

Avaliação da atividade genotóxica/antigenotóxica de *Arrabidaea chica*

SHANDALE EMANUELE CAPPELARI¹

CÂNDIDA LÜDTKE¹

JULIANE GARCIA SEMEDO²

VIVIAN FRANCÍLIA SILVA KAHL³

THAIS BASSO LONGO⁴

MARC FRANÇOIS RICHTER⁵

PATRÍCIA PEREIRA⁵

ALEXANDRE DE BARROS FALCÃO FERRAZ⁵

JAQUELINE NASCIMENTO PICADA⁶

RESUMO

A planta Arrabidaea chica é utilizada na medicina popular como analgésica, antiinflamatória, agente adstringente e para o combate de enfermidades da pele. Neste trabalho foram avaliadas as atividades genotóxicas e antigenotóxicas do extrato bruto (500, 1000 e 2000 mg/Kg/dia) e frações aquosa, butanólica e clorofórmica (1000 mg/kg/dia), obtidos das partes aéreas de A. chica, através do teste cometa em camundongos CF-1. Não houve indução de danos ao DNA pelo extrato bruto ou frações de A. chica, tanto no sangue periférico quanto no fígado dos animais tratados. O extrato bruto e a fração clorofórmica

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina/ULBRA – Bolsista FAPERGS

²Acadêmica do Curso de Biomedicina/ULBRA – Bolsista PIBIC/CNPq

³Acadêmica do Curso de Biologia/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

⁴Aluna de Pós Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA.

⁵Professor(a) do Curso de Farmácia e Biomedicina/ULBRA e do PPG em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA.

⁶Professora-Orientadora do Curso de Farmácia e Biomedicina e do PPG em Genética e Toxicologia Aplicada (jnpicada@hotmail.com)

protegeram o DNA contra danos oxidativos induzidos pelo peróxido de hidrogênio, sugerindo efeito antigenotóxico por mecanismos antioxidantes.

Palavras-chave: *Arrabidaea chica*, genotoxicidade, antigenotoxicidade.

ABSTRACT

The plant *Arrabidaea chica* is used in popular medicine as analgesic, anti-inflammatory, astringent agent and to treat skin diseases. In this study, genotoxic and antigenotoxic activities of crude extract (500, 1000 and 2000 mg/kg/day) and water, butanolic and chloroformic fractions (1000mg/kg/day), obtained from the aerial parts of *A. chica*, were evaluated by comet assay in CF-1 mice. There was not DNA damage induction by crude extract or *A. chica* fractions in the peripheral blood and in the liver of the treated animals. The crude extract and the chloroformic fraction protected DNA against oxidative damages induced by hydrogen peroxide, suggesting antigenotoxic effect by antioxidant mechanisms.

Keywords: *Arrabidaea chica*, genotoxicity, antigenotoxicity.

INTRODUÇÃO

Arrabidaea chica pertence à família Bignoniaceae (sin: *Bignonia chica* (Bonpl.)) que consiste em aproximadamente 120 gêneros e 800 espécies de plantas arbustivas, arbóreas e trepadeiras. A família Bignoniaceae é conhecida por conter uma grande variedade de plantas com ocorrência no cerrado brasileiro. A espécie *Arrabidaea chica* ocorre no Brasil desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul (TAKEMURA et al., 1995). Alguns representantes deste gênero como a *Arrabidaea samydoides*, *A. brachypoda* e *A. triplinervia* demonstraram efeito antioxidante (PAULETTI et al., 2003b), atividade antifúngica (ALCERITO et al., 2002) e atividade contra doença de Chagas (LEITE et al., 2006), respectivamente.

Arrabidaea chica é popularmente chamada de carajuru, chica, pariri ou cajiru, sendo amplamente utilizada na medicina popular, principal-

mente na região Amazônica (REITZ, 1974; TAKEMURA et al., 1995; ZORN et al., 2001). Suas folhas apresentam atividades analgésica, antiinflamatória e adstringente (SILVA et al., 2007) e são utilizadas em cólicas intestinais, diarréia sanguinolenta, leucorréia, anemia e leucemia. Também é utilizada topicamente para combater as enfermidades da pele (TAKEMURA et al., 1995; ZORN et al., 2001).

Com base na literatura científica, verifica-se que existem poucos relatos de estudos químicos do gênero *Arrabidaea*, sendo *A. chica* a espécie mais estudada. A partir desta espécie foram isolados fitoesteróis (TAKEMURA, 1993), taninos e principalmente flavonóides (TAKEMURA et al., 1995; ALCERITO et al., 2002; PAULETTI et al., 2003a). CHAPMAN et al. (1927) identificaram o primeiro composto de *A. chica*, denominado carajurina. Posteriormente, os trabalhos de Harbone (1967) e Scogin (1980) relataram que a presença de um raro pig-

mento vegetal em Bignoniaceae era restrito à espécie *A. chica*. Em estudo realizado por Zorn et al. (2001), a partir do extrato éter etílico das folhas de *A. chica*, foram isoladas e identificadas quatro antocianidinas, entre elas a carajurina e carajurona. Outro composto chamado carajuflavona foi obtido a partir da fração acetato de etila do extrato metanólico das folhas de *A. chica* (TAKEMURA et al., 1995).

As folhas de *A. chica* fornecem um corante vermelho-escuro ou vermelho tijolo (vermelho carajuru), insolúvel na água e solúvel no álcool e no óleo (REITZ, 1974). Uma das substâncias presentes neste corante avermelhado foi identificada como sendo carajurina (6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxi-flavilium) (ZORN et al., 2001; PAULETTI et al., 2003a). No norte do Brasil, o corante das folhas é utilizado em tatuagens pelos índios (PAULETTI et al., 2003b). Alguns estudos como de Magalhães (UNICAMP), avaliam a possibilidade do desenvolvimento do batom de *A. chica*. O pigmento vermelho produzido por esta planta é estável, possuindo vantagens sobre corantes como o urucum, pelo fato de resistir à degradação, sendo potencialmente interessante para compor formulações de cosméticos em geral (www.inova.unicamp.br). Outro estudo da planta *A. chica* realizado por Barata e colaboradores (UNICAMP, 2006) avalia a possibilidade do emprego de *A. chica* na forma de extrato fitoterápico para uso como antifúngico e antibacteriano (www.inova.unicamp.br).

Tendo em vista que *A. chica* é utilizada popularmente e não há relatos de estudos avaliando as propriedades biológicas ou a toxicidade desta planta, este trabalho se propôs a avaliar a atividade genotóxica/antigenotóxica do extrato bruto e frações das partes aéreas de *A. chica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As partes aéreas de *A. chica* (Bignoniaceae) foram coletadas no município de Taquari no Estado do Rio Grande do Sul. O material, imediatamente após a coleta, foi selecionado, e seco em ambiente arejado e ao abrigo de luz direta e triturado em moinhos de facas.

Extração e fracionamento

As partes aéreas (100 gramas) de *A. chica* foram submetidas à decocção em água destilada (1000ml), obtendo-se o extrato bruto, onde parte deste extrato foi submetido à secura no aparelho de rotavapor e denominado extrato bruto (EB). A seguir, utilizando o restante da solução do EB, foi realizado o fracionamento utilizando solventes em polaridade crescente (clorofórmio, butanol e água). Os extratos obtidos foram concentrados à secura em aparelho de rotavapor e denominados, fração clorofórmica (FC), fração butanólica (FB) e fração aquosa (FA). Para administração nos animais os extratos secos foram diluídos posteriormente em solução salina (NaCl 0,9%).

Animais Experimentais

Foram utilizados 70 camundongos CF-1 machos e fêmeas oriundos do Biotério da Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, RS. Os animais foram mantidos a 22°C, com ciclo claro 12h/escuro 12h, durante todo o período experimental, com alimentação e água a vontade.

Tratamento dos animais

Os animais foram divididos em 7 grupos de 10 animais, sendo 5 machos e 5 fêmeas por grupo, tratados por 3 dias consecutivos e sacrificados no 4º. Dia. Os grupos foram: controle negativo: solução salina (NaCl 0,9%); extrato bruto a 500, 1000 e 2000 mg/Kg/dia; fração butanólica a 1000 mg/Kg/dia; fração clorofórmica a 1000 mg/Kg/dia e fração aquosa a 1000 mg/Kg/dia. As administrações foram feitas pela via oral (gavagem) e ajustadas ao peso de cada animal sendo de 0,1ml/ 10g de peso do camundongo.

Amostras

Foram coletadas amostras de sangue total da cauda dos animais após 3h e 24h da primeira administração (1º.dia), através da veia caudal. O sangue foi colocado em tubos tipo Eppendorf contendo heparina (12 µL para cada 50 µL de sangue total). No 4º dia, os animais foram sacrificados por decapitação para coleta de amostras de sangue e fígado.

Teste cometa

Utilizou-se a versão alcalina (pH>13) do teste cometa conforme descrito em Tice et al. (2000). Uma alíquota de 5 microlitros de sangue ou de suspensão de fígado (em PBS) foi misturada com 95 microlitros de agarose “low melting” 0,75% e a mistura foi colocada sobre lâminas pré-cobertas com agarose normal a 1,5%. Para avaliação da atividade antigenotóxica, as lâminas foram tratadas com solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 0,20 mM em PBS, por 5 minutos a 4°C, e após lavadas três vezes com solução salina (NaCl 0,9%), conforme o procedimento *ex vivo* des-

crita em Pereira et al. (2005). Em seguida, todas as lâminas foram mergulhadas em uma solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA e 10 mM Tris, pH 10 com adição de 1% Triton X-100 e 10% DMSO na hora do uso), por no mínimo 1 hora até no máximo 72 horas a 4°C, para o rompimento das membranas celulares. Posteriormente, as lâminas foram incubadas em tampão alcalino (300 mM NaOH e 1 mM EDTA, pH > 13) por 20 minutos para permitir a desnaturação do DNA. E após este período foi realizada a eletroforese com aplicação de corrente elétrica de 300 mA e 25 V (0,90 V/cm) por 15 minutos. As lâminas foram neutralizadas com tampão Tris 0,4 M, pH 7,5, coradas com nitrato de prata, conforme descrito em Nadin et al. (2001) e analisadas ao microscópio ótico.

Os resultados foram expressos em índice de danos (ID) e frequência de danos (FD). O ID foi obtido pela avaliação visual das classes de dano (de 0, sem dano aparente a 4, com máximo dano), em 100 células analisadas por tratamento. Foram classificados como sendo de classe zero os núcleos intactos, que apareceram redondos. Já nas células lesadas, o DNA livre que migrou do núcleo em direção ao ânodo, durante a eletroforese, foi visualizado como uma “cauda” de fragmentos sedimentados, semelhante a um cometa e foram classificadas em classes 1 (dano mínimo) a 4 (dano máximo). Assim o ID pode variar de 0 (todas as células da classe zero: 0 X 100) a 400 (todas as células com classe quatro: 4 X 100). FD foi calculada baseada no número de células com dano *versus* aquelas sem dano (TICE et al., 2000; NADIN et al., 2001; HARTMANN et al., 2003).

Os dados da avaliação do potencial antigenotóxico foram também expressos como

percentuais de inibição do índice de dano (ID) de acordo com a expressão: (I%): porcentagem de inibição do ID = [ID do H₂O₂ – ID do extrato com H₂O₂] / [ID do H₂O₂ – ID do controle negativo] x 100 (KAPISZEWSKA et al. 2005).

Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida utilizando análise de variância (ANOVA) com o teste Post Hoc de Dunnett. Foram considerados genotóxicos os tratamentos que aumentaram significativamente ID ou FD em relação ao tratamento com o controle negativo, com valores de $P \leq 0,05$ e antígenotóxicos os tratamentos que diminuiram significativamente os danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio, com valores de $P \leq 0,05$ e de forma dose-dependente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A versão alcalina do teste cometa, utilizada neste trabalho, detecta quebras de fita simples e dupla no DNA, sítios alcali-lábeis e *crosslinks* (TICE et al., 2000). Como mostra a Tabela 1, o extrato bruto e frações de *A. chica* não induziram danos ao DNA em sangue periférico após 3 h e 24 h da aplicação da primeira dose dos extratos e frações de *A. chica*, em nenhum dos grupos experimentais. Mesmo com o tratamento por três dias consecutivos (3 x 2000 mg/Kg), o extrato bruto não induziu danos ao DNA em sangue e fígado (Tabela 2). As frações (3 x 1000 mg/Kg) também não induziram danos (Tabela 2). Apenas foi observada uma redução significativa da FD no tecido hepático, em comparação com o controle negativo, pelo extrato bruto na dose de 500 mg/Kg/dia e 2000 mg/Kg/dia, somente em camundongos machos (Tabela 2).

Tabela 1 - Avaliação da atividade genotóxica em camundongos tratados com dose única de extratos de *Arrabidaea chica*.

ÍNDICE DE DANOS	SANGUE 3 HORAS		SANGUE 24 HORAS	
	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
GRUPOS				
CONTROLE EB ^a	6,4 ± 6,52	9 ± 6,76	17,2 ± 6,32	6,3 ± 5,91
EB 500 ^b	7,3 ± 5,93	12,33 ± 7,61	18,5 ± 8,94	4,9 ± 5,17
EB 1000 ^c	4,6 ± 3,89	5,7 ± 4,96	15,3 ± 9,69	13,25 ± 15,93
EB 2000 ^d	6,5 ± 4,87	8,7 ± 9,75	19,25 ± 14,08	10,78 ± 13,31
CONTROLE FR^a	11,13 ± 8,49	2 ± 3,08	29,22 ± 20,21	3,7 ± 6,11
FB 1000 ^e	6,89 ± 9,13	6,88 ± 4,39	23,85 ± 9,89	6,5 ± 10,77
FC 1000 ^f	4,67 ± 5,29	7,4 ± 6,48	22 ± 15,42	8,22 ± 6,3
FA 1000 ^g	8,63 ± 6,82	3,25 ± 4,95	16 ± 9,47	3,25 ± 4,95
FREQÜÊNCIA DE DANOS				
GRUPOS				
CONTROLE EB ^a	6,1 ± 6,28	5,6 ± 3,44	9,9 ± 4,01	4,4 ± 3,75
EB 500 ^b	5,8 ± 4,87	6 ± 3,08	14 ± 9,13	4 ± 3,59
EB 1000 ^c	4 ± 3,77	3 ± 2,54	8,2 ± 4,42	5,87 ± 5,03
EB 2000 ^d	5,5 ± 3,55	5,2 ± 3,39	14 ± 14,85	5,44 ± 5,03
CONTROLE FR^a	10 ± 8,12	2,4 ± 3,17	10,56 ± 6,13	2,4 ± 3,17
FB 1000 ^e	6 ± 7,24	6,12 ± 5,22	13,28 ± 6,97	3,75 ± 5,97
FC 1000 ^f	2,89 ± 1,96	6,2 ± 4,89	8 ± 5,48	6,89 ± 4,65
FA 1000 ^g	6,37 ± 5,26	3,12 ± 4,94	6,67 ± 4,85	3,12 ± 4,94

^aControle EB : controle extrato bruto – solução salina 0,9% (solvente dos extratos).

^aControle FR: controle frações – solução salina 0,9% (solvente dos extratos).

^bEB 500 (extrato bruto na dose de 500 mg/Kg); ^cEB 1000 (extrato bruto na dose de 1000 mg/Kg); ^dEB 2000 (extrato bruto na dose de 2000 mg/Kg); ^eFB 1000 (fração butanólica na dose de 1000 mg/Kg); ^fFC 1000 (fração clorofórmica na dose de 1000 mg/Kg); ^gFA 1000 (fração aquosa na dose de 1000 mg/Kg) (Resultados – média ± desvio padrão).

Amostras de sangue periférico 3 horas, 24 horas após aplicação da dose em camundongos machos e fêmeas.

Índice de dano – de zero (sem dano, 100 células X 0) a 400 (com máximo de dano, 100 X 4).

Frequência de dano – calculada baseada no número de células com dano versus aquelas sem dano.

*p≤0,05 ; **p≤0,01

Tabela 2 - Avaliação da atividade genotóxica em camundongos tratados por 3 dias consecutivos com os extratos de *Arrabidaea chica*.

ÍNDICE DE DANOS	SANGUE		FÍGADO	
	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
GRUPOS				
CONTROLE EB ^a	8,9 ± 10,17	7,71 ± 4,07	29,2 ± 20,3	29,38 ± 20,87
EB 3x 500 ^b	5,72 ± 4,72	9,33 ± 4,32	13,55 ± 15,25	20,7 ± 12,33
EB 3x 1000 ^c	12,6 ± 15,46	8,33 ± 2,08	18,8 ± 9,09	53 ± 25,71
EB 3x 2000 ^d	14,29 ± 7,97	5,75 ± 1,71	11,83 ± 9,58	73,13 ± 56,14
CONTROLE FR ^a	10,78 ± 5,33	2,5 ± 2,68	40,78 ± 14,99	20,75 ± 9,29
FB 3x 1000 ^e	11 ± 6,58	12,5 ± 16,99	33,5 ± 31,81	14,6 ± 17,39
FC 3x 1000 ^f	7,5 ± 7,52	8,25 ± 6,69	52,75 ± 30,1	15,2 ± 10,03
FA 3x 1000 ^g	9,37 ± 5,23	3,33 ± 2,87	18,85 ± 17,04	25,83 ± 21,38
FREQÜÊNCIA DE DANOS				
GRUPOS				
CONTROLE EB ^a	6,42 ± 7,34	6,29 ± 4,46	13,8 ± 8,02	10,38 ± 7,05
EB 3x 500 ^b	3,67 ± 3,27	8,67 ± 4,72	5,78 ± 6,3*	7,8 ± 4,66
EB 3x 1000 ^c	9,3 ± 10,6	8,00 ± 1,73	7,8 ± 4,42	19 ± 9,17
EB 3x 2000 ^d	10,43 ± 5,47	5,50 ± 1,29	4,5 ± 3,27*	26,63 ± 20,18
CONTROLE FR ^a	4,22 ± 1,99	2,2 ± 2,7	14,89 ± 4,91	7,25 ± 3,3
FB 3x 1000 ^e	5,3 ± 4,55	7,1 ± 9,6	12,1 ± 10,56	4,8 ± 5,31
FC 3x 1000 ^f	3,3 ± 3,09	4,75 ± 4,03	18,37 ± 11,12	5,7 ± 3,5
FA 3x 1000 ^g	5,13 ± 2,47	2 ± 2,1	6,43 ± 5,5	8,5 ± 6,02

^aControle EB : controle extrato bruto – solução salina 0,9% administrada por 3 dias consecutivos (solvente dos extratos).

^aControle FR: controle frações – solução salina 0,9% administrada por 3 dias consecutivos (solvente dos extratos).

^bEB 3x 500 (extrato bruto na dose de 500 mg/Kg/dia por 3 dias); ^cEB 3x 1000 (extrato bruto na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^dEB 3x 2000 (extrato bruto na dose de 2000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^eFB 3x 1000 (fração butanólica na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^fFC 3x 1000 (fração clorofórmica na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^gFA 3x 1000 (fração aquosa na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias) (Resultados – média ± desvio padrão).

Amostras de sangue e de fígado no sacrifício (24 horas após aplicação da última dose dos extratos) em camundongos machos e fêmeas.

Índice de dano – de zero (sem dano, 100 células X 0) a 400 (com máximo de dano, 100 X 4).

Frequência de dano – calculada baseada no número de células com dano versus aquelas sem dano.

*p≤0,05 ; **p≤0,01

No procedimento para avaliação do efeito antígeno-tóxico, após o tratamento dos animais com o extrato bruto ou frações de *A. chica*, as amostras de tecidos foram tratadas com peróxido de hidrogênio. Este método, chamado de *ex vivo*, é utilizado na determinação da antigenotoxicidade de substâncias com poten-

cial antioxidante, que podem proteger as células dos efeitos genotóxicos induzidos por lesões oxidativas ao DNA (PEREIRA et al., 2005). O DNA é especialmente sensível à ação do peróxido de hidrogênio que induz danos mediados por íons metálicos como ferro e cobre através da reação de Fenton para formação do

radical HO· (KARIHTALA e SOINI, 2007). Após geração do radical HO·, que é extremamente reativo, ocorrem lesões ao DNA que incluem modificações de bases nitrogenadas, quebras simples e duplas de fita (BARBOUTI et al., 2001).

Como mostra a tabela 3, as frações não apresentaram atividade antígeno-tóxica após 3 horas da administração de 1000 mg/Kg. Entretanto, com o tratamento de 2000 mg/Kg de extrato bruto houve aumento do ID e FD em sangue periférico de fêmeas. Porém, após três dias consecutivos de tratamento com extrato bruto, houve redução significativa do ID e FD de forma dose-dependente, em sangue de camundongos machos, sugerindo proteção contra danos oxidativos induzidos pelo peróxido de hidrogênio (Tabela 4). Este efeito não foi tão pronunciado em camundongos fêmeas, pois somente a dose máxima de EB foi estatisticamente significativa, alcançando I% de 66,6%. A ação antígeno-tóxica do EB pode estar ligada à presença de flavonóides, já relatada por Takemura et al., (1995), no extrato metanólico das folhas de *A. chica*. Tendo em vista que os flavonóides possuem a habilidade de seqüestrar radicais livres como o ânion superóxido, o radical hidroxil e peroxil (RICE-EVANS et al., 1996), pode-se sugerir que a presença desta classe de compostos no extrato bruto esteja relacionada com a atividade antígeno-tóxica deste extrato.

Em adição aos resultados de EB, a FC, no tratamento por 3 dias consecutivos, conferiu proteção contra danos oxidativos em amostras de sangue dos camundongos machos, com I% de 79,2%, porém esta fração não apresentou efeito nas fêmeas. As frações aquosa (FA) e butanólica (FB) não reduziram ID e FD, em relação ao controle positivo. No tecido hepático, tanto o extrato bruto quanto as frações não apresentaram atividades antígeno-tóxicas (Tabela 4).

É possível que o efeito antígeno-tóxico da fração clorofórmica seja devido à presença de antocianidinas, anteriormente isoladas do extrato éter etílico das folhas de *A. chica* (ZORN et al., 2001). Pool-Zobel et al. (1999) demonstraram que algumas antocianidinas apresentam potencial antioxidante. Outros estudos indicaram que as antocianidinas podem ser responsáveis pela proteção contra radicais peroxil (WANG et al., 1999; AZEVEDO et al., 2007).

A proteção conferida pelos EB e FC ao DNA, verificada pela ação antígeno-tóxica *ex vivo* (Tabela 4), pode ter ocorrido devido ao seqüestro de radicais livres por compostos antioxidantes presentes nesses extratos, ativação de enzimas antioxidantes durante o tratamento dos animais e/ou ligação de componentes dos extratos com o íon ferro, dificultando a reação de Fenton (SZETO et al., 2002).

Tabela 3 - Avaliação da atividade antigenotóxica em camundongos tratados com dose única de extratos de *Arrabidaea chica*.

ÍNDICE DE DANOS	SANGUE 3 HORAS	
	MACHOS	FÊMEAS
GRUPOS		
CONTROLE EB ^a	67,4 ± 38,97	102,11 ± 30,81
EB 500 ^b	145,33 ± 58,02	106 ± 16,48
EB 1000 ^c	140,5714 ± 60	111,13 ± 19,54
EB 2000 ^d	106,43 ± 53,5	165,88 ± 42,82**
CONTROLE FR ^a	89,11 ± 34,06	78 ± 43,86
FB 1000 ^e	54,8 ± 45,62	97,67 ± 161,39
FC 1000 ^f	92,9 ± 66,56	103 ± 33,29
FA 1000 ^g	91,5 ± 58,76	-
FREQÜÊNCIA DE DANOS		
GRUPOS		
CONTROLE EB ^a	23,2 ± 17,45	42 ± 11,33
EB 500 ^b	38,1 ± 28,6	45,55 ± 7,5
EB 1000 ^c	46,25 ± 19,77	43,1 ± 17,99
EB 2000 ^d	38,63 ± 19,04	58,78 ± 17,55*
CONTROLE FR ^a	41 ± 11,77	37,67 ± 16,56
FB 1000 ^e	26,4 ± 19,83	31,33 ± 49,08
FC 1000 ^f	38,3 ± 19,46	40,33 ± 9,45
FA 1000 ^g	38 ± 22,19	-

^aControle EB: controle extrato bruto – solução salina 0,9% (solvente dos extratos) + H₂O₂ (0,20 mM).

^aControle FR: controle frações – solução salina 0,9% (solvente dos extratos) + H₂O₂ (0,20 mM).

^bEB 500 (extrato bruto na dose de 500 mg/Kg); ^cEB 1000 (extrato bruto na dose de 1000 mg/Kg); ^dEB 2000 (extrato bruto na dose de 2000 mg/Kg); ^eFB 1000 (fração butanólica na dose de 1000 mg/Kg); ^fFC 1000 (fração clorofórmica na dose de 1000 mg/Kg); ^gFA 1000 (fração aquosa na dose de 1000 mg/Kg) (Resultados – média ± desvio padrão).

Amostras de sangue periférico 3 horas, 24 horas após aplicação da dose em camundongos machos e fêmeas.

Índice de dano – de zero (sem dano, 100 células X 0) a 400 (com máximo de dano, 100 X 4).

Frequência de dano – calculada baseada no número de células com cauda versus aquelas sem cauda.

*Valor significante = p < 0,05; **Valor significante = p < 0,01

CONCLUSÕES

O conjunto dos resultados indica que o extrato bruto e frações butanólica, clorofórmica e aquosa de partes aéreas de *A. chica* não apresentam atividade genotóxica em camundongos pelo teste cometa. O extrato bruto e a fração clorofórmica protegeram o DNA contra danos oxidativos induzidos pelo peróxido de hidrogênio, sugerindo efeito antigenotóxico por mecanismos antioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o apoio financeiro da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS -, Brasil.

Tabela 4 - Avaliação da atividade antigenotóxica em camundongos tratados por 3 dias consecutivos com os extratos de *Arrabidaea chica*.

ID	SANGUE		FÍGADO	
	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
CONTROLE EB ^a	195,38 ± 41,81	132,28 ± 53,34	315,63 ± 29,61	253,8 ± 47,02
EB 3x 500 ^b	103,6 ± 55,4**(49,2%) ^h	131,67 ± 49,72	308,25 ± 23,3	253,7 ± 65,86
EB 3x 1000 ^c	43,44 ± 21,5**(81,5%) ^h	73,25 ± 38,57	281,83 ± 29,99	274,2 ± 12,13
EB 3x 2000 ^d	39,25 ± 11,4**(83,7%) ^h	49,3 ± 23,6**(66,6%) ^h	300 ± 11,4	229,1 ± 82,3
CONTROLE FR ^a	73,35 ± 62	112,33 ± 48,94	250,5 ± 52,86	290 ± 19,45
FB 3x 1000 ^e	71,2 ± 58,47	107 ± 60,59	240,12 ± 41,53	285 ± 28,63
FC 3x 1000 ^f	23,8 ± 17,39*(79,2%) ^h	71,14 ± 19,67	226,37 ± 67,96	238,14 ± 90,9
FA 3x 1000 ^g	33,25 ± 17,68	75,6 ± 66,28	232 ± 43,87	248,11 ± 68,88
FD				
GRUPOS				
CONTROLE EB ^a	70,38 ± 14,97	67,14 ± 12,24	93 ± 3,66	86,1 ± 16,7
EB 3x 500 ^b	43,15 ± 15,63**	64 ± 14	93,5 ± 1,6	85,4 ± 22,26
EB 3x 1000 ^c	27,11 ± 19,54**	41 ± 16,81	90,5 ± 8,09	93,7 ± 2,87
EB 3x 2000 ^d	27,88 ± 7,74**	28,14 ± 9,60	95,5 ± 2,38	82,5 ± 19,14
CONTROLE FR ^a	35,47 ± 21,37	51 ± 18,83	86,4 ± 11,28	93,2 ± 4,44
FB 3x 1000 ^e	34,8 ± 23,67	47,8 ± 19,82	89,5 ± 6,8	94 ± 3,39
FC 3x 1000 ^f	15,7 ± 11,37*	45,43 ± 14,52	81,62 ± 23,94	80,86 ± 29,81
FA 3x 1000 ^g	22 ± 10,04	41,8 ± 29,52	85,12 ± 14,79	81,22 ± 21,67

^aControle EB: controle extrato bruto – solução salina 0,9% (solvente dos extratos) + H₂O₂ (0,20 mM).

^aControle FR: controle frações – solução salina 0,9% (solvente dos extratos) + H₂O₂ (0,20 mM).

^bEB 3x 500 (extrato bruto na dose de 500 mg/Kg/dia por 3 dias); ^cEB 3x 1000 (extrato bruto na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^dEB 3x 2000 (extrato bruto na dose de 2000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^eFB 3x 1000 (fração butanólica na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^fFC 3x 1000 (fração clorofórmica na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias); ^gFA 3x 1000 (fração aquosa na dose de 1000 mg/Kg/dia por 3 dias) (Resultados – média ± desvio padrão).

^hI%: porcentagem de inibição do ID = [ID do H₂O₂ – ID do extrato com H₂O₂] / [ID do H₂O₂ – ID do controle negativo] x 100. Amostras de sangue e de fígado no sacrifício (24 horas após aplicação da última dose dos extratos) em camundongos machos e fêmeas. ID: Índice de dano – de zero (sem dano, 100 células X 0) a 400 (com máximo de dano, 100 X 4).

FD: Frequência de dano – calculada baseada no número de células com dano versus aquelas sem dano.

*p≤0,05 ; **p≤0,01

REFERÊNCIAS

ALCERITO, T. et al. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, p. 677-683, 2002.

AZEVEDO, L. et al. Differential response related to genotoxicity between eggplant (*Solanum melanogena*) skin aqueous extract and its main purified anthocyanin (delphinidin) *in vivo*. **Food and Chemical**

Toxicology, v.45, p. 852-858, 2007.

BARBOUTI, A. et al. Intracellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen-induced DNA damage. **Free Radical Biology & Medicine**, v.31, p. 490-498, 2001.

CHAPMAN, E.; PERKIN, A.G.; ROBINSON, R. **Journal of Chemical Society**, p. 3015, 1927.

HARBORNE, J.B. **Comparative Biochemistry of the Flavonoids**. London:

Academic Press, 1967.

HARTMANN, A, et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. **Mutagenesis**, v.18, p. 45-51, 2003.

KAPISZEWSKA, M. et al. The protective ability of the mediterranean plant extracts against the oxidative DNA damage. The role of the radical oxygen species and the polyphenol content. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, p.183-197, 2005.

KARIHTALA, P; SOINI, Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. **APMIS**, v. 115, p. 81-103, 2007.

LEITE, J.P.V. et al. Trypanocidal activity of Triterpenes from *Arrabidaea triplinervia* and derivatives. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.29, p.2307-2309, 2006.

NADIN, S.B.; VARGAS-ROIG, M.L.; CIOCCA, D.R. A silver staining for single-cell gel assay. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v.49, p.1183-1186, 2001.

PAULETTI, P.M.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M. C.M. Constituintes Químicos de *Arrabidaea samydoidea* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v.26, p.641-643, 2003.

PAULETTI, P.M. et al. New antioxidant C-glucosylxanthones from the stems of *Arrabidaea samydoidea*. **Journal of Natural Products**, v.66, p. 1384-1387, 2003.

POOL-ZOBEL, B.L. et al. Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells. **European**

Journal of Nutrition, v.38, p. 227-234, 1999.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.;PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996.

SANDWICH, N.Y.; HUNT, D.R. Bignoniáceas. In: REITZ, P.R. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, 1974.

SCOGIN, R. Anthocyanins of the bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 8, p. 273-276, 1980.

SILVA, E.M. et al. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from Amazonian region. **Food Chemistry**, v.101, p.1012-1018, 2007.

SZETO, Y.T.; COLLINS, A.R.; BENZIE, I.F.F. Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. **Mutation Research**, v. 500, p.31-38, 2002.

TAKEMURA, O.S. **Flavonóides em folhas de *Arrabidaea chica* H&B Verlot. – Bignoniaceae**. 1993. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

TAKEMURA, O.S. et al. Flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. *cuprea*. **Phytochemistry**, v.38, p.1299-1300, 1995.

TICE, R.R. et al. Single cell gel/comet assay:guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.35, p.206-221, 2000.

UNICAMP. Disponível em <<http://www.inova.unicamp.br>>. Acesso em 26 dez. 2006.

WANG, H.;NAIR, M.G.;STRASBURG, G.M. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their

aglycon, cyaniding from tart cherries. **Journal of Natural Products**, v.62, p. 294-296, 1999.

ZORN, B. et al. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v.56, p.831-835, 2001.