

Aplicação da RMN de ^1H e estatística multivariada para o “screening” da atividade biológica em misturas complexas.

Alan R. T. Machado¹ (PG), Gisele A. Lage¹ (PG), Felipe da S. Medeiros¹ (IC), José D. Souza Filho¹ (PQ), Lúcia P. S. Pimenta^{1*} (PQ). * lpimenta@gui.ufmg.br

CerQBio – Laboratório de Química e Bioprospecção de Plantas do Cerrado, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Palavras Chave: RMN, análise multivariada, *Annona muricata*, misturas complexas.

Introdução

A caracterização, modificação química, determinação da atividade biológica e o estudo do mecanismo de ação de metabólitos sempre foram feitos após a sua purificação. No entanto, os processos envolvidos na obtenção desses compostos na sua forma pura são bastante longos e tediosos, e mesmo nas análises fitoquímicas biodirecionadas é frequente altos índices de reisolamento de substâncias já caracterizadas¹. Dessa forma, é de grande valia o desenvolvimento de metodologias que sejam capazes de relacionar as informações a respeito da composição química com as atividades biológicas de um extrato bruto. Neste contexto, alguns autores propõem a associação de técnicas quimiométricas a dados espectroscópicos para construção de modelos de previsão de atividades biológicas para extratos brutos^{2,3}. Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o perfil metabólico e a atividade larvicida sobre *Artemia salina* dos extratos das folhas de *Annona muricata*, bem como construir modelos multivariados capazes de prever a atividade biológica de diferentes espécimes.

Resultados e Discussão

1,0 g das folhas liofilizadas, de sete espécimes de *A. muricata*, foi mantido à temperatura ambiente em 24 mL de uma mistura de metanol/clorofórmio/água (3:1:1). Após 24 horas, a mistura foi filtrada e a fase líquida foi submetida à partição com clorofórmio. A fase clorofórmica foi separada e o solvente removido. Esses extratos foram caracterizados por RMN de ^1H e submetidos a testes de toxicidade frente a *A. salina*. Também foi construído um modelo de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), para previsão da toxicidade dos extratos de *A. muricata*. Os espectros apresentaram uma grande semelhança. A figura 1 mostra o espectro de RMN de ^1H do espécime 1, onde os sinais em δ 6,98 e δ 7,18 sugerem a presença de acetogeninas possuindo a subunidade γ -lactona α,β -insaturada. Com auxílio dos experimentos bidimensionais foi possível confirmar a presença dessa classe de metabólitos, que são comuns em espécies da família Annonaceae.

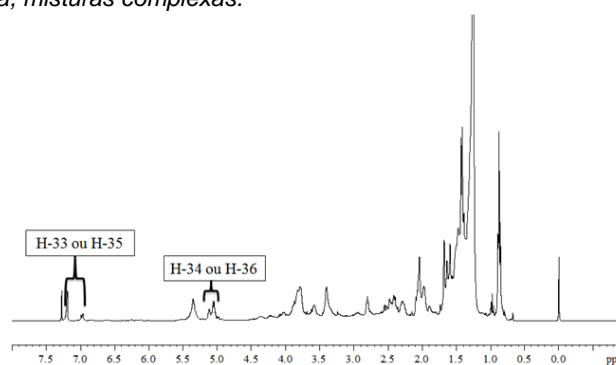


Figura 1. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do extrato clorofórmico das folhas de *Annona muricata*.

O modelo PLS, construído a partir de 7 variáveis latentes, permitiu descrever quase toda a informação contida nos dados originais, que foram utilizados na calibração. O coeficiente de regressão (R^2) foi igual a 0,99 indicando uma boa correlação entre os valores experimentais e os valores previstos para a toxicidade frente *A. salina*. Além disso, foi possível correlacionar a atividade detectada com os teores de acetogeninas. O teor total de acetogeninas foi quantificado através da comparação da área dos sinais olefínicos das γ -lactonas presentes com a área do sinal do padrão interno antraceno⁴.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstram o potencial da RMN de ^1H no desenvolvimento de metodologias para previsão de atividades biológicas. Os modelos multivariados, obtidos a partir dos espectros RMN de ^1H de extratos vegetais sem prévia purificação, implicam em inúmeras vantagens, principalmente às relacionadas à redução de tempo e custos de análises.

Agradecimentos

CAPES, CNPQ e FAPEMIG

¹Clardy, J.; Walsh, C. *Nature*, **2004**, 432, 829.

²Bailey, N.J.; Wang, Y.; Sampson, J.; Davis, W.; Whitcombe, I.; Hylands, P.J.; Croft, S.L.; Holmes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, 35, 117.

³Yuliana, N.D.; Khatib, A.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. *Anal. Chem.* **2011**, 83, 6902.

⁴Machado, A.R.T.; Lage, G.A.; Medeiros, F.S.; Filho, J.D.S.; Pimenta, L.P.S. *Appl. Magn. Reson.*, **2015**, 46, 153.