ÁREA DE SUBMISSÃO: BIOENSAIOS – BE02

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL CITOTÓXICO DOS ÓLEOS DE *ALPINIA SPECIOSA*, *AGERATUM CONYZOIDES* E *DYSPHANIA AMBROSIOIDES* EM LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE PRÓSTATA, LINFOMA HISTIOCÍTICO E LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

V.A.S. SILVA¹, M. A. B. CORREIA¹, M. J. B. M. RÊGO¹, M. C. PEREIRA¹, R. D. SÁ², R. F. SANTOS², T. G. J. SILVA², K. P. RANDAU², I. R. PITTA¹, M. G. R. PITTA¹

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Laboratório de Inovação Terapêutica (LINAT), Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (NUPIT)

² Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacognosia,

E-mail para contato: vitinhoalfredo85@hotmail.com

*RESUMO – O câncer é um problema de saúde pública que tem afetado milhões de pessoas e causado altas taxas de óbito em todo mundo. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito citotóxico do óleo das folhas de *A. speciosa*, *A. conyzoides* e *D. ambrosioides* em linhagem celular de Próstata, Linfoma histiocítico e Leucemia mieloide crônica. Para isso, realizamos o ensaio de citotoxicidade pelo método do MTT em linhagem de DU-145, U-937 e K-562. Os resultados indicam que na linhagem que K-562, os óleos da folha de *A. speciosa*, *A. conyzoides* e *D. ambrosioides* apresentaram citotoxicidade a partir das doses, $2,5 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $1,7 \times 10^{-3}\%$), $8 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $5 \times 10^{-3}\%$) e $5 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $3 \times 10^{-2}\%$), respectivamente. Enquanto, na linhagem U-937, apenas o óleo de *D. ambrosioides* foi citotóxico na dose de $2,5 \times 10^{-2}\%$ (IC_{50} $2,4 \times 10^{-2}\%$). Logo, são necessários mais estudos para avaliar os mecanismos de ação em linhagem de leucemia mieloide crônica e da espécie *D. ambrosioides* em linhagem de linfoma histiocítico.*

Palavras chaves: Citotoxicidade, plantas medicinais, antitumoral

*ABSTRACT - Cancer is a public health problem that has affected millions of people and caused high death rates worldwide. Therefore, the objective of this work was to evaluate the cytotoxic effect of *A. speciosa*, *A. conyzoides* and *D. ambrosioides* leaves on the Prostatic cell line, histiocytic lymphoma and chronic myeloid leukemia. For this, we performed the cytotoxicity assay by the MTT method in line of DU-145, U-937 and K-562. The results indicated that in the lineage K-562, leaf oils of *A. speciosa*, *A. conyzoides* and *D. ambrosioides* showed cytotoxicity from the doses, $2.5 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $1.7 \times 10^{-3}\%$), $8 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $5 \times 10^{-3}\%$) and $5 \times 10^{-3}\%$ (IC_{50} $3 \times 10^{-2}\%$),*

respectively. While in the U-937 strain, only *D. ambrosioides* oil was cytotoxic in the dose of 2.5×10^{-2} % (IC_{50} 2.4×10^{-2} %). Therefore, further studies are needed to evaluate the mechanisms in chronic myeloid leukemia and *D. ambrosioides* lineage in histiocytic lymphoma.

KeyWords: Cytotoxicity, medicinal plants, antitumor.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um problema de saúde pública que tem afetado milhões de pessoas em todo mundo. Entre os diversos tipos de câncer, o de próstata figura como o segundo tipo mais comum entre os homens e representa 6,6% do total de óbitos masculinos. A Leucemia está entre o sexto e sétimo cancer mais frequente na Região Norte, Sul e Sudeste do Brasil entre homens e mulheres. Só no ano de 2012 foi estimado 265 mil óbitos no mundo. Linfoma histiocítico é um tipo de linfoma não Hodgkin (LNH), raro e muito agressivo. No ano de 2012, LNH foi responsável por 200 mil óbitos (INCA, 2016).

O Brasil possui grande potencial natural e tem investido em políticas públicas para o uso de plantas medicinais dentro do sistema de saúde. Em virtude disso, pesquisas com substratos naturais provenientes de plantas têm despertado grande interesse na busca por tratamento para diversos tipos de doenças, incluindo o câncer (GREENWELL; RAHMAN, 2015). *Alpinia speciosa* (Zingiberaceae) difundida na região do Nordeste do Brasil, apresenta propriedades anticâncer em linhagens de câncer de pulmão (TAIRA; NGUYEN; TAWATA, 2017). *Dysphania ambrosioides* (Amaranthaceae) com ampla distribuição no mundo e nativa da América Central e do Sul e possui um amplo espectro de atividade biológica e antitumoral (OLIVEIRA *et al.*, 2014; SÁ *et al.*, 2015). *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) bastante difundida na região tropical e subtropical do mundo, possui ação anti-inflamatória, fungicida e inseticida, e atualmente sua ação antitumoral vem sendo relatada na literatura (MOMESSO *et al.*, 2009). Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito citotóxico dos óleos da folha de *Alpinia speciosa*, *Ageratum conyzoides* e *Dysphania ambrosioides* em linhagens tumorais de próstata (DU145), linfoma histiocítico (U-937) e leucemia mieloide crônica (K562).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Cultivo de células tumorais: As linhagens de câncer de próstata (DU-145), linfoma histiocítico (U-937) e leucemia mieloide crônica (K-562), foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e mantidas à 37°C com 5% de CO₂ em meio RPMI-1640 (U-937 e K-562) e DMEM (DU-145) com 3,7g/L de bicarbonato de sódio, 1% penicilina e estreptomicina, suplementado com 10% de soro fetal bovino.

2.2. Ensaio de viabilidade celular por MTT: As células de linhagem tumoral foram plaqueadas na concentração de 10^4 (DU-145), 5×10^3 (K-562) e 5×10^5 (U-937) em placas de 96 poços. Os óleos brutos das folhas das plantas (*A. speciosa*, *A. conyzoides* e *D. ambrosioides*) nas porcentagens de 10^{-3} %, $2,5 \times 10^{-3}$ %, 5×10^{-3} %, 8×10^{-3} %, 1×10^{-2} %, $2,5 \times 10^{-2}$ % e 5×10^{-2} % foram utilizados para o tratamento das células no período de 72 horas. As placas foram mantidas em estufa à 37° C e 5% de CO₂. Após este período foi adicionado 20µL de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), após 3 horas de incubação 130 µL SDS (dodecil sulfato de sódio) e mantidas em

temperatura ambiente por 24 horas. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biotek EL808) em 570nm. Os experimentos foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados anteriores mostraram que os óleos estudados não apresentaram citotoxicidade em PBMC de voluntários saudáveis, exceto os óleos de *A. speciosa* e *D. ambrosioides* na concentração de $5 \times 10^{-2}\%$. Nas análises do óleo da espécie *A. speciosa*, observa-se citotoxicidade apenas na linhagem de leucemia mieloide crônica na dose $2,5 \times 10^{-3}\%$ (viabilidade celular 16,72% e IC_{50} $1,7 \times 10^{-3}\%$). Para o óleo da folha de *A. conyzoides*, observa-se citotoxicidade apenas na linhagem de próstata na dose $5 \times 10^{-2}\%$ (viabilidade celular 23,77% e IC_{50} $3,7 \times 10^{-2}\%$) e leucemina mieloide crônica a partir da dose $8 \times 10^{-3}\%$ (viabilidade celular 41,30% e IC_{50} $5 \times 10^{-3}\%$). No óleo de *D. ambrosioides*, a citotoxicidade na linhagem de leucemia mieloide crônica foi na concentração de $5 \times 10^{-3}\%$ (viabilidade celular 25,57% e IC_{50} $3 \times 10^{-2}\%$) e em linfoma histiocítico na dose $2,5 \times 10^{-2}\%$ (viabilidade celular 45,77% e IC_{50} $2,4 \times 10^{-2}\%$) (Figura 1).

Figura 1. (A) Efeito citotóxico dos óleos de *A. speciosa*, *A. conyzoides* e *D. ambrosioides* em linhagem tumoral de câncer de próstata (DU-145), (B) linhagem de leucemia mieloide crônica (K-562) e (C) câncer de linfoma histiocítico (U-937)

Compostos bioativos de *A. speciosa* têm sido referido por apresentarem bloqueadores de PAK-1, uma proteína chave associada a vários tipos de doenças incluindo o câncer. E por isso, atualmente tem sido extensivamente pesquisada como estratégia para a terapia do câncer (TAIRA; NGUYEN; TAWATA, 2017; NGUYEN *et al.*, 2016). Estudos utilizando o extrato de *A. conyzoides* têm sido referido por apresentar efeito antitumoral em linhagens cancerígenas de carcinoma de pulmão humano (A-549), leucemia em rato (P-388) e humano (Jurkat) (MOMESSO *et al.*, 2009; ACHEAMPONG *et al.*, 2015). Segundo a literatura o óleo essencial de *D. ambrosioides*, apresenta atividade citotóxica em linhagem de câncer de mama (MCF-7) e corroborando com nosso estudo, em leucemia mieloide crônica (K-562) (JIA-LIANG *et al.*, 2013; DEGENHARDT *et al.*, 2016).

4. CONCLUSÃO

Os óleos de *A. speciosa*, *A. conyzoides* e *D. ambrosioides*, mostraram boa atividade citotóxica, em baixas doses, na linhagem de leucemia mieloide crônica (K-562). Além disso, o óleo da espécie *D. ambrosioides* também foi citotóxica na linhagem de linfoma histiocítica na concentração de $2,5 \times 10^{-2}\%$. Logo, são necessários mais estudos para avaliar os mecanismos de ação dos óleos das três espécies, em linhagem de leucemia mieloide crônica e da espécie *D. ambrosioides* em linhagem de linfoma histiocítica.

5. REFERÊNCIAS

- ACHEAMPONG *et al.*, In vitro Antioxidant and Anticancer Properties of Hydroethanolic Extracts and Fractions of *Ageratum conyzoides*. **EJMP**. v. 7, p. 205-214, 2010.
- GREENWELL; RAHMAN. Medicinal Plants: Their Use in Anticancer Treatment. **Int J PharSciRes**. v. 6, p. 4103-4112, Novembro, 2015.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa/2016 - incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Coordenação de prevenção e vigilância, 2015.
- MOMESSO L.S, Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, p. 660-663, Setembro, 2009.
- NGUYEN *at al.*, Artepillin C and Other Herbal PAK1-blockers: Effects on Hair Cell Proliferation and Related PAK1-dependent Biological Function in Cell Culture. **Phytother Res**. V. 30, p. 120-127 2016.
- OLIVEIRA; FERREIRA; BARROSO. Herb Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.): Clinical applications and toxic forms – A review. v. 7, p. 464 – 499, 2014.
- SÁ t al., Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte, **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, p.267-276, 2015.
- TAIRA; NGUYEN; TAWATA, Hair Growth Promoting and Anticancer Effects of p21-activated kinase 1(PAK1) Inhibitors Isolated from Different Parts of *Alpinia zerumbet*. **Molecules**. v. 22, 2017.

6. AGRADECIMENTOS

FACEPE, CAPES, INCT_if, LINAT e Laboratório de Farmacognosia.