

Avaliação da atividade antitumoral do extrato de achachairú

Sara Marinha Viana Costa Simião^{1*} (IC), Gabriela da Silva Guimarães² (PG), Pedro Henrique Alves Machado² (PG), Tiago Rodrigues de Souza² (IC), Robson José de Oliveira Junior² (PQ), Alcione da Silva Arruda¹ (PQ) E-mail: sarasimiao@hotmail.com

¹Universidade Estadual de Goiás – Câmpus Ipameri, Rodovia GO-330, Km 241, Anel Viário, 75780000, Ipameri – GO. ²Instituto de Genética e Bioquímica – INGEB, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Câmpus Umuarama.

Resumo: O uso de plantas medicinais tem se mostrado importante para a população brasileira. Entre as plantas medicinais menos estudadas encontra-se a *Garcinia humilis*, mais conhecida como achachairú. No Brasil, é uma fruta muito pouco explorada, porém apresenta várias propriedades farmacológicas que dão a ela uma boa atividade antibacteriana, atua no sistema imunológico, são antioxidantes, e anticancerígenos. O presente estudo tem como objetivo avaliar a citotoxicidade do extrato de *Garcinia humilis* em células tumorais e não tumorais. As análises de citotoxicidade foram realizadas pelo teste Alamar Blue. As Linhagens celulares utilizadas foram uma imortalizada que corresponde as células saudáveis e uma linhagem tumoral. Foram utilizadas três frações, sendo elas acetato de etilo, n-butanol e água, com as seguintes concentrações T1: 500µL de estoque, T2: 250µL de estoque e 250µL de meio completo, T3: 125µL de estoque e 375µL de meio completo, T4: 62,5µL de estoque e 437,5µL de meio completo, T5: 31,25µL de estoque e 468,75 de meio completo e T6: 15,6µL de estoque e 484,4µL de meio completo. O extrato fracionado de *G. humilis* apresentou diminuição da viabilidade celular de linhagens não tumorais, enquanto que apresentou um aumento na viabilidade celular de células tumorais pela utilização com o fracionamento com acetato de etilo.

Palavras-chave: Câncer. Citotoxicidade. *Garcinia humilis*.

Introdução

Ainda no início da civilização e, em várias culturas, o uso de espécies vegetais eram empregados para a cura de doenças (LIMA, et al., 2016). Todo vegetal que contém princípios ativos, em um ou vários de seus órgãos, utilizados para objetivos terapêuticos ou precursores de substâncias utilizadas para tais fins é denominado planta medicinal, sendo bastante utilizada pela medicina alternativa (ZUCCHI, et al., 2013).

O consumo de plantas medicinais tem aumentado em todo o mundo, e esse crescimento está relacionado a diversos fatores, como a decepção com os



resultados obtidos em tratamentos convencionais ou também o interesse em tratamentos “seguros” e “naturais” destinados a impulsionar uma vida mais saudável (GELATTI, et al., 2016). Dessa forma, nos últimos anos a Organização Mundial de Saúde reconhece o valor potencial das espécies vegetais, e recomenda aos países membros da ONU que utilizem seus conhecimentos tradicionais sobre tais plantas como método terapêutico viável (CAVALCANTE, et al., 2017).

Entre as plantas medicinais menos estudadas encontra-se a *Garcinia humilis*, da família Clusiaceae e gênero *Garcinia*, mais conhecida como achachairú. Embora seus frutos sejam comercializados na Bolívia e em grande parte do nordeste brasileiro, raros são os estudos científicos sobre esta espécie (MARQUES, 2012). Diversos estudos químicos comprovam que princípios ativos presentes em plantas do gênero *Garcinia* possuem uma boa atividade antibacteriana, atuam no sistema imunológico, são antioxidantes, e anticancerígenos, além de serem utilizados como cicatrizantes, digestivos, laxantes, em tratamentos de reumatismo, úlcera gástrica e inflamação, possuindo uma grande diversidade de classes estruturais, como benzofenonas poliisopreniladas, flavonóides, cumarinas e xantonas. Isto é, exibindo um amplo perfil farmacológico (MELIM, 2011).

A detecção, composição química e ação biológica de substâncias tóxicas está relacionada com a toxicidade, entretanto a capacidade de ocasionar danos prejudiciais graves a um organismo, por vezes, esses danos de substâncias tóxicas interferem no material genético das células, causando uma citotoxicidade (ANCIA, et al., 2016). As análises de substâncias citotóxicas de extratos das plantas medicinais, e suas interações e prováveis efeitos em animais, plantas e humanos são significativas, uma vez que podem determinar o que as mesmas podem ocasionar nos organismos (COSTA, et al., 2000). Assim o objetivo do trabalho foi avaliar a citotoxicidade do extrato de *Garcinia humilis* em células tumorais e não tumorais.

Material e Métodos

Material Botânico

Foram utilizadas folhas de *G. humilis*, estas foram coletadas, lavadas e secas em estufa a 50° até obter peso constante, posteriormente moídas em moinho tipo





Willey com peneiras de crivo circular de 0,75 mm, para aumento da superfície de contato e maior extração de substâncias.

Obtenção do extrato e fracionamento

Um quilograma de extrato seco de *Garcinia humilis* foi misturado e extraído com cinco litros de etanol a 98%. Durante seis dias, agitando diariamente, o material da planta foi deixado macerando. Posteriormente, a solução foi filtrada e o solvente extrativo foi removido, usando um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40°C. O extrato foi congelado e liofilizado para remover o restante de água.

Para a partição líquido-líquido, 27 gramas do extrato de etanol foram solubilizados em 200 mL de solução de metanol. Usando um funil de separação, a partição líquido-líquido foi realizada usando solventes cada vez mais polares: hexano, diclorometano, acetato de etilo, n-butanol e água. Os solventes extrativos foram removidos usando um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40°C. As frações foram congeladas e liofilizadas para remover a água restante (JUSTINO, et al, 2016).

Avaliação de atividade citotóxica pelo método Alamar Blue

Para a realização do ensaio de viabilidade celular utilizando Alamar blue as linhagens celulares sadias C2C12 e tumoral TG180 (1×10^5 cels/mL) mantidas in vitro, segundo protocolo adequado, e mantidas em uma estufa a 37°C e 5% CO², foram incubadas em 200 µL de meio de cultura RPMI1640 completo em uma microplaca estéril de 96 poços. Foram diluídos de forma seriada de 1:2. A microplaca foi incubada a 37°C com 5% de CO², por 24 horas. Na sequência, foi adicionado em cada poço da microplaca 15 µL do agente revelador Alamar Blue 1:1, procedendo à leitura após 6 horas de incubação.

Os experimentos foram realizados em quadruplicata. Foram utilizadas três frações, sendo elas acetato de etilo, n-butanol e água, com as seguintes concentrações T1: 500µL de estoque, T2: 250µL de estoque e 250µL de meio completo, T3: 125µL de estoque e 375µL de meio completo, T4: 62,5µL de estoque e 437,5µL de meio completo, T5: 31,25µL de estoque e 468,75 de meio completo e T6: 15,6µL de estoque e 484,4µL de meio completo. A leitura da placa foi realizada em um espectrofotômetro a 570 e 600 nm (HIGUCHI, 2007). A viabilidade celular foi calculada utilizando-se as densidades ópticas (DO) dos poços das monocamadas

tratadas, comparadas com a DO média dos poços controles (células incubadas na ausência de tratamento), utilizando-se a fórmula recomendada pelos protocolos de aplicação do teste. Os resultados foram avaliados e comparados utilizando o programa estatístico GraphPad Prism, onde foi relacionado o percentual de inibição em função do logaritmo das concentrações testadas, com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados para a linhagem não tumoral, C2C12, evidenciou que independentemente do tipo de fração utilizado houve um decréscimo na viabilidade celular. Pode-se observar que para a fração 4, n-butanol, a porcentagem de células viáveis diminuiu a partir do segundo tratamento quando foi utilizada parte do estoque e parte do meio (Figura 1). As linhagens C2C12, que derivam de músculo esquelético de camundongos e exibem a maioria das características dos mioblastos normais, propicia um bom modelo para estudar a regeneração muscular (ARTILHEIRO et. al, 2010).

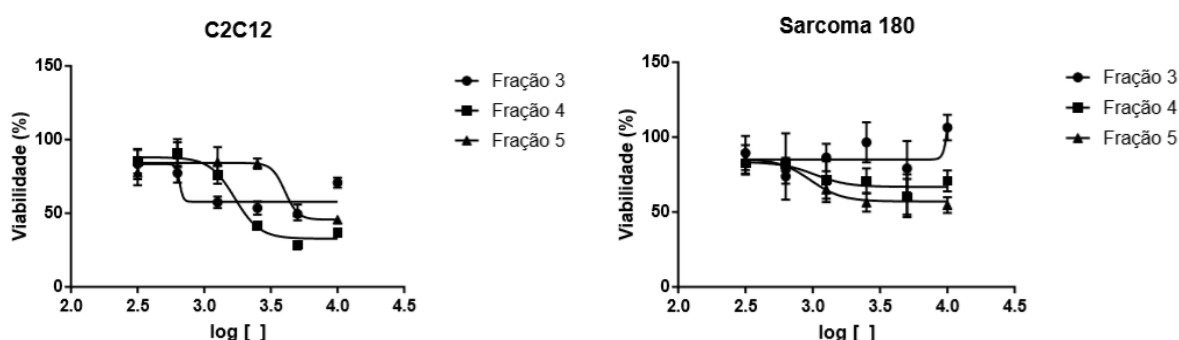


Figura 1. Viabilidade de diferentes linhagens de células, não tumoral (C2C12) e tumoral (Sarcoma 180), sob extrato de achachairú em diferentes frações. Ipameri, GO – 2018.

Já para as linhagens tumorais os resultados foram decrescente para as frações 4 e 5, n-butanol e água respectivamente, enquanto que para a fração 3, acetato de etilo os resultados foram similares para quase todos os tratamentos, com exceção do tratamento 6 onde observou-se um aumento na viabilidade celular (Figura 1). A linhagem celular TG180, além de também assegurar bons estudos, é um método fácil, rápido, preciso e econômico para determinar os efeitos de citotoxicidade (BARBOSA et. al, 2000).



Considerações Finais

O extrato fracionado de *G. humilis* apresentou diminuição da viabilidade celular de linhagens não tumorais, e aumento na viabilidade celular de células tumorais com a utilização do fracionamento com acetato de etilo.

Agradecimentos

Agradeço ao Instituto de Bioquímica – INGEB localizado na Universidade Federal de Uberlândia pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho. E agradeço também a Dr. Alcione da Silva Arruda pelas críticas e sugestões.

Referências

ANCIA, J. P.; ROMÃO, N. F.; Análise da atividade citotóxica e mutagênica do extrato aquoso das partes aéreas de *Uncaria tomentosa* em teste de *Allium Cepa*. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**. v. 3, n. 2, p. 16-26, 2016.

CAVALCANTE, J. W.; CAVALCANTE, V. M. G.; BIESKI, I. G. C. Conhecimento tradicional e etnofarmacológico da planta medicinal copaiba (*copaifera langsdorffii* Desf.). **Biodiversidade** - v.16, n. 2, p. 123, 2017.

COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia: Ciência e desenvolvimento**. v. 3, n.12, 2000.

GELATTI, G. T.; OLIVEIRA, K.R.; COLET, C. F. Potenciais interações relacionadas ao uso de medicamentos, plantas medicinais e fitoterápicos em mulheres no período do climatério. **Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online**. v, 8, n. 2, p. 4328-4346, 2016.

JUSTINO, A. B.; PEREIRA, M. N.; VILELA, D. D.; PEIXOTO, L. G.; MARTINS, M.M.; TEIXEIRA, R.R.; MIRANDA, N.C.; SILVA, N. M.; SOUSA, R.M.F.; OLIVEIRA, A.; ESPINDOLA, F.S. Peel of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of antioxidant compounds with α -amylase, α -glucosidase and glycation inhibitory activities. **Bioorganic Chemistry**. Uberlândia, v. 69 n. 2016, 2016.

LIMA, T.M.S.; SANTOS, D.R.V.; SOUZA, R.M.; BASTOS, N.G.; VANNIER-SANTOS, M.A.; NUNES, E.S.; DIAS-LIMA, A.G. Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v.18, n.1, 2016.

MARQUES, E. S. **Investigação do potencial genotóxico do extrato de *Garcinia achachairu* in vivo**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, p. 67, 2012.

MELIM, C. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE QUATRO ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS DA FLORA BRASILEIRA**. Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Itajaí, p. 89, 2011.

ZUCCHI, M.R.; OLIVEIRA JÚNIOR, V.F.; GUSSONI, M.A.; SILVA, M.B.; SILVA, F.C.; MARQUES, N.E. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Ipameri – GO. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Campinas, v.15, n.2, p.273-279, 2013.