

## Título: Atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo* de extratos (etanólico e supercríticos) de *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino) (Piperaceae)

Valdelúcia M.A.S. Grinevicius (PG)<sup>1</sup>; Rodrigo C. Zeferino (PG)<sup>1</sup>; Nádia S.S. Mota (PG)<sup>1</sup>; Fabiana Ourique (PG)<sup>1</sup>; Luiza S.E.P.W. Castro (PG)<sup>1</sup>; Kátia Andrade (PG)<sup>2</sup>; Josiane Hilbig (PG)<sup>3</sup>; João F.G. Correia (TC)<sup>1</sup>; Sandra R.S. Ferreira (PQ)<sup>2</sup>; Claus T. Pich (PQ)<sup>2</sup>; Maria H. Rossi (PQ)<sup>5</sup> Rozangela C. Pedrosa (PQ)<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica. <sup>2</sup>Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. <sup>3</sup>Departamento de Ciência dos Alimentos. <sup>4</sup>Departamento de Fisioterapia. Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Florianópolis e Araranguá, SC – Brasil. <sup>5</sup>Instituto Biológico de São Paulo. São Paulo - SP, Brasil. [lenarossi@yahoo.com.br](mailto:lenarossi@yahoo.com.br)

**Palavras Chave:** *Piper nigrum*, HT-29, MCF-7, Balb-c

### Introdução

Atividades anti-inflamatória e antitumoral<sup>1</sup> de *Piper nigrum* L. (Piperaceae) justificam o seu uso etno-medicinal, no tratamento de inflamações e de tumores abdominais<sup>1</sup>. Por esta razão, buscou-se avaliar frutos de *Piper nigrum* cultivados em São Mateus (ES) e secos em estufa (120°C, 8h) (exsicata n°15422, Herbário Municipal de SP). O extrato E3 foi obtido por maceração etanólica (93%, 72 h). Os extratos supercríticos (ESC) foram preparados com CO<sub>2</sub> como gás de arraste mantido sob pressões de 200 bar (E2) e 300 bar (E5), a 40°C (90 min.) A constituição dos extratos foi determinada por cromatografia (CCD) e espectrofotometria UV-Vis<sup>2</sup>.

Avaliou-se a citotoxicidade *in vitro* dos extratos sobre as linhagens tumorais HT-29 (colorretal) e MCF-7 (mama) (1x10<sup>4</sup> células/poço), determinando-se a CI<sub>50</sub> pelo método MTT<sup>3</sup>. Foram empregados extratos solubilizados em DMSO (1%) e em meio DMEN completo (1; 10; 100; 1000 µg/ml, 24-72h, 37°C). Na atividade nucleásica sobre o DNA plasmidial (*E.coli*DH5alfa) este foi tratado com água nanopura (CN) ou com os extratos solubilizados em água nanopura (E3) ou em acetonitrila (10%) (E5) (0,6; 1,2; 2,5; 5 e 10 mg/ml, 24 h, 37°C). Após eletroforese (gel de agarose 0.008 g/ml; 100V, 1h) quantificaram-se as bandas (ImageJ). EcoRI foi o controle positivo possuindo as formas de DNA sem quebra (FI), quebra simples (FII) e dupla (FIII).

Ensaios *in vivo* foram conduzidos com Balb-c (machos, 20±2g, n=6), portando o Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE) (1x10<sup>4</sup>) na cavidade peritoneal. Após 24 h da inoculação, procedeu-se o tratamento por via intraperitoneal com os extratos (50µl; 100 mg/kg/dia, 9 dias) solubilizados com DMSO (10%) e Tween 80 (1%) em salina (NaCl, 0,9%). Controles com doxorubicina (2,5 mg/kg/dia) e os veículos.

### Resultados e Discussão

O maior rendimento foi obtido para E3 (6,4 ±0,2%) sendo menores para E2 (2,7±0,4%) e E5 (2,3±0,2%). Foi observada a absorção UV λ<sub>max</sub> de piperina (nm/MeOH): 205, 244, 260, 298 sh, 309, 343; e de piperilina UV λ<sub>max</sub> (nm/MeOH): 204, 255, 263, 299

sh, 310, 343, como substâncias majoritárias nos extratos<sup>2</sup>. O conteúdo de fenólicos totais para E2 (46,3±1,6 Eq. de ácido gálico mg/g); E3 (25,9±1,7) e E5 (25,4±0,8).

As melhores CI<sub>50</sub> foram obtidas após 72 h de tratamento com E2 (7,5 µg/ml) e com E3 (13,8 µg/ml) para HT-29; e com E2 (21,3 µg/ml) e E3 (24,0 µg/ml) para MCF-7. Pode-se atribuir esta atividade à presença de piperina e efeito combinado com compostos fenólicos<sup>4,5,6,7</sup>. Houve moderada atividade nucleásica com significativo aumento da forma FII para E2 (85 %); E3 (70%) e para E5 (58,3%) em relação ao CN, na maior concentração testada (10 mg/ml). Esta atividade pode ser atribuída aos compostos fenólicos que geram EROs<sup>6</sup>.

O extrato E3 causou maior redução do CAE (67,0 ± 1,3%) e aumentou o tempo de sobrevida (25 dias), e o E5 também (62,0 ± 0,3 %) (21 dias) comparativamente ao CN (13 dias) (Fig. 1).

**Figura 1-** Efeitos dos extratos sobre Balb-c: inibição do tumor (a); sobrevida (b)



### Conclusões

O efeito inibidor *in vivo* foi maior para E3 que apresentou também maior rendimento. O extrato E2 revelou ser mais efetivo em termos de citotoxicidade e de atividade nucleásica, o que pode justificar seu uso mesmo com menor rendimento.

### Agradecimentos

CAPES e CNPq

<sup>1</sup>Wang, Y.H. et al.. *J. Trad. Comp Med*, **2014**, 4, 8.

<sup>2</sup>Wagner, H.; Blatt, S. *Plant Drug Analysis*. **1996**.

<sup>3</sup>Mosman *J Immun Method*, **1983**, 16, 55.

<sup>4</sup>Duessel, S. et al. *Clin Lab Sci*, **2008**; 21, 3, 151.

<sup>5</sup>Do, M.T. et al. *Food Chem*, **2013**, 141, 2591.

<sup>6</sup>Laughton, M.J. et al., **1989**. *Biochem Pharm*, 38, 17, 2859.

<sup>7</sup>Lambert, J.D. et al. *J Nutr*, **2004**, 134, 1948.