

Avaliação das atividades genotóxica e antioxidante da periderme do caule de chichuá (*Maytenus guianensis* Klotzsch)

F. Bay-Hurtado^{1,2}; R. A. Lima³; M. S. Azevedo⁴; V. A. Facundo^{2,4}

¹Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Rondônia, Câmpus de Presidente Médici, CEP 76926-000, Presidente Médici-Rondônia, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental, Universidade Federal de Rondônia, Câmpus Br, CEP 76801-059, Porto Velho-Rondônia, Brasil

³Programa de Pós-Graduação em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Universidade Federal de Rondônia, Câmpus Br, CEP 76801-059, Porto Velho-Rondônia, Brasil

⁴Departamento de Química, Universidade Federal de Rondônia, Câmpus Br, CEP 76801-059, Porto Velho-Rondônia, Brasil

fernandabay@unir.br

(Recebido em 11 de novembro de 2014; aceito em 21 de agosto de 2015)

Espécies pertencentes ao gênero *Maytenus* (Celastraceae) são utilizadas na medicina tradicional na região Amazônica contra câncer, reumatismo, e como anti-inflamatório. *Maytenus guianensis*, popularmente conhecida como “chichuá e xixuá” é uma árvore muito difundida na floresta Amazônica. No presente estudo, o extrato etanólico da periderme do caule desta espécie foi investigado acerca de sua atividade antioxidante através do método do radical livre estável DPPH e seu possível efeito genotóxico em células meristemáticas através do teste com *Allium cepa*. Os resultados obtidos para a atividade antioxidante revelaram uma CE₅₀ para o extrato bruto de 50,44 µg.mL⁻¹ e para o eluato acetônico 49,52 µg.mL⁻¹, que se aproximam do valor obtido de 46,62 µg.mL⁻¹ para o extrato de *Ginkgo biloba*. Para os testes de genotoxicidade, os resultados revelaram uma baixa atividade genotóxica e significativa atividade antiproliferativa nas células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* em doses até 200 µg.mL⁻¹ e 48 horas de exposição.

Palavras-chave: Celastraceae, radicais livres, mutagenicidade.

Evaluation of the genotoxic and antioxidant activity of chichuá (*Maytenus guianensis* Klotzsch).

Species of the genus *Maytenus* (Celastraceae) are used in traditional medicine in the Amazon region against cancer, rheumatism, and as anti-inflammatory. *Maytenus guianensis*, popularly known as "chichuá and xixuá" is a widespread tree in the Amazon rainforest. In the present study the ethanolic extract of the periderm of the stem of this species was investigated about their antioxidant activity by the method of stable free radical DPPH and its possible genotoxic effect on meristematic cells of *Allium cepa*. The results for the antioxidant activity showed an EC₅₀ for the ethanol extract of 50.44 µg.mL⁻¹ and 49.52 µg.mL⁻¹ for the acetone eluate, approaching the value obtained 46.62 µg.mL⁻¹ for the extract of *Ginkgo biloba*. For genotoxicity tests results revealed a low genotoxic activity and significant antiproliferative activity in meristematic cells of *Allium cepa* roots in doses up to 200 µg.mL⁻¹ and 48 hours of exposure.

Keywords: Celastraceae, free radicals, mutagenicity.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Maytenus* é o maior e mais diversificado da família *Celastraceae*. Este gênero possui cerca de 200 espécies tropicais, dentre estas, 76 espécies e 14 variedades são encontradas no Brasil ^[1]. Os espécimes deste gênero são encontrados na floresta amazônica, na floresta atlântica, no cerrado, na restinga, na caatinga e no campo rupestre ^[2]. Muitas espécies deste gênero são utilizadas na medicina popular. Morfologicamente, esse gênero é formado por árvores, arbustos ou subarbustos, suas folhas têm forma variada, que pode ser crenada, serrada ou aculeada nas margens e possuem flores inconspícuas, esverdeadas e fruto cápsula ^[2].

Maytenus guianensis é uma árvore endêmica de terra firme na Amazônia, e é conhecida como chichuá, xixuá, chuchahuasi, chuchhu huashu, chuchuasi e chuchasha ^[3, 4, 5]. Suas raízes e caule são utilizados como analgésico, anti-inflamatório, afrodisíaco, relaxante muscular,

antirreumático e antidiarréico ^[4]. Como cosmético, é utilizado nas erupções cutâneas e prevenção de câncer de pele ^[3].

Em âmbito mundial, tem-se encontrado forte relação entre a exposição a agentes genotóxicos e o desenvolvimento de diversos efeitos nocivos à saúde, principalmente com a incidência de cânceres e problemas reprodutivos em pessoas ocupacionalmente expostas em laboratórios químicos, clínicos, toxicológicos e indústrias em geral ^[6]. Estes agentes podem induzir modificações químicas tanto ao nível celular quanto molecular e essas lesões podem ser induzidas por agentes químicos, físicos ou biológicos que são prejudiciais às células, uma vez que podem afetar processos vitais como a duplicação e a transcrição gênica. Estas alterações podem também causar mutações e aberrações cromossômicas, fenômenos esses que podem levar a processos cancerosos e morte celular ^[7].

As fontes de exposição a compostos mutagênicos podem ser de vários tipos: (1) endógenos – óxido nitroso e radicais livres de oxigênio; (2) provenientes da dieta – mutagênicos gerados durante o cozimento de alimentos, ou presentes na dieta; (3) radiação – exposição aos raios-X e ultravioleta (UV); (4) poluição – efluentes industriais, pesticidas, produtos provenientes da incineração de lixo ^[8]. Estas lesões no DNA podem ser quantificadas, tendo por base células-controladas não tratadas como parte de um ensaio de genotoxicidade. A frequência de fundo quantificável mutante representa uma parte crítica de qualquer caracterização dose-resposta de mutagenicidade, que pode ser medida tanto em modelos animais, vegetais e em microorganismos *in vitro* ou *in vivo*, e assim, ser extrapolada para humanos ^[9].

A oxidação é inerente à vida aeróbica e, dessa forma, os radicais livres são produzidos naturalmente. Essas moléculas geradas *in vivo* estão envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes ^[10].

Muitos compostos oxidantes ou pró-oxidantes possuem atividade carcinogênica e mutagênica e atuam através da formação de radicais de oxigênio também chamados de espécies reativas de oxigênio (ERO) ^[11]. A maioria das reações dos radicais livres envolve a redução do oxigênio molecular, levando à formação de ERO como ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e radical hidroxila (OH^{\cdot}). Em geral, as espécies reativas de oxigênio são essenciais para muitas funções celulares, entretanto, podem causar danos oxidativos aos componentes celulares, contribuindo para o envelhecimento e doenças degenerativas, assim, a proteção dos componentes celulares contra as modificações oxidativas pode ser estabelecida com o uso de antioxidantes ^[11].

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos através da alimentação, quando há um desbalanço entre a produção de radicais livres e os mecanismos de defesa antioxidante. Isso recebe o nome de “estresse oxidativo” ^[12]. Os radicais livres em excesso podem ser originados por defeitos na respiração mitocondrial, metabolismo do ácido araquidônico, ativação-inibição de sistemas enzimáticos ou por fatores exógenos, como poluição, hábito de fumar ou ingerir álcool, ou ainda, por uma nutrição inadequada ^[12].

Os antioxidantes agem interagindo com os radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, evitando que ocorram as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos ^[13]. Os radicais formados, a partir de antioxidantes, não são reativos para propagar a reação em cadeia que seria prejudicial à célula; eles são neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis, ou podem ser reciclados por outro antioxidante ^[14]. O uso de antioxidantes naturais tem aumentado com as descobertas das propriedades dos componentes que são produzidos pelas plantas através do metabolismo secundário. Esses componentes podem atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete e/ou exibir simultaneamente, mais de uma dessas funções ^[15].

Dada a importância regional da espécie *Maytenus guianensis*, os objetivos deste trabalho foram investigar o extrato etanólico da entrecasca do caule quanto a sua atividade antioxidante através da captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e sua genotoxicidade através do teste utilizando *Allium cepa*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação do extrato e eluatos

As cascas do caule de *Maytenus guianensis* Klotzsch foram coletadas em fevereiro/2008 na Reserva Florestal Adolpho Ducke, localizada no Km 26 da Estrada Manaus-Itacoatiara (AM-010) (2°53'S, 59°58'W), e a identificação da espécie foi realizada no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), exsicata nº 188.485.

As cascas do caule foram secas em estufa com ventilação forçada a 50 °C por 48 horas (Figura 1A), em seguida foram raspadas para a retirada da periderme, fornecendo 210 g, sendo esta, a parte submetida à maceração com etanol P.A., em temperatura ambiente (25-30°C), até a exaustão (28 dias). Após rotaevaporação obteve-se 98,0 g de extrato etanólico (EEMG) (Figura 1B).

Os eluatos foram preparados a partir de 50,0 g do EEMG, que foi adsorvido em 100 g de sílica gel e submetido a coluna filtrante, sendo eluído com hexano, clorofórmio e acetona, 4,0 L por solvente, obtendo-se após rotaevaporação: 12,84 g de eluato hexânico (EHMG), 11,25 g de eluato clorofórmico (ECIMG) e 18,75 g de eluato acetônico (EAcMG).

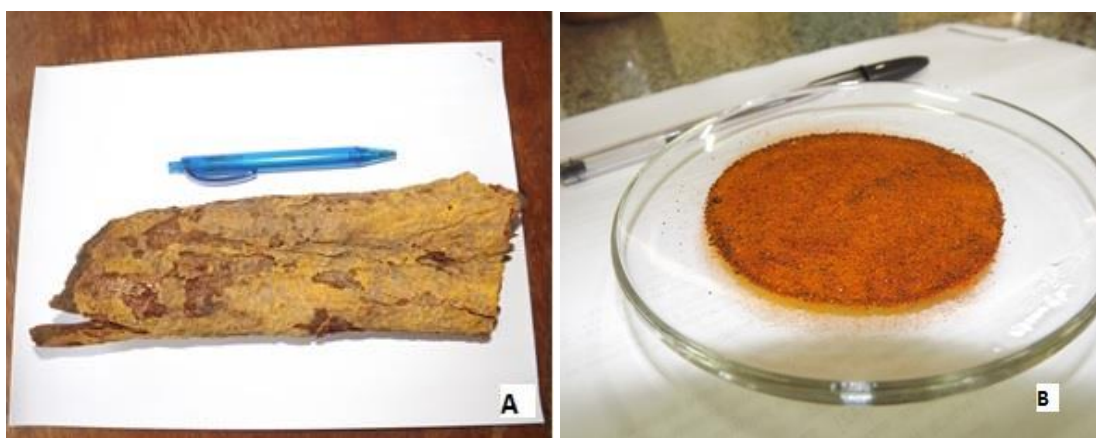


Figura 1: Casca do caule de *Maytenus guianensis* (A) e extrato etanólico da periderme. (B).

2.2 Teste com células de *Allium cepa*

Para o teste envolvendo *Allium cepa*, foram utilizados bulbos de tamanho médio, uniforme, de mesma origem, não germinados e saudáveis. Os bulbos de *A. cepa* foram lavados, limpos, desenraizados e posteriormente colocados em frascos plásticos com água destilada a temperatura ambiente (25-30°C) para enraizamento. A análise citotóxica em *A. cepa* foi realizada com base na germinação dos meristemas^[16]. As raízes foram medidas com 72 horas, após o início da germinação. De cada bulbo de *A. cepa* foram medidas as três maiores raízes, totalizando 15 raízes por tratamento (três raízes por bulbo de *A. cepa*). A medição foi realizada com régua escolar simples graduada em cm. Foram utilizados os seguintes tratamentos: Controle Negativo (CN) contendo H₂O mineral e para os testes genotóxicos foram utilizados o CN e o extrato e eluatos de *M. guianensis* nas seguintes concentrações 50, 100 e 200 µg.mL⁻¹. As amostras das pontas das raízes foram retiradas com 24 e 48 horas para análise. Destas raízes, foi retirada a região das células meristemáticas, coradas e fixadas com orseína acética a 1% e posterior leitura microscópica óptica, utilizando aumento de 100 e 400 vezes. Foram avaliadas 1000 células por repetição, totalizando 5.000 células por tratamento. Foram avaliados o índice mitótico (IM), as anomalias celulares e cromossômicas (ACM) e o total de anomalias (TA).

O índice mitótico (IM) foi calculado através da equação: $IM = (CM/TC) \times 100$, sendo que CM representa o número de células em mitose e TC o número total de células analisadas, respectivamente^[17].

2.3 Teste de atividade antioxidante

Para esta avaliação foi preparada uma solução de 100 µg.mL⁻¹ de DPPH em metanol. As soluções teste de *M. guianensis* foram preparadas em metanol, para o extrato etanólico e eluatos, com concentrações variando entre 10 e 250 µg.mL⁻¹. O mesmo procedimento foi

realizado para a solução padrão de *Ginkgo biloba* (Egb 761). Em seguida, em 2,5 mL destas amostras, foi adicionado 1 mL da solução de DPPH. Como branco (controle negativo) foi utilizado 1 mL da solução de DPPH e 2,5 mL de metanol. Vinte minutos após a adição de DPPH às amostras, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro de Ultravioleta UV-Vis (Shimadzu UV 1601) em 517 nm. Os testes foram realizados em triplicata, e com a média dos dados, calculou-se a porcentagem da atividade antioxidante (% AA) (Equação 1), e, a concentração efetiva (CE₅₀), quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, sendo esta determinada através da regressão linear dos valores [18,42].

As atividades sequestrantes de DPPH do extrato etanólico, eluatos e *Ginkgo biloba* foram expressas em porcentagem, segundo a Equação 1:

$$(\% \text{ AA}) = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs}_{\text{branco}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{branco}}} \right) \times 100 \right] \quad \text{Equação 1}$$

Onde: Abs_{amostra} = absorvância da solução em análise (extrato etanólico, eluatos e *Ginkgo biloba*), Abs_{branco} = absorvância da solução de metanol + DPPH.

2.4 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas foram elaborados bancos de dados no programa Origin (Microcal Software, Inc., Northampton, MA, USA), versão 8.0 “for Windows” e analisados pelo teste de Tukey, com um nível de significância de $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de efeito mutagênico do EEMG, neste estudo, foi realizado em *A. cepa* e avaliado observando-se as células meristemáticas nos períodos de interfase e divisão celular (mitose) para cálculo do índice mitótico (IM) (Tabela 1).

Com isso, a ocorrência de anomalias celulares e cromossômicas (ACM), como a presença de pontes, cromossomos retardatários, micronúcleos e células binucleadas (Tabela 1).

Analisando-se os resultados foi possível observar que há diferença significativa entre os tempos de exposição de 24 e 48 horas em todas as concentrações testadas, sendo que no tempo de exposição de 48 horas houve efeito antiproliferativo.

Tabela 1: Tratamentos, número total de células analisadas, número de alterações celulares e cromossômicas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com o extrato etanólico da periderme de *Maytenus guianensis*. As frequências seguidas pela mesma letra na coluna diferem significativamente ao nível de 5%, pelo Teste de Tukey.

Tratamento	Tempo (h)	Número de Células			Índice Mitótico (%)
		Total	Interfase	Mitose	
50 µg.mL ⁻¹	0	5000	4.260 ^a	740 ^a	14,8
	24	5000	2.924 ^{a,b}	2.076 ^{a,b}	41,5
	48	5000	4.804 ^b	196 ^b	3,9
100 µg.mL ⁻¹	0	5000	2.665 ^c	2.335 ^c	16,7
	24	5000	2.797 ^d	2.203 ^d	44,0
	48	5000	4.639 ^{c,d}	361 ^{c,d}	7,2
200 µg.mL ⁻¹	0	5000	4.708 ^e	292 ^e	13,8
	24	5000	3.160 ^{e,f}	1.840 ^{e,f}	36,8
	48	5000	4.661 ^f	339 ^f	6,7

Os resultados indicam que os tratamentos nas primeiras 24 horas aumentaram a divisão celular de maneira significativa e esta divisão ocorreu sem provocar anomalias cromossômicas,

sendo estes resultados consistentes quando comparados com demais estudos para o gênero *Maytenus* [19, 20, 21].

Porém, os resultados para 48 horas em todas as concentrações evidenciam a capacidade antiproliferativa de *M. guianensis* em longo prazo (Tabela 1), pois houve inibição da divisão celular de *A. cepa*, conforme o aumento do tempo de exposição aos extratos. Verifica-se então que em um tempo de exposição prolongado (48 h) há um efeito danoso nas células de *A. cepa*, sendo possível que as moléculas bioativas presentes neste extrato estejam interferindo no controle das divisões celulares, havendo porém pouca ação genotóxica conforme os resultados da Tabela 2.

Os tratamentos com o EEMG apresentaram dois tipos de aberrações celulares: cromossomos retardatários em anáfase e pontes em anáfase e telófase, estas aberrações foram encontradas nos tratamentos em todas as concentrações e tempos de exposição (Tabela 2). As frequências de células aberrantes totais, observadas para todas as concentrações testadas do EEMG, para os tratamentos, mostraram valores mais altos que o observado no teste controle. Foi observado para a concentração de 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e exposição de 48 horas um maior número de células aberrantes, que pôde ser comprovado pelos estes estatísticos realizados, confirmando que há diferença significativa entre as concentrações e os tempos de exposição, porém o número total de células aberrantes quando comparado ao total de células analisadas por tratamento não é significativos.

Tabela 2: Tratamentos, número total de células analisadas, número de aberrações celulares e de células aberrantes de pontas de raízes de *Allium cepa* tratadas com extrato etanólico da periderme de *Maytenus guianensis*. Frequências seguidas pela mesma letra na coluna diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tratamento	Tempo (h)	Nº total de Células analisadas	Aberrações Celulares		Total de células aberrantes (%)
			Cromossomo retardatário em anáfase	Pontes em anáfase e telófase	
50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0	5000	1 ^a	4 ^a	0,1
	24	5000	11 ^{a,b}	13 ^{a,b}	0,48
	48	5000	39 ^{a,b}	24 ^{a,b}	1,28
100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0	5000	6 ^c	8 ^c	0,28
	24	5000	15 ^{c,d}	12 ^{c,d}	4,8
	48	5000	43 ^{c,d}	35 ^{c,d}	1,56
200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0	5000	3 ^e	5 ^e	0,16
	24	5000	21 ^{e,f}	33 ^e	1,08
	48	5000	58 ^{e,f}	39 ^e	1,94

Os efeitos de extratos de plantas sobre o ciclo celular de *A. cepa* têm sido relatados por vários autores [22, 23, 24], os quais mostraram que os principais efeitos que ocorrem são mutagênicos e antimutagênicos, bem como o aumento e diminuição da proliferação celular de pontas de raízes tratadas com extratos de diferentes espécies de plantas.

A importância e a utilidade de testes com vegetais na avaliação de riscos de genotoxicidade são citadas desde 1994 [25], os quais enfatizam que apesar das diferenças entre os metabolismos de plantas e animais há também similaridades, e que ativação de pró-mutágenos possui alta relevância.

Resultado semelhante também foi observado na espécie *M. senegalensis*, que não apresentou atividade mutagênica [20], conforme observado no presente estudo, pois os resultados obtidos com o extrato etanólico da periderme e os eluatos de *M. guianensis* demonstraram atividade antiproliferativa com tempo de exposição prolongado (48 h), não apresentando ação clastogênica e aneugênica.

Estudos avaliando o efeito da concentração de extratos de *M. ilicifolia* sobre células meristemáticas de *A. cepa* demonstraram que concentrações mais elevadas destes promoveram redução no índice mitótico e nenhum surgimento de alterações cromossômicas [26]. Entretanto

^[27], demonstraram que para as concentrações de 40 e 192 mg.mL⁻¹, houve alterações cromossômicas (pontes anafásicas), evidenciando assim, potencial genotóxico e efeito alelopático, os quais podem ser explicados pela presença de saponinas, taninos e flavonas ocorrentes na espécie *M. ilicifolia* ^[28]. Já em estudos realizados com extrato aquoso da entrecasca de *M. guianensis* ^[29], em testes de citotoxicidade frente à *A. cepa*, demonstraram aumento da divisão celular em concentrações pequenas (3,85 mg.mL⁻¹), porém, para concentrações maiores (77 e 192 mg.mL⁻¹) os resultados demonstraram ação antiproliferativa do índice mitótico, com resultados promissores para a ação antigenotóxica frente ao paracetamol (800 mg.mL⁻¹).

A atividade antioxidante *M. guianensis* foi avaliada pela captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) que é uma molécula caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Esta deslocalização confere a esta molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm ^[30]. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de um determinado extrato ou substância em sequestrar o radical DPPH reduzindo-o a hidrazina, de coloração amarelo pálido, produzindo um decréscimo na absorção em 520 nm ^[31, 32].

Foram testados o extrato etanólico da entrecasca (EEMG), eluato hexânico (EHMG), eluato clorofórmico (ECIMG) e o eluato acetônico (EAcMG) (Tabela 3).

Tabela 3: Médias das atividades antioxidantes (%) do extrato e eluatos da periderme de *Maytenus guianensis*. Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.), as médias seguidas por * na coluna diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Tukey com relação ao controle *Ginkgo biloba*.

Amostra	Concentração (µg.mL ⁻¹)				
	200	150	100	50	10
EEMG	96,50 ± 1,52	95,93 ± 0,47*	89,11 ± 2,23	48,84 ± 2,62*	9,08 ± 1,10*
EHMG	94,91 ± 0,25*	95,59 ± 0,23*	73,04 ± 1,05*	41,50 ± 0,87*	9,65 ± 0,28*
ECIMG	96,11 ± 0,26*	94,53 ± 1,08*	85,75 ± 1,41*	45,88 ± 1,36*	11,42 ± 1,29*
EAcMG	95,40 ± 0,15	94,70 ± 0,07*	90,43 ± 0,26	50,75 ± 0,57*	12,82 ± 0,18*
GK	94,10 ± 0,35	93,73 ± 0,63	93,92 ± 0,42	75,46 ± 1,20	17,16 ± 1,42

Os valores para a atividade antioxidante foram expressos em valores de Concentração Efetiva 50% (CE₅₀) (Tabela 4), que representa a atividade de antioxidante necessária para diminuir em 50% a concentração inicial do radical DPPH. Como controle positivo foi utilizado extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (Egb 761) e como controle negativo foi utilizado metanol. Estes resultados foram obtidos através da tabulação dos dados.

Tabela 4: Concentração Efetiva 50% (µg.mL⁻¹) da atividade antioxidante do extrato etanólico e eluatos da periderme de *Maytenus guianensis*.

Amostra	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Extrato Bruto	50,44
Eluato Hexânico	61,39
Eluato Clorofórmico	53,28
Eluato Acetônico	49,52
<i>Ginkgo biloba</i>	46,62

Estes resultados mostraram a atividade antioxidante da periderme de *M. guianensis*, havendo diferença significativa $p < 0,05$ com uma porcentagem de atividade antioxidante maior que o padrão utilizado na concentração de 200 µg.mL⁻¹ nos eluatos hexânico (94,91 %) e clorofórmico (96,11 %), e para a concentração de 150 µg.mL⁻¹ no extrato etanólico (95,93 %) e eluatos hexânico (95,59 %), clorofórmico (94,53 %) e acetônico (94,70 %), sendo que, nas demais concentrações testadas não foi verificado o mesmo comportamento quando os valores são comparados com o padrão comercial *Ginkgo biloba* (Egb 761), o que denota o potencial antioxidante de *M. guianensis*. Os valores obtidos para CE₅₀ com o extrato etanólico da

periderme ($50,44 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e eluato acetônico ($49,52 \mu\text{g.mL}^{-1}$) são os que mais se aproximaram do valor obtido com o extrato da *Ginkgo biloba* ($46,62 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Com isso, o fato deve-se as substâncias de efeito antioxidante presentes, o que revela uma atividade antioxidante promissora da espécie em estudo.

Muitas plantas e ervas consideradas como medicinais têm sido estudadas com relação a sua atividade antioxidante. Muitos metabólitos secundários apresentam atividade biológica, dentre estas atividades destaca-se a atividade antioxidante, sendo que, esta atividade depende diretamente da concentração e da classe (flavonoides, taninos, terpenos, alcaloides, etc.) destes metabólitos secundários^[33]. *M. guianensis* é utilizada tradicionalmente na prevenção do câncer de pele^[4]. Estudos da propriedade antioxidante desta espécie através da análise da absorvância e transmitância do extrato acetônico da casca obtiveram resultados promissores de absorção na faixa de 230 – 315 nm (UVB) e 315 – 400 nm (UVA) quando comparados com protetores solares comerciais (diminuição de < 35% na transmitância na radiação gama, UVB), frequências estas que estão associadas com diferentes formas de câncer de pele^[34].

Estudos anteriormente realizados com *M. guianensis* resultaram no isolamento e 4-metilepigalocatequina,^[34,37] o que indica a presença de substâncias da classe dos flavonoides nesta espécie. Com isso também pode-se correlacionar os resultados obtidos com a capacidade antioxidante de flavonoides, pois esta é determinada por sua estrutura, em particular por hidroxilas que podem doar elétrons e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático^[35]. Outra característica estrutural importante responsável pela atividade sequestrante dos radicais livres é a presença dos grupos hidroxila e carbonilas, pois são grupamentos capazes de transferir o átomo de hidrogênio para o radical peroxila^[36]. Além disso, estudos indicam que triterpenos com carbonilas e hidroxilas em sua estrutura (exemplos: 3-oxo-friedelano e tingenona) também possuem atividade antioxidante^[36, 38, 39].

De acordo com os resultados obtidos nos procedimentos realizados neste estudo, propõe-se, que o extrato etanólico da periderme e os eluatos de *M. guianensis*, apresentam substâncias que reagem com o DPPH, o que está de acordo com os valores de inibição da atividade antioxidante, pois muitas substâncias podem estar atuando sinergicamente. Pode-se relacionar tais resultados com triterpenos quinonametídeos hidroxilados, uma vez que as plantas deste gênero são ricas em metabólitos secundários pertencentes a esta classe, os quais foram isolados da periderme de *M. guianensis*^[40]. Resultados com compostos triterpenoídicos como a maitensina em testes *in vitro* contra células tumorais e em tumores experimentais e, com o extrato de *M. ilicifolia* apresentaram atividade inibitória sobre diferentes sarcomas e células neoplásicas^[41], porém poucos são os estudos que enfatizam as atividades mutagênicas e antioxidantes destes triterpenos de maneira isolada.

4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram efeitos análogos, pois o extrato etanólico da periderme e seus eluatos apresentaram efeito antioxidante e não citotóxico, bem como uma baixa atividade genotóxica e significativa atividade antiproliferativa nas células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. Assim, reforçando o encontrado na literatura de que os metabólitos secundários agem sinergicamente, e também podem ser responsáveis pela modulação dos estados redox intracelulares no modelo testado; porém são indicados estudos futuros *in vitro* (cultura de células) e *in vivo* (camundongos) para melhor relevância da compreensão dos efeitos fisiológicos dos extratos e compostos isolados.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de auxílio financeiro para execução deste trabalho e a Universidade Federal de Rondônia pelo apoio com a estrutura física, aparelhos e reagentes.

1. Negri MLS, Possamai JC, Nakashima T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa – *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. secas em diferentes temperaturas. Rev. Bras. Farmacogn. 2009; 19(2b):553-556.
2. Carvalho-Okano RM, Leitão Filho HF. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: Reis MS, Silva SR. (organizadores). Conservação e uso sustentável de Espinheira Santa, 1 ed. – Brasília: Editora Ibama. 2005; 204 p.
3. Revilla J, Apontamentos para a cosmética amazônica. 1 ed. Manaus: Editora INPA. 2002. 532p.
4. _____. Plantas úteis da bacia amazônica. 1 ed. Manaus: Editora INPA. 2002; 445p.
5. Borrás MRL, Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas – Plantas comercializadas no Mercado Municipal Adolpho Lisboa. Manaus: Editora Valer/Governo do Estado do Amazonas. 2003; 322 p.
6. Márquez MEF. Detección Del dano genotóxico agudo y crónico em umna población de laboratoristas ocupacionalmente expuestos. *Latreia*, 2005; 18: 275-282.
7. Costa RMA, Menk CFM. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. *Biotechnologia: ciência e desenvolvimento*, 2000; 3:24-26.
8. Ribeiro LR, Marques EK. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. In: Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK. *Mutagênese Ambiental*, 1 Ed. Canoas: Editora Ulbra, 2003; 356p.
9. Pottenger LH, Gollapudi BB. A case for a new paradigm in genetic toxicology testing. *Mutat. Res.* 2009; 678(2): 148–151.
10. Barreiros AL, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quím. Nova.* 2006; 29(1): 113-123.
11. Gouvea CMC. Oxidações Biológicas e Atividade Vegetal. In: Carvalho JCT. *Fitoterápicos anti-inflamatórios – aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*. Volume Único, 1ª Edição, Editora Tecmedd, Ribeirão Preto – SP, 2004; 480p.
12. Nunez-Selles AJ. Antioxidant Therapy: Myth or Reality? *J. Braz. Chem. Soc.*, 2005; 16(4): 699-610.
13. Bernardes NR, Pessanha FF, Oliveira DB. Alimentos Funcionais: Uma breve revisão. *Ciência e Cultura*, 2010; 6: 11-20.
14. Souza CMM, Silva HR, Vieira-Jr GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante CD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, *Quím. Nova*, 2007; 30(2): 351-355.
15. Canterle LP. Erva-mate e atividade antioxidante, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM; Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, 99 f. 2005.
16. FISKESJO, G. The Allium Test II: Assesmente of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.* 1994; 9(3): 234-241.
17. Pires NM, Souza IRP, Prates HT, Faria TCL, Filho IAP, Magalhães PC. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 2001; 13(1): 55-65.
18. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TC, Coube CS, Leitão SG. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* 2001; 15(1): 127-130.
19. Bruni R, Rossi D, Muzzoli M, Romagnoli C, Paganetto G, Besco E, Choquecillo F, Peralta K, Lora WS, Sacchetti G. Antimutagenic, anioxidant and antimicrobial properties of *Maytenus krukovi* bark, *Fitoterapia*, 2006; 77(7-8): 538-545.
20. Reid KA, Maes J, Van Staden J, De Kimpe N, Mulholland DA, Veschaeve L. Evaluation of the mutagenic and antimutagenic effects of South African plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2006; 106(1): 44-50.
21. Raymundo TM, Favilla M, Maistro EL. Estudo do potencial genotóxico/mutagênico e antimutagênico do extrato de *Maytenus robusta* em células somáticas de camundongos *Mus musculus in vivo*; In XXI Congresso de Iniciação Científica da Unesp; São José do Rio Preto – São Paulo, Brasil. 2009; p. 8013-8016.
22. Rainho CR, Kaezer A, Aiub CAF, Felzenszwalb I. Ability of *Allium cepa* L. root tips and *Tradescantia pallida* var. *purpurea* in *N*-nitrosodiethylamine genotoxicity and mutagenicity evaluation. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2010; 82(4): 925-932.

23. Sturbelle RT, Pinho DS, Restani RG, Oliveira GR, Garcias GL, Martino-Roth MG. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. Rev. Bras. Farmacogn. 2010; 20(3): 409-415.
24. Mendes SS, Andrade JA, Xavier MA, Secundo Junior JÁ, Pantaleão SM, Estevam CS, Garcia CAB, Ferrari SF. Genotoxicity test of *Maytenus rigida* and *Aristolochia birostris* in the radicular meristema of the onion, *Allium cepa*, Rev. Bras. Farmacogn. 2012; 22(1): 76-81.
25. Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB. Uso do sistema de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais, Revista Brasileira de Farmacogn. 2007; 17:444-447.
26. Comparato ML, Teixeira RO, Montovani MS, Vicentini V E. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion roottip and rat bone-marrow cells. Genet Mol Biol. 2002; 25: 85-89.
27. Souza, SAM, Stein, VC, Cattelan LV, Bobrowski VL, Rocha, BHG. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. Rev. Biol. Ciên. Terra. 2009; 5(1): 3-9.
28. Mariot M.P, Barbieri R.L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *Maytenus aquifolium* Mart.). Rev. Bras. Pl. Med. 2007. 9(3):89-97.
29. Meneguetti DUO, Lima RA, Silva JB, Silva RP, Pagotto RC, Facundo VA. Análise citotóxica e mutagênica do extrato aquoso de *Maytenus guyanensis* Klotzsch Ex Reissek (Celastraceae) Chichuá (Xixuá) Amazônico. CeN. 2014; 36(3):301-309.
30. Alves CQ, David JM, David JP, Bahia MV, Aguiar R M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos, Quím. Nova. 2010; 33(10): 2202-2210.
31. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto FD. Comunicado Técnico 127, de julho de 2007. 4f. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical, 1ª Edição. Fortaleza, Ceará, Brasil, 2007.
32. Sunil C, Duraipandiyar V, Ignacimuthu S. Antioxidant, free radical scavenging and liver protective effects of friedelin isolate from *Azima tetraacantha* Lam. leaves, Food Chemistry. 2013; 139(1): 860-865.
33. Macari PAT, Portela CN, Pohlit AM, Antioxidant, cytotoxic and uvb-absorbing activity of *Maytenus guyanensis* klotzch. (Celastraceae) bark extracts, Acta Amaz., 2006; 36(4): 513 – 518.
34. Macari PAT, Portela CNP, Celani FB, Pohlit AM. Isolamento de um flavonóide da casca de *Maytenus guyanensis*. In: XXVI Reunião Anual sobre Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares, 2004, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2004.
35. Dornas WC, Oliveira TT, Rodrigues-Das-Dores RG, Santos AF, Nagem TJ. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo, Rev. Ciên. Farm. Básica Apl. 2007; 28(3): 241- 249.
36. Estevam CS. Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). Dissertação de Mestrado. Departamento de Química, Universidade Federal de Alagoas – Maceió, Alagoas, Brasil. 189 f. 2006.
37. Sousa JR, Pinheiro JA, Ribeiro EF, Souza E, Maia GS. A sesquiterpene evoninoate alkaloid from *Maytenus guianensis*, Phytochemistry, 25, p. 1776-1778, 1986.
38. Allison, AC, Cacabelos, R, Lombardi, V.R.M.; Álvarez, X.A.; Vigo, C. Celastrol, a potent antioxidant and anti-inflammatory drug, as a possible treatment for Alzheimer's disease, Biol. Psychiat. 2001. 25: 1341-1357.
39. Sunil C, Duraipandiyar V, Ignacimuthu S. Antioxidant, free radical scavenging and liver protective effects of friedelin isolate from *Azima tetraacantha* Lam. leaves. Food Chem. 2013; 139(1-4):860-865.
40. Bay-Hurtado, F. Contribuição ao estudo fitoquímico e biológico da entrecasca da espécie *Maytenus guyanensis* Klotzsh ex Reissek. (Tese) Doutorado em Biologia Experimental – Fundação Universidade Federal de Rondônia - Porto Velho, Rondônia, Brasil. 177 f. 2013.
41. Shirota O, Morita H, Takeya K, Itokawa H. Sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus ilicifolia*, Heterocycles. 1994. 38: 383-389.

42. Rufino MSM. Alves RE. Brito ES. Moraes SM. Sampaio CG. Pérez-Jiménez J. Saura-Calixto FD. Comunicado Técnico 127, de julho de 2007. 4f. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical, 1^o Edição on line. Fortaleza – CE, 2007 Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_127.pdf>, Acesso em: fev 2015.