

Avaliação da atividade mutagênica de extrato e frações biologicamente ativas de *Uncaria tomentosa*

Bruna F. Immich¹, Dinara J. Moura^{1,2}, George G. Ortega³, Diego Bonatto¹, João A. P. Henriques¹, Jenifer Saffi^{1,2}

¹Departamento de Biofísica/Centro de Biotecnologia - UFRGS, Porto Alegre, RS.

²Departamento de Ciências Básicas da Saúde - UFCSPA, Porto Alegre, RS.

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UFRGS, Porto Alegre, RS.

INTRODUÇÃO

Uncaria tomentosa é uma liana pertencente à família *Rubiaceae*. Devido a seus espinhos curvados, é popularmente conhecida como “unha-de-gato”. Encontrada apenas na América do Sul, *U. tomentosa* tem sido tradicionalmente usada pelo povo indígena Ashaninka, no Peru, para tratar diversas condições de saúde, incluindo alergias, artrite, asma, reumatismo, câncer, úlcera gástrica, doenças do trato urinário, infecções virais, entre outras. Seus vários usos terapêuticos provêm do extrato aquoso preparado através de decocção das cascas e raízes. Muitos constituintes químicos foram identificados em *U. tomentosa*, incluindo glicosídeos do ácido quinóico, esteróis, taninos, procianidinas, flavonóides, triterpenos e pelo menos 17 diferentes alcalóides. Estudos farmacológicos utilizando *U. tomentosa* indicam propriedades citotóxica, anti-inflamatória, antiviral, imunoestimulatória, antioxidante, mutagênica e antibacteriana.

O objetivo deste estudo é avaliar a atividade citotóxica e mutagênica do extrato bruto e de quatro frações biologicamente ativas de *U. tomentosa* na levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1. Linhagens de *S. cerevisiae* utilizadas neste estudo

| Linhagem | Genótipo | Fonte |
|----------|-------------|------------------|
| N123 | MATa his1-7 | J.A.P. Henriques |

Material vegetal: o extrato bruto de *U. tomentosa* e as quatro frações derivadas deste extrato (alcalóides oxindólicos pentacíclicos, derivados quinóicos, polifenóis de alta massa e polifenóis de baixa massa molecular) foram cedidos pelo professor Prof. Dr. George Gonzáles Ortega, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Ensaio de mutagênese: para avaliação do potencial mutagênico do extrato bruto e das frações de *U. tomentosa* foi utilizada a linhagem N123 de *Saccharomyces cerevisiae* (Tabela 1), com a qual é possível detectar mutação do tipo *forward*. Uma suspensão celular de 1×10^8 células.ml⁻¹ em fase estacionária de crescimento foi tratada com concentrações crescentes do extrato bruto e das frações por 22h a 30°C, com agitação, em solução salina. Após o tratamento, as células foram lavadas, apropriadamente diluídas e semeadas em placas contendo meio sintético com e sem adição de canavanina. Após 3 a 5 dias de incubação a 30°C, as colônias formadas foram contadas. O número de colônias resultantes do tratamento na ausência do extrato e das frações foi considerado como 100% de sobrevivência.

CONCLUSÃO

O extrato bruto e as frações isoladas não demonstraram citotoxicidade ou indução de mutação do tipo *forward* na linhagem N123 de *S. cerevisiae*, nas doses de 25 a 500µg/mL. A seguir, serão conduzidos os experimentos de antimutagênese para avaliar a capacidade protetora do extrato e das frações frente ao agente mutagênico H₂O₂. Também serão realizados testes *in vitro* para avaliação do potencial antioxidante das mesmas amostras.



Figura 1. A planta *Uncaria tomentosa*. À esquerda, um ramo, mostrando folhas e inflorescências. À direita, detalhe dos espinhos curvados em formato de “unha de gato”.

RESULTADOS

Tabela 2. Indução de mutação *forward* na linhagem haplóide N123 de *Saccharomyces cerevisiae* após tratamento com extrato bruto e frações isoladas em PBS por 22 horas, com células em fase estacionária.

| Substância | Tratamento | Sobrevivência (%) | CanR/10 ⁷ sobreviventes ^a | |
|---------------------------|--------------------------|----------------------|---|--------------|
| CN ^b | | 100 ± 0 ^d | 4,33 ± 1,35 ^d | |
| 4NQO ^c | 0,5µg/mL | 25,76 ± 5,99* | 34,75 ± 6,72* | |
| Extrato bruto | 25µg/mL | 101,6 ± 25,42 | 3,84 ± 1,51 | |
| | 50µg/mL | 102,4 ± 38,95 | 4,54 ± 1,58 | |
| | 100µg/mL | 111,0 ± 30,93 | 3,58 ± 1,09 | |
| | 250µg/mL | 126,8 ± 35,12 | 3,13 ± 1,36 | |
| | 500µg/mL | 130,1 ± 37,12 | 3,21 ± 1,36 | |
| Frações | alcalóides | 25µg/mL | 85,78 ± 12,47 | 4,94 ± 1,06 |
| | | 50µg/mL | 89,81 ± 21,52 | 4,88 ± 0,36 |
| | | 100µg/mL | 94,01 ± 29,15 | 5,38 ± 2,16 |
| | | 250µg/mL | 111,7 ± 22,91 | 4,54 ± 1,39 |
| | | 500µg/mL | 110,6 ± 48,86 | 3,78 ± 1,17 |
| | derivados quinóicos | 25µg/mL | 106,2 ± 18,36 | 3,1 ± 1,05 |
| | | 50µg/mL | 103,4 ± 17,83 | 3,96 ± 0,16 |
| | | 100µg/mL | 96,15 ± 7,10 | 3,26 ± 1,43 |
| | | 250µg/mL | 86,85 ± 26,31 | 4,097 ± 2,51 |
| | | 500µg/mL | 94 ± 11,31 | 3,57 ± 1,10 |
| | polifenóis de alta massa | 25µg/mL | 98 ± 21 | 2,89 ± 0,12 |
| | | 50µg/mL | 86,33 ± 17,42 | 4,84 ± 1,34 |
| | | 100µg/mL | 89,43 ± 18,98 | 4,57 ± 1,62 |
| | | 250µg/mL | 90,41 ± 31,77 | 3,36 ± 0,82 |
| | | 500µg/mL | 93,33 ± 39,53 | 3,82 ± 1,34 |
| polifenóis de baixa massa | 25µg/mL | 101,8 ± 39,83 | 4,05 ± 1,40 | |
| | 50µg/mL | 101,9 ± 14,10 | 3,2 ± 1,70 | |
| | 100µg/mL | 112,6 ± 27,01 | 2,06 ± 0,89 | |
| | 250µg/mL | 107,9 ± 30,87 | 2,87 ± 1,72 | |
| | 500µg/mL | 131,6 ± 61,65 | 2,35 ± 1,45 | |

* dados significantes em relação ao controle negativo quando $P < 0,05$ /one-way ANOVA Dunnett's multiple comparison test.

CanR = revertentes canavanina.

^a Revertentes locus específico.

^b Controle negativo (solvente).

^c Controle positivo.

^d Média e desvio padrão de três experimentos independentes.