



Estudo químico da fração hexânica e avaliação da atividade antioxidante de *Grazielia gaudichaudiana* (DC.) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae)

Rodolfo Bento Balbinot¹ (PIBIC/CNPq/Uem), Darlon Irineu Bernardi² (PIBIC/CNPq/Uem), Beatriz Pereira Moreno² (PG), Marta Regina Barrotto do Carmo³ (PQ), Maria Helena Sarragiotto² (Co-orientadora) e Debora Cristina Baldoqui² (Orientadora), e-mail: dcbaldoqui@uem.br.

¹Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Bioquímica/Maringá, PR.

²Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Química/Maringá, PR.

³Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Geral/ Ponta Grossa, PR.

Ciências Exatas e da Terra – Química

Palavras-chave: Asteraceae, *Grazielia*, Fitoquímica.

Resumo:

O gênero *Grazielia*, pertencente à família Asteraceae, compreende treze espécies, sendo que nove delas são endêmicas do Brasil. Existem na literatura relatos do isolamento de lactonas sesquiterpênicas, diterpenos, triterpenos, flavonas e ácidos cinâmicos de espécies de *Grazielia*. O estudo químico da fração hexânica obtida das partes aéreas de *G. gaudichaudiana*, levou ao isolamento de três diterpenos e dois fitoesteróides. Foram realizados ensaios para verificação da atividade antioxidante de *G. gaudichaudiana*, sendo que a frações acetato de etila foi a mais ativa.

Introdução

O gênero *Grazielia*, pertencente à família Asteraceae, compreende treze espécies, sendo que nove delas são endêmicas do Brasil. O primeiro estudo químico de espécies deste gênero foi relatado em 1981 por Bohlmann, e descreve o isolamento lactonas sesquiterpênicas e diterpenos de *G. intermedia*, *G. dimorpholepsis* e *G. serrata*. Das onze lactonas sesquiterpênicas isoladas neste trabalho, oito possuem o núcleo germacranolido, duas o núcleo melampolido e uma é derivada do núcleo guaianolido.

A espécie *Grazielia gaudichaudiana* é endêmica do Brasil, e esta distribuída nos estados de Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Da espécie *G. gaudichaudiana* foi relatado o isolamento de diterpenos, triterpenos e ácidos cinâmicos, sendo que não foi isolado lactonas sesquiterpênicas, uma classe de metabólitos comum neste gênero (Taleb, 1999).



Portanto, o reestudo de *G. gaudichaudeana* tem por objetivo buscar substâncias que ainda não foram descritas nesta espécie e avaliar a atividade antioxidante de seu extrato e frações.

Materiais e métodos

Isolamentos dos constituintes químicos

O material vegetal foi coletado em Março de 2014 no Parque do Guaterlá e identificado pela Prof^a. Dr^a. Marta Regina Barrotto do Carmo, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O material seco e moído (1155 g) foi extraído com etanol, a temperatura ambiente, por maceração exaustiva. Obteve-se o extrato bruto etanólico (76,10 g), sendo este submetido à partição líquido-líquido com hexano (F.HEX), diclorometano (F.DCM), acetato de etila (F.AE) e butanol (F.BuOH). Após a remoção dos solventes utilizando um evaporador rotativo, obtiveram-se as frações: F.HEX (28,45 g), F.DCM (19,03 g), F.AE (3,30 g), F.BuOH (3,00 g), e hidrometanólica (6,41 g).

Parte da fração hexânica (15,0 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC) filtrante, em sílica gel 60, utilizando como fase móvel um gradiente crescente de polaridade (hexano → AcOEt), sendo obtidas 8 frações.

A fração F.HEX-3 (1,0 g) foi submetida a uma separação em CC, em sílica gel 60, eluída com Hex, AcOEt e MeOH em um gradiente crescente de polaridade, sendo obtidas 60 frações. A fração F.HEX-3-1 (133,2 mg) foi submetida a uma separação em CC, sílica flash, utilizando um gradiente crescente de polaridade de Hex, CHCl₃, AcOEt e MeOH, da qual foram coletadas 11 novas frações. A fração F.HEX-3-1-3 levou a ao isolamento do composto **GG-1** (13,0 mg). A fração F.HEX-3-13 (104,6 mg), foi submetida a CC, em sílica gel 60, sendo usado como fase móvel Hex, AcOEt e MeOH em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 37 subfrações. A fração F.HEX-3-13-4 levou ao isolamento de uma mistura de **GG-1** e **GG-2** (22,0 mg). A fração F.HEX-3-18 (122,0 mg) foi submetida a uma CC, em sílica flash, utilizando Hex, AcOEt e MeOH como eluentes, em gradiente crescente de polaridade, foram coletados 35 frações, sendo que a fração F.HEX-3-18-12 forneceu o composto **GG-3** (5,0 mg).

A fração F.HEX-8 (1,0 g) foi submetida à CC, em sílica gel 60, sendo utilizado como fase móvel um gradiente crescente de polaridade de Hex, AcOEt e MeOH, sendo coletadas 85 frações. A fração F.HEX-8-48 foi recristalizada com metanol, e levou ao isolamento de uma mistura de compostos **GG-4** e **GG-5** (8,0 mg). As demais frações avaliadas não levaram ao isolamento de nenhum composto puro.

Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada à partir da atividade sequestradora de radical livre do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). A absorbância foi determinada em espectrofotômetro UV-Visível (Varian,

Carey 50), em 515,5 nm. A porcentagem de inibição do radical livre DPPH, foi calculada pela fórmula: $(\% = (A_0 - A_1) \times 100 / A_0)$, onde A_0 é a absorvância da solução de DPPH e A_1 a absorvância na presença das amostras.

Resultados e discussão

Identificação dos metabólitos isolados

Os compostos **GG-1** e **GG-2** foram identificados como diterpenos através da análise de seus dados de RMN mono e bi-dimensionais e comparações com dados da literatura. O composto **GG-1** foi caracterizado como sendo o ácido ent-15- α -isovaleriloxi-caur-16-en-19-óico (Costa, 1996) e o composto **GG-2** foi identificado como o ácido ent-15- α -tiglinoiloxi-caur-16-en-19-óico (Tomassini, 1979). A estrutura do composto **GG-3** ainda não foi elucidada, entretanto uma análise preliminar dos dados de RMN permitiu inferir que se trata de um diterpeno da mesma classe que **GG-1** e **GG-2**. Os compostos **GG-4** e **GG-5** foram identificados através das análises dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e em analogia com os dados da literatura (Kojima, 1990), como sendo fitoesteróides glicosilados, sitosterol-3- β -O-D-glicopiranosídeo e o estigmasterol-3- β -O-D-glicopiranosídeo, respectivamente (**Figura 1**).

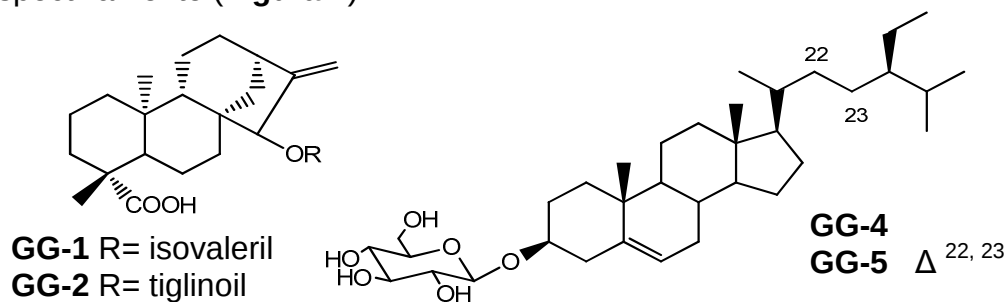


Figura 1 – Estrutura dos compostos isolados

Avaliação da atividade antioxidante

Os resultados obtidos através do ensaio para verificação da atividade antioxidante dos extratos e frações obtidos das partes aéreas de *G. gaudichaudiana* estão listados na **Tabela 1**:

Tabela 1 – Valores de IC_{50} obtidos no ensaio de DPPH para as folhas de *G. gaudichaudiana*

Amostra	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Extrato Bruto Etanólico	$359,70 \pm 0,97$
Fração Hexânica (F.HEX)	$614,63 \pm 0,67$
Fração Diclorometano (F.DCM)	$144,68 \pm 1,55$
Fração Acetato de Etila (F.ACOET)	$39,59 \pm 3,17$
Fração Butanólica (F.BUOH)	$108,95 \pm 1,34$
Fração Hidrometanólica (F.HM)	$242,87 \pm 0,42$



Pelos valores obtidos de IC_{50} , podemos afirmar que apenas a fração acetato de etila apresenta considerável atividade antioxidante, visto que apresentou um IC_{50} muito próximo ao do padrão BHT ($IC_{50} = 16,00$). As frações butanólica e diclorometano foram consideradas moderadamente ativas, já as frações hexânica e hidrometanólica foram inativas.

Conclusões

O estudo da fração hexânica das partes aéreas de *G. gaudichaudiana* levou ao isolamento de três diterpenos do tipo caureno, sendo que **GG-1** e **GG-2** já foram descritos nesta espécie vegetal. Entretanto, a mistura dos fitoesteróides, sitosterol e estigmasterol glicosilados estão sendo relatados pela primeira vez nesta espécie. Quanto à avaliação da atividade antioxidante de *G. gaudichaudiana*, os testes demonstraram uma potente atividade antioxidante para a fração acetato de etila, como um valor de IC_{50} muito próximo do padrão BHT.

Agradecimentos

Ao PIBIC/UEM, ao CNPq, Fundação Araucária, à organização do evento e à UEM.

Referências

BOHMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Germacranolides, a guaianolide with a β -lactone ring and further constituents from *Grazielia* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1069-1075, 1981.

COSTA, F. B.; VICHNEWSKI, W.; HERZ, W. Constituents of *Viguiera aspilioides* and *V. robusta*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 6, p. 585-587, 1996.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

TALEB, S. H.; OLIVEIRA, D. C. R.; LOPES, J. L. C. Constituents of *Grazielia gaudichaudiana* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, n. 5, p. 547-549, 1999.

TOMASSINI, T. C. B.; MATOS, M. E. O. On the natural occurrence of 15- α -tiglinoyoxy-kaur-16-en-19-oic acid. **Phytochemistry**, v. 18, n. 4, p. 663-664, 1979.