

## ATIVIDADE CITOTÓXICA DE EXTRATOS DE *ILEX PARAGUARIENSIS*

JÚLIA OLIVEIRA PENTEADO<sup>1</sup>; MARINA SANTOS <sup>2</sup>; DANIELA RAMOS<sup>2</sup>; FLÁVIO MANOEL RODRIGUES DA SILVA JUNIOR<sup>2</sup>; ANA LUIZA MUCCILO BAISCH<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Júlia Oliveira Penteado – [julia-penteado@hotmail.com](mailto:julia-penteado@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Rio Grande – [daniferamos@gmail.com](mailto:daniferamos@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Rio Grande – [daniferamos@gmail.com](mailto:daniferamos@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Rio Grande – [f.m.r.silvajunior@gmail.com](mailto:f.m.r.silvajunior@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Rio Grande – [anabaisch@gmail.com](mailto:anabaisch@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Ilex*, da família Aquifoliaceae, é distribuída em regiões temperadas, tropicais e subtropicais. Uma das espécies de interesse farmacológico neste gênero é a *Ilex paraguariensis* St. Hilaire na qual é conhecida popularmente como mate ou erva-mate que se refere aos torrados e folhas secas da terra (BURRIS et al., 2012). A *Ilex paraguariensis* é amplamente consumida na América do Sul como bebida típica, no Brasil chamada de "chimarrão" e "tererê" (preparada com água quente e fria, respectivamente) (PERES et al. 2013).

Estudos tem evidenciado compostos bioativos da *Ilex paraguariensis*, ASOLINI et al (2006) demonstraram em seu estudo que entre as dez espécies de plantas mais utilizadas como chás, a *Ilex paraguariensis* foi aquela que apresentou a maior capacidade antioxidante. Além disso, expressa atividade antiinflamatória, diurética, digestiva, cicatricial e estimulante, conferindo um grande potencial terapêutico a mesma (FAGUNDES et al., 2015).

No campo da pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, a especialidade oncológica tem despertado interesse de muitos, devido à deficiência de um arsenal terapêutico abrangente e eficaz. O câncer é uma das maiores causas de morte no mundo e, por consequência, tornou-se uma preocupação de saúde pública. (VECHIA et al., 2008). Houve um avanço nas pesquisas de produtos naturais, especialmente de plantas e microrganismos, no campo da oncologia propiciando a descoberta de diversas substâncias utilizadas atualmente na terapêutica antineoplásica. A maioria (60%) dos fármacos antitumorais introduzidos na terapêutica nas últimas décadas tem sua origem de produtos naturais (NEWMAN et al., 2008; HARVEY et al., 2008).

Recentemente, tem sido investigado a atividade antitumoral dos extratos de *Ilex paraguariensis*, através da inibição da proliferação de células tumorais e/ou a indução de apoptose por esta planta (RAMIREZ-MARES et al, 2004; PUANGPRAPHANT et al., 2011; LUCKEMEYER et al., 2012). Estas atividades bioativas de *Ilex paraguariensis* podem estar relacionadas com compostos presentes na planta, como a presença do ácido caféico, a cafeína, o ácido clorogênico, o kaempferol, a quercetina, o ácido quínico, a rutina e teobromina

Porém, a relação dos mecanismos destes compostos da *Ilex paraguariensis* contra a carcinogênese não são claramente compreendidos (HECK et al., 2007). E, não está esclarecido se a atividade antitumoral da *Ilex paraguariensis* pode interferir nas propriedades funcionais de células como mastócito, basófilo, linfócito, macrófagos e plaquetas.

Desta forma, observa-se a necessidade de estudos que ampliem a compreensão dos benefícios atribuídos aos diferentes extratos *Ilex*

*paraguariensis*. Portanto, este trabalho teve por objetivo analisar se os extratos hexânico, metanólico e aquoso de *Ilex paraguariensis* expressam atividade citotóxica frente uma linhagem de células macrofágicas.

## 2. METODOLOGIA

### Caracterização e preparo da amostra

A *Ilex paraguariensis* foi adquirida localmente a partir do comércio da cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

Os extratos foram obtidos por banho de ultrassom usando o modelo Ultrasonic Q3.0/40A em frequência de 40 KHz. Após, a filtração dos extratos foi realizada utilizando papel filtro 12,5 microns.

Os extratos foram evaporados por liofilização a vácuo modelo SPD1010-115 speed vac marca thermo savant em frequência 50/60Hz e mantidos sob refrigeração. Para os ensaios, os extratos foram dissolvidos em DMSO 200µg/ml.

### Atividade citotóxica

A análise de citotoxicidade dos extratos de *Ilex paraguariensis* foi realizada segundo Ahamed 1994. A sua citotoxicidade *in vitro* para macrófagos da linhagem XXX com IC50% (concentração que é capaz de matar 50% das células) foi determinada para estabelecer um índice de seletividade (SI) ( $SI = \frac{1}{4} \frac{IC50}{MIC}$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisados a citotoxicidade dos extratos hexânico, metanólico e aquoso de *Ilex paraguariensis* frente a linhagem J774 A.1 de macrófagos.

Diante dos resultados encontrados no presente estudo de atividade citotóxica *in vitro* com os extratos hexânico (IC50% = 835,18µg/mL), metanólico (IC50% = 153,01µg/mL) e aquoso (IC 50% = 1146, 52µg/mL) pode-se inferir que os extratos estudados de *Ilex paraguariensis* não demonstram atividade citotóxica em células normais. O extrato metanólico apresentou IC50% menor comparado ao extrato hexânico e, portanto, uma toxicidade maior. Porém, o extrato hexânico no qual demonstrou IC50% = 835,18µg/mL é o extrato no qual possui muitos compostos antimutagênicos associados.

Os dados encontrados por alguns autores demonstram que a *Ilex paraguariensis* apresentam atividade antitumoral. Em estudo ZAPATERINI et al (2012) relataram a atividade antitumoral do chá de *Ilex paraguariensis* *in vivo* sobre as células mamárias. Outro estudo realizado por DE MÍJIA et al (2010) demonstram a atividade antitumoral da *Ilex paraguariensis* contra células cancerígenas do cólon do útero. Assim sendo, os resultados encontrados pelo presente estudo corroboram para tais achados, pois a *Ilex paraguariensis* apresenta atividade antitumoral contra células malignas, mas não demonstra tal atividade à células benignas.

Isto pode ser explicado devido aos compostos bioativos dos extratos de *Ilex paraguariensis*. Testes pré- clínicos sugerem que os compostos antioxidantes podem ser responsáveis pela ação antimutagênica (KAEZER, 2008). Os estudos realizados por HECK ET AL (2007) demonstram que os constituintes fenólicos podem inibir a proliferação de câncer bucal.

Já os polifenóis são encontrados no extrato hexânico de *Ilex paraguariensis* (em média uma quantidade de 92 mg), tais como o ácido caféico e o clorogênico no qual é evidenciado como composto antimutagênico de *Ilex paraguariensis* (Dall'Orto, 2005). Além de outros numerosos fitoquímicos ativos identificados no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, entre eles, as xantinas (caféina e teobromina), os flavonóides (quercetina e kampferol), aminoácidos, minerais (P,

Fe, e Ca), e vitaminas (C, B1 e B2) (POMILIO et al., 2002; ZAPOROZHETS et al., 2004).

Diante dos resultados deste estudo e, devido aos elevados compostos presentes na *Ilex paraguariensis* já relatados, essa planta conduz a um caminho promissor e eficaz para pesquisas de novos medicamentos de atividade antitumoral.

#### 4. CONCLUSÕES

Os extratos hexânico, metanólico e aquoso de *Ilex paraguariensis* não apresentaram citotoxicidade frente a células macrófagos saudáveis. Assim sendo, estes extratos são possíveis candidatos à contribuir para o tratamento de doenças tumorais. Logo, mais estudos tornam-se necessários para avaliar a atividade dos extratos hexânico, metanólico e aquoso de *Ilex paraguariensis* frente a diferentes linhagens tumorais e averiguar a atividade apoptótica e citotóxica destes extratos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHAMED, S.A.; GOGAL, R.M.; WALSH, J.E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 170, p. 211-224, 1994.

ASOLINI, F.C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.. Antioxidant and antibacterial activities of phenolic compounds from extracts of plants used as tea. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, p. 209-215, 2006

BURRIS, K.P.; HARTE, F.M.; DAVIDSON, M.P.; STEWART, N.; ZIVANOVIC, S. Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis*. St.-Hil.): a review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 268-274, 2012.

DE MEJIA, E.G.; SONG, Y.S.; HECK, C. I.; RAMIREZ-MARES, M. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. **J. Funct. Foods**, v. 2, p. 23–34, 2010.

FAGUNDES, A.; DANGUY, L.B.; SCHMITT, V.; MAZUR, C.E. *Ilex paraguariensis*: compostos bioativos e propriedades nutricionais na saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 9, n. 53, p. 213-222, 2015.

HARVEY, A. L.; **Drug Discov. Today**, v. 13, p. 894, 2008.

HECK, C.I.; DE MEJIA, G.E. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J. Food Sci.**, v. 72, p. 138–151, 2007.

KAEZER A.R. Análise da mutagenicidade e antimutagenicidade da *Ilex paraguariensis* (erva-mate) e seu efeito sobre o metabolismo de carcinógenos no esôfago de ratos Wistar. 2008. 119p. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LUCKEMEYER, D.D.; MULLER, V.D.M.; MORITZ, M.I.G.; STOCO, P.H.; SCHENKEL, E.P.; BARADI, C.R.M.; REGINATTO, F.H.; SIMÕES, C.M.O. Effects

of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Yerba Mate) on Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 Replication. **Phytother**, v. 26, p. 535–540, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. TÍTULO **J. Nat. Prod**, v. 70, p. 461, 2007.

PERES, R.G.; TONIN, F.G.; TAVARES, M.F. RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. HPLC-DAD-ESI/MS Identification and quantification of phenolic compounds in *Ilex paraguariensis* beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity. **Molecules**, v. 18, p. 3859-3871, 2013.

POMILIO, A.B.; TRAJTEMBERG, S.; VITAE, A.A. High-performance capillary electrophoresis analysis of Mate infusions prepared from stems and leaves of *Ilex paraguariensis* using automated micellar electrokinetic capillary chromatography. **Phytochem Anal**, v. 13, p. 235–24, 2002.

PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M.A.; DE MEJIA, EG. Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) saponins induce caspase-3- dependent apoptosis in human colon cancer cells in vitro. **Food Chem**, v. 125, p. 1171–1178, 2011.

RAMIREZ-MARES, M.V.; CHANDRA, S.; DE MEJIA, EG. In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. **Mutat Res**, v. 554, p. 53–65, 2004

VECHIA L.D, GNOATTO S.C.B, GOSMANN G. Derivados oleanonos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. **Quim. Nova**, v. 32, n. 5, p: 1245-1252, 2009.

ZAPATERINI, J.R.; BIDINOTTO, L.T.; RODRIGUES, M.A.M.; BARBISAN, L.F.; Chemopreventive effects of mate against mouse mammary and colon carcinogenesis. Hum. **Exp. Toxicol.**, v. 29, p. 175–185, 2010.

ZAPOROZHETS, O.A.; KRUSHYNSKA, O.A.; LIPKOVSKA, N.A.; BARVINCHENK, V.N. A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products. J Agric **Food Chem**, v. 52, p. 21–25, 2004.