



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

ALUSKA VIEIRA TAVARES

***Avaliação in vivo* do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos**

CAMPINA GRANDE – PB
2013

ALUSKA VIEIRA TAVARES

Avaliação *in vivo* do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação **Ciências Biológicas** da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Walclécio Morais Lira

CAMPINA GRANDE – PB
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

T231a Tavares, Aluska Vieira.
Avaliação in vivo do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. pelo teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos [manuscrito] / Aluska Vieira Tavares. – 2013.
21 f. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.
“Orientação: Prof. Dr. Walclécio Morais Lira, Departamento de Ciências Biológicas.”

1. *Maytenus rigida*. 2. Mutagenicidade. 3. Antimutagenicidade. 4. Teste de Micronúcleo. I. Título.

CDD 21. ed. 581.634

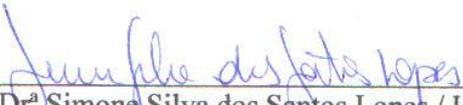
Avaliação *in vivo* do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação **Ciências Biológicas** da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

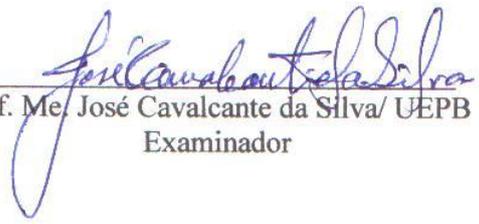
Aprovada em 27/08/ 2013



Prof. Dr. Walclécio Moraes Lira/ UEPB
Orientador



Profª Drª Simone Silva dos Santos Lopes / UEPB
Examinadora



Prof. Me. José Cavalcante da Silva/ UEPB
Examinador

Avaliação *in vivo* do potencial mutagênico e antimutagênico do extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. através do teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos

TAVARES, Aluska Vieira¹

LIRA, Walclécio Morais²

RESUMO

A planta *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae) é amplamente utilizada na medicina popular brasileira, por apresentar diversas propriedades terapêuticas, como analgésica, antibacteriana, antiinflamatória, antiúlcera, e antidiarréica. No presente trabalho foi avaliada a atividade mutagênica e antimutagênica do extrato etanólico da entrecasca do caule, pelo teste de micronúcleo em sangue periférico de camundongos. Grupos de seis animais foram tratados com as dosagens de 250, 500 e 750 mg/kg p.c. via *gavage*. Os resultados mostraram que a planta não apresentou atividade mutagênica. Na avaliação da antimutagenicidade constatou-se que a planta também não possui efeito de proteção ao cromossomo. Na dosagem de 250 mg/kg p.c a frequência de micronúcleos manteve-se alta, no entanto nas dosagens de 500 e 750 mg/kg p.c observou-se uma diminuição da frequência de eritrócitos policromáticos, caracterizando um processo de citotoxicidade.

Palavras chave: *Maytenus rigida*. Mutagenicidade. Antimutagenicidade. Teste de Micronúcleo.

1.0 INTRODUÇÃO

O acúmulo de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais vem sendo transmitido desde as antigas civilizações até hoje, as plantas medicinais e suas formas derivadas (extratos e xaropes) representam a principal matéria médica utilizada pelas chamadas medicinas tradicionais, ou não ocidentais, em suas práticas terapêuticas (DORIGONI et al., 2001; HAMILTON 2003; PEREIRA et al., 2009).

As plantas constituem uma fonte inesgotável de princípios ativos, além de servirem de modelo para síntese de um grande número de fármacos, fornecendo a cada dia respostas para inúmeras doenças (BRAZ, 1994).

A família Celastraceae com cerca de 85 gêneros e aproximadamente 900 espécies, têm se tornado um objeto de contínuo e crescente interesse devido as suas atividades farmacológicas. O gênero *Maytenus* é formado por espécies arbustivas ou arbóreas encontradas em matas e campos. As espécies desse gênero tem uma larga história na medicina popular, já que apresentam uma grande variedade de substâncias químicas e farmacologicamente ativas, sendo intensamente utilizadas pelos povos na América do Sul (BARROSO, 1991; BRUMMIT, 1992; JOLY, 1993; GONZÁLES et al., 1996. In: ESTEVAM et al.; 2009).

As plantas desse gênero são ricas em metabólitos bioativos da classe dos terpenos ou isoprenóides, apresentam atividades biológicas tais como antiinflamatória, antiulcerogênica, antimalária, antioxidante, antinoceptiva, antitumoral e anticonvulsivante (In: SANTOS et al., 2007).

A espécie *Maytenus rigida* Mart. considerada nativa no nordeste do Brasil é encontrada em ambientes de caatinga e cerrado e se destaca entre as demais espécies por apresentar uma maior distribuição em todo o território brasileiro (ROCHA et al., 2004). Conhecida popularmente como “bom-homem”, “bom-nome”, “cabelo-de-negro”, “casca-grossa” ou “pau-de-colher”, é uma árvore de pequeno porte, e a entrecasca do seu caule apresenta propriedades terapêuticas, sendo empregada nos casos de dores em geral, infecções e inflamações (MOTA; ALBUQUERQUE, 2002), suas folhas são utilizadas topicamente na cicatrização, problemas dermatológicos, e em especial na *Tinea pedis* (frieira) (LIMA et al., 1979).

Estudos mais recentes também relatam que a entrecasca da *M. rigida* possui atividade antibacteriana (ESTEVAM et al., 2009), antinociceptiva (DIAS et al., 2007), antiinflamatória, antiúlcera e antidiarréica (SANTOS et al., 2007).

De acordo Estevam et al. (2009) em prospecção fitoquímica *M. rigida* mostra-se rica em princípios ativos como catequinas, esteróides, fenóis, flavonóis, flavononóis, flavonóides, leucoantocianidinas, quinonas, saponinas, taninos, triterpenos e xantonas.

Embora os medicamentos à base de plantas serem muitas vezes vistos como sendo naturais, e portanto seguros, eles não estão livres de efeitos adversos, já que do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que uma planta medicinal ou um fitoterápico não tem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas lembrar, principalmente, os efeitos que se instalam em longo prazo de forma assintomática como os carcinogênicos, hepatóxicos e nefrotóxicos. Dessa forma o uso popular, e mesmo tradicional não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros (WHO, 1991; ERNST, 2000; SCHULZ et al., 2002).

Partindo desse pressuposto, os fitoterápicos devem ser avaliados sob diversos aspectos, tais como eficácia, qualidade e segurança (COUZINIER; MAMATAS, 1986; SALLER et al., 1998; DE SMET, 1995). Sua utilização deve ser vista com cautela, já que os efeitos adversos podem se desenvolver devido à toxicidade intrínseca, a adulteração, substituição, contaminação, identificação errada do material vegetal e interação com outras drogas (ZHOU et al., 2004).

Os testes regulatórios de Genética Toxicológica constituem uma série de testes selecionados para detectar agentes químicos e físicos capazes de interagir com o DNA. Um grande número de vegetais contêm substâncias que acarretam na ocorrência de mutações. Por isso, há necessidade de estudá-las, fazendo-se testes que detectem o efeito mutagênico como o teste de Micronúcleo (NETO et al., 2005). Uma mutação é definida como uma mudança na sequência do DNA, que leva a uma alteração herdável da função gênica (RIBEIRO, 2003).

O teste de Micronúcleo em sangue periférico de roedores *in vivo* é amplamente aceito pelas agências internacionais e instituições governamentais como parte da bateria de testes recomendada para se estabelecer a avaliação e o registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram anualmente no mercado mundial (CHOY, 2001). É amplamente utilizado para a detecção de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos), e de agentes aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) (MACGREGOR et al., 1987; HAYASHI et al., 1994).

Os micronúcleos são estruturas constituídas por material genético cromatínico contido por um envoltório nuclear, menores que o núcleo principal, e resultam de

fragmentos cromossômicos que se comportam independentemente dos outros cromossomos do cariótipo durante a divisão celular (HEDDLE et al., 1990). Aparecendo ao redor do envoltório nuclear ou no citoplasma de células expostas a agentes genotóxicos (CORNFORTH, 1991).

Mesmo apresentando diversas atividades biológicas, e sendo intensamente utilizada na medicina popular em diversas regiões do país, até o momento são escassos os estudos avaliando a ação mutagênica e antimutagênica do extrato etanólico de *Maytenus rigida*, torna-se então, necessário avaliar os possíveis efeitos adversos que o extrato possa vir causar à saúde humana.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal

Maytenus rigida Mart. foi coletada na cidade de Aroeira/PB, Brasil. A identificação da planta foi realizada pela Prof^a. Maria de Fátima Agra (UEPB) e um exemplar desta espécie está depositado no Herbário Lauro Pires Xavier do Departamento de Botânica da UFPB, Brasil, sob registro Agra et al. 3316 (JPB).

2.2 Obtenção do extrato etanólico bruto

O extrato do vegetal foi elaborado pela equipe da Prof^a. Vanda Lúcia dos Santos, na Universidade Estadual da Paraíba – UEPB. A amostra estudada constituiu-se da entrecasca do caule (3500 g) de *Maytenus rigida* Mart, o material vegetal foi seco em estufa de ar circulante a 50° C, pulverizado e extraído por maceração com etanol 95% durante três dias. Após este período a solução obtida foi filtrada e concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a 40° C para obtenção do extrato etanólico bruto (EEOH), com rendimento de 14%.

2.3 Estabelecimento das dosagens

Para o estabelecimento das dosagens tomou-se como referência as concentrações utilizadas em Santos et al (2007). Que verificou a ação antiinflamatória, antiúlcera e antidiarréica do extrato etanólico de *Maytenus rigida* Mart. nas concentrações de 250, 500 e 750 mg/kg p.c.

2.4 Teste para análise da mutagenicidade e antimutagenicidade

Para avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico *in vivo* foi empregado o teste do micronúcleo em sangue periférico de camundongos.

2.5 Animais

Foram utilizados quarenta e oito camundongos adultos e saudáveis da espécie *Mus musculus* (Swiss albino), provenientes do laboratório de Biogenética da Universidade Estadual da Paraíba, com aproximadamente 30g de peso corpóreo. Os animais foram mantidos em caixas individuais de polipropileno, com tampa-grade, durante o período de tratamento, com água e alimento *ad libitum*, ciclo claro/escuro de 12 horas e temperatura de 27 ± 2 °C. Para os tratamentos os animais foram divididos em grupos de 6 animais, três machos e três fêmeas. Cada um deles recebeu as diferentes doses do extrato vegetal via *gavage*, em um volume máximo de 0,1 mL para cada 10g de peso corpóreo.

2.6 Controle Solvente e Controle Positivo

Todos os animais do grupo controle solvente foram tratados via *gavage* com água destilada, 0,1 mL para cada 10g de peso corpóreo. Os animais do grupo controle positivo foram tratados via intraperitoneal com Ciclofosfamida 50mg/kg p.c. uma substância que pertence ao grupo dos fármacos citotóxicos ou citostáticos, também conhecidos como antineoplásicos. Mais concretamente, a Ciclofosfamida faz parte de um subgrupo de substâncias designadas por agentes alquilantes, o seu mecanismo de ação consiste em provocar danos em alvos celulares por "ataque nucleofílico", ou seja, contra o DNA das células, inviabilizando a sua multiplicação (GERSHWIN, 1974; CREASEY, 1976. In: TELIS, 1979).

2.7 Grupos experimentais

2.7.1 Ensaio para mutagenicidade

- 1- **Controle solvente:** Água destilada
- 2- **Grupo 1:** 250mg/kg p.c.
- 3- **Grupo 2:** 500mg/kg p.c.
- 4- **Grupo 3:** 750mg/kg p.c.

2.7.2 Ensaio para antimutagenicidade

- 5- **Controle positivo:** Ciclofosfamida 50mg/kg p.c.
- 6- **Grupo 4:** 250mg/kg p.c. + Ciclofosfamida 50mg/kg p.c
- 7- **Grupo 5:** 500mg/kg p.c. + Ciclofosfamida 50mg/kg p.c
- 8- **Grupo 6:** 750mg/kg p.c.+ Ciclofosfamida 50mg/kg p.c

2.8 Coleta do Sangue Periférico e Preparação das Lâminas

Foi coletada uma gota de sangue da cauda do animal (50 μ L) que posteriormente foi colocada em uma das extremidades de uma lâmina de vidro limpa e seca, com auxílio de uma lamínula encostada em ângulo de 45°, o sangue foi espalhado uniformemente, formando uma camada delgada. Para cada animal duas lâminas foram confeccionadas, e em seguida postas para secar à temperatura ambiente, e após 24 horas fixadas em Metanol absoluto por 10 minutos. Em seguida, foram coradas com Giemsa 10% diluído em tampão fosfato pH 6,8 por 25 minutos. Logo após as lâminas foram lavadas com água destilada e novamente postas para secar em temperatura ambiente. Para cada animal foram preparadas duas lâminas. A análise citológica foi realizada em microscopia óptica com aumento de 1000x. Foram analisados 2000 eritrócitos policromáticos anucleados (PCEs), anotando-se as frequências de micronúcleos para posterior análise estatística. As células com mais de quatro micronúcleos foram descartadas como exclusão de fenômenos apoptóticos. O protocolo adotado para a realização dos ensaios foi o descrito por Hayashi et al. (1994).

2.9 Análise Estatística

A partir dos resultados foi aplicado o teste-*t* de Student, utilizando o Software Microsoft Office Excel 2007, com nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$), este teste realiza comparações entre os valores obtidos para os grupos tratados com o extrato vegetal, juntamente com o controle positivo e aqueles obtidos a partir do grupo controle solvente.

3.0 RESULTADOS

Para avaliar o potencial mutagênico e antimutagênico do extrato de *Maytenus rigida* nas concentrações de 250, 500 e 750 mg/kg p.c. foi utilizado o teste de

micronúcleo em sangue periférico de camundongos. Os resultados observados para as respectivas dosagens estão apresentados a seguir.

3.1 Avaliação da mutagenicidade

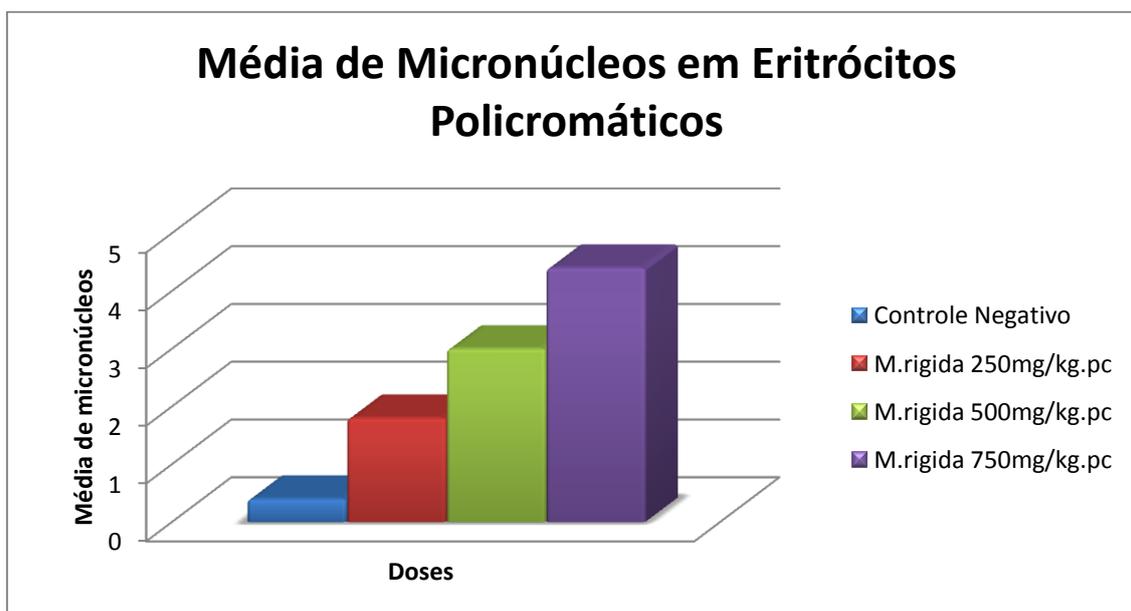
As diferentes dosagens do extrato etanólico bruto de *M. rigida* quando avaliados através do teste de micronúcleo não apresentaram mutagenicidade. Como demonstra a Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1. Avaliação da atividade mutagênica expressa pela média, desvio padrão das dosagens de 250, 500 e 750 mg/kg p.c. do extrato etanólico de *Maytenus rigida*.

Tratamento/Concentrações	F1	F2	F3	M1	M2	M3	Média ± SD
Controle negativo	0	1	0	1	0	1	0,4 ± 0,5
<i>M.rigida</i> 250mg/kg.pc	3	2	1	2	1	4	1,8 ± 0,8
<i>M.rigida</i> 500mg/kg.pc	3	4	3	3	2	3	3 ± 0,7
<i>M.rigida</i> 750mg/kg.pc	5	3	5	5	4	5	4,4 ± 0,9

Controle negativo= Água destilada; SD= Desvio padrão; *P≤0,05.

Figura 1: Médias de micronúcleos por grupo de tratamento;



3.2 Avaliação da antimutagenicidade

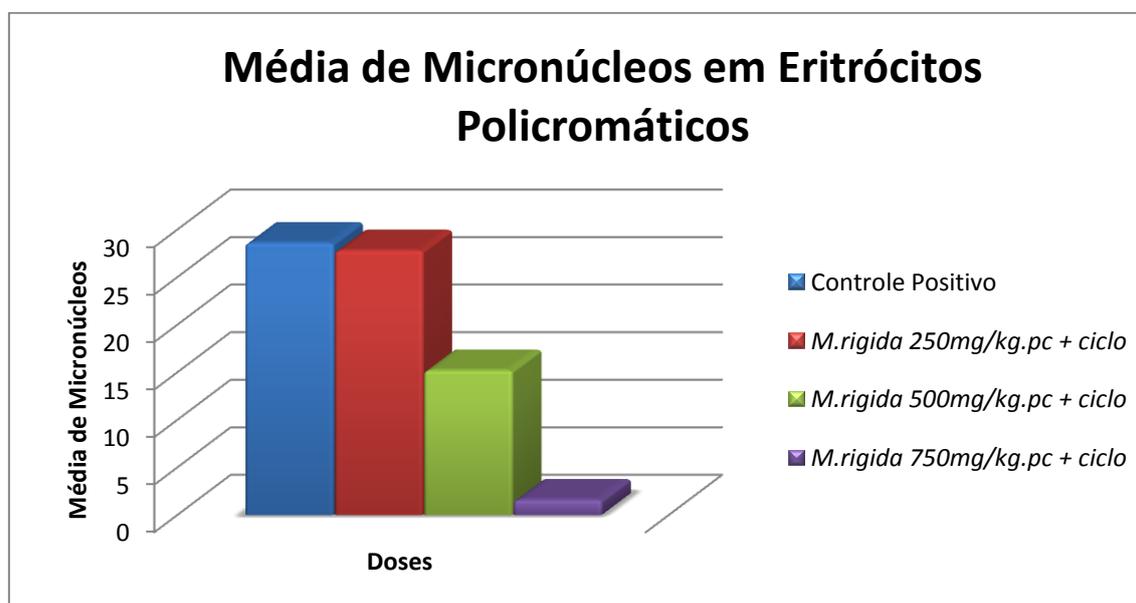
Os resultados obtidos na avaliação da atividade antimutagênica do extrato de *Maytenus rigida* também foram negativos. No entanto nas dosagens de 500 e 750mg/kg p.c. houve uma redução na quantidade de micronúcleos, bem como de eritrócitos policromáticos, revelando um processo de citotoxicidade celular, ocasionado pela potencialização do efeito tóxico causado pela associação do extrato ao agente mutagênico utilizado, a Ciclofosfamida. Como demonstra a Tabela 2 e Figura 2.

Tabela 2. Avaliação da atividade antimutagênica expressa pela média, desvio padrão das dosagens de 250, 500 e 750 mg/kg , frequência de PCE em 2000 NCE do extrato etanólico de *Maytenus rigida*, frente ao composto mutagênico ciclofosfamida.

Tratamento/Concentrações	F1	F2	F3	M1	M2	M3	Média ± SD	PCE/200NCE
Controle Positivo	31	29	28	26	29	29	28,6 ± 1,6	16
<i>M.rigida</i> 250mg/kg.pc + ciclo	30	27	25	32	25	28	27,8 ± 2,8	14
<i>M.rigida</i> 500mg/kg.pc + ciclo	16	11	14	15	16	19	15,2* ± 2,6	8
<i>M.rigida</i> 750mg/kg.pc + ciclo	2	1	2	2	3	0	1,6* ± 1,1	2

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

Figura 2: Médias do número de micronúcleos por grupo de tratamento;



4.0 DISCUSSÃO

Os resultados negativos no Teste de Micronúcleo para avaliação da mutagenicidade indicam que *Maytenus rigida* não induziu danos cromossômicos nos eritrócitos imaturos da espécie em estudo. Já que nenhuma das dosagens obteve resultados estatisticamente significativos, se comparadas ao controle negativo.

De acordo com Estevam et al., 2009, em prospecção fitoquímica *Maytenus rigida* mostra-se rica em metabólitos bioativos, como taninos, flavonóides, quinonas, saponinas, e xantonas.

Os dados disponíveis na literatura acerca das atividades biológicas destes compostos auxiliam na compreensão dos resultados obtidos. Os taninos são compostos que possuem atividade antimutagênica (DAUER. In: SANTOS 2006), antioxidante (HASLAM, 1996), antitumoral (SALEEM et al., 2002), dentre outras. No entanto, esses polifenóis apresentam potencial prooxidante (LABIENIEC; GABRYELAK. In: SANTOS, 2006). Que segundo esses autores, os taninos, quando em presença de íons metálicos, deixam de ser antioxidantes tornando-se pro-oxidantes, citotóxicos e genotóxicos.

Segundo Ribeiro e Seravalli (2004), os flavonóides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, que englobam uma variedade importante de pigmentos encontrados de modo frequente na natureza, unicamente em vegetais. Entretanto, esses compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre os sistemas biológicos (LOPES et al., 2003), e da mesma forma que os taninos, apresentam potencial prooxidante (LABIENIEC; GABRYELAK. In: SANTOS, 2006).

Na avaliação do potencial antimutagênico, constatou-se que o extrato também não apresenta efeito de proteção ao cromossomo frente ao uso de uma substância potencialmente mutagênica como a Ciclofosfamida. Na dosagem de 250 mg/kg p.c. a frequência de micronúcleos manteve-se alta, no entanto nas dosagens de 500 e 750mg/kg p.c. observou-se uma diminuição da frequência de eritrócitos policromáticos, caracterizando um processo de citotoxicidade.

A ideia de que os triterpenos possuem atividade antitumoral data desde o início da década de 1970, quando foram apontados os efeitos do extrato de *Hyptis emoryi*, contendo ácido betulínico, frente a células tumorais. O ácido betulínico é uma substância de ocorrência natural do tipo triterpeno lupano, que apresenta uma vasta

gama de atividades biológicas, incluindo propriedades citotóxicas potentes. Estudos *in vitro* reportados recentemente mostram que triterpenos análogos exibem citotoxicidade frente a linhagens celulares de vários tipos de câncer (SIDDIQUE e SALEEM, 2011; CHATURVEDI *et al.*, 2008).

Com base nesses dados, foi identificado o efeito de derivados do triterpeno lupano (lup-20(29)-eno-3 β ,30-diol) e do triterpeno fridelano (friedelan-3-ona), isolados da planta *Maytenus rigida*, com semelhança estrutural com o ácido betulínico, que apresentam propriedades citotóxicas sobre o crescimento de linhagens celulares de tumores humanos (Sarcoma de Kaposi), induzida por VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (MARTUCCIELLO *et al.*, 2009). De acordo com Monache *et al.*, 1984 e Marta *et al.*, 1979 *Maytenus rigida* apresenta, ainda um triterpeno com esqueleto lupano, o rigidinol e alcaloides citotóxicos.

Outras espécies do gênero *Maytenus* têm apresentado potencial genotóxico sem efeito clastogênico, como visto no extrato hidroalcoólico de *Maytenus robusta* (RAYMUNDO *et al.*, 2012). Muitas dessas plantas têm se mostrado potencialmente citotóxicas contra linhagens celulares de tumores humanos, como *Maytenus ilicifolia* (OHSAKI *et al.*, 2003), *Maytenus retusa* (ROYO *et al.*, 2010) *Maytenus cuzcoina* e *Maytenus chiapensis* (NUNEZ *et al.*, 2005).

A curva dos resultados revela ainda uma correlação dose dependente, que implica a necessidade da realização de estudos posteriores, avaliando o potencial mutagênico do extrato etanólico de *Maytenus rigida* em maiores concentrações.

5.0 CONCLUSÃO

Tomados em conjunto, os resultados acima discutidos revelam que o extrato etanólico da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart. não apresentou efeito clastogênico, nem propriedades antimutagênicas, contudo, mostrou citotoxicidade nas duas maiores concentrações destinadas a avaliação quanto a sua possível atividade antimutagênica. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre machos e fêmeas, mas foi observada uma correlação dose dependente. São necessários estudos posteriores para investigar a toxicidade genética de compostos isolados desse vegetal para proporcionar uma melhor compreensão dos mecanismos genotóxicos aqui observados.

ABSTRACT

The plant *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae) is widely used in Brazilian folk medicine it has several therapeutic properties, such as analgesic, antibacterial, anti-inflammatory antiulcer and antidiarrhoeal. In this study we evaluated the mutagenic and antimutagenic activity of the ethanol extract of the stem bark, through micronucleus test in peripheral blood of mice. Groups of six animals were treated with dosages of 250, 500 and 750 mg / kg bw by gavage. The results showed that the plant did not show mutagenic activity. In assessing the antimutagenicity was found that the plant also has no effect to protect the chromosome. At a dosage of 250 mg / kg bw frequency of micronuclei remained high, however the dosages of 500 and 750mg/kg we observed a decrease in the frequency of polychromatic erythrocytes characterizing a process of cytotoxicity.

Keywords: *Maytenus rigida*. Mutagenicity. Antimutagenicity. Micronucleus test.

6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. **Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil.** Rev. Bras. Farmacogn. v.17, p.114-140, 2007.

BARROSO; BRUMMIT; JOLY; GONZÁLES. In: ESTEVAM, C.S.; CAVALCANTI, A.M.; CAMBUI, E.V.F.; NETO, V.A.; LEOPOLDO, P.T.G.; FERNANDES, R.P.M.; ARAUJO, B.S.; PORFÍRIO, Z.; SANT'ANA, A.E.G. **Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de Maytenus rígida Mart. (Celastraceae).** Rev. Bras. Farmacogn, p. 229-303, 2009.

BRAZ, F. R. **Química de produtos naturais: Importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacaturno.** Química nova, v.17 p.114-16, 1994.

CHOY, W. N. **Regulatory genetic toxicology tests. Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment** (Choy, W. N.ed.), Marcel Dekker, Inc, New York, p. 93-113, 2001.

CORNFORTH M.N.; GOODWIN, G.H.; **Transmission of radiation induced acentric ahrosomal fragments to micronucleiin normal human fibroblast.** Radiat. Res, v.126, p. 210, 1991.

COUZINIER, J.P. & MAMATAS S. **Basic and applied research in the pharmaceutical industry into natural substances.** In: BARTON, O.D., W.D. (Eds), Advances in Medicinal Phytochemistry. John Libbey Montrouge, Eurotext. p. 57-61, 1986.

CHATURVEDI, P. K.; BHUI, K.; SHUKLA, Y. **Lupeol: connotations for chemoprevention.** Cancer Lett, v.263, p.1-13, 2008.

DAUER., 2003. In: SANTOS F.V., **Avaliação da mutagenicidade *in vivo* e *in vitro* de compostos obtidos de plantas nativas do cerrado.** Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp. Araraquara, 2006.

DE SMET, P.A.; **Should herbal medicine-like products be licensed as medicines.** Brit. Med. J, v.310, p.1023-1024, 1995.

DIAS, K.S.; MARQUE, M.S.; MENEZES, I.A.C.; SANTOS, T.C.; SILVA, A.B.L.; ESTEVAM, C.S.; SANT'ANA, A.E.G.; PIZZA, C.; ANTONIOLLI, A.R.; MARÇAL, R.M. **Antinociceptive activity of *Maytenus rigida* stem bark**. *Fitoterap.* v.78 p.460-464, 2007.

DORIGONI, P.A.; GUEDINI, P.C.; FRÓES, L.F.; BAPTISTA, K.C.; ETHUR, A.B.M.; BALDISSEROTTO, B.; BURGUER, M.E.; ALMEIDA, C.E.; LOPES, A.M.V.; ZÁCHIA, R.A. **Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine- RS, Brasil**. *Rev. Bras. Plant. Medic.* v.4, n.1. p. 69-79, 2001.

ERNST, E. **Heavy metals in traditional Indian remedies**. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* v.57, p.891- 896, 2002.

ESTEVAM, C.S.; CAVALCANTI, A.M.; CAMBUI, E.V.F.; NETO, V.A.; LEOPOLDO, P.T.G.; FERNANDES, R.P.M.; ARAUJO, B.S.; PORFÍRIO, Z.; SANT'ANA, A.E.G. **Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae)**. *Rev. Bras. Farmacog.* p. 229-303, 2009.

GERSHWIN, M.E. Cyclophosphamide: Use and practice. CREASEY, W. Basic Mechanisms. In: TELIS, C. M. T. **Estudo citológico de citofotométrico de eritroblastos da medula ossea de ratos tratados com ciclofosfamida**. Tese de mestrado. São Paulo: UNICAMP, 1979.

HAMILTON, ALAN. **Medicinal plants and conservation: issues and approaches**. *Internat. Plant. Conserv. Unit, WWF-UK*, 2003.

HASLAM, E. **Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action**. *J. Nat. Prod.* v. 59, p. 205-215, 1996.

HAYASHI, M.; TICE, R, R.; MACGRGOR, J. T.; ANDERSON, D. BLAKEY, D.H.; KIRSCH-VOLDERS, M.; OLESON, F.B.JR.; PACCHIEROTTI, F.; ROMAGNA, F.; H., SUTOU, S. AND VANNIER, B. **In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay**. *Mutat. Res.* v.321, p. 293-304, 1994.

HEDDLE, J.A. **A rapid *in vitro* test for chromosomal damage**. *Mutat. Res.* v.18, p.187-190, 1973.

LABIENIEC, M; GABRYELAK, T. Effects of tannins on Chinese hamster cell line B14. In: SANTOS, F.V. **Avaliação da mutagenicidade in vivo e in vitro de compostos obtidos de plantas nativas do cerrado**. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp. Araraquara, 2006.

LIMA, A. D. **Plantas das Caatingas**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, p. 104, 1989.

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; SILVA, P. A. **Flavonóides**. Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento, Brasília, v. 17, p. 18-22, 2003.

MACGREGOR, J.T.; HEDDLE, J.A.; HITE, M.; MARGOLIN, B.H; RAMEL, C.; SALAMONE, M.F.; TICE, R.R.; WILD, D. **Guidelines for the conduct of micronucleus assay in mammalian bone marrow erythrocytes**. Mutat. Res, v.189, p.103–112, 1987.

MARTA, M.; MONACHE, D.F.; BETTOLO, M.G.B.; DE MELLO J.F.; DE LIMA, O.G. **Rigidenol, a new triterpene with a lupane skeleton from *Maytenus rigida***. Gazz. Chim. Ital, v. 109 p.61–63, 1979.

MARTUCCIELLO, S.; BALESTRIERI, M.L.; FELICE, F.; ESTEVAM, C. S.; SANT'ANA, A.E.; PIZZA, C.; PIACENTE, S. **Effects of triterpene derivatives from *Maytenus rigida* on VEGF - induced Kaposi's sarcoma cell proliferation**. Chemic. Biol. Interact, v. 183, p. 450–454, 2009.

MONACHE, D.F.; BETTOLO, M.G.B.; BERNAYS E.A. **Isolation of insect antifeedant alkaloids from *Maytenus rigida* (Celastraceae)**. Z. Angew. Entomol. v. 97, p.406–414, 1984.

MOTA, C.N.; ALBUQUERQUE, U.P. **As Muitas fases da Jurema: De espécie botânica à divindade afro-indígena**. 1. ed. Rio de Janeiro, 2002.

MUREGI, F.W.; ISHIH, A.; MIYASE, T.; SUZUKI, T.; KINO, H.; AMANO, T.; MKOJI, G.M.; TERADA, M. **Antimalarial activity of methanolic extracts from plants used in Kenyan ethnomedicine and their interactions with chloroquine (CQ) against a CQ-tolerant rodent parasite, in mice**. J. Ethnopharmacol, v. 111, p.190-195, 2007.

MUTHAURA, C.N.; RUKUNGA, G.M.; CHHABRA, S.C.; OMAR, S.A.; GUANTAI, A.N.; GATHIRWA, J.W.; TOLO, F.M.; MWITARI, P.G.; KETER, L.K.; KIRIRA, P.G.; KIMANI, C.W.; MUNGAI, G.M.; NJAGI E.N. **Antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Kwale District of Kenya**. J. Ethnopharmacol, v. 112, p. 545-551, 2007.

NETO, J.X.A.; MEDEIROS, F.P.M.; MELO A.J.M.; SILVA, J.C.; DANTAS, J.P. **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***. Rev. Bio. Ciênc. Ter. v. 5, p.1519-5228, 2005.

NIERO, R.; MAFRA, A.P.; LENZI, A.C.; CECHINEL-FILHO, V.; TISCHER, C.A.; MALHEIROS, A.; DE SOUZA, M.M.; YUNES, R.A.; MONACHE, D. F. **A new triterpene with antinociceptive activity from *Maytenus robusta***. Nat. Prod. Res, v. 20, p. 1315-1320, 2006.

NUNEZ, M.J.; REYES, C.P.; JIMENEZ, I.A.; BUSSEROLLES, J.; MOUJIR, L.; BAZZOCCHI IL. **Lupane Triterpenoids from *Maytenus* Species**. J. Nat. Prod, v. 68 p.1018-1021, 2005.

OHSAKI, A.; IMAI, Y.; NARUSE, M.; AYABE, S.; KOMIYAMA, K.; TAKASHIMA, J. **Four new triterpenoids from *Maytenus ilicifolia***. J. Nat Prod. Mar, v. 67, p. 469-71, 2004.

QUINTANS, L.J.J.; ALMEIDA, J.R.G.S.; LIMA, J.T.; NUNES, X.P.; SIQUEIRA, J.S.; OLIVEIRA, L.E.G.; ALMEIDA, R.N.; ATHAYDE- FILHO, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. **Plants with anticonvulsant properties - a review**. Rev. Bras. Farmacogn, v.18, p.798-819, 2008.

RAYMUNDO, T.M.; FAVILLA, M.; NIERO, R.; ANDRADE, S.F.; MAISTRO, E.L. **Genotoxicity of the medicinal plant *Maytenus robusta* in mammalian cells *in vivo***. Genet. Mol. Res, v. 11, p. 2847-2854, 2012.

REYES, C.P.; NÚÑEZ, M.J.; JIMÉNEZ, I.A.; BUSSEROLLES, J.; ALCARAZ, M.J.; BAZZOCCHI, I.L. **Activity of lupane triterpenoids from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E2**. Bioorg. Med. Chem, v. 14, p.1573-1579, 2006.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. **Mutagênese Ambiental**. Edição Única. Canoas. p. 173-198, 2003.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia, São Paulo, 2004.

ROCHA, C.S.; PIMENTEL, R.M.M.; RANDAU, K.P.; XAVIER, H.S. **Morfoanatomia de folhas de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae); uma espécie utilizada como medicinal no nordeste do Brasil**, Acta Farm Bonaerense, v.23, p. 472-476, 2004.

ROYO, S.M.O.; CHAVEZ, H.; RODRIGUEZ, P. M.; PEREZ, L. F.; RAVELO, A.G.; BRAUN, A. E. **Cytotoxic Triterpenoids from *Maytenus retusa***. J. Nat. Prod, v.73. p.1724-1725.2010.

SALLER, R.; REICHLING J.; KRISTOF, O. **Phytotherapie - Behandlung ohne Nebenwirkungen**. Dtsch. Med. Wschr, v. 123, p.58-62, 1998.

SALEEM, A.; HUSHEEM, M.; HARKONEN, P.; PIHLAJA, K. **Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* Retz. Fruit**. J. Ethnopharmacol, v. 81, p. 327-336, 2002.

SANTOS, V.L.; COSTA, V.B.M.; AGRA, M.F.; SILVA, B.A.; BATISTA, L.M. **Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rigida* Mart (Celastraceae) in animal model**. Brazili. J. Pharmacognos, v.17, p.336-342, 2007.

SHIROTA, O.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H. **Cytotoxic aromatic triterpenes from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus chuchuhuasca***. J. Nat. Prod, v. 57, p. 1675-1681, 1994.

SHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. **Fitoterapia Racional**. 1. ed. São Paulo, 2002. 1-7 p.

SIDDIQUE, H. R.; SALEEM, M. **Beneficial health effects of lupeol triterpene: A review of preclinical studies**. Life Sci, v. 88, p. 285–293, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P DE.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. UFRGS, Porto Alegre, Florianópolis, 2004. p. 1102.

WHO. **World Health Organization.** Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines, Geneva. 1991.

ZHOU, S.; KOH, H.; GAO, Y.; GONG, Z.; LEE, E.J.D. **Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly.** Life Sci, v. 74, p.935-968, 2004.