



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

MARA LÍGIA RODRIGUES SOARES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE DO EXTRATO HIDRO
ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. ATRAVÉS DO TESTE
DE MICRONÚCLEOS EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS**

**CAMPINA GRANDE
2018**

MARA LIGIA RODRIGUES SOARES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE DO EXTRATO HIDRO
ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. ATRAVÉS DO TESTE
DE MICRONÚCLEOS EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação de Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, Campus I, como requisito
obrigatório para a obtenção do título de
farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Walclécio Morais Lira

CAMPINA GRANDE

2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S676a Soares, Mara Ligia Rodrigues.
Avaliação do potencial mutagênico de do extrato hidro
alcoólico das folhas de Prosopis juliflora (Sw.) DC. através do
teste de micronúcleos em sangue periférico de camundongos
[manuscrito] : / Mara Ligia Rodrigues Soares. - 2018.
19 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde , 2018.

"Orientação : Prof. Dr. Walclécio Morais Lira ,
Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Algaroba. 2. Farmacognosia. 3. Mutagênese. I. Título

21. ed. CDD 615.321

MARA LIGIA RODRIGUES SOARES

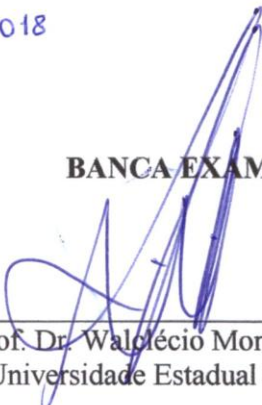
**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE *Prosopis juliflora* ATRAVÉS DO
TESTE DE MICRONÚCLEOS EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito obrigatório para a conclusão do curso
de Bacharel em Ciências Biológicas.

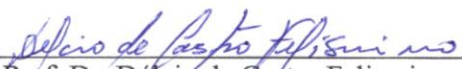
Área de concentração: Farmacognosia

Aprovada em: 10 / 07 / 2018

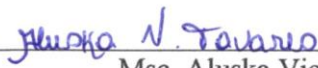
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Walclécio Morais Lira (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Délcio de Castro Felismino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Msc. Aluska Vieira Tavares
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar forças nos momento mais difíceis de minha vida. ... “Até aqui nos ajudou o Senhor” (1 Samuel 7:12b). À minha família, marido, filho e a meu pai, que sempre me apoiaram e acreditaram na minha capacidade em todos os momentos, de alegria ou tristeza, me dando todo o apoio possível.

Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos, principalmente a Janine, a Cristina e a Adara, que nesta caminhada sempre me apoiaram e contribuíram para meu crescimento como ser humano, sendo pessoas que para mim, representam uma segunda família.

Às minhas colegas de Universidade, Danielle, Aluska e Thalita, que foram minhas companheiras de trabalho e da marcante viagem em minha vida a congresso em Foz do Iguaçu.

Ao professor Waclécio, que tanto colaborou, tendo paciência e me mantendo sempre motivada, e a todos os professores que fizeram parte da minha formação acadêmica, tendo paciência e tolerância diante dos fatos que ocorreram durante esta caminhada. A todos vocês, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. METODOLOGIA.....	7
2.1 Obtenção do material vegetal	7
2.2 Obtenção do extrato	7
2.3 Animais.....	8
2.4 Ensaio mutagênico.....	8
2.5 Controle positivo	8
2.6 Controle negativo	8
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
4. CONCLUSÃO.....	12
REFERÊNCIAS.....	.14

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEOS EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS

Mara Lígia Rodrigues Soares

RESUMO

Prosopis juliflora (Algaroba), é uma planta exótica em território brasileiro, de ampla distribuição na região semiárida. Devido à adaptabilidade e aos múltiplos usos associados, se faz importante no que diz respeito ao forrageio animal e humano. Além disso, apresenta propriedades medicinais, que está por sua vez relacionada aos metabólitos secundários. No entanto, se desconhece possível potencial mutagênico associado como um limitante ao seu uso indiscriminado. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o possível potencial mutagênico do extrato hidroalcoólico da Algaroba nas doses de 2000 mg, 1000 mg e 500mg/kg p.c. através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos. Os animais foram distribuídos em cinco grupos, cada grupo formado por três machos e três fêmeas para cada dosagem do tratamento. Foi estabelecido um grupo controle positivo no qual os animais foram tratados com ciclofosfamida (50 mg/kg p.c.), e um grupo controle negativo tratado com água. De acordo com a análise estatística (teste T de Student - $p \leq 0,05$), não houve diferenças significativas entre a frequência média de micronúcleos nas concentrações de 500mg e 1000 mg, quando comparado com a frequência média do controle negativo. Porém, para a dosagem correspondente a 2000mg, observa-se uma frequência média de micronúcleos significativamente maior quando comparado com o controle negativo, o que indica potencial mutagênico. Não houve diferença significativa entre a média de micronúcleos e o sexo dos animais. Faz-se necessários maiores estudos tendo em vista resguardar tanto o uso humano quanto o uso animal de danos no DNA.

Palavras chave: Algaroba. Farmacognosia. Semiárido.

1 INTRODUÇÃO

Prosopis juliflora (Sw.) DC., popularmente como Algaroba, Algarobeira ou Algarobo, é uma planta pertencente à família *Fabaceae*, subfamília *Mimosidae*. Nativa do território peruano espalhou-se por regiões áridas e semiáridas dos continentes Asiático, Africano e Americano (SILVA, 1997). No Brasil, adaptou-se e difundiu-se rapidamente na região Nordeste, tendo em vista as características climáticas favoráveis, em especial ao déficit hídrico, que não constitui um fator limitante para o desenvolvimento desta espécie. Por volta da década de 40 do século passado, na busca por alternativas que pudessem mitigar os prejuízos das secas e suas sequelas na região do Nordeste; modelos, tecnologias e insumos

foram incentivados pelo governo, pondo a Algaroba então como uma opção econômica para o semi-árido (GOMES 1961; AZEVEDO 1982; OLIVEIRA et al. 1999), principalmente pelo seu potencial de uso no forrageiro animal e madeireiro (RIBASKI 1987; MENDES 1989).

Desde então, o uso da Algaroba persiste no Nordeste brasileiro até os dias atuais, sendo não mais aplicado apenas ao forrageio animal. A produção de carvão vegetal, álcool, melação, apicultura, reflorestamento, jardinagem, sombreamento e direcionado a alimentação humana (PEREZ et al., 1991; VIEIRA et al., 1995; SILVA, 2009), constituem alguns dos múltiplos usos. Toda essa potencialidade agrega valor econômico e cultural aos povos onde este recurso vegetal está inserido e contribui para o desenvolvimento local.

De modo nutricional, é uma importante fonte de carboidratos e proteínas, sendo nos frutos e sementes a presença das maiores concentrações de proteínas, com valores variáveis 34-39 % e entre 7-8% de óleos. As vagens por sua vez, possuem 13 % de proteína bruta e apresentam digestibilidade acima de 74 %. Quanto às folhas, de menor palatibilidade, o teor de proteico é de 18 %, digestibilidade 59 % e tanino 1,9 % (RIBASKI, 2009).

Ainda, a presença de metabólitos secundários com ação farmacológica, como os alcaloides, terpenóides, taninos e flavonoides, faz com que esta planta tenha aplicabilidade medicinal, como no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas, processos inflamatórios e crescimento de massas tumorais (AHMAD et al., 1988; AHMAD et al., 1989; AQEEL et al., 1989; BATATINHA, 1997; EL-MERZABANI et al., 1979; SHANKARMURTHY, SIDDIQUI, 1948; KANTHASAMY et al., 1989a; KANTHASAMY et al., 1989a).

Mesmo diante de todo o benefício que possui a Algaroba para o semiárido brasileiro, é de extrema importância a realização de ensaios que avaliem os potenciais riscos associados ao seu uso, entre eles a mutagenicidade. Logo, considerando que algumas substâncias ativas que constituem os princípios ativos de algumas plantas podem causar efeitos adversos (ALEXANDRE et al., 2005; ALMEIDA NETO et al., 2005), a avaliação de possíveis riscos potenciais, tratar-se de uma medida cautelar a segurança do uso popular (ELGORASHI et al., 2003; ARORA et al., 2005). Considerando-se o potencial a capacidade de indução ao processo mutacional.

O teste de micronúcleos consiste em uma técnica citogenética de rápida e eficiente aplicabilidade, capaz de detectar a ação de agentes clastogênicos e aneugênicos por meio da formação de micronúcleos. Micronúcleos são definidos como desagregados de cromatina do núcleo principal da célula, formados pela extrusão de cromossomos inteiros ou fragmentos durante a divisão celular como resultado de mitoses aberrantes (REIS et al., 2004). Estudos

demonstram que o sangue periférico pode ser utilizado de modo satisfatório na detecção de agentes genotóxicos (HAMADA et al., 2001; DERTINGER et al., 2006) e a elevada frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados, atua como marcador biológico de danos genéticos ocasionados por uma prévia exposição, e pode ser utilizado como indicador de mutagenicidade. (RIBEIRO, 2003).

A fim de agregar conhecimento a cerca desta planta, tendo em vista sua importância ao semiárido brasileiro e o amplo campo a ser explorado através das pesquisas, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o possível potencial mutagênico do extrato hidroalcoólico da folha de *Prosopis juliflora*, por meio da análise de eritrócitos policromáticos obtidos pela coleta de sangue periférico de camundongos.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do material vegetal

As folhas de *Prosopis juliflora* foram coletadas no Parque Maria da Luz, situado no estado da Paraíba, a partir de plantas adultas previamente selecionadas em estado vegetativo. A coleta foi realizada no mês de setembro, no horário das 18h00min. Duas amostras foram acondicionadas separadamente em sacos de papel tipo Kraft e transportadas para os laboratórios de Botânica e de Farmacognosia - Universidade Estadual da Paraíba. Após a identificação botânica e a preparação das exsiccatas, foi depositado o material vegetal no Herbário Arruda Câmara. Em seguida, o material vegetal foi submetido aos processos de obtenção do extrato vegetal no Laboratório de Farmacognosia.

2.2 Obtenção do extrato

O extrato hidroalcoólico a 70% da folha de *P. juliflora* foi preparado a partir da orientação do processo "A" da Farmacopeia Brasileira (DIAS DA SILVA, 1929), adaptado por Yunes et al., (2000), onde a secagem do material vegetal coletado foi realizada a temperatura ambiente e completado em estufa a 40°C, sendo acompanhado o peso seco dia a dia até a obtenção de um padrão de umidade de 20%. As folhas secas foram colocadas em contato com solução hidroalcoólica (álcool etílico a 70%) durante uma semana. O extrato bruto foi concentrado em percolador. Em seguida, foi levado ao evaporador rotativo com banho maria, para que o mesmo ficasse com a consistência pastosa, o que foi obtido. O mesmo ficou com a consistência de pasta e com a coloração amarelada. Todo procedimento

foi realizado nos laboratórios do Centro de Ciência e Tecnologia, no setor de Química da Universidade Estadual da Paraíba.

2.3 Animais

Foram utilizados camundongos da espécie *Mus musculus* (Swiss albino) com peso corpóreo variando entre 24-30g, provenientes do laboratório de biogenética da Universidade Estadual da Paraíba. Durante o tratamento, os animais foram mantidos em caixas individuais de polipropileno, com água e ração *ad libitum* e ciclo claro/escuro de 12 horas. Posteriormente, foram distribuídos em grupos (cada grupo com 3 machos e 3 fêmeas) para realização do tratamento teste.

2.4 Ensaio mutagênico

Para avaliação do potencial mutagênico os animais foram distribuídos em cinco grupos de tratamentos. Cada grupo foi constituído de três machos e três fêmeas. Três grupos foram tratados via *gavage*, com três concentrações do extrato: 500 mg/kg, 1000 mg/kg e 2000 mg/kg de peso corpóreo. E dois formaram os grupos controle positivo e negativos. No controle positivo, os animais foram tratados com 50 mg/kg de peso corpóreo de ciclofosfamida via intraperitoneal,. Para o controle negativo, os animais foram tratados com água destilada via *gavage*. Para todos os animais observou-se o volume máximo de 0,1mL para cada 10 g de peso corpóreo.

2.5 Preparação das lâminas

Trinta horas após o tratamento, foi coletado aproximadamente 5 μ L de sangue (uma gota) via punção caudal, para a confecção do esfregaço sanguíneo. As lâminas foram feitas em duplicata para cada animal, sendo que cada uma foi devidamente codificada para análise em teste cego. Após 24h, as lâminas foram fixadas no álcool metílico por 10 minutos e secas a temperatura ambiente. A coloração foi feita com Giemsa, durante 15 minutos. Para retirar o excesso de corante presente nas lâminas, as mesmas foram lavadas com água destilada. As lâminas prontas e secas foram então armazenadas em geladeira até a análise citológica.

2.6 Análises

Para a análise citológica foi utilizado microscópio óptico com aumento de 1000x. Foram contabilizados 2000 eritrócitos policromáticos por animal para a verificação da

frequência de células micronucleadas nos diferentes tratamentos realizados. O protocolo adotado para a realização dos ensaios foi descrito por Hayashi et al., (1994). A partir dos resultados foi empregado o teste-T de Student, com nível de significância de 5% ($p > 0,05$), para as diferenças estatísticas significativas (Software Excel 2010). A determinação da mutagenicidade foi realizada comparando-se a frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados dos grupos tratados com extrato com os resultados do grupo controle negativo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mutagenicidade está ligada a capacidade que algumas substâncias possuem em induzir mutações ao DNA (RIBEIRO et al., 2003). Muitos trabalhos têm relacionado a ingestão de determinados compostos alimentícios, mesmo que naturais, com a indução aos eventos mutacionais, sendo estes ligados ao desenvolvimento de câncer (ANTUNES; ARAÚJO, 2000) na ordem de até um terço de todos os cânceres humanos (AMES, 1983; RENNER, 1990).

No contexto da avaliação de substâncias potencialmente nocivas a saúde humana, o teste de micronúcleos e sua detecção de danos irreparáveis ao DNA (HEUSER et al, 2002) é um método avaliativo dos mais simples, rápidos e precisos a ser realizados e contribui substancialmente para a redução dos riscos à população, seja pelo consumo direto por meio da alimentação de origem animal (HOEBEE, STOPPELAAR, 1996; ZUCCHI et al, 2004). Estudos toxicológicos avaliando o perfil de compostos químicos provenientes de plantas ainda são limitados tendo em vista a enorme biodiversidade vegetal, e desta forma, os efeitos adversos associados também não são suficientemente conhecidos (ELGORASHI et al., 2003).

Os resultados da investigação do potencial mutagênico de *Prosopis juliflora* estão abaixo representados (TAB 1). De acordo com a análise estatística dos dados, verificou-se que não houve diferenças significativas entre a frequência média das doses de extrato correspondente a 500mg e 1000 mg/kg.pc., quando comparadas com a frequência média do controle negativo, não indicando mutagenicidade. Porém para dosagem testada correspondente a 2000mg, observa-se uma frequência média de micronúcleos maior, que diferiu significativamente quando comparado com o controle negativo, o que indica potencial mutagênico. O efeito mutagênico de substâncias vegetais apenas em concentrações mais elevadas já foi verificado em avaliação de mutagenicidade com outros vegetais, como a

Turnera ulmifolia (SILVA; MOURA; NETO, 2015) e a *Jatropha gossypifolia* (SENES-LOPES; GUTERRES, 2012).

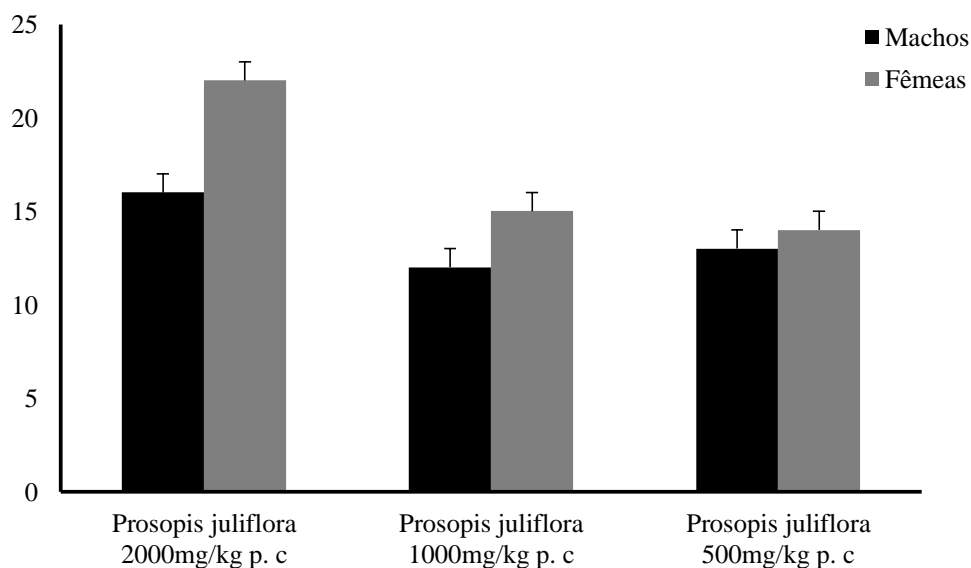
O gráfico 1 revela um discreto aumento na frequência de micronúcleos entre fêmeas. Contudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa. As diferenças entre as frequências de micronúcleos entre os sexos dos animais, não foram distintas significativamente, sendo a quantidade de micronúcleos semelhante entre os machos e as fêmeas. Este é um importante índice avaliativo, uma vez que, em camundongos, algumas substâncias possuem um mecanismo de interação diferencial de acordo com o sexo (MALUF, 1994) (Gráfico 1).

Tabela 1 - Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão das dosagens de 2000 mg/kg p. c., 1000 mg/kg p. c. e 500 mg/kg p. c. de *Prosopis juliflora*

Tratamento/Concentração	M1	M2	M3	F1	F2	F3	Média±SD
Controle Positivo	22	21	24	27	19	26	23.1±3.06
Controle negativo	0	3	2	0	4	3	2.00±1.67
<i>Prosopis juliflora</i> 2000mg/kg p.c	7	6	3	8	6	8	6.33±1.86
<i>Prosopis juliflora</i> 1000mg/kg p.c	4	5	3	7	2	6	4.50±1.87
<i>Prosopis juliflora</i> 500mg/kg p.c	7	4	2	4	6	4	4.50±1.76

Controle negativo=Água destilada; Controle positivo= Ciclofosfamida 50 mg/kg p. c.; SD = Desvio Padrão; M= Machos; F= Fêmeas; p<0,05.

Gráfico 1 – Gráfico de barras em representação das diferenças médias de micronúcleos entre machos e fêmeas em cada grupo controle.



A atividade biológica das plantas está ligada a produção de metabólitos secundários, compostos bioativos responsáveis pela ação farmacológica (AGRA et al., 2007). A literatura aponta diversos metabólitos secundários produzidos por esta espécie vegetal, tais como: alcaloides (AHMAD et al., 1989 a; AHMAD et al., 1991) flavonóides (SHUKLA et al., 1980; SHUKLA; MISRA, 1981; VAJPEYI; MISRA, 1981; MALHOTRA; MISRA, 1983 a,b), terpenóides (AHMAD; SULTANA, 1989; EL-SKHAWY et al., 1991) e taninos (MALHOTA; MISRA, 1981 a, b; MALHOTA; MISRA, 1983 b,c). Os alcaloides são os principais ativos de *Prosopis juliflora*, sendo produzidos alcaloides da classe dos piperidínicos (CUNHA, 2012). Estudos realizados tanto com extratos brutos quanto com alcalóides isolados, atribuem a este vegetal atividades benéficas tais como: antibacteriana (SHANKARMURTHY, SIDDIQUI, 1948; AHMAD et al., 1988; AQEEL et al., 1989; KANTHASAMY et al., 1989a), antifúngica (AHMAD et al., 1989; KANTHASAMY et al., 1989a), anti-inflamatória (AHMAD et al., 1989), antiespasmódica (DHAWAN et al., 1977) e antitumoral contra células epiteliais humanas (HeLa), tumor hepático humano (HepG2) e duas linhagens de fibroblastos, F26 e F57, (EL-MERZABANI et al., 1979; BATATINHA, 1997).

No entanto, uma série de outros estudos apontam para atividades hemolítica (KANDASAMY et al., 1989b), hipotérmica (DRAWAN et al., 1977) e inibidora de tripsina (GIRAL et al., 1978); malefícios como: atividade teratogênica (MEDEIROS et al., 2014) e tóxica, exibindo-se na forma de mortalidade e distúrbios neurológicos (TABOSA et al., 2000a; TABOSA et al., 2000b; QUINTANS JÚNIOR; 2004). Estes distúrbios neurológicos são ocasionados pela degeneração de alguns núcleos dos nervos cranianos, manifestando a “cara torta” em bovinos e caprinos alimentados com rações contendo 60-90% de vagens de *Prosopis juliflora*, especialmente após exposição prolongada (> 210 dias) (TABOSA et al. 2000a), justamente o que ocorre quando este é oferecido durante condições extremas de seca sendo, muitas vezes, o único sustento para o animal.

A doença chamada “cara torta”, popularmente conhecida devido ao desvio lateral da cabeça realizado pelo animal para manter o alimento na cavidade oral, vem sendo relatada na literatura desde 1981 (FIGUEIREDO et al., 1995; DANTAS, 1996), nos Estados Unidos (DOLLAHITE et al., 1957), Peru (BACA, 1967) e no Brasil. Caracteriza-se por alterações neuro-musculares, como emagrecimento, atrofia muscular do masseter, espongiose e gliose (FIGUEIREDO et al., 1995). Embora a juliprosopina, o principal constituinte fitoquímico da ordem dos alcaloides seja associada com o efeito tóxico, é sugestivo que a combinação de

vários alcaloides, presentes na forma *in nature* seria ainda mais maléfico devido ao sinergismo entre substâncias constituintes da planta (TABOSA et al., 2000).

Biologicamente, os alcaloides desempenham um papel importante nas defesas químicas das plantas devido aos efeitos fisiológicos que exercem sobre os animais, atuando principalmente contra a herbivoria (FUMAGALI et al, 2008). Ao interagir com sistemas biológicos, não há completa elucidação dos possíveis efeitos de frações isoladas ou combinadas diante da vasta flora associada aos diversos usos humano. Aos flavonóides, terpenos e taninos, são atribuídas outras funções fisiológicas, mas quanto as suas ações farmacológicas em *Prosopis juliflora*, pouco é desenvolvido pela já sabida ação dos alcaloides. Mesmo em vista a potencialidade econômica da introdução da Algaroba em território brasileiro, principalmente o Nordeste do país onde cresce o sistema agropastoril, esta expansão esconde uma grande problemática, relacionada a invasão biológica e suas consequências, uma vez que esta espécie é uma exótica com grande potencial invasivo (PEGADO et al., 2006; ANDRADE et al., 2008), alterando fortemente a composição, estrutura e a diversidade da Caatinga (ANDRADE et al., 2009).

Desta forma, o presente estudo, ao verificar mutagenicidade de *Prosopis juliflora* em grandes concentrações, propõe um uso cauteloso, tendo em vista a segurança do uso popular (ELGORASHI et al., 2003; ARORA et al., 2005), considerando-se a capacidade de indução ao processo mutacional, e que este está diretamente relacionado com o surgimento de câncer. Ressaltamos ainda que, os resultados de teste de produtos naturais refletem a interação entre os compostos químicos presentes no extrato com o sistema biológico, passível de alterações quando avaliamos a composição química entre diferentes partes de uma mesma planta, estações do ano e horário do dia de coleta distintos, o ambiente de cultivo, o solo e a nutrição da planta, influenciando a presença ou a ausência de efeitos mutagênicos e antimutagênico (DE BONA, 2012; GOBBO-NETO & LOPES, 2000).

4 CONCLUSÃO

De acordo com resultados acima discutidos, o extrato alcoólico de *Prosopis juliflora* apresentou potencial mutagênico apenas na maior dose testada e não houve relação entre a mutagenicidade e o sexo dos animais. A presença de alcaloides tóxicos, conforme reportado pela literatura, em sinergismos com outros metabólitos secundários e substâncias podem, em potencial, serem responsáveis pelo grau de mutagenicidade encontrado. Contudo, são

necessários estudos com frações isoladas dos metabolitos secundários constituintes do vegetal tendo em vista resguardar tanto o uso humano quanto animal de danos ao DNA.

EVALUATION OF THE MUTAGENIC POTENTIAL OF *Prosopis juliflora* DC. (SW.)
THROUGH THE TEST OF MICRONUCESSES IN PERIPHERAL BLOOD OF MICE

ABSTRACT

Prosopis juliflora (Algaroba), is an exotic plant in Brazilian territory, widely distributed in the semi-arid region. Due to the adaptability and the multiple associated uses, it becomes important with regard to animal and human foraging. In addition, it has medicinal properties, which are in turn related to secondary metabolites. However, it is not known possible associated mutagenic potential as a limiting to its indiscriminate use. In view of this, the objective of this study was to evaluate the possible mutagenic potential of the hydroalcoholic extract of Algaroba at doses of 2000 mg, 1000 mg and 500 mg / kg p.c. through the micronucleus test in peripheral blood of mice. The animals were divided into five groups, each group consisting of three males and three females for each treatment dosage. A positive control group was established in which the animals were treated with cyclophosphamide (50 mg / kg b.w.), and a negative control group treated with water. According to the statistical analysis (Student's t test - $p \leq 0.05$), there were no significant differences between the mean frequency of micronuclei in the extract corresponding to 500mg and 1000mg, when compared with the mean frequency of the negative control. However, for the dosage corresponding to 2000 mg, a significantly higher mean micronucleus frequency is observed when compared to the negative control, which indicates a mutagenic potential. There was no significant difference between the mean micronuclei and the sex of the animals. Further studies are needed to safeguard both human and animal use of DNA damage.

Keywords: Algaroba. Pharmacognosy. Semi-arid.

REFERÊNCIAS

AGRA, Maria de Fátima; FREITAS, Patrícia França de; BARBOSA-FILHO, José Maria. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AHMAD, A. et al. Antifungal activity of some hydrosoluble *Prosopis juliflora* alkaloids. **Fitoterapia**, v. 60, p. 86-89, 1989a.

AHMAD, A. et al. Antibacterial activity of an alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*. **Fitoterapia**, v. 59, p. 481-484, 1988b.

AQEEL, A. et al. Antimicrobial activity of julifloricine isolated from *Prosopis juliflora*. **Arzneimittel-forschung**, v. 39, n. 6, p. 652-655, 1989.

ALMEIDA, Jorge Xavier et al. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) in vivo. **Revista de biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.

AMES, Bruce N. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. **Science**, v. 221, n. 4617, p. 1256-1264, 1983.

ANDRADE, LA de; FABRICANTE, J. R.; ALVES, A. de S. Algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.: impactos sobre a fitodiversidade e estratégias de colonização em área invadida na Paraíba.[The algarrobe *Prosopis juliflora* (Sw) DC. impacts over phytodiversity and colonization strategies in invaded areas in Paraíba, Brazil]. **Natureza & conservação (Brasil)**, v. 6, p. 169-175, 2008.

ANDRADE, Leonaldo Alves; FABRICANTE, Juliano Ricardo; DE OLIVEIRA, Franciêdo Xavier. Invasão biológica por *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: impactos sobre a diversidade e a estrutura do componente arbustivo-arbóreo da caatinga no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta botânica brasílica**, v. 23, n. 4, p. 935-943, 2009.

ANTUNES, Lusânia Maria Gregg; ARAÚJO, Maria Cristina Paiva. Mutagenicity and antimutagenicity of the main food colorings. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 81-88, 2000.

ALEXANDRE, Rodrigo Fernandes; GARCIA, Fernanda Nath; SIMOES, Cláudia Maria Oliveira. Fitoterapia baseada em evidências. Parte 1. Medicamentos fitoterápicos elaborados com ginkgo, hipérico, kava e valeriana. **Acta farmaceutica bonaerense**, v. 24, n. 2, p. 300, 2005.

ARORA, Saroj et al. Evaluation of genotoxicity of medicinal plant extracts by the comet and VITOTOX® tests. **Journal of environmental pathology, toxicology and oncology**, v. 24, n. 3, 2005.

AZEVEDO, G. de. Como e porque a Algaroba foi introduzida no Nordeste. **I Simpósio Brasileiro sobre Algaroba, Natal**, p. 5-7, 1982.

BACA, S. F. et al. Estudio experimental de la “Coquera” en caprinos. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária**, v. 18, n. 20, p. 131-159, 1967.

BATATINHA, M. J. M. Investigations on toxic influences of *Prosopis juliflora* DC (Algarobeira) on cell cultures as well as on ruminal fermentation in cattle (in vitro). **Hannover: Veterinary Medicine University**, p. 189, 1997.

CAMPELO, C. R. **Algaroba: planta mágica**. Edicoes Edificantes, 1997.

DHAWAN, B. N.; PATNAIK, G. K.; RASTOGI, R. P.; SIGH, K. K.; TANDON, J. S. Screening of Indian plants for biological activity. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.15, p.208-219, 1997.

DANTAS, J. R. F. Cara torta, uma doença que atinge bovinos da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, Brasil. v.66, p.32, 1996.

BATITUCCI, Maria do Carmo Pimentel et al. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.) através do Teste de Micronúcleo em roedores. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2012.

DOLLAHITE, James W.; ANTHONY, W. V. **Malnutrition in cattle on an unbalanced diet of mesquite beans**. Texas Agricultural Experiment Station, 1957.

ELGORASHI, Esameldin E. et al. Screening of medicinal plants used in South African traditional medicine for genotoxic effects. **Toxicology letters**, v. 143, n. 2, p. 195-207, 2003.

EL-MERZABANI, M. M. et al. Screening System for Egyptian Plants with Potential Anti-Tumour Activity. **Planta medica**, v. 36, n. 06, p. 150-155, 1979

FIGUEIREDO, L. J. C. et al. Estudo clínico e anátomopatológico da doença “cara torta” em bovinos no nordeste brasileiro. **Arquivos de Medicina Veterinária - UFBA**, v. 18, p. 175-183, 1995.

FUMAGALI, Elisângela et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GIRAL, F.; SOTELO, A.; LUCAS, B.; DE-LA-VEJA, A. Chemical compositions and toxic factors content in fifteen Leguminosae seeds. **Quarterly Journal of Crude Drug Research**. v.16, p.143-144, 1978.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GOMES, P. **A algarobeira**. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola. P.49, 1961.

HAYASI, Makoto et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 3, p. 293-304, 1994.

HEUSER, Vanina D. et al. Genotoxicity biomonitoring in regions exposed to vehicle emissions using the comet assay and the micronucleus test in native rodent *Ctenomys minutus*. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 40, n. 4, p. 227-235, 2002.

HOEBEE, Barbara; DE STOPPELAAR, Joyce M. The isolation of rat chromosome probes and their application in cytogenetic tests. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 372, n. 2, p. 205-210, 1996.

LIMA, P. C. F. Produção de vagens de Algaroba. **Revista da Associação Brasileira de**, 1987.

KANDASAMY, A.; WILLIAM, S.; GOVINDASAMY, S. Hemolytic effect of *Prosopis juliflora* alkaloids. **Current Science**, v. 58, n. 3, p. 142-144, 1989.

KANTHASAMY, A.; SUBRAMANIAN, S.; GOVINDASAMY, S. Bactericidal and fungicidal effects of *Prosopis juliflora* alkaloidal fraction. **Indian Drugs**, v. 26, n. 8, p. 390-394, 1989a.

- MALUF, S. W. **Monitoramento da Genotoxicidade causada por exposição ocupacional**. 1994, 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- MEDEIROS, Marcia A. et al. Efeitos teratogênicos de *Prosopis juliflora* em ratos e análise da toxicidade e das vagens. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 1089-1093, 2014.
- MENDES, B. V. Potencialidades de utilização da algarobeira (*Prosopis juliflora* (SW) DC) no semi-árido brasileiro. **Mossoró: Coleção Mossoroense**, v. 1, n. 3, 1987.
- OLIVEIRA, MR de et al. Estudo das condições de cultivo da Algaroba e Jurema preta e determinação do poder calorífico. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v. 14, p. 93-104, 1999.
- PEGADO, Cláudia Maria Alves et al. Efeitos da invasão biológica de algaroba-*Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 887-898, 2006.
- DE ANDRADE, Sonia Cristina Juliano Gualtieri et al. Influência do estresse hídrico e do pH no processo germinativo da algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 7, p. 981-988, 1991.
- QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo José et al. Toxicidade aguda e alterações comportamentais induzidas pela fração de alcalóides totais das vagens de *Prosopis juliflora* (Sw) DC (Leguminosae) em roedores. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 1, p. 5-10, 2004.
- RIBASKI, Jorge et al. Algaroba (*Prosopis juliflora*): árvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2009.
- SENES-LOPES, Tiago Felipe; GUTERRES, Zaira Rosa. INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Jatropha gossypifolia* L.(EUPHORBIACEAE) EM CÉLULAS SOMÁTICAS DE *Drosophila melanogaster*. **ANAIS DO ENIC**, v. 1, n. 4, 2012.
- SHANKARMURTHY, P.; SIDDIQUI, S. Antibiotic activity of leaf extracts of *Prosopis juliflora*. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 7, p. 188, 1948.
- SILVA, Anna Erika Pinheiro et al. Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica da *Turnera ulmifolia* L.(chanana) em células eucarióticas/evaluation toxicity, cytotoxic, genotoxic

and mutagenic evaluation of *Turnera ulmifolia* L.(chanana) in eukaryotic cells. **Saúde em Foco**, v. 2, n. 1, p. 25-48, 2015.

TABOSA, I. M. et al. Isolamento biomonitorado de alcalóides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9, n. 1, p. 11-22, 2000a.

TABOSA, I. M. et al. Neuronal vacuolation of the trigeminal nuclei in goats caused by ingestion of *Prosopis juliflora* pods (mesquite beans). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 42, n. 3, p. 155-158, 2000b.

REIS, Silvia Regina de Almeida et al. Avaliação da presença de micronúcleos em células esfoliadas da língua de indivíduos dependentes químicos de etanol através dos métodos de Feulgen e Papanicolau. **Revista Odonto Ciência**, p. 367-371, 2004.

SILVA, C. G. **Otimização das etapas de produção da aguardente de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw DC) e aproveitamento dos resíduos resultantes em produtos alimentares**. 2009. Tese de Doutorado em Engenharia de Processo. Universidade Federal de Campina Grande – Campina Grande, PB.

DE ANDRADE, Sonia Cristina Juliano Gualtieri et al. Influência do estresse hídrico e do pH no processo germinativo da algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 7, p. 981-988, 1991.

RENNER, H. W. In vivo effects of single or combined dietary antimutagens on mutagen-induced chromosomal aberrations. **Mutation Research Letters**, v. 244, n. 2, p. 185-188, 1990.

RIBASKI, J. Comportamento da algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC) e do capim-búfel (*Centrus ciliaris* L.) em plantio consorciado, na região de Petrolina-PE: I Simpósio Brasileiro sobre Algaroba Mossoró:(Coleção Mossoroense). **Revista da Associação Brasileira de Algaroba**, v. 1, n. 2, 1987.

SILVA, S. **Algarobeira**. Natal, Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas/Rio Grande do Norte, 1997.

VIEIRA, Renata Lúcia; GUERRA, Nonete Barbosa; FREITAS, Edleide Maria. Sucedâneo do Café a partir de *Prosopis juliflora* DC. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 121-124, 1995.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: Sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. **Plantas medicinais. Sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Editora Argus**, p. 19-46, 2001.

ZUCCHI, T. M. A. D.; POLI, P.; DE MELLO, M. A.; ZUCCHI, T. D.; ZUCCHI, F. D.; DE CASTRO, V. L. S. S. Biomarcadores: Sentinelas Ambientais. In: Binsfeld, P. C. (organizador). Biossegurança em Biotecnologia. **Interciência**, p.367, 2004.