

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

Fabício Loreni da Silva Cerutti

Cristiane Rickli Barbosa

Lais Daiene Cosmoski

(Organizadores)

Atena
Editora

Ano 2018

Fabrício Loreni da Silva Cerutti
Cristiane Rickli Barbosa
Lais Daiene Cosmoski
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

**Atena Editora
2018**

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615	Biomedicina e farmácia: aproximações / Organizadores Fabrício Loreni da Silva Cerutti, Cristiane Rickli Barbosa, Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. Inclui bibliografia ISBN 978-85-85107-20-8 DOI 10.22533/at.ed.208182808 1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Cerutti, Fabrício Loreni da Silva. II. Barbosa, Cristiane Rickli. III. Cosmoski, Lais Daiene. CDD 610
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

E-mail: contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Em ciências da saúde destacam-se as áreas de Farmácia e Biomedicina. Desta forma, torna-se imprescindível o conhecimento acerca de análise clínicas e biotecnologia de fármacos.

A Coletânea Nacional “A Biomedicina e Farmácia Aproximações” é um e-book composto por 21 artigos científicos que abordam assuntos atuais, como a análise de produtos naturais, biotecnologia de fármacos, processos de isolamento, purificação caracterização de elementos biotecnológicos de fontes naturais, avaliação da utilização de novas tecnologias para fins farmacêuticos, avanços em análises clínicas, entre outros.

Mediante a importância, necessidade de atualização e de acesso a informações de qualidade, os artigos elencados neste e-book contribuirão efetivamente para disseminação do conhecimento a respeito das diversas áreas da farmácia e da biomedicina, proporcionando uma visão ampla sobre esta área de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Prof. MSc. Fabrício Loreni da Silva Cerutti

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ (<i>EUTERPE OLERACEA</i>)	
<i>Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Alane Alexandra da Silva Oliveira</i>	
<i>Maria Adriana Ferreira Farias</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 2	9
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> PARA PRODUÇÃO DE XAROPE COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	
<i>Marília Gomes dos Santos</i>	
<i>Mayludson Moreira de Andrade</i>	
<i>Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
CAPÍTULO 3	19
EFEITOS TERAPÊUTICOS DO FRUTO DA ACEROLEIRA (<i>MALPIGHIA GLABRA L.</i>)	
<i>Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Maria Fernanda Ferreira de Lima</i>	
<i>Yago Eudvan Neves</i>	
<i>Vanessa Camylla Bernardo de Oliveira</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 4	27
ESTUDO DO EFEITO CITOTÓXICO DA CURCUMINA EM PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES SOBRE LINHAGEM DE CÉLULAS TUMORAIS HRT-18	
<i>Daniel Brustolin Ludwig</i>	
<i>Thaysa Ksiaskiewicz Karam</i>	
<i>Katia Sabrina Paludo</i>	
<i>Rubiana Mara Mainardes</i>	
<i>Najeh Maissar Khalil</i>	
CAPÍTULO 5	38
NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA CARAMBOLA (<i>AVERRHOA CARAMBOLA L.</i>) EM PACIENTES QUE APRESENTAM LESÃO RENAL	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Izabella Cinthia Tôrres de Vasconcelos</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	

CAPÍTULO 6	45
TOXICIDADE DE <i>ECHINACEA PURPUREA</i> FRENTE À <i>ARTEMIA SALINA</i>	
<i>Denise Michelle Indras</i>	
<i>Julio Cezar dos Santos</i>	
<i>Priscila da Caz</i>	
<i>Victor Mateus Prasniewski</i>	
<i>Fernanda Coleraus Silva</i>	
<i>Ana Maria Itinose</i>	
CAPÍTULO 7	53
CARACTERIZAÇÃO DE INFECÇÃO PULMONAR EXPERIMENTAL POR <i>PAECILOMYCES VARIOTII</i> EM ANIMAIS NORMAIS E IMUNOCOMPROMETIDOS	
<i>Isaac Loreiro Cabral</i>	
<i>Izabela Virgínia Staffen</i>	
<i>José Henrique Fermino Ferreira dos Santos</i>	
<i>Thiago Oliveira dos Santos</i>	
<i>Eduardo Alexandre Loth</i>	
<i>Rafael Andrade Menolli</i>	
CAPÍTULO 8	63
LECTINAS VEGETAIS COMO FERRAMENTAS TERAPÊUTICAS: UMA REVISÃO	
<i>Juliete Lira de Souza Lima</i>	
<i>Isabella Coimbra Vila Nova</i>	
<i>Welton Aaron de Almeida</i>	
<i>Jeine Emanuele Santos da Silva</i>	
<i>Emmanuel Viana Pontual</i>	
<i>Joaquim Evêncio Neto</i>	
CAPÍTULO 9	79
ABORDAGENS DAS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS	
<i>Suelem Leite da Silva</i>	
<i>Dagoberto Riva</i>	
<i>Simona Renz Baldin</i>	
<i>Sônia de Lucena Mioranza</i>	
CAPÍTULO 10	90
AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA E COLESTEROL LDL EM PACIENTES ATENDIDOS PELO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ	
<i>Fernanda Weyand Banhuk</i>	
<i>Dayane Bassotto da Costa</i>	
<i>Taimara Brustolin</i>	
<i>Taise Regina Ficagna</i>	
<i>Thiago Luiz Fucuta de Moraes</i>	
CAPÍTULO 11	98
OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELLMAN PARA A DETERMINAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE EM ERITRÓCITOS	
<i>Fabiana Sari Ferreira</i>	
<i>Fernanda Coleraus Silva</i>	
<i>Ana Maria Itinose</i>	
<i>Carla Brugin Marek</i>	

CAPÍTULO 12 104

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY INDICATING HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF DAPAGLIFLOZIN IN TABLETS

Rafaela Zielinski Carvalho de Meira

Larissa Sakis Bernardi

Paulo Renato de Oliveira

CAPÍTULO 13 105

O EMPREGO DA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) NA DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS PARA RASTREAMENTO DE DOENÇAS

Irthylla Nayalle da Silva Muniz

Alane Alexandra da Silva Oliveira

Izabella Cinthia Tôrres Vasconcelos

Júlia Samara Ferreira da Silva

Layza Fernanda Gomes Bezerra

Raíssa Ferreira Soares

José Carlos Bernardo da Silva Filho

Carlos Eduardo Miranda de Sousa

CAPÍTULO 14 110

EFICIÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING*

Rosane Vaniski

Cristiane Canan

Deisy Alessandra Drunkler

CAPÍTULO 15 123

ANÁLISE DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE AMOXICILINA, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE PALMARES –PE.

Letícia Emanuele de Farias Barros

Ádila Priscila Felix do Nascimento

Stephanny de Fátima Alves da Silva

Ana Catarina Simonetti

Risonildo Pereira Cordeiro

CAPÍTULO 16 132

ANÁLISE DA ROTULAGEM DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS CONTENDO ÔMEGA-3 COMERCIALIZADOS EM CELEIROS DA CIDADE DE CASCAVEL-PR

Simona Renz Baldin

Gabrielle Racoski Custódio

Jaqueline Franciele Caetano de Oliveira

Luciana Oliveira de Fariña

CAPÍTULO 17 143

INATIVAÇÃO DE CONSERVANTES DE CREMES COMERCIAIS CONTENDO PROBIÓTICOS PARA AVALIAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE SUA VIABILIDADE

Ana Caroline da Costa

Luciana Oliveira de Fariña

Suzana Bender

Helena Teru Takahashi Mizuta

CAPÍTULO 18	148
FORMAÇÃO DE BIOFILMES POR LEVEDURAS PATOGÊNICAS	
<i>Izabel Almeida Alves</i>	
<i>Luciana Teresinha Adams Langer</i>	
<i>Raiza Lima do Carmo</i>	
<i>Keli Jaqueline Staudt</i>	
CAPÍTULO 19	169
BIOSSEGURANÇA NOS CENTROS DE EMBELEZAMENTO E ESTÉTICA DO MUNICÍPIO DE CASCAVEL- PR	
<i>Vanessa Bordin</i>	
<i>Débora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Leda Aparecida Vanelli Nabuco de Gouvêa</i>	
<i>Maristela Salete Maraschin</i>	
CAPÍTULO 20	180
DESENVOLVIMENTO DE PLANO OPERATIVO PARA PROMOÇÃO DO USO RACIONAL DE ANTIMICROBIANOS NA FARMÁCIA BÁSICA DE UM MUNICÍPIO DO MARANHÃO: RELATO DE EXPERIÊNCIA	
<i>Nágila Caroline Fialho Sousa</i>	
<i>Isabella Fernandes da Silva Figueiredo</i>	
<i>Mizael Calácio Araújo</i>	
<i>Saulo José Figueiredo Mendes</i>	
CAPÍTULO 21	190
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DESINFECÇÃO DE ARTIGOS SEMICRÍTICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA	
<i>Jéssica Rosin</i>	
<i>Fabiana Gonçalves de Oliveira Azevedo Matos</i>	
<i>Debora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Fabiana Severino Kupka</i>	
<i>Jéssica Martins Valter</i>	
<i>Adriana Souza</i>	
SOBRE OS ORGANIZADORES	201

ESTUDO DO EFEITO CITOTÓXICO DA CURCUMINA EM PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES SOBRE LINHAGEM DE CÉLULAS TUMORAIS HRT-18

Daniel Brustolin Ludwig

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Faculdade Guairacá (FAG)

Guarapuava – Paraná

Thaysa Ksiaskiewicz Karam

Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Maringá – Paraná

Katia Sabrina Paludo

Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Ponta Grossa – Paraná

Rubiana Mara Mainardes

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Guarapuava – Paraná

Najeh Maissar Khalil

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Guarapuava – Paraná

RESUMO: A curcumina, um polifenol extraído da planta *Curcuma longa*, é um composto de grande relevância no tratamento e prevenção de diversas patologias devido a suas propriedades biológicas, como antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória. Um problema relacionado a esta molécula, é o fato desta sofrer rápida degradação em pH neutro à básico, a qual pode ser minimizada com a adição de substâncias

com propriedades antioxidantes, como o ácido ascórbico. Com isto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito citotóxico da curcumina, na ausência ou na presença do antioxidante ácido ascórbico. Os ensaios sobre células de linhagem tumoral HRT-18, avaliados pelo método do MTT e pela morfologia celular, demonstraram aumento do efeito da curcumina com a associação do ácido ascórbico. Conclui-se que a curcumina, na presença de substâncias antioxidantes como o ácido ascórbico, tem sua estabilidade aumentada em meio fisiológico demonstrando um efeito complementar destas substâncias, garantindo desta forma um aumento na atividade citotóxica da curcumina.

PALAVRAS-CHAVE: Curcumina, antioxidante, atividade citotóxica.

ABSTRACT: The curcumin, a polyphenol extracted from the plant *Curcuma longa* is a compound of great relevance in the treatment and prevention of various diseases due to their biological properties such as antioxidant, anti-inflammatory and antitumoral. A problem related with this molecule is a fast degradation in neutral pH to basics, which can be minimized with the addition of substances with antioxidant properties, such as ascorbic acid. With this, the aim of this work was to evaluate the cytotoxic

effect of curcumin in the absence or in the presence of antioxidant ascorbic acid. Tests on tumor cell line, HRT-18, evaluated by MTT method and the cell morphology, demonstrated an increased effect of curcumin with the combination of ascorbic acid. It was concluded that curcumin in the presence of antioxidants as ascorbic acid have increased stability in physiological medium demonstrating a complementary effect of these substances, thus ensuring an increase in cytotoxic activity of curcumin.

KEYWORDS: Curcumin, antioxidant, cytotoxic activity.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Estresse Oxidativo

O meio ambiente possui uma relação direta com a saúde, pois por meio dele o organismo humano entra em contato com diversas substâncias químicas e poluentes, o que afeta diretamente os estados de saúde e doença. E essa exposição constante a inúmeros fatores que estão presentes no meio ambiente podem levar ao surgimento de diversas patologias, entre elas o câncer, problemas crônicos de pulmão, diabetes e também a problemas neurodegenerativos (FRANCO et al., 2009; HOPPS et al., 2010), apresentando relação direta com os processos inflamatórios crônicos (REUTER et al., 2010). Com a importância dessa relação, entre fatores existentes no meio ambiente e problemas de saúde, esse assunto tornou-se tópico de saúde pública, despertando assim maior interesse na comunidade científica (FRANCO et al., 2009).

A condição biológica onde ocorre o desequilíbrio no organismo entre a produção de espécies reativas do oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante do mesmo para combater os intermediários reativos e assim provocar a detoxificação do organismo chama-se estresse oxidativo (ROSENFELDT et al., 2013). Lipídeos, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos podem ser afetados por este desequilíbrio (BARGAGLI et al., 2009), podendo causar dano celular leve, e em maior intensidade, apoptose e necrose (ROSENFELDT et al., 2013).

1.2 Câncer

O câncer é definido como sendo uma doença causada pela divisão desordenada de células anormais, fato esse que ocorre por meio de um processo de mutação do DNA de células somáticas, onde muitos mecanismos tentam evitar esta divisão celular incontrolada, porém nem sempre são capazes disso (SA; DAS, 2008). Os fatores causadores do câncer são diversos, variando entre internos e externos ao organismo, sendo que essas geralmente são inter-relacionadas. Como causas internas estão principalmente os fatores genéticos e também os fatores relacionados a capacidade que o organismo possui em defender-se de agressões externas, já as causas externas estão relacionadas ao meio ambiente e aos hábitos e costumes, tanto social como

cultural. Estima-se que 5-10% dos casos de cânceres humanos são por fatores genéticos, enquanto os demais casos são por estilo de vida, como o fumo, exposição à radiação solar direta, radiação ionizante, hábitos alimentares, entre outros. Pode ocorrer a somatória desses fatores em um mesmo indivíduo, sendo que essa interação de fatores pode aumentar a probabilidade de transformações de células normais em células malignas (ANAND et al., 2008; INCA, 2016).

1.3 Curcumina

A curcumina [1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona], é um polifenol amarelo extraído do rizoma da *Curcuma longa*, uma planta tropical do Sudeste da Ásia, pertencente a família Zingiberaceae (PRIYADARSINI, 2009).

As atividades biológicas da curcumina são bem descritas na literatura, sendo encontrados estudos mostrando sua atividade frente ao tratamento de problemas respiratórios como asma e alergia, sendo também relatado boas atividades contra problemas de fígado, anorexia, reumatismo, diabetes e sinusite (SHAIKH et al., 2009). Além disso, há estudos que demonstram que a curcumina apresenta atividade contra várias doenças crônicas que apresentam inflamação, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, epilepsia, problemas cerebrais, psoríase, colite e AIDS (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009).

Outras atividades já relatadas da curcumina incluem a capacidade de prevenir e tratar diferentes tipos de câncer e outras doenças crônicas (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008; KÖSTEL; BORA-TATAR; ERDEM-YURTER, 2012). Este polifenol, além de alvos isolados, como por exemplo, COX-2, TNF, HER-2, possui ação sobre diversos alvos múltiplos, entre eles: citocinas inflamatórias, enzimas, fatores de crescimento, receptores, moléculas de adesão, proteínas anti-apoptóticas, proteínas quinases e fatores transcripcionais (KUNNUMAKKARA; ANAND; AGGARWAL, 2008).

1.4 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico possui uma atividade essencial no organismo humano, pois ele é considerado um dos antioxidantes mais importantes, o qual desempenha papel fundamental na prevenção de doenças (LI; FRANKE, 2009). Os derivados do ácido ascórbico possuem um perfil antioxidante muito semelhante ao perfil que o ácido ascórbico possui, dessa maneira estes derivados também são amplamente utilizados, porém aqueles que possuem uma cadeia alquila são os preferidos, devido a interação dessas cadeias com a parte hidrofóbica da membrana. Em relação a utilização, tanto do ácido como de seus derivados, os mesmos são utilizados em forma de drogas antioxidantes, ou mesmo em estudos que buscam tratamentos de linhagens tumorais (MORIBE et al., 2011).

Muitos estudos vêm sendo conduzidos no que diz respeito as atividades anticarcinogênicas e antioxidantes do ácido ascórbico, tanto de maneira isolada,

comparativa ou como de associação com outras substâncias antioxidantes. Já foram realizados estudos que avaliaram os efeitos da associação do ácido ascórbico com a curcumina sobre o dano nuclear ao DNA induzido pela quercetina, a peroxidação lipídica e a degradação proteica, sendo que os resultados obtidos mostraram que tanto o ácido ascórbico quanto a curcumina apresentam atividade antioxidante, mas também apresentam atividade pró-oxidante, e que essa diferença de atividade ocorre dependendo da presença e concentração de metais como ferro e cobre (SAHU; WASHINGTON, 1992)

Dessa maneira, com os diversos relatos na literatura sobre as atividades antioxidantes do ácido ascórbico e da curcumina, tanto separadamente como em conjunto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da curcumina na ausência ou na presença do ácido ascórbico em linhagens de células tumorais HRT-18, para a determinação de um possível efeito sinérgico entre a curcumina e o ácido ascórbico.

2 | METODOLOGIA

Células de tumor colorretal humano (HRT-18) obtidas da American Type Culture Collectio – ATCC (Rockville, MD, EUA), foram cultivadas em meio RPMI-1640 contendo 5-10% de soro fetal bovino e mantidas a 37 °C a 5% de CO₂. O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo método colorimétrico utilizando MTT-tetrazólio; [3-(4,5-dimetiazol-2il-2,5-brometo de difeniltetrazólio)] através de metodologia descrita por Stockert et al. (2012). As células suspensas foram distribuídas em placas de 96 poços na quantidade de 2,5x10⁴ células/mL e incubadas por 24h a 37 °C com 5% CO₂. Passado este tempo as células foram tratadas com curcumina (30 µM a 10 µM) e ácido ascórbico (12,5 µg.mL⁻¹ a 0,39 µg.mL⁻¹), livres e em associação, por 24 e 48 horas nas mesmas condições anteriores. Após este período os poços foram lavados 3x com tampão PBS e em seguida adicionados 70 µL de MTT. Depois de 2 horas de incubação, o MTT foi retirado e adicionado 50 µL de etanol e 150 µL de uma solução contendo tampão PBS e isopropanol (1:1) para a solubilização dos cristais de formazan. A leitura do teste foi feita em 570 nm e 630 nm, sendo a absorbância proporcional ao número de células vivas. Os experimentos foram realizados em triplicatas e os resultados analisados através de média e desvio padrão.

3 | RESULTADOS

As análises morfológicas das células após o tratamento de 24 h mostraram que os controles, ou seja, as células que não receberam nenhum tratamento ou foram tratadas apenas com o solvente (etanol), e as células que foram tratadas com diferentes concentrações de curcumina e ácido ascórbico separadamente, não apresentaram nenhuma diferenciação na morfologia. Porém, as células que foram tratadas com a

associação da curcumina com o ácido ascórbico apresentaram alterações morfológicas (Tabela 1), algumas alterações ocorreram de maneira bastante discreta, mas em intensidade suficiente para mostrar diferenças em relação aos controles.

A análise dos resultados obtidos permitiu observar que a associação das duas substâncias provocou alterações morfológicas na maioria das amostras, mesmo que de maneira discreta, com exceção na associação da maior concentração de curcumina (C1 = 30 μM) com a menor concentração de ácido ascórbico (V6 = 0,39 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) (Tabela 1).

Amostra	Análise morfológica
Controle	Normal
Controle etanol	Normal
V1 a V6	Normal
C1 a C4	Normal
V1C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V1C2 e V1C3	Vacuolização e arredondamento discretos
V1C4	Sem alterações
V2C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V2C2 e V2C4	Normal
V2C3	Vacuolização discreta
V3C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V3C2	Vacuolização e arredondamento discretos
V3C3 e V3C4	Vacuolização
V4C1 e V4C2	Vacuolização e arredondamento discretos
V4C3 e V4C4	Vacuolização discreta
V5C1	Vacuolização e arredondamento discretos
V5C2, V5C3 e V5C4	Vacuolização discreta
V6C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma acentuados
V6C2, V6C3 e V6C4	Vacuolização discreta

Tabela 1: Análise morfológica no ensaio de atividade citotóxica da curcumina (C) em associação ao ácido ascórbico (V) sobre células de linhagem tumoral HRT-18 no período de 24 horas. C1 (30 μM); C2 (20 μM); C3 (15 μM); C4 (10 μM); V1 (12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V2 (6,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V3 (3,125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V4 (1,56 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V5 (0,78 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e V6 (0,39 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Com os dados obtidos por meio do ensaio com MTT foi possível observar um possível sinergismo quando utilizado o ácido ascórbico em associação à curcumina (Figura 1).

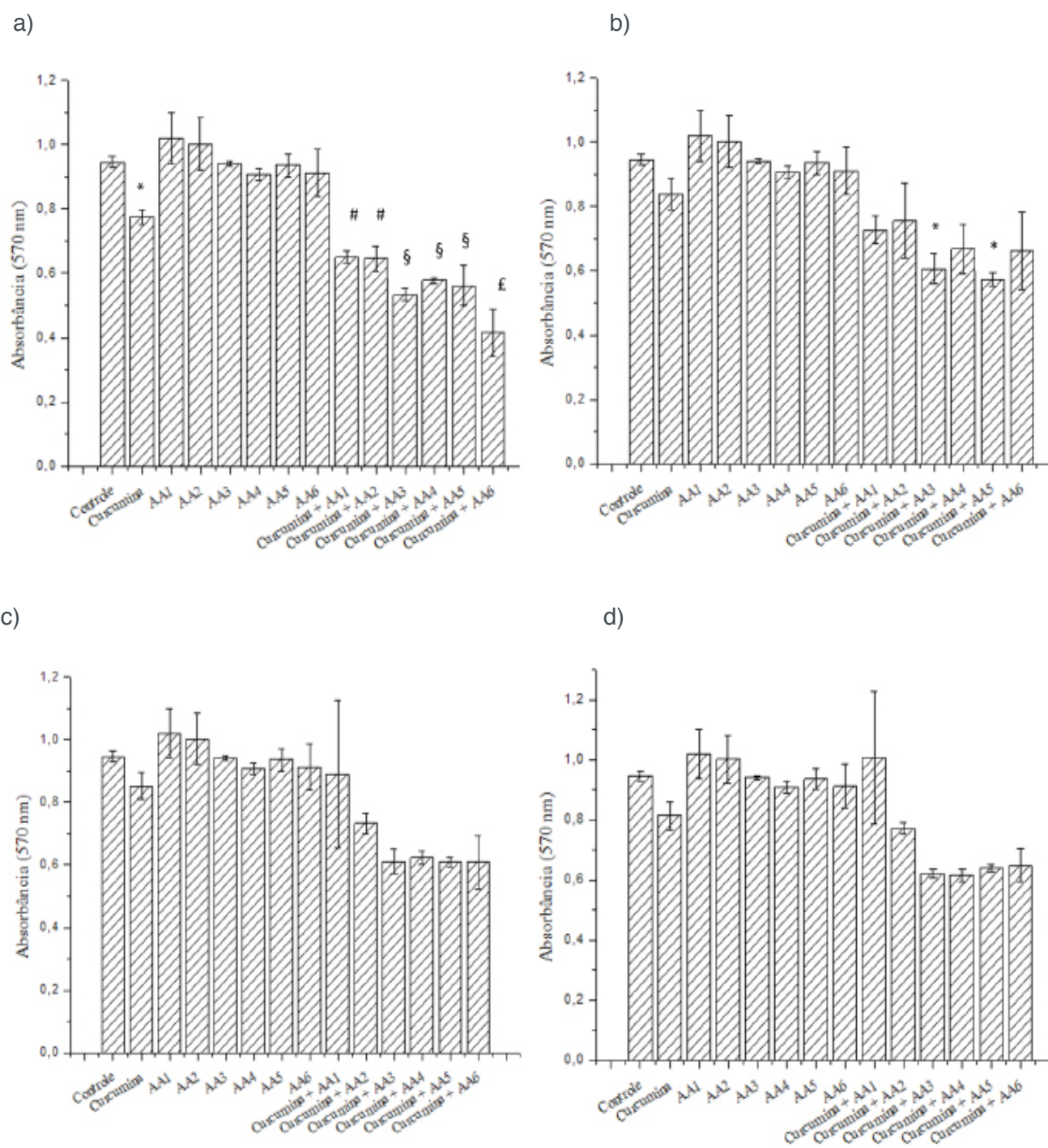


Figura 1: Associação curcumina / ácido ascórbico (AA) testada em células HRT-18 no período de 24h. a) Curcumina 30 μM ; b) Curcumina 20 μM ; c) Curcumina 15 μM ; d) Curcumina 10 μM . AA1 (12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA2 (6,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA3 (3,125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA4 (1,56 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA5 (0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e AA6 (0,39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). *, #, § e ε apresentaram diferença estatística entre si e em relação ao controle ($p < 0,05$).

Na figura 1 foi possível observar uma ação sinérgica do ácido ascórbico (3,125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) com a curcumina, apresentando diferença em relação a ação da curcumina utilizada de maneira isolada. Na análise de 24 horas das ações da curcumina nas concentrações de 15 μM e 10 μM , quando associado o ácido ascórbico não houve uma diferença significativa em relação à ação delas de maneira isolada (Figura 1).

Nas análises morfológicas das células HRT-18 no período de 48 horas (Tabela 2), assim como nas células observadas em 24 horas, os controles e as substâncias utilizadas isoladamente não apresentaram alterações na morfologia. As associações do ácido ascórbico com a curcumina promoveram alterações morfológicas em quase todas as associações, com exceção de V1C3 e V1C4, ou seja, ácido ascórbico (V1) na concentração de $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e curcumina (C3 e C4) nas concentrações de $15 \mu\text{M}$ e $10 \mu\text{M}$.

A maior alteração morfológica neste período de tempo ocorreu na associação V3C1, com o ácido ascórbico na concentração de $3,125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (V3) e a curcumina (C1) de $40 \mu\text{M}$, o que foi confirmado pela avaliação de citotoxicidade por meio método de MTT, demonstrando que houve uma maior morte celular nesta associação (Figura 2).

Amostra	Análise morfológica
Controle	Normal
Controle etanol	Normal
V1 a V6	Normal
C1 a C4	Normal
V1C1 e V1C2	Vacuolização discreta
V1C3 e V1C4	Normal
V2C1, V2C2, V2C3 e V2C4	Vacuolização discreta
V3C1	Arredondamento, retração do citoplasma e debris celular
V3C2, V3C3 e V3C4	Vacuolização discreta
V4C1	Vacuolização e arredondamento discretos
V4C2, V4C3 e V4C4	Vacuolização
V5C1, V5C2 e V5C3	Vacuolização e arredondamento discreto
V5C4	Vacuolização
V6C1 e V6C2	Vacuolização, arredondamento discreto
V6C3 e V6C4	Vacuolização

Tabela 2: Análise morfológica no ensaio de atividade citotóxica da curcumina (C) em associação ao ácido ascórbico (V) sobre células de linhagem tumoral HRT-18 no período de 48 horas. C1 ($30 \mu\text{M}$); C2 ($20 \mu\text{M}$); C3 ($15 \mu\text{M}$); C4 ($10 \mu\text{M}$); V1 ($12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V2 ($6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V3 ($3,125 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V4 ($1,56 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V5 ($0,78 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e V6 ($0,39 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

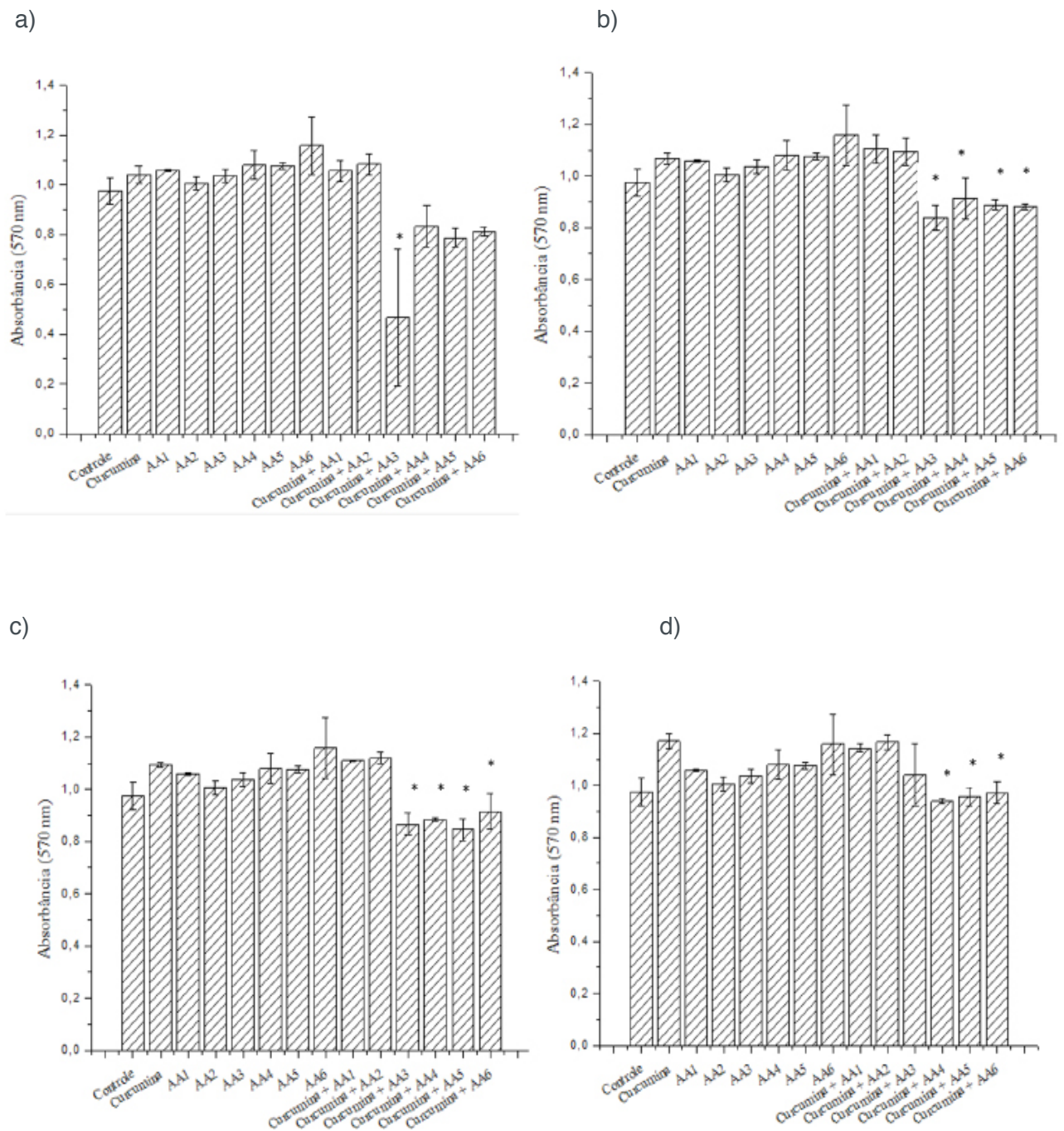


Figura 2: Associação curcumina / ácido ascórbico (AA) testada em células HRT-18 no período de 48h. a) Curcumina 30 μM; b) Curcumina 20 μM; c) Curcumina 15 μM; d) Curcumina 10 μM. AA1 (12,5 μg.mL⁻¹), AA2 (6,25 μg.mL⁻¹), AA3 (3,125 μg.mL⁻¹), AA4 (1,56 μg.mL⁻¹), AA5 (0,78 μg.mL⁻¹) e AA6 (0,39 μg.mL⁻¹). * apresentou diferença estatística em relação ao controle (p < 0,05).

4 | DISCUSSÃO

A maneira de prevenir que ocorram metástases de um foco inicial em um tumor é o diagnóstico precoce, sendo de extrema importância esse diagnóstico precoce no caso dos tumores colorretais, os quais acometem tanto o cólon (segmento do intestino grosso) quanto o reto, pois possibilita uma melhor chance de cura (INCA 2016). Uma característica deste tipo de tumor é uma elevada expressão do gene que regula a COX-2 (DUBOIS; SMALLEY 1996), sendo que a mesma pode estar mais elevada

quando o pH do meio intracelular estiver mais alcalino (PIRKEBNER et al. 2004).

Para o tratamento de tumor colorretal, por exemplo, a linhagem de células HRT-18, podem ser utilizadas substâncias com atividade antitumoral conhecida, como o 5-fluorouracil (CONDE et al., 2013) podendo-se associar com oxaliplatina, porém existem alguns efeitos que fazem com que o tratamento seja mais desgastante para o paciente pela alta quantidade de efeitos colaterais (PUCCIARELLI et al., 2006). Uma alternativa promissora para o tratamento de tumores colorretais é a curcumina, pois além de possuir atividade antitumoral, também age na inibição da expressão do gene regulador da COX-2 (AGGARWAL; KUMAR; BHARTI, 2003; ANAND et al., 2008; WILKEN et al., 2011), enzima que está em concentração elevada nestes tipos de tumores (DUBOIS; SMALLEY, 1996).

Como o ácido ascórbico possui a capacidade de induzir apoptose nesta linhagem de células tumorais (KIM; KANG; LEE, 2012) e em outras variações do meio onde se encontram as células tumorais, como na redução da expressão gênica da COX-2 (PIRKEBNER et al., 2004), este passa a ser uma alternativa como adjuvante à atividade antitumoral da curcumina.

Com a análise dos dados obtidos nesse estudo, foi possível verificar que a associação entre o ácido ascórbico e a curcumina em determinadas concentrações demonstraram uma melhora na atividade frente as células tumorais, sendo interessante que os melhores resultados foram quando houveram as associações da curcumina com as menores concentrações de ácido ascórbico. Esse resultado pode ter ocorrido devido a proteção contra a degradação da curcumina em meio fisiológico que o ácido ascórbico promoveu (OETARI et al., 1996), ou seja, pela possível ação no favorecimento da apoptose das células tumorais (KIM; KANG; LEE, 2012).

5 | CONCLUSÃO

Com a associação da curcumina ao ácido ascórbico foi possível concluir que a atividade frente a linhagem tumoral HRT-18 foi melhorada, uma vez que a atividade da associação foi melhor do que a atividade dos compostos isolados. A associação pode ter acarretado uma proteção da degradação da curcumina em meio fisiológico, fato esse realizado pelo ácido ascórbico, o qual permitiu uma estabilidade maior da curcumina possibilitando uma maior atividade, e também outro ponto interessante é a maior sensibilidade que a linhagem celular HRT-18 possui frente ao ácido ascórbico, o qual pode induzir a apoptose nas mesmas. A associação da curcumina ao ácido ascórbico demonstrou ser promissora, porém, mais testes são necessários para a comprovação da eficácia dessa associação.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 41, n. 1, p. 40–59, 2009.
- AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: Preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, v. 23, n. 1 A, p. 363–398, 2003.
- ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. **Cancer Letters**, v. 267, n. 1, p. 133–164, 2008.
- BARGAGLI, E. et al. Oxidative stress in the pathogenesis of diffuse lung diseases: A review. **Respiratory Medicine**, v. 103, n. 9, p. 1245–1256, 2009.
- CONDE, S. et al. Neoadjuvant oral vs. infusional chemoradiotherapy on locally advanced rectal cancer: Prognostic factors. **Reports of Practical Oncology and Radiotherapy**, v. 18, n. 2, p. 67–75, 2013.
- DUBOIS, R. N.; SMALLEY, W. E. Cyclooxygenase, NSAIDs, and colorectal cancer. **Journal of Gastroenterology**, v. 31, n. 6, p. 898–906, 1996.
- FRANCO, R. et al. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Trois. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 674, n. 1–2, p. 3–22, 2009.
- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787–809, 2008.
- HOPPS, E. et al. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 20, n. 1, p. 72–77, 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2016**. [s.l.: s.n.].
- KIM, J. E.; KANG, J. S.; LEE, W. J. Vitamin C induces apoptosis in human colon cancer cell line, HCT-8 via the modulation of calcium influx in endoplasmic reticulum and the dissociation of bad from 14-3-3 β . **Immune Network**, v. 12, n. 5, p. 189–95, 2012.
- KÖSTEL, A. S.; BORA-TATAR, G.; ERDEM-YURTER, H. Spinal muscular atrophy: An oxidative stress response counteracted with curcumin. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 2, n. 2, p. 61–66, 2012.
- KUNNUMAKKARA, A. B.; ANAND, P.; AGGARWAL, B. B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 199–225, 2008.
- LI, X.; FRANKE, A. A. Fast HPLC-ECD analysis of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and uric acid. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 10, p. 853–856, 2009.

- MORIBE, K. et al. Drug nanoparticle formulation using ascorbic acid derivatives. **Journal of Drug Delivery**, v. 2011, p. 1–9, 2011.
- OETARI, S. et al. Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. **Biochemical Pharmacology**, v. 51, n. 1, p. 39–45, 1996.
- PIRKEBNER, D. et al. Reduction of Intracellular pH Inhibits Constitutive Expression of Cyclooxygenase-2 in Human Colon Cancer Cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 198, n. 2, p. 295–301, 2004.
- PRIYADARSINI, K. I. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81–95, 2009.
- PUCCIARELLI, S. et al. 5-Fluorouracil and Weekly Oxaliplatin Combined with Radiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: Surgical Complications and Long-term Results. **Archives of Medical Research**, v. 37, n. 7, p. 860–865, 2006.
- REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 2010.
- ROSENFELDT, F. et al. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. **Experimental Gerontology**, v. 48, n. 1, p. 45–54, 2013.
- SA, G.; DAS, T. Anti cancer effects of curcumin: Cycle of life and death. **Cell Division**, v. 3, p. 14, 2008.
- SAHU, S. C.; WASHINGTON, M. C. Effect of ascorbic acid and curcumin on quercetin-induced nuclear DNA damage, lipid peroxidation and protein degradation. **Cancer Letters**, v. 63, n. 3, p. 237–241, 1992.
- SHAIKH, J. et al. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3–4, p. 223–230, 2009.
- STOCKERT, J. C. et al. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochemica**, v. 114, n. 8, p. 785–796, 2012.
- WILKEN, R. et al. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. **Molecular Cancer**, v. 10, n. 12, p. 2–19, 2011.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Fabício Loreni da Silva Cerutti Coordenador de Curso do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE). Professor adjunto do Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico (ILAPEO). Tecnólogo em Radiologia pela Universidade Tecnologia Federal do Paraná (UTFPR). Mestre e doutorando em Engenharia Biomédica pelo programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI) da UTFPR. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de diagnóstico por imagem, física nuclear, controle de qualidade e simulação computacional.

Cristiane Rickli Barbosa Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Fisioterapia. Professora adjunta da Unicesumar (Unidade Ponta Grossa), no curso de Bacharelado em Biomedicina. Bacharel em Biomedicina pela Unicesumar (Unidade Maringá). Mestre e Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Possui experiência no desenvolvimento de pesquisas na área de análises clínicas e avaliação de processos fisiopatológicos.

Lais Daiene Cosmoski Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Farmácia. Analista clínica no Laboratório do Hospital Geral da Unimed (HGU). Bacharel em Biomedicina pelas Universidades Integradas do Brasil (UniBrasil). Especialista em Circulação Extracorpórea pelo Centro Brasileiro de Ensinos Médicos (Cebramed) Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-85107-20-8



9 788585 107208