

ANÁLISE DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *LANTANA FUCATA* LINDL. (VERBENACEAE) CULTIVADA EM EXCESSO DE ZINCO

SAMUEL FRANCISCO CHITOLINA^{1,2*}, CARLA MARIA GARLET DE PELEGRIN^{2,3}, MARLEI VEIGA DOS SANTOS^{2,3}, FABIANO CASSOL^{2,3}, NESSANA DARTORA^{2,4}

1 Introdução

A *Lantana fucata* é um pequeno arbusto que produz flores rosa ou roxas, encontrada em regiões temperadas tropicais e subtropicais das Américas. É conhecida como erva daninha e planta ornamental, cujo suas folhas têm sido amplamente utilizadas na medicina tradicional brasileira como carminativas e anti-inflamatórias, bem como para tratar resfriados e bronquites, na forma de infusões, decocções e tinturas (JULIÃO *et al.*, 2009).

Como outros representantes da família Verbenaceae, a *L. fucata*, demonstra elevado potencial farmacêutico e econômico, mas tem sido pouco contemplada com estudos que viabilizem sua exploração econômica de forma sustentável, ao passo que trabalhos relacionados ao seu metabolismo secundário na literatura caracterizam-se por serem mais recentes. Assim, pesquisas em caracterização fitoquímica de suas folhas, evidenciaram a presença de compostos fenólicos na ordem dos flavonoides, triterpenóides e lantadenos (HUSSAIN *et al.*, 2011), além destes, Eckert e colaboradores (2022) observaram também a presença de fenilpropanóides, monoterpênóide e glicosídeos feniletanóides.

Uma das maiores dificuldades na exploração dos metabólitos secundários, consiste em sua baixa concentração nos tecidos vegetais. Conseqüentemente, a busca por agentes que estimulem a síntese destes compostos em plantas medicinais torna-se uma área instigante. O estresse provocado por concentrações indesejáveis de íons metálicos no ambiente tem sido investigado e demonstra resultados promissores, já que estes podem desencadear alterações fisiológicas diversas, expressões de genes, e elevar a produção de compostos bioativos em plantas (PITTA-ALVAREZ *et al.*, 2000; NASIM; DHIR, 2010; CHITOLINA *et al.* 2020). Portanto considerando que *L. fucata* é uma espécie medicinal, é possível que a produção de seus compostos ativos seja influenciada pelo estresse provocado por íons metálicos de zinco.

1Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus* Cerro Largo, contato: samuelfchitolina00@gmail.com.

2 Grupo de Pesquisa: Biociências

3 Prof. Dr., Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus* Cerro Largo, **Colaborador**

4 Prof.^a Dr.^a, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus* Cerro Largo, **Orientadora**.

2 Objetivos

Avaliar o efeito do estresse causado por excesso de zinco em meio de cultivo hidropônico sob o perfil de metabólitos secundários de folhas de *Lantana fucata*.

3 Metodologia

3.1 Obtenção de mudas, aclimação e tratamento

O cultivo das plantas ocorreu na casa de vegetação da área experimental da UFFS/Cerro Largo, sendo que as mudas de *L. fucata* foram obtidas a partir de estacas oriundas de matrizes coletadas na região. Após o completo enraizamento, mudas de mesmo tamanho, padronizadas em ramificações com três internódios foliares, foram selecionadas e posteriormente transferidas para o processo de aclimação por duas semanas no sistema hidropônico, a qual continha somente a solução hidropônica básica, recomendada por Dutt & Bergmann (1965).

Na sequência, o experimento foi desenvolvido em sala de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Cerro Largo, com temperatura controlada (~23° C) e fotoperíodo de 12 horas de luz, em cultivo hidropônico. Posterior ao período de aclimação, a capacidade do metal em afetar os metabólitos secundários de *L. fucata*, foi avaliada em cinco concentrações de zinco: 0,439 (controle); 50; 100; 200 e 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$, definidos como T0, T1, T2, T3 e T4. O zinco foi adicionado à solução na forma de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos e 4 repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Cada unidade experimental consistiu de 4 plantas por recipiente com 2,5 L de solução nutritiva. O experimento teve duração de 30 dias, sendo que no decorrer do experimento, a solução nutritiva foi renovada a cada 10 dias e acrescida com as diferentes concentrações de zinco, o pH foi ajustado para próximo de 6, sempre que necessário e o meio de crescimento radicular foi aerado constantemente com auxílio de um compressor de ar, controlado por microcomputador do tipo arduíno UNO.

3.2 Extração e análise de metabólitos secundários

Após 30 dias de cultivo sob os tratamentos de Zn, as plantas foram coletadas, separando-se a parte aérea do sistema radicular. Folhas referentes as plantas de cada

tratamento foram agrupadas, totalizando cinco grupos amostrais e em seguida, secas separadamente em estufa a 50 °C por aproximadamente dois dias. Então, as folhas secas e trituradas (2 g) de cada tratamento foram submetidas à extração hidroalcoólica com etanol 70°GL (20 mL) à 100 °C por duas horas, sendo este processo repetido por três vezes. Após o tempo de extração, o material foi filtrado e os extratos combinados e concentrados em chapa de aquecimento a 50 °C. Já para a padronização e determinação do método cromatográfico e identificação dos metabólitos secundários, submete-se ao mesmo processo de extração as folhas secas e trituradas coletadas de plantas de *L. fucata*, presentes nos arredores da UFFS/Cerro Largo.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi usada para identificação e quantificação de metabólitos nos extratos obtidos. As separações foram desenvolvidas em coluna C18 e a fase móvel consistiu em água (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambas contendo 0,1 % e ácido fórmico, em um fluxo de 0,8 mL/min a 40 °C. O aumento linear do solvente B foi de 0 a 28% em 10 min, seguido do aumento da concentração do solvente B a 100%, no período de 10 a 15 min, mantido por mais 3 min e retornando para a condição inicial (100% A), em 18 min. As amostras foram preparadas em MeOH-H₂O (10 mg/mL) e a detecção foi realizada por arranjo de fotodiodo (DAD 190 – 400 nm) e por ESI-MS (*electrospray ionization mass spectrometry*).

4 Resultados e Discussão

Neste trabalho as folhas de *L. fucata* cultivadas em diferentes concentrações de zinco foram submetidas à extração hidroalcoólica intensa, a qual permitiu extrair praticamente todos os componentes presentes na planta, possibilitando sua identificação. Ao mesmo tempo, folhas dessa mesma espécie foram coletadas diretamente da natureza, submetidas ao mesmo método de extração, usadas com o objetivo de padronização do método cromatográfico e identificação de metabólitos secundários presentes.

As análises de HPLC em plantas coletadas nos arredores da UFFS/Cerro Largo, permitiram observar um extrato complexo a partir da extração hidroalcoólica, no qual foram verificados mais de 50 picos no cromatograma (Figura 1). Destes, 24 foram selecionados como majoritários por sua abundância relativa ou por sua identificação por padrão comparativo e literatura especializada. Assim, foram caracterizados 14 metabólitos secundários sendo estes: ácido *neo* clorogênico (pico 5, t_R - tempo de retenção - 7,580 min), ácido clorogênico (pico 7, t_R 9,110 min), ácido benzóico (pico 8, t_R 9,279 min), glicosil monoterpeno (pico 9, t_R 9,820) ácido cafeico (pico 10, t_R 10,005), ácido vanílico (pico 11, t_R

10,473 min), actosídeo (pico 12, t_R 10,579 min), parviflorosídeo A (pico 13, t_R 10,716 min) fucatosídeo B (pico 14, t_R 11,224 min), fucatosídeo C (pico 15, t_R 11,664 min), , fucatosídeo A (pico 16, t_R 12,425 min), nepetina (pico 17, t_R 12,610 min), trihidroxi-trimetoxiflavona (pico 18, t_R 14,856 min) e 4'-*O*-metil-escutelarina (pico 19, t_R 15,020 min) (Figura 1).

Conforme pode-se observar, o método cromatográfico permitiu uma boa separação e uma ampla gama de compostos foram identificados para *Lantana fucata*. Esta grande diversidade de metabólitos secundários está vinculada as inúmeras propriedades medicinais desta espécie (ECKERT *et al.* 2022). Além disso, ao considerar que o excesso de zinco em meio de cultivo pode levar a um aumento na concentração destes compostos bioativos, pode também contribuir com a potencialização de suas ações farmacológicas. Sendo assim, as análises quantitativas para verificar se o estresse pelo zinco afeta a composição de metabólitos nesta espécie vem sendo conduzidas.

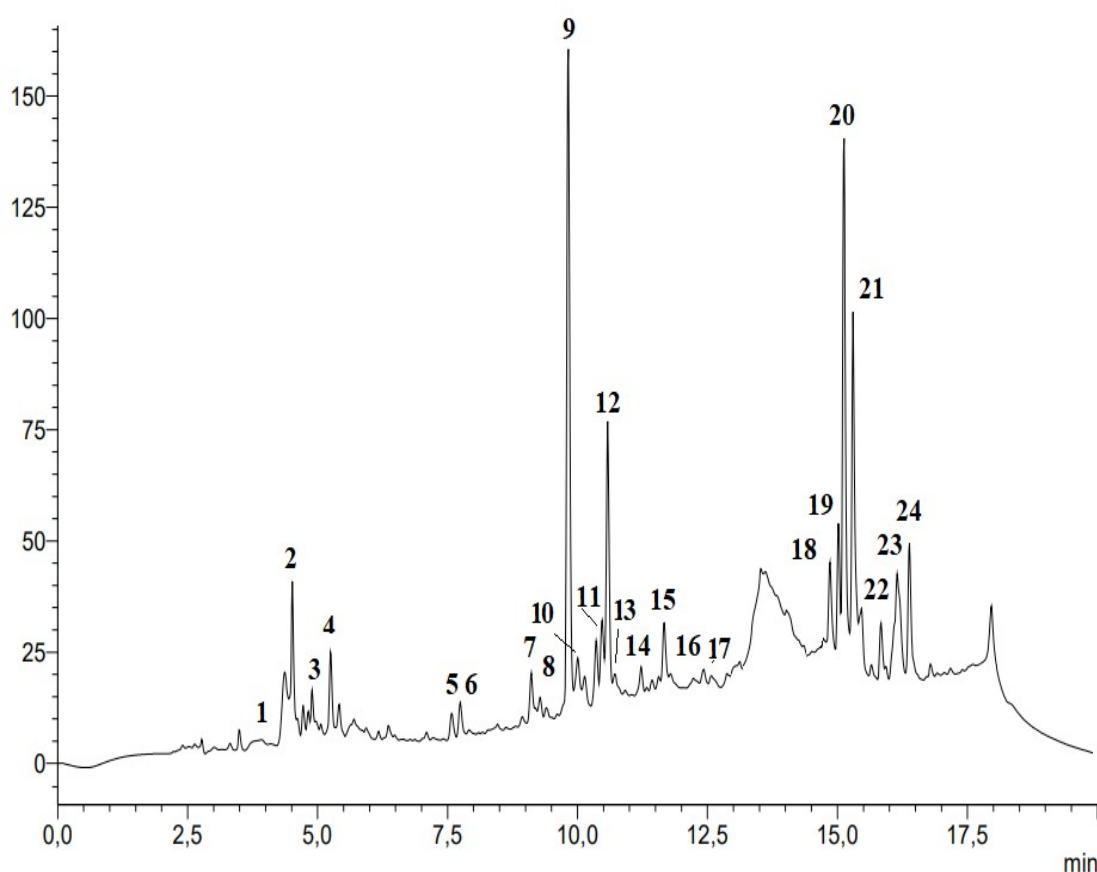


Figura 1 - Cromatograma de HPLC-DAD de folhas de *Lantana fucata* Lindl.

5 Conclusão

Diversos metabólitos secundários foram caracterizados em folhas de *L. fucata* nesse estudo. As técnicas de cromatografia e espectrometria de massas, possibilitaram uma

separação cromatográfica eficiente, sendo as plantas dos arredores da UFFS, utilizadas para esta finalidade. Para verificar se as altas concentrações de zinco no meio de cultivo hidropônico, em que a espécie foi exposta, interferem na produção de metabólitos secundários em suas folhas, análises quantitativas vêm sendo conduzidas.

Referências Bibliográficas

CHITOLINA, S. F.; MIELK, A. R.; PIVETTA, C. P.; DE PELEGRIN, C. M. G.; DARTORA, N. Avaliação do perfil de metabólitos secundários de *Lantana fucata* Lindl. (verbenaceae) submetida a solo com excesso de cobre. **X Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica da UFFS**, v.1 n. 10, 2020.

ECKERT, G. L.; SMANIOTTO, T. A.; DARTORA, N.; DE PELEGRIN, C. M. G.; BARONI, S. The chemical composition of different leaf extracts of *Lantana fucata* Lindl. influences its cytotoxic potential: A study using the *Allium cepa* model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 289, 2022.

HUSSAIN, H.; HUSSAIN, J.; HARRASI, A. A.; SHINWARI, A. Z. K. 2011. Chemistry of some species genus *Lantana*. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, p. 51-62, 2011.

JULIÃO, L. S.; PICCINELI, A. L.; MARZOCCO, S.; LEITÃO, S. G.; LOTTI, C.; AUTORE, G.; RASTRELLI, L. Phenylethanoid Glycosides from *Lantana fucata* with in Vitro Anti-inflammatory Activity. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1424-1428, 2009.

NASIM, S. A.; DHIR, B. Heavy metal alter the potency of medicinal plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 203, pp. 139-149, 2010.

PITTA-ALVAREZ, S. I.; SPOLLANSKY, T.C.; GIULIETTI, A. M. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia cândida*. **Enzyme and Microbial Technology** v. 26, p. 252-258, 2000.

Palavras-chave: compostos bioativos; metais pesados; plantas medicinais; química de macromoléculas; cultivo hidropônico.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2021-0164.

Financiamento: IC-UFFS.