

ESTUDO QUÍMICO DAS FRAÇÕES POLARES DO EXTRATO DA ORQUÍDEA *GOMESA RECURVA* E DAS FRAÇÕES APOLARES DA ORQUÍDEA *STANHOPEA LIETZEI*

Denise Maria Bellincanta Ghiraldi (PIBIC/CNPq/UEM), Diego Luis Lucca (PG), Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierre (PQ), Silvana Maria de Oliveira Santin (PQ), Brenda Kischkel (IC), Melyssa Negri (PQ), Armando Mateus Pomini (Orientador). E-mail: ampomini@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas

1.06.01.05-8 QUÍMICA DOS PRODUTOS NATURAIS.

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

Resumo:

O objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo das frações polares da orquídea *Gomesa recurva* e apolares da orquídea *Stanhopea lietzei*, caracterizando metabólitos secundários e realizar ensaios biológicos com frações de *S. lietzei*. Os extratos brutos foram preparados com metanol e o fracionamento dos extratos foi feito com hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol e água. Das frações polares de *G. recurva* foi identificado o ácido florético após purificações cromatográficas. O composto esteroide daucosterol (3 β -O- β -glicopiranosil-sitosterol), foi isolado da *S. lietzei*, obtido da fração hexânica. Os bioensaios realizados com frações de *S. lietzei* mostraram resultados promissores de citotoxicidade contra células HeLa para as frações clorofórmio e acetato de etila.

Introdução

A espécie *Gomesa recurva* pertence ao gênero *Gomesa* e à família Orchidaceae. Não há registros de ameaça de extinção, sendo uma orquídea facilmente encontrada, com ocorrências confirmadas nordeste (Bahia), sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e sul do Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina). (BARROS, 2015; WÄNGLER, 2015).

O gênero *Stanhopea* possui cerca de 55 espécies, com ocorrência do México ao Brasil, caracterizado por espécies que oferecem fragrâncias florais como recompensa para polinizadores. Este gênero pode apresentar espécies simpátricas e interferentes (Dressler, 1968). O odor produzido por cada espécie, no entanto, é específico para atrair diferentes polinizadores (Dressler, 1968).

Materiais e métodos

Tanto a *Gomesa recurva* quanto a *Stanhopea lietzei* foram coletadas e identificadas pela Profa. Dra. Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierre (UEM) na região de Telêmaco Borba, às margens do rio Tibagi. Depois da coleta o

material foi lavado a temperatura ambiente e ao abrigo da luz do sol. Para a preparação do extrato bruto, foi utilizado um moinho de facas para a trituração do material vegetal. Para ambas as orquídeas foram realizadas extração exaustiva com metanol até a saturação do solvente. Repetiu-se o processo sete vezes. Para a recuperação do solvente, o mesmo foi filtrado e evaporado à pressão reduzida. Foram obtidos 34,88 g de extrato bruto (EBGR) para a *G. recurva* e 45,00 g de extrato bruto para a *S. lietzei*. (Almeida et al., 2014).

Para o fracionamento do extrato bruto, foi feita lavagem por solventes em gradiente de polaridade, sendo estes, clorofórmio, hexano, acetato de etila, metanol e água, com grau de pureza P.A. ou destilados. O processo foi repetido até que o solvente apresentasse uma coloração constante. A Tabela 1, mostra o resultado do fracionamento.

O estudo das frações utilizou-se de técnicas clássicas de cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada. Para a cromatografia em coluna, a fase estacionária utilizada foi sílica gel 60 e Sephadex LH 20, com variações de diâmetro de coluna em relação à quantidade de material adsorvido. Já a CCD, foram preparadas com 0,25 mm de espessura de sílica gel 60G. Para a análise da CCD, foi utilizado o revelador p-anisaldeído-ácido sulfúrico, seguido de aquecimento em chapa a aproximadamente 100°C. Como fase estacionária, aplicaram-se os solventes orgânicos com eluição isocrática ou por gradiente de polaridade.

A caracterização das substâncias purificadas foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear.

Tabela 1: Fracionamento do extrato bruto

<i>Gomesa recurva</i>				<i>Stanhopea lietzei</i>		
Solvente	Repetição	Volume (mL)	Massa (g)	Repetição	Volume (mL)	Massa (g)
Hexano	2	400,00	2,900	9	900,00	8,15
Clorofórmio	15	3000,00	2,4109	9	900,00	1,66
Acetato de etila	4	800,00	0,1962	4	400,00	0,33
Metanol	15	3000,00	18,456	10	1000,00	21,78
Água	3	600,00	7,2658	5	470,00	13,55
Precipitado	-	-	0,5767	-	-	0,51

Resultados e Discussão

Durante o estudo da fração polar ACGR-16-20, de *G. recurva*, foi isolado um composto sólido amarelo e amorfo; o mesmo foi solúvel em metanol e revelado em CCD como uma mancha amarela. A partir de análise de RMN de ¹H (400,00 Hz) em clorofórmio deuterado, foi possível concluir que a substância identificada era o ácido florético (4,0mg), Figura 1.

Da orquídea *S. lietzei*, foi caracterizada a substância SL1, oriunda da fração hexânica, que se apresentou-se como um sólido branco amorfo, solúvel em clorofórmio – metanol (1:1). Com o uso das técnicas

espectroscópicas de ressonância magnética nuclear, conclui-se que a substância em questão se trata do 3 β -O- β -glicopiranosil-sitosterol, Figura 1. A continuação dos estudos da fração hexânica levou à obtenção de frações aparentemente compostas por triterpenos.

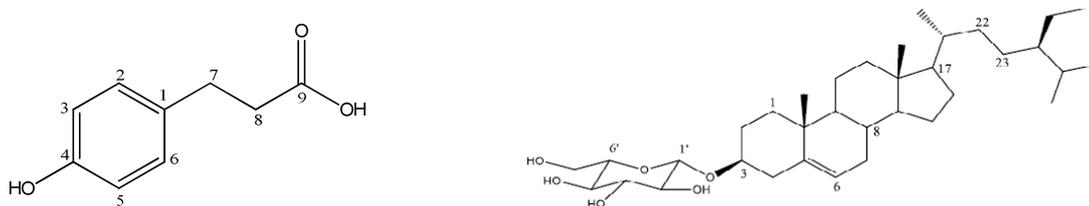


Figura 1: Estruturas do ácido florético e daucosterol.

Em relação aos ensaios biológicos com frações de *S. lietzei*, foram obtidos resultados promissores para as avaliações de citotoxicidade, para as frações clorofórmica e acetato de etila em um período de 24 horas (Figura 2). Os resultados podem ser considerados promissores quando os mesmos apresentam uma viabilidade em células HeLa menor que 50% e uma viabilidade em células Vero maior que 50%.

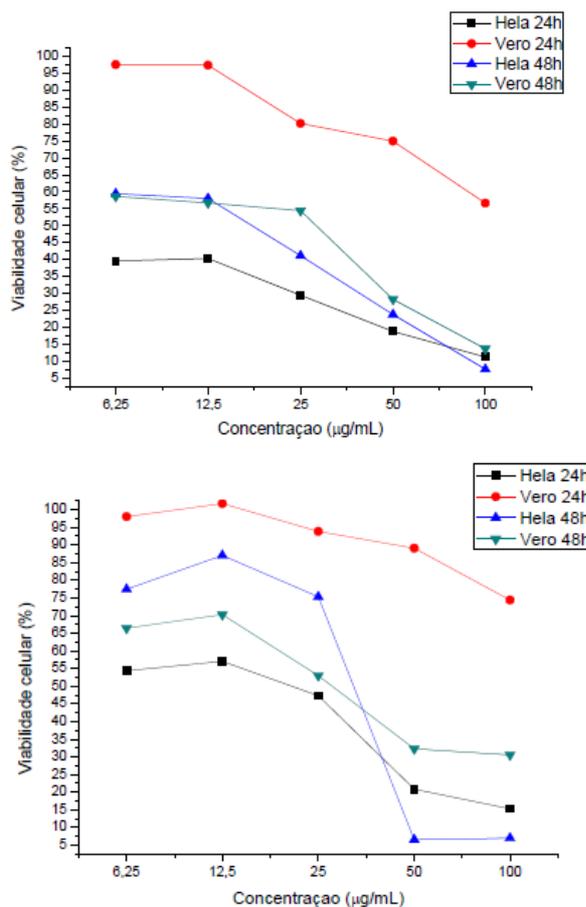


Figura 2: Avaliações de citotoxicidade contra células cancerosas HeLa para as frações clorofórmica (acima) e acetato de etila (abaixo) de *S. lietzei*.

Conclusão

O estudo químico das frações polares da orquídea *Gomesa recurva* resultou no isolamento e caracterização do ácido florético. Em relação o estudo de *Stanhopea lietzei* caracterizou-se a presença do triterpeno glicosilado daucosterol, além de resultados promissores para avaliações de atividades biológicas contra células cancerosas HeLa para frações do extrato desta espécie.

Agradecimentos

Fundação Araucária, Capes e CNPq.

Referências

Almeida, T. L., Monteiro, J.A., Lopesa, G. K. P., Chiavellia, L. U. R., Santin, S. M. O., Silva, C. C., Kaplumb, V., Scariot, D. B., Nakamura, C. V., Ruiz, A. L. T.G., Carvalho, J. E., Faria, R. T., Pomini, A. M. Estudos Químicos e atividades antiproliferativa, tripanocida e leishmanicida de *Maxillaria picta*. **Química Nova**, 37, 7, 1151-1157, 2014.

Barros, F. De, Vinhos, F., Rodrigues, V.T., Barberena, F.F.V.A., Fraga, C.N., Pessoa, E.M., Forster, W., Menini Neto, L., Furtado, S.G., Nardy, C., Azevedo, C.O., Guimarães, L.R.S. Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Rodriguesia**, 66, 4, 1085-1113, 2015.

Dressler, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard University Press, Cambridge, 1981.

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.