



AValiação DO EFEITO ANTIPROLIFERATIVO DA *Krameria tomentosa* EM LINHAGENS CELULARES DE CâNCER: RESULTADOS PRELIMINARES

Luiza Martins Silveira ¹

Naiana Soares Corrêa ²

Alexandre de Barros Falcão Ferraz ³

Ivana Grivicich ⁴

Resumo

O câncer é um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo. Entre os tumores mais importantes estão carcinoma de mama, glioblastoma multiforme e carcinoma de ovário. Os tratamentos com quimioterapia e radioterapia nem sempre são eficazes, devido aos mecanismos de resistência que os tumores podem desenvolver. A busca por novos compostos anticâncer a partir de produtos naturais tem se mostrado promissora. A *Krameria tomentosa* é uma planta da família *Kramericeae* utilizada na medicina popular para tratamento de inflamações, câncer, hipertensão e hemorragias. Considerando que há poucos relatos sobre a *Krameria tomentosa* na literatura, este projeto tem como objetivo investigar e avaliar o efeito antiproliferativo de um produto (KT4) obtido da raiz da *Krameria tomentosa* em linhagens celulares de câncer humano. Para isto, as linhagens celulares de glioblastoma multiforme U251, carcinoma de ovário OVCAR-3, carcinoma de mama MCF-7 e fibroblasto normal NHI-3T3 foram expostas ao composto KT4 por 72 h e o efeito antiproliferativo foi avaliado pelo ensaio de Sulforodamina B. Os resultados mostraram que composto KT4 tem atividade antiproliferativa em todas as linhagens estudadas este efeito é maior na linhagem MCF-7.

Palavras-chave: *Krameria tomentosa*; antiproliferativo, lignana. câncer

1 Acadêmica do Ensino Médio – Bolsista Iniciação Científica Júnior CNPq – silveiraluiza360@gmail.com

2 Aluna de Mestrado do PPPGBIOSAÚDE – Bolsista CAPES/PROSUP - naybiomedicina@gmail.com

3 Professor do curso de Farmácia e do PPGGBIOSAÚDE – alexandre.ferraz@terra.com.br

4 Professor do curso de Medicina e do PPGGBIOSAÚDE – grivicich@terra.com.br

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença multifatorial, que ocorre por alterações em células normais elevando ao um crescimento desordenado e invasão de outros tecidos ou órgãos (FIDELI, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017; INCA, 2018). É a segunda causa de morte em todo o mundo, sendo responsável por mais de 8 milhões de mortes em 2015. Entre os tumores mais importantes estão câncer de mama (28,1%), glioblastoma multiforme (15%), câncer de ovário (3%) (INCA, 2018).

Os glioblastomas multiformes (GBM) são tumores que surgem de astrócitos e representam 14,9% de todos os tumores cerebrais primários e 56,1% de todos os gliomas. Para o Brasil, estima-se para o ano de 2018, 5.810 novos casos em homens e 5.510 em mulheres, sendo o oitavo mais frequente em homens e o sexto mais frequente para mulheres na região Sul (BRAIN TUMOR ASSOCIATION, 2018; INCA, 2018). O carcinoma de ovário é um tumor ginecológico menos frequente e mais difícil de ser diagnosticado. Grande parte dos cânceres nesse órgão se apresenta em estágio avançado no momento do diagnóstico (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017; INCA, 2018). Para o Brasil, estima-se 6.150 novos casos de câncer do ovário, para o ano de 2018. Nas regiões Centro-Oeste, Nordeste e Norte é o sétimo mais incidente e nas regiões Sul e Sudeste é o oitavo (INCA, 2018). O carcinoma de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres e o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo (RODRIGUES; SILVA; CARDOSO, 2016). No Brasil, estimam-se 59.700 novos casos de câncer de mama, para cada ano do biênio 2018-2019, é o primeiro mais frequente nas mulheres das Regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste já na Região Norte, é o segundo tumor mais incidente (INCA, 2018).

Os agentes antineoplásicos têm sido bastante utilizados no tratamento adjuvante ou paliativo das neoplasias malignas. A quimioterapia atinge agressivamente todas as células do organismo, produzindo assim efeitos adversos, que estão diretamente relacionados ao estado do paciente, ao estadiamento da doença e também das drogas que são utilizadas (SOARES; NEVES, 2009). A quimioterapia nem sempre é eficaz, devido aos mecanismos de resistência que podem limitar o efeito do tratamento (PENNOCK; CHOW, 2015).

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento pela procura de tratamentos que possam ser "alternativos e/ou complementares" para o câncer (OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014). A pesquisa de medicamentos anticancerígenos a partir de plantas medicinais tem se mostrado promissora. Entre os medicamentos já utilizados derivados de produtos naturais temos a vinblastina e vincristina que foram isolados das folhas da

Catharanthus roseus; além do etoposideo e teniposideo, derivados semi-sintéticos extraído da raiz da planta *Podophyllum peltatum* (CRAGG; NEWMAN, 2013).

A família Krameriaceae inclui um único gênero, *Krameria*. Na medicina popular mexicana, as raízes de algumas das espécies deste gênero têm sido utilizadas como antidiarreico, antibacteriano e anti-inflamatório (RAMÍREZ-CISNEROS et al., 2012; CAPISTRANO; LOIOLA, 2015). Tem sido relatado que a família Krameriaceae possui entre os seus compostos químicos diferentes tipos de lignanas e neolignanas, sendo o gênero *Krameria* rico em lignóides (MADEIRO et al., 2012; JIMÉNEZ-ESTRADA et al., 2013; dos SANTOS, 2016). As lignanas têm uma longa história de uso medicinal, os primeiros registros com mais de 1000 anos, relatam o uso de uma pomada com as raízes de cerefólio selvagem (*Anthriscus sylvestris* L.- Apiaceae) para tratar câncer (IONKOVA, 2011). Para a espécie *K. erecta* foi relatado a presença de compostos fenólicos como lignanas e taninos, com diversas atividades biológicas, como efeito antioxidante, hepatoprotetor e anti-inflamatório (ACHENBACH et al., 1996; TORRES-GONZÁLES et al., 2011). Outro estudo com *K. erecta* demonstrou atividades antiproliferativa e antioxidante, o que torna esta espécie um candidato promissor para futuras pesquisas (JIMÉNEZ-ESTRADA et al., 2013). A *K. tomentosa*, é uma planta de arbusto ereto, nativa e não endêmica do Brasil. No Piauí, sua raiz vem sendo utilizada popularmente na forma de tintura ou garrafada para tratar inflamações, câncer, hipertensão e hemorragias. (CARINI et al., 2002; SILVA, 2010; SIMPSON, 2017).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito antiproliferativo do composto KT4 isolado da planta *K. tomentosa* em linhagens celulares de câncer humano.

METODOLOGIA

O isolamento do composto KT4 foi realizado no laboratório de Fitoquímica e Farmacognosia de ULBRA.

Os ensaios antiproliferativos foram realizados no Laboratório de Biologia do Câncer da ULBRA. Foram utilizadas as linhagens de células derivadas de tumores humanos, glioblastoma humano (U-251), carcinoma de ovário (OVCAR-3), carcinoma de mama (MCF-7) adquiridas do *American Type Culture Collection* (Manassas, Virgínia, EUA) e a linhagem celular de fibroblasto normal de ratos (3T3) adquirida do banco de células do Rio de Janeiro (UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As células foram mantidas em meios de cultura RPMI 1640 ou DMEM contendo 2% de glutamina (p/v) e 10% de soro fetal bovino (v/v), à temperatura de 37°C, em atmosfera de 5% de CO₂ e 95% de umidade.

Inicialmente, as linhagens celulares foram tratadas com concentrações variando de 0 – 100 µg/mL por 72 h. O antineoplásico etoposídeo foi utilizado como controle positivo. Após tratamento, as culturas foram fixadas com ácido tricloroacético e avaliadas utilizando o ensaio colorimétrico de Sulforodamida B (SRB) (SKEHAN et al., 1990). A SRB solubilizada foi acessada colorimetricamente utilizando um leitor de microplacas (Multiskan Uniscence) em comprimento de onda de 540 nm. A partir deste ensaio os valores de IC₅₀ (quantidade de fármaco necessária para inibir 50% do crescimento celular) foram determinados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o composto KT4 apresentou efeito antiproliferativo em todas as linhagens celulares avaliadas (Tabela 1). O KT4 apresentou um efeito maior na linhagem celular MCF-7, representado pelo menor valor de IC₅₀. Vale ressaltar, que as concentrações de KT4 para inibir 50% do crescimento celular são semelhantes as concentrações do antineoplásico etoposídeo.

Tabela 1. Valores de IC₅₀ (média ± desvio padrão; n = 6) do composto KT4 nas linhagens celulares de glioblastoma humano U-251MG, adenocarcinoma de ovário OVCAR-3 e adenocarcinoma mama MCF-7 após tratamento por 72 h.

	U-251	OVCAR-3	MCF-7	NHI-3T3
Composto KT4	8,5 ± 0,8*	8,0 ± 1,0*	5,9 ± 1,7	7,5 ± 0,2*
Etoposídeo	5,9 ± 1,0	10,3 ± 2,1	3,5 ± 0,8	22,5 ± 2,5

*Estatisticamente diferente de MCF-7 (Anova; p < 0,05).

Sabe-se que o KT4 contém neolignanas. O papel biológico das lignanas nos vegetais ainda não é completamente conhecido, mas acredita-se que esteja relacionado com a defesa dos mesmos e na regulação do seu crescimento. Dentre as atividades atribuídas a estes compostos, destacam-se as atividades antiviral, antifúngica, imunossupressora, antiasmática, antioxidante e citotóxica (KITAMURA;HIROKAWA; MAEZAKI, 2009). Parece ser o caso do nosso composto que demonstrou importante atividade antiproliferativa em linhagens de cânceres humano. Atividade semelhante ao antineoplásico etoposídeo, uma lignana ariltetralínica (KING; SULIVAN, 1946).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quanto à atividade antiproliferativa, pode-se observar que o composto isolado KT4, apresentou maior efeito na linhagem MCF-7. Estão em andamento avaliação inibição da migração celular e dano oxidativo induzido pelo composto.

REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, H. Lignans and neolignans from *Krameria parvifolia*. **Phytochemistry**. v.43 n.5 p.1093-1095, 1996.
- CAPISTRANO, S. H. B.; LOIOLA, M. I. B. Flora do Ceará, Brasil: Krameriaceae. **Rodriguésia**. v.66 n.3 p.905-912, 2015.
- CARINI, M.; et al. Antioxidant and Photoprotective Activity of a Lipophilic Extract Containing Neolignans from *Krameria triandra* Roots. **Planta Medica**. v.68, n.3 p.193-97, 2002.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**. v.1830 n.6 p.3670-3695, 2013.
- DOS SANTOS, E.C.S. **Investigação do Potencial Tóxico do Extrato Etanólico de *Kraméria tomentosa* a. st. hill sobre o Sistema Reprodutor de Ratos e Ratas e suas Proles**. 2016. f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.
- FIDELI, R.C. **Câncer Bucal: Fatores de risco e programas de prevenção**. 2010. 42 f. Monografia (Especialização) - Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Gestão em Saúde Pública, Faculdades ITECNE de Cascavel, Curitiba, 2010.
- INCA – INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/>
- IONKOVA, I. Anticancer Lignans - from Discovery to Biotechnology. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. v.11, n.10, p.843-856, 2011.
- JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; et al. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v.13, n.1, p.1-8,2013.
- KING ML, SULLIVAN MM. The Similarity of the Effect of Podophyllin and Colchicine and Their Use in the Treatment of Condylomata Acuminata. **Science**. v. 13, p. 244-245, 1946.
- KITAMURA, M.; HIROKAWA, Y.; MAEZAKI, N. Asymmetric [2,3]-wittig rearrangement of oxygenated allyl benzyl ethers in the presence of a chiral di-tBu-bis(oxazoline) ligand: a novel synthetic approach to THF lignans. **Chemistry**. V. 15, p. 9911-9917, 2009.
- MADEIRO, S. A.; et al. New neolignans from *Krameria tomentosa* A. St. -Hil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.23 n.11 p.2021-2026, 2012.
- NATIONAL CANCER INSTITUTE. - Cancer Stat Facts Disponível em:

<http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=43130>

OLIVEIRA, L. A. R.; MACHADO, R. D.; RODRIGUES, A. J. L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticancer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p.32-40, 2014.

RAMÍREZ-CISNEROS, M. et al. Phytochemical Study and Anti-inflammatory, Antidiabetic and Free Radical Scavenger Evaluations of *Krameria pauciflora* Methanol Extract. **Molecules**. v.17 n.12 p.861-872, 2012.

RODRIGUES, J. C. J; SILVA, L. C. F; CARDOSO, R. A. Breast cancer: from diagnosis to treatment. **Revista Master, Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 1, n. 1, p.48-56, 2016.

SILVA, M. P. **Etnobotânica de Comunidades Rurais da Serra Campo Maior –Piauí, Brasil**. 2010. 174 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Piauí; Teresina, 2010.

SIMPSON, B. *Krameriaceae*. in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8094>

SKEHAN, P.; et al. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. **Journal of the National Cancer Institute**. v.82, n.13, p.1107-1112, 1990.

TORRES-GONZÁLES, L. et al. Protective effect of four Mexican plants against CCl₄ - induced damage on the Huh7 human hepatoma cell line. **Annals of Hepatology**. v.10 n.1 p.73-79, 2011.