

AValiação DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Lafoensia pacari* A. St.-Hil EM BACTÉRIAS.

Débora Cristina da Silva **LIMA**¹, Bruno Leite **SAMPAIO**², José Realino de **PAULA**² & Lee **CHEN CHEN**¹. ¹Instituto de Ciências Biológicas ICB1 Laboratório de Radiobiologia e Mutagênese. ² Faculdade Farmácia - Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais. Universidade Federal de Goiás-UFG. e-mail: deboralimabio@hotmail.com

Palavras-chave: *Salmonella typhimurium*, mutagênese, *Lafoensia pacari*.

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos anos. São muitos os fatores que vem colaborando com o desenvolvimento desta prática de saúde, principalmente econômicos e sociais (MARTINS *et al.*, 2000). A ação de plantas medicinais é caracterizada por uma mistura complexa de compostos químicos com diversos mecanismos de ação (ALEXANDRE *et al.*, 2008). Compostos como ácidos graxos, ácido ascórbico e polifenóis são seqüestradores de radicais livres e antimutagênicos (AMES, 1993; BOREK, 1996). Outras substâncias como flavonóides, quinonas, hidrazinas, furocumarinas, alcalóides de pirrolozidina e teobrominas possuem atividade mutagênica ou carcinogênica (KHAN *et al.*, 2005; PEREIRA, 1992).

Dentre as espécies utilizadas na medicina popular brasileira destaca-se *Lafoensia pacari* A. St.-Hil, conhecida popularmente como “dedaleiro”, “pacari” ou “mangava-brava” (MUNDO & DUARTE, 2007; CARVALHO, 1994). Pertencente a Família Lythraceae, trata-se de uma árvore decídua de 5 a 15 m de altura, fitofisionomia de cerrado sentido restrito, cerradão, mata ciliar, mata seca (MENDONÇA *et al.*, 1998; SILVA JÚNIOR, 2005) e florestas de altitude (LORENZI, 1992). No Brasil está presente no Distrito Federal e nos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais, Maranhão, Mato Grosso, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Amapá, Pará e Rio Grande do Sul (PROENÇA *et al.*, 2000; CARVALHO, 1994).

Essa espécie apresenta alguns grupos de compostos fenólicos principalmente os taninos e os flavonóides, sendo o ácido elágico seu principal metabólito o qual apresenta um grande potencial antioxidante. Suas folhas e

cascas são utilizadas pela população para fins terapêuticos como anti-inflamatório, analgésico e para o câncer. Estudos realizados com extratos das folhas e da casca do caule de *L. pacari* demonstraram que esta planta apresenta atividade antimicrobiana (PORFÍRIO *et al.*, 2009), anti-inflamatória (ROGÉRIO, 2008) e antidepressora (GALDINO *et al.*, 2009).

Apesar da ampla utilização dessa planta pela população ainda não foram encontrados na literatura estudos sobre a avaliação da atividade mutagênica mostrando dessa maneira a importância do presente estudo. Diversos testes, *in vivo* e *in vitro*, têm sido utilizados para avaliar o potencial mutagênico, carcinogênico e/ou teratogênico de agentes químicos ou físicos (CARVALHO, 2002).

Entre os testes de curta duração destaca-se o de mutagenicidade com *Salmonella typhimurium*, ou teste de Ames, muito utilizado para detecção de substâncias carcinogênicas genotóxicas. É considerado um ensaio que apresenta grande sensibilidade, reprodutibilidade e versatilidade. A maioria dos mutágenos identificados pelo teste Ames apresentam-se carcinogênicos em ensaios com animais (MARON & AMES, 1983; MOREIRA *et al.*, 2002).

Devido ao amplo uso popular e a escassez de informações sobre a toxicidade genética de *L. pacari*, o objetivo do presente estudo é avaliar a atividade mutagênica dessa espécie pelo teste de Ames em bactérias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Extrato etanólico da folha e da casca do caule de *Lafoensia pacari* A. St. Hill

As folhas e cascas do caule de *Lafoensia pacari* foram coletadas no município de Urutaí (17°22'04,4"S; 48°12'19,6"W; 848m), por Bruno Leite Sampaio – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás (UFG), identificadas pelo Prof. Heleno D. Ferreira do Departamento de Biologia Geral (UFG) e uma exsicata depositada no herbário da UFG, sob o número: 43.182 (Urutaí).

O preparo do extrato etanólico foi realizado no Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais (UFG), as folhas e cascas do caule de *L. pacari* foram desidratadas em estufa com circulação de ar, sob temperatura de 40°C. Em seguida, o material foi pulverizado em moinho de facas com tamis número 100

(150µm) e o pó obtido acondicionado em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em local arejado e protegido da luz.

Para a obtenção do extrato etanólico, o pó da folha e da casca do caule foi macerado em etanol a 95%, o qual foi removido posteriormente com auxílio de rotaevaporador. Após o processo de extração o extrato etanólico de *L. pacari* foi mantido sobre refrigeração.

2.2 Materiais utilizados para o teste de Ames

Cepas Bacterianas: utilizam-se cepas bacterianas de *Salmonella typhimurium* TA97a, TA98, TA100 e TA102. **Meios de Cultura e Soluções:** Foram utilizados Meio Mínimo Glicosado (MMG), Top-ágar, Solução de histidina / biotina (0,5 mM) e Caldo Nutriente. **Controles:** De acordo com Maron e Ames (1983) para controles positivos, os reagentes são específicos para cada cepa: 4-nitroquinolina (4NQO) para a cepa TA97a e TA98 (0,5 µg), Azida sódica para a cepa TA100 (1,5 µg), Mitomicina C para a cepa TA102 (0,5 µg) e como controle negativo utiliza-se água destilada esterilizada ou solvente utilizado para a amostra.

2.3 O procedimento experimental do teste de Ames para avaliação da mutagênicidade: controles positivos e negativos.

A cepa TA97a ou a TA100 de *Salmonella typhimurium* foi incubada em caldo nutriente, a 37°C, com agitação constante, até atingir a fase estacionária de crescimento. Alíquotas de culturas da cepa bacteriana TA97a foram incubadas em água destilada (0,1 mL) e 4-nitroquinolina (4NQO) (0,5 µg), a cepa TA100 foi incubada em água destilada (0,1 mL) e Azida sódica (1,5 µg) durante 25 minutos, em tubos em triplicatas com agitação e aeração constantes. Em seguida foi adicionado ágar glicosado liquefeito (top-ágar) à temperatura de 45°C, contendo solução de histidina/biotina (0,5 mM). O conteúdo foi vertido em placas, em triplicatas, contendo meio Meio Vogel-Bonner (MEVB) sólido (meio mínimo glicosado), incubadas em estufa a 37°C durante 48 horas. Decorrido este período, foram contados os números de colônias revertentes prototróficas para histidina, considerando-se a média aritmética dos resultados entre as placas (MARON & AMES, 1983). Os resultados foram expressos pelo número de mutantes revertentes por placa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Média e desvio padrão do número de revertentes de *S. typhimurium* da cepa TA100 exposta ao controle positivo e negativo.

CONTROLES	(1)	(2)	(3)	M ± S
	NR	NR	NR	
C – (Água)	225	230	241	232 ± 8,18
C + (Azida sódica)	2253	2185	1931	2123 ± 169,71

* C- (controle negativo 0,1 mL de água/placa), C+ (controle positivo 1,5 µg /placa), NR (número de revertentes prototróficas para histidina), M (média) e S (desvio padrão), **P < 0,05**.

Tabela 2: Média e desvio padrão do número de revertentes de *S. typhimurium* da cepa TA97a exposta ao controle positivo e negativo.

CONTROLES	(1)	(2)	(3)	M ± S
	NR	NR	NR	
C – (Água)	255	191	210	218,6 ± 32,8
C + (4NQO)	621	519	682	607,3 ± 82,3

* C- (controle negativo 0,1 mL de água/placa), C+ (controle positivo 0,5 µg/placa), NR (número de revertentes prototróficas para histidina), M (média) e S (desvio padrão), 4NQO (4, Nitroquilonina), **P < 0,05**.

Nos experimentos realizados para padronização dos controles positivos e negativos, os resultados dos controles positivos para 4NQO e azida sódica foram estatisticamente maiores aos seus respectivos controles negativos ($p < 0,05$), confirmando desta maneira a sensibilidade deste teste utilizado (**Tabela 1 e 2**). Serão realizados experimentos com as quatro cepas de *S. typhimurium* para avaliação da atividade mutagênica do extrato etanólico da folha e da casca do caule de *L. pacari*.

4 CONCLUSÃO

O teste de Ames é adequado para avaliação da mutagenicidade do extrato etanólico das folhas e da casca do caule de *L. pacari* nestas condições experimentais.

SUPORTE FINANCEIRO: CNPq e FAPEG.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRE R. F., BAGATINI F., SIMÕES C. M. O. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos á base de ginkco ou ginseng. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2008.
- AMES, B.N. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Acad. Sci.* 90: 7915-7922, 1993.
- BOREK, C. The role of nutritional factors in cellular protection against DNA damage, altered gene expression and malignant tranformation. Em: *Mechanisms of DNA Damage and Repair*.Ed. by Michael G. Simic, Lawrence Grossman and Artu C. Upton. **Sacis life Science**. Vol. 38, pp. 557-562. Plenum Press. New York and London, 1996.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Brasilia: EMBRAPA, CNPF. Colombo, 1994.
- GALDINO, P. M.; NASCIMENTO, M. V. M.; SAMPAIO, B. L.; FERREIRA, R. N.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. Anti-depressant-like effect of *Lafoensia pacari* A. St. -Hill ethanolic extract and fractions in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, (124) 581-585, 2009.
- KHAN, T.H.; PRASAD, L.; SULTANA, A.; SULTANA, S. **Soy isoflavones inhibits the genotoxicity of benzo(a)pyrene in Swiss albino mice**. *Human & Experimental Toxicology*, 24:149-155, 2005.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.
- MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. **Mutation Research**, v. 113, Issue 2-3, p. 173-215, 1983.
- MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C. **Plantas medicinais**. Universidade Federal de Viçosa, 220p.,2000.
- MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T. et al. Flora vascular do cerrado. In: SANO , S.M.; ALMEIDA, S.P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998.
- MOREIRA, R. R. R.; SANTOS, L. E.; VARELLA, S. D.; VARANDA, E. A.; VILEGAS, W. Avaliação da atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de *Paepalantus latipes* (Eriocaulácea) e dos compostos flavonoídicos 7-metoxilados relacionados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n1, p.11-19, 2002.
- MUNDO, S.R.; DUARTE, M.R. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Dedaleiro: Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae), **Lat. Am. J. Pharm.** 26(4): 522-9, 2007.
- PEREIRA, C. A. B. **Plantas tóxicas e Introdução na veterinária**. Editora UFG-GO, 1992.
- PORFÍRIO, Z.; MELO-FILHO, G.C.; ALVINO V.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANA A. E. G. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcóolicos de *Lafoensia pacari* A. St.-Hill, Lythraceae, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. **Revista brasileira de farmacognosia**, 19 (3), 785-789, 2009.
- PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R.S.; SILVA, A. P. **Flores e frutos do cerrado**. Brasilia: EdUnB, São Paulo: Imprensa oficial, 2000.
- SILVA JÚNIOR, M.C. **100 Árvores do cerrado: guia de campo**. Brasilia: Ed. Rede de sementes do cerrado, 2005.