



ESTUDO FITOQUÍMICO E ANTI-*Leishmania amazonensis* DAS PARTES AÉREAS DA ORQUÍDEA *Schomburgkia crispa*

Paula Cristina Perin (PIBIC/CNPq/UEM)¹, Andrezza Correia Belloto (PG)¹,
Silvana Maria de Oliveira Santin (PQ)¹, Lucas Ulisses Rovigatti Chiavelli
(PQ)¹, Gredson Keiff de Souza (PG)¹, Débora Botura Scariot (PG)², Jean H.
S. Rodrigues (PG)², Celso Vataru Nakamura (PQ)², Armando Mateus Pomini
(Orientador)¹, e-mail: paulac.perin@gmail.com

1. Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química,
Laboratório Fitosin. Maringá, PR. 2. Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Ciências Básicas da Saúde. Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra - Química

Palavras-chave: Produtos naturais, fitoquímica, *Schomburgkia crispa*.

Resumo:

A espécie vegetal *Schomburgkia crispa* pertence à família Orchidaceae e ocorre na região norte do Paraná. Não foram encontrados na literatura estudos químicos desta espécie de orquídea. O estudo fitoquímico reportado no presente trabalho levou ao isolamento e identificação por técnicas espectroscópicas do fenantrenóide 9,10-dihidro-4-metoxi-fenatreno-2,7-diol (Hx-26) e do flavonóide rhamnazina (FC-29). Foram realizados ainda ensaios biológicos contra *Leishmania amazonensis* e células VERO para o extrato bruto, frações e o fenantrenóide isolado.

Introdução

Desde os tempos antigos, o homem possui uma grande atração e curiosidade pelas orquídeas. Devido a sua beleza exuberante, estas plantas são atualmente uma importante fonte de renda para diversos produtores com finalidades paisagísticas e decorativas. Entretanto, estas plantas podem ser uma grande fonte de produtos naturais bioativos. Porém, existe uma grande escassez de informação a respeito do uso de orquídeas como plantas medicinais, assim como seu perfil fitoquímico (Hossain, 2011; Miller, 1996; Suttleworth, 1991). Portanto, constituem-se como objetivos deste





projeto expandir os conhecimentos fitoquímicos de orquídeas brasileiras como a *Schomburgkia crispa*, buscando isolar metabólitos secundários ainda não descritos. Além disso, realizaram-se ensaios biológicos contra parasitos da espécie *Leishmania amazonensis*. A leishmaniose é uma doença neotropical negligenciada.

Materiais e métodos

A muda inicial da orquídea *Schomburgkia crispa* foi coletada nas margens do rio Tibagi, no município de Ibiporã (norte do Paraná) em 1996 e mantida sob cultivo até 2015. As partes aéreas incluindo folhas, pseudobulbos, rizomas e raízes (2,557 kg) foram trituradas e extraídas exaustivamente com metanol, obtendo 85,498 g de extrato bruto. Em seguida o extrato bruto foi fracionado com os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol (Monteiro, 2014).

As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando sílica gel 60, sendo que as dimensões das colunas variaram de acordo com a quantidade de material adsorvido. Os acompanhamentos das eluições em colunas foram feitos por meio de cromatografia de camada delgada (CCD) e visualizadas por meio do revelador anisaldeído.

Para a identificação das substâncias isoladas foram utilizados espectros de RMN em 1D (^1H em 300 MHz e 500 MHz, ^{13}C e DEPT-135 em 75 MHz) e em 2D (COSY, NOESY, HSQC).

Os ensaios biológicos contra *L. amazonensis* foram realizados no laboratório do Prof. Celso Vataru Nakamura, seguindo técnicas consolidadas para estudos com amostras provenientes de orquídeas (Monteiro, 2014).

Resultados e Discussão

A substância Hx-26 (Figura 1) foi isolada a partir da fração hexânica através de purificação por lavagem com hexano e metanol. Foi obtida como um sólido amarelo claro, solúvel em acetato de etila. Através da comparação dos dados obtidos no espectro RMN de ^1H e ^{13}C com os dados disponíveis na literatura (Tuchinda, 1988) e também os demais dados de RMN uni e bi-dimensionais concluiu-se que a substância Hx-26 refere-se ao 9,10-dihidro-4-metoxi-fenantreno-2,7-diol.

O composto FC-29 (Figura 1) foi identificado através da análise de seus dados de RMN uni e bi-dimensionais em comparação com os dados disponíveis na literatura sendo caracterizado como o flavonol rhamnazina





(Calvert, 1979). Esta substância foi extraída da partição clorofórmica e apresentou-se como um sólido amarelo-esverdeado claro, solúvel em clorofórmio e metanol.

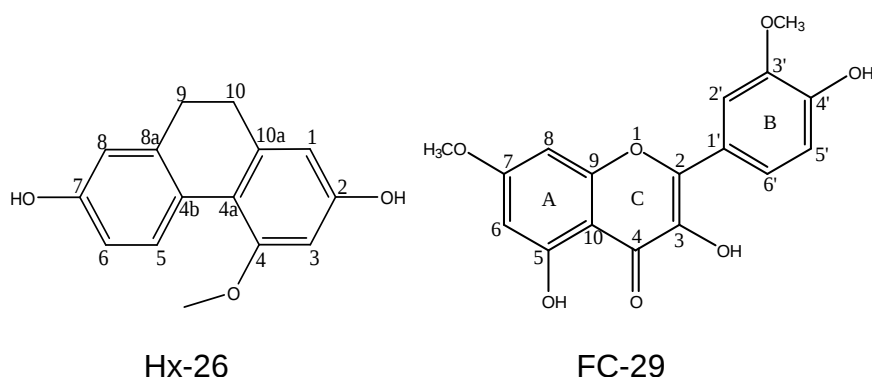


Figura 1 – Estruturas dos compostos isolados.

Trata-se, assim, do primeiro estudo fitoquímico da orquídea *Schomburgkia crispa*. O fenantrenóide 9,10-dihidro-4-metoxi-fenantreno-2,7-diol, foi reportado previamente apenas na orquídea *Eulophia nuda* (Tuchinda, 1988).

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados dos ensaios biológicos realizados com células VERO (sadias) além dos ensaios realizados com parasitos de *Leishmania amazonensis*.

Tabela 1. Resultados dos ensaios biológicos realizados.

Amostra	Antiproliferativo contra <i>Leishmania amazonensis</i>		Citotoxicidade sobre células VERO		IS
	IC ₅₀ (µg/mL)±DP	CV(%)	CC ₅₀ (µg/mL)±DP	CV(%)	
F. hexano	202,23±23,36	11,55	259,37±30,93	11,90	0,78
F. clorofórmio	229,21±55,92	24,40	487,50±123,74	25,38	0,47
F. acetato etila	228,13±13,26	5,81	758,33±200,34	26,40	0,30
F. metanol	192,86±10,10	5,24	>1000	ND	0,20
Extrato bruto	225,00±8,84	3,93	750,00±70,70	9,43	0,30
Hx-26	>100	ND	43,67±5,51	12,60	0,44





Como pode ser verificado na Tabela 1, a fração hexano apresentou o melhor índice de seletividade, com valor próximo de 1. Desta fração foi isolado o fenantrenóide Hx-26. Neste trabalho, foi possível realizar o ensaio biológico com o fenantrenóide puro, porém com baixa atividade contra *L. amazonensis* ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$), sendo inativo até a máxima concentração testada. Porém, o fenantrenóide apresentou citotoxicidade contra células saudáveis VERO, com $CC_{50} = 43,67 \mu\text{g/mL}$.

Conclusões

O estudo fitoquímico de *Schomburgkia crispa* levou ao isolamento e a caracterização das substâncias 9,10-dihidro-4-metoxi-fenatreno-2,7-diol (Hx-26) e o flavonóide rhamnazina (FC-29). Esses são os primeiros relatos destas substâncias nesta espécie de orquídea, visto que o fenantreno foi identificado apenas na orquídea *Eulophia nuda*. Os ensaios biológicos contra *L. amazonensis* mostraram pequena atividade para extrato bruto, frações e Hx-26. Entretanto, o fenantrenóide isolado mostrou atividade citotóxica contra células VERO.

Agradecimentos

CNPQ, PIBIC/UEM e a UEM.

Referências

CALVERT, D. J.; CAMBIE, R. C.; DAVIS, B. R. ^{13}C NMR spectra of polymethoxy- and methylenedioxyflavonols. Organic Magnetic Resonance, 12, 10, p.583-586, 1979.

HOSSAIN, M. M. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances - An overview. Fitoterapia, v.82, p.102-140, 2011.

MILLER, D.; WARREN, R.; MILLER, I. M.; Orquídeas do Alto da Serra da Mata Atlântica Pluvial do Sudoeste do Brasil. 2ª ed., Editora Salamandra, 1996.





MONTEIRO, J. A.; SCHUQUEL, I. T. A.; ALMEIDA, T. L.; SANTIN, S. M. O.; SILVA, C. C.; CHIAVELLI, L. U. R.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; COSTA, D. B. V.; NAKAMURA, C. V.; SCARIOT, D. B.; KAPLUM, V.; FARIA, R. T.; POMINI, A. M. **Oncibauerins A and B, new flavanones from *Oncidium baueri* (Orchidaceae).** Phytochemistry Letters, v.9, p.141-148, 2014.

SUTTLEWORTH, F. S.; ZIM, H. S. e DILLON, G. W. **Orquídeas - Guia dos Orquidófilos.** 3ª ed., Expressão e Cultura, 1991.

TUCHINDA P.; UDCHACHON J.; KHUMTAVEEPORN K.; TAYLOR W.C.; ENGELHARDT L.M.; WHITE A.H. **Phenanthrenes of *Eulophia nuda*.** Phytochemistry. p. 3267-3271, 1988.

