# ESTUDO FITOQUÍMICO E ANTICÂNCER DE FRAÇÕES POLARES DA ESPÉCIE *Bifrenaria harrisoniae* (ORCHIDACEAE).

Lucas Hideo Kawamoto Macedo[1] (PIBIC/CNPq/UEM), Denise Maria Belincanta Ghiraldi[1] (PG), Gredson Keiff Souza[1] (PG, Coorientador), Deisiany Gomes[2] (PG), Melyssa Fernanda Norman Negri[2] (PQ), Armando Mateus Pomini[1] (Orientador). E-mail: ampomini@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, [1]Departamento de Química, [2]Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra, Química.

**Palavras-chave:** Produtos naturais; cromatografia; flavonoide.

## RESUMO

Realizou-se o estudo fitoquímico das frações polares do extrato bruto (EB), da espécie *Bifrenaria harrisoniae*, com o objetivo de isolar e caracterizar metabólitos especializados. Foram utilizadas técnicas de cromatografia em coluna clássica, cromatografia em camada delgada, extração líquido-líquido, e ressonância magnética nuclear de $^{1}H$ e $^{13}C$, permitindo a caracterização do flavonoide 3-metoxiquercetina. Além disso, realizou-se a avaliação do potencial antiproliferativo de frações do EB contra células HeLa e VERO. Dessa forma, o presente trabalho de continuação do estudo fitoquímico e biológico da espécie *B. harrisoniae* contribuiu mais uma vez para a caracterização química de espécies nativas do Brasil.

## INTRODUÇÃO

A família *Orchidaceae* compreende aproximadamente de 28 mil a 31 mil espécies em todo o planeta, estando amplamente distribuídas na maioria dos continentes, em especial em florestas tropicais úmidas, e atrai a atenção de muitos devida a sua diversificação morfológica (PESSOA *et al.,* 2025). Um dos gêneros de orquídeas nativo do centro e sul do Brasil é o *Bifrenaria*, que compreende espécies predominantemente epífitas e rupícolas, destacando-se *Bifrenaria harrisoniae* por sua ocorrência em áreas rochosas e bem iluminadas das regiões sul e sudeste (GOVAERTS *et al.,* 2006).

## MATERIAIS E MÉTODOS

*Obtenção, fracionamento e análise do extrato bruto e frações.*

O material seco e triturado da *Bifrenaria harrisoniae* foi submetido a extração com uma mistura dos solventes orgânicos metanol e clorofórmio (20%), seguido do processo de concentração do extrato em rotaevaporador, para produção do extrato

bruto (EB). Posteriormente, o EB foi submetido ao fracionamento com solventes de diferentes polaridades, obtendo-se as frações hexano (HX), clorofórmio (CL), acetato de etila (AC), metanol (ME) e a fração remanescente aquosa (HW). Para o presente estudo fitoquímico, foram selecionadas as frações AC e ME. As etapas de obtenção e fracionamento do extrato bruto foram realizadas anteriormente (MACEDO et al., 2025).

*Estudo das frações*

A fração AC foi inicialmente submetida à lavagem com clorofórmio e acetato de etila, originando as frações Acetato-Clorofórmio e Acetato-Acetato. Esta última foi novamente lavada, resultando nas frações aquosa (BHFAAQ) e acetato remanescente (BHFAA). Ambas foram purificadas por cromatografia em Sephadex LH-20, obtendo-se 27 a 124 subfrações, respectivamente. As subfrações 32-60 e 61-69 de BHFAA foram submetidas à cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa. As partições resultantes foram reunidas e submetidas à extração líquido-líquido com acetato, clorofórmio e metanol/água, originando a BHELL-Acet, BHELL-$CHCl_3$ e BHELL-$MeOH/H_2O$, purificadas em Sephadex. A fração ME do extrato foi submetida à extração líquido-líquido, resultando nas frações metanólica e hexânica, sendo esta última purificada em Sephadex.

*Avaliação biológica*

O potencial antiproliferativo das amostras foi avaliado frente às células VERO e HeLa cultivadas em placas de 96 poços e incubadas a 37°C, utilizando diferentes concentrações das amostras. Após 24 horas de incubação, os poços foram lavados com PBS e foram adicionados para cada poço 20 µL solução de vermelho neutro e 180 µL de DMEME livre de vermelho de fenol. A placa, foi então, incubada por 3 horas, e após esse período o corante incorporado aos lisossomos foi extraído se utilizando uma solução de ácido acético a 1% em etanol 50%. A absorbância foi medida em um espectrofotômetro (SpectraMax Plus 384) a 540 nm. Os dados obtidos foram utilizados para avaliar a viabilidade celular e determinar a concentração citotóxica capaz de reduzir em 50% a viabilidade celular ($CC_{50}$) (SALCI et al., 2017).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Fração BHELL-$CHCl_3$ 22*

As frações BHELL-$CHCl_3$ 22, BHELL-$CHCl_3$ 35 e BHELL-$CHCl_3$ 61 foram submetidas a análises por ressonância magnética nuclear (RMN), sendo que as duas últimas apresentaram perfis típicos de ácido graxo. Em relação a BHELL-$CHCl_3$ 22 foi verificada a presença de sinais característicos de um composto pertencente a classe dos flavonoides. A partir do espectro de RMN $^1H$ foi observado sinais que sugerem a presença de hidrogênios aromáticos, enquanto pelo espectro de RMN

$^{13}C$ se verificou sinais característicos de carbonos aromáticos, sinais sugerindo a presença de grupo metoxila, e de sinais indicando a presença de carbonos ligados a oxigênio no anel aromático, permitindo caracterizar o flavonoide 3-metoxiquercetina. Análises por RMN de amostras provenientes do fracionamento da fração ME mostraram a presença de misturas complexas de açúcares. Na Tabela 1 estão dispostos os dados espectroscópicos comparativos do composto e da literatura.

**Tabela 1:** Comparação dos dados espectroscópicos de RMN do flavonoide 3-metoxi-quercetina isolado de *Bifrenaria harrisoniae* com os dados da literatura.

| Posição | Composto isolado | | SILVA *et al.* (2009) | |
|---|---|---|---|---|
| | δ¹H | δ¹³C | δ¹H | δ¹³C |
| **1** | - | - | - | - |
| **2** | - | 157,04 | - | 155,43 |
| **3** | - | 138,15 | - | 137,94 |
| **4** | - | 178,62 | - | 178,94 |
| **5** | - | 161,71 | - | 161,87 |
| **6** | 6,41 | 98,34 | 6,48 | 98,03 |
| **7** | - | 164,51 | - | 163,57 |
| **8** | 6,22 | 93,29 | 6,25 | 93,10 |
| **9** | - | 156,62 | - | 156,49 |
| **10** | - | 104,46 | - | 104,59 |
| **1'** | - | 121,52 | - | 121,68 |
| **2'** | 7,64 | 115,06 | 7,69 | 114,92 |
| **3'** | - | 145,08 | - | 144,59 |
| **4'** | - | 148,57 | - | 147,78 |
| **5'** | 6,93 | 115,02 | 6,99 | 114,19 |
| **6'** | 7,55 | 120,91 | 7,57 | 120,78 |

*Avaliação biológica*

Os ensaios de citoxicidade demonstraram baixa toxicidade das frações da *B. harrisoniae* em relação as células VERO nas concentrações avaliadas. Entre as amostras, a fração clorofórmica (CL) apresentou maior atividade contra células HeLa, com $CC_{50}$ de 37,22 µL e índice de seletividade de até 2,7. A maior atividade da CL pode estar relacionada a presença de flavonoides, compostos bioativos frequentemente associado a efeitos antiproliferativos (MACEDO et al., 2025). Na Tabela 2 estão dispostas as concentrações citotóxicas contras as células HeLa e VERO.

**Tabela 2:** Concentrações citotóxicas ($CC_{50}$, µg/mL) das frações de *B. harrisoniae* contra as células HeLa e VERO.

| Cepas | HX | CL | AC | ME | HW |
|---|---|---|---|---|---|
| HeLa | 79,53 | 37,22 | 83,23 | 37,34 | 45,12 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| VERO | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |

## CONCLUSÕES

O estudo das frações polares de *B. harrisoniae* permitiu o isolamento do flavonoide 3-metoxiquercetina, enquanto os ensaios biológicos revelaram atividade antiproliferativa seletiva contra células HeLa, sem toxicidade relevante para células VERO. Esses resultados reforçam o potencial fitoquímico da espécie e a importância dos estudos dos produtos naturais. Vale ressaltar que os resultados do estudo desta planta permitiram a publicação do artigo intitulado: “Phytochemical, dereplication, chemophenetic and antiproliferative studies of *Bifrenaria harrisoniae* (Orchidaceae: Maxillariinae)” na revista Biochemical Systematics and Ecology. https://doi.org/10.1016/j.bse.2026.105349.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e a Fundação Araucária pelo apoio financeiro (NAPI RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, Convênio 144/2023 Meta 2).

## REFERÊNCIAS

GOVAERTS, R. *et al*. **World Checklist of Orchidaceae**. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew, 2003. Published on the Internet, 2006.

MACEDO, L. H. K. *et al*. Estudo químico da fração clorofórmica da espécie *Bifrenaria harrisoniae* (Orchidaceae). *In*: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEM, 2025, Maringá. **Anais**. Maringá: UEM, 2025.

PESSOA, E. M. *et al*. An Overview of Orchidaceae from Brazil: Advances and Shortfalls After 400 Years of Studies. **Plants**, v. 14, n. 22, p. 3520, 18 nov. 2025. Disponível em: https://www.mdpi.com/2223-7747/14/22/3520. Acesso em: 2 ago. 2026.

SALCI, T. P. *et al*. A new small molecule KRE2 inhibitor against invasive *Candida parapsilosis* infection. **Future Microbiology**, v. 12, n. 14, p. 1269-1283, 2017. DOI: https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0065. Acesso em: 31 julho 2026.

SILVA, T.M.S; DE CARVALHO, G.M.; RAIMUNDO, B.F. Estudos espectroscópicos em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanun jabrense Agra & Nee* e *S. paludosum Moric*. **Química Nova,** v. 32, p. 1119-1128, 2009. Disponível em: https://www.scielo.br/j/qn/a/kj4Lr7qFDv7GBjfmZ94S9LL/?format=html&lang=pt. Acesso em: 01 ago. 2026.