

Estudo da atividade mutagênica de extratos vegetais com uso em medicina popular

Mutagenic activity of plant extracts used in popular medicine

Vera M.F. Vargas¹; Valmicir E.P. Motta*; Cecilia B. Alice²;
Regis R. Guidobono³ e João A.P. Henriques³

RESUMO: Foi determinada a atividade mutagênica em extratos aquosos de sete espécies de plantas utilizadas na medicina popular (*E. peltata*, *M. ilicifolia*, *B. anomala*, *D. incanum*, *T. asperior*, *I. rhombifolia*, *L. divaricata*) em teste de Ames, linhagens TA100 e TA98. Respostas positivas foram obtidas para as espécies *L. divaricata* e *B. anomala* na linhagem TA98 de *S. typhimurium* (com ativação metabólica) a qual detecta mutagênicos que ocasionam erro no quadro de leitura.

Palavras chave: Teste de Ames; *B. anomala*; *L. divaricata*; extratos de plantas; atividade mutagênica

SUMMARY: Aqueous extracts of seven species of plants used in popular medicine (*E. peltata*, *M. ilicifolia*, *B. anomala*, *D. incanum*, *T. asperior*, *I. rhombifolia*, *L. divaricata*) were tested for the presence of mutagenic activity in Ames test TA100 and TA98 strains. A positive response was obtained for *L. divaricata* and *B. anomala* in TA98 strain of *S. typhimurium* (with metabolic activation) which detects frameshift mutation.

Keywords: Ames test, *B. anomala*, *L. divaricata*, plant extracts, flavonoids, tannins; mutagenic activity

INTRODUÇÃO

O uso de extratos vegetais, como medicamentos para diversos tipos de doenças, é um costume incorporado à cultura da nossa população. No entanto, nem todas as plantas são inofensivas à saúde humana, podendo apresentar em sua composição substâncias mutagênicas conhecidas(2). Além disso, algumas substâncias naturais têm sido correlacionadas com aumento das taxas de doenças e tumores na população(9). A presença de atividade mutagênica numa determinada substância permite ainda avaliar sua potencialidade carcinogênica em vista da correlação existente entre mutagênese e câncer(4,5,10).

No presente trabalho foram estudadas, quanto à atividade mutagênica, onze extratos preparados a partir de espécies vegetais pertencentes às famílias Apocynaceae (*E. peltata*), Celastraceae (*M. ilicifolia*), Compositae (*B. anomala*), Leguminosae (*D. incanum*), Melastomataceae (*T. asperior*), Santalaceae (*I. rhombifolia*) e Tiliaceae (*L. divaricata*)(1). Foi utilizado o teste de Ames(8), linhagens TA100 e TA98 de *S. typhimurium*, as quais detectam mutagênicos por substituição de pares de base e erro no quadro de leitura, respectivamente.

MATERIAL E MÉTODOS

1— Amostra:

As plantas foram coletadas em regiões distantes de áreas poluídas, selecionadas e classificadas botanicamente. Os extratos vegetais foram preparados em água fervente à concentração de 50% peso/volume; esterilizados em filtros Sartorius com poro de 0,22 μ m de diâmetro (Carl Zeiss do Brasil). Na tabela 1 estão listadas as espécies vegetais estudadas, sua denominação vulgar, uso popular e principais componentes.

2— Teste mutagênico e citotóxico

A atividade mutagênica foi medida pelo teste de Ames(8) em presença e ausência de mistura de ativação S9 mix, procedimento de pré-incubação por 20 minutos à 37°C sem agitação. A fração microsossomal S9 foi elaborada a partir de fígados de rato Sprague-Dawleys pré-tratados com 3-metilcolantreno. (Biometrics TM — Litton, Charleston, USA). Com esta fração foi preparada a mistura de ativação S9 mix segundo Marom e Ames(8). Foi realizada a análise citotóxica(11) e a determinação de colônias Salmonella revertentes verdadeiras (his +) nas placas do teste mutagênico(11). Este procedimento evita os falsos-positivos, ocasionados

por morte celular ou excesso de histidina na amostra, respectivamente. A infusão vegetal foi considerada mutagênica quando o número de colônias na placa-teste foi pelo menos duas vezes o número obtido na mutação espontânea(8).

RESULTADOS

A tabela 2 apresenta os resultados da atividade mutagênica de onze extratos vegetais nas linhagens TA100 e TA98 em presença de fração metabolizante. Foram analisados extratos de folha e/ou caule conforme a utilização popular. Uma significativa atividade mutagênica foi somente observada nos extratos de *L. divaricata* (folhas) e *B. anomala* (folhas) linhagem TA98 na concentração de 100 mg de planta seca/placa. Os resultados em ausência de fração metabolizante foram negativos para todos os extratos (dados não mostrados).

A tabela 3 apresenta a análise citotóxica dos diferentes extratos vegetais na linhagem TA98 com e sem ativação microsossomal. Não foi observado efeito tóxico na concentração utilizada. A sobrevivência celular foi superior à 80%.

DISCUSSÃO

Os extratos vegetais de *L. divari-*

*in memoriam

¹Departamento do Meio Ambiente, Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente, Av. A. J. Renner, 10, 90250 P. Alegre, RS, BR

²Departamento de Produção de Matéria-Prima, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga, 2752, 90610 P. Alegre, RS, BR

³Departamento de Biofísica, Fisiologia e Farmacologia — Instituto de Biociências — UFRGS — Rua Sarmento Leite, 500, 90049 P. Alegre, RS — BR

Tabela 1 — Caracterização das Espécies Vegetais Estudadas Quanto à Atividade Mutagênica¹

Espécie da planta	Nome vulgar	Parte usada	Uso popular	Principais componentes
<i>Echites peltata</i> Vell.	João da Costa Cipó capador	C	Antiinflamatório	Saponinas, Triterpenos, Esteróis
<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reiss	Espinheira santa	F	Colagogo Colerético	Flavonóides, Taninos, Saponinas
<i>Baccharis anomala</i> D.C.	Uva do Mato	F C	Diurético	Taninos, Saponinas
<i>Desmodium incanum</i> D.C.	Amor do campo Pega-pega	F C	Diurético e Antiinflamatório	Flavonóides, Taninos, Saponinas
<i>Tibouchina asperior</i> Cogn	Douradinha	F C	Diurético	Taninos, Triterpenos, Esteróis, Saponinas, Flavonóides
<i>Iodina rhombifolia</i> Arn. ex Reiss	Cancerosa Cancerosa Sombra de touro	F	Analgésico Antisséptico e Cicatrizante	Flavonóides, Taninos
<i>Luehea divaricata</i>	Açoita-cavalo	F C	Diurético e Antiinflamatório	Flavonóides, Taninos, Saponinas

F = folha; C = caule

Tabela 2 — Atividade Mutagênica de Onze Extratos Vegetais em Teste de Ames, Linhagem TA98 e TA100 de *S. typhimurium* com Ativação Microsossomal

Compostos	Dose/placa (c)	TA 98			TA 100	
		Mutagênic.	R/pl (d)	(e) (f)	Mutagênic.	R/pl
Água (a)	200 µl	—	44 ± 3	—	149 ± 5	
Aflatoxina B ₁ (b)	0,5 µg	+	402 ± 2	+	439 ± 2	
<i>E. peltata</i>	C 100 mg	—	41 ± 2	—	180 ± 7	
<i>M. ilicifolia</i>	F 100 mg	—	48 ± 2	—	139 ± 2	
<i>B. anomala</i>	C 100 mg	—	41 ± 1	—	158 ± 2	
	F 100 mg	+	186 ± 8	—	130 ± 5	
<i>D. incanum</i>	C 100 mg	—	40 ± 2	—	160 ± 3	
	F 100 mg	—	76 ± 1	—	147 ± 5	
<i>T. asperior</i>	C 100 mg	—	26 ± 7	—	136 ± 7	
	F 100 mg	—	45 ± 4	—	145 ± 4	
<i>I. rhombifolia</i>	F 100 mg	—	37 ± 1	—	200 ± 2	
<i>L. divaricata</i>	F 100 mg	+	141 ± 5	—	145 ± 5	
	C 100 mg	—	31 ± 3	—	134 ± 3	

(a) Controle negativo

(b) Controle positivo

(c) 200 µl do extrato corresponde à 100 mg de planta seca

(d) + mutagênico; — não mutagênico

(e) Os resultados his + verdadeiros foram testados para todas as amostras

(f) R/pl = revertentes his + /placa

C = extrato de caule; F = extrato de folha

Tabela 3 — Análise Citotóxica de Onze Extratos Vegetais na Linhagem TA98 de *S. typhimurium* com e sem Ativação Microsossomal

Compostos		Sobrevivência % (a)	
		— S9	+ S9
<i>E. peltata</i>	C (b)	100%	100%
<i>M. ilicifolia</i>	F	100%	82%
	C	100%	100%
<i>B. anomala</i>	F	100%	100%
	C	100%	83%
<i>D. incanum</i>	F	100%	100%
	C	83%	100%
<i>T. asperior</i>	F	83%	100%
<i>I. rhombifolia</i>	F	100%	100%
	C	100%	95%
<i>L. divaricata</i>	F	100%	96%

(a) Sobrevivência % calculada em relação ao controle negativo

C = extrato de caule; F = extrato de folha

Dosagem utilizada: 200 µl do extrato correspondendo à 100 mg de planta seca

cata e *B. anomala*, em presença de fração microsossomal S9 mix, apresentam atividade mutagênica em *S. typhimurium* TA98. Estes resultados indicam que os extratos comportam-se como agentes mutagênicos causando lesões no DNA do tipo erro no quadro de leitura (tabela 2). Como indicado na tabela 1, os componentes principais desses vegetais são do grupo dos flavonóides, taninos e saponinas. Tem sido observada atividade mutagênica, na presença de flavonóides, com um padrão de hidroxilação semelhante ao da quercitina e kampferol (6,7). Estes flavonóides são comumente encontrados em plantas(2), na forma pró-mutagênica, sendo ativados após hidrólise microsossomal ou glicosidase. A ingestão de taninos e antocianinas, através da alimentação, ou em forma de extratos medicinais, também tem sido correlacionada com aumento nas taxas de câncer, principalmente de esôfago, na população(9). Taninos com características anti-oxidativas, no entanto, têm sido referidos como agentes anti-mutagênicos e anti-carcinogênicos(3).

É importante alertar para a necessidade de maior cuidado na ingestão periódica e indiscriminada de extratos vegetais desprovidos de efeitos tóxicos e considerados como produtos inócuos à população.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS); e Financiadoras de Projetos (FINEP — PIMUT).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1— ALICE, C.B.; SILVA, G.A.A.B.; SIQUEIRA, N.C.S. & MENTZ, L.A. — Levantamento fitoquímico de alguns vegetais utilizados na medicina popular do Rio Grande do Sul (Parte 1). *Cad. Farm.*, 1 (2): 83-94, 1985.
- 2— GÖGELMANN, W. & SCHIMMER, O. — Mutagenic activity of phytotherapeutic drugs. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 206:63-72, 1986.
- 3— KADA, T., KANEKO, K., MATSUZAKI, S., MATSUZAKI, T. & HARA, Y. — Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens. *Mutat. Res.*, 150:127-132; 1985.
- 4— MCCANN, J., CHOI, E., YAMA-SAKI, E. & AMES, B. N. — Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella /microsome test: Assay of 300 chemicals, *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)*, 72:5135-5139, 1975.
- 5— MCCANN, J. & AMES, B. N. — The salmonella / microsome mutagenicity test: predictive value for animal carcinogenicity. In: HIATT, H. H., WATSON, J. D., WINSTEN, J. A., ed. *Origins of Human Cancer*. New York, Cold Spring Harbor, 1976 p. 1431-50.
- 6— MACGREGOR, J. T. — Genetic toxicology of dietary flavonoids. In: KNUDSEN I.(ed): *Genetic toxicology of the Diet*. New York. Alan R. Liss, 1986. pp — 33-43.
- 7— MACGREGOR, J.T & WILSON, R. E. — Flavone mutagenicity in *Salmonella typhimurium*: Dependence on the pKM 101 plasmid and excision — repair deficiency *Environ. Mol. Mutag.*, 11:315-322, 1988.
- 8— MARON, D.M. & AMES, B. N. — Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113:173-215, 1983.
- 9— MORTON, J. F. — Search for carcinogenic principles. In: SWAIN, T. & KLEIMAN, R. Plenum Press (Eds): *Recent Advances in Phytochemistry*. Florida, USA, 1980 14:53-73.
- 10— MOUSTACHI, E & FAVAUDON, V. — Cytotoxic and mutagenic effects of neocarzinostatin in wild-type and repair-deficient yeast. *Mutat. Res.* 104:87, 1982.
- 11— VARGAS, V. M. F. MOTTA, V. E. P. & HENRIQUES, J. A. P. — Analysis of mutagenicity of waters under the influence of petrochemical industrial complexes by the Ames test (Salmonella /microsome). *Rev. Bras. Genét.* 11 (3):505-518, 1988.

A PREVISÃO DA PERMEABILIDADE DA PELE HUMANA "IN VITRO" PARA O NICORANDIL, BASEADO EM RESULTADOS COM ANIMAIS

Kiyoshi Sato & col. — J. Pharm. Pharmacol. 41: 379, 1989.

O Nicorandil é um vasodilatador coronariano usado para absorção percutânea. Os autores desenvolveram uma técnica "in vitro" empregando pele de ratos, cobaias, cães e leitões imaturos para o estudo da permeabilidade cutânea ao Nicorandil e os dados são extrapolados para a pele humana.

A técnica mostrou-se útil para o estudo de substâncias empregadas para a absorção transcutânea.