

Avaliação da atividade citotóxica de extratos obtidos das folhas de *Bauhinia rufa* (Fabaceae)

Lauanny Eloá Silva Arini (IC)^{1*}, Geani Karla Gonçalves Ferreira Duarte (PG)¹, Weber Martins da Silva Junior (PG)¹, Antônio Carlos Severo Menezes(PQ)¹, lauanny-arini@hotmail.com

Universidade Estadual de Goiás- Campus Anápolis de Ciências Exatas e tecnológicas Henrique Santillo

A planta *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud. pertence à família Fabaceae, que por sua vez apresenta distintas atividades biológicas e desperta grande interesse devido as suas aplicações medicinais. Os metabolitos secundários derivados dessa família tem sido fonte de moléculas clinicamente uteis no tratamento do câncer. A revisão de literatura não aponta estudos sobre atividade antitumoral de extratos desta planta. Testes *in vitro* utilizando-se cultura de células tumorais são extremamente importantes na pesquisa de anticancerígenos visando à procura de novas moléculas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo citotóxico dos extratos das folhas de *B. rufa* frente a três linhagens das seguintes células tumorais humanas: HL-60 (leucemia), PC-3 (próstata), HCT-116 (cólon), onde foi utilizado o método colorimétrico baseado na conversão do sal 3-(4,5- dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em cristais de formazan. Diante dos resultados obtidos foi possível observar que os extratos acetato etílico das folhas de *B.rufa* (BRFAC), BRFM e BRFE manifestam efeitos citotóxicos frente à linhagem HL-60 apresentando Inibição de Crescimento (IC) de 94,05%, 83,46%, 91,30%, respectivamente.

Palavras-chave: Testes in vitro. Células tumorais. Metabolitos.

Introdução

Os compostos derivados de plantas têm sido fonte de moléculas clinicamente úteis no tratamento do câncer (MESQUITA, 2009). Os produtos naturais contribuíram imensamente para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos. Nos últimos 25 anos, 77,8% dos agentes anticancerígenos foram derivados de produtos naturais (NOGUEIRA et al, 2010).

Existem, no mínimo, 250.000 espécies de plantas no mundo, sendo que mais de 1000 plantas apresentam propriedades antitumorais significantes (FERRAZ et al, 2005; MUKHERJEE et al, 2001).

O Brasil constitui-se de uma enorme diversidade de biomas, e um deles é o cerrado conhecido como o segundo maior bioma encontrado em território brasileiro

abrangendo 25% da sua vegetação, perdendo apenas para a floresta amazônica. (PROENÇA et al, 2000).

Dentro dessa vegetação, destacam-se as espécies do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Fabaceae, as quais tem-se sob registro na literatura a presença de atividades biológicas, conforme exposto nos trabalhos de Silva e Cechinel Filho (2002), Nogueira e Sabino (2012), e Martínez et al. (2011).

Inserida no gênero *Bauhinia* tem-se a espécie *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud, popularmente conhecida como “Pata-de-Vaca”, que dentre alguns estudos realizados destacam-se os citotóxicos (SANTOS, 2014; CARDOSO, 2014).

Material e Métodos

As folhas foram coletadas, pré-selecionadas, lavadas, em seguida secas em estufa sob circulação de ar, modelo MARCONI MA-035 a uma temperatura de 45 °C, pulverizadas em moinho de facas modelo MA-580 e armazenadas em erlenmeyers de dois litros, submetido a um processo de maceração a frio com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. O solvente orgânico foi roteoevaporado (TECNAL-120), em temperaturas abaixo de 40°C, obtendo-se os extratos hexânico (BRFH), diclorometânico (BRFD), acetato-etílico (BRFA) e metanólico (BRFM).

As linhagens de células utilizadas no experimento foram cedidas pelo instituto nacional do câncer (EUA), correspondente as seguintes células: HL-60 (leucemia), PC-3 (próstata) e HCT-116 (cólon). Todas as amostras foram diluídas em DMSO puro estéril. A partir dos padrões do laboratório os compostos BRFM, BRFE, BRFD, BRFH, BRFA foram testados na concentração única de 50 µg/mL.

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará com o extrato bruto e as frações de *Bauhinia rufa* (Fabaceae). Os ensaios foram avaliados pelo método colorimétrico MTT [3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de Tetrazolium].

O princípio do método consiste em medir indiretamente a viabilidade celular pela atividade enzimática mitocondrial das células vivas. Quando as células estão vivas as desidrogenases mitocondriais, mais especificamente a succinato desidrogenase são capazes de agir sobre substratos como o MTT levando à quebra desta molécula e à redução da mesma, formando assim o azul de formazan.

Portanto, quanto maior a viabilidade celular em determinada amostra, mais azul de formazan é formado (MOSMANN, 1983).

As células foram plaqueadas na concentração de $0,3 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ para as linhagens HL-60, $0,1 \times 10^6$ mL⁻¹ para a linhagem PC-3 e $0,7 \times 10^5$ mL⁻¹ para linhagem HCT-116. Ao término deste, as mesmas foram centrifugados e os sobrenadantes, removidos. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média $\pm$ desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular, usando o programa *GraphPad Prism*.

Resultados e Discussão

O teste para a verificação de sua citotoxicidade foi realizado sendo avaliados 5 compostos afim de verificar seu potencial frente a três linhagens de células tumorais. As amostras identificadas BRFM, BRFE, BRFD, BRFH e BRFAC, foram analisadas na concentração única de 50 µg.mL⁻¹. Sendo considerados citotóxicos os compostos cujo inibiram acima de 75% da proliferação celular.

Tabela1. Percentual de inibição do crescimento tumoral *in vitro* na concentração única de 50 µg/mL para os compostos BRFAC, BRFH, BRFM, BRFE, e BRFD. IC-inibição do crescimento; DP- desvio padrão.

Amostras	HCT-116		PC-3		HL-60	
	IC (%)	DP (%)	IC (%)	DP (%)	IC (%)	DP (%)
BRFAC	0,0	0,0	23,48	3,17	94,05	0,46
BRFH	15,68	0,32	33,29	3,63	0,0	0,0
BRFM	10,70	0,63	33,55	3,63	83,46	8,26
BRFE	5,27	11,24	52,85	9,34	91,30	2,52
BRFD	14,19	6,20	48,62	3,17	64,65	1,99

A partir da tabela 1 é possível verificar que os extratos BRFAC, BRFM E BRFE apresentam efeito citotóxico apenas frente à linhagem HL-60.

Considerações Finais

Com os dados obtidos foi possível concluir que os extratos BRFAC, BRFM e BRFE extraídos das folhas de *Bauhinia rufa*, apresentaram potencial antitumoral frente à linhagem HL-60 sendo interessante o isolamento dos possíveis compostos ativos, a fim de determinar quais compostos seriam responsável pela citotoxicidade destes extratos.

Agradecimentos

Agradeço FAPEG, PrP-UEG pelo apoio financeiro e a Universidade Estadual de Goiás, pelo programa de bolsa e incentivo a pesquisa e produção Científica (PROBIP-UEG).

Referências

CARDOSO, S. D. **Estudo da atividade antitumoral de extratos de plantas e de fluidos de cultivo de fungos em linhagens de células de adenocarcinoma de próstata humano**. Brasília: UnB, 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da saúde - Universidade de Brasília, 2014.

FERRAZ, A. et al. Screening for antiproliferative activity of six southern Brazilian species of Hypericum. **Phytomedicine**. v. 12, p. 112-115, 2005.

MARTÍNEZ, M. M.; OCAMPO, D. M.; GALVIS, J. H.; VALENCIA, A. Actividad antibacteriana y citotoxicidad in vivo de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v.16, n.4, p.313-323, 2011.

MESQUITA, M. L. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da**

atividade citotóxica. 2009. 223f. tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2009.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v.65, p.55-63, 1983.

NOGUEIRA, A. C. O.; SABINO, C. V. S. Revisão do gênero *Bauhinia* abordando aspectos científicos das espécies *Bauhinia forficata* Link e *Bauhinia variegata* L. de interesse para a indústria farmacêutica. **Revista fitos**, v.7, n.2, p.77-2012.

NOGUEIRA, R. C.; CERQUEIRA, H. F.; SOARES, M. B. P. **Patenting bioactive molecular from biodiversity: the Brazilian experience expert opinion ther patents**, v.20, n.2, p.1-13, 2010.

PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R.S.; SILVA, A.P. **Flores e frutos do cerrado.** Brasília: EdUnB, São Paulo: Imprensa oficial, 2000. 226p.

SANTOS, B. T. A. **Estudo da atividade dos extratos de plantas e fungos endofíticos isolados do cerrado brasileiro em linhagem celular de feocromocitoma.** Brasília: UnB, 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Farmácia - Universidade de Brasília, 2014.

SILVA, K. L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25, n.3, p.449-454, 2002.