

ESTUDO DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DE *LESSINGIANTHUS GLABRATUS* (ASTERACEAE).

Giovanna Andreu Nascimento (PIBIC/CNPq/FA/UEM)¹, Marta Regina Barrotto do Carmo (PQ)², Maria Helena Sarragiotto (PQ)¹, Francielli Alana Pereira Valeze (Co-orientador)¹, Debora Cristina Baldoqui (Orientadora)¹. E-mail: ra140202@uem.br.

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

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

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

Centro de Ciências Exatas - Química - Química Orgânica.

Palavras-chave: *Lessingianthus glabratus*; 3,5-dicaffeoilquínico; Desreplicação.

RESUMO

A família Asteraceae apresenta grande diversidade de metabólitos especializados com reconhecido potencial biológico. Entre suas espécies, *Lessingianthus glabratus*, de ocorrência nos Campos Gerais do Paraná, ainda é pouco explorada sob o ponto de vista fitoquímico. Neste trabalho, o estudo da fração acetato de etila da espécie levou ao isolamento do ácido 3,5-dicaffeoilquínico (**LG-1**), identificado por análises de RMN uni e bidimensionais. Além disso, a análise por UHPLC-HR-MS/MS aliada ao Molecular Networking (GNPS2) permitiu a anotação de outros metabólitos fenólicos relacionados, como o ácido clorogênico e o ácido cumaroilquínico. Os resultados obtidos ampliam o conhecimento químico sobre *L. glabratus*, evidenciando a presença de derivados do ácido cafeico e do ácido quínico.

INTRODUÇÃO

A família Asteraceae é considerada uma das maiores e mais diversas entre as angiospermas, englobando mais de 24 mil espécies e cerca de 1600 gêneros. Dentro desta família, o gênero *Lessingianthus* H. Rob., anteriormente incluído no gênero *Vernonia*, apresenta grande interesse fitoquímico devido à presença de metabólitos especializados como flavonoides, lactonas sesquiterpênicas e ácidos fenólicos, substâncias com reconhecidas atividades biológicas, incluindo ações antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitumoral. Apesar disso, o conhecimento fitoquímico do gênero ainda é limitado, havendo poucos estudos sistemáticos acerca de sua composição química.

A espécie *Lessingianthus glabratus* (basiônimo: *Vernonia glabata*) é um subarbusto com inflorescência de coloração violeta, que ocorre preferencialmente no cerrado e campos rupestre e que é facilmente encontrado na região dos Campos Gerais do Paraná localizado na cidade de Ponta Grossa no estado do Paraná. Essa espécie é

nativa do Brasil, ocorrendo nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul do país, além de ser encontrada também nos países de fronteira. *Lessingianthus glabratus* é uma espécie sem estudo fitoquímico, bem como, não há relatos sobre seu potencial biológico, há somente dois estudos realizados por Gallon, Jaiyesimi e Gobbo-Neto (2018) e Gallon e colaboradores (2018), em que realizaram análises de desreplicação e metabolômica de diversas espécies da tribo Vernonieae, no qual, foram identificados 17 compostos fenólicos por UHPLC-UV-HRMS, pertencentes a espécie *Lessingianthus glabratus*.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo dar continuidade ao estudo fitoquímico da espécie *Lessingianthus glabratus*, com ênfase na fração acetato de etila, visando o isolamento, caracterização estrutural e avaliação do potencial biológico de seus constituintes, contribuindo para a compreensão do perfil fitoquímico e fornecendo subsídios para futuras investigações acerca de seu potencial farmacológico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal.

A coleta da espécie *Lessingianthus glabratus* ocorreu em maio de 2022 na região dos Campos Gerais, no município de Ponta Grossa, Paraná. A exsicata encontra-se depositada no herbário da UEPG. Registro no SISGEN A5DD3AB.

Preparação e fracionamento do extrato bruto.

Os materiais vegetais secos em estufa, a 37 °C, foram triturados em um moinho de facas, em seguida foram submetidos à maceração exaustiva com etanol P.A. O solvente orgânico foi evaporado em evaporador rotativo, resultando em um extrato bruto de 28,3 g. Para o fracionamento, o material foi dissolvido em uma mistura de MeOH/H₂O 1:1 (400 mL v/v) e então submetido à partição utilizando 3 vezes (150 mL cada) de cada um dos solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade. Após a evaporação dos solventes em um evaporador rotativo, foram obtidas as frações hexânica (5,23g), acetato de etila (9,9 g) e hidrometanólica (8,9 g).

Estudo da Fração Acetato.

A fração acetato de etila de *Lessingianthus glabratus*, com massa de 3595,2 mg, foi submetida a uma primeira coluna cromatográfica em sílica gel, eluída com gradiente de acetato de etila e metanol, resultando em aproximadamente 50 frações. De acordo com os perfis obtidos em cromatografia em camada delgada (CCD), essas frações foram reunidas em seis novas subfrações. Entre elas, a fração FAE 3 (887,6 mg) foi selecionada para purificação em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20, utilizando metanol como eluente, o que resultou em 46 subfrações, posteriormente agrupadas em nove novas frações conforme seus perfis cromatográficos. Dentre

essas, a amostra FAE 3 - 16 destacou-se por apresentar perfil espectroscópico relevante e foi submetida a análises de RMN.

Estudo de *Lessingianthus glabratus* por UHPLC-HRMS/MS e Molecular Networking.

O extrato bruto e as frações acetato de etila e hidrometanólica de *L. glabratus* foram inicialmente solubilizados em metanol (2,0 mg/mL), em seguida filtrados e submetidos à análise em um Cromatógrafo Líquido de Alta 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 negativo. Os dados obtidos nas análises foram processados com o software Data Analysis™ (Bruker). Os dados obtidos na análise de UHPLC-HR-MS/MS foram também introduzidos e processados na plataforma do Global Natural Products Social Networking – GNPS2 (WANG et al. 2016), a fim de organizar os espectros de massa (MS/MS) em redes moleculares de acordo com as similaridades espectrais e os perfis de fragmentação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (^1H e ^{13}C), associada aos experimentos bidimensionais (HSQC, HMBC e COSY), permitiu a identificação da substância **LG-1** como sendo o ácido 3,5-dicafeoilquínico. A análise do espectro de RMN de ^1H revelou sinais característicos de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 7,04, 7,02, 6,99, 6,77 e 6,76, além de duplas trans em δ_{H} 7,48, 6,24, 7,44 e 6,16, típicas das duas unidades de ácido cafeico. Também foram observados sinais correspondentes ao ácido quínico: metilênicos em δ_{H} 2,12 e 1,96 e metínicos oxigenados em δ_{H} 5,19, 3,82 e 5,13. No espectro de RMN de ^{13}C , foram identificados sinais de anéis aromáticos, como também das duplas ligações em δ_{C} 146,0, 115,1, 114,5, 166,5 e 166,0. O esqueleto do ácido quínico apresentou sinais em δ_{C} 72,9, 35,1, 71,3, 67,9, 71,1 e 175,8 (Zhao et al., 2014).

A partir da análise de UHPLC-HR-MS/MS e Molecular Networking foi possível obter a rede molecular através do GNPS2 no qual as amostras foram divididas em três grupos para melhor visualização e comparação entre as frações. Sendo assim, o extrato bruto de *L. glabratus* está representado por nodos de cor azul, a fração acetato de etila está representada por nodos de cor verde e a fração hidrometanólica pela cor vermelha. Ao analisar os metabólitos anotados pela biblioteca do GNPS2 da rede molecular obtida no modo negativo de ionização, observou-se a presença de algumas substâncias similares ao composto isolado (**LG-1**). Na família destacada na Figura 1 foram anotadas e confirmadas 4 substâncias com base no padrão de fragmentação, erro de massa e comparação com banco de dados disponíveis (HMDB, MoNA, MassBANK.EU, FooDB) sendo elas a substância **LG-1** (m/z 515,1198 [M-H^-]; erro de massa: -0,58 ppm), **LG-MS 1** (m/z 529,1356 [M-H^-]; erro de massa: -0,94 ppm), **LG-MS 2**, ácido cumaroilquínico (m/z 337,0924 [M-H^-]; erro de massa: 1,48 ppm) e **LG-MS 3**, conhecida como ácido clorogênico, (353,0875 [M-H^-]; erro de massa: 0,84 ppm).

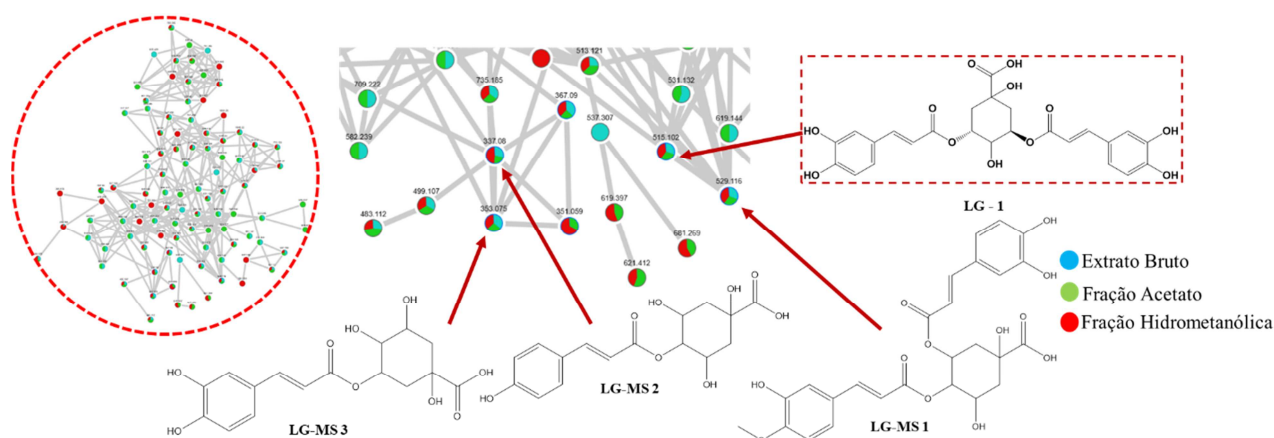


Figura 1: Família contida na rede molecular do modo negativo de ionização, destacando os compostos anotados.

CONCLUSÕES

O estudo químico de *Lessingianthus glabratus* possibilitou o isolamento e identificação do ácido 3,5-dicafeoilquínico (**LG-1**), bem como a anotação de três metabólitos relacionados, incluindo o ácido clorogênico e o ácido cumaroilquínico, a partir da análise por UHPLC-HR-MS/MS e Molecular Networking. Esses resultados reforçam o potencial da espécie como fonte de derivados fenólicos e contribuem para o avanço do conhecimento fitoquímico do gênero *Lessingianthus*.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

- GALLON, M. E.; MONGE, M.; CASOTI, R.; DA COSTA, F. B.; SEMIR, J.; GOBBONETO, L. Metabolomic analysis applied to chemosystematics and evolution of megadiverse Brazilian Vernoniae (Asteraceae). *Phytochemistry*, v. 150, p. 93–105, 2018.
- GALLON, M. E. et al. Metabolomic analysis applied to chemosystematics and evolution of megadiverse Brazilian Vernoniae (Asteraceae). *Phytochemistry*, v. 150, p. 93–105, 2018.
- WANG, M.; CARVER, J.; PHELAN, V. *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nat Biotechnol*, v. 34, p. 828–837, 2016.
- Zhao, J. G., Yan, Q. Q., Xue, R. Y., Zhang, J., & Zhang, Y. Q. Isolation and identification of colourless caffeoyl compounds in purple sweet potato by HPLC-DAD-ESI/MS and their antioxidant activities. *Food chemistry*, v. 161, p. 22-26, 2014.