



Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas

Versão on-line ISSN 2175-9790

Braz. J. Pharm. Sci. vol.51 no.3 São Paulo julho / setembro 2015

<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502015000300005>

ARTIGOS

Análise genotóxica e cromatográfica de extratos aquosos de *Peltodon longipes* Kunth ex Benth. (hortelã-do-campo)

Andrielle Wouters Kuhn ¹

Marília Tedesco ¹

Aline Augusti Boligon ¹

Viviane Dal-Souto Frescura ²

Margareth Linde Athayde ¹ **

Solange Bosio Tedesco ¹ *

¹ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

² Coordenador do Departamento de Ciências Acadêmicas da Universidade Federal de Santa Maria, Campus Cachoeira do Sul, Cachoeira do Sul, RS, Brasil

Serviços sob demanda

Diário

- SciELO Analytics
- Google Acadêmico H5M5 (2017)

Artigo

- texto nova página (beta)
- Inglês (pdf)
- Inglês (epdf)
- Artigo no formato xml
- Referências de artigos
- Como citar este artigo
- SciELO Analytics
- Currículo ScienTI
- Tradução automática

Indicadores

Links Relacionados

Compartilhar

Mais

Mais

Permalink

ABSTRATO

Peltodon longipes é usado como estimulante e emenagogo. O objetivo deste estudo foi realizar análises genotóxicas e cromatográficas dos extratos de duas amostras de *P. longipes*, coletadas nas cidades de Santa Maria e Tupanciretã, RS, Brasil. O ensaio *Allium cepa* foi utilizado para analisar a genotoxicidade, enquanto a cromatografia líquida de alta eficiência foi empregada para determinar compostos fenólicos. O experimento de genotoxicidade consistiu de nove grupos, cada um compreendendo quatro bulbos de *A. cepa*. Raízes bulbosas foram desenvolvidas em água destilada e transferidas para os tratamentos por 24 horas, permanecendo o controle negativo em água. Os tratamentos foram: extratos aquosos nas concentrações de 5 e 15 g L⁻¹ para cada amostra, mais quatro grupos tratados com 1% de glifosato, um dos quais foi usado como controle positivo e os outros três para testar a recuperação do dano ao DNA usando água e os extratos de *P. longipes* de Santa Maria. Todos os extratos de *P. longipes* apresentaram potencial antiproliferativo, embora o efeito tenha sido significativamente maior para os extratos da amostra de Tupanciretã. Esta amostra também continha a maior quantidade de ácido rosmarinico e kaempferol, o que pode conferir os efeitos encontrados nesses extratos. Apenas os extratos da amostra de Santa Maria exibiram potencial genotóxico.

Palavras-chave: *P. longipes* / efeito antiproliferativo; *P. longipes* / potencial genotóxico; *P. longipes* / análises cromatográficas; Teste de *Allium cepa* / genotoxicidade

RESUMO

Peltodon longipes é usado como estimulante e emenagoga. Objetivou-se realiza análises genotóxica e cromatográfica dos extratos de duas amostras de *P. longipes*, coletadas nos municípios de Santa Maria e Tupanciretã, RS, Brasil. O teste de *Allium cepa* foi utilizado para análise da genotoxicidade e cromatografia líquida de alta eficiência, para a determinação dos compostos fenólicos. O experimento de genotoxicidade constou de nove grupos de quatro bulbos de *A. cepa*. Os bulbos foram inertes em água destilada e após os tratamentos para os tratamentos, por 24 horas, permanecendo o controle negativo em água. Os exercícios foram: extratos aquosos nas concentrações de 5 e 15 g L⁻¹

de Cada Amostra, Além de Quatro grupos Tratados com glifosato 1%, um Deles USADO Como Controle positivo e Outros Três para Testar a Recuperação de Danos Ao DNA, utilizando Água e Os extratos de *P. longipes* da Amostra de Santa Maria. Todos os extratos de *P. longipes* demonstraram potencial antiproliferativo, porém o efeito foi maior para os extratos de amostra de Tupanciretã. O que foi feito também produziu uma maior quantidade de ácido rosmarínico e de canfre, o que pode estar relacionado com as informações do mercado. Apenas extratos da amostra de Santa Maria demonstraram potencial genotóxico.

Palavras-Chave: *P. longipes* / efeito antiproliferativo; *P. longipes* / potencial genotóxico; *P. longipes* / análise cromatográfica; Teste de *Allium cepa* / genotoxicidade

INTRODUÇÃO

A espécie *Peltodon longipes* Kunth ex Benth., Pertencente à família Lamiaceae, é encontrada na região sul do Brasil e também é conhecida como *P. comaroides* Briq. ([Briquet, 1989](#)). A planta é conhecida popularmente como *hortelã-do-campo* ([Lorenzi, Matos, 2008](#)) e é utilizada na medicina popular como estimulante e emenagoga (Mors *et al.*, 2000). A análise do tecido dessa espécie por métodos químicos revelou a presença de ácido ursólico ([Zelnik, Matida, Panizza, 1978/79](#)), substância presente no grupo de saponinas triterpênicas, encontrada predominantemente em dicotiledôneas (Simões *et al.*, 2004). Além disso, em um estudo realizado por [Fronza *et al.* \(2012\)](#), cinco diterpenos foram isolados da planta (7-alfa-acetoxi-royleanone, horminona, royleanone, 7-ketoroyleanone e sugiol) que mostraram atividade citotóxica contra um tipo de célula de câncer pancreático humano.

Muitas vezes, em comunidades e grupos étnicos, o único recurso disponível para o tratamento e prevenção de doenças é o conhecimento das plantas medicinais. Em algumas regiões do Brasil, mesmo nas grandes cidades, as plantas usadas na medicina popular alternativa são vendidas nos mercados e nas lojas locais. Esse recurso é utilizado pela população em geral, validando informações terapêuticas coletadas ao longo de séculos, embora seus constituintes químicos permaneçam desconhecidos e pouco estudados ([Maciel *et al.*, 2002](#)).

Muitos estudos laboratoriais encontraram um grande número de compostos antimutagênicos e anticarcinogênicos em espécies de plantas ([De Marini, 1998](#)), mas apesar dos benefícios terapêuticos, alguns dos constituintes dessas plantas podem ser potencialmente tóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e / ou teratogênicos ([Ping *et al.*, 2012](#)). No entanto, o potencial de toxicidade das plantas medicinais não é reconhecido pela população em geral ou por grupos de profissionais da medicina tradicional ([Soetan, Aiyelaagbe, 2009](#)), o que leva à necessidade de estudos dos efeitos genotóxicos dessas plantas medicinais ainda não avaliadas.

A maioria dos sistemas de testes de toxicidade depende de pequenos animais, tornando-os lentos, caros e alvo de muitas críticas ([Fátima, Ahmad, 2006](#) ; [Siddiqui Tabresz, Ahmad, 2011](#)). Entretanto, estão disponíveis bioensaios que usam plantas como organismos de teste para detectar genotoxicidade e citotoxicidade, que são fáceis de executar, rápidos, de baixo custo e biologicamente sensíveis (Fátima, Ahmad, 2006; [Morais, Marin-Morales, 2009](#)). Organismos que oferecem inúmeros benefícios incluem a cebola (*Allium cepa* L.), assegurando um ensaio de baixo custo, facilidade de manuseio e características cromossômicas adequadas ([Bich, Vedoya, Medvedeff, 2012](#)), facilitando a avaliação de danos cromossômicos e distúrbios no ciclo celular (De Rainhoet *et al.*, 2010). O teste *cepa* tem sido utilizado para avaliar danos ao DNA ([Leme, Marin-Morales, 2009](#)) e é considerado extremamente eficaz para análise *in situ* e monitoramento da genotoxicidade de uma gama de diferentes substâncias ([Silva *et al.*, 2004](#)).

Além dos testes de toxicidade, o perfil cromatográfico de um extrato vegetal também é essencial, pois pode ser considerado representativo da complexidade química da amostra, permitindo avaliar a relação entre a informação química e as características de cada amostra da planta, como a diferenciação entre espécies botanicamente semelhantes, variabilidade entre plantas coletadas de diferentes localizações geográficas e sob diferentes condições climáticas e de crescimento ([Chen *et al.*, 2009](#) ; [Martins, Pereira, Cass, 2011](#)).

Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi realizar análises genotóxicas e cromatográficas de extratos foliares de duas amostras de *P. longipes*, coletadas nas cidades de Santa Maria e Tupanciretã, estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Análise genotóxica pelo teste *Allium cepa*

As folhas de duas amostras de *P. longipes* foram coletadas de duas cidades diferentes, Santa Maria e Tupanciretã, no Rio Grande do Sul, Brasil, nas localidades geográficas 29 ° 42'19.8 "S 53 ° 43'44.6" W e 29 ° 03'56,0 "S 53 ° 50'33,8" W, respectivamente. A coleta foi realizada no verão (dezembro de 2013). Em fevereiro de 2014, após a secagem do material vegetal, os procedimentos experimentais foram iniciados. As plantas foram identificadas pelo Prof. Dr. Thais do Canto-Dorow e um exemplar de comprovante de cada acesso foi depositado no SMDB (Departamento de Biologia de Santa Maria), UFSM, sob os números de registro 15406 e 15412.

Os extratos aquosos foram preparados nas duas concentrações 5 g L^{-1} e 15 g L^{-1} , onde a concentração mais baixa é geralmente utilizada pela população para a preparação de infusões de chá medicinal. As folhas secas foram colocadas em água a ferver e infundidas durante 10 minutos. Os extractos foram então coados e deixados a arrefecer à temperatura ambiente.

O arranjo experimental consistiu de 36 bulbos de *A. cepa* compreendendo nove grupos cada um com quatro repetições. Raízes bulbosas foram desenvolvidas em água destilada e após o surgimento das raízes, cada grupo de cebola foi transferido para o respectivo tratamento. O primeiro grupo serviu como controle negativo, permanecendo em água destilada, enquanto os demais foram transferidos para os seguintes tratamentos:

extratos aquosos de *P. longipes* nas concentrações de 5 g L^{-1} (amostra de Santa Maria), 5 g L^{-1} (Amostra de Tupanciretã), 15 g L^{-1} (amostra de Santa Maria) e 15 g L^{-1} (Amostra de Tupanciretã). Outros quatro grupos foram tratados com 1% de glifosato (herbicida glifosato 480 AKB), um dos quais serviu como controle positivo e os três restantes para testar a possível recuperação do dano ao DNA em água destilada, no extrato aquoso de *P. longipes* na menor concentração, e no extrato aquoso de *P. longipes* na concentração mais alta, com ambos os últimos preparados com folhas da amostra de Santa Maria.

Os bulbos foram submetidos aos tratamentos por 24 horas e as raízes foram posteriormente coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3: 1) por 24 h. As raízes foram então refrigeradas em álcool a 70% até a preparação da lâmina. Duas lâminas foram produzidas por bulbo para cada tratamento e controle. Para a preparação da lâmina, foi utilizada uma raiz por lâmina, ou seja, um total de duas raízes por bulbo foi analisado. Estes foram hidrolisados em HCl 1 mol / L durante cinco minutos e depois lavados em água destilada e corados comorceína acética a 2%. A região meristemática das raízes foi fragmentada com o auxílio de agulhas histológicas, esmagadas segundo a técnica de [Guerra e Souza \(2002\)](#), e lamelas sobre o material. A análise incluiu 500 células por raiz, 1000 por bulbo, 4000 células por tratamento, dando um total de 36000 células no ponto final da experiência. As lâminas foram avaliadas utilizando um microscópio óptico de luz (LEICA) com objetivo 40X, observando células em interfase, prófase, metáfase, anáfase, telófase e possível ocorrência de alterações cromossômicas durante o ciclo celular. Após análise das lâminas, o Índice Mitótico (IM) foi determinado pelo cálculo do número de células em divisão / número total de células analisadas x 100.

Cromatografia líquida de alta performance (HPLC DAD)

Cromatografia líquida de alta eficiência foi empregada para a determinação e quantificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos de folhas de *P. longipes*. A análise foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial da Universidade Federal de Santa Maria, em Santa Maria (RS).

Produtos químicos, aparelhos e procedimentos gerais

Todos os químicos eram de grau analítico. Acetonitrilo, ácido fórmico, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido elágico e ácido rosmarínico foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Alemanha). A quercetina e o kaempferol foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD) foi realizada com um sistema de HPLC Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A) (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com bombas alternativas Shimadzu LC-20AT conectadas a um degaseificador DGU 20A5 com um CBM 20A. integrador, detector de arranjo de diodos SPD-M20A e software 1.22 SP1 de solução LC em execução.

Quantificação de compostos por HPLC-DAD

Anises cromatográficas de fase reversa foram realizadas em condies de gradiente utilizando uma coluna C_{18} (4,6 mm x 150 mm) cheia com partulas de 5 mm de diâmetro; a fase móvel foi água contendo 1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila (B), e o gradiente de composição foi: 13% de B até 10 min e depois alterado para obter 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 20% e 10% B a 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 min, respectivamente, seguindo o método descrito por [Kamdem et al. \(2013\)](#) com pequenas modificações. Os extratos aquosos de *P. longipes* (Santa Maria e Tupanciretã) e a fase móvel foram filtrados através de um filtro de membrana de 0,45 μm (Millipore) e, em seguida, degaseificados por banho ultrassônico antes de serem utilizados. O *P. longipes* (Santa Maria e

Tupanciretã) foram analisados na concentração de 5 g L^{-1} e 15 g L^{-1} . O fluxo foi de $0,6 \text{ mL / min}$, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$ e comprimento de onda de 254 nm para ácido gálico, 327 nm para ácidos cafeico, clorogênico, rosmarínico e elágico e 366 nm para quercetina e kaempferol. Todas as amostras e a fase móvel foram filtradas através de um filtro de membrana de $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore) e depois foram desgaseificadas por banho ultra-sônico antes de serem utilizadas. Soluções stock de referências padrão foram preparadas na fase móvel de HPLC numa gama de concentrações de $0,025 - 0,300 \text{ mg / mL}$ para quercetina e kaempferol; e $0,050 - 0,450 \text{ mg / mL}$ para os ácidos elágico, gálico, rosmarínico, clorogênico e cafeico. Os picos de cromatografia foram confirmados pela comparação dos tempos de retenção com os padrões de referência e pelo espectro DAD ($200 \text{ a } 600 \text{ nm}$). As curvas de calibração foram: para ácido gálico: $Y = 12674x + 1375,6$ ($r = 0,9998$); ácido clorogênico: $Y = 11863x + 1274,9$ ($r = 0,9998$); ácido cafeico: $Y = 13592x + 1367,1$ ($r = 0,9999$); ido elico: $Y = 13286x + 1264,1$ ($r = 0,9997$); ido rosmarico: $Y = 12837x + 1364,5$ ($r = 0,9994$); quercetina: $Y = 13627x + 1292,5$ ($r = 0,9996$) e kaempferol: $Y = 11794x + 1326,6$ ($r = 0,9999$). Todas as operações de cromatografia foram realizadas à temperatura ambiente e em triplicado.

O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados com base no desvio padrão das respostas e a inclinação usando três curvas analíticas independentes. LOD e LOQ foram calculados como $3,3$ e $10 \sigma / S$, respectivamente, onde σ é o desvio padrão da resposta e S é a inclinação da curva de calibração ([Boligon et al., 2013](#)).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat 7.7 beta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise genotóxica pelo teste *Allium cepa*

De acordo com os resultados obtidos na análise de genotoxicidade ([Tabela I](#)), o maior valor do índice mitótico (IM) foi observado para o controle negativo em água destilada (IM = $11,7\%$). Para os tratamentos utilizando os extratos aquosos preparados com folhas de *P. longipes*, foram observados índices mitóticos significativamente menores para ambas as concentrações e amostras em comparação com o controle negativo, confirmando que o extrato vegetal apresentou potencial antiproliferativo. O mesmo efeito foi encontrado por [Sturbelle et al. \(2010\)](#) em um estudo utilizando o teste da cebola para avaliar as concentrações de solução babosa (*Aloe vera* L.), 40 e 400 mL L^{-1} , cujos resultados mostraram inibição da divisão celular após aplicação das soluções em células meristemáticas de cebola.

TABELA I - Número total de células, células em interfase, células em divisão e índice mitótico (MI%) observadas no teste de genotoxicidade de duas amostras de *Peltodon longipes*

Tratamentos	Número Total de Células	Células ininterfase	Células inDivision	MI%
Controle Negativo (água destilada)	4000	3532	468	11,7 a
Extrair 5 g L^{-1} (SM)	4000	3808	192	4,8 b
Extrair 5 g L^{-1} (TP)	4000	3947	53	1,32 c
Extrair 15 g L^{-1} (SM)	4000	4779	221	5,52 b
Extrato 15 g L^{-1} (TP)	4000	3965	35	0,87 c
Controle Positivo (glifosato 1%)	4000	3901	99	2,47 c
Glifosato + Recuperação em água destilada	4000	3945	55	1,37 c
Glifosato + Recuperação no extrato 5 g L^{-1} (SM)	4000	3895	105	2,62 c
Glifosato + Recuperação no extrato 15 g L^{-1} (SM)	4000	3961	39	0,97 c

SM = amostra de Santa Maria; TP = amostra de Tupanciretã; MI = Índice Mitótico. Meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, de acordo com o teste de Scott-Knott.

Dado o fato de que os extratos estudados eram de plantas coletadas em diferentes cidades, os resultados de tratamentos na mesma concentração envolvendo diferentes amostras diferiram significativamente no índice mitótico. Por outro lado, tratamentos com extratos da mesma amostra, mesmo em diferentes concentrações, mostraram efeitos similares na divisão celular de *A. cepa*. O efeito antiproliferativo dos tratamentos derivados de folhas coletadas na amostra de Tupanciretã foi significativamente maior (MI = $1,32$ e $0,87\%$). Esses resultados

podem ser explicados por possíveis variações nos níveis de produção de metabólitos secundários das plantas estudadas, uma vez que se sabe que tais metabólitos constituem uma interface química entre as plantas e também que sua síntese é freqüentemente afetada pelo meio ambiente e condições ambientais. ([Kutchan, 2001](#)).

Com relação aos índices mitóticos dos controles positivos (1% de glyphosate) e dos tratamentos com glyphosate testando a possibilidade de recuperação de danos ao material genético pelo uso subsequente de água destilada ou extrato de *P. longipes* (amostra de Santa Maria), não houve diferenças significativas entre eles eram evidentes, com taxas similares de divisão celular sendo observada entre o controle positivo e esses três tratamentos de recuperação.

Em relação às alterações percentuais encontradas ([Tabela II](#) e [Figura 1](#)), o controle positivo com 1% de glifosato causou o maior dano percentual ao DNA (0,72%), diferindo significativamente dos demais tratamentos estudados. Isso se deve à capacidade de induzir alterações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* utilizando o glifosato, fenômeno também observado por Souza *et al.* (2010).

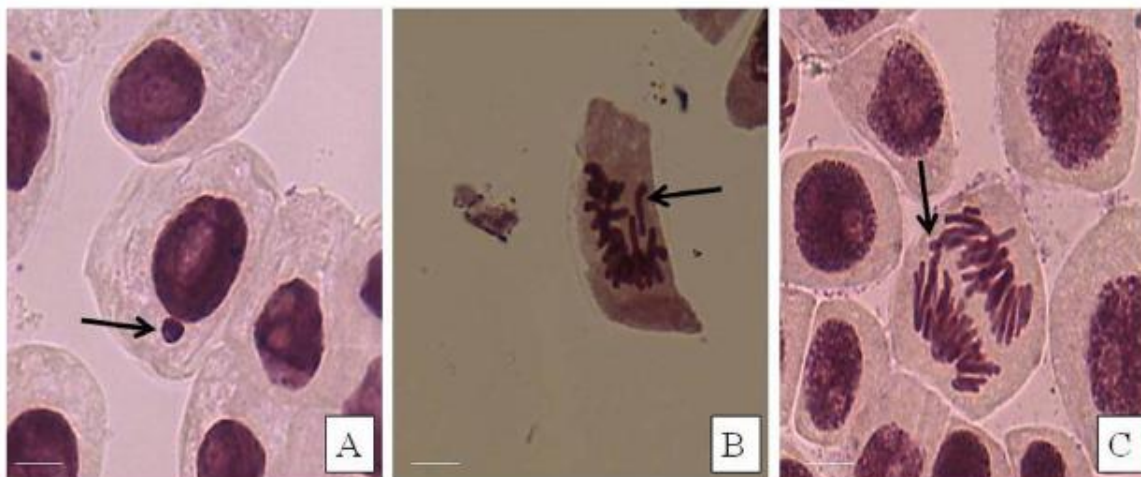


FIGURA 1 - Alterações cromossômicas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* a) Seta indica micronúcleo em interfase; b) Seta indica quebra de cromossomo em metáfase; c) Seta indica ponte cromossômica em anáfase. A escala representa 10 μm .

Entre os tratamentos com extratos de *P. longipes* no padrão (5 g L^{-1} e superior (15 g L^{-1} concentrações, houve diferença estatisticamente significativa na porcentagem de alterações cromossômicas entre os extratos aquosos de plantas de diferentes amostras. Os tratamentos com extratos de folhas de Santa Maria foram associados a uma porcentagem significativamente maior de alterações cromossômicas em comparação ao controle em água destilada, confirmando o potencial genotóxico. Por outro lado, os tratamentos com extratos aquosos de plantas coletadas de Tupanciretã não apresentaram diferença significativa em relação ao controle negativo. Assim, os tratamentos com os extratos da amostra de Tupanciretã, além de apresentar bom potencial antiproliferativo, não apresentaram atividade genotóxica.

Essa presença de efeito antiproliferativo e ausência de genotoxicidade também foi observada por [Frescura *et al.* \(2013\)](#) em testes usando extratos de *Psychotria brachypoda* (Müll Arg.) Britton no ensaio de *A. cepa*, mostrando menor MI após o tratamento com os extratos em ambos (5 g L^{-1} e superiores (20 g L^{-1} concentrações estudadas, bem como muito poucas alterações cromossômicas, confirmando a ausência de potencial genotóxico. Extratos de *Pterocaulum polystachyum* DC. ([Knoll *et al.*, 2006](#)) mostraram efeitos similares quando analisados pelo mesmo teste, enquanto que a espécie *Baccharis trimera*(Menos) DC. e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. ([Fachinetto e Tedesco, 2009](#)) exibiram atividade antiproliferativa, mas também potencial genotóxico, semelhante aos resultados encontrados para os extratos de *P. longipes* da amostra de Santa Maria.

Para os tratamentos destinados a detectar um possível efeito antigenotóxico por recuperação utilizando água destilada e extratos de *P. longipes* (amostra de Santa Maria) em concentrações mais baixas e mais altas, os três tratamentos foram associados à manifestação significativamente menor de alterações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* do que o controle positivo. O uso de água destilada levou a uma boa recuperação da divisão celular, com uma redução de 0,65% nas alterações cromossômicas em comparação com o controle positivo, que teve 0,72% de alterações cromossômicas. Resultados semelhantes foram encontrados por Frescura *et al.*(2013) que também avaliaram a recuperação de raízes de cebola através da aplicação de água destilada após o uso do glifosato. Neste caso, a água também mostrou ser eficaz para se recuperar de danos no DNA, com

uma diminuição nas alterações cromossômicas de 102 (3% de glifosato) para 41 (glifosato após a aplicação de água).

Nos tratamentos de recuperação baseados na aplicação de extratos de *P. longipes*, apenas a recuperação com o extrato de 5 g L⁻¹ (amostra de Santa Maria) diferiu significativamente da recuperação em água, mas se mostrou menos efetiva para reduzir os danos causados pelo glifosato. Por outro lado, a aplicação do extrato de 15 g L⁻¹ após o tratamento com glyphosate não diferiu significativamente da recuperação em água, mostrando o mesmo efeito. Embora o número de alterações cromossômicas tenha sido significativamente maior em alguns tratamentos em comparação ao controle negativo, deve-se notar que todos os valores foram relativamente baixos, representando menos de 1% do total de células analisadas por tratamento ([Tabela II](#)).

TABELA II - Alterações cromossômicas observadas no teste de genotoxicidade de duas amostras de *Peltodon longipes*

Tratamentos	Células totais com alterações	Alterações cromossômicas no ciclo celular	% De alterações cromossômicas		
		MN	Q	P	
Controle Negativo (água destilada)	0	0	0	0	0 c
Extrair 5 g L ⁻¹ (SM)	12	0	1	11	0,3 b
Extrair 5 g L ⁻¹ (TP)	2	2	0	0	0,05 c
Extrair 15 g L ⁻¹ (SM)	14	3	2	9	0,35 b
Extrato 15 g L ⁻¹ (TP)	2	2	0	0	0,05 c
Controle Positivo (glifosato 1%)	29	8	7	14	0,72 a
Glifosato + Recuperação em água destilada	3	0	0	3	0,07 c
Glifosato + Recuperação no extrato 5 g L ⁻¹ (SM)	12	1	5	6	0,3 b
Glifosato + Recuperação no extrato 15 g L ⁻¹ (SM)	4	1	2	1	0,1 c

MN = Micronúcleo em interfase; Q = quebras cromossômicas; P = ponte cromossômica; SM = amostra de Santa Maria; TP = amostra de Tupanciretã. Meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, de acordo com o teste de Scott-Knott.

Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC DAD)

Apesar da grande importância das plantas medicinais para a pesquisa farmacológica e no desenvolvimento de drogas, estudos que elucidam seus constituintes permanecem escassos.

HPLC fingerprinting de *P. longipes* (Santa Maria e Tupanciretã) extratos revelou a presença de ácido gálico ($t_R = 9,86$ min; pico 1), ácido clorogênico ($t_R = 19,47$ min; pico 2), ácido cafeico ($t_R = 24,98$ min; pico 3), ácido elágico ($t_R = 33,17$; pico 4), ácido rosmarínico ($t_R = 38,06$ min; pico 5), quercetina ($t_R = 41,25$ min; pico 6) e kaempferol ($t_R = 56,61$ min; pico 7) ([Figura 2](#) e [Tabela III](#)).

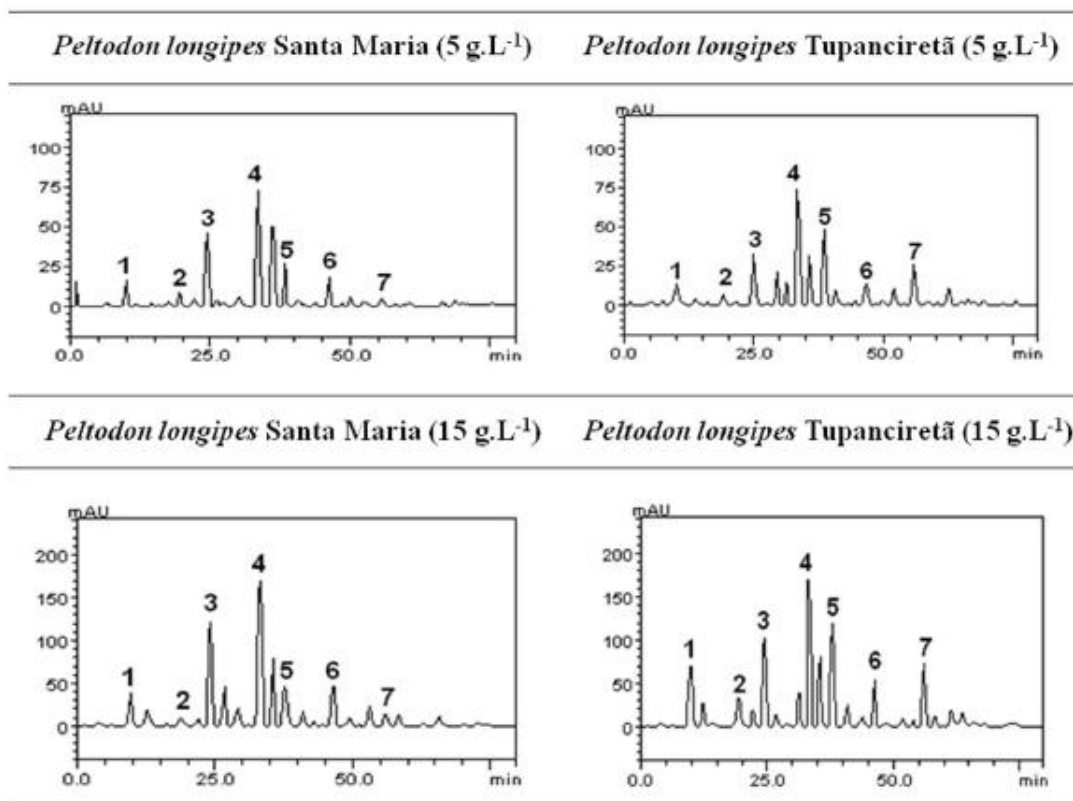


FIGURA 2 - Cromatografia líquida de alta resolução representativa de *Peltodon longipes* (Santa Maria e Tupanciretã). Ácido gálico (pico 1), ácido clorogênico (pico 2), ácido cafeico (pico 3), ácido elágico (pico 4), ácido rosmarínico (pico 5), quercetina (pico 6) e kaempferol (pico 7).

TABELA III - Composição do ácido fenólico e flavonóides do extrato aquoso de *Peltodon longipes* (Santa Maria e Tupanciretã)

Compostos	SM (5 g L ⁻¹) mg g ⁻¹	TP (5 g L ⁻¹) mg g ⁻¹	SM (15 g L ⁻¹) mg g ⁻¹	TP (15 g L ⁻¹) mg g ⁻¹	LOD μg mL ⁻¹	LOQ μg mL ⁻¹
ácido gálico	1,22 e	1,36 e	2,41 e	4,12 dias	0,017	0,056
Ácido clorogênico	0,71 f	0,64 g	0,65 f	2,21 f	0,009	0,029
Ácido cafeico	3,47 b	2,73 c	7,00 b	6,19 c	0,031	0,101
Ácido elágico	4,28 a	4,50 a	8,77 a	8,72 a	0,028	0,092
Ácido Rosmarínico	1,97 c	3,48 b	3,12 d	6,84 b	0,026	0,085
Quercetina	1,42 d	1,22 f	3,18 c	2,89 e	0,014	0,045
Kaempferol	0,63 g	2,08 d	0,59g	4,10 d	0,035	0,115

SM = amostra de Santa Maria; TP = amostra de Tupanciretã; LOD = Limite de Detecção; LOQ = Limite de Quantificação. Meios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, de acordo com o teste de Scott-Knott.

A comparação dos perfis cromatográficos dos extratos das duas diferentes amostras (Santa Maria e Tupanciretã) revelou diferenças nas quantidades de alguns compostos, particularmente para o ácido rosmarínico ([Figura 2](#) - pico 5) e kaempferol ([Figura 2](#) - pico 7), para qual a diferença foi mais evidente. Nestes dois casos, a quantidade de compostos foi maior na amostra de Tupanciretã nas duas concentrações.

No estudo in vitro realizado com células de fibroblastos humanos usando o Western blot test, foi sugerido que o ácido rosmarínico inibe genes relacionados ao promotor de NF-KB detectado no câncer ([Lee et al., 2006](#)), o que pode explicar, em parte, significativo potencial antiproliferativo em extratos de plantas da amostra de Tupanciretã. Além da possível atividade antiproliferativa do ácido rosmarínico, outras atividades biológicas foram atribuídas ao composto, como anti-tumoral ([McKay e Blumberg, 2006](#)) e também antimutagênico ([Furtado et al., 2008](#)).) propriedades. No que diz respeito aos flavonóides, incluindo o kaempferol, estes são geralmente

considerados benéficos, onde alguns medicamentos são produzidos a partir deles e usados para tratar doenças circulatórias, hipertensão, e para atuar como cofator da vitamina C, enquanto também exercem ação antitumoral, antiviral, anti-hemorragica, ação hormonal, antiinflamatória, antimicrobiana e antioxidante (Simões *et al.*, 2004).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no teste de *A. cepa*, pode-se concluir que os extratos aquosos de folhas de *P. longipes* das duas amostras estudadas, em ambas as concentrações, apresentaram potencial antiproliferativo, embora este efeito tenha sido significativamente maior para os extratos da amostra de Tupanciretã. Este acesso também mostrou a maior quantidade de ácido rosmarínico e kaempferol, o que pode conferir o efeito antiproliferativo e a ausência de genotoxicidade de seus extratos. Em relação aos extratos da amostra de Santa Maria, além de exercer um efeito antiproliferativo menor, apresentaram potencial genotóxico.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS / CAPES) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), aos quais expressamos nossa gratidão.

REFERÊNCIAS

- BICH, GA; VEDOYA, MC; MEDVEDEFF, MG Formulação antifúngica baseada em solução saturada de sacarosa: avaliação de seu potencial genotóxica empleando o processo de *Allium cepa*. Rev. Ciênc. Tecnol., V.14, n.18, p.39-43, 2012. [[Links](#)]
- BOLIGON, AA; KUBIÇA, TF; MARIO, DN; BRUM, TF; PIANA, M; WEIBLEN, R.; LOVATO, L; ALVES, SH; SANTOS, RCV; ALVES, CFS; ATHAYDE, ML Fracionamento antimicrobiano e antiviral guiado por atividade de extratos de *Scutia buxifolia* Reissek. Acta Physiol. Plant., V.35, n.7, p.2229-2239, 2013. [[Links](#)]
- BRIQUET, J. Fragmenta monographiae labiaturum I. Bull. Soc. Robô. Genève, v.5, p.20-122, 1889. [[Links](#)]
- CHEN, J; LU, Y.-H; WEI, D.-Z.; ZHOU, X.-L. Estabelecimento de uma impressão digital de framboesas por LC. Cromatografia, v.70, n.5-6, p.981, 2009. [[Links](#)]
- DE MARINI, DM Intervenções dietéticas da carcinogênese humana. Mutat Res., V.400, n.1-2, p.457-465, 1998. [[Links](#)]
- DE RAINHO, C; KAEZER, A.; AIUB, C. FELZENSZWALB, I. Capacidade das pontas das raízes de *Allium cepa* L. e *Tradescantia pallida* var. *purpurea* na avaliação da genotoxicidade e mutagenicidade da N-nitrosodietilamina. A. Acad. Bras. Ciênc., V.82, n.4, p.925-932, 2010. [[Links](#)]
- FACHINETTO, JM; TEDESCO, SB Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) AP de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. Rev. Bras. Plantas Med., V.11, n.4, p.360-367, 2009. [[Links](#)]
- FATIMA, R.; AHMAD, M. Genotoxicidade de efluentes industriais obtidos de duas diferentes fontes de poluição no norte da Índia: uma comparação de três bioensaios. Mutat Res., V.909, n.1, p.81-91, 2006. [[Links](#)]
- FURTADO, MAL; ALMEIDA, CF; FURTADO, RA; CUNHA, WR; TAVARES, DC Antimutagenicidade do ácido rosmarínico em camundongos Swiss avaliados pelo ensaio de micronúcleos. Mutat Res., V.657, n.2, p.150-154, 2008. [[Links](#)]
- FRESCURA, VD; KUHN, AW; RISO IV, HD; PARANHOS, JT; TEDESCO, SB O pós-tratamento com extratos vegetais utilizados na medicina popular brasileira causou uma reversão parcial do efeito antiproliferativo do glifosato no teste de *Allium cepa*. Biocell, v.37, n.2, p.23-28, 2013. [[Links](#)]
- FRONZA, M.; LAMY, E.; GÜNTHER, S.; HEINZMANN, B.; LAUFER, S.; MERFORT, I. Os diterpenos Abietane induzem efeitos citotóxicos na linha celular de câncer de pâncreas humano MIA PaCa-2 através de diferentes modos de ação. Fitoquímica, v.78, p.107-119, 2012. [[Links](#)]
- GUERRA, M.; SOUZA, MJ Como observar cromossomos - um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 131 p. [[Links](#)]

KAMDEM, JP; OLALEKAN, EO; HASSAN, W .; KADE, IJ; YETUNDE, O .; BOLIGON, AA; ATHAYDE, ML; SOUZA, DO; O extrato de casca de ROCHA, JBT *Trichilia catigua* (Catuaba) exerce neuroproteção contra o estresse oxidativo induzido por diferentes agentes neurotóxicos em fatias de hipocampo de ratos. *Ind. Culturas Prod.*, V.50, p.625-632, 2013. [[Links](#)]

KNOLL, MF; SILVA, ACF; CANTO-DOROW, TS; TEDESCO, SB Efeitos de *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) em células de ponta de cebola (*Allium cepa*). *Genet Mol. Biol.*, V.29, n.3, p.539-542, 2006. [[Links](#)]

KUTCHAN, TM Arsenal ecológico e despachante de desenvolvimento. O paradigma do metabolismo secundário. *Plant Physiol.*, V.125, n.1, p.58-60, 2001. [[Links](#)]

LEE, J; JUNG, E .; KIM, Y .; LEE, J; PARK, J; HONG, S .; HYUN, CG; PARK, D .; KIM, YS Ácido rosmarínico como um inibidor a jusante de IKK-beta na suprarregulação induzida por TNF-alfa de CCL 11 e CCR3. *Fr. J. Pharmacol.*, V.148, n.3, p.366-375, 2006. [[Links](#)]

LEME, DM; MARIN-MORALES, MA Teste de *Allium cepa* em monitoramento ambiental: uma revisão sobre sua aplicação. *Mutat Res.*, V.682, n.1, p.71-81, 2009. [[Links](#)]

LORENZI, H .; MATOS, FJA Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Editora Instituto Plantarum, 2008. 544 p. [[Links](#)]

MACIEL, MAM; PINTO, AC; VEIGA JR, VF; GRYNBERG, NF; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, v.25, n.3, p.429-438, 2002. [[Links](#)]

MARTINS, LRR; PEREIRA, ERF; CASS, QB Perfis cromatográficos de amostras de extratos aquosos de *Phyllanthus*: uma proposta de classificação usando modelos quimiométricos. *Anal. Bioanal. Chem.*, V.400, n.2, p.469-481, 2011. [[Links](#)]

MCKAY, DL; BLUMBERG, JB Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios para a saúde do chá de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.). *Phytother. Res.*, V.20, n.8, p.619-633, 2006. [[Links](#)]

MORAIS, D .; MARIN-MORALES, M. *Allium cepa* teste em monitoramento ambiental: Uma revisão sobre sua aplicação. *Mutat Res.*, V.682, n.1, p.71-81, 2009. [[Links](#)]

PING, KY; DARAH, eu. YUSUF, Reino Unido; YENG, C; SASIDHARAN, S. Genotoxicidade de *Euphorbia hirta*: um ensaio de *Allium cepa*. *Moléculas*, v.17, n.7, p.7782-7791, 2012. [[Links](#)]

SIDDIQUI, A .; TABRESZ, S .; AHMAD, M. Validação de bioensaios à base de plantas para o teste de toxicidade de águas indígenas. *Environ Monit. Avaliação.*, V.179, n.1-4, p.241-253, 2011. [[Links](#)]

SILVA, C.R.; MONTEIRO, M.R.; CALDEIRA-DE-ARAÚJO, A.; BEZERRA, R.J.A.C. Absence of mutagenic and citotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.1, suppl.1, p.1-3, 2004. [[Links](#)]

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Eds.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Ed. UFSC, 2004. 821 p. [[Links](#)]

SOETAN, K.O.; AIYELAAGBE, O.O. The need for bioactivity-safety evaluation and conservation of medicinal plants: a review. *J. Med. Plants Res.*, v.3, p.324-328, 2009. [[Links](#)]

STURBELLE, R.T.; PINHO, D.S.; RESTANI, R.G.; OLIVEIRA, G.R.; GARCIAS, G.L.; MARTINO-ROTH, M.G. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.20, n.3, p.409-415, 2010. [[Links](#)]

ZELNIK, R.; MATIDA, A.K.; PANIZZA, S. Chemistry of the Brazilian Labiatae. The occurrence of ursolic acid in *Peltodon radicans* Pohl. *Mem. Inst. Butantan*, v.42, p.357-361, 1978/79. [[Links](#)]

Received: January 29, 2015; Accepted: June 24, 2015

* **Correspondência:** SB Tedesco. Departamento de Biologia. Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima, 1000 - Bairro Camobi - 97105-900 - Santa Maria - RS, Brasil. E-mail: solatedesco@yahoo.com.br

**

Em memória



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Licença de Atribuição Creative Commons, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

Av. Prof. Lineu Prestes, n. 580
05508-000 S. Paulo / SP Brasil

Tel .: (55 11) 3091-3804

Fax: (55 11) 3867-8627



bjps@usp.br