

## INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL QUIMIOPROTETOR DA *Punica granatum*

PEREIRA, Enir Raquel Tavares<sup>1</sup>; PAULA, José Realino<sup>2</sup>; VALADARES, Marize Campos<sup>3</sup>

Palavras-chave: *Punica granatum*; micronúcleo; ciclofosfamida; quimioproteção

### 1 INTRODUÇÃO

*Punica granatum L.*, da família Punicaceae, é o nome científico da romãzeira, também conhecida popularmente como romeira. Dentre os fitoconstituintes presentes na planta, destacam-se flavonóides, antocianinas, taninos, alcalóides, ácido ascóbio, ácido púnico, punicina e ácido gálico (MOREIRA, 1985; BEN e AYED, 1996). Diversas propriedades terapêuticas atribuídas à romãzeira popularmente vêm sendo vastamente investigadas e inúmeros trabalhos científicos estão disponíveis na literatura corroborando o seu uso popular, como por exemplo, anti-inflamatória, anti-microbiana, hipoglicemiante, anti-oxidante, atividade imunomoduladora. Recentemente, a utilização terapêutica do extrato da romãzeira tem tomado outras dimensões; pesquisadores investigaram sua utilização como agente quimioprotetor e adjuvante no tratamento do câncer, o qual tem se mostrado promissor (KIM, *et al.*, 2002).

O teste de micronúcleo (MN) em medula óssea de roedores *in vivo* é amplamente aceito pelas agências internacionais e instituições governamentais, como parte da bateria de testes recomendada para se estabelecer a avaliação e o registro de novos produtos químicos e farmacêuticos que entram anualmente no mercado mundial por ser um método citogenético relativamente simples e rápido de avaliação de mutagenicidade induzida; avaliar os danos do cromossomo, uma vez que este método permite a avaliação confiável tanto da perda quanto da ruptura do cromossomo (FENECH, 2005). Este teste é capaz de revelar a ação de agentes clastogênicos (que quebram cromossomos) e aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) (Mac GREGOR *et al.*, 1987).

Devido ao grande potencial terapêutico a utilização da *Punica granatum* por seres humanos vem tendo um grande aumento, sem, no entanto, ter sido avaliado o seu potencial genotóxico. Diante disso, neste trabalho avaliamos o potencial mutagênico e quimioprotetor do extrato alcoólico da *Punica granatum* por meio do teste de micronúcleo.

### 2 METODOLOGIA

#### 2.1 Extrato alcoólico da *Punica granatum* (EPG)

As folhas da planta foram colhidas, secas, pulverizadas e maceradas em álcool etílico 95%. O solvente foi destilado em rotaevaporador a 40°C. O EPG foi administrado nos animais via oral 0,2 mL em diferentes doses: 12,5, 25, 50 e 75 mg/kg.

#### 2.2 Animais

Utilizamos camundongos Swiss, machos, idade de 5-7 semanas, fornecidos pela Indústria Química do Estado de Goiás (IQUIGO).

#### 2.3 Experimentos

Para a avaliação do potencial mutagênico, o EPG foi administrado em dose única em diferentes concentrações e 24 h após o tratamento, a medula óssea foi colhida para o estudo do MN. O potencial quimioprotetor do EPG por 10 dias, nas diferentes doses foi avaliado por dois protocolos experimentais: pré-tratamento seguido da exposição à CF e no pós-tratamento com a exposição a CF seguido do tratamento com EPG. Vinte e quatro horas após aos tratamentos, acima descritos, a medula óssea foi colhida para o estudo do MN. A Ciclofosfamida (CF) (200 mg/kg, i.p.), foi usada para indução de danos ao DNA para o estudo dos efeitos do EPG.

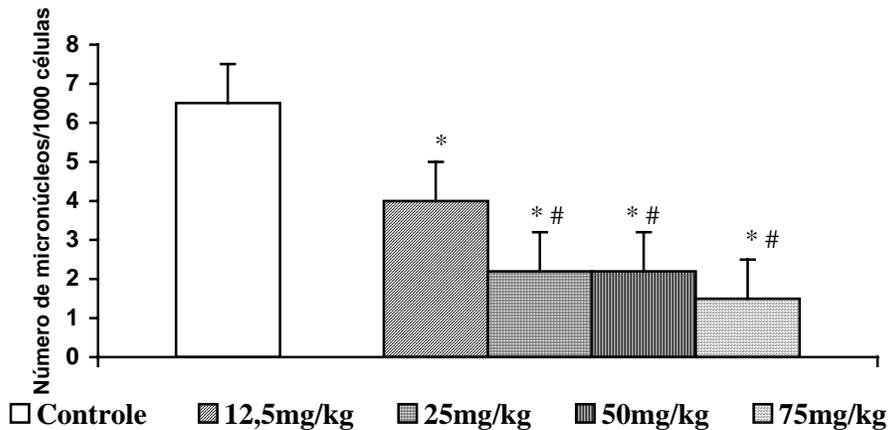
#### 2.4 Ensaio de micronúcleo

A medula óssea foi centrifugada por 5 minutos a 2000rpm, por duas vezes, e uma pequena gota do botão celular foi retirada para a realização do esfregaço. Após a secagem, foi

corado com Leishmann e as lâminas analisadas em teste cego (1000 eritrócitos por lâmina em triplicata).

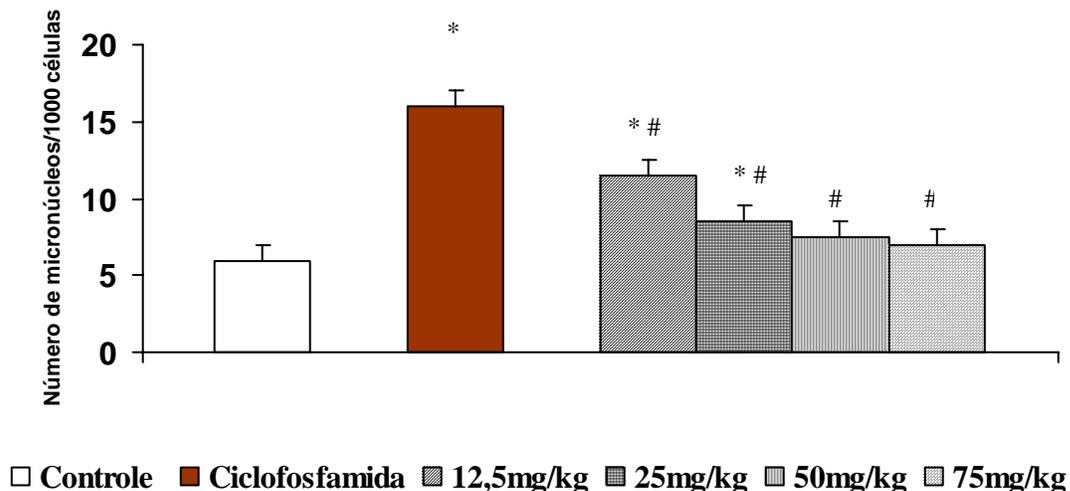
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados presentes na figura 1 demonstraram que a exposição de animais normais ao EPG em dose única não induziu a formação de MN's e produziu de forma dose-dependente uma redução significativa ( $P < 0,05$ ; ANOVA, teste Tukey) na frequência de células micronucleadas em comparação com os valores obtidos nos animais do grupo controle.



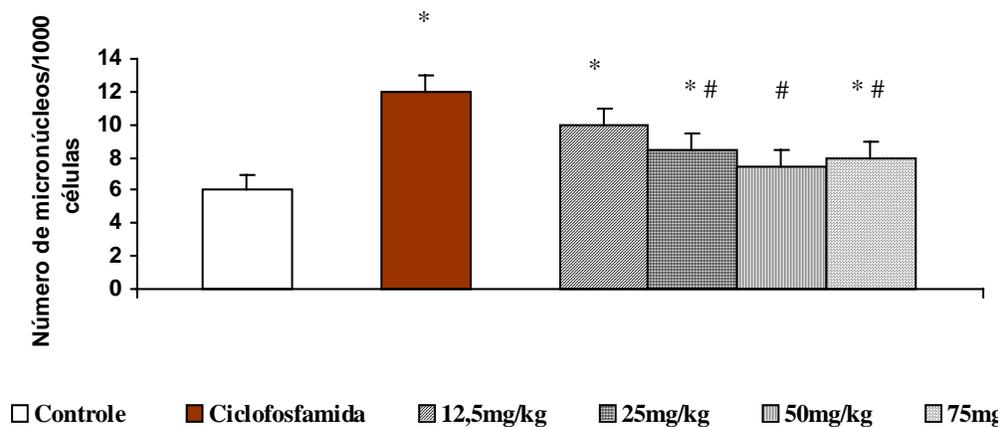
**Figura 1.** Avaliação da formação de micronúcleos em eritrócitos (1000/lâmina) de animais expostos a diferentes concentrações do extrato alcoólico de *Punica granatum*, p.o, em dose única. ANOVA, Teste de Tukey. \*  $P < 0,05$  em relação ao controle. #  $P < 0,05$  em relação à 12,5 mg/kg.

Os resultados apresentados na figura 2 demonstraram que a exposição de animais normais às diferentes concentrações do EPG, anterior a CF (pré-tratamento) produziu de forma dose-dependente uma redução na incidência de MN's, quando ao grupo CF. ( $P < 0,05$ ; ANOVA, teste Tukey). Além disso, nas doses de 50 e 75 mg/Kg o número de MN's foi equivalente ao controle.



**Figura 2.** Avaliação da formação de micronúcleos em eritrócitos de animais que receberam tratamento com diferentes concentrações (12,5, 25, 50,75mg/kg) do extrato alcoólico de *Punica granatum*, p.o, por dez dias e posteriormente expostos à ciclofosfamida (200mg/kg). ANOVA, Teste de Tukey. \*  $P < 0,05$  em relação ao controle. #  $P < 0,05$  em relação a ciclofosfamida.

Os resultados demonstraram um efeito protetor do EPG em relação ao potencial genotóxico da CF (figura 3). O EPG promoveu uma redução de forma dose-dependente, na incidência de micronúcleos em animais expostos a CF/tratados ( $P < 0,05$ ; ANOVA, teste Tukey).



**Figura 3.**

Avaliação da formação de micronúcleos em eritrócitos de animais que receberam a ciclofosfamida (200mg/kg) sendo posteriormente expostos à diferentes doses (12,5, 25, 50,75mg/kg) do extrato alcoólico de *Punica granatum*, p.o, por dez dias. ANOVA, Teste de Tukey. \*  $P < 0,05$  em relação ao controle. #  $P < 0,05$  em relação a ciclofosfamida.

#### 4. CONCLUSÃO / COMENTÁRIOS FINAIS

Diante dos resultados podemos concluir que o EPG nas diferentes concentrações empregadas não possui atividade clastogênica; produz de forma dose-dependente uma redução na freqüência de micronúcleos quando comparado ao grupo controle; promoveu uma redução significativa, de forma dose-dependente, na incidência de células micronucleadas em animais pré e pós tratados no modelo de indução de micronúcleos pela CF; no pré-tratamento com o EPG com posterior exposição a CF reduziu a incidência de MN's a valores encontrados no grupo controle.

Os dados aqui mencionados indicam um potencial quimioprotetor do EPG em prevenir e ainda reverter danos ao DNA.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEN NASR N.; AYED M: Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. *Z Lebensm Unters Forsch* 203: 374–378, 1996

FENECH M. In vitro micronucleus technique to predict chemosensitivity. *Methods Mol Med.*;111:3-32, 2005.

MacGregor, J.T, HEDDLE, J.A., HITE, M., MARGOLIN, B.H., RAMEL, C., SALAMONE, M.F., TICE, R.R. e WILD, D. guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research*, 189: 103-112, 1987.

MOREIRA, F. Hemus Editora Ltda, São Paulo, 1985

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC –

1 Bolsista de iniciação científica/ Faculdade de Farmácia-/Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas - NEPET-UFG, [ertavares@gmail.com](mailto:ertavares@gmail.com)

2 Profº.Dr.de Farmacognosia/Faculdade de Farmácia-Laboratório de Farmacognosia, [jrealino@farmacia.ufg.br](mailto:jrealino@farmacia.ufg.br)

3 Orientadora Faculdade de Farmácia- Laboratório de Cultura de Células, [mvcbozini@gmail.com](mailto:mvcbozini@gmail.com)