

# 11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012  
16-19 Setembro

**Atas**

ISBN  
978-972-745-141-8



## **Caracterização fenólica e avaliação da atividade antiproliferativa de *Fistulina hepatica* e *Suillus collinitus* em linhas celulares tumorais humanas**

Josiana Vaz<sup>a,b,c,d</sup>, Catarina Tavares<sup>b</sup>, Gabriela M. Almeida<sup>b</sup>, Anabela Martins<sup>a</sup>, M. Helena Vasconcelos<sup>b,d</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>CIMO- Instituto Politécnico de Bragança

<sup>b</sup>IPATIMUP- Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto

<sup>c</sup>CEQUIMED- Centro de Química Medicinal da Universidade do Porto

<sup>d</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto

\* iferreira@ipb.pt

**Palavras chave:** *Fistulina hepatica*; *Suillus collinitus*; potencial antitumoral; ácidos fenólicos

### **RESUMO**

Neste trabalho, avaliou-se a atividade antiproliferativa de extratos metanólicos, etanólicos e em água fervente de *Fistulina hepatica* e *Suillus collinitus*, dois cogumelos comestíveis do Nordeste de Portugal, em linhas celulares tumorais humanas. Determinaram-se ainda, cromatograficamente, os ácidos fenólicos presentes nos extratos metanólicos. Ao contrário dos extratos de *Fistulina hepatica* que não revelaram nenhuma atividade à máxima concentração testada (400 µg/mL), o extrato metanólico de *Suillus collinitus* foi bastante potente, particularmente em células MCF-7 (GI<sub>50</sub> 25,2±0,2 µg/mL), induzindo alterações no seu ciclo celular, aparentemente por um efeito mediado pela p53, e aumentando a percentagem de células apoptóticas.

### **1. INTRODUÇÃO**

Os cogumelos são uma importante fonte de compostos bioativos, com potencial antitumoral e propriedades imunoestimuladoras [1]. Por outro lado, podem ter potencial como alimentos funcionais e fonte de nutracêuticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade inibitória do crescimento de linhas celulares tumorais humanas de diferentes extratos de duas espécies de cogumelos silvestres comestíveis do Nordeste Português: *Fistulina hepatica* e *Suillus collinitus*.

### **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

A caracterização química das amostras foi efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de díodos (HPLC-DAD) [2]. A inibição do crescimento celular foi avaliada com o ensaio Sulforrodamina B em quatro linhas celulares tumorais humanas (NCI-H460- pulmão, MCF-7- mama, HCT-15- cólon e AGS- estômago). Os

efeitos sobre o perfil do ciclo celular e apoptose foram avaliados por citometria de fluxo e o efeito sobre os níveis de expressão de proteínas relacionadas com ciclo celular e apoptose celular, foi investigado por Western blotting.

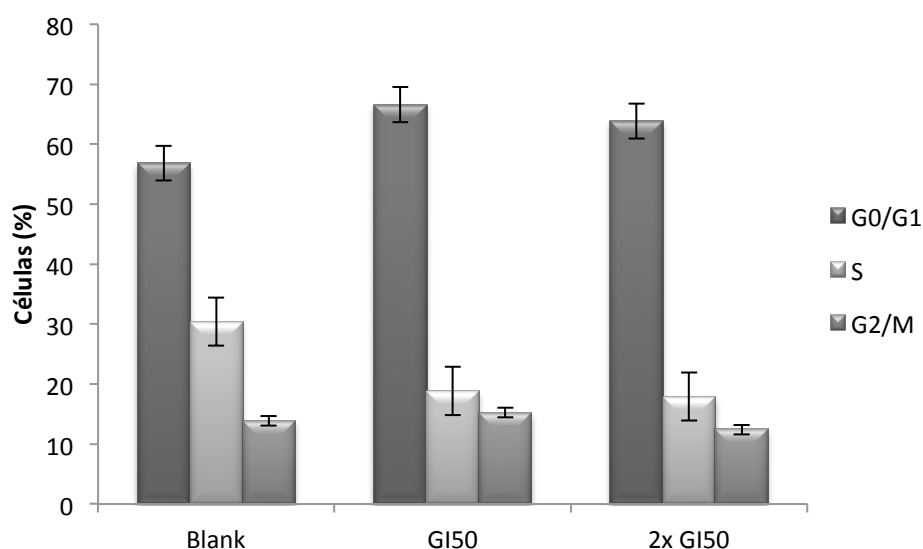
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao contrário do extrato de *Fistulina hepatica* que não revelou nenhuma atividade à máxima concentração testada (400 µg/mL), o extrato metanólico de *Suillus collinitus* foi bastante potente, particularmente em células MCF-7 ( $GI_{50}$   $25,2 \pm 0,2$  µg/mL) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade inibitória do crescimento de linhas celulares tumorais humanas por extratos de *Fistulina hepatica* e *Suillus collinitus*.

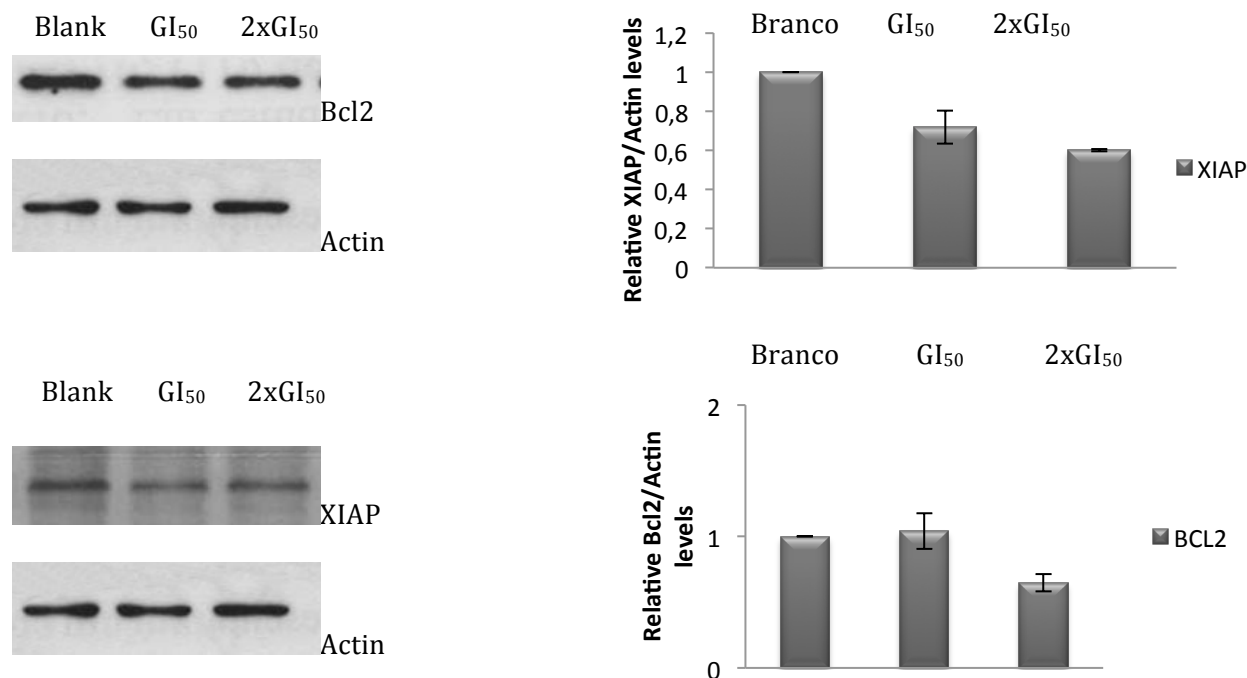
Cogumelo	Extrato	NCI-H460	MCF-7	HCT-15	AGS
<i>Fistulina hepatica</i>	Metanólico	> 400	> 400	> 400	> 400
	Etanólico	> 400	> 400	> 400	> 400
	Água a ferver	> 400	> 400	> 400	> 400
<i>Suillus collinitus</i>	Metanólico	$62,5 \pm 6,3$	$25,2 \pm 0,16$	$103,2 \pm 9,9$	$79,2 \pm 15,5$
	Etanólico	$253,7 \pm 2,3$	$101,8 \pm 8,9$	$139,4 \pm 34,1$	$170,7 \pm 35$
	Água a ferver	> 400	> 400	> 400	> 400

Numa concentração correspondente ao valor de  $GI_{50}$ , o extrato metanólico de *S. collinitus* induziu um sequestro dessas células na fase G1 do ciclo celular, com uma concomitante diminuição da percentagem de células na fase S (Figura 1).



**Figura 1.** Efeitos no ciclo celular de células MCF-7 tratadas com o extrato metanólico de *Suillus collinitus* durante 48h à concentração do  $GI_{50}$  ( $25,2$  µg/mL) ou ao dobro de  $GI_{50}$  ( $50,4$  µg/mL).

Causou ainda um aumento da percentagem de células apoptóticas de  $6,0 \pm 0,2\%$  para  $15,3 \pm 2,0\%$  e um forte aumento dos níveis de p53, p21 e PARP clivada, associado a uma diminuição da Bcl-2 e XIAP (Figura 2).



**Figura 2.** Células MCF-7 tratadas durante 48h com o meio completo (branco) ou com o extrato à concentração de GI<sub>50</sub> (25,2 µg/mL) ou 2×GI<sub>50</sub> (50,4 µg/mL). Actina- controle.

No entanto, foi a *Fistulina hepatica* que apresentou a maior concentração de ácidos fenólicos (111,72 mg/kg massa seca) no extrato metanólico, devido à significativa contribuição dos ácidos protocatéquico (67,62 mg/Kg) e *p*-hidroxibenzoico (41,92 mg/kg) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Concentração de ácidos fenólicos (mg /kg massa seca) determinada nas amostras de cogumelo em estudo.

	Ácido protocatéquico	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	Ácido <i>p</i> -cumárico	Ácido cinâmico	Total
<i>Fistulina hepatica</i>	67,62 ± 1,66	41,92 ± 8,95	nd	2,16 ± 0,10	111,72 ± 7,19
<i>Suillus collinitus</i>	5,18 ± 0,21	14,14 ± 1,15	nd	1,34 ± 0,17	20,66 ± 1,12

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que a espécie *Suillus collinitus* pode ser uma fonte promissora de compostos bioativos, para além dos ácidos fenólicos. Em particular, o seu extrato metanólico parece ter um efeito no ciclo celular da linha tumoral de mama mediado pela p53, para além de induzir apoptose dessas células.

#### Agradecimentos

FCT, COMPETE/QREN/UE (projeto PTDC/AGR-ALI/110062/2009), CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011) e bolsa BD/43653/2008 atribuída a J.A. Vaz.

#### Referências

- [1] ICFR Ferreira, JA Vaz, MH Vasconcelos, A Martins. Anti-cancer Ag Med Chem 2010, 10, 424-436.
- [2] JA Vaz, L Barros, A Martins, JS Morais, MH Vasconcelos, ICFR Ferreira, LWT 2011, 44, 343-346.