# CITOTOXICIDADE DA ZINGERONA LIGADA A ESTRUTURA QUÍMICA COMPARADA A ISÔMEROS EM CÉLULAS TUMORAIS DE MAMA.

*Jonatas Alécio dos Prazeres*[1]; *Mariana Yoshimoto*[2]; *Veronica Elisa Pimenta Vicentini*[3]

[1]Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá – UEM. jonatasap2008@hotmail.com
[2]Doutoranda do Curso de Biotecnologia Ambiente, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá – UEM. mariana.yoshimoto@gmail.com
[3]Orientadora, Doutora, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá – UEM. arbvepv@net.com.br

**RESUMO**

A Zingerona é um composto fenólico derivado do *Zingiber officinale,* popularmente conhecido como Gengibre. Esse derivado possui diversos efeitos biológicos, como capacidade antioxidante, lipolítica, radioprotetora, entre outras. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar outro efeito biológico desse composto, a citotoxicidade. O potencial citotóxico foi quantificado em células tumorais de mama humana (MCF-7) pelo método colorimétrico que se baseia na capacidade da succinato desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs, ativa em mitocôndrias de células vivas, em converter o sal tetrazolium (dimetiltiazol difenil tetrazolium – MTT. Para o teste as células foram tratadas com dez concentrações de Zingerona (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM), Controle (DMEM suplementado) e agente indutor de danos (Doxorrubicina), nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os valores das absorbâncias foram submetidos à análise estatística e os resultados demonstraram que nenhum dos tempos de exposição e concentrações foram citotóxicas. A ausência de citotoxicidade, pode estar relacionado com uma pequena diferença na estrutura química em comparação a outros efeitos causados por outros compostos presentes no gengibre, que apresentam efeitos diversos. A ideia que pequenas diferenças estruturais podem causar efeitos diversos é reforçada quando consideramos os efeitos causados por compostos isoméricos. No entanto, mais estudos devem ser desenvolvidos com o intuído de descobrir o mecanismo de ação da Zingerona.

**PALAVRAS-CHAVE:** Gengibre; Compostos Fenólicos; Fitoterapia.

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com efeitos biológicos está intrinsecamente relacionada a existência e a evolução da humanidade. O uso de plantas ou compostos naturais com fins medicinais é denominado fitoterapia, uma prática largamente empregada pelo baixo custo e o fácil acesso a esses compostos (BRAGA, 2011). *Zingiber officinale* é uma erva anual de origem asiática, amplamente empregada na culinária e na medicina popular, possuidora do composto fenólico Zingerona, presente em aproximadamente 9,25% da planta (AHMAD et al., 2015). A Zingerona possui diversos efeitos biológicos sendo o principal o potencial antioxidante (AESCHBACH et al., 1994).

Embora exista vários trabalhos explorando os diversos efeitos biológicos provenientes desse composto, poucos buscam analisar o possível potencial citotóxico da Zingerona. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade citotóxica da Zingerona, pelo teste do MTT em células tumorais de mama humana (MCF-7).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Teste de Citotoxicidade (MTT): Foram utilizadas placas de cultura celular de 96 poços, onde cada poço foi semeado com $0,7\times10^4$ células, com exceção dos poços controle, sem células (branco). As células foram cultivadas por 24 horas com 100µL de meio de cultura suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF) e após este período, o meio de cultura da placa foi descartado e adicionado 100µL de meio novo contendo os grupos: Controle (100µL meio de cultura DMEM suplementado com 10% de SBF e álcool absoluto (0,01%)); Agente citotóxico Doxorrubicina (DOX, 18µM);

Zingerona inscrito sobre o CAS 12248-5 (*Sigma-Aldrich*) nas concentrações de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM.

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas. Posteriormente, o meio de cultura foi substituído por 100µL de meio livre de soro acrescido de MTT (0,167mg/mL). A placa foi incubada por 4 horas, e na sequência, o meio contendo MTT foi descartado e aos poços foi adicionado 100µL de dimetilsulfóxido (DMSO), para a diluição dos cristais de formazan. A leitura foi realizada em leitor de microplacas *Labtech Microplate Reader* (Modelo: LT-4000) a 550nm e os dados foram expressos pelas médias das absorbâncias obtidas nas três repetições biológicas. A viabilidade celular média foi expressa como porcentagem em relação às células do grupo Controle (não tratadas) (considerando como 100% de células viáveis). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (*oneway* ANOVA), seguido do Teste de Tukey ($\alpha=0,05$, $p<0,05$, $n=3$). Estas análises foram realizadas com auxílio do programa *GrafPad Instat* versão 3.02.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de absorbância, obtidos no teste do MTT com células MCF-7 tratadas com Zingerona (Gráfico 1), demonstram ausência de potencial citotóxico. Nenhuma das concentrações e nenhum dos tempos avaliados apresentaram viabilidade celular inferior a 90%, demonstrando assim, que este composto não foi citotóxico nestas condições de tratamento. Já que apenas a viabilidade celular inferior a 80% é considerada citotóxica. Isso sugere, que não houve redução na atividade da enzima succinato desidrogenase presentes nas mitocôndrias das células viáveis, nas condições apresentadas.

Como esperado, o tratamento com Doxorrubicina foi citotóxico em todos os tempos de exposição, o que assegura a confiabilidade do teste.

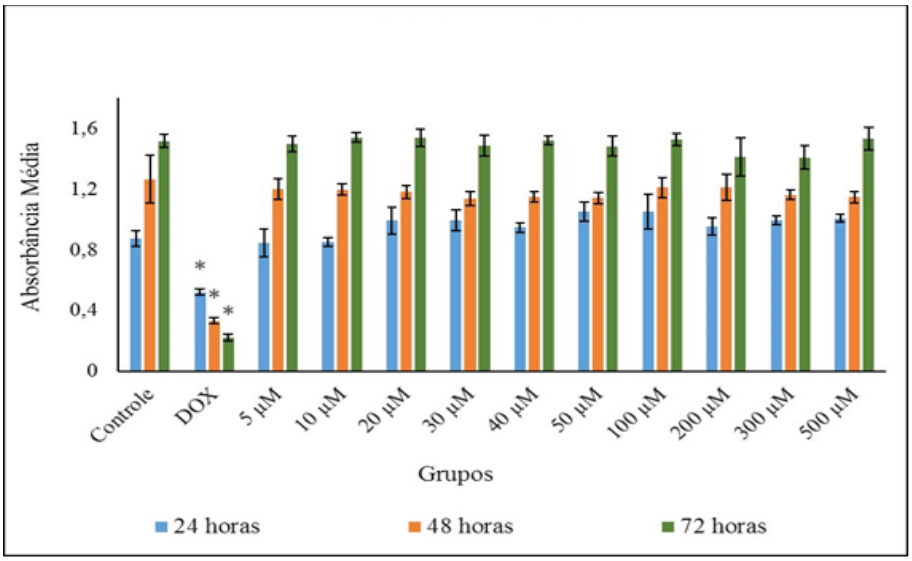



**Gráfico 1:** Ensaio de Citotoxicidade MTT em células tumorais de mama humana (MCF-7) tradas com Zingerona nos tempos de 24, 48 e 72 horas.
Médias e desvio padrão das absorbâncias dos tratamentos dos: Controle; Doxorrubicina (DOX, 18µM) e Zingerona (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM).
*Diferença estatisticamente significativa em relação ao Controle ($p<0,001$).
**Fonte**: Dados da pesquisa

A ausência de citotoxicidade apresentada pela Zingerona, e o alto percentual de viabilidade celular, pode estar relacionada intimamente com a sua estrutura química (Figura 1). Essa estrutura

pode ter feito a Zingerona se comportar de forma totalmente contrária ao [6]-Paradol e [6]-Gingerol, que são compostos similares e também presentes no gengibre, e que apresentaram efeitos citotóxicos, como demonstrado por Lee e Surh (1998).

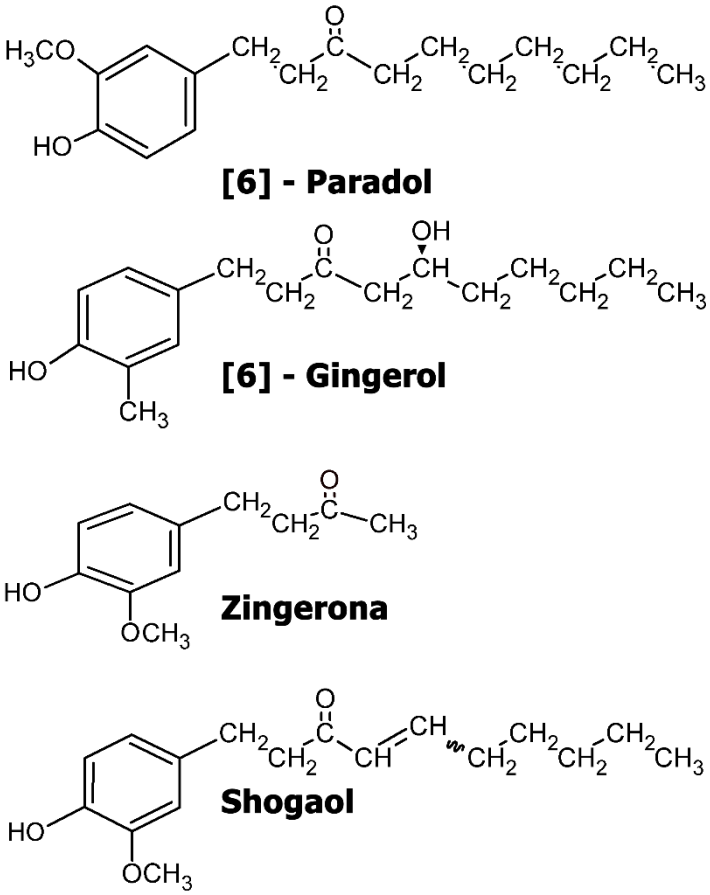


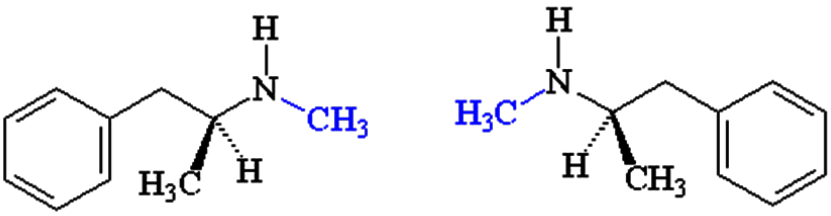

**Figura 1:** Estrutura química dos compostos [6]-Paradol, [6]-Gingerol, Zingerona e Shogaol.
**Fonte**: Adaptada de Nagabhushan e Bhide (1987).

Esses dois compostos, [6]-Paradol e [6]-Gingerol, causaram citotoxicidade pela inibição da síntese de DNA avaliado pelo *Thymidine Incorpotation Assay* em células HL-60. A Zingerona se diferencia dos dois, devido a presença de uma cadeia carbônica lateral (NAGABHUSHAN; BHIDE, 1987). Essa diferença pode ser a responsável pela inibição da síntese de DNA. A presença da cadeia longa pode fazer o composto inibir a síntese de DNA, enquanto que a ausência dessa estrutura pode a estimular.

Além disso, o Shogaol e Gingerol, também encontrados no gengibre, apresentaram efeito mutagênico em cepas de *Salmonella typhimurium* (teste de Ames). Outro composto, o [6]-Shogaol (semelhante ao Shogaol) também apresentou efeito diverso. Esse foi citotóxico em células MCF-7 pelo teste de MTT, diminuindo a viabilidade celular (RAY; VASUDEVAN; SENGUPTA, 2015).

A hipótese que diferenças sutis na estrutura química podem ser responsáveis por efeitos adversos é reforçada na comparação entre compostos isômeros. O exemplo mais evidente disso é metanfetamina. A metanfetamina possui dois isômeros, L-metanfetamina e a D-metanfetamina (Figura 2), sendo a diferença apenas a conformação espacial, no entanto um desses isômeros é um descongestionante nasal e outro um poderoso psicoativo, respectivamente (GAL, 1982).

**Figura 2:** Isômeros de metanfetamina




(*S*)-(+)-metanfetamina ou D-metanfetamina

(*R*)-(-)-metanfetamina ou L-metanfetamina

Fonte: Adaptada de University of Bristol, 2007

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos pelo teste de citotoxicidade, permitem demonstrar que a Zingerona não apresentou atividade citotóxica em células tumorais de mama humana e essa ausência da inibição da proliferação celular é devido, possivelmente, a característica da sua estrutura química.

No entanto, mais estudos devem ser desenvolvidos, variando as concentrações, as linhagens celulares e os tipos de ensaios, a fim de esclarecer os mecanismos de ação e a interação deste composto na biologia das células.

## REFERÊNCIAS

AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; SCOTT. C.; MURCIA. A.; BUTLERS. J.; HALLIEWL, B.; ARUOMA, O.I. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, n. 1, p. 31–36, 1994.

AHMAD, B.; REHMAN, M.U.; AMIN, I.; ARIF, A.; RASOOL, S.; BHAT, S.A.; AFZAL, I.; HUSSAIN, I.; BILAL, S.; MIR, M.R.A. Review on Pharmacological Properties of Zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone). **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1–6, 2015.

BRAGA, C. M. **Histórico da Utilização de Plantas Medicinais**. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Universidade de Brasília - UnB e Universidade Estudal de Goiás - UEG, Brasília, 2011.

GAL, J. Amphetamines in Nasal Inhalers. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 19, n. 5, p. 517–518, 1982.

LEE, E.; SURH, Y. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, [6]-gingerol and [6]–paradol. **Cancer Letters**, v. 134, p. 163–168, 1998.

NAGABHUSHAN, M.; BHIDE, S.V. Mutagenicity of gingerol and shogaol and antimutagenicity of zingerone in Salmonella/Microsome Assay. **Cancer Letters**, v.36, p. 221–233, 1987.

RAY, A.; VASUDEVAN, S.; SENGUPTA, S. 6-Shogaol Inhibits Breast Cancer Cells and Stem Cell-Like Spheroids by Modulation of Notch Signaling Pathway and Induction of Autophagic Cell Death. **Plos One,** v. 10 , n. 9, p. 1–22, 2015.

UNIVERSITY OF BRISTOL. **The Molecule of the Month**. Disponível em: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/motm.htm>. Acesso em: 02 de julho de 2017.