



Avaliação da atividade citotóxica em linhagens de células tumorais de *Plenckia populnea* (Celastraceae).

Marianna Carrilho Silva (IC)^{1*}, Delayne de Lima Santos Moraes (IC)¹, Lauany Eloá Silva Arini (IC)¹, Antônio Carlos Severo Menezes (PQ)¹, Cláudia do Ó Pessoa (PQ)², Manuel Odorico de Moraes (PQ)², Maria Cláudia dos Santos Luciano (PQ)², mariana_carrilho10@hotmail.com

¹Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás (CCET- UEG). Br 153, N° 3105 Fazenda Barreiro do Meio, caixa postal 459, CEP: 75.123-903, Anápolis-GO.

²Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Rua coronel Nunes de Melo, 1127, caixa postal 31157, CEP: 60.430-270, Fortaleza-CE.

As plantas da família Celastraceae são encontradas em alguns biomas brasileiros, e esta desperta grande interesse devido aos metabólitos secundários encontrados, tais como maitansinóides com atividade antitumoral, triterpenos quinoides e dímeros triterpenos com atividade citotóxica, alcaloides piridinicos, sesquiterpenoides com atividade fagorrepelente e imunossupressora e poliésteres sesquiterpenos com atividade antitumoral. Sabendo assim da importância das plantas dessa família, este trabalho objetivou avaliar a atividade citotóxica do extrato metanólico (PPFM), e das frações acetato-etílica (PPFMA), hexânica (PPFMH) e metanólica (PPFMM) das folhas de *Plenckia populnea* (Celastraceae) frente a linhagem de células tumorais PC3 (Carcinoma de próstata), HCT-116 (Cólon humano) e SNB19 (Glioblastoma). O teste de citotoxicidade foi realizado utilizando método MTT, e a análise estatística foi realizada segundo a média $\pm$ desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular, usando o programa *GraphPad Prism*. A fração acetato-etílica (PPFMA) mostrou-se citotóxica para a linhagem HCT-166, enquanto as outras amostras foram consideradas não citotóxicas.

Palavras-chave: Antitumoral. *In vitro*. Plantas medicinais.

Introdução

As plantas podem ser consideradas uma rica fonte para obtenção de substâncias que apresentem atividades terapêuticas comprovadas, por isso o conhecimento de suas atividades biológicas tais como, como anti-inflamatória,



antifúngica, bactericida, antitumoral, calmante, entre outras, são de extrema importância (FOGLIO, et al., 2006; SOUSA, et al., 2008).

Devido à alta ocorrência do câncer em todo o mundo, diversos esforços vêm sendo realizados para o aperfeiçoamento do seu tratamento, e um importante instrumento para o estudo de novos fármacos são os testes *in vitro* utilizando-se cultura de células tumorais visando a procura de novas moléculas de inibam o crescimento dessas células (ITHARAT et al., 2004).

A família Celastraceae desperta interesse devido às várias substâncias que já foram isoladas como, maitansinóides com atividade antitumoral, triterpenos quinoides e dímeros triterpenos com atividade citotóxica, alcaloides piridinicos, sesquiterpenoides com atividade fagorrepelente e imunossupressora e poliésteres sesquiterpenos com atividade antitumoral (SHIROTA et. al., 1994).

Sendo assim, o objetivo da presente pesquisa foi a avaliação do potencial citotóxico das folhas de *Plenckia populnea* (Celastraceae) frente à linhagem de células tumorais, tais como PC3 (Carcinoma de próstata), HCT-116 (Cólon humano) e SNB19 (Glioblastoma).

Material e Métodos

COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO, OBTENÇÃO DO EXTRATO E SUAS FRAÇÕES:

As folhas de *Plenckia populnea* foram coletadas no Campus da Universidade Estadual de Goiás (UEG), o material botânico passou por uma triagem onde foram selecionadas as folhas sadias, que em seguida foram lavadas e secas em estufa a 45 °C com circulação de ar por 48 horas e pulverizadas em moinho de facas Willey.

As folhas de *Plenckia populnea*, passaram por sucessivas extrações a frio em metanol 95% P.A., por um período de 24 dias, em seguida realizou-se a filtração do solvente. O filtrado foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, a temperatura de 25-35 °C, em que foi obtido o extrato bruto metanólico (PPFM).

Após a evaporação de todo o solvente, misturou-se celulose microcristalina D ao extrato bruto metanólico, que foi submetido a uma filtração a pressão reduzida fazendo o uso de solventes em ordem crescente de polaridade, obtendo as



seguintes frações: hexânica (PPFMH), acetato etílico (PPFMA) e metanólica (PPFMM).

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL:

Células: Foram utilizadas linhagens de células tumorais humanas, PC3 (Carcinoma de próstata), HCT-116 (Cólon humano) e SNB19 (Glioblastoma). As células foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em incubadora a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Amostras: Todas as amostras foram diluídas em DMSO puro estéril. Seguindo o padrão do laboratório o extrato e as frações foram testados na concentração única de 50 µg/mL.

Método: É um método rápido, sensível e barato, tendo sido descrito primeiramente por Mosman (1983). Este método é capaz de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983). As células tumorais foram plaqueadas nas concentrações $0,1 \times 10^6$ cél/mL para as linhagens SNB19, PC3 e $0,7 \times 10^5$ cél/mL para a linhagem HCT-116. Após 24 horas de incubação, as células foram tratadas com os compostos-teste e incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium) a 1%, e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida, após dissolução do precipitado em 150 µL de DMSO puro, em espectrofotômetro de placa a 595nm.

Análise Estatística: 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

Foram testados 1 extrato e 3 frações a fim de verificar o potencial citotóxico destas frente à três linhagens tumorais. Todas as amostras foram testadas em concentração única de 50 µg/mL. Todas as amostras apresentaram-se solúveis em DMSO. Foram considerados citotóxicos aqueles que foram capazes de inibir acima de 75% da proliferação celular (**Tabela 1**).

Tabela 1- Percentual de inibição do crescimento tumoral *in vitro* na concentração única de 50 µg/mL em três linhagens tumorais.

Amostras	SNB19		HCT-116		PC3	
	Inibição %	D.P.	Inibição %	D.P.	Inibição %	D.P.
PPFM	-	-	42,43	4,63	-	-
PPFMA	64,20	1,13	92,48	1,39	72,54	0,26
PPFMH	11,69	2,03	49,87	0,35	23,43	0,77
PPFMM	-	-	55,10	15,84	-	-

A partir da tabela 1 é possível verificar que apenas a fração acetato etílica apresentou efeito citotóxico frente a linhagem tumoral HCT-116, obtendo-se um resultado satisfatório de 92,48% de inibição.

Considerações Finais

Diante os resultados obtidos, o extrato PPFMA apresentou moderada inibição nas linhagens supracitadas, destacando sua melhor atividade apenas na linhagem HCT-116, sendo assim diante os resultados satisfatórios e promissores, destaca-se o interesse no isolamento de substâncias desta fração.

Agradecimentos

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

REALIZAÇÃO



Referências

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. **MultiCiência**, v.7, 2006.

ITHARAT, A.; HOUGHTON, P.; AMOOQUAYE, E.; BURKE, P. J.; SAMPSON, J.; RAMAN, A. In vitro cytotoxic activity of thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, n.1, p.33-39, 2004.

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.

SHIROTA, Osamu et al. Cytotoxic Aromatic Triterpenes from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus chuchuhuasca*. **Journal Of Natural Products**, [s.l.], v. 57, n. 12, p.1675-1681, dez. 1994. American Chemical Society (ACS).

SOUZA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, A. C. O.; FÉLIX, C. F. H.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTENELES, M. M. F.; FILHO, J. M. B.; VIANA, C. S. B. P. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benéficos nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p. 642-654, 2008.

REALIZAÇÃO

PRG
Pró-Reitoria de
Graduação

PRP
Pró-Reitoria de
Pesquisa e
Pós-Graduação

PRE
Pró-Reitoria de
Extensão, Cultura e
Assuntos Estudantis



Universidade
Estadual de Goiás