

Isolamento do estigmasterol do extrato hexânico das folhas de *Sphagneticola trilobata* Pruski (Asteraceae)

Isolation of stigmaterol from hexanic extract of the leaves of *Sphagneticola trilobata* Pruski (Asteraceae)

Gilmar Ossamu Egashira¹, Ricardo Luis Nascimento de Matos²,
Nilton Syogo Arakawa³

Resumo

O interesse de pesquisadores e da população geral é bastante evidente, e tem crescido bastante na atualidade, no uso de plantas medicinais. A espécie de interesse deste trabalho, a *Sphagneticola trilobata* Pruski é uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae. Alguns relatos têm mostrado a presença de diversos constituintes químicos nesta planta, principalmente diterpenos. O presente trabalho realizou o estudo fitoquímico de uma fração do extrato hexânico, devido ao baixo rendimento da fração diclorometânica, através da utilização de diversos métodos cromatográficos, na qual isolou-se o fitoesterol estigmasterol. Este composto foi confirmado por meio de dados espectroscópicos e de literaturas, e o isolamento de compostos desta classe de substâncias indicam uma nova vertente para o uso medicinal desta planta como um futuro hipocolesterolêmico. Para isto, estudos serão direcionados para o isolamento de fitoesteróis, com posterior realização de ensaios biológicos.

Palavras-chave: *Sphagneticola trilobata* Pruski. Estigmasterol. Cromatografia. Fitoesteróis.

Abstract

The interest of researchers and the general population is quite evident, and has grown considerably today, in the use of medicinal plants. The species of interest in this work, *Sphagneticola trilobata* Pruski is a herbaceous plant, belonging to Asteraceae family. Some reports have shown the presence of several chemical constituents in this plant, mainly diterpenes. The present work carried out the phytochemical study of a fraction of the hexane extract, due to the low yield of the dichloromethane fraction, by several chromatographic methods, in which the phytosterol estigmasterol was isolated. This compound has been confirmed by means of spectroscopic and literature data, and the isolation of compounds of this class of substances indicates a new strand for the medicinal use of this plant as a hypocholesterolemic future. For this, studies will be directed to the isolation of phytosterols, with subsequent biological tests.

Keywords: *Sphagneticola trilobata* Pruski. Stigmasterol. Chromatography. Phytosterol.

1 Graduando em Farmácia pela Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná, Brasil.

2 Doutorando em Química pela Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

3 Doutorado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: arakawans@yahoo.com.br

Introdução

Os produtos naturais estabelecem uma diversidade muito extensa de compostos orgânicos, sendo que a natureza proporciona uma fonte inesgotável de novos produtos. Atualmente, mesmo com todo o desenvolvimento da tecnologia e da indústria farmacêutica, os produtos naturais ainda constituem uma matéria-prima imprescindível na indústria de medicamentos. Isso se tornou possível devido ao desenvolvimento de técnicas que permitiram a detecção e o isolamento das substâncias com maior precisão e rapidez.⁽¹⁾

Muitas das propriedades terapêuticas das plantas, relatadas pela população, posteriormente são confirmadas por meio de estudos científicos, comprovando a importância da pesquisa nessa área. Estas propriedades possibilitam o desenvolvimento de medicamentos variados, sejam estes obtidos por meio de isolamento ou síntese a partir de molécula protótipo.⁽²⁾

A *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (Asteraceae) é uma planta herbácea de nós, radicante, caule castanho-avermelhado, folhas opostas e flores amarelas (Figura 1). Pode ser encontrada em várias regiões brasileiras, principalmente nos estados de São Paulo, Bahia e Santa Catarina; sendo utilizada para fins ornamentais e medicinais, é popularmente

Figura 1 - A espécie *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski.



Fonte: Flora Avancine⁽⁵⁾

conhecida como pseudo-arnica, margaridão ou pingo-de-ouro.^(3,4)

Na medicina popular essa espécie vegetal é conhecida no tratamento de doenças infecciosas e respiratórias, com ação expectorante, analgésica e anticonvulsivante, além de apresentar propriedades biológicas como antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas,⁽⁶⁾ tripanocida⁽⁷⁾ e antifúngico,⁽⁸⁾ entre outros.

De acordo com estudos fitoquímicos prévios, a *S. trilobata* possui em sua composição maior concentração de compostos de natureza terpênica, fenólica (flavonoides) e esteroidal, possuindo como principais metabólitos secundários majoritários os taninos, a wedelactona, o ácido caurenóico e a luteolina,^(4,9) além do estigmasterol.⁽¹⁰⁾ A biossíntese de terpenoides pode ser dividida em duas rotas principais:⁽¹¹⁾ uma proveniente do mevalonato (MVA) e a outra proveniente do 2-metileritritol fosfato (MEP). A primeira rota ocorre no citoplasma, em que os compostos difosfato de isopentenila (IPP) e difosfato de dimetilalila (DMAPP) são obtidos via ácido mevalônico pela condensação de unidades de acetil-CoA. O IPP e o DMAPP reagem através do modelo clássico “cabeça-cauda” iniciando a formação dos diferentes tipos de esqueletos terpênicos que são classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas (monoterpenos C-10, sesquiterpenos C-15, diterpenos C-20, sesterterpenos C-25, triterpenos C-30 e tetraterpenos C-40). Já a segunda rota ocorre nos plastídeos, que a partir da glicose, leva à formação de dois intermediários-chave – 1-desóxi-D-xilulose (DOX) e 2-metileritritol fosfato (MEP), que irão originar IPP e DMAPP.⁽¹¹⁾

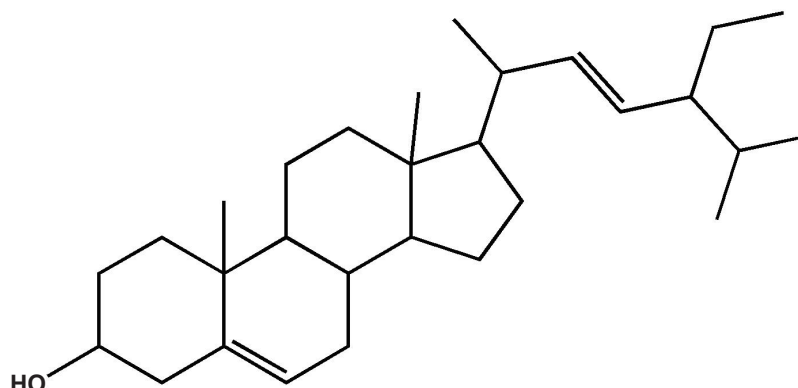
Os triterpenos apresentam ampla diversidade estrutural, podendo ser tetracíclicos, pentacíclicos e acíclicos. Estão presentes como constituintes majoritários de resinas produzidas por um grande número de espécies vegetais. Os triterpenos são moléculas constituídas por 30 átomos de carbono (seis unidades de isopreno) e esqueleto carbônico que pode ser tetracíclico (comuns em animais) ou pentacíclico (comum em vegetais). Esses anéis podem ser do tipo cinco anéis de seis membros

(Ursanos e Lonastanos) ou quatro anéis de seis membros e um de cinco (Lupanos e Hopanos).^(12,13) Os triterpenoides têm várias potencialidades medicinais, com grandes propriedades biológicas, tais como: antiinflamatórios, antibacterianos, fungicidas, antivirais, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais. A partir dos precursores dos

triterpenos, a planta pode produzir alguns compostos esteroidais, alguns destes denominados fitoesteróis.⁽¹³⁾

Os fitoesteróis são substâncias esteroidais ou terpenoides tetracíclicos extraídos de espécies vegetais, sendo os mais comuns o β -sitosterol, campesterol e estigmasterol (Figura 2).

Figura 2 - Estrutura química do triterpeno estigmasterol.



Fonte: Autores

Possuem o esqueleto carbônico formado pelo anel ciclopentanoperidrofenantênico, onde podem ser encontradas duplas ligações, principalmente na posição C-5. Nos animais, o principal esteroide é o colesterol, que apresenta função análoga aos fitoesteróis, mas diferencia-se pela presença de grupo metila ou etila e/ou presença de uma dupla ligação na cadeia lateral.⁽¹⁴⁾ Quando os esteroides apresentam cadeia lateral com sete a onze átomos de carbono, ligação dupla no carbono C-5 e presença de pelo menos uma hidroxila no C-3, podem ser chamados de esteróis (do grego= sólido), e na sua forma saturada são chamados de estanois. A diversidade dos compostos derivados dos fitoesteróis resulta principalmente na variação da cadeia lateral (ligado ao C-17), na diferença da substituição e do grau de instauração.⁽¹⁵⁾

Atualmente considera-se que os fitoesteróis têm a capacidade de reduzir os níveis de colesterol total, LDL-colesterol e triacilglicerídeos no soro sanguíneo humano (hipocolesterolemia), sendo que a redução máxima (10%) foi observada com uma dieta de 2 g/dia de fitoesterol. Essa correlação

também foi observada em uma série de derivados esterificados dos fitoesteróis (oleato, estearato e palmitato), quando os estanois apresentaram uma redução na absorção do colesterol maior que os esteróis. Estudos confirmam que os fitoesteróis competem e deslocam o colesterol na formação das micelas de fosfolípido, inibindo sua absorção no intestino. Por isso, em muitos produtos alimentícios como iogurtes, queijos, margarinas, azeites, maioneses e cereais, são adicionados fitoesteróis em suas fórmulas com objetivo de contribuir com a redução da incidência de doenças cardiovasculares.^(16,17)

O estigmasterol, isolado da *Sphagneticola trilobata*, foi isolado em outras plantas da família Asteraceae, como nas partes aéreas da *Ageratum conyzoides*,⁽¹⁸⁾ e também em plantas de outras famílias, como na raiz da *Calotropis gigantea* (Apocynaceae),⁽¹⁹⁾ e nas folhas da *Rubus suavissimus* (Rosaceae).⁽²⁰⁾ O estigmasterol e o β -sitosterol são os dois principais fitoesteróis vegetais que são quimicamente parecidos com o colesterol dos animais e geralmente estão

presentes nas membranas celulares das plantas, ceras e óleos vegetais.⁽²¹⁾

Um estudo com ratos⁽²²⁾ demonstrou que o estigmasterol diminui a função tanto da glândula tireoide como de órgãos extratireoidais. Além disso, ele possui ação inibitória sobre vários mediadores pró-inflamatórios e de degradação da matriz que estão envolvidos na degradação da cartilagem induzida por osteoartrite.⁽²³⁾ Estudos recentes demonstram que os fitoesteróis apresentam ação de proteção contra câncer de próstata, de mama e de cólon. Eles atuam em enzimas responsáveis pelo metabolismo dos hormônios sexuais e no estímulo à apoptose (morte celular).^(14,24,25)

Entre os métodos de identificação e separação, destacam-se os métodos cromatográficos, os quais têm grande aplicabilidade em áreas como farmacêutica, análises clínicas, medicina legal, ambiental e outras.⁽²⁶⁾

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos explorar fitoquimicamente a fração oito do extrato hexânico da *Sphagneticola trilobata*, visando o isolamento de seus constituintes através de diversos métodos cromatográficos.

Materiais e Métodos

Materiais, reagentes e equipamentos

Os solventes utilizados para a partição e técnicas cromatográficas foram comerciais P.A. e/ou das marcas: Dinâmica, Synth, Anidrol e Panreac. A sílica gel utilizada como fase estacionária na cromatografia em camada delgada (CCD) é pertencente à marca Macherey-Nagel (código 816310.1). Para a cromatografia líquida a vácuo e cromatografia líquida clássica (CLV e CLC, respectivamente) foram utilizadas sílica da marca Merck (código 1.09385.1000).

A balança analítica utilizada para a pesagem dos materiais, reagentes e amostras é do modelo AW220 (Marte). Para a realização da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi utilizado o Espectrômetro Bruker Modelo Avance III operando a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C,

equipado com uma sonda multinuclear inversa (BBI) de 5 mm.

Coleta e obtenção do extrato hexânico de Sphagneticola trilobata L. Pruski

A espécie *Sphagneticola trilobata* Pruski foi coletada no horto de plantas medicinais do Centro de Ciências Agrárias (CCA), localizado no campus universitário da Universidade Estadual de Londrina (Londrina - PR). O material testemunho foi identificado pela Prof^ª. Dr^ª. Ana Odete Santos Vieira e depositado no Herbário da Universidade Estadual de Londrina (FUEL) sob o n^o 49306.

Para a obtenção do extrato hexânico das folhas desta espécie foi utilizada a maceração por esgotamento com diclorometano, solubilização com uma mistura hidroalcoólica em proporção 4:1 e posterior particionamento com hexano e diclorometano, obtendo-se desta forma o extrato hexânico.

Fracionamento do extrato hexânico de Sphagneticola trilobata L. Pruski

O extrato hexânico de *Sphagneticola trilobata* L. Pruski foi submetido ao fracionamento por uma série de métodos cromatográficos até a posterior identificação dos constituintes químicos presentes nas frações (Figura 3).

Cromatografia líquida a vácuo

Devido à grande quantidade de extrato inicial (52 g), foi necessário dividi-lo em porções. O extrato total foi solubilizado com hexano e dividido em quatro porções. Cada porção foi submetida ao fracionamento por CLV utilizando sílica (325 g) como fase estacionária e, como fases móveis, misturas de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade, além do álcool metílico no fim do processo. As fases móveis utilizadas e massas obtidas para cada fração estão representadas detalhadamente na Tabela 1. O fracionamento por CLV gerou 17 frações nomeadas de F1 até F17.

Tabela 1 - Fracionamento em CLV do extrato hexânico de *Sphagneticola trilobata*.

| Frações | Proporção solvente (%) | Rendimento (g) |
|---------|------------------------|----------------|
| F1 | Hex 100 (1)* | 1,2818 |
| -F2 | Hex 100 (2)* | 0,0931 |
| F3 | Heo:AcOEt 95:5 (1)* | 1,1728 |
| F4 | Hex: AcOEt 95:5 (2)* | 0,1968 |
| F5 | Hex: AcOEt 9:1 (1)* | 12,5202 |
| F6 | Hex:AcOEt 9:1 (2)* | 6,5823 |
| F7 | Hex: AcOEt 85:15 (1)* | 10,9877 |
| F8 | Hex:AcOEt 85:15 (2)* | 3,0123 |
| F9 | Hex:AcOEt 80:20** | 4,4054 |
| F10 | Hex:AcOEt 75:25** | 3,2803 |
| F11 | Hex:AcOEt 70:30** | 1,9114 |
| F12 | Hex:AcOEt 65:35** | 1,5199 |
| F13 | Hex:AcOEt 60:40** | 1,4978 |
| F14 | Hex:AcOEt 50:50** | 1,4009 |
| F15 | Hex:AcOEt 30:70** | 1,5501 |
| F16 | AcOEt 100** | 1,2508 |
| F17 | MeOH 100** | 4,5945 |

Fonte: Autores

*Os números 1 e 2 correspondem às frações resultantes da CLV1 e CLV2 do extrato hexânico, respectivamente.

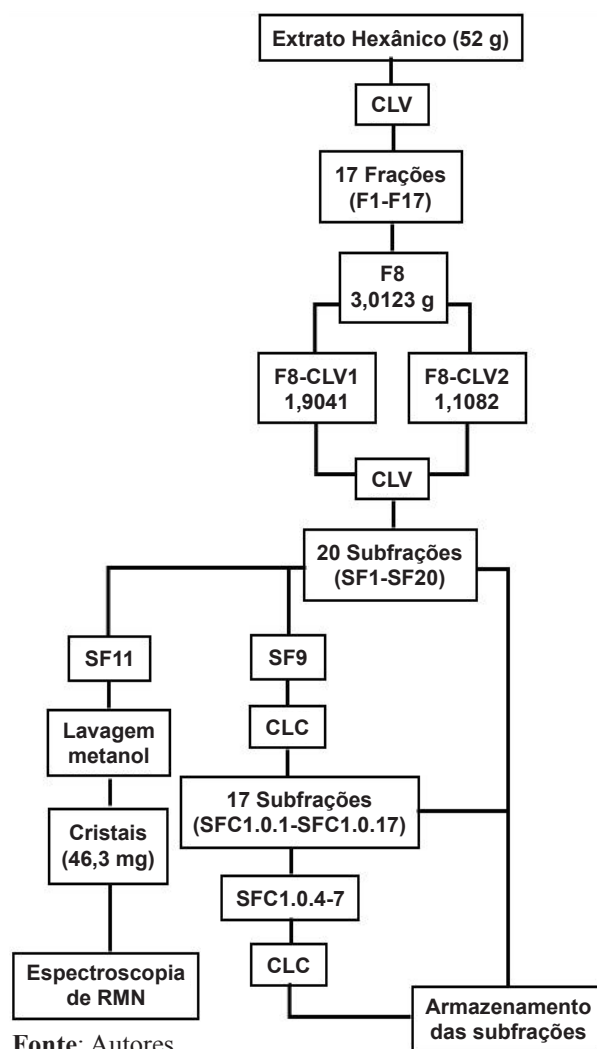
**Frações das duas CLVs reunidas (CLV1 + CLV2).

Fração F8

As frações com maiores rendimentos (F5, F6, F7 e F9) foram anteriormente submetidas ao processo de extração em trabalhos anteriores, resultando no isolamento do ácido caurenóico e do ácido grandiflorênico. Deste modo, optou-se pela escolha da fração F8 devido à possibilidade de isolamento de outras substâncias.

A partir da fração F8 (3,0123 g) foi feita a solubilização desta com hexano e posterior divisão

Figura 3 - Fracionamento do extrato hexânico de *Sphagneticola trilobata*.



Fonte: Autores

em duas frações (F8-CLV1 de 1,9041 g e F8-CLV2 de 1,1082 g) para a realização do fracionamento por CLV utilizando-se sílica gel como fase estacionária e, como fases móveis, misturas de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade, além do álcool metílico ao fim do processo para recuperação do restante da amostra e cálculos dos rendimentos. As fases móveis utilizadas e massas obtidas após a secagem dos solventes para cada subfração estão representadas detalhadamente na Tabela 2.

Tabela 2 - Fracionamento em CLV da fração F8.

| Frações | Proporção solvente (%) | Rendimento (g) |
|---------|------------------------|----------------|
| SF1 | Hex 100 (1)* | 0,0297 |
| SF2 | Hex 100 (2)* | 0,0093 |
| SF3 | Hex:AcOEt 96:04 (1)* | 0,0449 |
| SF4 | Hex:AcOEt 96:04 (2)* | 0,0126 |
| SF5 | Hex:AcOEt 92:08 (1)* | 0,0797 |
| SF6 | Hex:AcOEt 92:08 (2)* | 0,0596 |
| SF7 | Hex:AcOEt 88:12 (1)* | 0,1192 |
| SF8 | Hex:AcOEt 88:12 (2)* | 0,0363 |
| SF9 | Hex:AcOEt 86:14** | 0,8704 |
| SF10 | Hex:AcOEt 84:16** | 0,7717 |
| SF11 | Hex:AcOEt 82:18** | 0,5686 |
| SF12 | Hex:AcOEt 80:20** | 0,1719 |
| SF13 | Hex:AcOEt 70:30 (1)* | 0,0557 |
| SF14 | Hex:AcOEt 70:30 (2)* | 0,0439 |
| SF15 | Hex:AcOEt 50:50 (1)* | 0,1126 |
| SF16 | Hex:AcOEt 50:50 (2)* | 0,1531 |
| SF17 | AcOEt 100 (1)* | 0,1978 |
| SF18 | AcOEt 100 (2)* | 0,2378 |
| SF19 | MeOH 100 (1)* | 0,2454 |
| SF20 | MeOH 100 (2)* | 0,2525 |

Fonte: Autores

*Os números 1 e 2 correspondem às subfrações resultantes da CLV1 e CLV2 da fração F8, respectivamente.

**Subfrações das duas CLVs reunidas (F8-CLV1 + F8-CLV2).

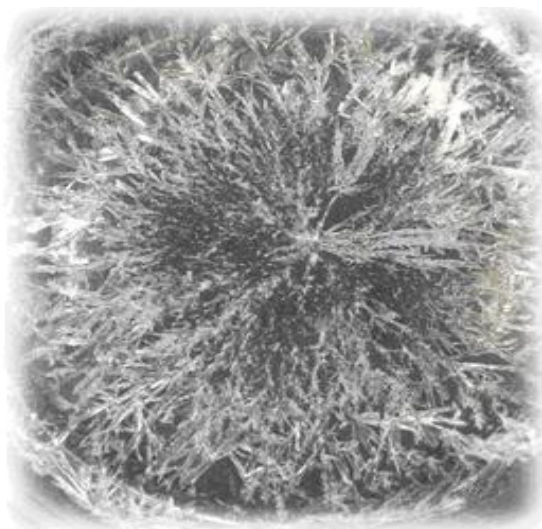
O fracionamento das duas frações por CLV gerou 20 subfrações nomeadas de SF1 até SF20. Realizou-se o monitoramento destas por CCD, e as frações de perfil cromatográfico semelhantes foram reunidas de acordo com a sua similaridade e armazenadas para estudos posteriores.

Subfração SF11

A subfração SF11 apresentou pequenos cristais em meio ao extrato seco escuro, e por isso decidiu-se pela recristalização com álcool metílico gelado e armazenamento em congelador por, no mínimo, doze horas, visando

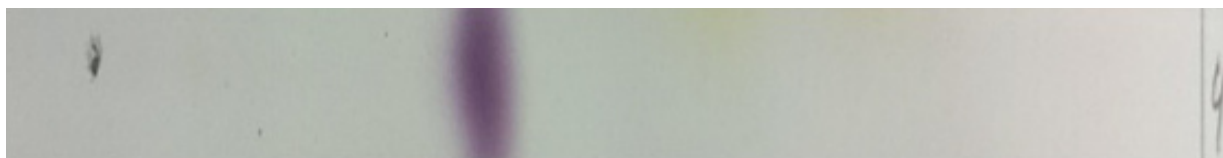
a separação de fases e formação de cristais puros. O sobrenadante foi retirado e transferido para outro frasco, onde ficou armazenado à temperatura ambiente. Após várias lavagens, observou-se a formação de cristais (Figura 4) no frasco que continha o precipitado; dessa forma, realizou-se o monitoramento por CCD, utilizando como fase móvel Hexano:Acetato de etila 8:2, que mostrou uma única e homogênea mancha (Figura 5), decidindo-se então pela pesagem (0,0463 g) e rotulagem desses cristais com o código “Ppt. 82:18 MeOH”. Este foi encaminhado à espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C para identificação.

Figura 4 - Cristais da subfração SF11.



Fonte: Autores

Figura 5 - Monitoramento por CCD do Ppt. 82:18 MeOH.



Fonte: Autores

Cromatografia líquida clássica 1.0

Para todos os fracionamentos por CLC primeiramente realizou-se o empacotamento da coluna com sílica e hexano, seguido da adição de pequenos fragmentos de sílica-gel na parte superior da coluna.

Subfração SF9

A subfração SF9 apresentou pequenas cristalizações em meio ao extrato seco amarronzado e uma quantidade de massa considerável (0,8704 g); porém, as manchas observadas nas placas de CCD possuíam valores de Rf muito próximos, por isso optou-se pelo fracionamento desta por CLC.

A proporção de fase móvel utilizada no fracionamento de SF9 (0,8704 g) por CLC foi Hexano:Diclorometano:Acetato de etila 5:3,5:1,5

(300 mL), além do álcool metílico (400 mL) no fim do processo. O fracionamento de SF9 originou 17 subfrações: 16 de aproximadamente 20 mL e uma de aproximadamente 350 mL (fração metanólica). Depois de totalmente evaporados realizou-se a CCD para o monitoramento e junção das subfrações com perfis cromatográficos similares, e o armazenamento destas para estudos posteriores.

Cromatografia líquida clássica 1.1

Subfração SFC1.0.4-7

Como a subfração SFC1.0.4-7 (junção das subfrações de 4 a 7 resultantes da CLC 1.0) apresentou um alto rendimento (0,6811 g) e manchas com Rf muito próximos, optou-se pelo fracionamento desta por CLC. A proporção de fase móvel utilizada no fracionamento de SFC1.0.4-7

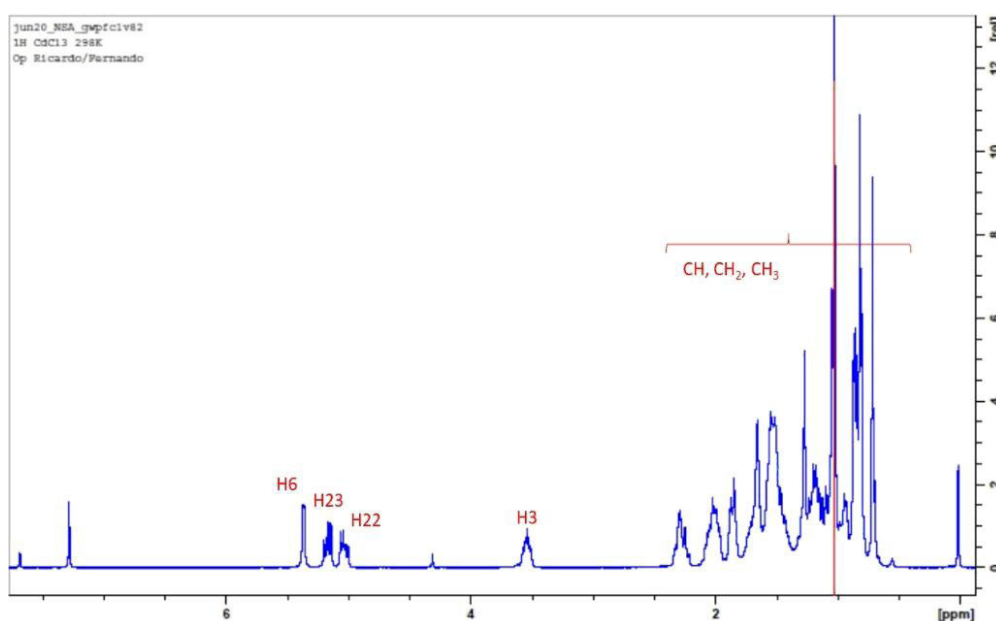
(0,6811 g) por CLC foi Hex:CHCl₃:CH₂Cl₂:AcOEt 4:4:1:1 (250 mL) além do álcool metílico (400 mL) no fim do processo. O fracionamento de SFC1.0.4-7 originou 36 subfrações: 35 de aproximadamente 8 mL e uma de aproximadamente 350 mL (fração metanólica). Depois de totalmente evaporados realizou-se a CCD para o monitoramento e junção das subfrações com perfis cromatográficos similares, e armazenamento destas para estudos posteriores.

Resultados e Discussão

Subfração SF11

O espectro de RMN de ¹H de Ppt. 82:18 MeOH (Figura 6) indicou um grande acúmulo de sinais intensos na região de δ_H 2.34 a 0.70 do espectro, relativos aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos dos esqueletos esteroidais.

Figura 6 - Espectro de RMN ¹H do Ppt 82:18 MeOH.



Fonte: Autores

Dentre os principais sinais, a presença de dois singletos metílicos em δ 0.71 e 1.03; três dubletos metílicos que aparecem em δ 0.80, 0.82 e 0.91; e um tripleto metílico em δ 0.83; também indicou os hidrogênios em δ 4.98 (dd, $J = 15,9$ e $7,2$ Hz, H-22), 5.14 (dd, $J = 15,9$ e $7,2$ Hz, H-23) e 5.31 (H-6), sugerindo a presença de três hidrogênios correspondentes a uma ligação olefínica dissustituída e trissustituída. O sinal em δ 3,50 foi atribuído ao hidrogênio H-3, ligado a um grupo hidroxila; estes dados espectrais indicam a presença de um núcleo esteroidal com um grupo hidroxila no C-3 e duas duplas ligações no C-5/C-6 (Δ 5-6) C-22/C-23 (Δ 22-23);

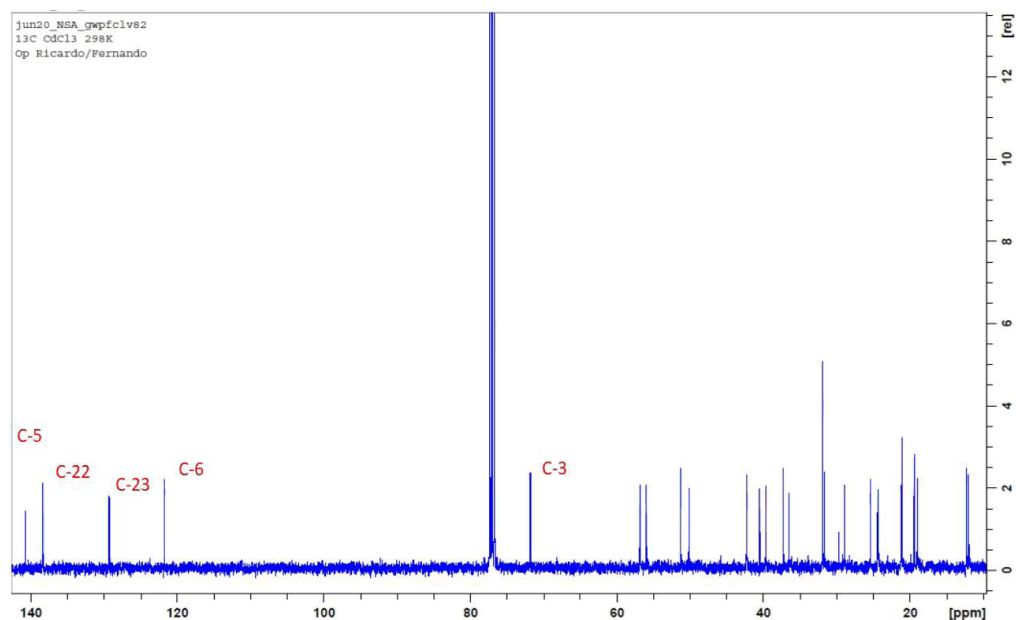
os sinais entre δ 5,10 e δ 5,02 foram atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios H-22 e H-23 do estigmasterol.^(19,27,28)

O espectro de RMN de ¹³C de Ppt. 82:18 MeOH (Figura 7) indicou a presença de 30 átomos de carbonos, quatro sinais na região de carbonos sp² (121,7, 129,3, 138,3 e 140,8 ppm) indicando duas ligações duplas. Os sinais em δ_c 121,7 e 140,8 são característicos de esteroides com uma ligação dupla entre C-5 e C-6,^(21,29,30) e os sinais em δ_c 129,3 e 138,3 são característicos de uma ligação dupla entre C-22 e C-23.⁽²⁹⁾ O estigmasterol (24 α -etil-colestan-5,22-dieno-3 β -ol) possui (Δ 5), sinais espectrais mais intensos quando comparados com os outros

dois sinais referentes à insaturação em Δ^2 , presente no estigmasterol.⁽²⁹⁾ Os dados fornecidos pelos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C permitiram uma completa atribuição dos sinais de cada esteroide, além de comparação com os dados relatados na

literatura para o estigmasterol⁽³¹⁾ (Tabelas 3 e 4), o que colaborou para a confirmação das propostas estruturais apresentadas. A presença deste composto é bastante comum em plantas por geralmente ser um componente da membrana celular.⁽²⁰⁾

Figura 7 - Espectro de RMN ^{13}C do Ppt 82:18 MeOH.



Fonte: Autores

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H da amostra Ppt 82:18 MeOH, e comparativo com dados da literatura.

| H | Assis Junior <i>et al.</i> , 2013 (δ_{H}) | SF 11 (δ_{H}) |
|----|---|-------------------------------|
| 1 | 0.99; 1.78 | 0.91, 1.78 |
| 2 | 1.16; 1.80 | 1.16; 1.80 |
| 3 | 3.48 | 3.50 |
| 6 | 5.28 | 5.31 |
| 7 | 1.40; 1.90 | 1.40; 1.90 |
| 8 | 1.40 | 1.40 |
| 9 | 0.82 | 0.82 |
| 11 | 0.75 | 0.71 |
| 20 | 1.09 | 1.03 |
| 22 | 5.10 | 5.10 |
| 23 | 5.22 | 5.22 |
| 24 | 1.43 | 1.43 |

Fonte: Breitmaier e Voelter⁽³¹⁾

Tabela 4 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³C da amostra Ppt 82:18 MeOH, e comparativo com dados da literatura.

| Carbono | Assis Junior <i>et al.</i> , 2013 (δc) | SF 11 (δc) |
|---------|--|------------|
| 1 | 37.2 | 37.2 |
| 2 | 31.6 | 31.6 |
| 3 | 71.8 | 71.8 |
| 4 | 42.3 | 42.3 |
| 5 | 140.7 | 140.7 |
| 6 | 121.7 | 121.7 |
| 7 | 31.9 | 31.9 |
| 8 | 31.9 | 31.9 |
| 9 | 50.2 | 50.1 |
| 10 | 36.5 | 36.5 |
| 11 | 21.2 | 21.2 |
| 12 | 39.6 | 39.6 |
| 13 | 42.3 | 42.2 |
| 14 | 56.8 | 56.8 |
| 15 | 24.3 | 24.3 |
| 16 | 28.9 | 28.9 |
| 17 | 55.9 | 55.9 |
| 18 | 12.0 | 12.0 |
| 19 | 19.4 | 19.4 |
| 20 | 40.5 | 40.5 |
| 21 | 21.2 | 21.1 |
| 22 | 138.3 | 138.3 |
| 23 | 129.2 | 129.2 |
| 24 | 51.2 | 51.2 |
| 25 | 31.9 | 29.7 |
| 26 | 21.0 | 21.0 |
| 27 | 19.0 | 19.0 |
| 28 | 25.4 | 25.4 |
| 29 | 12.2 | 12.2 |

Fonte: Assis, Gracez, Garcez e Guterres⁽³²⁾

Conclusão

Estudos realizados anteriormente em nosso laboratório indicaram a ampla produção de diterpenos do tipo caurâno, como o ácido caurenóico e o ácido grandiflorênico e, através das análises cromatográficas, evidenciaram que a *Sphagneticola trilobata* é também uma planta produtora de triterpenos, especialmente

o fitoesterol estigmasterol. Diversas literaturas relatam a obtenção de misturas de fitoesteróis (estigmasterol/sitosterol); porém, no presente estudo, conseguimos realizar o isolamento somente do estigmasterol, e não uma mistura de fitoesteróis. O isolamento deste composto será útil para futuros estudos na busca de mais triterpenos e também na realização de ensaios biológicos desta classe de substâncias.

O resultado obtido no presente estudo contribui para um maior conhecimento científico sobre a planta e servirá como base para a pesquisa de uma nova vertente no uso desta planta, como um possível hipocolesterolemiante.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Multiusuário de Espectroscopia da Universidade Estadual de Londrina (Laboratório SPEC-RMN), pelos espectros obtidos.

Declaração de divulgação

Os autores não relatam declarações de interesse.

Informação de financiamento

Essa pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Ciências e Tecnologia (CNPq), Edital Universal: 19/2016, sob protocolo: 408384/2016-6.

Referências

- 1 Montanari CA, Bolzani VS. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Quím Nova*. 2001 fev;24(1):105-11.
- 2 Noldin VF, Isaias DB, Cechinel V Filho. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. *Quím Nova*. 2006;29(3):549-54.
- 3 Agra MF, SILVA KN, Basílio IJLD, Freitas PF, Barbosa JM Filho. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn*. 2008;18(3):472-508.
- 4 Fidelis I, Casali VWD, Andrade N, Lima JC, Lopes FA, Soares NFF, *et al*. Influência das embalagens e do armazenamento no crescimento microbiológico e na concentração de tanino em *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. *Rev Ceres*. 2015;52(303):647-657.
- 5 Flora Avancine. *Vedelia* [Internet]. 2019. [Citado 2019 jan. 10]. Disponível em: <http://avancine.com.br/produto/vedelia/>
- 6 Maldini M, Sosa S, Montoro P, Giangaspero A, Balick MJ, Pizza C, *et al*. Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. *J Ethnopharmacol*. 2009;122(3):430-3.
- 7 Chiari E, Duarte DS, Raslan DS, Saúde DA, Perry KSP, Boaventura MAD, *et al*. *In vitro* screening of asteraceae plant species against *Trypanosoma cruzi*. *Phytother Res*. 1996;10.
- 8 Sartori MRK, Pretto JB, Cruz AB, Bresciani LFV, Yunes RA, Sortino M, *et al*. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae). *Pharmazie*. 2003 Aug;58(8):567-9.
- 9 Baccarin T, Czepula AI, Ferreira RA, Lucinda-Silva RM. Análise morfoanômica das partes aéreas de *Wedelia paludosa* DC. (*Acmela brasiliensis*, *Sphagneticola trilobata*), Asteraceae. *Rev. Bras. Farmacogn*. 2009 Nov;19(2b):612-6.
- 10 Fucina G, Rocha LW, Silva GF, Hoepers SM, Ferreira FP, Guaratini T, *et al*. Topical anti-inflammatory phytomedicine based on *Sphagneticola trilobata* dried extracts. *Pharm Biol*. 2016 Nov; 54(11):2465-74.
- 11 Kreis W, Munkert J, Pádua RM. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: Simões CMO, Schenkel EP, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2017. p. 147-165.
- 12 Adil Q. Isolation and structure elucidation studies in the Chemical constituents of *Thevetia Nerifolia* Juss [master's thesis]. Karachi (Pakistan): Research Institute of Chemistry University of Karachi Pakistan; 1994.
- 13 Patočka J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *J Appl Biomed*. 2003;1:7-12.

- 14 Oliveira AB. Microencapsulamento de estigmasterol proveniente de *Musa paradisiaca* L., Musaceae. [Dissertação]. Curitiba-PR: Universidade Federal do Paraná; 2007.
- 15 Quilez J, García-Lorda P, Salas-Salvador J. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clin Nutr.* 2003;22(4):343-351.
- 16 Katan MB. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clin. Proc.* 2003;78:965-78.
- 17 Parisenti J. Determinação dos esteróis e dos ácidos graxos em ostras da região de Florianópolis-SC e efeito do seu consumo no colesterol sérico de ratos. Florianópolis-SC: UFSC, 2006. p. 24-28. [Dissertação]. Florianópolis-SC: Universidade Federal de Santa Catarina; 2006.
- 18 Kamboj A, Saluja AK. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2011;3(1):94-6.
- 19 Habib MR, Nikkon F, Rahman M, Haque ME, Karim MR. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from Methanolic Extract of Root Bark of *Calotropis gigantea* (Linn). *J. Biol. Sci.* 2007;10(22):4174-6.
- 20 Chaturvedula VSP, Prakash I. Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from the dichloromethane extract of *rubus suavissimus*. *Int J Curr Pharm Res.* 2012;1(9):239-42.
- 21 De-Eknamkul W, Potduang B. Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. *Phytochemistry.* 2003;62(3):389-98.
- 22 Panda S, Jafri M, Kar A, Meheta BK. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia.* 2009;80(2):123-6.
- 23 Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G, et al. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthr. Cartil.* 18(1):106-16.
- 24 Awad AB, Fink CS. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. *J Nutr.* 2000;130:2127-30.
- 25 Santos RAF. Avaliação das propriedades biológicas dos derivados sintéticos do β -sitosterol e triterpenos. [Dissertação]. Salvador-BA: Universidade Federal da Bahia; 2010.
- 26 Penteadó JCP, Magalhaes D, Masini JC. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. *Quím Nova.* 2008;31(8):2190-93.
- 27 Jamal AK, Yaacob WA, Din LB. A Chemical Study on *Phyllanthus columnaris*. *Eur J Sci Res,* 2009;28:76-81.
- 28 Moghaddam FM, Farimani MM, Salahvarzi S, Amim G. Chemical constituents of dichloromethane extract of cultivated *satureja khuzistanica*. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2006;4:95-8.
- 29 Forgo P, Kövér KE. Gradient enhanced selective experiments in the 1H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. *Steroids.* 2004;69:43-50.
- 30 Tomaz ACA, Nogueira RBSS, Pinto DS, Agra MF, Souza MFV, Cunha EVL. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae). *Rev Bras Farmacogn.* 2008;18:47-52.
- 31 Breitmaier E, Voelter W. Carbon-13 NMR Spectroscopy: high-resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry. 3a ed. Weinheim: Gordon & Breach Science Pub; 1987. p. 363-4.
- 32 Assis LR Jr, Gracez FR, Garcez WF, Guterres ZR. Pregnanos e Outros constituintes das raízes de *Macrosiphonia petrea* (A. St. Hill) Kuntze (Apocynaceae). *Quím Nova.* 2013;36(4):S1-S19.

Recebido em: 24 jan. 2019

Aceito em: 21 nov. 2019