



## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL E CITOTÓXICA DA PLANTA *Siolmatra brasiliensis*

LIMA, A. P<sup>1</sup>.; PEREIRA, F. C<sup>2</sup>.; VILANOVA-COSTA, C.A.S.T<sup>3</sup>.; RIBEIRO, A. S. B. B<sup>4</sup>.; SILVEIRA-LACERDA, E. P<sup>5</sup>  
Laboratório de Genética Molecular e Citogenética – LGMC – UFG<sup>12345</sup>

\*Autor para correspondência:

**PALAVRAS-CHAVE:** *Siolmatra brasiliensis*, atividade antitumoral, citotoxicidade celular.

### 1- INTRODUÇÃO

Os produtos naturais têm sido uma importante fonte de componentes antineoplásicos. 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). Entre as plantas utilizadas na medicina popular temos a *Siolmatra brasiliensis* (Cogn.) Baill pertencente à família Cucurbitaceae (Robinson & Wunderlin, 2005) que é uma trepadeira de mata seca presente no cerrado e popularmente conhecida como Pruméia que vem sendo utilizada popularmente para diversos fins terapêuticos, tais como antiofídico, expelidor de chumbo entre outros. Estudos sobre o emprego de plantas medicinais com fins terapêuticos é uma prática que se tem utilizado pela população sem dados científicos que comprovem sua eficácia ou seu espectro toxicológico no homem (Martinazzo & Martins, 2004). Sabendo do possível potencial citotóxico de algumas plantas utilizadas pela população fez-se necessário a realização de testes *in vitro* para verificação do possível potencial citotóxico do Extrato Bruto Etanólico (EBE) da planta *Siolmatra brasiliensis* (SB). Diante dos altos índices de câncer e os grandes efeitos tóxicos que os anti-neoplásicos causam nas células normais fez-se necessário o estudo através de testes *in vitro* o possível potencial antitumoral do EBE da planta SB sobre o modelo experimental do tumor ascítico Sarcoma 180 (S180), que é bastante vantajoso frente a outros modelos experimentais, por ser facilmente transplantável e com alta porcentagem de desenvolvimento.

### 2- METODOLOGIA

**Obtenção do extrato:** O extrato vegetal utilizado neste trabalho foi fornecido pelo Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG). Foi selecionado para os testes o extrato bruto etanólico (EBE) do caule da planta SB. Para diluição do EBE foi pesado 20 mg diluídos em 2 mL de Dimetil sulfóxido (DMSO) à 0,1%, resultando numa concentração final de 10 mg.mL<sup>-1</sup>.

**Meio de cultura:** Para realização dos ensaios biológicos, as células foram mantidas com meio RMPI 1640 com L-glutamina, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de gentamicina.

**Cultura de células:** Para estudos *in vitro*, foram utilizadas linhagem de células tumorais Sarcoma 180 (S180), tumor ascítico mantidos na cavidade intraperitoneal de camundongos swiss e macrófagos da cavidade intraperitoneal de camundongos sadios (swiss). Para avaliar a citotoxicidade foram plaqueadas 2x10<sup>5</sup> células de linhagens tumorais e macrófagos em microplacas de 96 poços, e realizado o tratamento com o EBE da SB nas concentrações de 0,039 mg.mL<sup>-1</sup> a 5mg.mL<sup>-1</sup>. Após plaqueamento foram incubadas por 24h em estufa a 37°C contendo 95% de ar e 5% CO<sub>2</sub>.

**Contagens de células:** Para o processo de quantificação foram colocados no eppendorf 10 µL de células + 40 µL de azul de trypan. Retirou-se então uma alíquota de 10 µL e colocou-a na Câmara de Neubauer para a sua quantificação.

**Avaliação da citotoxicidade:** Foi utilizado o método colorimétrico 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium (MTT) descrito por MOSMANN (1983) que consiste em medir indiretamente a viabilidade celular pela atividade enzimática mitocondrial das células vivas. Ao fim da incubação de 24h das linhagens tumorais e dos macrófagos tratados com o extrato da planta SB, foram adicionados aos poços de cultivo celular, 10 µL de MTT na concentração de 5mg.mL<sup>-1</sup>. A placa foi então incubada por mais 3 horas em estufa umidificada contendo 95% de ar e 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Após este período, foram acrescentados 50 µL SDS a 10% e a placa foi enrolada com papel alumínio e colocada na estufa a 37°C por mais uma noite. A quantificação da densidade óptica foi medida em espectrofotômetro utilizando-se o filtro de interferência de 550 nm.

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao testar as concentrações do EBE através do método MTT foi observado que o EBE apresentou 34% de citotoxicidade sobre células do Sarcoma 180 na concentração de  $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  (figura 1A). Os resultados apresentados na figura 1B demonstram que o extrato EBE apresentou atividade citotóxica sobre os macrófagos nas concentrações de 2,5 e  $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  com percentual de 46% e 36%, respectivamente.

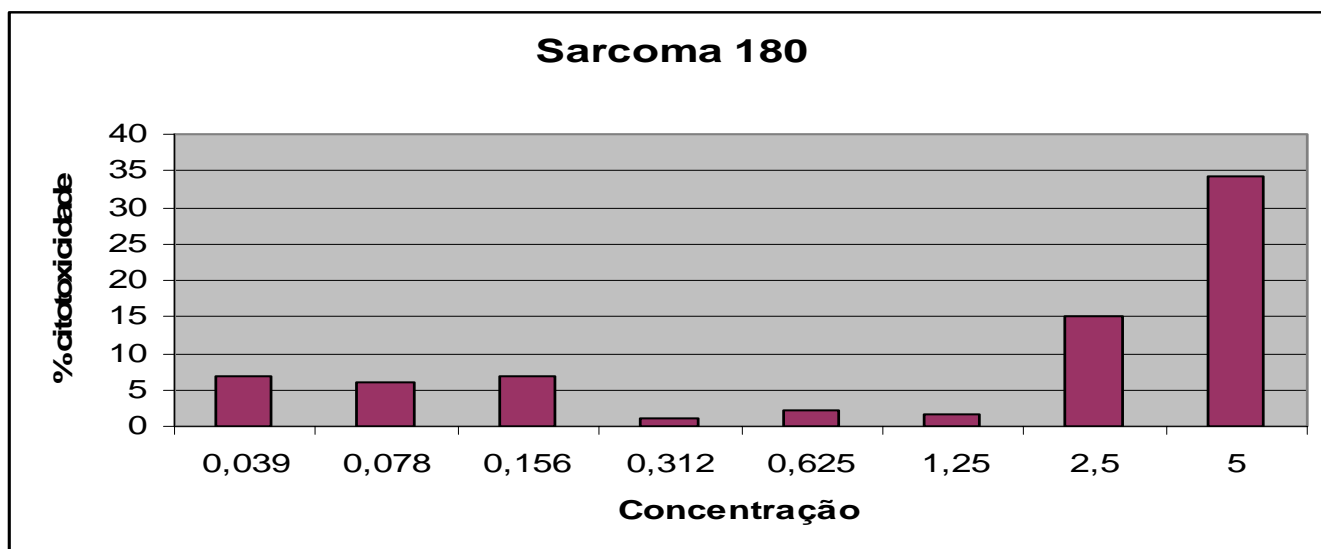


Figura 1A – Percentual de citotoxicidade do SB-EBE sobre célula tumoral S180 de camundongo. As células tumorais foram incubadas na presença do extrato vegetal, SB-EBE ( $0,039$  a  $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ ). Após 24h de tratamento, o percentual de citotoxicidade foi calculado pelo método colorimétrico do MTT.

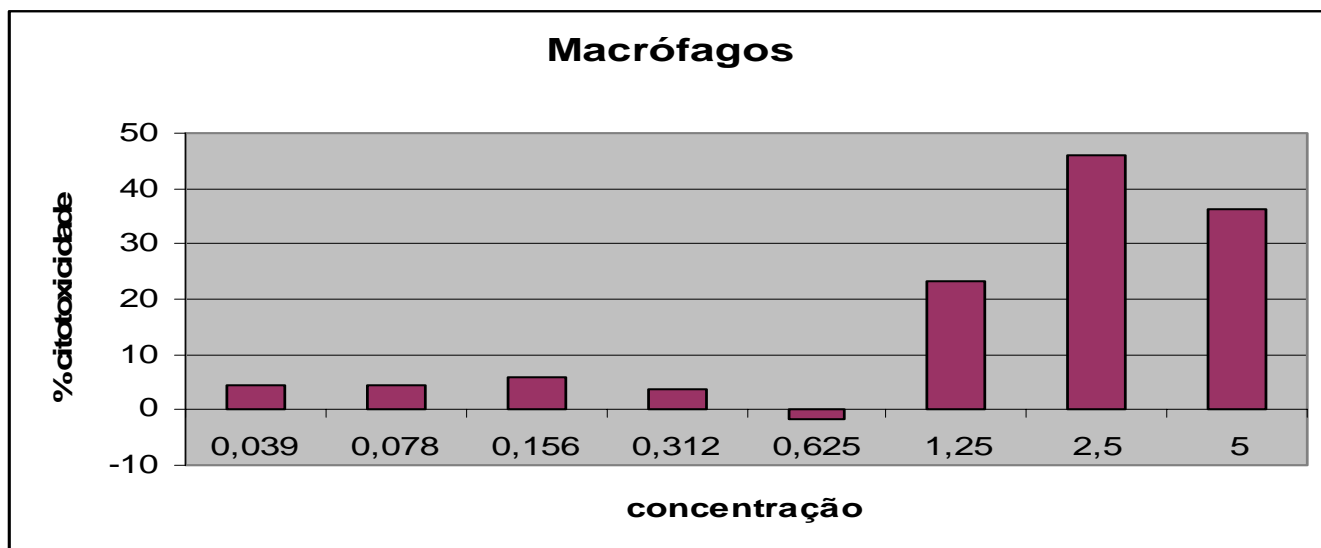


Figura 1B – Percentual de citotoxicidade do EBE *in vitro* sobre macrófagos de camundongos. As células de macrófagos foram encubadas por 24h na presença do extrato vegetal, SB-EBE ( $0,039$  a  $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ ). Após 24h o percentual de citotoxicidade foi calculado pelo método colorimétrico do MTT.

### 4- CONCLUSÃO

Podemos concluir que o extrato bruto etanólico possui efeito citotóxico apenas na concentração de  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  sobre as células do tumor S180 e em macrófagos nas concentrações de 2,5 e  $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

MARTINAZZO, A. P & MARTINS, T. Plantas medicinais utilizadas pela população de Cascavel/PR. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*. v. 8, n. 1, p.3-5, 2004.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUKHERJEE, A. K.; BASU, S.; SARKAR, N.; GHOSH, A. C. Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Curr Med Chem*. v. 8, n. 12, p. 1467-1486, 2001.

ROBINSON, G. L & WUNDERLIN, R. P. Revision of *Siolmatra* (Cucurbitaceae:Zanoniea). *SIDA*. v. 21, n. 4, p. 1961-1969, 2005.