

ESTUDO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DE *AUSTROEUPATORIUM LAETEVIRENS* (*ASTERACEAE*)

Maria Eduarda Vieira de Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM)¹, Francielli Alana Pereira (PQ)¹, Marta Regina Barrotto do Carmo² (PQ), Bianca Del Bianco Sahm³ (PQ), Leticia Lotufo³ (PQ), Maria Helena Sarragiotto (Co-orientadora)¹, Debora Cristina Baldoqui (Orientadora)¹, e-mail: ra109371@uem.br.

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

²Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Biologia/Ponta Grossa, PR

³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo/ São Paulo, SP

Ciências Exatas e da Terra – Química – Química Orgânica

Palavras-chave: *Austro eupatorium laetevirens*, cromatografia, RMN.

Resumo:

A *Austro eupatorium Laetevirens* pertence ao gênero *Austro eupatorium* e é encontrada em várias regiões do Brasil, e ainda assim não possuía nenhum estudo em relação ao seu potencial biológico e constituintes fixos. Com isso foi desenvolvida a análise da sua fração hexânica, a qual resultou na identificação de cinco substâncias, através da ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C, entretanto, o extrato bruto e a fração hexânica não foram ativas para a inibição do crescimento celular de carcinoma de cólon.

Introdução

O gênero *Austro eupatorium* compartilha uma série de caracteres com o gênero *Eupatorium*, semelhança essa que justifica o nome da mesma. Esse gênero foi estabelecido por King & Robinson em 1970 e surgiu da fragmentação do gênero de *Eupatorium s.l.* sendo importante enfatizar que esta reestruturação foi fundamentada apenas em aspectos botânicos^[2,3]. O gênero possui 14 espécies distribuídas principalmente na América do Sul, sendo encontradas 11 espécies no Brasil^[1,3,4]. A espécie *Austro eupatorium laetevirens* (Hook. & Arn.) R. King & H. Robinson^[4], (basiônimo de *Eupatorium laetevirens* Hook. & Arn.) é um subarbusto que pode ter até 1 m de altura^[2], e que possui flores brancas^[5]. Encontra-se distribuída geograficamente no Paraguai, na Argentina e no Brasil^[4]. No Brasil ocorre em toda a região sul do país, e também nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul^[2].

Materiais e Métodos

Fracionamento do extrato bruto de Austro eupatorium laetevirens

A fração hexânica (3,3 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica ($\Phi = 3,0$ cm x $h = 35,5$ cm), de sílica gel 60, utilizando solventes em misturas como eluentes de gradiente crescente de polaridade, resultando em 122 frações que posteriormente foram reunidas em novas frações de acordo com o perfil cromatográfico observado na Cromatografia de Camada Delgada (CCD).

A fração denominada FHEX-AL 8 ($m = 193,6$ mg), apresentou-se como um líquido oleoso de coloração amarela e foi submetido a análise de RMN de H^1 e C^{13} , que resultou em uma mistura de três substâncias (**AL-1**, **AL-2** e **AL-3**). A fração F.HEX-AL 12-14 ($m = 105,7$ mg) foi submetida a análise de RMN de H^1 e C^{13} , resultando no isolamento de três substâncias (**AL-1**, **AL-4** e **AL-5**). As frações reunidas F.HEX-AL 35-59 ($m = 131,8$ mg) e 71-93 ($m = 263,8$ mg) foram submetidas a uma purificação em coluna cromatográfica de ($\Phi = 2,5$ cm x $h = 27,5$ cm) e ($\Phi = 1,5$ cm x $h = 2,5$ cm), respectivamente, de sílica flash, porém não resultou no isolamento de nenhuma substância. As demais frações reunidas foram analisadas pela cromatografia de camada delgada comparativa (CCD), mas não foi obtido um resultado satisfatório. Os espectros foram obtidos por análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em um espectrômetro AVANCE III HD operando a 300 MHz, usando clorofórmio deuterado como solvente.

Atividade antiproliferativa do extrato bruto e fração de A. laetevirens.

As amostras foram diluídas em DMSO e plaqueadas 1×10^4 células, em placas de 96 poços. Após 24 horas, as substâncias foram adicionadas em concentrações de 5 e 50 $\mu\text{g/mL}$, cada concentração em duplicata, e incubadas por 72 horas, logo após o sobrenadante é substituído por meio de cultura contendo MTT (0,5 mg/mL), posteriormente foi secado e calculado o seu percentual de inibição celular através de software.

Resultados e Discussão

Análise da fração FHEX-AL 8 de Austro eupatorium laetevirens

As substâncias **AL-1**, **AL-2** e **AL-3** foram isoladas, em mistura, da fração hexânica (FHex-AL-2). A subfração apresentou-se como um sólido branco amorfo. A partir das análises de RMN de H^1 e, principalmente de RMN de C^{13} foi possível observar sinais com deslocamentos característicos de triterpenos, que após a comparação com dados da literatura foram identificados como o acetato de lupeol (**AL-1**), acetato de α -amirina (**AL-2**) e β -amirina esterificada com ácido graxo $(CH_2)_n$ (**AL-3**) (Figura 1).

A análise do espectro na região dos carbonos olefínicos foi de extrema importância para a identificação dos triterpenos, pois são bem evidentes os sinais característicos, apresentando sinais em δ_C 150,8 (C-20), 109,3 (C-29) e a carbonila

em 170,9, que são atribuídos ao acetato de lupeol. Os sinais em δ_C 139,5 (C-13); 124,2 (C-12) e a carbonila 170,9 que são atribuídos ao acetato de α -amirina (**AL-2**) e os sinais em δ_C 145,1 (C-13); 121,6 (C-12) e a carbonila em 173,6 atribuídos a β -amirina esterificada com ácido graxo (**AL-3**), o ácido graxo na qual a substância **AL-3** está ligada não foi determinada, pois para isso seria necessária uma análise de CG-MS.

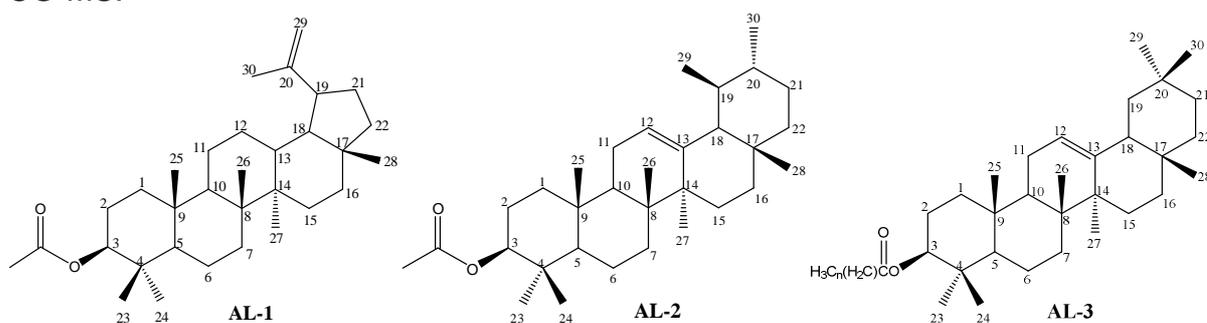


Figura 1: Estruturas das substâncias isoladas – acetato de lupeol (AL-1), acetato de α -amirina (AL-2) e β -amirina esterificada com ácido graxo (AL-3).

Análise da fração FHEX-AL 12-14 de *Austro eupatorium Laetevirens*.

As substâncias **AL-1**, **AL-4** e **AL-5** (Figura 2) foram isoladas da fração FHEX-AL 8 em mistura, sendo que a substância **AL-1** já foi descrita como acetato de lupeol. A partir das análises de RMN de ^1H e ^{13}C foi possível observar uma mistura triterpênica, que após comparação com a literatura, a substância **AL-4** foi denominada α -amirina e a substância **AL-5** foi denominada β -amirina.

A presença da α -amirina (**AL-4**) foi evidenciada através do sinal em δ_H 5,13 (1H, t, $J = 3,6$ Hz) atribuído ao hidrogênio olefínico (H-12). Analisando a região dos carbonos olefínicos foi possível observar os sinais em δ_C 124,6 (C-12) e 139,7 (C-13) e as metilas em δ_C 17,6 (C-29) e em δ_C 21,6 (C-30) ligados aos carbonos C-19 e C-20, respectivamente. A β -amirina (**AL-5**) foi evidenciada através do sinal em δ_H 5,19 (1H, t, $J = 3,6$ Hz) atribuído ao hidrogênio olefínico (H-12). Os sinais dos carbonos C-12 e C-13, aparecem em δ_C 121,9 (C-12) e 145,3 (C-13) e os sinais das metilas em δ_C 33,5 (C-29) e 23,8 (C-30), ambas ligadas no carbono C-20.

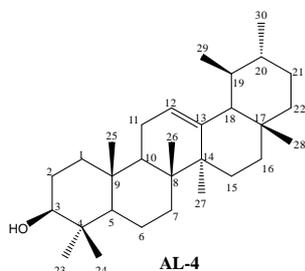


Figura 2: Estruturas das substâncias isoladas – α -amirina (AL-4) e β -amirina (AL-5).

Atividade antiproliferativa do extrato e fração de *A. laetevirens*

O extrato bruto, assim como a fração hexânica não foram ativas para a inibição do crescimento celular de carcinoma de cólon (Tabela 1).

Tabela 1: Inibição do crescimento celular (%).

Analísado	5µg	50 µg
Extrato bruto	8,4±0,7	24,3±7,9
Fração hexânica	23,8±4,0	36,7±9,8

Conclusões

Com o estudo da fração hexânica de *Austro eupatorium laetevirens* foi possível identificar e caracterizar cinco triterpenos a partir da análise de RMN de ¹H e ¹³C, sendo elas acetato de lupeol, acetato de α-amirina, β-amirina esterificada com ácido graxo, α-amirina e β-amirina. É importante salientar que estas substâncias estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Austro eupatorium*. Não foi observada atividade antiproliferativa contra carcinoma de cólon, tanto para o extrato bruto quanto para a fração hexânica.

Agradecimentos

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

Referências

- [1] ALMEIDA, G. S. S.; GROSSI, M.A. *Austro eupatorium* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15977>>. Acesso em: 17 jul. 2022.
- [2] ESTEVES, R. L. **O gênero *Eupatorium* s.l. (Compositae – Eupatorieae) no Estado de São Paulo – Brasil**. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal), São Paulo, 2001.
- [3] KING, R. M.; ROBINSON, H. Studies in the *Eupatorieae* (Compositae). XXVI. A new genus *Austro eupatorium*. **Phytologia**, v. 19, n. 7, p. 433-435, 1970.
- [4] KING, R. M.; ROBINSON, H. The genera of the *Eupatorieae* (Asteraceae). **Monographs in systematic botany**, v. 22, 1987.
- [5] SOUZA, T. J. T. **Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas – UFRGS), Porto Alegre, 2007.