

## INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA E DA TOXICIDADE *IN VITRO* DE PRODUTOS NATURAIS

**HELENA PIÚMA GONÇALVES<sup>1</sup>; SILVIA DE OLIVEIRA HUBNER<sup>2</sup>; PEDRO SICA CRUZEIRO<sup>2</sup>; CRISTINE CIOATO DA SILVA<sup>2</sup>; SOLIANE CARRA PERERA<sup>2</sup>; MARLETE BRUM CLEFF<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – helena.piuma@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – silviaohubner@gmail.com; cruzeiropedro@hotmail.com; criscioato@hotmail.com; soliane.cp@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – marletecleff@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são amplamente estudados através do tempo, devido às suas propriedades terapêuticas e baixa toxicidade tecidual (SRIVASTAVA & SRIVASTAVA, 2019; VIANA et al., 2017). A pesquisa com plantas e seus derivados vem revelando moléculas promissoras, que interferem no crescimento e progressão do câncer (CRAGG & NEWMAN, 2018), e também na prevenção, através de interferência na evolução da carcinogênese (BOUZAIENE et al., 2015).

Extratos e óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae vem demonstrando potencial farmacológico, por apresentarem atividades antioxidant, antifúngica, antibacteriana, antiviral, antiparasitária, entre outras (CAPELA, 2017; CLEFF et al., 2010; GIORDANI 2017; GUTERRES, 2015; WALLER et al., 2017). Também, apresentam efeito citotóxico em linhagens celulares neoplásicas (ELANSARY & MAHMOUD, 2015; MOORE et al., 2016; PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018; SILVA, 2016). Compostos fitoquímicos originários das plantas constituem uma heterogênea classe com propriedades biológicas diversas (RUSSO et al., 2014), e vem sendo reconhecidos como agentes quimioterápicos devido ao efeito antiproliferativo demonstrado em células neoplásicas e às baixas toxicidades em células normais (SRIVASTAVA & SRIVASTAVA, 2019).

Assim como em humanos, é preocupante a elevada incidência de câncer em animais e o impacto mundial decorrente dessa doença. Os índices de câncer em animais de estimativa são semelhantes à ocorrência em seres humanos, sendo uma das principais causas de mortalidade em cães e gatos (GYLES, 2015; NATIONAL CANINE CANCER FOUNDATION, 2015). A quimioterapia é o método mais difundido para o tratamento do câncer em geral. No entanto, esta terapia induz efeitos colaterais, visto que não afeta somente as células neoplásicas, mas também as células normais do organismo (RZEPECKA-STOJKO et al., 2015; VIANA et al., 2017). A resistência tumoral à quimioterapia e os efeitos adversos decorrentes inspiram a busca por novas opções terapêuticas, mais eficazes e menos agressivas, frequentemente baseadas em moléculas naturais (CHUNG et al., 2004; RZEPECKA-STOJKO et al., 2015). Estima-se que 60% das drogas aprovadas para o tratamento do câncer são derivadas de produtos naturais (SAMPATH et al., 2018).

Conforme o exposto, é fundamental avaliar a atividade antitumoral e a toxicidade dos produtos vegetais, tendo em vista a futura aplicabilidade dos mesmos para o tratamento do câncer. Neste contexto, torna-se necessária a realização de testes de eficácia e segurança destes produtos, utilizando pesquisas *in vitro* e *in vivo* em conformidade com a legislação (BRASIL, 2004).

Portanto, o objetivo deste estudo será avaliar a atividade antineoplásica e citotóxica de extratos vegetais, óleos essenciais e compostos fitoquímicos isolados em diferentes linhagens celulares neoplásicas e em células somáticas,

assim como avaliar o efeito da associação destes produtos naturais entre si e com antineoplásicos comerciais.

## 2. METODOLOGIA

Os experimentos serão desenvolvidos no Laboratório de Virologia e Imunologia da Faculdade de Veterinária, e no Laboratório de Biotecnologia do Câncer, da Universidade Federal de Pelotas. Serão realizados testes de citotoxicidade *in vitro* de extratos vegetais, óleos essenciais e compostos fitoquímicos em células neoplásicas e em células normais. Em uma primeira etapa, serão estabelecidos os cultivos celulares das diferentes linhagens, para que posteriormente sejam realizadas os ensaios de citotoxicidade dos compostos, sendo o teste do MTT uma análise de triagem, que avalia a toxicidade dos compostos pela determinação da viabilidade celular, mensurada através da atividade mitocondrial (MOSMANN, 1983).

Os extratos vegetais, óleos essenciais e compostos fitoquímicos utilizados neste projeto serão previamente selecionados de acordo com sua atividade antineoplásica relatada na literatura científica, ou a partir de identificação química realizada em extratos vegetais, cujos efeitos já tenham sido estudados anteriormente pelo Grupo Fitopeet com resultados promissores. Os compostos fitoquímicos serão adquiridos comercialmente, enquanto que os extratos vegetais e óleos essenciais serão fornecidos pelo Laboratório de Produtos Naturais e Química Orgânica do centro de Ciências Químicas e Farmacêuticas - CCQFA da UFPel.

Após a realização de todas as etapas laboratoriais dos experimentos, os dados obtidos serão tabulados, submetidos a análise estatística, gerando resultados para a preparação de artigos científicos a serem submetidos a periódicos relacionados ao tema.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando a relevância e o impacto mundial do câncer, e as limitações dos tratamentos convencionais, estudos com novas moléculas com potencial antineoplásico são de extrema importância.

Estudos realizados pelo grupo Fitopeet constataram que os óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae apresentam atividade antiproliferativa *in vitro* em células de linhagem de melanoma B16F10 (SILVA, 2016). Em relação aos compostos fitoquímicos isolados, outro trabalho de pesquisa do grupo demonstrou resultados promissores, onde os compostos fitoquímicos isolados demonstraram alta ou moderada atividade citotóxica em células de melanoma B16F10, e baixa toxicidade para células de linhagem de rim bovino MDBK. Ainda, estes mesmos compostos demonstram efeito sinérgico com o quimioterápico comercial carboplatina (GONÇALVES, 2019). Estes compostos possuem atividade antitumoral em diferentes tipos celulares neoplásicos, relatadas por diversos outros autores (BOUZAIENE et al., 2015; CHUNG et al., 2004; FERRAZ et al., 2013; SAMPATH et al., 2018; SOBRAL et al., 2014; SRIVASTAVA & SRIVASTAVA, 2019).

Diante destes resultados satisfatórios, percebe-se que estes produtos naturais representam promissoras fontes de estudo para o desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos. Portanto, pretende-se dar sequência aos estudos com os produtos de origem natural, utilizando diferentes linhagens

celulares neoplásicas e não neoplásicas, através de diversas modalidades de análises e modelos experimentais.

#### 4. CONCLUSÕES

Este projeto busca comprovar a eficácia terapêutica *in vitro* de extratos vegetais e compostos fitoquímicos, e estabelecer suas concentrações tóxicas para células neoplásicas e para as células somáticas. Desta forma, pretende-se contribuir com o desenvolvimento de novas moléculas com atividade antineoplásica.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUZAIENE, N. N., JAZIRI, S. K., KOVACIC, H., CHEKIR-GHEDIRA, L., GHEDIRA, K., LUIS, J. The effects of caffeic, coumaric and ferulic acids on proliferation, superoxide production, adhesion and migration of human tumor cells *in vitro*. **European journal of pharmacology**, v. 766, p. 99-105, 2015.

CAPELLA, G. A. **Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais da família Lamiaceae contra parasitos do gênero Toxocara**. 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

CHUNG, T. W., MOON, S. K., CHANG, Y. C., KO, J. H., LEE, Y. C., CHO, G., KIM, C. H. Novel and therapeutic effect of caffeic acid on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 14, p. 1670-1681, 2004.

CLEFF, M. B., MEINERZ, A. R. M., FARIA, R. O. D., XAVIER, M. O., SANTIN, R., NASCENTE, P. D. S., MEIRELES, M. C. A. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1291-1294, 2010.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. **Natural Products as Sources of Anticancer Agents: Current Approaches and Perspectives**. In: *Natural Products as Source of Molecules with Therapeutic Potential*. Springer, Cham, 2018.

ELANSARY, H. O.; MAHMOUD, E. A. Egyptian herbal tea infusions' antioxidants and their antiproliferative and cytotoxic activities against cancer cells. **Natural product research**, v.29, n. 5, p. 474-479, 2015.

FERRAZ, R. P., BOMFIM, D. S., CARVALHO, N. C., SOARES, M. B., MACHADO, W. J., BEZERRA, D. P. Cytotoxic effect of leaf essential oil of *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae). **Phytomedicine**, v. 20, n. 7, p. 615-621, 2013.

GIORDANI, C. **Atividade antimicrobiana de extratos vegetais e toxicidade em modelos alternativos**. 2017. 152 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

GONÇALVES, H. P. **Determinação da atividade citotóxica in vitro de compostos fitoquímicos e associações em células MDBK e de melanoma (B16F10)**. 2019. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

GUTERRES, K. A. **Microrganismos de lesões cutâneas de pequenos animais**:

**Resistência a antimicrobianos e bioprospecção de extratos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae.** 2015. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

GYLES, Carlton. A new approach to cancer. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 56, n. 4, p. 321, 2015.

MOORE,J., YOUSEF, M., TSIANI, E. Anticancer effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract and rosemary extract polyphenols. **Nutrients**, v. 8, n. 11, p. 731, 2016.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. **Journal of Immunological Methods**, v.65, p.55-63, 1983.

NATIONAL CANINE CANCER FOUNDATION. Why Do Some Dogs Get Cancer More Than Others?. 2015. Disponível em: <<https://wearethecure.org/why-do-some-dogs-get-cancer-more-than-others/>> Acesso em: 25 de janeiro 2019, 10:40.

PÉREZ-SANCHEZ, A., BARRAJÓN-CATALÁN, E., RUÍZ-TORRES, V., AGULLÓ-CHAZARRA, L., HERRANZ-LOPEZ, M., MICOL, V. PO-025 Antiproliferative effects of rosemary (*rosmarinus officinalis*, L.) extract in colon cancer cells lines. **ESMO Open Cancer Horizons**, v. 3, n. 2, 2018.

RUSSO, G. L., RUSSO, M., SPAGNUOLO, C., TEDESCO, I., BIOTTO, S., IANNITTI, R., PALUMBO, R. Quercetin: a pleiotropic kinase inhibitor against cancer. **Advances in nutrition and cancer**. Springer, Berlin, Heidelberg. p. 185-205, 2014.

RZEPECKA-STOJKO, A., KABAŁA-DZIK, A., MOŹDZIERZ, A., KUBINA, R., WOJTYCZKA, R. D., STOJKO, R., STOJKO, J. Caffeic acid phenethyl ester and ethanol extract of propolis induce the complementary cytotoxic effect on triple-negative breast cancer cell lines. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 9242-9262, 2015.

SAMPATH, S., SUBRAMANI, S., JANARDHANAM, S., SUBRAMANI, P., YUVARAJ, A., CHELLAN, R. Bioactive compound 1, 8-Cineole selectively induces G2/M arrest in A431 cells through the upregulation of the p53 signaling pathway and molecular docking studies. **Phytomedicine**, 2018.

SILVA, C. C. **Estudo retrospectivo de melanomas cutâneos caninos e determinação da atividade citotóxica de produtos vegetais frente a células neoplásicas (B16F10) e não neoplásicas (MDBK)**. 2016. 90f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

SRIVASTAVA, N. S.; SRIVASTAVA, R. A. K. Curcumin and quercetin synergistically inhibit cancer cell proliferation in multiple cancer cells and modulate Wnt/β-catenin signaling and apoptotic pathways in A375 cells. **Phytomedicine**, v. 52, p. 117-128, 2019.

SOBRAL, M. V., XAVIER, A. L., LIMA, T. C., DE SOUSA, D. P. Antitumor activity of monoterpenes found in essential oils. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

VIANA, A. R., MARZARI, J., WERGUTZ, J., KRAUSE, L. M. F. Produtos bioativos na prevenção e no tratamento do câncer, em especial o melanoma. **Disciplinarum Scientia|Saúde**, v. 18, n. 3, p. 511-528, 2017.

WALLER, S. B., CLEFF, M. B., SERRA, E. F., SILVA, A. L., DOS REIS GOMES, A., DE MELLO, J. R. B., MEIRELES, M. C. A. Plants from Lamiaceae family as source of antifungal molecules in humane and veterinary medicine. **Microbial pathogenesis**, v. 104, p. 232-237, 2017.