

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE EXTRATOS DA PLANTA
ALOYSIA GRATISSIMA (GILLIES & HOOK.) TRONC. EM LINHAGENS DE
GLIOBLASTOMA**

**ARIÉLY LENCINA DE FARIAS^{1,2*}, NESSANA DARTORA^{2,4}, LAUREN LÚCIA
ZAMIN^{2,3}**

Introdução

Os gliomas são tumores primários do Sistema Nervoso Central (SNC), classificados em quatro graus segundo sua malignidade crescente (OMS), sendo o de grau IV o glioblastoma (GBM). O GBM é o mais comum, com aproximadamente 45% de todos os gliomas (Ostrom *et al.*, 2014) e com taxa de incidência média de 3,19 a cada 100.000 indivíduos (Thakkar *et al.*, 2014).

O tratamento do GBM geralmente envolve a ressecção cirúrgica máxima, radiação e temozolomida (TMZ), um quimioterápico alquilante oral. No entanto, devido à localização de áreas cerebrais importantes, a remoção total do tumor é impossível, resultando em células tumorais residuais e recorrência da doença (Davis, 2016; Wilson, *et al.*, 2014). Cerca de 70% dos pacientes com ressecção máxima enfrentam progressão da doença em até um ano (Stupp *et al.*, 2005), indicando a necessidade de novas abordagens terapêuticas.

Observações acerca do uso das plantas com propriedades medicinais já são conhecidas desde as primeiras civilizações (Braga, 2011). As plantas, por serem seres sésseis, ou seja, que não se movem, desenvolveram estratégias para sua proteção tanto para herbivoria, como para outros fatores (radiação UV e também para obter vantagens na competição com outras plantas, sejam elas da mesma espécie ou distintas (Santos *et al.*, 2015; Schreiner, 2019; Schuster, 2019;). Diante disso, nas últimas duas décadas pesquisas que buscam drogas de origem vegetal com potencial citotóxico e antitumoral começaram a crescer (Tanaka e Zamin, 2021).

¹ Graduanda de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, contato: arielydefarias12@gmail.com

² Grupo de Pesquisa: Biociências

³ Orientadora, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, contato: lauren.zamin@uffs.edu.br

⁴ Co-orientadora, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, contato: nessana.dartora@uffs.edu.br

Segundo Heinzmann e Barros (2007), o Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, com 350.000 a 550.000 espécies estimadas de plantas. Dentre elas estão várias famílias com alto poder medicinal, como a Verbenaceae, a qual está inserida a espécie popularmente conhecida como “alfazema do Brasil”, *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook), enfoque deste trabalho. Logo, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito antitumoral dos extratos das folhas da planta *A. gratissima* em duas linhagens de GBM (C6 e U251).

Metodologia

Inicialmente foi realizada a extração das frações da planta *A. gratissima*, como já realizado por Schreiner (2019). Assim, foram obtidas cinco frações: o extrato aquoso (AQ), o hidroalcoólico (ET), o butanólico do extrato hidroalcoólico (BA), o clorofórmico do extrato hidroalcoólico (CE) e o extrato acetato de etila do extrato hidroalcoólico (ACE).

Na sequência foram realizados os testes de viabilidade celular nas linhagens de GBM humana U251 e a de rato C6. As linhagens foram cultivadas a 37°C com 5% de CO₂ em atmosfera umidificada, em meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) acrescido de 10% de Soro fetal bovino para U251 e 5% para C6. Foram realizados três experimentos em que cada composto foi aplicado em triplicatas com seis diferentes concentrações (10, 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL). Após 48 horas de tratamento, as células foram submetidas ao ensaio de MTT [3-(4,5-diamethyl 2-thiazolyl) 2,5 diphenyl-2H-tetrazolium, Sigma] para verificar a medida da viabilidade celular.

Resultados e Discussão

A partir das três sessões de tratamentos em que as células foram submetidas com os extratos, AQ, ET, BA, CE e ACE foi realizado o ensaio de MTT (teste de viabilidade celular), onde emergiram os gráficos 1 e 2. Em ambos os gráficos o eixo y, está representando a porcentagem de células viáveis, considerando o grupo controle de 100%, e, o eixo x as concentrações dos extratos utilizados durante os tratamentos.

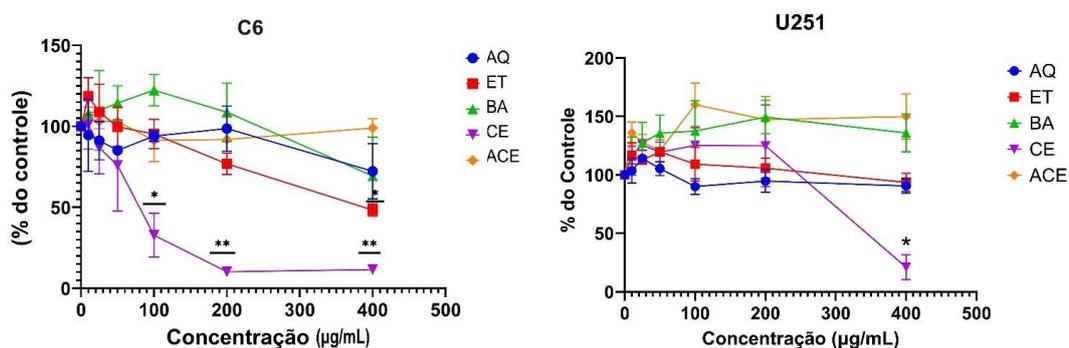


Figura 1: O gráfico à esquerda representa os tratamentos dos cinco extratos de *A. gratissima* em diferentes concentrações na linhagem C6 e o à direita na linhagem U251.

Na linhagem humana, somente o extrato CE em sua concentração mais alta, 400µg/mL, teve diminuição na população de células. Gerando assim uma *Concentration Inhibitory* (IC50), uma concentração mínima necessária para inibir 50% da população de células de 379.1µg/mL (Tabela 1).

Tabela 1: Valores de IC50 dos diferentes extratos nas linhagens de C6 e U251.

	AQ	ET	BA	CE	ACE
C6	>400 µg/mL	379.9 µg/mL	>400 µg/mL	76.42 µg/mL	>400 µg/mL
U251	>400 µg/mL	>400 µg/mL	>400 µg/mL	379.1 µg/mL	>400 µg/mL

Em contrapartida, na linhagem de rato, os tratamentos com os extratos ET e CE, observou-se uma queda na porcentagem da população. No caso do ET, somente teve declínio na concentração mais alta, resultando em um IC50 de 379.9µg/mL, parecido com o do CE nas U251. Nos tratamentos com CE, logo nas concentrações mais baixas, como 100µg/mL, houve inibição de mais de 50% das células, originando um IC50 de 76.42µg/mL (Tabela 1). Então pode-se dizer que a linhagem C6 é mais sensível ao tratamento com o CE, do que a U251.

No estudo realizado por Schreiner (2019), foram identificados dois metabólitos secundários abundantes nas frações clorofórmicas de *A. gratissima*, os terpenos: betulina e bisabolol. Segundo Ramazani e colaboradores (2022), o bisabolol possui diversas propriedades medicinais, entre elas estão as ações anti-inflamatória e antitumoral. Como Gonçalves (2016), também avaliou as mesmas atividades biológicas da betulina. Logo

podemos acreditar que o que levou ao declínio das células de GBM foi a presença desses terpenos no extrato de CE. Nas células C6, que tiveram sua viabilidade diminuída ao ser tratadas com o extrato de ET, podemos acreditar que a presença do flavonoide, 5-hidróxi-7,4''-dimetoxiapigenina (Schreiner, 2019), teve efeito sobre as células de GBM, pois de acordo com Coelho (2017) o uso flavonoides têm gerado resultados promissores na atividade antitumoral.

Conclusão

Concluimos que os testes *in vitro* de extratos *Aloysia gratissima* se mostraram potenciais precursores para diminuição da viabilidade celular de GBM, sendo os extratos ET e CE que obtiveram melhores resultados. Contudo, mais pesquisas que busquem avaliar os potenciais antitumorais dessa espécie fazem-se necessárias, a fim de contribuir para a melhora de pacientes com GBM e diminuição de custos exorbitantes com o tratamento.

Palavras-chave: Câncer; Glioma; Verbenaceae; *In vitro*; Fitoterápico.

Referências Bibliográficas

BRAGA, Carla. Histórico da utilização de plantas medicinais. Universidade de Brasília e Universidade Estadual de Goiás. Brasília. 2011. Disponível em: http://bdm.unb.br/bitstream/10483/1856/1/2011_CarladeMoraisBraga.pdf. Acesso em 13 ago. 2024.

COELHO, P. L. C. **Avaliação das Propriedades Antitumorais e Imunomodulatórias do Flavonoide Apigenina Extraído de *Croton Betulaster* Mull na Interação Glioblastoma/Microglia**. 2017. 125 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/22862/1/Tese%20Finalizada%20Paulo%20%282%29.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2024.

GONÇALVES, S. M. C. **Avaliação da atividade anti-inflamatória e antitumoral de novos derivados semissintéticos da betulina e do ácido betulínico**. 2016. p. 59. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/25042/1/DISSERTA%c3%87%c3%83O%20Sayonara%20Maria%20Calado%20Gon%c3%a7alves.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2024.

DAVIS, M. E. Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment. **Oncology Nursing Society**, n. 5, p. 1-14, 25 out. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5123811/pdf/nihms-820394.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2024.

HEINZMANN, B.; BARROS, F. **Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (mill.) N. E. Brown (Verbenaceae).** Saúde. Santa Maria. v. 33, n. 1. P. 43-48. 2007.

OSTROM, Q. T. *et al.* The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. **Neuro-Oncology**. Vv. 16, n. 7, p. 896-913. 19 maio 2014.

RAMAZANI, E. *et al.* Pharmacological and biological effects of alpha-bisabolol: an updated review of the molecular mechanisms. **Sciencedirect**, [s. l], v. 304. 01 set. 2022.

SANTOS, A.C.B *et al.* Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 980-991, mar. 2015.

SCHREINER, Gênisfer Erminda. **Extração e Caracterização de Metabólitos Secundários em *Aloysia Gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc.** 2019. 49 f. TCC (Graduação) - Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2019. Disponível em: <https://rd.uffrs.edu.br/bitstream/prefix/3571/1/SCHREINER.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2024.

SCHUSTER, M. F. **Extração e caracterização de metabólitos secundários de *Aloysia virgata* (Ruíz & Pavón) JUSS.** 2019. Monografia (Trabalho de Conclusão do curso de Ciências Biológicas – licenciatura). Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2019.

STUPP, R. *et al.* Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. **New England Journal Of Medicine**, v. 352, p. 987-996, mar. 2005.

TANAKA, B. K. F.; ZAMIN, L. L. Investigação do Potencial Antitumoral de Plantas da Família Verbenaceae: Uma Revisão. **Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica**. 2021.

THAKKAR, J.P.; et al.; Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**. v. 23, p. 1985–1996. 2014.

WILSON, T. A.; KARAJANNIS, M. A.; HARTER, D. H. Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics. **Surgical Neurology International**, Los Angeles, 08 maio 2014.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2023-0205.

Financiamento: UFFS.