



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

Aline Cavalcante Lenartowicz (PIBIC/CNPq/FA/Uem), João Carlos Palazzo de Mello (Co-orientador), 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: Ciências da Saúde / Farmácia**

**Palavras-chave:** patuletina, patulitrina, técnicas cromatográficas.

### **Resumo**

Este trabalho objetivou a identificação estrutural de substâncias isoladas presentes na fração semipurificada *n*-butanol, obtida do extrato bruto acetônico das flores desengorduradas de *Tagetes patula*. A partir de 105 g do extrato foi realizada partição com os solventes *n*-hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (FAE), *n*-butanol (FB) e água (FAQ), as quais foram rotaevaporadas e liofilizadas. Cerca de 20 g de FB foram cromatografados em coluna cromatográfica com fase reversa, e obtidas 101 subfrações monitoradas por CCD e reunidas de acordo com similaridade nos perfis cromatográficos, totalizando 34 subfrações. Das subfrações 23 e 26, após fracionamento em CCCAV, obteve-se a substância Tp-1, e as subfrações 6 e 11 foram filtradas e obtida a substância Tp-2. Após análise de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e comparação com a literatura foram identificadas Tp-1 como patuletina e Tp-2 como patuletina 7-O-β-glicose (patulitrina).

### **Introdução**

A espécie *Tagetes patula* L., comumente conhecida por cravo de defunto, é uma erva terrícola não endêmica do Brasil, encontrada em várias regiões do globo terrestre (Nakajima, 2015). Suas flores são utilizadas na medicina popular como antisséptica, diurética, depurativa do sangue e repelente de insetos (Chadha, 1976).





O presente trabalho objetivou o isolamento e a identificação estrutural de substâncias presentes em fração semipurificada obtida a partir do extrato bruto desengordurado das flores de *T. patula*, utilizando diferentes técnicas cromatográficas e espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  para elucidação estrutural das substâncias.

## 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 foram secas e cominuídas em moinho de martelos (Tigre ASN-5). O extrato bruto acetônico (EB) foi preparado segundo Munhoz (2013).

### *Partição do extrato bruto (EB)*

O EB (105 g) foi ressuspensão em 1 L de metanol:água (2:8, v/v) e submetido à partição líquido-líquido (5 vezes) com os solventes, *n*-hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (FAE), *n*-butanol (FB) e água (FAQ). As frações obtidas foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida e liofilizadas.

### *Métodos cromatográficos*

Cerca de 20 g de FB foram cromatografados em CC com fase reversa (Poliamida, CC6 de 0,05-0,16 mm; 15x6 cm) e como fase móvel: água, metanol, acetato de etila e acetona, utilizados em diferentes proporções volumétricas sendo monitorada por CCD, 10 mL em cada tubo de ensaio com vazão de 1 mL/min. Para o monitoramento em CCD (gel de sílica F254, 0,200 mm de espessura), 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.





As subfrações FB 23 e 26 obtidas em CC com fase reversa foram amostradas em CCCAV, utilizando um sistema de solvente de gradiente *n*-hexano:acetato de etila (AcOEt): metanol (MeOH): água (1:5:1:5, v/v) e as subfrações resultantes foram coletadas em tubos de ensaio e reunidas por semelhança em CCD.

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

A análise estrutural das substâncias isoladas 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, monitoradas por CCD e reunidas de acordo com similaridade, totalizando 34 subfrações. As subfrações 23 e 26 foram fracionadas em CCCAV e obteve-se o isolamento de 5 mg de uma substância (Tp-1), de estrutura química analisada por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O espectro obtido está representado na Figura 1.

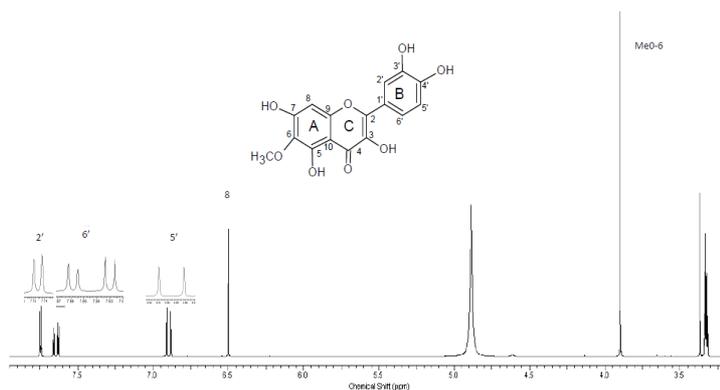


Figura 1 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância Tp-1 (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Na junção das subfrações, observaram-se precipitados nas subfrações 6 e 11 e, após filtração, foram obtidos 30 mg de uma substância (Tp-2), de estrutura química determinada por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O espectro obtido está representado na Figura 2.



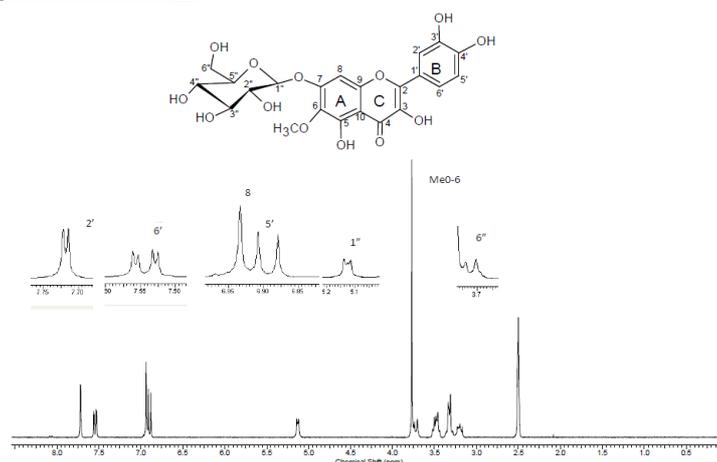


Figura 2 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância Tp-2 (300 MHz;  $\text{DMSO-d}_6$ ).

## Conclusões

Com uso de técnicas cromatográficas, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e dados da literatura foi possível identificar a substância Tp-1 como sendo a patuletina, e a substância Tp-2 como sendo flavonol patuletina 7-O- $\beta$ -glicose (patulitrina).

## Agradecimentos

Fundação Araucária e CNPQ pelo apoio financeiro. À Profa. Dra. Eneri Leite Mello pela orientação e apoio ao projeto.

## Referências

- CHADHA, Y. R. Tagetes Linn (Compositae). **The Weath of India**. v.10, p. 109-112, 1976.
- MUNHOZ, V.M. **Avaliação farmacognóstica e otimização da extração de flavonoides de flores Tagetes patula através de planejamento de misturas**. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.
- 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.

