



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

VITÓRIA DAYSE ALVES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE
JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEO EM
SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER
HETEROGÊNICO**

**CAMPINA GRANDE, PB
2024**

VITÓRIA DAYSE ALVES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE
JATOBÁ (*Hymenaea courbaril L.*) ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEO EM
SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER
HETEROGÊNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado ao Departamento do Curso de Ciências biológicas da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como requisito parcial à obtenção do título de Graduação em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Genética

Orientador: Prof. Dr. Walclécio Moraes Lira

**CAMPINA GRANDE, PB
2024**

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.

F363a Fernandes, Vitoria Dayse Alves.

Avaliação do potencial mutagênico do extrato etanólico de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos Swiss Webster heterogênico [manuscrito] / Vitoria Dayse Alves Fernandes. - 2024.

28 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. Waldécio Moraes Lira, Departamento de Biologia - CCBS. "

1. Mutagenicidade. 2. Farmacognosia. 3. Extrato vegetal. I.

Título

21. ed. CDD 570

VITÓRIA DAYSE ALVES FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE
JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEO EM
SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER
HETEROGÊNICO**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado ao Departamento do Curso de Ciências biológicas da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como requisito parcial à obtenção do título de Graduação em Ciências Biológicas.

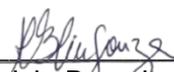
Área de concentração: Genética

Aprovada em: 27/06/2024.

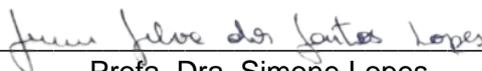
BANCA EXAMINADORA



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



Dra. Aletheia Carízia Baracho de Lima Souza
Med. Vet. Responsável Técnica e Coordenadora do
Centro de Bioterismo UEPB (Grupo Biotec)



Profa. Dra. Simone Lopes
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Aos meus pais José Antônio Fernandes e Darlene Bento Fernandes, que contribuíram com todo apoio, amor e dedicação pelo meu desenvolvimento pessoal e profissional,
DEDICO.

“Consagre ao senhor tudo o que você faz
e os seus planos serão bem-sucedidos”

Prov. 16:3

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Formação do micronúcleo	10
Figura 2. Folhas de <i>Hymenaea Courbaril L.</i>	15
Figura 3. Árvore de <i>Hymenaea Courbaril L.</i>	15
Figura 4. Administração via gavagem	15
Figura 5. Administração via intraperitoneal.....	15
Figura 6. Coloração das lâminas	16
Figura 7. Eritrócitos dos camundongos estudados	16
Figura 8. Diferença na coloração de PCE e NCE: (a) eritrócito policromático micronucleado (PCEMN); (b) eritrócito policromático; (c) eritrócito normocromático	16
Figura 9. Número de micronúcleos nos grupos de tratamento e grupos controle.	17
Figura 10. Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média e comparação entre as dosagens de 1000, 2000, 500mg/kg p.c. do extrato de <i>Hymenaea courbaril L.</i> e o grupo controle negativo, segundo a frequência de micronúcleos encontrada	19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão nas dosagens de 1000, 2000, 500mg/kg p.c. do extrato de <i>Hymenaea courbaril L.</i>	18
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	<i>Hymenaeae courbaril L.</i>	11
1.2	Fitoterápicos	12
2	METODOLOGIA	14
2.1	Obtenção do extrato etanólico	14
2.2	Animais	15
2.3	Teste de Mutagenicidade	15
2.4	Obtenção do sangue	16
2.5	Preparação das lâminas	16
2.6	Análise citológica	16
2.7	Análise estatística	17
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
4	CONCLUSÃO	20
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
	AGRADECIMENTOS	25

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) ATRAVÉS DO TESTE DE MICRONÚCLEO EM SANGUE PERIFÉRICO DE CAMUNDONGOS SWISS WEBSTER HETEROGÊNICO

Vitória Dayse Alves Fernandes ¹

RESUMO

A medicina popular faz uso das plantas medicinais para o tratamento de enfermidades, como processos inflamatórios e infecciosos, e isso gera o consumo desordenado desses fitoterápicos pela população, que não reconhece os seus efeitos adversos. A *Hymenaea Courbaril* L. (Jatobá), pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), possui abrangência em sua distribuição geográfica e costuma ser muito utilizada como fonte terapêutica para várias enfermidades com efeito vermífugo, antimicrobiano e antioxidante, por exemplo. Visto que essa é uma planta com propriedades terapêuticas, a necessidade de estudar e garantir a sua segurança toxicogenética para a população consumidora surge e um dos bioensaios responsáveis por este feito é o teste de micronúcleo, um teste importante devido a sua rapidez na realização experimental e a sua eficácia nos resultados. Os micronúcleos são fragmentos cromossômicos e/ou cromossomos inteiros que se separam do núcleo principal durante a divisão celular e são frequentemente utilizados como indicadores de danos ou instabilidade genômica. Esses micronúcleos surgem de forma espontânea no organismo, mas o aumento em sua frequência indica uma interação com agentes indutores de mutação e/ou agentes genotóxicos. Com isso, o presente estudo busca avaliar o potencial mutagênico e/ou genotóxico do extrato etanólico da folha do jatobá através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos, por meio do qual foi verificada a frequência desses micronúcleos segundo os grupos de tratamento em comparação com os grupos controle. Para este teste, os animais foram divididos em cinco grupos, cada um formado por seis animais, três machos e três fêmeas. Três grupos foram submetidos ao tratamento com o extrato, recebendo às doses de 500mg, 1000mg e 2000mg/kg p.c. via gavagem. O grupo controle positivo foi tratado com ciclofosfamida (50mg/kg p.c.) via intraperitoneal e o grupo controle negativo tratado com água destilada via gavagem. Trinta horas após o tratamento, a colheita de sangue foi realizada, os esfregaços sanguíneos confeccionados em seguida corados e analisados ao microscópio óptico. Após a análise das lâminas, foi possível observar que as células analisadas não apresentaram um aumento significativo na formação de micronúcleos, sugerindo a ausência de mutagenicidade, sendo assim, o presente estudo auxiliou a esclarecer que o Jatobá não apresentou potencial mutagênico e/ou genotóxico, reforçando que o jatobá é seguro do ponto de vista genotóxico e mutagênico, podendo ser utilizado sem o risco de induzir danos ao material genético.

Palavras-chave: mutagenicidade; farmacognosia; extrato vegetal.

¹ Graduanda do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas UEPB/ CCBS/ Departamento de biologia, Campus I

ABSTRACT

Popular medicine uses medicinal plants to treat illnesses, such as inflammatory and infectious processes, and this generates the disordered consumption of these herbal medicines by the population, who do not recognize their adverse effects. *Hymenaea Courbaril* L. (Jatobá), belonging to the Fabaceae (Leguminosae) family, has a wide geographic distribution and is often used as a therapeutic source for various diseases with vermifuge, antimicrobial and antioxidant effects, for example. Since this is a plant with therapeutic properties, the need to study and guarantee its toxicogenic safety for the consuming population arises and one of the bioassays responsible for this achievement is the micronucleus test, an important test due to its rapid experimental performance and its effectiveness in results. Micronuclei are chromosomal fragments and/or entire chromosomes that separate from the main nucleus during cell division and are often used as indicators of genomic damage or instability. These micronuclei appear spontaneously in the body, but the increase in their frequency indicates an interaction with mutation-inducing agents and/or genotoxic agents. Therefore, the present study seeks to evaluate the mutagenic and/or genotoxic potential of the ethanolic extract of the Jatobá leaf through the micronucleus test in peripheral blood of mice, through which the frequency of these micronuclei was verified according to the treatment groups in comparison with the control groups. For this test, the animals were divided into five groups, each consisting of six animals, three males and three females. Three groups were subjected to treatment with the extract, receiving doses of 500mg, 1000mg and 2000mg/kg b.w. via gavage. The positive control group was treated with cyclophosphamide (50 mg/kg b.w.) intraperitoneally and the negative control group was treated with distilled water via gavage. Thirty hours after treatment, blood was collected and the blood smears were then stained and analyzed under an optical microscope. After analyzing the slides, it was possible to observe that the cells analyzed did not show a significant increase in the formation of micronuclei, suggesting the absence of mutagenicity, therefore, the present study helped to clarify that Jatobá did not present mutagenic and/or genotoxic potential, reinforcing that Jatobá is safe from a genotoxic and mutagenic point of view, and can be used without the risk of inducing damage to genetic material.

Keywords: mutagenicity; pharmacognosy; plant extract.

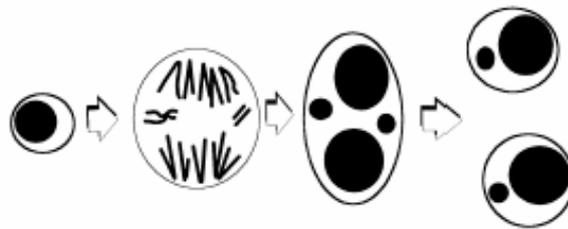
1 INTRODUÇÃO

As atividades mutagênicas estão ligadas a ações como: alterações cromossômicas nas células, substituições de bases, inserções e/ou deleções e muitas outras ações, que ocorrem quando as células estão em divisão celular. Essas ações causam diversas mudanças no genoma do indivíduo, gerando modificações que levam a sérios riscos de inibição no funcionamento normal do organismo, podendo levar ao desenvolvimento de câncer (Griffiths, 2009). Contudo, Silva (2019) e colaboradores afirmam que existem propriedades nas plantas que possuem agentes antimutagênicos, que inibem a atividade mutagênica de algumas substâncias. Os testes responsáveis por identificar essas propriedades toxicogenéticas são os testes de micronúcleo, aberrações cromossômicas, teste de Ames, entre outros. Porém, o

teste de micronúcleo tem destaque devido a sua agilidade em fornecer resultados, o seu baixo custo e grande eficácia.

Os micronúcleos são eventos decorrentes da não formação das fibras de fuso ou quebra do DNA, formando fragmentos que se desprendem do núcleo principal. Se um fragmento cromossômico ou um cromossomo inteiro não se integra a um dos dois novos núcleos, pode constituir um pequeno núcleo que devido a suas características são classificados como micronúcleo (Fenech, 2006; Uchôa et al., 2020, citado por Caurio et al., 2023). Os critérios morfológicos que validam a identificação dos micronúcleos incluem: diâmetro situado entre 1/16 e 1/3 do tamanho dos núcleos principais, ausência de sobreposição com outros micronúcleos e clara demarcação em relação à fronteira nuclear. Além disso, sua coloração é similar ou mais suave em intensidade em comparação com a coloração dos núcleos principais (Herate e Sabatier, 2020; Pujol-Canadell et al., 2020, citado por Silva, 2023). O micronúcleo ainda apresenta formato arredondado e sua presença pode ser detectada em eritrócitos policromáticos, em estágio de amadurecimento, (Azevedo, et al. 2003; Choy, 2001; Ribeiro et al., 2003) (figura 1).

Figura 1. Formação do Micronúcleo



Fonte: UEPG, 2008.

A ocorrência de micronúcleos (MNs) é um fenômeno natural, mas a exposição à agentes genotóxicos elevam sua incidência nas células (Franco, 2012, citado por Soares, 2023). Assim, o aumento na frequência de micronúcleos é um biomarcador de efeitos genotóxicos que refletem os danos causados ao DNA decorrentes da exposição a agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) e/ou aneugênicos (que induzem a não formação das fibras de fuso) (Albertini, et al., 2000), apresentado uma importância significativa devido a rapidez de seus resultados e a sua facilidade de realização. O teste de micronúcleo é um ensaio biológico, *in vivo ou in vitro*, utilizado como teste de avaliação toxicológica, que pode detectar agentes clastogênicos e/ou aneugênicos (Fenech et al., 1999).

Hoshino (2016) declara que o efeito desse agente químico pode ser observado em eritrócitos policromáticos anucleados que têm um tempo de vida relativamente curto, de modo que qualquer micronúcleo que ele contenha pode ter sido gerado como resultado de danos cromossômicos induzidos recentemente, sendo assim, internacionalmente aceito como parte da bateria de testes e também para o registro de novos produtos químicos que entram anualmente no mercado mundial (De Almeida, 2005), visto que os resultados obtidos são considerados fortemente relevantes para o contexto humano. (Morita *et al.*, 1997). Trata-se de um teste que foi desenvolvido em eritrócitos e medula óssea de camundongos, mas é também realizado em ratos. (Macgregor et al., 1987).

Alguns autores enfatizam a necessidade de testes rápidos e confiáveis e que detectam esses danos cromossômicos. O teste de micronúcleo encontrou o seu lugar

no biomonitoramento, como um teste que oferece um procedimento técnico mais fácil em relação aos ensaios de aberrações cromossômicas, pois os micronúcleos são mais fáceis de observar e contar e assim esse método requer menos treinamento e perícia, sendo necessário apenas contar as células apropriadas. A metodologia do teste é simples, mas para garantir sua qualidade e confiabilidade se faz necessário obedecer a requisitos preliminares, como, por exemplo, protocolos bem padronizados quanto ao tratamento dos animais, colheita e processamento das células (Flores, 2008). Flores (2008) também afirma que o teste de micronúcleo é capaz de considerar e avaliar diferentes fases da farmacocinética das drogas e avaliar danos cromossômicos, possuindo reprodutibilidade satisfatória, já que foi adaptado por vários autores ao estudo em diferentes espécies.

1.1 *Hymenaea courbaril* L.

O presente ensaio, portanto, reconhece a eficácia do teste de micronúcleo e faz uso do mesmo para avaliar a segurança toxicogenética do extrato etanólico de jatobá, a *Hymenaea courbaril* L., que é uma planta pertencente à família Fabaceae, conhecida popularmente como jatobá-verdadeiro, jatobazeiro ou jatobá, é uma árvore de grande porte chegando a atingir de 30 a 45m de altura, possui um fuste cilíndrico, normalmente reto e de copa ampla (Costa et al., 2011). Seu súber é áspero, acinzentado e suas folhas são compostas, pecioladas, alternas, coriáceas, bifoliadas, ovais ou falciformes. Seu fruto apresenta de 2 a 6 sementes envoltas por uma farinha comestível de valor nutritivo, servindo de alimento para a população e roedores, são do tipo legume indeiscente, lenhoso e suas colorações indicam seu estado de maturação, se verde está imaturo e se marrom escuro ou preto, maduro e velho, respectivamente. (Carvalho-Filho et al., 2003; Gorchov et al., 2004). Encontra-se cerca de 15 espécies no gênero *Hymenaea* L., distribuídas pelo México, partes tropicais da América Central e do Sul, onde 13 dessas espécies ocorrem no Brasil, entre elas, a *Hymenaea courbaril* L. (Costa et al., 2011). No Brasil, a *H. courbaril* L. possui uma distribuição vasta, ocorrendo desde a floresta amazônica até a floresta estacional semidecídua no sudeste do país, com diversas variedades (Filardi et al. 2018).

As espécies desse gênero possuem valor econômico devido sua madeira que é reconhecida por sua durabilidade e resistência, sendo comumente utilizada na construção civil, na zona urbana e rural, na confecção de canoas (Ferreira; Sampaio, 1999; Veras et al., 2010). A Embrapa (2004) reforça que a resina que exsuda do caule dessa espécie de planta é utilizada na fabricação de vernizes e empregada em polimentos e impermeabilizadores de canoas (Cipriano, 2014).

Na medicina tradicional, a *Hymenaea courbaril* L. é utilizada para fazer xaropes, infusos, através da maceração de sua casca/ fruto no auxílio contra doenças popularmente conhecidas, como bronquite, gripe, como também no tratamento de doenças na próstata, entre outros (Marinho et al., 2011). Assim, a investigação farmacológica tanto de extratos bruto, como de frações e substâncias isoladas seguem indicações terapêuticas empíricas, muitas vezes atribuídas por estudos etnobotânicos, como também estudos farmacológicos têm revelado as atividades anestésica, analgésica e anti-inflamatória do extrato do Jatobá, sendo relatado também outras atividades como ação antibacteriana, antifúngica, miorrelaxante, antiespasmódicas e antioxidante (Lorenzi et al., 2002; Bezerra et al., 2013; Cipriano et al., 2014, citado por Sousa, 2020).

É importante destacar que alguns fitoquímicos são encontrados na *H. courbaril* L., suas folhas e casca possuem os terpenos e compostos fenólicos com comprovada atividade antimicrobiana, e a sua folha possui terpenoide, uma substância química que é utilizada como fungicida, para repelir saúvas e lagartas, e apresenta capacidade antibacteriana e moluscicidas (Shanley, 2010).

Cipriano (2014) destaca que, como planta, o jatobá continua tendo importância ecológica para os animais nativos, servindo como casa para animais que passam a consumir as pragas das plantações quando suas presas naturais entram em escassez, e muitos animais podem utilizar seu pólen e néctar como alimento alternativo, além de algumas estruturas da planta servirem como abrigos e sítios de colocação de ovos para muitas espécies de insetos.

1.2 Fitoterápicos

Segundo Ferreira (2010), para as plantas sobreviverem elas precisaram evoluir e competir por espaços, se defendendo dos ataques dos herbívoros e patógenos como um todo e dessa forma as plantas foram desenvolvendo suas próprias defesas químicas e essa é uma das razões pela qual a constituição das plantas é tão complexa e o porquê de plantas biossintetizarem substâncias que atuam em alvos específicos. Essa especificidade, forneceu aos vegetais o poder de atuarem como compostos terapêuticos em doenças humanas.

Esse feito adaptativo fez com que muitas plantas possuíssem em seus extratos vegetais misturas multicompostas de substância ativas, que tem efeito específico no organismo e parcialmente ativas, que tem algum efeito no organismo, mas não tão forte ou específica quanto as substâncias ativas. Esses componentes são reconhecidos como metabólitos secundários, e podem ser classificados como metabólitos especiais, produtos secundários, produtos naturais ou metabólitos especiais (Taiz; Zeiger, 2017). sendo estes produzidos pela própria planta para modular seu próprio metabolismo e foi através da presença deles nas plantas que a eficácia do uso dos vegetais foi comprovada, durante muitos anos, por diferentes grupos étnicos (Ferreira, 2010).

Dentre esses metabólitos podemos citar as suas principais classes, como os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenos possuem ações eficazes contra doenças cardiovasculares e ainda podem ser subclassificados em esteroides, diterpenos, entre outros. Dentre os compostos fenólicos podemos encontrar os taninos, flavonoides e muitos outros, que estão entre os principais agentes antioxidantes, ajudando no tratamento da hipertensão arterial, queimaduras, bactericida e fungicida são substâncias amplamente distribuídas na natureza, importantes por possuírem efeitos biológicos incluindo também, atividade antimicrobiana, cardiovascular, antimutagênica e antioxidante. Já os compostos nitrogenados (alcalóides), atuam na composição da morfina, codeína e escolpamina, além de apresentar atividade antitumoral, antitussígeno e antiviral (Silva, 2022; Martini et. al., 2004).

A utilização desses fitoterápicos ocorre devido ao seu fácil acesso, baixo custo e por serem consideradas inofensivas por grande parte da população e sua utilização ocorre na forma de remédio caseiro, cujo processamento e o preparo são feitos na própria casa (Zeni et al, 2017). Gonçalves (2005) afirma que algumas vezes, a utilização de extratos vegetais e fitoquímicos se tornam a única fonte de medicação que a população tem como forma de acesso a cuidados básicos da

saúde, especialmente para aqueles sem acesso fácil aos recursos econômicos e que devido a isso tem dificuldades em conseguir medicamentos industrializados.

De certo os fitoterápicos são medicamentos de origem vegetal que utilizam plantas, ou parte delas, para tratar ou prevenir doenças, sendo comumente utilizados no reestabelecimento da saúde de uma forma generalizada, auxiliando no combate de patógenos por meio dos princípios ativos e isso favoreceu ao acúmulo secular de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais nos mais diversos grupos étnicos, com a crença de que as plantas medicinais não apresentavam efeitos adversos (Alexandre, 2005).

Dessa forma, reconhece-se que os conhecimentos empíricos sobre a ação de vegetais, quanto a sua eficácia terapêutica e suas variações, representam a principal alternativa de tratamento médico utilizado pela medicina tradicional (Dorigoni et al., 2001; Hamilton 2003; Pereira, 2019) e de fato, os fitoterápicos desempenham um papel crucial na saúde graças a vasta diversidade de plantas medicinais disponíveis (Buffon, 2005).

Ademais, a fitoterapia racional, classificada como Prática Integrativa e Complementar em Saúde, tem sido objetivo de muitos estudos recentes, combinando o conhecimento popular, transmitido de geração em geração, com evidências científicas, e de acordo com Ribeiro (2021), quando administrados corretamente, algumas plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos apresentam vantagens em relação a medicamentos convencionais, tais como menor custo, menor chance de efeitos adversos e menor toxicidade. Porém, cada planta medicinal tem sua individualidade e é imperativo reconhecer que os produtos naturais têm componentes químicos farmacologicamente ativos e não podem ser vistos como não-tóxicos, como muitos consumidores acreditam. Embora sejam dotadas de propriedades farmacológicas que, quando utilizadas de maneira adequada, podem aliviar e curar diversas enfermidades (Pereira et al., 2019; Ribeiro, 2021), também podem causar reações adversas, provocar interações medicamentosas e serem dotados de toxicidade.

Em razão desse consumo de vegetais com possíveis propriedades farmacológicas, a fitoterapia tem se tornado uma incentivadora da automedicação contando com uma grande quantidade de plantas medicinais existentes, como também com a falta de conhecimento dos consumidores sobre os riscos de toxicidade que as plantas podem apresentar, pois as propriedades terapêuticas de cada planta se diferenciam e isso pode não ser benéfico ao seu consumidor (Alexandre, 2005).

A falta de conhecimento sobre as plantas utilizadas e seu uso desordenado podem trazer efeitos adversos, causando danos indesejáveis apresentando toxicidade e contraindicações de uso, causando intoxicações e até mesmo a morte, em casos extremos. (Frescura, 2012). Portanto, qualquer utilização de plantas medicinais deve considerar os conhecimentos específicos sobre cada espécie e seu uso racional. Diante disso, apesar da utilização de plantas em alguns casos apresentar um resultado significativamente eficaz no tratamento de algumas doenças, ainda se faz necessária análises que possibilitem identificar se o vegetal pode realmente ser utilizado, se são seguras para uso e para que fins são eficazes (Taiz, L.; Zeiger, E. 2017).

Também é de grande importância verificar o preparo para tornar a planta utilizável, o que dependerá da parte da planta da qual o princípio será extraído e para qual o tipo de enfermidade é indicado (Taiz, L.; Zeiger, E. 2017). Como Leite (2009a) informa, a utilização dessas plantas medicamentosas se dá por meio de seu uso em forma de óleos essenciais, extratos vegetais, através da fabricação de chás,

lambedores e garrafadas, e a sua utilização vem apresentando um crescimento considerável e graças a isso tem levado ao desenvolvimento de ensaios farmacológicos e ao crescente interesse pela pesquisa de novos medicamentos com ação terapêutica (Leite, 2009a).

O presente estudo utilizou o teste de micronúcleo para fazer a sondagem sobre as propriedades mutagênica e/ou genotóxica da *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) com o intuito de gerar informações sobre essa espécie vegetal que é utilizada com frequência pela população. Esse teste possibilita a detecção destes efeitos (mutagênico e/ou genotóxico), que podem ser induzidos por agentes químicos, físicos e biológicos podendo ainda ser utilizados para avaliação das condições ambientais. A escolha do teste de micronúcleo, baseia-se no fato do mesmo ser reconhecido e indicado pelas agências reguladoras, por ser rápido, simples e barato.

Diante disto, o presente ensaio tem a finalidade de determinar o possível potencial mutagênico do extrato de folha de jatobá através do teste de micronúcleo, por meio da quantificação e frequência de micronúcleos encontrada e sua comparação entre os grupos de tratamento e grupos controle, com propósito de contribuir com o conhecimento científico a respeito da toxicogenética do vegetal em estudo e sua capacidade genotóxica e/ou mutagênica.

2 METODOLOGIA

O presente estudo experimental foi realizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no Campus I - Campina Grande-PB, prédio Três Marias, onde se localiza o laboratório NUMA (Núcleo de mutagênese ambiental), que foi o local de execução de toda a parte prática do estudo. O Biotério da UEPB auxiliou a pesquisa com o fornecimento dos animais para a sua realização, mediante a aprovação da CEUA (Comissão de Ética no uso de Animais), cujo parecer foi o 029-2022.

2.1 Obtenção do extrato etanólico

As folhas de *Hymenaea courbaril* L. (figura 2) foram colhidas de uma árvore (figura 3) localizada no distrito de o de São José da Mata/Município de Campina Grande na Paraíba (7°11'55.522"S, 35°58'57.09"W), cedida pela equipe do Prof. Délcio Felismino por intermédio da Aluna Thalita Marinho, estudante da Universidade estadual da Paraíba. Sua exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara/Universidade Estadual da Paraíba/CCBS, Campus I. Para obtenção do extrato etanólico foi utilizada a maceração a frio (Prista, 1990, citado por Nascimento, T. 2019) empregando a proporção de 100g de pó das folhas para 0,5 L de etanol à 96%, por 5 dias, sendo submetida a homogeneização, em seguida, foi submetida a filtração em papel de filtro, (Marinho, T. G., 2019) tal processo foi repetido e posteriormente seu solvente foi reduzido para que fosse armazenado.

Figura 2. Folhas de *Hymenaea Courbaril* L.



Fonte: MARINHO, T. G., 2019

Figura 3. Árvore de *Hymenaea Courbaril* L.



Fonte: MARINHO, T. G., 2019

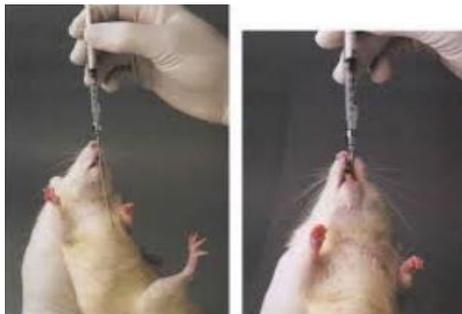
2.2 Animais

Foram utilizados 30 camundongos da espécie *Mus musculus*, de linhagem swiss heterogênicos, sendo eles animais jovens adultos saudáveis, entre sete e doze semanas de idade e peso variando de 25 a 30 gramas. Os animais foram pesados e divididos em cinco grupos (A, B, C, D e E), sendo cada grupo experimental formado por seis animais (três fêmeas e três machos), separados por sexo e distribuídos ao acaso. Os grupos experimentais foram mantidos em ambientes com temperatura em torno de 25°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) com ciclo luminoso de 12 horas/luz e 12 horas/escuro com fornecimento de ração e água *ad libitum*.

2.3 Teste de Mutagenicidade

Para o teste de mutagenicidade foram formados 5 grupos. Esses grupos foram classificados em grupos de tratamento segundo as dosagens estabelecidas, orientadas por Ribeiro, 2003. A dosagem inicial foi a dosagem máxima permitida, ou seja, 2000mg/kg p.c., a segunda dosagem partiu de uma concentração equivalente a 50% da primeira, ou seja 1000mg/kg p.c., e a terceira dosagem que corresponde a 25% da primeira, ou seja 500mg/kg p. c., administradas via gavagem (Figura 4) após ser diluído. Um grupo controle negativo, cujos animais receberam administração apenas de água destilada via gavagem e o grupo controle positivo, que recebeu administração do agente indutor de danos, a ciclofosfamida (50mg/kg p.c.), dissolvida em água destilada em um volume máximo de 0,1mL para cada 10g de p.c., via intraperitoneal (Figura 5). Aguardou-se 30 horas para que a metabolização do fármaco fosse efetivada. Em seguida passou-se para colheita do material a ser analisado

Figura 4. Administração via Gavagem.



Fonte: USP, 2022

Figura 5. Administração via intraperitoneal.



Fonte: USP, 2022

2.4 Obtenção do sangue

Passadas as 30 horas os animais foram submetidos a colheita de sangue periférico por meio da amputação de cauda (Guia CONCEA, 2023), para a realização do esfregaço sanguíneo.

2.5 Preparações das lâminas

Para a preparação dos esfregaços sanguíneos, as lâminas foram higienizadas e codificadas. Posteriormente à essas lâminas limpas e codificadas, foram adicionados 5 μ L do sangue colhido (uma gota) e com o auxílio de outra lâmina com um ângulo de 45°, os esfregaços foram confeccionados. As lâminas foram produzidas em duplicata e deixadas para secar em temperatura ambiente por 24 horas, em seguida passaram pelo processo de fixação com álcool metílico por 15 minutos, e logo após foram submetidas a coloração com o corante (Giemsa, 1:9) (figura 6), por mais 20 minutos para que fossem posteriormente analisadas. As lâminas foram estocadas em geladeira até que todas fossem analisadas.

Figura 6. Coloração das lâminas

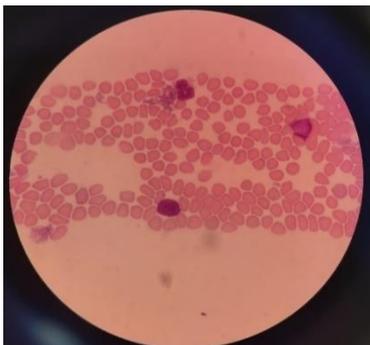


Fonte: Elaborado pela autora, 2023

2.6 Análises Citológicas

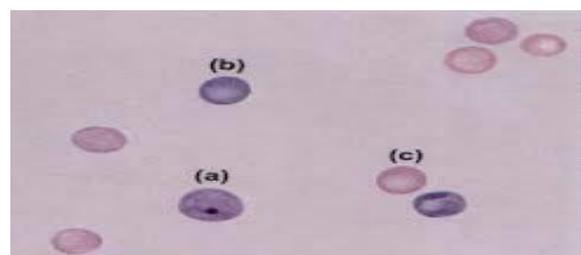
As análises citológicas foram realizadas por meio de microscopia óptica com aumento de 1000x, onde foi contabilizada a frequência existente de micronúcleo em 2000 eritrócitos policromáticos (PCE) por animais (Figura 7). Para estas análises as lâminas foram codificadas e distribuídas aleatoriamente para que não fosse identificado a qual grupo de tratamento ou a qual experimento pertencem, mantendo o teste cego. Ribeiro (2003) justifica a não contabilização dos eritrócitos Normocromáticos (NCEs) devido à baixa frequência no aumento de micronúcleos quando comparados com os PCEs (figura 8).

Figura 7. Eritrócitos dos camundongos estudados



Fonte: Elaborado pela autora, 2023

Figura 8. Diferença na coloração de PCE e NCE: (a) eritrócito policromático micronucleado (PCEMN); (b) eritrócito policromático; (c) eritrócito normocromático



Fonte: Mutagênese ambiental, 2023

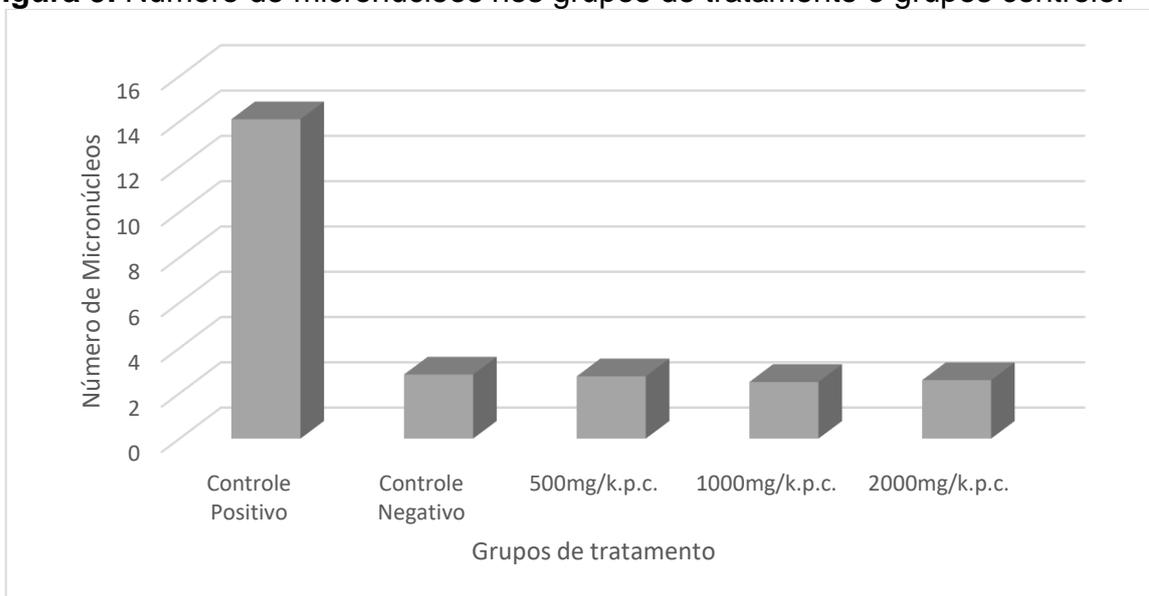
2.7 Análise estatística

A análise foi realizada segundo a contagem direta e identificação de eritrócitos policromáticos (PCE), dois mil PCE contabilizados para cada lâmina e a ocorrência de micronúcleos registrada. Os dados observados nos grupos de tratamento são comparados com o controle negativo, que é um agente neutro (água destilada), e nos permitiram obter resultados acerca da mutagenicidade do vegetal, ou seja, a capacidade do mesmo de gerar mutações cromossômicas. A análise estatística dos dados se concretizou a partir do teste t de Student, com nível de significância $p < 0,05$ (5%) utilizando o software Microsoft Excel® 2010.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo os resultados obtidos o extrato etanólico de Jatobá não é capaz de causar mutagenicidade no organismo estudado, pois não apresentou uma frequência de micronúcleos crítica capaz de causar efeitos genotóxicos e/ou mutagênicos no organismo estudado. Tal fato pode ser observado segundo os dados descritos na figura 9, que demonstra a média da frequência de micronúcleos encontrados em cada uma das concentrações nos grupos tratamento e grupos controles. A tabela 1 destaca os resultados obtidos por animal, permitindo observar que apesar de haver uma variação entre as médias, não há evidências estatísticas significantes entre as amostras que demonstrem alterações críticas entre as doses do extrato testado em comparação com o controle negativo, o que indica que o extrato de Jatobá não causa efeito mutagênico nos animais submetidos às dosagens testadas.

Figura 9. Número de micronúcleos nos grupos de tratamento e grupos controle.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Tabela 1- Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão nas dosagens de 1000, 2000, 500g/kg p.c. do extrato de *Hymenaea courbaril L.*

<i>Tratamento/ concentração</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>	<i>F1</i>	<i>F2</i>	<i>F3</i>	<i>Média +/-SD</i>
<i>Controle positivo (ciclofosfamida)</i>	15	18	11	12	10	19	14,1 ± 3,43
<i>Controle Negativo (água)</i>	3	4	3	4	1	2	2,83 ± 1,06
<i>Hymenaea courbaril L. 500mg/kg p.c.</i>	1	3	1	1	6	4	2,75 ± 1,88
<i>Hymenaea courbaril L. 1000 mg/kg p.c.</i>	2	0	0	4	5	2	2,5 ± 1,86
<i>Hymenaea courbaril L. 2000mg/kg p.c.</i>	1	0	3	3	0	7	2,58 ± 2,42

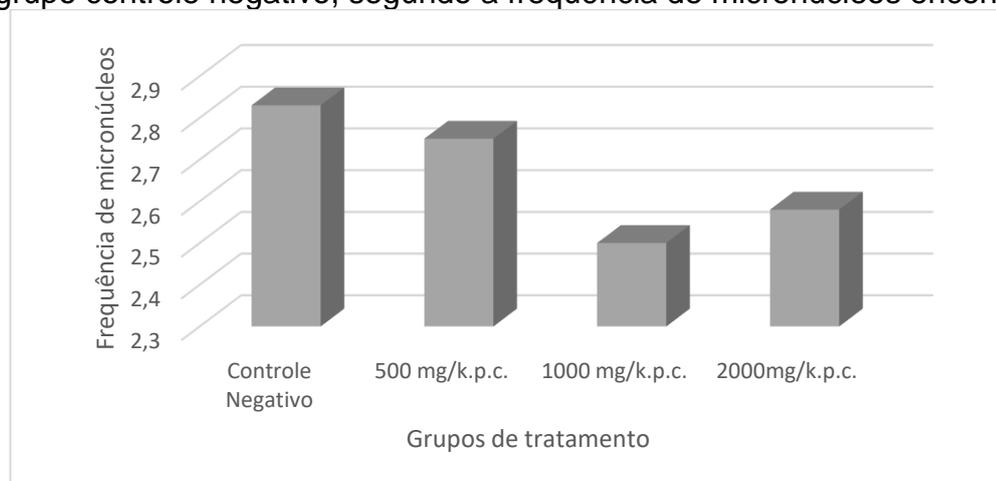
Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Controle positivo= Ciclofosfamida 50 mg/kg p.c.; SD= Desvio padrão; *P≤0,05; M= Machos; F=Fêmeas

A *Hymenaea courbaril L.* possui propriedades terapêuticas que são possíveis de observar em várias partes da planta, como em seu súber que demonstrou ter propriedades antibióticas em seus extratos hidroetanólicos brutos (Cipriano, 2014). Nesse sentido, um aspecto importante associado a *H. courbaril* é a presença de compostos biologicamente ativos em sua constituição, como os compostos fenólicos, o que pode atribuir à planta uma possível atividade antioxidante no que se diz respeito a sua atividade terapêutica (Veggi et al., 2014; Dias, 2013 citado por Vencato, 2016), corroborando com a ideia de que a planta é propícia para uso humano, como demonstram os resultados obtidos segundo o teste de micronúcleo apresentado no presente trabalho, que contribui com informações acerca de sua segurança toxicogenética.

No entanto, como o objetivo do estudo foi avaliar a capacidade do extrato de *Hymenaea courbaril L.* de causar danos ao DNA, ou seja, a sua capacidade de induzir dano ao material genético. A figura 10 elucida a comparação entre o controle negativo e os grupos tratamento, grupos que receberam o extrato. Apesar de haver alterações, nenhum dos três tratamentos foi capaz de ultrapassar os valores expostos no controle negativo, viabilizando o entendimento de que o extrato de *H. courbaril L.* não foi capaz de promover danos ao material genético dos animais em quantidade significativa para ser classificado como mutagênico ou genotóxico. Contudo, a figura 10 não apresenta uma curva contínua nos grupos de tratamento como resultado e isso se dá pelo fato de que o trabalho foi executado com o auxílio de organismos biológicos, que recebem interferência do meio externo, de fatores endógenos e muitos outros. Apesar desses fatores influenciarem a morfologia da curva, não interferem diretamente no estudo pois a diferença na frequência de micronúcleos encontrada entre os grupos de tratamento de 1000mg/kg p.c. e 2000mg/kg p.c., se comparado com o grupo de 500mg/kg p.c. é de 0,8, ou seja, menos de 1 micronúcleo.

Figura 10. Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média e comparação entre as dosagens de 1000, 2000, 500mg/kg p.c. do extrato de *Hymenaea courbaril L.* e o grupo controle negativo, segundo a frequência de micronúcleos encontrada



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Segundo Silva (2019), as partes comestíveis dos frutos do Jatobá têm aspecto farináceo e elevados teores de proteínas e de fibras, apresentando também propriedades antioxidantes naturais e outras atividades biológicas. Assim como, observou-se que a correlação positiva entre a diminuição de incidência de doenças crônicas e degenerativas, e o consumo de vegetais tem sido evidenciada, e dentre as propriedades bioativas relacionadas a esses alimentos se destacam aquelas que se relacionam com a presença dos compostos fenólicos, como é o caso do jatobá. (Tiago et al., 2020).

Santos 2006, afirma que os vegetais produzem uma grande variedade de metabólitos secundários que além de promoverem proteção para as plantas agindo por meio de suas diversas atividades biológicas, também são capazes de conferir ações medicinais às plantas que os produzem, no entanto, não é válido somente saber os efeitos individuais que cada composto ou classe de composto apresenta, é necessário considerar que esses compostos além de interagirem entre si, interagem com o sistema biológico com o qual os ensaios serão realizados e foi dessa forma que ele verificou que a *Anacardium humile*, popularmente conhecido como cajueiro, mesmo rico em taninos e flavonoides não apresentou atividade mutagênica, enquanto a *Mouriri pusa* (puça), objeto de estudo do seu trabalho, testado segundo as doses escolhidas com base no limite de solubilidade dos extratos em água destilada, correspondendo a 50, 75 e 100% dessa concentração, também rica em taninos e flavonoides, apresentou *in vitro* índices de mutagenicidade.

Essa afirmação permite-nos fazer um comparativo entre as demais espécies estudadas por Santos (2006) e a *H. courbaril L.*, que apesar de possuir em sua estrutura metabólitos secundários, como os Taninos e flavonoides, também presentes na *A. humile* e *M. pusa*, demonstrou a necessidade do teste do micronúcleo, um dos bioensaios recomendados e realizado no presente estudo, para que fosse evidenciado que a interação entre os demais compostos e o tecido biológico do animal não traria malefícios a saúde daqueles que optassem por consumir a planta como fonte fitoterápica.

Como também, Ferreira (2005) utilizou as investigações feitas em seu trabalho a respeito da *A. humile*, indicando seus principais grupos de constituintes, e dentre eles estavam os derivados de ácido gálico, catequinas e flavonóides. Esses achados

indicaram que a sua ação, individual ou em conjunto, podem ter contribuído para a inibição de células micronucleadas, ou seja, apresentou capacidade antimutagênica. E segundo Brito (2018), Gonjito et al (2014) Já havia demonstrado a presença de taninos e flavonoides agindo como atividade antimutagênica moderada nos testes realizados com extrato de *Ocimum gratissimum L.*, indicando o poder redutor de mutagenicidade desses compostos.

Ademais, Rodrigues (2012), afirma que há a presença de taninos, um dos metabólitos secundários citados no corpo do presente trabalho, configurou a ação antimutagênica do extrato etanólico bruto de *Cnidocolus quercifolius*, ou seja, a presença dos metabólitos secundários, de forma individual ou coletiva, além de garantirem algumas espécies de plantas a falta de atividade mutagênica, (capacidade de gerar mutações) ainda podem configurar às mesmas propriedades antimutagênicas (capacidade de inibir mutações).

Com isso, é possível observar que os metabólitos secundários podem agir de diferentes formas em diversos vegetais, configurando a eles capacidade mutagênica ou antimutagênica, por isso se fazem necessário os bioensaios para avaliar esses efeitos nos vegetais de forma individual, garantindo sua singularidade, como na *H. courbaril L.* que possui Terpenos e esteroides presentes apenas em suas folhas detectados pelo teste de Lieberman Burchard, já os taninos, geralmente se localizam em órgãos específicos da planta como nas folhas, frutos ou caules. Uma das principais características da presença de taninos nesta espécie é seu efeito adstringente, sendo esta atividade biológica fundamental no tratamento de doenças do trato digestivo conforme descrito por Bessa (2013) para outras espécies (Roberts et al. 1997 citado por Tiago, 2020).

Ainda assim, Vencato (2016) afirma que mesmo que muitas plantas tenham a atividade farmacológicas reconhecidas, muitas vezes a composição química das espécies brasileiras não é estudada. Nesse sentido, estima-se que metade das espécies nativas tenha alguma propriedade medicinal, e que nem mesmo 1% tenha sido adequadamente avaliada. Devido a essa falta de informação, o consumo crescente e desordenado de vegetais com capacidades medicinais só aumenta e muitas vezes esse consumo é feito de forma incorreta, com a crença de que o vegetal serve para determinada enfermidade, quando possui uma finalidade diferente e isso gera desconforto para quem o consome ao invés de contribuir.

Este estudo resultou, portanto, na contribuição para novas pesquisas que visam analisar novas estratégias e perspectivas, acreditando na credibilidade que o teste de micronúcleo fornece, possibilitando o fornecimento de mais informações sobre a *Hymenaea courbaril L.*, assegurando que o extrato etanólico do vegetal não apresenta um possível potencial mutagênico do extrato em todas as dosagens analisadas (500mg/kg p.c., 1000mg/kg p.c. e 2000mg/kg p.c.) segundo o teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos.

4 CONCLUSÃO

Sendo assim, pode-se concluir que os objetivos foram atendidos, tendo em vista que mais informações a respeito do Jatobá foram fornecidas segundo a realização do teste de micronúcleo e sua frequência encontrada, posteriormente comparada com os grupos controle e a hipótese confirmada, pelo fato de que o jatobá não apresentou atividade mutagênica nas plantas, como previsto. Este estudo resultou, portanto, na contribuição para novas pesquisas que visam analisar novas estratégias e perspectivas, acreditando na credibilidade que o teste de micronúcleo

fornece. Como também fomentou para que o jatobá, mediante sua segurança toxicológica apresentada, pudesse ser mais explorado quanto as suas propriedades terapêuticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTINI, R. J. et al. IPCS, guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*, v. 463, p. 111-172, 2000.

ALEXANDRE, R. F. et al. **Fitoterapia Baseada em Evidências. Parte 1. Medicamentos Fitoterápicos Elaborados com Ginkgo, Hipérico, Kava e Valeriana.** *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v.24, n.2, p. 300-309, 2005.

AZEVEDO, L.; GOMES, J.C. et al. Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, v.41, p.1671-1671, 2003.

BRITO, Eduardo. Avaliação do potencial mutagênico do extrato metanólico de *Anacardium humile* através do teste de micronúcleo. Orientador: Walclécio Lira, 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

BUFFON, D.E. Isolamento e identificação de princípios ativos de *Calophyllum Brasiliense Camb.* (CLUSIACEAE), Dissertação de mestrado- Ciências Farmacêuticas, Itajaí, dezembro, 2005.

CARVALHO-FILHO, J. L. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F.; RANGEL, M. S. A. Produção de mudas de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composição de substratos. *Cerne*, v. 9, p. 109-118, 2003.

CAURIO, D. L. et al. Avaliação da instabilidade genômica em profissionais expostos às radiações ionizantes de radiodiagnóstico médico por meio do ensaio de micronúcleo. *Brazilian Journal of Development*, v. 9, n. 1, p. 4753–4763, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv9n1-328>. Acesso em: 27 maio 2024.

CIPRIANO, Josângela et al. O gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**, v. 26, n. 2, p. 41-51, 2014.

CHOY, W.N. Regulatory genetic toxicology tests. In: *Genetic toxicology and cancer risk assessment*. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001 p. 93-113.

COSTA, W. S. et al. **Jatobá - *Hymenaea courbaril* L.: Ecologia, Manejo, Silvicultura e Tecnologia de Espécies Nativas da Mata Atlântica**, 2011. 18p.

DORIGONI, P.A. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine- RS, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.4, n.1, p. 69-79, 2001.

DE 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, p. 0, 2005.

FENECH, M. **The Human Micronucleus Project – International collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans**. Mutation Research. Amsterdam, v. 428, n.1-2, p. 271-283, 1999.

FERREIRA, A. L. et al. **Atividade antiulcerogênica da espécie *Anacardium humile* St. Hil. (Anacardiaceae)**. 142 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Unicamp, 2005

FERREIRA, C. A. C.; SAMPAIO, P. de T. B. **Jatobá *Hymenaea courbaril***. In: CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. de T. B.; CLEMENT, C. R. Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização. Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. Manaus, Amazonas. p. 409, 1999.

FERREIRA, Vitor F.; Pinto, Angelo C. A fitoterapia no mundo atual. Química Nova [online]. V. 33, n. 9, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000900001>>. Acesso em: 1 jun. 2024.

FILARDI et al. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). Rodriguésia, v. 69, p. 1513-152, 2018.

FLORES, Mônica; YAMAGUCHI, Mirian Ueda. Teste do micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica. **Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 337-340, 2008.

FRESCURA, V. D. S. **Avaliação do potencial antiproliferativo, genotóxico e antimutagênico das espécies *Psychotria brachypoda* (Mull. Arg.) Briton e *Psychotria birotula* Smith & Downs (Rubiaceae)**. 74f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal Santa Maria, Santa Maria, RS, 2012.

GONÇALVES, A. L. et al. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas**. Arquivos do Instituto Biológico. v.72, n.3, p. 353-358, 2005.

GORCHOV, D. L.; PALMEIRIM, J. M.; JARAMILLO, M.; ASCORRA, C. F. **Dispersal of seeds of *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) in a logged rain forest in the Peruvian Amazonian**. Acta Amazônica, v.34, p. 251-259, 2004.

GRIFFITHS, A. **Introdução à Genética**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2009.

Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica / Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. 1. ed. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, p.129-130, 2023.

HAMILTON, Alan. Medicinal plants and conservation: issues and approaches. Internat. Plant, Conserv. Unit, WWF-OK, 2003.

HOSHINO, Marcio Tadashi et al. Avaliação da atividade biológica de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers através do teste do micronúcleo in vivo, 2016.

LEITE, J.P.V. **Desenvolvimento da Fitoterapia**, In: Leite, J.P.V. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. 1 ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 4-18, 2009a.

MACGREGOR, J. T. et al. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. Mutation Research, v. 189, p. 103-112, 1987.

MARINHO, M. G. V.; et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 13, n. 2, p. 170-182, 2011.

MARINHO, Thalita. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *Hymenaea coubaril* L. frente a cepas de importância clínica, a partir do conhecimento popular. Orientador: Délcio Felismino, 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

MARTINI, N. D.; KATERERE D. R.; ELOF, J. N. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). Journal of Ethnopharmacology, v. 93, p. 207-212, 2004.

MORITA, T. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens. Mutation Research, v.389, p.3-122, 1997.

NASCIMENTO, Thaís. Avaliação do potencial mutagênico do extrato etanólico da folha de *Hymenaea coubaril* L. através do teste de micronúcleos em sangue periférico de camundongos. Orientador: Walclécio Lira, 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

PEREIRA, M.C.L. et al. Use of medicinal plants in care of women with gynecological diseases: integrative review. International Journal of Development Research, v. 09, n. 03, p. 26373-26380, 2019.

RIBEIRO, L. R.; et al. Mutagênese Ambiental. Editora Ulbra. 1 ed. Canôas, 2003.

RIBEIRO, J.C. Qualidade de plantas medicinais de uso popular no Brasil: uma visão experimental: roteiro de práticas. São João da Boa Vista: Editora Universitária UNIFAE, 2021.

RODRIGUES, Maria Caroline. Avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico bruto da folha de *Cnidocolus quercifolius*, através do teste de micronúcleos. Orientador: Walclécio Lira, 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

SANTOS, Fabio. Avaliação da mutagenicidade in vivo e in vitro de compostos obtidos de plantas nativas do cerrado. 2006.

SHANLEY, P. et al. Bacuri (*Platonia insignis* Mart.). In: SHANLEY, P.; SERRA, M.; MEDINA, G. (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. 2 ed. Bogor: CIFOR, 2010. p.55-64.

SILVA, Eduarda Santos. Avaliação do efeito radiomitigador in vitro do extrato de *Ginkgo biloba* em linfócitos humanos irradiados através do ensaio de micronúcleos. Trabalho de Conclusão de Curso (Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

SILVA, R. W. V. da et al. Uso da metodologia de superfície de resposta na otimização da extração de compostos fenólicos da casca dos frutos de *Hymenaea courbaril* L. (Jatobá). *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 22, p. e2018089, 2019.

SILVA, Tecla. Triagem fitoquímica de Myracrodruon urundeuva Fr. All sob diferentes cultivos. **Revista RG News**, v. 8, p. 2, 2022.

SOARES, SILVA. *Journal of Education, Science and Health*, v. 3, n. 3, p. 01-09, 2023. Disponível em: <https://bio10publicacao.com.br/jeshKolarevic>. Acessado em 08 jun. 2024.

SOUSA, S. F. et al. Análise fitoquímica e atividade antimicrobiana do extrato etanólico do resíduo madeireiro de *Hymenaea courbaril* L. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.11, n.4, p.72-80, 2020. Disponível em: DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.004.0006>

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TIAGO, P. V. et al. Caracterização morfoanatômica, fitoquímica e histoquímica de *Hymenaea courbaril* (Leguminosae), ocorrente na Amazônia Meridional. *Rodriguésia*, v.71,2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071063>. Acessado em: 02 jun. 2024.

VENCATO, S. B. et al. Avaliação do perfil fitoquímico e potencial antioxidante do extrato aquoso de *Hymenaea courbaril*. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 14, 2016.

VERAS, V.S. et al. Produção de biomassa e estrutura do pasto de capim andropogon em sistema silvipastoril e monocultura. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.1, p.200-207, 2010.

ZENI, A. L. B.; et al. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. *Ciência & saúde coletiva*, vol. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me guiou pelo melhor caminho, concedendo-me resiliência, força e muita fé para enfrenar um dia de cada vez.

Aos meus pais, dedico minha gratidão. Vocês sempre fizeram o possível e até mesmo o que eu acreditava ser impossível para ver o meu crescimento pessoal e profissional. Devo tudo o que sou a vocês. Vocês acreditaram nos meus sonhos antes mesmo de eu acreditar. Obrigada, eu amo vocês!

Agradeço ao meu irmão, cuja simples existência me deu forças e fez lembrar que há alguém a inspirar. À Kyra e Lulu que me lembram diariamente do amor mais sincero.

Agradeço ao meu conjugue, Hecton, que sempre tornou os meus dias mais leves e alegres, sendo verdadeiro e incentivando-me a ser melhor a cada dia. Aos meus sogros, que contribuíram diretamente para minha formação acadêmica, incentivando-me e apoiando os meus voos mais singulares.

Agradeço a minha tia Gilma e à Lays, que sempre me lembram que para Deus o céu é o limite, incentivando-me a buscar sempre voos mais altos. Ao meu Tio Jandy, que sempre esteve disposto a ajudar e me permitiu reconhecer, em momentos de enfermidade, que todo o meu esforço valeu a pena.

Agradeço ao meu orientador, Walclécio Lira, que confiou na minha capacidade e me incentivou a não desistir da experimentação animal, estando presente em todas as horas possíveis, apresentando-me oportunidades pelas quais eu serei sempre grata. Obrigada, professor!

Agradeço a toda a turma do Laboratório de Mutagênese (UNIFRAN), que me proporcionou aprendizados para além do que eu imaginava, alegrando a minha estadia em Franca e auxiliando meu crescimento profissional. Em especial a Prof. Dra. Denise Crispim Tavares, que me acolheu. Muito obrigada! Como também ao Prof. Dr. Ricardo Olímpio que nos forneceu os recursos para que eu pudesse explorar. Obrigada!

Agradeço à Letícia e Danilo que além de me receberem excepcionalmente bem, permitiram que eu enxergasse que a vida pode ser muito mais divertida quando você se prioriza!

Agradeço às técnicas Andeilma e Silvana que me apoiaram e ajudaram em todas as etapas experimentais da minha trajetória acadêmica, sendo as melhores conselheiras que eu poderia ter. Devo muito a vocês!

Agradeço a todos os colegas de laboratório, com os quais dei inúmeras risadas e que colaboraram com as etapas das minhas experimentações, sofrendo e se reerguendo junto a mim. Muito obrigada!

Agradeço à Dona Mari e a Edilma que além de abrilhantarem a Universidade alegam o nosso ambiente acadêmico com muito carisma. À Tia Lu, Robson e as meninas que sempre me proporcionaram boas conversações, além de me auxiliarem em momentos de enfermidade.

Agradeço a toda a turma do Vale Bio, em especial a minha patotinha, (Renally, Jainne e Milene) que tornaram a minha trajetória acadêmica memorável e me proporcionaram uma linda amizade, que vai além da academia.

Agradeço a Renaly, Ril e Ana por sempre me acolherem e receberem no laboratório de Biologia Marinha e nunca me deixarem só. Agradeço a todos os colegas que fizeram parte da minha rotina acadêmica e que me fizeram companhia por todos esses anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos aqui citados, o meu muito obrigada!

