

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE *Salacia crassifolia* EM *Salmonella typhimurium*

Cristiene Costa CARNEIRO^{1*}; Caridad Noda PEREZ²; Lee CHEN-CHEN¹

¹ Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Radiobiologia e Mutagenese; ² Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás; *criscristoferson@hotmail.com

Palavras-chave: *Salacia crassifolia*, teste de mutagenicidade de AMES.

INTRODUÇÃO

Durante séculos, as plantas representaram a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. Ainda hoje, a utilização dessas plantas é bastante comum em todo planeta. Entretanto, as plantas medicinais não são tão “inócuas”. Durante o seu processo evolutivo, elas desenvolveram mecanismos naturais de defesa e passaram a sintetizar substâncias químicas tóxicas e genotóxicas contra ataques de bactérias, fungos, insetos e animais predadores (TEIXEIRA *et al.*, 2003). Entre essas substâncias, também conhecidas como metabólitos secundários, algumas já foram descritas como mutagênicas e carcinogênicas (SAKAI *et al.*, 1990; HORN & VARGAS, 2003).

Em contrapartida, as plantas também sintetizam substâncias com elevado potencial nutricional, terapêutico e antimutagênico. Como exemplo, pode-se citar os β -carotenos (Vitamina A), o ácido ascórbico (vitamina C), os ácidos graxos e os compostos antígenotóxicos, que em sua maioria são agentes antioxidantes capazes de sequestrar radicais livres de oxigênio e proteger as células contra danos no DNA (AMES, 1993; BOREK, 1996; REN *et al.*, 2001; KUMAR & VALLIKANNAN, 2010).

Até o momento, ainda são escassos os estudos que avaliam as atividades genotóxica e antígenotóxica da maioria dos extratos vegetais e de seus constituintes bioativos isolados. Dentre as plantas que a população utiliza com finalidade terapêutica no Brasil, cujas propriedades farmacológicas e fitoquímicas ainda não foram totalmente esclarecidas, destacamos a espécie *Salacia crassifolia*, que pertence à família Celastraceae, tem ampla distribuição no cerrado brasileiro e é conhecida popularmente como “bacupari-do-cerrado”, “cascudo” e “saputá” (ROBSON *et al.*, 1994; SAVOLAINEN *et al.*, 1997; ALMEIDA *et al.*, 1998).

Salacia crassifolia é utilizada na medicina popular para o tratamento de inúmeras doenças, tais como: tosse crônica, doenças renais, dores de cabeça, úlceras, cicatrização de feridas e Malária. Todavia, pouca informação encontra-se disponível sobre os constituintes dessa planta e seus riscos em potencial à saúde humana. No presente estudo, foi proposto o teste de mutagenicidade de AMES para avaliar o possível efeito mutagênico da fração acetato de etila (SCCcM-A) da casca do caule de *S. crassifolia*.

MATERIAS E MÉTODOS

Cepa Bacteriana: Foi utilizada a cepa bacteriana de *Salmonella typhimurium* TA-100.

Meios de cultura e tampões: Foram utilizados Meio Mínimo Glicosado (MMG), Tóp-Ágar, Solução de histidina / biotina (0,5 mM) e Caldo Nutriente.

Procedimento experimental: Para avaliar a atividade mutagênica da fração acetato de etila SCCcM-A de *Salacia crassifolia* foi realizado o seguinte procedimento: a linhagem TA-100 de *Salmonella typhimurium* foi inoculada em caldo nutriente a 37°C, sob agitação e aeração constantes, até atingirem a fase estacionária de crescimento (aproximadamente 12 h). Em seguida, 0,1ml da cepa bacteriana em fase estacionária foi incubada com diferentes doses da fração em estudo (0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg e 2 mg), em tubos em triplicata com agitação e aeração constantes durante 25 minutos. Após o período de incubação, foram adicionados 2 mL de ágar glicosado liquefeito (top-Ágar) à temperatura de 45°C, contendo a solução de histidina / biotina a 0,5 mM. A mistura foi vertida em placas, em triplicata, contendo MMG sólido (meio mínimo glicosado), que foram incubadas a 37°C durante 48 horas.

Posteriormente, foi contado o número de colônias revertentes prototróficas para a histidina. Os controles positivos e negativos foram incluídos nos experimentos, conforme recomendam Maron e Ames (1983):

No controle negativo utilizou-se dimetilsulfóxido (DMSO) e água destilada, na proporção de 1:9 (100µl, sendo 10µl de DMSO e 90µL de água destilada). Para TA-100, utiliza-se como controle positivo 1,5µg de Azida Sódica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da avaliação da atividade mutagênica da fração acetato de etila (SCCc-MA) de *S. crassifolia* para a linhagem TA-100 de *S. typhimurium* estão mostrados na tabela a seguir.

Tabela 1. Média aritmética (\bar{x}) e desvio padrão (S) do número de colônias revertentes de *Salmonella typhimurium* cepa TA-100 de três repetições do experimento.

Doses da fração acetato de etila de <i>S. crassifolia</i> (mg)	Cepa TA-100 de <i>S. typhimurium</i> $\bar{x} \pm S$
Controle Negativo (DMSO/H ₂ O)	151± 27 ♥
0,5	118± 14♥
1	128± 21 ♥
1,5	133± 16 ♥
2	110± 5♥
Controle Positivo (Azida Sódica)	1989± 31 ■

Número de células revertentes prototróficas – Símbolos iguais na mesma coluna indicam que não existe diferença significativa entre o número de revertentes tratadas e o controle negativo ($p>0,05$). Símbolos diferentes na mesma coluna mostram que existe diferença significativa entre o número de revertentes tratadas e o controle negativo ($p<0,05$).

Os resultados obtidos mostraram que o número de colônias revertentes por placa tratada com a fração foi inferior ao controle negativo em todas as doses testadas, apesar de não demonstrar significância estatística. Para ser considerado resultado positivo, o número de colônias revertentes por placa deve ser o dobro do controle negativo. Isso indica que todas as doses da fração acetato de etila *S. crassifolia* não apresentaram atividade mutagênica para a cepa TA-100 no experimento realizado ($p > 0,05$).

Serão realizados outros experimentos na avaliação mutagênica de *Salacia crassifolia* em 4 cepas de *Salmonella typhimurium*: TA-97a, TA-98, TA-100 e TA-102.

CONCLUSÃO

A fração acetato de etila SCCc-MA de *Salacia crassifolia* não apresentou atividade mutagênica no experimento realizado.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. *Salacia crassifolia* (Mart.) Peyr. In: _____. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. 1ª ed. Planaltina, DF: Editora Embrapa, 1998. P. 316-318.

AMES, B.N. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. **Proc Acad. Sci.** v. 90, n. 1, p. 7915-7922, 1993.

BOREK, C. The role of nutritional factors in cellular protection against DNA damage, altered gene expression and malignant transformation. **Mechanisms of DNA Damage and Repair**, v. 38, p. 557-562, 1996.

HORN, R. C.; VARGAS, V. M. F. Mutagenicity and Antimutagenicity of teas used in popular medicine in the *salmonella*/microsome assay. **Toxicology in vitro**, v. 22, n. 1, p. 1043-1049, 2008.

KUMAR, S. R.; VALLIKANNAN, B. Carotenoid composition and retinol equivalent in plants of nutritional and medicinal importance: Efficacy of β -carotene from *Chenopodium album* in retinol-deficient rats. **Food Chemistry**, v. 19, p. 1584-1590, 2010.

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

REN, H., ENDO, H., HAYASHI, T. The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities. **Mutat. Res.**, 496: 83-88, 2001.

ROBSON, N. K. B.; HALLÉ, N.; MATHEW, B.; BLAKELOCK, R. Celastraceae. In: Polhill, R. M. **Flora of tropical East Africa**. 1^a ed. Rotterdam: Balkema, 1994. P. 45-56.

SAKAI, Y.; NAGASE, H.; OSE, Y.; KITO, U.; SATO, T.; KAMAI, M.; MIZUNO, M. Inhibitory action of paeony root extract on the mutagenicity of benzo (a) pyrene. **Mutation Research**, v. 244, n. 1, p. 129-134, 1990.

SAVOLAINEN, V.; SPICHIGER, R.; MANEN, J. F. Polyphyletism of Celastrales deduced from a chloroplast noncoding DNA region. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 7, n. 1, p. 145-157, 1997.

TEIXEIRA, R. O.; CAMPAROTO, M. L.; MANTOVANI, M. S.; VICENTINI, V. E. P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vivo* and *in vitro* assays. **Genet. Mol. Biol.**, v.26, n.4 p.551-555, 2003.