

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO COMPOSTO GAMA-DECANOLACTONA

Cleonice Hoffmann¹; Fernanda Brião Menezes Boaretto²; Jean Fachini³; Juliana Bondan da Silva⁴; Jaqueline Nascimento Picada⁵

¹ Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina – Bolsista PROBIC/FAPERGS/ULBRA/Canoas – cleo2506@hotmail.com

² Aluna do Curso de Graduação em Biologia – Bolsista CNPq/ ULBRA/Canoas

³ Aluno do Curso de Graduação em Biomedicina – Voluntário/ULBRA/Canoas

⁴ Aluna do Curso de Graduação em Biologia – Bolsista Fapergs/ ULBRA/Canoas

⁵ Professora do Laboratório de Genética Toxicológica – ULBRA/Canoas - jpicada@gmail.com

INTRODUÇÃO

Gama-decanolactona (GD) é um composto monoterpeneo, estruturalmente relacionada com lactonas presentes em óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens* (usado como remédio por caboclos na Amazônia). A avaliação deste composto psicofarmacológico em ratos revelou que ele tem um efeito dose-dependente no sistema nervoso central (SNC), incluindo hipnótico, anticonvulsivante e indutor de hipotermia, a administração única de GD revelou seu efeito protetor contra convulsões induzidas por pentilenotetrazol, (Coelho de Souza et al., 1997). Os resultados sugeriram efeitos protetores associados com atividade anticonvulsivante, e indicaram que GD é capaz de inibir a ligação de glutamato em córtex (Pereira et al, 1997; Viana et al, 2007; De Oliveira et al., 2008). GD não alterou o comportamento dos animais no labirinto em cruz elevado e nado forçado, sugerindo que este composto não apresenta nenhuma atividade ansiolítica ou antidepressiva (Viana et al., 2007).

Considerando que GD tem mostrado efeitos farmacológicos sobre o sistema nervoso central (SNC), em estudos anteriores, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a mutagenicidade deste composto, utilizando-se o teste de AMES, um dos testes requeridos para registro de novos fármacos. Porém, poucos estudos avaliaram este composto quanto as suas atividades mutagênicas, por isso o presente trabalho teve como objetivo avaliar a mutagenicidade deste composto através do teste de *Salmonella*/microsoma ou teste de AMES, que é usado para avaliar mutações gênicas induzidas por substâncias com potencial de uso farmacológico.

OBJETIVO

Avaliar a atividade mutagênica do composto monoterpeneo gama-decanolactona através do teste *Salmonella*/microsoma (teste de AMES).

RESULTADO

Observou-se a formação de micro colônias nas placas em todas as linhagens na dose mais alta testada (200 µg/placa), sugerindo toxicidade nesta dose. Portanto, GD não aumentou de forma significativa o número de revertentes nas 05 (cinco) linhagens testadas, na presença e ausência de ativação metabólica (S9 mix).

Tabela 1. Indução de revertentes *his+* em linhagens de *S. typhimurium* tratadas com gama-decanolactona (GD) na presença e ausência de ativação metabólica (S9 mix).

Substância	Concentração (µg/placa)	Linhagens de <i>S. typhimurium</i>									
		TA98		TA97a		TA100		TA1535		TA102	
		Rev/placa ^a	MI ^b	Rev/placa ^a	MI ^b	Rev/placa ^a	MI ^b	Rev/placa ^a	MI ^b	Rev/placa ^a	MI ^b
Ausência de ativação metabólica (-S9)											
NC ^c	-	28.7±8.3	-	90.7±24.0	-	125.0±1.0	-	13.3±2.0	-	480.0±37.8	-
GD	5	23.3±5.8	0.81	93.0±26.5	1.03	122.0±21.7	0.98	11.7±5.1	0.88	463.0±32.7	0.96
	10	25.0±4.4	0.87	105.3±11.6	1.16	117.7±17.6	0.94	9.7±2.1	0.73	460.0±3.5	0.96
	50	22.0±5.2	0.77	113.3±6.7	1.25	114.3±4.7	0.91	10.3±3.1	0.77	496.7±54.7	1.03
	100	22.3±2.3	0.78	109.7±15.3	1.21	109.3±13.0	0.87	7.7±2.9	0.58	498.0±47.8	1.04
	200	35.0±19.0	1.22	107.0±9.5	1.18	83.3±4.7	0.67	11.0±1.7	0.83	471.7±26.0	0.98
PC ^d	0.5 (4NQO) 1 (NaN ₃)	370.0±28.3***	12.91	531.5±38.9***	5.86	1312.0±339.5***	10.50	617.5±44.6***	46.32	3838.0±503.0***	8.00
Presença de ativação metabólica (+S9)											
NC ^c	-	23.7±4.9	-	86.0±9.5	-	96.7±9.3	-	8.0±3.0	-	426.0±27.4	-
GD	5	27.3±2.1	1.15	88.3±3.8	1.03	93.0±7.8	0.96	11.3±4.0	1.42	392.7±41.1	0.92
	10	25.3±7.6	1.07	80.7±11.1	0.94	102.7±11.6	1.06	11.7±2.5	1.46	413.0±17.5	0.97
	50	25.7±5.7	1.08	84.3±9.07	0.98	91.3±16.3	0.94	7.0±1.7	0.88	414.0±31.1	0.97
	100	24.3±5.1	1.03	91.0±13.8	1.06	102.3±8.1	1.06	10.3±4.7	1.29	358.7±30.7	0.84
	200	21.7±1.5	0.92	86.3±8.3	1.00	79.7±19.0	0.82	7.3±3.1	0.92	402.0±42.4	0.94
PC ^d	1 (AFB-1)	523.0±28.9***	22.10	360.2±38.2***	4.19	350.7±10.5***	3.63	143.3±6.7***	17.91	1387.0±90.5***	3.26

^aNúmero de revertentes/placa: média ± DP; ^bMI: Índice Mutagênico (nº. de *his+* induzidos na amostra/nº. de *his+* espontâneo no controle negativo); ^cCN: Controle Negativo (dimetilsulfoxido, 10 µL, usado com solvente). ^dCP: Controle Positivo (-S9) azida sódica para TA100 e TA1535; 4-NQO para TA97a, TA98 e TA102; Diferença significativa em relação ao controle negativo*** $p < 0.001$, (ANOVA, Teste de Dunnett).

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que com a presença e ausência da metabolização, Gama-decanolactone (GD) não induziu mutações gênicas tanto por substituição de pares de bases como por deslocamento no quadro de leitura.

METODOLOGIA

Foram utilizadas cinco (05) linhagens de *Salmonella typhimurium* TA102, TA98, TA97a, TA100 e TA1535 na presença e ausência de ativação metabólica, seguindo a metodologia padrão desenvolvida por Maron e Ames (1983) e revisada em Mortelmans e Zeiger (2000). As culturas bacterianas ($1-2 \times 10^9$ células/mL) foram tratadas com a substância teste, em diferentes concentrações, em tubos de ensaio durante 20 minutos a 37°C, em banho-maria e após foram semeadas em meio mínimo (MM), constituído por glicose 40% e meio E de Vogel-Bonner (sulfato de magnésio a 1%, ácido cítrico monoidratado a 10%, fosfato de potássio dibásico a 50%, fosfato de sódio e amônio a 17,5%), solidificado com 1,5% de ágar. Dois mL de ágar de superfície (ágar a 0,9%, NaCl a 0,75%, 50µM de histidina, 50µM de biotina, pH 7,4, 45°C) foram adicionados e após mistura em agitador de tubos, semeados em placas de MM. Todas as placas foram incubadas por 48 horas a 37°C em incubadora BOD. Substâncias mutagênicas foram utilizadas como controle positivo.

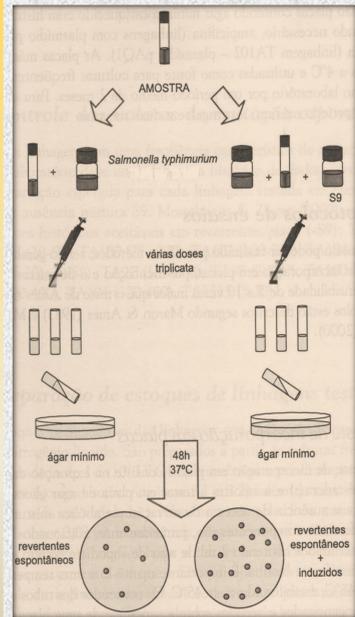


Figura 1. Esquema do teste de AMES. Livro: Mutagenese Ambiental/Editora da ULBRA

REFERÊNCIAS:

MARON, D.M.; AMES, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* 1983;113:173-215.
MORTELMANS, K.; ZEIGER E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutat. Res.* 2000;455:29-60.
VIANA, C.C.; DE OLIVEIRA, P.A.; BRUM, L.F.; PICADA, J.N.; PEREIRA, P., 2007. Gamma-decanolactone effect on behavioral and genotoxic parameters. *Life Sci.* 80, 1014-1019.
PFLÜGER, P.; VIAU, C.M.; COELHO, V.R.; BERWIG, N.A.; STAUB, R.B.; PEREIRA, P.; SAFFI, J., 2016. Gamma-decanolactone inhibits iNOS and TNF-alpha production by lipopolysaccharide-activated microglia in N9 cells. *E. J. Pharmacology* 780, 38-45.
DE OLIVEIRA, P.A.; LINO, F.L.; CAPPELLARI, S.E.; DA SILVA BRUM, L.F.; PICADA, J.N.; PEREIRA, P., 2008. Effects of gamma-decanolactone on seizures induced by PTZ-kindling in mice. *Exp. Brain Res.* 187, 161-166