



Avaliação do potencial mutagênico e citotóxico de extratos aquosos da planta medicinal *Turnera ulmifolia* L. (Chanana) em camundongos.

Evaluation of the mutagenic and cytotoxic potential of aqueous extract of the medicinal plant Turnera ulmifolia L. (Chanana) in mice.

Zuleice Viana da Silveira

Doutora em Genética/USP e Professora da FAI

Kelly Cristina Lopes

Bolsista de Iniciação Científica

André Takahashi

Estagiário de Iniciação Científica

Sílvia H. V. Perri

Doutora em Estatística/UNICAMP e Professora Araçatuba - UNESP

Resumo

A Chanana (*Turnera ulmifolia* L.) é utilizada em grande escala, principalmente, pela população da região do Maranhão e é popularmente indicada para melhorar as defesas do organismo. Estudos fitoquímicos demonstraram que o extrato hidroalcoólico de suas partes aéreas tem atividade anti-inflamatória em camundongos. Considerando-se que extratos aquosos de determinadas plantas são misturas que podem ser mutagênicas ou antimutagênicas, o objetivo deste trabalho foi estudar o potencial mutagênico e citotóxico dos extratos aquosos da Chanana no sistema de células da medula óssea de camundongos, através dos testes do micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (EPMN) e de metáfases para aberrações cromossômicas (AC). Foram utilizados camundongos isogênicos ZATA/br, de ambos os sexos, com, aproximadamente 60 dias de idade que constituíram cada grupo de tratamento. Animais tratados com Chanana (125, 250, 500 mg/kg - i.p.) foram sacrificados 24 e 48 horas após. Os tratados com água destilada (i.p.) e ciclofosfamida (20 mg/kg - i.p.) constituíram os

grupos controles negativo e positivo, respectivamente e foram sacrificados 24 horas após. A citotoxicidade foi determinada pela proporção entre EP e eritrócitos normocromáticos (EN) e através da comparação dos índices mitóticos. Os dados analisados pelo teste do Qui-quadrado revelaram não haver diferença significativa nas frequências de EPMN para quaisquer dos tratamentos em relação ao controle negativo ($P > 0,05$), bem como para toxicidade (índice mitótico), exceto para o controle positivo ($P < 0,05$). Embora os resultados sejam negativos nesse modelo experimental, são necessários estudos sobre os efeitos do princípio ativo dessa planta em outros sistemas de células, inclusive procariotos e humanos, para conclusões definitivas sobre o seu potencial mutagênico.

Palavras-chave

micronúcleo - aberração cromossômica - citotoxicidade - camundongo - *Turnera ulmifolia*.



Abstract

Chanana (*Turnera ulmifolia* L.) is used on a large scale especially by the population from the region of Maranhão and is popularly indicated for improvement of the body's defenses. Phytochemical studies have demonstrated that the water-alcohol extract of the aerial parts of the plant exerts an anti-inflammatory activity in mice. Since aqueous extracts of certain plants are mixtures that can be mutagenic or antimutagenic, the objective of the present study was to determine the mutagenic and cytotoxic potential of aqueous extracts of Chanana using the mouse bone marrow micronucleus test and the determination of chromosome aberrations in metaphases. Isogenic ZATA/br mice of both sexes, at approximately 60 days of age, were treated with Chanana (125, 250, and 500 mg/kg, i.p.) and sacrificed after 24 and 48 h. Animals treated with distilled water (i.p.) and cyclophosphamide (20 mg/kg, i.p.) and sacrificed after 24 h were used as negative and positive controls, respectively. Cytotoxicity was evaluated based on the proportion between polychromatic and normochromatic erythrocytes and by comparison of the mitotic index. Analysis of the data by the chi-square test revealed no significant difference in the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes between any of the treatments and the negative control ($P > 0.05$), or for toxicity (mitotic index), except for the positive control ($P < 0.05$). Although the results were negative in this experimental model, further studies regarding the effects of the active ingredient of this plant on other cell systems, including prokaryotes and humans, are necessary to reach definitive conclusions regarding its mutagenic potential.

Key-words

micronucleus - chromosome aberration - cytotoxicity - mice - *Turnera ulmifolia*

Introdução

Na medicina popular, o uso de extratos de plantas para tratamentos de doenças humanas é uma prática antiga que tem aumentado, consideravelmente, nos últimos anos. Entretanto, pouca informação se tem sobre os riscos desses produtos para a saúde. Há evidências de que várias plantas contêm compostos que causam doenças e mesmo a morte em animais e humanos (EVANS e OSMAN, 1974; KANGWANPONG e ARCECULE-RATNES, 1981; PANIGRAHI e RAO, 1990), ou que agem como mutágenos e/ou carcinógenos (HARTWELL e ABBOTT, 1969; AMES, 1982; PEREZ et al., 1984; SUGIMURA, 1986; SAKAMOTO-HOJO et al., 1988; SCHIMMER e KUHNE, 1990).

A *Turnera ulmifolia* L. pertence à família Turneraceae e é popularmente conhecida como Chanana. É um subarbusto silvestre de flores amareladas, encontrado, principalmente, em terrenos arenosos, freqüentemente cultivado em pátios e jardins e comum no nordeste do Brasil (Ceará, Pernambuco e Maranhão). É indicada popularmente, para melhorar as defesas do organismo e como anti-inflamatório.

Outras variedades e espécies do gênero *Turnera* com importância medicinal, são encontradas em outros países (México, Cuba, Bolívia, Costa Rica, Jamaica, Colômbia, Índia) e utilizadas como: expectorante, diurético, afrodisíaco, antipirético (ASPREY e THORNTON, 1955), abortivo (GARCIA-BARRIGA, 1975); no tratamento de espermatorrêia, otites e nefrites (FRYER, 1965; PEREZ et al., 1984), distúrbios digestivos (KRAIG 1976; WENIGER et al., 1986; IMANISHY et al., 1991), gonorréia (KOCH, 1936), amenorréia (AYENSU, 1978) e cólicas menstruais (ROIG e MESA, 1945).

Por outro lado, o extrato diclorometano, obtido a partir das folhas secas de *T. acuta*, apresentou concentração de 600 mg/placa (WALL et al., 1988) enquanto que, o etanólico obtido a partir de raízes secas de *T. blanchetiana* e das folhas de *T. diffusa*, apresentou atividade citotóxica em

células em cultura (NASCIMENTO et al., 1990).

Antônio (1996) mostrou que o extrato bruto hidroalcoólico (EBH) das partes aéreas da Chanana, em camundongo, apresenta LD₅₀ por via i.p., de 7,8 g/kg e, o extrato aquoso não mostrou toxicidade até 10 g/kg. Constatou também atividade anti-inflamatória tanto em modelos experimentais de edema da pata induzido em ratos, quanto em modelos de úlcera gástrica induzida por indometacina e ligadura do piloro, com doses de até 1 g/kg.

Tendo em vista o uso em grande escala da Chanana pela população da região nordeste, principalmente, do Maranhão, foi objetivo deste trabalho avaliar o potencial clastogênico e citotóxico do extrato dessa planta, em células do sistema de medula óssea de camundongos pelos testes do micronúcleo (MN) e de metáfases para detecção de aberrações cromossômicas.

Material e Métodos

Folhas e caules secos das partes aéreas da *T. ulmifolia* (Fig. 1), provenientes de São Luiz (MA) foram pesados e fervidos em água destilada, filtrados e o pH ajustado para 6,8. As diferentes concentrações foram obtidas de acordo com a proporção peso/volume, sendo mg de folha por ml de água destilada (PRESTON et al., 1987). A concentração mais alta foi obtida usando-se folhas e caules (3,5 g) em 100 ml de água destilada. As concentrações restantes foram obtidas por diluição em água destilada.



Fig. 1. *Turniera ulmifolia* L.

Camundongos isogênicos (ZATA/br) obtidos do Departamento de Ciências Básicas da FOA/UNESP, com aproximadamente oito semanas de idade receberam, via i.p., 0,5 ml do extrato aquoso nas seguintes concentrações: 124, 250 e 500 mg/kg de peso corporal. As amostras foram colhidas 24 e 48 horas após o tratamento, para cada uma das concentrações testadas, num total de seis grupos de seis animais cada (três de cada sexo). Os grupos controles negativo e positivo foram constituídos pelos mesmos números de animais e receberam, via i.p., 0,5 ml de água destilada e de ciclofosfamida (CP = 20 mg/kg), respectivamente. Foram sacrificados 24 horas após os tratamentos.

Foram utilizados os testes do micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (MACGREGOR et al., 1987) e o de metáfases para aberrações cromossômicas (FORD e HAMERTON, 1956).

Agentes clastogênicos ou que interferem na formação do fuso mitótico, alterando a distribuição equitativa dos cromossomos durante a divisão celular, podem ser detectados, pelo teste do micronúcleo, em mamíferos (HEDDLE, 1973).

Os micronúcleos (MN) resultam de fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos que se atrasam em relação aos demais em sua migração para os pólos da célula na anáfase, após a ação de determinadas substâncias químicas. Assim, eritrócitos jovens são policromáticos (RNA-positivos) e coram-se em azul o que permite contarmos os micronúcleos apenas nesse tipo de célula.

Nas células em metáfase os cromossomos são visíveis ao microscópio óptico quando corados com Giemsa, por estarem num alto grau de condensação. As células que forem atingidas por um agente mutagênico durante a intérfase, apresentarão alterações cromossômicas na metáfase que poderão ser analisadas qualitativa e quantitativamente. A medula óssea de mamíferos é excelente material para estudo de aberrações cromossômicas (AC) induzidas por drogas, visto



que suas células levam de 22 a 24 horas para completar um ciclo de divisão (DATTA et al., 1970).

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, cada fêmur de um animal, foi destinado a um dos testes, de tal modo que foram analisadas as frequências de MN e de AC no mesmo animal.

As lâminas preparadas para os dois testes foram examinadas ao microscópio óptico com objetiva de imersão de aumento 100X. Para detectar a ação clastogênica pelo teste do MN, foi contado o número células com MN em 2000 EP por animal. A ação citotóxica foi determinada pela proporção de EP/EN (eritrócitos normocromáticos) em 2000 células por animal. Na análise microscópica, artefatos foram excluídos de acordo com o critério de Schmid (1975).

O número de AC (falhas, quebras cromatídicas e isocromatídicas e fragmentos) foi determinado em 100 células por animal e o índice mitótico (medida da citotoxicidade) correspondeu à frequência de células em metáfase em 1000 células por animal. Para os dois testes, as contagens foram feitas em teste cego.

O teste do Qui-quadrado (PEREIRA, 1991) foi utilizado para determinar as diferenças entre grupos controles e tratados submetidos ao teste do MN e, também, para comparar os índices mitóticos. A comparação das frequências de AC entre os grupos controles e tratados foi feita pelo teste de FISHER, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados

A tabela 1 mostra que o número de aberrações cromossômicas, bem como os índices mitóticos, não diferiram significativamente, entre os grupos tratados com *T. ulmifolia* e o grupo controle negativo ($P > 0.05$) nas diferentes concentrações e

tempos de exposição. Apenas no grupo controle positivo houve aumento significativo nas frequências de AC e diminuição do índice mitótico ($P < 0.05$).

Tabela 1 - Frequência de aberrações cromossômicas e índice mitótico em células da medula óssea de camundongos isogênicos Zata/Br tratados com extrato aquoso de *T. ulmifolia* (Chanana), ciclofosfamida e água destilada.

Tratamento	Dose mg/kg	Exposição (h)	Índice mitótico (%)	Tipos de aberrações				Células aberrantes	
				falha t	quebra i	fragmento c	total	(%)	
Água	-	24	1,42	1	0	1	0	2	0,33
CP	20	24	0,90	42	13	12	8	75	35,00*
	125	24	1,72	6	0	1	1	8	0,33
Chanana	250	24	1,60	2	0	0	0	2	0,33
	500	24	1,60	1	0	1	0	2	0,50
	125	48	1,53	1	1	0	0	2	0,50
Chanana	250	48	1,60	1	0	0	0	1	0,33
	500	48	1,60	1	0	0	0	1	0,33

* $P < 0.05$, teste de Fisher. c = cromatídica; i = isocromatídica; CP = ciclofosfamida

Ao contrário do que ocorreu no grupo controle positivo (CP = 20 mg/kg), onde se constatou mais de um tipo de aberração cromossômica por célula, nos demais grupos tratados cada célula apresentou apenas um tipo de AC.

A tabela 2 mostra que as frequências de EPMN e as proporções de EP/EN não diferiram, significativamente, entre o grupo controle negativo ($P > 0.05$) e os grupos tratados com *T. ulmifolia* nas concentrações utilizadas e nos diferentes tempos de exposição. Apenas o grupo controle positivo apresentou aumento significativo ($P < 0.05$) nas frequências de EPMN.



Tabela 2 - Frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos da medula óssea de camundongos isogênicos Zata/Br, tratados com extrato aquoso de *T. ulmifolia* L. (Chanana), ciclofosfamida e água destilada.

Tratamento	Dose mg/kg	Exposição (h)	EP/EN						Total	Frequência	MN/EP							
			Macho			Fêmea					Macho			Fêmea				
			1	2	3	1	2	3			1	2	3	1	2	3		
Água CP	20	24	504	468	420	504	463	442	2891	2901/12000=0,23%	5	2	3	0	2	3	15	15/12000=0,13%
		24	448	375	418	433	443	402	2537	2537/12000=0,21%	12	11	10	8	10	10	61	61/12000=0,51%
		24	326	508	488	473	473	444	2711	2711/12000=0,23%	2	2	2	4	2	3	17	17/12000=0,14%
Chanana	125	24	491	430	463	485	479	469	2816	2816/12000=0,23%	3	3	1	2	1	2	12	12/12000=0,10%
		24	436	506	560	488	479	470	2919	2919/12000=0,24%	4	5	3	2	3	4	21	21/12000=0,18%
		24	498	501	480	450	494	447	2680	2680/12000=0,22%	2	2	2	2	1	3	12	12/12000=0,10%
Chanana	250	48	480	516	523	488	480	453	2968	2968/12000=0,25%	4	2	4	2	4	2	18	18/12000=0,15%
		48	536	455	479	472	544	464	2961	2961/12000=0,25%	4	4	5	5	1	7	26	26/12000=0,22%
		48	498	501	480	450	494	447	2680	2680/12000=0,22%	2	2	2	2	1	3	12	12/12000=0,10%

* $P < 0,05$, qui-quadrado (PEREIRA, 1991). EP = eritrócito policromático; EN = eritrócito normocromático; MN = micronúcleo; CP = ciclofosfamida.

Discussão e Conclusões

Extratos aquosos das partes aéreas de *T. ulmifolia*, nas concentrações e tempos de exposição utilizados no presente experimento, não induziram aumento significativo nas frequências de AC e de EP/MN em células da medula óssea de camundongos isogênicos ZATA/br (tabelas 1 e 2). Além disso, não alteraram os índices mitóticos nem as proporções de EP/EN, sugerindo não serem clastogênicos e tampouco citotóxicos. Resultados semelhantes foram obtidos com extratos de outras plantas medicinais, como: *Lufa operculata* (MEDEIROS E TAKAHASHI, 1987), *Stryphnodendron obovatum* BENTH (VICENTINI-DIAS e TAKAHASHI, 1993), *Pogostemon heyneanus* BENTH e *Alpinia nutans* ROSC (DIAS e TAKAHASHI, 1994) nas frequências de AC em células do sistema de medula óssea de ratos Wistar.

Muitos extratos de plantas têm mostrado efeito antimutagênico contra potentes mutágenos (SASAKI et al., 1990; RENNER, 1990; IMANISHI et al., 1991; WRONG et al., 1992). O extrato das sementes de *T. ulmifolia* apresenta uma grande quantidade de lipídios, sendo a maior concentração de ácido linoléico (HOSAMANI, 1992), um ácido graxo cuja ação antimutagênica foi demonstrada em hamsters tratados com o mutágeno busulfan (RENNER e DELINCEE, 1988).

Os resultados obtidos no presente trabalho revelam que nas condições experimentais utilizadas, a espécie estudada não é mutagênica. Por outro lado, sugere a necessidade de estudos sobre o seu potencial antimutagênico. Além disso, considerando-se as ações farmacológicas dos princípios ativos presentes no EBH da *T. ulmifolia* em modelos de inflamação e dor (ANTÔNIO, 1996), é inegável a importância de estudos sobre a ação dos mesmos no material genético. Tais estudos, em andamento, não se restringirão ao sistema de células utilizado no presente trabalho, mas também, deverão estender-se a outros, como procaríotos e linfócitos humanos em cultura.

Agradecimentos

Aos Servidores do Departamento de Ciências Básicas (FOA/UNESP): Sandra Aparecida dos Santos Pinheiro, Ilda Araújo Teixeira, André Luiz Matos Piedade e ao estagiário Edilson Ervolino pelo apoio na parte laboratorial. À Fundação De Amparo À Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Fundação para o Desenvolvimento da UNESP (FUNDUPESP) pelo suporte financeiro. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) concedida à Kelly Cristina Lopes.



Referências

- AMES, N. Dietary carcinogens and anticarcinogens. **Science**, 221: 1256-1265, 1983.
- ANTÔNIO, M. A. *Ações farmacológicas gerais da Turnera ulmifolia L. sobre a resposta inflamatória*. Campinas: UNICAMP, 1996, 630p. Originalmente apresentado como Dissertação de Mestrado, Faculdades de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.
- ASPREY, G. F.; THORNTON, P. Medicinal plants of Jamaica. Part IV. **West Indian Med. J.** 4:145-165, 1955.
- AYENSU, E. S. **Medicinal plants of the west indies**. Manuscript, 110p., 1978.
- DATTA, P. K.; FRIGGER, H.; SCHLEIERMACHER, E. The effect of chemical mutagens on the mitotic chromosomes of the mouse *in vivo*. In: F. VOGEL e B. ROHRBORN (ed.). **Chemical Mutagenesis in mammals and man**. Springer-Verlag New York, p. 194-213, 1970.
- DIAS, F. D.; THAKAHASHI, C. S. Cytogenetic evaluation of the effect of aqueous extracts of the medicinal plants *Alpinia nutans* ROSC (ZINGIBERACEAE) and *Pogostemon heyneanus* BENTH (LABIATAE) on wistar rats and *Allium cepa* LINN (LILIACEAE) root tip cells. **Rev. Bras. Genet.**, 17: 175-180, 1994.
- EVANS, L. A.; OSMAN, M. A. Carcinogenicity of bracken and shikimic acid. **Nature**, 250: 348-349, 1974.
- FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicines hypotonic citrate, squash sequence form mammalian chromosomes. **Stain Technol.**, 31:247-251, 1956.
- FRYER, F. A. A chemical investigation of Damiana (*Turnera diffusa*). **Specialites**, 112: 21, 1965.
- GARCIA-BARRIGA, H. **Flora medicinal de Colombia**, v.2/3, Universidad Nacional, Bogotá, 1975.
- HARTWELL, J.; ABBOTT, B. J. Antineoplastic principles in plants: Recent development in the field. **Adv. Pharmacol. Chemoter**, 7:117-208, 1969.
- HOSAMANI, K. M. Fatty acids in seed oil from *Turnera ullmifolia* **Phytochemistry**, 345:1363-1365, 1993.
- IMANISHI, H., SASAKI, Y. F., OHTA, T., WATANABE, M., KATO, T. e SHIRASU, Y. Tea tannin components modify the induction os siste-chromatid exchanges and chromosome aberration in mutagen treated cultured mammalian cells and mice. **Mutat. Res.**, 259:79-87, 1991.
- ISHIKURA, N. Flavonol glycosides in the flowers of *Hiscus mutabilis* v. *versicolor*. **Agr. Biol Chem.**, 46:1705-1706, 1982.
- KANGWANPONG, D, ARCECULERATNES, S. N. e SIRISINHA, S. Clastogenic effect of aqueous extracts of palmyrah (*Borassus flabellifer*) flower of human blood lymphocytes. **Mutat. Res.**, 46:63-68, 1981.
- KOCH, L. Drug collection from Bolivia. Systematically, anatomically and chemically examined. **Arch. Pharm.**, 274:343-369, 1926.
- KRAG, K. J. **Plants used as contraceptives by the North American Indians. An ethnobotanical study**. Thesis-BS-Harvard University, 117p., 1976.
- MACGREGOR, J. T.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. G.; TICE, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutat. Res.**, 189:103-112, 1987.
- MEDEIROS, M. G.; TAKAHASHI, C. S. Action of *Luffa operculata* (CURCUBITACEAE) on the chomosomes of wistar rats. **Cytologia**, 52:261-265, 1987.



- NASCIMENTO, S. C.; CHIAPPETA, A. A.; LIMA, R. M. O. C. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**, 614: 353-355, 1990.
- PANIGRAHI, G. B. e RAO, A. R. Chromosome-breaking ability of arecoline, a major betel-nut alkaloid, in mouse bone-marrow cells "in vivo". **Mutat. Res.**, 102:197-204, 1982.
- PEREIRA, A. B. Testes estatísticos para comparar proporções em problemas de citogenética. In: RABELLO-GAY, M. N.; REGINA-RODRIGUES, M. N.; MONTELEONE, R. (ed.) **Mutagenese, Carcinogênese e Teratogênese: Métodos e Critérios de Avaliação**. Rev. Bras. Genet. Ribeirão Preto, SP, p. 113-121, 1991.
- PEREZ, R. M.; OCEGUEDA, G. A.; MUNOZ, J. L.; AVILA, J. G.; MORROW, W. W. A study of the hypoglucemic effect of some Mexican plants. **J. Ethnopharmacol.**, 123:253-262, 1984.
- PRESTON, R. J.; DEAN, B. J.; GALLAWAY, S.; HOLDEN, H.; McFEE, A. F.; SHEIBY, M. Mammalian "in vivo" cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. **Mutat. Res.**, 189:157-165, 1987.
- RENNER, H. W. "In vivo" effects of single or combined dietary antimutagens on mutagen-induced chromosomal aberrations. **Mutat. Res.**, 244:185-188, 1990.
- RENNER, H. W. e DELINCEE, H. Different antimutagenic actions of linoleic - and linoleic acid derivatives on busulfan-induced genotoxicity in chinese hamsters. **Nutrit. Res.**, 8:635-642, 1988.
- ROIG, Y. e MESA, J. T. In: **Plantas medicinales, aromáticas e venenosas de Cuba**. Ministerio da Agricultura, Republica de Cuba, Havana, 872 p., 1945.
- SAKAMOTO-HOJO, E. T.; TAKAHASHI, C. S.; FERRARI, I.; MOTIDOME, M. Clastogenic effect of the plant alkaloid ellipticine on bone marrow of wistar rats and human peripheral blood lymphocytes. **Mutat. Res.**, 199: 11-19, 1988.
- SASAKI, Y. F.; MATSUMOTO, K. M.; IMANISHI, H.; WATANABE, M.; OHTA, T.; SHIRASU, Y.; TUTIKAWA, K. "In vivo" anticlastogenic and antimutagenic effects of tannic acid in mice. **Mutat. Res.**, 244:43-47, 1990.
- SCHIMMER, O.; KUHNE, I. Mutagenic compounds in an extract from *Rutae Herba* (*Ruta graveolens* L.). II. UV-mediated mutagenicity in the green alga *Clamydomonas reinhardtii* by furoquinoline alkaloids and furocoumarins presents in a commercial tincture from *Rutae Herba*. **Mutat. Res.**, 243:57-62, 1990.
- SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutat. Res.**, 31:09-15, 1975.
- SUGIMURA, T. Studies on environmental chemical carcinogenesis in Japan. **Science**, 233:312-318, 1986.
- VICENTINI-DIAS, V. E. P.; TAKAHASHI, C. S. Action of an extract of *Stryphnodendron obovatum* BENTH seed on rat bone marrow and human lymphocytes. **Rev. Bras. Genet.**, 16:175-185, 1992.
- WALL, M. R.; WANI, M. C.; HUGHES, T. J.; TAYLOR, JH. Plant antimutagenic agents. I. General bioassay and isolation procedures. **J. Nat. Prod.**, 515:866-873, 1988.
- WENIGER, B.; ROUZIER, M.; DAGUILH, R.; HENRYS, D.; HENRYS, J. H.; ANTON, T. Popular medicine of the Central Plateau of Haiti. I. Ethnopharmacological inventory. **J. Ethnopharmacol.**, 171: 13-30, 1986.
- WONG, B. Y. Y., LAU, B. H. S., TADI, P. P. e TEEL, T. W. Chinese medicinal herbs modulate mutagenesis, DNA binding and metabolism of aflatoxin B1. **Mutat. Res.**, 279:209-216, 1992.