

ESTUDO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DE *GAMOGHAETA SIMPLICICAULIS* (*ASTERACEAE*)

João Victor dos Santos Lemos (PIBIC/UEM)¹, Júlia Martino Caldato (PG)¹, Marta Regina Barrotto do Carmo (PQ)², Maria Helena Sarragiotto (PQ)¹, Debora Cristina Baldoqui (Orientador)¹. E-mail: dcbaldoqui@uem.br

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

²Universidade Estadual de Ponta Grossa, Centro de ciências Biológicas, Ponta Grossa, PR

Ciências Exatas e da Terra- Química- Química Orgânica

Palavras-chave: triacilglicerídeos; desreplicação; compostos fenólicos.

RESUMO

Dando continuidade com nossos estudos de espécies de Asteraceae que ocorrem na região dos Campos Gerais do Paraná, neste trabalho foi realizado o isolamento de metabólitos da fração hexânica e estudo de desreplicação do extrato bruto, fração acetato de etila e hidrometanólica de *Gamochaeta simplicicaulis*. A separação das substâncias foi feita utilizando técnicas cromatográficas usuais e a determinação estrutural foi feita pela análise de dados de RMN. Já o estudo de desreplicação foi realizado utilizando UHPLC-HR-MS/MS. A análise da fração hexânica de *G. simplicicaulis* mostrou a presença exclusiva de ácidos graxos livres e/ou triacilglicerídeos. A utilização de ferramentas *in silico* permitiu anotar metabólitos já descritos na literatura, sendo identificados putativamente a esculina (**GS-1MS**), ácido 4,5-dicafeoilquínico (**GS-2MS**) e isoramnetina-3-O-glucosídeo (**GS-3MS**).

INTRODUÇÃO

O gênero *Gamochaeta* pertence à família Asteraceae e compreende aproximadamente 74 espécies, sendo que 20 delas são encontradas no Brasil. Das espécies que ocorrem no Brasil, duas já foram investigadas quimicamente, sendo principalmente relatados derivados do ácido cafeoilquínico (Jyang *et al.*, 2017). A

espécie *Gamochaeta simplicicaulis* (L.) Cabrera é uma planta herbácea, nativa do Brasil, e tem ocorrência em todas as regiões do Brasil, com exceção da região Norte. Não há relatos de estudos químicos e avaliação do potencial biológico desta espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação e fracionamento do extrato bruto

A espécie *G. simplicicaulis* foi coletada em março de 2023, na região dos Campos Gerais do município de Ponta Grossa. O material vegetal seco e moído foi submetido à extração por maceração exaustiva com etanol P.A, sob temperatura ambiente. A evaporação do solvente orgânico com auxílio de um evaporador rotativo forneceu o extrato bruto de *G. simplicicaulis* (13,4 g). O extrato bruto foi dissolvido em uma mistura de MeOH/H₂O 1:1 (200 mL v/v), e em seguida, foi submetido à partição com 3 vezes (150 mL) de cada um dos solventes orgânicos em gradiente crescente de polaridade (hexano e acetato de etila). Após a remoção dos solventes foram obtidas as frações hexânica (2,30 g), acetato de etila (2,39 g) e hidrometanólica (4,84 g).

Estudo da fração hexânica de G. simplicicaulis

A fração hexânica de *G. simplicicaulis* (FH-GS, 2,0 g) foi solubilizada em hexano e submetida à filtração em coluna cromatográfica (CC) de sílica, usando hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade, resultando em 88 frações, que após análise de CCD foram agrupadas em 15 subfrações. A subfração FH-GS-3 (357,3 mg) foi submetida a purificação em CC em sílica flash, utilizando misturas de hexano e acetato de etila, resultando em 34 frações que foram reunidas em 12 novas frações. A subfração GS3-37 levou a identificação parcial de um triacilglicerídeo.

Estudo comparativo das frações polares por UHPLC-HRMS/MS e Molecular Networking

O extrato bruto e as frações acetato de etila e hidrometanólica de *G. simplicicaulis* foram solubilizadas em acetonitrila (2,0 mg/mL), em seguida filtradas, centrifugadas, e foram submetidas à análise em um Cromatógrafo Líquido de Ultra-Eficiência (UHPLC) acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução com analisador

quadrupolo-tempo de voo (Q-Tof), e uma fonte de ionização por electrospray (ESI), em modo positivo. Os dados obtidos nas análises foram processados com o software Data Analysis™ (Bruker). Além disso, os dados obtidos foram introduzidos e processados na plataforma do *Global Natural Products Social Networking* – GNPS, para obtenção das redes moleculares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de RMN de ^1H da subfração GS3-37 mostrou a presença de sinais característicos de triacilglicerídeos (SALINERO *et al.*, 2012). Entretanto, não foi possível identificar o tamanho das cadeias dos ácidos graxos, e nem o número de saturações (**Figura 1**).

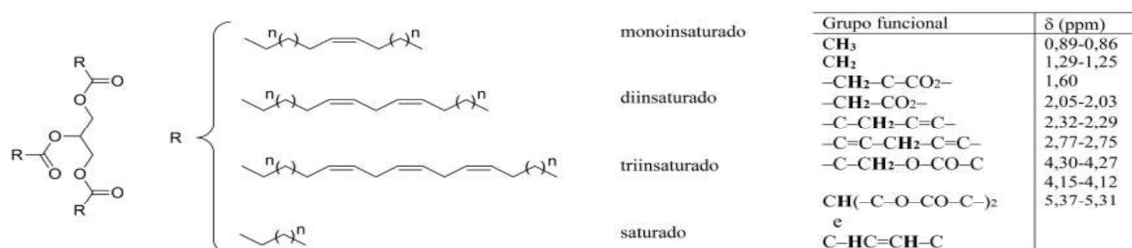


Figura 1: Estrutura geral de um triacilglicerídeo e os deslocamentos característicos observados no espectro de RMN de ^1H .

Outras subfrações obtidas do fracionamento da fração hexânica foram submetidas a colunas cromatográficas e análise por RMN ^1H , sendo observada apenas a presença de ácidos graxos livres e/ou na forma de triacilglicerídeos. Sendo assim, apesar de não fazer parte do projeto a análise das frações polares, foi realizado uma análise do extrato bruto, fração acetato de etila e hidrometanólica por UHPLC-HR-MS/MS.

As redes moleculares obtidas no GNPS em modo de ionização positivo foram visualizadas com auxílio do software *Cytoscape* 3.9.1. O extrato bruto está representado por nodos de cor verde (G1), a fração acetato de etila pela cor vermelha (G2) e a fração hidrometanólica por nodos de cor azul (G3) (**Figura 2**).

Ao analisar os metabólitos anotados pela biblioteca do GNPS da rede molecular obtida no modo positivo de ionização, foi escolhido um dos *clusters* para fazer a análise dos metabólitos identificados pela plataforma a partir de comparações com espectros obtidos com base no padrão da fragmentação de massas, erro de massa

e dados da literatura, sendo identificados putativamente a esculina (m/z 341,0867 $[M+H]^+$; erro = -1,46), o ácido 4,5-dicafeoilquínico (m/z 517.1340 $[M+H]^+$; erro = -1,35) e a isoramnetina-3-*O*-glucosídeo (m/z 479.1184 $[M+H]^+$; erro = 2,08).

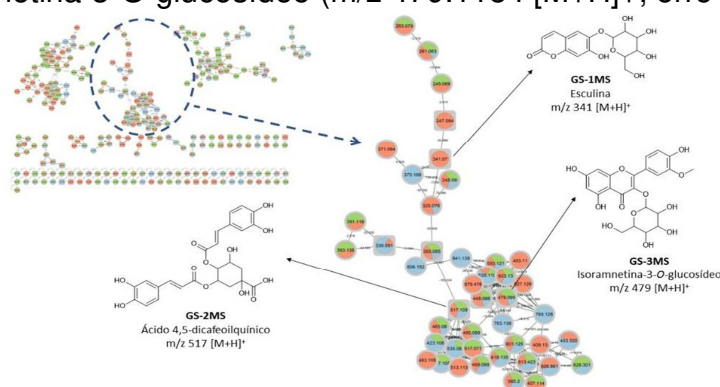


Figura 2: Rede molecular do modo positivo. Nodos com borda quadrada e de cor cinza representam substâncias anotadas pelo GNPS; Nodos indicados pela seta (substâncias analisadas).

CONCLUSÕES

Utilizando a ferramenta de molecular networking e os dados da literatura, foi possível identificar putativamente três substâncias: uma cumarina (esculina), um ácido caféico (ácido 4,5-dicafeoilquínico) e um flavonol (isoramnetina-3-*O*-glucosídeo). Este é o primeiro relato da presença de uma cumarina e um flavonol no gênero *Gamochaeta*.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

JYANG, Y.; LIN, Y.; HU, Y.; SONG, X.; PAN, H.; ZHANG, H. Caffeoylquinic acid derivatives rich extract from *Gnaphalium pensylvanicum* Willd. ameliorates hyperuricemia and acute gouty arthritis in animal model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, 320/1-320/10, 2017.

SALINERO, C.; FEÁS, X.; MANSILLA, J. P.; SEIJAS, J. A.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.
¹H-nuclear magnetic resonance analysis of the triacylglyceride composition of cold-pressed oil from *Camellia japonica*. **Molecules**, v. 17, p. 6716-6727, 2012.