

## ESTUDO QUÍMICO DAS FRAÇÕES ACETATO DE ETILA E HIDROMETANÓLICA DE *Lessingianthus rubricaulis*

Andressa Soares (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Drielli Rhiane P. Colhado Arêas  
(PG), Débora Cristina Baldoqui (Coorientador),  
Maria Helena Sarragiotto (Orientador), e-mail: ra112290@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas / PR.

### Química/ Química Orgânica

**Palavras-chave:** *Lessingianthus rubricaulis*, Asteraceae, estudo químico.

### Resumo:

Espécies da família Asteraceae são conhecidas por suas propriedades medicinais, apresentando potencial aplicação terapêutica. Várias espécies desta família ocorrem na região dos Campos Gerais do Paraná, uma área de investigação de nosso grupo de pesquisa. A espécie *Lessingianthus rubricaulis* ocorre na região e possui poucos estudos químicos e biológicos relatados na literatura. O estudo da fração diclorometano de *L. rubricaulis*, realizado anteriormente por nosso grupo, resultou no isolamento e caracterização de flavonóides e lactonas sesquiterpênicas (LSs). O presente trabalho teve como objetivo o estudo das frações acetato de etila e hidrometanólica, visando a caracterização dos constituintes mais polares desta espécie. Através do uso de técnicas cromatográficas e espectroscópicas foi possível isolar e identificar o flavonoide quercetina e, os ácidos clorogênicos, ácido 3-O-cafeoilquínico e ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico.

### Introdução

Dentre as plantas da família Asteraceae, destacam-se as pertencentes ao gênero *Lessingianthus*, cujos estudos descritos na literatura mostram a presença de compostos ativos, principalmente da classe de flavonóides, lactonas sesquiterpênicas e ácidos clorogênicos. Estudos de desreplicação com várias espécies do gênero mostraram a presença de ácidos clorogênicos e flavonoides majoritariamente (GALLON, JAIYESIMI, GOBBONETO, 2018). Uma espécie desse gênero, a *Lessingianthus rubricaulis*, vem sendo estudada pelo nosso grupo de pesquisa. Da fração diclorometano foram isolados flavonóides e lactonas sesquiterpênicas (LSs) (ARÊAS, 2020). Duas das LSs isoladas apresentaram moderada atividade frente a culturas de células tumorais humanas de colo de útero (HeLa) e mama (MCF-7). Em continuidade, o presente trabalho teve como objetivo o estudo das frações acetato de etila e hidrometanólica, visando o isolamento dos seus constituintes mais polares.

## Materiais e métodos

### Geral

As filtrações em coluna foram realizadas utilizando-se Sephadex LH-20 como fase estacionária e água e metanol como fase móvel. Para estudo das subfrações utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) e metanol/p-anisaldeído/ácido acético/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH 1:1 como reveladores. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos em um espectrômetro Bruker, modelo AVANCE III HD 300 MHz, utilizando DMSO-d<sub>6</sub> como solvente e TMS (δ = 0,0 ppm) como referência interna. Os experimentos de espectrometria de massas de alta resolução foram realizados em espectrômetro Bruker IMPACT II.

### Isolamento dos constituintes

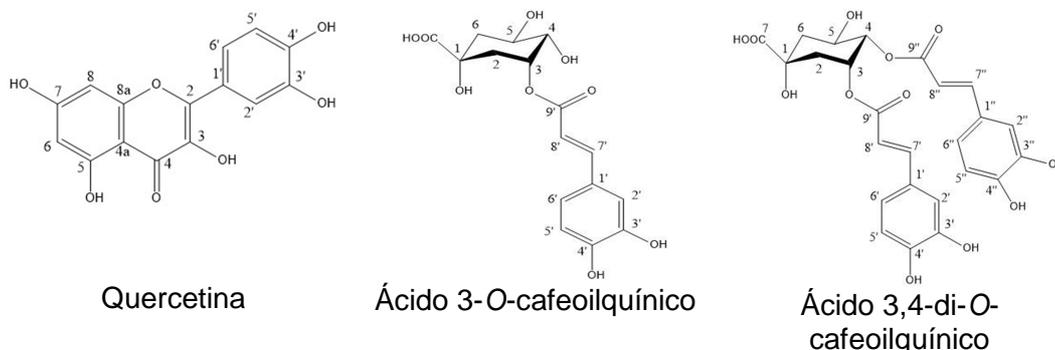
As partes aéreas da planta *Lessingianthus rubricaulis* (297,16 g) foram secas, moídas e submetidas à extração exaustiva com metanol, por maceração. A evaporação do solvente a vácuo forneceu 60,0 g de extrato bruto. Parte do extrato bruto (22,0 g) foi diluído em metanol: H<sub>2</sub>O/ 1:1 e submetido a partição em hexano, diclorometano e acetato de etila. A evaporação dos solventes levou a obtenção das frações hexânica (FH: 2,88g), diclorometano (FD: 6,58 g), acetato de etila (FAE: 5,48g) e hidrometanólica (FHM: 7,75g).

Parte da fração acetato de etila (1,79 g) foi submetida a filtração em coluna de Sephadex LH-20 eluída em água:metanol (100:0; 75:25; 50:50; 25:75; 0:100). Esse procedimento foi repetido com mais 2,72 g da fração. As subfrações da primeira e segunda filtração foram reunidas, após comparadas em cromatografia de camada delgada (CCD), resultando em 10 subfrações (FAE-1 a FAE-10). A subfração FAE-4 (372,7 mg) foi submetida a purificação utilizando-se o mesmo método citado anteriormente, resultando em 27 subfrações, reunidas em nove (FAE-4.1 a FASE-4.9). A subfração FAE-2 (200,3 mg) foi purificada em Sephadex LH-20, utilizando-se água:metanol em polaridade decrescente como eluente, resultando em 37 subfrações, que foram reunidas em 14 (FAE-2.1 a FAE-2.14). A fração hidrometanólica (FHM) (2,65 g) foi também submetida à purificação em coluna de Sephadex LH-20, utilizando-se como eluentes água:metanol (100:0; 75:25; 50:50; 25:75; 0:100), resultando em 33 subfrações, reunidas em 17 (FHM-1 a FHM-17), de acordo com análise em CCD.

## Resultados e Discussão

As subfrações FAE-3, FAE-1 e FAE-2.12 e FHM-1 e FHM-11, resultantes da purificação das frações FAE e FHM apresentaram menor complexidade em cromatografia em camada delgada (CCD) e foram analisadas por ressonância magnética nuclear (RMN) e de espectrometria de massas (EM). A partir dos dados obtidos foi possível identificar o flavonoide quercetina nas subfrações FAE-3, FAE-10 e FAE-2.12 e, os

ácidos clorogênicos ácido 3-O-cafeoilquínico e ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico, nas subfrações FHM-1 e FHM-11, respectivamente. As estruturas dos compostos isolados estão apresentadas na **Figura 1**.



**Figura 1:** Compostos isolados das frações acetato de etila e hidrometanólica de *Lessingianthus rubricaulis*.

A quercetina foi identificada em FAE-3 a partir dos sinais, no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , de hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  7,66 (d,  $J=2,2$  Hz, H-2'),  $\delta_{\text{H}}$  7,54 (dd,  $J=8,4; 2,2$  Hz, H-6') e  $\delta_{\text{H}}$  6,88 (d,  $J=8,4$  Hz, H-5'), característicos do anel B do flavonol e, em  $\delta_{\text{H}}$  6,41 (d,  $J=2$  Hz, H-8) e  $\delta_{\text{H}}$  6,18 (d,  $J=2$  Hz, H-6), correspondentes aos hidrogênios do anel A. Os dados de FAE-3 foram condizentes com os da literatura para quercetina (LIN, HUANG, LV, 2016). O íon precursor em  $m/z$  301,0343  $[\text{M}-\text{H}]^-$  (calculado:  $m/z$  301,0348) no espectro de massas confirma a estrutura da quercetina em FAE-3. Os dados das subtrações FAE-10 e FAE-2.12 foram semelhantes aos da FAE-3, sendo o composto principal destas identificado como quercetina.

Os compostos principais das subfrações FHM-1 e FHM-11 foram identificados como o ácido 3-O-cafeoilquínico e ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico, respectivamente. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de FHM-1 apresentou sinais da unidade de ácido quínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (ddd,  $J=10,5; 10,5$  e  $5,3$  Hz, H-3),  $\delta_{\text{H}}$  3,86 (m, H-5),  $\delta_{\text{H}}$  3,60 (m, H-4),  $\delta_{\text{H}}$  1,95 (dd,  $J=11,3$  e  $9,8$  Hz, H-2a) e  $\delta_{\text{H}}$  1,73-1,86 (m, H-2b, H-6a e H-6b). Os sinais para a unidade cafeoila foram observados em  $\delta_{\text{H}}$  7,04 ( $J=2,0$  Hz, H-2'),  $\delta_{\text{H}}$  6,97 (dd,  $J=2,0$  e  $8,1$  Hz, H-6') e  $\delta_{\text{H}}$  6,74 (d,  $J=8,1$  Hz, H-5'), além dos sinais dos hidrogênios olefínicos em posição *trans* em  $\delta_{\text{H}}$  7,43 (d,  $J=15,8$  Hz, H-7') e  $\delta_{\text{H}}$  6,22 (d,  $J=15,8$  Hz, H-8'). O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresentou sinais da unidade de ácido quínico na região de  $\delta_{\text{C}}$  70,7 a 73,9 e em  $\delta_{\text{C}}$  35,3 (C-2) e 38,7 (C-6), além do sinal de carboxila em  $\delta_{\text{C}}$  176,8 (C-7). A unidade cafeoila foi confirmada pelos sinais na região de  $\delta_{\text{C}}$  115,3 a 167,0, sendo os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  115,2 (C-8') e 145,2 (C-7') atribuídos à dupla *trans* e, em  $\delta_{\text{C}}$  167,0 (C-9'), à carbonila. A partir da comparação dos dados com os da literatura (ZHENG *et al.*, 2018) o composto principal dessa fração foi identificado como ácido 3-O-cafeoilquínico. Os espectros da subfração FHM-11 apresentaram sinais similares aos de FHM-1 para a unidade do ácido quínico. Porém, diferentemente de FHM-1, observou-se a presença de duas unidades cafeoila que foram confirmadas pelos dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os íons

precursores em  $m/z$  353,0873 [M-H]<sup>-</sup> (calculado:  $m/z$  353,0878) e  $m/z$  515,1188 [M-H]<sup>-</sup> (calculado:  $m/z$  515,1195) nos espectros de massas de FHM-1 e FHM-11 confirmam as estrutura propostas.

## Conclusões

As frações acetato de etila (FAE) e hidrometanólica (FHM) de *Lessingianthus rubricaulis* foram fracionadas por filtração em Sephadex LH-20 e, as subfrações de menor complexidade, em cromatografia em camada delgada, foram submetidas a análise de ressonância magnética nuclear e de espectrometria de massas. A partir dos dados obtidos foi possível identificar o flavonoide quercetina na fração acetato de etila e, os ácidos clorogênicos, ácido 3-O-cafeoilquínico e ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico na fração hidrometanólica.

## Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária, UEM.

## Referências

ARÊAS, D. R. P. C. **Constituintes químicos, estudo de desrepliação e avaliação das atividades antitumoral e antileishmania de *Lessingianthus brevifolius* e *L. rubricaulis* (Asteraceae).** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. UEM, Maringá, 2020.

GALLON, M. E.; JAIYESIMI, O. A.; GOBBO-NETO, L. LC-UV-HRMS dereplication of secondary metabolites from Brazilian Vernonieae (Asteraceae) species supported through in-house database. **Biochemical Systematics and Ecology** v. 78, p. 5-16, 2018.

LIN, L.; HUANG, X.; LV, Z. Isolation and identification of flavonoids components from *Pteris vittata* L. **SpringerPlus** v.5, p. 1649-51, 2016.

ZHENG, Z.; WANG, X.; LIU, P.; Li, M.; DONG, H.; QIAO, X. Semi-Preparative Separation of 10 Caffeoylquinic Acid Derivatives Using High Speed Counter-Current Chromatography Combined with Semi-Preparative HPLC from the Roots of Burdock (*Arctium lappa* L.). **Molecules**, v. 23, n. 2. p. 429, 2018.