

NOGUEIRA, I. A. L.; LEÃO, A. B. B.; BOZINIS, M. C. V. Avaliação da atividade antitumoral do extrato do *Synadenium umbellatum*, em animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich. In: III CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pós Graduação**. [CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO EXTRATO DO *Synadenium umbellatum* , EM ANIMAIS PORTADORES DE TUMOR ASCÍTICO DE EHRlich

NOGUEIRA, Iara Antonia Lustosa¹; **LEÃO**, Aryane Bueno Berquó ², **BOZINIS**, Marize Campos Valadares³

Palavras-chave: *Synadenium umbellatum*.; sobrevida; inibição tumoral; angiogênese

1. INTRODUÇÃO

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; SCHWARTSMANN, 2000 ; YOUNES ; VARELLA ; SUFFREDINI, 2000).

A partir dos anos 50, a identificação e o desenvolvimento de novos compostos para quimioterapia anticâncer foi dirigida principalmente por programas de triagem de plantas, o que fez com que novos agentes tenham sido identificados, como o paclitaxel (*Taxus brevifolia*) e o alcalóide camptotecina (*Camptotheca acuminata*) (VOSS; EYOL; BERGER, 2005). A incorporação desses novos agentes antitumorais 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”, tendo o látex obtido das folhas ou do caule um pH ácido.

Esta planta é popularmente usada pela etnofarmacologia para o tratamento do câncer. O uso na medicina popular de plantas desta família no tratamento de câncer tem se difundido mundialmente. Considerando a grande busca nos últimos anos por alternativas eficientes para terapias antineoplásicas, pelo importante papel que os produtos de origem natural têm desempenhado na descoberta de novas drogas anticâncer, além do uso etnofarmacológico, acreditamos ser de fundamental importância a avaliação da atividade antitumoral dessa planta, realizando os testes *in vivo* de sobrevida e inibição tumoral, previamente do extrato bruto etanólico (EBE) de *S. umbellatum*, utilizando o modelo experimental do Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE) e posteriormente as frações do extrato também serão testadas.

2. METODOLOGIA

2.1 Extrato Bruto Etanólico de *S. Umbellatum*

NOGUEIRA, I. A. L.; LEÃO, A. B. B.; BOZINIS, M. C. V. Avaliação da atividade antitumoral do extrato do *Synadenium umbellatum*, em animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich. In: III CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pós Graduação**. [CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

As folhas da planta foram colhidas e colocadas para secagem durante uma semana em estufa a 40°C. Depois da secagem total, as folhas foram trituradas. Foram feitas três extrações alcoólicas da mesma massa triturada, sendo que a cada 100 g de massa das folhas trituradas, foi adicionado aproximadamente 300 ml de Álcool Etílico 95%. A mistura foi agitada mecanicamente por 3h e depois foi filtrada. Os três filtrados foram misturados e levados para concentrar o extrato em rotaevaporador para a recuperação do álcool.

2.2 Tratamento dos Animais

Para o desenvolvimento do TAE, os camundongos foram inoculados intraperitonealmente com uma suspensão de 6×10^8 células tumorais, num volume de 0,2 ml/animal.

Para a realização dos experimentos de avaliação de inibição do crescimento tumoral (n=6 por grupo) e da sobrevida (n=10 por grupo) utilizou-se animais *Swiss* com idade de 8-10 semanas, e estes foram submetidos ao seguinte protocolo de tratamento:

Grupo I – controle positivo, animais portadores de TAE e tratados com metotrexato 2,5 mg/kg

Grupo II – controle negativo, animais portadores de TAE e sem tratamento.

Grupo III - animais portadores de TAE e tratados com EBE na dose de 2,5 mg/kg

Grupo IV - animais portadores de TAE e tratados com EBE na dose de 5,0 mg/kg

Grupo V - animais portadores de TAE e tratados com EBE na dose de 10 mg/kg

Grupo VI - animais portadores de TAE e tratados com EBE na dose de 25 mg/kg

O dia da inoculação do tumor foi considerado dia zero (Do). O tratamento dos animais iniciaram 24 h após a inoculação das células tumorais, administrando-se as doses do extrato ou do metotrexato, durante 10 dias consecutivos. Os animais controle receberam apenas o veículo (salina) no mesmo volume administrado aos animais tratados com EBE.

2.3 Avaliação da Sobrevida

Para determinação da sobrevida, os animais foram tratados conforme o item 2.1 e foram observados diariamente, até a morte ou por um período de 50 dias. Os dados obtidos foram avaliados utilizando a curva de Kaplan-Maier (VALADARES ; QUEIROZ, 2002)

2.4 Avaliação da inibição do crescimento tumoral

Após o tratamento dos animais (de acordo com o item 2.1), no décimo primeiro dia, os camundongos foram anestesiados com éter etílico. Em seguida retirado todo o líquido ascítico. Posteriormente, uma alíquota da suspensão foi diluída e corada com azul de Tripán, para a realização da contagem do número de células tumorais, em câmara de Neubauer (ORSÓLI´C, ; BÁSIC, 2002).

2.5 Avaliação da Angiogênese

Após tratamento conforme item 2.1, os camundongos foram anestesiados e feito punção ocular e cardíaca para coleta de sangue para a dosagem do microhematócrito

NOGUEIRA, I. A. L.; LEÃO, A. B. B.; BOZINIS, M. C. V. Avaliação da atividade antitumoral do extrato do *Synadenium umbellatum*, em animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich. In: III CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pós Graduação**. [CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

e da hemoglobina sérica. Nestes animais foi retirado a pele e também parte do músculo abdominal, para a verificação da angiogênese e para determinação da hemoglobina tecidual, respectivamente (TEIXEIRA, et al. 2005)

As peles foram fotografadas e analisadas quanto ao número e calibre dos vasos sanguíneos presente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O material botânico (folha) do *S.umbellatum* foi coletado do espécime cultivada numa residência do Bairro Feliz, Goiânia, Goiás, onde foram coletadas 17 kg de folhas frescas de *S. umbellatum* e após secagem e trituração obteve-se 1,3 kg de folhas secas e após extração e evaporação do álcool, obteve-se aproximadamente 90 g de EBE., o que representou um aproveitamento de 6,92%.

O efeito do tratamento com EBE de *S. umbellatum* nas doses de 2,5; 5,0; 10 e 25 mg/kg de animais portadores do TAE na sobrevida foi avaliado durante 50 dias obtendo -se os seguintes dados: os animais portadores de tumor e que não receberam tratamento morreram até o 25º dia de avaliação. Por outro lado, os animais tratados com EBE observou-se um aumento da taxa de sobrevida, quando comparado ao grupo controle negativo. Nas doses 10 e de 25 observou-se um aumento da probabilidade de sobrevida de 100 %, ou seja sobreviveu 50 dias, sendo significativo estatisticamente (teste Log-rank $P < 0,05$). Nas doses de 2,5 e 5,0 mg não houve alteração na sobrevida dos animais, em relação ao grupo controle negativo. Já os animais portadores do tumor tratados com o antitumoral metotrexato (2,5 mg/kg), o aumento na sobrevida foi de 24 % (1 animal sobreviveu até o 31º dia), quando comparado ao grupo controle negativo.

Em relação à avaliação do potencial inibidor do crescimento tumoral, o tratamento com o EBE por 10 dias promoveu uma inibição das células tumorais de Ehrlich na cavidade abdominal dos animais em relação ao grupo controle negativo. Nos animais tratados com EBE nas doses de 2,5 e 5,0 mg/kg não houve diminuição no número de células tumorais quando comparado com o grupo controle negativo. Mas nos grupos de animais tratados com EBE nas doses de 10 e 25 mg/kg , houve uma redução no número de células tumorais em torno de 50 % em relação ao grupo controle negativo.

Os resultados dos ensaios *in vivo*, avaliação da sobrevida e inibição tumoral , realizado com o EBE do *S. umbellatum*, demonstrou uma correlação entre os dois, visto que houve um aumento na sobrevida dos animais e uma redução nas células tumorais da cavidade peritoneal, apresentado nos animais tratados com EBE nas doses de 10 e 25 mg/kg. Estes dados sugerem um possível efeito antitumoral do *S. umbellatum*.

Na análise morfológica dos vasos observou-se algumas alterações em relação a angiogênese dos grupos. Os animais com tumor e que não foram tratados apresentaram a vascularização da região abdominal acentuada, com vasos tortuosos, congestos de eritrócitos e bem dilatados. Quando comparados com os grupos que receberam tratamento com o EBE e metotrexato, observou-se uma vascularização normal, quando comparado com o controle negativo. Esta observação poderá sugerir

NOGUEIRA, I. A. L.; LEÃO, A. B. B.; BOZINIS, M. C. V. Avaliação da atividade antitumoral do extrato do *Synadenium umbellatum*, em animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich. In: III CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pós Graduação**. [CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

uma possível atividade deste extrato na angiogênese, que será avaliada de forma mais detalhada posteriormente.

A influência do crescimento tumoral no sistema imune e na atividade hematopoiética tem sido sugerido por muitos autores, tais como neutrofilia, hematopoiese extracelular (QUEIROZ, et al, 2004) o que torna o TAE um bom modelo experimental para que a avaliação da atividade antitumoral do EBE sobre os sistemas imune e hematopoiético.

A modificação do padrão de vascularização da parede abdominal no animal portador do TAE, com o aumento no número de vasos sanguíneos, geralmente tortuosos e congestionados com hemácias, já foi demonstrado por TEIXEIRA *et al.*, 2005, também foi verificado por nós, o que corrobora com os resultados já previamente citados.

Quanto as determinações do microhematócrito, hemoglobina sérica e tecidual dos animais controle e tratados, estas não apresentaram resultados conclusivos, necessitando de repetição.

Diante destes dados faz-se necessário a realização de novos estudos com o intuito de melhor caracterizar o efeito antitumoral deste vegetal.

4 CONCLUSÃO

Considerando o levantamento bibliográfico realizado sobre plantas medicinais, desenvolvimento e descobertas de novas drogas a partir de vegetais e produtos naturais, a problemática do câncer e o uso pela população de plantas medicinais, muitas vezes, como única fonte para curar seus males, conclui-se que é de extrema importância a pesquisa destas fontes, visto que muitos dos usos etnofarmacológicos já foram comprovados cientificamente.

Nestes ensaios realizados observamos que os resultados do teste de sobrevivência foram muito satisfatórios pois aumentou em 100% a sobrevivência dos animais tratados com EBE nas doses de 10 e 25 mg/kg, em relação ao controle negativo e no teste de inibição tumoral houve também uma redução no número de células tumorais em torno de 50%. Na visualização dos vasos sanguíneos, o resultado apresentado também foi considerável, visto que os animais controle negativo apresentaram vasos bem mais calibrosos que os demais grupos, sugerindo a necessidade de estudos posteriores para avaliar a influência da *S. umbellatum* na angiogênese e na atividade antitumoral em geral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

NOGUEIRA, I. A. L.; LEÃO, A. B. B.; BOZINIS, M. C. V. Avaliação da atividade antitumoral do extrato do *Synadenium umbellatum*, em animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich. In: III CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pós Graduação**. [CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

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.

ORSÓLI'Ć, N. ; BĀSIC, I. Water – soluble derivate of própolis and its polyphenolic compounds enhance tumoricidal activity of macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 102, n.1, p. 37 – 45, 2005.

QUEIROZ, M. L. S. et al. Ehrlich ascites tumor as a tool in the development of compounds with immunomodulatory properties. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. V.26, n.4, p.511 – 525, 2004.

TEIXEIRA, A. S. et. al. Angiogenesis and inflammation in skeletal muscle in response to ascites tumor in mice. *Life Sciences*, v. 78, p. 1637-1645, 2005.

VALADARES, M. C. ; QUEIROZ, M.L.S. The effect of a Titanocene Dichloride derivate, TiIV(C5 H5) 2 NCS2, on the haemotopoietic response of Ehrlich tumour – bearing mice. *European Journal of Pharmacology*, v. 439, p. 35 – 42, 2002.

_____. et al. *Euphorbia tirucalli* L. Modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour – bearing mice . *International Immunopharmacology*, article in press, 2005.

VOSS, C.; EYOL, E. ; BERGER, M. R. Identification of potent anticancer in Ximenia Americana aqueous extracts used by African traditional medicine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, article in press, 2005.

YOUNES, R. N. ; VARELLA, A. D. ; SUFFREDINI, I. B. Seleção, extração e identificação de drogas novas anticâncer de plantas brasileiras. *Acta Oncológica Brasileira*, v. 20, n. 1, p.15 – 20, 2000.

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

² Graduanda de Farmácia – Faculdades Objetivo

³ Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, marizecv@farmacia.ufg.br