

Avaliação da atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes* (Eriocaulaceae) e dos compostos flavonoídicos 7-metoxilados relacionados

Moreira, R.R.D.^{1*}; Santos, L.E.¹; Varella, S.D.²; Varanda, E.A.²; Vilegas, W.³

¹Departamento de Princípios Naturais e Toxicologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas;

²Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas;

³Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química;
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, SP.

RESUMO: *Paepalanthus latipes* (Silveira) é uma das plantas brasileiras nativas da Serra do Cipó, Minas Gerais, conhecida como “sempre-vivas” e muito exportada para os Estados Unidos, Europa e Japão, por seu valor ornamental. Poucos resultados são relatados quanto à atividade biológica destas plantas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de *P. latipes* e de dois flavonóides 7-metoxilados dele isolados (7-metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo), através do teste de Ames, utilizando linhagens mutantes de *Salmonella typhimurium* TA98 e TA100. A atividade mutagênica das amostras testadas, em concentrações variando de 62,5 a 375 µg/placa, foi determinada com ativação metabólica (utilizando-se a fração microsomal S9) e na ausência dessa. Os resultados demonstraram que, tanto o extrato etanólico bruto de *P. latipes* quanto os flavonóides 7-metoxilados testados, não induziram atividade mutagênica nas linhagens TA98 e TA100.

Unitermos: Mutagenicidade; teste de AMES; *Paepalanthus latipes*; Eriocaulaceae; flavonóides; *Salmonella typhimurium*.

ABSTRACT: Mutagenicity evaluation of crude ethanolic extract of *Paepalanthus latipes* (Eriocaulaceae) and isolated 7-methoxyflavonoids. *Paepalanthus latipes* (Silveira) is one of the native Brazilian plants from Serra do Cipó, Minas Gerais, known as “sempre-vivas” which is exported to the United States, Europe and Japan because of its ornamental value. Few results were reported in relation to the biological activity of these plants. In this work, the mutagenicity of the crude ethanolic extract of *P. latipes* and isolated 7-methoxyflavonoids (7-methylquercetagetin and 7-methylquercetagetin-4'-O-β-D-glucopyranoside) was evaluated by using the Ames test with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains, at concentrations from 62.5 to 375 µg/plate, with and without metabolic activation (using microsomal S9 fraction). Results demonstrated that both the extract of *P. latipes* as well as the tested 7-methoxyflavonoids did not induce mutagenicity at the experimental tested conditions.

Keywords: Mutagenicity; AMES test; *Paepalanthus latipes*; Eriocaulaceae; flavonoids; *Salmonella typhimurium*.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais vem crescendo nas últimas décadas no Brasil. Entretanto, existe pouca informação quanto ao seu potencial de risco à saúde. Por conterem substâncias químicas conhecidas como mutagênicas e/ou carcinogênicas (VARGAS et al., 1990; VARANDA et al., 1997), muitas dessas plantas, constantemente, são correlacionadas com a alta frequência de doenças e tumores.

Em países desenvolvidos, as drogas vegetais são testadas e avaliadas seguindo-se normas e critérios similares àqueles estabelecidos para medicamentos sintéticos. No entanto, há pouca informação sobre a genotoxicidade de drogas vegetais. Contudo, a avaliação dos efeitos mutagênicos de compostos provenientes de plantas é, sem dúvida, uma atividade fundamental para a redução dos riscos de exposição a esses agentes.

Atualmente, as principais hipóteses sobre os mecanismos de ação de substâncias que provocam câncer estão baseadas na indução de mutações em células somáticas. Praticamente, todos os agentes mutagênicos químicos e físicos, capazes de provocar câncer e induzir danos no DNA celular, resultam na geração de mutações de diferentes tipos. Dessa forma, torna-se essencial dispor de métodos confiáveis, simples e rápidos, para avaliar corretamente o potencial cancerígeno de um material qualquer, seja através da indução de câncer em animais de laboratórios ou através da indução de mutações em diferentes modelos experimentais.

Entre as diferentes abordagens usadas para avaliar a atividade mutagênica de uma substância e, conseqüentemente, o seu potencial cancerígeno, está o teste de AMES ou teste com *Salmonella*/fração microsossomal de fígado de rato (MARON e AMES, 1983).

O teste de AMES caracteriza-se pela utilização de linhagens indicadoras de *Salmonella typhimurium*, sensíveis a substâncias capazes de induzir diferentes tipos de mutação. Na presença de agentes mutagênicos, estas linhagens revertem seu caráter de auxotrofia para a síntese de histidina e passam a formar colônias em um meio desprovido deste aminoácido. Desta forma, através da contagem de colônias por placa, é possível estabelecer a ação mutagênica de um composto em função de sua concentração.

Os flavonóides são, provavelmente, a maior classe de metabólitos secundários vegetais, e apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, incluindo freqüentemente atividade mutagênica e, com menos freqüência, atividade antimutagênica.

Paepalanthus latipes (Silveira) é uma das plantas brasileiras nativas da Serra do Cipó, Minas Gerais, conhecida como “sempre-viva” e que são exportadas, sem muito controle, para os Estados Unidos, Europa e Japão, onde são usadas para fins ornamentais. De acordo com trabalhos já realizados com algumas espécies da família Eriocaulaceae, como *P. latipes*, as principais classes de constituintes químicos isolados dessas plantas são: flavonóides, isocumarinas, esteróides, entre outras (SALATINO et al., 1988, 1990; DOKKEDAL e SALATINO, 1992; NEHME, 1997; ANDRADE et al., 1999; VILEGAS et al., 1999a, 1999b; BOSQUEIRO et al., 2000). Porém, poucos resultados foram relatados quanto à atividade biológica dessas plantas.

Dados da literatura apontam a quercetina, um flavonóide freqüentemente isolado de inflorescências de plantas, como detentor de uma importante atividade mutagênica, quando submetido ao teste de AMES, com ativação microsossomal em linhagens de *Salmonella typhimurium*, que detecta substituição de pares de bases do DNA (TA100) e mutações do tipo *frameshift* (TA98) (BJELDANES e CHANG, 1977; MacGREGOR e JURD, 1978; VARGAS et al., 1990).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a mutagenicidade do extrato etanólico bruto de *P. latipes* e de dois flavonóides 7-metoxilados dele isolados (7-metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo), utilizando-se o teste de AMES.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

A planta utilizada foi coletada na Serra do Cipó, Minas Gerais e identificada pelo Professor Dr. Paulo Takeo Sano, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. A exsicata desta planta foi depositada no herbário do Instituto de Botânica, USP, sob o registro SPF/CFSC 13.846.

Preparo do extrato

Escapos de *P. latipes* foram secos a 60 °C, em estufa com circulação de ar, por uma semana. O material resultante foi macerado, também, por uma semana à temperatura ambiente usando etanol 96%. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida.

Fracionamento do extrato para obtenção e isolamento dos flavonóides

O fracionamento do extrato etanólico 96% de *P. latipes* por permeação em gel foi realizado em coluna utilizando-se Sephadex LH-20 (Pharmacia) e metanol como eluente. Através de cromatografia em camada delgada comparativa [fase móvel: CHCl₃: MeOH: H₂O (43: 37: 20 v/v/v) fase inferior], visualização sob luz UV e revelação com NP/PEG (WAGNER et al., 1984) e obtenção de espectros de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas (Electrospray-MS), foi possível a identificação das substâncias 7-metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo (NEHME, 1997) (Figura 1).

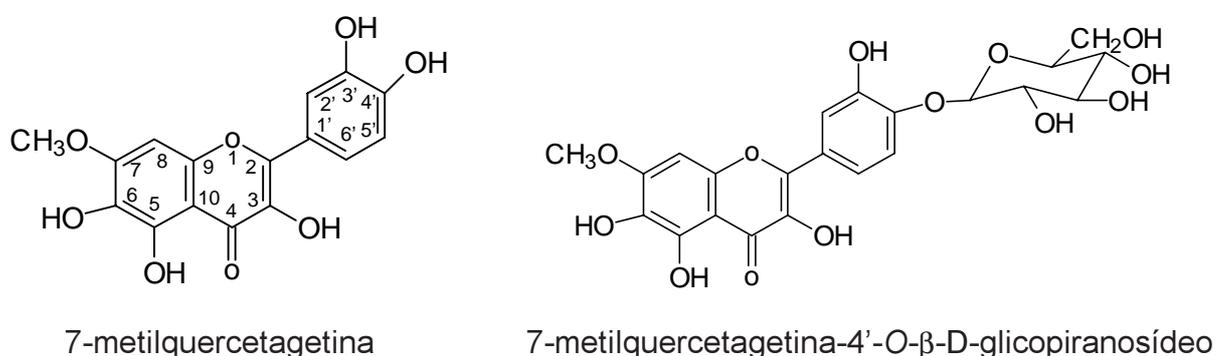


Figura 1. Estruturas dos flavonóides 7-metoxilados isolados do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes*, Eriocaulaceae.

Diluição das amostras

Utilizou-se 5,0 mg dos flavonóides 7-metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo e do extrato etanólico bruto de *P. latipes*, dissolvidos em 1,0 ml de dimetilsulfóxido (DMSO).

Linhagens utilizadas

Foram utilizadas as linhagens TA100 e TA98 de *Salmonella typhimurium*, gentilmente cedidas pelo Dr. Bruce Ames da Universidade da Califórnia, Berkeley. A linhagem TA100, que

detecta mutágenos causadores da substituição de pares de bases no DNA, contém uma mutação no gene *hisG* (*hisG46*), que codifica para a primeira enzima da biossíntese da histidina, tendo o par GC como ponto preferencial para a reversão. A cepa TA98 apresenta mutação no gene *hisD* (*hisD3052*), que codifica para a histidinol desidrogenase, apresentando como ponto preferencial para a reversão oito resíduos repetitivos de GC e detecta compostos mutagênicos que causam deslocamento do quadro de leitura do DNA.

Manutenção e estoque das cepas de *Salmonella typhimurium*

As cepas de *S. typhimurium* ficaram estocadas em tubos para congelamento (1,5 ml), a -70 °C, para que todas as suas características genéticas se mantivessem inalteradas. Para cada 0,9 ml de cultura, foi adicionado 0,1 ml de DMSO, como substância crioprotetora.

Verificação das características genéticas das cepas de *Salmonella typhimurium*

As características genéticas das cepas de *S. typhimurium* foram checadas, rotineiramente, antes do preparo dos estoques para congelamento. A dependência da histidina, a presença de mutação *rfa*, a presença de deleção *uvrB* e a presença de plasmídios de resistência foram verificadas de acordo com MARON e AMES (1983).

Taxa de reversão espontânea

A reversão espontânea das cepas teste para independência à histidina foi checada rotineiramente, sendo que a frequência de reversão é característica de cada cepa. As colônias revertentes prototróficas para a histidina são facilmente visíveis em placas de ágar mínimo glicosado, com traços de histidina e biotina, em contraste com as colônias auxotróficas, que formam uma fina camada do crescimento bacteriano (*background*).

Preparo dos inóculos de *Salmonella typhimurium* utilizados no ensaio

Semeou-se com auxílio de uma alça de inoculação, uma pequena quantidade da cultura estoque congelada em 30 ml de caldo nutriente (Oxoid n. 2). Incubou-se a 37°C, por 12-16 horas, em banho-maria, com agitação (160 rpm) de modo a obter uma densidade de $1,2 \times 10^9$ bactérias/ml. Após crescimento, manteve-se a cultura sob refrigeração durante o período em que não estava sendo utilizada.

Preparo da mistura da fração microssomal S9

Foi utilizada a fração microssomal S9 homogeneizada de fígado de rato (fração pós-mitocondrial, suplementada com um cofator, preparada a partir do fígado de roedores tratados com um agente indutor enzimático, arocloror 1254) (MOLTOX - Molecular Toxicology, USA). A fração S9 revela se o material em teste é mutagênico em sua forma original ou necessita ser metabolizado ou ativado para se tornar mutagênico. Para o preparo da mistura S9, todas as soluções (cloreto de magnésio 0,4M; cloreto de potássio 0,4M; glicose-6-fosfato 1M; β -nicotinamida adenina dinucleotidifosfato 0,1M; tampão fosfato 0,2M; pH 7,4 e água destilada), inclusive a fração S9 que foi hidratada, foram mantidas em banho de gelo durante todo o ensaio, preparadas sempre a fresco e utilizadas por um período de no máximo 3 horas.

Controles

Como controle negativo, utilizou-se DMSO, que foi o dissolvente das amostras. Incluiu-se, também, controles positivos para confirmar as propriedades de reversão e especificidade de cada cepa. Utilizou-se como controle positivo para a TA98, a 4-nitrofenilenodiamina (NPD) dissolvida em DMSO, numa concentração de 10 µg/placa. Para a cepa TA100, utilizou-se azida sódica, dissolvida em água bidestilada, numa concentração de 1,25 µg/placa, em ensaios sem ativação metabólica. Nos ensaios com ativação metabólica foi usada 2-antramina (2-ANTR) como mutágeno, numa concentração de 3 µg/placa para TA100 e TA98 .

Ensaio de mutagenicidade

De acordo com a metodologia de incorporação direta em placas, desenvolvida por MARON e AMES (1983), diferentes concentrações do extrato etanólico bruto de *P. latipes* e dos flavonóides (375; 250; 125 e 62,5 µg/placa) foram misturadas a 0,1 ml da cultura de bactérias e 2 ml de ágar superfície (*top agar*), suplementado com traços de histidina e biotina. Nos ensaios com ativação metabólica, foram adicionados também 0,5 ml da mistura S9. O conteúdo de cada tubo foi levemente homogeneizado e vertido sobre a superfície de uma placa contendo ágar mínimo glicosado. Após a solidificação do *top agar*, as placas foram incubadas por 48 horas, a 37°C. Após esse período, procedeu-se a contagem do número de colônias revertentes por placa. O ensaio foi realizado em triplicata.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o programa estatístico Salanal, elaborado e gentilmente cedido pelo Dr. L. Myers do Research Triangle Institute, RTP, North Caroline, USA. Esse programa permite avaliar o efeito dose-resposta através do cálculo da análise de variância (ANOVA-teste F) entre as médias do número de revertentes, nas diferentes doses testadas e o controle negativo, seguido de uma regressão linear. Foram calculadas, também, as razões de mutagenicidade para cada dose analisada, que é a média do número de revertentes na placa teste dividida pela média do número de revertentes por placa do controle negativo. A amostra é considerada positiva quando a razão de mutagenicidade for maior ou igual a 2, em pelo menos uma das doses testadas e, quando houver uma relação dose-resposta entre as concentrações testadas e o número de revertentes induzidos .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de mutagenicidade de curta duração, especialmente aqueles que utilizam linhagens bacterianas, são usados para detectar as propriedades mutagênicas de vários compostos. Desse modo, a análise da mutagenicidade de materiais de origem vegetal, avaliada através de ensaios com mutação gênica reversa em *Salmonella typhimurium*, é bem aceita, por ser um método adequado para demonstrar a exposição dos usuários a compostos mutagênicos, que fazem parte da composição química de algumas plantas utilizadas popularmente.

O metabolismo destes compostos, como por exemplo, o de alguns flavonóides, como a quercetina, também é muito importante e essencial à resposta do organismo. Certas substâncias, que pelo método de determinação de mutagenicidade na ausência de ativação metabólica não

apresentavam mutagenicidade, passam a apresentá-la na presença de metabolização (WALL et al., 1988). Esses mesmos autores demonstraram que flavonóides, como quercetina, 3-metilquercetina e luteolina, apresentam ação mutagênica sem ativação metabólica, sendo que com ativação metabólica essa ação é ainda maior, e que a presença de hidroxilas livres no anel B e de uma hidroxila livre em C3 é essencial para essa atividade. MacGREGOR e JURD (1978) já haviam demonstrado, através de um trabalho realizado com alguns flavonóides (quercetina, canferol, 3-metilquercetina e 7, 4'-dimetilquercetina), que a atividade mutagênica de flavonóides está relacionada com a presença de grupos hidroxilas livres em C3' e C4' no anel B, de uma hidroxila livre em C3 e de uma dupla ligação entre C2 e C3.

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos, indicando média e desvio padrão do número de revertentes his+/placa, para o grupo controle, flavonóides testados (7-metilquercetina e 7-metilquercetina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo) e extrato etanólico bruto de *P. latipes*, nas diferentes concentrações testadas, com linhagens de *S. typhimurium* TA98 e TA100, na presença e ausência de ativação metabólica. A Tabela 2 apresenta as razões de mutagenicidade (RM). Verifica-se que não ocorreu aumento da frequência de mutantes revertentes com o aumento da concentração e as razões de mutagenicidade foram todas menores que 2, indicando ausência de atividade mutagênica.

Com relação aos flavonóides 7-metilquercetina e 7-metilquercetina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo, ambos apresentam grupo hidroxila livre em C3 e nenhum deles apresenta ação mutagênica, com ou sem ativação metabólica. Portanto, os resultados são diferentes daqueles apresentados por WALL et al. (1988) e MacGREGOR e JURD (1978). As estruturas químicas das substâncias testadas no presente trabalho diferem em alguns pontos. Os flavonóides 7-metilquercetina e 7-metilquercetina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo apresentam a posição 7 metoxilada (não livre), além da posição 6 oxigenada, o que não ocorre nos flavonóides quercetina, 3-metilquercetina e luteolina, estudados por WALL et al. (1988). Além disso, o flavonóide 7-metilquercetina apresenta duas hidroxilas livres em C3' e C4' e, também, não apresenta atividade mutagênica.

Assim, os resultados obtidos nesse trabalho, associados àqueles de WALL et al. (1988) e MacGREGOR e JURD (1978), sugerem que a ação mutagênica de flavonóides está relacionada ao tipo de substituição do anel A.

Outros extratos e substâncias, obtidos de outras espécies de *Paepalanthus*, devem ser testados, levando-se em consideração vários parâmetros biológicos.

Tabela 1. Mutagenicidade do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes* e dos flavonóides 7- metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo, com (+S₉) e sem (-S₉) ativação metabólica para duas linhagens de *Salmonella typhimurium* (T98 e TA100).

Revertentes/placa em linhagens de <i>S. typhimurium</i>				
Tratamento	TA98		TA100	
(μg/placa)	- S ₉	+S ₉	- S ₉	+S ₉
Extrato etanólico bruto de <i>P. latipes</i>				
0	22 ± 2,08	26 ± 4,04	156 ± 9,81	234 ± 15,27
62,5	18 ± 2,64	22 ± 1,73	146 ± 7,55	173 ± 6,66
125	18 ± 6,55	24 ± 8,08	146 ± 6,51	220 ± 2,64
250	17 ± 4,04	25 ± 7,09	147 ± 3,21	210 ± 18,77
375	17 ± 5,51	21 ± 2,31	147 ± 7,86	195 ± 5,51
C+	1631 ± 303,90	2220 ± 70,51	1891 ± 117,05	2630 ± 129,50
7-metilquercetagetina				
0	25 ± 3,3	33 ± 4,58	153 ± 23,24	127 ± 7,77
62,5	25 ± 7,23	22 ± 5,57	155 ± 19,31	166 ± 3,21
125	20 ± 6,11	28 ± 3,78	181 ± 11,15	156 ± 16,07
250	27 ± 6,66	25 ± 10,11	193 ± 8,33	152 ± 13,65
375	25 ± 5,51	22 ± 6,08	189 ± 10,70	138 ± 7,77
C+	2115 ± 870,90	2305 ± 158,51	1504 ± 235,40	2630 ± 129,50
7-metilquercetagetina-4'-O-β- D-glicopiranosídeo				
0	36 ± 4,93	33 ± 4,58	106 ± 4,51	126 ± 7,77
62,5	46 ± 4,72	27 ± 4,62	116 ± 14,60	141 ± 18,50
125	47 ± 2,90	25 ± 1,00	113 ± 11,10	145 ± 28,02
250	40 ± 5,03	31 ± 6,24	105 ± 3,51	187 ± 74,85
375	41 ± 3,51	22 ± 4,58	126 ± 14,98	138 ± 25,17
C+	2276 ± 122,44	2305 ± 158,51	1450 ± 40,86	2630 ± 129,50

Valores apresentados como média ± desvio padrão. 0 = dimetilsulfóxido; controle positivo (C+): TA98 (-S₉) → nitrofenilenodiamina (NPD); TA98 (+S₉) → 2-antramina (2-ANTR); TA100 (-S₉) → azida sódica (AS); TA100 (+S₉) → 2-antramina (2-ANTR).

Tabela 2. Razão de mutagenicidade (RM) do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes* e dos flavonóides 7-metilquercetagetina e 7-metilquercetagetina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo, com (+S₉) e sem (-S₉) ativação metabólica para duas linhagens de *Salmonella typhimurium* (TA98 e TA100).

Razão de Mutagenicidade (RM)				
Tratamento	TA98		TA100	
(μg/placa)	- S ₉	+S ₉	-S ₉	+S ₉
Extrato etanólico bruto de <i>P. latipes</i>				
62,5	0,83	0,85	0,93	0,80
125	0,83	0,92	0,93	1,00
250	0,77	0,97	0,94	1,00
375	0,80	0,89	0,94	1,00
7-metilquercetagetina				
62,5	0,97	0,67	1,01	1,31
125	0,78	0,86	1,19	1,23
250	1,08	0,77	1,27	1,20
375	0,80	0,89	1,24	1,09
7-metilquercetagetina-4'-O-β- D-glicopiranosídeo				
62,5	1,30	0,83	1,09	1,12
125	1,32	0,76	1,06	1,14
250	1,13	0,94	0,99	1,48
375	1,14	0,67	1,18	1,09

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Marisa Fernandes, do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, F. D. P.; SANTOS, L. C.; DOKEDAL, A. L.; VILEGAS, W. Acyl glucosylated flavonols from *Paepalanthus* species. *Phytochemistry*, v. 52, p. 411-415, 1999.
- BJELDANES, L. F.; CHANG, G. W. Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science*, v. 197, n. 4303, p. 547-548, 1977.

BOSQUEIRO, A. L. D. *Estudo fitoquímico e implicação taxonômica em Paepalanthus Mart.* (Eriocaulaceae). Araraquara, 93p. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2000.

DOKKEDAL, A. L.; SALATINO, A. Flavonoids of Brazilian species of *Leiothrix* (Eriocaulaceae). *Biochemical and Systematic Ecology*, v. 20, p. 31-32, 1992.

MacGREGOR, J. T.; JURD, L. Mutagenicity of plant flavonoids: structural requirements for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research*, v. 54, p. 297-309, 1978.

MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, v. 113, p. 173-215, 1983.

NEHME, C. J. *Estudo químico de plantas da família Eriocaulaceae - Escapos - P. bromelioides e P. latipes.* Araraquara, 73p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 1997.

SALATINO, M. L. F.; PEREIRA, H. A. B.; SALATINO, A.; GIULIETTI, A. M. Alcanos dos capítulos de algumas espécies de Eriocaulaceae. *Boletim Botânico da Universidade de São Paulo*, v. 10, p. 55-64, 1988.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L.; GIULIETTI, A. M. Contents of soluble phenolic compounds of capitula of Eriocaulaceae. *Química Nova*, v. 13, p. 289-292, 1990.

VARANDA, E. A.; RADDI, M. S. G.; DIAS, F. L.; ARAÚJO, M. C. P.; GIGRAN, S. C. A.; TAKAHASHI, C. S.; VILEGAS, W. Mutagenic and cytotoxic activity of an isocoumarin (paepalantine) isolated from *Paepalanthus vellozioides*. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, v. 17, p. 85-95, 1997.

VARGAS, V. M. F.; MOTTA, V. E. P.; LEITÃO, A. C.; HENRIQUES, J. A. P. Mutagenic and genotoxic effects of aqueous extracts of *Achyrocline satureioides* in prokaryotic organisms. *Mutation Research*, v. 240, p. 13-18, 1990.

VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L.; RASTRELLI, L.; PIACENTE, S.; PIZZA, C. New naphthopyranone glycosides from *Paepalanthus vellozioides* and *P. latipes*. *Journal of Natural Products*, v. 62, p. 746-749, 1999a.

VILEGAS, W.; NEHME, C. J.; DOKKEDAL, A. L.; PIACENTE, S.; RASTRELLI, L.; PIZZA, C. Quercetagenin 7-methyl ether glycosides from *Paepalanthus vellozioides* and *P. latipes*. *Phytochemistry*, v. 51, p. 403-409, 1999b.

WAGNER, H.M.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. *Plant drug analysis*. Berlin: Springer, 1984.

WALL, M. E.; WANI, M. C.; GAETANO, K.; MANIKUMAR, G.; TAYLOR, H.; MCGIVNEY, R. Plant antimutagenic agents, 4. Isolation and structure elucidation of maesol, an inactive constituent of *Maesa* spp. *Journal of Natural Products*, v. 51, p. 1226-1231, 1988.

Recebido para publicação em: 20/03/2002

Aceito para publicação em: 24/07/2002.

***Autor para correspondência:**

Profa. Dra. Raquel Regina Duarte Moreira
Laboratório de Farmacognosia
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho — UNESP
Rodovia Araraquara — Jaú, Km 1, Caixa Postal 502
14801-902 — Araraquara, SP
E-mail: moreirar@fcfar.unesp.br