

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES MAJORITÁRIOS DAS FRAÇÕES ACETATO DE ETILA E HIDROMETANÓLICA DE *Calea cuneifolia*

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/ Química dos Produtos Naturais

Palavras-chave: *Calea cuneifolia*, Asteraceae, estudo químico.

Resumo:

A família Asteraceae é conhecida por suas propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas. Dentre as plantas desta família, destaca-se as pertencentes ao gênero *Calea*, amplamente conhecidas e utilizadas na medicina popular. Estudos do gênero descrevem a presença de lactonas sesquiterpênicas, derivados do timol e de benzofuranos, flavonóides e ácidos clorogênicos, como principais constituintes. Algumas espécies do gênero possuem poucos estudos químicos e biológicos relatados, dentre estas, a espécie *Calea cuneifolia*. Visto isso, o objetivo desse projeto foi o isolamento e caracterização dos metabólitos especializados das frações acetato de etila e hidrometanólica de *Calea cuneifolia* através do uso de técnicas cromatográficas e espectroscópicas. O estudo destas frações resultou no isolamento e identificação do flavonoide taxifolina, da flavona luteolina, da acetofenona, mirciafenona A e de um derivado do ácido cafeico. A taxifolina e a mirciafenona A estão sendo descritas pela primeira vez no gênero.

Introdução

Um dos focos de pesquisa do nosso grupo é o estudo de plantas da família Asteraceae, que se evidencia como potencial fonte de fármacos. Nessa família, destaca-se as espécies pertencentes ao gênero *Calea*, pois são amplamente conhecidas e utilizadas na medicina popular para o tratamento de diabetes, hipertensão arterial, problemas respiratórios e gastrointestinais, úlceras gástricas e inflamações (Lima *et al.*, 2018).

Lactonas sesquiterpênicas constituem o grupo de metabólitos secundários mais amplamente encontrado no gênero e diversas atividades biológicas, como antileishmania, antitumoral, antiplasmódica e tripanocida já foram atribuídas à esta classe de compostos. Um levantamento realizado por Lima e colaboradores (2018), mostrou que cerca de 143 compostos desta classe foram isolados de espécies de *Calea*. Derivados do timol formam outra classe de compostos largamente encontrados no gênero. Destaca-se também a presença de derivados de benzofuranos, flavonóides e ácidos clorogênicos. Estudos *in vivo* sobre os ácidos

clorogênicos mostraram que os mesmos exercem funções na regulação do metabolismo da glicose, dos lipídios e doenças relacionados, diabetes entre outras (TAJK, *et al.*, 2017). Enquanto que flavonoides apresentam atividade antiviral, antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante (SANTOS & RODRIGUES, 2017).

Apesar das plantas desse gênero já serem conhecidas e utilizadas, algumas espécies possuem poucos estudos químicos e biológicos relatados na literatura, dentre estas, a espécie *Calea cuneifolia*, que possui um único estudo relatado (Lourenço *et al.*, 1981) que descreve o isolamento de uma cromanona, e seis derivados da *p*-hidróxiacetofenona a partir de extrato hexânico. Visto isso, o objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar os metabólitos secundários das frações acetato de etila e hidrometanólica de *Calea cuneifolia*.

Materiais e Métodos

Geral

As filtrações em coluna foram realizadas utilizando-se Sephadex LH-20 como fase estacionária, água e metanol como fase móvel. Para estudo das subfrações utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) e metanol/*p*-anisaldeído/ácido acético/H₂SO₄ ou H₂SO₄/MeOH 1:1 como reveladores, seguido de aquecimento. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C foram obtidos em um espectrômetro Bruker, modelo AVANCE III HD 300 MHz, utilizando DMSO-d₆ como solvente e TMS (δ = 0,0 ppm) como referência interna.

Isolamento dos constituintes

As partes aéreas de *Calea cuneifolia* (217,6 g) foram secas, moídas e submetidas à extração exaustiva com metanol, por maceração. A evaporação do solvente forneceu 31,6 g de extrato bruto. Parte do extrato bruto (CC-EB) (24,9 g) foi solubilizado em metanol: H₂O/ 1:1 e submetido a partição em hexano, diclorometano e acetato de etila. A evaporação dos solventes levou a obtenção das frações hexânica (CC-FH: 3,93 g), diclorometano (CC-FD: 4,94 g), acetato de etila (CC-FAE: 7,29 g) e hidrometanólica (CC-FHM: 12,87 g). Parte da fração acetato de etila (3,00 g) foi submetida a cromatografia em coluna de permeação em gel (Sephadex LH-20) eluída em água:metanol (100:0; 75:25; 50:50; 25:75; 0:100). As frações que apresentaram características semelhantes, por meio de cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas, resultando em 25 subfrações (CC-FAE-1 a CC-FAE-25). As frações CC-FAE-9 e CC-FAE-21 forneceram os compostos codificados como **CC-1** e **CC-2**, respectivamente. A subfração CC-FAE-17 (133,0 mg) foi submetida a purificação utilizando-se o mesmo método citado anteriormente, resultando nas subfrações CC-FAE-17.1 a CC-FAE-17.18. A subfração CC-FAE-17.13 forneceu o composto **CC-3**. Parte da fração hidrometanólica (CC-FHM) (3,25 g) foi 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 22 subfrações (CC-FHM-1 a CC-FHM-22). A subfração CC-FHM-15 (15,0 mg) foi submetida a purificação, utilizando-se o mesmo método citado anteriormente, resultando nas

subfrações (CC-FHM-15.1 a CC-FHM-15.15). CC-FHM-15.8 forneceu o composto **CC-4**.

Resultados e Discussão

As subfrações CC-FAE-9, CC-FAE-21, CC-FAE-17.13 e CC-FHM-15.8, foram analisadas por ressonância magnética nuclear (RMN). A partir dos dados obtidos foi possível identificar a mirciafenona (**CC-1**) em CC-FAE-9 e os flavonoides luteolina (**CC-2**) e taxifolina (**CC-3**) em CC-FAE-21 E CC-FAE-17.13, respectivamente. Em CC-FHM-15.8 identificou-se a presença do ácido cafeico (**CC-4**), em mistura com outras substâncias. As estruturas dos compostos isolados estão apresentadas na **Figura 1**.

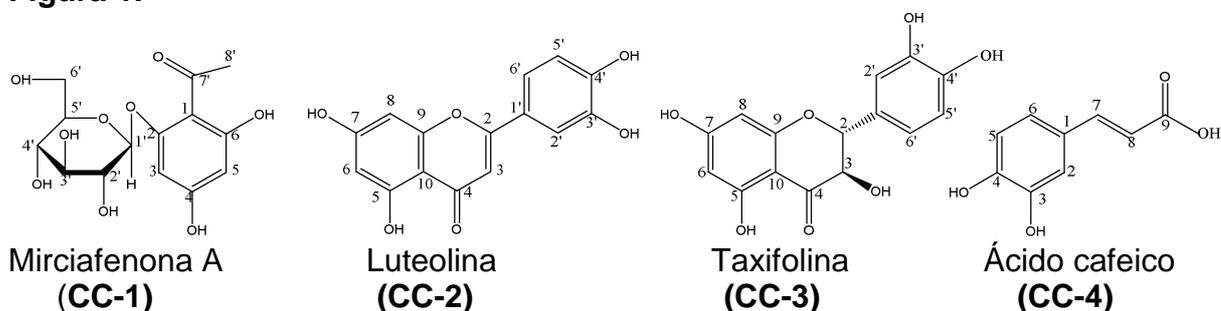


Figura 1: Compostos isolados das frações acetato de etila e hidrometanólica de *Calea cuneifolia*.

A mirciafenona (**CC-1**) foi identificada a partir dos sinais, no espectro de RMN ^1H , referentes aos hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,12 (d, $J=2,2$ Hz, H-3) e δ_{H} 5,91 (d, $J=2,2$ Hz, H-5), do grupo acetila em δ_{H} 2,62 (s, H-8, 3H) e da unidade glicosídica em δ_{H} 4,91 (d, $J=7,5$ Hz, H-1') e na região de δ_{H} 3,72 -3,76. O espectro de RMN de ^{13}C apresentou sinais do grupo acetila em δ_{C} 202,9 (C-7) e δ_{C} 33,0 (C-8), dos carbonos aromáticos em δ_{C} 104,9 (C-1), δ_{C} 161,2 (C-2), δ_{C} 100,7 (C-3), δ_{C} 165,3 (C-4), δ_{C} 94,4 (C-5) e δ_{C} 165,8 (C-6) e da glicose em δ_{C} 96,7 (C-1') e na região de δ_{C} 69,4 a 77,2. Os dados espectroscópicos foram comparados com os da literatura (SIDANA, J. *et al.*, 2013) sendo condizentes para a mirciafenona A. É a primeira vez que este composto é reportado no gênero *Calea*. A identificação da luteolina (**CC-2**) foi baseada no espectro de RMN de ^1H , que apresentou sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 7,41 (2H, m, H-2' e H-6'), δ_{H} 6,89 (d, $J=8,2$ Hz, H-5'), δ_{H} 6,19 (d, $J=2,2$ Hz, H-6), δ_{H} 6,44 (d, $J=2,0$ Hz, H-8) e δ_{H} 6,67 (s, H-3), além do sinal em δ_{H} 12,97 (s, 5-OH), referente ao hidrogênio da hidroxila. Os dados espectroscópicos foram comparados com os da literatura (ALWAHSH *et al.*, 2015), sendo condizentes para a luteolina, uma flavona pertencente à classe dos flavonoides. O espectro de RMN de ^1H de **CC-3** apresentou sinais de hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,87 (^1H , s, H-2'); δ_{H} 6,74 (2H, m, H-5' e H-6'); δ_{H} 5,89 (d, $J=2,0$ Hz, H-6) e δ_{H} 5,85 (d, $J=2,2$ Hz, H-8), além do dubleto em δ_{H} 4,96 (d, $J=11,2$ Hz, H-2) e um duplo dupleto em δ_{H} 4,49 (dd, $J=11,2$ Hz, H-3). Os dados foram comparados com os da literatura (KIM *et al.*, 2003) sendo condizentes para taxifolina. O espectro de RMN ^1H da subfração CC-FHM-15.8 mostrou sinais relativos a uma unidade cafeoila em δ_{H} 7,04 (d, $J=2,0$ H-2 Hz, H-2); δ_{H} 6,75 (d, $J=8,1$ Hz, H-5), δ_{H} 6,99 (dd, $J=8,3; 1,9$ Hz, H-6), δ_{H} 7,48 (d,

$J = 15,6$ Hz, H-7), δ_H 6,25 (d, $J = 15,9$ Hz, H-8) e δ_H 13,71 (s, 9-OH), indicando a presença de um derivado do ácido cafeico (**CC-4**).

Conclusões

No presente trabalho foi realizado o estudo químico das frações acetato de etila (CC-FAE) e hidrometanólica (CC-FHM) da espécie *Calea cuneifolia*. As frações foram purificadas por filtração em Sephadex LH-20, o que forneceu os compostos **CC-1** a **CC-3**, da fração acetato de etila e, o composto **CC-4**, da fração hidrometanólica. A partir da análise de dados de RMN de ^1H e ^{13}C , os compostos isolados foram identificados como mirciafenona A (**CC-1**), luteolina (**CC-2**), taxifolina (**CC-3**) e como um derivado do ácido cafeico (**CC-4**).

Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária, UEM

Referências

- ALWAHSH, M. A.; KHAIRUDDEAN, M.; CHONG, W. K. Chemical constituents and antioxidant activity of *Teucrium barbeyanum* Aschers. **Records of Natural Products**, Vol. 9, n. 1, p. 159-163, 2015.
- KIM, N.; GRAF, T. N.; SPARACINO, C. M.; WANI, M.C.; WALL, M. E.; Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). **Organic & Biomolecular Chemistry**. Vol. 1, 10. ed, p. 1684 -1689, 2003.
- LIMA, T. C.; SOUZA, R. J.; SILVA, F. A.; BIAVATTI, M. W.; The genus *Calea* L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities. **Phytotherapy Research**, v. 32, p. 769–795, 2018.
- LOURENÇO, T. O.; AKISUE, G.; ROQUE, N. F. Reduced acetophenone derivatives from *Calea cuneifolia*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 4, p. 773-776, 1981.
- SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. *Macapá*, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.
- SIDANA, J.; NEERADI, D.; CHOUDHARY, A.; SINGH, S.; FOLEY, W.J.; SINGH, I.P. Antileishmanial polyphenols from *Corymbia maculata*. **J. Chem. Sci.** Vol. 125, n. 4, p. 765-775, 2013.
- TAJIK, N.; TAJIK, M.; MACK, I.; ENCK, P. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. **Euro Journal of Nutrition**. v. 56, p. 2215–2244, out. 2017.