

**POTENCIAL CITOTÓXICO DO EXTRATO CLOROFÓRMICO DAS FOLHAS DE  
*Peperomia quadrangularis* CONTRA LINHAGENS DE CÉLULAS DE CÂNCER**

**CYTOTOXIC POTENTIAL OF THE CHLOROFORM EXTRACT OF THE LEAVES  
OF *Peperomia quadrangularis* AGAINST CANCER CELL LINES**

<sup>1</sup>\*Emelly Beatriz de Souza Santos,  
<sup>2</sup>Gabriela Cavalcante Oliveira, <sup>2</sup>Rebeca da Costa Rodrigues, <sup>3</sup>Cláudia do Ó Pessoa, <sup>3</sup>Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira, <sup>3</sup>Beatriz Bezerra de Abreu, <sup>2</sup>Amanda Feitosa Cidade, <sup>2</sup>Elza Paula Silva Rocha, <sup>2</sup>Nilton Fagner de Oliveira Araújo, <sup>2</sup>Jamile Macedo Mariano, <sup>2</sup>Thiago Duarte Mielke, <sup>2</sup>Francismeire Bonadeu, <sup>2</sup>Minelly Azevedo da Silva

<sup>1</sup>Instituto Federal de Rondônia-IFRO

<sup>2</sup>Instituto Federal de Rondônia-IFRO

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará-UFC

\*Autor correspondente: e-mail: emellysantos2403@gmail.com

**RESUMO**

*Peperomia* é um dos gêneros pertencentes à família *Piperaceae*, com uma estimativa de 1.600 espécies e uma distribuição pantropical. Tendo em vista a escassa literatura sobre a atividade biológica dessa espécie, neste estudo foi avaliado o potencial citotóxico *in vitro* da fração clorofórmica das folhas da espécie *Peperomia quadrangularis* em quatro linhagens de células tumorais: HCT-116 (côlon - humano), SNB-19 (Glioblastoma), PC3 (Próstata), HL60 (Leucemia) e MCF-7 (câncer de mama) cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA). O extrato clorofórmico das folhas da espécie *Peperomia quadrangularis* apresentou eficiência para as linhagens de próstata e leucemia.

**Palavras-chave:** Fitoterápicos, Extratos de *Peperomia*, Células Tumorais.

**ABSTRACT**

*Peperomia* is a genus belonging to the Family *Piperaceae*, with an estimated 1600 species and a pantropical distribution. In view of the scarce literature on the biological activity of this species, in this study, we evaluated the cytotoxic potential of the chloroform fraction of the leaves of *Peperomia quadrangularis* against four cancer cell lines: HCT-116 (colon cancer - human), SNB-19 (Glioblastoma), PC3 (Prostate), HL60 (Leukemia) and MCF-7 (breast cancer) provided by the National Cancer Institute. The chloroform extract of *P. quadrangularis* presented toxicity toward the leukemia and prostate cancer cells.

**Keywords:** Phytotherapeutics; *Peperomia* extracts; cancer cells.

Historicamente, o uso popular de produtos naturais para o tratamento de diversas doenças é relatado nos mais variados contextos, desde as práticas ritual-religiosa e cultural até a respeitada medicina tradicional [1]. Apesar de toda popularidade, somente 5 a 15% de um total aproximado de 250 mil espécies de plantas foram avaliadas do ponto de vista farmacológico havendo, portanto, um vasto campo a ser explorado e estudado [2]. Estima-se que 75% dos medicamentos anticâncer e 69% dos agentes anti-infecciosos utilizados na atualidade têm origem, direta ou indireta de produtos naturais [3].

*Peperomia quadrangularis* é uma espécie nativa da América do Sul de valor

ornamental devido às suas folhas listradas (Figura 01). Seu domínio de ocorrência no Brasil é na região Amazônica. É cultivada para fins comerciais na Coréia e cresce bem nas condições domésticas [4]. Baseado no levantamento bibliográfico, não foi encontrado estudo citotóxico ou registro sobre o uso dessa espécie na medicina popular.

**Figura 01-** *Peperomia quadrangularis*. Espécie epífita sobre o forófito; Detalhe das folhas; Material para extração. Fonte: M.A. Silva e T.D. Mielke. Colorado do Oeste-RO.



No Laboratório de Química Orgânica do IFRO – Porto Velho/Calama foi preparado o extrato bruto através da maceração das folhas, utilizando o solvente clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) por três dias. Em seguida, o extrato foi filtrado e evaporado utilizando o rotoevaporador, até sua total concentração. Depois de pronto, uma alíquota do material (extrato das folhas) foi enviada ao Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará – UFC para a avaliação do potencial citotóxico da fração clorofórmica das folhas da espécie. As linhagens tumorais cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA) foram HCT-116 (côlon - humano), SNB-19 (Glioblastoma), PC3 (Próstata), HL60 (Leucemia) e MCF-7 (câncer de mama).

A análise de citotoxicidade foi feita pelo método MTT, comumente utilizado nos ensaios de citotoxicidade por grandes centros de referência, como o programa de *screening* do National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos, que testa mais de 10.000 substâncias a cada ano [5]. É um método rápido, sensível e barato. Foi descrito primeiramente por [6] e permite analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação [7].

As células foram plaqueadas nas concentrações de  $0.7 \times 10^5$ ,  $0.1 \times 10^6$ ,  $0.3 \times 10^6$

céls/mL para as linhagens HCT-116, SNB-19/PC3 e MCF-7/HL60, respectivamente. As placas foram incubadas com o extrato por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium) e as placas foram incubadas por 3h. Após a incubação, as placas foram novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado de formazan com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

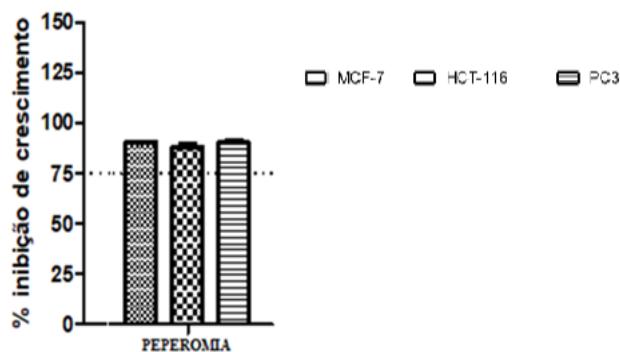
Os experimentos de concentração única (100 µg/mL) foram analisados segundo a média ± desvio padrão (DP) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa GraphPadPrism 5.

Para o *screening* inicialmente, as amostras foram testadas em concentração única para as linhagens MCF-7 (Câncer de mama), HCT-116 (Cólon - humano) e PC3 (Próstata). Dentre as linhagens testadas, foi observado que o extrato das folhas da *Peperomia quadrangularis* apresentou um percentual de inibição de crescimento celular acima de 75%. Os dados detalhados da atividade citotóxica das amostras testadas estão representados na Tabela 01 e esquematizados graficamente na Figura 02.

**Tabela 01-** Média do percentual de inibição do crescimento celular (IC%) com desvio padrão (DP) das amostras na concentração única de (100µg/mL).

Amostra	MCF-7		HCT116		PC3	
	IC%	DP	IC%	DP	IC%	DP
Peperomia	90,40	0,49	88,16	2,51	90,22	2,11

**Figura 02-** Representação gráfica da média do percentual de inibição do crescimento (IC%) dos compostos testados na concentração única de 100µg/mL (extrato) para as linhagens MCF-7; HCT116 e PC3.



Realizou-se a análise da concentração inibitória ( $CI_{50}$ ) apenas para as amostras com percentual igual ou acima de 75% de inibição de crescimento celular (Tabela 01; Figura 02). As amostras foram testadas em diluição seriada nas linhagens HL60 (Leucemia), MCF-7 (Câncer de mama), HCT-116 (Cólon - humano), SNB-19 (Glioblastoma) e PC3 (Próstata) na concentração máxima de 100  $\mu\text{g/mL}$ . Dados apresentados na Tabela 02.

**Tabela 02-** Valores de  $CI_{50}$  com um intervalo de confiança obtido por regressão não linear a partir de dois experimentos independentes, realizados em duplicata.

MTT					
$CI_{50}$ $\mu\text{g/mL}$					
Amostra	HL60	MCF-7	HCT-116	SNB-19	PC3
Peperomia	22,46	69,78	70,36	47,68	24,45
Intervalo	(18,39 – 27,45)	(62,33 – 78,13)	(62,33 – 78,13)	(62,33 – 78,13)	(62,33 – 78,13)

O extrato apresentou potencial citotóxico para as linhagens PC3 (Próstata) e HL60 (Leucemia). Para linhagem de próstata a  $CI_{50}$  foi de 24.45  $\mu\text{g/mL}$ . Nas demais linhagens os valores de  $CI_{50}$  variaram de 47.68 a 70.36  $\mu\text{g/mL}$ . Desta forma, é possível inferir que o extrato clorofórmico das folhas da espécie *Peperomia quadrangularis* apresentou eficiência para as linhagens de próstata e leucemia. Estudos futuros são sugeridos para isolar, purificar e avaliar o potencial biológico das substâncias químicas presentes no extrato.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto Federal de Rondônia, campus Porto Velho – Calama e Colorado do Oeste, e ao Laboratório Nacional de Oncologia Experimental – UFC.

## REFERÊNCIAS

- [1] RATES, S. M. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.
- [2] CRAGG, G.; NEWMAN D.J. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure Appl. Chem.*, v. 77, n. 1, p. 7–24, 2005.
- [3] NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, v. 7, p. 311-355, 2012.
- [4] CARVALHO-SILVA, M. *Peperomia Ruiz & Pav. no Brasil: morfologia e taxonomia do subgênero Rhynchophorum (Miq.) Dahlst.* 2008. 145 f. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro/Escola Nacional de Botânica Tropical, Rio de Janeiro. 2008.
- [5] SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82(13): 1107- 1112, 1990.
- [6] MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65: 55-63, 1983.
- [7] BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. *Biochemica*, 4: 14-19, 1996.