato direto com a substância testada, permitindo a avaliação de concentrações diferentes. As alterações cromossômicas e as da divisão das células meristemáticas da raiz de cebola são frequentemente usadas para alertar a população sobre o consumo do fitoterápico (Bagatini et al., 2007; Macêdo et al., 2008).

Quatro triterpenóides (ácido euscáico, ácido tormêntico, ácido 2 α - e 2 β -acetil-tormêntico) foram isolados de raízes de *C. lyratiloba* e avaliada a sua citotoxicidade em linhagens de células leucêmicas,

revelando o potencial desses terpenóides como fontes para o desenvolvimento de novas drogas antineoplásicas usadas na quimioterapia (Rocha et al., 2007b). Entretanto, não há estudos citotóxicos preliminar e fitoquímico de *C. glaziovii* que assegurem o uso popular dessa espécie como medicinal, importantes para fornecer dados para uma possível produção de fitoterápicos que contenham componentes dessa espécie de embaúba.

Os objetivos desse trabalho foram avaliar os potenciais efeitos tóxico, citotóxicos, clastogênicos e aneugênicos da administração do extrato bruto hidroalcoólico 70% (EBH) de folhas de *Cecropia glaziovii* Sneth, por meio da dose letal média (DL₅₀), da análise de micronúcleo em células de medula óssea de roedores e do teste com *Allium cepa* e realizar prospecção fitoquímica dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal

Galhos das plantas de *Cecropia glaziovii* Sneth foram coletados no Horto Florestal Arthur Dias Martins da Prefeitura de Vitória, Estado do Espírito Santo, Brasil. A espécie foi identificada pela Prof^ª Dr^ª Luciana Dias Thomaz (Universidade Federal do Espírito Santo) e encontra-se registrada no Herbário VIES (UFES) sob o número 7547. As amostras foram retiradas do mesmo indivíduo e coletas no período da manhã após a evaporação do orvalho, em dias ensolarados.

Animais

Os animais utilizados nestes experimentos foram obtidos no biotério do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da UFES e mantidos com alimentação *ad libitum* em local com temperatura e ciclo noite-dia controlados.

Obtenção do extrato bruto hidroalcoólico

As folhas de *Cecropia glaziovii* foram secas em estufa a temperatura de 40 °C e posteriormente pulverizadas em moedor elétrico. O EBH foi obtido pela maceração de 60 g do pó da planta em 700 mL de etanol 70%, a temperatura ambiente por 72 h. Após esse período, o macerado foi filtrado e submetido à evaporação em pressão reduzida e temperatura de 60 °C, em evaporador rotativo (Tecnal, modelo TE-210). O teor extrativo foi determinado pela massa seca de 1 g do EBH. Para realização dos experimentos, o EBH foi diluído em solução salina (0,9 % de NaCl) quando do tratamento de roedores, e em água destilada no tratamento de *Allium cepa*.

Estabelecimento da Dose Letal Média (DL₅₀)

Para estabelecimento da Dose Letal Média (DL₅₀) foram usados camundongos (30-50 g), divididos em grupos experimentais (n=10) e tratados com o EBH (300, 600 e 900 mg/kg) e com o controle negativo (solução salina 0,9%), via intraperitoneal (*v.i.*), em delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram observados por períodos de 24 e 48 h, contando-se o número de óbitos.

Testes para análise de mutagenicidade

Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores

Ratos (linhagem Wistar) machos adultos (idade entre 7 e 12 semanas) foram separados em diferentes grupos experimentais, sendo eles: o grupo controle positivo (n=5), tratado com ciclofosfamida à 20 mg/kg (*v.i.*), o grupo controle negativo (n=5), tratado com soro fisiológico 0,9%, e os grupos tratados com a fração aquosa do EBH nas concentrações de 300 mg/mL (n=5) e de 500 mg/mL (n=5), ambos por gavagem. Os animais foram sacrificados após 24 h por concussão cervical e amostras de medula óssea foram coletadas dos fêmures, logo após o sacrifício. A confecção das lâminas foi realizada seguindo-se a metodologia proposta por Ribeiro et al. (2003), considerando-se os eritrócitos normocromáticos (NCE), os policromáticos (PCE) e os policromáticos micronucleados (MNPCE), segundo metodologia de MacGregor et al. (1987).

Teste em *Allium cepa*

Para a avaliação dos efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos, sementes de *Allium cepa* (cebola) foram submetidas à germinação em diferentes concentrações do EBH de folhas de *Cecropia glaziovii*. No controle negativo, as sementes foram submetidas à germinação em água destilada. Foram realizados os tratamentos contínuo, em que as sementes foram germinadas diretamente no EBH (0,5 mg/mL, 1,0 mg/mL, 1,5 mg/mL, 3,0 mg/mL e 5,0 mg/mL) e descontínuo, em que as sementes foram inicialmente germinadas em água destilada até as raízes atingirem dois centímetros, sendo posteriormente transferidas para o EBH (1 mg/mL, 3 mg/mL e 5 mg/mL). A coleta das raízes foi realizada em 20 h (tratamento agudo) e 72 h (tratamento crônico) e as lâminas confeccionadas segundo Fiskejő (1985) para posterior análise em microscópio óptico (LEICA DM/LS), considerando-se como parâmetros os índices mitótico (IM), de efeito clastogênico (IEC) e de efeito aneugênico (IEA) em ambos os tratamentos e índice de germinação (IG) apenas no tratamento contínuo.

Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica foi realizada utilizando-

se alíquotas do EBH para detecção dos seguintes grupos de metabólitos secundários vegetais: antocianos, depsídeos/depsidonas, fenóis, flavonóides, catequinas, taninos, antraquinonas, proteínas, polissacarídeos, saponinas espumídicas, açúcares redutores, cumarinas, alcalóides e terpenos/esteróides (Barbosa, 2001).

Análise estatística

Para o teste de micronúcleo em medula óssea de roedores, foi realizada a análise estatística pelo método de Kruskal-Wallis, com nível de significância $\alpha \geq 0,05$, expresso como média \pm erro padrão médio (EPM). Para o teste em *Allium cepa*, análise empregada foi Qui-quadrado (χ^2), com nível de significância $\alpha \geq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A toxicidade de substâncias ou derivados de plantas representa um dos principais problemas na validação de fármacos, sendo necessária sua avaliação em experimentos pré-clínicos. Os resultados da DL₅₀ sugerem ausência de toxicidade aguda do extrato, uma vez que não houve mortes de animais, em nenhuma das doses testadas (300, 600 e 900 mg/kg), durante os períodos sob avaliação (24 e 48 h). Cunha (2006), em estudos com *Cecropia peltata*, observou valores de DL₅₀ de 2,205 mg/kg (24 h) e de 1,332 mg/kg (48 h), situação que reforça a indicação de baixa toxicidade de espécies do gênero *Cecropia*.

O micronúcleo é um método utilizado para avaliar a capacidade de substâncias para induzir danos cromossômicos nas células em diferentes estágios de divisão na medula óssea (Fenech, 1997), sendo sua frequência estipulada por meio da contagem de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE) e policromáticos normais (PCE) (Tabela 1). A partir da avaliação desse resultado, percebe-se que não houve diferença significativa entre as doses testadas (300 e 500 mg/dia/rato) e o controle negativo, embora esses resultados tenham sido significativamente menores que os valores obtidos na administração do controle positivo (ciclofosfamida), indicando que o extrato de *C. glaziovii* apresenta baixa genotoxicidade. Desta forma, a avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos tem sido utilizada como ferramenta fundamental para a verificação da atividade mutagênica de diversos extratos vegetais (Souza et al., 2006).

Esses resultados assemelham-se aos apresentados por Souza et al. (2006) que demonstraram em seus estudos com *Caesalpinia ferrea* a ausência de atividade clastogênica em ratos Wistar, utilizando os mesmos parâmetros e também aos apresentados com infusões de *Achillea millefolium*, *Psidium guajava* (Teixeira et al., 2003), *Maytenus ilicifolia* e *Bauhinia candicans* (Camparoto et al., 2002). Mesmo considerando-se que alguns extratos vegetais contenham metabólitos secundários genotóxicos, os mecanismos envolvidos que explicam a clastogenicidade e/ou interação desses compostos com o DNA não estão totalmente elucidados (Fagundes et al., 2005).

A análise do índice de citotoxicidade, obtido pela relação entre o número de PCE com o número total de eritrócitos

contados (PCE+NCE) (Figura 1), indica que a administração do EBH de *C. glaziovii*, nas doses testadas, não determinou efeito citotóxico, visto que a porcentagem de PCE em relação ao total não foi significativamente diferente dos valores encontrados no controle negativo. Tais resultados são comparáveis aos relatados por Espósito et al. (2005) que avaliaram o efeito tóxico de *Hypericum brasiliense*.

Os possíveis efeitos citotóxicos, aneugênicos e clastogênicos de *Cecropia glaziovii*, em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* foram avaliados em tratamentos contínuo e descontínuo em diferentes tempos (20 e 72 h) posteriores à germinação (Tabela 2). Analisando-se os resultados desses tratamentos, verifica-se que os índices mitótico (IM) e de germinação (IG) não apresentaram diferenças significativas, comparadas aos grupos controle, sugerindo que o extrato de *C. glaziovii* não interfere na divisão celular. Além disso, pelos índices de efeitos aneugênicos (IEA) e clastogênicos (IEC) (Tabela 2), observa-se que o extrato administrado não apresenta potenciais aneugênico e clastogênico significativos, pois não aumentou os índices de alterações das células à medida que as concentrações extrato aumentavam. Tais resultados refletem a situação observada nos dados de obtidos nos experimentos de micronúcleos em roedores, assim como o observado em infusões de *Achillea millefolium* e *Psidium guajava* (Teixeira et al., 2003).

Souza (2005), ao analisar a fitotoxicidade de extrato aquoso de diferentes plantas medicinais, afirma que sementes de cebola podem se utilizadas para monitorar a atividade citotóxica e genotóxica de compostos derivados de cumarinas, taninos e terpenos, substâncias essas presente em grande quantidade em guaco (*Mikania glomerata* Spreng), espinhiera-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss), açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. et. Zucc) e sálvia (*Lippia alba* Mill. NE), assim como em *C.*

glaziovii.

Em *C. glaziovii*, as análises fitoquímicas realizadas com o EBH de folhas comprovam presença de taninos, flavonóides, fenóis, antraquinonas, cumarinas, catequinas, proteínas, açúcares redutores, depsídeos/depsidonas e triterpenos, corroborando com os resultados de Tanae et al. (2007) com *C. glaziovii* e de Rocha et al. (2007b) com *C. lyratiloba*. A ausência de compostos como os alcalóides, principalmente os pirrolizidínicos, pode ser uma explicação para ausência de efeitos tóxicos do EBH de *Cecropia*, uma vez que esses metabólitos são responsáveis pela hepatotoxicidade de algumas espécies medicinais, como confei (*Symphytum officinalis*) (Elvin-Lewis, 2001; Rates, 2001).

As análises fitoquímicas comprovaram a presença de taninos e flavonóides, prováveis responsáveis pela ausência de efeitos citotóxicos e clastogênicos em *Maytenus ilicifolia* e *Bauhinia candicans* (Camparoto et al., 2002), assim como os resultados obtidos na espécie em estudo. Diferentemente, os taninos foram os prováveis inibidores da divisão celular em células meristemáticas de cebola quando submetidas às infusões de *Psidium guajava* e *Achillea millefolium* (Teixeira et al., 2003) e de *Achyrocline satureioides* (Fachinetto et al., 2007).

Os resultados obtidos a partir da análise realizada por meio de diferentes bioensaios realizados sugerem que o extrato de *Cecropia glaziovii* apresenta baixos níveis de toxicidade aguda (DL₅₀), genotoxicidade e citotoxicidade. Mesmo assim, esses resultados não prescrevem o consumo terapêutico da espécie, sem continuidade da sua avaliação e do cumprimento de todas as etapas pré-clínicas e clínicas, por meio de diferentes experimentos crônicos e de testes com doses e concentrações maiores. Além disso, estudos mais específicos para a identificação e isolamento de constituintes químicos, como os flavonóides e terpenóides semelhantemente ao realizado com *C. lyratiloba*, podem contribuir para a validação de fitoterápicos.

Tabela 1. Número médio de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE) observados em células de medula óssea de ratos Wistar tratados com extrato de *Cecropia glaziovii* e respectivos controles CN - solução salina 0,9% e CP - ciclofosfamida 20 mg/kg.

| Tratamentos | Número de ratos tratados | Número de células contadas | Número total de micronúcleos | MNPCE (média ± EPM) |
|----------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------|
| CN | 5 | 10.000 | 1 | 0,2 ± 0,2 |
| 300mg/dia/rato | 5 | 10.000 | 10 | 1,67 ± 0,62 |
| 500mg/dia/rato | 5 | 10.000 | 6 | 1 ± 0,29 |
| CP | 5 | 10.000 | 96 | 19,2* ± 1,02 |

* Diferença significativa em relação ao controle negativo (p < 0,01).

Tabela 2. Índices mitótico (IM), de efeito aneugênico (IEA) e de efeito clastogênico (IEC) das sementes de *Allium cepa* em resposta aos tratamentos contínuo (TC) e descontínuo (TD 20 h e 72 h, exceto o índice de germinação-IG) com o extrato bruto hidroalcoólico de folhas de *Cecropia glaziovii*.

| | IM | | | IEA | | | IEC | | | IG |
|----------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|------|
| | TC | TD 20h | TD 72h | TC | TD 20h | TD 72h | TC | TD 20h | TD 72h | TC |
| CN | 12,653 | 13,378 | 10,236 | 0,248 | 0,272 | 0,076 | 0,115 | 0,272 | 0,152 | 74,0 |
| 0,5mg/mL | 14,811 | - | - | 0,152 | - | - | 0,247 | - | - | 88,3 |
| 1 mg/mL | 13,266 | 11,678 | 7,608 | 0,174 | 0,124 | 0,176 | 0,096 | 0,266 | 0,176 | 83,3 |
| 1,5mg/mL | 14,378 | - | - | 0,246 | - | - | 0,208 | - | - | 88,3 |
| 3,0mg/mL | 12,742 | 10,128 | 8,652 | 0,271 | 0,037 | 0,131 | 0,416 | 0,185 | 0,113 | 77,1 |
| 5,0mg/mL | 16,905 | 10,163 | 6,976 | 0,384 | 0,038 | 0,000 | 0,421 | 0,077 | 0,019 | 73,8 |

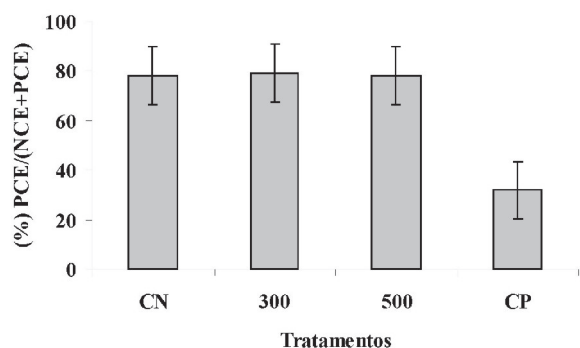


Figura 1. Valores percentuais médios de PCE/(NCE+PCE) em resposta ao tratamento com o extrato hidroalcoólico bruto de folhas de *Cecropia glaziovii*, nas doses de 300 e 500 mg/dia/rato e controles negativo (CN) e positivo (CP). (* Diferença significativa em relação ao controle negativo; $p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Agra MF, Silva KN, Basilio IJLD, França PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.
- Andrade-Cetto A, Wiedenfeld H 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 78: 145-149.
- Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB 2007. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn* 17: 444-447.
- Barbosa WLR 2001. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. *Rev Científica da UFPA* 4: 12-18.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420.
- Brandão MGL, Zanetti NNS, Oliveira GRR, Goulart LO, Monte-Mor RLM 2008. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 18: 127-134.
- Camparoto ML, Teixeira RO, Mantovani MS, Vicentini VEP 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genet Mol Biol* 25: 85-89.
- Cunha MRH 2006. *Efeitos agudos e crônicos do tratamento com o extrato hidroalcoólico de folhas de Cecropia peltata L. sobre os sistemas cardiovascular e renal em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos*. Vitória, Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo.
- Delarcina Júnior S, Lima-Landman MTR, Souccar C, Cysneiros RM, Tanae MM, Lapa AJ 2007. Inhibition of histamine-induced bronchospasm in guinea pigs treated with *Cecropia glaziovii* Sneth and correlation with the in vitro activity in tracheal muscles. *Phytomedicine* 14: 328-332.
- Di Stasi LC, Oliveira GP, Carvalhaes MA, Queiroz-Júnior M, Tiena OS, Kakinamia SH, Reis MS 2002. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia* 73: 69-91.
- Elvin-Lewis M 2001. Should we be concerned about herbal remedies. *J Ethnopharmacol* 75: 141-164.
- Espósito AV, Pereira DMV, Rocha LM, Carvalho JCT, Maistro EL 2005. Evaluation of the genotoxic potential of the *Hypericum brasiliense* (Guttiferae) extract in mammalian cell system in vivo. *Genet Mol Biol* 28: 152-155.
- Fachineto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB 2007. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Rev Bras Farmacogn* 17: 49-54.
- Fagundes FA, Oliveira LB, Cunha LC, Valadares MC 2005. *Annona coriacea* induz efeito genotóxico em camundongos. *Rev Eletron Farmacia* 2: 24-29.
- Fenech M 1997. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method *Mut Res* 392: 11-18.
- Fiskejő G 1985. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102: 99-112.
- Herrera-Arellano A, Aguillar-Santamaría L, García-Hernández B, Nicasio-Torres P, Tortoriello J 2004. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine* 11: 561-566.
- Lans C 2006. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed* 2: 1-12.
- Lima-Landman MTR, Borges ACR, Cysneiros RM, Lima TCM, Souccar C, Lapa AJ 2007. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: an in vivo approach to the hypotensive mechanism. *Phytomedicine* 14: 314-320.
- Luengas-Caicedo PE 2002. Variação sazonal da composição química de folhas de *Cecropia glaziovii* SnethIII, Anais da III Semana da Pós-Graduação da UFMG, Belo Horizonte.
- Macêdo MFS, Sisenando HAAACN, Queiroz JDF, Argolo ACC, Saturnino ACRD, Coelho LCBB, Batistuzzo-de-Medeiros SR 2008. Determining the genotoxicity of an aqueous infusion of *Bauhinia monandra* leaves. *Rev Bras Farmacogn* 18: 509-516.
- MacGregor JT, Heddle JA, Hite M, Margolin BH, Ramel C, Salamone MF, Tice RR, Wild D 1987. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mut Res* 189: 103-112.
- Morita T, Asano N, Awogi T, Sasaki YF, Sato S, Shimada H, Sutou S, Suzuli T, Wakata A, Sofuni T, Hayashi M 1997.

- Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (Group 1. 2A and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. *Mut Res* 389: 3-122.
- Nunes GP, Silva MF, Resende UM, Siqueira JM 2003. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 13: 83-92.
- Paulo PTC, Diniz MFFM, Medeiros IA, Morais LCSL, Andrade FB, Santos HB 2009. Ensaio clínico toxicológico, fase I, de um fitoterápico composto (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill). *Rev Bras Farmacogn* 19: 68-76.
- Perez-Guerrero C, Herrera MD, Ortiz R, Sotomayor MA, Fernández MA 2001. A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract. *J Ethnopharmacol* 76: 279-284.
- Rates SMK 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39: 603-613.
- Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK 2003. *Mutagênese Ambiental*. Canoas: ULBRA.
- Rocha FF, Lima-Landman MTR, Souccar C, Tanae MM, Lima TCM, Lapa AJ 2007a. Antidepressant-like effect of *Cecropia glaziovii* Sneth and its constituents - *In vivo* and *in vitro* characterization of the underlying mechanism. *Phytomedicine* 14: 396-402.
- Rocha GG, Simões M, Lúcio KA, Oliveira RR, Kaplanb MAC, Gatassa CR 2007b. Natural triterpenoids from *Cecropia lyratiloba* are cytotoxic to both sensitive and multidrug resistant leukemia cell lines. *Bioorg Med Chem* 15: 7355-7360.
- Ruiz ALTG, Taffarello D, Souza VHS, Carvalho JE 2008. Farmacologia e toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. *Rev Bras Farmacogn* 18: 295-300.
- Souza SAM 2005. *Biotestes na avaliação da fitotoxicidade de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul*. Pelotas, Monografia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 89 p.
- Souza AB, Souza LMS, Carvalho JCT, Maistro EL 2006. No clastogenic activity of *Caesalpinia ferrea* Mart. (Leguminosae) extract on bone marrow cells of Wistar rats. *Genet Mol Biol* 29: 380-383.
- Tagliati CA, Silva RP, Féres CAO, Jorge RM, Rocha OA, Braga FC 2008. Acute and chronic toxicological studies of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina®. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 676-682.
- Tanae MM, Lima-Landman MTR, Lima TCM, Souccar C, Lapa AJ 2007. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed with antihypertensive, bronchodilator, antacid secretion and antidepressant-like activities. *Phytomedicine* 14: 309-313.
- Teixeira RO, Camparoto ML, Mantovani MS, Vicentini VEP 2003. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays. *Genet Mol Biol* 26: 551-555.
- Vasconcelos THC, Modesto-Filho J, Diniz MFFM, Santos HB, Aguiar FB, Moreira PVL 2007. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). *Rev Bras Farmacogn* 17: 583-591.