

Potencial anticancerígeno do extrato hexânico de *Piper alatipetiolatum* sobre células de carcinoma mamário e hepatocelular

Renata Galvão de Azevedo; Universidade Federal do Amazonas; renata.azevedo@ufam.edu.br;
André Correa de Oliveira; Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas;
Alice de Freitas Gomes; Universidade Federal do Amazonas;
Flávia Juliana Reis de Sousa; Universidade do Estado do Amazonas;
Juan Campos de Oliveira; Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas;
Larissa Raquel Silva Maciel; Universidade Federal do Amazonas;
Rita de Cássia Saraiva Nunomura; Instituição;
Gemilson Soares Pontes; Instituto Nacional de Pesquisa do Amazonas;

1. Introdução

O câncer é um grande problema global, sendo uma doença complexa e multifacetada que afetam milhões de pessoas em todo o mundo.(1,2). Embora os avanços médicos nas opções de tratamento tenham sido significativos, os altos custos e a resistência terapêutica representam desafios contínuos.

Nesse contexto, a busca por novos fármacos de origem natural, especialmente na rica biodiversidade amazônica, tem ganhado destaque. Isso se deve ao fato de que compostos naturais, com suas propriedades terapêuticas únicas, podem servir como base para o desenvolvimento de novas formulações com perfis de segurança otimizados(3).

O gênero *Piper*, pertencente à família Piperaceae, apresenta uma grande diversidade de espécies, amplamente utilizadas em diferentes culturas devido às suas propriedades medicinais, culinárias e ornamentais.(5) Os compostos químicos sesquiterpenos, encontrados no óleo essencial de *Piper alatipetiolatum*, são considerados raros e têm sido detectados predominantemente em plantas dos gêneros *Piper*, *Peperomia* e *Aristolochia*. Entre eles, destaca-se a ishwarona, associada a uma ampla gama de atividades biológicas, muitas ainda pouco exploradas, incluindo o potencial anticancerígeno.(6).

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial citotóxico de uma fração derivada de *P. alatipetiolatum*, uma planta da flora amazônica, contra linhagens celular do câncer de mama triplo negativo e câncer hepático.

2. Material e Métodos

Para preparação do extrato, folhas secas de *P. alatipetiolatum* foram maceradas com metanol, e o extrato bruto resultante foi submetido à partição líquido-líquido usando solventes de polaridade crescente. Esse processo produziu hexano, diclorometano, acetato de etila e frações aquosas.(7)

A proliferação celular foi medida por ensaio de Metiltiazolotrazolium (MTT). Em resumo, as linhagens celulares: Vero, células epiteliais renais de *Cercopithecus aethiops*, MDA-MB231 (câncer de mama triplo negativo) e HuH-7 (carcinoma hepatocelular humano) (1×10^5 células/poço) e as primárias células mononucleares de sangue periférico PBMC (5×10^5 células/poço) foram cultivadas em placas de cultura de 96 poços e tratadas com concentrações variando de 3 a 100 µg/mL de compostos naturais. Meio de cultura foi utilizado como controle negativo, enquanto DMSO 100% foram utilizados como controle positivo do teste. As placas foram incubadas por 24, 48 e 72 h a 37°C. Após o período de incubação, foi adicionado 10 µL nos poços de uma solução de MTT 5 mg/mL e incubado a 37°C durante 4 h. A reação foi interrompida utilizando 100 µL de DMSO 100%. O crescimento celular foi avaliado por meio da absorbância através de espectrofotometria utilizando um filtro de

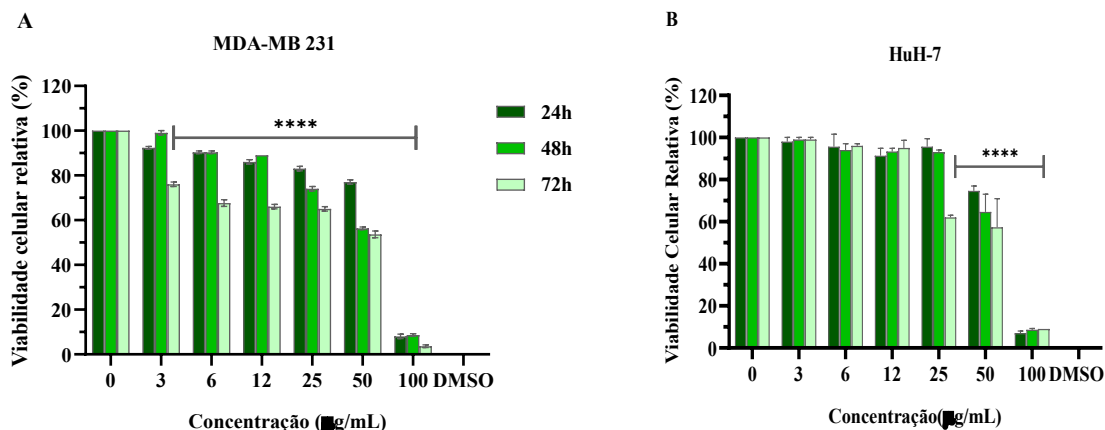
comprimento de onda de 570 nm. A viabilidade celular relativa das células foi estimada usando a seguinte equação: (absorbância óptica A570 da amostra tratada) / (A570 da amostra não tratada) $\times$ 100. Todos os testes foram feitos em triplicata.(8)

Amostras de sangue periférico foram coletadas de doadores saudáveis, mediante a assinatura do TCLE, conforme parecer número 3.138.343 do projeto aprovado pelo comitê de ética. As células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram isoladas por meio de centrifugação gradiente de densidade utilizando Ficoll-Hypaque (GE Healthcare). Os dados obtidos foram analisados por meio do software GraphPad Prism (v.8.0). Todas as variáveis numéricas foram expressas por média $\pm$ desvio padrão. Teste ANOVA foram utilizados para avaliar citotoxicidade dos compostos testados. Para análise de PBMCs foi utilizado teste One Way ANOVA. Valores de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. Resultados e Discussão

A fração hexânica de *P. alatipetiolatum* exibiu citotoxicidade seletiva contra as linhagens cancerígenas testadas, com efeito reduzido em células não-cancerígenas. O extrato reduziu significativamente a viabilidade das linhagens MDA-MB-231 (câncer de mama) e HuH-7 (câncer de fígado). A maior redução percentual (96) % foi observada na linhagem MDA-MB-231 após 72 horas de tratamento ($p < 0,0001$) conforme ilustrado na Figura 1A. No entanto, a linhagem HuH-7 demonstrou maior sensibilidade a ação do extrato, exibindo menor IC₅₀ (38,28 μ g/mL), conforme demonstrado na Figura 1D. A toxicidade para as linhagens não tumorais (Vero e PBMC) foi significativa apenas nas maiores concentrações, mas com menor redução da viabilidade em comparação com as células cancerosas (Figuras 2A e 2B). Esse dado evidencia a seletividade da atividade citotóxica do extrato, um critério importante para explorar farmacologicamente o potencial anticancerígeno de produtos naturais.

Os achados com *P. alatipetiolatum* estão em consonância com a vasta literatura que descreve a atividade citotóxica de outras espécies do gênero *Piper*. Por exemplo, o extrato de *P. sarmentosum* também mostrou sua capacidade de inibir o crescimento de células tumorais.(9) Além disso, *P. nigrum*, a espécie mais conhecida do gênero, é amplamente estudada por seu principal alcaloide, a piperina, que já demonstrou ter atividade anticancerígena, anti-inflamatória e antioxidante.(5) A presença de compostos apolares, como a piperina e outros alcaloides, na fração hexânica, é possivelmente responsável pela atividade observada, o que justifica a necessidade de estudos futuros para o isolamento e identificação dos compostos bioativos, bem como a elucidação do mecanismo de ação celular.(10)



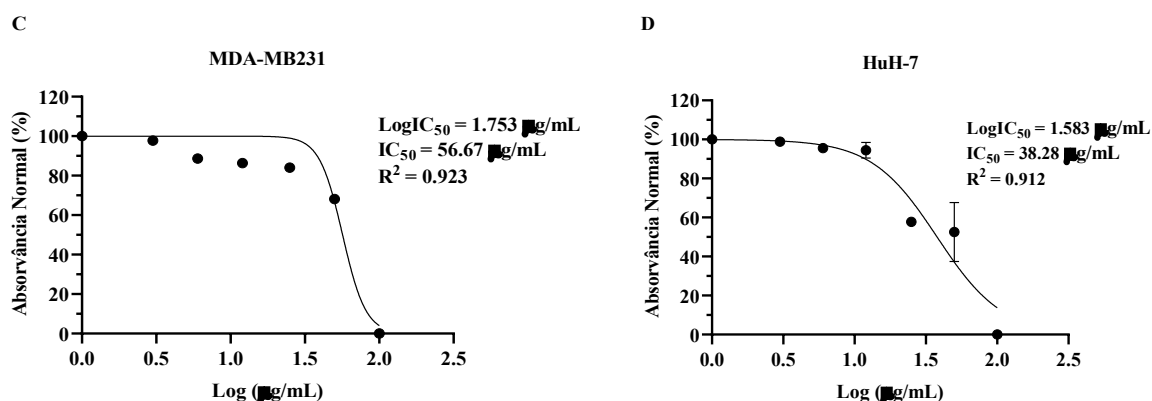


Figura – 1: Atividade citotóxica da fração hexânica de *P. alatifoliatum* em células cancerígenas. Viabilidade celular após tratamento em concentrações de (3-100 µg/mL) em cinética de 24, 48 e 72 h. MDA-MB231(A) HUH7 (B). Resultado de IC₅₀ em 72 h, por regressão não linear, MDA-MB31 (C) e HUH-7 (D). A significância estatística foi representada por asteriscos **** $p < 0,0001$.

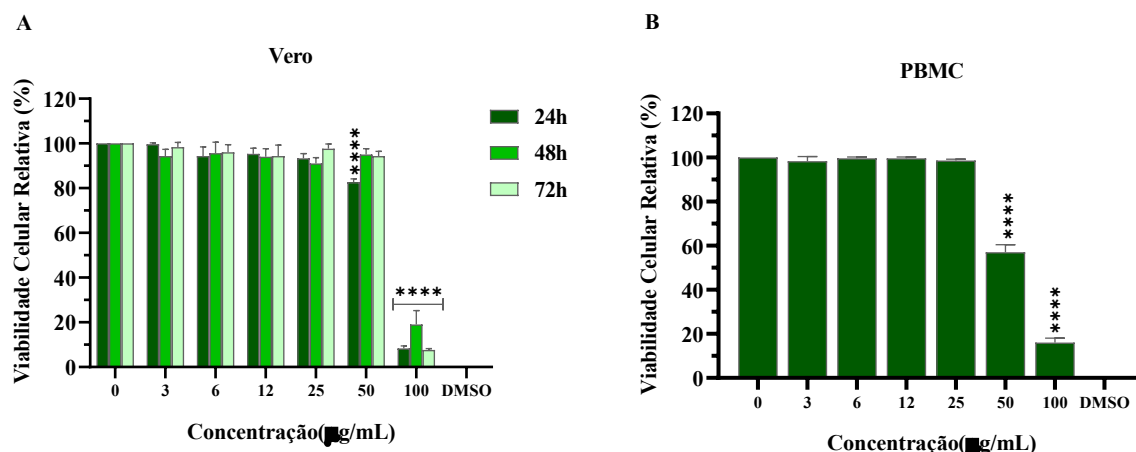


Figura – 2: Atividade citotóxica da fração hexânica de *P. alatifoliatum* em células não cancerígenas. Viabilidade celular após tratamento em concentrações de (3-100 µg/mL) em cinética de 24, 48 e 72 h. Vero (A) e PBMC (B). A significância estatística foi representada por asteriscos **** $p < 0,0001$.

4. Conclusões

A seletiva atividade anticancerígena da fração hexânica de *P. alatifoliatum* observada nesse estudo evidencia o vasto potencial farmacológico do gênero *Piper*. Os achados deste estudo são inéditos e sugerem que a planta é uma promissora fonte para ser explorada farmacologicamente como fonte novos agentes anticancerígenos. Estudos adicionais são essenciais para isolar e caracterizar os compostos bioativos do extrato, assim como investigar seus mecanismos de ação.

Palavras-Chave: Bioprospecção; Anticâncer; Compostos Naturais.

Divulgação

Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, o Congresso Pan-Amazônico de Oncologia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação deste resumo, por meio eletrônico.

Referências

1. Hwang SY, Danpanichkul P, Agopian V, Mehta N, Parikh ND, Abou-Alfa GK, et al. Hepatocellular carcinoma: updates on epidemiology, surveillance, diagnosis and treatment. *Clin Mol Hepatol*. 28 de fevereiro de 2025;31(Suppl):S228–54.
2. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduct Target Ther*. 19 de fevereiro de 2025;10(1):49.
3. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Vol. 83, *Journal of Natural Products*. American Chemical Society; 2020. p. 770–803.
4. Luís W, Leite O, Alves De Oliveira Filho A. Avaliação farmacológica de produtos naturais no combate ao câncer drug evaluation of natural products in the fight against cancer. *Revista Interdisciplinar em Saúde, Cajazeiras*. 2014;1(2):192–211.
5. Woon CK, Ahmad FB, Zamakshshari NH. Chemical Constituents and Biological Activities of Piper as Anticancer Agents: A Review. *Chem Biodivers*. 11 de setembro de 2023;20(9).
6. de Araujo CA, da Camara CAG, de Moraes MM, de Vasconcelos GJN, Pereira MRS, Zartman CE. Chemical Compositions of Essential Oil of Piper Species from Atlantic Forest of Amazonia, Brazil. *Records of Natural Products*. 6 de junho de 2019;13(4):324–32.
7. Santos CLG, Neves KOG, Silva-Filho FA, Lima BR, Costa E V., Souza ADL de, et al. LC-MS guided isolation of N, β -glucopyranosyl vincosamide and other compounds from the curare ingredient *Strychnos peckii*. *Frontiers in Natural Products*. 10 de agosto de 2023;2.
8. de Castro Alves CE, Bogza SL, Bohdan N, Rozhenko AB, de Freitas Gomes A, de Oliveira RC, et al. Pharmacological assessment of the antineoplastic and immunomodulatory properties of a new spiroindolone derivative (7',8'-Dimethoxy-1',3'-dimethyl-1,2,3',4'-tetrahydrospiro[indole-3,5'-pyrazolo[3,4-c]isoquinolin]-2-one) in chronic myeloid leukemia. *Invest New Drugs*. outubro de 2023;41(5):629–37.
9. Sun X, Chen W, Dai W, Xin H, Rahmand K, Wang Y, et al. Piper sarmentosum Roxb.: A review on its botany, traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*. dezembro de 2020;263:112897.
10. Mitra S, Biswas P, Bandyopadhyay A, Gadekar VS, Gopalakrishnan AV, Kumar M, et al. Piperlongumine: the amazing amide alkaloid from Piper in the treatment of breast cancer. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 13 de maio de 2024;397(5):2637–50.