



## **ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FLORES DE *Tagetes patula* L.**

Naiara Cássia Gancedo (PIBIC/CNPq/Fundação Araucária/UEM), Eneri Vieira de Souza Leite Mello (Orientadora), e-mail: evslmello@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Farmácia/Farmacognosia**

**Palavras-chave:** *Tagetes patula* L., métodos cromatográficos, patulitrina.

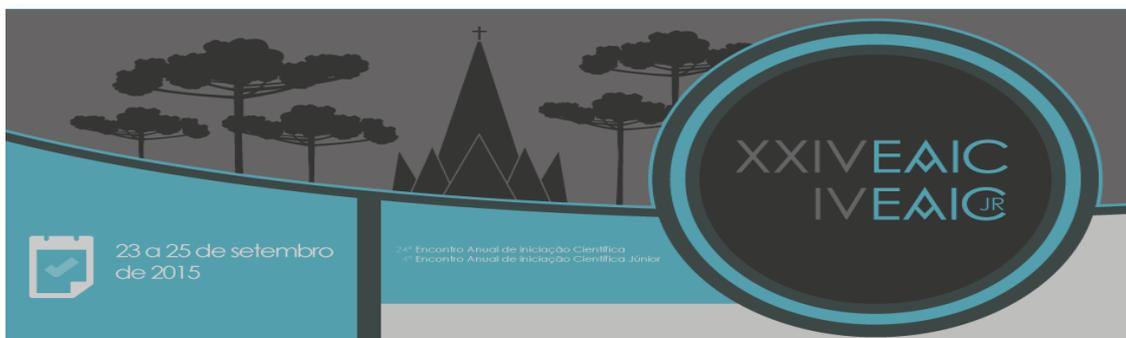
### **Resumo:**

*Tagetes patula* L., conhecida popularmente por cravo de defunto, pertence ao grupo das Angiospermas e família Asteraceae. Dentre seus metabólitos secundários, destacam-se os flavonoides, importante marcador quimiotaxonômico, derivado da combinação dos intermediários ácido chiquímico e acetato. A presença deste metabólito nos vegetais está relacionada com a proteção contra raios violetas, ação antimicrobiana, e atividades inseticida e repelente. O objetivo deste estudo foi a realização do fracionamento do extrato bruto desengordurado de *T. patula*. Para isso, recorreu-se a duas técnicas cromatográficas: em coluna e em camada delgada, além de elucidação estrutural por RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ . Após as análises realizadas nas subfrações da fração *n*-butanol obtidas a partir do extrato bruto de *T. patula*, pode-se identificar o flavonol patuletina 7-O- $\beta$ -glicosse (patulitrina).

### **Introdução**

*Tagetes patula* L. é uma erva terrícola, não endêmica do Brasil e é popularmente conhecida por cravo de defunto (Nakajima, 2015). Pertence ao grupo das Angiospermas, na família Asteraceae. Plantas pertencentes a esta família são estudadas quanto a sua atividade biológica e composição química, com destaque aos flavonoides, importante marcador quimiotaxonômico da família Asteraceae; algumas espécies apresentaram potencial atividade inseticida, incluindo a *T. patula* (Wells et. al, 1993).

Neste trabalho utilizaram-se de técnicas cromatográficas, e entende-se a cromatografia como um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada por meio da distribuição dos componentes entre duas fases: estacionária e móvel. Dessa forma, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, sendo que



cada um é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes.

Este estudo objetivou o fracionamento do extrato bruto desengordurado de *T. patula* por técnicas cromatográficas, utilizando-se a cromatografia em coluna de fase reversa (CC); e em camada delgada (CCD), na obtenção de frações semipurificadas com o intuito de isolamento de substâncias químicas. Realizou-se, também, a elucidação estrutural por RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ .

## Materiais e métodos

### *Preparação do extrato bruto desengordurado das flores de T. patula*

As sementes de *T. patula* foram obtidas comercialmente de Syngenta Flowers Brazil, cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Estadual de Londrina. As flores foram coletadas em novembro de 2011, e uma exsicata está depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM# 21.907). A identificação foi realizada pelo Dr. Jimi Nakajima, do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Uberlândia. As flores colhidas foram secas em estufa de circulação forçada de ar à 38 °C durante 48 h. Em seguida a cominuição da droga vegetal foi feita em moinho de martelos (Tigre ASN5). As flores cominuídas (1900 g) foram desengorduradas com *n*-hexano por maceração dinâmica durante três dias, realizando-se nove trocas de solvente. Em seguida após secagem, as flores foram submetidas à extração com acetona na proporção de 4% (m/v), turbo-extração (Ultra-turrax UTC115KT) 5 min, seguido de maceração por 12 h. Após, repetiu-se o processo por 20 min, com intervalos de 5 min, realizando-se a filtração. O filtrado foi concentrado em rota evaporador à 40 °C, congelado e liofilizado (extrato bruto, EB).

### *Partição do extrato bruto (EB)*

A partição do EB de *T. patula* foi realizada de acordo com Cechinel Filho e Yunes (2001). O EB (105 g) foi ressuspensão em 1 L de metanol: água (2:8, v/v) e submetido à partição líquido-líquido (repetindo o processo 5 vezes) com os solventes, *n*-hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (FAE) e *n*-butanol (FB). As frações obtidas foram concentradas em rota evaporador e liofilizadas.

### *Métodos cromatográficos*

Cerca de 20 g de FB foram empregados cromatografados em CC com fase reversa (Poliamida, CC6 de 0,05-0,16 mm; Macherey Nagel; 15x6 cm) e como fase móvel: água, metanol, acetato de etila e acetona, utilizados em diferentes proporções volumétricas sendo monitorada por CCD. Foram recolhidos 10 mL em cada tubo de ensaio com vazão de 1 mL/min. Para o



monitoramento em CCD, utilizaram-se três sistemas eluentes: acetato de etila: ácido fórmico: água (90:5:5, v/v); clorofórmio: metanol (90:10, v/v); e clorofórmio: hexano (5:5, v/v). A determinação destes sistemas eluentes foi realizada de acordo com a polaridade das subfrações. As CCDs destas junções foram observadas mediante UV 254 nm e as subfrações reunidas por similaridade.

### *Análise estrutural por ressonância magnética nuclear (RMN)*

A análise estrutural da substância isolada foi realizada por meio de métodos espectroscópicos de ressonância magnética nuclear (RMN) 1D ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), relativos ao TMS (7.02T-Varian Mercury Plus 300) operando a 75 MHz para  $^{13}\text{C}$  e 300 MHz para  $^1\text{H}$ .

### **Resultados e Discussão**

O rendimento do EB de *T. patula* foi de 5,86%. Os rendimentos das frações foram: Hex=19,27%; DCM=10,17%; FAE=13,38%; FB=36,59% e aquosa=15,02%. A CC da FB resultou em 101 subfrações, as quais foram monitoradas por CCD. Muitas frações apresentaram perfis cromatográficos semelhantes, sendo então reunidas, totalizando 34 subfrações. No processo de junção das subfrações, observou-se nas subfrações 6 e 11 precipitados, e após filtração foram obtidos 30 mg de uma substância (Tp-1), sendo sua estrutura química determinada por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Tabela 1).

**Tabela 1** - Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de Tp-1 comparados com dados reportados na literatura (Schmeda-Hirschmann et al., 2004) para a patuletina 7-O- $\beta$ -glicose (300 MHz; DMSO- $d_6$ ).

H	$\delta_{\text{H}}$ (m, J em Hz)	Patuletina 7-O- $\beta$ -glicose $\delta_{\text{H}}$ (m, J em Hz)	C/ $\delta_{\text{C}}$	Patuletina 7-O- $\beta$ -glicose ( $\delta_{\text{C}}$ ) (em ppm)
8	6,93 (s)	6,94 (s)	2 / 147,9	148,1
2'	7,72 (d, 2,2)	7,72 (d, 2,1)	3 / 135,8	136,6
5'	6,89 (d, 8,5)	6,91 (d, 8,5)	4 / 176,2	177,0
6'	7,54 (dd, 8,5; 2,1)	7,56 (dd, 8,5; 2,1)	5 / 151,1	151,9
1''	5,13 (d; 7,2)	5,12 (d; 7,3)	6 / 131,8	132,6
2''	3,32 (d; 2,2)	3,35-3,80 (m)	7 / 156,4	157,2
3''	3,45 (m)		8 / 93,8	94,8
4''	3,17 (m)		9 / 151,4	152,2
5''	3,48 (m)		10 / 105,0	105,8
6''	3,72 (m)		1' / 120,0	122,7
MeO-6	3,78 (s)	3,78 (s)	2' / 115,5	116,3



3' / 145,0	146,0
4' / 147,7	148,8
5' / 115,4	116,5
6' / 121,8	121,0
1" / 100,1	101,0
2" / 73,2	74,1
3" / 77,2	77,5
4" / 69,5	70,44
5" / 76,7	78,0
6" / 60,6	61,5
MeO-6 / 60,3	61,2

## Conclusões

Com o uso da cromatografia, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e dados da literatura foi possível identificar a substância Tp-1 como sendo o flavonol patuletina 7-O- $\beta$ -glicose (patulitrina).

## Agradecimentos

CNPq e Fundação Araucária pelo apoio financeiro. Aos Prof. Dr. Cláudio R. Novello e Dra. Gisely C. Lopes pelo auxílio na interpretação dos resultados. À Profa. Dra. Eneri Leite Mello pela orientação e apoio ao projeto.

## Referências

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estudo químico de plantas medicinais orientado para a análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (orgs.). Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001.

NAKAJIMA, J.N. *Tagetes*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22241>>. Acesso em: 20 Mai. 2015.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; TAPIA, A.; THEODULOZ, C.; RODRÍGUEZ, J.; LÓPEZ, S.; FERESIN, G. E.. Free radical scavengers and antioxidants from *Tagetes mendocina*. Zeitschrift fur Naturforschung, v. 59, p. 345-353, 2004.

WELLS, C.; BERTSCH, W.; PERICH, M. Insecticidal volatiles from the marigold plant (Genus *Tagetes*). Effect of species and sample manipulation. Chromatographia, v.35, n.3/4, p. 209–215, 1993.