



ARTIGO

Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste *in vivo* de *Allium cepa* L.

Carmine Aparecida Lenz Hister^{1,5*}, Marina Pasqualli^{2,5}, Kassia Cauana Trapp^{2,5}, Raquel Stefanello¹, Aline Augusti Boligon^{3,6}, Marli Matiko Anraku de Campos^{4,6} e Solange Bosio Tedesco^{4,5}

Recebido: 26 de agosto de 2016 Recebido após revisão: 16 de dezembro de 2016 Aceito: 19 de fevereiro de 2017
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3811>

RESUMO: (Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste *in vivo* de *Allium cepa* L.). O presente trabalho teve o propósito de avaliar o potencial antiproliferativo e genotóxico de extratos aquosos de folhas frescas e secas de *Rubus* sp. sobre a divisão meristemática de pontas de raízes de *Allium cepa*, bem como determinar os compostos fenólicos presentes nos referidos extratos. Os extratos aquosos foram preparados por infusão de folhas frescas de amoreira coletadas no município de Santa Maria, RS (nas concentrações de 20 e 60 g.L⁻¹) e de folhas secas de Nova Palma, RS (nas concentrações de 10 e 30 g.L⁻¹). Água destilada foi usada como controle negativo e glifosato 1% como controle positivo. Os compostos fenólicos foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foram analisadas 4000 células por tratamento. A análise estatística foi realizada pelos testes Tukey e Scott-Knott ($p < 0,05$). Os extratos aquosos, tanto de folhas frescas como de folhas secas, nas duas concentrações inibiram a proliferação celular, não diferindo significativamente entre si, mas diferindo dos controles. Por CLAE, o extrato aquoso de folhas secas apresentou maior quantidade total de compostos fenólicos. A quercetina foi o elemento encontrado em maior quantidade no extrato de folhas secas e o ácido cafeico foi predominante no extrato de folhas frescas. Assim, conclui-se que os extratos aquosos de folhas frescas e secas de amoreira-preta tem intensa ação antimitótica, mas não genotóxica pelo sistema teste *in vivo* vegetal.

Palavras-chave: amora, cebola, cromatografia, genotoxicidade, índice mitótico.

ABSTRACT: (Antiproliferative activity and determination of phenolic compounds in blackberry (*Rubus* sp.) aqueous extracts by the *Allium cepa* L. *in vivo* test system). We aimed to evaluate the antiproliferative and genotoxic potential of aqueous extracts prepared with fresh and dry leaves of *Rubus* sp. on meristematic divisions of *Allium cepa* root tips, as well as the phenolic compounds in the extracts. Aqueous extracts were prepared by infusion of blackberry fresh leaves collected at Santa Maria municipality, Rio Grande do Sul state (RS), southern Brazil (at concentrations 20 and 60 g.L⁻¹), and dry leaves collected at Nova Palma municipality, RS (at concentrations 10 and 30 g.L⁻¹). Distillated water was used as negative control while 1% glyphosate solution was used as positive control. Phenolic compounds were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). We analyzed a total 4000 cells per treatment. Statistical analysis was performed using Tukey and Scott-Knott tests ($p < 0.05$). Both fresh- and dry-leaf aqueous extracts at both concentrations inhibited cell proliferation, showing no significant difference from one another yet showing significant difference from the control treatments. HPLC analysis revealed that dry-leaf aqueous extracts show higher total amount of phenolic compounds. Quercetin was the compound found in highest amounts in dry-leaf aqueous extracts while caffeic acid was the predominant compound in fresh-leaf aqueous extracts. Thus, we conclude that both fresh- and dry-leaf aqueous extracts of blackberry have intense antimitotic activity but no genotoxic activity in the *in vivo* plant test system.

Keywords: blackberry, onion, chromatography, genotoxicity, mitotic index.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para prevenir e tratar enfermidades é uma prática muito antiga. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que, embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida, uma grande parcela da população dos países em desenvolvimento ainda depende da medicina tradicional, uma vez que 85% desta população utiliza plantas ou preparações destas nos

seus cuidados básicos de saúde (Brasil 2006). Entretanto, o seu uso ainda é baseado em conhecimento passado de geração para geração, sem embasamento científico. Assim, o uso indiscriminado de chás ou produtos derivados de plantas medicinais pode resultar em malefícios e efeitos colaterais para a saúde humana.

Dentre as espécies utilizadas na medicina popular, destaca-se a amoreira-preta, que faz parte de um grande grupo de plantas do gênero *Rubus*, que é constituído por

1. Bióloga, Servidor Técnico-Administrativo em Educação, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

2. Estudante de pós-graduação, Mestrado em Agrobiologia, UFSM.

3. Pós-doutoranda em Ciências Farmacêuticas, UFSM.

4. Professora, Doutora, UFSM.

5. Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, Departamento de Biologia, Prédio 16, UFSM. Avenida Roraima nº 1000, Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

6. Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia Industrial, Prédio 26, UFSM.

*Autor para contato. E-mail: carmine.hister@ufsm.br

um grupo variado e complexo de plantas pertencente à família Rosaceae (Antunes 2002). Caracterizações do gênero *Rubus* são difíceis de se fazer devido à diversidade do hábito de crescimento das plantas e distribuição das espécies (Antunes 2002). As plantas têm aspecto rústico, sob a forma de ervas-subarbustos ou de porte ereto, sendo que a maioria das espécies apresenta acúleos que lhes permite apoiarem-se em outras plantas (Fuks 1984). De acordo com a lista de espécies nativas, contida no sistema da Flora do Brasil, o gênero *Rubus* contém oito espécies e duas variedades, que são amplamente distribuídas nas regiões nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, principalmente em locais de clima ameno (Forzza et al. 2010). As folhas de amoreira-preta são utilizadas no preparo de chá, por infusão ou decocção, que é usado como diurético (Rodrigues & Carvalho 2001).

Bioensaios para detectar substâncias genotóxicas, que têm em comum propriedades químicas e físicas que permitem suas interações com os ácidos nucleicos, permitem identificar riscos potenciais aos seres humanos (Varanda 2006). O teste *Allium cepa* L. é um bioindicador de possíveis efeitos adversos sobre os cromossomos, de produtos químicos, extratos de plantas, misturas complexas entre outros. Este método é validado como um eficiente bioteste pelo Programa Internacional de Segurança Química (PISQ, OMS) (Cabrera & Rodriguez 1999; Bagatini et al. 2007; Fachinetti et al. 2007; Frescura et al. 2013) e, por apresentar elevada sensibilidade e correspondência com testes animais, este bioteste é ideal para uma avaliação preliminar de efeitos antiproliferativos e genotóxicos (Bagatini et al. 2007, Tedesco & Laughinghouse IV 2012).

A presença de substâncias resultantes do metabolismo secundário vegetal, que possuem primariamente distintas funções, especialmente a proteção das espécies produtoras, é que determina a ação terapêutica de uma planta medicinal (Taiz & Zeiguer 2013). Assim, os extratos das plantas medicinais são misturas complexas de diversos compostos, fazendo-se necessários estudos fitoquímicos capazes de detalhar os compostos presentes nos mesmos. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica que revela o perfil cromatográfico ou *fingerprint*, que é importante para a análise de extratos vegetais uma vez que possibilita obter a representatividade dos múltiplos compostos químicos presentes na amostra em uma única análise (Alaerts et al. 2007).

Desta forma, o presente trabalho foi conduzido com o propósito de avaliar o potencial antiproliferativo e genotóxico e ainda determinar os compostos fenólicos dos extratos aquosos preparados por infusão de folhas frescas e folhas secas de *Rubus* sp., por meio da observação de possíveis danos cromossômicos e também da inibição da divisão meristemática das pontas de raízes de *Allium cepa*, submetidas aos extratos das folhas em diferentes concentrações, servindo como indicativo de possíveis danos a outros tipos celulares eucarióticos, principalmente células humanas.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação da ação das infusões sobre o ciclo celular *Coleta de material botânico e preparo dos extratos aquosos*

Folhas de amoreira (*Rubus* sp.) foram coletadas de dois acessos de municípios do Rio Grande do Sul: Nova Palma (NP) e Santa Maria (SM). As folhas do acesso NP foram secas à temperatura ambiente e armazenadas em sacos de papel até o uso. As folhas do acesso SM foram coletadas no mesmo dia do preparo das infusões. Os extratos aquosos foram preparados por infusão, de 10 minutos, das folhas secas e frescas na concentração de 10 e 30 g.L⁻¹ e 20 e 60 g.L⁻¹, respectivamente. As folhas secas perdem umidade, por isso que a quantidade de material foliar seco para o preparo do chá é menor (Borges et al. 2011).

Após o preparo, os extratos foram coados e colocados em copos plásticos de 50 mL quando atingiram a temperatura ambiente.

Tratamentos e critérios de análise

Água destilada foi utilizada como controle negativo e solução de glifosato a 1% como controle positivo, pois comprovadamente induz alterações cromossômicas e inibe a divisão celular em células meristemáticas de *A. cepa* (Souza et al. 2010).

Seis grupos de quatro bulbos, cada um correspondendo a um tratamento, foram colocados para enraizar em água destilada. Após o enraizamento, em média 72 horas, um grupo permaneceu em água destilada, outro grupo foi colocado em solução de glifosato a 1% e os demais foram transferidos para os diferentes extratos aquosos preparados por infusão. A distribuição dos tratamentos foi feita da seguinte forma: tratamento 1, controle negativo (água destilada); tratamento 2, controle positivo (glifosato 1%); tratamento 3, extrato aquoso das folhas frescas de amoreira (20 g.L⁻¹) – acesso SM; tratamento 4, extrato aquoso das folhas frescas de amoreira (60 g.L⁻¹) – acesso SM; tratamento 5, extrato aquoso das folhas secas de amoreira (10 g.L⁻¹) – acesso NP; tratamento 6, extrato aquoso das folhas secas de amoreira (30 g.L⁻¹) – acesso NP. Os bulbos de cebola permaneceram nos tratamentos por 24 horas, em temperatura ambiente.

Após o período de aplicação dos tratamentos, as radículas (incluindo os controles) foram coletadas, fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas e, posteriormente, armazenadas em etanol 70% sob refrigeração. A confecção das lâminas, utilizando a orceína acética como corante do material genético, seguiu a técnica de esmagamento desenvolvida por Guerra & Souza (2002), com pequenas modificações.

A análise das lâminas foi realizada ao microscópio óptico, sendo que para cada grupo de tratamento duas lâminas foram preparadas (repetições). Quinhentas células por lâmina foram analisadas, totalizando 1000 células por bulbo, e 4000 células por tratamento. Os

valores dos índices mitóticos (IM) foram calculados com base na porcentagem de células em divisão (razão do número de células em divisão pelo número total de células analisadas, multiplicado por 100).

Análise dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD)

Uma amostra de cada extrato, na concentração mais elevada, foi separada para a realização de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial da UFSM do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Química, aparelhos e procedimentos gerais

Todos os reagentes químicos foram de grau analítico. Acetonitrila, ácido fórmico, ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cumárico e ácido cafeico foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Cianidina foi adquirida da ChromaDex. Rutina, canferol, catequina e quercetina foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). A cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada com um sistema de CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão) e auto injetor Shimadzu (SIL-20A), equipado com bombas alternativas (Shimadzu LC-20AT) ligadas a um desgaseificador (20A5 DGU) com um integrador (CBM 20A), detector de arranjo de diodos (SPD-M20A) e software (LC solution SP1 1.22).

Quantificação de compostos por CLAE

Análises cromatográficas foram realizadas em fase reversa sob condições de gradiente utilizando coluna C18 (4,6 mm x 150 mm) carregada com partículas de diâmetro 5µm, a fase móvel utilizada foi água contendo 2% de ácido fórmico (A) e acetonitrila (B), e o gradiente de composição foi: 5% (B) durante 5 min, 20% (B) até 10 min, 40, 50, 60, 70 e 100% (B) a cada 10 min, seguindo o método descrito por Thabti *et al.* (2012) com pequenas modificações. As infusões de amora foram analisadas a uma concentração de 30 e 60 g.L⁻¹. O fluxo usado foi de 0,7 mL/min, o volume de injeção de 20 µL e o comprimento de onda foi de 254 nm para o ácido gálico, 280 nm para catequina, 325 nm para o ácido cafeico, ácido cumárico e ácido clorogênico, 365 nm para rutina, quercetina, canferol e 520 nm para cianidina. As amostras e a

fase móvel foram filtradas através de filtro de membrana de 0,45 µm (Millipore) e em seguida desgaseificadas por banho de ultrassom antes da utilização. As soluções de referência foram preparadas na fase móvel para CLAE nas concentrações de 0,050-300 mg.mL⁻¹. Os picos cromatográficos foram confirmados por comparação do seu tempo de retenção com os dos padrões de referência e por espectros de DAD (200 a 500 nm).

Todas as operações cromatográficas foram realizadas à temperatura ambiente e em triplicata. 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 $\sigma.S^{-1}$, respectivamente, onde σ é o desvio padrão da resposta, e S é a inclinação da curva de calibração (Boligon *et al.* 2013).

Análise estatística

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado. Os valores dos índices mitóticos foram comparados pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As médias dos compostos fenólicos resultantes da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram comparadas utilizando-se o Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Ambos os testes foram realizados com o auxílio do programa Assistat®, versão beta 7.7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema teste *A. cepa*, por sua confiabilidade e correlação com outros testes, oferece resultados que servem como bioindicadores iniciais de genotoxicidade de plantas medicinais, contribuindo para estudos de prevenção de danos à saúde humana (Bagatini *et al.* 2007).

No presente trabalho, observou-se que os extratos aquosos de *Rubus* sp., tanto os obtidos por infusão de folhas secas como de folhas frescas, em todas as concentrações inibiram a proliferação celular, não diferindo significativamente entre si, mas diferindo dos controles (Tab. 1).

Outros autores igualmente verificaram atividade antiproliferativa de espécies medicinais, utilizando o sistema teste *A. cepa*, como Fachinetti *et al.* (2007) estudando *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, Dalla Nora *et al.* (2010) avaliando *Mikania glomerata* Sprengel, Souza *et*

Tabela 1. Número de células de raízes de *A. cepa* analisadas em intérfase, em divisão, irregulares e índice mitótico dos distintos tratamentos com extratos aquosos de *Rubus* sp.

Tratamentos	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Total de células analisadas	4000	4000	4000	4000	4000	4000
Células em intérfase	3855	3914	4000	3999	3989	3997
Células em divisão	145	33	0	1	11	3
Células com alterações	0	15	0	0	0	0
Índice mitótico (IM) %	3,625 ^{c*}	1,200 ^b	0 ^a	0,025 ^a	0,275 ^a	0,075 ^a

Abreviaturas: T1, controle negativo (água destilada); T2, controle positivo (glifosato 1%); T3, extrato aquoso das folhas frescas de amoreira (20 g.L⁻¹) – acesso Santa Maria; T4, extrato aquoso das folhas frescas de amoreira (60 g.L⁻¹) – acesso Santa Maria; T5, extrato aquoso das folhas secas de amoreira (10 g.L⁻¹) – acesso Nova Palma; T6, extrato aquoso das folhas secas de amoreira (30 g.L⁻¹) – acesso Nova Palma. * Números seguidos de letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

al. (2010) analisando *Artemisia verlotorum* Lam., Dias et al. (2014) avaliando infusões de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd., bem como Tedesco et al. (2015) estudando *Citrus sinensis* (L.) OSBECK. Borges et al. (2011) observaram uma inibição do índice mitótico em sementes de cebola tratadas com extratos aquosos de folhas frescas e secas de mamona (*Ricinus communis* L.), sendo que os extratos de folhas frescas obstaram mais fortemente a divisão celular.

Cragg & Newman (2005) relataram que muitos dos agentes utilizados no tratamento do câncer são derivados de fontes naturais e foram descobertos a partir de testes de citotoxicidade, por inibir a proliferação de células cancerígenas em modelos *in vitro* ou *ex vitro*. Portanto, é de grande importância realizar estudos adicionais sobre espécies medicinais que inibem os ciclos celulares, o que é o caso da amoreira, que demonstrou uma alta capacidade de inibição do índice mitótico em *A. cepa*. Igualmente, *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC demonstrou uma eficaz restrição da divisão celular do meristema apical de raízes de cebola, servindo como indicativo de seu modo de ação no tratamento de câncer (Sheng et al. 2000; Kurás et al. 2006).

O metabolismo secundário das plantas tem como resultado a produção de compostos fenólicos, que possuem variadas funções, como: defesa contra pragas e doenças, contra as radiações ultravioletas do sol e também podem atuar na atração de insetos polinizadores (Ignat et al. 2011). Os cromatogramas dos extratos aquosos de folhas (secas e frescas) de amoreira revelaram a presença de cianidina, ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido cumárico, rutina, quercetina e canferol. A tabela 2 mostra a quantidade média de cada um dos compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos das folhas de amoreira-preta, assim como a quantidade total de compostos obtidos por cromatografia (CLAE).

A partir da tabela 2 é possível observar que o extrato aquoso de folhas secas apresenta maior quantidade total de compostos fenólicos em relação ao extrato de folhas frescas. A quercetina foi o elemento encontrado em maior quantidade no extrato de folhas secas, seguido do ácido cafeico. Já no extrato de folhas frescas o elemento

predominante foi o ácido cafeico, sendo que os outros elementos tem grande redução em relação ao extrato de folhas secas.

Anteriormente, pesquisadores como Avila et al. (1994) reportaram que a quercetina evitou a proliferação celular de tumor de mama humano, e Seufi et al. (2009) demonstraram o efeito preventivo da quercetina sobre hepatocarcinoma em ratos. Estudos já demonstraram atividade inibitória do ácido cafeico, derivado do ácido cinâmico, em células tumorais de ratos (Jiang & Zhen, 2000). Assim, no caso dos extratos aquosos analisados, a hipótese é de que as substâncias predominantes são responsáveis pela ação inibitória sobre a divisão celular. Em trabalhos futuros, sugere-se que a extração de cada um dos produtos seja realizada e analisada.

Quanto o processo de desidratação, pode-se inferir que este de alguma forma altera a concentração de compostos fenólicos nas folhas. Estudos sobre alelopatia realizados por Goetze & Thomé (2004) mostraram que os extratos obtidos a partir de folhas secas de eucalipto e tabaco tiveram efeitos mais danosos, diminuindo a germinação de sementes de três hortaliças testadas, em comparação com os extratos obtidos de folhas frescas. Segundo Jacobi & Ferreira (1991) o material vegetal seco pode ter maior poder alelopático, revelando a não destruição das substâncias aleloquímicas no processo de secagem. Fachinetti et al. (2007) corroboram tal inferência, visto que seu trabalho mostrou que a desidratação de *Achyrocline satureioides* (marcela) provavelmente levou a uma maior concentração dos metabólitos secundários, pois os extratos feitos das inflorescências de marcela armazenadas tiveram maior capacidade antiproliferativa do que os extratos obtidos das inflorescências frescas.

Não foram encontrados na literatura relatos sobre diferença de quantidade de compostos fenólicos em extratos aquosos preparados com material seco ou fresco. Porém, Noronha et al. (2014) relataram teores de compostos fenólicos maiores em extratos etanólicos de caule, raiz e fruto seco de *Ficus pumila* L. em relação aos frescos, e apenas os extratos de folhas frescas e secas apresentaram quantidades de compostos fenólicos equivalentes.

Segundo Alibek et al. (2012) vários estudos evi-

Tabela 2. Compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos das folhas secas e frescas de amoreira-preta (*Rubus* sp.) em duas concentrações diferentes, obtidos por cromatografia de líquida de alta eficiência (CLAE).

Compostos	Extrato das folhas secas 30 g.L ⁻¹ (NP)	Extrato das folhas frescas 60 g.L ⁻¹ (SM)	LOD	LOQ
	mg.g ⁻¹		µg/mL	
Cianidina	2,49 ^{c*}	2,00 ^c	0,012	0,030
Ácido gálico	0,15 ^d	-	0,019	0,062
Catequina	2,04 ^c	2,06 ^c	0,031	0,101
Ácido clorogênico	1,18 ^d	1,16 ^d	0,025	0,083
Ácido cafeico	5,01 ^b	4,78 ^a	0,008	0,027
Ácido cumárico	2,52 ^c	0,75 ^c	0,027	0,089
Rutina	1,10 ^d	2,19 ^b	0,023	0,075
Quercetina	8,22 ^a	2,18 ^b	0,016	0,053
Canferol	2,66 ^b	1,99 ^c	0,022	0,073
TOTAL	25,38	17,12		

Abreviaturas: NP, Nova Palma; SM, Santa Maria; LOD, limite de detecção; LOQ, limite de quantificação. Resultados são expressos como média de três determinações. *Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo Teste de Scoot-Knott (p < 0,05).

denciam que agentes antimicrobianos possuem efeitos antiproliferativos e/ou citotóxicos tanto *in vitro* como *in vivo*. Medina *et al.* (2011) relacionaram positivamente a abundância de compostos fenólicos com a ação antimicrobiana sobre *Salmonella enteritidis*, assim como atividade antioxidante e antiproliferativa. Compostos fenólicos e flavonoides são capazes de reagir com o DNA, interferir na sua replicação, inibindo o crescimento bacteriano, explicando sua atividade antimicrobiana (Seyyednejad *et al.* 2008). Desta forma, conclui-se que os extratos aquosos tanto das folhas secas como das folhas frescas de amoreira-preta possuem efeito citotóxico, resultado da severa inibição da divisão celular de *A. cepa*, independente da concentração avaliada. Além disso, devido ao reduzido número de células em divisão, não foi possível verificar a existência de atividade genotóxica.

A cromatografia líquida de alta eficiência revelou que a quercetina foi o composto fenólico mais abundante no extrato aquoso de folhas secas e o ácido cafeico no extrato aquoso de folhas frescas. Os compostos secundários de plantas medicinais variam consideravelmente de acordo com vários fatores, podendo influenciar no seu valor terapêutico. Porém, apesar desta diferença na composição dos extratos, ambos apresentaram o mesmo efeito, ou seja, impediram a proliferação celular, o que pode ser extrapolado para outros tipos de células eucarióticas.

A atividade antimitótica sobre o meristema apical de raízes de cebola apresentada pelos extratos aquosos de amoreira-preta é um resultado promissor, uma vez que a inibição eficaz da divisão celular é uma exigência para potenciais drogas anticâncer extraídas de plantas medicinais.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Especial de Incentivo à Pesquisa para o Servidor Mestre (PEIPSM/UFSM), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ALAERTS, G., MATTHIJS, N., VERBEKE, J. & HEYDEN, Y. 2007. Chromatographic fingerprint development for herbal extract: A screening and optimization methodology on monolithic columns. *Journal of Chromatography A*, 1172: 1-8. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.07.080>>
- ALIBEK, K., BEKMURZAYEVA, A., MUSSABEKOVA, A. & SULTANKULOV, B. 2012. Using antimicrobial adjuvant therapy in cancer treatment: a review. *Infectious Agents and Cancer*, 7: 1-10. <<http://dx.doi.org/10.1186/1750-9378-7-33>>
- ANTUNES, L.E.C. 2002. Amora-Preta: Nova Opção De Cultivo No Brasil. *Ciência Rural*, 32: 151-158.
- AVILA, M.A., VELASCO, J.A., CANSADO, J. & NOTARIO, V. 1994. Quercetin mediates the down regulation of mutant p53 in the human breast cancer cell line MDA-MB468. *Cancer Research*, 54: 2424-2428.
- BAGATINI, M.D., SILVA, A.C.F. & TEDESCO, S.B. 2007. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 444-447. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300019>>
- BOLIGON, A.A., KUBIÇA, T.F., MARIO, D.N., BRUM, T.F., PIANA, M. & WEINBLIN, R. 2013. Antimicrobial and antiviral activity-guided fractionation from *Scutia buxifolia* Reissek extracts. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35: 2229-2239. <<http://dx.doi.org/10.1007/s11738-013-1259-0>>
- BORGES, C.D.S., CUCHIARA, C.C., SILVA, S.D.A. & BOBROWSKI, V.L. 2011. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. *Tecnologia e Ciência Agropecuária*, 5: 15-20.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. 2006. *Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos*. Brasília: Editora MS. 60 p.
- CABRERA, G.L. & RODRIGUEZ, D.M.G. 1999. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassay. *Mutation Research*, 426: 211-214.
- CRAGG, G. M. & NEWMAN, D. J. 2005. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 72-79.
- DALLA NORA, G., PASTORI, T., LAUGHINGHOUSE IV, H. D., CANTO-DOROW, T. S. & TEDESCO, S. B. 2010. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). *Biocell*, 34: 85-101.
- DIAS, M.G. CANTO-DOROW, T.S. COELHO, A.P.D. & TEDESCO, S.B. 2014. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willd. (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16: 202-208.
- FACHINETTO, J.M., BAGATINI, M.D., DURIGON, J., SILVA, A.C.F. & TEDESCO, S.B. 2007. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 49-54. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100011>>
- FORZZA, R.C. *et al.* (Org.). 2010. *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*. vol. 2. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio/Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 827 p. <<http://dspace.jbrj.gov.br/jspui/handle/doc/35>>
- FRESCURA, V.D., KUHN, A.W., LAUGHINGHOUSE IV, H. D., PARANHOS, J.T. & TEDESCO, S.B. 2013. Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. *Biocell*, 37: 23-8.
- FUKS, R. 1984. *Rubus* L. (Rosaceae) do estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia*, 36(61): 3-32.
- GOETZE, M. & THOMÉ, G.C.H. 2004. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. *Revista Brasileira de Agrociência*, 10: 43-50.
- GUERRA, M. & SOUZA, M.J. 2002. *Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Ribeirão Preto: FUNPEC. 132 p.
- IGNAT, I., VOLF, I. & POPA, V.I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126: 1821-1835. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>>
- JACOBI, U.S. & FERREIRA, A.G. 1991. Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimucronata* (DC) OK. sobre espécies cultivadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26: 935-943.
- JIANG, X. & ZHEN, Y. 2000. Cinnamamide, an antitumor agent with low cytotoxicity acting on matrix metalloproteinase. *Anticancer Drugs*, 11: 49-54.
- KURÁS, M., NOWAKOWSKA, J., SLIWINSKA, E., PILARSKI, R., ILASZ, R., TYKARSKA, T., ZOBEL, A. & GULEWICZ, K. 2006. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology*, 107: 211-221. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.018>>

- MEDINA, A.L., HAAS, L.I.R., CHAVES, F.C., SALVADOR, M., ZAMBIAZI, R.C., SILVA, W.P., NORA, L. & ROMBALDI, C.V. 2011. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, 128: 916-922. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>>
- NORONHA, N.M., RIBEIRO, G.E., RIBEIRO, I.S., MARQUES, M.J., COELHO, L.F.L. & CHAVASCO, J.K. 2014. Phytochemical profile and antioxidant and antimicrobial activities of hydroethanolic extracts of *Ficus pumila*. *African Journal of Microbiology Research*, 8: 2665-2671. <<http://dx.doi.org/10.5897/AJMR2014.6762>>
- RODRIGUES, V.E.G. & CARVALHO, D.A. 2001. *Plantas Medicinais no Domínio dos Cerrados*. Lavras: Editora UFLA. 180 p.
- SEYYEDNEJAD, S.M., MALEKI, S., DAMABI, N.M. & MOTAMEDI, H. 2008. Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and Parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1: 51-55. <<http://dx.doi.org/10.3923/ajbs.2008.51.55>>
- SEUFI, A.M., IBRAHIM, S.S., ELMAGHRABY, T.K. & HAFEZ, E.E. 2009. Preventive effect of the flavonoid, quercetin, on hepatic cancer in rats via oxidant/antioxidant activity: molecular and histological evidences. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 28:80-88. <<http://dx.doi.org/10.1186/1756-9966-28-80>>.
- SHENG, Y., BRYNGELSSON, C. & PERO, R.W. 2000. Enhanced DNA repair, immune function and reduced toxicity of C-MED-100, a novel aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 69: 115-126.
- SOUZA, L.F.B., LAUGHINGHOUSE IV, H.D., PASTORI, T., TEDESCO, M., KUHN, A.W., CANTO-DOROW, T.S. & TEDESCO, S.B. 2010. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. *International Journal of Environmental Studies*, 67: 871-877. <<http://dx.doi.org/10.1080/00207233.2010.520457>>
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2013. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 954 p.
- TEDESCO, S.B. & LAUGHINGHOUSE IV, H.D., 2012. Bioindicator of Genotoxicity : The *Allium cepa* Test. In: Srivastava, J.K. (ed.) *Environmental Contamination*. Rijeka: InTech. 232 p.
- TEDESCO, M., KUHN, A.W., BOLIGON, A.A., LAUGHINGHOUSE IV, H.D., ATHAYDE, M.L., SILVA, A.C.F. & TEDESCO, S.B. 2015. Chromatographic analysis, antiproliferative effect and genotoxicity of aqueous extracts of *Citrus sinensis* (L.) OSBECK on the *Allium cepa* L. test system. *Bioscience Journal*, 31: 1213-1221. <<http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v31n4a2015-23245>>
- THABTI, I., ELFALLEH, W., HANNACHI, W., FERCHICHI, A. & CAMPOS, A.G. 2012. Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian *Morus* species by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Functional Foods*, 4: 367-374. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.006>>
- VARANDA, E.A. 2006. Atividade mutagênica de plantas medicinais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 27: 1-7.