



CITOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *Chrysobalanus icaco* EM CÉLULAS DE CARCINOMA COLORRETAL HCT-116

Filipe de Santana Othmar¹

filipe.othmar@upe.br

Luiza Rayanna Amorim de Lima¹

luiza.amorim@upe.br

Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque²

priscilla.albuquerque@upe.br

Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues¹

natalie.rodrigues@upe.br

¹Universidade de Pernambuco – Campus Garanhuns

²Universidade de Pernambuco – Instituto de Ciências Biológicas (ICB)

INTRODUÇÃO

O câncer abrange uma variedade de condições médicas e clínicas caracterizadas pela rápida e desorganizada divisão celular, as quais culminam com formação de células anormais e a promoção de um microambiente adequado à preservação e promoção do crescimento e desenvolvimento tumoral (Khan *et al.*, 2019). As células anormais podem se espalhar não apenas para os tecidos circundantes, mas também sofrer metástase e invadir órgãos distintos, causando consequências sistêmicas e, na maioria das vezes, levando à morte (Pacal *et al.*, 2020).

O câncer colorretal é um tipo de câncer grave, com alta incidência e mortalidade, e ocupando a quinta posição no Brasil e representando 10% da incidência global (Stewart *et al.*, 2014). As opções atuais de tratamento, cirurgia, radioterapia e quimioterapia, são eficazes em estágios iniciais, mas geralmente são ineficazes em casos avançados e metastáticos e podem causar efeitos colaterais graves. Portanto, é urgente buscar novas estratégias terapêuticas (Kozovska *et al.*, 2014).

Nesse sentido, as plantas se apresentam como fontes de novos compostos químicos, biologicamente ativos, de interesses científicos e comerciais consideráveis na área de produção de fármacos promissores, inovadores e de alta eficiência (Lahlou, 2013). A partir disso, a *Chrysobalanus icaco*, também conhecida como guajuru, guajiru ou ajuru, é amplamente utilizada na medicina popular para tratamento de diabetes, diarreia e inflamações. A análise fitoquímica de extratos dessa planta revelou a presença de flavonóides e terpenos a citar a rutina, quercitrina e miricitrina em suas folhas e frutos (Araújo-Filho *et al.*, 2016; Ribeiro *et al.*, 2020).

Um estudo realizado por Kamran *et al.* (2022) evidenciou o potencial anticâncer dos terpenos. Os autores relataram que esses metabólitos secundários foram capazes de levar a supressão do estágio inicial de tumorigênese por meio da indução da parada do ciclo celular, através da inibição da diferenciação de células cancerígenas e ativação da apoptose. Portanto, devido à demanda por novas formas de tratamento para o câncer colorretal e à interferência potencial de metabólitos secundários de plantas no microambiente do tumor, este projeto se propôs a analisar a citotoxicidade do extrato aquoso das folhas de *C. icaco* frente à cultura *in vitro* de células de carcinoma de cólon HCT-116.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a produção do extrato aquoso, as folhas de *C. icaco* foram coletadas no estado de Pernambuco. As folhas foram secas em estufa de ar circulante à temperatura de 45 ± 2 °C e, em seguida, moídas. Para a obtenção do extrato, a matéria-prima vegetal foi submetida à decocção (10:100, m/v) usando água destilada como solvente extrator. Em seguida, o EAFCi foi filtrado e concentrado em liofilizador (-80°C e 4,58 mmHg).

Concomitantemente, a linhagem celular de carcinoma colorretal (HCT-116) foi obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e mantida no Laboratório de Biologia Celular da UPE Campus Garanhuns. As células foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640 suplementado com 10% de soro



fetal bovino, glutamina (2 mM), estreptomicina (100 mg/mL) e penicilina (100 U/mL). As células foram mantidas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C em incubadora Multigás (série MCO).

Por fim, para o experimento, as células de câncer de cólon HCT-116 foram semeadas em placas de 96 poços (1,0 × 10⁴ células/poço) por 24h. Após isso, o extrato aquoso da *C. icaco* foi dissolvido e diluído em solução salina tampão fosfato (PBS) a 0,1 M, e incubado nas células por 72 horas nas concentrações de 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/mL, estipuladas através de referenciais bibliográficos. Serviram como controles negativos o PBS 0,1 M (veículo) e positivo o DMSO 10%.

A morte das células neoplásicas foi quantificada através da habilidade das mesmas em reduzir o corante amarelo brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) em azul de formazan, através da atividade da enzima succinildesidrogenase presente nas mitocôndrias das células viáveis. Para isto, após 72h da incubação do extrato, a quantidade de 20 µL do reagente MTT (concentração final de 5 mg/mL) será adicionada em todos os poços e as placas serão incubadas por 3h a 37°C e, em seguida, será adicionado 130 µL de Triton X-100 a 10%, para que o produto da redução do MTT seja dissolvido e sua Densidade Óptica (DO) quantificada em leitor de microplaca a 490 nm.

O IC₅₀ (concentração do extrato necessária para inibir a viabilidade celular de 50% das células neoplásicas) foi calculado utilizando análise de ajuste não-linear, plotando diferentes concentrações logarítmicas do composto no eixo X e a DO de células HCT-116 no eixo Y.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento do extrato aquoso das folhas de *Chrysobalanys icaco* nas células da linhagem de carcinoma colorretal HCT-116, a partir do ensaio de MTT, nas concentrações de 0,0625 a 4 mg/mL por 72h, apresentou uma atividade citotóxica significativa de forma dose-dependente. Os resultados mostraram uma redução de 100% da viabilidade celular nas doses mais altas, de forma que o valor do IC₅₀ foi igual a 0,62 mg/mL (Gráfico 1).

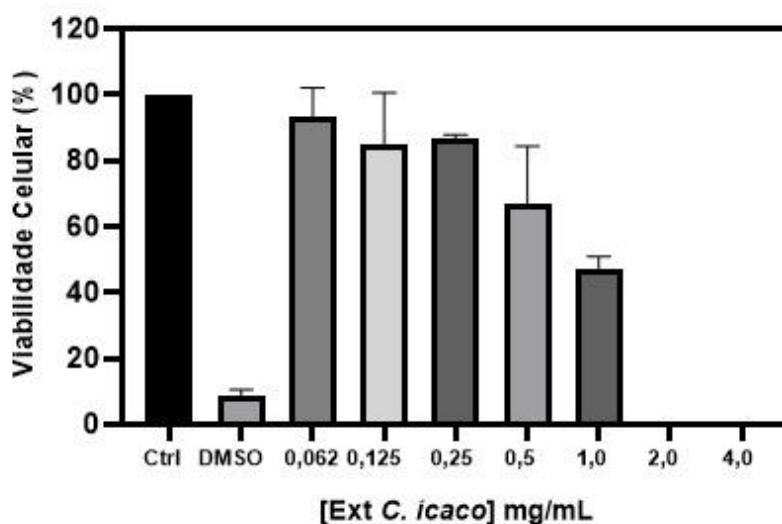


Gráfico 1: Citotoxicidade do extrato aquoso de *Chrysobalanus icaco* frente às células de linfoma carcinoma colorretal (HCT-116) depois de 72h, nas concentrações indicadas. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão de três experimentos independentes.

Similarmente, alguns estudos exploraram a citotoxicidade de espécies da família Chrysobalanaceae, incluindo a fração de CH₂Cl₂ das folhas de *Licania tomentosa*, que inibiu o crescimento de células de leucemia K562 de forma dose-dependente, o extrato da raiz de *Licania michauxii*, que apresentou citotoxicidade contra hepatoma humano (Hep G2) e carcinoma de cólon (Caco-2) e diterpenos ent-caurano isolados da raiz de *Parinari curatellifolia* que mostraram citotoxicidade contra várias linhas celulares de câncer, incluindo a de carcinoma ductal de mama (ZR-71-1) (Fernandes *et al.*, 2003; Badisa *et al.*, 2000; Shamon *et al.*, 1996).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise da citotoxicidade do extrato aquoso das folhas de *Chrysobalanus icaco* frente à cultura de células de carcinoma de cólon HCT-116 revelou uma atividade citotóxica significativa e dose-dependente. O extrato demonstrou uma redução de 100% da viabilidade celular nas concentrações mais altas testadas, com um IC₅₀ determinado em 0,62 mg/mL. Estes resultados sugerem que os componentes bioativos presentes no extrato aquoso de *C. icaco* possuem um potencial promissor como agentes terapêuticos no tratamento do câncer colorretal. Apesar disso, estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos específicos de ação e para avaliar a segurança e eficácia em modelos pré-clínicos e clínicos.

PALAVRAS-CHAVE: Chrysobalanaceae. MTT. Câncer.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UPE, à FACEPE e ao CNPq pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Referências

- ARAÚJO-FILHO, H.G. *et al.* Phytochemical screening and analgesic profile of the lyophilized aqueous extract obtained from *Chrysobalanus icaco* leaves in experimental protocols. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n.12, p. 3055-3062, 2016.
- BADISA, R. B. *et al.* *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and colon carcinoma cell lines. **Cancer letters**, v. 149, n. 1-2, p. 61-68, 2000.
- FERNANDES, J. *et al.* Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. **Cancer letters**, v. 190, n. 2, p. 165-169, 2003.
- KAMRAN, S. *et al.* Therapeutic Potential of Certain Terpenoids as Anticancer Agents: A Scoping Review. **Cancers**, v. 14, n. 5, p. 1100, 2022.
- KHAN, T. *et al.* Polysaccharides as potential anticancer agents - A review of their progress. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, p. 412-428, 2019.
- KOZOVSKA, Z. *et al.* Colon cancer: cancer stem cells markers, drug resistance and treatment. **Biomed Pharmacother**, v. 68, n.8, p. 911-916, 2014.
- LAHLOU, M. The success of natural products in drug discovery. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 4, n. 3, p. 17-31, 2013.
- PACAL, I. *et al.* A comprehensive review of deep learning in colon cancer. **Computers in biology and medicine**, v. 126, n. 104003, 2020.
- RIBEIRO, N.E. *et al.* Acute and repeated dose 28-day oral toxicity of *Chrysobalanus icaco* L. leaf aqueous extract. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 113, n. 104643, 2020.
- SHAMON, L. A. *et al.* Cell-cycle specific cytotoxicity mediated by rearranged ent-kaurene diterpenoids isolated from *Parinari curatellifolia*. **Chemico-Biological Interactions**, v. 99, n. 1-3, p. 193-204, 1996.
- STEWART, B.W; WILD, C.P. World Cancer Report 2014. **International Agency for Research on Cancer**, 2014.