

Estudo da atividade citotóxica do *Synadenium umbellatum*

CASTRO, Núbia Cristiana¹; **Valadares**, Marize Campos²

Palavras -chave: *Synadenium umbellatum* , citotóxicidade, tumor Ascítico de Ehrlich,

1. INTRODUÇÃO

As evoluções tecnológicas no campo da radioterapia e quimioterapia têm aumentado sensivelmente a sobrevida dos pacientes com câncer e em alguns casos, o número de curas. Mesmo assim, os cientistas, pesquisadores e médicos se deparam com problemas como a resistência às drogas e a falta de toxicidade seletiva dos quimioterápicos, o que dificulta o tratamento desses indivíduos (Guest & Uetrecht, 2001). Neste sentido, a busca de alternativas mais eficientes para a terapia de doenças neoplásicas tem atribuído papel importante aos produtos de origem natural. Uma vez que o *Synadenium umbellatum* tem mostrado grande utilização etnofarmacológica para o tratamento do câncer e os estudos científicos são escassos, selecionamos esta planta para investigar sua atividade citotóxica, característica esta, presente em diversos agentes antineoplásicos.

2. METODOLOGIA

2.1 *Synadenium umbellatum* (SU)

As folhas da planta foram colhidas, secas, trituradas e extraídas em álcool etílico 95%. Os filtrados foram misturados e concentrados no rotaevaporador.

2.1 Cultura de células

Utilizamos células ascíticas do Tumor de Ehrlich, as quais foram coletadas da cavidade peritoneal de animais portadores. Para avaliação do potencial citotóxico as células foram semeadas (2×10^6 cels/ml) em placa de 96 poços e incubadas com diferentes concentrações (40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312 mg/kg) do SU.

2.2 Avaliação do potencial citotóxico do SU

Método da redução do MTT

O princípio deste método consiste na redução do sal MTT {brometo de [3-(4,5 - dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio]} (Sigma ®) no interior da mitocôndria ao formazan. As células do tumor de Ehrlich (2×10^6 cels/ml) foram incubadas com diferentes concentrações (10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312) do extrato alcoólico do SU por 48 h. Após este período, adicionou-se 10 µl do corante MTT (5mg/ml) e as células foram novamente incubadas por mais 4 h. Em seguida, o meio foi retirado cuidadosamente sendo adicionado 0,1 ml de dimetil sulfóxido para solubilização do formazan. A leitura foi realizada em leitor de ELISA, 560nm. A absorbância obtida das células não tratadas, controle, foi considerada como 100% de viabilidade celular (Mosmann,1983,Denizot &Lang,1986).

Método de exclusão do azul de tripan

Neste método avalia-se a integridade da membrana celular. As células do tumor de Ehrlich (2×10^6 cels/ml) foram incubadas com diferentes concentrações (40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312 mg/kg) do extrato alcoólico do SU por 12, 24 e 48 h. Após estes períodos de incubação, uma alíquota de 20 µl da suspensão de células foi retirada e diluída em azul de tripan (0,04%, Sigma ®). As células foram observadas por suas alterações morfológicas e o número de células viáveis determinado em câmara de Neubauer. As células viáveis, que excluíram o corante, possuíam um aspecto translúcido e as células mortas apresentavam a coloração arroxeada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial citotóxico do extrato alcoólico do *Synadenium umbellatum* foi avaliado pelos métodos de exclusão do Azul de Tripán e redução do MTT (Figuras 1 e 2). Utilizando o método de exclusão do azul de tripan investigamos o efeito do SU em diferentes concentrações (0,312-40mg/ml) sobre a viabilidade de células ascíticas do TAE em cultura por 12, 24 e 48h. Os resultados demonstraram um efeito citotóxico dose-dependente e tempo-dependente em todos os tempos avaliados. A faixa de concentrações do IC₅₀, obtido das curvas de concentração resposta, foi de 2,5-10mg/ml nos tempos avaliados.

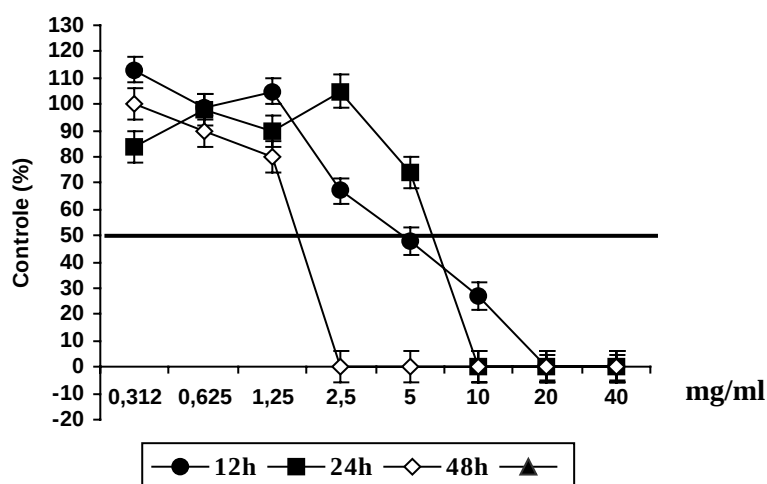


Figura 1- Viabilidade celular de células ascíticas do Tumor de Ehrlich após 12, 24 e 48 h de exposição a diferentes concentrações do SU (0,312-40mg/ml) pelo método de azul de tripan. Cada ponto representa a média da triplicata. A barra horizontal representa 50% de morte celular (IC₅₀).

No ensaio de redução do Tetrazolium MTT, o teste avaliou os efeitos de diferentes concentrações (0,312-40mg/ml) do SU sobre a viabilidade de células ascíticas do TAE após 48 h em cultura. As diferentes concentrações da planta mostraram um efeito citotóxico dose – dependente. O valor de IC₅₀, obtido matematicamente da curva de resposta às concentrações foi de 2,5 mg/ml. Neste ponto é importante ressaltar que este valor de IC₅₀ é igual ao valor encontrado no ensaio de azul de tripan em 48 de cultura.

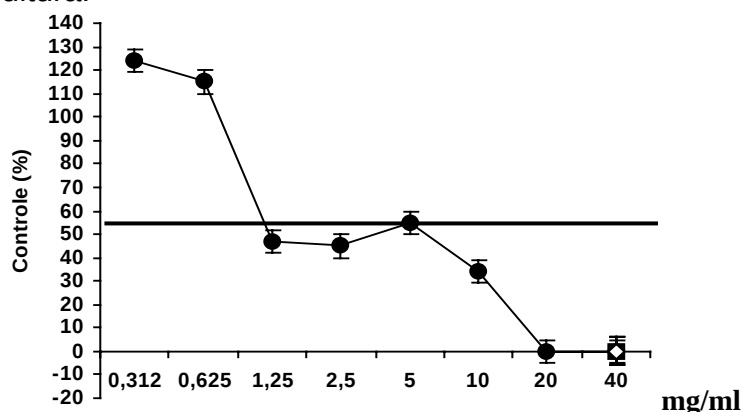


Figura 2- Viabilidade celular de células ascíticas do Tumor de Ehrlich após 48 h de exposição a diferentes concentrações do SU (0,312-40mg/ml) pelo método de MTT. Cada ponto representa a média da triplicata. A barra horizontal representa 50% de morte celular (IC₅₀).

4. CONCLUSÃO

Diante do exposto podemos concluir que o SU apresenta potencial citotóxico de forma dose-dependente, tanto no ensaio de azul de tripan quanto no ensaio de redução do MTT.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Guest, I., Uetrecht, J., 2001. Bone marrow stem cell protection from chemotherapy by low- molecular-weight compounds. *Exp. Hematol.* 29, 123-137. HUBERT, A.; De-THÉ, G.: Dietary behavior, way of life, and nasopharyngeal cancer. *Bulletin Du Cancer*, v. 5, p. 476-482, 1982.
- Fuentes, JC, Castro, V, Jakupovic, J, et al.: Diterpenes and other components of *Croton hirtus* (Euphorbiaceae) *REV BIOL TROP* 52 (1): 269-285 MAR 2004 JOLY, A.B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 4ª edição, Editora Nacional, São Paulo, 1977.
- KUPCHAN, S.M.; UCHIDA, I.; BRANFMAN, A.R.; DAILEY, R.G.; FEI, B.Y.: Antileukemic principles isolated from euphorbiaceae plants. *Science*, v. 191, n. 4227, p. 571-572, 1976.
- Lopes, MILE, Saffi, J, Echeverrigaray, S, et al.: Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems *J ETHNOPHARMACOL* 95 (2-3): 437-445 DEC 2004
- Nino, J, Espinal, CM, Mosquera, OM, et al.: Antimycotic activity of 20 plants from Colombian flora *PHARM BIOL* 41 (7): 491-496 OCT 2003.
- Manga, HM, Brkic, D, Marie, DEP, et al. In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Mill. Arg. (Euphorbiaceae) *ETHNOPHARMACOL* 92 (2-3): 209-214 JUN 2004.
- MELO S.Patrícia., JUSTO Z.Giselle, AZEVEDO B. M.Mariangela. Violacein and its b-cyclodextrin complexes induce apoptosis and differentiation in HL60 cells. *Toxicology* 186 (2003) 217-225
- Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, pp. 55–63. QUER, P. F. Plantas medicinais: el Dioscórides renovado. Editorial Labor, Barcelona, Espanha, 1962.

¹ Bolsista de iniciação científica. Faculdade de Farmácia/ Laboratório de Cultura de Células, nubiaccastro@yahoo.com.br.

² Orientador/Faculdade de Farmácia /UFG, mcbonzins@gmail.com.