

Avaliação *in vitro* do potencial biológico da *Salvia officinalis* L. em células tumorais

In vitro evaluation of the biological potential of Salvia officinalis L. in tumor cells

Charlene Silvestrin Celi Garcia¹, Ana Paula Franco Lambert²,
João Antonio Pêgas Henriques³, Mariana Roesch Ely⁴

¹ Farmacêutica pela Universidade de Caxias do Sul. Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

² Farmacêutica com habilitação em Análises Clínicas e Mestre em Gerontologia Biomédica pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Pesquisadora e Professora da Faculdade de Farmácia da Universidade de Caxias do Sul (UCS).

³ Farmacêutico bioquímico pela UFRGS. Mestre em Biofísica pelo Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Docteur D'Etat et Sciences Naturelles, Institut Curie, Université Paris XI, França. Pós-Doutorado no Institut für Mikrobiologie, J. W. Goethe Universität, Frankfurt, Alemanha. Professor titular colaborador convidado junto ao Departamento de Biofísica, coordenando o Laboratório de Reparação de DNA de Eucariotos, UFRGS. Orientador nos Programas de Pós-Graduação em Bioquímica, Biologia Celular e Molecular e Genética e Biologia Molecular da UFRGS. Professor titular e orientador no Programa de Pós-Graduação de Biotecnologia do Instituto de Biotecnologia da UCS.

⁴ Cirurgiã Dentista pela PUCRS. Mestre em Odontologia (Estomatologia e Patologia) pela Universidade Federal da Paraíba. Doutora em Odontologia (Biologia Molecular) pela Ruprecht-Karls Universität Heidelberg, Alemanha. Pesquisadora e Professora da Graduação e Pós-Graduação da UCS.

Estudo realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

Objetivos: Determinar a viabilidade celular frente ao efeito biológico do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. em culturas de células tumorais de laringe (Hep-2) e células de hepatoma humano (HepG2).

Métodos: Células tumorais Hep-2 e HepG2 foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% soro fetal bovino inativado e 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina) em estufa a 37°C e atmosfera umidificada com 5% de CO₂. Na segunda etapa foram semeadas (5×10⁴ células/mL) em placas de 96 poços durante o período de 24 horas até obtenção de 60-70% de confluência e realizou-se o tratamento das células com extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L., controle negativo de etanol 80% (v/v) e controles positivos de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), *tert*-butil hidroperóxido (*t*-BOOH), doxorubicina e cisplatina. A viabilidade celular foi determinada pela redução do MTT (brometo de 3-(4,5 dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey no programa SPSS v.19.

Resultados: O extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. mostrou atividade citotóxica para células tumorais Hep-2 IC₅₀ 0,38±0,02 mg/mL e para HepG2 IC₅₀ 0,54±0,03 mg/mL em comparação ao controle negativo, ficando acima do IC₅₀ obtido para seus controles positivos. A cisplatina apresentou IC₅₀ abaixo do extrato de sálvia, porém para a obtenção do seu IC₅₀ aumentou-se o tempo de exposição em seis horas.

Conclusões: Sugere-se que o extrato de *Salvia officinalis* L. tem atividade biológica em células tumorais, podendo ser objetivo de mais estudos com a finalidade de comprovar sua eficácia como possível agente para o tratamento do câncer.

DESCRITORES: SALVIA OFFICINALIS; SOBREVIVÊNCIA CELULAR; ANTINEOPLÁSICOS; TERAPÊUTICA.

ABSTRACT

Aims: To determine cell viability compared to the biological effect of *Salvia officinalis* L. extract on cultured tumor cells of the larynx (Hep-2) and in human hepatoma cells (HepG2).

Methods: Tumor cells Hep-2 and HepG2 were grown in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) supplemented with 10% inactivated fetal bovine serum and 1% antibiotics (Penicillin/Streptomycin), incubated at 37°C and 5% CO₂. In the second step they were plated (5×10⁴ cells/mL) in 96 well plates during 24 hours to obtain 60-70% confluency, and treated with the hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* L., negative control with 80% ethanol (v/v) and positive control of hydrogen peroxide (H₂O₂), *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BOOH), doxorubicin and cisplatin. Cell viability was determined by MTT reduction (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Results were analyzed by Tukey test using the SPSS v.19.

Results: The hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* L. showed cytotoxic activity to tumor cells Hep-2 IC₅₀ 0,38±0,02 mg/mL for HepG2 IC₅₀ 0,54±0,03 mg/mL compared to negative control, staying above the IC₅₀ obtained for their positive controls. Cisplatin showed IC₅₀ below the extract of sage, but to obtain the IC₅₀ exposure time was increased in six hours.

Conclusions: The results of this study suggest that the extract of *Salvia officinalis* L. has biological activity against tumor cell; further studies are needed to confirm its efficacy and its potential role in cancer treatment.

KEYWORDS: SALVIA OFFICINALIS; CELL SURVIVAL; ANTINEOPLASTIC AGENTS; THERAPY.

Recebido: março de 2012. Aceito: julho de 2012

Endereço para correspondência/Corresponding Author:

CHARLENE SILVESTRIN CELI GARCIA
Rua Thomas Edson, 20 - Apt. 701
CEP 95180-000, Farroupilha, RS, Brasil
Telefone: (54) 9987-4443
E-mail: charlenscgarci@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A natureza é um ambiente rico em diversidade biológica e química. O interesse nas pesquisas em plantas medicinais tem crescido nos últimos anos, principalmente para o tratamento de doenças que apresentam grande impacto social, como é o caso do câncer, que é a segunda causa de morte na população, representando aproximadamente 17% dos óbitos de causas conhecidas.¹⁻³ O desenvolvimento de medicamentos provenientes de produtos naturais tem se tornado uma estratégia rápida e altamente promissora para identificação de novos agentes antitumorais.⁴

A *Salvia officinalis* L. é uma planta medicinal pertencente à família das *Laminaceas*, originária da região mediterrânica oriental, cultivada em vários países, em terrenos de clima temperado e com muita luz. Essa planta é conhecida popularmente no Brasil como sálvia, salva-das-boticas, erva-santa ou salva-mansa. Tem uso muito difundido, sendo utilizada pelos gregos para má digestão e na medicina popular como remédio para curar inflamações cutâneas.⁵⁻⁷ Apresenta como constituintes óleos essenciais como cinerol, cânfora, borneol, tujona, ácido rosmarínico, flavonóides, taninos, substância estrogênica, saponinas, dentre outros.^{5,6,8} Sua constituição abrange compostos fenólicos com atividade anti-inflamatória e anti-oxidantes, possíveis responsáveis pela atividade antitumoral.^{9,10} Alguns estudos relataram que a sálvia apresenta atividade antineoplásica, tendo potencial no tratamento do câncer *in vivo* quando utilizada em modelos murinos.¹¹

A *Salvia officinalis* L. apresenta em sua composição três diterpenos/quinonas: *royaleanone* (SAR 3), *horminone* (SAR 26) e *7-O-acetil-horminone* (SAR 43). Estes podem causar a inibição da enzima topoisomerase, podendo resultar na ativação de estresse, associados à sinalização de vias, induzindo a parada do ciclo celular e a ativação da cascata bioquímica da apoptose. Segundo estudos realizados com linhagens de células humanas de carcinoma de cólon (Caco-2) e hepatoma (HepG2) esses compostos agem citotxicamente causando dano ao DNA e aumentando a apoptose celular.¹² Hadri et al.¹³ relataram que o alfa-humuleno e o trascariofileno presentes na *Salvia officinalis* L. inibem o crescimento de células tumorais.

A angiogênese é um dos processos envolvidos na promoção do câncer e metástases. Segundo Keshavarz et al.,⁴ a *Sálvia officinalis* L. inibiu a formação de tubo capilar em células endoteliais da veia umbilical (HUVEC) de ratos, demonstrando ter atividade terapêutica ou preventiva contra as doenças relacionadas com angiogênese. A *Salvia officinalis* L. quando

utilizada em carcinoma de cólon retal demonstrou indução da apoptose, inibição da proliferação celular, sugerindo que sua atividade está relacionada à inibição da via MAPK/ERK.⁹ As proteases desempenham um papel regulador em diferentes doenças, incluindo o câncer. Estudos mostraram que o ácido beta-ursólico isolado da *Salvia officinalis* L. tem capacidade de inibir proteases de serina (trombina, tripsina e uroquinase), indicando atividade anticancerígena.¹⁴

O presente estudo objetivou determinar a viabilidade celular frente ao efeito biológico do extrato de sálvia em culturas de células tumorais de laringe (Hep-2) e em células de hepatoma humano (HepG2).

MÉTODOS

Material vegetal

A planta em estudo *Salvia officinalis* L. foi coletada no município de Farroupilha (N: 037°33'59" e E: 126°58'00"), estado do Rio Grande do Sul. Apresenta depósito nº 37944 registrado pelo Museu de Ciências Naturais da Universidade de Caxias do Sul. As folhas, hastes e flores foram submetidas à secagem em estufa a 40-45 °C com ar circulante durante sete dias. Após, realizou-se a moagem da planta seca em moinho de facas, obtendo-se um pó que foi armazenado em frasco âmbar, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.¹⁵

Obtenção de extratos de Sálvia

Para a obtenção do extrato de *Salvia officinalis* L. foram adaptadas metodologias das monografias presentes na Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira.^{16,17} Inicialmente pesou-se o pó obtido de sálvia nas proporções de 1:10 (p/v) e submeteu-se à maceração em solução hidroalcoólica 80% (v/v), durante o período de nove dias. Após este período, realizou-se a filtragem do extrato sob pressão reduzida, armazenando-o em frasco âmbar, em temperatura ambiente, e ao abrigo da luz para realização de posteriores ensaios.

Cultura de células e tratamento

As células tumorais Hep-2 e HepG2 foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) e suplementadas com 10% soro fetal bovino inativado e 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina). As células foram mantidas em garrafas para cultura de tecido em estufa a 37°C e atmosfera umidificada com 5% de CO₂. O tratamento foi realizado após as células serem lavadas com tampão

PBS e soltas da garrafa com solução de tripsina. Antes do tratamento com os extratos, as células foram semeadas em placas de 96 poços (5×10^4 células/mL) com meio completo e incubadas para crescimento por no mínimo 24 horas, para atingir 60-70% de confluência. O tratamento foi realizado com tempo de 1 hora e 30 minutos, com as diferentes concentrações de extrato de sálvia e do controle negativo (solução hidroalcoólica 80%), não ultrapassando a porcentagem de 4% de etanol em cada poço.

Determinação da viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada pela redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) de acordo com metodologia descrita por Denizolt e Lang.¹⁸ Após remoção do meio com o tratamento foi acrescentado 0,1 mL de meio DMEM sem soro contendo MTT (1 mg/mL). A mistura foi incubada em estufa a 37°C com 5% de CO₂ por período de 2 horas. O meio com MTT foi então retirado e o precipitado formado foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) com posterior agitação por 30 minutos e protegido da luz. A leitura espectrofotométrica foi feita a 570 nm e os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade. A absorbância do controle negativo (células que não receberam tratamento com os extratos, somente solução hidroalcoólica 80%) correspondeu a 100% de viabilidade e os valores das células tratadas foram calculados como porcentagem do controle. O controle positivo foi efetuado com tratamento utilizando-se H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) e *t*-BOOH (*tert*-butil hidroperóxido) como agentes geradores de estresse oxidativo e com o uso de doxorubicina e cisplatina como quimioterápicos de uso na medicina terapêutica tradicional.

Análise estatística

Para os ensaios de viabilidade celular, foram analisadas três réplicas biológicas. A estatística levou em consideração a obtenção de dados paramétricos utilizando o teste de comparação de múltiplas médias Tukey ($p \leq 0,05$) no programa SPSS v.19.

RESULTADOS

O extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L., produzido a partir de folhas, hastes e flores, mostrou atividade biológica significativa frente às duas linhagens celulares utilizadas neste estudo. Células Hep-2 foram mais sensíveis ao extrato, enquanto as células HepG2 demonstraram menor sensibilidade.

Os resultados da avaliação da atividade antitumoral *in vitro* frente às linhagens celulares estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

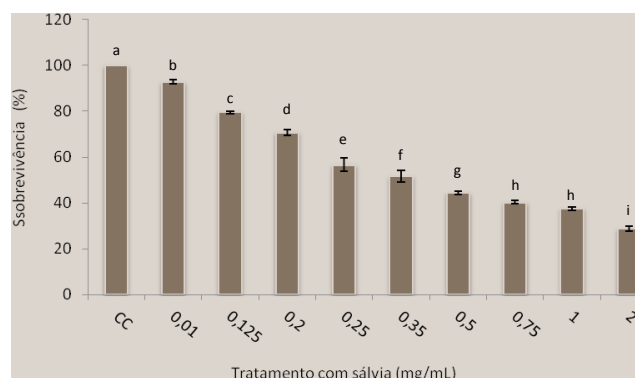


Figura 1. Sobrevivência da linhagem Hep-2 em comparação ao controle com etanol 80% (v/v) e diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. após 1h30 min de tratamento. Cada barra representa a porcentagem de sobrevivência média±DP em relação ao controle, que foi normalizado como 100%. Letras correspondem à diferença estatística usando ANOVA-Tukey ($p \leq 0,05$).

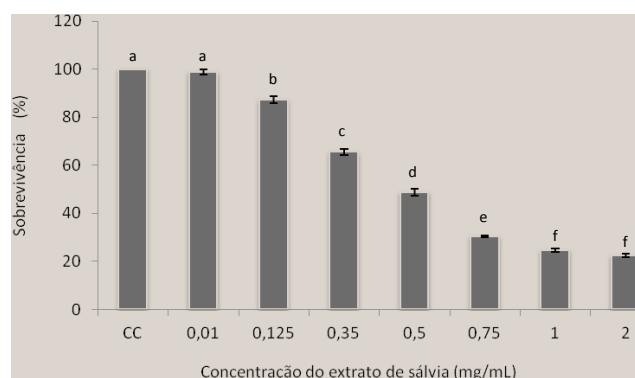


Figura 2. Sobrevivência da linhagem HepG2 em comparação ao controle com etanol 80% (v/v) e diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. após 1h30min de tratamento. Cada barra representa a porcentagem de sobrevivência média±DP em relação ao controle, que foi normalizado como 100%. Letras correspondem à diferença estatística usando ANOVA-Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados expressos na Figura 1 mostram que o extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. (1:10) nas concentrações 0,35 a 2 mg/mL reduziu significativamente a viabilidade das células Hep-2 para 52 a 29 % em relação ao controle. Em relação à linhagem HepG2 (Figura 2), a redução da viabilidade celular foi significativa nas concentrações 0,5 a 2 mg/mL com porcentagem de sobrevivência de 49 a 22% em relação ao controle.

As células do controle negativo de solução hidroalcoólica 80% (v/v) após o tratamento por 1h30min apresentam-se arredondadas ou com prolongamentos (Figuras 3A e 4A), envoltas em citoplasma abundante, bem definido e íntegro, caracterizando uma cultura de células saudável. As culturas de células que receberam o tratamento de *Salvia officinalis* L., utilizando o mesmo parâmetro de tempo do controle, apresentam perda dos filamentos de colágeno e refringência (Figuras 3B e 4B), número reduzido de células, com morfologia alterada, mostrando a atividade biológica do extrato e sugerindo atividade citotóxica frente às linhagens tumorais Hep-2 e HepG2.

O extrato de *Salvia officinalis* L., quando utilizado na linhagem tumoral Hep-2, durante o tratamento de 1h30min, apresentou IC_{50} $0,38 \pm 0,02$ mg/mL, ficando acima dos controles positivos que apresentaram IC_{50} de $0,0013 \pm 0,00001$ mg/mL para doxorrubicina, $0,046 \pm 0,02$ mg/mL para *t*-BOOH e $0,08 \pm 0,03$ para H_2O_2 , utilizando-se o mesmo tempo de tratamento do extrato. Somente a cisplatina necessitou exposição por seis horas de tratamento para a obtenção do IC_{50} que ficou em $0,21 \pm 0,01$ mg/mL.

Podemos observar o mesmo para a linhagem tumoral HepG2, que apresentou IC_{50} $0,54 \pm 0,03$ mg/mL, ficando acima dos controles positivos que apresentaram

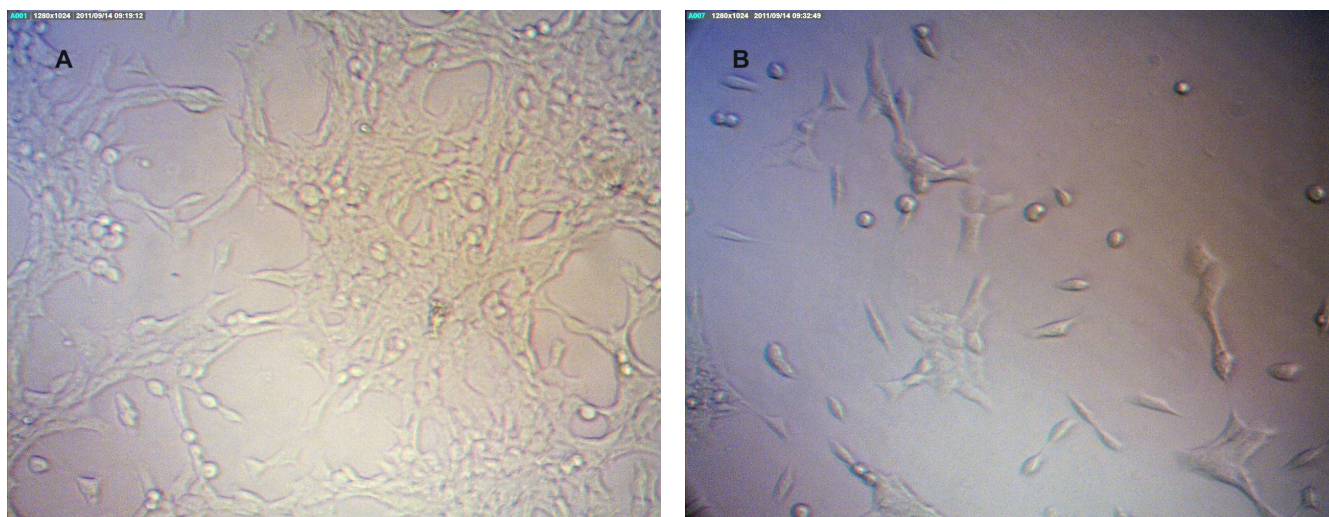


Figura 3. Comparação de sobrevivência após tratamento em Hep-2: (A) controle negativo de etanol 80% (v/v); (B) IC_{50} $0,38 \pm 0,02$ mg/mL do extrato de *Salvia officinalis* L.

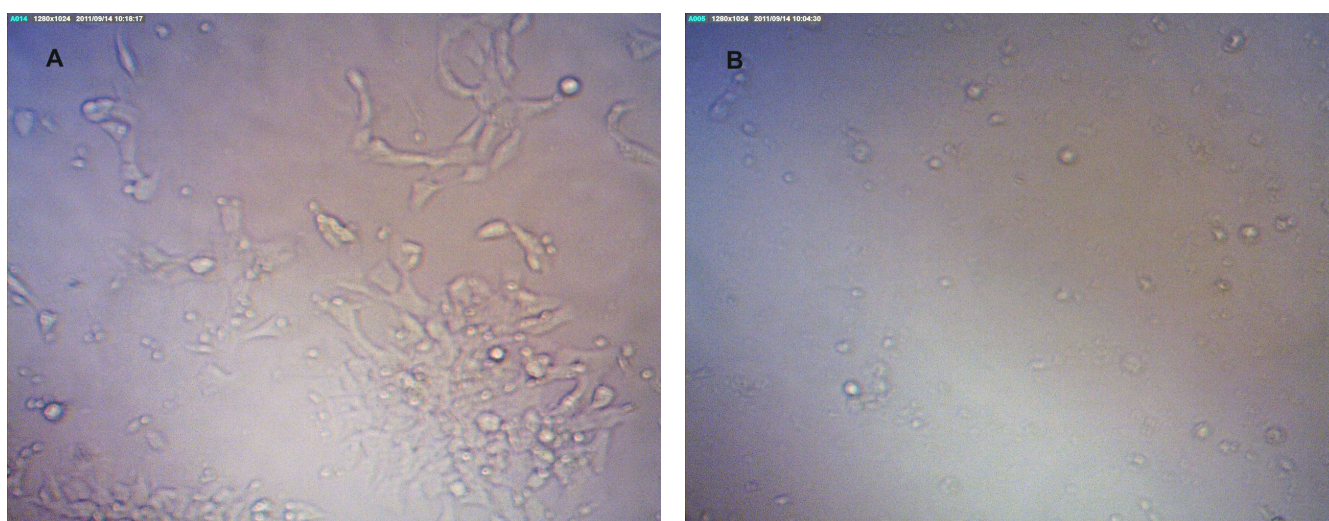


Figura 4. Comparação de sobrevivência após tratamento em HepG2: (A) controle negativo de etanol 80% (v/v); (B) IC_{50} $0,54 \pm 0,03$ mg/mL do extrato de *Salvia officinalis* L.

Tabela 1. Ensaio de viabilidade celular com linhagens Hep-2 e HepG2. Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular – IC₅₀ – obtido do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. e controles positivos de cisplatina, doxorrubicina, *t*-BOOH e H₂O₂.

Substância	Hep-2 IC ₅₀ (mg/mL) (media±DP)	HepG2 IC ₅₀ (mg/mL) (media±DP)
Extrato de <i>Salvia officinalis</i> L.*	0,38±0,02	0,54±0,03
Cisplatina**	0,21±0,01	0,5±0,02
Doxorrubicina*	0,0013±0,00001	0,003±0,00002
<i>Tert</i> -butil hidroperóxido (<i>t</i> -BOOH)*	0,046±0,02	0,054±0,03
Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)*	0,08±0,03	0,08±0,04

* Tratamento nas células de 1h30min; ** Tratamento nas células de 6h.

IC₅₀ de 0,003±0,00002 mg/mL para doxorrubicina, 0,054±0,03 mg/mL para *t*-BOOH e 0,08±0,04 para H₂O₂ utilizando-se o mesmo tempo de tratamento do extrato. Somente a cisplatina necessitou exposição por seis horas para a obtenção do IC₅₀ que neste caso ficou em 0,5±0,02 mg/mL (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Neste trabalho foi possível observar que o IC₅₀ obtido para a extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. para as linhagens Hep-2 e HepG2 quando expostos com o mesmo tempo de tratamento, ficaram acima do IC₅₀ dos agentes geradores de estresse oxidativo, que danificam e quebram as bases do DNA¹⁹ e da doxorrubicina, antibiótico pertencente à classe das antraciclina, que altera a membrana celular, promove formação de radical livre e forma ligações interfilamentares com o DNA, bloqueando a síntese de DNA e RNA.²⁰ A cisplatina, que pertence à classe dos complexos de coordenação da platina que atua na inibição seletiva da síntese de DNA, alterando as ligações DNA-proteína,²¹ apresentou valor de IC₅₀ abaixo do IC₅₀ do extrato de sálvia, porém o tempo de exposição foi de 4 horas e 30 minutos a mais do que o extrato de sálvia. Dessa forma, os dados apresentados neste trabalho requerem mais estudos para esclarecer a relação entre o extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. e os mecanismos envolvidos em sua atividade antitumoral.

A *Salvia officinalis* L. apresenta compostos que podem ter atividade biológica, tais como quercetina, apigenina, luteolina, ácido caféico, ácido rosmarínico, taninos, ácido carnósico e seu produto de oxidação o carnosol, dentre outros.^{5,6,8} Existem vários estudos com relação aos compostos citados, os quais estão presentes no extrato, podendo ser os responsáveis pela atividade antitumoral observada.

A quercetina, molécula que pertence à família dos flavonóides, destaca-se por seu efeito antioxidante. Em pequenas concentrações, de 10 a 25 µmol/L, ela atua contra espécies reativas de oxigênio (ERO), prevenindo o processo tumorigênico e, em concentrações mais

elevadas, acima de 50 µmol/L, tem efeito pró-oxidante e citotóxico, apresentando tendência a indução da apoptose nas células. Estudos em nível molecular utilizando a metodologia de *Western blot* com células de melanoma e HepG2 sugerem que este composto atua como agente anticâncer por reduzir a expressão de oncogenes, aumentar a ativação de caspases, induzir a fosforilação de p53, aumentando o conteúdo total desta proteína, e estimular a expressão de proteínas que controlam o ciclo celular, entre elas p21, p27 e ciclina D1, dessa forma favorecendo a parada do ciclo celular.^{22, 23}

Segundo Freitas,²⁴ culturas de células de glioblasto multiforme humano, quando expostas a apigenina acima de 50 µM, apresentam um fenótipo irregular, com citoplasma retraído, núcleo bastante refringente, prolongamentos delgados e uma redução do número de células aderidas à placa, sugerindo que este composto altere a viabilidade celular, inibindo o crescimento das células, atrasando o ciclo celular e induzindo a apoptose. Semelhante aspecto morfológico pôde ser observado neste estudo em linhagens tumorais de Hep-2 e HepG2 após o tratamento com o extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. durante 1h30min, como pode ser observado nas Figuras 3 e 4. Ensaio utilizando *Western blot* com células de carcinoma cervical humano demonstraram que a apigenina induz a apoptose celular por atuar nas proteínas p53, p21, atrasando o ciclo celular na fase G1. Esse flavonóide atua também reduzindo significativamente os níveis de Bcl-2, uma proteína anti-apoptótica, o que induz as vias apoptóticas.²⁵

Pesquisas *in vitro* com células de fibroblasto humano e murino utilizando o teste de *Western blot* sugerem que o ácido rosmarínico inibe genes relacionados com o promotor NF-KB detectado no câncer.²⁶ Outros compostos polifenólicos que estão presentes na *Salvia officinalis* L., como o ácido caféico, afetaram o crescimento do tumor através da inibição da síntese de DNA e exerceram efeito antitumoral através da indução de apoptose das células tumorais.²⁷

Extratos vegetais ricos em taninos demonstram grande importância para o meio científico por serem

eficientes na captura de compostos reativos que causam diversos males à saúde. Estudos *in vitro* com células tumorais de esôfago e cólon demonstraram que os taninos têm atividade antitumoral e podem estar envolvidos na redução da proliferação do câncer.^{28, 29} Outros compostos presentes na *Salvia officinalis* L. são o ácido carnósico e seu produto de oxidação, o carnosol; ambos apresentam propriedades anti-inflamatórias, antiproliferativas e neuroprotetoras, além de possuir atividade antioxidante. A atividade do carnosol foi relatada em células de melanoma murino. Foi possível observar, através dos ensaios de quimioluminescência e *Western blot*, que este composto inibiu a fosforilação da tirosina-quinase, inibindo a ativação de fatores de transcrição e restringindo a capacidade de invasão de células cancerígenas, o que indica que o mesmo pode ser de grande valia para o tratamento do câncer.³⁰ As propriedades antitumorais da luteolina, por sua vez, são amplamente discutidas na literatura. Seus efeitos citotóxicos foram descritos para várias linhagens de células tumorais, estando relacionados ao bloqueio do ciclo celular entre a fase G2 e a mitose, seguido de apoptose, além de modular várias proteínas celulares. Além disso, a luteolina mostra-se capaz de inibir a angiogênese, prevenir a carcinogênese e sensibilizar as células tumorais a agentes quimioterápicos.^{31, 32}

A *Salvia officinalis* L. é uma planta medicinal que há algum tempo desperta interesse científico por apresentar flavonóides que são constituídos por estruturas polifenólicas e possuir significativa atividade antioxidante.³³ É necessário elucidar todos os mecanismos que estão envolvidos na atividade antitumoral da classe vegetal em estudo. Provavelmente tais compostos, que foram citados anteriormente, e que fazem parte da constituição da *Salvia officinalis* L. podem ter contribuído para sua atividade citotóxica em linhagens tumorais de Hep-2 e HepG2. Estudos *in vitro* descrevem que a *Salvia officinalis* L. apresenta atividade anticancerígena, induz a parada do ciclo celular e a ativação da cascata bioquímica da apoptose, inibe o crescimento de células tumorais e reduz a angiogênese, inibindo metástases e o crescimento de células tumorais.^{4, 12-14} Na atualidade, os modelos experimentais *in vitro*, como a cultura de células, são de grande ajuda para a descoberta de novos tratamentos para o câncer.

Algumas das limitações do presente trabalho estão relacionadas com a coloração escura do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L., que pode ser passível de interferência espectral para concentrações maiores que as usadas neste ensaio de sobrevivência, mudando valores de absorvância. Outro fator limitante é a diluição do extrato, que foi realizada em etanol

80% (v/v). Apesar de termos respeitado os valores máximos de etanol residual (4%) em cada tratamento, o controle de etanol 80% (v/v) apresentou uma pequena redução de sobrevivência (5%±0,5) em comparação ao controle com meio DMEM, mas os valores finais foram ponderados em relação ao controle negativo.

Os resultados apresentados sugerem que a *Salvia officinalis* L. possui um potencial biológico em células tumorais, podendo ser um recurso promissor para o tratamento combinado do câncer. Estes achados evocam adicionais estudos para esclarecer a relação entre esta planta e os mecanismos envolvidos em sua atividade antitumoral, pois novas terapias podem surgir para o tratamento de neoplasias.

AGRADECIMENTOS

Às agências FAPERGS e CNPq pelo apoio.

REFERÊNCIAS

1. Heinrich M, Bremner P. Ethnobotany and Ethnopharmacy – Their role for anti-cancer drug development. *Curr Drug Targ.* 2006;7:239-45.
2. Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, et al. Cytotoxic Activity of Essential Oils from Labiatae and Lauraceae Families Against *in vitro* Human Tumor Models. *Anticancer Res.* 2007;27:3293-300.
3. INCA. Instituto Nacional de Câncer. [Acesso 05 de agosto de 2011]. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/vigilancia/>
4. Keshavarz M, Mostafaie A, Mansouri K, et al. *In vitro* and *ex vivo* antiangiogenic activity of *Salvia officinalis*. *Phytother Res.* 2010;24:1526-31.
5. Bruneton J. *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales.* 2ª ed. Zargoga: Acribia; 2001.
6. Cunha AP. *Plantas e produtos vegetais em cosméticos e dermatologia.* Lisboa, Portugal: Fundação Colouste Gulbenkin; 2004.
7. Simões MO, Gosman G, Scenkel EP. *Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento.* 4ª ed. UFRGS; 2004.
8. Viecelli CA, Cruz-Silva CT. A. Efeito sazonal no potencial alelopático de *Sálvia*. *Semina Ciênc Agr.* 2009;30:39-46.
9. Xavier CP, Lima CF, Fernandes-Ferreira M, et al. *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, and *Rosmarinic acid* induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway. *Nutr Cancer.* 2009;61:564-71.
10. Ramos AA, Azqueta A, Pereira-Wilson C, et al. Polyphenolic compounds from *Salvia* species protect cellular DNA from oxidation and stimulate DNA repair in cultured human cells. *J. Agric Food Chem.* 2010;58:65-71.
11. Ho CT, Wang M, Wei GJ, et al. Chemistry and antioxidative factors in rosemary and sage. *Biofactors.* 2000;13:161-6.
12. Slamenová D, Masterová I, Lájab J, et al. Cytotoxic and DNA-Damaging Effects of Diterpenoid Quinones from the Roots of *Salvia officinalis* L. on Colonic and Hepatic Human Cells Cultured *in vitro*. *Bas Clin Pharmacol Toxicol.* 2004;94:282-90.

13. Hadri A, Río MAG, Sanz J, Coloma et al. Cytotoxic activity of α -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells. *An R Acad Nac Farm.* 2010;76:343-56.
14. Jedinák A, Mucková M, Kost'álová D, et al. Antiprotease and antimetastatic activity of ursolic acid isolated from *Salvia officinalis*. *Z Naturforsch C.* 2006;61:777-82.
15. Radünz, LL, Mossi AJ, Zakrzewski CA, et al. Análise da cinética de secagem de folhas de sálvia. *Rev Bras Eng Agr Amb.* 2010;14:979-86.
16. Comissão permanente de Revisão da Farmacopeia Brasileira. Farmacopeia Brasileira. Parte II, III e IV. 4ª ed. Rio de Janeiro, 1988.
17. Comissão Permanente de Revisão da Farmacopeia Brasileira. Farmacopeia Brasileira. Parte II, III e IV. 4ª ed. Rio de Janeiro, 2001.
18. Denizolt F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods.* 1986;89:271-77.
19. Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 2004;266:37-56.
20. Katzung BG. Farmacologia: básica e clínica. 9ª ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2005.
21. Goodman LS, Gilman A, Brunton LL. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2010.
22. Thangasamy T. Tyrosinase overexpression promotes ATM-dependent p53 phosphorylation by quercetin and sensitizes melanoma cells to dacarbazine. *Cell Oncol.* 2008;30:371-87.
23. Tanigawa S, Fujii M, Hou DX. Stabilization of p53 is involved in quercetin-induced cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2008;72:797-804.
24. Freitas SRVB. Efeito dos flavonóides de Croton Betulaster Mull no controle do crescimento da regulação de citocinas pró-angiogênicas VEGF e TGF- β em células de glioblastoma multiforme humano. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia. 2009.
25. Zheng P, Chian G L, Lin C. Apigenin induced apoptosis through p53-dependent pathway in human cervical carcinoma cells. *Life Sciences.* 2005;76:1367-79.
26. Lee J, Jung E, Kim Y, et al. *Rosmarinic acid* as a downstream inhibitor of IKK-beta in TNF-alpha-induced upregulation of CCL 11 and CCR3. *Br J Pharmacol.* 2006;148:366-75.
27. Orsolic N, Terzic S, Mihaljevic Z, et al. Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biol Pharm Bull.* 2005;28:1928-33.
28. Pessuto MB, Costa IC, Souza AB, et al. Atividade antioxidantes de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* MART. ex REISS. *Quim Nova.* 2009;32:412-6.
29. Awika JM, Yang L, Browning JD, et al. Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential sorghum (*Shorghum bicolor*) varieties. *Food Science Techn.* 2009;42:1041-6.
30. Huang SC, Ho CT, Lin-Shiau SY, et al. Carnosol inhibits the invasion of B16/F10 mouse melanoma cells by suppressing metalloproteinase-9 through down-regulating nuclear factor-Kappa B and c-Jun. *Biochem Pharmacol.* 2005;69:221-32.
31. Lin Y, Shi R, Wang X, et al. Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targ.* 2008;8:634-46.
32. Gomes RF, Santos HS, Albuquerque MRJR. Blainvillea rhomboidea: constituintes químicos e atividade citotóxica. *Quim Nova.* 2010;33:1122-5.
33. Ollanketo M, Peltoketo A, Hartonen K, et al. Extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) by pressurized hot water and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. *Eur Food Res Technol.* 2002;215:158-63.