

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

THIAGO PRIMO BANDEIRA CITÓ

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO FLAVONOÍDE
CIRSITAKAOSIDE OBTIDO A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
PARTES AÉREAS DE *Scoparia dulcis*. L. EM CÉLULAS TUMORAIS MCF-7**

SÃO LUÍS – MA

2022

THIAGO PRIMO BANDEIRA CITÓ

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO FLAVONÓIDE
CIRSITAKAOSIDE OBTIDO A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
PARTES AÉREAS DE *Scoparia dulcis*. L. EM CÉLULAS TUMORAIS MCF-7**

Trabalho de conclusão de curso (TCC)
apresentado pelo acadêmico Thiago Primo
Bandeira Citó à banca examinadora, sendo um
requisito obrigatório para a obtenção do título
de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Quintino da Rocha

SÃO LUÍS – MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Citó, Thiago Primo Bandeira.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO FLAVONÓIDE
CIRSITAKAOSIDE OBTIDO A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
PARTES AÉREAS DE *Scoparia dulcis*. L. EM CÉLULAS TUMORAIS
MCF-7 / Thiago Primo Bandeira Citó. - 2022.

62 f.

Orientador(a): Claudia Quintino da Rocha.
Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2022.

1. Atividade antiproliferativa. 2. Câncer de mama. 3.
Cirsitakaoside. 4. MCF-7. I. Rocha, Claudia Quintino da.
II. Título.

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DO FLAVONÓIDE
CIRSITAKAOSIDE OBTIDO A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
PARTES AÉREAS DE *Scoparia dulcis*. L. EM CÉLULAS TUMORAIS MCF-7**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado à Coordenação do curso de farmácia da Universidade Federal do Maranhão, sendo um requisito obrigatório para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Quintino da Rocha.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª Cláudia Quintino da Rocha

Prof^ª. Dr^ª. Sally Cristina Moutinho Monteiro

Prof. Dr. Renato Sonchini Gonçalves

São Luís – MA

2022

Agradecimentos

A Deus, em primeiro lugar, que me permitiu chegar até aqui, e me deu saúde e concedeu sua bênção para que eu chegasse até a final.

Aos meus pais, Auricélia e Márcio, por terem investido na minha educação no qual contribuiu grandemente para minha formação.

Ao Jhone, meu companheiro, no qual quero levar para vida, e me deu todo o apoio durante minha jornada.

A minha orientadora, Dr^a Claudia Quintino, por ter me acolhido e por ter prestado toda a orientação necessária para realização desta pesquisa.

Ao Marcos, Aldilene, Jessyane e a todo LQPN pelo empenho e auxílio no desenvolvimento desta pesquisa.

A professora Juliana Serpeloni, pelo trabalho de cooperação para os ensaios *in vitro*, que foram necessários pro desenvolvimento desta pesquisa

A todos os professores responsáveis pela minha formação acadêmica.

A minha família, pelos momentos de alegria e pelo incentivo durante a graduação.

A Rejane, pessoa no qual me orientou no início da graduação e me convenceu a continuar no curso.

A todos da Turma 93, do curso de farmácia, pelo apoio nos momentos difíceis e por ter compartilhado bons momentos nessa caminhada.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: *Scoparia dulcis* (Vassourinha)

Figura 2: Estrutura química de um flavonoide

Figura 3: Ensaio de migração *Transwell*

Figura 4: Ensaio de cicatrização de feridas.

Figura 5: Ensaio de migração celular a partir de esferoide em 3D.

Figura 6: Identificação do *Cirsitakaoside* no HPLC

Figura 7: Espectro de massas obtido para o *Cirsitakaoside*

Figura 8: Esquema de formação dos esferoides

Figura 9: Gráfico de viabilidade de células MCF-7 em monocamada

Figura 10: Viabilidade dos esferoides de células MCF-7 tratadas com diferentes concentrações do *Cirsitakaoside*

Figura 11: Imagens comparativa de contraste de fase dos esferóides

Figura 12: Avaliação da proliferação celular em monocamada

Figura 13: Curva de crescimento dos esferoides

Figura 14: Viabilidade dos esferoides de células MCF-7

Figura 15: Quantificação das espécies reativas

Figura 16: Ensaio de migração e invasão celular 2D

Figura 17: Imagens representativas do fechamento da ranhura por células MCF-7

Figura 18: Área de migração celular para a matriz extracelular

Figura 19: Imagens representativas do crescimento dos esferoides de células MCF-7

Figura 20: Dano ao DNA em células MCF-7

Figura 21: Expressão relativa de genes relacionados à proliferação e controle do ciclo celular

Figura 22: Expressão relativa de genes associados à morte celular, avaliados em células MCF-7

Figura 23: Expressão relativa de genes relacionado a adesão, invasão e migração celular

Tabela 1: Quantificação dos RNAs obtidos de células MCF-7 cultivadas em esferoides

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

BSA – Albumina de soro bovino

CIR – Cirsitakaoside

CT – Ciclo Total

DMSO – Dimetilsulfóxido

DT – Docetaxel

DXR – Doxorubicina

EMT – Esferoide Multicelular Tumoral

Ers – Espécies Reativas Intracelulares

FBS – Soro Fetal Bovino

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

OMS – Organização Mundial de Saúde

PBS – Tampão Fosfato Salino

SV – Solvente

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

UEL – Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2.REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.OBJETIVO	17
3.1. Objetivo geral	17
3.2. Objetivos específicos	17
4.METODOLOGIA	17
4.1. Obtenção da matéria-prima vegetal;	17
4.2. Obtenção do extrato etanólico;	18
4.3. Obtenção e identificação do flavonoide CIR;.....	18
4.4. Linhagem celular e condições de cultura.....	18
4.5. Cultura de esferóides 3D.....	19
4.6. Viabilidade celular (Ensaio de redução de Resazurina)	19
4.7. Avaliação do estresse oxidativo.....	20
4.8. Avaliação da proliferação das células em monocamada.....	20
4.9. Avaliação do crescimento, morfologia e integridade dos esferóides.....	21
4.10. Avaliação da migração celular em monocamada (<i>wound healing assay</i> e <i>transwell</i>)	21
4.11. Avaliação de migração celular em esferóides.....	23
4.12. Avaliação de danos ao DNA.....	24
4.13. Avaliação da expressão gênica	25
4.14. Análise estatística	27
5.RESULTADOS	27
5.1. Determinação de rendimento do extrato bruto	27
5.2. Determinação de rendimento e identificação do composto CIR	27
4.3. Ensaios <i>in vitro</i>	29
4.3.1. Padronização dos esferóides de MCF-7	29
4.3.2.Ensaio de viabilidade celular (resazurina)	31
4.3.2.1. Ensaios de viabilidade celular em monocamada	31
4.3.2.2. Ensaios de viabilidade celular em esferóides	33
4.3.3. Avaliação da proliferação celular.....	35
4.3.3.1. Avaliação da proliferação de células em monocamada (Ensaio clonogênico).35	
4.3.3.2. Avaliação do crescimento, morfologia e integridade dos esferóides	37
4.3.3.3. Avaliação do desbalanço no estado redox por meio da sonda CM-H2DCFDA	39
4.3.4. Avaliação de migração celular	39

4.3.4.1. Ensaio de migração celular em monocamada (2D).....	40
4.3.4.2. Ensaio de migração do esferoide em matriz extracelular (3D)	43
4.4. Avaliação de danos ao DNA.....	45
4.4.1. Avaliação da expressão gênica por RT-qPCR	45
4.4.2. Avaliação dos genes relacionados a proliferação e controle do ciclo celular	47
4.4.3. Genes relacionados a morte celular.....	48
4.4.4. Genes relacionados a adesão, invasão e migração celular	49
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO.....	54
7. REFERÊNCIAS	55