

Investigação química da fração *n*-butanólica das folhas de *Cayaponia citrullifolia* (Griseb.) Cogn. (Cucurbitaceae)

Bruna Pereira de Jesus Sousa (IC)^{1*}, Yara Cecília Monteiro Oliveira (IC)¹, Geralda de Fátima Lemes (PQ)¹, Vera Lúcia Gomes Klein (PQ)², brunapjsousa@gmail.com.

¹Universidade Estadual de Goiás - Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas Henrique Santillo. BR 153, Nº 3105 Anápolis. Caixa Postal 459, CEP 75132400.

²Universidade Federal de Goiás-Goiânia Campus Samambaia, Instituto de Ciências Biológicas.

Resumo: O gênero *Cayaponia* se destaca tanto pelo uso medicinal de suas espécies, como pelo potencial biológico dos metabólitos secundários isolados, como no caso, de flavonoides e cucurbitacinas. Dentre as atividades biológicas as mais importantes são citotóxica, anti-inflamatória, antimicrobiana, ação cardiovascular e curativa. Geralmente, as partes vegetativas usadas na medicina popular são raízes, folhas, caules, frutos e sementes, preparadas na forma de decoctos, macerados, xaropes, extratos e vinhos. *Cayaponia citrullifolia* (Griseb.) Cogn. é uma planta trepadeira, conhecida popularmente, na Argentina, como tayuyá. A raiz dessa planta é usada na medicina popular como diurética e na regulação da fertilidade. O presente trabalho descreve o estudo químico da fração *n*-butanólica das folhas de *C. citrullifolia*. A fração *n*-butanólica foi submetida à purificação em coluna cromatográfica utilizando Sephadex LH-20 e sílica gel como fases estacionárias e resultou no isolamento do composto CCF-1. O composto foi identificado como sendo o flavonoide kaempferitrina como na análise dos dados de RMN de ¹H e ¹³C e por comparação com a literatura. Esse composto está sendo descrito pela primeira vez em espécie do gênero *Cayaponia*.

Palavras-chave: *Cayaponia*. kaempferitrina. Flavonoide.

Introdução

Dentre as várias famílias vegetais que podem ser encontradas na biodiversidade brasileira, a família Cucurbitaceae é uma delas (NETO et al., 2009). Constituída por aproximadamente 95 gêneros e 950-980 espécies, que se encontram distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (SCHAEFER; RENNER, 2011).

O gênero *Cayaponia* constitui um dos mais vastos dentro da família Cucurbitaceae com aproximadamente 60 espécies, sendo a maioria delas de ocorrência na América do Sul e algumas na África Ocidental (NEE, 2007). No Brasil está amplamente distribuída nas regiões da Mata Atlântica e na Floresta Amazônica (KLEIN; PIRANI 2005).

Este gênero é conhecido devido à importância terapêutica de suas espécies amplamente utilizadas na medicina popular e na fabricação de fitoterápico, a exemplo, *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. registrada na Farmacopeia Brasileira em 1929, como droga oficial. A raiz dessa planta é bastante utilizada no tratamento de diversas patologias, como em doenças de pele, artrite, reumatismo, como antitumoral, antiviral e anti-inflamatória, principalmente, no Brasil, Peru e Colômbia (ESCANDELL et al., 2006; KONOSHIMA et al., 1995).

Os metabólitos secundários encontrados em *Cayaponia* são flavonoides, ácidos graxos e cucurbitacinas (AQUILA et al. 2009; DANTAS et al., 2006). As cucurbitacinas são triterpenos tetracíclicos altamente oxigenados, com esqueleto biogeneticamente incomum (VALENTE, 2004) e, são os principais constituintes encontrados em espécies do gênero *Cayaponia*. Esses compostos são conhecidos pela alta toxicidade, tanto ao homem, quanto aos animais, além do sabor amargo. As atividades biológicas apresentadas mais importantes são: citotóxica, antitumoral, antiinflamatória, fagorrepelente, antimicrobiana, ação cardiovascular, hepatoprotetora e curativa (VALENTE, 2004).

A espécie *Cayaponia citrullifolia* é uma planta trepadeira, conhecida popularmente, na Argentina, como tayuyá. Barboza e colaboradores (2009), descreveram o uso medicinal da raiz dessa planta como diurética e na regulação da fertilidade. Tal espécie pode ser encontrada em diferentes formações vegetais como: Cerrado (Lato sensu), floresta ciliar ou de galeria, floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila (floresta pluvial). A espécie tem ocorrência confirmada nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Amazonas, Amapá e Pará (GOMES-KLEIN et al., 2015).

A fotografia e a classificação taxonômica da espécie (GBIF, 2016) estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1- Foto de um exemplar de *C. citrullifolia* e a classificação botânica da espécie.



Classe: Magnoliopsida
Ordem: Cucurbitales
Família: Cucurbitaceae Juss.
Gênero: *Cayaponia* Silva Manso
Espécie: *Cayaponia citrullifolia* (Griseb.) Cogn. ex Griseb.
Sinônimos: *Cayaponia citrullifolia* var. *breviloba* Griseb. ex Cogn. *Cayaponia latifolia* Cogn.

Fonte: *Cucurbitaceae in Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB28449>>. Acesso em: 27 Mai. 2017.

Material e Métodos

Coleta e identificação do material botânico

O material botânico foi coletado em agosto/2015, no Campus Samambaia/UFG, Goiânia-GO. A identificação botânica foi realizada pela Profa Dra Vera Lúcia Gomes-Klein do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

Preparação do extrato bruto e obtenção das frações

As folhas coletadas foram dessecadas em estufa com ventilação forçada à 40 °C e pulverizadas em moinho de facas com granulação definida. O pó obtido (468 g) foi submetido à remaceração com etanol 80%. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, obtendo, assim, o extrato bruto etanólico (31,57 g). Parte do extrato bruto (30 g) foi dissolvido em 200 mL de MeOH:H₂O (7:3) e, em seguida, submetido a partições líquido-líquido com hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol em um funil de separação de 500 mL e 200 mL de cada solvente. As fases orgânicas foram secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas em rotaevaporador, obtendo frações de diferentes polaridades.

Estudo químico da fração *n*-butanólica

A fração *n*-butanólica (1,2 g) foi submetida à cromatografia em coluna em Sephadex LH-20 como fase estacionária (32 x 3,8 cm) e metanol puro como fase móvel. Foram coletadas 30 subfrações de aproximadamente 20 mL cada. As subfrações foram analisadas por CCD e reunidas em 6 novas subfrações de acordo com os perfis cromatográficos apresentados.

A Sf 3 (119 mg) foi submetida à cromatografia em sílica gel (0,040-0,063 mm), eluída em gradiente de polaridade CH₂Cl₂/MeOH. Foram coletadas 62 subfrações de aproximadamente 10 mL cada. As subfrações foram agrupadas em 8 novas subfrações, após análise por CCD. A subfração 3, após seca forneceu um sólido amarelo que foi identificado como **CCF-1**.

Resultados e Discussão

O estudo químico da fração *n*-butanólica das folhas de *C. citrullifolia* resultou o isolamento de um sólido amorfo (12,2 mg), solúvel na mistura de MeOH/DMSO. A análise da amostra por CCD em sílica gel 60 G e CH₂Cl₂/MeOH:HAc (85:15:1) como fase móvel, mostrou apenas uma mancha de cor amarela quando revelada a placa com anisaldeído sulfúrico.

A análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 2) indicou a presença de um anel aromático *para* substituído através de dois dupletos em δ_H 7,79 ($J = 8,9$ Hz, H2'/H6') e δ_H 6,95 ($J = 8,9$ Hz, H3'/H5'), com integração para dois hidrogênios cada. Ainda foram observados os dupletos em δ_H 6,71 (1H, $J = 2,1$ Hz, H8) e 6,44 (1H, $J = 2,1$ Hz), os quais confirmaram a presença de um anel aromático tetrassubstituído. Os sinais supracitados correlacionaram no mapa de ¹³C-¹H (HSQC) (Figura 3) aos carbonos em δ_C 131,9 (C2'/C6'), 115,4 (C3'/C5'), 95,6 (C8) e 100,2 (C6), respectivamente.

No espectro de RMN de H foram observados ainda sinais de dois hidrogênios anoméricos em δ_H 5,57 (1H, *sl*, H1''') e 5,41 (1H, *d*, $J = 1,7$ Hz, H1''), dois dupletos referentes a hidrogênios metílicos em δ_H 1,25 (3H, $J = 6,1$ Hz, H6''') e δ_H 0,93 (3H, $J = 5,8$ Hz, H6''). Esses sinais evidenciam a presença de duas unidades de ramnose. No mapa de HSQC foram observados sinais de carbonos carbinólicos entre δ_C 71,7 e 73,6, e dos anoméricos em δ_C 100,2 e 103,3.

Figura 2- Espectro de RMN ^1H de CCF-1 ($\text{CD}_3\text{OH}/\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz).

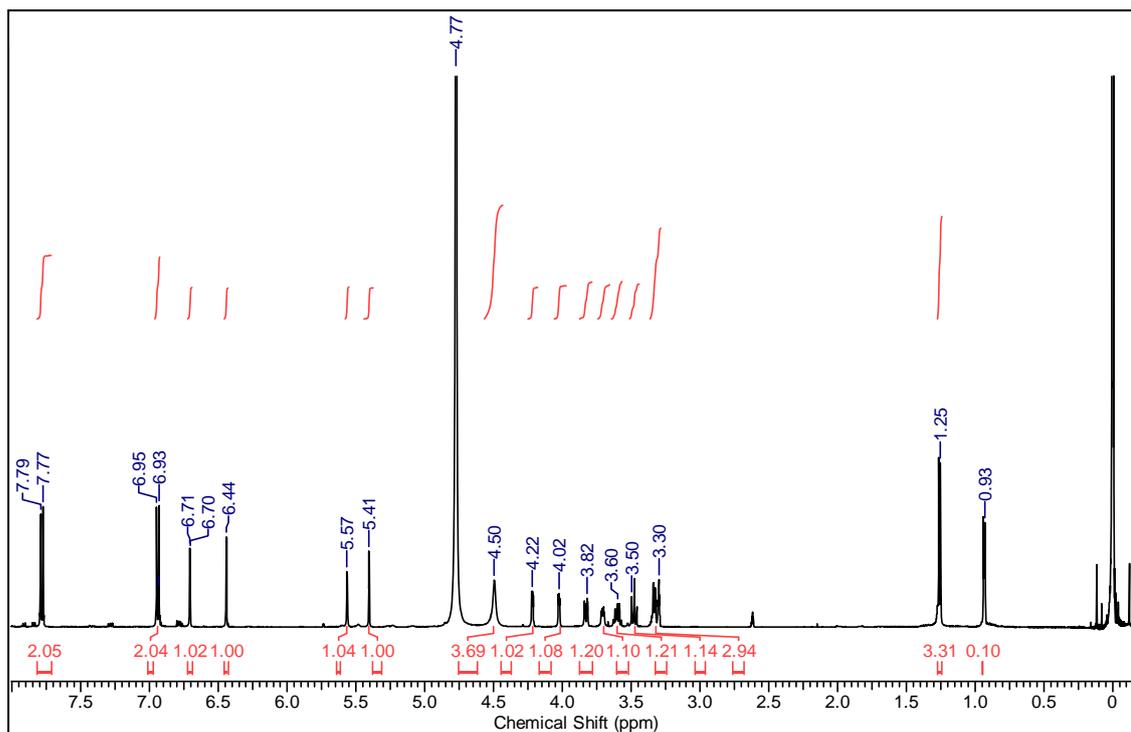
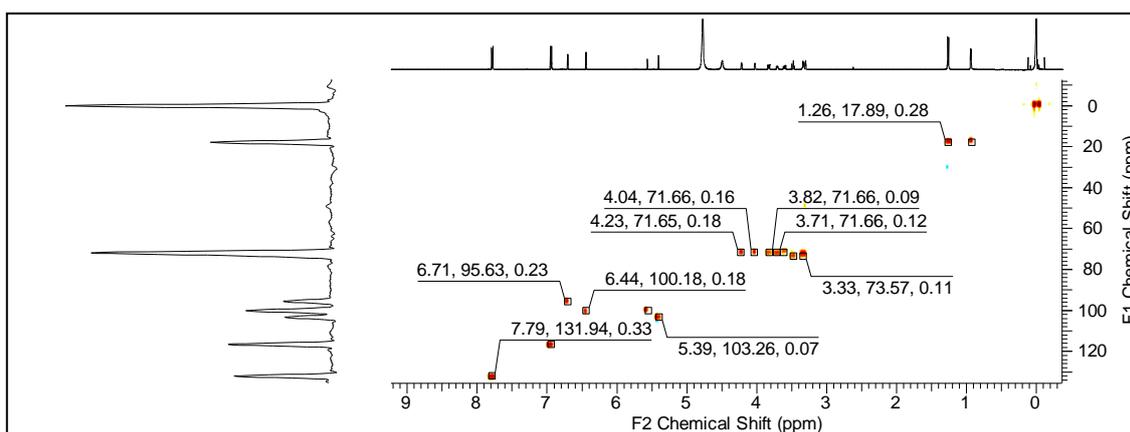
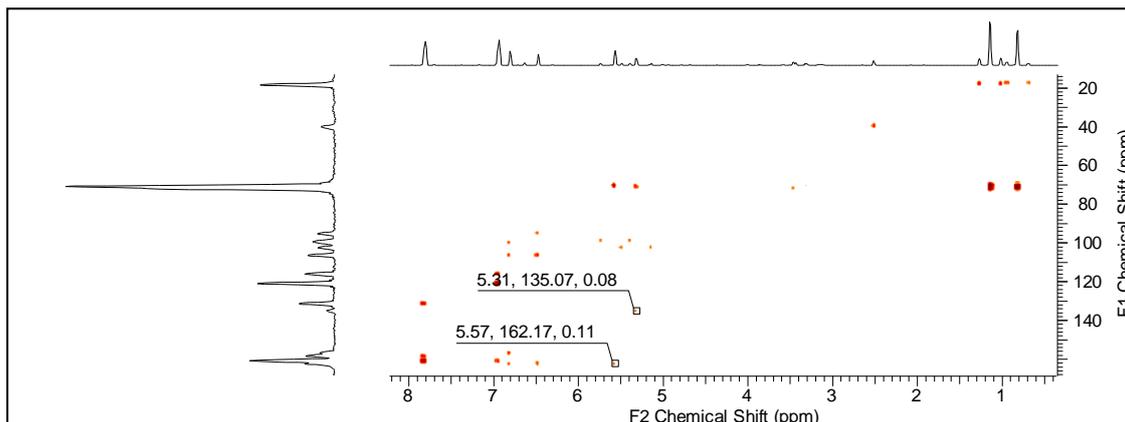


Figura 3- Mapa de correlação HSQC de CCF-1 ($\text{CD}_3\text{OH}/\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz).

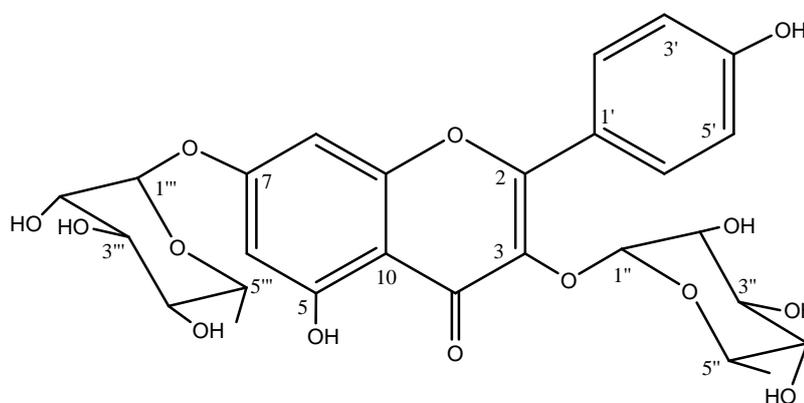


As correlações observadas à longa distância no mapa do experimento $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HMBC) (Figura 4) permitiram assinalar os deslocamentos químicos dos carbonos não hidrogenados, δ_{C} 157,6 (C2), 135,1 (C3), 160,8 (C5), 161,7 (C7), 156,1 (C9), 105,8 (C10), 120,3 (C1') e 160,1 (C4'). Observou-se ainda correlações dos hidrogênios anoméricos H1'' (δ_{H} 5,41) e C3 (δ_{C} 135,1) e H1''' (δ_{H} 5,57) com C7 (δ_{C} 162,2), as quais permitiram estabelecer que as ramnose estavam conectadas aos oxigênios ligados nos carbonos 3 e 7 da aglicona.

Figura 4 - Mapa de correlação HMBC de **CCF-1** ($CD_3OH/DMSO-d_6$, 125 MHz).



O composto **CCF-1** foi identificado como sendo a kaempferitrina como na análise dos dados de RMN e por comparação com a literatura (MARZOUK et al., 2009).



CCF-1

Considerações Finais

O fracionamento cromatográfico da fração *n*-butanólica das folhas de *C. citrullifolia* resultou no isolamento do flavonoide glicosilado kaempferitrina, previamente relatado em espécies dos gêneros *Siraitia* e *Trichosanthes* pertencentes à família Cucurbitaceae.

Que os resultados dos estudos realizados com as folhas de *C. citrullifolia* da família Cucurbitaceae possam contribuir para o conhecimento do potencial químico de espécies do Cerrado Goiano, ainda pouco estudado.

Agradecimentos

Agradecimentos a UEG-CCET por possibilitar o desenvolvimento do projeto a partir de apoio técnico, a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e a orientadora Geralda de Fátima Lemes pelo apoio na realização do projeto.

Referências

AQUILA, A.; GINER, R. M.; RECIO, M. C.; SPEGAZZINI, E. D.; RIOS, J. L. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, p. 333-337, 2009.

BARBOZA, G. E.; CANTERO, J. J.; NÚÑEZ, C.; PACCIARONI, A.; ESPINAR, L. E. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. **KURTZIANA**, v. 34, n.1-2, p. 7-365, 2009.

DANTAS, I. N. F.; GADELHA, G. C. M.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. Studies on the cytotoxicity of cucurbitacins isolated from *Cayaponia racemosa* (Cucurbitaceae). **Z. Naturforsch**, v. 61c, p. 643-646, 2006.

ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; MÁÑEZ, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Dihydrocucurbitacin B, isolated from *Cayaponia tayuya*, reduces damage in adjuvant-induced arthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 532, p. 145, 2006.

GBIF Secretariat: GBIF Backbone Taxonomy. doi:10.15468/39omei
Accessed via <http://www.gbif.org/species/2874613> on 2016-11-13.

GOMES-KLEIN, V.L.; LIMA, L. F. P.; GOMES-COSTA, G. A.; MEDEIROS, E.S. Cucurbitaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB28459>>. Acesso em: 08 Fev. 2015.

KLEIN, V. L. G.; PIRANI, J. R. Four new species of *Cayaponia* (Cucurbitaceae) from Brazil and Bolivia. **Brittonia**, v. 57, n. 2, p. 108-117, 2005.

KONOSHIMA, T.; TAKASAKI, M.; KOZUKA, M.; NAGAO, T.; OKABE, H.; IRINO, N.; NISHINO, H. Inhibitory effects of cucurbitane triterpenoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumor. II. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, fev, 1995.

MARZOUK, M. M., KAWASHTY, S. A., SALEH, N. A. M., AL-NOWAIHI, A. S. M. A new kaempferol trioside from *Farsetia aegyptia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n. 4, p. 483-8, 2009.

NEE, M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 703-707, 2007.

NETO, I. D. S.; MANFRIN, M. G.; COSTA, M. B. Estudo da Atividade Antimicrobiana da Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) em Sistemas de Injeção de Fluxo. **UnUCET – UEG**. Anápolis. 2009.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **TAXON**, v. 60, n. 1, p. 122-138, 2011.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Química Nova**. v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.