

### Testes de citotoxicidade

Verificou-se a citotoxicidade in vitro destas substâncias em duas linhagens de células tumorais: HT29 (carcinoma de cólon - humano) e HEP-2 (carcinoma de laringe humano). As células foram plaqueadas na concentração de  $1 \times 10^5$  células/mL. As substâncias foram diluídas em DMSO puro e testadas na concentração de 25 µg/mL. A absorbância foi lida em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

### Triagem do crescimento de formas promastigotas de *Leishmania Amazonensis*

Os parasitas foram repicados para placas contendo meio Schneider, com inoculo inicial de  $1 \times 10^6$  promastigotas/mL, as substâncias foram testadas na concentração de 400 µL/mL em triplicata. A placa foi incubada a 26°C e após 24 horas de cultivo, foi feito comparativo de crescimento entre poços com cada substância e os poços controle, classificados em uma escala de 0 a +++ crescimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação de TBARS demonstrou que as Riparinas exercem um efeito antioxidante significativo, em todas as doses testadas, contra os radicais peróxil gerados, protegendo os lipídios da oxidação, como pode ser visto na Tabela 1. Resultado semelhante foi obtido com o Trolox, um análogo sintético hidrofílico do  $\alpha$ -tocoferol, que é largamente usado como padrão antioxidante.

Um forte efeito sequestrante contra o radical hidroxila também foi gerado in vitro, especialmente na dose mais alta, semelhante ao resultado obtido com o trolox e sugestivo de atividade antioxidante.

As substâncias demonstraram exercer ainda um efeito significativo de scavenging contra o óxido nítrico (NO), havendo uma diminuição significativa na produção deste composto pelas riparinas testadas.

Tabela 1- Atividade antioxidante "in vitro" das Riparinas A-F na produção de TBARS, remoção de radical hidroxila e formação de nitrito

Parâmetros	µL/mL	Meio	Sistema	Riparina A	Riparina B	Riparina C	Riparina D	Riparina E	Riparina F
Produção de nitrito (% indução por SNP)	10	34,88±0,96	100,4±2,01*	75,1±1,31*	75,8±1,02*	69,3±1,07*	72,6±1,81*	65,9±1,30*	74,9±2,27*
	50	34,88±0,96	100,4±2,01*	29,1±0,61*	34,1±1,85*	34,9±0,23*	32,2±1,45*	37,7±0,95*	35,3±0,96*
	100	34,88±0,96	100,4±2,01*	29,2±2,05*	29,1±2,00*	22,9±1,31*	28,9±1,74*	25,1±1,37*	21,5±0,98*
	250	34,88±0,96	100,4±2,01*	24,3±0,62*	23,17±0,97*	19,8±0,83*	24,7±1,77*	20,1±0,71*	19,9±0,71*
	1000	34,88±0,96	100,4±2,01*	20,4±1,20*	20,6±0,98*	16,5±1,44*	17,3±2,38*	15,48±1,11*	17,3±0,22*
Degradação oxidativa da 2-desoximbose [%]	10	13,96±0,96	100,2±1,35*	97,1±0,78*	98,4±0,39*	95,5±1,30*	93,5±1,17*	79,9±0,64*	83,3±2,13*
	50	13,96±0,96	100,2±1,35*	76,9±1,10*	79,8±1,34*	80,9±1,29*	67,9±1,74*	62,2±2,14*	61,5±0,98*
	100	13,96±0,96	100,2±1,35*	54,5±0,85*	58,5±0,85*	58,7±1,37*	50,9±0,82*	53,4±1,79*	57,6±1,47*
	250	13,96±0,96	100,2±1,35*	49,6±0,89*	47,72±0,44*	52,1±0,13*	51,9±1,27*	51,4±1,47*	55,1±1,78*
	1000	13,96±0,96	100,2±1,35*	44,8±0,30*	47,2±0,43*	46,7±0,35*	47,3±0,88*	49,4±0,85*	50,9±2,33*
Quantificação TBARS (% AAPH)	10	18,38±1,84	99,90±1,32*	40,9±1,77*	44,5±1,31*	39,3±0,60*	41,2±0,96*	41,4±0,69*	38,8±0,99*
	50	18,38±1,84	99,90±1,32*	38,1±0,49*	40,4±0,85*	38,8±1,07*	39,4±0,71*	38,6±0,63*	35,9±0,41*
	100	18,38±1,84	99,90±1,32*	38,7±0,66*	38,3±1,05*	34,3±0,92*	37,3±0,68*	35,5±0,37*	35,2±0,44*
	250	18,38±1,84	99,90±1,32*	35,1±0,88*	36,5±1,21*	29,5±1,91*	34,4±0,76*	31,3±0,70*	34,6±0,48*
	1000	18,38±1,84	99,90±1,32*	25,8±0,48*	29,7±1,31*	25,7±2,62*	25,6±0,66*	28,2±0,39*	30,3±0,47*

Numerical data were applied to the Graph Pad Prism program, version 5.0 (GraphPad software Incorporated, San Diego, USA) \*p<0,05 (ANOVA and t de student-Newman-Kewls as post hoc test); ap<0,05 (ANOVA and t de Student-Newman-Kewls as post hoc test)

A Tabela 2 apresenta o percentual de inibição do crescimento celular (IC%) em duas linhagens tumorais (HT29 e HEP-2), das amostras de riparinas testadas na dose única de 25 µg/mL.

Tabela 2 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em duas linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.

	HT29		HEP-2	
	% inibição	desvio	% inibição	Desvio
RIPARINA A	22,06	13,2	50,9	2,7
RIPARINA B	15,8	2,0	33,0	2,7
RIPARINA C	72,5	6,7	94,3	1,6
RIPARINA D	73,2	4,4	96,3	2,4
RIPARINA E	94,6	0,5	100,7	0,3