

# XIV JORNADA BRASILEIRA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

## MINI-CURSOS EM RMN

29 DE AGOSTO A 02 DE SETEMBRO DE 2016

VITÓRIA, ES, BRASIL

# RESUMOS



ASSOCIAÇÃO DE USUÁRIOS DE RESSONÂNCIA  
MAGNÉTICA NUCLEAR

AUREMN

[www.auremn.org.br](http://www.auremn.org.br)

**QI050:** Isolamento e Identificação do Lupeol do Extrato Metanólico dos Galhos de *Diplotropis purpurea*

Tafs Xavier Guimarães, Juliana Nascimento Silva, Lorena Mayara Carvalho Cursino, \*Cecilia Veronica Nunez; Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

A fim de encontrar novos princípios ativos que possam ser usados em medicamentos ou cosméticos, é necessário o isolamento e a caracterização química de substâncias a partir de plantas. Para isso, é necessária uma combinação de técnicas cromatográficas e espectrométricas, destacando a espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) que permite a elucidação e caracterização destas novas moléculas. Estudos realizados com espécies do gênero *Diplotropis*, mostram que este é rico em flavonoides e terpenos. O extrato hexânico das folhas de *D. purpurea* mostrou-se rico em terpenos, especialmente em triterpenos<sup>1</sup>. Em continuação ao estudo desta espécie, o presente trabalho descreve o fracionamento do extrato metanólico dos galhos de *D. purpurea*. Este foi submetido a uma partição líquido-líquido resultando em 3 fases: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e MeOH/H<sub>2</sub>O. A fase CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi analisada por RMN de <sup>1</sup>H e apresentou sinais característicos de terpenos. Com isso, essa fase foi submetida a um fracionamento em coluna aberta de sílica gel usando gradiente de MeOH em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> até 100% de MeOH. A fração 8 apresentou manchas de coloração lilás características de triterpenos quando reveladas com solução de Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Esta fração foi submetida a um refracionamento em coluna aberta de sílica gel utilizando gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> em hexano, AcOEt em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, até 100% de AcOEt. A fração 8 apresentou cristais brancos e apenas uma mancha em CCDC quando reveladas com Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Portanto, esta foi analisada por RMN de <sup>1</sup>H apresentando 8 sinais de metilas entre  $\delta_H$  0,7 e 1,6, e também de um sinal em  $\delta_H$  3,19 característico de hidrogênio carbinólico (H-3) de triterpeno. Sinais de hidrogênios mais desprotegidos em  $\delta_H$  4,56 (*dd*, *J* = 2,4 e 1,4 Hz) e  $\delta_H$  4,68 (*d*, *J* = 2,4 Hz) confirmaram a presença do triterpeno lupeol, o qual foi identificado anteriormente das folhas<sup>2</sup> e dos troncos<sup>3</sup> de *Diplotropis purpurea*. Além de apresentar o lupeol, a fase CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dos galhos de *Diplotropis purpurea* mostrou-se rica em triterpenos de outros esqueletos. Estes resultados estimulam a continuidade dos estudos fitoquímicos desta espécie.

**Referências**

<sup>1</sup>CURSINO, L.M.C.; MESQUITA, A.S.S.; MESQUITA, D.W.O.; FERNANDES, C.C.; PEREIRA Jr, O.L.P.; AMARAL, I.L.; NUNEZ, C.V. 2009. Triterpenos das folhas de *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). *Acta Amazonica*, 39: 181-186.

<sup>2</sup>CURSINO, L.M.C; Estudo fitoquímico e bioatividade de *Diplotropis purpurea* e *Dequelia duckeana*. Tese de doutorado. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

<sup>3</sup>BRAZ-FILHO, R.B.; GOTTLIEB, O.R.; PINHO, S.L.V.; MONTE, F.J.Q.; DA ROCHA, A.I. 1973. Flavonoids from Amazonian Leguminosae *Phytochemistry*, 12: 1184-1186.

CNPq, INPA, LABB, PPGBIOTEC

**QA051:** PARAFAC and DOSY: a powerful Combination for Chemical Reaction Monitoring

<sup>1,2</sup>T. M. Barbosa, <sup>1</sup>C. F. Tormena, <sup>1</sup>R. Rittner, <sup>2</sup>G. A. Morris, <sup>2</sup>\*M. Nilsson; <sup>1</sup>University of Campinas - UNICAMP, <sup>2</sup>The University of Manchester

Reaction monitoring is an important part of chemistry, and NMR is a powerful technique in such studies. Most commonly, the integrals of NMR signals are used to follow a reaction time course, but this approach becomes complicated when signals overlap, as is common in reaction mixtures. One widely used NMR technique for mixture analysis is diffusion-ordered spectroscopy (DOSY)<sup>1</sup>, but even using DOSY signal overlap is a major barrier to a successful analysis. Here we combine DOSY with advanced multi-way statistics to monitor chemical reactions by acquiring a series of DOSY NMR experiments during reaction. The data are then analyzed using the PARAFAC (PARAllel FACtor analysis<sup>2</sup>) decomposition method, which takes advantage of the trilinear data structure. The decomposition yields the spectra, diffusion decays, and concentration time courses for all *N* compounds involved in the reaction. This virtual separation allows us to obtain, even for highly overlapped spectra, the <sup>1</sup>H NMR spectrum of each species (reagent(s), stable intermediate(s) and product(s)) involved, together with the time-courses needed to determine the reaction kinetics.<sup>3</sup>

**References:**

1. Morris G.A., Diffusion-Ordered Spectroscopy (DOSY). In Encyclopedia of Magnetic Resonance. Edited by Harris R. K., Wasylishen R. E., Chichester: Wiley; 2009.
2. Bro R., *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 38 (1997) 149.
3. Khajeh M., Botana A., Bernstein M.A., Nilsson M. and Morris G.A., *Anal. Chem.*, 82 (2010) 2102.

FAPESP, CNPq, CAPES, EPSRC

## Chemometrics and metabolomics

**QI052:** Avaliação do Perfil espectral por RMN de <sup>1</sup>H a Análise quimiométrica da Polpa de Açaí comercializada em Belém - PA

<sup>1\*</sup>Thayana da Conceição Alves, <sup>2</sup>Rafaella de Andrade Mattietto, <sup>1</sup>Antonio Gilberto Ferreira; <sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, <sup>2</sup>Embrapa Amazônia Oriental

O perfil espectral por RMN de <sup>1</sup>H foi obtido para polpas de açaí comercializadas na cidade de Belém-PA, após serem adquiridas em 10 pontos de venda, nos períodos de safra (2014 e 2015) e entressafra (2015), congeladas e liofilizadas.

O extrato metanólico do liofilizado foi obtido em quintuplicata para cada amostra. As análises foram realizadas em um espectrômetro Bruker<sup>®</sup> AVANCE III, 9,4 Tesla, com uma sonda de detecção inversa de 5 mm com ATMA<sup>®</sup> e amostrador automático. As análises quimiométricas (PCA) foram realizadas usando o software AMIX<sup>®</sup>.

Os estudos quimiométricos das polpas comerciais mostraram tendências na distinção dos períodos da entressafra (jan-jun) e safra (jul-dez) dos frutos de açaí. As polpas obtidas na entressafra (período de chuva) apresentam maior similaridade química que as obtidas nas safras (período de estiagem). Esse dado corrobora com informações da literatura, pois, no período de chuva ocorre menor produção dos frutos e, na estiagem, há um aumento significativo (3x) na frutificação do açaizeiro. Portanto, devido: ao aumento da oferta dos frutos nos mercados da capital paraense; o fato dos frutos serem obtidos em diferentes locais; diferenças no cultivo, cultivares e variedades, ocasionaram uma variação no perfil químico das polpas de açaí obtidas nas safras.

Na safra de 2014 foi verificada uma maior dispersão das amostras pelo modelo que as obtidas na safra de 2015. Possivelmente neste ano, houve maior diversificação nas características dos frutos de açaí.

As amostras da entressafra foram caracterizadas pela presença de leucina, serina, treonina, ácido ascórbico e da glicose. Já na safra, houve maior concentração de ácidos graxos (AG) insaturados (linoleico, oleico e palmitoleico), saturados (palmítico, esteárico e láurico), ácido láctico e ácido glutâmico.

Dois pontos de venda (CAI e CPA) apresentaram forte distinção dos demais analisados. As amostras do primeiro local continham maior concentração de AG saturados e, as do local CPA continham maior teor de AG insaturados.

Apenas um ponto de venda (CADC) não diferenciou amostras obtidas na safra e entressafra de 2015, mostrando que possivelmente a maioria dos comerciantes compra os frutos de açaí com frequência e não trabalham com grandes estoques da polpa congelada.

**QA053:** Estudo das diferentes Marcas e Tipos de Cervejas brasileiras por RMN aliada à Quimiometria

<sup>1</sup>\*Rafael R. Esteves, <sup>1</sup>Clayton R. de Oliveira, <sup>1</sup>Antonio Gilberto Ferreira, <sup>2</sup>Etelvino H. Novotny; <sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, <sup>2</sup>Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Solos

A cerveja é uma bebida alcoólica fermentada, produzida tradicionalmente com água, malte de cevada, lúpulo e fermento. Entretanto, existem diferentes tipos de cervejas e essas se distinguem, pelo uso de diferentes tipos de matérias primas utilizado; pela adição de ingredientes que caracterizem a cerveja, ou ainda, pelo uso de cereais não maltados que minimizam os custos de produção. No Brasil o setor cervejeiro é responsável por 2% do PIB, isso se deve à larga produção e ao alto consumo interno. Atualmente o mercado de cervejas no país vem passando por mudanças devido ao aumento da procura por cervejas mais elaboradas e de melhor qualidade. Nesse cenário várias cervejarias artesanais surgiram e cresceram no mercado nacional. A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) vem sendo cada vez mais utilizada no estudo de alimentos com o objetivo de identificar/caracterizar os compostos presentes e, principalmente, em estabelecer um *fingerprint* para melhorar o controle de qualidade dos produtos. O uso da RMN no estudo de alimentos apresenta algumas vantagens frente às tradicionais técnicas de análise como: medidas físico-químicas; técnicas cromatográficas e espectroscópicas, principalmente no que se refere ao preparo das amostras e a alta reprodutibilidade, fatores primordiais para o setor alimentício. A movimentação recente no comércio cervejeiro do país aliado ao interesse de promover o entendimento da qualidade dos seus produtos levou a esse estudo. Durante este trabalho foram analisadas diferentes cervejas nacionais e importadas via RMN aliada a procedimentos quimiométricos (PCA e PLS-DA). A PCA com o grupo das cervejas tipo Pilsen, distinguiu as cervejas classificadas como puro malte de cevada (C) das classificadas como não puro malte (N). Outra observação desta análise foi que as cervejas do grupo Petrópolis (Itaipava<sup>®</sup>, Crystal<sup>®</sup>, Lokal<sup>®</sup> e Petra<sup>®</sup>) tendem à formação de um grupo isolado. A análise de PLS-DA foi capaz de distinguir todas as amostras de acordo com a classificação: C; C + Ingrediente (I); C + Malte de Trigo (T); C + T + I; N. Ao diferenciar as amostras verificaram-se também quais as substâncias foram responsáveis pela distinção, sendo os ácidos orgânicos ligados à via da fermentação alcoólica, as principais substâncias que promovem a distinção das amostras.

**QI054/UP024:** Influência da Vitamina D no Metabolismo e na Expressão da TXNIP através da Metabolômica por RMN

<sup>1,2</sup>\*Gilson Costa dos Santos Junior, <sup>1</sup>Julianna Dias Zeidler; <sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, <sup>2</sup>Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear

A proteína ligador de tioredoxina (TXNIP, "thioredoxin-interacting protein") é uma proteína que desempenha um importante papel regulador do metabolismo celular. Entre as suas funções estão a regulação da captação de glicose, regulação do crescimento, diferenciação, sinalização e morte celular, o que torna a ação da TXNIP essencial nos processos fisiopatológicos como câncer, diabetes, angiogênese e doenças cardiovasculares. Um dos aspectos mais importantes da TXNIP é a sua interação com a proteína tioredoxina (hTrx). A TXNIP inibe a ação redutora da Trx e vice-versa. Assim, se estabelece uma conexão entre regulação redox e metabolismo primário. Nosso grupo de pesquisa já expressou, purificou, assinalou as ressonâncias do domínio N-terminal e produziu diversas construções dos domínios D1-D2. Contudo, para se compreender estrutural e funcionalmente a TXNIP e a interação com seus alvos e a caracterização do ambiente metabólico se faz necessário mais estudos. Neste trabalho fazemos a caracterização metabólica do efeito da vitamina D3 sobre a HEK293T e a construção de HEK293T que superexpressam TXNIP e o mutante C247S de forma estável em cultura. As linhagens HEK293T foram submetidas a diferentes concentrações de vitamina D3 (1α,25 dihidroxivitamina D3) por 24 horas. Os perfis metabólicos, a absorção de glicose, incorporação de amônia, e a cinética de liberação de lactato, foram analisados através da espectroscopia de <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N e <sup>13</sup>C por RMN. Em paralelo, através de PCR em tempo real quantitativo (qPCR), analisamos a expressão dos genes *TXNIP*, *Trx*, *GLUT1/4*, *hexoquinases 1/4*, *MCT1/4* e *LDH*, e através da técnica de Western Blot, a proteína TXNIP. Também realizamos ensaios para medir a atividade de enzimas da via glicolítica, ensaios de respirometria de alta resolução, e avaliamos a proliferação e os ciclos celulares. A linhagem HEK293T apresentou aumento nos níveis intracelulares de lactato, alanina, glutamato e diminuição dos níveis de fosfocolina. Nossos resultados apontam para uma desregulação da via glicolítica, com o tratamento de vitamina D (reguladora positiva da TXNIP). Além do mais, o tratamento com a vitamina D, alterou os níveis transcricionais de *TRX*, *TXNIP*, *MCT4*, *LDHa*, *GLUT1*, *glutamina sintetase*, e os níveis da proteína TXNIP.

Fundação do Câncer, CNPq, CAPES, INCT- Biologia Estrutural

**QA055:** Espectroscopia de RMN na Busca de Biomarcadores em Amostras de Origem Vegetal, Animal e Humana

João Guilherme de Moraes Pontes, Antonio Jadson Marreiro Brasil, Rafael Nogueira de Souza, Guilherme Crispim de Faria Cruz, Ronei Jesus Poppi, \*Ljubica Tasic; Universidade Estadual de Campinas