

Perfil lipídico do *Cereus peruvianus* Mill. por Ressonância Magnética Nuclear

Débora Jacomini¹, Milena de Oliveira Jayme¹, Edilainy Rizzieri Caleffi¹, Sheila Mara Sanches Lopes¹, Renata Costa Sinzker¹, Arildo José Braz de Oliveira¹, Regina Aparecida Correia Gonçalves¹

¹ Universidade Estadual de Maringá – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (LABIPROS)
Av. Colombo, 5.790 bloco K80 CEP 87020-900 Maringá – Paraná - E-mail: debora_jacomini@hotmail.com

RESUMO

O *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae) é uma espécie de cacto popularmente conhecida no Brasil como “Mandacaru”. Possui ação anticolesterolemia e atividade antineoplásica devido a presença de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs). A análise do perfil lipídico deste cacto é estimulado devido ao grande interesse industrial, econômico e clínico deste vegetal. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil lipídico do *C. peruvianus* por cromatografia em camada delgada (CCD) e por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H) e de carbono treze (RMN de ¹³C). Através da CCD verificou-se que as frações extraídas do cacto apresentam perfil lipídico distinto, esta diferença dos ácidos graxos permite a escolha da fração com maior quantidade de PUFAs para os testes futuros. A análise dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C demonstrou a presença de regiões típicas de ácidos graxos insaturados no extrato bruto analisado.

Palavras-chave: *Cereus peruvianus*, lipídeos, Ressonância Magnética Nuclear.

INTRODUÇÃO

O *Cereus peruvianus* Mill. é uma espécie de cacto pertencente à família Cactaceae popularmente conhecida no Brasil como “Mandacaru”¹. É natural da América Central e do Sul, no Brasil é abundante na região nordeste, podendo ainda, ser invasor de áreas úmidas, como o Paraná. Apresenta diversas atividades farmacológicas, seu extrato é usado para reduzir o nível de colesterol total e do LDL e conseqüentemente para reduzir o risco de doenças cardiovasculares e possui ação antineoplásica devido à presença de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs)².

Os ácidos graxo do *C. peruvianus* estão localizados, principalmente, na cutícula e na cera que o recobre. As principais classes lipídicas são os triacilgliceróis (lipídeos neutros), os glicolipídeos e os fosfolipídeos³. Os Ácidos graxos insaturados têm atraído a atenção na área médica, devido a sua possível ação sobre o câncer⁴. Estudos relatam que os PUFAs ômega-3 (ácido α -linolênico) e ômega-6 (ácido γ -linolênico, ácido linoléico e ácido araquidônico) atuam na inibição da carcinogênese, no retardo do crescimento de tumores e no aumento da eficácia da radioterapia e de vários fármacos quimioterápicos⁵.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o perfil lipídico do *C. peruvianus* por Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C e futuramente realizar o teste antitumoral das frações lipídicas.



MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras das partes aéreas do *C. peruvianus*, no Horto de plantas medicinais Profa. Irenice Silva, localizado na Universidade Estadual de Maringá (Maringá, Paraná, Brasil). O material vegetal foi cortado em pedaços pequenos e liofilizado.

A extração dos lipídios foi realizada com 5 g do material vegetal liofilizado por maceração com 100 mL de isopropanol durante 24 horas sobre agitação. Em seguida, foi realizada uma re-extração nas mesmas condições com 100 mL de uma solução de clorofórmio-metanol (2:1 v/v)⁶. Para a separação dos lipídeos totais em classes lipídicas foi realizada uma cromatografia em coluna, contendo 20 g de gel de sílica 60. Como fase móvel foi utilizado inicialmente 200 mL de clorofórmio para a eluição dos lipídeos neutros (LNP), posteriormente 200 mL de acetona para a eluição dos glicolipídeos (GLP) e subsequentemente 200 mL de metanol para a eluição dos fosfolipídeos (FLP).⁷ Com a eluição do primeiro solvente, a clorofila foi separada para não interferir nos testes subsequentes.

Foram realizadas análises por CCD do extrato bruto da planta (EBP) e das frações LNP, GLP e FLP. Para a realização da CCD foram utilizadas cromatoplaquetas de alumínio da Merck recobertas com gel de sílica 60 F₂₅₄. A fase móvel utilizada foi clorofórmio, água, etanol, trietilamina (35:35:7:35, v/v/v/v) e o revelador químico utilizado foi uma solução ácida de *p*-anisaldeído⁸.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹H) e Carbono treze (RMN de ¹³C) foram realizados no Departamento de Química - UEM e obtidos em espectrômetro VARIAN®, modelo Mercury Plus, operando a 300,05 MHz para o núcleo de ¹H e 75,45 MHz para o núcleo de ¹³C. Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C das amostras da planta foram obtidos utilizando-se como solvente o clorofórmio deuterado. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm comparados com dados na literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise preliminar por CCD (Figura 1) foi possível sugerir, que as frações apresentam perfil lipídico diferente, e que a fração da clorofila não contém ácidos graxos, podendo ser desprezada. Halder e Gadgil descreveram que ao comparar frações lipídicas do *Cucumis melo* a composição de ácidos graxos varia, causando alteração no componente majoritário⁹. Esta diferença no perfil dos ácidos graxos permite escolher a fração com maior quantidade de PUFA para os testes futuros.

O uso do RMN é vantajoso em relação aos demais métodos analíticos, pois requer pouca preparação da amostra, com a vantagem de não ser necessário um processo de derivatização. Por meio desta análise definimos o perfil olefílico das nossas amostras, e identificamos duplas ligações referentes aos ácidos graxos insaturados, alvo do estudo¹⁰.

Os deslocamentos químicos da RMN de ¹H foram comparados com os dados encontrados por Colzato e colaboradores¹¹ e os de ¹³C foram comparados com os encontrados por Reda e colaboradores¹², Figura 2.

Figura 1. CCD do extrato bruto e das frações lipídicas extraídas do *Cereus peruvianus*. Fase móvel: clorofórmio, etanol, trietilamina, água (5:5:5:1, v/v/v/v). Revelador: *p*-anisaldeído.

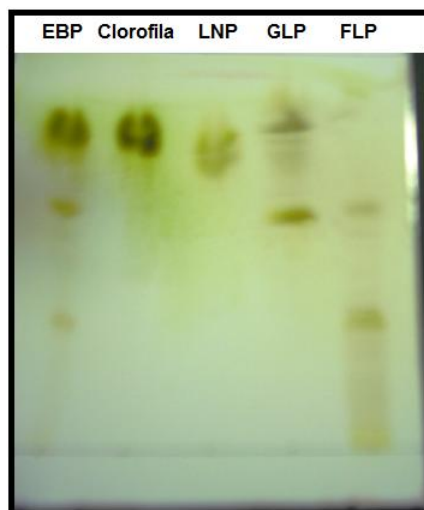
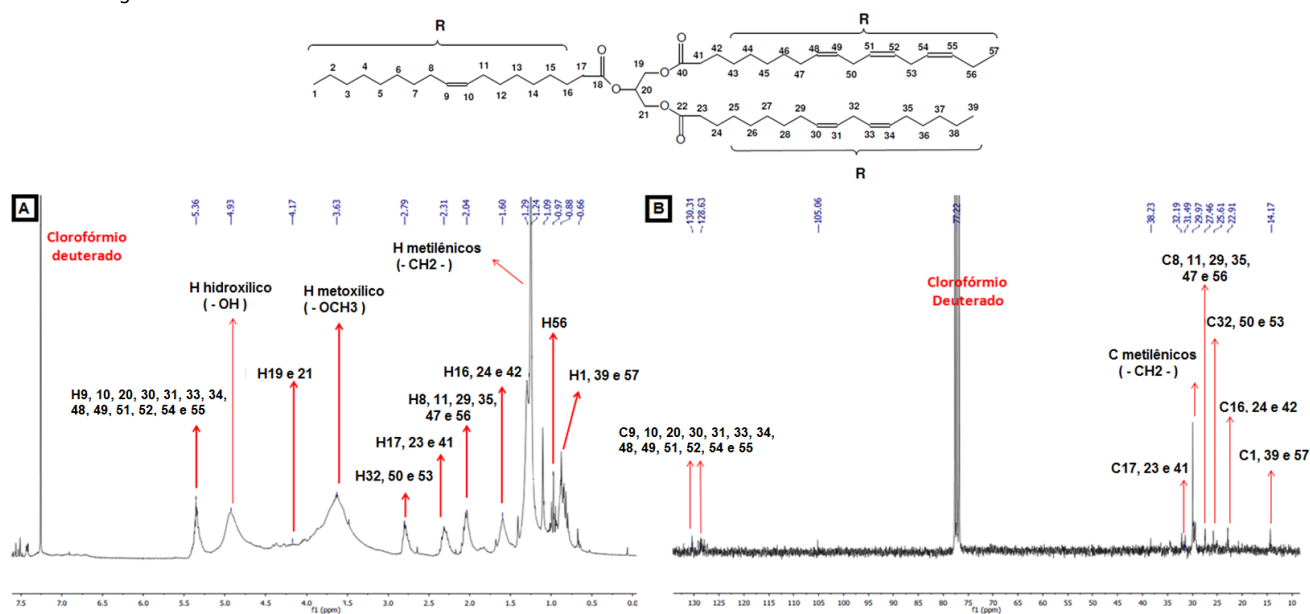


Figura 2. Espectro de RMN de ^1H (A) e de RMN de ^{13}C (B) do extrato bruto do *C. peruvianus* em CDCl_3



O sinal mais intenso no espectro de RMN 1 de H foi no deslocamento químico 1,29 ppm, característico dos hidrogênios metilênicos ($-\text{CH}_2-$) presentes na estrutura dos lipídeos. Os carbonos metilênicos ($-\text{CH}_2-$) também possuem o sinal mais intenso do espectro de RMN de ^{13}C (27,97 ppm). Desta forma, estes sinais com maior intensidade estão de acordo com os hidrogênios e carbonos mais abundantes dos lipídeos identificados e descritos na literatura^{11, 12}. Os hidrogênios vinílicos ($-\text{CH}=\text{CH}-$) possuem deslocamento químico em 5,36 ppm. Os carbonos olefínicos, possuem deslocamento próximo a 129,0 ppm, estes sinais são característicos dos ácidos graxos insaturados. Ao analisar a intensidade destes sinais no extrato bruto e possível inferir que o *C. peruvianus* possui uma elevada quantidade de ácidos graxos insaturados^{11,12}.



CONCLUSÕES

Através das análises foi possível determinar um perfil lipídico para o *Cereus peruvianus*. Definiu-se por CCD que as frações separadas por cromatografia em coluna apresentam um perfil de ácidos graxos diferentes. A RMN permitiu identificar elevada quantidade de ácidos graxos insaturados no extrato bruto da planta. Entre esses ácidos graxos insaturados, sabe-se que os principais são os poli-insaturados⁶. Dessa forma, em estudos futuros, pretende-se avaliar a atividade biológica destes ácidos graxos insaturados.

REFERÊNCIAS

- (1) MACHADO, M.F.P.S.; MANGOLIN, C.A.; COLLET, S.A.O.; OLIVEIRA, A.J.B.; GONÇALVES, R.A.C. Potencial da cultura de tecidos e células de *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae) para a obtenção de enzimas e processos de biotransformação. In: Prof. Dr. André L.M. Porto (Org.). **Biocatálise e Biotransformação: Fundamentos e aplicações**. 1 ed. Salto - São Paulo: Editora Schoba Ltda, 2010, v.1, p. 158-194.
- (2) BRUFAU, G.; CODONY, R.; CANELA, M.A.; RAFECAS, M. Rapid and quantitative determination of total sterols of plant and animal origin in liver samples by gas chromatography. **Chromatographia**, v. 64, n. 9/10, 2006.
- (3) RIEDERER, M.; SCHREIBER, L. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 362, p. 2023-2032, 2001.
- (4) CARMO, M.C.N.S.; CORREIA, M.I.T.D. A importância dos ácidos graxos ômega-3 no Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n. 3, p. 279-287, 2009.
- (5) BIANGULO, B.F.; GOMES, R.R.; FORTES, R.C. Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em mulheres com câncer de mama: uma revisão da literatura. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v. 20, n. 3, p. 253-264, 2009.
- (6) MACHADO, F.A.P.S.A.; CAPELLASSO, M.; OLIVEIRA, A.J.B.; GONÇALVES, R.A.C.; MANGOLIN, C.A.; MACHADO, M.F.P.S. Fatty acids production from plants and callus cultures of *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae). **Journal of Plant Sciences**, v. 1, n. 4, p. 368-373, 2006
- (7) ARREBOLA, M.R.B.; PETERLIN, M.F.; BASTOS, D.H.M.; RODRIGUES, R.F.O.; CARVALHO, P.O. Estudo dos componentes lipídicos das sementes de três espécies do gênero *Cordia* L. (Boraginaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 57-65, 2004.
- (8) FUCHS, B.; SCHILLER, J.; SUB, R.; ZSCHARNACK, M.; BADER, A.; MULLER, P.; SCHURENBERG, M.; BECKER, M.; SUCKAU, D. Analysis of stem cell lipids by offline HPTLC-MALDI-TOF MS. **Anal Bioanal Chemistry**, v. 392, p. 849-860, 2008.
- (9) HALDER, T.; GADGIL, V.N. Comparison of fatty acid patterns in plant parts and respective callus cultures of *Cucumis melo*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 8, p. 1790-1791, 1984.
- (10) SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: LTC Editora S.A, 2006. 490 p.
- (11) COLZATO, M.; FORATO, L.A.; COLNAGO, L.A.; GARRIDO de ASSIS, O.B. Análise comparativa dos espectros de ¹H RMN de óleos comestíveis oxidados. **Embrapa instrumentação agropecuária**, v. 92, p. 1-4, 2008.
- (12) , S.Y.; CARNEIRO, P.I.B. A ressonância magnética nuclear de carbono-13 na análise de óleos vegetais termo-oxidados. **Revista analytica**, v. 31, p. 44-51, 2007.