

PROTÓTIPO DE UMA HORTA MEDICINAL ESCOLAR NA FORMA DE MANDALA

Lilian Lucy dos Santos¹, Lúcia Elaine Raniere Cortez¹, Sônia Cristina Vermelho¹, Diógenes Aparício Cortez^{1*}.

¹Programa de Pós Graduação em Promoção da Saúde, avenida Guerdner s/n Jardim Aclimação, Maringá, Paraná, Brasil.

RESUMO

A horta de plantas medicinais é um espaço para a saúde, e aprendizado sobre as plantas utilizadas na medicina popular. A implementação de uma horta medicinal permite a difusão do conhecimento da medicina popular para o tratamento de pequenas enfermidades. Assim desenvolvemos um protótipo de uma horta de plantas medicinais em forma de Mandala a ser implantado nas escolas. A implantação da horta das plantas medicinais em Mandala foi no "Colégio Objetivo UniCESUMAR", com 35 espécies. Desta forma, esse protótipo servirá de modelo para implantação e desenvolvimento em escolas da rede pública. Além disso, a horta de plantas medicinais fornece um mecanismo de fixação do aluno na escola e incentiva a aplicação dessas plantas medicinais em remédios caseiros. Esse estudo promove uma correlação entre o conhecimento popular e as diversas formas de aplicação do conhecimento científico dessas plantas medicinais.

Palavras chave: plantas medicinais, Mandala, Agroecologia, vegetais medicinais, Extensão.

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial fez uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total pelo menos 30% deu-se por indicação médica, sendo muitos os fatores econômicos e sociais que vêm colaborando no desenvolvimento de práticas de saúde que incluam plantas medicinais (Martins, et al, 2003).

Atualmente a implantação de uma horta de plantas medicinais dentro do processo ensino aprendizagem, o conhecimento da fitoterapia embasado no resgate da experiência popular e científica, integra com várias disciplinas do currículo escolar das séries do ensino fundamental.

Para a concepção da proposta buscamos orientação teórica tanto na sociologia, quanto na psicologia e educação. Em relação à questão do sujeito, a psicologia nos auxiliou na compreensão do papel do simbólico na vida coletiva e individual.

Uma das maiores autoridades nesta área e que discutiu a relação dos símbolos na formação da subjetividade do homem moderno foi Carl G. Jung. Segundo Jung (2002), o campo do simbólico é complexo e é tratado em profundidade pela psicologia. Para ele vários símbolos podem ser encontrados nos conteúdos do inconsciente da psique e podem representar um número imenso de variações de imagens arquetípicas essenciais. Esses símbolos Jung (2002) vai denominar de *Símbolos Naturais*.

Um desses símbolos naturais utilizados neste trabalho foi o da Mandala. Segundo Dibo (2006), a conceituação da Mandala a partir de uma leitura psicanalítica junguiana, “(...) *pode ser compreendida como círculo mágico, símbolo do centro, da meta e do si-mesmo, enquanto totalidade psíquica, de centralização da personalidade e produção de um centro novo nela.*” (p. 110)

Os símbolos relacionam-se com nossa vida, segundo Jung (2002), estruturando parte de nossa subjetividade, formando pensamentos, sentimentos os quais, carregados de historicidade compactuam com situações, objetos e atos simbólicos. A função desses símbolos na economia psíquica

pode estar, em grande medida, vinculada a experiências que carregamos de tempos imemoriais na civilização.

A representação da Mandala em nossa civilização está relacionada à elevação da espiritualidade do sujeito, sua imagem possui representatividade simbólica em nossa psique vinculada a consolidação do mundo interior e utilizada “(...) *como um guia imaginário e provisório de meditação*” (Dibo, 2006, p. 15). A psicologia moderna explica que a contemplação de uma Mandala pode ser inspirador para que se atinja a serenidade da mente, contribuindo dessa forma para que se encontre sentido e ordem na vida (Dibo, 2006).

A atualidade é reconhecidamente marcada por profundas crises tanto econômicas, quanto de ordem subjetiva. Vários autores (Bauman, 2005; Certeau, 1994; Crochik, 1999; Freud, 1997; Harvey, 1994) indicavam já em meados do século passado que a sociedade moderna baseada no modelo urbano e na produção industrial de massa acabou por criar uma condição psíquica para o sujeito provocando um mal-estar incontrolável, incompreendido e infundável. Essa condição humana tem trazido consequências sobre a saúde, na forma de doenças que surgem sem vinculação necessariamente com fatores ambientais ou físicos, são as doenças psicossomáticas que aumentam em quantidade e qualidade e estão entre as três principais causas de doenças no Brasil (Donalísio, 2002; Castiel, 2007; Teixeira, 2006). Contudo, a identificação das causas das doenças psicossomáticas ainda permanece um desafio aos profissionais da saúde e aparecem cada vez com mais frequência nas consultas psiquiátricas ou psicológicas (Teixeira, 2006)

Por essas razões esse estudo realizou um horta de plantas medicinais organizada em canteiros em forma de Mandalas com uma grande diversidade de plantas e sua aplicação clínica, para posteriormente implantar esse mesmo modelo em escolas da rede pública com o objetivo de levar informação medicinal e cultura para outras comunidades e difundir essas técnicas cada vez mais, principalmente em áreas mais carentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Maringá –Pr no horto do Centro Universitário de Maringá, o período de novembro de 2012 à julho de 2013, O município de Maringá, situado no noroeste do Paraná, a 23° 25' de latitude Sul e 51° 25' de longitude Oeste, tem uma área de 473,06 km². Situa-se no Terceiro Planalto e apresenta altitudes entre 542 a 560 metros. A precipitação média anual varia entre 1500 e 1600 mm e as temperaturas médias anuais entre 20 a 21° C, com média das máximas entre 27 a 28° C e das mínimas entre 16 e 17° C. O clima, segundo a classificação de Köppen, é da categoria mesotérmica, cfa de transição para cwa, o que significa clima tropical de transição para subtropical que apresenta temperaturas médias anuais entre 20 a 22° C, com média do mês mais quente superior a 22° C, e invernos brandos com períodos de seca hiberna pouco pronunciada, nos meses de julho a setembro (Anjos, 2000).

O solo utilizado é o LATOSSOLO Vermelho e, de acordo com suas necessidades nutricionais mostradas na amostragem de solo, foi necessário o uso da correção de fertilidade e acidez de acordo com Lopes et al. (2001), e a adubação orgânica foi produzida pelo próprio CESUMAR que utiliza os resíduos das plantas e transforma em compostagem para utilização.

A horta adotada para o seguinte estudo foi a horta em formato de Mandalas e as medidas utilizadas para a construção da Horta foram de 6 canteiros de 2,20m de comprimento, 6 canteiros de 1,63m, 6 canteiros de 1,28m, 6 canteiros de 0,80m sendo todos com 0,80m de largura. No canteiro central foi colocado um sistema de irrigação por aspersão circular (Figura1).

O preparo das mudas foi em locais protegidos de chuva forte, do vento e de animais, assim essas mudas foram cultivadas em substrato preparado com adubo orgânico, e deixadas na estufa e posteriormente replantadas em canteiros, pelo método de plantio direto, utilizando-se adubação orgânica. O plantio foi realizado em intervalos de 30 em 30cm entre as mudas.

As espécies de plantas medicinais (Tabela 1) foram cultivadas com mudas selecionadas com espaçamento de acordo com a necessidade de cada

espécie segundo Corrêa Júnior et al (1994), e para o controle das pragas e doenças não foram utilizados agrotóxicos orgânicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse trabalho visa mostrar a importância do uso das plantas medicinais no tratamento das diversas doenças de pequena gravidade na população. A combinação de plantas nativas com plantas introduzidas, hortaliças, fruteiras e outras plantas cultivadas acompanha a diversidade de costumes e cultura próprios de uma população de origem diversa, refletindo a riqueza e o potencial do conhecimento popular na cura de muitas enfermidades.

O protótipo utilizado para a horta de plantas medicinais foi a Mandala que é um sistema que tem o intuito de desenvolver um trabalho integrando os princípios da permacultura e fitoterapia, buscando qualidade de vida aliada a produtividade. Nessa mandala tem como principal fonte de energia a água que pode ser viabilizada de diversas formas e estrategicamente armazenada.

Nessa horta foi utilizada a adubação orgânica é recomendada por elevar a capacidade de troca de cátions do solo; contribuir para a maior agregação das partículas do solo; reduzir a plasticidade e coesão do solo; favorecer as operações de preparo do solo; aumentar a capacidade de retenção de água; concorrer para a maior estabilidade de nutrientes pelo processo de mineralização; constituir-se na principal fonte de nutrientes e microrganismos do solo; fornecer macronutrientes e principalmente micronutrientes, além de ter baixo custo e alto retorno para agropecuária (CFSEMG, 1999; Leite *et al.*, 2003).

As espécies medicinais normalmente apresentam alta resistência ao ataque de doenças e pragas, mas, por algum desequilíbrio, este pode ocorrer em níveis prejudiciais. Num ambiente equilibrado, com plantas bem nutridas, a possibilidade de ataque diminui. O uso de produtos químicos (agrotóxicos) é condenado para o cultivo de espécies medicinais, isto se justifica pela ausência de produtos registrados para estas espécies, conforme exigência legal, e pelas alterações que tais produtos podem ocasionar nos princípios ativos. Tais alterações vão desde a permanência de resíduos tóxicos sobre a planta até a veiculação de metais pesados como o cádmio e o chumbo. Se para os

alimentos já se buscam alternativas para evitar o uso de produtos tóxicos, para a produção de fitoterápicos a atenção deve ser redobrada.

Em relação aos aspectos educacionais, nos apoiamos na proposta da Pedagogia de Projetos. Essa proposta educativa promove a aventura intelectual e a concepção construtivista para atingir os objetivos, onde esse construtivismo promove aos estudantes questionar os conhecimentos científicos e condições para que encontrem respostas para suas próprias perguntas, essa proposta permite articular os conhecimentos científicos e os saberes populares e do cotidiano tanto do ponto de vista individual quanto coletivo (Araújo, 2008).

Além da proposta educativa o Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) tem o objetivo de proporcionar qualidade na educação, orientando e garantindo a coerência dos investimentos, socializando discussões, pesquisas e recomendações, não impõe adaptações, apenas pretende que elas ocorram. Assim surgiram a interligação com o meio ambiente, sendo que essa questão vem sendo considerada cada vez mais urgente e importante na sociedade, pois o futuro do homem depende da relação estabelecida entre a natureza e o uso dos recursos naturais disponíveis.

Essa consciência chegou a escola e muitas iniciativas tem sido desenvolvida em torno dessa questão, por essa razão vê-se a importância de se incluir a temática do meio ambiente, permeando toda a prática educacional.

A educação tem o papel central para construção de um mundo socialmente justo e ecologicamente equilibrado, ficando evidente a importância de educar os futuros cidadãos brasileiros para que hajam com responsabilidade e sensibilidade, conservando o ambiente saudável no presente e para o futuro.

A educação ambiental quando bem realizada leva mudanças de comportamento pessoal, atitudes e valores de cidadania que podem ter fortes consequências sociais.

Neste contexto, buscando uma abordagem interdisciplinar, organizamos uma ação de promoção da saúde de utilização da Horta Medicinal estruturada a partir da simbologia da Mandala, enquanto símbolo arquetípico relacionado com a espiritualidade, com o encontro de si, com o objetivo de, contribuir com as comunidades para alcançar a serenidade da mente. Ou seja, uma vez que a

Mandala está vinculada à ideia do “arquétipo” de Jung (2002), sua simbologia remete à elementos ancestrais que se expressam hoje na mente do homem moderno e está relacionada aos nossos instintos e, o símbolo associado à Mandala é de atuar na subjetividade humana ativando seu potencial para atuar no alívio das tensões.

Certeau (2008) vai discutir a relação entre espaço e lugar, o lugar é o físico, o espaço é o lugar praticado e enquanto tal, objetos podem alterar a (des)estabilidade do lugar pelas práticas cotidianas instauradas nestes espaços. Uma Horta Medicinal, enquanto objeto inserido num lugar, altera esse lugar, incorpora nele práticas as quais estão vinculadas a ações, estas, por sua vez, estão relacionadas com os sentidos que elas carregam. Simbolicamente, plantar é colocar vida no planeta, plantar espécies que carregam a cura para problemas do corpo humano, é além de promover a vida no planeta, é trazer a todos elementos que ajudam no cuidado com a saúde para dar qualidade a vida humana. A representação simbólica em torno do cultivo de plantas medicinais remontam à estruturas arquetípicas de uma relação de harmonia com a natureza, concebendo dela o alimento e a cura.

Desde os tempos imemoriáveis, os homens buscam na natureza recursos para melhorar sua condição de vida. O emprego de plantas medicinais na recuperação de quadros clínicos tem evoluído ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local, provavelmente utilizada pelo homem das cavernas, até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial utilizadas pelo homem moderno (Lorenzi et al., 2002).

Segundo Miguel (1999), as plantas tem sido, desde a antiguidade, um recurso ao alcance do ser humano. Durante milênios o homem empiricamente aprofundou seus conhecimentos a fim de buscar a melhoria nas condições de alimentação e cura de suas enfermidades, demonstrando uma estreita inter-relação entre o uso das plantas e sua evolução.

As plantas medicinais, que têm avaliadas a sua eficiência terapêutica e a toxicologia ou segurança do uso, dentre outros aspectos, estão cientificamente aprovadas a serem utilizadas pela população nas suas necessidades básicas de saúde, em função da facilidade de acesso, do baixo custo e da compatibilidade cultural com as tradições populares. Uma vez que as plantas

medicinais são classificadas como produtos naturais, a lei permite que sejam comercializadas livremente, além de poderem ser cultivadas por aqueles que disponham de condições mínimas necessárias. Com isto, é facilitada a automedicação orientada nos casos considerados mais simples e corriqueiros de uma comunidade, o que reduz a procura pelos profissionais de saúde, facilitando e reduzindo ainda mais o custo do serviço de saúde pública.

Faz-se necessário ressaltar o fato de que o setor de plantas medicinais está ocupando uma boa fatia da economia no Brasil e ainda visa crescimento, tendo em vista que as pesquisas sobre plantas medicinais têm aumentado a cada dia. (Pickscius, 2007).

De acordo com as necessidades de cada comunidade pode-se decidir o que plantar em uma horta comunitária, sendo que geralmente as primeiras plantas devem ser da própria região. A horta comunitária não deixa de ser um local de estudo, pois deve propiciar uma forma das pessoas se reunirem para trocar ideias ou experiências, contribuindo para que todos aprendam as formas de propagar ou cultivar as plantas (Vieira et al., 2006).

Entretanto, o setor agrônomo ainda precisa obter maiores informações sobre o cultivo das plantas medicinais, sendo que a busca dessas informações serão úteis para a padronização de materiais a serem utilizados, faz-se necessária diante da ausência de programas de melhoramento específicos para as plantas medicinais (Vieira et al., 1992).

A base da formação da medicina popular é hoje retomada pela medicina natural, que aproveita seu conhecimento prático dando-lhe, porém, um caráter científico na tentativa de restituir a saúde ao ser humano, de uma forma natural (De-La-Cruz-Mota & Guarim Neto, 1996; Rodrigues & Carvalho, 2001).

O uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Com o conhecimento sobre as plantas medicinais, a população tem o direito de escolha sobre qual terapia usar. Mas, muitas vezes, o uso da Fitoterapia não é resultado de uma escolha, mas o único recurso disponível (Carriconde, 2000).

A Fitoterapia tem inúmeras vantagens sobre outras terapêuticas, como: o fácil acesso, o menor custo, menores efeitos adversos, atingindo, portanto, a maior parte da população (Figueredo, 2005), favorecendo o uso de tal prática.

Com o desenvolvimento da horta nas escolas, os alunos tem acesso a um laboratório vivo para estudos em diferentes áreas do conhecimento, mantendo, assim, a interdisciplinaridade. Não se deve esquecer de que a população também se beneficia tendo acesso a uma variedade de alimentos por doação ou compra a baixo custo, ressaltando que as plantas cultivadas nessas hortas são de quaisquer tipos de agrotóxicos.

No protótipo da horta a ser implantada nas escolas da rede pública observou-se que 10 plantas seriam as mais utilizadas pela população de Umuarama, segundo Cortez et al. (1.999), o uso disseminado dessas plantas através dos povos vem desde os tempos mais antigos, muitas vezes o uso popular esta ligado com suas utilizações científicas, pois a maioria dessas plantas apresentam estudos para verificar sua eficácia com a literatura, e também para verificar se apresentam riscos a saúde das populações. Isso torna-se importante pois esta ligado a uma cultura, fazendo do uso popular uma investigação para a utilização e verificação científica (Cortez, et al, 1999).

Assim algumas dessas plantas apresentam coincidência entre a citação popular e a científica, como observamos para as folhas de boldo (*Coleus barbatus* Benth., Labitae) que na sabedoria popular é utilizado na forma macerada para problemas do aparelho digestório e como estimulante do apetite, estando de acordo com registros na literatura (Fischman et al., 1991).

A hortelã (*Mentha piperita* L., Labitae), é uma planta introduzida no Brasil e muito utilizada na culinária, na produção de licores, e na indústria farmacêutica, e das folhas secas extrai-se óleo essencial que é utilizado na forma bruta para extração do mentol, em estudos científicos foram observados as propriedades antiálgicas, antiespasmódica, anti-séptica, digestiva, estimulante e sedativa (Martins, 1993), e seu óleo essencial é utilizado como antibacteriano e antifúngico na conservação dos alimentos (Sarbhoy et al., 1978;Tassou et al., 1995), já na medicina popular a maioria da população utiliza o hortelã na forma macerada, enquanto a literatura recomenda o emprego da infusão devido a presença de óleos essenciais (Farmacopéia Brasileira, 1926), e na sua aplicação popular do hortelã predomina seu uso no aparelho respiratório, digestivo e nervoso, estando de acordo com os dados da literatura.

A erva cidreira (*Cymbopogon citratus* Stapf., Graminae) tem como parte utilizada as folhas na forma de chá que é empregado no alívio de pequenas cólicas uterinas e intestinais, como também no tratamento do nervosismo e estados de intranquilidade, das folhas pode ser extraído o óleo essencial, rico em citral que possui a ação calmante e antiespasmódica, sendo a função analgésica devida ao mirceno (Viana et al., 1998). Assim o uso popular condiz com a literatura uma vez que a erva cidreira é utilizada para alterações do sistema nervoso.

O poejo (*Mentha pulegium*) era uma planta utilizada pelos chineses antigos com a finalidade calmante e antiespasmódica, assim observa-se que essa planta possui as mesmas propriedades da hortelã. A população também utiliza o chá das folhas do poejo para o tratamento de doenças do aparelho respiratório (Martins, 1993).

Os registros do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L. Labiatae) na literatura são desde XVII, na Europa onde era utilizado com incenso para purificar o ar (Segredos e virtudes das plantas medicinais, 1993), seu óleo essencial possui atividades antimicrobianas (Larrondo et al., 1995), e juntamente com suas folhas diminui a produção de insulina causando um aumento da glicemia sanguínea (A- hader et al, 1997), a população utiliza as folhas e sumidades floridas na forma de infusão, para problemas relacionados ao sistema respiratório, circulatório e sistema nervoso (Farmacopéia Brasileira, 1926).

A camomila (*Matricaria chamomilla* L.,Compositae), apresenta na literatura a ação antiinflamatória (Shipochliev et al., 1981; Al-hindawi et al., 1989), seu extrato aquoso na conjuntivite provoca dermatite de contato e os grãos de pólen são os agentes causadores (Subiza et al., 1990), a população utiliza as flores de camomila na forma de chá para as alterações do sistema nervoso e aparelho digestivo. A Farmacopéia Brasileira (1959) apresenta as propriedades antálgicas, astiespasmódica, antiséptica, emenagoga, eupéptica, sedativa e tônica dos capítulos florais da camomila.

Os gregos antigos utilizavam a arruda (*Ruta graveolens* L., Rutaceae) como antídoto, a Farmacopéia Brasileira (1926), traz a alerta quanto a sua citotoxicidade. Essa planta possui rutina, conhecida como vitamina P que promove um efeito sobre a permeabilidade dos capilares sanguíneos (Tyler, et al., 1979), suas ações são emenagoga, anti-helmíntica, anti-hemorragica, abortiva,

carminativa, antiespasmódica, diaforética e estimulante (Almeida, 1993), além de apresentar atividades biológicas como antifertilidade (Kong et al., 1989; Ghandhi et al, 1991), analgésica, antimicrobiana (Atta et al., 1998). Na composição química da arruda são encontrados flavanóides que isolados apresentam citotoxicidade *in vitro* (Trovato et al., 1996) e atividade antimicrobiana (Woters et al., 1981). A população utiliza a arruda em forma de chá para alterações nos aparelhos genital e respiratório.

Conclusões

O protótipo da horta Mandala implantada na escola Objetivo do Cesumar é de baixo custo e sua forma e tamanho são suficientes para abrigar um grande número de espécies, além de ser de fácil acesso para a visita dos alunos.

Desta forma será de fácil implantação na Rede Pública onde a manutenção poderá ser realizada pelos próprios alunos, do ensino médio, estimulando assim uma maior interação com o meio ambiente, estimulando as escolas a uma mudança para período integral.

Além de proporcionar o aprendizado (conceitos) de nível popular demonstrados pelas espécies da horta Mandala que serão importantes no futuro tendo em vista a contra partida das investigações científicas.

Esse aprendizado poderá ser realizado em forma de cartilhas e palestras com os pais, realizadas por professores da área ou até mesmo pelos alunos sobre orientação de professores capacitados, e outra forma de interagir esse conhecimento seria implantando a tecnologia interagindo esses alunos com aplicativos informativo sobre as plantas e suas utilidades inseridos nos celulares ou iphads.

REFERÊNCIAS

ACAP. **Saúde: conhecimento popular**. Gráfica Popular. Curitiba, 2005.

AL- HADER, A. A.; HASAN, Z. A.; AQEL, M. B. **Hyperglycemic and insulin release inhibitory effects of Rosmarinus officinalis**. J. Ethnopharmacol, 43 (3): 217-221, 1994.

AL- HINDAWI, M. K. A. et al. **A anti- inflammatory activity of some Iraqi plants using intact rats**. Ethnopharmacol, 26 (2): 163- 168, 1989.

ALMEIDA, E.R. **Plantas medicinais Brasileiras**. São Paulo: Hemus, 1993. 341 p.

ANJOS, Isabel Barbosa dos. **Caracterização climática para a região de Maringá**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2000.

ARAÚJO, U.F. **Pedagogia de projetos e direitos humanos: caminho para uma educação em valores**. São Paulo : Pró Posições, v. 19, n 2, 2008.

ATTA, A. H.; ALKOFABI, A. **Anti- nociceptive and anti- inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extract**. J. Ethnopharmacol, 60 (2): 117-124, 1998.

BARROS, J.F.P., – Eduardo Napoleão - **Ewé Òrìsà - Uso Litúrgico e terapêutico dos Vegetais nas casas de candomblé Jêje-Nagô**. Editora Bertrand Brasil, 2000.

BAUMAN, Z. **Identidade: entrevista a Benedetto Vecchi**. Rio de Janeiro : J. Zahar, 2005.

BRAGA, Jorge Sousa; De Unamano, Miguel e Prevert, Jacques. **Árvores e arbustos medicinais e aromáticos do sudoeste Europeu**. Portugal: BeirAmbiente - Centro Profissional de Desenvolvimento Sustentável e Ecoturismo.2005. ISBN-972-99691-0-8.

CARRICONDE, C. **Introdução ao uso de fitoterápicos nas patologias de APS**. Olinda: CNMP, 2000.

CASTIEL, Luis David; SANZ-VALERO, Javier and RED MEI-CYTED. **Entre fetichismo e sobrevivência: o artigo científico é uma mercadoria acadêmica?**. Cad. Saúde Pública[online]. 2007, vol.23, n.12, pp. 3041-3050. ISSN 0102-311X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2007001200026>.

CERTEAU, M. **A invenção do cotidiano: 1. Artes de fazer**. 15. ed. Petrópolis: Vozes, 2008.

CERTEAU, Michel de. **A invenção do cotidiano: 1. artes de fazer**. Petrópolis, Rio de Janeiro, Vozes, 1994.

CFSEMG-COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. 1999. **Adubação orgânica. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação.** Viçosa. p. 87-92.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. IBDF, 1931. v.1-6.

CORTEZ, L.E.R; Jacomossi, E; Cortez, Diógenes Aparício Garcia. **Levantamento das plantas medicinais utilizadas na medicina popular de Umuarama, Pr.** Arq. Ciências Súde Unipar 3 (2): 97-104 maio- agosto 1999.

CROCHIK, José Leon. 1999. **A ideologia da racionalidade tecnológica e a personalidade narcisista.** São Paulo: IPUSP. Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para o concurso de Livre Docência.

DE LA CRUZ, Mari Gema Motta; GUARIM NETO, Germano. **Plantas medicinais utilizadas por agentes de saúde em Cuiabá - MT. Um estudo etnobotânico.** In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. Resumos... Florianópolis: UFSC, 1996.

DI STASI, Luiz Claudio e HIRUMA-LIMA, Clélia Akiko. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica.** São Paulo: Unesp, 2002.

DIBO, Monalisa. **MANDALA: UM ESTUDO NA OBRA DE C. G. JUNG.** Último Andar, São Paulo, (15), 109-120, dez., 2006.

DONALÍSIO, Maria Rita. **Endemias e Epidemias brasileiras – perspectivas da investigação científica.** Rev. Bras. Epidemiol., Vol. 5, Nº 3, 2002, p. 226-228.

DRUM, Roseli Maria. **Plantas saúde para o povo.** Editora Grafitec, Francisco Beltrão, 2002.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA II, São Paulo, Indústria Grafica Siqueira, 1959, 629 p.

FERREIRA, A. B. H. **Novo dicionário da língua portuguesa**. 2ª edição. Rio de Janeiro. Nova Fronteira. 1986. páginas 90; 331,979, 1244, 1310.

FIGUEIREDO, Nélia Maria Almeida de. **Ensinando a cuidar em Saúde Pública**. São Paulo: Yendis, 2005.

FISCHMAN, L. et al. **The wáter extract of Coleus barbatus Benth decreases gastric secretion in rats**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 86 (2) (Supl): 141-143,1991.

FRANCO, Ivacir João, FONTANA, Vilson Luiz (PE). **Ervas & Plantas: a medicina dos simples**. 11ª edição, Editora Livraria Vida, Erechim, 2004.

FREUD, Sigmund. **O mal-estar na civilização**. Rio de Janeiro: Imago, 1997.

GANDHI, M. et al. **Post-coital antifertility action of Ruta graveolens in female rats and hamsters**. J. Ethnopharmacol. 34 (1): 49-59, 1991.

HARRI, Lorenzi e F. J. Abreu Matos: **Plantas medicinais no Brasil**. 2ª edição. Editora Plantarum, 2008.

HARVEY, David. **Condição Pós-Moderna: uma pesquisa sobre as origens da mudança cultural**. 4ª ed. Tradução: Adail Ubirajara Sobral e Maria Stela Gonçalves. São Paulo: Edições Loyola, 1994.

HESKEL, N. S. et al. **Phytophotodermatitis duo to Ruta graveolens**. Contact Dermatitis, 9 (4): 278-280, 1983.

JUNG, C. G. **Cartas II**. Petrópolis: Vozes, 2002.

K. V. Peter. **Handbook of Herbs and Spices**: Volume 2. [S.l.]: CRC Press, 2004. 225 p. ISBN 0-8493-2535-8.

KONG, Y.C. et al. **Antifertility principle of Ruta graveolens**. *Planta Med*, 55 (2): 176- 178, 1989.

KORBES, Vunilbaldo Cirilo (irmão). **Plantas medicinais**. 59ª edição. Editora Grafite, Francico Beltrão, 2002.

LARRONDO, J.V. AGUT,M.; CALVO- TORRAS, M. A. **Antimicrobial activity of essences from labiates**. *Microbios.*, 82 (332): 171- 172, 1995.

LEITE, L.F.C.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L.; MACHADO,P.L.O.A. & GALVÃO, J.C.C. **Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em Argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica**. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:821-832, 2003.

LORENZI HF & Matos FJA. **Plantas Mediciniais do Brasil, nativas e exóticas**. São Paulo: Plantarum, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa/ MG: UFV. 220 p. 2003.

MARTINS, R.M, 1993 .**Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Lisboa: Resopal- Mem Martins, 1993. 463 p. (Selecções do Reader's Digest).

MIGUEL, MD, Miguel OG. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. São Paulo: Probe Editorial; 1999. 116p.

Organização Mundial de Saúde (OMS). In Infopédia [Em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2013. [Consult. 2013-09-23]. Disponível na www: <URL: [http://www.infopedia.pt/\\$organizacao-mundial-de-saude-\(oms\)](http://www.infopedia.pt/$organizacao-mundial-de-saude-(oms))>. Plantamed: Capim-limão (em português) acessado a 17 julho 2013.

PICKSCIUS, Fabiano José. **Acompanhamento da produção de plantas ornamentais na empresa Planta Flor.** Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. Obtido via internet. Disponível em www.ufsc.br. Acessado em 23/09/2013.

RADAMSKI, Maria Izabel. **Trabalhador no cultivo de plantas medicinais: plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** SENR, Curitiba, 2008.

RODRIGUES, V. E. G. & CARVALHO, D. A. **Plantas Medicinais no Domínio dos Cerrados.** Lavras: UFLA, 180 p., 2001.

SARBHOY, A.K. et al. **Efficacy of some essential oils and their constituents on few ubiquitous molds.** Zentralbl Bakteriol (Naturwiss), 133 (7-8): 723-725, 1978.

SHIPOCHLIEV, T.; DIMITROV, A.; ALEKSANDROVA, E. **Anti-inflammatory action of a group of plant extracts.** Vet Med Nauki, 18 (6): 87- 94, 1981.

SILVA, Anderson B. **Biologia reprodutiva e citogenética da alfavaca do campo (Ocimum campechianum Mill.).** UESB, 2007.

STICKEL F ; SEITZ, HK. **The efficacy and safety of comfrey.** Public Health Nutr. 2000; 3(4A):501-8.

SUBIZA, J. et al. **Allergic conjunctivitis to chamomile tea.** Ann Allergy, 65 (2): 127- 132, 1990.

TASSOU, C.C.; DROSSINOS E. H.; NYCHAS G. J. **Effects of essential oil from mint (Mentha piperita) on Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes in model food systems at 4 degrees and 10 degrees.** C. J. Appl. Bacteriol., 78 (6): 593- 600, 1995.

TEIXEIRA, L. C. **Um corpo que dói: considerações sobre a clínica psicanalítica dos fenômenos psicossomáticos.** Latin-American Journal of Fundamental Psychopathology on Line, VI, 1, 21-42, 2006, P. 21-42.

TROVATO, A. et al. **In vitro cytotoxic effect of some medicinal plants containing flavonoids.** Boll Chim Farm, 135 (4): 263-266, 1996.

TYLER, V. E.; BRADY, L. R.; ROBBERS, J. E. **Farmacognosia.** Buenos Aires: El Ateneo, 1979. P. 82.

VIANA, G.S.B.; BANDEIRA, M.A.M.; MATOS, F.J.A. **Guia fitoterápico.** Fortaleza: Governo do Estado do Ceará, 1998. 89p.

VIEIRA, L.S. **Fitoterapia da Amazônia: manual de plantas medicinais.** 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347p.

WOLF, S. J., and K. E. Denford. 1984 **Taxonomy of Arnica (Compositae) subgenus Austromontana.** Rhodora 86: 239–309 .

WOLTERS, B.; EILERT, U. Antimicrobial substances in callus cultures of *Ruta graveolens*. Plant Med, 43 (2) : 166- 174, 1981.

Escala: 1 cm= 1 m

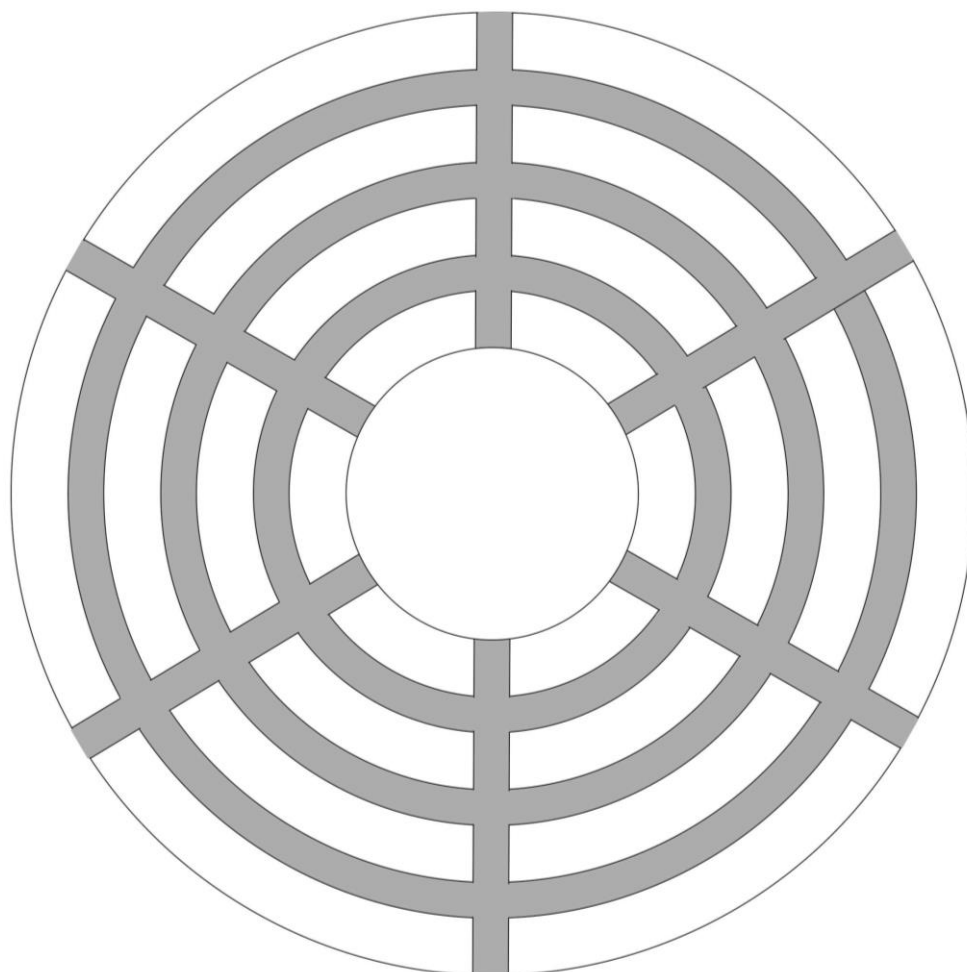


Figura 1. Projeto de uma horta de plantas medicinais na forma de Mandala

■ PASSARELA

□ CANTEIROS

para ser implantada na rede de escolas do município de Maringá.

Tabela 1. Relação das espécies da Horta de Plantas Medicinais em Mandala, forma de utilização e uso medicinal segundo o conhecimento popular na região de Maringá.

Nome popular	Nome científico	Forma de utilização	Uso medicinal	Ref.
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. Labiatae	Folhas(chá)	Histeria, nervosismo, indigestão, tosse, bronquite;	Braga, et al; 2005
Arnica	<i>Solidago chilensis</i>	Folhas(banhos)	Traumatismo, golpes, dores traumáticas, distensões;	Wolf, et al;1984
Arruda	<i>Ruta graveolens</i> L. Rutáceas	Folhas(suco, infusão) Folhas (infusão)	Gastrite, cólica, abortivo; Gripe, sinusite, catapora; sarampo;	Ferreira, 1986
Alfavaca	<i>Ocimum gratissimum</i> L. Lamiaceae	Folhas(chá) Folhas(suco)	Digestivo, cicatrizante, antimicótico, asma, queda de cabelo,	Silva, 2007
Babosa	<i>Aloe vera</i> L Liliáceas	Folhas(infusão)	Tumores, hemorroidas, queimaduras	Ferreira, 1986
Boldo	<i>Plectranthus barbatus</i> . (Lamiaceae):	Folhas (chá)	Fígado, digestivo, ressaca;	Ferreira, 1986
Boldo baiano	<i>Vernonia condensata</i> Asteraceae	Folhas (chá e sucos)	azia, da indisposição gástrica, no controle da gastrite, contra a ressaca e como um tônico amargo, estimulante	Pessoa de Barros, 2000
Capim limão	<i>Cymbopogon</i> Poaceae	Folhas (chá)	Reumatismo, dores musculares, calmante, ansiedade.	Plantmed, 2005
Cana do brejo	<i>Costus spicatus</i> Costaceae	Folhas, raízes e hastes	Cataplasmas para inflamações, febres, fraqueza, problemas de rins, bexiga, uretra;	Ferreira, 1986
Carqueja	<i>Baccharis trimera</i> L Asteraceae	Folhas (chá)	Digestão, dores estomacais, males do fígado, rins e baço;	Ferreira, 1986
Cavalinha	<i>Equisetum giganteum</i> L. Equisetáceas	Folhas (chá)	Combate tuberculose, hemorragias internas, problemas de bexiga;	Lorenzi, et al; 2000
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i> Apiaceae	Folhas (chá)	digestivas, calmantes, para alívio de dores das articulações e reumatismos, possui efeito anafrodisíaco.	Ferreira, 1986
Confrei	<i>Symphytum O.</i> , Boraginaceae	Folhas e raízes secas	antiinflamatório em caso de contusões e batidas;	Stickel, 2000
Erva doce	<i>Foeniculum</i> L. Apiaceae	Folhas (chá)	Calmante, cicatrizante, diurética, estimulante, expectorante,	Ferreira, 1986
Erva cidreira	<i>Lippia alba</i> M. Verbenaceae	Folhas (chá)	antiespasmódica, antinevrálgica, calmante.	Ferreira, 1986
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i> Zingiberaceae	Rizoma	gastrintestinal, aperiente (abre o apetite), carminativo (eliminador de gases intestinais), tônico (restaura energia), expectorante (expulsão do muco).	Ferreira, 1986
Guaco	<i>Mikania glomerata</i> <i>Spreng.</i> Asteraceae	Folhas (macerado e chá)	utilizado contra gripe, rouquidão, infecção na garganta, tosse, bronquite.	Ferreira, 1986
Hortelã	<i>Mentha piperita</i> . Labiada	Folhas (chá)	Digestão, gases, cólicas, náuseas, calmante.	Ferreira, 1986
Losna	<i>Artemisia absinthium</i> L. Asteraceae	Flores e folhas	Problemas digestivos, melhor da circulação, e poder afrodisíaca.	Ferreira, 1986
Lírio do brejo	<i>Hedychium coronarium</i> Zingiberaceae.	Rizomas e flores	Rizoma: béquico, excitante, tônico, anti-reumático. Flor: cardiotônica.	Ferreira, 1986

Manjeriçã	<i>Ocimum basilicum</i> ; Lamiaceae	Folhas, flores e raiz	Propriedades tônicas e digestivas, sendo indicados ainda para problemas respiratórios e reumáticas.	Di Strasi, 2002
Melissa	<i>Melissa officinalis</i> Labiadas	Folhas secas (partes aéreas).	Problemas do sono, estresse, ansiedade, nervosismo, problemas digestivos, azia e queimação do estômago.	Ferreira, 1986
Mil folhas	<i>Achillea millefolium</i> L. Compositae (Asteraceae).	Toda a planta: capítulos secos, flores, ervas (partes aéreas em geral).	Tônico amargo, adstringente, espasmolítico, antiespasmódico, adstringente, antiflogístico (contra as inflamações), antiinflamatório, cicatrizante.	Ferreira, 1986
Marcela	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. Compositae	Toda a planta	Adstringente, amarga, anódina, antiálgica, antiasmática, antibactericida, antidiabética, antidiarréica, , antiviral, antitumoral, bactericida, carminativa, calmante para problemas digestivos, colagoga, colinolítica, , imunestimulante, miorelaxante, protetor solar, sedativa, sudorífera, tônica.	Ferreira, 1986
Orégano	<i>Origanum vulgare</i> Labiadas	Folhas secas	Combate a tosse, as doenças do pulmão, as dores musculares; Afecções estomacais: indigestão	K.V.Peter, 2004
Ora pronóbis	<i>Pereskia aculeata</i> <u>Cactaceae</u>	Folhas secas	Contribui para o bom funcionamento do intestino,	Ferreira, 1986
Orelha de coelho	<i>Stachys lanata</i> L. Lamiaceae.	folhas	béquica (acalmar a tosse e as irritações da faringe), emoliente. Indicações:	Ferreira, 1986
Penicilina	<i>Alternanthera brasiliiana</i> (L.) Amaranthaceae	folhas e flores.	diurética, digestiva, depurativa, sendo empregada para moléstias do fígado e bexiga, usam suas folhas como adstringente e antidiarreica, enquanto que a planta inteira é macerada e usada contra prisão de ventre.	Ferreira, 1986
Tanchagem	<i>Plantago lanceolata</i> Plantaginaceae	Folhas secas	Antitosse, anti-inflamatório, béquico, expectorante, antisséptico externe, antimicrobiana e antibiótico	Ferreira, 1986
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i> , Lamiaceae	folhas, caules, flores	diarréias, verminoses, disenteria, cansaço, infecções, afecções da pele, afrodisíaca, anti-reumática;	Ferreira, 1986
Taioba	<i>Xanthosoma sagittifolium</i> (L.), Araceae	flores, talos e rizomas	Depurativa, emoliente e cicatrizante, remove cicatrização de úlceras. Sua raiz é, conforme alguns autores e pesquisadores, serve para atenuar casos de lepra.	Ferreira, 1986

Avaliação da atividade genotóxica do *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae) em medula óssea de camundongos

Santos,LL (PG), Cortez DAG^{1*} (PQ).

¹ Centro Universitário de Maringá, CESUMAR, Mestrado em Promoção à Saúde, Av. Guerdner nº 1610, Jd. Aclimação, Maringá, PR, Brasil.

RESUMO: O *Calophyllum brasiliense* Camb., da família Clusiaceae, conhecido como “guanandi”, é uma grande árvore da mata Atlântica e estudos anteriores revelaram seu potencial como droga para o tratamento de leishmaniose, visto que vários agentes quimioterapêuticos para esse tratamento apresenta efeito secundário grave, portanto novas drogas com menos toxicidade devem ser desenvolvidas. Além disso o extrato bruto da *C. brasiliense* em triagem prévia demonstrou alta atividade tripanocida de várias cumarinas tipo mammea. Apartir das folhas trituradas da *C. brasiliense* foi preparado um extrato hidroalcoólico (etanol :água 9:1, v/v) pelo método de maceração. O potencial genotóxico do extrato foi avaliado pelo teste do micronúcleo em eritrócitos de medula óssea de camundongos. O extrato foi analisado por Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE) em fase reversa C-18 para avaliar a concentração da cumarina princípio ativo com propriedade antileishmanea. Para a realização do ensaio de micronúcleo foram utilizados 4 grupos de camundongos *fêmeas Swiss Albinos*. Os animais foram tratados com: ciclofosfamida (controle positivo), solução D.M.S.O 1% (controle negativo), extrato hidroalcoólico das folhas de *C. brasiliense* nas doses 100 mg e 200mg/Kg, respectivamente. Após 24 horas os animais foram sacrificados e a medula do fêmur foi retirada. Em análise por CLAE, o extrato apresentou $25,97 \pm 0,91$ µg da cumarina denominada mammea A/BB por mg de extrato. Os resultados demonstraram que o extrato do *C. brasiliense* não apresentou genotoxicidade nas concentrações utilizadas na preparação de pomadas com ação antileishmania. O controle positivo (ciclofosfamida 50 mg) apresentou níveis de mutagenicidade. Através desse estudo observamos que o extrato hidroalcoólico obtido das folhas do *C. brasiliense* não apresentou genotoxicidade nas concentrações administradas.

Unitermos: *Calophyllum brasiliense*, teste de micronúcleo, mammea A/BB, CLAE.

ABSTRACT: “Evaluation of the genotoxic activity of the *Calophyllum brasiliense* Cambess (Clusiaceae) on bone marrow of mice”. The *Calophyllum brasiliense* Camb., Clusiaceae family, known as "guanandi", is a large tree in the Atlantic Forest and previous studies have shown great potential as a drug for the treatment of leishmaniasis. We prepared a hydroalcoholic (ethanol: water 9:1, v / v) by the method of macerating the leaves of *C. brasiliense*. We evaluated the cytotoxic and mutagenic potential of the extract of the *C.brasiliense* erythrocyte micronucleus test on bone marrow of mice. The extract was analyzed by reverse phase HPLC on C-18, and to perform the micronucleus assay was used 4 groups of female Swiss albino mice. Were administered: cyclophosphamide (positive control), 1% DMSO solution (negative control), hydroalcoholic extract of the leaves of *C. brasiliense* in doses 100 mg and 200mg/Kilo respectively. The animals were exposed to 24 hours of treatment, they were sacrificed and the marrow of the femur was taken out of mice. There was a certain amount of coumarin called mammea A / BB in the extract by HPLC 25.97 ± 0.91 mg per mg of extract mammea. The results showed that the extract of *C. Brasiliense* are not genotoxic at the concentrations used in the preparation of ointments Leishmania. The positive control (cyclophosphamide 50 mg) showed levels of mutagenicity. Through this study noted that the hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *C. brasiliense* are not genotoxic concentrations administered.

Keywords: *Calophyllum brasiliense*, micronucleus test, mammea A/BB, HPLC.

INTRODUÇÃO

A espécie vegetal *Calophyllum brasiliense* Cambess (Clusiaceae), conhecido popularmente como “guanandi”, é uma grande árvore da Mata Atlântica que cresce principalmente nas florestas tropicais distribuindo-se em toda a América Latina do Brasil ao México. Essa planta é nativa brasileira utilizada na medicina popular para o tratamento de várias doenças, como reumatismo, varizes, hemorróidas e úlceras crônicas (Corrêa, 1978).

No México o nome mais comum é “bari”, e a infusão do córtex é consumido por mulheres após o parto para limpeza do útero, enquanto que as sementes produz um óleo utilizado para as afecções da pele (Soto & Sousa,1995). Na Colômbia os camponeses chamam essa árvore de árbol, ou árvore do óleo, e o látex amarelo do córtex é aplicado topicamente para cicatrização umbilical de recém nascidos (García-Barriga, 1992). Além disso,

os frutos são conhecidos como mamey, e o pó das sementes é espalhada ou dissolvido em água para formar uma emulsão usada como um inseticida de aplicação tópica em cães e humanos para a eliminação de pulgas, piolhos, sarna e ácaros (García Barriga 1992).

Na Bacia Amazônica, a infusão da casca é utilizada por grupos indígenas para o tratamento da diarreia, na Guiana, a *C. Brasiliense* é utilizada junto com a *Coutarea hexandra* para o tratamento do diabetes (Mesía-Vela et al., 2001).

Estudos anteriores mostraram que a *C. brasiliense* é uma rica fonte de compostos bioativos, incluindo cumarinas (Ito et al 2003; Reyes-Chilpa et al 2004), xantonas (Sartori et al. 1999; Ito et al 2002), triterpenóides (Reyes-Chilpa et al 2004), e biflavanóides (Da Silva et al., 2001).

Compostos isolados de *C. brasiliense* demonstraram atividade citotóxica contra algumas linhagens de células tumorais (Kimura et al. 2005; Ito et al. 2006), principalmente a cumarina mammea A/BB (Reyes – Chilpa et al 2004; Ruiz- Marcial et al 2007). Estudos anteriores demonstraram que os extratos, frações e principalmente a cumarina (-) mammea A/BB isoladas das folhas de *C. brasiliense* apresentam significativa atividade moluscicida contra o caramujo *Biomphalaria glabrata* (Gasparotto- Júnior et al 2005) e potente atividade leishmanicida frente à *L. amazonensis* e *L. brasiliensis* (Brenzan et al 2012, Tiunan et al, 2012).

Outra atividade observada foi a leishmanicida de derivados da (-) Mammea A/BB frente à *L. amazonensis* (Brenzan et al, 2008b). A cumarina mammea A/BB isoladas de folhas de *C. brasiliense*, também apresentou atividade tripanocida frente à *T. cruzi* (Reyes – Chilpa et al 2008). Considerando esses efeitos, em estudos mais recentes, foi validado um método para análise quantitativa do composto biologicamente ativo (-) mammae A/BB em extrato *C. brasiliense* por cromatografia líquida de alta cromatografia (CLAE) (Brenzan et al 2010).

Micronúcleos em eritrócitos jovens surgem principalmente a partir de fragmentos acêntricos ou cromossomos que são incapazes de migrar seguindo o fluxo mitótico, quando ocorre um aumento na frequência desses eritrócitos em testes com animais tratados com diferentes substâncias é uma indicação de dano cromossômico induzido. A genotoxicidade ocorrem em processos que

alteram a base genética, seja na estrutura física ou química do DNA (ácido desoxirribonucleico).

No presente estudo, foi avaliado o potencial genotóxico do extrato das folhas de *Calophyllum brasiliense* pelo teste de indução de formação de micronúcleo em eritrócitos de medula óssea de camundongos, além disso este extrato foi analisado por CLAE.

MATERIAL MÉTODOS

Material vegetal

As partes aéreas do *C. brasiliense* foram coletadas no Instituto de Botânica de São Paulo em 13/09/2012, a planta foi identificada e uma exsicata foi depositada no herbário desta instituição (SP 363818).

Obtenção dos extratos

As folhas foram secas em estufa de ar circulante a 45°C e foram trituradas em moinho de facas e martelo, obtendo-se 825 g de pó. O pó das folhas foi extraído pelo processo de maceração com etanol:água (9:1) até esgotamento total dos princípios ativos. O extrato hidroalcoólico das folhas foi filtrado e evaporado em rotaevaporador a vácuo à temperatura de 45 °C, até a eliminação total do solvente orgânico. O extrato foi concentrado, obtendo-se duas fases, o resíduo foi solubilizado em diclorometano e denominados EB (extrato bruto) = resíduo das folhas (31,5 g). O solvente orgânico foi eliminado em rotaevaporador à vácuo, a 45 °C. A fase aquosa do extrato foi liofilizada e armazenada em freezer sendo denominada EL (extrato liofilizado) = liofilizado das folhas (148,0 g).

Instrumentação e condições cromatográficas

A análise por CLAE foi realizada usando equipamento Shimadzu LC-10 equipado com bomba quaternária (LC-10 AD), válvula injetora manual (Rheodyne) com loop de 20 µL, forno CTO-10Avp e um detector UV/visível (SPD-10^a), controlado pelo Software CLASS LC-10.

Na análise cromatográfica foi utilizada coluna de fase reversa Metasil ODS, 5 µm, 150,0 x 4,6 mm, mantida a temperatura de 30°C. A eluição foi realizada

utilizando sistema gradiente: acetonitrila: água 5:95 a 55:45 v/v (0-10 min), 55:45 a 80:20 (10-20 min.), 80:20 v/v a 100% de acetonitrila (20-30 min.), 100% de acetonitrila (30-40 min.). A vazão da fase móvel foi mantida a 0,6 mL/min e a detecção foi monitorada num comprimento de onda de 254 nm e o tempo de corrida foi de 40 minutos. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. (Brenzan, et al, 2010)

Preparo da amostra do extrato

As soluções do extrato das folhas da *C. brasiliense* (3000 µg/mL) foram preparadas dissolvendo-se 3 mg em 1mL de metanol, em frasco vial, com auxílio de banho de ultrassom. Em seguida, a amostra foi filtrada em filtro Millex® 0,45 µm (Millipore).

Animais e tratamentos:

Foram utilizados camundongos Swiss albinos fêmeas, de 7 a 8 semanas de vida e peso médio 39,80/g, obtidos no centro de criação de animais (Biotério da UEM). Os animais foram mantidos em caixa de polietileno, em ambiente controlado (25 °C). O regime alimentar foi o padrão, com ração comercial padrão e água fornecida *ad libitum*. Foram alojados 6 animais por caixa e aleatoriamente divididos em 4 grupos: 1) animais que receberam DMSO 1% (controle negativo (CN)) por gavagem; 2) animais que receberam 50/mg/kg de Ciclofosfamida (controle positivo) por gavagem; 3 e 4) animais que foram tratados com 100 e 200/mg/kg respectivamente do extrato bruto de *C. brasiliense* por gavagem.

Após 24 horas os animais foram anestesiados com Ketamina 60/mg/kg + Xilazina 12/mg/kg), via intraperitoneal, sendo retirada a medula óssea do fêmur, e posteriormente esses animais foram sacrificados.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da UEM, Maringá –PR, Brasil (Protocolo nº 037/2011).

Critério de escolha e Teste do Micronúcleo em células de medula óssea de camundongos.

Efeitos genotóxicos foram avaliados em células da medula óssea de camundongos pelo teste de micronúcleo de acordo com Schmid (1975).

Imediatamente após os animais serem anestesiados os fêmur (s) foram removidos e a medula óssea foi retirada e emulsionada até obter uma suspensão, a qual foi transferida para tubos de centrifugação contendo 2/ml de soro fetal bovino (SFB). A suspensão de medula óssea foi centrifugada a 1000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. O sedimento foi ressuspensionado por uma gota de SFB e utilizado na confecção do esfregaço. Após 24 horas de secagem em temperatura ambiente, os esfregaços foram corados (coloração Leisham) e secos à temperatura ambiente.

As lâminas foram examinadas sob aumento de 1000x em microscópio óptico (Olympus, Japão). O critério para contagem de micronúcleo foi baseado essencialmente no diâmetro, na forma de micronúcleo e na sua coloração de acordo com Krishna e Hayashi (2000). Para avaliar a indução de formação de micronúcleo (MN) foi determinado o nº de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) em 1000 eritrócitos policromados (EPC) por amostra de camundongos por lâmina (Schmid, 1975) (figura 1)

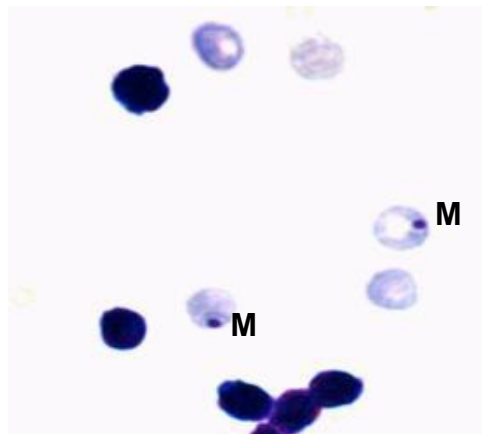


Figura 1: Incidência de micronúcleos (MN) em medula óssea de fêmur de camundongos após 24 horas de tratamento por gavagem com o extrato de *C. brasiliense*. M=micronúcleo

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média±desvio padrão (DP) para comparar frequências de EPCMN e entre grupos tratados e controles. Os dados do ensaio de micronúcleo foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA –Tukey's (utilizado para estatística de análise).

RESULTADOS

Análise por CLAE do extrato bruto (EB)

Na análise por CLAE segundo a metodologia proposta por Brenzan et al 2010 foi quantificada a cumarina majoritária mammea A/BB com uma concentração de $25,97 \pm 0,91 \mu\text{g}$ por mg de extrato bruto. Essa substância foi identificada no cromatograma com tempo de retenção 21,7 minutos.

Teste de micronúcleo

As frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (%EPCMN \pm DP) para os camundongos do grupo controle negativo (CN) e aqueles dos grupos tratados com diferentes concentrações (100 e 200 mg/kg por camundongo) de extrato bruto de *C. brasiliense*, foram respectivamente $2,34 \pm 1,6$, $1,84 \pm 1,2$, 3 ± 3 , respectivamente. As frequências de EPCMN para camundongos tratados com as diferentes concentrações de extrato bruto foram significativamente parecidas ao CN (Teste Tukey's- ANOVA, $p \leq 0,05$). A frequência de EPCMN, para animais do grupo CP ($16,83 \pm 8,4$) diferiu significativamente (Teste Tukey's- ANOVA, $p \leq 0,05$) do controle negativo e das frequências dos grupos tratados com extrato bruto de *C. brasiliense* (Tabela 1).

Tabela 1: Incidência de micronúcleos em medula óssea de fêmur de camundongos tratados com *C. brasiliense* nas concentrações 100/mg/kg e 200/mg/kg.

Tratamento	Nº animais	Nº MN/1000 eritrócitos	Média (\pm DP)
EB <i>C. brasiliense</i> 100/mg/kg	6	2,0,2,3,3,1	1,84 ($\pm 1,2$)
EB <i>C. brasiliense</i> 200/mg/kg	6	9,3,2,2,0,2	3 ($\pm 3,0$)
Ciclofosfamida 50/mg/kg	6	19,26,24,12,3,17	16,83* ($\pm 8,4$)
DMSO 1%	6	4,2,0,1,3,4,	2,34 ($\pm 1,6$)

* $p < 0,05$. (ANOVA-Tukey's). significativo em relação ao controle (DMSO 1%).

MN = micronúcleos; DP = desvio padrão

DISCUSSÃO

O extrato bruto do *C. brasiliense* com uma concentração da mammea A/BB de $25,97 \pm 0,91 \mu\text{g}$ por mg do extrato foi utilizado em duas concentrações 100mg e

200mg/kg, devido ao fato de estudos anteriores (Honda, 2010) observou que nas doses acima a pomada com esse extrato foi ativa contra a Leishmaniose cutânea, e esse trabalho é uma continuação para demonstrar que o extrato nessa dose não apresenta genotoxicidade, além de observar a indução de micronúcleos e esse é o principal teste *in vivo* em uma bateria de testes genotóxicos recomendado por agências fiscalizadoras em todo o mundo como parte da avaliação de segurança dos produtos químicos e naturais. O ensaio, quando realizado corretamente, detecta ambos os efeitos: clastogênicos e aneugênicos (Krishna & Hayashi, 2000).

Micronúcleos em eritrócitos jovens surgem principalmente a partir de fragmentos acêntricos ou cromossomos que são incapazes de migrar seguindo o fuso mitótico durante a divisão celular do tecido hematopoiético (Salamone & Heddle, 1983; Ouanes et al., 2003). Um aumento na frequência de EPCMN em testes com animais tratados com diferentes substâncias é um indicação de dano cromossômico induzido (Krishna & Hayashi, 2000).

No presente estudo, a frequência de EPCMN de grupos tratados com extrato bruto de *C. brasiliense*, foi significativamente menor que as frequências observadas no controle positivo (CP), resultando, eventualmente em até uma menor frequência de EPCMN quando comparada com as obtidas em no CN. A Ciclofosfamida® tem sido amplamente usada como um controle positivo em ensaios de micronúcleos em roedores (Krishna & Hayashi, 2000) devido a capacidade de indução de EPCMN. Todavia, a diminuição das frequências de EPCMN comparadas com os respectivos controles sugere que o EB (extrato bruto) não age como uma genotoxina, podendo inclusive possuir componentes que exercem um efeito antígenotóxico.

O efeito genotóxico do extrato de *C. brasiliense* na medula óssea de camundongos foi estudado pela primeira vez no presente trabalho. O resultado indica que a mistura de componentes encontrados nestes extratos não causam um aumento significativo no número médio de células com micronúcleos quando administradas em doses de 100 e 200 mg/kg por camundongo (p.c). Embora os resultados do presente estudo não se oponham ao consumo terapêutico do extrato de *C. brasiliense*, o cuidado quanto ao uso

indiscriminado pelo público dessas e outras plantas medicina, continua sendo necessário.

Finalmente, esse estudo evidencia que os testes *in vivo* da indução de micronúcleo em roedores são sistemas versáteis e sensíveis para a determinação de atividade não genotóxica de *C. brasiliense*.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e CNPQ pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- 1- Brenzan MA, Nakamura CV, Dias-Filho BP *et al.* Antileishmnia activity of crude extract and coumarin from *Calophyllum brasiliense* leaves against *Leishmania amazonensis*. *Parasitol Res* 2007; **101**: 715–722.
- 2- Brenzan MA, Nakamura CV, Dias-Filho BP *et al.* Structure-activity relationship of (-) mamea A/BB derivatives against *Leishmania amazonensis*. *Biomed. Pharmacother* 2008b; **62** (6): 651–658.
- 3- Brenzan MA, Ferreira ICP, Lonardon MVC. Activity of extracts and coumarins from the leaves of *Calophyllum brasiliense* on *Leishmania braziliensis*. *Pharm Biol* 2008a; **46**: 1–7.
- 4- Brenzan, M. A. ; Nakamura, C. V. ; Filho, B. P. D. ; Ueda-Nakamura, T. ; Young, M. C. M. ; Mitsui, M. L. ; **CORTEZ, D. A. G.** . QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ANALYSIS OF (-) MAMMEA A/BB COUMARIN IN EXTRACTS OF CALOPHYLLUM BRASILIENSE CAMBESS (CLUSIACEAE) BY HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* ^{JCR}, v. 33, p. 283-295, 2010.
- 5- Corrêa MP. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional Ed., 1978.
- 6- García-Barriga H 1992. *Flora Medicinal de Colombia*, Vol. 2, 2nd ed., Tercer Mundo Editores, Bogotá, Colombia, 537 pp.

- 7- Gasparotto-Júnior A, Brenzan MA, Ferreira ICP *et al.* Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *Calophyllum brasiliense* Camb (Clusiaceae). *Quim. Nova* 2005; **28**: 575–578.
- 8- Honda, P.A., Ferreira, I.C.P., Cortez, D.A.G., Amado, C.A.B., Silveira, T.G.V., Brenzan, M.A., Lonardoni, M.V.C., 2010. Efficacy of components from leaves of *Calophyllum brasiliense* against *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Phytomedicine* 17, 333–338.
- 9- Ito C, Itoigawa M, Mishina Y *et al.* Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*: structure of three new coumarins and cancer chemopreventive activity of 4-substituted coumarins. *J Nat Prod* 2003; **66**: 368–371.
- 10- Krishna G, Hayashi M 2000. *In vivo* rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutat Res* 455: 155-166.
- 11- Mesía-Vela S, Sánchez RI, Estrada-Muñiz E, Alavez-Solano D, Torres-Sosa C, Jiménez-Estrada M, Reyes-Chilpa R, Kauffman FC 2001. Natural products isolated from Mexican medicinal plants, novel inhibitors of sulfotransferases SULT1A 1 and SULT1A and SULT2A. *Phytomedicine* 8: 481-488.
- 12- Ouanes Z, Abid S, Ayed I, Anane R, Mobio T, Creppy EE, Bacha H 2003. Induction of micronuclei by Zearalenone in Vero monkey kidney cells and in bone marrow cells of mice: protective effect of Vitamin E. *Mutat Res* 538: 63-70.
- 13- Reyes-Chilpa R, Estrada-Muñiz E, Apan TR *et al.* Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. *Life Sci* 2004; **75**: 1635–1647.
- 14- Ruiz-Marcial C, Reyes-Chilpa R, Estrada E *et al.* Antiproliferative, cytotoxic and antitumour activity of coumarin isolated from *Calophyllum brasiliense*. *Pharm. Pharmacol* 2007; **59**: 719–725.

- 15- Salamone MF, Heddle JA 1983. The bone marrow micronucleus assay: rationale for a revised protocol. *Chem Mutagens* 8: 111-149.
- 16-Schmid W 1975. The micronucleus test. *Mutat Res* 31: 9-15. Scogin R 1980. Anthocyanins of the Bignoniaceae. *Biochem Syst Ecol* 8: 273-276.
- 17-Soto JC, Sousa M 1995. *Plantas Medicinales de la Cuenca del Río Balsas*. Cuadernos del Instituto de Biología, Vol. 25, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 198 pp.