

Artigo

**Óleos Essenciais dos Frutos e Folhas de *Kielmeyera coriacea*:
Atividade Antitumoral e Estudo Químico****Lemes, R. S.; Costa, G. C. S.; Silva, D. C. S.; Becceneri, A. B.; Bicalho, K. U.;
Miranda, M. L. D.; Diniz, V. S. S.; Cazal, C. M.****Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (3), no prelo. Data de publicação na Web: 17 de abril de 2017<http://rvq.sbgq.org.br>**Essential Oils from Fruits and Leaves of *Kielmeyera coriacea*: Antitumor Activity and
Chemical Study**

Abstract: *Kielmeyera coriacea*, a typical tree species of the Cerrado (Brazilian Savanna), popularly known as “pau-santo” and it is used in traditional medicine for the treatment of various diseases. This study aimed to chemically characterize the essential oils of leaves and fruits of *K. coriacea* and to evaluate its antitumor activity against human tumor cell lines MDA-MB-231 (breast tumor) and DU-145 (prostate tumor) as a way to search for new drugs derived from natural sources. Essential oils were extracted by hydrodistillation in Clevenger. The average yield of essential oil of leaves and fruits was 0.38% and 0.0041%, respectively. In leaves from *K. coriacea*, the major compounds found in the essential oils, were geranyl linalool (27,78), 2-Acetate (2E) Tridecenol (9.06%), E-nerolidol (7.70%) and α -bisabolol (5,09). The major compounds found in essential oils of fruits were D-germacrene (18.94%), neo-intermedeol (12.18%), bicyclogermacrene (12.00%), Viridiflorol (9,30 %), Globulol (8,76%), Epi- α -muurolol (8,13%) and δ -cadinene (5,00%).. The essential oils of fruits inhibited the proliferation of tumor cell lines DU-145 and MDA-MB-231, as well as of the non-tumor cells (FH -Human fibroblasts). By contrast the essential oils of leaves were not active in any tested tumor lineage. To our knowledge, this is the first report on the chemical composition and antitumor activity of this species, and it clearly enhance our chemical knowledge of this plant.


Keywords: Brazilian cerrado; cancer; chemical composition; natural products; pau-santo.

Resumo

Kielmeyera coriacea é uma planta típica do Cerrado, conhecida como pau-santo, sendo muito utilizada pela medicina popular no tratamento de diversas doenças. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar quimicamente os óleos essenciais dos frutos e das folhas de *K. coriacea* e avaliar sua atividade antitumoral frente às linhagens de células tumorais humanas MDA-MB-231(tumor mama) e DU-145 (tumor de próstata) na busca de novos compostos bioativos de origem natural. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparato Clevenger. O rendimento dos óleos essenciais das folhas e frutos foi de 0,38 % e 0,0041 %, respectivamente. Os compostos majoritários presentes no óleo essencial das folhas de *K. coriacea*, foram: geranyl linalool (27,78%), 2-Acetato de (2E)-tridecenol (9,06 %), E-nerolidol (7,70 %) e α -bisabolol. Já no óleo essencial dos frutos os constituintes majoritários identificados foram: D-germacreno (18,94 %), neo-intermedeol (12,18 %), bicyclogermacrene (12,00 %), Viridiflorol (9,30 %), Globulol (8,76%), Epi- α -muurolol (8,13%) e δ -cadineno (5,00%). O óleo essencial dos frutos inibiu a proliferação celular das linhagens tumorais DU-145 e MDA-MB-231 e das células não tumorais (FH-fibroblastos humano), enquanto que o óleo essencial das folhas não exibiu atividade frente a nenhuma linhagem tumoral testada. Este é o primeiro relato da composição química do óleo essencial dos frutos de *Kielmeyera coriacea*, contribuindo para o conhecimento desta espécie.

Palavras-chave: Cerrado brasileiro; câncer; composição química; produtos naturais; pau-santo.

* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Barbacena, CEP 36205-018, Barbacena-MG, Brasil.

 cristiane.cazal@ifsudestemg.edu.br

DOI:

Óleos Essenciais dos Frutos e Folhas de *Kielmeyera coriacea*: Atividade Antitumoral e Estudo Químico

Raiane S. Lemes,^a Géssica Carla S. Costa,^a Douglas Carlos S. Silva,^a
Amanda B. Becceneri,^b Keylla U. Bicalho,^b Mayker Lazaro D. Miranda,^c
Vania S. S. Diniz,^a Cristiane M. Cazal^{d,*}

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, CEP 76200-000, Iporá-GO, Brasil.

^b Universidade Federal de São Carlos, CEP 13565-905, São Carlos-SP, Brasil.

^c Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, CEP 37550-000, Pouso Alegre-MG, Brasil.

^d Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, CEP 36205-018, Barbacena-MG, Brasil.

* cristiane.cazal@ifsudestemg.edu.br

Recebido em 16 de janeiro de 2017. Aceito para publicação em 4 de abril de 2017

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Material vegetal

2.2. Extração dos óleos essenciais

2.3. Análise dos óleos essenciais

2.4. Cultura de células

2.5. Experimento de proliferação celular

3. Resultados e Discussão

4. Conclusão

1. Introdução

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e possui uma considerável diversidade biológica em sua flora. Sua grande extensão e posição geográfica compreendem uma ampla diversidade de litologias, formas de relevo, cotas altimétricas e solos. Desta maneira, o Cerrado brasileiro é considerado uma fonte de recursos biológicos possuindo um grande

número de espécies frutíferas, ornamentais e medicinais.¹

Segundo Martins e colaboradores, devido a essa grande diversidade, houve um aumento do interesse pelas plantas medicinais neste bioma, em busca de espécies com amplo espectro farmacológico para o tratamento de diferentes patologias.²

A família Calophyllaceae possui 13 gêneros com aproximadamente 460 espécies, sendo importante do ponto de vista

etnobotânico e econômico.³ Dentro desta família está o gênero *Kielmeyera*, endêmico da América do Sul, que possui 47 espécies, das quais 45 são originárias do Brasil, sendo encontradas em diversos habitats.⁴ Espécies deste gênero vêm sendo utilizadas pela medicina popular para o tratamento de doenças tropicais como malária, esquistossomose, infecção por bactérias e fungos, leishmaniose entre outras.⁵

Uma espécie que merece destaque dentro desse gênero é a *Kielmeyera coriacea*, uma planta arbórea, tipicamente do Cerrado, e é conhecida popularmente como pau-santo.⁶ Seus extratos e óleos essenciais são extensivamente estudados e se destacam por apresentarem propriedades fungicidas e atuarem como uma possível fonte de compostos antidepressivo, anti-ulcerosos, anti-ansiedade e anti-tumor.⁴

Existem alguns estudos relacionados à identificação de compostos químicos desta espécie e sua atividade anticancerígena.⁷⁻¹⁴ É reportado na literatura o isolamento e identificação de substâncias derivadas do floroglucinol poliprenilados em extratos hexânicos de *K. coriacea* e *K. lathrophyton*,¹³ sendo descrito que os acil floroglucinóis poliprenilados isolados destas plantas possuem atividade anticancerígena *in vivo* e *in vitro*.¹⁴

O estudo químico e biológico de óleos essenciais obtidos de diversas espécies vegetais tem recebido destaque, principalmente quando envolvem atividade antitumoral.^{15,16} Entretanto, até o momento não há relato da avaliação dos óleos essenciais de *K. coriacea* frente a proliferação celular.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo químico dos óleos essenciais das folhas e frutos de *K. coriacea*, contribuindo para o conhecimento da espécie, bem como avaliar sua atividade antiproliferativa frente às linhagens de células tumorais humanas MDA-MB-231 (tumor mama), DU-145 (tumor de próstata) e a linhagem não tumoral FH (fibroblastos).

2. Parte Experimental

2.1. Materiais vegetais

As folhas e os frutos de *K. coriacea* foram coletados na região de Iporá-GO em agosto de 2012. O material vegetal foi identificado e uma amostra foi depositada no Herbário Jataiense Professor Germano Guarin Neto sob o registro nº HJ 3807.

2.2. Extração dos óleos essenciais

As folhas e os frutos frescos (500g) foram reduzidos em moinho de facas e submetidos às extrações dos óleos essenciais pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, por um período de 4 horas a partir da ebulição.¹⁷ Em seguida, o hidrolato foi submetido à três partições líquido-líquido utilizando 10 mL de diclorometano em cada. Os óleos essenciais extraídos foram secos com sulfato de sódio anidro, acondicionados em pequenos frascos de vidro âmbar e mantidos sob refrigeração (4 °C) até a realização da atividade antitumoral e análise por CG-EM (Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa).

2.3. Análise dos óleos essenciais por CG-EM

A composição química dos óleos essenciais foi determinada em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC QP 5000 acoplado ao espectrômetro de massas (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida OPTIMA®-5-0,25 µm (30 m x 0,25 mm) e ionização por impacto eletrônico (IE) (70 eV). A temperatura inicial foi mantida a 80 °C por 3 min, em seguida programada até 200 °C a 4 °C/min e permaneceu nessa temperatura por mais 3,0 min e finalmente foi programada até 280 °C a 20 °C/min e mantida por 1,0 min. A temperatura do

injetor foi de 260 °C e do detector 280 °C. A pressão de injeção foi 100 KPa. O gás de arraste utilizado foi hélio, usado à pressão constante de 100 Kpa e vazão constante de 1,6 mL/min. O espectrômetro operou com velocidade de 0,5 scans/seg. O tempo necessário para análise dos óleos essenciais foram 36,5 e 20,0 min para os frutos e folhas, respectivamente. A porcentagem de cada componente foi obtida do próprio CG-EM (GCMS Solutions) e foi determinada

dividindo-se a área de cada pico pela área total de todos os componentes presentes na mistura. A identificação dos componentes dos óleos essenciais foi baseada no índice de retenção (Equação 1) calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de *n*-alcanos (C-14 a C-26, C-28 e C-30), no padrão de fragmentação observado nos espectros de massas e por comparação destes com dados da literatura¹⁸ e da espectroteca Nist 98.

$$IR = 100i \times \frac{Tr_x - Tr_{HA}}{Tr_{HP} - Tr_{HA}} + 100N \quad \text{Eq. 1}$$

Tr_x = Tempo de retenção do composto problema

Tr_{HA} = Tempo de retenção do Hidrocarboneto anterior

Tr_{HP} = Tempo de retenção do hidrocarboneto posterior

N = Número de carbonos do hidrocarboneto posterior

I = Diferença entre o número de carbono dos hidrocarbonetos anterior e posterior

incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ por 5 minutos. A suspensão celular obtida foi centrifugada a 1000 rpm durante 5 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e as células sedimentadas foram então ressuspendidas em 5 mL de meio de cultura. A viabilidade celular foi avaliada utilizando o corante de exclusão, azul de tripano. Para tal, foram adicionados 10µl de suspensão celular a 10µl de azul de tripano e procedida a contagem em câmara de Neubauer.

2.4. Cultura de células

Para os ensaios de proliferação celular foram utilizadas três linhagens celulares humanas: MDA-MB-231 (tumor mama), DU-145 (tumor de próstata) e FH (fibroblastos). As manipulações das culturas celulares foram realizadas em câmara de fluxo laminar vertical.

As células foram cultivadas em incubadora a 37°C e 5% de CO₂ em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino (SFB) e mantidas em crescimento exponencial tendendo-se para tal subcultura por tripsinização. Para tal processo, o meio de cultura foi removido, as células foram lavadas com 5 mL de PBS e em seguida adicionados 2 mL de tripsina e

2.5. Experimento de proliferação celular

Os efeitos dos óleos essenciais dos frutos (OEPS 1) e das folhas (OEPS 2) de *K. coriacea* sobre a proliferação das células da linhagem MDA-MB-231, DU-145 e FH foram determinados através do uso do reagente MTT [brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] conforme descrito por Mosmann (1983).¹⁹ Para tal, as células, na concentração de 1x10⁴/200 µL, foram plaqueadas em placas de 96 poços estéreis (Corning) em meio apropriado adicionado de 10% de SFB e dos suplementos adicionais. As células foram incubadas por 24 h a 37°C e 5% de CO₂, após este período o meio de cultura foi retirado dos poços e diferentes concentrações (12,5; 25; 50 e 100µg/mL) dos

óleos essenciais foram adicionadas. Como controle positivo utilizou-se o quimioterápico, doxorubicina (1,35 µg/mL). Em seguida, as células foram incubadas por 48h nas mesmas condições descritas acima.

Após o tempo de incubação, o meio de cultura de cada poço foi retirado e uma solução contendo MTT (0,5 mg/mL) foi adicionada (100 µL/poço). As placas foram então mantidas durante 4 h a 37 °C e em seguida, os cristais formados foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) (100 µL). A leitura da absorbância foi realizada em leitor de placa de ELISA, Labtech LT- 4000 Microplate Reader, em comprimento de onda de 540nm. Os óleos foram diluídos em DMSO a 0,5 %.

A medida da proliferação celular foi realizada em comparação aos poços sem tratamento apenas com meio de cultura suplementado com SFB (controle negativo). A análise estatística foi realizada utilizando o

software *GraphPad Prism*® através da análise de variância one-way (ANOVA) seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnet.

3. Resultados e Discussão

A hidrodestilação dos frutos e das folhas da *K. coriacea* forneceu um óleo amarelado claro e com rendimento médio de 0,0041 % e 0,38 %, respectivamente. A Figura 1 apresenta os cromatogramas obtidos nas condições estabelecidas para análise dos óleos essenciais dos frutos (OEPS 1) e folhas (OEPS 2) de *K. coriacea*.

No óleo essencial dos frutos de *K. coriacea* foram detectados 29 constituintes químicos (Tabela 1), enquanto que nas folhas foram detectados 28 constituintes químicos (Tabela 2).

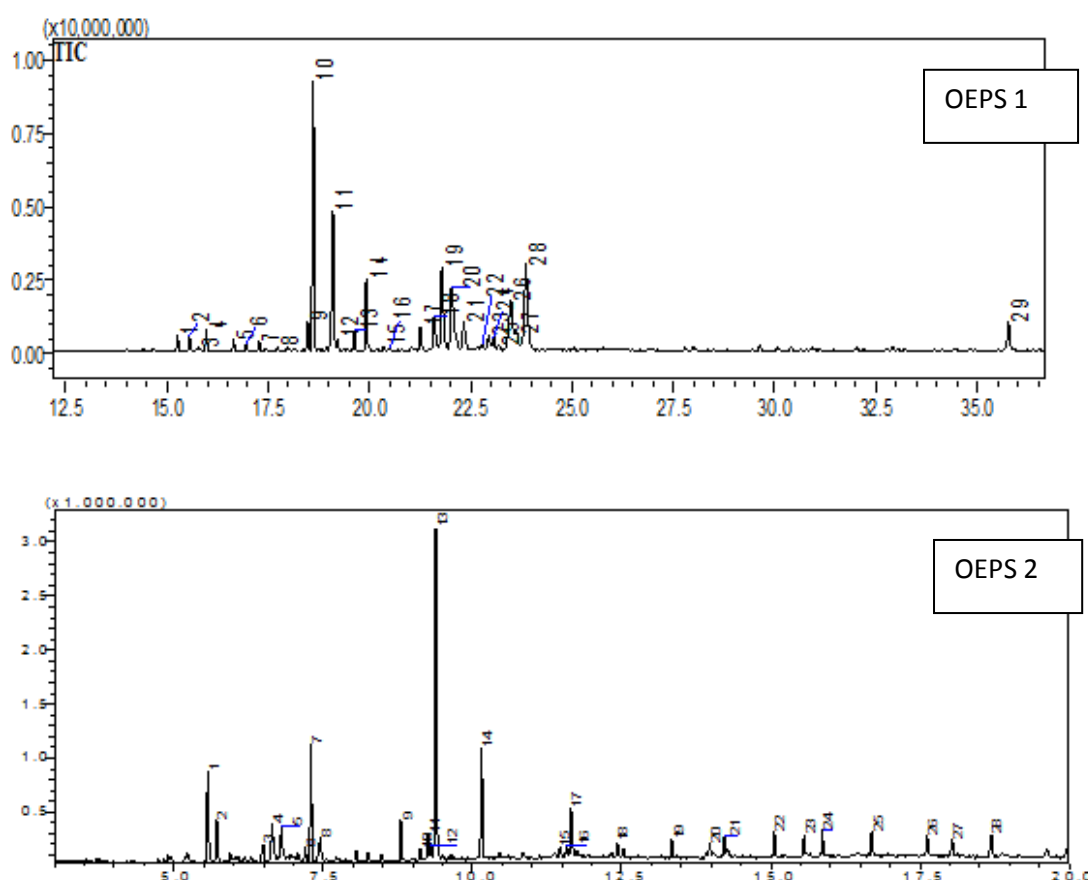


Figura 1. Cromatogramas (CG-EM) dos óleos essenciais dos frutos (OEPS 1) e das folhas (OEPS 2) de *K. coriacea*

Tabela 1. Composição química do óleo essencial dos frutos de *K. coriacea*

Pico	TR (min)	Compostos	(%)	IR*	IR**
Sesquiterpenos hidrocarbonados					
1	15.266	α -ylangeno	0,96	1378	1373
2	15.554	β -bourboneno	0,95	1387	1387
3	15.785	β -elemeno	0,20	1394	1389
4	15.974	n-tetradecano	1,34	1400	1400
5	16.652	<i>E</i> -cariofileno	0,73	1421	1417
6	16.965	β -copaeno	0,45	1431	1430
7	17.276	Aromadendreno	0,61	1441	1439
8	17.737	α -humeleno	0,23	1456	1452
9	18.473	NI	1,95	1479	-
10	18.612	D-germacreno	18,94	1483	1484
11	19.101	Biciclogermacreno	12,00	1499	1500
12	19.212	α -muuroleno	0,76	1503	1500
13	19.627	γ -cadineno	1,28	1516	1513
14	19.920	δ -cadineno	5,00	1526	1522
15	20.349	α -cadineno	0,23	1540	1537
16	20.517	α -calacoreno	0,27	1546	1544
Sesquiterpenos oxigenados					
17	21.255	Maaliol	1,86	1570	1566
18	21.592	Espatuleno	3,65	1581	1577
19	21.787	Globulol	8,76	1590	1590
20	22.022	Viridiflorol	9,30	1596	1592
21	22.327	5-epi-7-epi- α -eudesmol	2,93	1606	1607
22	22.783	Junenol	0,37	1622	1618
23	22.935	Eremoligenol	1,28	1627	1629
24	23.060	1-epi-cubenol	0,89	1631	1627
25	23.192	NI	0,28	1636	-
26	23.487	Epi- α -muurolol	8,13	1646	1640
27	23.642	α -cadinol	2,21	1651	1652
28	23.858	Neo-intermedeol	12,18	1659	1658
29	35.773	NI	2,26	2103	-
TOTAL			95,51		

* = índice de retenção calculado usando a equação de Van den Dool e Kratz.

** = índice de retenção da literatura¹⁸ baseada na equação de Van den Dool e Kratz.

NI = Não identificado

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas de *K. coriacea*

Pico	TR (min)	Compostos	(%)	IR*	IR**
Sesquiterpenos oxigenados					
1	5,565	E-Nerolidol	7,70	1572	1561
2	5,713	(3Z)-benzoato de metil Hexenil	4,15	1585	1565
3	6,489	Cis-Cadin-4-en-7-ol	2,18	1650	1635
4	6,647	α -bisobolol	5,09	1664	1656
5	6,800	Acetato elemol	3,33	1676	1680
6	7,198	NI	1,24	1710	
7	7,292	Acetato de (2E)Tridecenol	9,06	1718	1703
8	7,444	(2Z, 6E)-Farnesol	2,74	1731	1722
9	8,803	NI	3,05	1849	
10	9,129	NI	0,77	1878	
11	9,256	Salicilato de benzila	2,20	1889	1864
12	9,312	<i>n</i> -hexadecanol	1,08	1894	1874
13	9,386	Geranil linalool	27,78	2000	1998
14	10,154	NI	8,28	2072	-
15	11,458	<i>n</i> -heneicosano	1,26	2100	2100
16	11,583	Octadenol etil	0,76	2113	2209
17	11,652	3,7,11,15-tetrametil-2-Hexadecen-1-ol	4,18	2121	2045
18	12,428	NI	1,05	2201	
19	13,345	<i>n</i> -tricosano	1,37	2301	2300
20	13,976	NI	0,43	2373	-
Alcanos					
21	14,220	<i>n</i> -tetracosano	1,09	2401	2400
22	15,059	<i>n</i> -pentacosano	1,67	2502	2500
23	15,550	NI	1,23	2563	
24	15,863	Hexacosano	1,56	2601	2600
25	16,689	Heptacosano	1,80	2695	2700
26	17,617	Octacosano	1,46	2800	2800
27	18,033	NI	1,37	2836	
28	18,690	Nanocosano	2,12	2892	2900
TOTAL			82,58		

* = índice de retenção calculado usando a equação de Van den Dool e Kratz.

** = Índice de retenção da literatura¹⁸ baseada na equação de Van den Dool e Kratz.

NI = Não identificado

Os compostos encontrados em maiores porcentagens no óleo essencial dos frutos (OEPS 1) de *K. coriacea* foram: D-germacreno (18,94 %), neo-intermedeol (12,18 %), bicilogermacreno (12,00 %), viridiflorol (9,30 %), globulol (8,76 %), epi- α -muurolol (8,13 %) e δ -cadineno (5,00 %) (Figura 2). Observa-se que o óleo essencial das folhas (OEPS 2) de *K.*

coriacea é constituído principalmente de sesquiterpenos oxigenados e alcanos de cadeia longa, sendo os principais componentes: geranil linalool (27,78%), 2-Acetato de (2E) tridecenol (9,06 %), E-Nerolidol (7,70%) e α -bisabolol (5,09 %) (Figura 3).

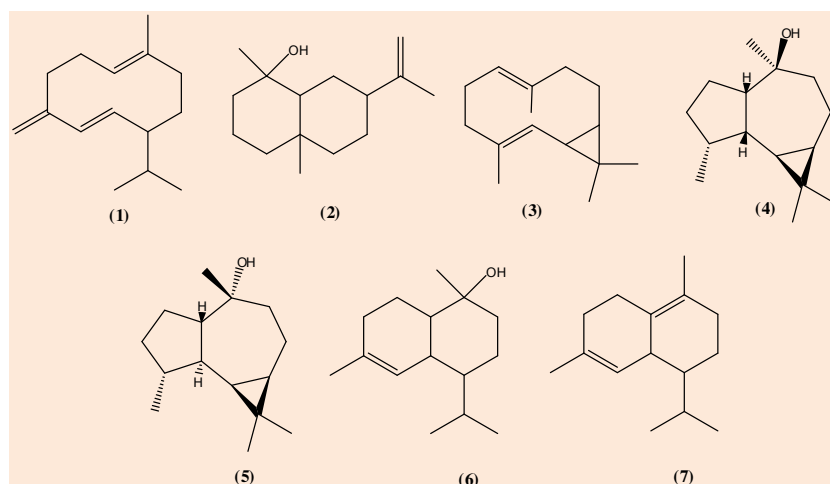


Figura 2. Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados no óleo essencial dos frutos frescos (OEPS 1) de *K. coriacea* D-germacreno (1), neo-intermedeol (2), bicylogermacrene (3), viridiflorol (4), globulol (5), epi- α -muurolol (6) e δ -cadineno (7)

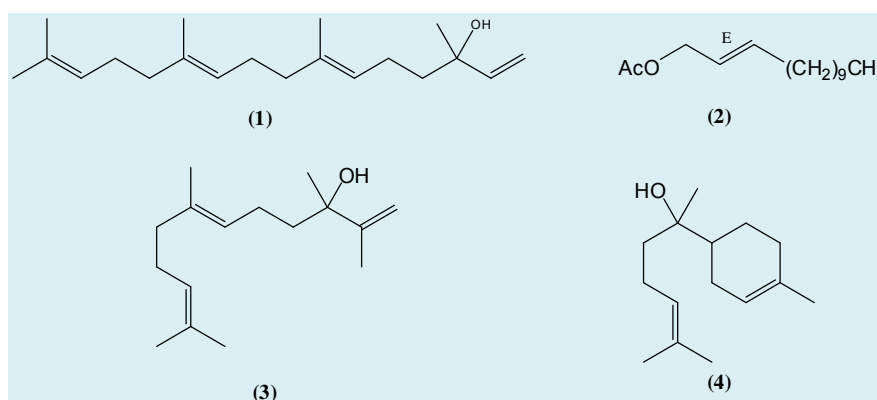


Figura 3. Estruturas químicas dos constituintes majoritários identificados no óleo essencial das folhas frescas (OEPS 2) de *K. coriacea* geranyl linalool (1), 2-Acetato de (2E) tridecenol (2), E-Nerolidol (3) e α -bisabolol (4)

Em estudos anteriores, o óleo essencial das folhas de *K. coriacea* apresentou aproximadamente 85% de constituintes voláteis, em que foram identificados os sesquiterpenos: D-germacreno (24,2 %), o trans-carofileno (15,5 %), bicylogermacrene (11,6 %), e cerca de 5 % do óleo essencial eram correspondente aos três isômeros do bisabolol (β -bisabolol, epi- α -bisabolol e α -bisabolol).² Neste mesmo trabalho, os autores avaliaram também a composição química do óleo essencial da casca e da madeira de *K. coriacea* e identificaram os alcanos como os componentes majoritários, sendo os principais: hexacosano,

heptacosano, octacosano, e nonacosano. Ressalta-se ainda que estes mesmos alcanos foram encontrados em nosso estudo químico do óleo essencial das folhas de *K. coriacea* coletada no estado de Goiás. Outro relato na literatura sobre o estudo químico com o óleo essencial das folhas da espécie *Kielmeyera rugosa* Choisy, coletada no estado de Sergipe demonstrou que os principais componentes são: o α -cubebeno, α -copaeno, trans-cariofileno e δ -cadineno, representando cerca de 10 % do óleo essencial.²⁰ Esses compostos também foram identificados em *K. coriacea*, porém em diferentes

concentrações, totalizando 24,4 % do óleo essencial estudado.

Essas diferenças são comuns, porque a composição química de óleos essenciais varia de acordo com vários fatores, como o horário e época de colheita, o ataque de patógenos influencia na produção e variabilidade dos óleos, além disso, a localização, temperatura, idade e parte da planta também atuam de maneira significativa.²¹⁻²³

Os efeitos dos óleos essenciais dos frutos e folhas de *K. coriacea* na proliferação e viabilidade de células humanas tumorais MDA-MB-231 (tumor da mama) e DU-145 (tumor de próstata) e células não tumorais FH (fibroblastos humanos) podem ser observados na Figura 4.

Estes resultados demonstraram que o OEPS 1 inibe a proliferação celular da linhagem de tumor de mama (MDA-MB-231) em 38,5% e da linhagem de tumor da próstata (DU-145) em 40,7% na maior concentração testada (100µg/mL), bem como inibe a proliferação em todas as concentrações testadas em células não tumorais (FH). Entretanto, OEPS 2 não se mostrou promissor para a atividade antitumoral, uma vez que este não exibiu nenhuma atividade frente às células humanas tumorais testadas. Em adição, o OEPS 2 mostrou-se citotóxico, uma vez que foi ativo em todas as concentrações testadas para as células não tumorais (FH - fibroblastos humanos).

O D-germacreno (12,95%) presente no óleo essencial das folhas de *Pinus eldarica* foi considerado o responsável pela sua atividade citotóxica.²⁴ Já a atividade citotóxica observada para o óleo essencial de *P. aequale* foi atribuído principalmente pela associação sinérgica envolvendo os sesquiterpenos D-germacreno e o biciclogermacreno.²⁵ Em geral os

sesquiterpenos do tipo elemeno, são considerados inibidores de proliferação celular, estimulantes de apoptose e indutores de paragem do ciclo celular na célula maligna. Adicionalmente, há relatos na literatura que o β -elemeno apresentou atividade anticancerígena em células do cérebro, laringe, pulmão, mama, próstata, colo do útero, cólon e do ovário.²⁶⁻²⁹

Outros estudos demonstraram que óleo essencial das folhas de *Annona vepretorum* contendo como constituintes principais o biciclogermacreno (35,71%), espatulenol (18,89%) e D-germacreno (3,27%) apresentou atividade antitumoral promissora, inibindo em 34,46% o crescimento tumoral *in vitro*. No mesmo trabalho, o espatulenol foi testado de forma isolada e apresentou os seguintes valores de IC₅₀ para B16-F10-melanoma de rato (11.67 µg mL⁻¹), HepG2-carcinoma hepatocelular humano (11.19 µg mL⁻¹), HL-60 - leucemia promielocítica humana (3.79 µg mL⁻¹), K562 - leucemia mielóide crônica humana e (11.38 µg mL⁻¹) PBMCs-células mononucleares do sangue periférico humano ativadas com concanavalina (15.59 µg mL⁻¹), sugerindo que o espatulenol contribuiu de forma significativa para o efeito antitumoral desse óleo essencial.³⁰ No óleo essencial das folhas de *Nectandra leucantha*, também foram encontrados o biciclogermacreno (28,44%), espatulenol (5,82%), além do germacreno (7,34%), globulol (5,25%), γ -Cadineno (0,26 %) e o δ -Cadineno (0,99 %), e exibiram atividade citotóxica significativa contra B16F10-Nex2-melanoma marino (IC₅₀ 33 ± 1µg mL⁻¹), U87- glioblastoma humano (IC₅₀ 75,95 ± 0,03 µg mL⁻¹) e HeLa-carcinoma cervical humano (IC₅₀ 60 ± 12 µg mL⁻¹). O principal composto identificado, Biciclogermacreno, exibiu IC₅₀ variando de 3,1 ± 0,2 a 21 ± 6 µg mL⁻¹.³¹

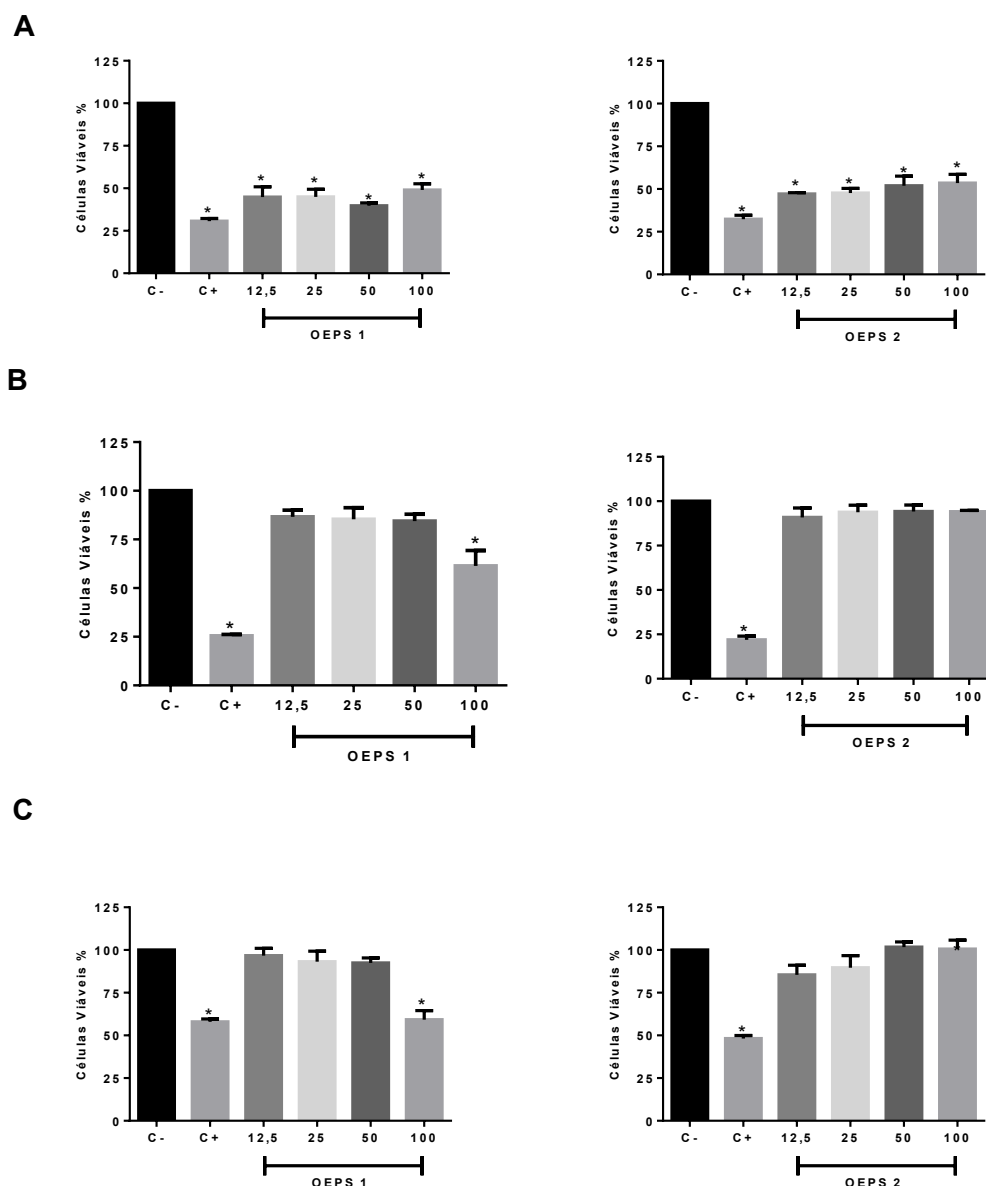


Figura 4. Efeitos de diferentes concentrações (12,5; 25; 50 e 100µg/mL) dos óleos essenciais dos frutos (OEPS 1) e das folhas (OEPS 2) de *K. coriacea* na proliferação celular nas células não tumorais FH (fibroblastos) (A), nas células tumorais MDA-MB-231 (tumor de mama) (B) e DU-145 (tumor de próstata) (C). O controle negativo (C-) corresponde às células tratadas apenas meio de cultura suplementado com SFB e o controle positivo (C+) corresponde às células tratadas com o quimioterápico, doxorubicina. Os resultados foram comparados através da análise de variância *one-way* (ANOVA) seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunnet (* $p < 0,01$)

4. Conclusão

O óleo essencial dos frutos (OEPS 1) de *K. coriacea* exibiu uma mistura complexa de sesquiterpenos hidrocarbonados (45,9%) e sesquiterpenos oxigenados (54,1%). Já o óleo essencial das folhas (OEPS 2) apresentou na sua maioria sesquiterpenos oxigenados (87,7%). Este é o primeiro relato da composição química do óleo essencial dos frutos de *Kielmeyera coriacea*, contribuindo significativamente para o conhecimento desta espécie.

O óleo essencial dos frutos (OEPS 1) inibiu a proliferação celular das linhagens tumorais DU-145 (40,7%) e MDA-MB-231 (38,5%) e das células não tumorais (FH), enquanto que o óleo essencial das folhas (OEPS 2) não exibiu atividade frente a nenhuma linhagem tumoral testada. Apesar da citotoxicidade apresentada pelo OEPS 1, este deve passar por fracionamentos na tentativa de encontrar substância que apresentem maior seletividade para células cancerosas.

Referências Bibliográficas

¹ Pereira, B. A. S. P.; Venturoli, F.; Carvalho, F.A. Florestas estacionais no Cerrado: uma visão geral. *Pesquisa Agropecuária Tropical* **2011**, *41*, 446. [[Link](#)]

² Martins, C. M.; Nascimento, E. A.; Morais, S. A. L.; Oliveira, A.; Chang, R.; Cunha, L. C. S.; Martins, M. M.; Martins, C. H. G.; Moraes, T. S.; Rodrigues, P. V.; Silva, C. V.; Aquino, F. J. T. Chemical Constituents and Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2015**, *1*. [[CrossRef](#)]

³ Ruhfel, B. R.; Bittrich, V.; Bove, C. P.; Gustafsson, M. H.; Philbrick, C. T.; Rutishauser, R.; Xi, Z.; Davis, C. C. Phylogeny of the *clusioid* clade (Malpighiales): evidence from the plastid and mitochondrial genomes. *American Journal of Botany* **2011**, *98*, 306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁴ Caddah, M. K.; Mayer, J. L. S.; Bittrich, V.; Amaral, M. C. E. Species limits in the *Kielmeyera coriacea* complex (Calophyllaceae)—a multidisciplinary approach. *Botanical Journal of the Linnean Society* **2012**, *168*, 101. [[CrossRef](#)]

⁵ Pinheiro, L.; Nakamura, C. V.; Filho, B. P. D.; Ferreira, A. G.; Young, M. C. M.; Cortez, D. A. G. Antibacterial xanthenes from *Kielmeyera variabilis* mart. (Clusiaceae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2003**, *98*, 549. [[CrossRef](#)]

⁶ Lorenzi, H.; *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, Editora Plantarum-col. illus.: Nova Odessa, 352, p. 1992.

⁷ Gomides, N. A. M. T.; Caixeta Neta, A.; Severino, R. P.; Severino, V. G. P.; Guarim Neto, G.; *Etnobotânica de Kielmeyera coriacea Mart e Zucc. In: Estudos Interdisciplinares em Ciências Biológicas, Saúde, Engenharias e Gestão*, 1a. ed., Blucher: São Paulo, 2016, v. 1, p.177-197

⁸ Figueiredo, C. R.; Matsuo, A. L.; Massaoka, M. H.; Girola, N.; Azevedo, R. A.; Rabaça, A. N.; Farias, C. F.; Pereira, F. V.; Matias, N. S.; Silva, L. P.; Rodrigues, E. G.; Lago, J. H. G.; Travassos, L. R.; Silva, R. M. G. Antitumor Activity of *Kielmeyera Coriacea* Leaf Constituents in Experimental Melanoma, Tested *in Vitro* and *in Vivo* in Syngeneic Mice. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* **2014**, *4*, 429. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁹ Vasconcellos, M. C. B. L. M.; *Tese Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, 2008. [[Link](#)]

¹⁰ Silva, R. M. G.; Rodrigues, D. T. M.; Augustos, F. S.; Valadares, F.; Neto, P. O.; Santos, L.; Silva, L. P. Antitumor and cytotoxic activity of *Kielmeyera coriacea* mart. Zucc. and *Pyrostegia venusta* (ker-gawl.) Miers extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* **2012**, *6*, 4142. [[CrossRef](#)]

¹¹ Mesquita, M. L.; Paula, J. E.; Pessoa, C.; Moraes, M. O.; Lotufo, L. V.; Grougnet, R.; Michel, S.; Tillequin, F.; Espindola, L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer

- cell lines. *Journal of Ethnopharmacology* **2009**, *123*, 439. [CrossRef] [PubMed]
- ¹² Mesquita, M. L.; Araújo, R. M.; Bezerra, D. P.; Filho, R. B.; Paula, J. E.; Silveira, E. R.; Pessoa, C.; Moraes, M. O.; Costa-Lotufo, L. V.; Espindola, L. S. Cytotoxicity of δ -tocotrienols from *Kielmeyera coriacea* against cancer cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 623. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³ Sousa, V. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal da Bahia, 2005.
- ¹⁴ Roux, D.; Hadi, H. A.; Thoret, S.; Guénard, D.; Thoison, O.; Pais, M.; Sévenet, T. Structure-activity relationship of polyisoprenyl benzophenones from *Garcinia pyrifera* on the tubulin/microtubule system. *Journal of Natural Products* **2000**, *63*, 1070. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁵ Raut, J. S.; Karuppayil, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products* **2014**, *62*, 250. [CrossRef]
- ¹⁶ Adorjan, B.; Buchbauer, G. Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal* **2010**, *25*, 407. [CrossRef]
- ¹⁷ Siqueira, C. A. T.; Oliani, J.; Sartoratto, A.; Queiroga, C. L.; Moreno, P. R. H.; Reimão, J. Q.; Tempone, A. G.; Fischer, D. C. H. Chemical constituents of the volatil oil from leaves of *Annona coriacea* and in vitro antiprotozoal activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2011**, *21*, 33. [CrossRef]
- ¹⁸ Adams, R. P.; *Identification of essential oil componentes by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy*, Card Stream I L: Allured, 2001.
- ¹⁹ Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* **1983**, *65*, 55. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁰ Andrade, M. S.; Sampaio, T. S.; Nogueira, P. C. L.; Ribeiro, A. S.; Bittrich, V.; Amaral, M. C. Volatile compounds of the leaves, flowers and fruits of *kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae). *Flavour and Fragrance Journal* **2007**, *22*, 49. [CrossRef]
- ²¹ Xavier, M. N.; Alves, J. M.; Carneiro, N. S.; Souchie, E. L.; Silva, E. A. J.; Martins, C. H. G.; Ambrosio, M. A. L. V.; Egea, M. B.; Alves, C. C. F.; Miranda, M. L. D. Composição química do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. *Revista Virtual de Química* **2016**, *8*, 1433. [CrossRef]
- ²² Paulus, D.; Valmorbidia, R.; Toffoli, E.; Nava, Ga. Teor e composição química de óleo essencial de cidró em função da sazonalidade e horário de colheita. *Horticultura Brasileira* **2013**, *31*, 203. [CrossRef]
- ²³ Rocha, R. P.; Melo, E. C.; Barbosa; L. C. A.; Santos, R. H. S.; Cecon, P. R.; Dallacort, R.; Santi, A. Influence of plant age on the content and composition of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Journal of Medicinal Plants Research* **2014**, *8*, 1121. [CrossRef]
- ²⁴ Sarvmeili, N.; Jafarian-Dehkordi, A.; Zolfaghari, B. Cytotoxic effects of *Pinus eldarica* essential oil and extracts on HeLa and MCF-7 cell lines. *Research in Pharmaceutical Sciences* **2016**, *11*, 476. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁵ Silva, J. K.; Pinto, L. C.; Burbano, R. M.; Montenegro, R. C.; Andrade, E. H.; Maia, J. G. Composition and cytotoxic and antioxidant activities of the oil of *Piper aequale* Vahl. *Lipids in Health and Disease* **2016**, *15*, 174. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Wang, G.; Li, X.; Huang, F.; Zhao, J.; Ding, H. Antitumor effect of beta-elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2005**, *62*, 881. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Li, X.; Wang, G.; Zhao, J.; Ding, H.; Cunningham, C.; Chen, F.; Flynn, D. C.; Reed, E.; Li, Q. Q. Antiproliferative effect of beta-elemene in chemoresistant ovarian carcinoma cells is mediated through arrest of the cell cycle at the G2-M phase. *Cellular and*

Molecular Life Science, **2005**, *62*, 894. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

²⁸ Yao, Y. Q.; Ding, X.; Jia, Y. C.; Huang, C. X.; Wang, Y. Z.; Xu, Y. H. Anti-tumor effect of beta-elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation. *Cancer Letters* **2008**, *264*, 127. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

²⁹ Liu, J.; Zhang, Y.; Qu, J.; Xu, L.; Hou, K.; Zhang, J.; Qu, X.; Liu, Y.; [beta]-Elemene-induced autophagy human gastric cancer cells from undergoing apoptosis. *BMC Cancer* **2011**, *11*, 183. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

³⁰ Bomfim, L. M.; Menezes, L. R. A.; Rodrigues, A. C. B. C.; Dias, R. B.; Rocha, C. A.

G.; Soares, M. B. P. Neto, A. F. S.; Nascimento, M. P.; Campos, A. F. . Silva, L. C. R. C.; Costa, E. V.; Bezerra, D. P. Antitumor Activity of the Microencapsulation of *Annona vepretorum* Essential Oil. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **2016**, *118*, 208. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

³¹ Grecco, S. S.; Martins, E. G. A.; Girola, N.; Figueiredo, C. R.; Matsuo, A. L.; Soares, M. G.; Bertoldo, B. C.; Sartorelli, P.; Lago, J. H. G. Chemical composition and *in vitro* cytotoxic effects of the essential oil from *Nectandra leucantha* leaves. *Pharmaceutical Biology* **2015**, *53*,133. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)