

# PESQUISA MOVIMENTA INOVAÇÃO. INOVAÇÃO MOVIMENTA O FUTURO.

XXVIII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES E  
X MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

07 e 08 de OUTUBRO de 2020  
UCS CAMPUS-SEDE - CAXIAS DO SUL



UCS  
UNIVERSIDADE  
DE CAXIAS DO SUL  
PESSOAS EM  
MOVIMENTO

LBiOP  
LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA DE  
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS

PIBIC-CNPq

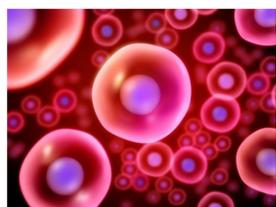
## Extração, isolamento e avaliação do alcaloide afinisina em células de melanoma humano

Sigla do projeto: Indoles

Autores: Gabriela S. Bordin, Pauline F. Rosales, Sidnei Moura

### INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Moléculas provenientes de plantas têm sido uma fonte importante para produção de novos fármacos. O uso de muitas espécies da família Apocynaceae pela medicina, se deve a grande quantidade de alcaloides presentes neste tipo de planta.

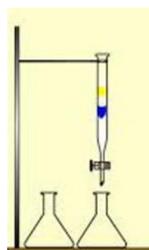


Alcaloides são metabólitos secundários nitrogenados que possuem estruturas complexas e integram com enzimas e proteínas em sistemas biológicos.

Em estudos anteriores, foi realizada uma pesquisa bio-guiada de compostos ativos nas sub-frações de *Tabernaemontana catharinensis* contra A375 (células de melanoma) e A549 (células de câncer de pulmão). Como resultados, descobriu-se que a fração mais ativa contra as células de melanoma continha o alcaloide afinisina que é um composto com ação reconhecida nas células tumorais.

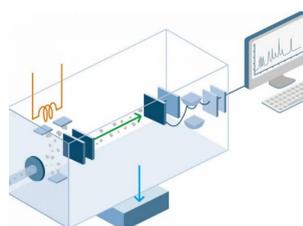
Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi isolar o alcaloide afinisina e testar sua atividade antitumoral. Este composto foi quimicamente caracterizado utilizando técnicas de espectrometria de massa de alta resolução e ressonância magnética nuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e 2D.

### EXPERIMENTAL



O extrato da planta foi repartido sucessivamente e fracionado em coluna cromatográfica aberta sobre sílica gel. Após fracionar por 5 vezes, obteve-se uma fração purificada por TLC preparativa ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  95:5 v/v) para afinisina (0,02697 g).

Essa molécula foi caracterizada por espectrometria de massa de alta resolução e ressonância magnética nuclear.



A citotoxicidade do composto foi testada contra linhagens celulares de melanoma humano (A375, WM1366 e SK-MEL-28) e uma linhagem celular normal da pele (CCD-1059Sk) usando um ensaio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato rico em alcaloides indólicos do caule de *T. catharinensis* resultou em um rendimento de 0,07% (massa seca da planta). Após a partição e fracionamento por cromatografia em coluna aberta de sílica gel, a afinisina (Figura 1) foi obtida com rendimento de 0,3% (em relação ao extrato).

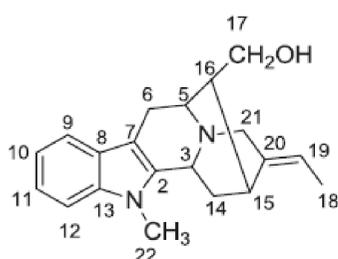


Figura 1 – Estrutura do alcaloide afinisina isolado da haste da *T. catharinensis*

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectro de massas do alcaloide afinisina.

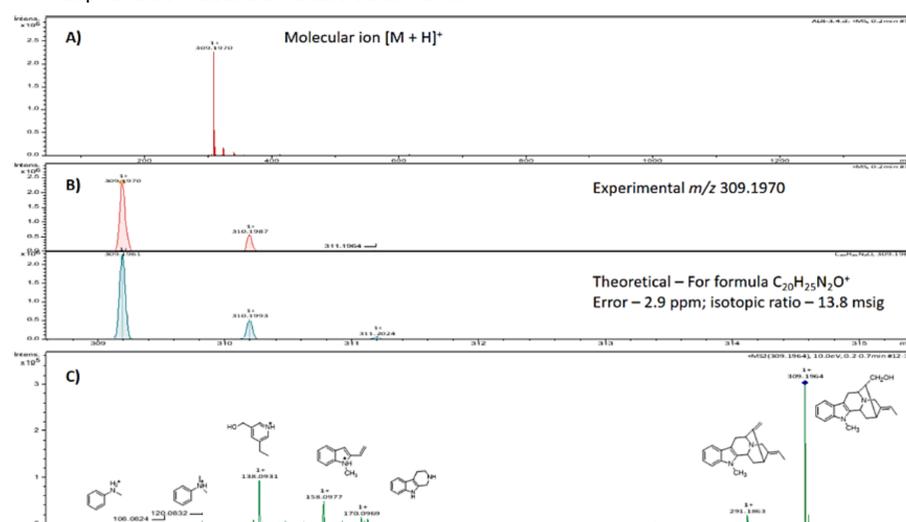


Figura 2 – Espectro de massas do alcaloide afinisina.

A Figura 2 mostra o espectro de massas total da molécula e a fragmentação MS-MS da afinisina.

A atividade citotóxica da molécula foi observada durante 48h, resultando em taxas de inibição de crescimento consideráveis nas células de melanoma, especialmente no WM1366, que apresentou o menor  $\text{IC}_{50}$  ( $32,86 \pm 2,54 \mu\text{g/mL}$ ). Considera-se que este composto diminuiu significativamente a viabilidade das células tumorais de maneira dependente da dose e do tempo para todas as linhagens avaliadas.

	$\text{IC}_{50}$ concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	24h	48h
A375	$75.04 \pm 4.03$	$57.69 \pm 3.94$
WM1366	$48.22 \pm 1.74$	$32.86 \pm 2.54$
SK-MEL-28	$57.84 \pm 23.03$	$41.51 \pm 5.82$
CCD-1059Sk	N/A	$77.81 \pm 13.26$

N/A: Não aplicável. A célula CCD-1059Sk foi avaliada apenas depois de 48h de exposição ao tratamento.

### CONCLUSÕES

Nesse estudo, isolou-se o composto afinisina da *T. catharinensis* por um método fácil e eficiente. Tesou-se a atividade antitumoral deste composto contra linhagens celulares de melanoma. Com isso, descobriu-se que o tratamento com este composto pode inibir a proliferação de três diferentes linhagens de células de melanoma humano (A375, WM1366 e SKMEL-28) de maneira dependente da dose e do tempo, como foi evidenciado pelo ensaio de viabilidade celular.

Dessa forma, o uso de agentes antineoplásicos está entre as medidas terapêuticas mais amplamente utilizadas para o controle e tratamento do câncer. A afinisina é um protótipo promissor na busca de novos medicamentos para o tratamento do câncer.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. T.; LIMA, J. A.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M.; CARVALHO, M. P.; EPIFANIO, R. A.; Indole alkaloids from *Tabernaemontana australis* (Müll. Arg) Miers that inhibit acetylcholinesterase enzyme. **Bioorg. Chem.**, 13, 12, 4092–4095, 2005.

ROSALES, P. F.; GOWER, A.; BENITEZ, M. L. R.; PACHECO, B. S.; SEGATTO, N. V.; ROESCH-ELY, M.; COLLARES, T.; SEIXAS, F. K.; MOURA, S. Extraction, isolation and *in vitro* evaluation of afinisine from *Tabernaemontana catharinensis* in human melanoma cells. **Bioorg. Chem.**, 90, 103079, 2019.

ROSALES, P.F.; MARINHO, F. F.; GOWER, A.; CHIARELLO, M.; CANCI, B.; ROESCH-ELY, M.; PAULA, F. R.; MOURA, S. Bio-guided search of active indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis*: Antitumour activity, toxicity *in silico* and molecular modelling studies. **Bioorg. Chem.**, 85, 66–74, 2019.