



ESTUDO FITOQUÍMICO DAS CASCAS DOS GALHOS DE MONTEVERDIA ROBUSTA REISSEK

Leticia Lang, Marcella do Carmo Barroso de Siqueira, Rivaldo Niero, Valdir Cechinel Filho, Ademir Reis

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Mediciniais

Introdução: As plantas medicinais estão sujeitas a diferentes interações abióticas que o meio as impõe. Sem a capacidade de se locomover, estão, muitas vezes, submetidas a condições menos favoráveis ou estressantes. Para garantir a sobrevivência ao longo de sua história evolutiva, acredita-se que o organismo vegetal produz substâncias que possibilitam o seu desenvolvimento e a perpetuação da espécie. A essas substâncias dá-se o nome de metabólitos primários e secundários (1). Os metabólitos primários constituem moléculas comuns em todas as espécies, como os aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e lipídeos, relacionados com a fotossíntese, respiração, transporte e síntese de proteínas. Através dos metabólitos primários, originam-se os metabólitos secundários, que constituem moléculas especializadas, restritas, muitas vezes, ao gênero, família ou espécie, e que se dividem em três principais classes de moléculas: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Com a prevalência e o aumento de doenças inflamatórias gastrointestinais no Brasil, devido a dietas pobres em fibras, obesidade, consumo excessivo de alimentos processados, tabagismo, alcoolismo, sedentarismo e outros fatores, o que representa um importante problema de saúde pública, a *Monteverdia robusta* ou *Maytenus robusta*, uma planta medicinal, popularmente conhecida como *cafezinho-do-mato* ou *coração-de-bugre* (2), vem sendo estudada com a finalidade de alternativa e recurso terapêutico para o tratamento e prevenção de afecções gástricas (3). Estudos revelaram que os galhos e folhas possuem atividade citotóxica *in vitro* frente a células de carcinoma mamário murino 4T1 e atividade anti-inflamatória em camundongos, produzido por carragenina (4). Sobre as raízes, revelaram atividade gastroprotetora em camundongos (3), hepatoprotetora em células HepG2 (5), além de um efeito melhorador no cólon e no fígado de camundongos expostos ao sulfato de dextrana sódica (3).

Objetivos: O objetivo deste trabalho foi o isolamento e identificação dos constituintes químicos presentes nas cascas dos galhos de *Monteverdia robusta*, como alternativa ecológica em relação a coleta das raízes e caules, além de propor subsídios para futuros estudos farmacológicos.

Metodologia: As cascas dos galhos de *M. robusta* foram coletadas na localidade do Morro do Baú, em Ilhota (SC) em junho de 2019, e identificadas pelo professor Dr. Ademir Reis, do departamento de botânica da UFSC. Uma exsicata foi registrada e depositada no herbário Barbosa Rodrigues de Itajaí (SC), sob o número HBR 57356 e devidamente cadastrada no SisGen sob o número AB9E07E. As cascas dos galhos foram removidas manualmente com o auxílio de uma faca através de raspagem, obtendo-se 275g de material vegetal. Posteriormente, passou por um processo de secagem em estufa com ar circulante a 40°C, trituração em moinho de facas e maceração em MeOH:



2 litros, por um período de 14 dias. O macerado foi filtrado e evaporado à pressão reduzida em rotaevaporador por 30min/50°C e, acondicionado em estufa à temperatura controlada em 40°C até a remoção total do solvente. O rendimento do extrato metanólico em relação ao material vegetal seco (12,88 g) foi de 4,68%. O extrato metanólico seco foi solubilizado em 200ml de uma mistura contendo H₂O:MeOH (50/50), e particionado utilizando um funil de separação de 1 litro e solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano e acetato de etila (900ml de cada solvente) rendendo as respectivas frações semipurificadas. A purificação dos compostos ocorreu através da eluição em CC, e fase móvel com polaridade crescente. Com o auxílio da CCD foi possível analisar e comparar alguns compostos provenientes da eluição, com alguns padrões que já haviam sido isolados anteriormente nesta espécie, como estigmasterol e alguns triterpenos da classe dos friedelanos. Após análise prévia e identificação de que havia certo grau de pureza, foram submetidas à RMN de C(13) e H(1), os quais, através de comparação com os deslocamentos químicos estabelecidos pela literatura, permitiram a elucidação das estruturas químicas.

Resultados: Para a fração de hexano, ocorreu o fracionamento com sílica gel como fase estacionária, e uma mistura de hexano e acetona com gradiente de polaridade (0 ; 100% acetona) como fase móvel, obtendo-se 150 frações. Na fração 31-35 foi observada a formação de cristais brancos (80 mg) que foi submetido a CCD. A análise em CCD revelou um composto mais apolar e um R_f maior, quando comparado com os padrões alfa-amirina, estigmasterol e os triterpenos 3,12- dioxofriedelano e 3-16 dioxofriedelano. Desse modo, a amostra foi submetida ao RMN de C(13) e H(1), em que, ao ser comparada com os valores de deslocamento químico para os carbonos, foi possível elucidar o 3,15 dioxofriedelano. A fração 51-63 apresentou cristais brancos (50mg) e algumas impurezas visualizadas previamente por CCD. Desse modo, na tentativa de maior purificação dos compostos, foi realizada uma CF, em que, na sub-fração 29-33, foi observado o aparecimento de cristais brancos com bom grau de pureza (10 mg). A análise desse composto em CCD revelou maior polaridade e menor R_f em relação aos padrões alfa-amirina, estigmasterol e os triterpenos 3,16-dioxofriedelano, 3-oxofriedelano e 3-hidroxifriedelano. Portanto, para a elucidação da estrutura química, foi submetida em RMN de C(13) e H(1) e descrita como 3-oxo-29-hidroxifriedelano. Na fração 77-87 foi observada a formação de alguns cristais esverdeados (4 mg) que, ao ser submetida a CCD, apresentou característica mais polar e R_f menor quando comparada com os padrões estigmasterol, alfa amirina, e os triterpenos 3,12-dioxofriedelano, 3,16- dioxofriedelano, 3-oxofriedelano e 3-hidroxifriedelano. Portanto, com a submissão ao RMN de C(13) e H(1), e comparação com os valores de deslocamento químico para os carbonos, foi possível propor a estrutura química: 3,15-dioxo-28,29,30-trihidroxifriedelano. As frações posteriores a essa fração, não foram trabalhadas. Para a purificação da fração de diclorometano, o fracionamento ocorreu com sílica gel como fase estacionária, e uma mistura de diclorometano e metanol com gradiente de polaridade (0 ; 100% metanol) como fase móvel, obtendo-se 125 frações. Com o agrupamento das frações 1-23 foi observada a presença de cristais brancos (10 mg) que, ao serem analisados previamente por CCD, apresentaram-se similar ao padrão



3-oxofriedelano e 3-hidroxifriedelano. Ao agrupar as frações 36-49 foi observada a formação de cristais brancos (40 mg), que, ao analisar em CCD, apresentaram-se similares ao composto isolado na fração 31-35 de hexano e nas raízes dessa mesma espécie, identificado como 3,15-dioxofriedelano. As frações posteriores a essa fração, não foram trabalhadas. Para a purificação da fração de acetato de etila, o fracionamento ocorreu com sílica gel como fase estacionária, e uma mistura de clorofórmio e metanol com gradiente de polaridade (0 a 100% metanol) como fase móvel, obtendo-se 134 frações. Na sub-fração 1-5 foi observado a formação de cristais brancos (17 mg), que, ao serem comparados por CCD, com o padrão 3,15-dioxofriedelano da fração de hexano e com o padrão estigmasterol, apresentou Rf semelhante ao 3,15-dioxofriedelano. De modo que o isolamento do 3,15-dioxofriedelano, nesta fração, pode estar relacionado a questões de polaridade intermediária desse composto. Algumas frações posteriores foram analisadas, mas sem sucesso, visto a necessidade de outros reveladores para compostos mais polares.

Considerações finais: Pelas técnicas cromatográficas e espectroscópicas de RMN H(1) e C(13), em comparação com os dados da literatura, foi isolado o 3,15-dioxofriedelano na fração de hexano, diclorometano e acetato de etila, identificado também nas raízes desta espécie, sendo um provável composto majoritário nas cascas dos galhos, com o isolamento aproximado de 874mg. Da fração de hexano também foi identificado por CF, RMN H(1) e C(13), em comparação com dados da literatura, o composto 3-oxo-29-hidroxifriedelano, isolado anteriormente nas partes aéreas desta espécie. Foi proposta, também, uma possível substância inédita e desconhecida da literatura, denominada 3,15-dioxo-28,29,30-trihidroxifriedelano. Da fração diclorometano, teve-se o isolamento e a identificação por RMN H(1) e C(13), em comparação com dados da literatura, uma mistura de compostos da classe dos friedelanos: 3-oxofriedelano e 3-hidroxifriedelano, isolados anteriormente nas partes aéreas e subterrâneas.

Financiamento ou apoio: PIBIC/CNPq

Referências

- 1) SANTOS, D. Y. A. C. Botânica aplicada: metabólitos secundários na interação planta-ambiente. 2015. 124 p. Texto (Concurso-público Livre-docente), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- 2) VELOSO, C. C.; SOARES, G. L.; PEREZ, A. C. et al. Pharmacological potential of Maytenus species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 27, n. 4, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.02.006>.
- 3) MEES, M.; MEURER, M. C.; MARIANO, L. N. B. et al. Maytenus robusta Reissek, a medicinal plant popularly used to treat digestive diseases, promotes ameliorative effects in colon and liver of mice exposed to dextran sulfate sodium. Journal of Ethnopharmacology, v. 261, n. 28, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113180>.
- 4) SOUSA, G. F. Estudo fitoquímico e atividade biológica de constituintes das folhas e galhos de Maytenus robusta (celestraceae). 2016. 250p. Tese (Doutorado em Ciências-Química), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.
- 5) THIESEN, L. C.; SILVA, L. M.; SANTIN, J. R. et al. Hepatoprotective effect of Maytenus robusta Reiss extract on CCl4-induced hepatotoxicity in mice and HepG2 cells. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 86, p. 93-100, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.02.023>.