

PERFIL FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS PARTES AÉREAS DE *Miconia auricoma*.

Sabrina Chinaglia Costermani (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Silvana Maria de Oliveira (Orientadora), e-mail: smoliveira@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas /Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra 10000003 - Químicas Dos Produtos Naturais 10601058.

Palavras-chave: *Miconia auricoma*, antioxidante, triterpenos.

Resumo:

Este trabalho teve como objetivo estudar o perfil fitoquímico e avaliar a atividade antioxidante das partes aéreas de *Miconia auricoma*. A investigação fitoquímica da fração hexânica das partes aéreas de *M. auricoma* resultou no isolamento do esteróide β -sitosterol, e os dos triterpenos ácido ursólico, ácido oleanólico e lupeol, os quais foram identificados com base nos seus respectivos dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C . O extrato bruto de *M. auricoma* (EB) e as frações hexânica e clorofórmica foram avaliadas quanto sua atividade antioxidante, usando o método de Folin-Ciocalteu para determinar o teor de compostos fenólicos totais, a fração hexânica apresentou o maior teor de fenólicos totais ($300,89 \pm 17,70$ mg de EAG/g) quando comparado com o extrato bruto ($285,97 \pm 4,55$ mg de EAG/g) e a fração clorofórmica ($174,29 \pm 4,93$ mg de EAG/g). A partir do método de sequestro de DPPH, o extrato apresentou IC₅₀ de $1,59 \mu\text{g/mL}$ e a fração hexânica obteve um alto teor de atividade antioxidante $905,5 \pm 1,0 \mu\text{mol}$ de TEAC/g mostrando boa atividade comparado ao Trolox. Empregando o método de redução do ferro (FRAP) o extrato e as frações obtiveram valor inferior a ambos oxidantes sintéticos no ensaio (BHT e BHA).

Introdução

O gênero *Miconia* é um dos mais representativos da família *Melastomataceae* com mais de 1000 espécies distribuídas ao longo dos trópicos. Popularmente as espécies do gênero *Miconia* são conhecidas como pixirica, e são utilizadas em banhos e infusões para tratamento de doenças reumáticas e inflamatórias (STALCUP, 2000; CRUZ, KAPLAN, 2004). Estudos fitoquímicos anteriores demonstram uma tendência do gênero *Miconia* em biossintetizar compostos da classe dos flavonóides (48%) e triterpenos (31%), principalmente de esqueleto ursano e oleanano (CUNHA et al., 2019). Compostos como ácido ursólico, oleanólico, alfa e beta amirina, ácido gipsogênico, maslínico, e flavanonas metoxiladas, como o mateucinol, são frequentemente encontrados em *Miconia* e têm sido associados à capacidade de atividades anti-inflamatória, anti-carcinogênica, antimicrobiana, analgésica e antioxidante dos extratos das espécies estudadas. Embora seja um gênero representativo na família *Melastomataceae* e como possui elevado potencial biológico, estima-se que apenas 21 das 1050 espécies catalogadas de *Miconia*

foram estudadas quimicamente (CUNHA et al., 2019). Portanto, esse trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das partes aéreas da espécie *Miconia auricoma* e avaliar o potencial antioxidante do extrato e frações apolares.

Materiais e Métodos

A espécie *Miconia auricoma* foi coletada no Parque Estadual do Guartelá (Tibagi - PR) em setembro de 2017. As partes aéreas foram secas a temperatura ambiente, moídas em moinhos de facas, resultando em 724 g de material vegetal. Posteriormente, este material foi submetido à maceração com metanol a frio (12 vezes) e concentrado em evaporador rotativo para a obtenção do extrato bruto (87,8 g). Inicialmente o extrato foi dissolvido em mistura de metanol:água (1:1), seguido de extrações exaustivas com hexano, clorofórmio e acetato de etila, obtendo-se as frações hexânica (MAFH- 10,01 g), clorofórmica (MAFC- 9,29 g), acetato de etila (MAFAC- 25,7 g), e a remanescente hidrometanólica (MAFHM- 37,2 g). Parte da fração MAFH (5,10g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica em gel 60 (120 g, Ø = 6,0 cm; h= 14 cm) utilizando-se como eluente Hex:AcOEt, AcOEt e AcOEt:MeOH em gradiente de polaridade resultando em 9 subfrações. A sub-fração MAH-3 foi submetida a um novo processo cromatográfico (CC de sílica sílica gel 60, h=15 cm e ϕ = 3 cm), empregando Hex:AcOEt, AcOEt e AcOEt:MeOH como fase móvel. Esse processo resultou em 12 novas subfrações. A fração MA-4 (junção 4; 241,6 mg) foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas em sílica gel 60 usando o mesmo esquema de solventes. Da subfração MA-4.1 (junção 1; 84 mg) foi obtida a substância **MAPA1**. As subfrações MA-4.2 à MA-4.5 foram unidas por suas características semelhantes em placas de sílica em gel e, foi realizada uma nova separação em coluna de sephadex (Ø = 1 cm, h = 29 cm) com eluente MeOH. Da junção 5 (13,8 mg), foi isolada a mistura **MAPA2+MAPA3+MAPA4**. Os compostos isolados foram submetidos à análise de RMN de ^1H e ^{13}C .

-*Teor de compostos fenólicos*: O teor de compostos fenólicos totais do EB e frações foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999) utilizando ácido gálico como padrão. Os resultados obtidos foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico.

-*Atividade antioxidante*: O potencial antioxidante do EB foi determinado utilizando os métodos de captura do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e ABTS (RE et al., 1999), enquanto as frações e o extrato foram avaliados frente à redução do ferro pelo ensaio de FRAP (KUKIC et al., 2008).

Resultados e Discussão

O espectro de RMN ^1H e ^{13}C da substância **MAPA1** apresentou sinais típicos de compostos com núcleo esteroidal, como os sinais na região de δH 0,65 e 0,98 característicos dos grupos metílicos, o multipeto em δH 3,50 (*m*, 1H) atribuído ao hidrogênio carbinólico H-3 e o dupeto em δH 5,32 (*d*, 1H) típico de hidrogênio vinílico H-6. No espectro de ^{13}C foram identificados os sinais em δC 141,02 e 122,00 atribuídos aos carbonos vinílicos C-5 e C-6. Na região alifática foram observados os sinais dos grupos metilas e o sinal do carbono carbinólico C-3 em δC 72,09. Esses e os demais sinais foram comparados com a literatura e se mostraram concordantes para o esteróide β -sitosterol (ASSIS JUNIOR et al., 2013).

As substâncias **MAPA2**, **MAPA3** e **MAPA4** foram isoladas em mistura e identificadas como o lupeol (37%), ácido ursólico (36,7%) e ácido oleanólico (25,4%), respectivamente. No espectro de RMN ^1H a mistura de três compostos foi evidenciada pela presença dos dois tripletos em δH 5,25 ($J= 3,61$ Hz, MAPA-3) e 5,22 ($J= 3, 65$ Hz, MAPA-4), atribuídos aos hidrogênios vinílicos H-12 do ácido oleanólico e do ácido ursólico, respectivamente, e dos sinais em δH 4,57 (dd, 1H) e δH 4,70 (d, 1H) característicos de hidrogênios vinílicos de ligação dupla terminal de substâncias com esqueleto lupano. Verificou-se ainda sinais em δH 3,16 (dd, 1H) atribuído ao hidrogênio carbinólico do lupeol, e em δH 3,38 (m) referente aos hidrogênios carbinólicos do ácido ursólico e oleanólico.

No espectro de ^{13}C , os sinais em δC 150,9 (C-20) e 109,4 (C-29) típicos de carbonos olefínicos, confirmaram o esqueleto lupano. Os pares de sinais em δC 126,8- 138,1 e 122,8-143,8 típicos de C12-C13 de esqueleto ursano e oleanano, respectivamente, confirmaram as estruturas propostas. Os carbonos carbinólicos dos três compostos foram evidenciados em δC 79,2 (C-3, lupeol), 77,4 (C-3, ácido ursólico, ácido oleanólico) e os sinais em δC 183,8 e 183,7 indicaram a presença de carbonos carboxílicos atribuídos aos C-28 de MAPA-3 e MAPA-4.

Os dados espectroscópicos de MAPA2, MAPA3 e MAPA4 foram comparados à literatura e mostram-se concordantes para as estruturas do lupeol (REYNOLDS et al.1986), ácido ursólico (LEE, et al. 1988) e ácido oleanólico (PIERONI, et al., 2011). Com relação ao potencial antioxidante do extrato e frações (Tabela 1) verificou-se que a MAFH exibiu maior teor de fenólicos totais ($300,89 \pm 17,70$ mg de EAG/g) ($p > 0,05$) e MAFC e não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) do extrato bruto ($285,97 \pm 4,55$ mg de EAG/g).

Tabela 1: Atividade antioxidante do extrato e frações hexânica e clorofórmica das partes aéreas de *Miconia auricoma*.

Atividade antioxidante		MAEB	MAFH	MAFC
Fenólicos Totais (mg de EAG/g)		$285,97 \pm 4,55^a$	$300,89 \pm 17,70^a$	$174,29 \pm 4,93^b$
DPPH	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	1,59	-	-
	%AA	$84,25 \pm 1,11$	-	-
	($\mu\text{mol de TEAC/g}$)	$783,5 \pm 9,5^c$	$905,5 \pm 1,0^a$	$825,6 \pm 2,4^b$
ABTS ($\mu\text{mol de TEAC/g}$)		$4556,67 \pm 211,36$	-	-
FRAP (mmol de Fe^{2+}/g)		$99,49 \pm 0,67^a$	$39,78 \pm 2,05^b$	$35,21 \pm 3,20^b$

EAG: Equivalente em ácido gálico; EQ: Equivalente em quercetina; TEAC: Equivalente ao Trolox; FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power; Valores das médias das triplicatas $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). MAEB: Extrato bruto; MAFH: fração hexânica; MAFC: fração clorofórmica.

No ensaio de potencial antioxidante pelo método de DPPH, o EB apresentou IC50 (quantidade de amostra necessária para reduzir 50% da atividade do radical) de $1,59 \mu\text{g/mL}$ sendo superior a outras espécies do gênero, e atividade antioxidante (%AA) de $84,25 \pm 1,11\%$, caracterizando-se como um forte antioxidante, de acordo com a classificação de Melo et al. (2008) (AA% acima de 70%). Na quantificação do potencial antioxidante utilizando o padrão de Trolox, verificou-se que a fração hexânica exibiu maior atividade ($905,5 \pm 1,0 \mu\text{mol de TEAC/g}$) que a fração clorofórmica e o que extrato bruto. Com relação ao ensaio de FRAP, o EB

apresentou quase 3 vezes mais capacidade de redução do Fe^{3+} que as frações, as quais exibiram capacidade de redução semelhante ($p < 0,05$).

Conclusões

O estudo químico das partes aéreas de *Miconia auricoma* levou ao isolamento do esteróide β -sitosterol e dos triterpenos lupeol, ácido ursólico e ácido oleanólico. Por meio da avaliação da atividade antioxidante do extrato e frações verificou-se que as amostras possuem capacidade antioxidante, com destaque para a fração hexânica. Esses resultados apontam que as partes aéreas de *Miconia auricoma* possuem potencial antioxidante e são fonte de compostos bioativos com possíveis aplicações farmacológicas.

Agradecimentos

Fundação Araucária, CNPq e laboratório FitoSín.

Referências

ASSIS JUNIOR, L. R.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; GUTERRES, Z. R. **Pregnanos e outros constituintes das raízes de *Macrosiphonia petraea* (A. St.-Hil.) Kuntze (Apocynaceae)**. Química nova, v. 36, n. 4, p. 519 - 523, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lebensmittel Wissenschaft Und-Technologie, v.28, p.25-30, 1995.

CRUZ A.V.M., KAPLAN M.A.C., **Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil**. Floresta e Ambiente, 2004.

CUNHA. G.O.S., DA CRUZ, D.C., MENEZES, A.C.S. **An overview of *Miconia* genus: chemical constituents and biological activities**. Pharmacognosy Reviews, v.13, n.26, p.77-88, 2019.

KUKIC, J.; POPOVIC, V.; PETROVIC, S.; MUCAJI, P.; CIRIC, A.; STOJKOVIC, D.; SOKOVIC, M. **Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts**. Food Chemistry, v. 107, n.2, p. 861-868, 2008.

LEE,K.L.; LIN Y.M.; WU,T.S.; ZHANG,D.C; YAMAGISHI, T.; HALL, I.H.; WU, R.Y. **The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens* and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives**. Planta Medica, n.54. p.308-311, 1988.

MELO, E.A.; GUERRA, N.B. **Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos**. Bol. SBCTA. Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

PIERONI, L. G.; REZENDE, F. M.; XIMENES, V. F.; DOKKEADAL, A. L. **Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of Miconia albicans (Sw.) Triana leaves.** *Molecules*, v.16, p.9439-9450, 2011.

REYNOLDS, W.F., MCLEAN, S., POPLAWSKI, J., ENRIQUEZ, R.G., ESCOBAR, L.I., LEON, I.; **Total assignment of ^{13}C and ^1H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: An investigation of the potential utility of ^1H chemical shifts in structural investigations of complex natural products.** *Tetrahedron*, 42 (13) (1986), pp. 3419-3428.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free Radicals Biology and Medicinal*, v.26, p.1231-1237, 1999.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.** *Methods of Enzymology*, v. 299, p. 152–178, 1999.

STALCUP MM., **Plantas de uso medicinal ou ritual numa feira livre no Rio de Janeiro, Brasil.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas (Botânica), UFRJ, 2000.