

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ORQUÍDEA *GOMESA RECURVA* NATIVA DA BACIA DO RIO TIBAGI

Denise Maria Bellincanta Ghiraldi (PIBIC/CNPq/UEM), Camila Rodolfo Savaris, Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierre, Jean Henrique Silva Rodrigues, Silvana Maria de Oliveria Santin, Celso Vataru Nakamura, Armando Mateus Pomini (Orientador). E-mail: deniseghiraldi@gmail.com

Ciências Exatas e da Terra / Química

Palavras-chave: Ensaios biológicos, produtos naturais, fitoquímica.

Resumo

O estudo químico de *Gomesa recurva* (Orchidaceae) teve como objetivo o isolamento e a caracterização dos principais metabólitos secundários e possíveis compostos bioativos da planta. Primeiramente foi coletado o material vegetal (partes aéreas) e em seguida preparados o extrato bruto e as frações em diferentes solventes. A avaliação da atividade antiproliferativa em formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* do extrato bruto e das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila, metanólica, aquosa e do precipitado remanescente mostraram resultados positivos apenas para as frações precipitado e aquosa com $IC_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$. Foram também realizados ensaios de atividades antiproliferativas contra promastigotas de *Leishmania amazonensis*, porém não foram observados apresentou resultados positivos para nenhuma amostra, observando-se valores de $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$. O estudo químico da fração hexânica levou ao isolamento e identificação da substância ácido-2-propanoico, 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-docosil éster, e do triterpeno glicosilado daucosterol. A fração clorofórmica conduziu ao isolamento dos triterpenos campesterol (24 α -metil-colestan-5-enol), estigmasterol (24 α -etil-colestan-5,22-dieno-3 β -ol) e β -sitosterol (24 α -etil-colestan-5-eno-3 β -ol) em mistura. As substâncias foram identificadas com base em dados espectroscópicos.

Introdução

A espécie *Gomesa recurva* R. Br. (Figura 1) faz parte da Família Orchidaceae e possui nome vernáculo de “parasita-da-capoeira”. Encontrada com facilidade no nordeste, sudeste e sul do Brasil, faz parte do Cerrado e da Mata Atlântica, bem como nas florestas ciliares, semidecíduais e ainda florestas ombrófilas (BARROS, 2015; WÄNGLER, 2015). Não há relatos na literatura de estudos químicos ou farmacológicos com espécies do gênero *Gomesa*.

Materiais e Métodos

O espectrômetro VARIAN, Mercury Plus foi utilizado para realização dos experimentos de RMN ^1H e ^{13}C a 500,02 MHz e 125,7 MHz, respectivamente, bem como experimentos bidimensionais DEPT, COSY, NOESY, HMBC e HSQC. Os deslocamentos químicos foram reportados em ppm, tendo como

referência interna o tetrametilsilano ($\delta = 0,0$ ppm). Os solventes deuterados utilizados foram: CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$, e CD_3OD todos da Aldrich. Os equipamentos de menor porte como rotaevaporadores e refrigeradores foram utilizados no laboratório Fitosin.

Na preparação das cromatografias em coluna utilizou-se sílica-gel 60 (0,063 – 0,200 mm) da Merck, sendo que, a dimensão da coluna variou de acordo com a quantidade de material adsorvido. As placas para cromatografia em camada delgada (CCD) foram preparadas com 0,25 mm de espessura e com fase estacionária sílica-gel 60G.

A espécie *G. recurva* foi coletada e identificada pela Profa. Dra. Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierrez (UEM) na região de Telêmaco Borba, às margens do rio Tibagi. Depois da coleta o material foi lavado com água à temperatura ambiente e ao abrigo da luz do sol. Para a produção do extrato bruto, fracionamento e como fase móvel nas cromatografias, foram utilizados os solventes orgânicos hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, com grau de pureza P.A. ou destilados, levando em conta a polaridade dos mesmos. O extrato bruto foi obtido a partir de 3,0 kg de material vegetal fresco (folhas, pseudobulbos, rizomas e raízes), triturado em moinho de facas e extraído exaustivamente com metanol. Obteve-se 34,88 g de extrato bruto (EBGR), que por sua vez foi extraído com diferentes solventes gerando frações a partir do hexano (HEGR; 2,9 g), clorofórmio (CLGR; 2,41 g), acetato de etila (ACGR; 0,20 g), metanol (MEGR; 18,46g), água (AQGR; 7,27 g) e sólido precipitado remanescente (PPT; 0,58 g).

Resultados e Discussão

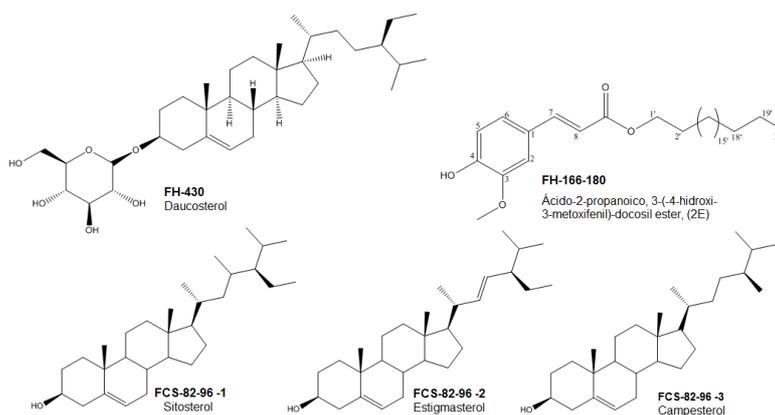


Figura 2. Substâncias identificadas da orquídea *G. recurva*.

A substância FH-166-180 (Figura 2) foi isolada e caracterizada durante o estudo da fração hexânica, como um sólido amorfo branco. Através da comparação dos dados obtidos no espectro RMN de ^1H e ^{13}C , com os dados disponíveis na literatura (BALDÉ, 1991), e espectros de RMN bidimensionais, confirmou-se a presença do ácido-2-propanóico, 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-docosil éster. A substância FH-430 (Figura 2) foi caracterizada da fração hexânica, como um sólido marrom, solúvel em DMSO, apresentando em solução, bolhas, características de saponinas. Através da comparação dos

dados obtidos no espectro RMN de ^1H e ^{13}C , com os dados disponíveis na literatura (LENDL, 2005; KOJIMA, 1990), confirmou-se a presença do esteroide glicosilado daucosterol. As substâncias FCS-82-96-1; FCS-82-96-2; FCS-82-96-3 (Figura 2) foram caracterizadas em mistura isoladas da fração clorofórmica, como um sólido amorfo amarelo claro. Através da comparação dos dados obtidos no espectro RMN de ^1H e ^{13}C com os dados disponíveis na literatura (GOULART, 1993), confirmou a presença de três esteroides, identificados como campesterol (FCS-82-96 -3), estigmasterol (FCS-82-96 -2) e sitosterol (FCS-82-96 -1).

As avaliações de atividades biológicas do extrato bruto e frações foram realizadas contra os parasitos *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*. Os resultados são mostrados na Tabela 1. Os ensaios foram realizados por incubação com as amostras e contagem direta sob microscópio em câmara de Neubauer (atividade em *T. cruzi*) ou ensaio de redução do MTT (atividade em *L. amazonensis*), como descrito anteriormente para outras amostras provenientes de orquídeas (ALMEIDA, 2014). Os valores de IC_{50} correspondem à concentração da amostra em ($\mu\text{g/mL}$) capaz de reduzir em 50% a proliferação dos parasitos após 96 horas de incubação. A maior concentração testada em todos os ensaios foi 200 $\mu\text{g/mL}$. As amostras que não apresentaram pelo menos inibição de 50% das células nesta concentração foram descritas com $\text{IC}_{50} > 200$. Neste caso, foram observados resultados positivos para as amostras PPT e ACGR.

Tabela 1. Atividade antiproliferativa em formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e promastigotas de *Leishmania amazonensis* do extrato bruto e frações obtidas de *Gomesa recurva* (IC_{50}):

Extrato/Frações	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>L. amazonensis</i>	<i>T. cruzi</i>
EBGR	>200	>200
ACGR	>200	152,2
CLGR	>200	>200
MEGR	>200	>200
AQGR	>200	>200
HEGR	>200	>200
PPT	>200	117,5

Em relação à atividade antiproliferativa em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, nenhuma amostra apresentou resultado positivo, sendo que todas apresentaram um $\text{IC}_{50} > 200$. Porém, as frações ACGR e PPT apresentaram resultado positivo para inibição do crescimento de *T. cruzi*.

Conclusão

O estudo químico da orquídea *G. recurva* permitiu identificar as substâncias campesterol (24 α -metil-colestan-5-enol), estigmasterol (24 α -etil-colestan-5,22-dieno-3 β -ol), β -sitosterol (24 α -etil-colestan-5-eno-3 β -ol), o ácido-2-propanoico, 3-(-4-hidroxi-3-metoxifenil)-docosilester, (2E), e o triterpeno

glicosilado daucosterol, com caracterização por dados de RMN de ^1H e ^{13}C . Os ensaios de atividades antiproliferativas em formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e promastigotas de *Leishmania amazonensis* foram realizados, com resultados positivos para atividade antiproliferativa em formas epimastigotas de *T. cruzi* para as frações PPT e ACGR, com $\text{IC}_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$. Porém, em relação à antiproliferativa em forma promastigotas de *L. amazonensis*, todas as amostras apresentaram $\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$, o que não caracteriza um resultado positivo.

Agradecimentos

Fundação Araucária, Capes e CNPq.

Referências

- ALMEIDA, T. L. et al., Estudos Químicos e atividades antiproliferativa, tripanocida e leishmanicida de *Maxillaria picta*. Química. Nova, 37, 7, 1151-1157, 2014.
- BALDÉ, M. A., et al., Ferulic acid esters from stem bark of *Pavetta owariensis*. Phytochemistry, 30, 3, 102-1026, 1991.
- BARROS, F. DE, et al., Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rodriguesia, 66, 4, 1085-1113, 2015.
- GOULART, M. O. F., et al., Fitoconstituintes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos jatrolanos A e B. Química Nova, 16, 2, 95-100, 1993.
- KOJIMA, H., et al., Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. Phytochemistry 29, 7, 2351-2355, 1990.
- LENDL, A., et al., Phenolic and terpenoid compounds from *Chione venosa* (SW.) URBAN var. venosa (Bois Bande'). Phytochemistry, 66, 2381-2387, 2005.
- WÄNGLER M. S., BARBERENA F. F. V. A., R. C. LOPES. Orchidaceae in an Atlantic Forest area: floristics and similarity to other dense ombrophilous forest fragments. Acta Botanica Brasilica, 29, 1, 82-93, 2015.