

EFEITO ANTINEOPLÁSICO DO EXTRATO BRUTO ETÉRICO OBTIDO DAS FLORES DE *Mentha spicata* E *M. rotundifolia*.

CARVALHO, Pedro Henrique¹; NEDEL, Fernanda¹; BEGNINI, Karine Rech²; LUND, Rafael Guerra³; BEIRA, Fátima Tereza Alves⁴; DEL PINO, Francisco Augusto Burkert⁵.

INTRODUÇÃO

As plantas são fontes inestimáveis de novas drogas para o tratamento contra o câncer (Guerra et al., 2003), visto que muitas substâncias resultantes do seu metabolismo secundário podem ser promissores agentes antineoplásicos (Ferraz et al., 2005).

A *Mentha* é um gênero pertencente à família Lamiaceae, e contém de 25-30 espécies (Choudhury et al., 2006). *Mentha spicata* é uma das espécies mais cultivadas no Brasil devido à melhor adaptação ao clima subtropical (Watanabe et al., 2006). Um dos aspectos mais importantes dela é a possibilidade de ser uma fonte de agentes quimioterápicos contra o câncer (Manosroi et al., 2006), devido à grande quantidade de ácidos fenólicos com provável atividade antiproliferativa sobre as células (Conforti et al., 2008). *Mentha rotundifolia* é considerada como uma espécie híbrida entre a *M. longifolia* L. e *M. suaveolens* Ehrh. Tem sido relatada a caracterização de diferentes quimiotipos desta planta, referente à composição do óleo de *M. rotundifolia* (Brada et al., 2006). Um destes quimiotipos mostrou-se particularmente rico em monoterpenos oxigenados (Brada et al., 2006), e recentemente tem havido um interesse em vários monoterpenos devido as suas propriedades quimioterapêuticas e quimiopreventivas (Holstein et al., 2003). Contudo, pouco se sabe da capacidade da planta *M. rotundifolia* de servir como um quimioterápico.

O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade do extrato bruto etérico obtido das flores de *M. spicata* e *M. rotundifolia*, em cultivo *in vitro* das linhagens celulares de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7) e fibroblastos de camundongo (3T3) (grupo controle).

MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens celulares foram adquiridas no Banco de Células do Rio de Janeiro/RJ. As espécies *M. spicata* e *M. rotundifolia* foram coletadas em terreno baldio, na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Para o preparo dos extratos, 100 g de material vegetal seco foi macerado com 1L de extrato hexânico, e agitado a 200rpm, à temperatura ambiente por 3h, sendo o extrato filtrado e re-extraído o resíduo da planta com o solvente. O filtrado

¹ Acadêmico(a) da Faculdade de Odontologia (FOP) e Bolsista PIBIC CNPq- UFPel, e-mail: pedro_henrique_91_3@hotmail.com

² Acadêmica do curso de Biologia – IB/UFPel

³ Programa de Pós-Graduação em Odontologia – FOP/UFPel

⁴ Departamento de Fisiologia e Farmacologia – IB/UFPel

⁵ Departamento de Bioquímica – IQG/UFPel

foi concentrado em aparelho rotavapor a vácuo e armazenado em cubas de aço para congelamento a -20°C e, posteriormente, a -80°C . O extrato foi diluído com Dimetilsulfóxido (DMSO), em uma concentração-mãe de 50 mg/mL. Após as diluições as concentrações variaram de 0,16 a 25 mg/mL.

Foram utilizadas placas de microcultivo com 96 cavidades, onde as células foram suspensas em 198 μL de meio de cultivo DMEM com 10% de soro fetal bovino e incubadas por 24h, a 37°C e 100% de umidade relativa.

Após o tempo de aderência, uma placa com células foi exposta a 2 μL de cada uma das concentrações do extrato, com 4 réplicas para cada, e comparada a um grupo controle após 48h. Depois de incubadas a 37°C , 5% de CO_2 e 100% de umidade relativa, para o teste de citotoxicidade, as células foram fixadas adicionando-se 50 μL de Ácido tricloroacético 50% aos 200 μL de cultivo e mantidas refrigeradas a 4°C durante 1h. Em seguida, foram realizadas 5 lavagens das cavidades com 200 μL de água destilada deionizada.

O ensaio colorimétrico foi realizado mediante a adição de 100 μL de uma solução de sulforodamina B 0,4%p/v (com ácido acético 1%) em cada cavidade. A placa foi mantida em repouso durante 30min à temperatura ambiente para depois passar por 5 lavagens com ácido acético a 1%, secando a temperatura ambiente. O corante foi ressolubilizado com 100 μL de solução tampão Tris Base e homogeneizado através de um agitador de placas a 50rpm por 5min.

A leitura da densidade óptica foi feita com aparelho espectrofotômetro leitor de placas de ELISA num comprimento de onda de 492nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade sobre proliferação celular do extrato bruto de éter etílico extraído das flores de *M. spicata* e *M. rotundifolia* nas células 3T3 está indicada no Gráfico 1, em que o eixo das ordenadas corresponde ao logaritmo da concentração do extrato, indicando mortalidade celular para concentrações acima de 0,4 mg/mL. Já para as células MCF-7 a mortalidade celular ocorreu em 90% das concentrações, sendo mais eficiente a concentração de 1,6 mg/ml (Gráfico 2).

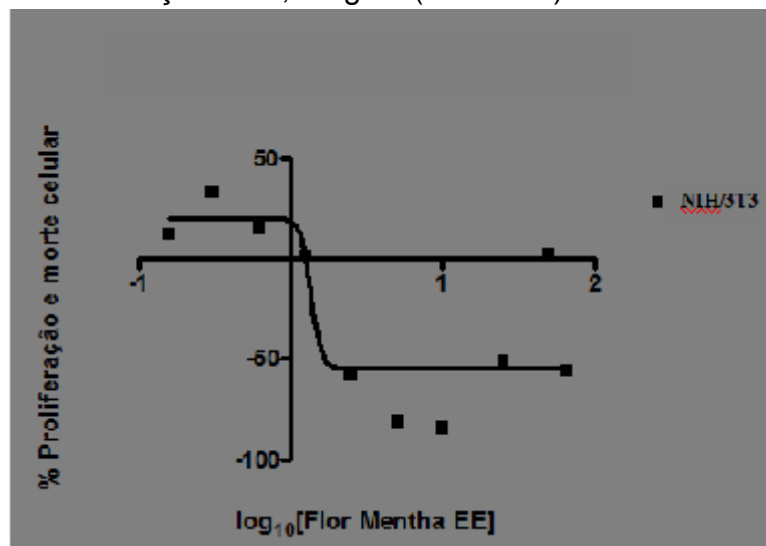


Gráfico 1 - Efeito do extrato bruto de éter etílico extraído da flor de *Mentha* sobre Fibroblastos de camundongo (3T3)

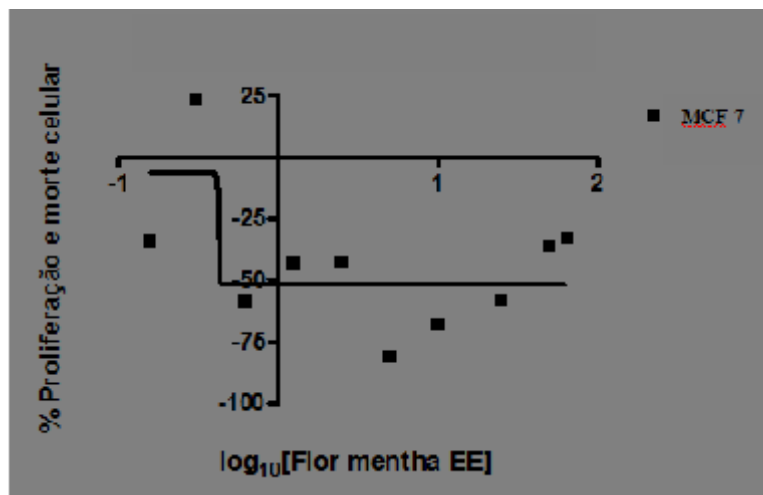


Gráfico 2 - Efeito do extrato bruto de éter etílico extraído da flor de *Mentha* sobre células de adenocarcinoma humano (MCF-7)

Este estudo identifica uma potencial atividade antineoplásica do extrato da flor de *Mentha* podendo estar associada a compostos fenólicos presentes nas plantas deste gênero (Conforti et al, 2008). Os monoterpenos presentes nas plantas da família Lamiaceae, vêm sendo alvo de discussões com relação às suas propriedades quimioterápicas (Holstein et al., 2006), e na composição do extrato de *M. rotundifolia* já foi relatada alta quantidade desses compostos (Brada et al., 2006). Outros estudos utilizaram-se da folha de *Mentha* sp. como substrato para extração do óleo para análise de composição ou testes antineoplásicos (Akdogan et al, 2004; Brada et al, 2006). Neste estudo, avaliou-se a atividade do óleo extraído a partir da flor, e uma comparação dos componentes do óleo da folha com o da flor é necessária para compreender qual dos meios é mais promissor. No presente estudo, a escolha das duas espécies de *Mentha* está relacionada às suas propriedades individuais, sua abundância no Brasil e seu uso popular como terapêutico. Além disso, espécies de *Mentha* apresentam atividades antifúngicas, antivirais, antimicrobianas, antioxidantes, anti-hemolíticas e anti-helmínticas (Arumugam 2008).

Alguns estudos avaliaram os óleos essenciais de *M. spicata* e *M. rotundifolia* quanto aos seus aspectos químicos (Brada et al., 2006), entretanto pouco se sabe sobre a composição dos extratos de éter etílico. É sabido que os óleos essenciais de *M. spicata* contém monoterpenos como: carvona (29-74%), limoneno (4-24 %) e cineole (3-18%), os quais também podem estar envolvidos na atividade antiproliferativa do extrato da folha de éter etílico (Arumugam 2008).

A associação de duas plantas do mesmo gênero pode ter proporcionado um efeito sinérgico dos seus compostos contra a proliferação celular. Entretanto deve ser ponderada a citotoxicidade do extrato em concentrações acima de 1,6 mg/ml.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARUMUGAM, P.; PRIYA, N. G.; SUBATHRA, M.; RAMESH A. Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 26, p. 92-95, Fev. 2008.

AKDOGAN, M.; OZGUNER, M.; AYDIN, G. ET al. Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* Labiatae and *Mentha spicata* Labiatae on liver tissue in rats. **Human & experimental toxicology**, v. 23, p.21-8. Jan. 2004.

BRADA, M.; BEZZINA, M.; MARLIER, M ET al. Chemical Composition of the Leaf Oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria. **Journal of Essential Oil Research**, Nov/Dec 2006.

CHOUHDURY R.P.; KUMAR A.; GARG A.N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n.7 p.825-32. Jun. 2006.

CONFORTI, F.; IOELE, G.; STATTI, G.A. ET al. Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants. **Food and chemical toxicology**, v. 46, p. 3325-3332, 2008.

FERRAZ A; FARIA D.H.; BENNETI M.N. ET al. Screening for antiproliferative activity of six southern Brazilian species of *Hypericum*. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology**, 2005 Jan, 12, p.112-5.

GUERRA, R.N.; PEREIRA, H.A.; SILVEIRA, L.M. ET al. Immunomodulatory properties of *Alternanthera tenella* Colla aqueous extracts in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.1215-9, Sep. 2003.

HOLSTEIN SA, HOHL RJ. Monoterpene regulation of Ras and Ras-related protein expression. **Journal of Lipid Research**, 2003 Jun, 44, p.1209-15.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A. ET al. Extração do óleo vegetal de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 76-86, 2006.