

Trabajo Original

Toxicología Experimental

Evaluación del efecto radioprotector del Extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis Aublet*, en el ensayo de SOS Chromotest.

Dayisell L. CURVECO¹, Luis A. ROSARIO², Jessica NARCIANDI², Yunior CRESPO², Alexis VIDAL³, Daniel F. ARENCIBIA⁴.

¹Instituto Finlay, Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave 27, No 19805, La Lisa, AP 16017, Cod 11600. La Habana, Cuba.

²Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Ave 23 No 21425 e/ 214 y 222, La Coronela, La Habana, Cuba. CP 13600.

³Facultad de Biología, Universidad de la Habana. Ave 25 e/ H y J, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.

⁴Centro de Inspección y Control Ambiental (CICA), calle 28 e/ 5ta y 7ma. Playa, La Habana, Cuba.

Correo electrónico del autor principal: eneidasanchez@infomed.sld.cu,
darencibia@orasen.co.cu

Resumen

El extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet es un producto constituido por una mezcla compleja, entre cuyos componentes se destacan los ácidos grasos poli-insaturados y terpenoides. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el potencial protector del extracto oleoso sobre el ADN frente a la radiación gamma/bleomicina, en el ensayo bacteriano SOS-Chromotest (con y sin activación metabólica). Las concentraciones del extracto ensayadas fueron: 50, 200, 350, 500 y 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ frente a dosis de radiación de 150 Gy (SOS Chromotest) y 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de bleomicina. En los ensayos se evaluaron esquemas de pre, co y post-tratamiento. Los resultados obtenidos demuestran que el extracto protege al ADN a dosis mayores a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en las variantes de co y post-tratamiento. Esto nos permite recomendar la evaluación de este producto en estudios preclínicos *in vivo* con el objetivo de utilizarlo para mitigar los daños generados por las terapias antineoplásicas.

Palabras claves: Ensayo SOS Chromotest; radioprotector; *Carapa guianensis* Aublet

Abstract

Assessment of the radioprotector effect of the seed oil extract of *Carapa guianensis* Aublet, in SOS Chromotest assays.

The seed oil extract of *Carapa guianensis* Aublet is a product consisting of a complex mixture, whose components include polyunsaturated fatty acids and terpenoids. The aim of this work was determined the protective potential of the oil extract on DNA against gamma/bleomycin radiation on the SOS-Chromotest test (with and without metabolic activation). Concentrations of 50, 200, 350, 500 and 1000 $\mu\text{g/mL}$ of the extract were used versus radiation dose of 150 Gy (SOS Chromotest) and 15 $\mu\text{g/ml}$ bleomycin. In the assay were assessed pre, co and post-treatment. The results show that the extract protects DNA at higher doses 200 $\mu\text{g/mL}$, in the variants co and post treatment. This allows us to recommend the evaluation *in vivo* preclinical studies in order to use it to mitigate the damage caused by antineoplastic therapies.

Key words: SOS Chromotest assay; radioprotector; *Carapa guianensis* Aublet

Introducción

Carapa guianensis pertenece a la familia Meliaceae, es una planta medicinal muy popular en varios países del mundo, esta planta abunda en el Caribe especialmente en Belice, Trinidad y Tobago y Cuba (Ferrari *et al.*, 2007; Tonini *et al.*, 2005), en Cuba es conocida como Cedro Macho.

La caracterización del aceite de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet reveló la presencia de ácidos grasos merístico, palmítico, oleico, linoleico, (Pinto, 1956; Teske, 1997) esteárico ácido araquidónico y algunos tetraterpenoides. (Penido, 2005).

La detección de productos antioxidantes con capacidad radioprotectora es de vital importancia y un tema de gran actualidad. La tendencia más moderna en este sentido está centrada en evaluar la utilización de suplementos nutricionales antioxidantes en cotratamientos con las terapias radioactivas/fármacos oncocitotóxicos en pacientes con cáncer.

Recientemente se demostró el efecto antioxidante del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet mediante la administración oral durante tres semanas en ratas Sprague Dawley de ambos sexos, co-administradas con una sustancia oxidante, el extracto protegió a las células de la formación de especies reactivas del oxígeno inducidas con ciclofosfamida (Arencibia *et al.*, 2013).

En los ensayos de seguridad, el extracto demostró no ser tóxico al ser administrado en dosis única de 2 000 mg/kg por vía oral a ratas SD de ambos sexos (Arencibia *et al.*, 2013a) de igual forma en los ensayos de Ames (Narciandi *et al.*, 2013), cometa (Arencibia *et al.*, 2013b), micronúcleos (Arencibia *et al.*, 2012), aberraciones cromosómicas (Arencibia *et al.*, 2013c) y morfología de la cabeza del espermatozoide (Arencibia *et al.*, 2013d) no fue citotóxico ni genotóxico tanto en modelos *in vitro* como *in vivo* en ratas SD y ratones BALB.

Teniendo en cuenta estos antecedentes el objetivo de esta investigación fue determinar el potencial protector del extracto oleoso de *Carapa guianensis* Aublet sobre el ADN frente a la radiación gamma/bleomicina, en el ensayo bacteriano SOS-Chromotest.

Materiales y Métodos

Cepa bacteriana

Se empleó la cepa de *E.coli* PQ-37 (Huisman y D'ari, 1984), de genotipo: (F⁻ *thr leu his-4 pyrD thi galE galk o galT lac ΔU169 srl300::Tn10 rpoB rpsL uvrA rfa trp::muc⁺ sfiA::mud*(Ap, lac)cts). El medio de cultivo utilizado fue Luria-Bertani (Maniatis *et al.*, 1982) suplementado con 100 μg/mL de ampicilina (LBA). Los cultivos se dejaron crecer durante toda la noche a 37°C en agitación (100 rpm); posteriormente se diluyeron en medio fresco (1/25) e incubaron a igual temperatura y agitación, hasta alcanzar una densidad óptica de 0,4 a 600 nm.

Extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet

El extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) que se utilizó corresponde con el extracto de la firma Raintreen Nutrition bajo la marca de AMAZON ANDIROBA OIL®. La semilla de *Carapa guianensis* Aublet fue colectada de Amazon Rainforest (Paraná, Brasil) de la especie (MG170789 MA 0404). Esta planta se distribuye en zonas tropicales y subtropicales (Teske y Trentini, 1997). Estos árboles se localizan principalmente en países como: Belice, Guyana, Trinidad y Tobago y Cuba. Al obtener las semillas se agregó N-hexano a razón de 2 kg de semilla de *Carapa guianensis* previamente secado y triturado. Se dejó en reposo durante 60 min y luego se filtró al vacío. El solvente se adicionó hasta que la muestra botánica del aceite se saturó y luego fue removido reduciendo presión. La densidad aparente del aceite (conservado a -20 °C hasta su uso), fue calculada (0,81 g/mL).

Los principales componentes químicos del aceite extraído de las semillas se agrupan en dos fracciones (Qi *et al.*, 2004): la fracción saponificable que constituye el 95-98 % del aceite y la fracción no saponificable que abarca entre el 2-5 %. Dentro de la fracción saponificable se destacan como componentes mayoritarios los triacilglicéridos formados por ácidos grasos insaturados y polinsaturados tales como: los ácidos linoleico (4-10 %) , oleico (55-50 %), palmítico (8-15 %), palmitolénico (1 %) , araquidónico (1,2 %) y esteárico (220, 000- 260,000 ppm). En cambio la fracción no saponificable contiene una mezcla de compuestos orgánicos bioactivos de taninos, triterpenos, flavonoides, alcaloides y limonoides (andirobina y genudin). El método de análisis para la cuantificación de los mismos fue la cromatografía líquida con solventes orgánicos (Qi *et al.*, 2004). El extracto sólido se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) 0,2 % para su estudio. Estudios previos demostraron que el DMSO no tiene efecto genotóxico (Aye *et al.*, 2010).

Irradiación de las células

La irradiación de las células se realizó en una fuente de ^{60}Co (modelo PX- γ -30M, Rusia), a una temperatura de $2 \pm 0,5^\circ\text{C}$. La actividad de la fuente disminuyó mensualmente a razón del 1%. El valor de la tasa de dosis estuvo entre 33-42 Gy/min, dependiendo de la fecha en que se desarrollaron los experimentos. La dosis absorbida fue calculada utilizando el dosímetro Fricke (Prieto y Cañet, 1990).

Ensayo SOS Chromotest (variante fluorescente)

Los ensayos para la determinación de actividad β -galactosidasa y fosfatasa alcalina se desarrollaron siguiendo el procedimiento descrito por Quillardet *et al.*, (1989), pero con modificaciones para el uso de sustratos fluorescentes (Cuétara *et al.*, 2003).

Los cultivos bacterianos se dejaron crecer hasta una D.O_{600nm} de 0,4, posteriormente fueron diluidas (1/10) en un medio LBA (2X) y distribuidos en viales estériles (a razón de 500 μL por vial). Las concentraciones finales evaluadas del extracto fueron: 50, 200, 350, 500 y 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y los experimentos se realizaron empleando una dosis de 150 Gy, escogida sobre la base de su potencialidad para inducir daño primario. En los ensayos con activación metabólica se añadieron 50 μL de la fracción S₉, y bleomicina (15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) como control positivo; en los desarrollados sin activación metabólica, se utilizaron 50 μL de agua destilada estéril y como control positivo se irradió el cultivo sin el extracto. En ambos casos el control negativo consistió en células sin el extracto y sin tratamientos. Todos los viales fueron incubados durante 30 minutos a 8°C y se irradiaron a 150 Gy incubaron durante 2 horas a 37°C para su recuperación. En la realización del ensayo se siguió un esquema de cotratamiento y posterior a la recuperación celular se realizaron los ensayos enzimáticos para la determinación de la actividad β -galactosidasa y fosfatasa alcalina.

Para la determinación de la actividad β -galactosidasa se distribuyeron 13 μL de las células tratadas en placas para ELISA, que contenía 110 μL de buffer Z por pocillo. Estas placas, se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente y luego, a cada pocillo, se le adicionaron 26 μL de 4-metil umbelliferil β -D galactopiranosido a una concentración de 0,39 mg/mL preparado en buffer T. Las placas se incubaron 40 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente e inmediatamente se pasaron a placa de lectura.

Para la determinación de la actividad fosfatasa alcalina se distribuyeron 13 μL de las células tratadas en placas para ELISA que contenía 110 μL de buffer T. Se incubó 20 minutos a temperatura ambiente y se adicionaron 26 μL de 4-metil umbelliferil fosfato a una concentración de 0,13 mg/mL preparado en buffer Dietanolamina. Las placas se incubaron 40 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente e inmediatamente se pasaron a placa de lectura. En ambos ensayos enzimáticos, la fluorescencia se midió con

un lector de placas para ELISA, SUMA PR-531 (CIE), según las indicaciones del fabricante.

Cálculo del factor de inducción SOS (FI)

Como criterio de genotoxicidad se utilizó el Factor de Inducción SOS (FI) y se calculó según la fórmula siguiente (Ysern *et al.*, 1990):

$$FI = \frac{\frac{\beta - \text{galactosidasa (i)}}{\text{fosfatasa alcalina (i)}}}{\frac{\beta - \text{galactosidasa (c)}}{\text{fosfatasa alcalina (c)}}}$$

donde (i) y (c), son los valores de fluorescencia para la concentración evaluada y el control negativo del experimento, respectivamente. Se realizaron tres experimentos independientes para la cepa en estudio, con cuatro réplicas por muestra.

Cálculo del por ciento de genotoxicidad remanente (%GR)

El por ciento de genotoxicidad remanente (%GR) se determinó para cada una de las concentraciones evaluadas del extracto como se indica a continuación.

$$\%GR = 100 \times \frac{FI(Ie) - FI(Be)}{FI(I) - FI(B)}$$

donde FI (Ie) es el daño inducido en células irradiadas en presencia del extracto, FI (Be) es el daño inducido por el extracto sin irradiar, FI (I) es el daño inducido por radiaciones gamma (control positivo) y FI (B) es el daño inducido en el control negativo. El %GR fue calculado a partir de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno. Para la determinación de esta variable se evaluaron varios esquemas de tratamientos

Análisis estadístico

Se calcularon los valores medios de FI, %GR para cada dosis y sus controles, de manera independiente para cada tratamiento. Posteriormente se verificaron los supuestos distribucionales de aproximación para una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y se aplicó la prueba de Levene para determinar homogeneidad.

Para la comparación de medias en todos los ensayos se utilizó la prueba Tukey. De forma global, los análisis se efectuaron con el software STATISTICA 6.1. En todos los casos se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$.

Resultados y Discusión

Determinación del potencial genotóxico del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet

Con el objetivo de determinar las concentraciones y condiciones experimentales para el ensayo de antigenotoxicidad en SOS Chromotest, se evaluó primeramente el efecto genotóxico del extracto, mediante la determinación del factor de inducción SOS (FI). Con este propósito, se consideró el criterio emitido por Kevekordes *et al.* (1999); para el caso específico de productos de origen natural. Según dichos autores, un compuesto de esta clase se considera como genotóxico cuando el factor de inducción SOS (FI), a la dosis dada, es igual o superior a dos.

En la figura 1 se muestran los valores de FI inducidos por las diferentes concentraciones del extracto ensayadas (50, 200, 350, 500 y 1000 $\mu\text{g/mL}$). Como se puede apreciar, en el caso de los experimentos realizados en ausencia de activación metabólica, todos los FI calculados para las muestras en ensayo, resultaron similares en magnitud al FI del control negativo e inferiores a dos. Al realizar la comparación estadística entre los valores medios de FI no se detectaron diferencias significativas entre las cuatro concentraciones estudiadas ni con relación al control negativo. Resultados completamente diferentes se obtienen de la comparación de los diferentes tratamientos respecto al control positivo, tanto la bleomicina como las radiaciones generaron valores de FI mayores a 5 sin diferencias significativa entre ellos.

Al analizar los resultados obtenidos en presencia de la fracción S9, se encontró que la FI siguió un comportamiento semejante al de los experimentos efectuados sin S9. Esta evidencia sugiere que la presencia de activación metabólica no altera la genotoxicidad del extracto, a diferencia de lo reportado para otros compuestos ricos en ácidos grasos (Rice-Evans, 1995 y Williams *et al.*, 2004). Lo que se debe fundamentalmente a que: 1) alguno o varios de los componentes del extracto inhiban las enzimas de Fase I, predominantes en la fracción microsomal; 2) las transformaciones bioquímicas que promueven las enzimas de la fracción no modifican el potencial genotóxico del producto. En el ensayo tampoco se detectaron para los tratamientos diferencias significativas entre los que presentaron activación metabólica (S9) y los que no, lo que sugiere que en próximos ensayos se puede prescindir de esta variable.

En general, las determinaciones anteriores de FI guardan relación con lo encontrado por Rodeiro *et al.*, (2006); quienes reportaron con el empleo de una variante del ensayo de Ames que varios extractos oleosos de plantas aromáticas no resultaron mutagénicos en un rango de concentraciones entre 200 y 5000 $\mu\text{g/por placa}$; tanto en presencia como en ausencia de activación metabólica.

Paralelamente los estudios efectuados con los ácidos grasos componentes mayoritarios del extracto, demuestran que estos no provocan efectos genotóxicos sobre linfocitos de sangre periférica humana (ensayo de inducción de micronúcleos) e inhibe la carcinogénesis de médula en machos de la rata F344 (Yoshimi *et al.*, 1996).

Determinación del potencial antígenotóxico del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet

Para la evaluación del potencial radioprotector del extracto oleoso se recurrió a la determinación del por ciento de genotoxicidad remanente (%GR) mediante el ensayo SOS Chromotest. En este caso, la disminución del parámetro %GR respecto al 100% (control positivo), constituyó el indicio apropiado para establecer el carácter radioprotector del compuesto investigado.

En la figura 2A se muestran los valores de %GR calculados para las diferentes concentraciones del producto. Los resultados demuestran que el pre y post-tratamiento con el extracto no ejercen ningún efecto en la disminución del %GR, siendo estos similares al control positivo. En cambio, el co-tratamiento de las células con el extracto y la bleomicina provoca una disminución en los valores de %GR con respecto al control para todas las concentraciones evaluadas. El efecto antígenotóxico es dosis dependiente hasta la concentración de 500 µg/mL, a partir de la cual no se observa más disminución.

Al analizar el efecto del extracto en la disminución de la genotoxicidad generada por la radiación gamma (figura 2B), se observa que al igual que en lo referente a la bleomicina el pre-tratamiento no tiene ningún valor biológico. A diferencia de este resultado el co y post-tratamiento disminuyen exitosamente los valores de %GR con respecto al control positivo. En ambos casos esta disminución es dosis dependiente y al comparar entre sí ambos tratamientos se evidenciaron diferencias significativas para todas las concentraciones evaluadas. El mejor efecto en la disminución del daño se logró con la mayor dosis (1000 µg/mL) evaluada en la variante de co-tratamiento.

Cuando se combinan los efectos de la bleomicina y las radiaciones con las células y el extracto se denota un comportamiento similar al observado frente a las radiaciones (figura 2C). En este caso particular el efecto radioprotector se evidencia en el co-tratamiento a partir de la dosis de 200 µg/mL mientras que en el post-tratamiento a partir de la dosis de 500 µg/mL. En ambos casos los efectos son diferentes significativamente entre ellos y con respecto a los valores obtenidos en la protección contra las radiaciones.

Los datos anteriores sugieren que en *E. coli* PQ37: 1) el extracto oleoso de *Carapa guianensis* Aublet presenta carácter antígenotóxico contra la bleomicina cuando se emplean dosis superiores a 200 µg/mL en el esquema de co-tratamiento 2) el extracto oleoso de *Carapa guianensis* Aublet presenta carácter radioprotector contra la radiación

gamma, cuando se emplea a una concentración igual o superior a 50 $\mu\text{g/mL}$ en el esquema de co-tratamiento y superior a 200 $\mu\text{g/mL}$ en el esquema de post-tratamiento; 3) el extracto presenta carácter protector contra la acción combinada de la bleomicina y la radiación gamma con dosis superiores a los 200 $\mu\text{g/mL}$ 4) los componentes de este extracto vegetal ejercen radioprotección a través de un mecanismo antígenotóxico.

Los resultados negativos obtenidos en el esquema de pre-tratamiento evidencia la incapacidad del extracto para inducir en las células evaluadas un estado protector capaz de proteger a la célula. En cambio los resultados obtenidos en el post-tratamiento después de la radiación gamma demuestra la inducción de un posible efecto reparador por alguno de los componentes del extracto. En el esquema de co-tratamiento los resultados están más en concordancia con lo reportado por diferentes autores (Rosario *et al.*, 2009) y la determinación de los mecanismos por los cuales ejerce la acción protectora merita la evaluación con otras técnicas más específicas.

La actividad genoprotectora de algunos productos naturales se atribuye primariamente a la presencia en estos de compuestos fenólicos y a su habilidad de secuestrar radicales hidroxilo y superóxido (Chawla *et al.*, 2005). Coincidentemente, este efecto lo reportaron Garrido *et al.*, (2004), para el Vimang, el cual protege contra la generación de especies reactivas del oxígeno inducida por bleomicina.

Se concluye que el extracto evaluado mostró un efecto protector sobre el ADN con dosis mayores a 200 $\mu\text{g/mL}$, en las variantes de co y post-tratamiento.

Figura 1. Inducción de la respuesta SOS en *E. coli* PQ37 frente al extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet (ensayo SOS Chromotest). Los controles positivos utilizados fueron bleomicina (15 mg/mL) y radiación gamma (150 Gy). Cada valor representa la $X \pm DE$ de cuatro experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno. Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

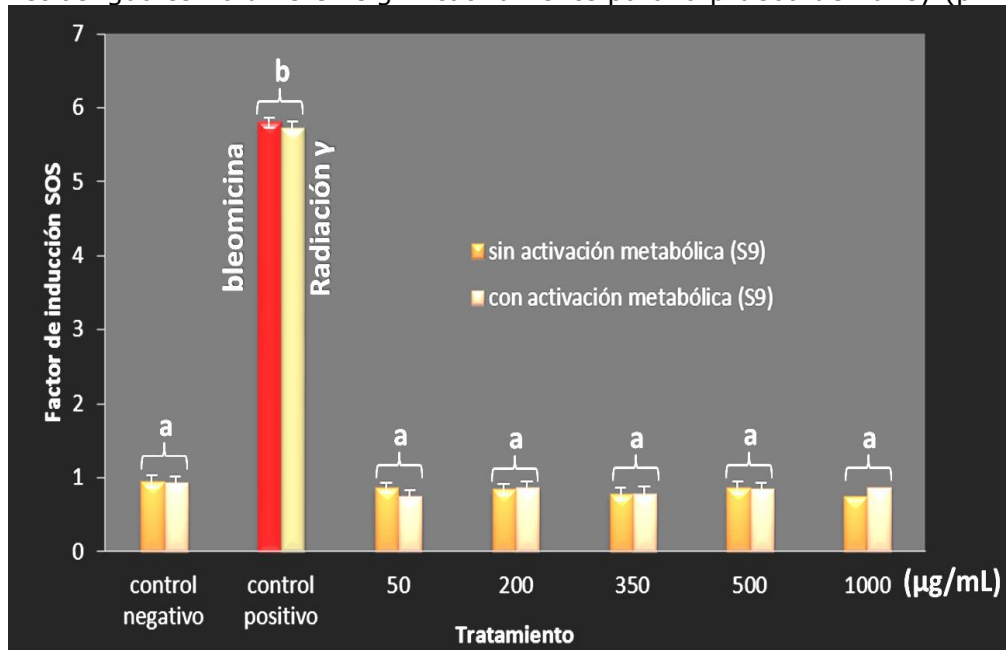


Figura 2A. Genotoxicidad remanente (%GR) en *E. coli* PQ37 generado por el extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet frente a bleomicina (15 mg/mL). Cada valor representa la $X \pm DE$ de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno. Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

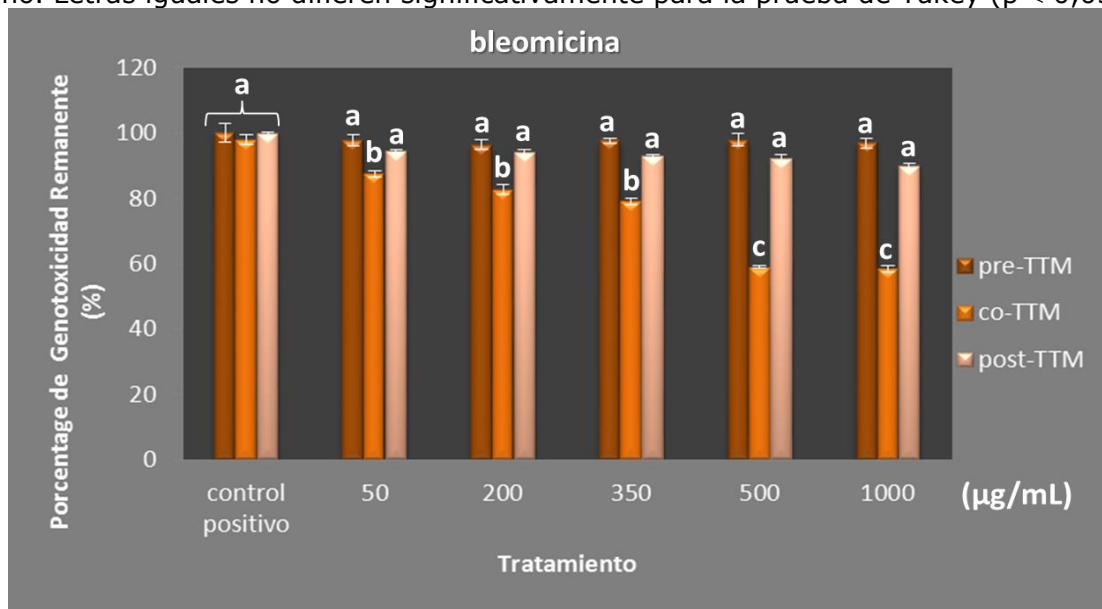


Figura 2B. Genotoxicidad remanente (%GR) en *E.coli* PQ37 generado por el extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet frente a las radiaciones γ (150 Gy). Cada valor representa la $X \pm DE$ de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno. Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

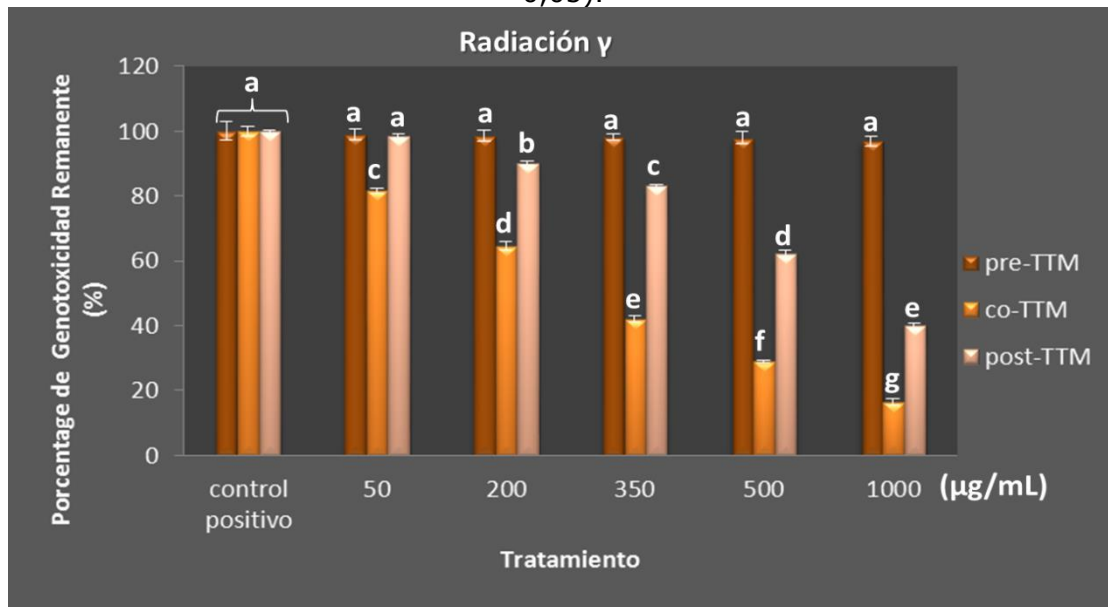
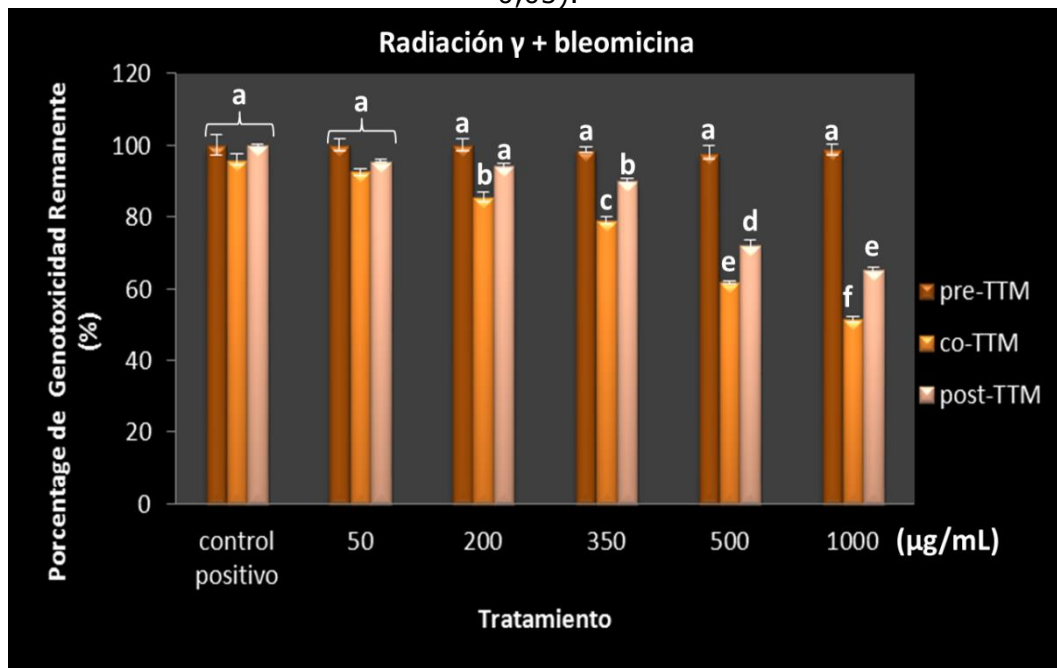


Figura 2C. Genotoxicidad remanente (%GR) en *E.coli* PQ37 generado por el extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet frente a las radiaciones γ (150 Gy). Cada valor representa la $X \pm DE$ de tres experimentos independientes con cuatro réplicas cada uno. Letras iguales no difieren significativamente para la prueba de Tukey ($p < 0,05$).



Referencias

1. Ambrozín A, Leite A, Bueno F, Vieira P, Fernandes JB, Bueno O, Fernandes da Silva F, Pagnocca F, Hebling MJ, Bacci M. 2006. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **J Braz Chem Soc** 17(3):542-7.
2. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Suárez YE, Vidal A. 2012. Evaluación genotóxica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de micronúcleos en ratones Balb/c. **Retel** 39(1):1-13.
3. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Infante JF, Vidal A. 2013c. Evaluación genotóxica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de aberraciones cromosómicas en ratones Balb/c. **Revista Cubana de Farmacia** 47(3):363-367.
4. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Vidal A. 2013d. Genotoxic potential of the *Carapa guianensis* Aublet seed oleaginous extract to induce anomalies in the sperm head morphology. **Revista Internacional de Andrología** 11(2):54-59.
5. Arencibia DF, Rosario LA, Narciandi J, Curveco D, Delgado L, Suárez YE. 2013a. Evaluación de la toxicidad aguda por el método de las clases del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet. **Retel** 41(3):39-51.
6. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Crespo Y, Biart O, Vidal A. 2013b. *In vivo* genotoxic potential of the seed oleaginous extract of *Carapa guianensis* Aublet using the comet assay. **Journal of Experimental and Integrative Medicine** 3(3):231-236.
7. Arencibia DF, Rosario LA, Serrano DA. 2013. **Evaluación preclínica del extracto oleoso de *Carapa guianensis* Aublet como suplemento nutricional antioxidante.** Editorial Académica Española (EAE), Saarbrücken.p.1-61.
8. Aye M, Di Giorgio C, De Mo M, Botta A, Perrin J, Courbiere B. 2010. Assessment of the genotoxicity of three cryoprotectants used for human oocyte vitrification: Dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and propylene glycol. **Food Chem Toxicol** 48:1905-1912.
9. Cuétara E. 2003. **Una variante fluorescente del SOS Chromotest para el estudio de radioprotectores naturales.** Tesis en opción al título de Maestro en Bioquímica. Fac. de Biol. UH.
10. Chawla R, Arora R, Sharma A, Prasad J, Singh S, Sagar R, Chaudhary P, Shukla S, Kaur G, Sharma R, Puri S, Lal Dhar k, Handa G, Gupta VK, Qazi g. 2005. Antioxidant activity of fractionated extracts of rhizomes of high-altitude *Podophyllum hexandrum*: Role in radiation protection. **Molecular and Cellular Biochemistry** 273:193-208.
11. Ferrari M, Oliveira M, Nakano A, Rocha-Filho P. 2007. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Rev Bras Farmacogn** 17(4):626-30.

12. Garrido G, González D, Lemus Y, García D, Rodeiro L, Quintero G, Delporte C, Núñez-Sellés AJ, Delgado R. 2004. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activities of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG). **Pharmacological Research** 50:143-9.
13. Huisman O, D'Ari R, Gottesman S. 1984. Cell-division control in *Escherichia coli*: specific induction of the SOS functional SfiA protein is sufficient to block septation. **Proc Natl Acad Sci USA** 81:4490-4.
14. Kevekordes S, Volker M, Burghaus Ch, Spielberger J, Schmeiser H, Arlt V. 1999. SOS induction of selected naturally occurring substances in *Escherichia coli* SOS chromotest. **Mutation Research** 445:81-91.
15. Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. **Molecular cloning**. 1982. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
16. Narciandi J, Rosario LA, Curveco D, Vidal A, Arencibia DF. 2013. Evaluación del potencial mutagénico del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de Ames por incorporación directa en placas. **Retel** 40(4):45-58.
17. Penido C, Costa KA, Pennaforte RJ, Costa MF, Pereira JF, Siani AC, Henriques MG. 2005. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergeninduced vascular permeability and hyperalgesia. **Inflammation Research** 54:295-303.
18. Pinto GP. 1956. Contribuicao ao estudo químico do óleo de Andiroba. **Boletín Técnico do Instituto Agronómico do Norte** 31:195-206.
19. Prieto E y Cañet F. 1990. Aspectos a considerar en el dosímetro Fricke. **Tec Quím** 2:19.
20. Qi SH, Wu DG, Si Zhang S, Luo XD. 2004. Constituents of *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae). **Pharmazie** 59: 488-490.
21. Quillardet P, Frelat G, Nguyen VD y Hofnung M. 1989. Detection of ionizing radiations with the SOS Chromotest, a bacterial short-term test for genotoxic agents. **Mutation Research** 216:251-7.
22. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research** 22:375-83.
23. Rodeiro I, Cancino L, González JE, Morffi J, Garrido G. 2006. Evaluation of the genotoxic potencial of *Mangifera indica* L extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. **Food and Chemical Tox** 44:1707-13.
24. Rosario LA, Rodeiro I, Almeida E, Arencibia DF, Leyva O, Alonso A, Rodríguez Y. 2009. Evaluación del efecto radioprotector del extracto acuoso de *Mangifera indica* L (Vimang), en el ensayo de SOS-Chromotest. **Retel** 19(4):53-66.

- 25.** Teske M, Trentini AM. 1997. **Herbarium: Compendio de Fitoterapia. Herbarium Laboratorio Botánico.** Paraná 35.
- 26.** Tonini H, Arco M. 2005. Morfología da copa para avaliar o espaço vital de quatro espécies nativas da Amazônia. **Pesq Agropec Brás** 40(7):633-8.
- 27.** Williams RJ, Spencer PE, Rice-Evans C. 2004. Serial Review: Flavonoids and Isoflavones: Absorption, Metabolism, and Bioactivity. **Free Radical Biol Med** 36(7):838-49.
- 28.** Ysern P, Clerch B, Castaño M, Gibert I, Barbé J, Llagostera M. 1990. Induction of SOS genes in *Escherichia coli* and mutagenesis in *Salmonella typhimurium* by fluoroquinolones. **Mutation Research** 5(1):63-6.

Recibido: 13/07/15

Aceptado: 21/07/15