



## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DE UM EXTRATO DE *PLECTRANTHUS AMBOINICUS* EM *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

Alice Gomes Ferraz<sup>1</sup>  
Claudia Brígido<sup>2</sup>  
Alexandre de Barros Falcão Ferraz<sup>2</sup>  
Ivana Grivicich<sup>2</sup>  
Jaqueline Nascimento Picada<sup>2</sup>

### Resumo

As folhas de *Plectranthus amboinicus* são usadas como remédio tradicional no tratamento de uma gama de doenças tais como para o tratamento de bronquite grave, asma crônica, soluços, diarreia, insuficiência renal, cálculos da vesícula e renais, febre da malária, como anti-helmíntica e para cólicas. Por ser bastante consumida popularmente e por não haver na literatura dados que comprovem a segurança no uso desta planta, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial mutagênico da fração acetato de etila obtida a partir das folhas de *Plectranthus amboinicus*. Foi utilizado o teste *Salmonella*/microsoma em procedimento de pré-incubação, na presença e na ausência de S9 mix, em linhagens de *Salmonella typhimurium* TA98, TA97a, TA100 e TA102. Os dados foram expressos em média  $\pm$  D.P e a significância estatística foi determinada por análise de variância de uma via (ANOVA) complementada pelo teste de Dunnett. Nenhum efeito mutagênico foi observado nas linhagens TA98 e TA97a, sensíveis a mutação por deslocamento no quadro de leitura, na ausência ou presença de S9 mix. Também não foi observada nenhuma mutação na linhagem que detecta mutação por substituição de pares bases TA100 (Tabela 1). Resultados negativos também foram observados na linhagem TA102 que é sensível a agentes oxidantes e alquilantes. Os resultados permitem afirmar que o extrato de *Plectranthus amboinicus* estudado não induz mutações gênicas.

### INTRODUÇÃO

Na medicina, a *Plectranthus amboinicus* é usada como remédio tradicional no tratamento de uma gama de doenças. As folhas desta planta são tradicionalmente utilizadas para o tratamento de bronquite grave, asma crônica, soluços, diarreia, insuficiência renal, cálculos da vesícula e renais, febre da malária, anti-helmíntico, cólicas.

*Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng pertence à família Lamiaceae (LUKHOBBA *et al.*, 2006). Essa planta aromática é nativa da Ásia Oriental - Índia, encontrada nos trópicos, em toda a África Tropical, Austrália, México, Estados Unidos, América Tropical, desde as Antilhas até o Sul do Brasil (SATHASIVAM & ELANGOVAN, 2011; WEI *et al.*, 2006; LUKHOBBA *et al.*, 2006; LORENZI & MATOS, 2002).

No Brasil é popularmente conhecida como malva-do-reino, hortelã-da-folha-grossa, hortelã-da-folha-graúda e malvariço, como descrita por GURGEL *et al.*, (2009). É uma árvore do tipo arbusto, herbácea, perene, com caule grosso de cor verde, sua parte medicinal é a que cresce acima do solo (LUKHOBBA *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2008). Apesar do seu uso popular

<sup>1</sup>Aluna do Ensino Médio do Colégio Cristo Redentor ULBRA – Bolsista PIBIC-EM/CNPq

<sup>2</sup> Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde  
(jnpicada@hotmail.com)

não foram desenvolvidos estudos avaliando o potencial toxicológico desta planta, tais como ensaio cometa teste de micronúcleos e teste *Salmonella*/microssoma.

## **OBJETIVO**

Avaliar o potencial mutagênico da fração acetato de etila de *Plectranthus amboinicus* pelo teste *Salmonella*/microssoma

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

As partes aéreas de *P. amboinicus* foram coletadas, no Município de Teresina, Estado de Piauí – Brasil. Uma exsicata de identificação e registro está depositada em Herbário oficial. O material para produção do extrato aquoso foi selecionado e seco em ambiente arejado e ao abrigo de luz direta, depois foi triturado em moinhos de facas. Após a separação foi realizada a extração e fracionamento dos extratos.

### **Preparação do extrato bruto**

Para obtenção da fração de acetato de etila, as folhas de *P. amboinicus* foram submetidas a extração em aparelho soxhlet, na relação de 1:10 (planta/solvente). A fração acetato de etila, foi concentrada em rota evaporador sob temperatura inferior a 50 °C.

### **Teste *Salmonella*/microssoma**

As linhagens de *Salmonella typhimurium* TA98, TA97a, TA100 e TA102 foram compradas do Molecular Toxicology Inc (*Moltox*®). Mutagenicidade foi testada de acordo com o procedimento de pré-incubação. O S9 mix foi preparado de acordo com Mortelmans e Zeiger (2000). As concentrações do extrato usado foram determinadas de acordo com um experimento prévio na linhagem TA100, com e sem metabolização (S9 mix), e nenhuma citotoxicidade foi observada em concentrações até 5000 µg/placa. Assim as concentrações escolhidas foram 250, 500, 1000, 2500, e 5000 µg/placa. Resumindo, 100 µL de cultura bacteriana ( $1-2 \times 10^9$  células / ml) foram incubados á 37 °C com diferentes quantidades de fração de acetato de etila na presença e na ausência de S9 mix durante 20 minutos, sem agitação. Em seguida foi feita a adição de 2 mL de agar (0,6% agar, 0,5% NaCl, 50 µM histidina, 50 µM biotina, pH 7.4, 42°C) ao tubo e colocado imediatamente em uma placa com meio mínimo (1,5% agar, meio de Vogel-Bonner, contendo 2% glicose). Aflatoxina B1 (1 µg/placa) foi usada como controle positivo para todas as linhagens nos testes com metabolização (com S9 mix). Nos testes na ausência de ativação metabólica, 4 - nitroquinolina -1- óxido (4-NQO, 0,5 µg/placa) foi utilizada nas linhagens TA97a, TA98 e TA102, e azida de sódio (1 µg/placa) foi empregada para a linhagem TA100. Os testes foram realizados em triplicata.

### **Análise de dados**

Os dados do teste *Salmonella*/microssoma, foram expressos em média ± D.P e a significância estatística foi determinada por análise de variância de uma via (ANOVA) complementada pelo teste de Dunnett. Uma substância teste é considerada mutagênica quando a dose-resposta e a variação ANOVA forem significativas com  $p < 0,05$ , e o aumento do número médio de revertentes da substância teste for de pelo menos o dobro do encontrado no controle negativo.

## RESULTADOS

Nenhum efeito mutagênico foi observado nas linhagens TA98 e TA97a, sensíveis a mutação por deslocamento no quadro de leitura, na ausência ou presença de S9 mix. Também não foi observada nenhuma mutação nas linhagens de detecção de mutação por substituição de pares bases TA100 (Tabela 1). Resultados negativos também foram observados na linhagem TA102 que é sensível a agentes oxidantes e alquilantes.

## CONCLUSÃO

O resultado indica que a fração acetato de etila das folhas de *Plectranthus amboinicus* não induz a mutações genéticas no *Salmonella*/microsoma, na presença ou não de ativação metabólica.

## REFERÊNCIAS

GRAYER, R. J.; et al. Distribution of exudates flavonoids in the genus *Plectranthus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 335-341, 2010.

GURGEL, A. P. A. D.; SILVA, J. G.; GRANGEIRO, A. A. R. S.; OLIVEIRA, D. C.; LIMA, C. M. P.; SILVA, A. C. P.; OLIVEIRA, R. A. G.; SOUZA, C. I. A. In vivo study of the anti-inflammatory and antitumor activities of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 125, p. 361–363, 2009.

KHARE, R. S.; BANERJEE, S.; KUNDU, K. *Coleus aromaticus* Benth – a nutritive medicinal plant of potential therapeutic value. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**. v. 2, n. 3, 2011.

LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil nativas e exóticas**. 2ª Edição, São Paulo: Instituto Plantarum. 2008.

LUKHOBACW, SIMMONDS MSJ, PATON AJ. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses **Journal of Ethnopharmacology** v.103, p.1–24, 2006.

MORTELMANS, K., ZEIGER, E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research**, v.455, p. 29–60, 2000.

WEI, CHENG-YU; LU, KU-SHAN.; HSIA, CHING-WU. et al. Leaf juice of *Plectranthus amboinicus* for treating cancer and/or tumor. United States. Patent Application Publication. Pub. N° :US 2006q0099283A1. Pub. Date: May 11, 2006. .

WU, R.Y.; CHUNG, Y. S.; WU, Y. Y.; SIU, M. L.; HUANG, H. J.; HSIAO, C. W. Plant extracts from genera *Plectranthus amboinicus* e *Centella asiatica* for treating skin disorders and enhancing healing of wounds for diabetics patients. European patent application EP 1 925 310 A1. 2008

Tabela 1. Indução de *his+* revertente em linhagens de *S. typhimurium* com a fração de acetato de etila de *Plectranthus amboinicus* (Pa-EtA) com e sem ativação metabólica (S9 mix)

Substancia	Concentração (µg/placa)	TA98		TA97a		TA100		TA102	
		Rev/plate <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/placa <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/placa <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>	Rev/placa <sup>a</sup>	MI <sup>b</sup>
Sem ativação metabólica (-S9)									
CN <sup>c</sup>	-	28.0±6.2	-	54.3±2.3	-	103.7±13.4	-	432.3±73.2	-
Pa-EtA	250	20.0±4.0	0.71	67.7±11.8	1.25	125.7±10.0	1.21	500.3±27.8	1.16
	500	25.7±3.8	0.92	60.7±6.7	1.12	117.0±9.8	1.13	461.7±17.2	1.07
	1000	25.0±5.6	0.89	73.7±9.6	1.36	133.3±9.7	1.29	405.3±71.7	0.94
	2500	28.0±6.2	1.00	64.7±4.7	1.19	124.0±21.6	1.20	455.3±26.6	1.05
	5000	18.3±3.5	0.65	70.3±14.7	1.29	132.3±10.0	1.28	414.7±41.0	0.96
CP <sup>d</sup>	0.5 (4NQO) 1 (NaN <sub>3</sub> )	359.3±24.1 <sup>***</sup>	<b>12.80</b>	399.3±49.2 <sup>***</sup>	<b>7.35</b>	2765.3±382.8 <sup>***</sup>	<b>26.68</b>	3744.0±288.1 <sup>***</sup>	<b>8.66</b>
Com ativação metabólica (+S9)									
CN <sup>c</sup>	-	40.3±7.0	-	77.3±12.1	-	103.7±3.1	-	393.0±20.7	-
Pa-EtA	250	31.0±5.6	0.77	79.0±8.5	1.02	101.0±1.0	0.97	386.7±55.2	0.98
	500	32.7±2.5	0.81	68.7±12.5	0.89	105.0±6.2	1.01	371.7±16.5	0.95
	1000	27.5±3.5	0.68	67.0±7.0	0.87	103.3±9.0	1.00	374.7±46.9	0.95
	2500	30.7±4.0	0.76	84.0±26.0	1.09	105.0±15.6	1.01	329.7±25.0	0.84
	5000	36.7±9.9	0.91	81.0±19.2	1.05	114.0±6.9	1.10	294.0±46.3	0.75
CP <sup>d</sup>	1 (AFB <sub>1</sub> )	1066.0±173.3 <sup>***</sup>	<b>26.43</b>	324.3±36.2 <sup>***</sup>	<b>4.19</b>	518.0±61.6 <sup>***</sup>	<b>5.00</b>	1573.7±50.7 <sup>***</sup>	<b>4.00</b>

<sup>a</sup>Número de revertentes/placa: Média de três experimentos diferentes± SD; <sup>b</sup>IM: Índice Mutagênico (n°. De *his+* induzidos na amostra/n°. De *his+* espontâneo no controle negativo); <sup>c</sup>CN: Controle negativo: dimetilsulfoxido/ água destilada (1:1) usada como solvente para o extrato. <sup>d</sup>CP: controle positivo (-S9) azida de sódio para TA100; 4-NQO para TA97a, TA98 e TA102; (+S9) aflatoxina B1; <sup>\*\*\*</sup> *p*<0.001, significativamente diferente do controle negativo.