ESTUDO FITOQUÍMICO DAS CASCAS DE ANIBA FIRMULA: ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NEOLIGNANAS BIOATIVAS

Maria Eduarda Dan Macedo[1]; João Victor Andrade[1], Híllary Ozorio Gobeti Caprini[1]; Daniel Alves de Paula[1], Gilvana de Oliveira Costa[1] Mário Ferreira Conceição Santos[1]

[1]Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitário, S/N - Guararema, Alegre - 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, Universidade Federal do Espírito Santo
mariaeduardadan2003@gmail.com, joaovictorandrade927@gmail.com, hillarygcaprini214@gmail.com, Danielalvesdepaula96@gmail.com.oliveiragil999@gmail.com mariosantos408@gmail.com

Resumo

O gênero *Aniba* (Lauraceae) apresenta amplo valor terapêutico na medicina popular brasileira para o combate a infecções e processos inflamatórios. Este estudo objetivou caracterizar o perfil químico e avaliar o potencial anti-inflamatório das cascas do caule de *Aniba firmula*, coletadas na Mata Atlântica. O material vegetal foi seco, moído e submetido à extração etanólica, seguida de partição líquido-líquido e fracionamento em cartuchos C18. A purificação por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) permitiu o isolamento de dois compostos. A identificação estrutural de ambos foi realizada por Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H e ^{13}C. Consulta à base de dados SciFinder confirmou tratar-se de substâncias previamente descritas na literatura científica. O ensaio *ex vivo* avaliou a inibição da liberação de PGE2 induzida por LPS em sangue humano heparinizado. Os compostos 1 e 2 apresentaram inibição da liberação de PGE2 de 45,3% e 40,2%, respectivamente, com significância estatística em relação ao controle. Por fim, os resultados destacam a relevância da espécie e justificam a continuidade de suas investigações farmacológicas.

Palavras-chave: Aniba firmula. Fitoquímica de produtos naturais. Atividade anti-inflamatória. Metabólitos secundários. Lauraceae.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra – Química Orgânica.

Introdução

No Brasil, a utilização de plantas medicinais tem raízes na diversidade cultural, resultante da influência de diferentes povos. Os povos indígenas contribuíram com o conhecimento e o uso de espécies como o guaraná e o jaborandi; os africanos, com plantas como a erva-de-São-Caetano e o boldo; enquanto os europeus introduziram espécies como a camomila e a malva. Atualmente, o uso desses vegetais não se limita às áreas rurais ou às regiões com acesso restrito aos serviços de saúde e medicamentos, estando também presente nos centros urbanos como uma prática alternativa, muitas vezes complementar à medicina convencional (Marques, Alves, Dos Santos Vigo, 2021) .

Desde o começo da vivência em sociedade, os vegetais acompanham o homem como fonte de alimento, matéria-prima e recurso terapêutico, ocupando lugar de destaque entre as opções renováveis de insumos disponíveis à sociedade (Schenkel *et al*., 2003; Atanasov *et al*., 2021). O crescente interesse por terapias de origem vegetal, impulsionado tanto pela descoberta de fármacos eficazes contra doenças mais graves quanto pela dificuldade de acesso da população a medicamentos, tem estimulado investimentos significativos da indústria farmacêutica em cultivo, extração e prospecção de novas fontes biológicas (Newman & Cragg, 2020).

Os produtos naturais são vistos como ponto de partida para a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos, uma vez que plantas produzem metabólitos especializados como resultado de sua interação com o ambiente, muitos dos quais apresentam amplo espectro de atividades biológicas (PUPO *et al*., 2006; Salehi *et al*., 2021). Entre essa classe de metabólitos, as neolignanas destacam-se pelo expressivo potencial modulador de respostas inflamatórias. No contexto inflamatório, a via

mediada pela enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e seu principal produto, a prostaglandina E2 (PGE2), desempenham papel central na indução de dor, vasodilatação e edema; logo, a inibição seletiva dessa cascata enzimática representa um dos alvos moleculares mais promissores para a descoberta de novos anti-inflamatórios (Dinarello, 2019; Chen *et al.*, 2017).

A família Lauraceae é reconhecida quimicamente como uma importante fonte metabólica de neolignanas, lignanas e óleos essenciais com diversas bioatividades (Damasceno *et al*., 2019). O gênero *Aniba* (Lauraceae) compreende cerca de quarenta espécies de árvores e arbustos, com centro de diversidade na Amazônia e ocorrência também nas regiões leste e sul do Brasil, sendo diversas de suas espécies exploradas comercialmente pela indústria madeireira (Richter, 1981; Quinet & Andreata, 2002). As espécies remanescentes da Mata Atlântica, bioma conhecido por sua alta biodiversidade e pela necessidade de estudos voltados à sua conservação, representam uma fonte pouco explorada de metabólitos bioativos com potencial farmacológico.

A busca por novos agentes anti-inflamatórios de origem natural é fundamental para contornar a toxicidade gastrointestinal e cardiovascular associada aos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) tradicionais. Avaliar espécies da Mata Atlântica, como a *Aniba firmula*, justifica-se pelo potencial de identificar neolignanas inéditas ou pouco caracterizadas com capacidade de modular alvos específicos como a via COX-2/PGE2, agregando valor científico e biotecnológico à flora brasileira. Diante desse cenário, o presente trabalho teve como objetivo investigar o perfil fitoquímico das cascas do caule de *Aniba firmula* e avaliar a capacidade dos compostos isolados de inibir as principais vias de sinalização envolvidas no processo inflamatório.

Metodologia

As cascas do caule de *Aniba firmula* foram coletadas em área remanescente de Mata Atlântica. O material vegetal foi seco, moído e homogeneizado e, em seguida, extraído com 2 L de etanol (Synth). O solvente foi concentrado em rotaevaporador (IKA RV 8) até volume aproximado de 500 mL. O extrato resultante foi diluído em 30 mL de água e submetido à partição líquido-líquido com acetato de etila (Synth), em três extrações sucessivas de 250 mL, originando as frações alcoólica e de acetato de etila.

As cascas do caule de *Aniba firmula* foram secas, moídas, homogeneizadas e submetidas à extração com 2 L de álcool etílico. O extrato etanólico resultante foi concentrado em rotaevaporador (IKA RV 8) até o volume de 500 mL. Em seguida, foram adicionados 30 mL de água purificada ao extrato concentrado para a realização da partição líquido-líquido com acetato de etila (3 × 250 mL), obtendo-se as frações alcoólica e de acetato de etila. A fração acetato de etila foi submetida ao fracionamento em cartuchos de fase sólida C18 (10 g), utilizando gradiente eluente de metanol/água nas proporções de 40:60, 60:40, 80:20 e 100:0 (v/v), resultando em quatro subfrações de 100 mL cada. A terceira subfração (80% MeOH/ 20% H2O) foi purificada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, Shimadzu), empregando coluna de fase reversa (ODS-4 Intersil, C18, 7,6 × 250 mm, 5 µm) e fase móvel composta por acetonitrila/água acidificada com 0,1% de ácido acético (57:33, v/v).Esta etapa permitiu o isolamento dos compostos 1 e 2, que tiveram suas estruturas identificadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear unidimensional , obtidas em espectrômetro Bruker operando a 300 MHz.

A avaliação da atividade anti-inflamatória foi conduzida por meio de ensaio *ex vivo*, segundo o protocolo descrito por Rosa *et al*. (2021). Sangue venoso periférico foi coletado de voluntários saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 20 e 35 anos, que não haviam feito uso de anti-inflamatórios ou cloranfenicol nos 15 dias anteriores à coleta, mediante assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (protocolo nº 89325818.1.0000.5142). Amostras de sangue heparinizado (200 µL) foram estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS de *E. coli* O26:B6, 10 µg/mL) em placas de 96 poços contendo solução salina tamponada com fosfato, na presença dos compostos isolados (1 µg/mL), dos padrões de referência dexametasona e indometacina (1 µg/mL) e do controle negativo (PBS).

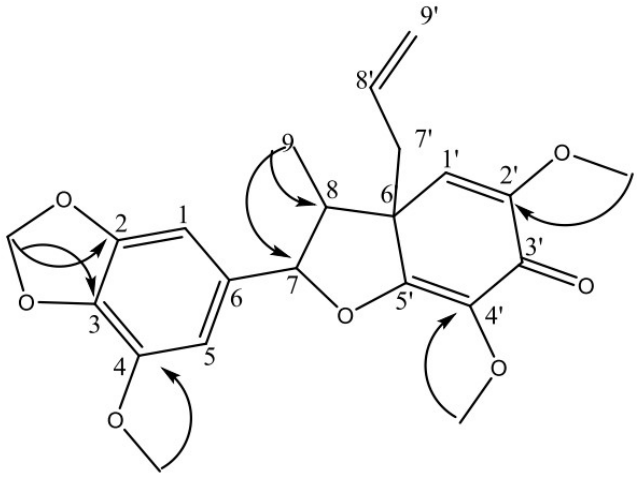
As amostras foram incubadas por 24 horas (37 °C, 5% de CO2) e centrifugadas (1000 rpm, 4 °C, 5 min). O plasma obtido foi submetido a precipitação proteica com metanol/acetonitrila (1:1, v/v) e nova centrifugação (6000 rpm, 4 °C, 10 min). Os sobrenadantes foram diluídos em água destilada, purificados em cartuchos de extração em fase sólida C18 e eluídos com solução metanólica de ácido acético 0,1%, sendo posteriormente secos e armazenados a −20 °C para quantificação de PGE2.

Resultados

O fracionamento cromatográfico das cascas do caule de *Aniba firmula*, espécie de Lauraceae com centro de diversidade na Amazônia e ocorrência também na Mata Atlântica (Richter, 1981; Quinet; Andreata, 2002), permitiu o isolamento de dois metabólitos secundários, cuja elucidação estrutural é apresentada a seguir.

O espectro de RMN de ^{1}H do composto 1 revelou sinais característicos de três hidrogênios metoxílicos (δH 3,84; 3,91 e 3,68, todos singletos), um hidrogênio vinílico (δH 5,49, m), hidrogênio de anel aromático (δH 6,46, m) e hidrogênio metilênico (δH 1,16, d). O espectro de RMN de ^{13}C confirmou a presença de três metoxilas (δC 60,63; 56,82 e 55,45) e de carbono olefínico em δC 131,0, além de sinal em δC 8,61 atribuído a carbono metilênico. As correlações observadas em HMBC, entre os hidrogênios metoxílicos e os carbonos aromáticos, bem como entre a metila em δH 1,16 e os carbonos em δC 50,0 e 91,4, foram consistentes com a estrutura proposta. A caracterização espectroscópica do composto 1, por meio de RMN de ^{1}H, ^{13}C e HMBC, forneceu evidências para a elucidação de sua estrutura, conforme apresentado na Figura 1.

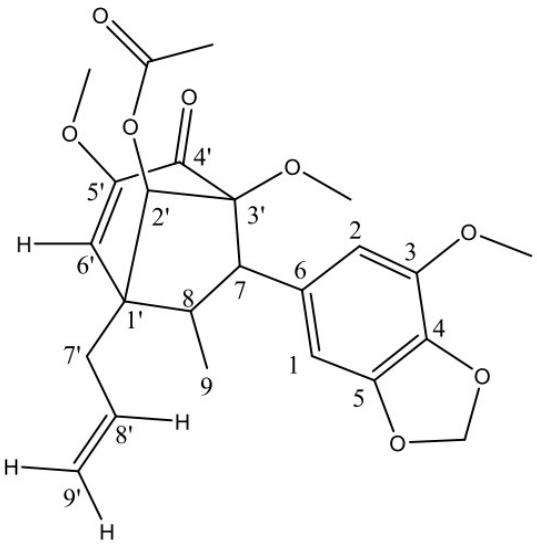
Figura 1: Representação por RMN do composto 1.



Fonte: Feito pelo autor (2026).

Para o composto 2, o espectro de RMN de ^{1}H mostrou sinal de metila em δH 1,13 (d) e três sinais metoxílicos em δH 3,34; 3,50 e 3,83 (s), além de hidrogênios vinílicos em δH 5,16 e 6,02 (m) e hidrogênio aromático em δH 6,02. O espectro de ^{13}C confirmou as três metoxilas (δC 52,2; 55,0 e 56,5), carbono olefínico em δC 104,1 e carbono metilênico em δC 18,4. A análise espectroscópica do composto 2 por RMN de ^{1}H e ^{13}C revelou sinais característicos que corroboram a estrutura proposta, conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2: Representação por RMN do composto 2.



Fonte: Feito pelo autor (2026).

A consulta à base de dados SciFinder confirmou que ambas as substâncias já haviam sido descritas na literatura: o composto 1 corresponde à (2H)-benzofuranona 3,3a-diidro-5,7-dimetoxi-2-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-3-metil-3a-(2-propenil)-, (2R,3S,3aS)-rel-(9CI); e o composto 2 corresponde ao 2'-hidroxi-3',5'-metoxi-3,4-metilenodioxifenil-1',2',3',4',5',6-tetraidro-4'-oxo-7,3',8,1'-neolignano. Ambos possuem atividade bioativa relatada previamente, o que é coerente com o amplo espectro de atividades biológicas atribuído aos metabólitos especializados de plantas e demais organismos (Pupo *et al*., 2006).

Discussão

Os metabólitos secundários isolados das cascas de *Aniba firmula* (compostos 1 e 2) apresentaram a capacidade de inibir a liberação da prostaglandina E2 (PGE2), com percentuais de inibição de 45,3% e 40,2%, respectivamente. A COX-2 é a forma induzível da ciclo-oxigenase responsável pela síntese de PGE2 a partir do ácido aracnidônico durante o processo inflamatório; dessa forma, a redução de seus níveis constitui o principal mecanismo de ação dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e de protótipos moleculares de origem vegetal (Chen *et al*., 2017; Atanasov *et al*., 2021).

Estudos com frações bioativas e óleos essenciais de espécies correlatas do gênero, como *Aniba rosaeodora* e *Aniba canelilla*, demonstraram forte capacidade de atenuação da inflamação via modulação da expressão do fator de transcrição NF-κB e redução da expressão proteica e mRNA de COX-2 e iNOS em macrófagos estimulados (Souza-Júnior *et al*., 2021; Da Trindade *et al*., 2022). Lignanas e neolignanas destacam-se por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, citotóxicas e neuroprotetoras (Ciupei *et al*., 2024). Na resposta inflamatória, neolignanas atuam inibindo a enzima COX-2 e suprimindo citocinas como TNF-α e IL-1β, seja pelo bloqueio do sítio catalítico da enzima, seja pela modulação da via MAPK/p38 (Ciupei *et al*., 2024; Osmakov *et al*., 2022). Em relação a outros compostos análogos, como a magnolola e a honokiola, os níveis de inibição apresentados pelas neolignanas de *A. firmula* confirmam seu potencial dentro do padrão de eficácia esperado para esqueletos neolignânicos naturais não funcionalizados (Osmakov *et al*., 2022).

A atividade dos compostos 1 e 2 é impulsionada por características estruturais marcantes das neolignanas: enquanto a lipofilicidade dos anéis aromáticos e do heterociclo benzofurânico facilita o encaixe no canal hidrofóbico da COX-2, os grupos metoxila (–OCH_3) estabelecem interações de Van der Waals e ligações de hidrogênio com resíduos do sítio ativo (como Tyr-385 e Trp-387), cruciais para a inibição enzimática (Chen *et al*., 2023; Mendonça *et al*., 2024).

Conclusão

O estudo fitoquímico das cascas do caule de *Aniba firmula* permitiu o isolamento e a identificação de dois compostos conhecidos, cuja atividade anti-inflamatória foi confirmada por ensaio *ex vivo*, com percentuais de inibição estatisticamente diferentes do controle negativo. Os resultados obtidos sustentam o potencial farmacológico da espécie e indicam a relevância de investigações futuras voltadas ao desenvolvimento de novos candidatos a fármacos anti-inflamatórios a partir de produtos naturais.

Referências

ATANASOV, A. G. *et al.* Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021. DOI: https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z.

CHEN, L. *et al.* Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**, v. 9, n. 6, p. 7204-7218, 2017.

CHEN, Y. *et al.* Discovery of new heterocyclic/benzofuran hybrids as potential anti-inflammatory agents: design, synthesis, and evaluation of the inhibitory activity of their related inflammatory factors based on NF-κB and MAPK signaling pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, art. 3575, p. 1-22, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms24043575.

CIUPEI, D. *et al*. Polyphenols: from classification to therapeutic potential and bioavailability. **Foods**, v. 13, n. 24, art. 4131, p. 1-27, 2024. DOI: https://doi.org/10.3390/foods13244131.

DA TRINDADE, R. C. S. *et al*. Chemical diversity and therapeutic effects of essential oils of *Aniba* species from the Amazon: a review. **Plants**, v. 10, n. 9, art. 1854, p. 1-22, 2021. DOI: https://doi.org/10.3390/plants10091854.

DAMASCENO, C. S. B. *et al*. Chemical composition and biological activities of essential oils in the family Lauraceae: a systematic review of the literature. **Planta Medica**, v. 85, n. 13, p. 1054-1072, 2019. DOI: https://doi.org/10.1055/a-0943-1908.

DINARELLO, C. A. The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 15, n. 10, p. 612-632, 2019.

MARQUES, L. C.; ALVES, L. F.; DOS SANTOS VIGO, C. L. Research and development of herbal medicines: perspectives and challenges. *In*: SHARMA, A. *et al*. (org.). **Phytotechnology**: advances e applications. Boca Raton: CRC Press, 2021. p. 3-20. DOI: https://doi.org/10.1201/9781003225416.

MENDONÇA, E. L. S. S. *et al.* E-stilbenes: general chemical and biological aspects, potential pharmacological activity based on the Nrf2 pathway. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 2, art. 232, p. 1-21, 2024. DOI: https://doi.org/10.3390/ph17020232.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

OSMAKOV, D. I. *et al*. Lignans as pharmacological agents in disorders related to oxidative stress and inflammation: chemical synthesis approaches and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, art. 6031, p. 1-32, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms23116031.

PUPO, M. T. *et al*. Produtos naturais microbianos: uma fonte promissora de compostos bioativos. *In*: MONTANARI, C. A. (org.). **Biotecnologia moderna em química medicinal e indústria**. Araraquara: UNESP, 2006. p. 51-78.

QUINET, A.; ANDREATA, R. H. P. Lauraceae Jussieu na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Município de Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 53, n. 82, p. 59-121, 2002.

RICHTER, H. G. **Anatomia da madeira e da casca de Lauraceae**: I. *Aniba* Aublet. Sonderbande des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg. Hamburg: Paul Parey, 1981.

ROSA, W. *et al.* Atividade anti-inflamatória *in vivo* de extratos de espécies de Fabaceae avaliada por um novo ensaio *ex vivo* utilizando sangue total humano. **Phytochemical Analysis**, v. 32, n. 5, p. 859-883, 2021.

SALEHI, B. *et al. Nigella* plants – Traditional uses, bioactive phytoconstituents, preclinical and clinical studies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, art. 625386, p. 1-23, 2021. DOI: https://doi.org/10.3389/fphar.2021.625386.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *In*: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003. cap. 18, p. 371-400.

SOUZA-JUNIOR, F. J. C. *et al. Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae): A review of ethnobotany, phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular, and neurological properties. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, art. 699, p. 1-17, 2020. DOI: https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00699.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e à CAPES pelo apoio financeiro para a realização do trabalho, assim como à Universidade Federal de Alfenas pela parceria na realização dos ensaios anti-inflamatórios.