EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA GOIABA SERRANA E SEU EFEITO EM CÉLULAS DE CÂNCER DE PELE DO TIPO MELANOMA

MARIA EDUARDA FUCHS WERMUTH^{1,2*}, KARINE S. L. MIKI³, LARISSA DE B. GAMBIN⁴, MARGARETE D. BAGATINI⁵, JOÃO PAULO BENDER^{2,6}

1 Introdução

As frutas fornecem benefícios à saúde e estão relacionadas com a menor incidência de doenças crônicas (MOREIRA-ARAÚJO *et al.*, 2019) por apresentarem diversidade de vitaminas, compostos bioativos e antioxidantes (SUN-WATERHOUSE *et al.*, 2013). A goiaba serrana, *Acca sellowiana* (Berg.) sinônimo Feijoa sellowiana Berg, pode ser destaque como espécie regional (MORETTO; NODARI; NODARI, 2014) devido às suas propriedades farmacológicas (DA M MACHADO *et al.*, 2016), anticancerígena (BONTEMPO *et al.*, 2007), e da multiplicidade de componentes bioativos de interesse tecnológico, como: ácidos fenólicos; flavonoides; óleos essenciais; vitamina C e; fibra dietética (ZHU, 2018). Em consideração ao exposto, visualiza-se uma lacuna no tocante à extração, identificação e aplicação dos compostos bioativos presentes na goiaba serrana.

2 Objetivos

O presente trabalho investigou o processo de extração de compostos bioativos da goiaba serrana, avaliando seu potencial antioxidante e antitumoral. Para tanto, avaliou-se o efeito das variáveis de processo (tempo, razão sólido/líquido, temperatura e concentração do solvente extrator) sobre o teor de polifenóis totais, atividade antioxidante e perfil cromatográfico dos extratos, caracterizando-os em relação aos compostos individuais (ácidos fenólicos e flavonoides) e, por fim, o potencial citotóxico, *in vitro*, do extrato frente a linhagem de melanoma cutâneo SK-Mel-28 (ATCC® HTB-72TM).

1 Graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária, UFFS - *campus* Chapecó, contato: maria.wermuth@estudante.uffs.edu.br

2 Grupo de Pesquisa: Processos Enzimáticos e Microbiológicos

3 Discente, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul - PR

4 Mestre, Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul - PR.

5 Docente, UFFS - *campus* Chapecó-SC.

6 Docente, UFFS - *campus* Chapecó-SC, **Orientador.**

3 Metodologia

Os frutos da goiabeira foram doados pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), estação experimental de São Joaquim -SC em abril de 2019. As frutas foram armazenadas em freezer a -18°C até o momento de preparação das amostras, no qual seguiu a metodologia descrita por Fuhr *et al.* (2021).

Os procedimentos empregados para a obtenção dos extratos por meio do emprego das técnicas de ultrassom indireta e líquido pressurizado estão descritos nos estudos de Conte *et al.* (2016a) e Conte *et al.* (2016b), respectivamente. As análises de atividade antioxidante (AAT), compostos fenólicos totais (CFT) e perfil cromatográfico seguiram as seguintes metodologias: Brand-Williaws, Cuvelier e Berset (1995); Carniel *et al.* (2017), com modificações e Fuhr *et al.* (2021) e; Arruda *et al.* (2018), com adaptações, respectivamente.

O extrato que obteve o maior conteúdo de compostos bioativos foi liofilizado (Liofilizador SL – 404, SOLAB) e armazenado em ultrafreezer (-75°C) até a realização dos ensaios de migração e viabilidade celular. Além do extrato bruto liofilizado, os principais compostos presentes nos extratos brutos da goiaba, identificados por meio da análise do perfil cromatográfico, foram, também, submetidos aos ensaios de viabilidade e migração. Os ensaios foram realizados conforme as metodologias descritas por Justus *et al.* (2014), com modificações e por Bagatini *et al.* (2018), respectivamente. Para a realização desses ensaios foram adquiridas células de câncer de pele do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), do tipo melanoma denominadas células SK-MEL28 (ATCC® HTB-72TM). O procedimento da manutenção da cultura celular, bem como o ensaio da atividade antitumoral foram executados conforme Pelinson *et al.* (2019).

4 Resultados e Discussão

Para a técnica de ultrassom indireta obteve-se na melhor condição experimental (Temperatura de 65°C ; Razão sólido/líquido de 25 mg/mL; Concentração de etanol de 40%, v/v e; Potência de Ultrassom de 100%): 33 mg AGE/g fruta seca para CFT; 240,8 $\mu\text{mol TE/g}$ fruta seca para AAT; 0,040 ppm/g de fruta seca para o composto pirocatecol; 0,333 ppm/g de fruta seca de ácido siríngico; 0,788 ppm/g de fruta seca de flavona. Por outro lado, para a extração por líquidos pressurizados obteve-se como resultado 59,4 mg AGE/g fruta seca para

CFT e 195,8 $\mu\text{mol TE/g}$ fruta seca para AAT. Para a análise cromatográfica, foi identificado apenas o composto flavona com 4,921 ppm/g de fruta seca.

Na Figura 1 é apresentado os resultados da migração celular para os ensaios com os compostos flavona e ácido siríngico.

Figura 1 - Avaliação da migração celular em células de MC SK-Mel-28 após 24 horas de tratamento com os compostos Ácido Siríngico e Flavona.

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

A Figura 1 exibe a migração celular com a aplicação dos compostos em 24 horas, apresentando que houve crescimento celular no controle negativo que é esperado, enquanto à Flavona foi o composto que apresentou maior ação sobre a migração.

Viabilidade celular

A Figura 2 expõe a comparação entre os resultados dos extratos, variando nas concentrações de 100 a 10.000 $\mu\text{g/mL}$, onde as concentrações de 5.000 e 10.000 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram maior eficiência na contenção do crescimento celular, quando comparados aos compostos flavona e ácido siríngico, apresentando taxas de mortalidade das células de 38,69% para a maior concentração do extrato, enquanto a flavona apresentou apenas 9,34%.

Figura 1 - Avaliação da viabilidade celular em células de MC SK-Mel-28 após 24 horas de tratamento com extrato hidroalcoólico da goiaba-serrana nas concentrações de 100 µg/mL a 10.000 µg/mL e com os compostos puros flavona e ácido siríngico.

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

* diferente do controle.

5 Conclusão

Os extratos nas concentrações de 5.000 e 10.000 µg/mL apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) frente ao controle quanto à viabilidade celular, sendo mais eficientes em conter o crescimento celular quando comparado aos compostos puros. Assim sendo, evidencia-se que a ação na atividade anticancerígena não depende somente do composto flavona, mas sim, do sinergismo entre os compostos bioativos presente no extrato, como também foi constatado por Bontempo *et al.* (2007) em seus trabalhos.

Referências Bibliográficas

- ARRUDA, H. S. Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 245. p.738-749. 2018.
- BAGATINI, M. D. *et al.* 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 alters ectonucleotidase expression and activity in human cutaneous melanoma cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 6, jun. 2019.
- BONTEMPO, P. *et al.* Feijoa sellowiana derived natural flavone exerts anti-cancer action displaying HDAC inhibitory activities. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 1902–1914, 2007.

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CARNIEL, N. *et al.* Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Acids and Flavonoids from *Physalis angulata*. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 3, p. 1–11, 2017.
- CONTE, R. *et al.* Pressurized liquid extraction and chemical characterization of safflower oil: A comparison between methods. **Food Chemistry**, v. 213, p. 425-430, 2016b.
- CONTE, R. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of total polyphenols from Black Poplar (*Populus nigra*) and evaluation of antioxidant potential. **Indian Journal of Advances in Chemical Science**, n. ii, p. 25–30, 2016a.
- DA M MACHADO, G. R. *et al.* Reversal of fluconazole resistance induced by a synergistic effect with *Acca sellowiana* in *Candida glabrata* strains. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 11, p. 2410-2419, nov. 2016.
- FUHR, J. F. *et al.* Extração de compostos fenólicos do resíduo do processamento do fruto goiaba serrana (*Acca sellowiana*). In: **JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA**, 11, 2021. Universidade Federal da Fronteira Sul, nov. 2021 *online*.
- GAMBIN, L. B. **Avaliação do potencial antitumoral de compostos fenólicos extraídos da goiaba-serrana (*Acca sellowiana*) em células de melanoma cutâneo SK-MEL-28**. 2020. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2020.
- JUSTUS, C. R. *et al.* In vitro cell migration and invasion assays. **Journal of Visualized Experiments**, n. 88, p. 1–8, 2014.
- MOREIRA-ARAÚJO, R. S. dos R. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activity three fruit species from the Brazilian Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 41, n. 3, p. 1-8, 2019. FapUNIFESP (SciELO).
- MORETTO, S. P.; NODARI, E. S.; NODARI, R. O. A disseminação da feijoa (*Acca sellowiana*). Encontro Estadual de História “1964-2014: Memórias, Testemunhos e Estado”, 15., 2014, Florianópolis, **Anais** [...].
- PELINSON, L. P. *et al.* Antiproliferative and apoptotic effects of caffeic acid on SK-Mel-28 human melanoma cancer cells. **Molecular Biology Reports**, v. 4, 2019.
- SUN-WATERHOUSE, D. *et al.* Utilisation Potential of Feijoa Fruit Wastes as Ingredients for Functional Foods. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 12, p. 3441–3455, 2013.
- ZHU, F. Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 121–131, 2018.

Palavras-chave: Flavona; Ácido Siríngico; DPPH; Viabilidade celular; Migração celular.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2021 - 0288

Financiamento: UFFS.