

A

ATIVIDADE CITOTÓXICA DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *SPERMACOCE POAYA A. SAINT-HILAIRE* (RUBIACEAE) EM CÉLULAS NORMAIS E TUMORAIS *IN VITRO*

FRANCYELLI MARIANA DOS SANTOS MELLO
WANESSA CARVALHO PIRES
FLÁVIA DE CASTRO PEREIRA
ALINY PEREIRA LIMA
CESAR AUGUSTO SAM TIAGO VILANOVA-COSTA

Laboratório de Genética Molecular e Citogenética, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Campus II, Caixa postal 131, 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil

LUCILIA KATO

Laboratório de Produtos Naturais, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus II, Caixa postal 131, 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil

ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA-LACERDA

Laboratório de Genética Molecular e Citogenética, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Campus II, Caixa postal 131, 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil; e-mail: silveiralacerda@gmail.com

25

RESUMO: *Spermacoce poaya* é uma espécie pertencente à família Rubiaceae, tribo Spermacoceae, gênero *Borreria*, popularmente conhecida no Brasil como poaia-do-campo, poaia-rasteira e poaia-do-arador. Sua infusão é utilizada em casos de bronquite, asma e pneumonia. Nenhum estudo fitoquímico, farmacológico e/ou toxicológico foi encontrado na literatura acerca dessa espécie até o presente momento. No presente estudo, foi investigada a atividade citotóxica do extrato bruto de *S. poaya* por meio dos testes colorimétricos MTT e azul de tripano. As linhagens celulares HFF-1 e K-562 foram expostas por 24 h a diferentes concentrações do extrato bruto etanólico das folhas de *S. poaya*. Os resultados mostraram que, para as células normais (HFF-1), o extrato bruto é antiproliferativo nas concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹ e 0,1 mg.mL⁻¹; já para as células tumorais (K-562), não apresentou efeito citotóxico em nenhuma das concentrações testadas. Torna-se necessária a continuação dos estudos com essa planta utilizando outras linhagens celulares tumorais e, principalmente, células normais, para que seu efeito citotóxico possa ser comprovado.

PALAVRAS-CHAVE: Azul de tripano, citotoxicidade celular, MTT, proliferação celular, *Spermacoce poaya*.

CYTOTOXIC ACTIVITY OF THE ETHANOLIC CRUDE EXTRACT OF *SPERMACOCE POAYA A. SAINT-HILAIRE* (RUBIACEAE) IN NORMAL AND TUMOR CELLS *IN VITRO*

ABSTRACT: *Spermacoce poaya* is a species that belongs to the family Rubiaceae, tribe Spermacoce, and genus *Borreria*, popularly known in Brazil as "poaia-do-campo", "poaia-rasteira", and "poaia-do-arador". The infusion is used in cases of bronchitis, asthma, and pneumonia. So far, no phytochemical, pharmacological, and/or toxicological studies about this species have been found in the literature. In the present study, we investigated the cytotoxic activity of *S. poaya* crude extract using the colorimetric assays MTT and trypan blue. The cellular strains HFF-1 and K-562 were exposed for 24 h to different concentrations of the ethanolic crude extract of *S. poaya* leaves. The results showed that, for normal cells (HFF-1),

the crude extract is antiproliferative at the concentrations of 0.001 mg.mL⁻¹ and 0.1 mg.mL⁻¹; on the other hand, for the tumor cells (K-562), it showed no cytotoxic effect at the tested concentrations. It is necessary to continue the studies about this plant using other tumor cell lines and, mainly, normal cells, so that its cytotoxic effect can be testified.

KEY WORDS: Trypan blue, cell cytotoxicity, MTT, cell proliferation, *Spermacoce poaya*.

INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais com o intuito de tratar diversas patologias iniciou-se há milhares de anos por populações de vários países, sendo utilizados como forma alternativa ou complementar aos medicamentos sintéticos. As plantas medicinais têm importante papel na saúde mundial e, ainda hoje, são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (Maciel et al., 2002; Veiga Júnior & Mello, 2008).

Em decorrência da procura pelas plantas medicinais, nos últimos anos tem-se verificado grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas visando obter novos compostos com propriedades terapêuticas (Cechinel Filho & Yunes, 1998; Maciel et al., 2002). Frequentemente, são relatadas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica, como o taxol, produto sintético de grande importância na área dos antitumorais, obtido de plantas do gênero *Taxus* (Mesquita et al., 2009).

A família Rubiaceae Juss. se divide em três subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae. No Brasil, a família Rubiaceae é composta de cerca de 110 gêneros e 2.000 espécies (Delprete et al., 2004). Quimicamente, a família destaca-se pela presença de alcaloides quinolínicos (quinina e cinchonina), isoquinolínicos (emetina), indólicos (iombina) e bases de purina, como a cafeína, substância utilizada na indústria farmacêutica e alimentícia de todo o mundo (Schripsema et al., 2003).

A família Rubiaceae também se destaca por apresentar espécies de valor econômico e medicinal nos gêneros *Chichona*, *Coffea*, *Rubia*, *Borreria* e *Coutarea*. O gênero *Borreria* (Rubiaceae - Rubioideae - Spermacoceae) possui

cerca de 100 espécies (Cabral, 1991), distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da América, África, Ásia e Austrália, apresentando a maior diversidade no planalto brasileiro (Steyermark, 1972).

Spermacoce poaya, sinônimo *Borreria poaya*, é utilizada como chá em casos de bronquite, asma e pneumonia, sendo popularmente conhecida como poaia-do-campo, poaia-rasteira e poaia-do-arador (Balbach, 1984). Nenhum estudo fitoquímico, farmacológico e/ou toxicológico foi encontrado na literatura acerca dessa espécie até o presente momento.

A investigação da atividade citotóxica do extrato bruto etanólico das folhas de *S. poaya* (EBE_FSp) sobre células normais e tumorais faz-se necessária, uma vez que as plantas medicinais são consumidas sem comprovação dos seus efeitos farmacológicos e possíveis efeitos tóxicos. Além disso, os tratamentos atuais para os diversos tipos de câncer não são considerados satisfatórios e os estudos com plantas medicinais representam um novo viés para a síntese de medicamentos menos agressivos ao organismo.

METODOLOGIA

EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *SPERMACOCE POAYA* (EBE_FSP)

As folhas de *S. poaya* foram coletadas no município de Goiânia, Goiás, Brasil, a 5-6 km da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (UFG), no Setor Mansões do Campus, próximo ao Clube Itanhangá, em área de Cerrado pertubado (16°33'55", 49°17'05" W, 850 m, 12/XI/2004, fl).

A planta foi coletada e identificada por Delprete et al. (2004) e a exsicata do material vegetal foi depositada no herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFG, n° 40700.

Para a obtenção do extrato bruto etanólico, o material vegetal coletado foi encaminhado ao Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da UFG para ser submetido ao processo de extração com etanol e, posteriormente, evaporação do solvente orgânico por vácuo à temperatura de aproximadamente 40°C.

ENSAIOS *IN VITRO*

Neste estudo, foram utilizadas uma linhagem de leucemia mieloide crônica – células tumorais K-562 (ATCC CCL-243) e uma linhagem de células normais – fibroblasto do prepúcio do pênis, HFF-1 (ATCC SCRC-1041). Todas as linhagens foram provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro, seguindo o protocolo de manutenção das células do ATCC. As células HFF-1 foram tripsinizadas com tripsina (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO, EUA) na concentração de 2,5 mg.mL⁻¹, para posterior quantificação. As células foram centrifugadas por 10 min a 2000 rpm e o sobrenadante foi descartado. O botão celular foi ressuspenso em 1 mL de meio de cultura suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco, Grand Island, NY, EUA) e antibióticos 100 UI/mL (estreptomicina e penicilina) (Cultilab, Campinas, SP, Brasil). Em seguida, realizou-se a contagem das células viáveis em azul de tripano (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) para o ajuste da concentração em 2 x 10⁵ células/poço para a posterior realização dos ensaios de citotoxicidade.

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR PELO ENSAIO DE REDUÇÃO DO MTT

O princípio desse método consiste em medir indiretamente a viabilidade celular pela absorção do sal tetrazólio MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]} pelas células, sendo reduzido no interior da mitocôndria, por meio da atividade enzimática de desidrogenases, ao produto chamado azul de formazan (Mosmann, 1983).

A suspensão celular obtida na concentração de 2 x 10⁵ células/poço foi adicionada a uma placa de 96 poços e submetida às concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹ do extrato por 24 h,

segundo o protocolo estabelecido por Silveira-Lacerda et al. (2009).

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE PELO MÉTODO DE EXCLUSÃO DO AZUL DE TRIPANO

A avaliação da citotoxicidade na presença do EBefSp foi realizada segundo o método de exclusão de azul de tripano em células K-562. Esse método permite detectar células inviáveis, cuja membrana, por apresentar danos, permite a incorporação do corante, corando-se de azul; por outro lado, como as células viáveis apresentam membrana íntegra, bloqueiam a passagem do corante, ficando transparentes (McAteer & Davis, 1994 apud Ribeiro et al., 2003).

A suspensão celular obtida na concentração de 2 x 10⁵ células/poço foi adicionada a uma placa de 96 poços e submetida às concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹ do extrato por 24 h. Após esse período de tratamento, foi adicionado azul de tripano (0,2%) (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, EUA) à suspensão celular (v/v), a qual foi homogeneizada, sendo uma amostra de 10 µL colocada em câmara de Neubauer para a contagem das células viáveis e inviáveis em microscópio óptico.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos dados, foram aplicados os testes de análise de variância (ANOVA) e de comparação múltipla de Tukey, com p < 0,05, para a comparação entre os grupos, utilizando o Software GraphPad-Prism V3.02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foi avaliada a atividade citotóxica *in vitro* do EBefSp, nas concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹, em células de leucemia mieloide crônica K-562 e células de fibroblasto do prepúcio do pênis HFF-1.

Os testes realizados com as células K-562 revelaram que o EBefSp não teve efeito citotóxico significativo no crescimento celular em nenhuma das concentrações testadas, não sendo possível determinar o valor de IC 50%

(concentração que inibe em 50% a viabilidade celular). Os resultados do teste de MTT (Figura 1) demonstraram que os tratamentos nas concentrações de $0,001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ extrapolaram de forma dose-dependente a viabilidade celular obtida para o grupo controle negativo em 3,46%, 5,00%, 6,84% e 9,93%, respectivamente.

O teste de azul de tripano (Figura 2) apresentou viabilidade celular de 85,41%, 90,91%, 89,20% e 83,60%, respectivamente, para as concentrações de $0,001 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Não houve diferença significativa em nenhum dos tratamentos do EBEfSp em relação ao controle negativo.

Embora os resultados obtidos com o teste de azul de tripano difiram dos obtidos pelo teste de MTT, ambos evidenciam alta viabilidade celular para todos os tratamentos. Essa diferença pode ocorrer porque o teste de azul de tripano mede a citotoxicidade por meio da integridade da membrana celular, ao passo que o MTT mede a viabilidade por meio da atividade de desidrogenases da mitocôndria. Sendo assim, se a célula tiver sua membrana lisada, suas organelas podem continuar em

atividade e, portanto, o MTT continua a ser reduzido pela atividade mitocondrial.

Na literatura, são encontrados diversos estudos com plantas da família Rubiaceae nos quais se avaliam as atividades antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e antioxidante. Peixoto Neto et al. (2002) testaram o potencial antibacteriano do extrato metanólico das raízes de *Borreria verticilata* (Rubiaceae) em relação a cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa*. O extrato de *B. verticilata* exibiu ampla atividade antibacteriana, provavelmente pela presença de alcaloides indólicos.

Niño et al. (2006) testaram 30 extratos de oitos plantas da família Asteraceae e duas plantas da família Rubiaceae em duas bactérias Gram-positivas, duas Gram-negativas e três fungos. Os autores relataram que a espécie mais importante da pesquisa foi *Gonzalagunia rosea* Standl (Rubiaceae) em decorrência da atividade intensa e moderada dos extratos metanólico e diclorometano contra os fungos *Fusarium solani* e *Candida albicans*, respectivamente, bem como da intensa atividade citotóxica do extrato metanólico testado no bioensaio com *Artemia salina*.

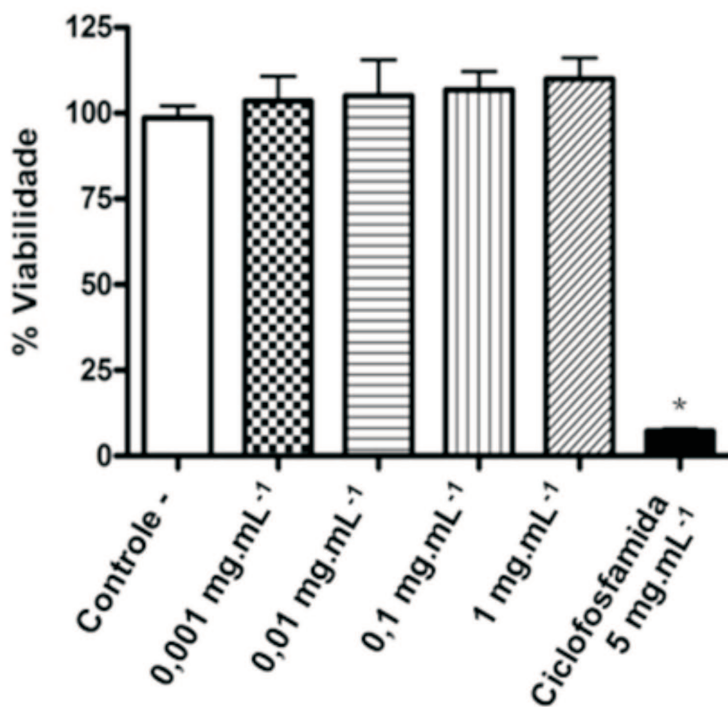


Figura 1 – Viabilidade celular de células K-562 após 24 h de exposição ao tratamento com o EBEfSp pelo teste de MTT (média e desvio padrão dos tratamentos).

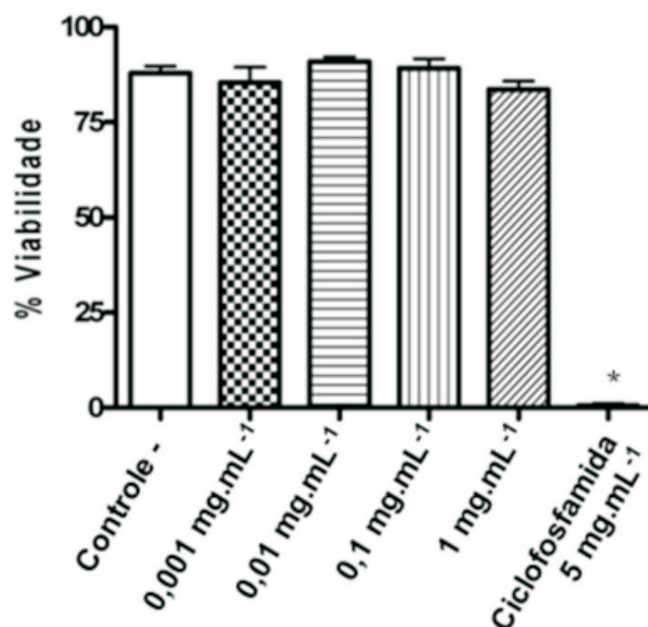


Figura 2 – Viabilidade celular de células K-562 após 24 h de exposição ao tratamento com o EBEfSp pelo teste de azul de tripano (média e desvio padrão dos tratamentos).

Galianthe é a primeira ramificação do táxon *Spermacoce* (Karehed et al., 2008), sendo encontrados na literatura estudos antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes e antitumorais com espécies do gênero. O extrato bruto das partes aéreas de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae) foi submetido à avaliação da atividade citotóxica em culturas de células tumorais, entre elas K-562. Moura et al. (2006) observaram que o extrato de *G. brasiliensis*, na concentração de 25 µg/mL, inibiu em 66% o crescimento celular e induziu morte celular de 65% na maior concentração testada, 250 µg/mL. Os autores acreditam que a atividade antiproliferativa observada pode estar relacionada aos ácidos ursólico e asperulosídeo, presentes na planta, os quais possuem atividade antitumoral comprovada.

Os dados obtidos com o EBEfSp em relação às células HFF-1 servem de alerta à população que faz uso dessa planta medicinal, pois o IC 50% calculado pelo programa GraphPad-Prism foi de 1,15 mg.mL⁻¹, o que revela concentração baixa para planta medicinal em células normais. Além disso, os resultados revelaram de baixa a moderada citotoxicidade, apresentando viabilidade celular de 57,52%, 87,04%, 58,07% e 78,73%, nas concentrações

de 0,001 mg.mL⁻¹, 0,01 mg.mL⁻¹, 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹, respectivamente (Figura 3).

Células HFF-1 tratadas com 0,01 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹ do EBEfSp apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto à sobrevivência em relação ao controle positivo; já as concentrações de 0,001 mg.mL⁻¹ e 0,1 mg.mL⁻¹ apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo, $p < 0,01$.

Em seus estudos com *Siolmatra brasiliensis* (Cucurbitaceae), Lima et al. (2006) obtiveram resultados semelhantes, porém o EBEfSp foi mais citotóxico, apresentando maior percentual inibitório do crescimento celular em concentrações menores. O extrato bruto etanólico de *S. brasiliensis* foi citotóxico em 46% e 36%, para macrófagos mantidos na cavidade intraperitoneal de camundongos Swiss, nas concentrações de 2,5 mg.mL⁻¹ e 5 mg.mL⁻¹, respectivamente.

A ciclofosfamida, um agente antineoplásico, tem propriedades alquilantes, complexando-se com o DNA de forma indiscriminada entre as células normais e cancerosas (Valadares et al., 2007). Apesar disso, células de fibroblastos submetidas à ciclofosfamida como controle positivo apresentaram citotóxi-

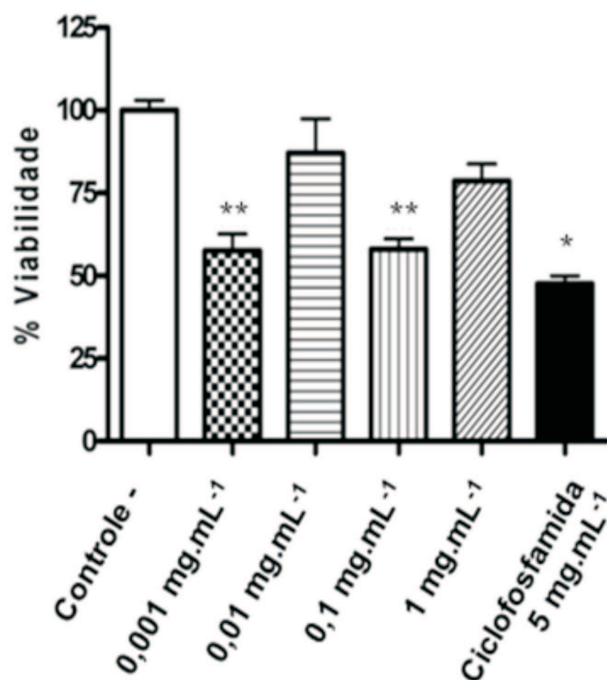


Figura 3 – Viabilidade celular de células HFF-1 após 24 h de exposição ao tratamento com o EBEfSp pelo teste de MTT (média e desvio padrão dos tratamentos; ** $p < 0,01$ em relação ao controle negativo; * $p < 0,05$ em relação ao controle negativo).

cidade moderada, inibindo o crescimento celular em 52,26%, enquanto nas células K-562, sua expressão de inibição de crescimento celular foi elevada, em torno de 93,00%.

Embora a ciclofosfamida não tenha expressado numericamente ação inibitória muito satisfatória em células HFF-1, o teste estatístico indicou diferença significativa ($p < 0,05$) do controle negativo em relação ao controle positivo. Portanto, a ciclofosfamida e as concentrações de 0,1 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹ do EBEfSp expressaram atividade citotóxica sobre células de fibroblasto. É preocupante o resultado do presente estudo em relação a células de fibroblasto, pois diversas plantas com ação medicinal podem causar ação tóxica ao organismo.

Segundo Veiga Júnior et al. (2005), planta medicinal é um agente xenobiótico, ou seja, um composto estranho ao organismo humano, que apresenta produtos de biotransformação potencialmente tóxicos. Assim, não possuem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com sua ingestão, mas também efeitos que se instalam a longo prazo e de forma assintomática, podendo levar a quadro clínico severo, algumas vezes até mesmo fatal.

Estudos realizados por Bolzani et al. (2001), para elucidar os constituintes químicos da subfamília Rubioideae, mostraram que esta se caracteriza, principalmente, pela presença de antraquinonas, triperenos, alcaloides e flavonoides.

Morais et al. (2005) comprovaram as ações cicatrizante, antibacteriana, antifúngica e antivirótica da babosa [*Aloe vera* (Liliaceae)] pela presença de antraquinonas; porém, em doses altas, a planta não deve ser usada por via oral, pois causa ação nefrotóxica pelo teor aumentado de seu principal princípio ativo (Matos, 2000 apud Silveira et al., 2008). Tanto jatobá [*Hymenaea courbail* L. (Fabaceae)] como *S. poaya* (Rubiaceae) são utilizados como expectorante e, conforme Veiga Júnior et al. (2005), doses elevadas dessas plantas podem desencadear reações alérgicas.

Nos estudos realizados com plantas de diversas famílias, os alcaloides são considerados os metabólitos secundários mais promissores na área dos antitumorais. Ao mesmo tempo, encontram-se relatos afirmando que os alcaloides são os principais constituintes das plantas tóxicos aos seres humanos.

Como exemplos de toxicidade de substâncias presentes em plantas, Veiga Júnior et al. (2005) citaram os efeitos hepatotóxicos de apiol, safrol, lignanas e alcaloides pirrolizidínicos, além da ação tóxica renal que pode ser causada por espécies vegetais que contêm terpenos e saponinas. Na literatura, são encontrados relatos de plantas contendo alcaloides pirrolizidínicos relacionados a comprometimento do fígado e danos hepáticos agudos, principalmente envolvendo plantas como cavalinha (*Teucrium chamaedrys* L.), confrei (*Symphytum officinale* L.) e valeriana (*Valeriana officinalis* L.) (Seeff, 2007).

CONCLUSÃO

O EBEfSp não apresentou atividade citotóxica em células tumorais de leucemia mielóide crônica K-562; porém, mostrou atividade citotóxica em células HFF-1, sendo necessário avaliar sua ação genotóxica, uma vez que a população brasileira faz uso medicinal dessa espécie de planta.

Deve ser realizado estudo fitoquímico de *S. poaya* para elucidar seu mecanismo de ação e, assim, relacioná-lo com os resultados obtidos neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Balbach, A.** 1984. A flora nacional na medicina doméstica. 18^a ed., Edições a edificação do lar, São Paulo, 919 pp.
- Bolzani, V. S., M. C. M. Yong, M. Furlan, A. J. Cavalheiro, A. R. Araújo, D. H. S. Silva & M. N. Lopes.** 2001. Secondary metabolites from Brazilian Rubiaceae plant species: chemotaxonomical and biological significance. *Recent Res. Dev. Phytochem.* 5: 19-31.
- Cabral, E. L.** 1991. Rehabilitación del género *Galianthe* (Rubiaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27: 217-231.
- Cechinel Filho, V. & R. A. Yunes.** 1998. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceito sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím. Nova* 21: 99-105.
- Delprete, P. G., L. B. Smith & R. M. Klein.** 2004. Rubiáceas (gêneros de A-G), p. 1-345. In: R. Reitz (Ed.), *Flora ilustrada catarinense*. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.
- Karehed, J., I. Groeninckx, S. Dessein, T. J. Motley & B. Bremer.** 2008. The phylogenetic utility of chloroplast and nuclear DNA markers and the phylogeny of the Rubiaceae tribe Spermaceae. *Mol. Phylogenet. Evol.* 49: 843-866.
- Lima, A. P., F. C. Pereira, C. A. S. T. Vilanova-Costa, A. S. B. B. Ribeiro & E. P. Silveira-Lacerda.** 2006. Avaliação da atividade antitumoral e citotóxica da planta *Siolmatra brasiliensis*. *Rev. Eletr. Farm.* 3: 44-46.
- Maciel, M. A. M., A. C. Pinto, V. F. Veiga Júnior, N. F. Grynberg & A. Echevarria.** 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quím. Nova* 25: 429-438.
- Mesquita, M. L., J. E. Paula, C. Pessoa, M. O. Moraes, L. V. Costa-Lotuf, R. Grougnet, S. Michel, F. Tillequin & L. S. Espindola.** 2009. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. *J. Ethnopharmacol.* 123: 439-445.
- Morais, S. M., J. D. P. Dantas, A. R. A. Silva & E. F. Magalhães.** 2005. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. *Rev. Bras. Farmacogn.* 5: 169-177.
- Mosmann, T.** 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65: 55-63.
- Moura, V. M., D. P. Santos, S. M. O. Santin, J. E. Carvalho & M. A. Foglio.** 2006. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). *Quím. Nova* 29: 452-455.
- Niño, J., D. M. Narváez, O. M. Mosquera & Y. M. Correa.** 2006. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of eight

Asteraceae and two Rubiaceae plants from Colombian biodiversity. *Braz. J. Microbiol.* 37: 566-570.

Peixoto Neto, P. A. S., M. V. Silva, N. V. C. Campos & Z. P. L. C. Caetano. 2002. Antibacterial activity of *Borreria verticillata* roots. *Fitoterapia* 73: 529-531.

Ribeiro, L. R., D. M. F. Salvadori & E. K. Marques. 2003. Mutagênese ambiental. Ulbra, Canoas, 215 pp.

Schripsema, J., D. Dagnino & G. Gosmann. 2003. Alcalóides indólicos, p. 679-705. In: C. M. O. Simões, E. P. Schenkel, G. Gosmann, J. C. P. Mello, L. A. Mentz & P. R. Petrovick (Eds.), *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2ª ed. Porto Alegre, Florianópolis, UFSC, UFRGS.

Seeff, L. B. 2007. Herbal hepatotoxicity. *Clin. Liver Dis.* 11: 577-596.

Silveira-Lacerda, E. P., C. A. S. T. Vilanova-Costa, F. C. Pereira, A. Hamaguchi, L. A. Pavanin, L. R. Goullart, M. I. Homs-Bandeburgo, A. M. Soares, W. B. Santos & A. Nomzo. 2009. The ruthenium complex cis-(dichloro)tetraammineruthenium(III)

chloride presents selective cytotoxicity against murine B cell lymphoma (A-20), murine ascitic sarcoma 180 (S-180), human breast adenocarcinoma (SK-BR-3), and human T cell leukemia (Jurkat) tumor cell lines. *Biol. Trace Elem. Res.* 135: 98-111.

Silveira P. F., M. A. M. Bandeira & P. S. D. Arrais. 2008. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Rev. Bras. Farmacogn.* 8: 618-626.

Steyermark, J. A. 1972. *Borreria* G.F. Meyer. The botany of the Guayana highland-part IX. *Mem. NY Bot. Garden* 23: 805-831.

Valadares, M. C., N. C. Castro, L. C. Cunha. 2007. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos. *Rev. Bras. Ciênc. Farmac.* 43: 631-638.

Veiga Júnior, V. F. & J. C. P. Mello. 2008. As monografias sobre plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacogn.* 18: 464-471.

Veiga Júnior, V. F., M. A. M. Maciel & A. C. Pinto. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quím. Nova* 28: 519-528.