



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE IPAMERI
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal



**AVALIAÇÃO DO LÁTEX DE *Jatropha curcas*
L.: PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E
BIOLÓGICAS**

ILLANA REIS PEREIRA

**M
E
S
T
R
A
D
O**

**Ipameri-GO
2017**

ILLANA REIS PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO LÁTEX DE *Jatropha curcas* L.:
PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS.**

Orientadora: Prof.^a Dra. Luciane Madureira de Almeida
Coorientador: Prof. Dr. Fábio Santos Matos

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Câmpus Ipameri como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Produção Vegetal para obtenção do título de MESTRE.

Ipameri
2017

Pereira, Ilana Reis.

Avaliação do látex de *Jatropha curcas* L.: Propriedades físicas, químicas e biológicas/ Ilana Reis Pereira. - 2017. 69 f. il.

Orientadora: Profª. Dra. Luciane Madureira de Almeida.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Ipameri 2017.

Bibliografia: 1. Recursos Genéticos. 2. Biologia. 3. *Jatropha curcas*.

I. Título.



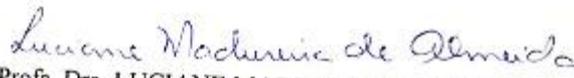
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

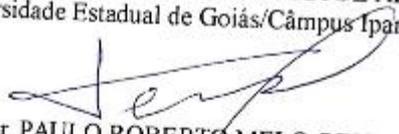
TÍTULO: "AVALIAÇÃO DO LÁTEX DE *Jatropha curcas* L.: PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS"

AUTORA: Illana Reis Pereira

ORIENTADORA: Luciane Madureira de Almeida

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:


Prof. Dra. LUCIANE MADUREIRA DE ALMEIDA
Universidade Estadual de Goiás/Câmpus Ipameri-GO


Prof. Dr. PAULO ROBERTO MELO-REIS
Pontifícia Universidade Católica de Goiás/Goiânia-GO


Prof. Dra. ELISA FLÁVIA LUIZ CARDOSO BAILÃO
Universidade Estadual de Goiás/Câmpus Anápolis-GO

Data da realização: 21 de fevereiro de 2017

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Jonas e Maria que me ensinaram o valor e a importância da família, o caminho da honestidade, da humildade e sempre estiveram do meu lado me incentivando e acreditando na minha capacidade.

Ao meu esposo Leonardo, pessoa com que amo dividir a vida e que sei que posso contar com seu apoio sempre que necessário.

E ao meu pequeno e amado irmão, que mesmo sem ter conhecimento me incentiva na busca de um futuro melhor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente na minha vida.

À minha orientadora professora Dra. Luciane Madureira de Almeida, exemplo de mulher forte e profissional, a quem admiro muito e tenho certeza que levarei seus ensinamentos por toda minha vida. “Muito obrigada por tudo, pelo esforço, dedicação e puxadas de orelha, não tenho palavras pra expressar essa enorme gratidão e admiração”.

Ao professor Dr. Paulo Roberto Melo Reis, pessoa iluminada, exemplo de ser humano e profissional a ser seguido que tive o prazer de conhecer. “Obrigada por seus ensinamentos e por ceder tão gentilmente seu laboratório e sua equipe para a realização dos experimentos”.

À querida Maria Alice, menina encantadora e competente que dedicou parte do seu tempo para me auxiliar na realização dos experimentos. “Sem você não sei o que seria de mim”.

Ao professor Dr. Adilson Pelá e as queridas Joseliana e Maria, por estar sempre à disposição, disponibilizando laboratórios, materiais e me auxiliando.

Ao meu coorientador e professor Dr. Fábio Santo Matos, por me incentivar e persistir quando pensei que tudo estava perdido. Graças a essa persistência consegui abrir minha mente. “Muito obrigada professor”.

Ao professor Dr. Pablo José Gonçalves, pelo suporte e disposição.

Ao professor Dr. Vitor Corrêa de Mattos Barreto, que desde o começo me apoiou e incentivou.

À Patrícia, pelo apoio, suporte e por poder compartilhar as mais diversas situações vividas durante o mestrado.

Ao professor Dr. Paulo Roberto e a professora Dra. Elisa Flávia Luiz Cardoso Bailão, por aceitarem o convite para avaliar essa dissertação.

À amiga Monique, que apesar de estarmos em diferentes programas de mestrado, está presente em minha vida desde a graduação e que durante esses dois anos pudemos dividir nossas alegrias e frustrações e apoiar uma na outra.

Aos meus pais Jonas e Maria pelo incentivo e apoio incondicional, me fornecendo todo suporte necessário para concluir mais essa etapa.

Ao meu esposo Leonardo, pelo carinho, paciência e incentivo durante essa fase, por entender minha prioridade nesse momento e me apoiar. “Muito obrigada amor”.

À minha cunhada-irmã, pelo grande incentivo desde a graduação até a conclusão dessa fase, e que mesmo longe se fez e faz presente na minha vida e consegue me entender como ninguém. “Obrigada cunhada”.

À minha sogra, pelo incentivo, apoio e suporte sempre disposta a me ajudar. “Obrigada por tudo”.

Ao meu amigo desde o jardim de infância e que torço muito por ele, Renan César. “Obrigada por sempre brigar comigo”.

Aos meus colegas de sala, pela ajuda e por poder dividir tantos momentos com vocês.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação, bem como ao corpo docente, por terem contribuído para minha formação.

A FAPEG, pela concessão da bolsa de estudos, que tenho a certeza que sem esse auxílio, não seria possível todo esforço e dedicação.

Enfim, a todos que sempre torceram por mim e me apoiaram nesse período de extrema importância na minha vida. “Muito obrigada a todos”.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	3
OBJETIVOS.....	11
CAPÍTULO 1 - Tendências e lacunas na literatura científica global sobre <i>Jatropha curcas</i> L. (Euphorbiaceae), uma planta com potencial econômico	
RESUMO.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
2.1. Obtenção dos dados.....	15
2.2. Estratégias de pesquisa e análise de artigos	15
2.3. Análise estatística dos dados.....	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4. CONCLUSÃO.....	25
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO 2 - Caracterização fitoquímica do látex de pinhão manso (<i>Jatropha curcas</i> L.)	
RESUMO.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
2.1. Obtenção do látex.....	31
2.2. Determinação do pH.....	31
2.3. Prospecção química.....	32
2.4. Análise elementar.....	33
2.5. Espectroscopia no Infravermelho.....	33
2.6. Análises termogravimétricas.....	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4. CONCLUSÃO.....	42
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

CAPÍTULO 3 - Avaliação da genotoxicidade e antigenotoxicidade do látex de pinhão manso
(*Jatropha curcas* L.)

RESUMO.....	48
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
2.1. Aspectos éticos da pesquisa.....	52
2.2. Látex de pinhão manso (<i>J. curcas</i> L.).....	52
2.3. Camundongos.....	52
2.4. Grupos experimentais.....	53
2.5. Avaliação da atividade genotóxica e antigenotóxica.....	53
2.6. Avaliação da atividade citotóxica e anticitotóxica.....	54
2.7. Análises estatísticas.....	54
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4. CONCLUSÃO.....	59
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

RESUMO

Jatropha curcas L, conhecido popularmente como pinhão manso, é um arbusto da família Euphorbiaceae o qual possui múltiplos usos, como exemplo para produção de energia, fonte de matéria orgânica, uso na medicina tradicional, entre outros. Os objetivos do presente trabalho foram: 1) realizar um levantamento cienciométrico, buscando relatar as principais tendências e lacunas da literatura mundial sobre a espécie; 2) realizar a caracterização fitoquímica do látex, identificando seus compostos presentes; e 3) avaliar a atividade genotóxica e antigenotóxica do látex. Para a realização da análise cienciométrica foi feita uma busca por artigos científicos no ISI – Web of Knowledge usando as palavras “*Jatropha curcas*” OU “*physic nut*”. As metodologias empregadas na caracterização fitoquímica foram identificação de metabólitos secundários, determinação de pH, análise elementar, espectroscopia no infravermelho e análises termogravimétricas. O método usado na avaliação do potencial genotóxico e antigenotóxico foi o teste de micronúcleo em células de medula óssea de camundongos tratados com doses de látex e doxorubicina. Como resultado, todas as abordagens cienciométricas utilizadas mostraram um contínuo aumento nos parâmetros quantitativos e qualitativos nos estudos sobre o pinhão manso. Além disso, as principais tendências nos estudos de *J. curcas* são relacionados com a produção de biocombustíveis, e as principais lacunas estão relacionadas a silvicultura e sustentabilidade, nutrição animal e melhoramento genético. Outro problema identificado foi à falta de sementes comerciais, o que dificulta o plantio de grandes áreas. Índia, Brasil e China juntos foram responsáveis por 55% dos conhecimentos obtidos sobre esta espécie. Através da caracterização fitoquímica foi possível identificar os metabólitos secundários heterosídeos antraquinônicos, flavonóides e taninos e constatar que o látex é composto por 40% de carbono, 4% de hidrogênio e 1% de nitrogênio, sendo que os outros 54% não foram identificados. Quando comparado com o látex da mangabeira, foi observado que o látex de pinhão manso apresenta baixa quantidade ou ausência de 1,4 poli-isopreno e se apresentou menos estável termicamente. Os resultados obtidos pelo do teste de micronúcleo *in vivo*, mostraram que o látex possui atividade genotóxica nas concentrações de 50 e 100 mg/kg p.c e atividade citotóxica em todas as concentrações estudadas. Em relação à atividade antigenotóxica, o látex inibiu o dano ao DNA quando administrado em associação ao fármaco doxorubicina. As conclusões obtidas nesse trabalho foram: 1) apesar do aumento do número de artigos sobre pinhão manso, muitos países pararam de cultivá-lo principalmente devido à falta de informações sobre a espécie; 2) as análises fitoquímicas identificaram no látex os heterosídeos antraquinônicos, os flavonóides e os taninos, os quais possuem diferentes funções biológicas e são substâncias de interesse farmacológico; 3) foi observada uma diferença significativa entre os componentes do biofilme de pinhão manso e da biomembrana de mangabeira o que pôde ser observado nas alterações de suas propriedades elásticas e provavelmente em suas aplicações biológicas; 4) o látex de pinhão manso apresenta atividade genotóxica e citotóxica quando administrado sozinho aos camundongos, porém, têm efeito antagonista e atividade antigenotóxica quando administrado simultaneamente com a doxorubicina. Esses resultados mostram que se deve ter cuidado com interações medicamentosas, e que a utilização empírica do látex de pinhão manso, pela população, pode gerar sérios danos à saúde.

Palavras-chave: Euphorbiaceae, Ciencimetria, Prospecção fitoquímica, genotoxicidade, antigenotoxicidade.

ABSTRACT

Jatropha curcas L, popularly known as physic nut, is a shrub of the Euphorbiaceae family, with multiple uses. The objectives of this work were: 1) reporting the main trends and gaps of global scientific literature about *J. curcas* L species through a scientometric analysis; 2) performing the phytochemical characterization of the latex and identified its compounds; 3) evaluating the genotoxic and antigenotoxic activity of latex. For the scientometric analysis, the ISI - Web of Knowledge data base was used and the search was made using the words "*Jatropha curcas* or "physic nut". The methodology employed on the phytochemical characterization was: secondary metabolites identification, pH determination, elemental analysis, infrared spectroscopy and thermogravimetric. For the evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential the micronucleus test was used in bone marrow cells of mice treated with doses of latex and doxorubicin. As result it was observed a continuous increase in both quantitative and qualitative parameters in the studies about *J. curcas*. In addition, the main trends in the studies of *J. curcas* are related to the production of biofuels, and the main gaps are related to forestry and sustainability, animal nutrition and genetic improvement. Another problem identified was the lack of commercial seeds, which makes it difficult to plant large areas. India, Brazil and China together accounted for 55% of the knowledge on this species. Through the phytochemical characterization, it was possible to identify the secondary metabolites anthraquinones heterosides, flavonoids and tannins. Also it was verified that the latex is composed of 40% of carbon, 4% of hydrogen and 1% of nitrogen and other 54% remaining were not identified. When compared to latex of mangabeira, it was observed that the *J. curcas* latex had low amount or absence of 1.4 polyisoprene and was less thermally stable. The results obtained by the *in vivo* micronucleus test showed that the latex has genotoxic activity at concentrations of 50 and 100 mg / kg b.w. and cytotoxic activity at all concentrations studied. In relation to antigenotoxic activity, latex inhibited DNA damage when administered together with the doxorubicin. The conclusions obtained in this study were: 1) in spite of the increase in the number of articles on *J. curcas*, many countries stopped cultivating it mainly due to lack of information about the species; 2) phytochemical analyzes identified in the latex the anthraquinones heterosides, flavonoids and tannins, which have different biological functions and are substances of pharmacological interest; 3) a significant difference was observed between the components of the *J. curcas* biofilm and the mangabeira biomembrane, which could be observed in the alterations of its elastic properties and probably in its biological applications; 4) *J. curcas* latex shows genotoxic and cytotoxic activity when given alone to mice, but they have antagonistic effect and antigenotoxic activity when administered simultaneously as drug doxorubicin. These results show that care must be taken with drug interactions, and that the empirical use of *J. curcas* latex by the population can cause serious damage to health.

Key words: Euphorbiaceae, Scientometry, Phytochemical prospection, genotoxicity, antigenotoxicity.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Existe no mundo uma enorme variedade de plantas com potencial biotecnológico para produção de alimentos, cosméticos, medicamentos, energia e outros. Dentre essas plantas com potencial biotecnológico, encontra-se a *Jatropha curcas* L., conhecida popularmente como pinhão manso. Esse arbusto pertence à família Euphorbiaceae e apresenta boa adaptabilidade em diferentes condições ambientais. Sua importância econômica está principalmente relacionada ao uso da espécie na produção de biodiesel, devido ao alto teor de óleo contido nas sementes e fácil extração. Além do uso associado à produção do biodiesel, essa planta também pode ser utilizada para outros fins, como por exemplo, o uso do óleo para iluminação ou aquecimento de alimentos; biopesticida; cerca - viva; e como fonte de matéria orgânica.

Atualmente, a utilização popular do pinhão manso no tratamento de doenças tem despertado o interesse de cientistas para os possíveis compostos presentes nessa espécie. Análises fitoquímicas mostraram que diferentes extratos de *J. curcas* contém compostos naturais, tais como curcuciclinas A e B, curcaina, jathrophine e jathropham, os quais apresentam atividades farmacológicas. Dentre os extratos de pinhão manso utilizados na medicina popular, o presente trabalho tem interesse na identificação e atividade biológica dos componentes do látex de *J. curcas*.

Geralmente o látex é formado por uma emulsão aquosa que tem como principal função a defesa da planta contra herbívoros e outros patógenos. O látex é constituído de vários componentes, tais como: alcalóides, terpenóides, amido, açúcares, óleo, taninos, resinas, borracha, proteínas e enzimas. Recentemente, foram descritas atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana para o látex de pinhão manso.

Embora o pinhão manso venha sendo utilizado na medicina popular, são poucas as informações científicas relacionadas à espécie. Isso é preocupante, uma vez que as supostas vantagens terapêuticas dessa planta e o seu potencial tóxico não são conhecidos pelo público em geral ou por profissionais da área da saúde. Sendo assim, essa planta foi popularmente considerada medicinal, mas pode conter compostos perigosos à saúde humana. Na verdade, não é apenas a população em geral que desconhece os potenciais de pinhão manso, cientificamente existem poucos trabalhos que caracterizam a atividade farmacológica da

espécie. Pensando nas fragilidades do conhecimento sobre o pinhão manso, esse trabalho teve como objetivo geral realizar um levantamento sobre o atual conhecimento científico sobre a espécie, caracterizar físico-quimicamente o látex e avaliar seu potencial genotóxico e antígenotóxico *in vivo*. Os resultados obtidos nessa pesquisa foram apresentados nessa dissertação em forma de capítulos para facilitar a compreensão. Sendo apresentado no primeiro capítulo às tendências e lacunas do conhecimento científico sobre o pinhão manso. No segundo capítulo foi apresentada a caracterização físico-química do látex do pinhão manso e a identificação das principais classes de compostos com atividade biológica. Finalmente, no terceiro capítulo foi analisado o potencial genotóxico e antígenotóxico do látex do pinhão manso em camundongos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais

Segundo a ANVISA, toda planta ou parte dela que contenha substâncias ou classes de substâncias responsáveis por alguma ação terapêutica são consideradas plantas medicinais (BRASIL, 2010). Essas plantas são usadas desde a antiguidade e atualmente continuam sendo utilizadas por grande parte da população mundial, como um recurso medicinal alternativo para o tratamento de diversas enfermidades. Dessa forma, essas plantas representam para muitas comunidades um recurso mais acessível em relação aos medicamentos alopáticos (BARATA, 2005; BEVILACQUA, 2010; TOSCANO RICO, 2011).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, cerca de dois bilhões de pessoas no mundo utilizam a medicina popular baseada na extração de princípios ativos das plantas no tratamento de doenças (SMITH-HALL et al., 2012). Como existe uma vasta variedade de plantas com possível potencial farmacológico, identificá-las torna-se uma tarefa difícil. Uma maneira de fazê-lo é baseando na etnofarmacologia, que consiste na seleção de plantas consideradas como medicinais por algum grupo étnico (MACIEL et al., 2002).

2.2 Uso da *Jatropha curcas* L. na medicina popular

Dentre as plantas com potencial medicinal está a *Jatropha curcas* L. conhecida popularmente como pinhão manso. Popularmente, essa espécie apresenta potencial anti-séptico, anti-parasitário, anti-câncer, anti-inflamatório, entre outros, sendo utilizada no tratamento de queimadura, convulsões, febre, pneumonia, inflamação, laxante, doenças de pele, cólicas, cicatrizante, diurético, diarreia e reumatismo (VILLEGAS et al., 1997; OSONIYI e ONAJOBI, 2003; DEBNATH e BISEN, 2008).

A ampla utilização do pinhão manso na medicina popular despertou a curiosidade dos pesquisadores em relação aos compostos presentes nessa espécie. Recentemente, alguns trabalhos têm demonstrado a presença de metabólitos secundários com vários efeitos farmacológicos. As folhas, frutos, látex e casca contêm glicosídeos, taninos, fitoesteróis, flavonóides e saponinas esteróides, que exibem amplas propriedades medicinais com potencial terapêutico antimicrobiano, anti-inflamatório, anticancerígeno, antioxidante e antifúngico (DEBNATH e BISEN, 2008; RATHEE et al., 2009; AYANBIMPE et al., 2009).

Dentre todos os bio-compostos presentes nessa planta, esse trabalho tem interesse particular no látex.

2.3 Látex de *J. curcas* L.

O látex representa um conteúdo citoplasmático de um sistema de células especializadas conhecidas como laticíferos (AZZINI et al., 1998). É composto por uma enorme variedade de substâncias tais como: proteínas, terpenos, carbonatos, alcalóides, vitaminas, carboidratos, lipídios e aminoácidos (DOMSALLA e MELZIG, 2008). O aspecto do látex varia de acordo com sua composição química (MARCHIORI, 2004), podendo ter aspecto leitoso (*Hevea brasiliensis*), amarelado (*Sorocea banplandii*, *Jatropha curcas*) ou avermelhado (*Croton urucurana*).

Independente do aspecto, o látex tem como função a defesa das plantas contra herbívoros e outros patógenos, através da cobertura dos tecidos danificados e excreção de metabólitos residuais (KONNO, 2011). Em relação às propriedades medicinais exploradas pelo homem, o látex de pinhão manso tem sido avaliado em relação à atividade anticancerígena (LANS, 2001); atividade antimicrobiana (THOMAS, 1989); atividade cicatrizante (NATH, 1992); atividade coagulante (OSONIYI e ONAJOBI, 2003) e também na proliferação de células T (VAN DEN BERG, 1995). Para melhor compreensão do potencial farmacológico do látex dessa espécie, será apresentada a seguir as características gerais da planta.

2.4 Características botânicas do pinhão manso

J. curcas é um arbusto de crescimento rápido, cuja altura normal é dois a três metros, podendo alcançar até cinco metros em condições especiais (DIVAKARA et al., 2010). As características morfológicas da espécie são descritas a seguir e ilustradas na Figura 1. O diâmetro do tronco é de aproximadamente 20 cm, com raízes curtas e pouco ramificadas, caule liso, de lenho mole e medula desenvolvida, mas pouco resistente. O tronco é dividido desde a base, em ramos, com numerosas cicatrizes produzidas pela queda das folhas na estação seca, as quais ressurgem logo após as primeiras chuvas. As folhas são verdes, esparsas e brilhantes, largas e alternas, em forma de palma com três a cinco lóbulos e pecioladas, com nervuras esbranquiçadas e salientes na face inferior. A espécie é monóica, apresentando na mesma planta, sexos separados. As flores são amarelo-esverdeada com predominância de

flores masculinas que se formam nas extremidades das ramificações diferenciadas pela ausência do pedúnculo. As femininas são encontradas ao longo das ramificações e largamente pedunculadas (HELLER, 1996; DOMERGUE e PIROT, 2008). O fruto é capsular ovóide, com diâmetro de 1,5 a 3,0 cm e trilocular, com uma semente em cada cavidade, formado por um pericarpo ou casca dura e lenhosa, indeiscente, inicialmente verde, passando a amarelo, castanho e por fim preto, quando atinge o estágio de maturação. O fruto apresenta peso variando entre 1,5 e 2,8 g, sendo que cerca de 53 a 62% do peso do fruto equivale as sementes e de 38 a 47% a casca. As sementes, quando secas, medem entre 1,5 e 2 cm de comprimento e entre 1,0 e 1,3 cm de largura. O tegumento é rijo e quebradiço, de fratura resinosa. Debaxo do invólucro da semente existe uma película branca cobrindo a amêndoa, o albúmen é abundante, branco, oleaginoso, contendo o embrião provido de dois largos cotilédones (HELLER, 1996; DOMERGUE e PIROT, 2008).

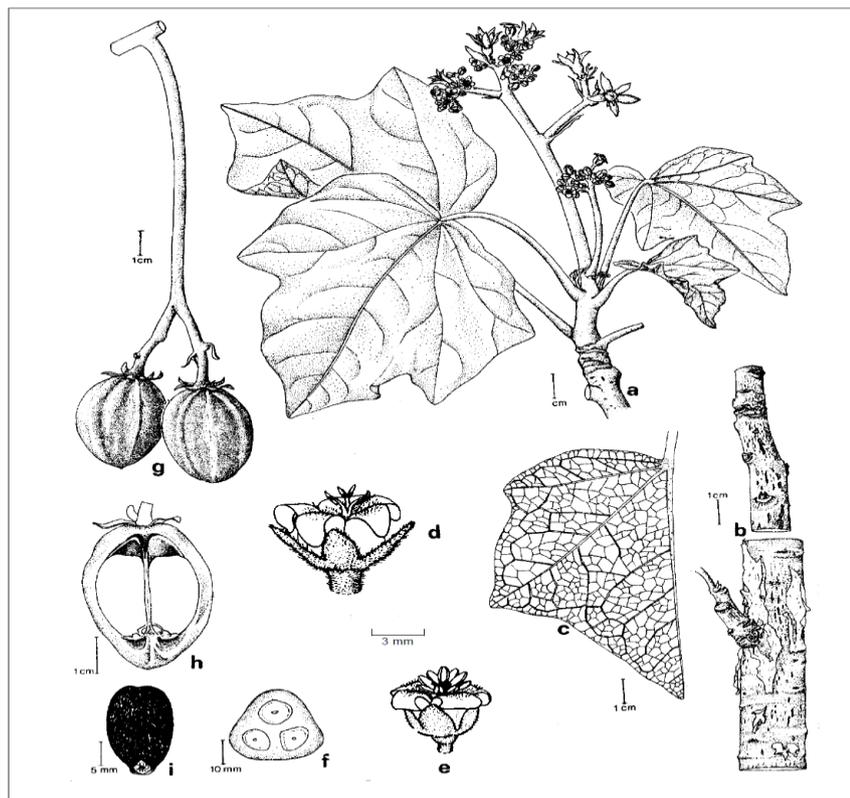


Figura 1. Desenho botânico de *J. curcas*: A) ramo com folhas e flores, B) galho, C) corte de folha, D) flor feminina, E) flor masculina, F) corte transversal do fruto, G) fruto inteiro, H) corte longitudinal do fruto, I) semente (Fonte: HELLER, 1996)

2.5 Descrição da espécie

O pinhão manso pertence a família Euphorbiaceae que apresenta ampla distribuição geográfica e tem maior diversidade em regiões tropicais, essa família reúne árvores, arbustos e lianas, algumas suculentas e de aspecto cactóide (JUDD et al., 2009). A família é representada por 317 gêneros e cerca de 7.500 espécies. Representa uma das principais famílias da flora brasileira com cerca de 70 gêneros e 1.000 espécies, sendo uma das mais complexas do ponto de vista taxonômico (SOUZA e LORENZI, 2008).

As espécies do gênero *Jatropha*, estão entre as mais representativas da família Euphorbiaceae, com aproximadamente, 170 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da África e Américas (CRONQUIST, 1981; KRISHNAN e PARAMATHMA, 2009). No Brasil a espécie está distribuída em todos os domínios fitogeográficos, sendo encontrados em quase todos os biomas (CORDEIRO e SECCO, 2012). Apesar dessa ampla distribuição, existe discussão a respeito de sua origem.

2.6 Centro de origem e distribuição do pinhão manso

A origem do pinhão manso ainda é controversa, porém há estudos que indicam as Américas do Sul e Central como centros de origem. Possivelmente nativa da América Tropical, essa espécie é encontrada em abundância em grandes partes de regiões intertropicais, sendo introduzida provavelmente nessas regiões pelos navegadores portugueses nas ilhas de Cabo Verde e em Guiné e seu cultivo expandido por vários países (ARRUDA et al., 2004; CÁCERES et al., 2007).

Segundo Openshaw (2000), a espécie está distribuída, principalmente, nas Américas, África e parte da Ásia, sendo largamente cultivada no México, Nicarágua, Tailândia e partes da Índia. No passado, o arquipélago de Cabo Verde foi importante produtor e exportador das sementes da espécie para Portugal. Atualmente, cultivos têm sido promovidos por organizações governamentais e não-governamentais no sul da África, Brasil, Mali e Nepal e em outros países através da iniciativa privada. No Brasil, segundo Arruda et al. (2004) e Saturnino et al. (2005), sua distribuição geográfica é bastante vasta, devido à sua rusticidade, resistência a longas estiagens, sendo adaptável a condições edafoclimáticas muito variáveis, desde a região Nordeste, Sudeste e o estado do Paraná.

2.7 Importância econômica

O principal interesse econômico da cultura de pinhão manso está associado ao uso do óleo contido nas sementes para a produção do biodiesel (CONTRAN et al., 2013). Já o interesse na produção comercial do pinhão manso no Brasil surgiu a partir da implantação do Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (PROBIODIESEL) que tem como objetivo atender a demanda por combustíveis de fontes renováveis, gerando empregos e renda na agricultura familiar, além de contribuir para a economia de divisas (BRASIL, 2007). Outro fator que contribuiu para esse interesse foi à lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, que dispõe da adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado para o consumidor final (SANTOS et al., 2008).

Além do uso na produção do biodiesel, esse arbusto também é utilizado para outros usos secundários como o uso do óleo para a iluminação ou aquecimento de alimentos, biopesticida, cerca – viva e como fonte de matéria orgânica. E como discutido anteriormente o pinhão manso tem despertado interesse da comunidade científica, pois apresenta alto potencial farmacológico. Trabalhos relatam a presença de vários compostos bio-ativos, sendo importante sua caracterização e estudo do seu efeito biológico (THOMAS et al., 2008).

2.8 Importância da caracterização físico-química

Antigamente, os metabólicos secundários eram considerados apenas como produto de excreção do vegetal. No entanto, atualmente sabe-se que muitas dessas substâncias apresentam atividade farmacológica (SIMÕES et al., 2007). Estudos que caracterizem físico-quimicamente as plantas são necessários, pois fornecem informações relevantes sobre a presença desses metabólicos, para que se possa chegar ao isolamento de princípios ativos necessários para a produção de novos fitoterápicos (SILVA et al., 2010). Métodos como a prospecção fitoquímica são importantes, pois possibilitam uma varredura inicial de baixo custo, principalmente quando se trata de espécies com perfil fitoquímico não explorado e pertencente a biomas com ampla importância para a conservação da biodiversidade (BESSA et al., 2013).

A análise física, tal como a análise termogravimétrica, são importantes porque avaliam a degradação térmica das substâncias e revelam se há ocorrência de decomposição precoce e menor estabilidade térmica de um composto (AZWA et al., 2013). A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) pode ajudar na identificação dos

diferentes compostos presentes no látex e é muito utilizada na identificação de materiais em polímeros. Ambas as técnicas citadas anteriormente ajudam a definir a aplicação da substância (BAHNG et al., 2009).

2.9 Importância da avaliação genotóxica e antigenotóxica

Com o conhecimento do perfil fitoquímico e das possíveis atividades farmacológicas dos metabólitos secundários presentes no látex, outra questão a ser respondida se diz respeito ao potencial tóxico. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), exige a avaliação da toxicidade de qualquer substância antes do seu uso e comercialização. Assim, um produto para ser empregado na área médica, seja fármaco ou produto terapêutico, deve ser submetido a testes que avaliem, entre outras características, a sua genotoxicidade. Agentes genotóxicos podem ser químicos, físicos ou biológicos, e são classificados como substâncias que causam alterações permanentes na sequência de nucleotídeos do DNA (RIBEIRO, 2003; NELSON e COX, 2011). A detecção de agentes genotóxicos é de extrema importância para a identificação de mutagênicos a fim de diminuir a exposição a eles (RIBEIRO, 2003; IKUMA et al., 2006; JEONG et al., 2006; VIJG, 2008).

Os testes de genotoxicidade são realizados com o intuito de avaliar os agentes potencialmente danosos, identificando compostos com potenciais mutagênico, carcinogênico ou teratogênico. A principal função desses testes é de avaliar a potencialidade dos agentes de induzirem algum tipo de mutação nas células somáticas ou alterações que possam ser transmitidas às gerações futuras por meio dos gametas, usando células ou organismos. Os comitês internacionais de regulamentação recomendam diferentes tipos de testes de genotoxicidade, os mais utilizados são aqueles que detectam efeito mutagênico, como: alterações moleculares, pequenas deleções, recombinações mitóticas ou alterações cromossômicas detectadas ao microscópio (SILVA e FONSECA, 2003).

Em contrapartida, encontram-se substâncias naturais ou sintéticas conhecidas por agente antigenotóxicos ou antimutagênicos, que protegem o DNA do dano (WATERS et al., 1996). A antigenotoxicidade inclui a inibição de absorção e ativação de substâncias cancerígenas, a detoxificação de carcinogênicos, o bloqueio da ligação carcinógeno-DNA e a otimização de reparo do DNA (NAMASIVAYAM, 2011).

Para o registro de novos fármacos, as agências regulatórias recomendam a realização desses ensaios para predizer seus eventuais efeitos carcinogênicos em humanos (ANVISA,

2013). Assim a seleção de testes a serem utilizados é de fundamental importância para o seu sucesso. Nesses testes podem ser utilizadas amostras de água, solo, ar, produtos químicos e material biológico (VILLELA et al., 2003). Esses ensaios podem ser realizados em diferentes componentes celulares, tanto em procariotos como em eucariotos e podem ser de longa ou curta duração. Dentre os ensaios de curta duração destaca-se o teste de micronúcleo em células de roedores (HAYASHI et al., 2000; ROTHFUSS et al., 2011).

2.9.1 Teste de micronúcleo *in vivo*

Os micronúcleos são pequenos corpos contendo DNA e localizados no citoplasma (Figura 2), são formados por partes de cromossomos acêntricos e ou cromossomos inteiros que se atrasam durante a anáfase e não são incluídos no núcleo da célula durante o processo de divisão celular (Figura 3). Essa característica faz com que qualquer fragmento ou cromossomo inteiro separados do núcleo principal forme um pequeno núcleo localizado no citoplasma celular, o que é considerado um micronúcleo (RIBEIRO, 2003).



Figura 2. Observação de eritrócitos policromático micronucleado (indicado pela seta) em esfregaço de medula óssea de camundongos. (Imagem obtida por câmera não acoplada ao microscópio).

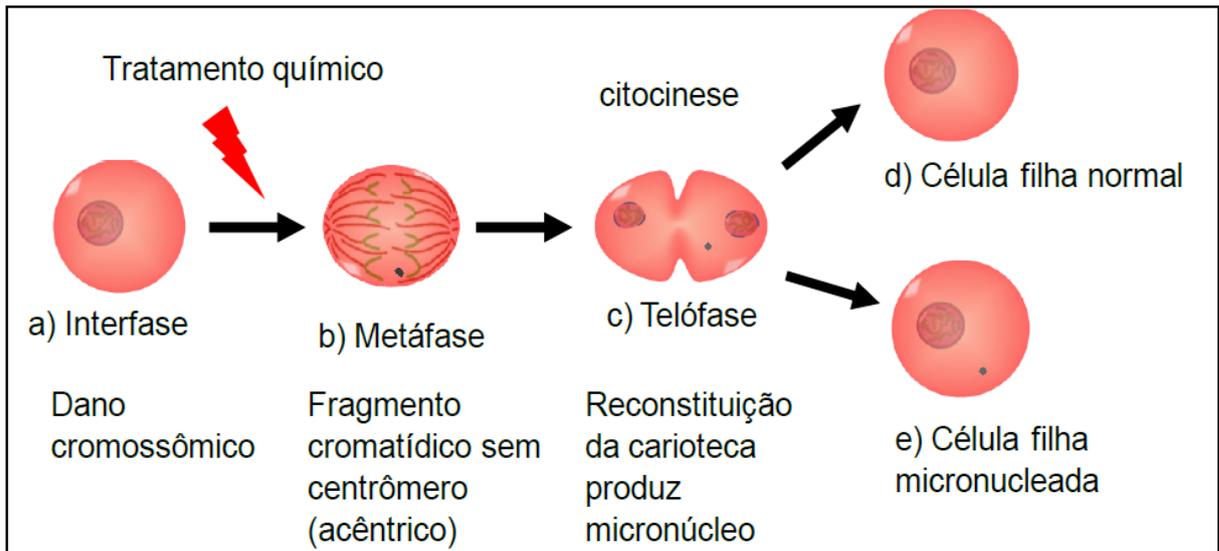


Figura 3. Formação da célula micronucleada contendo fragmento cromatídico. A indução ao dano. Esquema desenvolvido segundo Ribeiro (2003), em PowerPoint®2007.

O teste de micronúcleo *in vivo* utilizando roedores é amplamente aceito pelas agências internacionais e instituições governamentais como parte dos testes recomendados para estabelecer o uso e registro de novos produtos químicos e farmacêuticos. É utilizado para a detecção de agentes clastogênicos, que quebram cromossomos e de agentes aneugênicos, que induzem aneuploidia ou segregação anormal (MCGREGOR et al., 1987; HAYASHI et al., 1994; CHOY, 2001).

Esse teste foi originalmente desenvolvido em eritrócitos de medula óssea de roedores como método simples de se detectar danos, devido à facilidade de visualização do micronúcleo (MN), que permanece no citoplasma dos eritrócitos imaturos (ou policromáticos – PCE) após a última divisão celular (SCHMID, 1975). O aumento da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE's) é indicativo da ocorrência de danos cromossômicos (KRISHNA e HAYASH, 2000).

3 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta pesquisa foi realizar um levantamento sobre o atual conhecimento científico sobre a espécie *Jatropha curcas* L., além de avaliar as propriedades físico-químicas do látex e investigar o potencial genotóxico e antigenotóxico do látex de pinhão manso.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir esse objetivo geral, foram realizados os seguintes objetivos específicos:

- 1.) Análise bibliométrica para avaliar tendências e lacunas no conhecimento científico sobre a espécie *J. curcas* L.;
- 2.) Caracterização físico-química do látex de pinhão manso, por meio da análise de pH, da prospecção fitoquímica, análise elementar, análise de espectroscopia de infravermelho por transformado de Fourier; e ensaio de termogravimetria (TG).
- 3.) Ensaios biológicos para verificar o potencial genotóxico e antigenotóxico do látex de pinhão manso, por meio do teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos.

CAPÍTULO 1

TENDÊNCIAS E LACUNAS NA LITERATURA CIENTÍFICA GLOBAL SOBRE *JATROPHACURCAS L.* (EUPHORBIACEAE), UMA PLANTA COM POTENCIAL ECONÔMICO

RESUMO

Jatropha curcas L., popularmente conhecida como pinhão manso é uma espécie monóica, lactífera e perene pertencente à família Euphorbiaceae. Recentemente, o interesse científico por esta espécie vem aumentando devido à capacidade dessa planta de: se desenvolver em terras degradadas ou em solos de baixa qualidade; ao alto teor de óleo de suas sementes; propagação fácil; rápido crescimento; a identificação de vários metabólitos secundários com relevante potencial medicinal. O objetivo deste estudo foi relatar as principais tendências e lacunas da literatura científica mundial sobre *J. curcas* L utilizando a análise cienciométrica. Neste estudo foi realizada uma análise da literatura mundial tentando identificar: 1.) as tendências temporais de publicação; 2.) a qualidade da produção científica estimada pelo número de citações e fator de impacto das revistas; 3.) as principais revistas e países interessados no tema e a linguagem da divulgação científica; 4.) os principais campos de estudos; 5.) A utilização de espécie selvagem ou comercial; e 6.) autoria média e rede de colaboração. Como resultado, observou-se um aumento contínuo em ambos os parâmetros quantitativos e qualitativos nos estudos sobre *J. curcas*. As principais tendências em estudos de pinhão-manso foram à produção de biocombustíveis e estudos sobre a agronomia. As principais lacunas no conhecimento sobre *J. curcas* foram associados com a silvicultura e sustentabilidade, nutrição animal e melhoramento genético. Outro problema identificado neste estudo foi à falta de sementes comerciais, todos os artigos de investigadores usaram sementes não comerciais. Em relação à produção científica, Índia, Brasil e China juntos foram responsáveis por 55% dos artigos publicados sobre o tema. Além disso, observou-se moderada colaboração internacional entre os países, talvez como consequência do conflito de interesse. Apesar do aumento no número de artigos sobre *J. curcas*, alguns países pararam de cultivar pinhão manso, e a produção mundial dessa cultura está diminuindo.

Palavras-chave: Biocombustível, Potencial farmacológico, Oleaginosa, Euphorbiaceae, Cienciométrica.

1 INTRODUÇÃO

Jatropha curcas L., popularmente conhecida como pinhão manso, é uma espécie laticífera, perene e monóica pertencente à família Euphorbiaceae (LAVIOLA et al., 2015). De acordo com uma recente revisão da literatura, muitos autores consideram a *J. curcas* como uma das oleaginosas mais promissoras para a produção de biocombustíveis (CONTRAN et al., 2013; DIAS et al., 2012). As características dessa planta que as tornam excelentes para produção de biocombustíveis são: 1) o alto teor de óleo contido nas sementes e a facilidade na extração do mesmo (JONGSCHAAP et al., 2007); 2) a incrível adaptabilidade dessa espécie para sobreviver em solos de baixa qualidade (ACHTEN et al., 2010; CONTRAN et al., 2013); 3) fácil propagação, crescimento rápido, e robustez. Além da produção de combustíveis, *J. curcas* vem sendo utilizada para aplicações médicas, no reflorestamento de áreas degradadas, na nutrição animal, na produção de sabão e outras finalidades. Dentre essas diferentes utilizações, recentemente, o potencial medicinal tem despertado a atenção dos pesquisadores no meio científico (SHAHINUZZAMAN et al., 2016, SHARMA et al., 2016, THOMAS et al., 2008). Sabe-se que folhas, frutos, látex e casca contêm glicosídeos, taninos, fitoesteróis, flavonóides e sapogeninas esteróides que apresentam propriedades medicinais muito variadas (DEBNATH e BISEN, 2008).

As características acima descritas tem impulsionado a produção de *J. curcas*. De acordo com a Agência “Global Exchange for Social Investment” (GEXSI) estima-se que a produção mundial deste cultivar foi de 12,8 milhões de hectares em 2015 (DEVAPPA et al., 2012). Apesar desta estimativa de crescimento na produção, o cultivo de *J. curcas* ainda é uma incerteza para os produtores, visto que essa planta ainda não foi domesticada e apresenta um desempenho produtivo variável. Ainda existem poucas informações sobre o seu metabolismo e biologia geral, o que gera muitas dúvidas sobre o melhor método de cultivo. Dessa forma, o cultivo em larga escala dessa espécie é um negócio arriscado (ACHTEN et al., 2010; BEHERA et al. 2010).

Este estudo está particularmente interessado em relatar as principais tendências e lacunas da literatura científica global sobre a espécie *J. curcas*, usando como ferramenta a análise cientométrica. Os estudos cientométricos utilizam análises quantitativas para identificar irregularidades, padrões ou tendências que possam existir em publicações de um dado campo de pesquisa científica (MELO et al., 2006). Foram analisados trabalhos publicados em revistas científicas de 1991 a 2015. Esta análise cientométrica avaliou: 1.) as

tendências da publicação temporal; 2.) a qualidade da produção científica estimada pelo número de citações e fator de impacto das revistas; 3.) os principais periódicos e países interessados no tema; 4.) a linguagem de divulgação científica; 5.) os principais campos de estudos; 6.) a utilização de espécies nativas ou comerciais; 7.) a rede de colaborações para execução de pesquisas. Curiosamente, nossos resultados mostraram que o conhecimento científico que vem sendo produzido sobre pinhão manso está em crescimento, enquanto que a produção mundial dessa cultura está diminuindo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos dados

A busca dos dados foi realizada no banco de dados da Thomson Reuters (ISI-Web of Knowledge). Esse banco de dados é reconhecido como o maior e mais completo banco de indexação da literatura científica e técnica mundial.

A análise dos dados foi restrita a artigos publicados de 1991 a 2015. Os dados referentes ao ano de 2016 foram excluídos da análise porque a aquisição para este ano ainda não estava completa. Os dados referentes aos anos anteriores a 1991 também não foram considerados, porque os resumos eletrônicos não estão disponíveis na base de dados ISI, o que inviabilizaria a análise do artigo. O fator de impacto para cada revista foi obtido no Journal Citations Reports (JCR) para o ano de 2015.

2.2 Estratégias de pesquisa e análise de artigos

Foram utilizadas as seguintes palavras na busca por artigos "*Jatropha curcas*" OU "physic nut". Foram pesquisados documentos que continham essas palavras no título, ou no resumo ou nas palavras-chave. Foram identificados os seguintes aspectos: 1) número de artigos; 2) ano de publicação; 3) número de citações; 4) fator de impacto da revista; 5) nome do periódico; 6) linguagem utilizada na divulgação do artigo; 7) tipo de artigo (revisão, artigo de pesquisa, procedimentos, resumo de congresso e outros); 8) número de autores; 9) origem do primeiro autor; 10) o campo do estudo; 11) uso de espécies comerciais ou nativas.

2.3 Análise estatística dos dados

Para avaliar a tendência de publicação, foi realizada uma correlação de Pearson entre o número de artigos e o ano de publicação. Neste teste, valores positivos para r indicam um aumento no número de artigos ao longo dos anos, enquanto que os valores negativos de r indicam uma diminuição no número de publicações. O valor de significância foi obtido através do teste de Monte Carlo com 999 aleatorizações. Foram considerados valores significativos de $p < 0,05$. Esta análise foi realizada utilizando o programa R 3.2.2 (R CORE TEAM, 2013). O fator de impacto e o número de citações foram avaliados utilizando

estatísticas descritivas (por exemplo, média e coeficiente de variação). Para a rede de colaboração obteve-se, para cada trabalho, a nacionalidade de todos os autores. A seguir foi construída uma matriz binária contendo os nomes dos países envolvidos em cada artigo. O método utilizado para estimar a rede de colaborações entre os países foi o método de distância usando o índice de Jaccard. Os pacotes `igraph` foram usados no programa R para visualizar a rede de colaborações (CSARDI e NEPUSZ, 2006). Para facilitar a visualização da rede de colaborações, foram selecionados os 25 países com maior número de colaborações. Além disso, a importância de cada país foi estimada pelo grau de centralidade (GC). O grau de centralidade de um país (GC_i) é uma medida do número de ligações (bordas) que o país tem. O GC_i é dividido pelo número de países menos um para calcular o grau de centralidade relativo do país (GCR_i). A importância de cada país foi indicada no gráfico de rede de colaborações por tamanhos diferentes das esferas representativas de cada país (KOSCHÜTZKI et al., 2005).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, a busca bibliográfica no banco de dados identificou um total de 2.303 artigos publicados sobre pinhão manso de 1991 a 2015. Desse total, 333 artigos foram excluídos porque não eram artigos completos e 233 artigos foram excluídos porque não abordavam o tema. Finalmente, 1.737 artigos permaneceram na pesquisa e serviram de base para esta pesquisa. Em uma análise geral, o número de artigos sobre *J. curcas* L aumentou significativamente ao longo do período do estudo ($r = 0,691$; $p = 0,0001$). A Figura 1 mostra que até 2007 havia poucos artigos publicados por ano sobre esta espécie, e que o número aumentou rapidamente no período de 2010-2011. A seguir, em 2013, houve uma pequena queda na produção e um retorno de crescimento em 2014. No total de 1.737 artigos publicados, 1.262 foram publicados nos últimos cinco anos, demonstrando que essa espécie chamou à atenção da comunidade científica apenas recentemente. Esse aumento na produção de artigos pode ser reflexo do incentivo financeiro por diferentes agências de fomento à pesquisa governamental ou por grandes corporações. Por exemplo, no Brasil houve um incentivo especial do Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) para pesquisas envolvendo espécies com potencial na produção de biocombustíveis. Entre 2007 e 2013, foram abertos nove editais específicos para incentivar as pesquisas de biocombustíveis, com o investimento de mais de 25 milhões de dólares (MCT / CNPQ / FNDCT 40/2013; 03/2010; 46/2009; 47/2008; 46/2008; 26 / 2008; 30/2008; 39/2007 e 31/2007).

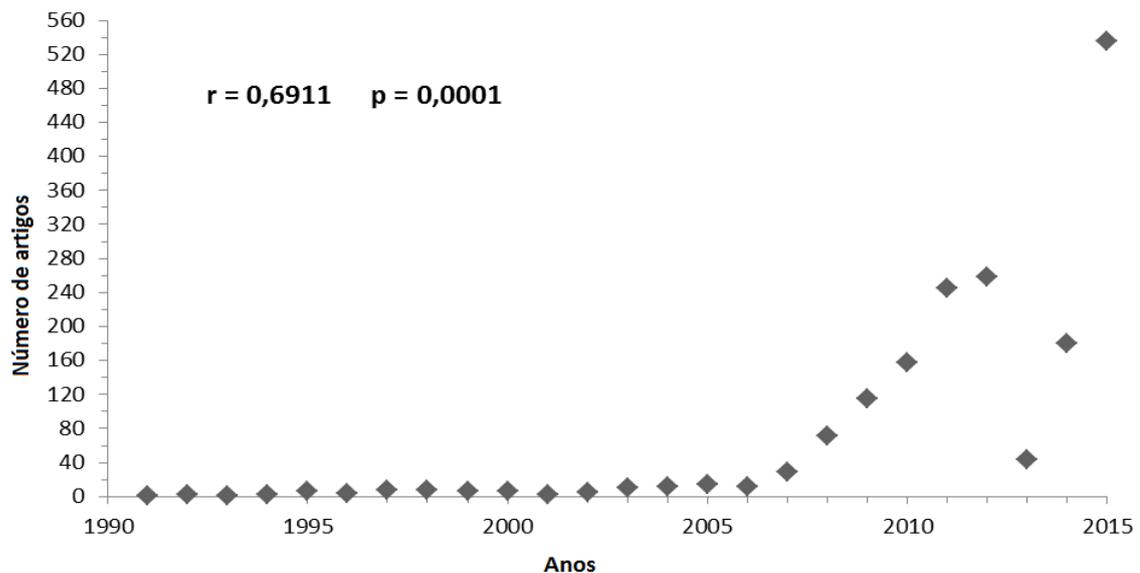


Figura 1. Número de artigos sobre *J. curcas* publicados ao longo dos anos.

Atualmente, na comunidade científica, o número de citações de um artigo e o fator de impacto da revista no qual ele foi publicado são indicativos da qualidade da pesquisa (VITZTHUM et al., 2010). O número de citações mostra quantas vezes cada publicação foi citada dentro de período de tempo. O fator de impacto é calculado com base na taxa de citação média de todos os artigos contidos em uma determinada revista. Como resultado dessa pesquisa, o número de citações de artigos sobre *J. curcas* variou de 0 a 478. Sendo que a maioria dos artigos apresentou entre dez e vinte citações (Figura 2A). Sabe-se que o número de citações depende do ano de publicação, onde, os artigos mais antigos tendem a ter mais citações (YU e LI, 2007). Assim, espera-se que o número de citações sobre *J. curcas* L aumente nos próximos anos, uma vez que o maior interesse científico pela espécie iniciou após 2010.

Em relação ao fator de impacto, os periódicos analisados variaram de 0,01 a 21,0 (Figura 2B), com a maior frequência entre 0,5 e 1,0. O número da citação e a análise do fator de impacto indicaram que a pesquisa sobre *J. curcas* L é publicada em revistas de boa comunicação científica.

Outra questão que este estudo respondeu foi sobre a disseminação de informações com base na escolha da linguagem escrita. Dos 1.737 artigos analisados, 1.610 foram escritos em inglês, 106 em português, 11 em espanhol, 4 em francês, 3 chineses, 2 em polonês e 1 em alemão. O maior número de artigos escritos em inglês facilita a disseminação da informação.

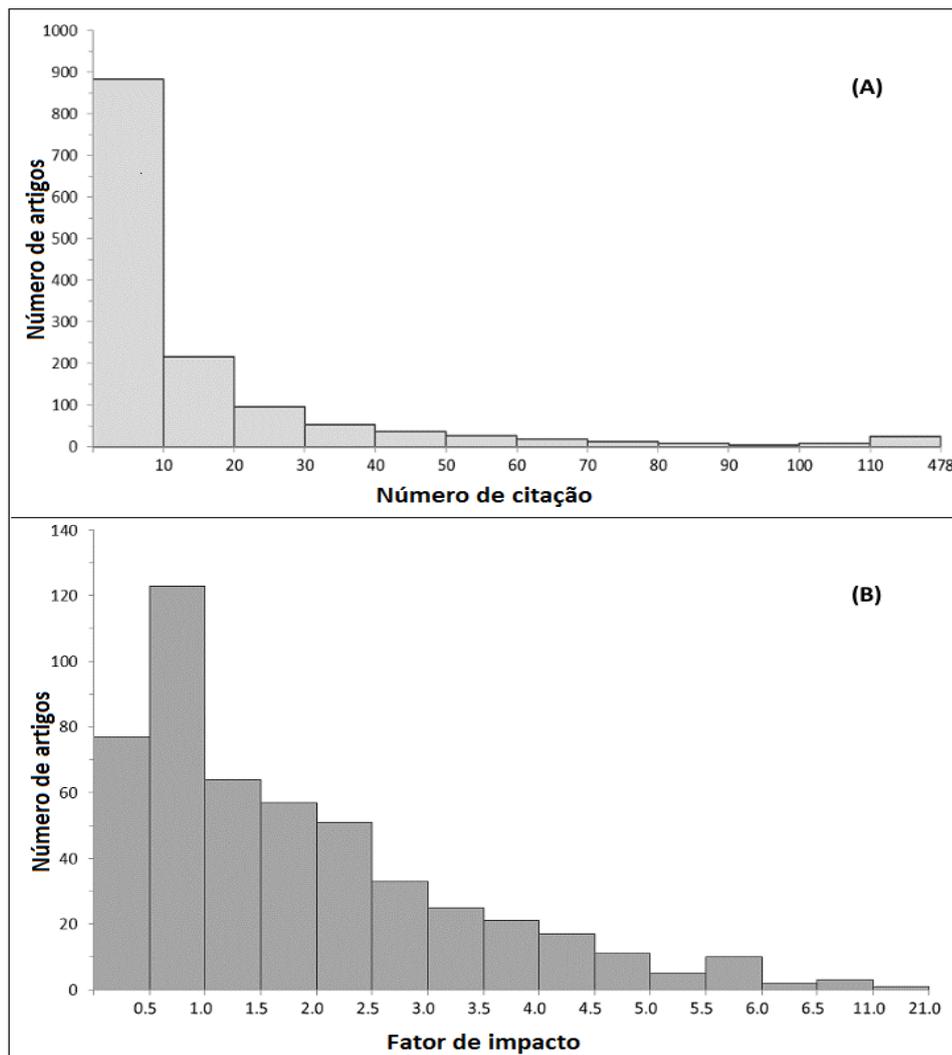


Figura 2. A qualidade da pesquisa inferida pelo número de citações dos artigos e fator de impacto dos jornais. A) distribuição do número de citações, B) distribuição do fator de impacto dos jornais.

Para facilitar a visualização, a Figura 3 mostra apenas o nome das revistas com mais de dez artigos publicados sobre *J. curcas*. A revista com maior número de publicações foi a Biomass and Bionergy, com 90 artigos publicados. Seguidos das revistas: Industrial Crops and Products, Fuel, Bioresource Technology, Energy Conservation Management e Semina Ciências Agrárias. O principal escopo das revistas acima citadas é a produção de energia sustentável. Em menor escala, estão mostradas na Figura 3, as áreas do conhecimento da produção científica analisada. Como resultado, existe uma maior produção de artigos sobre combustíveis e agronomia. Ambos os dados obtidos na Figura 3 revelam que o maior interesse sobre *J. curcas* é a produção de biodiesel. Dessa forma, essa espécie parece ser a alternativa promissora para a produção de energia. Com o aumento dos preços do petróleo, as preocupações com as mudanças climáticas e as reservas limitadas de combustíveis fósseis, a

semente de *J. curcas* L vem ganhando importância como promissora oleaginosa para produção de biocombustível. Como vantagem, essa espécie apresenta o fato do óleo produzido não competir com as reservas de óleo comestível, como é o caso de outras espécies. Além disso, o óleo de *J. curcas* L tem maior estabilidade à oxidação do que o óleo de soja; menor viscosidade que o óleo de mamona; e menor ponto de fluidez que outras palmeiras (BAILIS e MCCARTHY, 2011). Outra vantagem é que o óleo bruto de *J. curcas* L é rico em ácidos oléico e linoléico insaturados, o que facilita à oxidação e permite que ele permaneça fluído a temperaturas mais baixas. O óleo de *J. curcas* L também tem baixa quantidade de ácidos graxos livres, o que melhora a sua capacidade de armazenamento. Além disso, o baixo teor de enxofre torna a combustão desse óleo menos nociva ao ambiente. Todas essas características juntas tornam o óleo de pinhão manso altamente adequado para a produção de biodiesel (BRITTAINE e LUTALADIO, 2010).

Em relação ao potencial econômico, o preço de mercado por tonelada de óleo bruto de *J. curcas* L (98,5% de pureza) é o mesmo que o óleo de soja (99,9% de pureza), ou seja, cerca de 360 dólares (DIAS et al., 2012). Outro estudo recente mostrou que o biodiesel extraído de sementes de *J. curcas* L poderia produzir quilowatts de eletricidade com menor custo quando comparado ao diesel (RAHEMAN e PADHEE, 2016). Apesar deste potencial econômico, pouco se sabe sobre *J. curcas* L, e há uma série de desafios a serem superados.

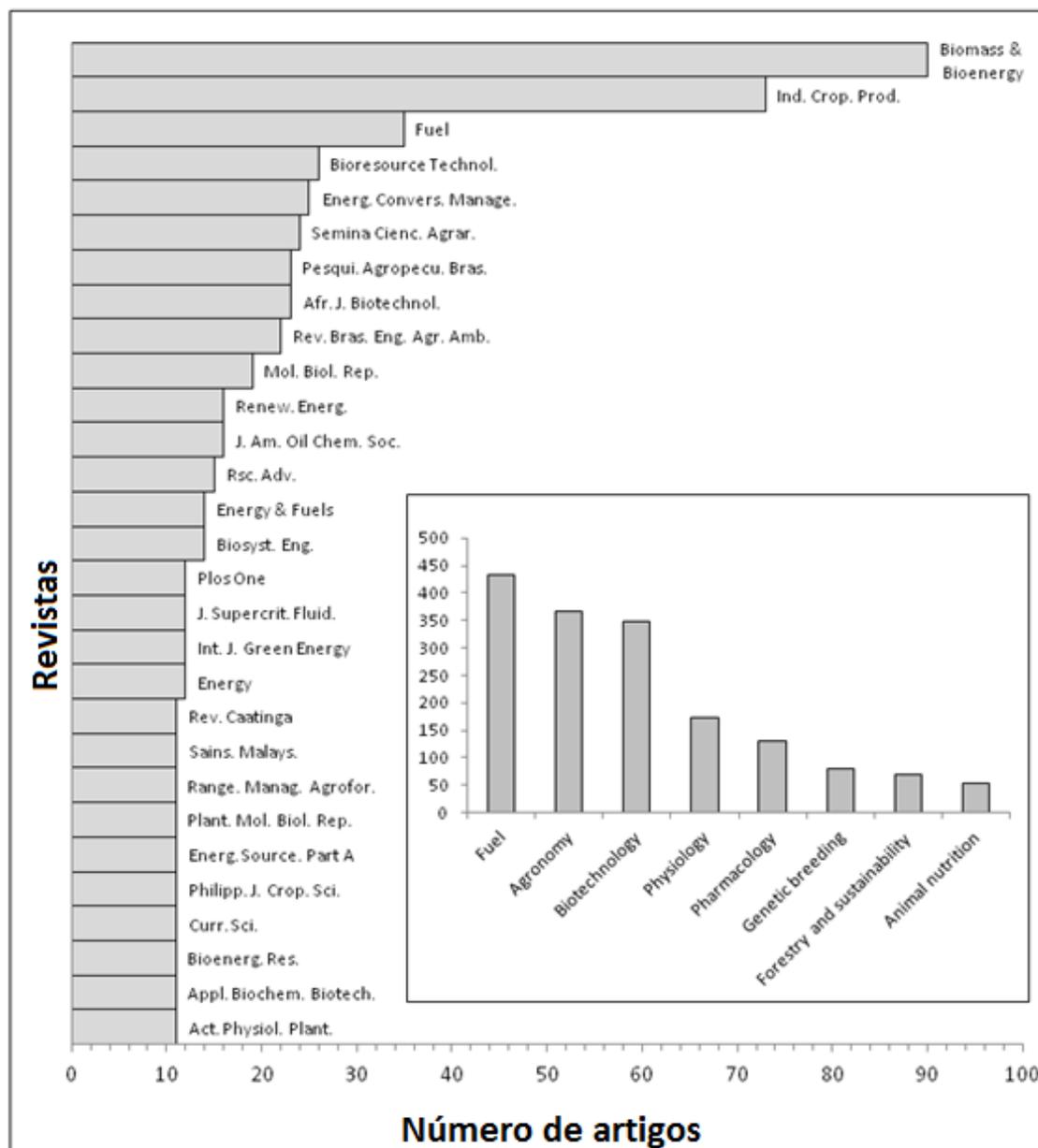


Figura 3. Nome das revistas que publicaram artigos sobre *J. curcas*. O gráfico mostra a distribuição do número de artigos por revista, sendo mostrado apenas o nome das revistas com mais de 10 artigos publicados. Em menor tamanho, a análise da área de conhecimento de cada publicação.

Outro objetivo da análise da área de conhecimento dos artigos publicados foi identificar algumas lacunas no conhecimento sobre *J. curcas* L. A Figura 3 mostra que existem poucos artigos sobre silvicultura e sustentabilidade, nutrição animal e melhoramento genético. Dessa forma, pouco se sabe sobre os impactos do aumento da área plantada de *J. curcas* L no meio ambiente e seu efeito sobre os recursos hídricos e a biodiversidade. Além disso, há poucos estudos de reflorestamento, sustentabilidade e conservação desta espécie.

Na nutrição animal, há alguns artigos que relatam o uso do pinhão manso como formulação de ração, já que a farinha resultante da extração do óleo é rica em proteína (30-32% da proteína bruta total) e aminoácidos essenciais (MAKKAR et al., 1997). No entanto, apesar da alta quantidade de proteínas, existe nesse bolo protéico a presença de compostos tóxicos que poderia levar à morte dos animais. Estudos mostraram que doses agudas de 2,5 gramas de semente por kilograma de peso corporal do animal por dia, e doses crônicas de 0,025 gramas de semente por kilograma de peso corporal por dia resultaram na morte de todos animais testados ao longo de 14 dias (MENDONÇA, e LAVIOLA, 2009). Assim, seria interessante identificar variedades não tóxicas de *J. curcas* L para usar suas sementes com segurança na nutrição animal e aumentar o valor dos bioprodutos extraídos de pinhão manso.

Existem muito poucos trabalhos sobre o melhoramento genético de *J. curcas* L em comparação com outras culturas oleaginosas, tais como soja, algodão, amendoim e girassol (FREITAS et al., 2011; ROCHA et al., 2012; BHERING et al., 2013; SHABANIMOFRAD et al., 2013; FREITAS et al., 2015). Ainda, a maioria dos trabalhos de melhoramento genético de pinhão manso, não utiliza alto número de réplicas e nem leva em consideração os diferentes estágios da planta. Sem a melhora nos traços genéticos dessa espécie, a produção em larga escala de *J. curcas* L continuará inviável.

Pensando nisso, também foi avaliado nesse trabalho o número de artigos científicos que foram realizados utilizando cultivares comerciais de *J. curcas*. Como resultado não foi encontrado artigos publicados com sementes comerciais. Isto significa que todos os artigos publicados até o momento utilizaram plantas selvagens ou plantas melhoradas, porém ainda não comercializadas. Na verdade, após pesquisa em sites na internet, foi encontrado apenas um cultivar comercial, JCL Max3TM Elite HYV (produto proprietário da ACJP: www.jatrophiabiodiesel.org), produzido na Índia. A falta de sementes melhoradas geneticamente leva ao uso de plantas silvestres. O uso de plantas silvestres dificulta a predição de rendimentos comerciais devido a grandes variações genéticas e pouca uniformidade, falta de conhecimento da biologia reprodutiva e pouca informação sobre a interação do genótipo e do ambiente. Assim, ainda há sérios riscos na decisão de plantar extensas áreas devido à falta de genótipos melhorados.

Outro aspecto analisado neste artigo foram os principais países interessados na produção de *J. curcas* L. A Figura 4 mostra o país do autor correspondente. O maior número de trabalhos científicos sobre o pinhão manso foi publicado pela Índia, com 394 artigos (22,7%). A segunda nação que mais publicou artigos sobre pinhão manso foi o Brasil, com

300 artigos (17,3%). A China ficou em terceiro lugar com 255 artigos (14,7%). O restante, ou seja, 788 artigos foram publicados por 69 países diferentes (45,3%). Assim, Índia, Brasil e China são responsáveis por aproximadamente 55% da produção científica sobre essa espécie. Abaixo foi feito levantamento da situação comercial atual dessa espécie nesses países.

Atualmente, a Índia possui cerca de 630 mil hectares plantados de *J. curcas*, e é o maior produtor mundial (Advanced Biofuel Center, 2016). O governo indiano investiu em programas de distribuição de sementes aos agricultores, instalação de micro-refinarias e compra de produção a preços pré-estabelecidos. Essa iniciativa governamental resultou na geração de emprego e aumento da produção de energia renovável na Índia. Contudo, como esses programas foram financiados pelo governo, não se sabe se o mesmo é auto-sustentável e por quanto tempo ele vai durar (BRITTAINE e LUTALADIO, 2010).

No Brasil, a área plantada em 2008 foi de 15 mil hectares (GEXSI, 2008). Acreditava-se, em 2008, que a produção de *J. curcas* iria aumentar significativamente nos anos seguintes. Sendo previsto uma produção de 12,8 milhões de hectares para 2015. Contudo, a atual realidade é muito diferente dessa previsão. Hoje a Associação Brasileira de Produtores de pinhão manso (ou ABPPM), fundada em setembro de 2007, está fechada e a produção de *J. curcas* em grande escala é inexistente no país. As prováveis razões para isso são: 1) os altos custos de implementação, manutenção e colheita; 2) a variação da qualidade do óleo e do teor de óleo presente nas sementes; 3) o fruto não amadurecer uniformemente; 4) a alta incidência de pragas e doenças (LAVIOLA e DIAS, 2008; RUBIO et al., 2013; VERONESI et al., 2012). Além disso, a maior parte dos cultivares de *J. curcas* são tóxicos, o que torna o bolo de semente inadequado para utilização como alimento para o gado e pode representar um perigo para a segurança humana. Além dessas fraquezas, a remuneração média oferecida aos fazendeiros pelas refinarias é muito baixa. No cenário geral, o conhecimento brasileiro da cultura é extremamente limitado e é evidente a necessidade de desenvolver novas pesquisas. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem mantido sua pesquisa sobre o pinhão manso, uma vez que esta espécie é promissora, mas muitos anos de pesquisa são necessários para que ela se torne uma realidade comercial. Até o momento, há pouca informação sobre o programa de melhoramento, formas de propagação e plantio, estabelecimento de sistemas de manejo, em particular o tratamento de pragas e doenças para plantações comerciais e técnicas de colheita. Para o futuro, talvez *J. curcas* participe de biocombustíveis produzidos comercialmente no Brasil, que é um país considerado exemplo de utilização de biocombustíveis. O governo brasileiro utiliza isenções fiscais como instrumento

de política para a promoção de biocombustíveis. Por exemplo, a lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, que estabeleceu a adição obrigatória de 7% de biodiesel ao óleo diesel vendido aos consumidores em todo o país. Apesar deste alto incentivo na produção de biodiesel, o pinhão manso foi muito pouco utilizado para produção de biodiesel.

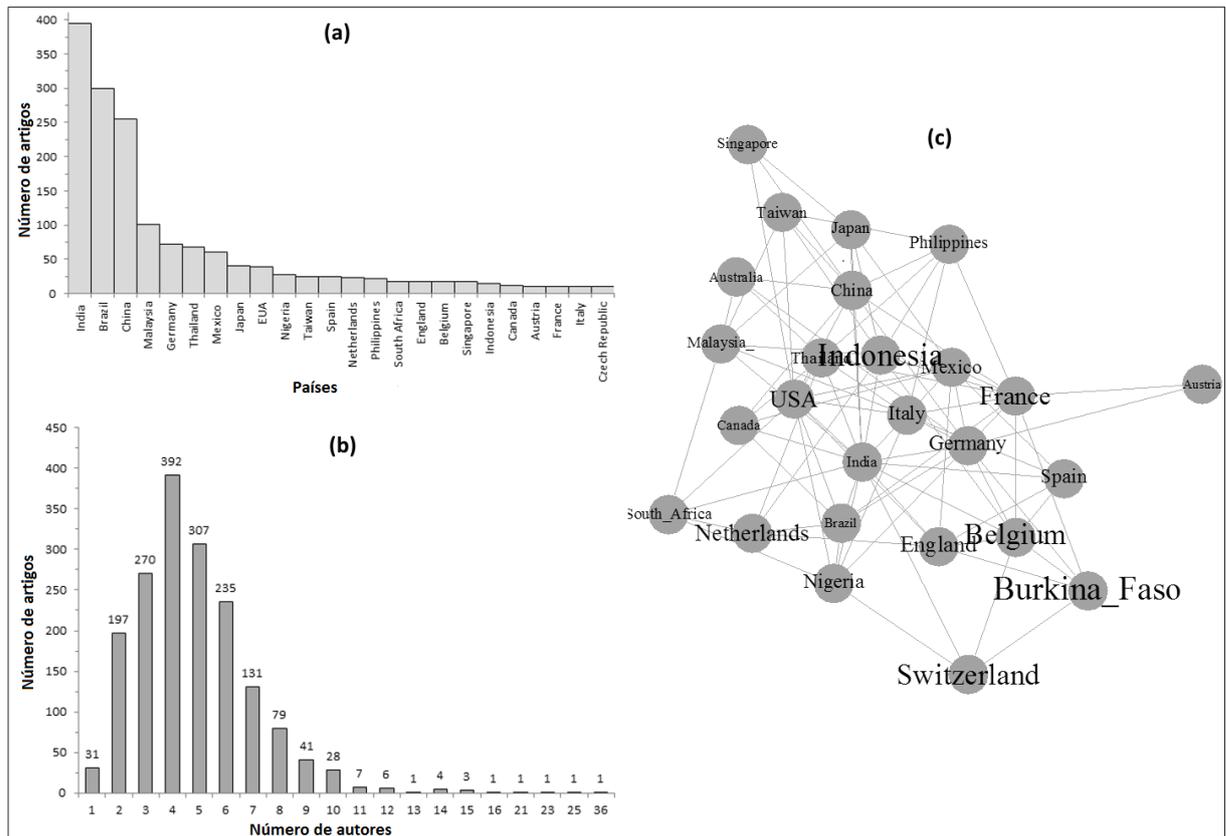


Figura 4. Análise das distribuições geográficas e da rede de colaboração entre autores: A) mostra o número de publicações por país (utilizando dados do autor correspondente); B) mostra a média de autores por artigo; C) mostra a rede de colaboração internacional.

A cooperação em pesquisa foi avaliada pela média de redes de colaboração e de autoria. A Figura 4B mostra que a maioria dos artigos foi escrita por 2 a 8 autores. A Figura 4C mostra a rede de colaboração internacional entre autores de diferentes países. Os países com maior número de colaboração foram: Burkina Faso, Bélgica, Indonésia, Suíça e EUA. Na comunidade científica, as colaborações internacionais tendem a aumentar quando há convergência de questões e interesse comum. No entanto, é comum conflito de interesse em temas que envolvem negócios de alto valor. Os resultados obtidos nesse trabalho mostrou baixa colaboração internacional na produção de artigos sobre *J. curcas*, o que pode ser reflexo de conflito de interesse.

4 CONCLUSÃO

Em resumo, todas as abordagens cienciométricas utilizadas neste trabalho mostraram um contínuo aumento nos parâmetros quantitativos e qualitativos nos estudos sobre o pinhão manso. Além disso, este trabalho também mostrou que as principais tendências nos estudos de *J. curcas* são relacionados com a produção de biocombustíveis. Outro objetivo deste estudo foi identificar algumas lacunas no conhecimento sobre *J. curcas*. A análise mostrou pouca informação sobre silvicultura e sustentabilidade, nutrição animal e melhoramento genético. Outro problema identificado neste estudo é a falta de sementes comerciais, uma vez que em todos os estudos foram utilizadas sementes não comerciais. O uso de plantas silvestres dificulta a predição de rendimentos comerciais devido a grandes variações genéticas e pouca uniformidade, falta de conhecimento da biologia reprodutiva e pouca informação sobre a interação do genótipo e do ambiente. Em relação à produção científica, Índia, Brasil e China juntos foram responsáveis por 55% dos conhecimentos obtidos sobre esta espécie. Além disso, observou-se uma colaboração internacional moderada entre os países, talvez como consequência de conflitos de interesse. Apesar do aumento no número de artigos sobre *J. curcas*, houve uma diminuição na produção mundial dessa espécie.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHTEN, W. J. M. et al. Towards domestication of *Jatropha curcas*. **Biofuels**, v. 1, p. 91–107, 2010.
- BAILIS, R.; MCCARTHY, H. Carbon impacts of direct land use change in semiarid woodlands converted to biofuel plantations in India and Brazil. **GCB Bioenergy**, v. 3, n. 6, p. 449–460, 2011.
- BEHERA, S. K. et al. Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass - a case study. **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 30–41, 2010.
- BHERING, L. L. et al. Differential response of *Jatropha* genotypes to different selection methods indicates that combined selection is more suited than other methods for rapid improvement of the species. **Industrial Crops and Products**, v.41, p.260–265, 2013.
- CONTRAN, N. et al. State-of-the-art of the *Jatropha curcas* productive chain: From sowing to biodiesel and by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 202– 215, 2013.
- CSARDI, G.; NEPUSZ, T. The igraph software package for complex network research, **Intern Journal Complex Systems**, n. 1695, p. 1-9, 2006.
- DEBNATH, M.; BISEN, P. S. *Jatropha curcas* L. a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy. **Cur Pharm Biotech**, v. 9, p. 288-306, 2008.
- DEVAPPA, R. K. et al. Activities of *Jathropha curcas* phorbol esters in various bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, n.1,p. 57-62, 2012.
- DIAS, L. A. S.; MISSIO, R. F.; DIAS D. C. F. S. Antiquity, botany, origin and domestication of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae), a plant species with potential for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 2719-2728, 2012.
- FREITAS, R. G. et al. Genetic evaluation of *Jatropha curcas*: an important oilseed for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 1490-1498, 2011.
- FREITAS, R. G. et al. Diversity and genetic parameter estimates for yield and its components in *Jatropha curcas* L. **Genetics and Molecular Research**, v. 24, n. 15, 2016,
- GEXSI L. L. P. Global Market Study on *Jatropha*. Project Inventory: Latin America. WWF, London/Berlin, 2008.
- JONGSCHAAP, R. E. E. et al. Claims and facts on *Jatropha curcas* L. Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. **Plant Research International Wageningen UR**, Report 158, p. 42, 2007.

LAVIOLA, B. G. et al. Pinhão manso na Embrapa Agroenergia. Comunicado Técnico. n. 12, Brasília-DF, 2015.

MAKKAR, H. P. S. et al. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 45, p. 3152-3157, 1997.

MELO, A. S.; BINI, L. M.; CARVALHO, P. Brazilian articles in international journals on Limnology. **Scientometrics**, v. 67, p. 187-199, 2006.

MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. Uso potencial e toxidez da torta de pinhão-manso. Comunicado técnico, Embrapa Agroenergia, Brasília, 8 p, 2009.

R CORE TEAM, R: A language and environment for statistic alcomputing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <http://www.R-project.org/>. 2013.

RAHEMAN, H.; PADHEE, D. Bio-electricity generation using *Jatropha* oil seed cake. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 10, v. 1, p. 79-85, 2016.

ROCHA, R. B. et al. Eficiência da seleção para incremento do teor de óleo do pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 44-50, 2012.

RUBIO, F. et al. Stages of maturation of the fruit on germination and oil content in seeds of *Jatropha curcas* Lin. **Semina Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 663-668, 2013.

GANGWAR, M. et al. Phytochemical characterization, antimicrobial activity and reducing potential of seed oil, latex, machine oil and press cake of *Jatropha curcas*. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 6, n. 4, p. 366-375, 2016.

SHAHINUZZAMAN, M.; YAAKOB, Z.; MONIRUZZAMAN, M. Medicinal and cosmetics soap production from *Jatropha* oil. *Journal Cosmetic Dermatology*, v. 15, n. 2, p. 185-193, 2016.

SHABANIMOFRAD, M. et al. Phenotypic, genotypic and genetic divergence found in 48 newly collected Malaysian accessions of *Jatropha curcas* L. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 6, p. 543-551, 2013.

THOMAS, R.; SAH, N.; SHARMA, P. Therapeutic Biology of *Jatropha curcas*: a mini review. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Hilversum, v. 9, n. 4, p. 315-324, 2008.

VERONESI, C. D. et al. Economical feasibility of the harvesting and the processing of *Jatropha curcas* L. seeds in different stage of maturation. **Semina Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2047-2056, 2012.

VITZTHUM, K. et al. Scientometric analysis and combined density-equalizing mapping of environmental tobacco smoke (EST) research. **PLoS One**, v. 5, n. 6, p. 11254, 2010.

YU, G.; LI, Y. J. Parameter identification of the observed citation distribution. **Scientometrics**, v. 71, n. 2, p. 339-348, 2007.

CAPÍTULO 2

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO LÁTEX DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

A utilização de plantas para fins medicinais tem despertado o interesse da comunidade científica em relação a sua composição química. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma caracterização fitoquímica e identificar alguns compostos presentes no látex de *Jatropha curcas* L. As análises realizadas mostraram que o pH do látex de pinhão manso variou de 2,60 a 2,70. As classes de metabólitos secundários identificados nesse material foram: heterosídeos antraquinônicos, flavonóides e taninos. Esses metabólitos são de interesse farmacológico, pois apresentam ação antioxidante, antiviral, antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, antiulcerogênica, anticarcinogênica. Não foram identificados alcalóides e cumarinas no látex de pinhão manso. A análise elementar mostrou que: 40% do látex de pinhão manso são compostos de carbono, 4% de hidrogênio e 1% de nitrogênio. Aproximadamente 54% dos compostos presentes no látex não foram identificados. Comparando com outros, o látex de pinhão manso apresenta um reduzido teor de carbono e hidrogênio. Esses dados foram confirmados pela espectrometria de infravermelho, que mostrou que o látex de pinhão manso possui baixa quantidade ou ausência de cis-1,4 poliisopreno. Este resultado justifica o aspecto vítreo do látex de pinhão manso quando polimerizado, diferentemente do aspecto elástico da polimerização de outros látex, tais como o látex de mangabeira e seringueira. Já análise termogravimétrica mostrou que o látex de pinhão manso é menos estável termicamente que outros látex, com início de degradação a 45°C. Os dados obtidos nesse trabalho sugerem que apesar do pinhão manso ser da mesma família botânica da seringueira, os látex produzidos pelas mesmas são completamente diferentes em sua composição, sendo necessários estudos complementares para identificação, isolamento e avaliação da atividade biológica dos compostos de interesse farmacológico.

Palavras-chave: Heterosídeos antraquinônicos, Flavonóides, Taninos, Estabilidade térmica, Espectroscopia no infravermelho.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais tem despertado interesse da comunidade científica pelo conhecimento da sua composição química (SIMÕES, 2001). Os estudos fitoquímicos têm por objetivo avaliar os compostos presentes nas espécies vegetais identificando grupos de metabólicos secundários, os quais podem exercer atividade terapêutica. Essa identificação de metabólitos é importante uma vez que essas substâncias podem ter valor econômico, e podem dar origem a novos agentes medicamentosos ou serem novas fontes de obtenção de compostos raros já utilizados (MATOS, 1997; SIMÕES et al., 2004).

Como há uma vasta gama de plantas com possível potencial farmacológico, identificá-las torna-se uma tarefa árdua. Um dos principais aspectos a serem observados na busca de novos compostos bioativos consiste nas informações da medicina popular. Já é senso comum que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo uso na medicina popular, do que plantas escolhidas ao acaso (YUNES, 2001). Assim, a etnobotânica aplicada ao estudo de plantas medicinais trabalha em estreita cumplicidade com a etnofarmacologia que consiste na exploração científica e interdisciplinar de agentes biologicamente ativos, que seja tradicionalmente empregados ou observados por determinado agrupamento humano (LÓPEZ, 2006).

Dentre as plantas utilizadas na medicina tradicional encontra-se a *Jatropha curcas* L., conhecida popularmente como pinhão manso. Esse arbusto vem sendo utilizado de forma empírica por diferentes comunidades em todo mundo (THOMAS et al., 2008), havendo relatos do uso no tratamento de: alopecia, anasarca, ascite, queimaduras, carbúnculo, convulsões, tosse, suores frios, cólica, colapso, câibras, cianose, dermatite, diarreia, hidropisia, disenteria, dispepsia, eczema, erisipela, febre, gonorreia, gota, hérnia, incontinência urinária, inflamação, icterícia, neuralgia, paralisia, pleurisia, pneumonia, erupções cutâneas, reumatismo, sarna, ciática, feridas, dor de estômago, sífilis, tétano, candidíase, tumores, úlceras, e febre amarela (DEBNATH e BISEN, 2008).

Apesar das vantagens terapêuticas das plantas medicinais, o uso destas sem estudo científico é arriscado. Isso porque muitas espécies de plantas comumente consideradas medicinais podem conter substâncias potencialmente perigosas (RODRIGUES et al., 2011; MELO-REIS et al., 2011). Estudos recentes realizados *in vitro* e *in vivo* revelaram que muitas plantas utilizadas como alimento ou em medicina tradicional têm efeitos citotóxicos e genotóxicos (SEHGAL et al., 2006; DALLA NORA et al., 2010; CARDOSO et al., 2014).

Além do uso empírico do pinhão manso pela população, estudos científicos têm demonstrado o potencial medicinal de diferentes extratos obtidos de *J. curcas*. Já foram relatadas: atividade antibacteriana, em ensaios realizados com folhas e sementes (IGBINOSA et al., 2009; OSKOUÉIAN et al., 2011); ação anticoagulante a partir do látex (OSONIYI e ONAJOBÍ, 2003); ação anti-inflamatória, determinada em extrato metanólico de raízes de pinhão manso (NAYAK e PATEL, 2010). Já a ação anticancerígena, antimetástica e antiangiogênica foram demonstradas a partir de compostos presentes na casca, folha, sementes e látex de pinhão manso (VAN DEN BERG et al., 1995; THOMAS et al., 2008; BALAJI et al., 2009; RIBEIRO et al., 2012).

Já é de conhecimento geral que os látex de diversas plantas são usados no tratamento de enfermidades. Por exemplo, já foram demonstrados os potenciais antifúngico (RAMOS et al., 2015), antiviral (NOTHIAS-SCAGLIA et al., 2015), antioxidante (CHAUDHARY et al., 2015), antimicrobiano (RAULF, 2014), angiogênico (ALMEIDA et al., 2014), antígeno-tóxico (REBOUÇAS et al., 2012), anticancerígeno (MOUNSINHO et al., 2011), anti-inflamatório (FERNANDEZ-ARCHE et al., 2010), antiúlcera (BHART et al., 2010), inseticida (RAMOS et al., 2010), antinociceptivo (SOARES et al., 2005), osteogênico (FLORIANO et al. 2016) e analgésico (DEWAN et al., 2000) do látex de diferentes espécies de plantas. Dentre os extratos de *J. curcas*, o látex ainda é pouco estudado e pode apresentar compostos bioativos importantes na produção de fármacos.

Estudos têm demonstrado que o látex de pinhão manso apresenta compostos tais como: 1) curcuciclinas A e B, as quais possuem atividade citotóxica (INSANU et al., 2012); 2) curcain, o qual é uma protease, com atividade cicatrizante em ratos (NATH e DUTTA, 1991); 3) jatrophine e jatropham, os quais são alcalóides, com ação anticancerígena (THOMAS et al., 2008); e 4) diferentes classes de metabólitos secundários, tais como, taninos, saponinas, flavonóides, alcalóides e glicídeos. Além destes relatos, pouco ainda se sabe sobre a composição fitoquímica do látex de pinhão manso o qual provavelmente possui outras substâncias com atividade terapêutica. O objetivo desse trabalho foi obter uma caracterização fitoquímica inicial do látex de *J. curcas*. Essas informações são relevantes no isolamento de princípios ativos para a produção de novos fitoterápicos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do látex

A coleta do látex foi realizada em uma área de plantio de pinhão manso localizada na estação experimental da UEG campus Ipameri, Goiás (Lat. 17° 43' 19'' S, Long. 48° 9' 35'' W, Alt. 773 m). Esta região possui clima Aw de acordo com a classificação de Köppen, com precipitação pluviométrica anual de 1447 mm, temperatura média de 21,9°C, umidade relativa média do ar variando de 58% a 81%. A região possui duas estações bem definidas: a chuvosa, que vai de outubro a abril, e a seca, que vai de maio a setembro. O solo da área experimental com 2% de declividade é classificado como Latossolo vermelho-amarelo distrófico (SANTOS et al., 2006).

Um exemplar da planta foi identificado pelo Prof. Ms. Ismael Martins Pereira, tendo sua exsicata depositada no herbário da UEG, sob o número 10.042. O látex foi extraído diretamente por meio de perfurações realizadas no caule, com uma faca, tendo a área de coleta aproximadamente 5 cm de comprimento e 0,5 mm de profundidade. O látex exsudado com o corte foi acondicionado diretamente em tubos Falcon de 15 ml esterilizados. Em seguida, 12 ml de látex foram depositados em placa de Petri para secagem a temperatura ambiente. Após um intervalo de três dias, foi obtido um material com aspecto vítreo e quebradiço, o qual foi fragmentado em pequenos pedaços da ordem de alguns milímetros, e que será chamado de "biofilme". O biofilme obtido da secagem do látex de *J. curcas* claramente se distingue do produto obtido da secagem do látex de mangabeira. Para este último, foi obtida uma biomembrana elástica e flexível com tamanho e formato definidos pelo recipiente no qual é seco.

2.2 Determinação do pH

Para determinação do valor do pH do látex foi utilizado o método de titulação ácido-base, um método muito utilizado para determinar a concentração ou o teor de um reagente. A volumetria ou titulação volumétrica consiste em fazer reagir completamente um volume conhecido de uma amostra que contém o reagente com um volume determinado de um reagente de natureza e concentração conhecidas (solução-padrão). A espécie química com concentração previamente definida recebe o nome de titulante e a solução cuja concentração

se pretende determinar designa-se por titulado. Normalmente, para se efetuar uma titulação manual utiliza-se um erlenmeyer (onde são misturados o titulado, a água e um indicador) e uma bureta, que contém o titulante (VOGEL, 1992; SKOOG, 2006). Para execução desta etapa, o látex foi coletado nos meses de abril, maio e junho em cinco plantas diferentes. O indicador utilizado durante a titulação foi o azul de Bromotimol. Antes de iniciar o processo de titulação, 2 ml de látex foi diluído em água, formando uma solução de 25 ml. Como titulante foi utilizado o hidróxido de sódio 0,025 M. O ponto em que uma solução ácida for neutralizada por uma solução básica, ou vice-versa, é denominado de ponto de equivalência ou ponto de viragem, sendo neste ponto o número de íons H^+ equivalente ao número de íons OH^- . Após a viragem de coloração amarelo para azul o volume do titulante utilizado foi aferido e foi obtido o valor do pH pela seguinte equação: $M_1.V_1=M_2.V_2$, onde M_1 é a concentração molar do titulante, V_1 o volume utilizado para neutralizar o titulado, M_2 a concentração molar do titulado e V_2 o volume final da solução. Com o dado da concentração molar, a concentração de H^+ , foi obtido o valor do pH pela equação: $pH = -\log [H^+]$.

2.3 Prospecção química

Para identificar as principais classes de metabólitos secundários encontrados no látex de *J. curcas* L, foi realizada a prospecção química de acordo com a metodologia descrita por MATOS (1988), MATOS e MATOS (1989) e COSTA (2001). O látex foi submetido a uma série de reações para a caracterização de compostos fenólicos, como taninos, flavonóides, heterosídeos cumarínicos, heterosídeos antraquinônicos e alcalóides. Foram realizadas quatro reações para identificar compostos fenólicos taninos no látex: reação com gelatina, reação com alcalóides, reação com sais metálicos e reação com hidróxidos alcalinos. A presença de taninos foi feita através de visualização de precipitação ou alteração na cor. Para identificar flavonóides foram feitas seis reações: reação com hidróxidos alcalinos, reação com ácido sulfúrico, a reação oxalo-bórica, com cloreto de alumínio, reação de Shinoda e Reação com cloreto férrico. A presença dos flavonóides foi feita pela visualização de fluorescência ou alteração na cor. A identificação de heterosídeos cumarínicos foi feita por meio de uma reação com a utilização de hidróxido de sódio e foi verificada se houve fluorescência e alteração na cor, já para identificação de heterosídeos antraquinônicos foi feita a Reação de Borntrager utilizando álcool e observado se houve precipitação ou alteração na cor. Por

último, foi feita a busca por alcalóides com a reação utilizando ácido sulfúrico e diferentes reativos de alcalóides (Bouchardat, reativo de Dragendorff e reativo de Mayer).

2.4 Análise elementar

Análise de CHN permite a determinação do percentual de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) de uma amostra. Esta técnica consiste na completa combustão da amostra seguida pela análise dos produtos da sua combustão. A combustão completa é geralmente alcançada através de fornecimento de oxigênio em excesso durante o processo. Os produtos analisados são CO₂ para análise o carbono, H₂O para análise de hidrogênio e NO para análise de nitrogênio. Os produtos da combustão são retidos em colunas absorvedoras específicas para CO₂, H₂O e NO, assim sistemas de medida de massa fazem a leitura da quantidade de massa absorvida e sua conversão em porcentagem. Para a realização da técnica, o biofilme obtido da secagem do látex foi analisado na Central Analítica do Instituto de Física da UFG. Os experimentos foram realizados no aparelho *Analyser Organic Elementar, Flash 2000* da *Thermo Scientific*.

2.5 Espectroscopia no Infravermelho

O biofilme obtido do látex de *J. curcas* e a biomembrana formada pela secagem dos látex de mangabeira foram submetidos à análise de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). O látex de mangabeira foi utilizado nesse experimento como controle, uma vez que já possuem a caracterização por essa técnica e facilita à identificação de moléculas.

A espectroscopia de FTIR permite identificar as transições vibracionais entre os níveis de energia das moléculas (ALCANTARA JR, 2002) e é uma das técnicas mais empregadas para a identificação de materiais polímeros (SKOOG et al., 2002), como é o caso do látex de diferentes espécies. Este tipo de análise baseia-se no fato de que diferentes grupos funcionais que compõem a molécula absorvem a radiação na região do infravermelho em comprimentos de onda característicos. A região espectral do infravermelho compreende radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12.800 a 10 cm⁻¹ ou comprimentos de onda de 0,78 a 1.000 μm (SKOOG et al., 2002). Por conveniência, dividi-se o espectro infravermelho em infravermelho próximo, médio e distante. Entretanto, a faixa de maior interesse encontra-se de 4.000 a 400 cm⁻¹, onde os principais grupos funcionais absorvem. Nesse trabalho, foi utilizado o espectrofotômetro da marca *Bruker*, modelo *Vertex 70* e da

Perkin Elmer, modelo *Spectrum 400 TF-IR/FT-FIR*, com acessório *HATR* da mesma marca. As medidas foram feitas no modo ATR (Reflectância Total Atenuada).

2.6 Análises Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) consiste na medida da massa da amostra em função da temperatura. É utilizada para medir variações de massa de uma amostra durante o aquecimento ou resfriamento ou ainda quando mantida a uma temperatura constante por determinado intervalo de tempo. Os principais processos que podem ser avaliados por essa técnica são: evaporação, sublimação, decomposição, oxidação, redução, adsorção e dessorção de gases (SKOOG et al., 2002). A utilização da TGA é muito importante na avaliação da estabilidade térmica de um material com o intuito de definir a aplicação deste.

Outra técnica utilizada foi a DTA (Análise Térmica Diferencial), em que a diferença de temperatura entre a substância de referência (termicamente estável) é medida em função da temperatura de referência (forno). O registro é a curva DTA e as diferenças de temperatura devem ser colocadas em ordenadas, com as reações endotérmicas voltadas para baixo e o tempo ou temperatura em abscissas, com valores crescentes da esquerda para direita, através da DTA pode-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas e químicas da amostra (IONASHIRO e GIOLITO, 1980).

Essas duas técnicas (TGA/DTA) podem ser associadas no mesmo equipamento, sendo chamadas de técnicas simultâneas. Para verificar o comportamento térmico dos látex secos essas análises tiveram o objetivo de analisar as perdas de massa, o processo termodegradativo e a estabilidade da amostra. Para obter o resultado de TGA, as medidas foram realizadas utilizando um cadinho de alumina, na faixa de temperatura 20 a 600°C, sob atmosfera controlada de N₂, no aparelho *DTG 60/60H* da *Shimadzu* na Central Analítica do Instituto de Química da UFG.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para o valor de pH de *J. curcas* L, encontram-se listados na Tabela 1. O valor médio para o látex de pinhão manso foi 2,62 indicando que esse látex é muito ácido. Estudos mostram que o látex de algumas espécies podem ser ácidos, por exemplo, o látex de janaguba (*Himatanthus drasticus*) possui o pH de 5,30 (SOARES et al., 2016); de sucuba (*Himatanthus sucuba*) possui pH de 4,54 (SILVA et al., 2003); o látex de aveloz (*Euphorbia tirucalli*) possui pH de 3,88 (NOGUEIRA, 2012). Apesar do látex dessas espécies apresentarem pH ácido, nota-se que o látex de *J. curcas* L. apresentou valores abaixo da média encontrada nas demais espécies.

Tabela 1. Valores obtidos para o parâmetro pH do látex de *J. curcas* L.

Plantas	Abril	Mai	Junho	Média/Planta
Planta 1	2,63	2,62	2,61	2,62 ± 0,01
Planta 2	2,67	2,60	2,62	2,63 ± 0,02
Planta 3	2,63	2,60	2,61	2,61 ± 0,01
Planta 4	2,62	2,61	2,62	2,62 ± 0,00
Planta 5	2,60	2,62	2,62	2,61 ± 0,01
Média/Mês	2,63	2,61	2,62	2,62 ± 0,00

Os resultados da prospecção fitoquímica do látex de pinhão manso estão apresentados na Tabela 2. A análise dos resultados mostrou a presença de pelo menos três classes de metabólitos secundários no látex de pinhão manso: os heterosídeos antraquinônicos, os flavonóides e os taninos. Os flavonóides podem ser divididos em diferentes classes, que varia de acordo com as modificações químicas de sua estrutura básica. Entre as reações positivas para flavonóides a fluorescência encontrada na reação oxalo-bórica é um indicativo da presença da classe flavonóis, porém são necessárias análises qualitativas para que se possa identificar todas as classes presentes no látex. A função biológica associada a cada um dos metabólitos secundários encontrados no látex é descrita resumidamente seguir.

Os heterosídeos antraquinônicos são frequentemente compostos alaranjados, solúveis em água ou álcool. São empregados terapeuticamente como laxativos e catárticos, por agirem irritando o intestino grosso, aumentando a motilidade intestinal e, conseqüentemente diminuindo a absorção de água (SIMÕES et al., 2007). As antraquinonas também possuem atividades antioxidante, antiprotozoária (CAMACHO, et al., 2000), antiviral, antimicrobiana,

antifúngica e citotóxica (BABU et al., 2004). Os flavonóides são compostos bioativos do grupo dos polifenóis, os quais possuem inúmeras aplicações terapêuticas, tais como: ação antioxidante, antiproliferativa e anti-inflamatória (MUSCHIETTI e MARTINO, 2009), atividade antiulcerogênica e antimicrobiana (PINTO et al., 2000), potencial antialérgico, hepatoprotetor, antitrombótico, antiviral e anticarcinogênico (MIDDLETON JR et al., 2000). Os taninos são compostos fenólicos, os quais apresentam atividade antioxidante, antifecciosa, antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária e ação tumoral (ROBBERS et al., 1997). Também há relatos da ação dos taninos na reparação de tecidos, regulação enzimática e protéica (MELLO e SANTOS, 2001).

Os resultados obtidos no presente estudo estão em acordo com os dados obtidos previamente para *J. curcas*. Há relatos que essa espécie produza diversos metabólitos secundários nos seus diferentes tecidos. Por exemplo, já foi identificado nas folhas a presença de alcalóides, glicosídeos cardíacos, glicosídeos cianogênicos, flobataninos, taninos, flavonóides e saponinas (EBUEHI e OKORIE, 2009). Nas sementes, foi identificado a presença de flavonóides, saponinas e ésteres de forbol (OSKOUÉIAN et al., 2011). Nas raízes e caule foram identificados compostos fenólicos, flavonóides e compostos de saponinas (EL DIWANI et al., 2009; MANPONG et al., 2009; NAMULI et al., 2011). Porém, pouco ainda é conhecido em relação aos metabólitos presentes no látex de *J. curcas*. Existem relatos da ocorrência dos seguintes metabólitos secundários no látex de *J. curcas*: fenóis (SUAILI et al., 2011), taninos (SUAILI et al., 2011; AREKEMASE et al., 2011), saponinas (SUAILI et al., 2011; OSKOUÉIAN et al., 2011), flavonóides (SHARMA et al., 2016), e alcalóides e glicosídeos (AREKEMASE et al., 2011). De acordo com o nosso conhecimento, até o momento, não havia registro na literatura da ocorrência de antraquinonas no látex de *J. curcas*. Contudo, diferenças na ocorrência de metabólitos secundários dentro da mesma espécie são esperadas devido às alterações de clima, solo, coleta do material, temperatura e reagentes químicos utilizados (SILVA et al., 2010).

Tabela 2. Testes da prospecção fitoquímica do látex de *J. curcas* L.

Metabólicos secundários	Reações	Resultados	Coloração/Precipitação
Alcalóides	Bouchardat	Negativo	-
	Dragendorff	Negativo	-
	Mayer	Negativo	-
Antraquinonas	Reação de Borntrager	Positivo	Cor rosa e precipitou
Cumarinas	NaOH 1N	Negativo	-
Flavonóides	Shinoda	Negativo	-
	Reação Oxalo-Bórica	Positivo	Fluorescência
	H ₂ SO ₄ concentrado	Negativo	-
	hidróxidos alcalinos	Positivo	Específica
	Cloreto de Alumínio	Negativo	-
	Reação com Cloreto Férrico	Positivo	Cor preta
Taninos	Gelatina	Positivo	Precipitou
	Alcalóides	Negativo	-
	Sais Metálicos	Positivo	preta e precipitou
	Hidróxidos alcalinos	Positivo	Precipitou

Além dos estudos fitoquímicos, as análises de estabilidade térmica, análise elementar, e espectrofotometria de infravermelho ajudam a caracterizar e identificar componentes de novos materiais, ajudando na escolha de um modelo mais eficiente e rápido de produção de medicamentos alopáticos e fitoterápicos (ARAGÃO et al., 2006). Os resultados obtidos na técnica de análise elementar estão apresentados na Tabela 3. Nessa tabela também são

apresentados os valores de CHN de outros látex de forma que os conteúdos de CHN possam ser comparados com látex previamente estudados.

Tabela 3. Resultado da análise elementar de amostras de látex de seringueira, mangabeira e pinhão manso.

Amostras	Nitrogênio	Carbono	Hidrogênio	Outros
Seringueira *	0,60±0,2	82,00±1,0	11,30±0,1	6,1±1,6
Mangabeira*	0,08±0,03	80,65±2,0	11,40±0,1	8,5±2,1
Pinhão manso	1,36±0,3	40,34±0,6	4,34±0,2	53,96±1,1

Valores representam a média ± desvio padrão das análises em triplicata.* Dados obtidos de Magno, 2013

A Tabela 3 mostra que o carbono representa 40% da composição do látex de pinhão manso, o hidrogênio cerca de 4%, enquanto o nitrogênio é aproximadamente 1%. Sabendo que a soma total dos constituintes da amostra deve ser igual a 100%, a porção de elementos não identificados por essa análise, está apresentada na tabela como “outros”. Desta forma, a maioria dos componentes do látex de pinhão manso, não pôde ser identificada por essa técnica, ou seja, aproximadamente 54% dos componentes não são carbono, hidrogênio e nitrogênio. Além disso, observa-se uma significativa redução do teor de carbono e hidrogênio no biofilme de *J. curcas* em relação às biomembranas de seringueira e mangabeira. Esses dados mostram que apesar do pinhão manso ser da mesma família botânica da seringueira, os látex produzidos pelas mesmas são completamente diferentes em sua composição. Esse é um indício para funções biológicas diferenciadas entre essas espécies.

A Figura 1 mostra os espectros de FTIR obtidos do biofilme do látex de pinhão manso e da biomembrana de mangabeira. A perda da elasticidade observada previamente pode ser justificada pela redução na intensidade das bandas do cis-1,4 poli-isopreno, indicadas pelas setas, o qual é o componente que da origem a borracha na maioria dos látex estudados.

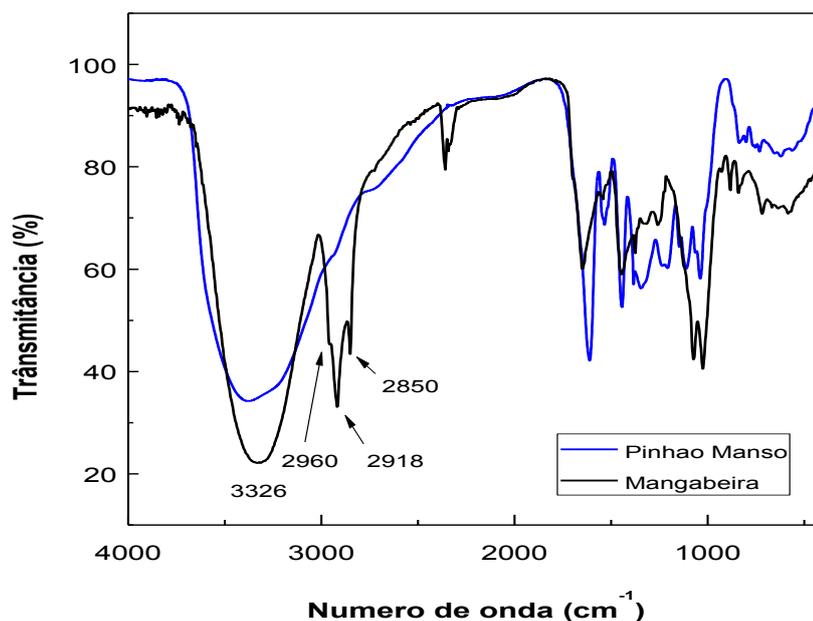


Figura 1. Espectros de FTIR obtidos a partir do látex de pinhão manso (azul) e mangabeira (preto).

As bandas que sofreram maiores alterações podem ser atribuídas ao estiramento de ligações C – H (2960 cm^{-1}) e estiramentos simétricos e assimétricos do grupo CH_3 (2920 e 2852 cm^{-1}), típicos do cis-1,4 poli-isopreno (MAGNO, 2013). Além disso, a banda larga situada entre 3400 a 3300 cm^{-1} pode estar relacionada à sobreposição de estiramentos vibracionais de OH e NH_2 , típicos de proteínas e água, oriundos da porção soro encontrados em látex de diferentes espécies (MAGNO, 2013). Sua redução pode ser um indicativo da menor carga de proteínas no biofilme do pinhão manso em relação à biomembrana de mangabeira.

Desta forma, os resultados obtidos mostram que o látex de pinhão manso possui uma baixa quantidade ou ausência de cis-1,4 poli-isopreno, o que está de acordo com o baixo teor de carbono e hidrogênio encontrado no estudo da análise elementar. Provavelmente, essa seja a razão do látex de pinhão manso ter aspecto vítreo quando polimerizado, e não forma elástica geralmente encontrada em biomembranas como no látex de mangabeira. Portanto, fica claro que há uma significativa diferença estrutural entre o biofilme e a membrana de mangabeira.

A estabilidade térmica das biomembranas foi analisada por meio de análise termogravimétrica (TGA). Este é um estudo que permite avaliar a influência da temperatura sobre a estabilidade térmica das amostras. Na Figura 2 apresentam-se as curvas de TGA/DTA das biomembranas de látex de mangaba (a) e do biofilme do pinhão manso (b).

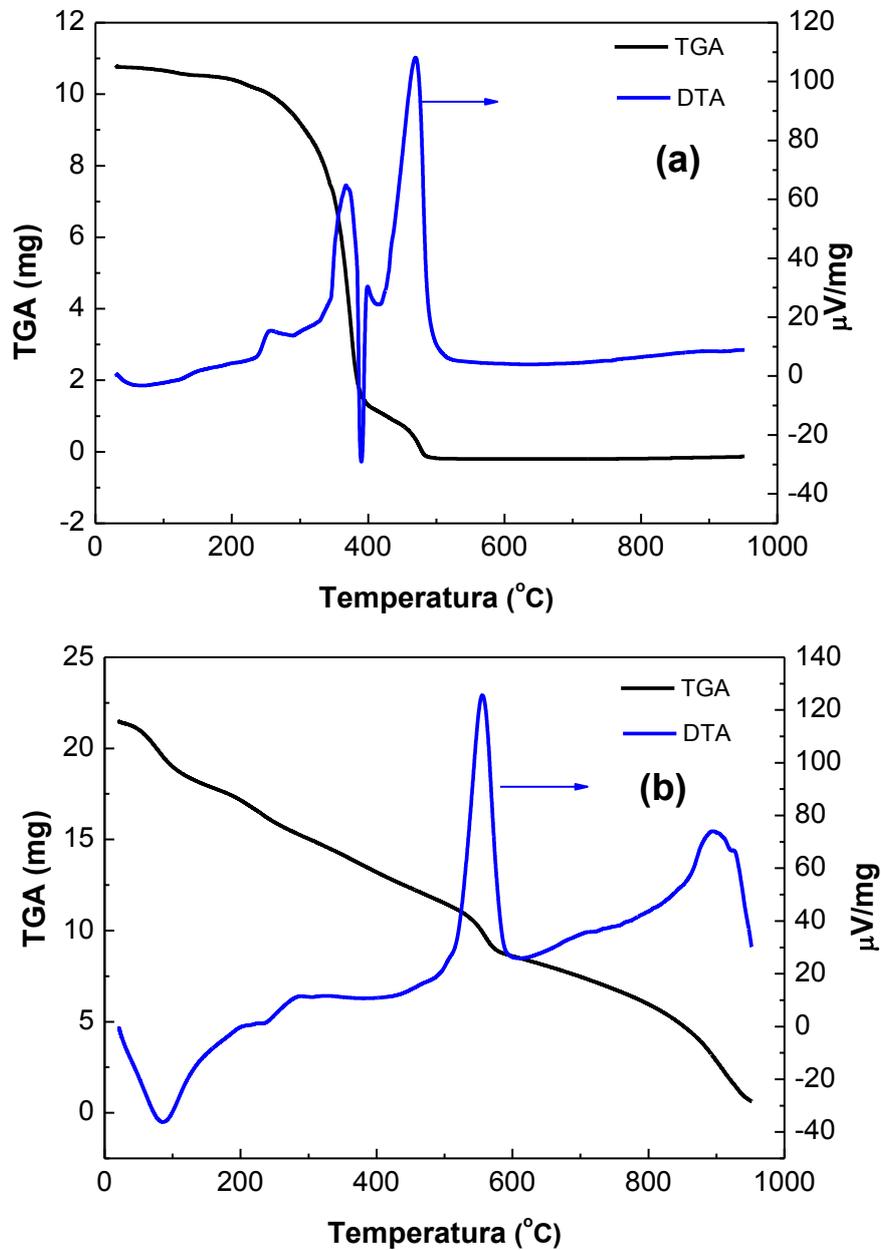


Figura 2. Curvas TGA/DTA de amostras de látex de mangaba (a) e pinhão manso (b).

Na curva TGA do látex de mangabeira são visualizadas três etapas: uma primeira com uma perda de massa de cerca de 3% até aproximadamente 200 °C, que corresponde à desidratação inicial da amostra. Além disso, podem estar associados à liberação de subprodutos de baixa estabilidade térmica presentes no látex, tais como proteínas, aminoácidos, carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos. A segunda etapa de 200 a 380 °C com uma perda de 85% e que pode está associada à formação de novos produtos (aldeídos e cetonas). A terceira etapa onde praticamente toda a massa é consumida que se encerra por

volta de 470 °C, podendo estar associadas à degradação das cadeias poliméricas mais estáveis (MAGNO, 2013). Na curva DTA observa-se dois eventos endotérmicos, uma banda de menor intensidade na faixa de 50 a 90°C e uma banda intensa e bem definida próximo de 380°C. Também podem ser observados picos exotérmicos por volta de 280°C, 360°C e 470°C. O pico endotérmico está associado a evaporação de compostos orgânicos de baixo peso molecular. Os picos exotérmicos de 280 e 360 °C podem estar associados à oxidação de compostos de maior peso molecular enquanto o pico de 470 °C está associado a sua completa combustão.

Na Figura 2b, observa-se as curvas de TGA/DTA do látex de pinhão manso. Na curva TGA percebe-se que a perda de massa ocorre de forma gradual, sem a presença de bruscas alterações. Dessa forma, pode-se observar que a estabilidade térmica do látex de pinhão manso é menor que do látex de mangabeira, pois a perda de massa se inicia desde 45°C com um pico endotérmico a 90°C associado à evaporação de compostos orgânicos de baixo peso molecular. Eventos exotérmicos podem ser observados através de dois picos intensos próximos a 550°C e 900°C, os quais podem ser atribuídos à reações de oxidação de compostos de elevado peso molecular e sua completa combustão, respectivamente. Assim, comparando os resultados das curvas das duas amostras, percebe-se significativa diferença entre os componentes dos dois tipos de látex, e que conseqüentemente, deve proporcionar diferentes propriedades e resposta biológica.

4 CONCLUSÃO

Neste capítulo foi realizada a prospecção fitoquímica e caracterização físico-química do látex de *J. curcas*. As análises fitoquímicas identificaram no látex os heterosídeos antraquinônicos, os flavonóides e os taninos, os quais possuem diferentes funções biológicas e são substâncias de interesse farmacológico, constatando que as indicações terapêuticas para essa espécie sinalizam para a ação biológica e farmacológica de tais constituintes. De acordo com o nosso conhecimento, essa foi à primeira vez que antraquinonas foram identificadas no látex de *J. curcas*. Na análise físico-química foi observado uma diferença significativa entre os componentes do biofilme de pinhão manso e da biomembrana de mangabeira o que pôde ser observado nas alterações de suas propriedades elásticas e provavelmente em suas aplicações biológicas. Essas informações direcionam estudos futuros mais detalhados para verificação da quantidade de cada constituinte encontrado nessas análises.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANTARA JÚNIOR, P. Espectroscopia Molecular. Curso Física Moderna II, Departamento de Física, Universidade Federal do Pará, 2002.

ALMEIDA, L. M. et al. Hancornia speciosa latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, p. 2153-2162, 2014.

ARAGÃO, G. F. S. et al. Estudo do comportamento termo degradativo de *Aloe barbadensis* Mill (Liliaceae) e da *Conyza bonariensis* (Compositae). **Bio Farma: Revista Técnico - Científica de Farmácia: Bioquímica e Análises Clínicas e Toxicológicas**, v. 1, n. 3, p. 172-180, 2006.

AREKEMASE, M. O.; KAYODER, R. M. O.; AJIBOYE, A. E. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant against some selected microorganisms. **International Journal of Biology**, v. 3, p. 52-59, 2011.

BABU, K. S. et al. Yeast and mammalian α -glucosidase inhibitory constituents from Himalayan rhubarb *Rheum emodi* Wall.exMeisson. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 3841- 3845, 2004.

BALAJI, D. S. et al. Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 68, n. 1, p. 8892- 2009.

BHARTI, S.; WAHANE, V.D.; KUMAR, V,L. Protective effect of *Calotropis procera* latex extracts on experimentally induced gastric ulcers in rat. **Journal Ethnopharmacology**, v. 127, p. 440-4, 2010.

CAMACHO, M. R. et al. Oxoaporphine alkaloids and quinones from *Stephaniadinklagei* and evaluation of their antiprotozoal activities. **Planta Medica**, n. 66, v. 5, p. 478-480, 2000.

CARDOSO, G. H. S. et al. Cytotoxicity of aqueous extracts of *Rosmarinus officinalis* L.(Labiatae) in plant test system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 4, p. 886-889, 2014.

CHAUDHARY, A. A. S. et al. Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 14, p. 10669-10678, 2015.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 3ª edição. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, v. 3, 2001.

DALLA NORA, G. et al. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). **Biocell**, v. 34, n. 3, p. 95-101, 2010.

DEBNATH, M.; BIEN, P. S. *Jatropha curcas* L. a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 288-306. 2008.

DEWAN, S.; SANGRAULA, H.; KUMAR, V, L."Preliminary studies on the analgesic activity of latex of *Calotropis procera*." **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 1, p. 307-311, 2000.

EBUEHI, O. A.; OKORIE, N. A. Phytochemical screening and quantification of flavonoids from leaf extract of *Jatropha curcas* Linn. **Nigerian Quaterly Journal of Hospital Medicine** , v.19, n. 4, p.200-5, 2009.

EL DIWANI, G.; EL RAFIE, S.; HAWASH, S. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of nodes leaves stem and root of Egyptian *Jatropha curcas*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 3, p. 521-530, 2009.

FERNANDEZ-ARCHE, A. et al. Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from *Euphorbia lactea* latex. **Phytomedicine**, v. 17, n. 2, p. 146-148, 2010.

FLORIANO, J. F. et al. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physiscs & Engineering Expressin press**, 2016

IGBINOSA, O. O. et al. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stembark extracts from *Jatropha curcas* (L). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.3, n. 2, p 058-062, 2009.

INSANU, M.; ANGGADIREDA. J.; KAYSER, O. Curcacycline A and B – new pharmacological insights to an old drug International **Journal of Applied Research in Natural Products**. v. 5, n. 2, p. 26-34. 2012.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, v. 26, n. 121, p. 17-24, 1980.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão Desenvolvimento**, v.1, p.19-27, 2006.

MAGNO, L. N. **Látex de mangabeira para aplicações biomédicas e tecnológicas**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Física)-Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

MANPONG, P. et al. Preliminary investigation of gallic acid extraction from *Jatropha curcas* linn. leaves using supercritical carbon dioxide with methanol co-solvent. **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, n. 5, p. 1408-1418, 2011.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**.2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

MATOS, F. J. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 246 p, 1988.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E O. **Farmacognosia: curso teórico prático**. 1ª ed., Fortaleza: Edições UFC, p. 128-137, 1989.

MELLO-REIS, P. R. et al. Assessment of the mutagenic and antimutagenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex by micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, 2011.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap. 24, p.517-543.

MIDDLETON JUNIOR, E. et al. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacol Reviews**, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

MOUSINHO, K. C. et al. Efeito antitumoral de proteínas laticíferos de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel - Apocynaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 421-426, 2011.

MUSCHIETTI, L. V.; MARTINO, V. S. Atividades biológicas dos flavonóides naturais. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 2 ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, p.189-218, 2009.

NAMULI, A. et al. Phytochemical compounds and antibacterial activity of *Jatropha curcas* Linn. extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3982-3990, 2011.

NATH, L. K.; DUTTA, S. K. "Extraction and purification of curcain, a protease from the latex of *Jatropha curcas* Linn." **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 43, n. 2, p. 111-114, 1991.

NAYAK, B. S.; PATEL, K. N. A marvel plant-Jatropha: an appraisal. **International Journal of Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 3, p. 35-39, 2009.

NOGUEIRA, J. C. A. **Melhoria das propriedades do gesso com aditivo sintético e com látex de *Euphorbia tirucalli* e de *Hevea brasiliensis* para uso de construção de habitações de interesse social**. 2012. 114 f. Dissertação (Programa de Pós- Graduação em Engenharia Urbana e ambiental)-Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2012.

NOTHIAS-SCAGLIA, L. F. et al. Antiviral activity of diterpene esters on Chikungunya virus and HIV replication, *Journal of natural products*, v. 78, n. 6, p. 1277-1283, 2015.

OSKOEI, E. et al. Anti-nutritional metabolites and effect of treated *Jatropha curcas* kernel meal on rumen fermentation *in vitro*. *Journal of Animal Veterinary Advance*, v.10, n.2, p.214-220, 2011.

OSONIYI, O.; ONAJOBI, F. Coagulant e antcoagulant activities in *Jatropha curcas* latex. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, p.101-105, 2003.

PINTO, A. S. et al. Flavonóides. **Biociência & desenvolvimento**. n.17. p.18-22, 2000.

RAULF, M. The latex story. **Chemical Immunology and Allergy**, v. 100, p. 248-255, 2014.

- RAMOS, M. V. et al. Crystal structure of an antifungal osmotin-like protein from *Calotropis procera* and its effects on *Fusarium solani* spores, as revealed by atomic force microscopy: Insights into the mechanism of action. **Phytochemistry**, v. 119, p. 5-18, 2015.
- RAMOS, M. V. et al. The defensive role of latex in plants: detrimental effects on insects. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 4, n. 1, p. 57-67, 2010.
- REBOUÇAS, S. O. et al. The antiangiogenic activity of látex from *Himatanthus articulatus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 2, p. 389-396, 2012.
- RIBEIRO, S. S. et al. Chemical constituents of methanolic extracts of *Jatropha curcas* L and effects on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2218-2221, 2012.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Fármaco biotecnologia**, 1. ed. São Paulo: Editorial premier, 1997. 372p.
- RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3. P. 359-366, 2011.
- SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2d. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p. 306, 2006.
- SEHGAL, R. R. S.; KUMAR, V. L. Evaluation of cytotoxic potential of latex of *Calotropis procera* and *Podophyllotoxin* in *Allium cepa*. **Biocell**, v. 30, n. 1, p. 9-13, 2006.
- SILVA, J. R. A. et al. "Contribution to the study of *Himatanthus sucuuba*: latex macromolecule, microelements and carbohydrates." **Acta Amazonica**, v. 33, n. 1, p. 105-110, 2003.
- SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. F.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.
- SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*, 6ª ed., Editora UFSC, UFRGS Editora, cap. 25, 2007.
- SIMÕES, C. O.; CCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade/UFRGS, 2001.
- SHARMA, A. K. et al. Phytochemical characterization, antimicrobial activity and reducing potential of seed oil, latex, machine oil and press cake of *Jatropha curcas*, v. 6, n. 4, p. 366-375, 2016.
- SKOOG, D. A. et al. *Fundamentos de Química Analítica*. Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo, 2006.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Trad. Ignez Caracelli et al. *Princípios de Análise Instrumental* 5ª edição, **Bookman**, Porto Alegre, 2002.

SOARES, M. L. et al. "Pharmacognostic characterization of the leaves of *Davilla elliptica* St.-Hil.(Dilleniaceae)." **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 352-360, 2005.

SOARES, F. P. et al. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de leite de janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel) em Fortaleza–Ceará. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 399-407, 2016.

SUHAILI, Z. C. C. Y. et al. Antibacterial profile of *Jatropha curcas* latex extracts against selected humam pathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 29, p. 5147-5154, 2011.

THOMAS, R.; SAH, N. K.; SHARMA, P. B. Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mine review. **Current Pharm Biotechnol.**, v.9, n.4, p. 315-324, 2008.

VAN DEN BERG et al. Curcacycline A: a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* Linn. **FEBS Letters**, v.358, p215-218, 1995.

VOGEL, A. I. Análise Química Quantitativa. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 5ª Ed., Rio de Janeiro, 1992.

YUNES, R. A. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. ed. Chapecó: Editora Argos, 2001. 523p.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E ANTIGENOTOXICIDADE DO LÁTEX DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

RESUMO

Jatropha curcas L., popularmente conhecida como pinhão manso, é uma laticífera amplamente utilizada na medicina popular por apresentar propriedades terapêuticas. Diferentes partes dessa planta são utilizadas no tratamento de enfermidades tais como: câncer, queimaduras, tosse, cólica, dermatite, febre, inflamação, entre outras. No presente trabalho foi avaliado o potencial genotóxico, antigenotóxico, citotóxico, e anticitotóxico do látex dessa espécie pelo teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos. Para a avaliação da atividade genotóxica e citotóxica, quatro grupos, com seis animais, foram formados e tratados com as doses de látex nas concentrações 10, 50 e 100 mg/kg p.c. e água destilada (controle negativo). Para a análise da antigenotoxicidade e anticitotoxicidade foram formados outros quatro grupos, com seis animais, e tratados com as doses de látex (10, 50 e 100 mg/kg p.c.) concomitante com 0,2 mg/kg p.c. de doxorrubicina (fármaco genotóxico). Os resultados obtidos mostraram que o látex de *J. curcas* possui atividade genotóxica nas concentrações de 50 e 100 mg/kg p.c e atividade citotóxica em todas as concentrações estudadas. Os dados de antigenotoxicidade mostram um interessante efeito antagonista do látex de pinhão manso em associação a doxorrubicina, sendo que quanto maior a dose do látex de pinhão manso, menor o número de micronúcleos em animais tratados com a doxorrubicina. Esses resultados sugerem um efeito antigenotóxico para o látex de pinhão manso. Os dados obtidos na presente pesquisa mostram que se deve ter cuidado com interações medicamentosas, e que a utilização empírica do látex de pinhão manso, pela população, pode gerar sérios danos à saúde. Dessa forma, pesquisas futuras são necessárias para esclarecer os mecanismos de ação do látex de *J. curcas* L. em sistemas vivos.

Palavras-chave: Antagonismo, Euphorbiaceae, Lactíferas, Mutagenicidade, Antimutagenicidade, Quimioprevenção

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior diversidade genética do mundo, com cerca de 55 mil espécies de plantas catalogadas. Apesar dessa grande diversidade de espécies e da tradição no uso de plantas na medicina tradicional, as informações relacionadas às características das plantas medicinais cresceu apenas 8% ao ano, nos últimos 20 anos (FONSECA, 2012). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma planta é considerada medicinal quando possui substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos (ZHANG, 1988).

Entre as plantas utilizadas como medicinais estão às laticíferas, que compreendem cerca de 20.000 espécies distribuídas entre 40 famílias (KONNO, 2011). Essas espécies apresentam células especializadas denominadas de laticíferas, que, são responsáveis pela produção do látex. A família botânica que apresenta maior número de espécies laticíferas é à família das Euphorbiaceae (HAGEL et al., 2008; AOKI et al., 2014; KONNO et al., 2014). Dentre as Euphorbiaceae, esse trabalho tem interesse especial pela espécie *Jatropha curcas* L.

J. curcas L, conhecida popularmente como pinhão manso, é uma espécie lactífera, perene, monóica, com alta rusticidade e resistência a longas estiagens (FERNANDES et al., 2015). Nos últimos anos interesse econômico nesta espécie está associado ao uso do óleo contido na semente para a produção de biodiesel (FERREIRA et al., 2013; CONTRAN et al., 2013). Além da produção de óleo, diferentes comunidades no mundo empregam, de forma empírica o pinhão manso no tratamento de enfermidades, tais como: alopecia, anasarca, ascite, queimaduras, carbúnculo, convulsões, tosse, suores frios, cólica, colapso, câibras, cianose, dermatite, diarréia, hidropisia, disenteria, dispepsia, eczema, erisipela, febre, gonorréia, gota, hérnia, incontinência urinária, inflamação, icterícia, neuralgia, paralisia, pleurisia, pneumonia, erupções cutâneas, reumatismo, sarna, ciática, feridas, dor de estômago, sífilis, tétano, candidíase, tumores, úlceras, e febre amarela (DEBNATH e BISEN, 2008).

Além do uso empírico, estudos científicos têm demonstrado o potencial medicinal em diversas partes vegetativas de *J. curcas*, sendo evidenciada ação antibacteriana em ensaios realizados com folhas e sementes (IGBINOSA et al., 2009; OSKOUUEIAN et al., 2011); ação anticoagulante a partir do látex (OSONLYI e ONAJOB, 2003); ação anti-inflamatória, determinada em extrato metanólico de raízes de pinhão manso (NAYAK e PATEL, 2010). Já a ação anticancerígena, antimetástica e antiangiogênica, foram demonstradas a partir de

compostos presentes na casca, folha, sementes e látex de pinhão manso (VAN DEN BERG et al. 1995; THOMAS et al., 2008; BALAJI et al., 2009; RIBEIRO et al., 2012).

É importante salientar que o uso empírico de compostos presentes nos extratos vegetais podem causar doenças, ou até mesmo a morte, por ação de agentes naturais mutagênicos e carcinogênicos, sendo necessário investigar cientificamente o efeito e assim determinar os riscos dos extratos de plantas utilizados na medicina popular (CHACON et al., 2002). O uso popular de *J. curcas* tem despertado recentemente a curiosidade dos pesquisadores sobre os potenciais medicinais dessa espécie.

No Brasil, qualquer novo produto deve ser regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) antes do seu uso ou comercialização. Uma das exigências da ANVISA é que o produto seja avaliado quanto a sua genotoxicidade. Agentes genotóxicos podem ser químicos, físicos ou biológicos, e são classificados como substâncias que causam alterações permanentes na sequência de nucleotídeos do DNA (RIBEIRO, 2003; NELSON e COX, 2009). A detecção de agentes genotóxicos é de extrema importância para a identificação de mutagênicos a fim de diminuir a exposição a eles (RIBEIRO, 2003; IKUMA et al., 2006; JEONG et al., 2006; VIJG, 2008). Além da avaliação genotóxica, torna-se importante também à avaliação da antigenotóxica com o intuito de identificar possíveis substâncias quimiopreventivas. A quimioprevenção e sua aplicação envolve uma análise de eficácia, segurança e de risco-benefício dos agentes protetores (DE FLORA, 1998).

Dentre os testes de avaliação de genotoxicidade e antigenotoxicidade preconizados pela ANVISA, o teste de micronúcleo em medula óssea de roedores *in vivo*, é amplamente aceito e recomendado para avaliação e o registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram anualmente no mercado mundial (CHOY, 2001, RIBEIRO, et al., 2003). O teste de micronúcleo detecta pequenos corpos contendo ácidos desoxirribonucléicos (DNA), localizados no citoplasma da célula. Esses corpos são resultantes de quebras cromossômicas, formando fragmentos acêntricos que não chegam aos pólos das células durante a mitose ou meiose (CHOY, 2001).

Assim, os ensaios de genotoxicidade *in vivo* servem para avaliar a segurança de determinadas substâncias em fase pré-clínica e também como ferramenta para detecção da potencialidade genotóxica e antigenotóxica (MC GREGOR, 2000; ROTHFSS et al., 2011; LORD e ASHWORRTH, 2012). Adicionalmente à genotoxicidade e antigenotoxicidade, o teste de micronúcleo fornece também a avaliação da citotoxicidade através do cômputo da

relação de Eritrócitos policromáticos/Eritrócitos normocromáticos (PCE/NCE) (VILAR et al., 2008; BORGES et al., 2011).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial genotóxico, antigenotóxico, citotóxico e anticitotóxico do látex de pinhão manso (*J. curcas* L) em células de medula óssea de camundongos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Aspectos éticos da pesquisa

A pesquisa atendeu os princípios éticos e foi aprovada pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (Protocolo 0021-1)

2.2 Látex de pinhão manso (*J. curcas* L.)

A coleta do látex foi realizada em área de plantio de pinhão manso localizada na estação experimental da Universidade Estadual de Goiás (UEG) campus Ipameri. Um exemplar da planta já foi identificado pelo Prof. Ms. Ismael Martins Pereira, tendo sua exsicata depositada no herbário do UEG, sob o número 10.042. O látex foi extraído diretamente por meio de perfurações realizadas no caule, com uma faca, tendo a área de coleta aproximadamente 5 cm de comprimento e 0,5 mm de profundidade. O látex exsudado com o corte foi acondicionado diretamente tubos Falcon de 10 ml esterilizados.

2.3 Camundongos

Para realizar os testes foram utilizados 48 camundongos saudáveis, da espécie *Mus musculus* “out bread” linhagem Swiss Webster, oriundo do Biotério da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, apresentando peso corpóreo entre 30 e 40 gramas e faixa etária entre 45 e 60 dias no dia do experimento. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno, forradas com maravalha. Cada gaiola comportou no máximo 05 camundongos, os quais receberam água e ração balanceada *ad libitum*. A maravalha foi trocada a cada três dias.

2.4 Grupos experimentais

Para avaliação genotóxica foram testadas as doses de látex nas concentrações de 10, 50 e 100 mg/kg de peso do corpóreo (p.c) e controle negativo, distribuídos em quatro grupos: 1. Látex pinhão manso na concentração de 100 mg/kg p.c.; 2. Látex pinhão manso na concentração de 50 mg/kg p.c.; 3. Látex pinhão manso na concentração de 10 mg/kg p.c.; e 4. Controle negativo, água destilada na concentração de 1ml/100 mg/kg p.c.

Para avaliação antigenotóxica foram testadas as doses de látex juntamente com doses de doxorubicina, foram formados quatro grupos experimentais distribuídos da seguinte forma: 1. Látex pinhão manso 100 mg/kg p.c., mais 2,0 mg/kg p.c. de doxorubicina; 2. Látex pinhão manso 50 mg/kg p.c. mais 2,0 mg/kg p.c. de doxorubicina; 3. Látex pinhão manso 10 mg/kg p.c. mais 2,0 mg/kg p.c. de doxorubicina; e 4. Controle positivo - doxorubicina 2,0 mg/kg p.c.

2.5 Avaliação das atividades genotóxica e antigenotóxica do látex de pinhão manso pelo teste de Micronúcleo.

O teste de micronúcleo foi realizado seguindo a metodologia descrita por Von Ledebur & Schmid (1973). Para a avaliação genotóxica, foram aplicados via intraperitoneal o tratamento nos animais de cada grupo. Após 24 horas da aplicação das substâncias, os animais foram submetidos à anestesia por tiopental (30 mg/kg p.c.), em seguida eutanasiados por deslocamento cervical.

A epífise proximal do fêmur foi cortada e a medula óssea hematopoiética, aspirada com soro bovino fetal. Após a homogeneização da medula no soro, o material foi centrifugado a 1000rpm por 5 min. O sobrenadante descartado parcialmente, com o precipitado foi feito os esfregaços. Após a secagem, as lâminas, foram coradas em solução panótico rápido, utilizando o corante Instant Prov, em três etapas. Na primeira etapa foi usado à solução de ciclo hexadienos 0,1% por 10 segundos (Instant Prov I); na segunda etapa foi usada a solução de azobenzeno sulfônico a 0,1% por 10 segundos (Instant Prov II); e na terceira etapa solução de Fenotiazina a 0,1% (Instant Prov III) por 20 segundos. Após secagem as lâminas foram analisadas em microscópio de luz (Olympus BH-2 10x100, Tokyo, Japan).

Para a avaliação antigenotóxica foram administradas simultaneamente as doses de látex e a doxorubicina, substância a qual tem comprovada atividade indutora de danos ao DNA.

2.6 Avaliação da citotoxicidade e anticitotoxicidade do látex de pinhão manso.

Afim de avaliar a citotoxicidade e anticitotoxicidade da amostra, após a contagem de micronúcleos, foram analisados 2000 eritrócitos por lâmina e avaliada a porcentagem de eritrócitos policromáticos (PCE) entre o total de eritrócitos (PCE + NCE).

2.7 Análise estatística

As atividades genotóxicas e antigenotóxicas do látex de pinhão manso foram avaliadas pela incidência de micronúcleos, em cada grupo testado, pela análise de variância (ANOVA). A seguir, as médias foram comparadas pelo teste Tukey. Para avaliar a citotoxicidade e a anticitotoxicidade do látex foram analisadas as frequências de EPC/ENC de cada grupo tratado. A seguir as médias foram comparadas pelo teste Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de p foi $< 0,05$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os resultados de genotoxicidade e citotoxicidade de animais tratados com diferentes doses de látex de pinhão manso.

Tabela 1. Avaliação da atividade genotóxica e citotóxica expressa pela média, desvio padrão das dosagens de 10, 50 e 100 mg/kg p.c. do látex de *J. curcas* L e a relação EPC/ENC.

Látex de pinhão manso (mg/kg p.c)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)		RELAÇÃO EPC/ENC MÉDIA ± DP
		Dados Individuais MN /2000EPC	MN/2000EPC Média ± DP	
10	6	3- 4- 4- 5- 4- 6	4,3 ± 1,0 a	0,75 ± 0,1 b
50	6	11- 8- 10- 9- 12- 7	9,5 ± 1,9 b	0,6 ± 0,1 c
100	6	16- 15- 9- 15- 13- 10	13,0 ± 2,9 b	0,5 ± 0,16 c
H ₂ O (controle negativo)	6	1- 2- 1- 3- 1- 2	1,7 ± 0,8 a	1,1 ± 0,1 a

Mesma letra na coluna indica que não houve diferença significativa ($p > 0,05$)

As frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) em camundongos tratados com 50 e 100 mg/kg p.c. do látex de pinhão manso diferiram significativamente dos camundongos tratados com água e 10 mg/kg p.c de látex (Tabela 1). Sabe-se que o aumento da frequência de EPCMN, em animais tratados com diferentes substâncias, está associado a quebras cromossômicas e danos ao DNA (KRISHA e HAYASHI, 2000). Dessa forma, os dados obtidos sugerem que o látex de pinhão manso é genotóxico nas doses de 50 e 100 mg/kg p.c, mas não na dose de 10 mg/kg p.c. Contudo, a técnica usada não permite apontar o mecanismo pelo qual ocorre o dano ao DNA, mas provavelmente estes danos estão associados a presença de compostos bioativos no látex de pinhão manso.

A citotoxicidade do látex de pinhão manso foi avaliada pela percentagem de EPC entre o total de eritrócitos (EPC+ENC). Ainda na Tabela 1, observa-se que houve diminuição significativa na razão de EPC/ENC, em todos os tratamentos com látex de pinhão manso,

quando comparado com o controle negativo. A diminuição na proporção de EPC em relação à ENC é um parâmetro que mostra a citotoxicidade (SHAHRIM et al., 2006). Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que o látex de pinhão é citotóxico em todas as doses testadas. Ainda, o grupo de 10 mg/kg p.c. difere dos grupos 50 e 100mg/kg p.c, e mostra que a citotoxicidade está associada a dose, ou seja, doses mais elevadas de látex causaram maior mortalidade celular. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados para outras lactíferas, tais como *Synadenium umbellatum* (MELO-REIS et al., 2011) e *Himatanthus succuba* (PAZ et al, 2013; ALMEIDA et al., 2014).

Em relação à citotoxicidade, já é conhecido que diferentes espécies da família Euphorbiaceae, apresentam potencial citotóxico associado à indução de apoptose. São exemplos de plantas da família Euphorbiaceae com efeito citotóxico: *Croton malambo* (MORALES et al., 2005), *Croton zambesicus* (BLOCK et al., 2005) e *Synadenium umbellatum* (MOTA et al., 2012; MELO-REIS et al., 2011). A identificação de espécies que induzem apoptose é interessante porque a indução da morte celular programada é um dos principais mecanismos que podem ser empregados para inibição do crescimento tumoral (ZHANG et al., 2009).

Em relação à atividade antigenotóxica, é importante salientar que a prevenção de doenças relacionadas a mutações pode ocorrer tanto evitando a exposição do organismo ao agente genotóxico, quanto pela ingestão de substâncias que provocam a ativação de mecanismos de proteção ao DNA. Dessa forma, avaliar o efeito antigenotóxico de compostos presentes nas plantas medicinais é uma estratégia utilizada com o objetivo de identificar possíveis substâncias quimiopreventivas (DE FLORA, 1998). A quimioprevenção pode ser definida como prevenção, inibição ou reversão da carcinogênese, por administração de compostos naturais ou sintéticos (NAMASIVAYAM, 2011).

A Tabela 2 mostra os resultados de antigenotoxicidade e anticitotoxicidade em animais tratados com diferentes doses de látex de pinhão manso e doxorrubicina. A doxorrubicina (DXR), fármaco isolado do fungo *Streptomyces peucetius*, é um dos agentes antitumorais mais utilizados na oncologia clínica e experimental. Esse fármaco tem sido empregado especialmente no tratamento de leucemia aguda e linfoma, mas também pode ser usado no tratamento de alguns tumores sólidos, tais como, câncer de ovário, mama e de endométrio (KAKLAMANI e GRADISHAR, 2003). Molecularmente, a estrutura planar da doxorrubicina permite que ela se ligue ao DNA, intercalando entre suas bases e impedindo a síntese de DNA e RNA. A doxorrubicina também pode provocar quebras nas cadeias do DNA. O efeito

citotóxico da doxorubicina está também associado à inibição da topoisomerase II, à formação de radicais livres, os quais são responsáveis por fenômenos de estresse oxidativo e peroxidação lipídica (RAJ et al., 2014).

Tabela 2. Avaliação da atividade antigenotóxica e anticitotóxica expressas pela média, desvio padrão das dosagens de 10, 50 e 100 mg/kg p.c. do látex de *J. curcas* L e a relação EPC/ENC, frente ao composto genotóxico doxorubicina.

Látex de pinhão manso +doxorubicina (mg/kg p.c)	Nº de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)		RELAÇÃO EPC/ENC MÉDIA ± DP
		Dados Individuais MN /2000EPC	MN/2000EPC Média ± DP	
10+0,2	6	14- 11- 5- 10- 9- 7	9,3 ± 3,1 b	0,59 ± 0,1 a
50+ 0,2	6	10- 5- 5- 5- 6- 6	6,2 ± 1,9 b	0,70 ± 0,1 a
100+0,2	6	2- 2- 3- 3- 5- 3	3,0 ± 1,0c	0,6 ± 0,1a
Doxorubicina (controle positivo)	6	20- 12- 15- 12- 17- 23	16,5 ± 4,42 a	0,5 ± 0,1 a

Mesma letra na coluna indica que não houve diferença significativa ($p > 0,05$)

As frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) em camundongos tratados com látex de pinhão manso, em todas as concentrações (10, 50 e 100 mg/kg p.c.), diferiram significativamente dos camundongos tratados com água (Tabela 2). Além do mais, existe uma correlação negativa entre o efeito e a dose, sendo que quanto maior a dose do látex de pinhão manso, menor a ocorrência de micronúcleos. Comparando com os dados de genotoxicidade previamente obtidos nesse trabalho, percebe-se que o látex de pinhão manso quando administrado sozinho tem um efeito genotóxico para células da medula de camundongos. O mesmo efeito genotóxico foi observado quando os animais foram tratados apenas com doxorubicina (controle positivo, Tabela 2). Porém, quando látex e doxorubicina são administrados juntos, um inibe a atividade do outro, esse tipo de interação de substâncias é definido como antagonismo. Na prática, as interações de substâncias podem gerar pouco ou nenhum efeito lesivo para os pacientes, porém há casos nos quais as interações podem ter

efeitos colaterais graves, podendo inclusive levar o paciente a óbito. Dessa forma é extremamente importante avaliar o efeito do látex de pinhão manso, pois o mesmo é usado na medicina popular no tratamento de câncer, e pode, no caso de ingestão conjunta com outros agentes quimioterápicos, inibir a ação dos mesmos.

Em relação à anticitotoxicidade do látex de pinhão manso, a análise da porcentagem de PCE entre o total de eritrócitos (EPC+ENC), mostrou que não existem diferenças significativas nessa razão quando comparados com o controle positivo. Isso significa que todas as doses administradas de látex de pinhão manso foram citotóxica para as células da medula óssea de camundongos. Diferente dos dados de genotoxicidade, o látex de pinhão manso não protegeu as células do efeito citotóxico da doxorubicina, indicando que esse látex não apresenta efeito anticitotóxico.

Está ocorrendo, ao longo dos últimos anos, um aumentado no interesse por produtos que possam ter propriedades antígenotóxicas. Uma vez que esses produtos podem atuar como agentes desmutagênicos, agindo diretamente sobre os compostos que induzem danos no DNA, inativando-os química ou enzimaticamente (ANTUNES e ARAÚJO, 2000). Até o momento existem poucas informações na literatura sobre a genotoxicidade, citotoxicidade, antígenotoxicidade e anticitotoxicidade do látex de *J. curcas* L. Alguns trabalhos demonstram que a citotoxicidade dessa espécie pode estar relacionada com substâncias tais como a curcaciclinas A e B e os diterpenos (INSANU et al., 2012; DEVAPPA et al., 2011). Dessa forma, torna-se importante avaliar detalhadamente o efeito antígenotóxico do látex de pinhão manso, pois ele foi capaz de reduzir significativamente a indução de danos ao DNA gerados pela doxorubicina.

4 CONCLUSÃO

Utilizando o teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos, foi possível concluir que o látex de *J. curcas* L apresenta atividade genotóxica e citotóxica quando administrado sozinho aos camundongos. Porém, têm efeito antagonista e atividade antigenotóxica quando administrado simultaneamente como fármaco doxorubicina. Esses resultados mostram que deve se ter cuidado com interações medicamentosas, e que a utilização empírica do látex de pinhão manso pela população pode gerar sérios danos à saúde. Dessa forma, pesquisas futuras são necessárias para esclarecer os mecanismos de ação do látex de *J. curcas* L. em sistemas vivos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, P. M. **Potencial genotóxico do extrato foliar e do látex de pinhão-roxo (*Jatropha gossypifolia* L.)** 2014. 113 f. Tese (Doutorado em Genética)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

ANTUNES, L. M. G.; ARAÚJO, M. C. P. Mutagenicity and antimutagenicity of the main food colorings. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 81-88, 2000.

AOKI, Y. et al. Identification of laticifer-specific genes and their promoter regions from a natural rubber producing plant *Hevea brasiliensis*. **Plant Science**, v. 225, p. 1-8, 2014.

BALAJI, D. S. et al. Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 68, n. 1, p. 8892- 2009.

BLOCK, S. et al. Induction of apoptosis in human promyelocytic leukemia cells by a natural trachylobane diterpene. **Anticancer Research**, v.25, p.363-368, 2005.

BORGES, F.F.V. et al. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic activities of *Celtisiguanaea* (Jacq.) in mice. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 955-63, 2011.

CHACON, D.R. et al. Absence of genotoxic and antigenotoxic effects of a standardized extract of the medicinal plant *Solanum melongena* on peripheral blood and bone marrow cells of Wistar rats. **Cytology**, v.67, p.417-22, 2002.

CHOY, W. N. **Regulatory genetic toxicology tests**. Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment (Choy, W. N. ed.), Marcel Dekker, Inc, New York. 93-113, 2001.

CONTRAN, N. et al. State-of-the-art of the *Jatropha curcas* productive chain: from sowing to biodiesel and by-products. **Industrial Crops and Products**. v. 42, p. 202-215. 2013.

DEBNATH, M.; BISEN, P. S. *Jatropha curcas* L. a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 288-306. 2008.

DE FLORA, S. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. **Mutation Research**, v.402, p.151-158, 1998.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha* diterpenes: A review. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 88, p. 301-322, 2011.

FERNANDES, M. M.; VELOS, M. E. C.; SILVA, M. D.; FERNANDES, M. R. M.; LIMA, N. N. C. Fauna edáfica de área degradada revegetada com pinhão manso em monocultivo e

consórcio com *Andropogon gayanos* L. **Revista Energia na Agricultura**, v. 30, n. 1, p. 47-52, 2015.

FERREIRA, W. J. et al. Biodiesel de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) em países emergentes: alternativa para o desenvolvimento regional. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 9, n. 1, 2013.

FLORES, M.; YAMAGUCHI, M. U. Teste do micronúcleo: Uma triagem para avaliação genotóxica, **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 337- 340, 2008.

FONSECA, M. C. Epamig pesquisa. Produção de plantas medicinais no Brasil. **Academia Brasileira de Ciências**, p. 132, 2002.

HAGEL, J. M.; YEUNG, E. C.; FACCHINI, P. J. Got milk? The secret life of laticifers. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 12, p. 631-639, 2008.

HAYATSU, H.; ARIMOTO, S.; NEGISHI, T. Dietary inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 202, n. 2, p. 429-446, 1988.

IKUMA, N.E. M. et al. Investigation of genotoxic and antigenotoxic activities of *Melampodium divaricatum* in *Salmonella typhimurium*. **Toxicology in Vitro**, v. 20, p. 361–366, 2006.

INSANU, M.; ANGGADIREDDA, J.; KAYSER, O. Curcacycline A and B – new pharmacological insights to an old drug International **Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 5, n. 2, p. 26-34. 2012.

IGBINOSA, O. O. et al. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stembark extracts from *Jatropha curcas* (L). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.3, n. 2, p 058-062, 2009.

JEONG, T. J. et al. Isolation and characterization of a new compound from *Prunus mume* fruit that inhibits cancer cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2123–2128, 2006.

KAKLAMANI, V. G.; GRADISHAR, W. J. Epirubicin versus doxorubicin: which is the anthracycline of choice for the treatment of breast cancer?. **Clinical Breast Cancer**, v. 4, p. S26-S33, 2003.

KONNO, K. Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. **Phytochemistry**, v.72, n.13, p.1510-1530, 2011.

KONNO, K.; INOUE, T. A.; NAKAMURA, M. Synergistic defensive function of raphides and protease through the needle effect. **PloS One**, v. 9, n. 3, p. p. 1341, 2014.

KRISHNA, G.; HAYASHI, M. *In vivo* rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1, p. 155-166, 2000.

LOH, D. S. Y.; ER, H. M.; CHEN, Y. S. Mutagenic and antimutagenic activities of aqueous and methanol extracts of *Euphorbia hirta*. **Jornal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 406 - 414, 2009.

LORD, D. T.; ASHWORTH, A. The DNA damage response and cancer therapy. **Nature**, v. 481, n.7381, p. 287-294, 2012.

MCGREGOR, D. Carcinogenicity and genotoxic carcinogens. In: BALLANTYNE, B.; T. MARS & T. SYVERSEN, eds. **General and Applied Toxicology**, 2 nd Edition, **Macmillan Reference**, p. 1099-1117, 2000.

MELLO-REIS, P. R. et al. Assessment of the mutagenic and antimutagenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex by micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, 2011.

MOTA, M. F.; BENFICA, P. L.; VALADARES, M. C. *Synadenium umbellatum* Pax.promotes cell cycle arrest and induces apoptosis in K-562 leukemia cells, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, 2012.

MORALES, A. et al. Cytotoxic and proapoptotic activity of ent-16b-17a-dihydroxykaurane on human mammary carcinoma cell line MCF-7. **Cancer Letters**, v. 218, p .109-116, 2005.

NAYAK, B. S.; PATEL, K. N. A marvel plant-*Jatropha*: an appraisal. **International Journal of Pharmaceutical Reserch**, v. 1, n. 3, p. 35-39, 2009.

NAMASIVAYAM, N. Chemoprevention in experimental animal. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1215, p.60-71, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. Omega, 2009.

OSKOUETIAN,E. et al. Anti-nutritional metabolites and effect of treated *Jatropha curcas* kernel meal on rumen fermentation *in vitro*. **Journal of Animal Veterinary Advance**, v.10, n.2, p.214-220, 2011.

OSONIYI, O.; ONAJOBI, F. Coagulant e antcoagulant activities in *Jatropha curcas* latex. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, p.101-105, 2003.

PAZ, M. F. C. J. et al. Avaliação tóxica, citotóxica, mutagênica e genotóxica do látex da *Himatanthus sukuuba*: uma questão de saúde pública. **Revista Interdisciplinar**, v. 6, n. 1, p. 52-61, 2013.

RAJ, S. et al. Anthracycline-inducedcardiotoxicity: A review of pathophysiology, diagnosis, andtreatment. **Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine**, v. 16: p. 315, 2014.

RIBEIRO, L. R. et al. **Mutagênese ambiental**. Rio Grandedo Sul: Ulbra, 2003. 355p.

RIBEIRO, S. S. et al. Chemical constituents of methanolic extracts of *Jatropha curcas* L and effects on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2218-2221, 2012.

ROTHFUSS, A. et al. Improvement of in vivo genotoxicity assement: Combination of acut tests and intergration into standard toxicity testing. **Mutation Research/Genetic Toxixology and Environmental Mutagenesis**, v. 723, n. 2, p. 108-120, 2011.

SHAHRIM, Z. et al. The *in vivo* rodent micronucleus assay of kacipfatimah (*Labisia pumila*) extract. **Tropical Biomedicine**, v. 23, p.214-219, 2006.

THOMAS, R.; SAH, N. K.; SHARMA, P. B. Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mine review. **Current Pharmaceutical Biotechnology.**, v.9, n.4, p. 315-324, 2008.

VAN DEN BERG.et al. Curcacycline A: a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* Linn. **FEBS Letters**, v.358, p215-218, 1995.

VILAR, J. B. et al. Assessment of the mutagenic, antimutagenic and cytotoxic activities of ethanolic extract of araticum (*Annona crassiflora* Mart. 1841) by micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biologoy**, v. 68, p. 41-7, 2008.

VIJG, J.; CAMPISI, J. Puzzles, promises and a cure for ageing. **Nature**, v. 454, n. 7208, p. 1065, 2008.

VON-LEDEBUR, M.; SCHMID. W. The micronucleus test. Methodological aspects. **Mutation Research**, v. 19, p. 109-117, 1973.

ZHANG, X. Regulatory situation of herbal medicines a worldwide review. **World Health Organization**, v. 26, p. 223-228, 1998.

ZHANG, Y. B. et al. Astilbe triterpenic acid induces growth arrest and apoptosis in HeLa cells through mitochondria-related pathways and reactive oxygen species (ROS) production. **Chem. Biodivers**, v.6, p.218-230, 2009.

CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos e os resultados encontrados no presente trabalho, pôde-se concluir que:

- Houve um aumento no número de artigos publicados ao longo dos anos sobre o pinhão manso, sendo que a maioria dos artigos publicados estão relacionados com os temas: biocombustível e agronomia;
- Apesar desse aumento nas publicações e do pinhão manso ser uma espécie que apresenta alto potencial para produção de biocombustível, essa espécie ainda não foi domesticada e seu cultivo diminuiu ao longo dos anos. A redução mundial de área plantada com pinhão manso. Provavelmente deve-se à carência de informações, principalmente relacionadas às técnicas básicas de cultivo;
- Além do potencial para produção do biodiesel, a espécie apresenta alto potencial farmacológico, sendo utilizada no tratamento de diversas enfermidades;
- O látex de *J. curcas* apresenta metabólitos secundários com atividades terapêuticas comprovada, entre esses se encontra os heterosídeos antraquinônicos, compostos antes não citados na literatura para o látex dessa espécie;
- Quando comparado com o látex de outras espécies, tanto da mesma família botânica como de famílias diferentes, o látex de *J. curcas* se mostrou completamente diferente estruturalmente e em relação a sua composição, sugerindo assim funções biológicas diferente dos demais látex;
- O látex possui efeito genotóxico indicado nesse trabalho através da observação do aumento na frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) quando comparado com água destilada, pelo teste de micronúcleo *in vivo*, evidenciando que conforme aumenta-se a concentração do látex, aumenta também essa frequência;
- O látex possui efeito citotóxico visto que houve uma diminuição na razão entre eritrócitos policromáticos e eritrócitos normocrômicos (EPC/ENC), comprovado pelo teste de micronúcleo *in vivo*;

- O látex possui efeito antígenotóxico frente ao fármaco doxorubicina, fato evidenciado pela redução na frequência de policromáticos micronucleados (EPCMN) quando comparado com a doxorubicina, ou seja, o látex inibiu a atividade da doxorubicina.
- O látex não apresenta efeito anticitotóxico frente à doxorubicina, uma vez que não foram observadas diferenças significativas na razão (EPC/ENC) quando comparado com a doxorubicina, ou seja, o látex não protegeu as células dos animais do efeito da doxorubicina;
- Deve-se ter cautela ao usar o látex de *J. curcas* de forma empírica, principalmente quando se está fazendo uso de outro tipo de medicamento, visto que essa interação pode causar sérios danos à saúde;
- Há necessidade de estudos e pesquisas futuras, uma vez que o látex dessa espécie apresenta compostos com diferentes potenciais terapêuticos, podendo ser utilizado na produção de novos fármacos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamento**, Brasília, P. 14, 2013.

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o Semi-Árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras**, v.8, p. 789-799, 2004.

AZWA, Z. N. et al. A review on the degradability of polymeric composites based on natural fibres. **Materials and Design**, v. 47, p. 424-442, 2013.

AZZINI, A.; GONÇALVES, P. S.; TOMAZ, R. M. A. G. Sieve tubes diameter and the rubber production in rubber tree clones. **Bragantia**, Campinas, v. 57, n. 1, p. 57-60, 1998.

AYANBIMPE, G. M. et al. Evaluation of extracts of *Jatropha curcas* and *Moringa oleifera* in culture media for selective inhibition of saprophytic fungal contaminants. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 23, n. 3, p. 161-4, 2009.

BARATA, L. Empirismo e ciência: Fonte de novos fitomedicamentos. **Revista Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 4-5, 2005.

BAHNG, M. K. et al. Current technologies for analysis of biomass thermochemical processing: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 651, n. 2, p. 117-138, 2009.

BESSA, N. G. F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde–Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BEVILACQUA, H. G. C. R. Planejamento de horta medicinal e comunitária. Divisão Tec. Ex. Municipal de Jardinagem/Curso de plantas medicinais – São Paulo, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**. Programa Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico – Guia para realização de estudos toxicológicos – Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos** Departamentos de Assistências Farmacêuticas e Insumos Estratégicos – Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos – Brasília, 136 p, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RDC nº 10, de 09 de março, Brasília, 2010.

CÁCERES, D. R.; PORTAS, A. A.; ABRAMIDES, J. E. **Pinhão-manso**. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_3/Pinhaomanso/Index.htm>. Acesso em: out. 2016.

- CHOY, W. N. **Regulatory genetic toxicology tests**. Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment (Choy, W. N. ed.), Marcel Dekker, Inc, New York. 93-113, 2001.
- CONTRAN, N.; CHESSA, L.; LUBINO, M.; BELLAVITE, D.; ROGGERO, P. P.; ENNE, G. State-of-the-art of the *Jatropha curcas* productive chain: from sowing to biodiesel and by-products. **Industrial crops and products**. v. 42, p. 202-215. 2013.
- CORDEIRO, I.; SECCO, R. ***Jatropha* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2012.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981.
- DEBNATH, M.; BISEN, P. S. *Jatropha curcas* L. a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy. **Current pharmaceutical biotechnology**. v. 9, n. 4, p. 288-306. 2008.
- DIVAKARA, B. N. et al. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: a review. **Applied Energy**, v. 87, n. 3, p. 732-742, 2010.
- DOMERGUE, M.; PIROT, R. *Jatropha curcas* L. **Rapport de synthèse bibliographique**, 2008.
- DOMSALLA, A.; MELZIG, M. F. Occurrence and properties of Proteases in plant latices. **Planta Medica**, v.74, p. 699-711, 2008.
- IKUMA, N. E. M. et al. Investigation of genotoxic and antigenotoxic activities of *Melampodium divaricatum* in *Salmonella typhimurium*. **Toxicology in Vitro**, v. 20, p. 361–366, 2006.
- JEONG, T.J. et al. Isolation and characterization of a new compound from *Prunus mume* fruit that inhibits cancer cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2123–2128, 2006.
- JUDD, W. S. et al. Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 355-359.
- KONNO, K. Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 15-30, 2011.
- HAYASHI, M. et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 312, n. 3, p. 293-304, 1994.
- HAYASHI, M. et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. II. Some aspects of protocol design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 234-252, 2000.
- HELLER, J. Physic nut. (*Jatropha curcas* L.) Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops 1. **International Plant Genetic Resources Institute**, Roma. 1996. 66 p.

- KRISHNA, G.; HAYASHI, M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1, p. 155-166, 2000.
- KRISHNAN, P. R.; PARAMATHMA., M. Potentials and *Jatropha species* wealth of India. **Scientific Correspondence**, v. 97, p. 1000-1004, 2009.
- LANS, C. T. et al. Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad, **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, n. 10, 2001.
- MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 3, 2002.
- MARCHIORI, J. N. C. Elementos de dendrologia. 2º ed. – Santa Maria: Ed. UFSM, p. 176, 2004.
- MACGREGOR, J. T. et al. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 189, n. 2, p. 103-112, 1987.
- NATH, L. K; DUTTA, S. K. Wound healing response of the proteolytic enzyme curcain. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 24, p. 114–5. 1992.
- NAMASIVAYAM, N. Chemoprevention in experimental animal. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1215, p.60-71, 2011.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. Omega, 2009.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v. 19, n. 1, p. 1-15, 2000.
- OSONIYI, O.; ONAJOBI, F. Coagulant e antcoagulant activities in *Jatropha curcas* latex. **Journal of Ethnopharmacology**, v.89, p.101-105, 2003.
- RATHEE P. et al. 2009. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. **Inflammation Allergy Drug Targets**, v.8, n. 3, p. 229-235, 2009.
- RIBEIRO, L. R. **Teste do micronúcleo em medula óssea de roedores *in vivo***. In: Mutagênese Ambiental, Rio Grande do Sul: Ulbra, 2003. 355p.
- ROTHFUSS, A. et al. Improvement of in vivo genotoxicity assement: Combination of acut tests and intergration into standard toxicity testing. **Mutation Research/Genetic Toxixology and Environmental Mutagenesis**, v. 723, n. 2, p. 108-120, 2011.
- SANTOS, W. L. C.; FRANÇA, F. A.; LOPES, L. B.; SILVA, G., S.; AVELAR, K. E. S.; MORAES, S. R. Atividades farmacológicas e toxicológicas da *Jatropha curcas* (pinhão-manso). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 89, n. 4, p. 333-336, 2008.
- SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, V. 26, n. 229, p. 44-78, 2005.

- SCHIMD, W. The micronucleus test. **Mutation Research**, v. 31, n. 1, p. 9-15, 1975.
- SILVA, J.; FONSECA, M. B. Estudos toxicológicos no ambiente e na saúde humana. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.
- SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G, M. Triagem fitoquímica de plantas medicinais do cerrado da área de proteção ambiental municipal do Inhumum, Caxias, Maranhão. **Revista Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.
- SIMÕES et al., **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p.13-20.
- SOUZA, V. C; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- SMITH-HALL, C.; LARSEN, H. O.; POULIOT, M. People, plants and health: a conceptual framework for plant consumption. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 8, n. 43, 2012.
- THOMAS, O. O. Re-examination of the antimicrobial activities of *Xylopia aethiopica*, *Carica papaya*, *Ocimum gratissimum* and *Jatropha curcas*. **Fitoterapia**, v. 60, p. 147-155, 1989.
- THOMAS, R.; SAH, N. K.; SHARMA, P. B. Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mine review. **Current Pharm. Biotechnol.**, v.9, n.4, p. 315-324, 2008.
- TOSCANO RICO, J. M. **Plantas medicinais**. Academia das Ciências de Lisboa, Instituto de Estudos Acadêmicos para Seniores, Lisboa, 2011.
- VAN DEN BERG. et al. Curcacycline A: a novel cyclic octapeptide isolated from the latex of *Jatropha curcas* Linn. **FEBS Letters**, v. 358, p.215-218, 1995.
- VILLEGAS L. et al. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. **Journal Ethnopharmacol**, v. 55, n. 3, p. 193-200, 1997.
- VILLELA, I. V. et al. Bioensaios para Monitoramento de Genotoxicidade Ambiental. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance. 2003.
- VIJG, J.; CAMPISI, J. Puzzles, promises and a cure for ageing. **Nature**, v. 454, n. 7208, p. 1065, 2008.
- WATERS, M. D. et al. Activity profiles of antimutagens: in vitro and in vivo data. **Mutation Research**, v. 351, n. 1, p. 109-129, 1996.