

ESTUDO FITOQUÍMICO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DE *VERNONANTHURA DISCOLOR* (ASTERACEAE)

Júlia Martino Caldato¹ (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Marta Regina Barrotto do Carmo² (PQ), Maria Helena Sarragiotto¹ (PQ), Bianca Del Bianco Sahm³ (PQ), Leticia Lotufo³ (PQ), Anderson Valdiney Gomes Ramos¹ (Co-orientador), Débora Cristina Baldoqui¹ (Orientador), e-mail: ra112294@uem.br

¹Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Química/Maringá, PR.

²Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Biologia/Ponta Grossa, PR

³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo/ São Paulo, SP

Ciências Exatas e da Terra – Química – Química Orgânica

Palavras-chave: Metabólitos especializados, triterpenos, atividade antitumoral.

Resumo:

O estudo fitoquímico da fração hexânica de *Vernonanthura discolor* resultou no isolamento e caracterização de nove substâncias, acetato de α -amirina, acetato de β -amirina, acetato de taraxasterol, acetato de pseudotaraxasterol, um derivado do lupeol esterificado com ácido graxo, β -sitosterol, estigmasterol, além do ácido linoleico e feofitina A. A triagem de avaliação da atividade antitumoral demonstrou um potencial desta espécie na inibição do crescimento de células de melanoma metastático.

Introdução

A espécie *Vernonanthura discolor* (Spreng.), popularmente conhecida vassourão preto, vassourão de folha larga ou cambará-guaçú, é uma árvore de médio porte, com cerca de 10 a 20 m de altura, nativa do Brasil, com distribuição geográfica no Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (MARQUARDT et al., 2018). Quanto à composição química, Bazon e colaboradores (1997) reportaram o isolamento dos triterpenos pentacíclicos friedelina e friedelanol, além de estudos de metabolômica que resultaram na identificação de treze flavonoides (GALLON et al., 2018). Contudo, não há relatos de estudos relacionados ao potencial biológico desta espécie na literatura. Desta forma, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico da fração hexânica de *V. discolor*, além de avaliar o potencial antitumoral desta espécie.

Materiais e Métodos

Preparação e fracionamento do extrato bruto

A espécie *Vernonanthura discolor* foi coletada em junho de 2019, na região de Campos Gerais do município de Ponta Grossa no Paraná. As partes aéreas (caules e folhas) foram secas em estufa a 35 °C, posteriormente trituradas em moinho de facas. O material vegetal seco e moído foi submetido à extração por maceração exaustiva com etanol P.A, sob temperatura ambiente. A evaporação do solvente orgânico com auxílio de um evaporador rotativo forneceu o extrato bruto de *V. discolor* (32,5g). Uma parte do extrato bruto (30,0 g) foi dissolvida em uma mistura de MeOH/H₂O 1:1 (400 mL v/v), e submetido à partição com 3 vezes (150 mL) de cada um dos solventes orgânicos *n*-hexano, diclorometano, e acetato de etila. A fração hexânica (9,60 g) foi utilizada para o estudo fitoquímico.

Estudo da fração hexânica de V. discolor

Uma parte da fração hexânica (4,7 g) foi submetida a separação cromatográfica em uma coluna de sílica gel 60 utilizando misturas de hexano, acetato de etila a metanol como eluentes em gradiente crescente de polaridade resultando em 69 frações que foram reunidas em 10 novas frações, de acordo com o perfil observado em Cromatografia em Camada Delgada (CCD). A subfração F. Hex. 3 foi submetida a purificação em coluna cromatográfica em sílica flash, utilizando misturas de hexano, acetato de etila e metanol, resultando em 34 frações que foram reunidas em 12 novas frações de acordo com o perfil em CCD. A subfração F. Hex. 3 - 2 levou a caracterização de uma mistura das substâncias **VD-1**, **VD-2**, **VD-3**, **VD-4** e **VD-5**. A subfração F. Hex. 5 foi submetida a purificação em coluna cromatográfica em sílica flash, utilizando misturas de hexano, acetato de etila a metanol, resultando em 41 frações que foram reunidas em 11 novas frações. A subfração F. Hex. 5-6 forneceu a mistura de substâncias denominadas **VD-6**, **VD-7** e **VD-8**. A fração F. Hex. 4, após análise de RMN resultou no isolamento da substância **VD-9**.

Atividade antitumoral

A atividade antitumoral do extrato bruto (EB) e fração hexânica (F.Hex) de *V. discolor* foi avaliada contra células tumorais de melanoma metastático (501mel) e carcinoma de cólon (HCT 116) em duas concentrações (5 e 50 µg/mL) de acordo com o método de MTT (Mosmann, 1983). A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo e dimetilsulfóxido como controle negativo. O percentual de inibição do crescimento celular (%) para cada substância foi determinada por análise no software GraphPad Prism v5.0.

Resultados e Discussão

Após o estudo e processo de purificação por coluna cromatográfica da fração hexânica foram identificadas nove substâncias na fração em estudo, que a partir da

comparação de seus dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C , além de análises bidimensionais (2D) em comparação com dados da literatura, permitiram a determinação estrutural dos triterpenos pentacíclicos acetato de α -amirina (VD-1), acetato de β -amirina (VD-2), acetato de taraxasterol (VD-3), acetato de pseudotaraxasterol (VD-4), e um derivado do lupeol esterificado com ácido graxo de cadeia longa na posição C-3 (VD-5), dos esteroides β -sitosterol (VD-6) e estigmasterol (VD-7), além do ácido linoleico (VD-8), e feofitina A (VD-9) (CHATURVEDULA e PRAKASH, 2012; EBAJO et al., 2015; YAACOB Nik Soriani et al., 2015) (Figura 1).

A atividade antitumoral do extrato bruto e fração hexânica de *V. discolor* foi avaliada contra duas células tumorais, na qual apresentaram uma atividade seletiva contra a linhagem de melanoma (501mel) com uma capacidade de inibição do crescimento celular de 73,3 e 94,8 % para o EB e F.Hex, respectivamente, na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Além disso, a fração hexânica mostrou um potencial de inibição em 30,6% na menor concentração testada (5 $\mu\text{g/mL}$) contra esta célula tumoral. No entanto, a fração foi inativa contra a célula de carcinoma de cólon (HCT 116) na maior concentração avaliada (50 $\mu\text{g/mL}$).

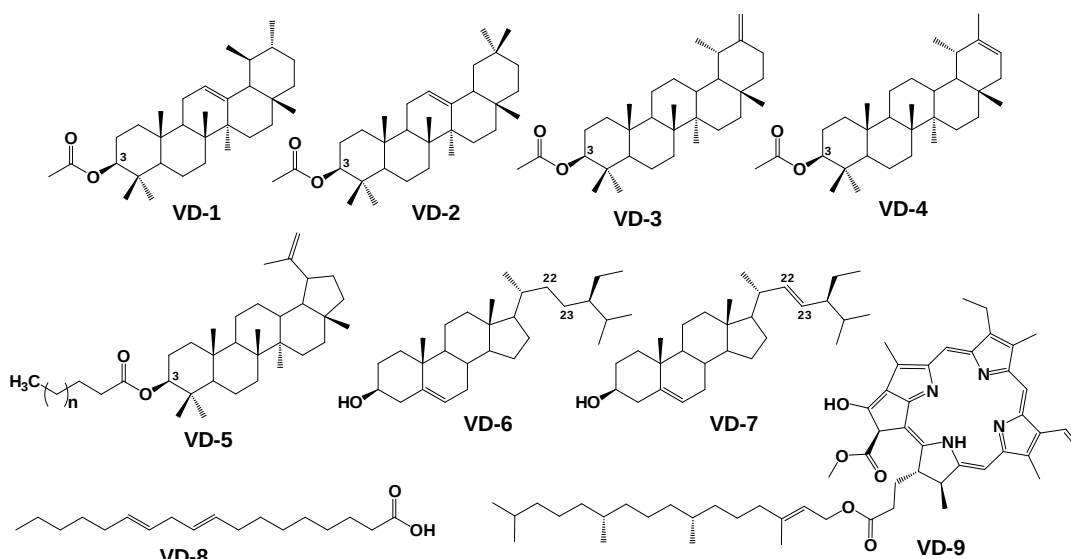


Figura 1: Substâncias isoladas da fração hexânica de *V. discolor*

Conclusões

O estudo químico da fração hexânica de *V. discolor* resultou no isolamento e caracterização de nove substâncias, denominados acetato de α -amirina (VD-1), acetato de β -amirina (VD-2), acetato de taraxasterol (VD-3), acetato de pseudotaraxasterol (VD-4), um derivado do lupeol esterificado com ácido graxo (VD-5), β -sitosterol (VD-6), estigmasterol (VD-7), além do ácido linoleico (VD-8) e feofitina A (VD-9). Todas estas substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez na espécie *V. discolor*. Na avaliação da atividade antitumoral, o EB e F.Hex apresentaram uma capacidade de inibição do crescimento celular para a célula de melanoma metastático na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Além disso, a F.Hex foi capaz

de inibir aproximadamente 30,6 % na menor concentração testada (5 µg/mL), demonstrando o potencial da espécie *V. discolor* como uma fonte de metabólitos com ação contra esta célula tumoral.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM, CNPq, Fundação Araucária e a organização do evento.

Referências

BAZON, J. N.; LOPES, J. L. C.; VICHNEWSKI, W.; DIAS, D. A.; NAGAMITI, K.; CUNHA, W. R.; HERZ, W. Cadinanolides and other constituents from *Vernonia fruticulosa* and *Vernonanthura discolor*. **Phytochemistry**, v. 44, pg. 1535, 1997.

CHATURVEDULA, V.; PRAKASH, I. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, p. 239-242, 2012.

EBAJO V.D. J. R, BRKLJAČA R., URBAN S., RAGASA C. Y. Chemical constituents of *Hoya buotii* Kloppenb. **J Appl Pharm Sci**. 5, 69-72, 2015.

GALLON, M. E.; MONGE, M.; CASOTI, R.; DA COSTA, F. B.; SEMIR, J.; GOBBONETO, L. Metabolomic analysis applied to chemosystematics and evolution of megadiverse Brazilian Vernonieae (Asteraceae). **Phytochemistry**, v. 150, p. 93–105, 2018.

IGUAL, M.O.; MARTUCCI, M.E.P.; COSTA, F.B.; NETO, L.G. Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 94–9, 2013.

MARQUARDT, R. T.; ARENHARDT, T. C. P.; REZINI, J. A.; VITORINO, M. D.; ADENESKY-FILHO, E. Germinação de sementes de *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) procedentes de diferentes árvores matrizes. **Acta Biológica Catarinense**, v. 5, n. 1, p. 14–21, 2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, **Journal of Immunological Methods**. 65, 55-63, 1983.

SOARES, P.N.; ALMEIDA, G. *Vernonanthura* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105098>>. BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113, 2015.

YAACOB, Nik Soriani et al. Anti-tumor action, clinical biochemistry profile and phytochemical constituents of a pharmacologically active fraction of *S. crispus* in NMU-induced rat mammary tumour model. **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0126426, 2015.