

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS FRAÇÕES HEXÂNICA E DICLOROMETANO DA ESPÉCIE *Campuloclinium macrocephalum* Less (= *Eupatorium macrocephalum*).

Maria Gabriele De M. Gonçalves (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Marcia Regina Pereira Cabral (PG), Débora Cristina Baldoqui (Coorientadora), Maria Helena Sarragiotto (Orientadora), e-mail: mhsarragiotto@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências Exatas -
Departamento de Química/ Maringá, PR.

10600000 – Química; 10601007 – Química Orgânica.

Palavras-chave: *Campuloclinium macrocephalum*, Asteraceae, constituintes químicos.

Resumo:

Dentre as várias famílias de plantas com potencial aplicação terapêutica destaca-se a família Asteraceae, a qual ocorre na região dos Campos Gerais do Paraná, uma área de investigação de nosso grupo de pesquisa. Dentre as diversas espécies de Asteraceae da região, destacam-se as pertencentes ao gênero *Eupatorium*, pois estudos realizados com o gênero têm mostrado metabólitos secundários com diferentes atividades farmacológicas. Neste trabalho realizou-se o estudo químico da espécie *Campuloclinium macrocephalum* (Less), anteriormente pertencente ao gênero *Eupatorium*, a qual foi pouco explorada com relação a seus constituintes. O estudo químico das frações hexânica e diclorometano desta espécie resultou no isolamento de duas substâncias, identificadas a partir da análise de seus dados espectroscópicos de RMN de ¹H e comparação com dados descritos na literatura. Uma substância foi isolada da fração hexânica e caracterizada como estigmasterol, e uma lactona sesquiterpênica, denominada macrocefalídeo B, foi isolada da fração diclorometano. Além disso, foram identificadas outras duas lactonas na fração diclorometano, a partir de análises por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas.

Introdução

As espécies da família Asteraceae apresentam uma variedade de metabólitos secundários, dos quais destacam-se as lactonas sesquiterpênicas e flavonoides por serem considerados importantes marcadores quimiotaxonômicos. Além disso, diversas atividades biológicas são atribuídas a essas classes de compostos (CHATURVEDI, 2011). O gênero *Eupatorium* era um dos maiores na família Asteraceae, mas foi reclassificado com base em comparações morfológicas, e atualmente possui 45 espécies restritas ao hemisfério norte (KING *et al.*, 1987). Existem vários relatos de atividades biológicas relacionadas ao gênero *Eupatorium*, tais como atividades citotóxicas, antifúngicas, inseticidas, antibacterianas, anti-inflamatórias e antinociceptivas (LIU *et al.*, 2015). No entanto, a espécie

Campuloclinium macrocephalum (Less), sinonímia *Eupatorium macrocephalum* (Less), foi pouco explorada, e desta forma existem poucos relatos sobre esta espécie. Há relatos da utilização desta espécie na medicina popular como um anti-inflamatório, sedativo e no tratamento de doenças cardíacas. A respeito de seu estudo químico, há um relato que descreve o isolamento de 20 substâncias, sendo seis triterpenos, um diterpeno glicosilado, seis esteroides, um flavonoide e seis derivados de ácidos cinâmicos, obtidas das partes aéreas de *C. macrocephalum* Less, sob o nome antigo *Eupatorium macrocephalum* Less (VEGA *et al.*, 2008).

Em continuidade aos estudos de espécies da família Asteraceae presentes na região dos Campos Gerais-PR e, em virtude da ausência de trabalhos sobre os constituintes químicos de *C. macrocephalum*, o presente trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar os metabólitos secundários presentes nas frações hexânica e diclorometano desta planta.

Materiais e métodos

As partes aéreas de *C. macrocephalum* (538,1g) foram secas a temperatura ambiente, moídas e submetidas à extração com metanol a frio, por maceração. Após a evaporação do solvente, obteve-se 17,5g de extrato bruto, o qual foi solubilizado em MeOH:H₂O 1:1 e submetido à partição em solventes em ordem crescente de polaridade, sendo estes hexano, diclorometano e acetato de etila. A evaporação dos solventes forneceu as frações hexânica (CM-FH; 5,4g), diclorometano (CM-FD; 3,6g), acetato de etila (CM-FAE; 0,8g) e hidrometanólica (CM-FHM; 6,5g). Parte da CM-FH (3,5g) foi submetida a um fracionamento em coluna cromatográfica (CC) utilizando como eluentes hexano, hexano-AcOEt e metanol em gradiente de polaridade, resultando em 36 frações, as quais foram reunidas conforme semelhança apresentada em cromatografia em camada delgada (CCD), dando origem a 10 novas frações. A sub-fração CM-FH5 foi submetida à CC utilizando os mesmos eluentes, e o procedimento resultou em 89 frações. A sub-fração CM-FH5-5 forneceu a substância codificada como **CM-1**. Parte da CM-FD (1,1g) foi purificada por CC, utilizando como eluentes hexano, hexano-acetona e metanol em gradiente de polaridade, resultando em 45 frações, as quais foram reunidas conforme semelhança em CCD, dando origem a 11 novas frações. A sub-fração CM-FD8 foi submetida a um fracionamento por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna semi preparativa, utilizando como eluente MeOH/H₂O 45:55, em modo isocrático, resultando em 14 frações. Este procedimento levou ao isolamento de uma substância codificada como **CM-2**. Além disso, uma sub fração foi submetida a análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-HRMS), e esse procedimento permitiu a identificação de duas substâncias na fração diclorometano, codificadas como **CM-3** e **CM-4**.

Resultados e Discussão

O estudo químico da CM-FH de *C. macrocephalum* resultou no isolamento de uma substância codificada como **CM-1**. O espectro de RMN ¹H dessa substância apresentou diversos sinais entre δ_H 0,70 e δ_H 2,37, correspondentes a grupos

metílicos e metilênicos, o que sugeriu um esqueleto esteroidal para **CM-1**. O sinal em δ_H 5,35 (*d*, $J = 6\text{Hz}$) foi atribuído ao hidrogênio olefínico H-6, e o multipletto em δ_H 3,53, foi atribuído ao H-3. Os sinais em δ_H 5,01 (*m*, 1H) e δ_H 5,15 (*m*, 1H), foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral, H-23' e H-22'. Os dados espectroscópicos obtidos para a substância **CM-1** foram comparados com dados da literatura (MATILDA, *et al.*, 1996) e a substância foi caracterizada como estigmasterol (Figura1).

O estudo da CM-FD forneceu uma mistura de substâncias sendo a majoritária denominada **CM-2**. Os sinais mais intensos no espectro de RMN ^1H , atribuídos à **CM-2**, sugeriram a estrutura de uma lactona sesquiterpênica. Foram evidenciados sinais de dupla terminal característicos de um grupo α -metileno- γ -lactona em δ_H 6,28 (*m*, H-13a) e δ_H 5,73 (*d*, $J = 1,5\text{ Hz}$, H-13b), três sinais de hidrogênios oximetínicos em δ_H 6,04 (*d*, $J = 9\text{Hz}$, H-6), δ_H 5,38 (*dd*, $J = 4,2$ e $3,0\text{ Hz}$, H-8) e δ_H 4,31 (*sl*, H-9), e três sinais característicos de grupos metilas em δ_H 1,92 (*s*), δ_H 1,60 (*s*) e δ_H 2,03 (*dd*, $J = 7,2\text{Hz}$ e $1,2$). Os sinais em δ_H 6,70 (*d*, $J = 11,7\text{Hz}$), δ_H 6,30 (*m*) e δ_H 5,07 (*m*), foram atribuídos aos hidrogênios H-2, H-3 e H-5, respectivamente, sugerindo a presença de duplas ligações conjugadas no esqueleto de **CM-2**. A presença de uma hidroxila foi evidenciada pela desblindagem do H-4', que aparece em δ_H 4,50 e 4,07. Estes dados foram comparados com os da calealactona, o que sugeriu a presença de substituintes oxigenados nas posições 8, 9 e 10 do esqueleto germacranolídeo. Com base na literatura (CABRAL, 2019; YAMADA *et al.*, 2004), a substância **CM-2** foi caracterizada como macrocefalídeo B (Figura 1).

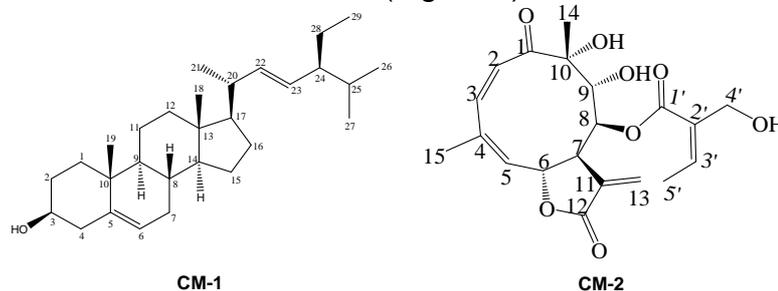


Figura 1. Estruturas das substâncias CM-1 e CM-2.

Um estudo complementar foi realizado com a CM-FD. Uma fração enriquecida de lactonas sesquiterpênicas foi analisada por UHPLC-HRMS, e a partir do cromatograma obtido e da análise de íons totais dessa fração, foi possível confirmar a presença da substância CM-2 e de mais duas lactonas. Os dados obtidos a partir da análise foram comparados aos da literatura (LIU *et al.*, 2015), e desta forma foi possível caracterizar as substâncias codificadas como **CM-3** e **CM-4** (Figura 2).

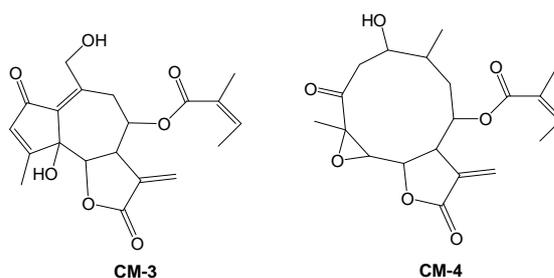


Figura 2. Estrutura das lactonas identificadas por UHPLC-HRMSMS.

Conclusões

O estudo das frações hexânica e diclorometano da planta *C. macrocephalum* resultou no isolamento de uma substância da fração hexânica, caracterizada como estigmasterol, e da lactona sesquiterpenica macrocefalídeo B, isolada da fração diclorometano. Além disso, outras duas lactonas foram identificadas na fração diclorometano por UHPLC-HRMS.

Agradecimentos

CNPq/UEM

Referências

CABRAL, M. R. P. **Estudo químico e de desreplicação e atividade antitumoral das espécies *Campuloclinium macrocephalum* less e *Symphypappus cuneatus* (dc.) sch. bip. ex baker (ASTERACEAE)**, Tese de doutorado, UEM, Maringá-PR, p. 60-66, 2015.

CHATURVEDI, D. Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products. **Medicinal Chemistry**, v. 37/661, n.2, p. 313-334, 2011.

KING, R. M.; ROBINSON, H. The genera of the Eupatorieae (Asteraceae). **St. Louis: Missouri Botanical Garden**, v.22, p.581, 1987.

LIU, P. Y.; LIU, D.; WEI-HUAN LI, W.; ZHAO, T.; SAURIOL, F.; GU, Y.; SHI, W.; ZHANG, M. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Eupatorium* (1904–2014). **Chemistry & Biodiversity**, v.12, n.10, p. 1481-1515, 2015.

MATILDA, A. K.; ROSSI, M. E.; BLUMENTHAI, E. E. A.; SCHUQUEL, J. T. A.; MALHEIROS, A.; VIDOTT, G. S. Glucopyranosylsitosterol in species of Labiatae, Verbenaceae and Apocynaceae. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 43, p. 147-151, 1996.

VEGA, M. R. G.; CARVALHO, M. G.; VIEIRA, E. J. C.; BRAZ-FILHO, E. R. Chemical constituents from the Paraguayan medicinal plant, *Eupatorium macrocephalum* Less. **Natural Medicine Note**. v. 62, p.122-123, 2008.

YAMADA, M.; MATSURA, N., SUZUKI, H.; KUROSAKA, C.; HASEGAWA, N.; UBUKATA, M.; TANAKA, T.; IINUMA, M. Germacranolides from *Calea urticifolia*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 3107–3111, 2004.