



EFEITO CITOTÓXICO DO *Synadenium umbellatum*

NOGUEIRA, Iara Antonia Lustosa¹; **LEÃO**, Aryane Bueno Berquó², **VIEIRA**, Marcelo de Sousa³; **BENFICA**, Polyana Lopes³; **BOZINIS**, Marize Campos Valadares⁴

Palavras-chave: *Synadenium umbellatum*; citotoxicidade; azul de tripan; MTT

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, tanto para o tratamento de doenças como para sua prevenção, é uma das formas mais antigas de prática medicinal da humanidade (VEIGA JUNIOR, PINTO e MACIEL, 2005).

No Brasil o uso de plantas medicinais é bem difundido principalmente na zona rural para o tratamento de suas doenças (NAPOLITANO et al., 2005).

Até o século XIX, os recursos terapêuticos eram constituídos principalmente por plantas e extratos vegetais, estes constituíam a maioria dos medicamentos que naquela época pouco se diferenciavam dos remédios utilizados na medicina popular (SCHENKEL, GOSMANN e PETROVICK, 2003).

Apesar do avanço extraordinário na descoberta de drogas dotadas de propriedades antineoplásicas, vários tumores, ainda não dispõem de tratamento quimioterápico adequado, tornando, portanto, necessária a procura de novas alternativas medicamentosas (MANS, ROCHA e SCHWARTSMANN, 2000). A incorporação desses novos agentes antitumorais, como a vincristina, vimblatina, paclitaxel, à terapêutica foi apontada por muitos pesquisadores como o argumento da potencialidade que as plantas, os animais e os microorganismos apresentam na descoberta e no desenvolvimento de novos fármacos (LAPA et al., 2003).

A espécie botânica *Synadenium umbellatum* (*S. umbellatum*), pertence à ordem Geraniales e à família Euphorbiaceae (JOLY, 1979).

O *S. umbellatum* é conhecida popularmente como “cola-nota”, “milagrosa”, “cancerola”. Esta planta é popularmente usada para o tratamento do câncer e de doenças inflamatórias.

Considerando a grande busca nos últimos anos por alternativas eficientes para terapia antineoplásica, pelo importante papel que os produtos de origem natural têm desempenhado na descoberta de novas drogas anticâncer, além do uso etnofarmacológico, acredita-se ser de fundamental importância a avaliação do efeito citotóxico do extrato de *S. umbellatum*, realizando testes *in vitro* de citotoxicidade.

2. METODOLOGIA

2.1- Extrato Bruto Etanólico e Frações

O Extrato Bruto Etanólico (EBE) foi obtido das folhas de *S. umbellatum*, através de extração com álcool etílico, parte do extrato foi fracionado em Fração Clorofórmica (FC), Fração Hexânica (FH) e Fração Metanólica (FM).

Foram usados diferentes concentrações do EBE (0,15 - 20 mg/ml); FC (0,017 - 2,3 mg/ml); FH (0,006 – 0,80 mg/ml) e FM (0,02 – 2,4 mg/ml). As concentrações das frações foram calculadas a partir do rendimento obtido no fracionamento do EBE.

2.2- Cultura de células

Nas culturas utilizou-se células do Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE), que é mantido no laboratório, através de transplantações sucessivas em camundongos, onde são inoculados por via intraperitoneal (IP) com suspensão de 2×10^6 /ml de células tumorais. Utilizou-se também células K-562, que são da linhagem da Leucemia Mielóide Aguda, são mantidas vivas através de repiques em meio de cultura RPMI e soro bovino fetal.

2.3 Avaliação de Citotoxicidade

As células do TAE foram semeadas (2×10^6 cels/ml) e da linhagem K-562 (1×10^6 cels/ml) em placa de 96 poços e incubadas com diferentes concentrações do EBE; FC; FH e FM. Cada experimento foi realizado em triplicata.

a) Método de exclusão do Azul de Tripán

Após incubação de 24 e 48 horas, em estufa úmida a 37° C e 5% de CO₂, uma alíquota (20 ul) da suspensão de células foi retirada e diluída (1:10) em 180 ul solução de Azul de Tripán 0,2%. As células viáveis foram contadas e calculadas o percentual em relação ao grupo controle. Os resultados obtidos foram avaliados e plotados em gráficos.

b) Método da redução do MTT

Após incubação de 24 e 48 horas, em estufa úmida a 37° C e 5% de CO₂, adicionou-se 10 ul do corante MTT 5mg/ml e a placa foi novamente incubada por mais 4 horas. Em seguida centrifugou-se a placa, retirou-se cuidadosamente o sobrenadante e adicionou-se 100 ul de Dimetil Sufóxido (DMSO) para solubilização do precipitado de formazan formado. Agitou-se bem a placa e a absorbância foi lida em leitor de placa de Elisa a 560 nm. A absorbância obtida das células controle (não tratadas) foi considerada como 100% de viabilidade celular (ANDRIGHETT-FROHNER et al., 2003). A citotoxicidade celular do extrato foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Células viáveis} = \frac{\text{Média da absorbância de cada concentração do extrato}}{\text{Média da absorbância do controle}} \times 100$$

A concentração letal 50% (CL50) foi definida como a concentração que resulta em 50% de morte celular. Os resultados obtidos foram avaliados e plotados em gráficos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1- Método de exclusão do Azul de Tripán

Investigou-se o efeito do *S. umbellatum* em diferentes concentrações, sobre a viabilidade de células do TAE e células K-562 em cultura de 24 e 48 h. Neste método avalia-se a integridade da membrana celular. Na linhagem celular do TAE, os extratos causaram 100% de morte celular a partir das concentrações de 1,2 mg/ml do EBE, de 0,28 mg/ml da FC e de 0,2 mg/ml da FH.

A FM não apresentou atividade citotóxica significativa em nenhuma das concentrações dos extratos, causando morte celular em no máximo 36% das células tumorais.

Na linhagem de células K-562, os extratos causaram 100% de morte celular a partir das concentrações de 0,3 mg/ml do EBE, de 0,14 mg/ml da FC e de 0,1 mg/ml da FH. Os resultados mostraram um efeito citotóxico dose-dependente e tempo-dependente nas duas linhagens de células, mas o EBE se mostrou mais ativo que as frações.

3.2- Método de redução de MTT

Avaliou-se os efeitos das diferentes concentrações do EBE, FC e FH do extrato de *S. umbellatum* sobre a viabilidade celular do TAE e células K-562 após 24 e 48 horas em cultura. As diferentes concentrações do extrato mostrou um efeito citotóxico dose dependente, e a CL50 para o EBE foi de 0,3 mg/ml; para FC foi de aproximadamente 2,0 mg/ml e para FH foi de aproximadamente 1,2 mg/ml.

O princípio do teste consiste na absorção do sal MTT 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) pelas células sendo reduzido no interior da mitocôndria a um produto chamado Formazan, avaliando a função mitocondrial.

A citotoxicidade do EBE, avaliada pelo método de redução de MTT, também foi mais efetivo nas frações do extrato pois a CL50 do EBE foi menor que os da FC e FH.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* de citotoxicidade foram significativos, pois tanto o EBE, como as frações do extrato de *S. umbellatum* causaram morte em mais de 50% das células.

Estes resultados também foram confirmados pelo método de redução do MTT, que também apresentou 50 % de morte celular para linhagens de células do TAE e da K-562. Este extrato causou uma diminuição no metabolismo mitocondrial das células de forma dose dependente.

Os dados obtidos nos ensaios mostram que o extrato de *S. umbellatum* apresenta um efeito citotóxico, sendo mais potente no EBE. A FM não apresenta efeito citotóxico importante pois não conseguiu causar morte em 50% das células em nenhuma concentração e em nenhum tempo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIGHETT-FROHNER, C.R et al. Citotoxicity and potential antiviral evaluation of violacein produced by *Chromobacterium violaceum*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. v. 98, n. 6, p. 843 -848, set. 2003.

LAPA, A. J. et al. *Farmacologia e toxicologia de produtos naturais*. In : SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ UFSC, 2003, Cap. 11, p.247 – 261 .

JOLY, A.B. *Botânica – Introdução à taxonomia vegetal*. 5 ed. São Paulo: Companhia editora nacional, 1979, p. 398 – 406.

MANS, D. R. A.; ROCHA, A. B.; SCHWARTSMANN, G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: target plant collection as rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. *The Oncologist*. v. 5, p. 185 -198, 2000.

NAPOLITANO, D. R. et al. Down – modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian cerrado. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 99, p. 37-41, 2005.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. *Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos*. . In : SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ UFSC, 2003, Cap. 15, p. 371 – 395.

VEIGA JUNIOR, F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. *Química Nova*. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

FINANCIAMENTO: CNPq

¹ Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia – UFG
jaranogueira@correios.net.br

² Graduanda de Farmácia – Faculdades Objetivo

³ Médico Veterinário/Bolsista Aperfeiçoamento Técnico CNPq/Faculdade de Farmácia/UFG, NEPET-UFG
msv_msv71@hotmail.com

³ Biomédica/Bolsista Aperfeiçoamento Técnico CNPq/Faculdade de Farmácia/UFG, NEPET-UFG
polybenfica@gmail.com

⁴ Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, NEPET-UFG marizecv@farmacia.ufg.br