



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**CAMPUS CUITÉ**

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO DA FASE ACETATO DE ETILA DE**  
*Sida santaremnensis* **H. MONTEIRO (MALVACEAE)**

**JOSEFA FABIANA SILVA MELO**

**CUITÉ – PB**  
**2013**

**JOSEFA FABIANA SILVA MELO**

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO DA FASE ACETATO DE ETILA DE  
*Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande-Cuité.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Danielly Albuquerque da Costa

Área de atuação: Química de Produtos Naturais

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

M528e Melo, Josefa Fabiana Silva.

Prospecção fitoquímica e estudo da fase acetato de etila de *sida santaremnensis* H. Monteiro (malvaceae). / Josefa Fabiana Silva Melo. – Cuité: CES, 2013.

46 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2013.

Orientadora: Dra. Danielly Albuquerque da Costa.

1. *Sida santaremnensis*. 2. *Malvaceae*. 3. Flavonoide glicosilado. I. Título.

CDU 615.1

**JOSEFA FABIANA SILVA MELO**

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ESTUDO DA FASE ACETATO DE ETILA DE  
*Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE)**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Farmácia,  
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 10/04/2013

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>o</sup> Dra. Danielly Albuquerque da Costa**  
**Orientador(a)-UFCG/CES**

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Marciano Henrique de Lucena Neto**  
**UFCG/CES**

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Wellington Sabino Adriano**  
**UFCG/CES**

**DEDICO,**

*Aos meus pais e ao meu esposo, por todo amor  
e carinho que me dedicam, pelo apoio e compreensão,  
e pelo incentivo nas decisões tomadas.*

*A minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Danielly Albuquerque da  
Costa por todo o apoio, incentivo e pelos conselhos. É  
uma pessoa por qual tenho uma imensa admiração, que  
nunca esquecerei e vai deixar uma saudade imensa.*

## **Agradecimentos**

- A Deus, por me guiar com sua luz divina, permitindo a concretização de mais uma etapa da minha vida;
- Aos meus pais Sebastião Silva Melo e Carmelita Luiza da Silva, que estiveram sempre presentes na minha vida, com todo amor e carinho, pelo apoio nas minhas decisões, por tudo que me ensinaram e pela lição de vida;
- Ao meu esposo Rafael Santos Ribeiro pelo incentivo, compreensão, apoio e força nas horas que mais precisei. Obrigada por tudo;
- A minha filha Emilly Rafaela Melo Ribeiro, amor da minha vida, por me proporcionar os melhores momentos de felicidade. “Te amo”.
- A todos os meus irmãos que me ajudaram direto ou indiretamente nessa minha longa caminhada;
- A todos os meus colegas que fizeram parte desta importante etapa da minha vida, pelo companheirismo;
- A todos os professores do Curso que nos impulsionaram a refletir e questionar sobre o nosso trabalho e pelo conhecimento transmitido;
- A Profª Danielly Albuquerque da Costa, pela orientação, apoio, pelos conselhos e pela amizade sincera, é uma pessoa por qual tenho uma admiração imensa. Obrigada;
- Enfim, a todos que contribuíram de alguma maneira para que esse trabalho fosse concluído.

Obrigada a todos.

## RESUMO

O presente trabalho trata da triagem fitoquímica e do estudo preliminar da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis*, espécie de Malvaceae. Como metodologia para a realização da triagem fitoquímica foi adotada a proposta por Matos (2009), empregando-se reagentes específicos para cada grupo químico. Foram pesquisados esteróides e triterpenos (Lieberman-Burchard), flavonóides (Shinoda), taninos (Gelatina), alcalóides (Dragendorff) e saponinas (Índice de Espuma). A triagem fitoquímica do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis* e de suas frações mostrou a presença de classes de metabólitos secundários tais como, triterpenos, esteroides, alcaloides, saponinas, taninos e flavonoides. Através de métodos cromatográficos e espectroscópicos foi isolado da fase acetato de etila da espécie objeto de estudo um flavonoide glicosilado, o canferol 3- *O*- $\beta$ -D-glicopiranosose (6''-1''')  $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo, o qual foi descrito pela primeira vez no gênero *Sida*. A determinação estrutural da substância foi realizada através de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , além de comparações com dados na literatura.

**Palavras-chave:** *Sida santaremnensis*, Malvaceae, flavonoide glicosilado

## ABSTRACT

This paper reports the phytochemical screening and preliminary study of ethyl acetate phase of *Sida santaremnensis*, specie of Malvaceae. The methodology for the realization of phytochemical screening proposal was adopted by Matos (2009), using reagents specific for each chemical group. Were investigated steroids and triterpenoids (Lieberman-Burchard), flavonoids (Shinoda), tannins (gelatin), alkaloids (Dragendorff) and saponins (Foam Index). The phytochemical screening of the crude ethanol extract of *Sida santaremnensis* and its fractions showed the presence of classes of secondary metabolites such as terpenoids, steroids, alkaloids, saponins, tannins and flavonoids. Through chromatographic and spectroscopic methods was isolated from the ethyl acetate phase a flavonoid glycoside, the kaempferol the 3-O- $\beta$ -D-glucopyranose (6" -1")  $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, described for the first time in the *Sida*. The structural determination of the compound was performed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance, and by comparison with literature data.

**Keywords:** *Sida santaremnensis*, Malvaceae, flavonoid glycoside

## LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
°C	Grau Celsius
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CHCl <sub>3</sub>	Clorofórmio
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
$\delta$	Deslocamento Químico
EEB	Extrato etanólico bruto
EtOH	Etanol
FeCl <sub>3</sub>	Cloreto férrico
Fr.	Fração
g	Gramma
H <sub>2</sub> O	Água
Hex.	Hexano
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamento
Kg	Kilograma
MeOH	Metanol
MeOD	Metanol deuterado
mg	Miligrama
mL	Mililitro
p.	página
P.A.	Para Análise
Rf	Fator de Retenção
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>s</i>	Simpleto
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UV	Ultravioleta

## LISTA DE QUADROS

**QUADRO 1-** Triagem fitoquímica das partes aéreas de *Sida santaremnensis* H. Monteiro... 28

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1-** Cronologia da descoberta de fármacos protótipos a partir de plantas..... 14

**TABELA 2-** Dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , MeOD, 500 e 125 MHz) da substância S1 ..... 33

**TABELA 3-** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) da substância S-1 comparados com canferol 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (6''-1''')  $\alpha$ -L- ramnosídeo obtido em MeOD..... 34

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> – <i>Sida santaremnensis</i> (H. Monteiro) .....	17
<b>FIGURA 2</b> – Determinação do Rf a partir do cromatoplaça.....	20
<b>FIGURA 3</b> - Placa cromatográfica de S-1.....	30
<b>FIGURA 4</b> – Canferol 3- <i>O</i> - $\beta$ -D- glicopiranosose glicopiranosose (6''-1''') $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo .....	32
<b>FIGURA 5</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1.....	35
<b>FIGURA 6</b> - Expansão do espectro RMN $^1\text{H}$ na região de 0,86 a 1,38 ppm ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1 .....	36
<b>FIGURA 7</b> – Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) na região de 3,0 a 4,0 ppm de S-1.....	37
<b>FIGURA 8</b> – Expansão do espectro RMN $^1\text{H}$ na região de 6,5 a 8,4 ppm ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1 .....	38
<b>FIGURA 9</b> – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ /APT ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) de S-1.....	39
<b>FIGURA 10</b> – Expansão do espectro RMN $^{13}\text{C}$ na região de 65 a 80 ppm ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) de S-1 .....	40
<b>FIGURA 11</b> – Expansão do espectro RMN $^{13}\text{C}$ na região de 116 a 180 ppm ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) de S-1 .....	41

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>ESQUEMA 1-</b> Classificação de cromatografia pela forma física .....	18
<b>ESQUEMA 2-</b> Obtenção e particionamento do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de <i>Sida santaremnensis</i> .....	25
<b>ESQUEMA 3-</b> Fracionamento da fase acetato de etila de <i>Sida santaremnensis</i> .....	28

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2. OBJETIVOS</b>	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos	13
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b>	14
3.1 Substâncias ativas como protótipos de fármacos	14
3.2 Considerações gerais sobre Malvaceae	15
3.3 Considerações gerais sobre <i>Sida</i>	15
3.3.1 Distribuição e ocorrência	15
3.3.2 Estudos farmacológicos	15
3.3.3 Metabólitos descritos no gênero <i>Sida</i>	16
3.3.4 Considerações sobre <i>Sida santaremnensis</i>	17
3.4 Métodos de purificação de metabólitos secundários	18
3.4.1 Cromatografia planar	19
3.4.2 Cromatografia em coluna	20
3.5 Métodos de identificação	22
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	23
4.1 MATERIAL	23
4.1.1 Extrativos	23
4.1.2 Cromatográficos	23
4.1.3 Espectroscópicos	23
4.2 MÉTODOS	24
4.2.1 Levantamento bibliográfico	24
4.2.2 Coleta e identificação do material vegetal	24
4.2.3 Obtenção e particionamento do EEB de <i>Sida santaremnensis</i>	24
4.2.4 Triagem fitoquímica preliminar	26
4.2.5 Fracionamento da fase acetato de etila	27
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	29
5.1 Triagem fitoquímica preliminar	29
5.2 Constituintes químicos isolados de <i>Sida santaremnensis</i>	30
<b>6. CONCLUSÃO</b>	42
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	43

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas superiores constituem uma das fontes mais importantes de novas substâncias utilizadas diretamente como agentes medicinais. Mais recentemente, além disto, elas fornecem modelos para modificações estruturais e otimização das propriedades farmacológicas e bioquímicas, servindo, inclusive, para a inspiração de químicos orgânicos, estimulando-os para enfrentar desafios na construção sintética de novas arquiteturas moleculares naturais (BRAZ FILHO, 2010).

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, etc, tem sido objeto de incessantes estudos, onde já foram comprovadas diversas ações farmacológicas destes, através de testes pré-clínicos com animais. Muitas destas substâncias têm grandes possibilidades de futuramente virem a ser aproveitadas como agentes medicinais (VALDIR FILHO, 1998).

A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de fármacos pode ser demonstrada pelos inúmeros fármacos descobertos ao longo dos anos, que foram desenvolvidos a partir de plantas e são amplamente utilizados na clínica, como exemplo, podemos citar a morfina, a emetina, a vincristina, a colchicina, a rutina, fisostigmina, atropina, etc. Assim, o isolamento e a determinação estrutural de substâncias orgânicas produzidas pelo metabolismo secundário de plantas representam importância fundamental para o desenvolvimento científico da química de produtos naturais e contribuem para o avanço de outras atividades científicas e tecnológicas no País (BRAZ FILHO, 2010).

No Brasil, plantas do gênero *Sida* (Malvaceae), como a *Sida cordifolia*, são usadas na medicina popular para o tratamento de estomatites, da asma e de congestão nasal (FRANZOTTI et al, 2000). Outras espécies do gênero *Sida* destacam-se por seus usos como adstringentes, antídotos para as peçonhas do escorpião e cobra, agentes antituberculosos, febrífugos, anti-inflamatórios, dentre outros (GUNATILAKA et al., 1980; VENKATESH et al., 1999).

Assim, baseado na importância das substâncias ativas obtidas de plantas, especificamente do gênero *Sida*, o intuito deste trabalho foi realizar uma prospecção fitoquímica e iniciar o estudo da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis* H. Monteiro, espécie pertencente à família Malvaceae, popularmente conhecida como “guanxuma” ou

“vassourinha” (PEIXOTO, 2007) e amplamente distribuída pela região Nordeste do Brasil, contudo, desconhecida do ponto de vista químico.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1-Geral**

- Contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae, através do estudo de *Sida santaremnensis*, espécie encontrada no nordeste brasileiro.

### **2.2-Específicos**

- Realizar a triagem fitoquímica do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*, de modo a direcionar o isolamento dos constituintes presentes;
- Isolar, purificar e determinar as estruturas dos constituintes químicos isolados da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis*, por meio de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Substâncias ativas como protótipos de fármacos

A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de fármacos pode ser sucintamente demonstrada pela cronologia na tabela 01.

Tabela 01: Cronologia da descoberta de fármacos protótipos a partir de plantas

Gênero	Fármaco	Data do isolamento	Categoria terapêutica
<i>Digitalis</i>	Digitoxina	1785-1875	cardiotônico
<i>Papaver</i>	morfina	1805	hipnoanalgésico
<i>Cinchona</i>	quinina	1820	antimalárico
<i>Atropa</i>	atropina	1833	anticolinérgico
<i>Physostigma</i>	fisostigmina	1864	anticolinesterásico
<i>Pilocarpus</i>	pilocarpina	1875	colinérgico
<i>Ephedra</i>	efedrina	1887	adrenérgico
<i>Erythoxylum</i>	cocaína	1895	anestésico local
<i>Chondodendrum</i>	tubocurarina	1895	bloqueador neuromuscular
<i>Claviceps</i>	ergotamina	1922	bloqueador adrenérgico
<i>Melilotus</i>	dicumarol	1941	anticoagulante
<i>Rauwolfia</i>	reserpina	1952	neuroléptico

SIMÕES et al, 2010.

É importante ressaltar que, em muitas situações, a descoberta da atividade dessas substâncias não representou apenas o surgimento de um grupo novo de substâncias, mas originou a identificação de uma nova possibilidade de intervenção terapêutica. Exemplificando, não se conheciam anestésicos locais, bloqueadores musculares, anticolinérgicos, entre outras categorias terapêuticas, antes do isolamento e estudo da atividade da cocaína, tubocurarina e atropina, respectivamente (SIMÕES et al, 2010).

### 3.2 Considerações gerais sobre Malvaceae

A família Malvaceae é constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003), ocorre por quase todas as partes do mundo, com exceção de regiões muito frias, e são particularmente abundantes nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (HEYWOOD, 1993 *apud* SILVA et al., 2005), sendo algumas espécies largamente usadas na terapêutica, como emolientes, antifebris, diuréticas, anti-inflamatórias e no tratamento de reumatismos, entre outras aplicações (AHMED et al., 1990).

Em geral, membros desta família se apresentam como ervas, arbustos, árvores, com folhas inteiras ou profundamente lobadas ou partidas; folhas grandes e vistosas (JOLY, 2002). Investigações fitoquímicas de espécies de Malvaceae descreveram o isolamento de ácidos graxos, óleos essenciais, sesquiterpenóides, triterpenos, compostos fenólicos, flavonóides, entre muitos outros compostos (SILVA et al., 2006; COSTA et al., 2007; SILVA et al., 2010).

### 3.3 Considerações sobre o gênero *Sida*

#### 3.3.1 Distribuição e ocorrência

*Sida* é um gênero botânico inserido na família Malvaceae, pertencente à ordem Malvales (STEVENS, 2003), que se apresentam como ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores (BARACHO, 1998).

O gênero *Sida* apresenta ampla distribuição neotropical com várias espécies bem representadas nas Américas. No Brasil, este gênero possui muitos representantes nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARACHO, 1998).

#### 3.3.2 Estudos farmacológicos

Espécies de *Sida* são usadas na medicina popular com diversas atividades, como a *Sida acuta*, empregada para neutralizar o veneno da serpente *Bothrops atrox*, tendo esse efeito sido investigado em laboratório (OTERO et al., 2000). A *Sida cordifolia*, conhecida como malva branca, é usada na medicina folclórica para tratamento de estomatites, bronquite asmática e congestão nasal. Os efeitos antiinflamatórios e analgésicos foram investigados para o extrato aquoso desta planta, mostrando-se bastante significativo, comprovando sua

utilização popular (FRANZOTTI et al, 2000). Estudos realizados com o óleo essencial da espécie *Sida cordifolia* demonstraram que a mesma apresenta atividade antimicrobiana (NUNES et al., 2006). A *Sida rhomboidea* Roxb é uma erva encontrada em pântanos da Índia, cujas raízes e folhas são usadas como tônico, para cura de febres, doenças do coração e todos os tipos de inflamação. Estudos farmacológicos utilizando extratos desta planta indicaram sua atividade antinociceptiva e antiinflamatória (VENKATESH et al, 1999).

### **3.3.3 Metabólitos descritos no gênero *Sida***

Investigações fitoquímicas com espécies do gênero *Sida* mostraram a presença de alcaloides (DUNSTAN et al., 1997; MEDEIROS et al 2006 apud MOURA, 2010), diterpenos, compostos nitrogenados, flavonoides, esteroides, cumarinas e ácidos fenólicos (SILVA et al., 2006). A presença de diferentes classes de metabólitos secundários neste gênero é de fundamental importância na descoberta de novas substâncias farmacologicamente ativas, já que os metabólitos descritos para *Sida* são conhecidos por apresentarem importantes propriedades, como a exemplo dos flavonoides, que apresentam atividades antiinflamatória, antialérgico, anticancerígeno; os alcaloides que possuem atividades antitumorais, antitussígenos, antiviral; os esteroides que possuem atividades anti-inflamatórias; os terpenos e taninos que ajudam no tratamento da hipertensão arterial, queimaduras, bactericida, fungicida e saponinas que possuem atividades antiviral e atuam sobre membranas celulares.

### 3.3.4 Considerações sobre *Sida santaremnensis* H. Monteiro

*Sida santaremnensis* (figura 1) é uma espécie pertencente ao gênero *Sida*, família Malvaceae, encontrada na região Nordeste do Brasil, sendo conhecida popularmente como guanxuma ou vassourinha. Segundo estudos realizados com o extrato etanólico bruto (EEB) de *Sida santaremnensis*, este apresentou atividade vasorelaxante (ARCANJO et al., 2011), antiulcerogênica (OLIVEIRA et al., 2008), antinociceptiva (MENDES et al., 2008) e anti edematogênica (MOURA, 2010). Baseado nas atividades farmacológicas evidenciadas nesta espécie é de grande importância o estudo fitoquímico de *Sida santaremnensis*, uma vez que na literatura não há relatos sobre seus metabólitos secundários, de modo a tornar possível a realização estudos farmacológicos mais detalhados com seus constituintes isolados.



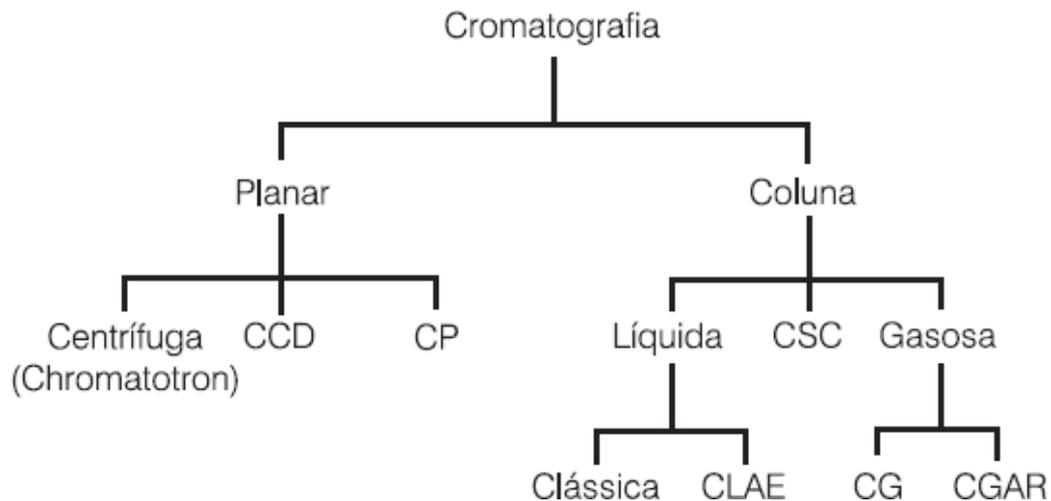
Figura 1 – *Sida santaremnensis* (H. Monteiro). Foto: Daniel Dias Rufino Arcanjo, abril de 2007, no Parque Piauí, Teresina/PI.

### 3.4 Métodos de purificação de metabólitos secundários

Atualmente, os métodos cromatográficos são os procedimentos de separação e isolamento mais amplamente utilizados para produtos naturais. A cromatografia consiste em um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição desses componentes em duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos pelas duas fases de tal forma que cada um deles é seletivamente retido pela fase estacionária, o que resulta em migrações diferenciais desses componentes (COLLINS et al, 2006).

Os métodos cromatográficos podem ser classificados, quanto à forma física do sistema cromatográfico, em dois tipos principais: cromatografia planar e cromatografia em coluna (Esquema 01).

Esquema 01: Classificação de cromatografias pela forma física



### 3.4.1 Cromatografia planar

Na cromatografia planar, a fase estacionária é suportada sobre uma superfície plana ou nos interstícios de um papel. Os métodos planares de cromatografia mais utilizados são: cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia em papel (CP). A fase móvel desloca-se através da fase estacionária por ação da capilaridade, algumas vezes assistida por potencial elétrico ou gravitacional.

Atualmente, a maior parte da cromatografia planar está baseada em técnicas de camada delgada, que é a mais rápida, tem melhor resolução e é mais sensível (SKKOG et al., 2009).

A cromatografia em camada delgada é uma técnica de adsorção líquido-sólido que consiste na separação dos componentes de uma mistura, através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana. Nesse caso, a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária. Esta técnica apresenta múltiplas vantagens, tais como: fácil compreensão e execução, separações em breve espaço de tempo, versatilidade, grande reprodutibilidade e baixo custo. Por ser de aplicação analítica, sua aplicação principal é a identificação e análise de misturas de substâncias orgânicas e inorgânicas (COLLINS et. al, 2006).

Na cromatografia em camada delgada analítica uma fina camada de adsorvente é espalhada sobre uma placa. Na extremidade desta placa recoberta pelo adsorvente e seca, chamada cromatoplaça, a amostra é aplicada com auxílio de um capilar, obtendo-se pequenas manchas. A placa cromatográfica é colocada em uma câmara fechada contendo um eluente que percorre a fase fixa em movimento ascendente por ação capilar, carregando consigo a amostra orgânica. A visualização dos compostos pode ser feita a olho nu, através de luz ultravioleta e por vapores de iodo, em recipientes fechados. A distância percorrida por cada composto em uma amostra, dividido pela distância percorrida pelo solvente é conhecido por fator de retenção ( $R_f$ ). Para o cálculo do valor de  $R_f$  (figura 2) mede-se a distância que a substância deslocou ( $X$ ) a partir do ponto de aplicação e divide-se pela distância percorrida ( $Y$ ) pela frente do solvente a partir do ponto original da amostra (MARQUES e BORGES, 2007).

Quando as condições de medida são completamente especificados, o valor de  $R_f$  é constante para uma dada substância, e corresponde a uma propriedade física daquele composto (PALOSHI et al, 1998).

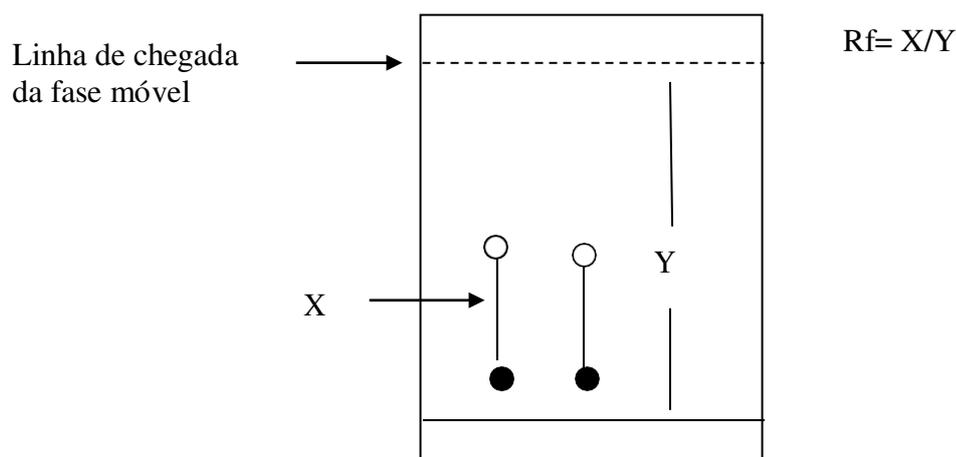


Figura 2. Determinação do Rf a partir do cromatoplaca

A cromatografia em papel, por sua vez, é frequentemente relacionada à cromatografia em camada delgada. As técnicas experimentais são semelhantes às de CCD. É considerada, comumente, uma técnica de partição líquido-líquido e não sólido-líquido. A amostra é depositada perto da base de um papel de filtro e o papel é colocado em uma câmara de desenvolvimento. O solvente migra por capilaridade e os componentes movem-se em diferentes velocidades. Embora o papel consista de celulose praticamente pura, ela não funciona como sendo a fase estacionária. Sua função é a de absorver água da atmosfera, sendo esta água absorvida sobre a celulose que funciona como fase estacionária. Os compostos são separados entre a fase aquosa estacionária e o solvente em movimento no papel. Sua principal aplicação está relacionada a compostos altamente polares, como por exemplo, açúcares, aminoácidos, pigmentos naturais, íons, etc (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

### 3.4.2 Cromatografia em coluna

Na cromatografia em coluna, a fase estacionária é mantida dentro de um tubo estreito através do qual passa a fase móvel (SKOOG et al., 2009). Considerando o estado físico da fase móvel, distingue-se a cromatografia gasosa, onde a fase móvel é um gás, a cromatografia líquida, onde a fase móvel é um líquido, e a cromatografia supercrítica, onde se usa como fase móvel um vapor pressurizado, em temperatura acima de sua temperatura crítica, mas mantendo as propriedades de interações com os solutos (COLLINS et al., 2006).

A cromatografia gasosa serve para separar componentes a partir de uma mistura de compostos voláteis (COLLINS et al., 2006). Na cromatografia gasosa a amostra é vaporizada

e injetada no topo de uma coluna cromatográfica. A eluição é feita por fluxo de um gás inerte que atua como fase móvel. Há dois tipos de cromatografia gasosa: cromatografia gás-sólido e a cromatografia gás-líquido. A cromatografia gás-líquido tem ampla aplicação em todas as áreas das ciências: o seu nome foi reduzido para cromatografia gasosa (GC). A cromatografia gás-sólido está baseada em uma fase estacionária sólida, na qual a retenção dos analitos é consequência de adsorção física. Ela tem aplicação limitada devido à retenção semipermanente de moléculas polares ou ativas e às marcantes caudas dos picos de eluição. Assim, esta técnica não tem ampla aplicação, exceto para separação de certas espécies gasosas de baixo peso molecular (SKOOG, et al., 2009).

A cromatografia líquida em coluna também se divide em dois grupos: a cromatografia líquida clássica (CLC), feitas em coluna de vidro e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que usa colunas metálicas e pressões de fase móvel elevadas, obtidas com auxílio de uma bomba de alta pressão (COLLINS et al., 2006).

O processo de separação dos componentes da mistura a ser analisada na cromatografia líquida em coluna baseia-se em quatro modalidades:

1. Cromatografia de partição: separação dos componentes de uma mistura com base nos seus coeficientes de partição entre dois solventes imiscíveis que constituem as fases móvel e estacionária;
2. Cromatografia de adsorção: baseia-se na adsorção dos componentes de uma solução sobre a fase estacionária sólida constituída por partículas finas de adsorventes polares ou apolares, sendo que o componente que for mais fortemente atraído pelo adsorvente será deslocado pela fase móvel de forma mais lenta;
3. Cromatografia de troca iônica: aplicada na separação de substâncias contendo grupamentos ionizáveis, como aminoácidos e alcaloides, baseiam-se no intercâmbio de íons entre a fase móvel e resinas contendo grupos funcionais;
4. Cromatografia de exclusão ou de filtração molecular: baseia-se no tamanho das moléculas do soluto que passam através da fase estacionária, constituída por um gel poroso, as moléculas maiores não conseguem penetrar nos poros e são arrastadas pela fase móvel, enquanto as moléculas de menor tamanho, capazes de penetrar nos poros da fase estacionária são retidas por mais tempo no interior da coluna. Para este tipo de cromatografia utilizam-se géis derivados do dextrano, como o produto comercialmente conhecido como Sephadex (SIMÕES et al., 2010)

Na CLC a fase estacionária é colocada em um tubo de vidro cilíndrico contendo, na extremidade inferior uma torneira. A amostra é dissolvida em uma pequena quantidade de solvente e adicionada na extremidade superior, deixando-o percolar pela fase estacionária (MARQUES e BORGES, 2007). O sistema é operado, quase sempre, de forma completamente manual e a eluição é promovida pela força da gravidade. Isso faz com que todo preparado da coluna, a adição constante da fase móvel, a introdução da amostra e coleta de frações sejam realizadas pelo operador. Apesar de não possuir a mesma eficiência de separação que a CLAE e ser um processo que demanda gasto de tempo, apresenta vantagens como menor custo, maior capacidade preparativa e simplicidade operacional (COLLINS, 2006).

A CLAE é também conhecida por cromatografias de alta velocidade, alta pressão, alto desempenho e alta resolução por utilizar colunas fechadas recheadas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel, eluída sob altas pressões. Essas colunas são reaproveitáveis, porém mais caras. Uma injeção precisa da amostra é conseguida usando-se uma válvula de injeção. Vários tipos de detectores são colocados na saída da coluna para proporcionar o registro contínuo da composição do efluente para posterior identificação dos componentes da amostra. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e detectabilidade. O sistema, por ser automatizado, quando comparado a CLC é menos dependente do tempo do operador (COLLINS, 2006).

### **3.5 Métodos de identificação**

Entre os métodos físicos de análise para identificação estrutural de substâncias naturais, a espectrometria de massas, a espectroscopia no ultravioleta (UV), no visível e no Infravermelho (IV), bem como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de hidrogênio e carbono 13 constituem os mais amplamente empregados (SIMÕES et al, 2010).

A identificação da substância isolada durante a realização do trabalho foi feita através da análise de espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , que consiste em uma das ferramentas mais valiosas para a determinação estrutural de compostos orgânicos, por permitir caracterizar o número e o tipo de átomos de H e C, contribuindo assim para o estabelecimento do esqueleto da molécula (SIMÕES et al, 2010).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1. Extrativos

Os solventes utilizados na preparação e fracionamento dos extratos de *S. santaremnensis* foram analiticamente puros (P.A) obtidos das marcas Vetec e Merck, destacando-se o hexano, clorofórmio, acetato de etila, diclorometano e metanol.

Para evaporação dos solventes, foi utilizado evaporador rotativo Quimis acoplado a bomba de vácuo. Na secagem total dos extratos e frações, que continham água, foi utilizado liofilizador constituído de Micro Modulyo Edwards acoplado a uma bomba de alto vácuo ValPump VLP80 Savant.

Na dissolução das amostras foi utilizado banho de ultrasonic, modelo Cleanner Thournton da Marconi e chapa aquecedora Fisatom, modelo 725A. As medições de massa das amostras foram realizadas em balança analítica, modelo FA2104N.

#### 4.1.2 Cromatográficos

Para as cromatografias em coluna foram utilizadas colunas de vidro de tamanho e diâmetro variados usando como fase fixa sephadex LH-20. Na análise das amostras por cromatografia em camada delgada analítica foram utilizadas placas da Merck em alumínio, as quais foram observadas no Ultravioleta-Visível e reveladas em vapores de iodo.

#### 4.1.3 Espectroscópicos

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos na Universidade Federal da Paraíba (UFPB) através de parceria firmada com esta instituição de ensino. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  foram obtidos no espectrômetro MERCURY- VARIAN a 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) E 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ).

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Levantamento bibliográfico

Durante o desenvolvimento do trabalho foi realizada atualização bibliográfica sobre a espécie estudada no Chemical Abstract, NAPRALERT e Web of Science, com constante coleta de informações, visando à implementação de novas ideias e conhecimentos atualizados.

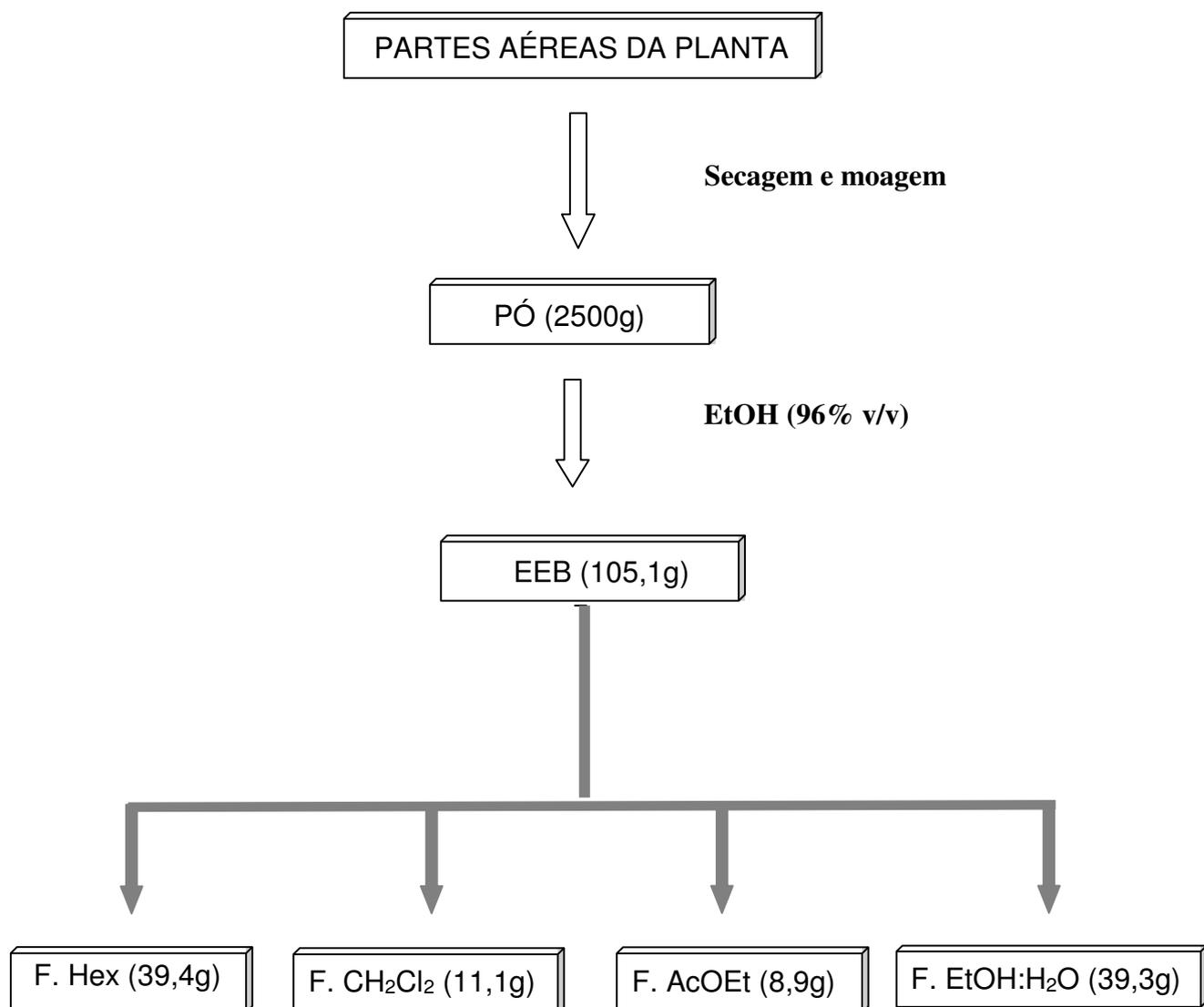
### 4.2.2 Coleta e identificação do material vegetal

A espécie estudada *Sida santaremnensis* (partes aéreas) foi coletada no Parque Piauí (Teresina- PI) em abril de 2007, no período da manhã, já que a hora do dia exerce influência sobre o acúmulo de metabólitos vegetais. A identificação botânica foi realizada pela Botânica Dra Gardene Maria de Sousa, sendo uma exsicata depositada no Herbário Graziela Barroso, sob o código 21867.

### 4.2.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*

O material vegetal (7 kg) foi desidratado ao ar livre, e posteriormente submetido à moagem empregando-se moinho de facas. O pó obtido (2500g) foi levado à maceração em etanol a 96%, tendo sido esse processo repetido oito vezes, até a completa extração. Em seguida, a solução extrativa foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida e, logo após, o material colocado em liofilizador para eliminação da água, sendo obtidos 105,1g do extrato etanólico bruto, o qual foi solubilizado em uma solução hidroalcoólica MeOH: H<sub>2</sub>O (7: 3), e submetida ao particionamento com solventes em gradiente crescente de polaridade, utilizando-se o hexano, o diclorometano e acetato de etila que após concentrados em evaporador rotativo, resultaram nas respectivas fases: hexânica (39,4g), diclorometânica (11,1g), acetato de etila (8,9g) e hidroalcoólica (39,3g) (Esquema 2, p. 25).

**Esquema 2-** Obtenção e particionamento do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de *Sida santaremnensis*



Obs: Foi observado perda de material durante o particionamento, o qual deve-se ao processo de transferência do extrato para outras vidrarias durante o experimento.

#### 4.2.4 Triagem fitoquímica preliminar

O extrato etanólico bruto das partes aéreas de *S. santaremnensis* e as respectivas fases obtidas após o particionamento (hexânica, diclorometânica, acetato de etila e hidroalcolica) foram submetidos à triagem fitoquímica preliminar, empregando-se reagentes específicos para classe de esteroides e triterpenos (Lieberman-Burchard), flavonoides (Shinoda), taninos (Gelatina), alcaloides (Dragendorff) e saponinas (Índice de Espuma) seguindo a metodologia descrita por Matos (2009) ou Biavatti et al. (2007) sendo adotado o seguinte procedimento para cada tipo de metabólito pesquisado:

##### 1- Flavonoides

Realizou-se o teste de cianidina ou Shinoda (HCl concentrado e magnésio). Onde solubilizaram-se 100 mg do EEB e das respectivas fases (hexânica, diclorometânica, hidroalcolica, acetato de etila) de *S. santaremnensis* em etanol a 96%, em seguida adicionou a 2 mL do extrato e das respectivas fases, aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita com 2 ml de ácido clorídrico concentrado. O fim da reação deu-se pelo término de efervescência.

-Aparecimento de coloração que variou de rósea a vermelha, indicou a presença de flavonoides no extrato.

##### 2- Taninos

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL do extrato e das respectivas fases solubilizados em água destilada, foi adicionado 3 gotas de solução de gelatina a 3% e agitado suavemente.

- Aparecimento de turvação ou precipitação indica presença de taninos;

##### 3- Alcaloides

Realizou-se a reação de drangerdorff, no qual o EEB e das fases de *Sida santaremnensis*, foram solubilizados em clorofórmio. Em seguida, transferiu-se 1 mL de cada solução obtida para tubos de ensaio respectivos e adicionou-se a estes 0,8 mL de hidróxido de sódio a 1%. Posteriormente, os tubos foram agitados suavemente e acrescentou-se aos mesmos 3 a 4 gotas do reagente de Drangerdorff. A formação de precipitado ou turvação indicou possível presença de alcaloide;

#### 4- Saponinas

Solubilizou-se 100 mg do EEB e das fases de *Sida santaremnensis* em água destilada, em seguida foram transferidos 2 mL das soluções extrativas para tubos de ensaio respectivos que foram agitados energeticamente por 15 segundos.

- O teste foi considerado positivo quando houve a formação de espuma persistente por mais de 15 minutos;

#### 5- Esteroides e triterpenos

Foi realizado o teste de Lieberman-Buchard no qual foram solubilizados 100 mg do EEB e das respectivas fases em clorofórmio. Em seguida foi transferido 2 mL de cada solução para respectivos tubos de ensaio. Adicionou-se a estes 1 mL de anidrido acético, agitando-os suavemente. Posteriormente, acrescentou-se três gotas de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado em cada tubo e foi observado o desenvolvimento de cores:

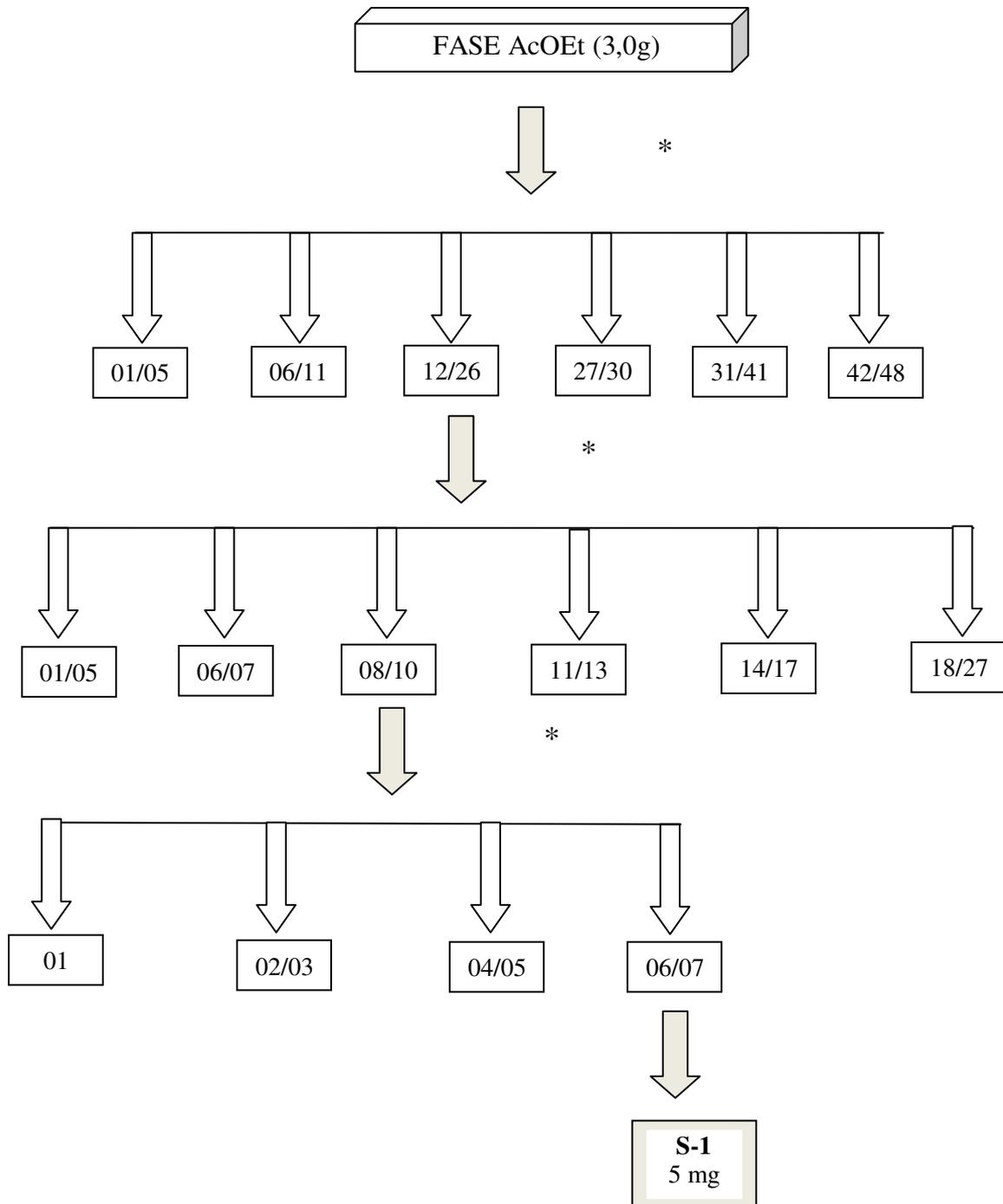
- Coloração azul evanescente seguida de verde permanente indicou a presença de esteroides livres;

- Coloração parda até vermelha indicou a presença de triterpenoides pentacíclicos livres.

#### 4.2.5 Fracionamento da fase acetato de etila

A fase acetato de etila (3,0g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária o sephadex LH-20 e como eluente o metanol, resultando em 48 frações de 5 mL. Em seguida, estas foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica e reunidas de acordo com seus R<sub>f</sub>'s, obtendo-se seis sub-frações. Destas, a sub-fração 12/26 (500 mg) foi recromatografada nas mesmas condições anteriores, resultando em 27 frações, que foram também comparadas e reunidas de forma semelhante às frações anteriores (Esquema 2, p.25). A sub-fração 08/10 (100 mg) resultante da coluna 02 mostrou-se promissora após ser evidenciada em UV-visível e revelada em vapores de iodo, sendo submetida a processo de recromatografia. Desta coluna, foram obtidas 07 frações, sendo que a sub-fração 06/07 (5 mg) após ser analisada por CCDA apresentou-se pura (Esquema 3, p.28) O critério de pureza empregado para as substâncias foi a obtenção de uma única mancha uniforme em cromatoplaça, variando-se o sistema de solvente empregado.

**Esquema 3-** Fracionamento da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis*



\* Coluna em Sephadex LH 20  
Fase móvel- metanol

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Triagem fitoquímica

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais ou avaliar sua presença nos mesmos. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES et al., , 2010).

A realização da prospecção fitoquímica do extrato etanólico bruto e das fases hexânica, diclorometânica, acetatoetílica e hidroalcoólica de *Sida santaremnensis* mostrou a presença de classes importantes de metabólitos secundários, conforme observa-se no quadro 1. Os resultados foram considerados positivos pela formação de turvação ou precipitados e surgimento de coloração ou espuma, sendo classificados em fraco positivo (+), moderado positivo (++) e forte positivo (+++), pela intensificação destes e negativo (-) pela ausência dos mesmos. A técnica de prospecção preliminar permitiu fazer uma abordagem do comportamento químico do material vegetal, servindo como instrumento valioso para a seleção de qual fase escolher para início do estudo, de forma a se obter resultados rápidos, oferecendo ao pesquisador certo grau de familiaridade com o material trabalhado.

**Quadro 1-** Triagem fitoquímica das partes aéreas de *Sida santaremnensis* H. Monteiro

PESQUISA		RESULTADO				
METABÓLITO SECUNDÁRIO	TESTE	EEB	FASE HEX	FASE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	FASE ACOET	FASE ETOH:H <sub>2</sub> O
Esteroides	Lieberman-Burchard	++	++	++	-	-
Triterpenos	Lieberman-Burchard	+	+	+	++	-
Flavonoides	Shinoda	+	-	+	++	+++
Taninos	Gelatina	+	-	-	++	+++
Alcaloides	Dragendorff	++	-	++	+	++
Saponinas	Índice de Espuma	+	-	-	++	++

O sinal (+) indica presença e (-) ausência do constituinte químico

Os resultados obtidos na triagem fitoquímica do EEB e das respectivas fases de *S. santaremnensis*, apesar de preliminares para essas diferentes classes de substâncias, apresentam-se animadores e criam possibilidades para investigações relacionadas à estrutura e atividade dos componentes de cada fase obtida, uma vez que as classes detectadas, como por exemplo, os flavonóides, possuem importantes atividades biológicas relatadas na literatura, entre as quais, podemos citar antimicrobiana, antiviral, antiulcerogênica, citotóxica, antineoplásica, antioxidante, antihepatotóxica, antihipertensiva, hipolipidêmica, antiinflamatória, antiplaquetário, entre outras (PELZER et al., 1998 *apud* MACHADO et al., 2008), e ainda os alcalóides que possuem propriedades anestésicas, estimulantes e diversas outras de grande utilidade na terapêutica (SIMÕES et al., 2010).

Neste trabalho, priorizou-se o fracionamento e purificação dos constituintes da fase acetato de etila. Isto deve-se ao fato desta fase ter apresentado ao final da triagem fitoquímica a maior variedade de classes de metabólitos secundários quando comparada as outras obtidas do particionamento do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*, possibilitando uma maior diversidade de metabólitos a serem purificados.

## 5.2 Constituintes químicos isolados de *Sida santaremnensis*

O fracionamento da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis* resultou no isolamento de uma substância, codificado como S-1. Esta substância apresentou características de pó amorfo com coloração amarelada, visível a olho nu e com fluorescência no UV- visível (figura 3), o qual suspeitou-se tratar de um flavonoide.

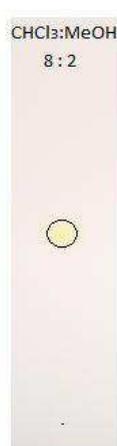


Figura 3- Placa cromatográfica da substância S-1. Fonte dados da pesquisa

A identificação estrutural da substância S-1, isolada de *Sida santaremnensis* foi baseada na análise dos dados obtidos através dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e comparação com dados na literatura. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância S-1 (figura 5, p. 35) e suas expansões (Figuras 6, 7 e 8, p. 36, 37 e 38) exibiram dois dupletos com sinais intensos em  $\delta$  7,99 (2H,  $J=10$  Hz) e  $\delta$  6,83 (2H,  $J=10$  Hz), acoplado *orto*, o que permitiu sugerir um sistema AA'BB', típico de esqueleto flavonoídico com anel B *p*-substituído, geralmente encontrado em espécies da família Malvaceae. Esta proposta foi fortalecida pelos sinais em  $\delta$  6,11 (*d*, 1H,  $J=5,0$  Hz) e  $\delta$  6,27 (*d*, 1H,  $J=5,0$  Hz), mostrando acoplamento *meta*, atribuídos aos hidrogênios 6 e 8, respectivamente, comum em flavonóides com substituintes nos carbonos 5 e 7 (HARBONE, 1994). A ausência de sinal para um simpleto entre  $\delta$  6,39 – 6,94 característico do hidrogênio 3 das 5,7-diidroflavonas, sugere que esta posição esteja substituída. Uma unidade de glicose com configuração  $\beta$  para a molécula de S-1 foi sugerida pelo duplete em  $\delta$  5,04, com constante de acoplamento igual a 5,0 Hz. Esta sugestão foi fortalecida pelos sinais em  $\delta$  3,35 e  $\delta$  3,77, referentes a dois duplos dupletos, atribuídos aos hidrogênios metilênicos do carbono 6 na molécula de glicose, além dos picos para hidrogênios oximetínicos observados entre  $\delta$  3,26 a  $\delta$  3,44. Adicionalmente neste espectro, foram reveladas absorções em  $\delta$  4,50 (*d*, 2H, 5,0 Hz) e  $\delta$  1,11 característicos de hidrogênio anomérico e metílico de ramnose, respectivamente, que permitiram inferir a presença dessa unidade na estrutura em análise (ROSOANAIVO et al., 1990).

Através da análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de S-1 (figura 9, p. 39) e suas expansões (Figuras 10 e 11 p. 40 e 41), observou-se deslocamentos químicos para o padrão do canferol (3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona) pelos picos em  $\delta$  179,06, referente ao grupo carbonila com substituintes oxigenados nas posições 3 e 5, bem como em  $\delta$  135,48,  $\delta$  162,51,  $\delta$  165,68 e  $\delta$  161,19, condizentes com os carbonos não hidrogenados 3,5,7,4', respectivamente, segundo comparações com a literatura (AGRAWAL, 1989). Observou-se também quatro sinais intensos referentes a dois sistemas AA'BB' fortalecendo a sugestão do espectro de RMN  $^1\text{H}$ . As duas absorções em  $\delta$  116,02 e  $\delta$  132,29 foram propostas para os carbonos 3',5' e 2',6', respectivamente, do anel B do flavonóide. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  corroborou ainda com a sugestão da presença de duas unidades osídicas ao revelar sinais para dois carbonos anoméricos em  $\delta$  102,24 e  $\delta$  104,76. A proposta de que um desses resíduos tratava-se de ramnose foi fortalecida pelo sinal para carbono metílico em  $\delta$  17,8. Outros sinais entre  $\delta$  71,3 e  $\delta$  77,9 para carbonos metínicos, além de sinal em  $\delta$  68,5 para carbono metilênico fortaleceu a proposta de que o outro resíduo de açúcar tratava-se da glicose, contudo, provavelmente não

encontrava-se livre, pois quando isso acontece o carbono metilênico absorve normalmente em  $\delta$  62,0 (KAOUADJI et al, 1990). Tal fato permitiu propor que a unidade de ramnose deveria estar ligada ao carbono 6'' da glicose.

As interpretações dos dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Tabela 2, p.33) e comparações com os valores da literatura (Tabela 3, p. 34) permitiram confirmar a hipótese anterior e identificar S-1 como sendo o canferol 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosose (6''-1''')  $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo (figura 4) , descrito pela primeira vez no gênero *Sida*.

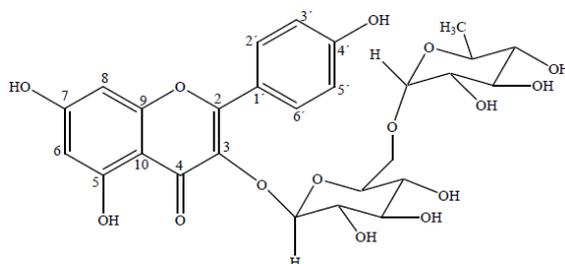
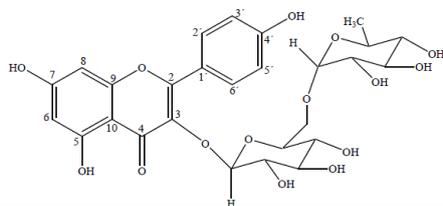
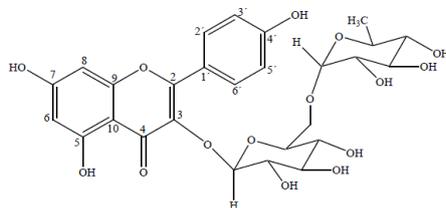


Figura 4- Canferol 3- *O* -D-  $\beta$ -glicopiranosose glicopiranosose (6''-1''')  $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo

**Tabela 2.** Dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , MeOD, 500 e 125 MHz) da substância S-1

	<b>H</b>	<b>C (<math>\delta</math>)</b>
<b>2</b>	-	159,23
<b>3</b>	-	135,48
<b>4</b>	-	179,06
<b>5</b>	-	162,51
<b>6</b>	6,11 ( <i>d</i> , 1H, 5,0 Hz)	99,93
<b>7</b>	-	165,68
<b>8</b>	6,27 ( <i>d</i> , 1H, 5,0 Hz)	94,96
<b>9</b>	-	158,16
<b>10</b>	-	105,45
<b>1'</b>	-	122,55
<b>2',6'</b>	7,99 ( <i>d</i> , 2H, $J=10$ Hz)	132,29
<b>3',5'</b>	6,83 ( <i>d</i> , 2H, $J=10$ Hz)	116,02
<b>4'</b>	-	161,19
<b>1''</b>	5,04 ( <i>d</i> , 1H, $J=5,0$ Hz)	104,76
<b>2''</b>	3,44 <i>m</i>	75,63
<b>3''</b>	3,44 <i>m</i>	77,97
<b>4''</b>	3,26 <i>m</i>	71,27
<b>5''</b>	3,35 <i>m</i>	76,91
<b>6''</b>	3,77 <i>m</i> 3,35 <i>m</i>	68,50
<b>1'''</b>	4,50	102,24
<b>2'''</b>	3,65 <i>m</i>	71,90
<b>3'''</b>	3,53 <i>m</i>	72,22
<b>4'''</b>	3,27 <i>m</i>	73,83
<b>5'''</b>	3,42 <i>m</i>	69,59
<b>6'''</b>	1,11 ( <i>d</i> , 1H, $J=5,0$ Hz)	17,86

**Tabela 3.** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) da substância S-1 comparados com canferol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (6''-1''')  $\alpha$ -L-ramnosídeo obtido em MeOD (AGRAWAL, 1989).



$\delta$ C	S-1	canferol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosose (6''-1''') $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo
2	159,23	158,7
3	135,48	135,5
4	179,06	179,4
5	162,51	163,0
6	99,93	100,0
7	165,68	166,2
8	94,96	95,0
9	158,16	159,4
10	105,45	105,6
1'	122,55	122,8
2',6'	132,29	132,4
3',5'	116,02	116,2
4'	161,19	161,5
1''	104,76	104,6
2''	75,6	75,6
3''	77,9	78,1
4''	71,3	71,5
5''	76,9	77,8
6''	68,5	68,6
1'''	102,24	102,6
2'''	71,9	72,1
3'''	72,2	72,3
4'''	73,8	73,4
5'''	69,5	69,7
6'''	17,8	17,9

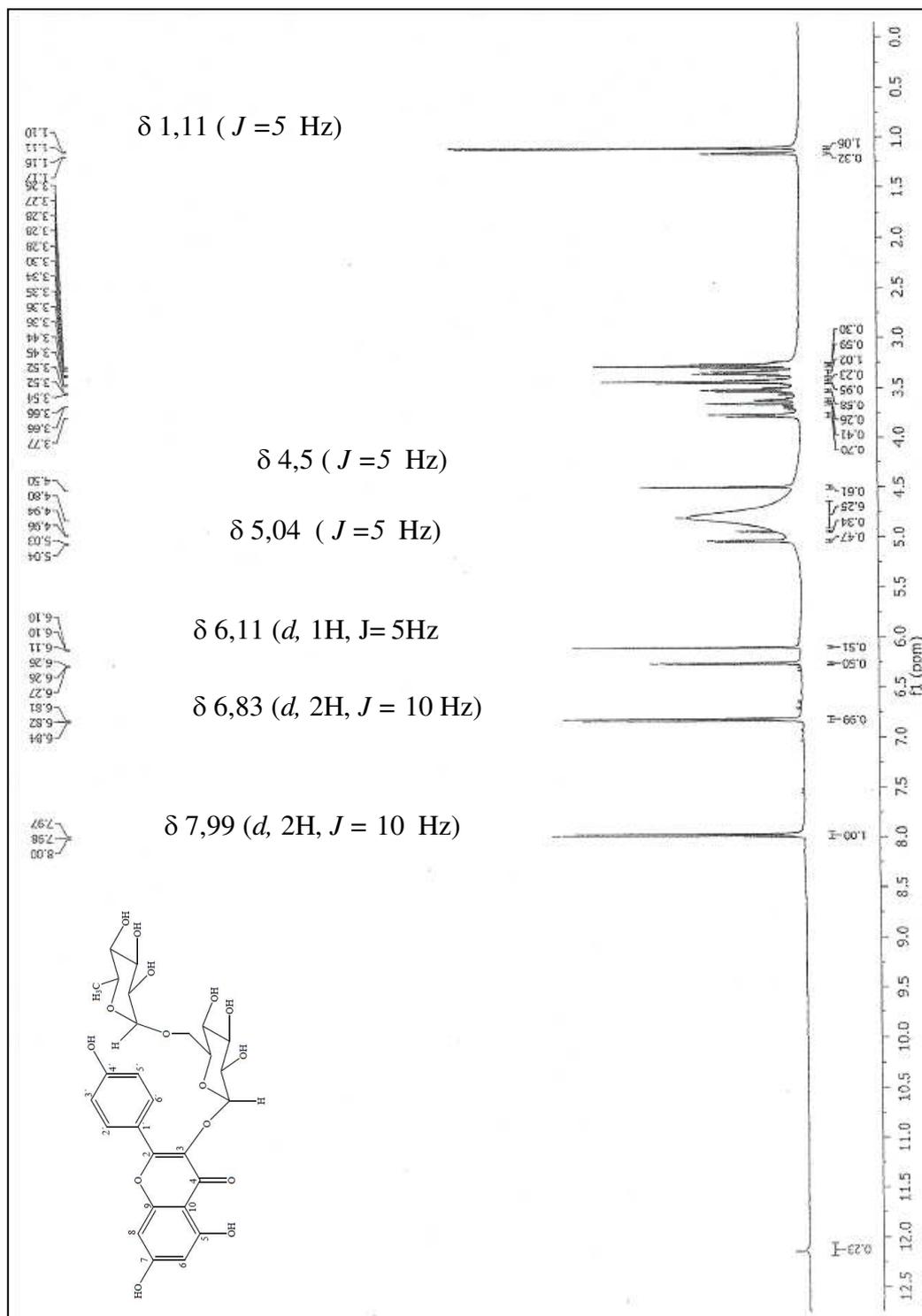


Figura 5. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1

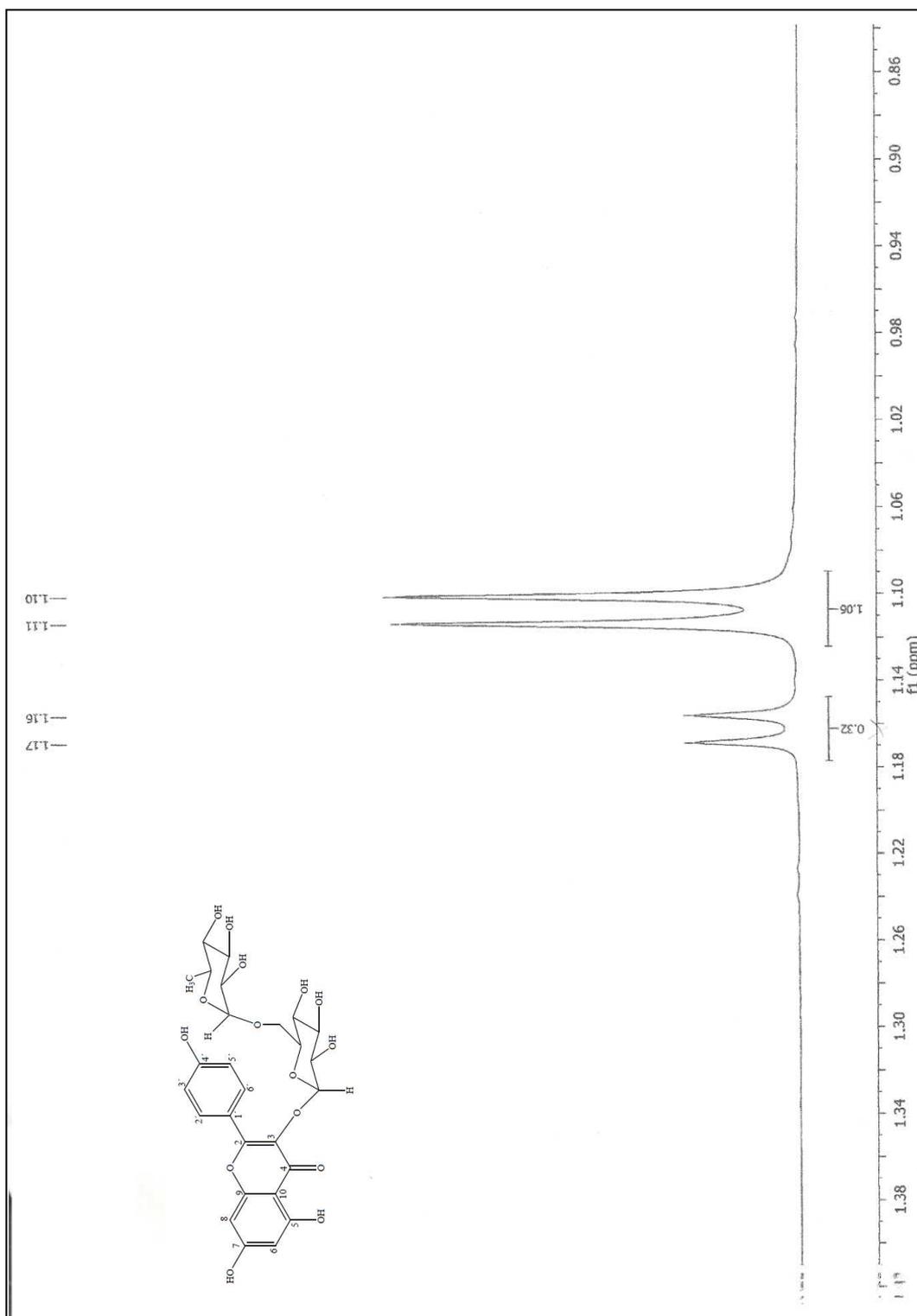


Figura 6. Expansão do espectro RMN  $^1\text{H}$  na região de 0,86 a 1,38 ppm ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1

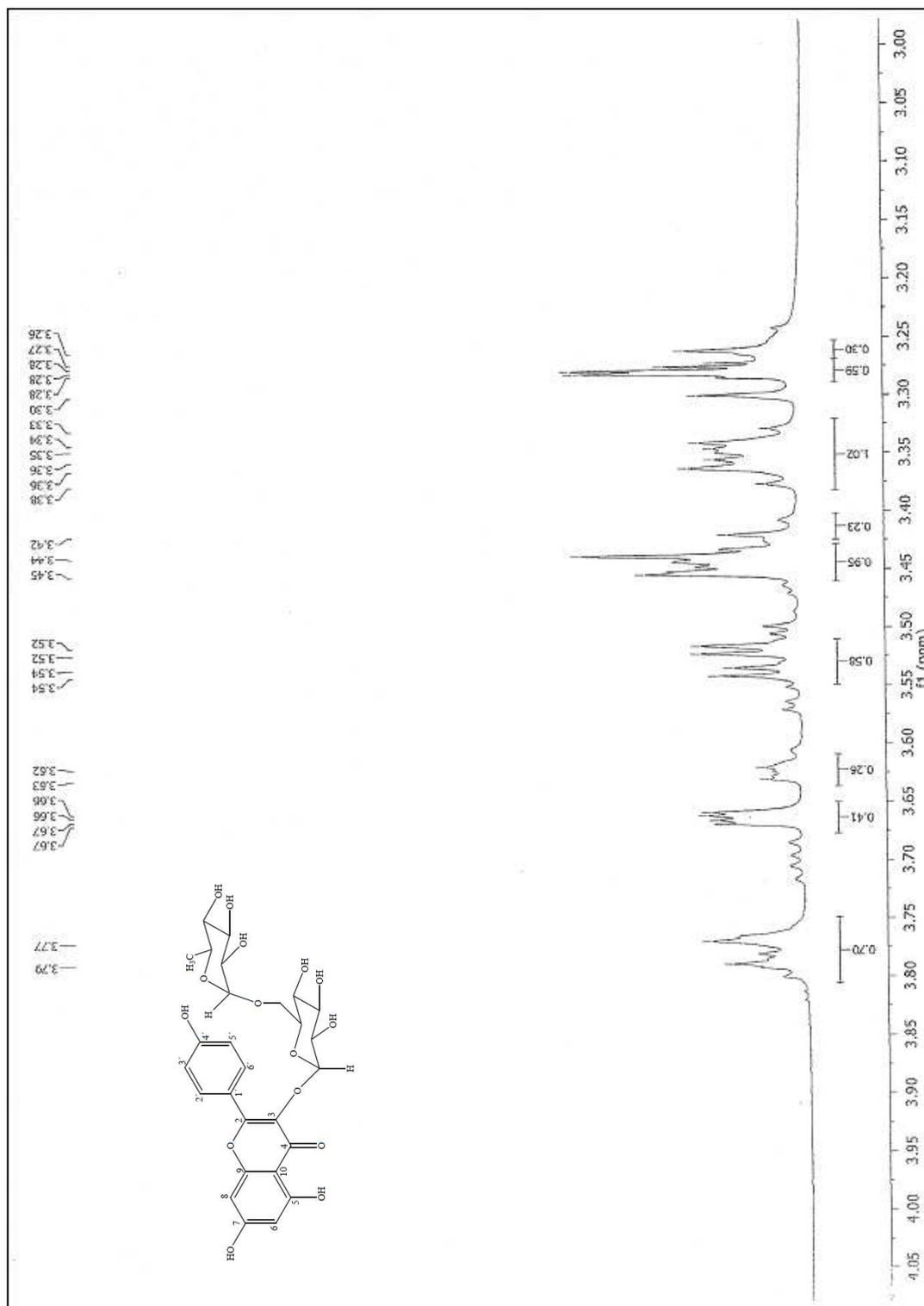


Figura 7. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) na região de 3,0 a 4,0 ppm de S-1

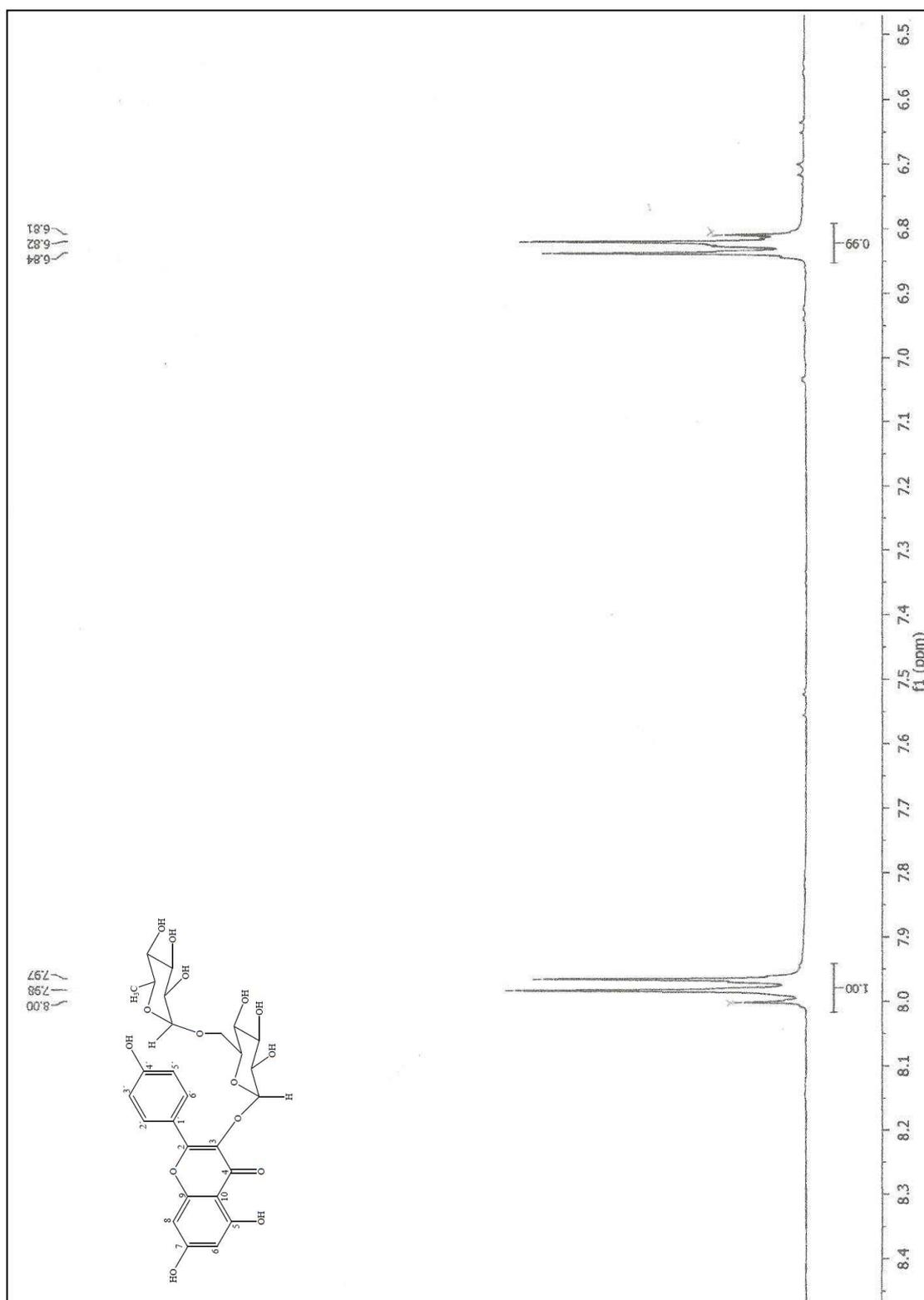


Figura 8. Expansão do espectro RMN  $^1\text{H}$  na região de 6,5 a 8,4 ppm ( $\delta$ , MeOD, 500 MHz) de S-1



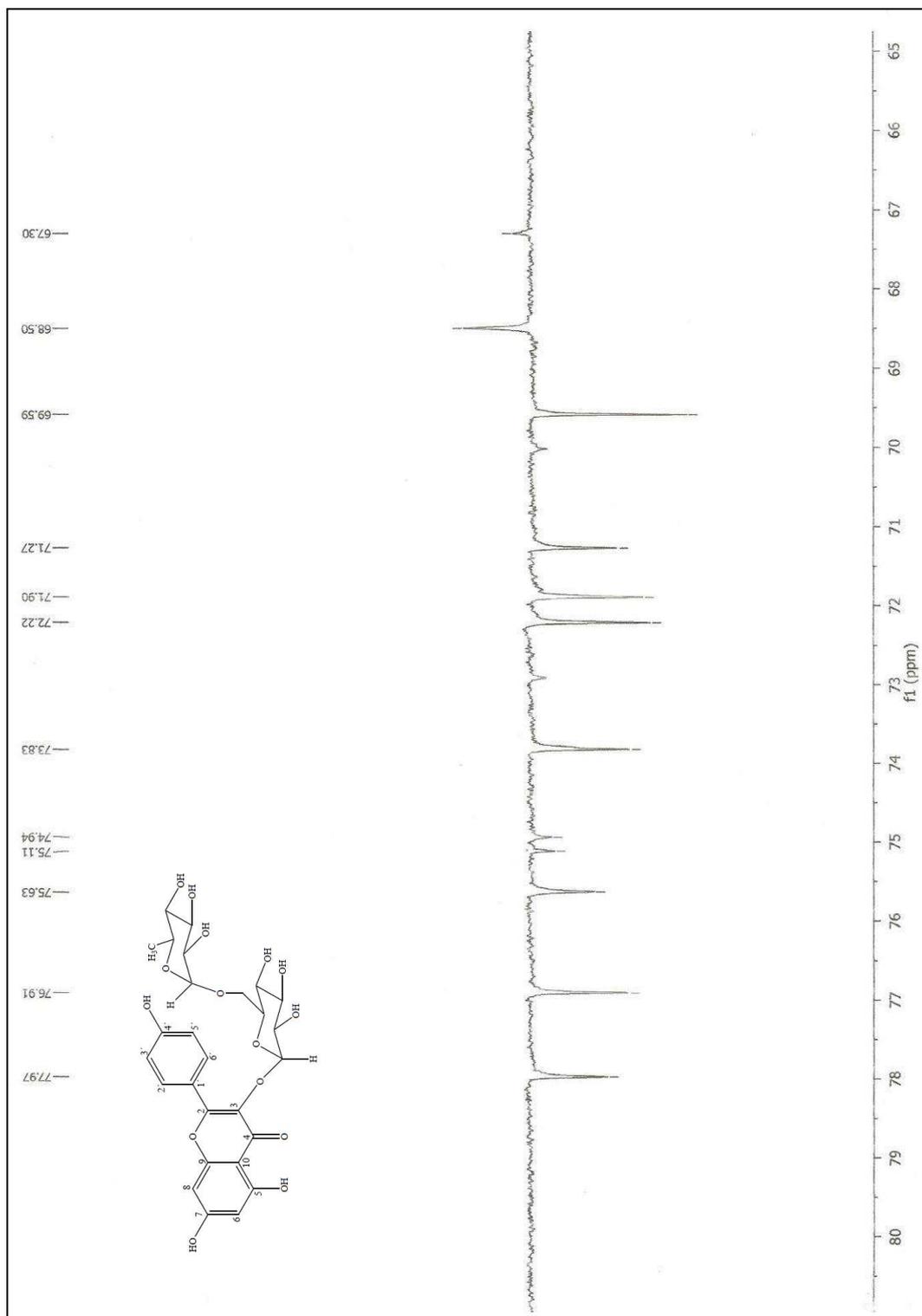


Figura 10- Expansão do espectro RMN  $^{13}\text{C}$  na região de 65 a 80 ppm ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) de S-1

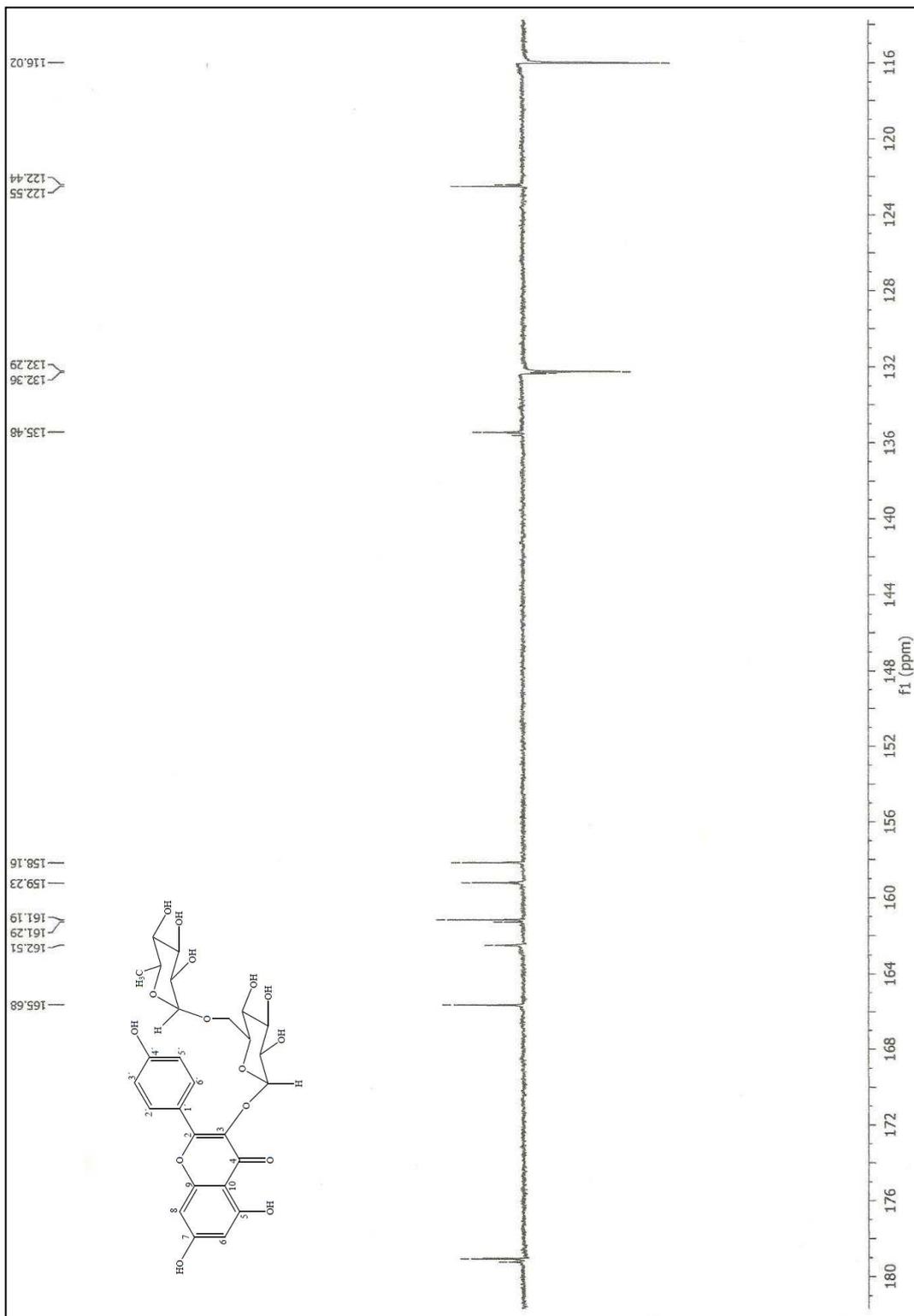


Figura 11. Expansão do espectro RMN  $^{13}\text{C}$  na região de 116 a 180 ppm ( $\delta$ , MeOD, 125 MHz) de S-1

## 6. CONCLUSÃO

A partir da triagem fitoquímica preliminar, podemos concluir que a espécie *Sida santaremnensis* é uma espécie que apresenta uma variedade importante de metabólitos secundários, como esteroides, triterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos e saponinas, sendo que estes constituintes estão de acordo com aqueles relatados na literatura para outras espécies do gênero *Sida*. Esses resultados são promissores para descoberta de novos potenciais terapêuticos.

O estudo fitoquímico da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis* levou ao isolamento e caracterização estrutural de um flavonoide glicosilado: o canferol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosose (6''-1''')  $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo, isolado pela primeira vez no gênero *Sida*. O isolamento dessa substância contribui para o enriquecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae e melhor conhecimento de uma espécie pertencente à vegetação do Nordeste Brasileiro.

Sabendo-se que a avaliação vasorelaxante, antiulcerogênica e antinociceptiva do extrato bruto de *S. santaremnensis* H. Monteiro mostrou-se promissora, pretende-se, através de parceria estabelecida com professores da Universidade Federal do Piauí, encaminhar a substância isolada para avaliação dos possíveis mecanismos envolvidos nessas atividades. A importância de investigar produtos naturais que possuem atividade biológica em músculo liso reside no fato, de que, substâncias com atividade espasmolítica poderão vir a ter aplicação na terapêutica de vários tipos de doenças como vasoespasmos cerebrais, diarreia, asma, hipertensão arterial, espasmos intestinais e uterinos e alguns outros processos fisiopatológicos que também envolvem os mecanismos de contração e relaxamento. Além disso a ação antiulcerogênica e antinociceptiva já é relatada na literatura para diversos flavonoides.

## 7. REFERÊNCIAS

AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids: Studies in Organic Chemistry 39**. Lucknov, India, Elsevier, 1989.

AHMED, Z. ; KAZMI, S. N. H.; WALIK, A. Phytochemical investigation of *Abutian pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 5, p. 1342-1344,1990.

ARCANJO, D. D. R.; OLIVEIRA, N. N. P. M.; FERREIRA-FILHO, E. S.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; BORGES, A. C. R.; OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, R. C. Vasorelaxant response induced by *Sida santaremnensis* H. Monteiro etanol extract on rat superior mensenteria artery. **African Journal of Biotechnology**. v. 10, n. 65, p. 14587-14597, 2011.

BARACHO, G. S.: Taxonomia do gênero *Sida* L. seção Cordifolie Fryxell (Malvaceae) no Brasil. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 1998.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARAES, E. F.; LIMA, A. C. **Sistemática de Angiospermas no Brasil**. Imprensa Universitaria, 1991.

BLAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; **Práticas de Farmacognosia**. 1º Reimpressão, Univale, Itajaí, 2007.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p.229-239, 2010.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 1ª Reimpressão. Campinas-SP, Editora da UNICAMP, 2006.

COSTA, D.A.; SILVA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-*o*- $\beta$ -d-(6''-*E*-*p*-coumaroyl) glucopyranosideonguinea-pigileum. **Química Nova**, v. 30, n. 4, 901-903, 2007.

FRANZOTTI, E.M.; SANTOS, C.V.F.; RODRIGUES, H.M.S.L.; MOURAO, R.H.V.; ANDRADE, M.R.; ANTONIOLLI, A.R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 72, p 273–278, 2000.

GUNATILAKA, A. A. L.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMANIAM, S.; CHANDRASEKARA, A. I.; SRYANI, H. T. B. Studies on Medicinal Plants of Sri Lanka III: Pharmacologically Important Alkaloids of some Sida Species. **Planta Medica**.v. 39, p. 66-72.

HARBONE, J. B. **The Flavonoids – Advances in Research since 1986**. 1ª ed., London, Chapman & Hall., 1994.

JOLY, A. B. Família Malvaceae. In: **Botânica - introdução à taxonomia vegetal**. 13ª Edição, Companhia Editora Nacional, 2002.

KAOUADJI, M.; DOUCORÉ, A.; MARIOTE, A. M.; CHULIA, A. J. THOMASSON, F. Flavonol Triglycosides from *Blackstonia peroliata*. **Phytochemistry**, v. 29, n.44, p. 1283-1286.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MARQUES, J. A.; BORGES, C. P. F.; **Práticas de química Orgânica**. 1º ed. Átomo, São Paulo, 2007.

MATOS, F.J.A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3ª Ed, Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MENDES, R. M. B.; FIGUEIREDO, K. A.; LOPES, L. S.; PEREIRA, S. S.; OLIVEIRA, A. P.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F.R. C. Estudo do efeito antinocicptivo de *Sida santaremnensis* (Malvaceae). In: 40º Congresso Brasileiro de Farmacologiae Terapêutica Experimental, 2008, Águas de Lindóia, SP. **Anais eletrônicos**, Disponível em < [http://asp.spfte.org.br/pub/media/setor\\_07\\_2008.pdf](http://asp.spfte.org.br/pub/media/setor_07_2008.pdf)> Acesso em: 28 de jan. 2013.

MOURA, W. R. A. **Ensaio Farmacológico das atividades anti-inflamatória, citotoxicidade e toxicidade aguda de *Copaifera Lueltzelburgai*, Harm e *Sida santaremnensis*** Monteiro, Tese (Doutorado), universidade Federal do Piauí, 69 f, 2010.

AQUINO NETO, F.R; NUNES, D.S.S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. 1ª Ed., Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2003.

NUNES, X. P.; MAIA, G. L. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; PEREIRA, F. O. ; LIMA, E. O. ; Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 16(Supl.): 642-644, Dez. 2006.

OLIVEIRA, E. T.; BRITO, C. A.; OLIVEIRA, M. R. C.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Atividade antiedematogênica de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae) em modelos animais. In: 40º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental, 2008, águas de Lindóia, SP. **Anais eletrônicos**. Disponível em /http; hasp.sbfte.org.br/pub/media/stor 05-2008.pdf. Acesso em 11 de fev. 2013.

OTERO, R.; FONNEGRA, R.; JIMENEZ, S.L.; NUNEZ, V.; EVANS, N.; ALZATE, S.P.; GARCIA, M.E.; SALDARRIAGA, M.; DEL VALLE, G.; OSORIO, R.G.; DIAZ, A.; VALDERRAMA, R.; DUQUE, A.; VELEZ, H.N. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part I: Traditional use of plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v.71, 493– 504, 2000.

PALOSHI, R.; ZENI, M.; RIVEROS, R. Experimentos cromatográficos. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 35-41, 1998.

PEIXOTO, A. M. **Enciclopedia Agrícola Brasileira: S-Z, v. 6**. Esalq - Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz, USP. Ed. USP, 2007.

ROSOANAIVO, P. et al. Cassinopin, a kaempferol trirhamnoside from *Cassinopis madagascariensis*. **Phytochemistry**, v. 29, n.6, p. 2040-2043, 1990.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.; **Princípios de Análise Instrumental**. 6º Ed. Bookman, Porto Alegre, 2009.

SILVA, A. C. O et al. An approach to chemotaxonomy to the fatty acid content of some Malvaceae species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38 , p. 1035–1038, 2010.

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SILVA, D. F.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonoides glicosilados de *Herissantia tiubae* (k. Schim) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-o- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de farmacognosia**. n. 15, p. 23-29, 2005.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* ULBR. (MALVACEAE). **Química Nova**. v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6º Edição. Porto Alegre- RS. Editora UFRGS/UFSC, 2010.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Versao 4, 2003. Disponível em:<http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/> Acesso em: 12 de novembro de 2012.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade. **Química Nova**. v. 21, n. 1, 1998.

VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RAMESH, M. Antinociceptive and antiinflammatory activity of *Sida rhomboidea* Leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 67, p. 229, 1999.

