

Isolamento e determinação estrutural dos constituintes químicos das folhas de *Odontadenia lutea* (Vell.) Markgr. (Apocynaceae)

*Weber Martins da Silva Junior¹ (PG), Antônio Carlos Severo Menezes¹ (PQ).

weberjunior38@gmail.com

¹Universidade Estadual de Goiás - Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas.

Resumo: A investigação fitoquímica em Apocynaceae contribui para a descoberta de compostos bioativos ou novas fontes de moléculas. Nesse sentido, este trabalho objetivou determinar a estrutura dos constituintes químicos isolados dos extratos das folhas de *Odontadenia lutea* (Vell.) Markgr. Os extratos foram cedidos da coleção obtida pelo Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais da UEG - Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas. O extrato Acetato-etílico das folhas de *O. lutea* (OLFEA) foi fracionado por cromatografia em coluna originando um precipitado, o qual foi lavado exaustivamente com metanol resultando na fração denominada OLW10, da qual foram feitas análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 1D e 2D. A interpretação dos espectros de RMN ¹H, ¹³C, HMBC e posterior comparação com dados descritos na literatura resultaram na identificação do flavonoide Rutina (C₂₇H₃₀O₁₆ - quercetina-3-O-β-D-glicose-6"-O-α-L-raminosil). metabólito recorrentemente identificado em plantas e que apresenta, dentre outras, atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica. A rutina foi identificada pela primeira vez em *Odontadenia*.

Palavras-chave: Estudo Fitoquímico. Cromatografia. RMN. Rutina.

Introdução

As plantas da família Apocynaceae são conhecidas por apresentarem ampla gama de atividades biológicas e farmacológicas, como cardioprotetoras, hepatoprotetoras, neuroprotetoras, anti-inflamatórias, anticancerígenas e até antimaláricas. Atividades estas, que são relacionadas aos compostos químicos produzidos pelo metabolismo secundário, dentre os quais, sobressaem-se os alcaloides, flavonoides, triterpenóides, cardenolídeos, pregnanos e iridoides (CHAN; WONG; CHAN, 2016).

Os flavonoides são compostos fenólicos e várias vezes glicosídeos, cuja estrutura fundamental consiste de dois anéis aromáticos unidos por um anel heterocíclico formado por três carbonos e um oxigênio, comumente chamados de

fenilcromanoma (ANGELO; JORGE, 2007; BECHO; MACHADO; GUERRA, 2009; BARTNIK, M.; FACEY, P. C., 2017).

A pesquisa de flavonoides em plantas da família apresenta-se em peculiares vertentes, dentre os quais, o isolamento e identificação dos constituintes químicos bioativos desperta grande interesse (OKOYE; OKOYE, 2016; HOSSAIN et al., 2017). Nesse sentido, o presente trabalho objetivou determinar a estrutura dos constituintes químicos isolados dos extratos das folhas de *Odontadenia lutea* (Vell.) Markgr.

Material e Métodos

Os extratos foram cedidos da coleção obtida pelo Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais da UEG - Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas pelo Professor Dr. Antônio Carlos Severo Menezes, cuja metodologia de obtenção é descrita a seguir.

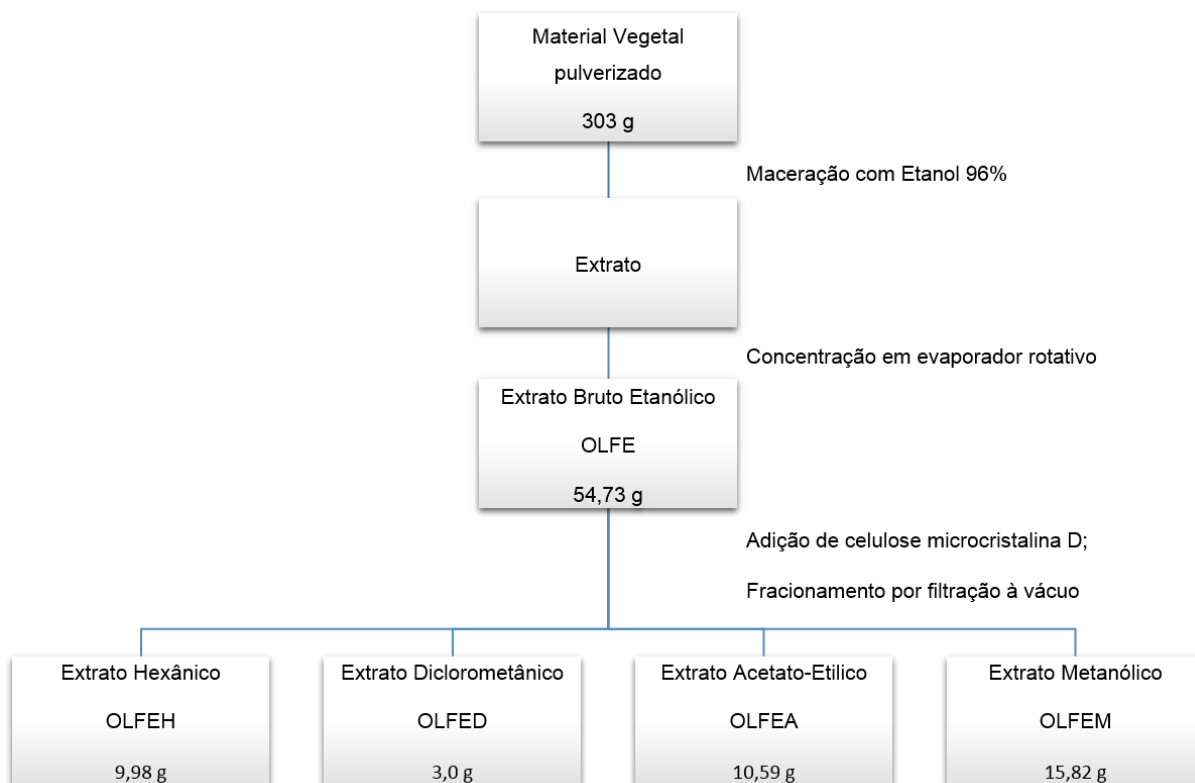
As folhas de *O. lutea* foram coletadas no Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas (CCET-UEG), tendo como coordenadas geográficas: latitude 16°22'50.5" sul e longitude 48°56'40.9" oeste. A espécie foi identificada pela Prof^a. Dr^a. Mirley Luciene dos Santos e a exsicata depositada no Herbário da Universidade Estadual de Goiás "HUEG" sob o registro 11.381.

O extrato bruto etanólico das folhas de *O. lutea* (OLFE) foi obtido a partir 303 g de folhas secas e pulverizadas. O material foi submetido à extração com etanol 96% perfazendo massa final de 54,73 g, filtrado e concentrado em evaporador rotativo (MATOS; MATOS, 1989; MATOS, 2009).

O extrato bruto etanólico (54,73 g) foi fracionado por meio de filtração a vácuo após a incorporação de celulose microcristalina D. Para tanto, utilizou-se hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol como eluentes. Os quais foram concentrados em evaporador rotativo obtendo-se os extratos hexânico (OLFEH), diclorometânico (OLFED), acetato-etílico (OLFEA) e metanólico (OLFEM), conforme

Figura 1.

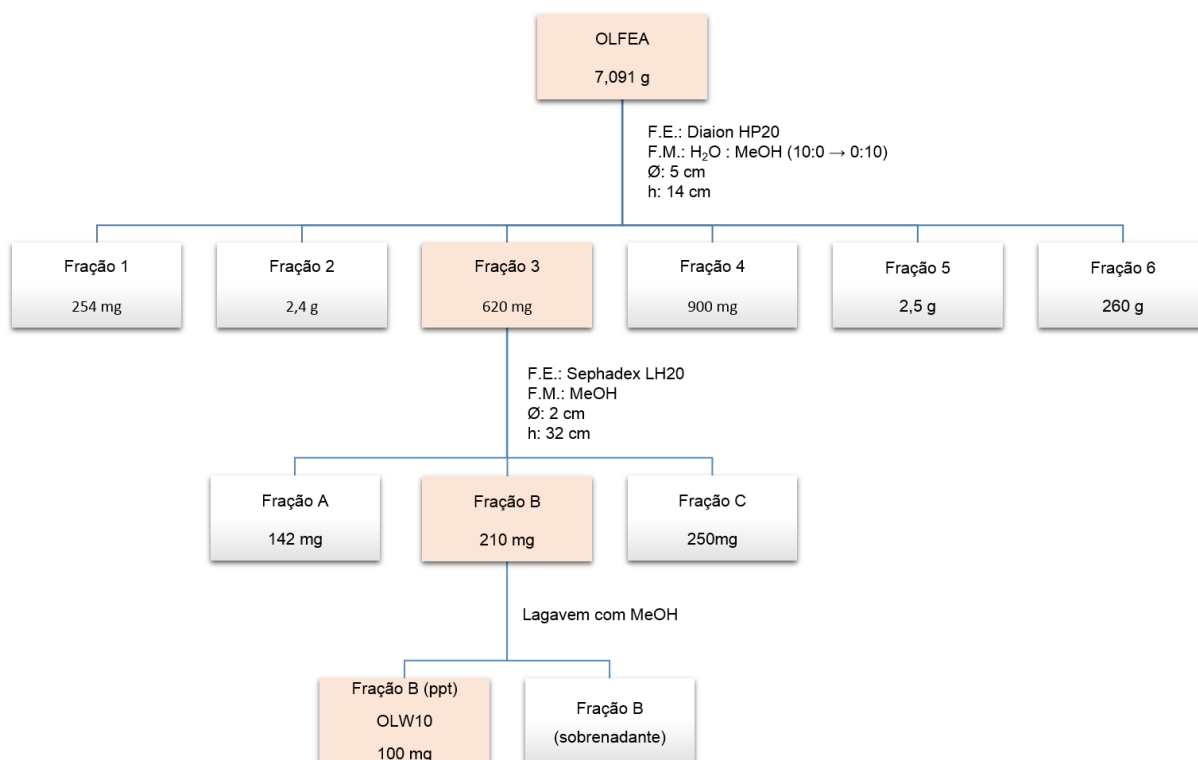
Figura 1: Obtenção e fracionamento do Extrato Bruto Etanólico das Folhas de *O. lutea*.



7,091 g do extrato OLFEA foi fracionado por cromatografia em coluna ($\Phi = 5$ cm e $h = 14$ cm), utilizando Diaion como fase estacionária e gradientes de H_2O e MeOH como fase móvel (10:0 $\rightarrow$ 0:10), obtendo-se seis frações. Das quais, a fração 3 (620 mg) foi refracionada por cromatografia de permeação em gel em coluna de Sephadex LH-20 ($\Phi = 2,0$ cm e $h = 32$ cm) eluída com MeOH, obtendo-se três frações, denominadas A, B e C. Houve a formação de precipitado na Fração B (210 mg), o qual foi lavado exaustivamente com MeOH. O procedimento descrito é mostrado na Figura 2.

Do respectivo ppt (100 mg), denominado **OLW10**, foram feitas análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) 1D e 2D 1H (MeOD, 500 MHz), ^{13}C (MeOD, 125 MHz), e HMBC pelo Laboratório e RMN do Departamento de Química da UFG – Câmpus Samambaia.

Figura 2: Fluxograma do Isolamento de OLW10.

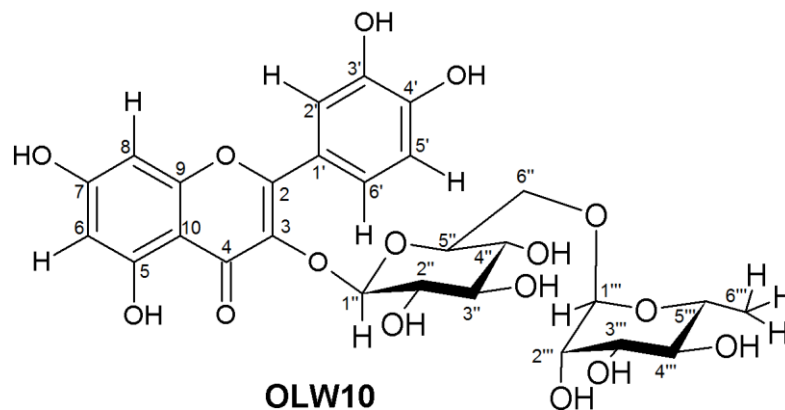


“OLFEA” – Extrato Acetato-etílico; “F.E.” – Fase Estacionária; “F.M.” – Fase móvel; “Ø” – Diâmetro da Coluna; “h” – Altura da Coluna.

Resultados e Discussão

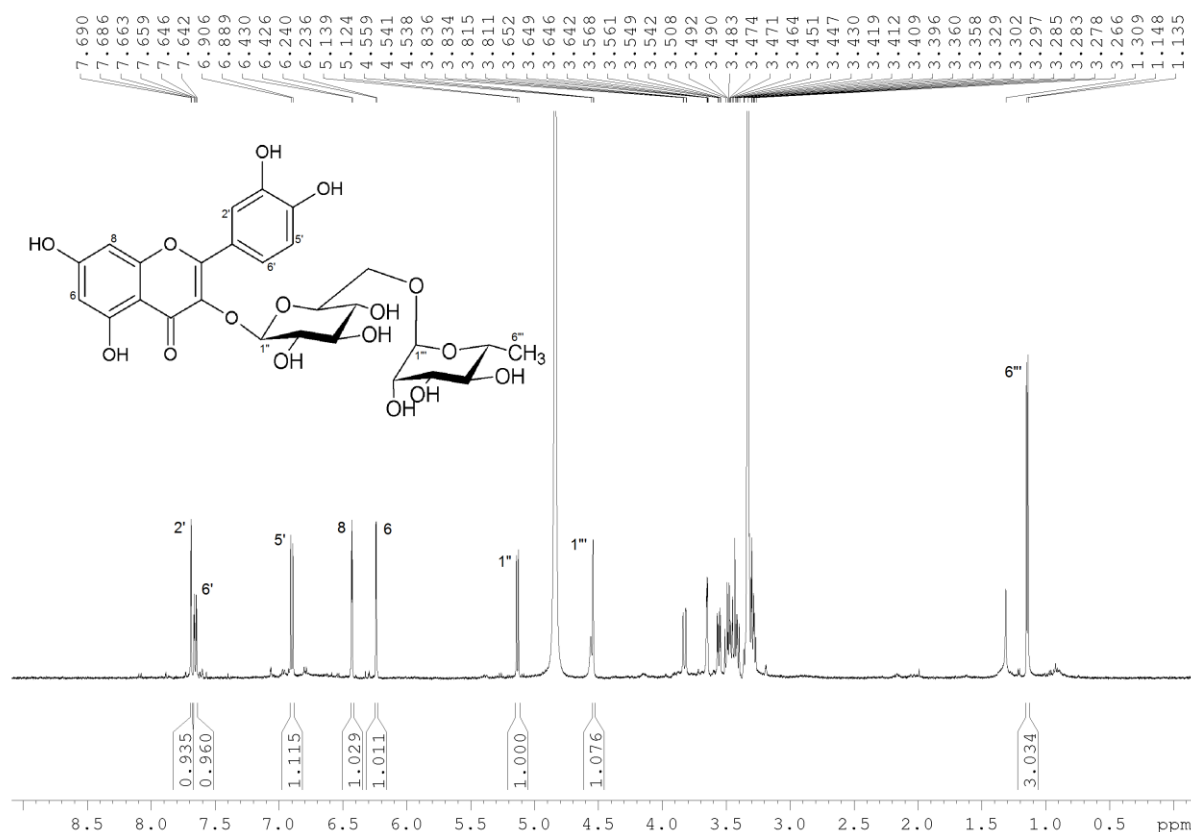
O fracionamento do extrato acetato-etílico das folhas de *O. lutea* (OLFEA) forneceu a substância **OLW10**, que apresentou-se como sólido amorfo amarelo. Identificada como Rutina com base na interpretação de dados espectroscópicos de RMN 1D, 2D e revisão de literatura. Sua estrutura química é mostrada na Figura 3.

Figura 3: Estrutura Química da Rutina.



No espectro de RMN ^1H (Figura 4) observa-se sinais cujas multiplicidades sugerem um sistema de substituição 3',4' no anel aromático B do núcleo quercentina (OKOYE; OKOYE, 2016). São eles, um duplo dubleto em δ_{H} 7,65 referente ao hidrogênio H-6' ($J = 8,4$ e $2,2$ Hz), um dubleto em δ_{H} 7,68 referente ao hidrogênio H-2' ($J = 2,2$ Hz) e um dubleto em δ_{H} 6,89 referente ao hidrogênio H-5' ($J = 8,4$ Hz). Observa-se também dois dubletos, um em δ_{H} 6,42 ($J = 2,1$ Hz) e outro em δ_{H} 6,23 ($J = 2,1$ Hz) atribuídos a H-8 e H-6, respectivamente, do anel A.

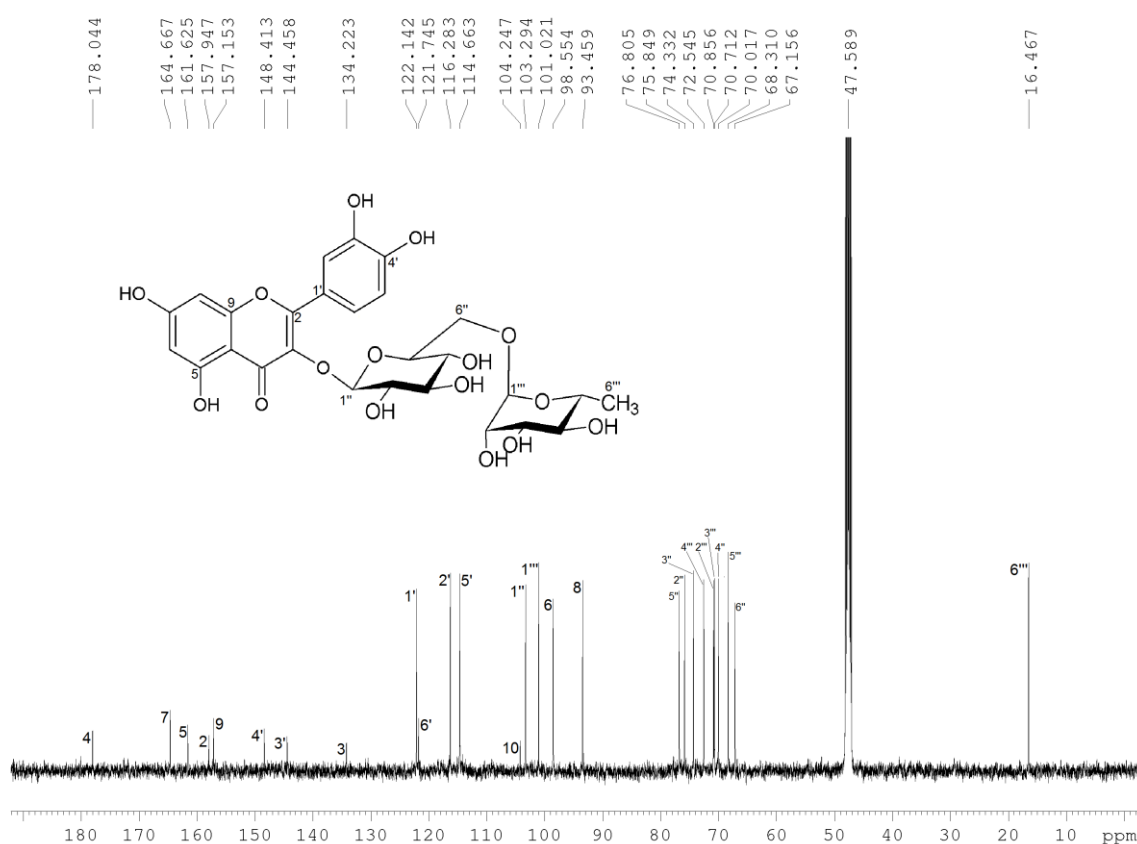
Figura 4: Espectro de RMN ^1H de OLV10 (MeOD, 500MHz).



O espectro de RMN ^1H ainda apresenta multipletos relativos a hidrogênios carbinólicos na região entre δ_{H} 3,0 e 4,0 e de hidrogênios anoméricos entre δ_{H} 4,5 e 5,5, que sugerem a ligação de unidades de açúcares a este flavonoide. Há um dubleto absorvendo em δ_{H} 5,13 ($J = 7,6$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-1'', cujo deslocamento e multiplicidade são característicos do β -D-glicosídeo. Como também um dubleto em δ_{H} 4,54 ($J = 1,1$ Hz), atribuído ao hidrogênio H-1''', além de um dubleto, integrando para três hidrogênios, em δ_{H} 1,14 ($J = 6,3$ Hz), que indicam a presença de uma unidade α -L-raminose (OKOYE; OKOYE, 2016).

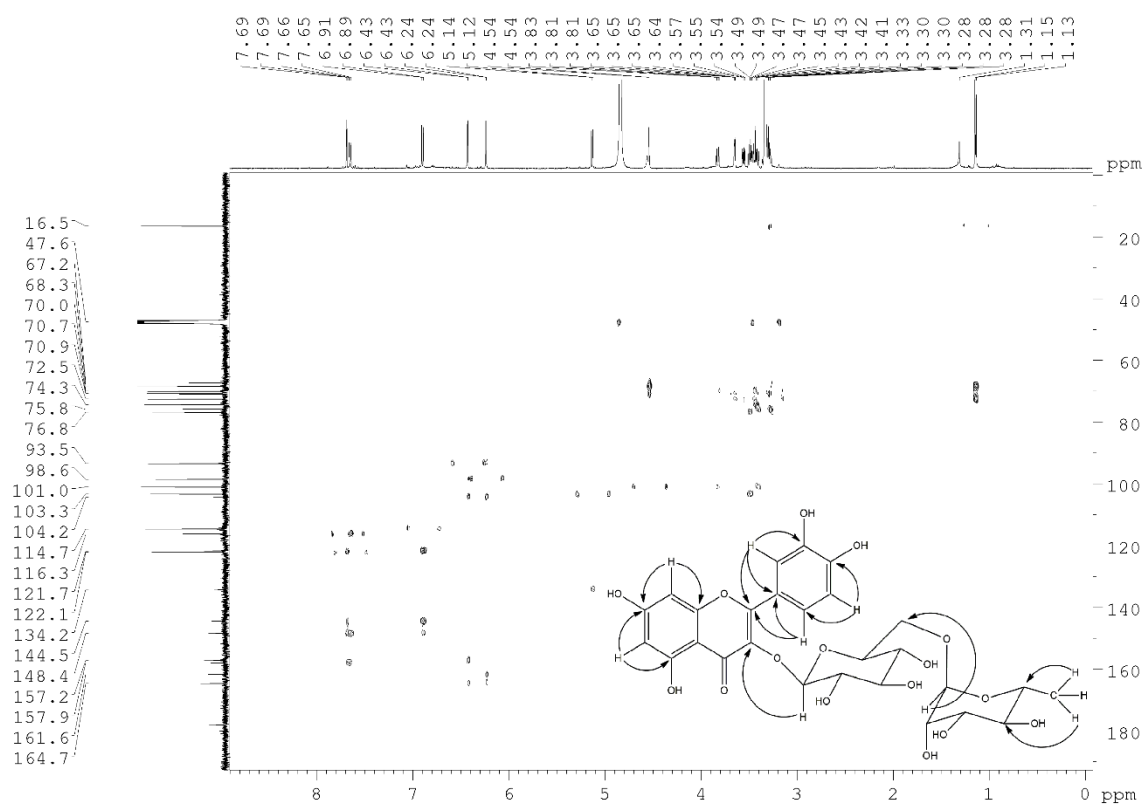
O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 5) apresenta um sinal com deslocamento químico de δ_{C} 178,0 atribuída ao carbono C-4, uma vez que é um sinal típico de carbonilas queladas em flavonoides. E a ocorrência de dez sinais na região entre δ_{C} 77,0 e 16,0 e dois sinais, um em δ_{C} 103,2 e outro em δ_{C} 101,0, referentes aos carbonos anoméricos C-1'' e C-1''', respectivamente, vem confirmar a existência das duas unidades de açúcares.

Figura 5: Espectro de RMN ^{13}C de OLW10 (MeOD, 125 MHz).



O espectro de HMBC (Figura 6) mostra a correlação do hidrogênio anomérico H-1'' (δ_{H} 70,8) da unidade de glicose com o carbono C-3 (δ_{C} 134,2) do flavonoide. Como também a correlação do hidrogênio H-1''' da unidade de ramnose com os carbonos C-2''' (δ_{C} 70,8) e C-5''' (δ_{C} 68,3) desse mesmo açúcar, e com C-6'' (δ_{C} 67,15) da glicose. Além da correlação do hidrogênio H-6'' (δ_{H} 1,14) com os carbonos C-4''' (δ_{C} 72,5) e C-5''' (δ_{C} 68,3). As principais correlações que confirmam a proposição são evidenciadas na Figura 6.

Figura 6: Espectro de HMBC de OLW10 (MeOD, ^1H 500 MHz; ^{13}C 125 MHz).



As análises dos espectros de RMN ^1H , ^{13}C , HMBC e posterior comparação com dados descritos na literatura (Tabela 1) resultaram na identificação do flavonoide Rutina ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ - quercetina-3-O- β -D-glicose-6"-O- α -L-raminosil).

Tabela 1: Comparação dos deslocamentos químicos de RMN ^1H (MeOD, 500 MHz) e ^{13}C (MeOD, 125 MHz) de OLW10 com a Literatura (MOURA; VILEGA; SANTOS, 2011).

POSIÇÃO	δ_{H} (ppm), J (Hz)		δ_{C} (ppm)	
	OLW10	Literatura	OLW10	Literatura
2	-	-	157,9	156,5
3	-	-	134,2	133,2
4	-	-	178,0	177,3
5	-	-	161,6	161,2
6	6,23 (d, J = 2,1)	6,20 (d, J = 2,1)	98,5	98,7
7	-	-	164,6	164,5
8	6,42 (d, J = 2,1)	6,40 (d, J = 2,1)	93,4	93,6

9	-	-	157,2	156,4
10	-	-	104,2	103,7
1'	-	-	122,1	121,5
2'	7,68 (d, J = 2,1)	7,53 (d, J = 2,0)	116,2	116,2
3'	-	-	144,4	115,2
4'	-	-	148,4	148,5
5'	6,89 (d, J = 8,4)	6,83 (d, J = 9,0)	114,6	115,2
6'	7,65 (dd, J = 8,4 e 2,1)	7,75 (dd, J = 7,8 e 2,4)	121,7	121,0
1''	5,13 (d, J = 7,6)	5,44 (d, J = 7,2)	103,2	101,2
2''	-	-	75,8	75,8
3''	-	-	74,3	74,0
4''	-	-	70,0	69,9
5''	-	-	76,8	76,4
6''	-	-	67,5	66,9
1'''	4,54 (d, J = 1,1)	4,38 (d, J = 1,0)	101,0	100,7
2'''	-	-	70,8	70,5
3'''	-	-	70,7	70,3
4'''	-	-	72,5	71,8
5'''	-	-	68,3	68,2
6'''	1,14 (d, J = 6,3)	0,99 (d, J = 6,0)	16,4	17,6

Considerações Finais

A Rutina foi isolada e identificada pela primeira vez em espécie de *Odontadenia*. É um metabólito recorrentemente identificado em plantas e apresenta, dentre outras, atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica (BECHO; MACHADO; GUERRA, 2009).

Estes dados integram os obtidos parcialmente no desenvolvimento da Pesquisa da Dissertação do Autor, que é vinculada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de mestrado;

Ao LabRMN - Laboratório de RMN do Instituto de Química da UFG pelas análises.

Referências

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 01–09, 2007.

BARTNIK, M.; FACEY, P. C. Glycosides. In: BADAL, S.; DELGODA, R. **Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy**. 1 ed. Academic Press, 2017. p. 102-161.

BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. O. Rutina – Estrutura , Metabolismo e Potencial Farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1, n. 1, p. 21–25, 2009.

CHAN, E. W. C.; WONG, S. K.; CHAN, H. T. Apocynaceae species with antiproliferative and/or antiplasmodial properties: a review of ten genera. **Journal of integrative medicine**, v. 14, n. 4, p. 269–284, 2016.

HOSSAIN, M. A.; SAKHTAR, S. M.; SAID, S.; AL-ABRI, T. H. A. Two new flavonoids from *Adenium obesum* grown in Oman. **Journal of King Saud University - Science**, v. 29, n. 1, p. 62–69, 2017.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3ed. Fortaleza: UFC, 2009. 150p.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. **Farmacognosia**. Fortaleza: UFC, 1989.

MOURA, A. C. S.; VILEGA, W.; SANTOS, L. C. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* Linn. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1136–1140, 2011.

OKOYE, N. N.; OKOYE, C. O. B. Anti-oxidant and Antimicrobial Flavonoid Glycosides from *Alstonia boonei* De Wild Leaves. **British Journal of Pharmaceutical Research Brazil**, v. 10, n. 6, p. 1–9, 2016.