



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

YASMIN FERREIRA DE ARAÚJO

INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE
Metternichia macrocalyx

JOÃO PESSOA - PB
Maio - 2025

YASMIN FERREIRA DE ARAÚJO

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE *Metternichia
macrocalyx***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Farmácia, do
Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal da Paraíba,
como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Josean Fechine
Tavares

Coorientador: Me. Thiago Araújo de
Medeiros Brito

JOÃO PESSOA - PB
Maio - 2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663i Araújo, Yasmin Ferreira de.
Investigação fitoquímica das folhas de *Metternichia
macrocalyx* / Yasmin Ferreira de Araújo. - João Pessoa,
2023.
58 f.

Orientação: Josean Fechine Tavares.
Coorientação: Thiago Araújo de Medeiros Brito.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Plantas medicinais - Fitoquímica. 2. *Metternichia
macrocalyx*. 3. Cromatografia. 4. RMN. 5.
CLAE-IES-EM/EM. 6. Flavonoides glicosilados. I.
Tavares, Josean Fechine. II. Brito, Thiago Araújo de
Medeiros. III. Título.

UFPB/CCS CDU 633.88 (043.2)

YASMIN FERREIRA DE ARAÚJO

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE *Metternichia
macrocalyx***

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Farmácia, do
Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal da Paraíba,
como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.**

Aprovado em 02 de Maio de 2025.

Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

Universidade Federal da Paraíba - UFPB/CCS/DCF
Orientador

Me.Thiago Araújo de Medeiros Brito

Universidade Federal da Paraíba - UFPB/PPGPN
Coorientador

Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento

Universidade Federal da Paraíba - UFPB/CCS/DCF
Examinador

Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos

Universidade Federal da Paraíba - UFPB/CCS/DCF
Examinador

Dedico este trabalho aos meus Pais, Rosemaura e Luiz, à minha irmã Mariana e minha avó Maria (in memoriam). Por todo amor, apoio, força, dedicação e fé em mim. Vocês são a base dos meus sonhos e razão de cada conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pelo dom da vida, por ter sido minha força em cada passo até aqui, por ser, nos momentos mais difíceis dessa caminhada, meu amparo e minha paz. Foi Ele quem me fez lembrar todos os dias, que eu nunca estive sozinha e que, com fé, tudo é possível. Fonte de toda sabedoria, Sua presença tornou possível cada conquista desta jornada. À minha mãezinha doce e acolhedora, **Nossa Senhora**, agradeço pela sua intercessão, por ser colo e proteção.

Aos meus pais, **Rosemaura de Araújo Pereira e Luiz Ferreira de Araújo**, meu amor e minha eterna admiração. À minha mãe, meu exemplo mulher forte, sensível e batalhadora, agradeço por acreditar em mim em todos os momentos, por cada gesto de cuidado, por todo amor que me sustenta, pelas palavras de apoio, pelas orações e, sobretudo, por nunca medir esforços para que eu chegasse até aqui. Ao meu pai, agradeço profundamente pelo incentivo constante, pelo cuidado silencioso, pelas renúncias feitas com amor e por garantir, com tanta dedicação, que eu pudesse estudar, crescer e realizar meus sonhos. Nada disso seria possível sem vocês.

À minha irmã, **Mariana Ferreira de Araújo**, minha companheira, confidente e melhor amiga. Obrigada por estar sempre ao meu lado, por me escutar, por me apoiar nos momentos em que mais precisei, por cada palavra doce, por ser casa.

À minha avó, **Maria Nuncia Pereira Barros** (*in memoriam*), que com um simples olhar era capaz de me acolher. Vovó, obrigada por todo o cuidado, por cada gesto de amor, por tudo o que fez por mim com tanta dedicação, tudo isso foi essencial para me chegar até aqui. Você vive em mim, nas minhas memórias e no meu coração.

Ao meu namorado, **Igor Costa Xavier**, que acompanhou cada passo da minha trajetória, esteve ao meu lado em todos os momentos e foi meu companheiro incansável. Obrigada por ser parceria, por ser cuidado, por ser calma nos meus dias turbulentos, por me acompanhar com paciência, amor e entrega, por ser lar, mesmo de longe.

Aos meus amigos de graduação que levarei para vida, **Clara Alvino, Lenark Jr, Rebeca Soares, Geovanna Leite e Ana Samara**. Obrigada por cada momento

que passamos juntos, pelo apoio, pelas risadas que aliviaram o cansaço, pelas conversas sinceras, pelas horas de estudo e, principalmente, por estarmos juntos nos momentos mais difíceis. Vocês tornaram essa jornada mais leve, mais bonita e infinitamente mais especial.

Ao meu orientador, **Josean Fachine Tavares**, agradeço pela confiança e pela oportunidade de desenvolver este trabalho sob sua orientação. Foi uma honra tê-lo como professor na graduação, pela competência no ensino e pelo exemplo como pesquisador de referência.

Ao meu coorientador, **Thiago Araújo de Medeiros Brito**, agradeço por ter me acompanhado desde a iniciação científica até a conclusão deste trabalho, sempre ensinando com maestria e atenção. Sua dedicação, entusiasmo e exemplo de excelência como pesquisador tornaram a fitoquímica mais leve, revelando a beleza dos produtos naturais. Obrigada pela paciência, cuidado, persistência e conhecimento, que foram essenciais para a realização deste trabalho e para o enriquecimento da minha trajetória acadêmica.

À banca examinadora, composta pelos professores **Sócrates Golzio dos Santos e Yuri Manguiera do Nascimento**, expresso minha sincera gratidão por aceitarem o convite e participarem deste momento tão significativo. Foi uma honra reencontrá-los como avaliadores, após tê-los como professores na graduação. Suas contribuições qualificaram de forma valiosa este trabalho.

A todos que fazem parte da equipe do **LMCA**, meu agradecimento por cada dúvida esclarecida, pelo acolhimento e pelas valiosas trocas de conhecimento ao longo dessa jornada.

A todos os meus amigos, colegas e familiares que torceram por mim, me apoiaram, ofereceram palavras de conforto, força e incentivo para que eu chegasse até aqui, o meu mais sincero obrigada!

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar.”
(Josué 1:9)*

RESUMO

A história do uso de plantas medicinais combina conhecimentos empíricos e científicos sobre suas propriedades terapêuticas. O Brasil, detentor da maior biodiversidade do mundo, possui um grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos a partir de produtos naturais. A família Solanaceae, uma das mais relevantes entre as angiospermas, é reconhecida pela produção de diversos metabólitos secundários bioativos e inclui *Metternichia macrocalyx*, espécie endêmica da Caatinga que apresenta uma escassez de estudos fitoquímicos aprofundados. Diante da riqueza de metabólitos característicos dessa família, este trabalho busca caracterizar a composição química das folhas de *M. macrocalyx* por meio de técnicas clássicas e modernas. Para isso, materiais vegetais da espécie foram coletados no município de Boa Vista do Tupim, na Bahia. O material coletado foi seco em estufa, triturado e submetido à maceração com etanol a 95% para obtenção do extrato etanólico bruto (EEB). Este extrato foi dissolvido em uma solução de etanol:água (7:3 v/v) e submetido a uma partição com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila. A fase acetato de etila foi fracionada por cromatografia em coluna, utilizando sílica gel como fase estacionária e os solventes hexano, acetato de etila e metanol como fase móvel. Foram obtidas 17 frações, dentre as quais a fração A13 foi submetida à análise por CLAE analítica, onde foi desenvolvido um método para a identificação dos compostos, posteriormente aplicado em escala preparativa por CLAE, resultando em 12 frações. A identificação estrutural dos constituintes químicos foi realizada através da análise de dados espectroscópicos de RMN de ^1H e ^{13}C , tanto unidimensionais quanto bidimensionais, e comparação com dados disponíveis na literatura. Com base nessas análises, foi possível identificar na fração A13.12 a substância (MMA-2) como Canferol-3-O- β -xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -ramnopiranosideo. Além disso, foi desenvolvida uma metodologia por CLAE-IES-EM/EM que possibilitou a caracterização dos 13 flavonoides glicosilados presentes na fração MPF_A13. Por fim, este estudo contribuiu para o avanço significativo no conhecimento fitoquímico do gênero *Metternichia* e da espécie *M. macrocalyx*, constituindo o primeiro relato científico da identificação e caracterização de flavonoides glicosilados nesta espécie.

Palavras-chave: Fitoquímica. *Metternichia macrocalyx*. Cromatografia. RMN. CLAE-IES-EM/EM. Flavonoides glicosilados.

ABSTRACT

The history of medicinal plant usage combines empirical and scientific knowledge regarding their therapeutic properties. Brazil, home to the world's largest biodiversity, holds significant potential for developing novel drugs from natural products. The Solanaceae family, one of the most relevant among angiosperms, is recognized for producing various bioactive secondary metabolites and includes *Metternichia macrocalyx*, an endemic species of the Caatinga biome that lacks in-depth phytochemical studies. Given the abundance of characteristic metabolites in this family, this study aims to characterize the chemical composition of *M. macrocalyx* leaves using classical and modern techniques. Plant material was collected in Boa Vista do Tupim, Bahia, dried in an oven, ground, and macerated with 95% ethanol to obtain the crude ethanolic extract (EEB). The extract was dissolved in an ethanol:water solution (7:3 v/v) and partitioned with hexane, dichloromethane, and ethyl acetate. The ethyl acetate phase was fractionated by column chromatography using silica gel as the stationary phase and hexane, ethyl acetate, and methanol as the mobile phase, yielding 17 fractions. Among these, fraction A13 was analyzed by analytical HPLC, where a method for compound identification was developed and later applied on a preparative scale, resulting in 12 fractions. Structural identification of the chemical constituents was performed through spectroscopic analysis of ^1H and ^{13}C NMR data, both one-dimensional and two-dimensional, and comparison with literature data. Based on these analyses, the compound (MMA-2) in fraction A13.12 was identified as Kaempferol-3-O- β -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -rhamnopyranoside. Additionally, an HPLC-ESI-MS/MS methodology was developed, enabling the characterization of 13 glycosylated flavonoids present in the MPF_A13 fraction. Thus, this study significantly advances the phytochemical knowledge of the *Metternichia* genus and *M. macrocalyx*, constituting the first scientific report on the identification and characterization of glycosylated flavonoids in this species.

Keywords: Phytochemistry. *Metternichia macrocalyx*. Chromatography. NMR. HPLC-ESI-MS/MS. Glycosylated flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da família Solanaceae Juss. no mundo representada em preto.....	20
Figura 2 - Distribuição geográfica do gênero <i>Metternichia</i> J.C. Mikan.....	23
Figura 3 - Imagens da espécie <i>Metternichia macrocalyx</i> (Carvalho).....	24
Figura 4 - Distribuição geográfica da espécie <i>Metternichia macrocalyx</i> (Carvalho).....	25
Figura 5 - Esqueleto básico de um flavonoide.....	26
Figura 6 - Rota biossintética dos flavonoides.....	27
Figura 7 - Classes dos flavonoides.....	28
Figura 8 - Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	35
Figura 9 - Perfil cromatográfico desenvolvido por CCDA da Fase Acetatoetílica (1, 2) e da Fase Clorofórmica (3, 4).....	37
Figura 10 - Cromatograma da FR_A13 em HPLC-DAD.....	38
Figura 11 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	39
Figura 12 - Espectro de IES-EMAR de MMA-2 ($[M - H]^-$, modo de ionização negativo).....	41
Figura 13 - Estrutura química do Canferol-3-O- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-ramnopiranosideo.....	43
Figura 14 - Espectro de RMN de 1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA-2.....	45
Figura 15 - Espectro de RMN de 1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA-2 (expansão na região de 4,4 a 8,6 ppm).....	45
Figura 16 - Espectro de RMN de 1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA-2	

(expansão na região de 4,3 a 0,8 ppm).....	46
Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C -BB de MMA-2 (100 MHz, DMSO- d_6).....	46
Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT135 de MMA-2 (100 MHz, DMSO- d_6).....	47
Figura 19 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (500 MHz e 100 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA- 2.....	47
Figura 20 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (500 MHz e 100 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA-2.....	48
Figura 21 - Espectro de COSY (500 MHz, DMSO- d_6) do composto MMA-2.....	48
Figura 22 - Cromatograma de Pico base de CLAE-IES-EM da fração MPF_A13 de <i>M. Macrocalyx</i>	49
Figura 23 - Proposta de fragmentação do composto MMA-2.....	50
Figura 24 - Proposta de fragmentação do composto 8.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fracionamento cromatográfico da fase acetatoetílica do extrato etanólico bruto das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	38
Tabela 2 - Análise comparativa de dados de RMN de ^1H e ^{13}C entre MMA-2 e a Canferol-3-O- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-ramnopiranosideo (Soicke; Görler; Waring, 1990).....	44
Tabela 3 - Caracterização de anotados por CLAE-IES-EM/EM da Fração MPF-A13 de <i>M. macrocalyx</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Acetil-CoA	Acetilcoenzima
AcOEt	Acetato de etila
APT	Attached Proton Test
BB	<i>Broadband</i>
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CH ₃ OH	Metanol
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE- EM/EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplando a espectrômetro de massas em <i>tandem</i>
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplando ao detector de arranjo de diodos
CLAE-IES-EM/EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplando a espectrômetro de massas em <i>tandem</i> utilizando ionização por <i>eletrospray</i>
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dupleto
DCM	Diclorometano
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EEB	Extrato etanólico bruto
EM	Espectrometria de massas
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>

HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
IES	Ionização por <i>eletrospray</i>
IES-EMAR	Espectrometria de Massas em alta resolução de ionização por <i>eletrospray</i>
IES-MSn	Espectrometria de Massas de ionização por <i>eletrospray</i> em <i>tandem</i>
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
PAL	Fenilalanina amônia-liase
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Considerações sobre a Família Solanaceae Juss.	20
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Metternichia</i>	21
2.3 Considerações sobre a espécie <i>Metternichia macrocalyx</i>	23
2.4 Considerações sobre os flavonoides	26
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Materiais e equipamentos	31
4.1.1 Métodos cromatográficos.....	31
4.1.2 Métodos Espectroscópicos.....	32
4.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	32
4.1.3 Métodos Espectrométricos	33
4.1.3.1 Espectrometria de Massas (EM).....	33
4.2 Coleta e identificação do material vegetal.....	33
4.3 Processamento do material vegetal de <i>Metternichia macrocalyx</i>	33
4.4 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	34
4.4.1 Particionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	34
4.5 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de <i>Metternichia macrocalyx</i>	35
4.6 Caracterização de compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM na Fração MPF_A13	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Identificação estrutural de MMA-2	41
5.2 Caracterização dos anotados presentes na Fração MPF_A13 por CLAE-IES-EM/EM	49
5.2.1 Derivados da quercetina.....	52

5.2.2 Derivados do canferol	53
6. CONCLUSÕES	56
7. REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

A história do uso de plantas medicinais é marcada por uma tradição milenar de conhecimento empírico e científico sobre suas propriedades terapêuticas, presente desde os registros das civilizações antigas. Essas práticas ancestrais ressaltam a importância das plantas na saúde humana e impulsionam um interesse crescente da medicina tradicional e moderna por alternativas naturais e sustentáveis aos fármacos sintéticos (Santos *et al.*, 2024).

Reconhecido como o país com a maior biodiversidade do mundo, o Brasil abriga um patrimônio natural de valor inestimável, especialmente no setor farmacêutico. Estima-se que mais de 64,9% dos fármacos modernos tenham origem ou inspiração em compostos naturais, sendo as plantas a principal fonte desses bioativos (Newman; Cragg, 2020). Ademais, essa importância está intrinsecamente ligada à diversidade estrutural e farmacológica dos produtos naturais, resultante de processos coevolutivos que geraram vias biossintéticas exclusivas, capazes de produzir moléculas com alta especificidade biológica (Donato *et al.*, 2020).

Atualmente, a fitoquímica, que estuda a química dos produtos naturais das plantas, concentra-se principalmente na caracterização estrutural, na avaliação das propriedades e na investigação das vias biossintéticas das substâncias originadas pelo metabolismo secundário dos organismos vivos (Braz Filho, 2010). O crescimento contínuo das pesquisas nessa área tem sido essencial para aprofundar o entendimento sobre a composição química das espécies vegetais e possibilitar a identificação de novas moléculas bioativas, esse avanço científico vem estabelecendo bases cada vez mais sólidas para o desenvolvimento de fármacos inovadores, aproveitando de forma sustentável o potencial único do bioma brasileiro.

Nesse contexto, a combinação sinérgica de técnicas espectrométricas e espectroscópicas com métodos clássicos de extração e isolamento revela-se indispensável para a caracterização de compostos bioativos na biodiversidade brasileira. A integração da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com espectrometria de massas proporciona uma análise abrangente de misturas complexas, permitindo a tentativa de identificação de compostos de interesse.

Complementarmente, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), através de experimentos unidimensionais (^1H , ^{13}C) e bidimensionais, oferece dados estruturais detalhados para a completa elucidação estrutural. Essa abordagem integrada, que combina métodos clássicos e modernos, reduz a quantidade de amostra necessária e acelera a descoberta de novos compostos com potencial farmacológico otimizando o aproveitamento de produtos naturais. (Dolzan *et al.*, 2019).

A família Solanaceae, uma das mais relevantes entre as angiospermas, abrange cerca de 100 gêneros e aproximadamente 2.800 espécies. Assim, essa diversidade confere-lhe significativa importância econômica, devido ao seu potencial alimentício, medicinal e ornamental. Além disso, as Solanaceae são conhecidas por produzirem uma variedade de metabólitos secundários bioativos, como alcaloides, flavonoides, glicosídeos, lactonas, lignanas, esteroides, fenóis simples, açúcares e terpenoides (Afroz, *et al.*, 2020).

Dessa forma, a investigação da composição química das espécies, especialmente da família Solanaceae, torna-se fundamental para a caracterização de seu perfil fitoquímico. Nesse contexto, *Metternichia macrocalyx*, recentemente reconhecida como espécie distinta de *M. princeps*, destaca-se por sua distribuição restrita à Caatinga e pela ausência de investigações fitoquímicas aprofundadas (Souza *et al.*, 2023; UICN, 2024). Considerando a riqueza de metabólitos secundários da família, como flavonoides e alcaloides, este trabalho busca analisar a composição química das folhas de *M. macrocalyx* por meio de técnicas clássicas e modernas, contribuindo para a valorização da flora nacional e para possíveis aplicações farmacológicas (Barros, 2012; Yang *et al.*, 2018).

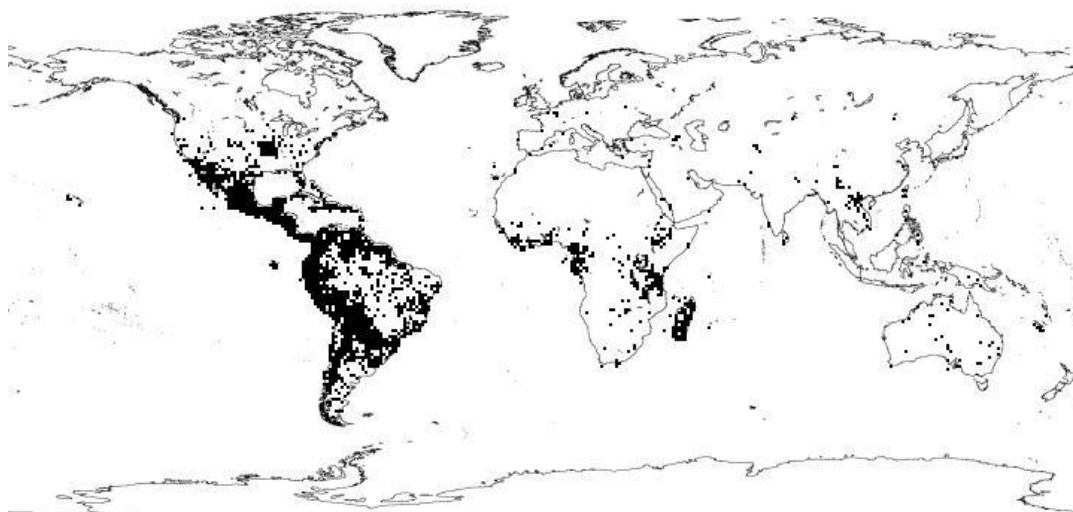
2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações sobre a Família Solanaceae Juss.

A família Solanaceae, pertencente à ordem Solanales (APG II, 2003) compreende cerca de 100 gêneros e aproximadamente 2.800 espécies. Destaca-se como uma das mais diversas entre as angiospermas e uma das mais economicamente relevantes, devido ao seu potencial alimentício (batata, tomate, pimentão, berinjela, pimenta), medicinal (atropina, nicotina) e ornamental (petúnia e damas-da-noite) (Moura; Caires, 2021).

A distribuição da família Solanaceae é subcosmopolita com sua maior concentração na região Neotropical, especialmente na América Central e América do Sul, que apresentam a maior diversidade de espécies. Além disso, grandes áreas da Austrália e da África também funcionam como centros secundários de diversidade (Figura 1). Outrossim, estudos indicam que a América do Sul é o principal centro de origem, endemismo e diversidade dessa família, com aproximadamente 50 gêneros endêmicos. (Moura; Caires, 2021; Palchetti; Cantero; Barboza, 2020).

Figura 1 - Distribuição geográfica da família Solanaceae Juss. no mundo representada em preto.



Fonte: TROPICOS.ORG, Missouri Botanical Garden, 2025.

No Brasil, a família está representada por 36 gêneros e 504 espécies, sendo 237 delas endêmicas, o que confere ao país o maior percentual de espécies

exclusivas, cerca de 50%. A família está presente em todos os domínios fitogeográficos do Brasil, com maior expressão na Mata Atlântica, na Amazônia e no Cerrado. Na região Nordeste, são registradas cerca de 21 gêneros e 189 espécies (Agra *et al.*, 2009; Flora do Brasil, 2020).

Quanto à distribuição das espécies nos gêneros da família Solanaceae, o gênero *Solanum* se destaca por concentrar 50% das espécies da família, seguido por *Lycianthes* (Dunal) Hassl., *Cestrum* L., *Nolana* L. f., *Nicotiana* L., *Physalis* e *Lycium* L., que compõem os sete gêneros mais representativos (Särkinen, 2013).

Entre os quatro gêneros endêmicos do Brasil, dois são monoespecíficos: *Heteranthia* Nees & Mart. e *Duckeodendron* Kuhlmann. Alguns gêneros são exclusivos de ambientes campestres, como *Petunia* Juss., *Calibrachoa* Cerv. e *Nierembergia* Ruiz & Pav., enquanto outros ocorrem apenas em áreas florestais, como *Brunfelsia* L. e *Capsicum* L. (Mentz; Oliveira, 2004; Soares; Mentz, 2006). Além disso, as espécies da família destaca-se por sua riqueza em metabólitos secundários bioativos, como alcaloides, flavonoides, glicosídeos, lactonas, lignanas, esteroides, fenóis simples, açúcares e terpenoides, substâncias amplamente exploradas pela indústria farmacêutica, gerando um significativo impacto econômico (Afroz, *et al.*, 2020).

2.2 Considerações sobre o gênero *Metternichia*

A classificação dos gêneros da família Solanaceae tem sido alvo de debates devido às dificuldades em definir suas relações evolutivas. O gênero *Metternichia*, passou por diversas revisões taxonômicas, sendo inicialmente incluído na tribo *Metternichieae* Miers., posteriormente transferido para *Cestreae* G. Don e, mais tarde, redefinido como uma tribo monotípica. Essa reclassificação foi sustentada por diferenças na morfologia das sementes, como a escassez de endosperma, além de variações cromossômicas significativas. Enquanto os membros da tribo *Cestreae* apresentam um número básico de cromossomos $x = 8$, *Metternichia* possui $x = 13$, reforçando sua distinção como grupo independente. A tribo *Cestreae*, composta pelos gêneros *Cestrum*, *Sessea* e *Vestia*, também apresenta desafios taxonômicos. O gênero *Sessea*, antes considerado próximo de *Metternichia*, foi posteriormente separado com base em características morfológicas específicas

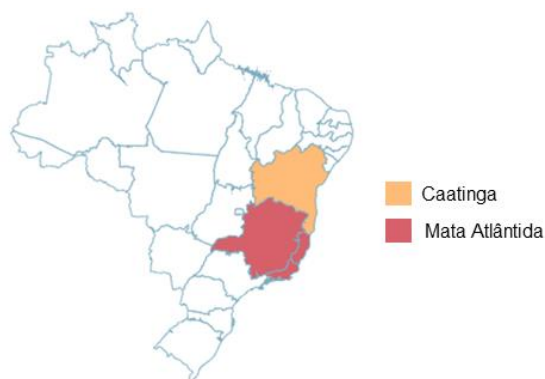
(Brito, 2021).

Além das diferenças taxonômicas, os gêneros da tribo *Cestreae* apresentam uma diversidade fitoquímica significativa. Por exemplo, no gênero *Cestrum*, a presença de alcaloides e lignanamidas o distingue dos demais gêneros da tribo. Dentre os compostos isolados, destacam-se saponinas esteroidais, alcaloides, lignanamidas e triterpenos. Essas variações químicas evidenciam a complexidade metabólica da tribo e reforçam a necessidade de estudos adicionais sobre suas possíveis aplicações biológicas e farmacológicas (Silva, 2009).

O gênero *Metternichia*, endêmico do Brasil, destaca-se por suas flores grandes, vistosas e perfumadas, atributos que lhe conferem grande potencial ornamental. No entanto, estudos indicam que sua ingestão pode ser tóxica para caprinos, podendo levar à morte em casos mais graves (Carvalho, 1986). Historicamente classificado como monoespecífico, o gênero abrigava apenas uma espécie válida: *Metternichia princeps* J.C. Mikan. No entanto, recentes pesquisas baseadas em dados ambientais, fenológicos, morfométricos e palinológicos sustentaram a elevação da variedade *M. princeps* var. *macrocalyx* ao status de espécie distinta, denominada *Metternichia macrocalyx*, resultando no reconhecimento de duas espécies dentro do gênero (Souza et al., 2023).

Outrossim, o gênero foi registrado em dois biomas com regimes pluviométricos distintos: Mata Atlântica e Caatinga. Essa distribuição abrange duas espécies: *M. princeps*, encontrada em florestas úmidas do leste do Brasil, nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, e *M. macrocalyx*, predominante em áreas semiáridas da Caatinga, especialmente na Bahia e parte do norte de Minas Gerais (Figura 2). Comparativamente, *M. macrocalyx* apresenta um cálice mais longo que cobre o tubo da corola, folhas mais extensas, sépalas de forma irregular, pedicelo até três vezes maior e grãos de pólen de maior tamanho. Por outro lado, *M. princeps* se destaca por suas flores maiores e margens foliares planas, enquanto *M. macrocalyx* exibe margens foliares enroladas (Souza et al., 2023).

Figura 2 - Distribuição geográfica do gênero *Metternichia* J.C. Mikan.



Fonte: Flora e Funga do Brasil, 2025.

Popularmente conhecida como "café-do-mato", "trombeteira" e "jasmim-do-morro", *M. princeps* é uma espécie cuja toxicidade foi confirmada por meio de ensaios experimentais em caprinos e coelhos. Nos caprinos, os efeitos tóxicos manifestaram-se predominantemente no sistema renal, enquanto nos coelhos, as alterações mais significativas ocorreram nos sistemas cardíaco e hepático (Maran, 2012). Além disso, um estudo identificou *M. princeps* como a causa de mortes em caprinos em uma criação no município de Itaguaí, no estado do Rio de Janeiro, reforçando sua toxicidade para esses animais (Caldas *et al.*, 2012). Posteriormente, um surto de intoxicação por *M. macrocalyx* em caprinos foi registrado na Bahia, resultando na morte de três dos oito animais afetados. A necropsia revelou necrose do epitélio tubular nos rins e edema pulmonar severo, evidenciando o impacto letal da planta (Pedroso *et al.*, 2014).

Embora haja evidências da toxicidade e do potencial ornamental de *Metternichia*, o gênero permanece pouco explorado sob a perspectiva farmacológica e farmacológica. Estudos mais detalhados sobre sua composição química, especialmente no que diz respeito à presença de compostos bioativos e suas possíveis aplicações terapêuticas, são essenciais para compreender seu real potencial, tanto em termos de benefícios quanto de riscos à saúde. Pesquisas adicionais podem esclarecer melhor sua relevância farmacológica e contribuir para o entendimento de suas propriedades biológicas (Flora e Funga do Brasil, 2025).

2.3 Considerações sobre a espécie *Metternichia macrocalyx*

Metternichia macrocalyx é uma árvore de pequeno porte caracterizada por

um cálice longo e persistente, suas flores são campanuladas, com coloração amarela (Figura 3). Estudos fenológicos revelam que a espécie está amplamente distribuída em regiões semiáridas da Caatinga, demonstrando adaptações a solos secos e temperaturas elevadas. A floração e frutificação ocorrem sazonalmente, acompanhando os padrões climáticos do bioma (Souza *et al.*, 2023).

Figura 3 – Imagens da espécie *Metternichia macrocalyx* (Carvalho).



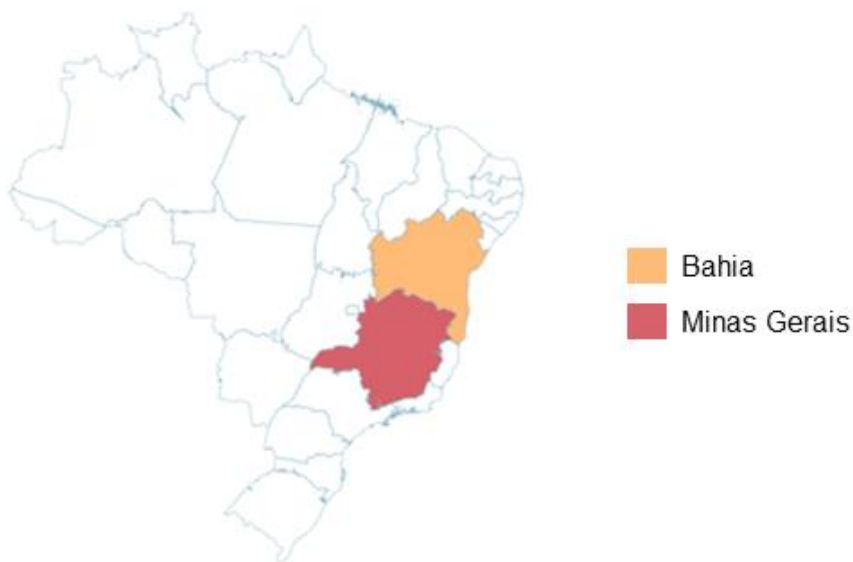
Fonte: Souza *et al.*, 2023.

A espécie é frequentemente registrada em margens de estradas na Bahia e no norte de Minas Gerais, no entanto, apresenta poucas ocorrências em áreas protegidas (Figura 4). A Caatinga, considerada uma das regiões menos estudadas e resguardadas do Brasil (Santos *et al.*, 2011; Silveira *et al.*, 2021), vem sofrendo intensa conversão para atividades agrícolas (Souza *et al.*, 2020), o que agrava

ainda mais a vulnerabilidade de *M. macrocalyx*. A espécie parece ser rara em unidades de conservação e está localizada predominantemente em uma região cientificamente pouco explorada (Santos *et al.* 2011). O estudo de complexos de espécies no Brasil ainda está em fase inicial, sobretudo em biomas subexplorados como a Caatinga. Nos últimos dez anos, sete novas espécies de Solanaceae foram descritas na região, pertencentes a gêneros economicamente relevantes, como *Solanum* e *Capsicum* (Stehmann; Oliveira; Tabosa, 2020).

De acordo com as diretrizes da UICN, *M. macrocalyx* foi classificada preliminarmente como ameaçada (EN - Em Perigo), devido à fragmentação de seu habitat e às ameaças ambientais crescentes (UCNI, 2024). O reconhecimento oficial dessa espécie, anteriormente considerada uma variante de *M. princeps*, reforça a necessidade de medidas de conservação direcionadas para garantir a manutenção de suas populações naturais. Para mais, por se tratar de uma espécie recentemente descrita e ainda pouco estudada do ponto de vista fitoquímico, é fundamental ampliar as pesquisas científicas para aprofundar seu conhecimento.

Figura 4 - Distribuição geográfica da espécie *Metternichia macrocalyx* (Carvalho) L.S. Souza & Stehmann.

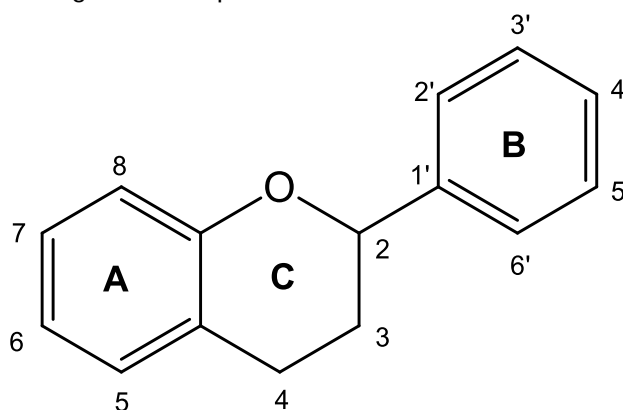


Fonte: Flora e Funga do Brasil, 2025.

2.4 Considerações sobre os flavonoides

O termo flavonoide é um nome coletivo dado aos pigmentos de plantas derivados da benzo-g-pirona, são metabólitos secundários que pertencem a uma ampla classe de compostos polifenólicos, amplamente encontrados em diversas plantas, com destaque para as angiospermas. Estão presentes em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores. Sua estrutura química é composta por 15 átomos de carbono distribuídos em dois anéis benzênicos (A e B), conectados a um anel heterocíclico central de pirano (C). Nessa configuração, o primeiro anel benzênico liga-se ao quinto e sexto carbono do pirano, que, por sua vez, apresenta um grupo fenila na posição 2 (Figura 5) (Silva *et al.*, 2015).

Figura 5 – Esqueleto básico de um flavonoide

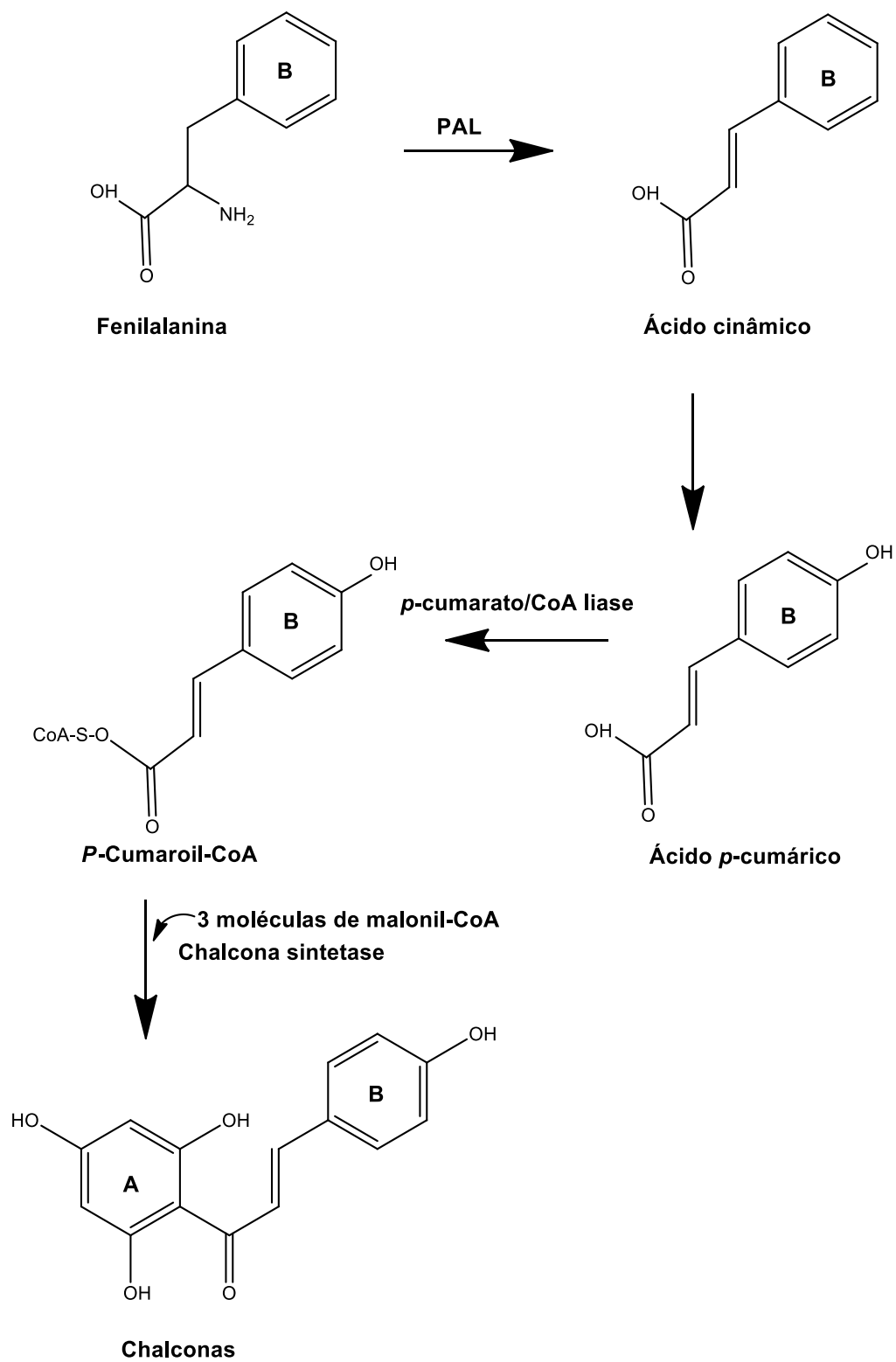


Fonte: Elaboração própria, 2025.

Esses polifenóis são biossintetizados a partir dos metabólitos derivados do ácido chiquímico e acetil-coA. O ácido é originário da fenilalanina, que atua como precursor primário na formação dos flavonoides. Esse aminoácido sofre um processo de desaminação por meio da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), resultando na produção de ácido cinâmico. Posteriormente, esse ácido é transformado em ácido p-cumárico pela ação da enzima cinamato 4-hidroxilase. Em seguida, a CoA é adicionada por meio da catálise da enzima p-cumarato-CoA ligase, gerando p-cumaroil-CoA. Esse composto reage com três unidades de malonil-CoA para formar a chalcona, um processo mediado pela enzima chalcona sintase. Por fim, a chalcona passa por um processo de ciclização promovido pela enzima chalcona isomerase, originando a flavanona, que constitui o esqueleto básico dos flavonoides. Dessa maneira, a biossíntese dos flavonoides segue um padrão no qual o anel A se origina da via do acetil-CoA, o anel B tem origem do

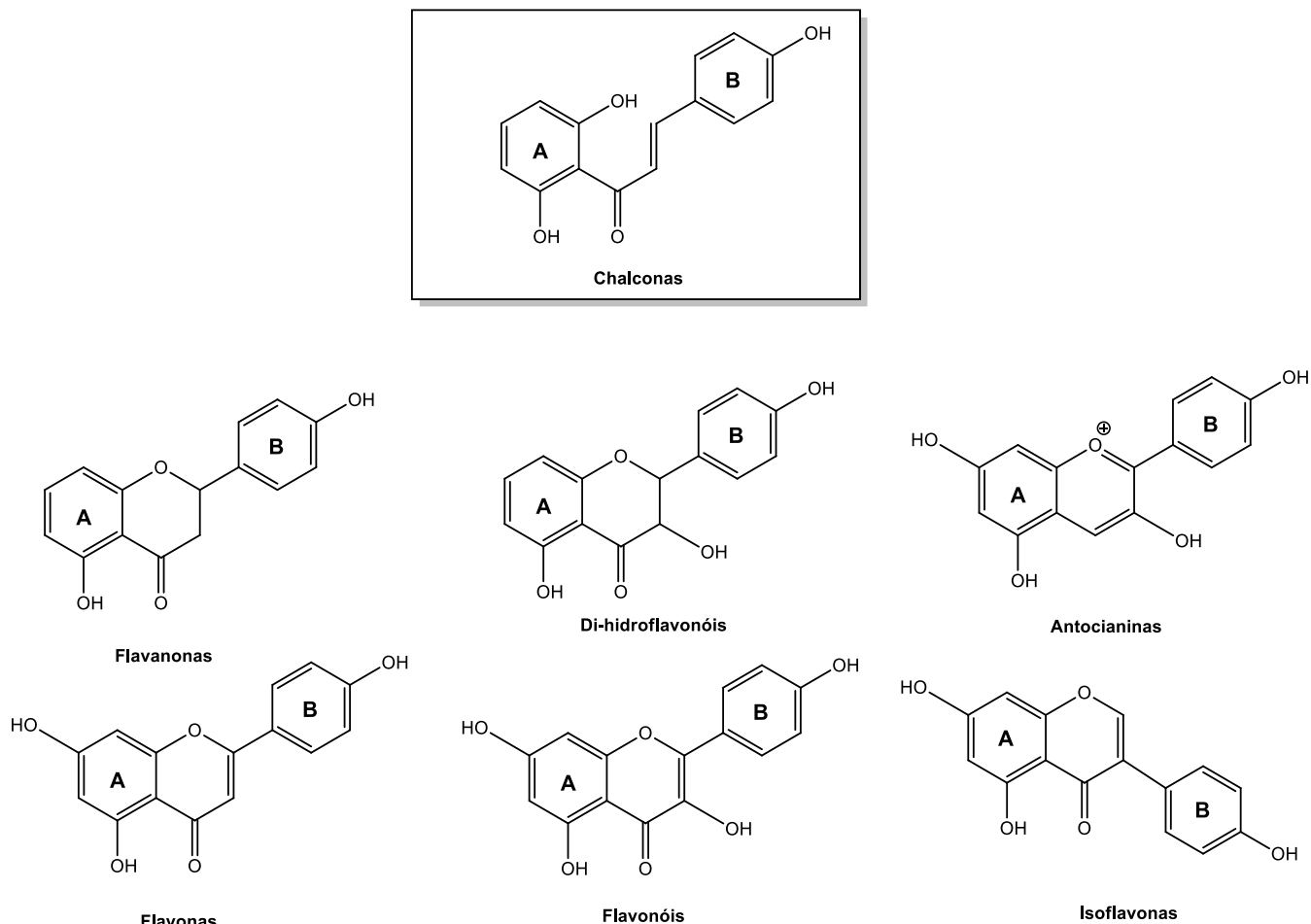
ácido chiquímico (Barros, 2012).

Figura 6 – Rota biossintética dos flavonoides



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 7 – Classes dos flavonoides



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Os flavonoides são divididos em 13 classes, abrangendo mais de 5000 compostos já identificados. As principais subclasses incluem chalconas, dihidrochalconas, auronas, flavonas (como luteolina e diosmetina), flavonóis (como quercetina e canferol), dihidroflavonóis, flavanonas (como naringina), flavanóis, flavandióis, antocianidinas, isoflavonoides (como genisteína), bioflavonoides e proantocianidinas (Figura 7) (Barros, 2012; Behling, 2004). Ademais, a classificação dos flavonoides varia de acordo com o grau de oxidação e insaturação do anel C. Esses compostos podem ocorrer na forma de agliconas, glicosídeos ou associados a outras classes de metabólitos secundários, como as flavolignanas, no entanto, sua forma mais comum é a de glicosídeos.

Nesse contexto, os flavonoides, exceto as catequinas, estão predominantemente na forma glicosilada nas plantas, ou seja, ligados a moléculas

de açúcar. Diferentes monossacarídeos, isolados ou combinados, podem se conectar a diversas hidroxilas desses compostos, formando uma grande variedade de glicosídeos. Esse processo ocorre, em geral, pela ação da glicosiltransferase presente em plantas ou microrganismos. A glicosilação desempenha um papel essencial na modificação das propriedades dos flavonoides, aumentando sua solubilidade em água, reduzindo sua reatividade e influenciando sua estabilidade. Embora qualquer hidroxila possa ser glicosilada, as localizadas nas posições 3, 5 e 7 são mais suscetíveis devido à maior acidez. Além de afetar as características químicas, a glicosilação impacta a bioatividade dos flavonoides no organismo, influenciando sua absorção, metabolismo e biodisponibilidade. Ademais, os flavonoides apresentam uma ampla gama de efeitos bioquímicos e farmacológicos, capazes de impactar as funções de diversos sistemas celulares. Entre suas principais atividades estão as propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais e antialérgicas, além de efeitos vasodilatadores, e ações antimicrobianas e antivirais (Barros, 2012; Yang *et al.*, 2018).

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar o isolamento, identificação e/ou caracterização dos constituintes químicos das folhas de *Metternichia macrocalyx* da família Solanaceae.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter extratos e fases orgânicas das folhas de *Metternichia macrocalyx* para o estudo da sua composição química;
- Extrair, isolar e purificar os metabólitos secundários encontrados na espécie *Metternichia macrocalyx*, utilizando técnicas extrativas com solventes orgânicos e métodos cromatográficos;
- Desenvolver métodos analíticos por CLAE-DAD para as frações da espécie *Metternichia macrocalyx*;
- Desenvolver métodos analíticos por CLAE-IES-EM/EM para caracterizar as estruturas químicas dos constituintes de *Metternichia macrocalyx*;
- Identificar os compostos isolados de *Metternichia macrocalyx* através dos métodos espectroscópicos, incluindo espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C e bidimensionais, como também métodos espectrométricos, como IES-EMAR;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos

4.1.1 Métodos cromatográficos

As etapas de análise, isolamento e purificação dos constituintes químicos foram realizadas utilizando métodos cromatográficos como: cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), cromatografia em coluna (CC) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A CCDA foi aplicada para analisar o processo de isolamento e purificação das frações obtidas, compreender o perfil de separação cromatográfica e selecionar os sistemas de eluição apropriados. O procedimento foi realizado com placas cromatográficas da Merck, compostas por sílica gel com indicador de fluorescência F254, medindo 20x20 cm e com espessura de 0,25 mm. A visualização das substâncias analisadas foi realizada por meio da exposição das cromatoplacas à radiação ultravioleta (UV), com comprimentos de onda de 254 e 366 nm, em uma câmara escura.

Para a CC foi empregada por meio de colunas com dimensões específicas de comprimento e diâmetro adequadas à quantidade de amostra a ser aplicada. Foi utilizado sílica gel com partículas de diâmetro entre 60-200 μm , como fase estacionária. Os solventes hexano (Hex), acetato de etila, clorofórmio e metanol, tanto em sua forma pura quanto em misturas binárias, organizadas em ordem crescente de polaridade, compuseram a fase móvel.

Na CLAE, as análises foram realizadas com um cromatógrafo da Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão LC-10ADvp, detector de arranjo de diodos SPD-M10Avp, forno CTO-10Avp, controlador SCL-10Avp, desgaseificador DGU-14a e injetor manual, utilizando alças de amostragem de 20 μL para CLAE analítica e de 100 μL para CLAE preparativa. As colunas cromatográficas empregadas foram da marca GIST C18, com partículas de 5,0 μm e dimensões de 250 x 4,6 mm para análise analítica e 250 x 21,2 mm para preparativa. Para o

preparo das amostras, foi utilizado um banho de ultrassom (Unique-USC-1600) e filtros de seringa em PVDF, com poros de 0,45 μm e 30 mm de diâmetro (Allcrom). A caracterização do perfil cromatográfico foi conduzida utilizando metanol grau HPLC (LiChrosolv®, Brasil), ácido fórmico e água ultrapura obtida através de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore®). O software LabSolutions® (Shimadzu, Japão) foi empregado para o controle do equipamento, bem como para a aquisição e análise dos dados.

4.1.2 Métodos Espectroscópicos

4.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros da BRUKER (operando a 500 MHz para RMN ^1H e a 100 MHz para RMN ^{13}C), no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise da UFPB (LMCA-UFPB). As amostras foram preparadas por dissolução em DMSO- d_6 .

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades da RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *ddd* (duplo duplo duplete), *dddd* (duplo duplo duplo duplete), *t* (triplete), *tl* (triplete largo), *q* (quadruplete) e *m* (multiplete). Os deslocamentos de RMN de ^1H e ^{13}C foram ajustados de acordo com o sinal residual do solvente não deuterado em 2,49 ppm (RMN de ^1H) e 39,5 ppm (RMN de ^{13}C).

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos por meio da técnica de Broadband *decoupling* (BB) e DEPT-135, nesse último os sinais em fase oposta foram atribuídos aos carbonos metilênicos (CH_2), enquanto os sinais em fase normal foram relacionados aos carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3). Já os espectros de RMN de hidrogênio foram aprimorados por meio de técnicas bidimensionais como HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) e COSY (Correlation Spectroscopy).

4.1.3 Métodos Espectrométricos

4.1.3.1 Espectrometria de Massas (EM)

Os espectros de massa das substâncias foram adquiridos em espectrômetros de alta e baixa resolução acoplados a um sistema CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão) composto por duas bombas LC-20AD, autoamostrador SIL-20A, detector SPD-M20A e controladora CBM-20A, utilizando ionização por electrospray (ies) nos espectrômetros AmaZon X ou MicrOTOF II (Bruker Daltonics, EUA) para análises de IES-MSn e IES-EMAR, respectivamente. Esta abordagem de CLAE-IES-EM/EM permite: (i) detecção sensível de íons fragmentados via dissociação induzida por colisão (CID), (ii) elucidação estrutural baseada em padrões característicos de fragmentação, e (iii) identificação confiável de metabólitos vegetais mediante comparação com bancos de dados especializados (Geng *et al.*, 2014).

4.2 Coleta e identificação do material vegetal

Os materiais vegetais de *M. macrocalyx* foram coletados em 15 de janeiro de 2019 na Fazenda Esperança, localizada no município de Boa Vista do Tupim, BA. A espécie foi identificada pelo Prof. Dr. Domingos Benício Oliveira Silva Cardoso, do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Uma exsicata do material vegetal coletado foi produzida e registrada com o código ALCB 138826, sendo depositada no Herbário Alexandre Leal Costa (ALCB) da UFBA. A atividade envolvendo essa espécie vegetal foi registrada no Sisgen com o número AA54545.

4.3 Processamento do material vegetal de *Metternichia macrocalyx*

O material vegetal foi seco em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40 °C durante 72 horas. Após a secagem, o material desidratado foi triturado em um moinho mecânico para a obtenção do pó seco das diferentes partes da planta, resultando em 4,38 kg de raízes, 1,88 kg de caules, 1,0 kg de folhas e 1,10 kg de galhos.

4.4 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de *Metternichia macrocalyx*

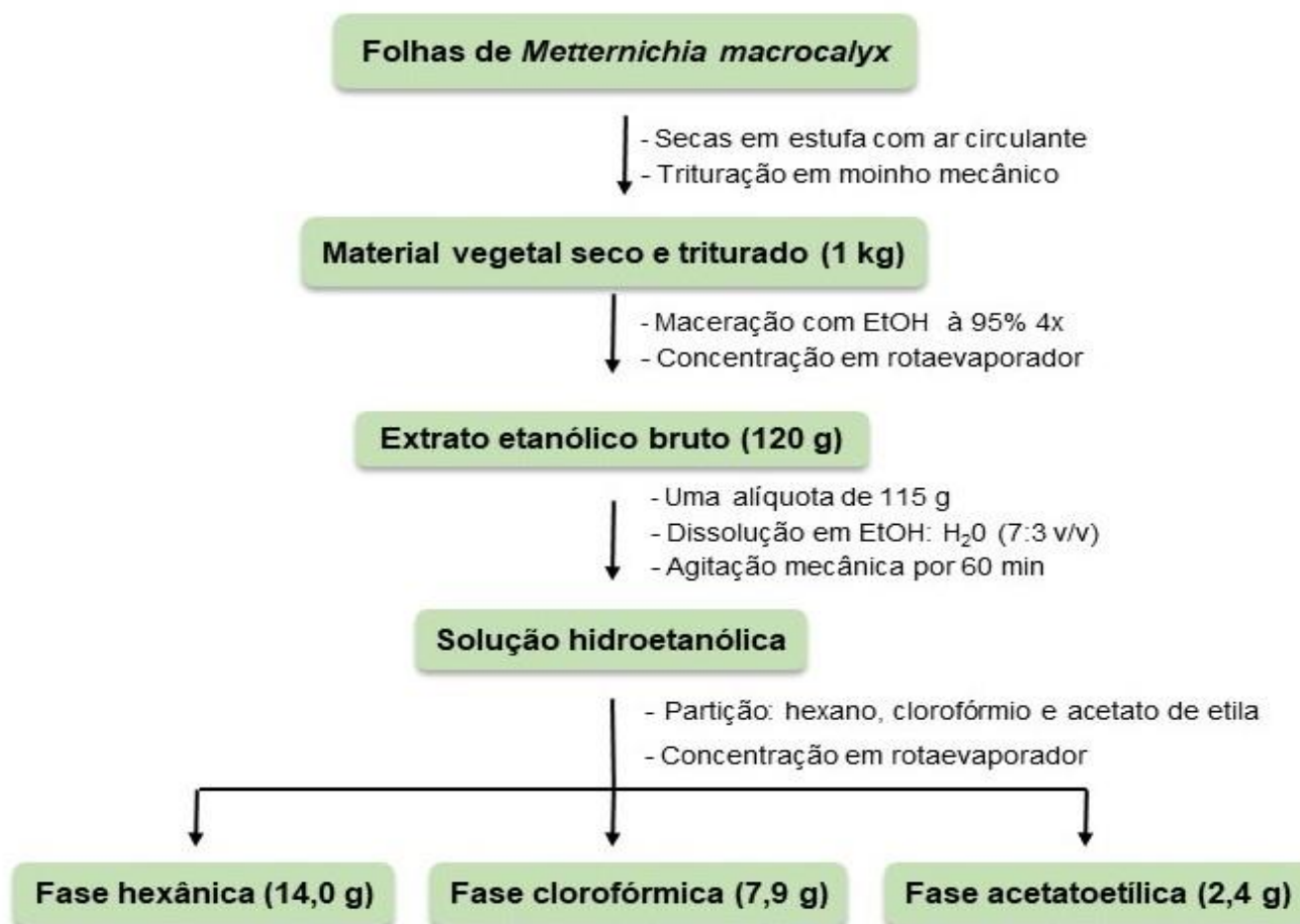
O material vegetal seco e triturado das folhas foi submetido à maceração com EtOH a 95%, em um recipiente de aço inoxidável denominado percolador. Foram feitos processos de extração num intervalo de 72 horas entre eles, e, após a coleta do primeiro extrato outras bateladas foram realizadas, totalizando 3 extrações. A solução etanólica obtida foi filtrada, fazendo-se, em seguida, a evaporação do solvente com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 40 °C. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que pesou 120,0 g e um rendimento extrativo de 15% (Figura 8).

4.4.1 Particionamento do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de *Metternichia macrocalyx*

Uma alíquota de 115,0 g do EEB foi suspensa em 300 mL de uma solução EtOH: H₂O 7:3 (v/v) e homogeneizado sob agitação mecânica. A solução hidroetanólica foi submetida a uma partição líquido-líquido, em ampola de separação, utilizando os respectivos solventes em gradiente crescente de polaridade: hexano, clorofórmio e acetato de etila.

As fases obtidas em estado líquido foram concentradas em evaporador rotativo, a uma temperatura de 40 °C. O líquido residual foi eliminado em dessecador para pesagem, obtendo-se 14,0 g da fase hexânica (FHX), 7,9 g de fase clorofórmica (FCI), 2,4 g da fase acetatoetílica (FAE) e 85,0 g fase hidroetanólica (FHE) (Figura 8).

Figura 8 - Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das folhas de *Metternichia macrocalyx*



Fonte: Elaboração própria, 2025.

4.5 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de *Metternichia macrocalyx*

Inicialmente, foi realizado uma CCDA para observar o perfil cromatográfico da fase acetatoetílica em sílica gel e determinar um método de eluição para cromatografia em coluna (Figura 9). Em seguida, uma alíquota de 2,0 g da fase acetatoetílica foi submetida a cromatografia de coluna, utilizando sílica gel com partículas de 60-200 μm como fase estacionária e hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, como fase móvel, em ordem crescente de

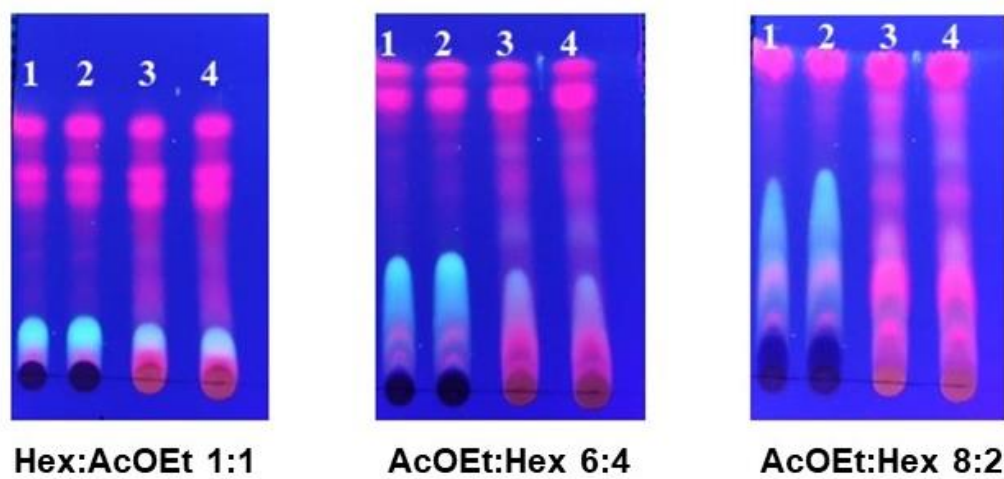
polaridade. Esse procedimento resultou na obtenção de 17 frações, codificadas de A01 a A17, as quais foram coletadas em frascos Erlenmeyer e concentradas em um rotaevaporador (Tabela 1). A quantidade de massa das frações foi estimada em balança analítica.

As frações A01 a A017, foram analisadas por CLAE em escala analítica com o objetivo de avaliar sua adequabilidade ao isolamento e purificação em CLAE preparativa. Para a preparação da amostra, pesou-se 1,0 mg das frações em tubo de eppendorf, em seguida, foram adicionados 1 mL de MeOH, o conteúdo do eppendorf foi filtrado em um filtro PVDF com porosidade de 0,2 μ m e transferida para um vial de 1,5 mL. Após a preparação da amostra, a mesma foi injetada no equipamento de CLAE-DAD analítico. Sendo a fase móvel composta por MeOH: H₂O acidificada (Ác. Fórmico/H₂O 0,1 % v/v) com fluxo da fase móvel de 0,6 mL/min e um volume de injeção de 20 μ L. O método exploratório operou em modo gradiente utilizando MeOH:H₂O acidificada (Ac. Fórmico/H₂O 0,1 % v/v) variando a concentração de MeOH na proporção de 5 a 100% em um tempo de 60 min. Após a análise, o perfil cromatográfico da fração A13 foi considerado promissor para fins de isolamento, pois apresentou picos bem definidos, com boa resolução e separação entre os compostos. Com base nesses resultados, foi desenvolvido um método de separação em CLAE-DAD analítico, o qual foi posteriormente transposto para escala preparativa para o isolamento e purificação dos compostos (Figura 10).

Para a preparação da amostra para CLAE-DAD preparativa, foi adicionado 1,6 mL de MeOH a uma alíquota 315,0 mg da Fração A13. Apesar do aspecto límpido da solução resultante, o material ainda foi centrifugado para remoção de quaisquer outras partículas interferentes. O volume de injeção dessa solução foi de 100 μ L, sob fluxo da fase móvel de 8 mL/min e foram realizadas 16 injeções. A separação cromatográfica foi realizada utilizando um sistema de solventes composto por: solvente A = ácido fórmico/H₂O 0,1% (v/v) e solvente B= MeOH; o processo ocorreu em modo gradiente, variando de 40% de solvente B para 60% em um período de 60 minutos. Ao final, foram coletadas 12 frações visualizando um comprimento de onda de 254 nm. Posteriormente, as frações foram concentradas em evaporador rotativo e submetidas a análises de RMN ¹H, ¹³C 1D e 2D para caracterização estrutural. A Fração 12 (9,0 mg) foi codificada como MMA-

2 (Figura 11).

Figura 9 - Perfil cromatográfico desenvolvido por CCDA da Fase Acetatoetílica (1, 2) e da Fase Clorofórmica (3, 4).



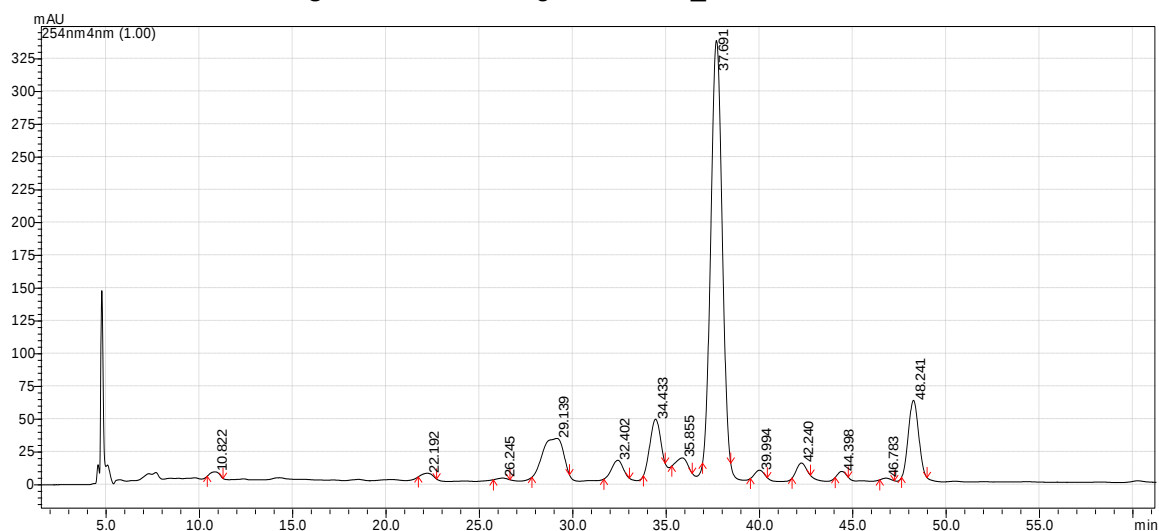
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase acetatoetílica do extrato etanólico bruto das folhas de *Metternichia macrocalyx*

Frações	Solvente
1-3	Hexano:AcOEt (75:25)
4	Hexano:AcOEt (1:1)
5-6	AcOEt:Hexano (6:4)
7	AcOEt:Hexano (7:3)
8	AcOEt:Hexano (8:2)
9	AcOEt:Hexano (9:1)
10	AcOEt 100%
11	AcOEt:MeOH (9:1)
12	AcOEt:MeOH (8:2)
13	AcOEt:MeOH (7:3)
14	AcOEt:MeOH (6:4)
15	AcOEt:MeOH (1:1)
16-17	MeOH 100%

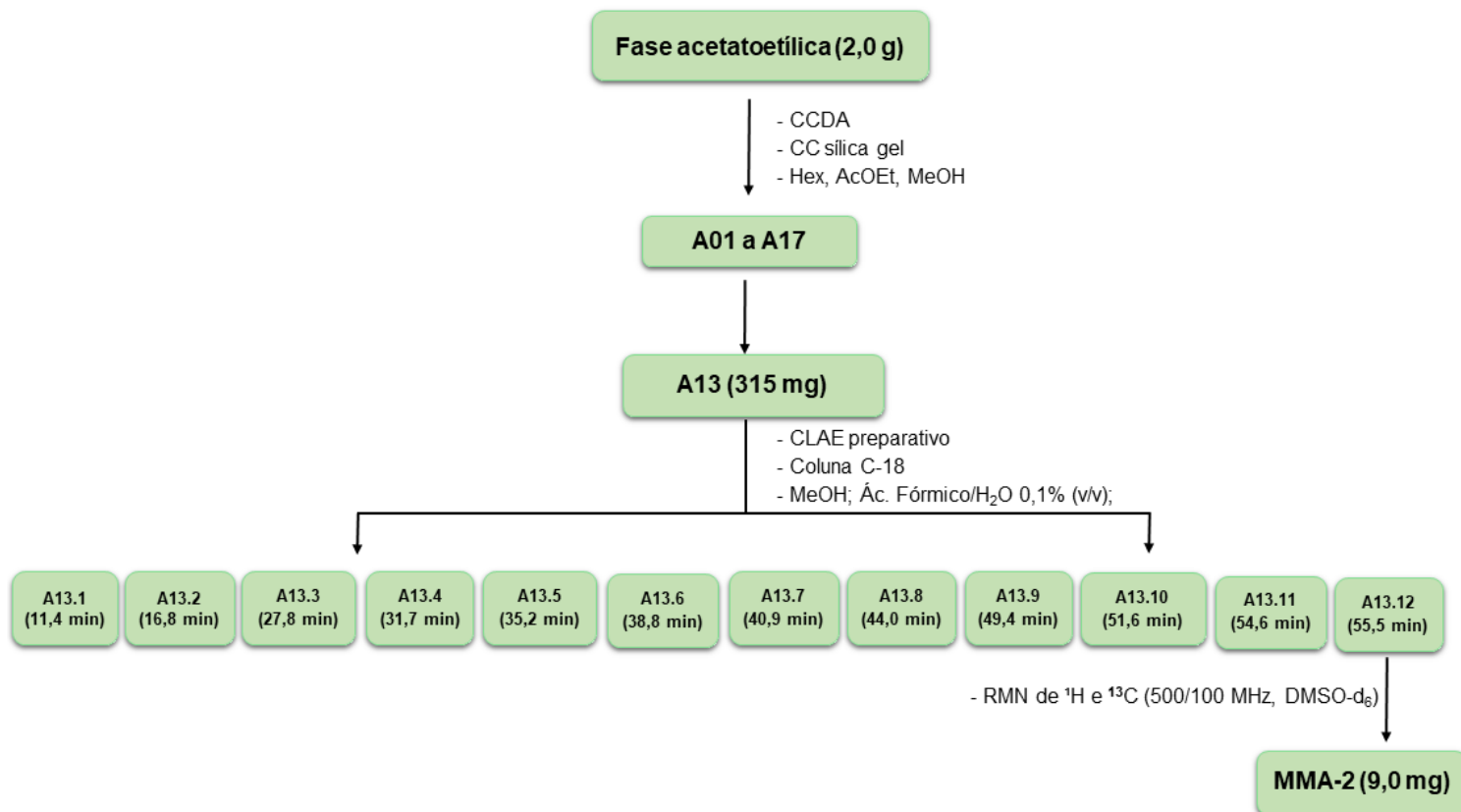
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 10 - Cromatograma da FR_A13 em CLAE-DAD.



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 11 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de *Metternichia macrocalyx*



Fonte: Elaboração própria, 2025.

4.6 Caracterização de compostos anotados por CLAE-IES-EM/EM na Fração MPF_A13

Uma alíquota de 1,0 mg da fração MPF_A13 foi analisada por CLAE-IES-EM/EM. Experimentos de CLAE foram realizados utilizando uma coluna C18 (Kromasil-250 mm x 4.6 mm x 5 µm), com volume de injeção 15 µL. A fase móvel consistiu em ácido fórmico/H₂O 0,1% (v/v) (Solvente A) e Metanol (Solvente B). Gradiente exploratório linear (5-100%) foi realizado para eluição em 60 min, com um fluxo de 0,6 mL/min. Os parâmetros das análises para espectrômetros de massas foram as seguintes: voltagem do capilar: 4,0 kV, IES em modo negativo, end plate offset: 500 V, nebulizador 4,0 bar, gás de secagem (N₂) com fluxo de 8 ml/min e temperatura de 200°C. Fragmentação CID (dissociação induzida por colisão), no AmaZon X foi efetuada em auto EM/EM, utilizando Enhanced resolution

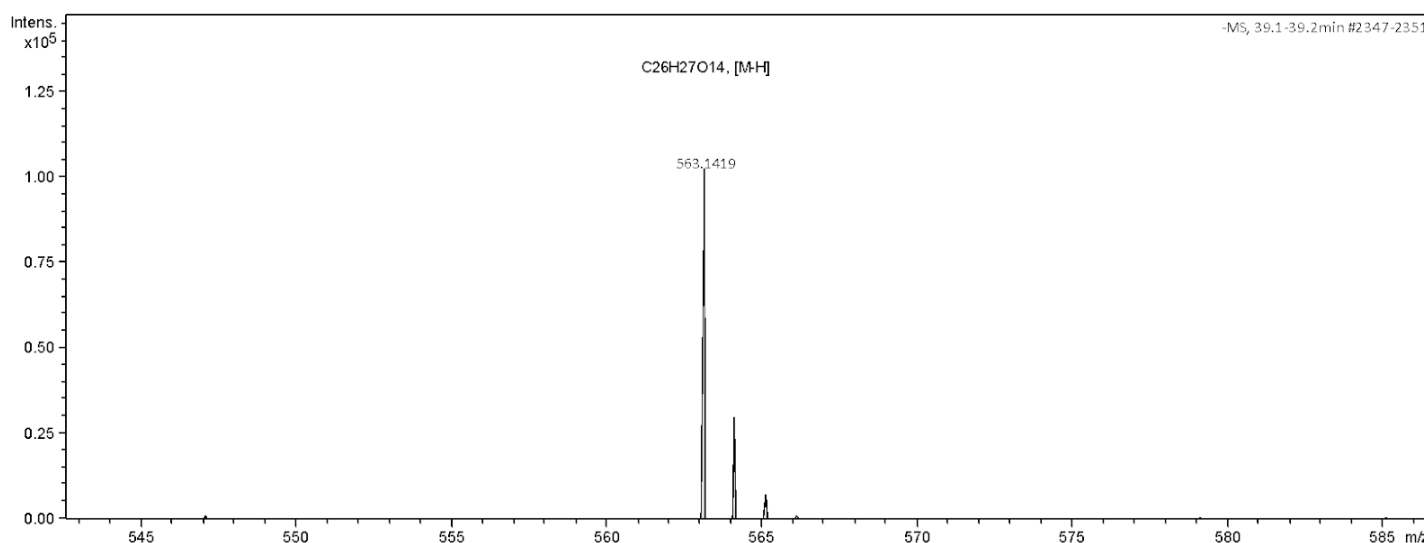
para os modos EM e EM/EM. Os espectros (m/z 50-1000) foram registrados a cada 2 segundos. Os dados obtidos foram interpretados com o auxílio da revisão da literatura, plataformas do SciFinder e Massbank.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural de MMA-2

A substância codificada como MMA-2, foi isolada como um pó amorfo amarelo. Sua fórmula molecular foi estabelecida como $C_{26}H_{28}O_{14}$ estabelecida por IES-EMAR (-) com m/z 563,1419 $[M-H]^-$ (calculado para $C_{26}H_{27}O_{14}$, 563,1406, $\Delta = -2,3$ ppm). Consequentemente, foi indicado um índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a treze (Figura 12).

Figura 12 - Espectro de IES-EMAR de MMA-2 ($[M-H]^-$, modo de ionização negativo).



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Posto isso, o espectro de RMN 1H , obtido em DMSO- d_6 a 500 MHz, apresentou sinais na região de prótons aromáticos em δ_H 7,75 (2H, *d*, $J = 8,7$ Hz, H-2', 6'); 6,91 (2H, *d*, $J = 8,7$ Hz, H-3', 5'), 6,39 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz, H-8), e em δ_H 6,19 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz, H-6), sugerindo a presença de um anel aromático 1,4-dissubstituído e um anel aromático tetrassubstituído (Figura 14 e Tabela 2). Além disso, foram observados sinais de hidrogênios anoméricos em δ_H 5,36 (1H, *d*, $J = 1,4$ Hz, H-1'') e 4,17 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz, H-1'''), sugerindo a presença de duas unidades de açúcares (Figuras 14-16 e Tabela 2).

O espectro de RMN de ^{13}C -BB (Figura 17 e Tabela 2) possibilitou a identificação de 24 sinais de carbono, atribuídos a 9 carbonos não hidrogenados, 15 metínicos, 1 metilênico e 1 metílico. Dessa forma, foram observados sinais

característicos de carbonos não hidrogenados do esqueleto do tipo flavonol em δ_c 157,0 (C-2) e 134,3 (C-3) (Ürményi *et al.*, 2016). Os sinais em δ_c 161,4 (C-5); 98,9 (C-6), 164,7 (C-7), 93,9 (C-8), 156,6 (C-9) e 103,9 (C-10) corroboram o anel A de um flavonol hidroxilado nas posições C-5 e C-7, biossinteticamente mais favorecida, enquanto os sinais em δ_c 120,3 (C-1'); 130,6 (C-2',6'); 115,5 (C-3',5'), 160,3 (C-4'), reforçam a proposta do anel B com um sistema do tipo AA'BB' de substituição de um flavonóide hidroxilado na posição C-4'. Ademais, um sinal em δ_c 177,7 (C-4) foi atribuído a um grupamento carbonila. Analisando o espectro de RMN de ^{13}C -DEPT135 (Figura 18), foram registrados mais onze sinais de carbonos hidrogenados, os quais em concordância com os sinais indicativos de carbonos anoméricos em δ_c 100,8 (C-1'') e 106,4 (C-1''') confirmaram a presença de uma hexose e uma pentose conectada ao núcleo da flavona. Os sinais de metila em δ_c 17,4 (C-6') e de metileno em δ_c 65,8 (C-5'') sugeriram que os açúcares corresponderiam a uma ramnose e uma xilose.

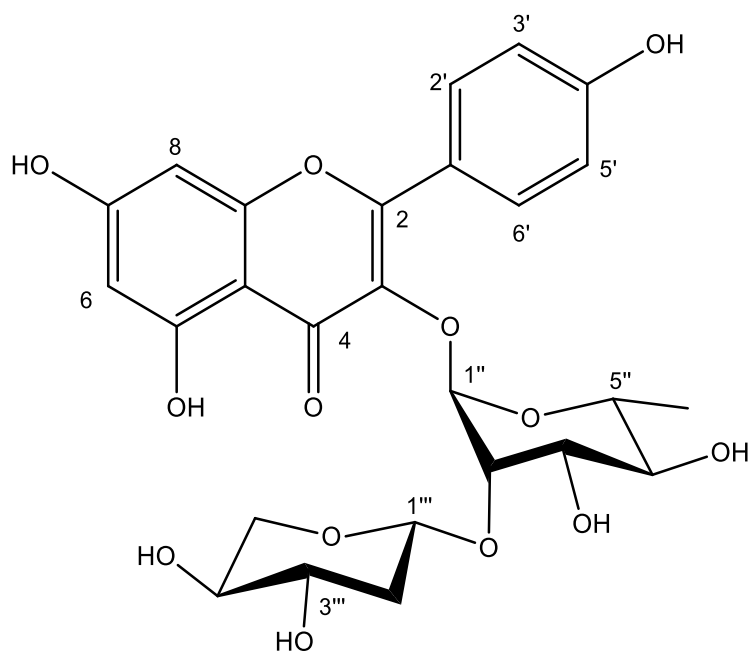
No espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figura 19), foram observadas correlações entre os sinais em δ_H 5,36/ δ_c 100,8 (H-1''/C-1'') e em δ_H 4,17/ δ_c 106,4 (H-1'''/C-1'''), os quais confirmaram a atribuição para hidrogênios e carbonos anoméricos (Tabela 2). Outrossim, o espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 20), possibilitou a observação de correlações do duplete em δ_H 5,36 (H-1'') com os sinais de carbonos metínicos da ramnose em δ_c 80,6 (C-2'') e 70,4 (C-3''), além de outra correlação com o carbono não hidrogenado da aglicona em δ_c 134,3 (C-3), confirmando a conexão da ramnose na posição C-3. As correlações mútuas do duplete em δ_H 4,17 (H-1''') com sinal de carbono metínico em δ_c 80,6 (C-2'') e com o sinal de carbono metilênico em δ_c 65,8 (C-5'') confirmaram a conexão da xilose e ramnose por meio dos carbonos C-1''' e C-2''.

Além disso, no espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 21) foram observadas correlações do H-3'' (δ_H 3,42-3,39) com os H-2'' (δ_H 4,00), H-4'' (δ_H 3,12-3,05) e com H-6'' (δ_H 0,86), e do H-2''' (δ_H 2,97-2,90) com os H-1''' (δ_H 4,17) e H-3''' (δ_H 3,12-3,05), por meio das quais, em conjunto com os dados de HSQC, foram confirmadas as atribuições aos açúcares ramnose e xilose (Tabela 2).

Por fim, após análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e dados de

correlação heteronuclear HSQC e HMBC obtido em DMSO- d_6 a 500 MHz e 100 MHz, do espectro de correlação homonuclear COSY obtido em DMSO- d_6 a 500 MHz, IES-EMAR, e da comparação com dados da literatura, foi possível identificar a substância (MMA-2) como Canferol-3-O- β -xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -ramnopiranosideo (Figura 13).

Figura 13 – Estrutura química do Canferol-3-O- β -xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -ramnopiranosideo.



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Tabela 2 - Análise comparativa de dados de RMN de ^1H e ^{13}C entre MMA-2 e a Canferol-3-O- β -xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -ramnopiranosideo (Soicke; Görler; Waring, 1990).

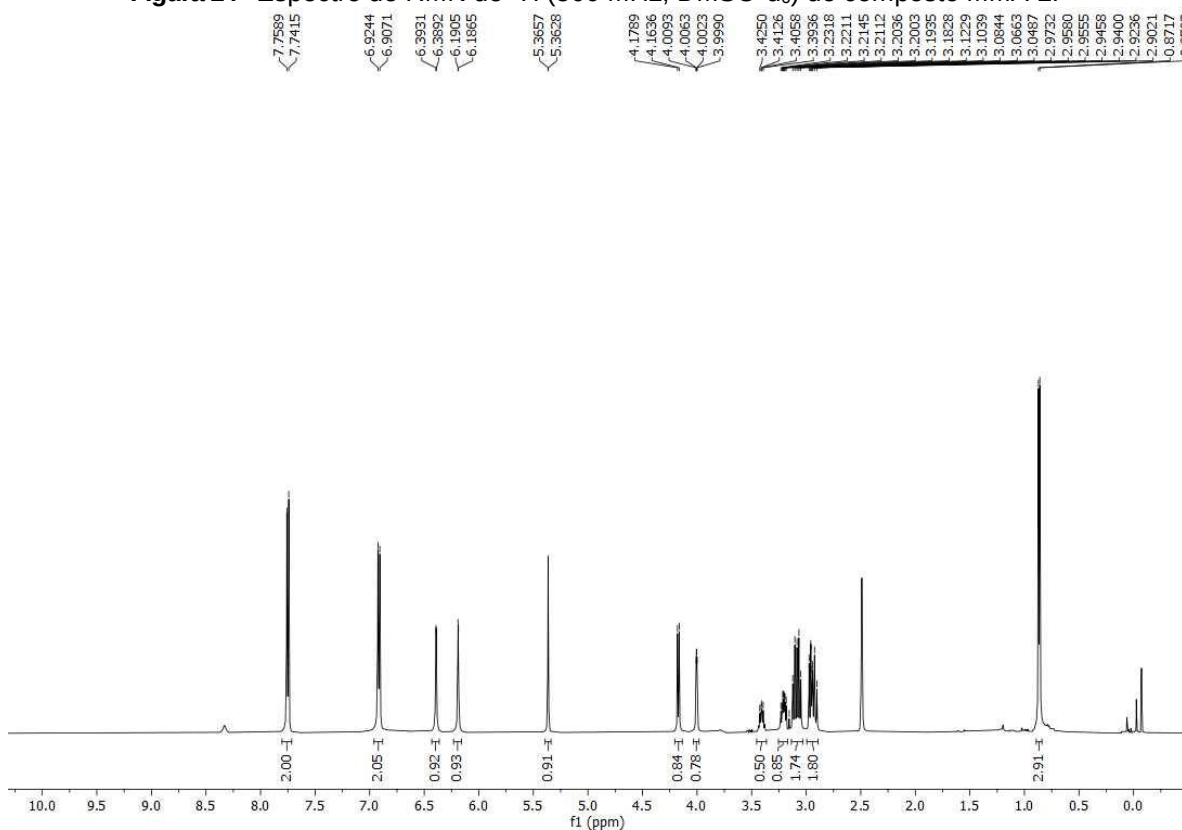
posição	MM-2 ^a		Literatura ^b	
	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C} , tipo	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C} , tipo
2		157,0, C		156,7, C
3		134,3, C		134,03, C
4		177,7, C		177,3, C
5		161,3, C		161,2, C
6	6,19, <i>d</i> (2,1)	98,9, CH	6,10, <i>d</i> (2,0)	99,4, CH
7		164,7, C		164,2, C
8	6,39, <i>d</i> (2,1)	93,9, CH	6,25, <i>d</i> (2,0)	94,1, CH
9		156,6, C		156,7,
10		103,9, C		103,9
1'		120,3, C		120,4,
2'	7,75, <i>d</i> (8,7)	130,6, CH	7,73, <i>d</i> (8,8)	130,4, CH
3'	6,91, <i>d</i> (8,7)	115,5, CH	6,91, <i>d</i> (8,8)	115,4, CH
4'		160,3, C		160,1, C
5'	6,91, <i>d</i> (8,7)	115,5, CH	6,91, <i>d</i> (8,8)	115,4, CH
6'	7,75, <i>d</i> (8,7)	130,6, CH	7,73, <i>d</i> (8,8)	130,4, CH
Ramnose				
1"	5,36, <i>d</i> (1,4)	100,8, CH	5,37, <i>d</i> (1,3)	100,7, CH
2"	4,00, <i>dd</i> (1,5; 1,6)	80,6, CH	4,01, <i>br.s</i>	80,6, CH
3"	3,42-3,39, <i>m</i>	70,4, CH		70,3, CH
4"	3,12-3,05, <i>m</i>	71,7, CH		71,7, CH
5"	3,23, 3,18, <i>m</i>	69,4, CH		69,3, CH
6"	0,86, <i>d</i> (6,2)	17,4, CH ₃	0,84, <i>d</i> (6,1)	17,4, CH ₃
Xilose				
1'''	4,17, <i>d</i> (7,6)	106,4, CH	4,19, <i>d</i> (7,4)	106,4, CH
2'''	2,97-2,90, <i>m</i>	73,8, CH		73,7, CH
3'''	3,12-3,05, <i>m</i>	76,3, CH		76,2, CH
4'''	3,52, <i>m</i>	70,3, CH		70,3, CH
5'''	3,51, <i>m</i> ; 2,92, <i>m</i>	65,8, CH ₂		65,8, CH ₂

^aDados de RMN ^1H obtidos em 500 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em DMSO- d_6 em 100 MHz.

^bDados de RMN ^1H obtidos em 300 MHz; dados de RMN de ^{13}C adquiridos em DMSO- d_6 em 75 MHz.

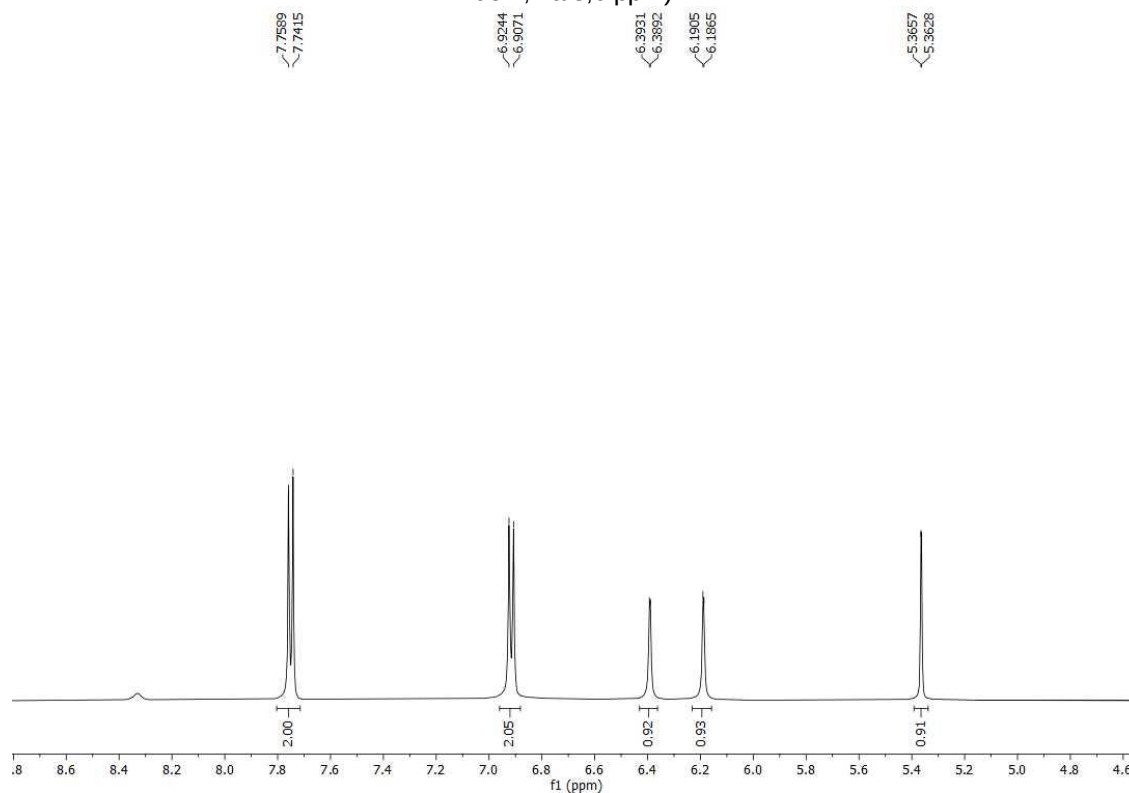
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2.



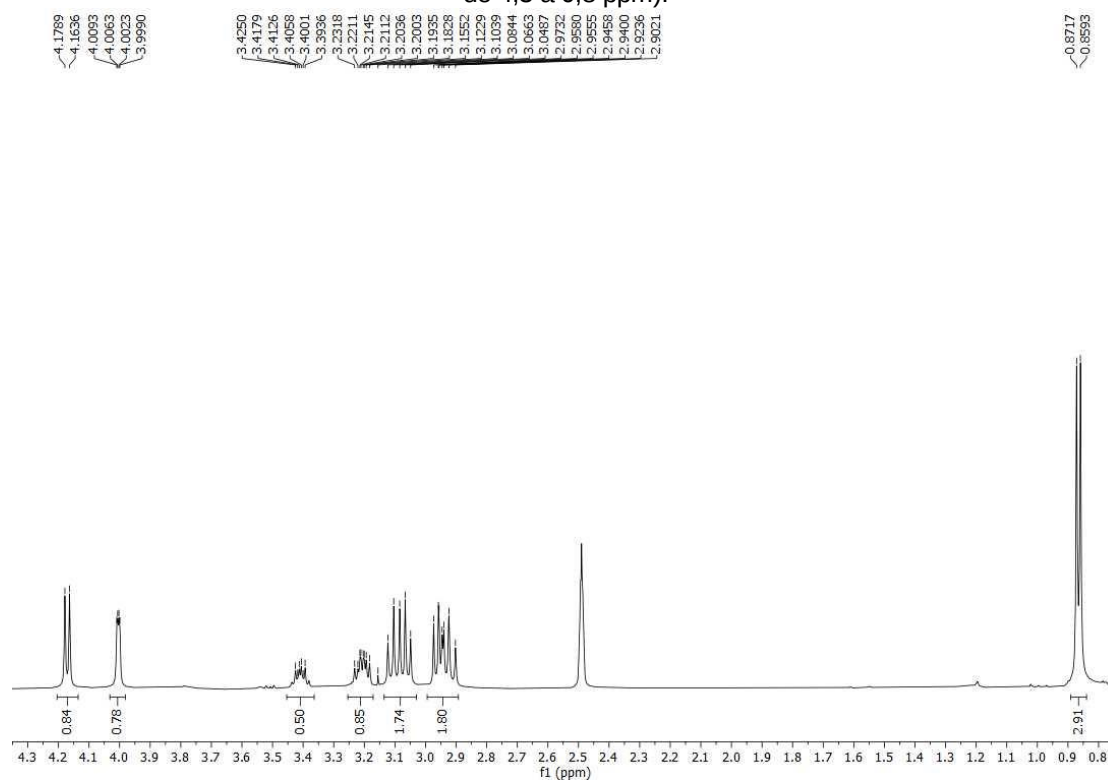
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2 (expansão na região de 4,4 a 8,6 ppm).



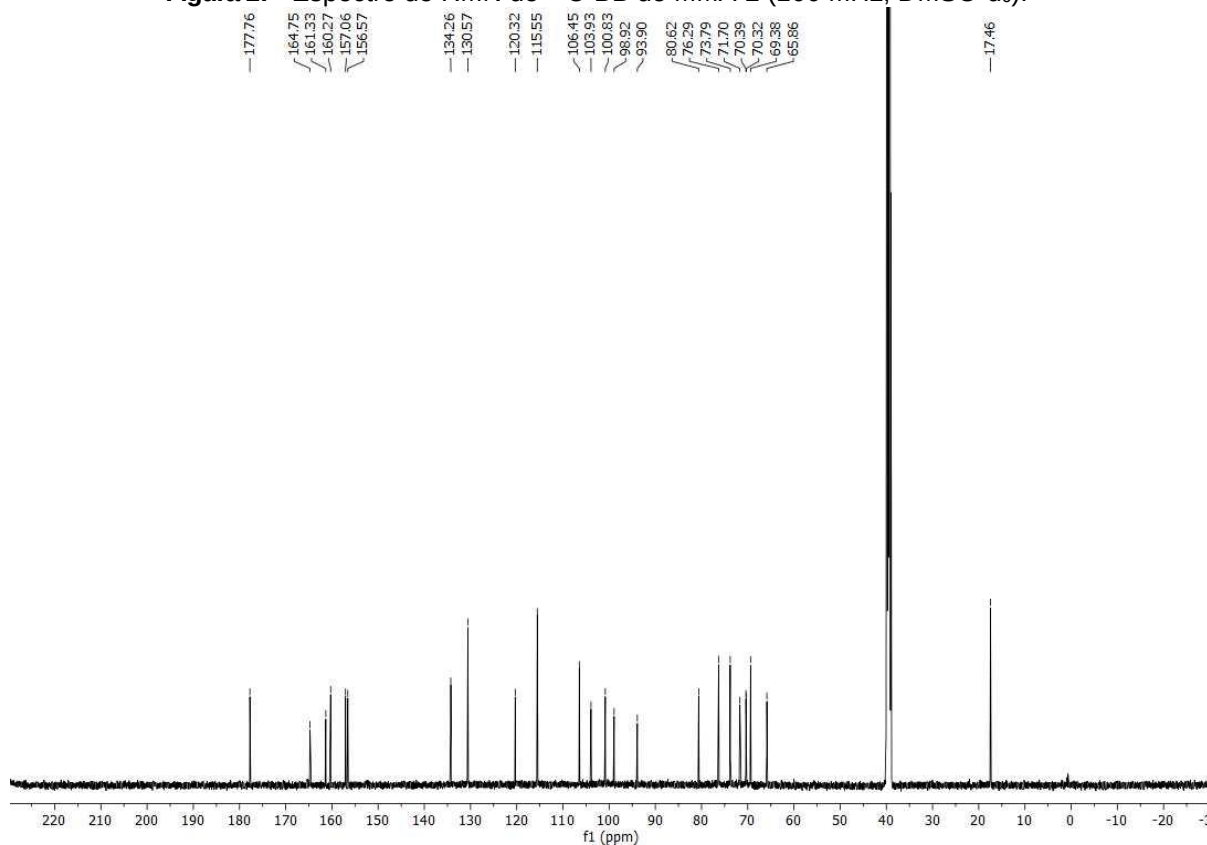
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2 (expansão na região de 4,3 a 0,8 ppm).



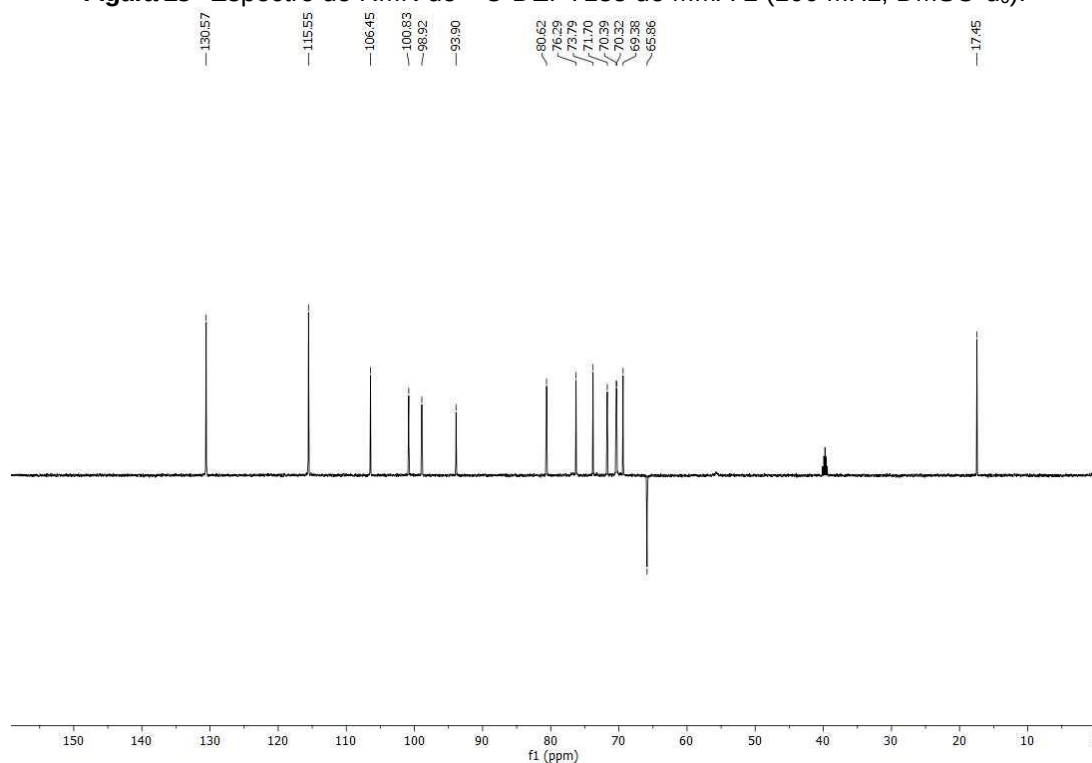
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C -BB de MMA-2 (100 MHz, DMSO-d_6).



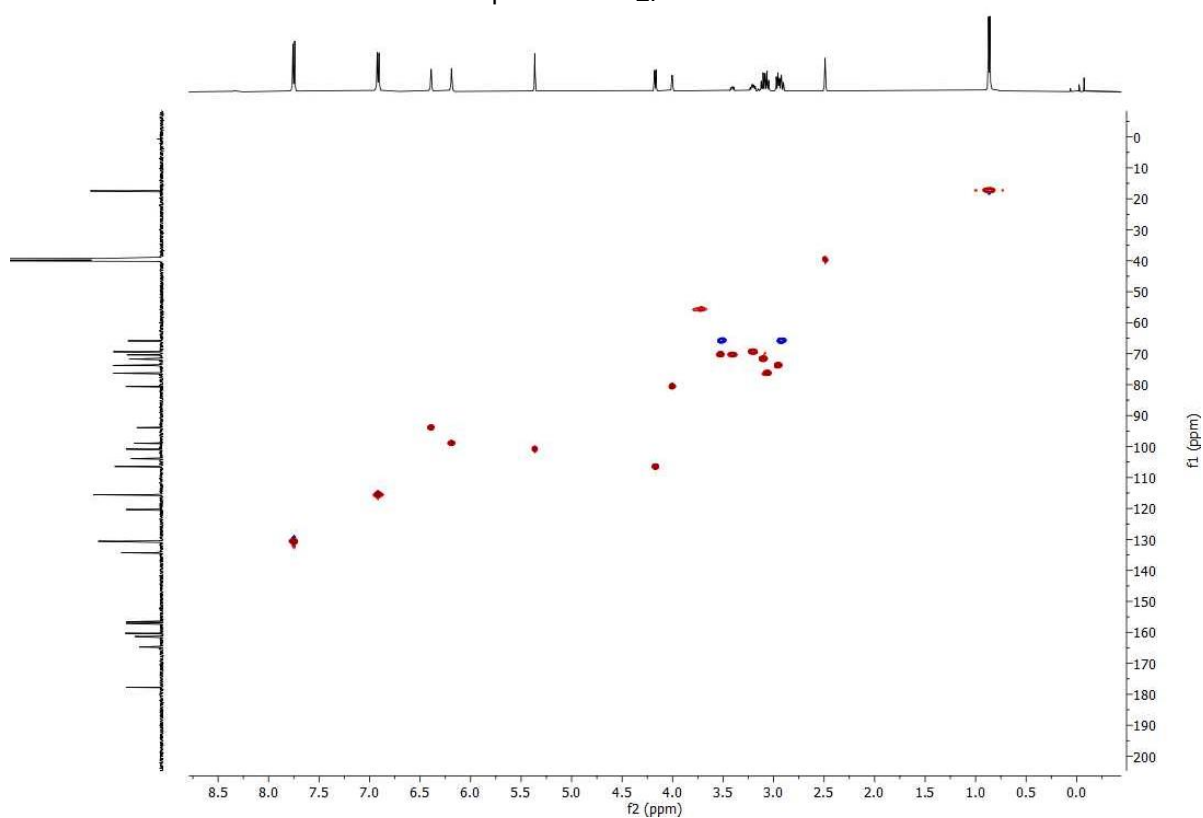
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT135 de MMA-2 (100 MHz, DMSO-d_6).



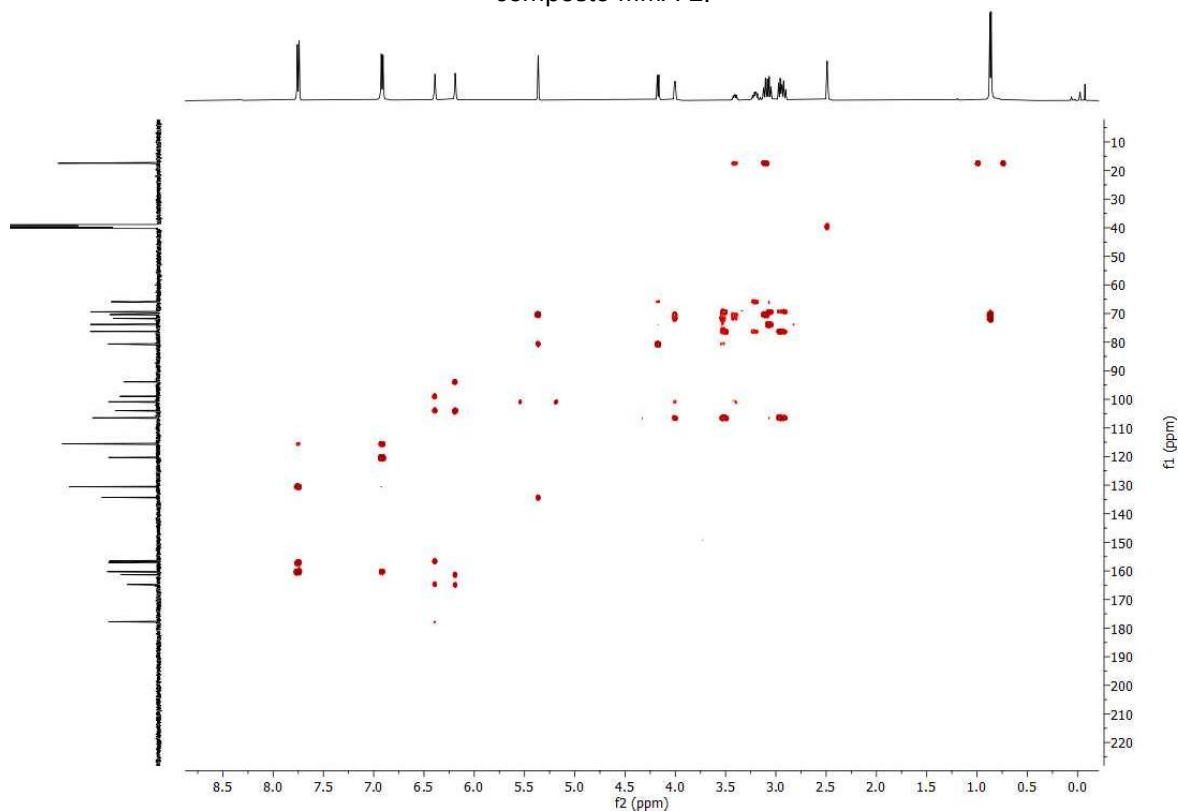
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 19 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HSQC (500 MHz e 100 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2.



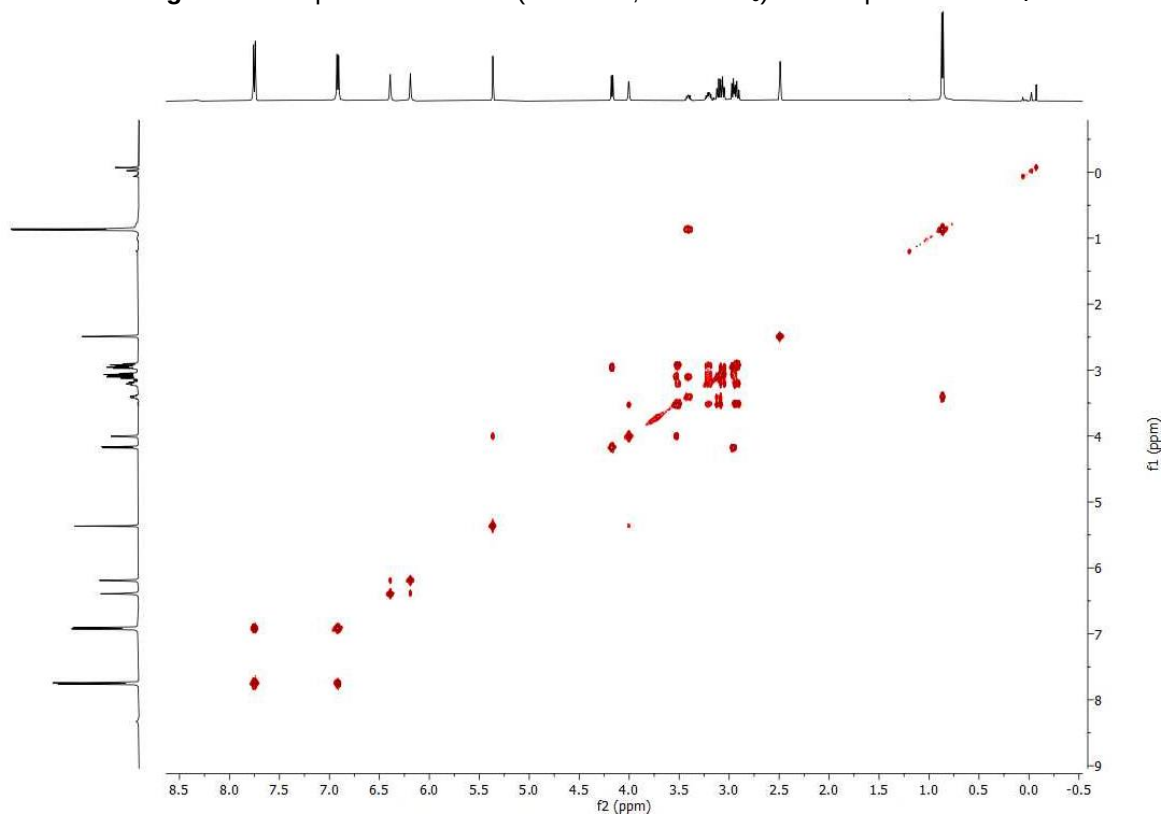
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 20 - Espectro de correlação ^1H e ^{13}C HMBC (500 MHz e 100 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2.



Fonte: Elaboração própria, 2025.

Figura 21 - Espectro de COSY (500 MHz, DMSO-d_6) do composto MMA-2.

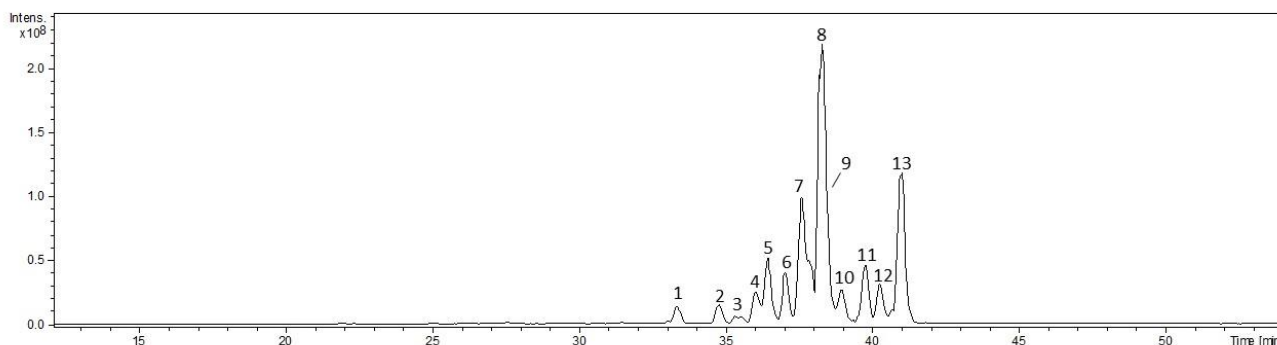


Fonte: Elaboração própria, 2025.

5.2 Caracterização dos anotados presentes na Fração MPF_A13 por CLAE-IES-EM/EM

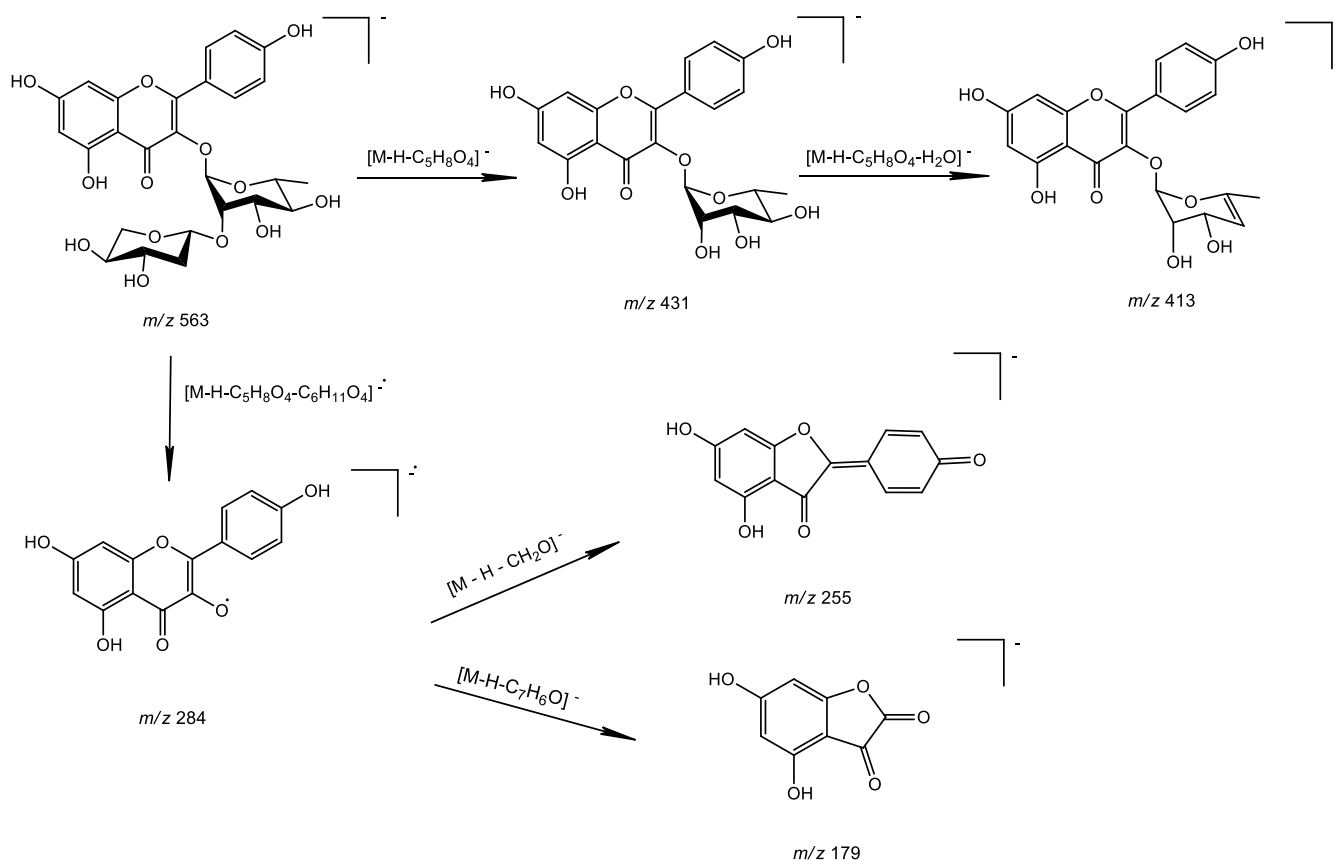
A fração MPF_A13 foi analisada por CLAE-IES-EM/EM, revelando um perfil com alta abundância de flavonoides, sendo que a maioria das estruturas identificadas é composta por flavonóis, como canferol e quercetina. A fragmentação por CID sob IES-EM/EM negativo provoca a clivagem glicosídica dos flavonoides, mantendo a carga na extremidade redutora, que corresponde à aglicona. Como resultado, no espectro EM/EM, os íons filhos fornecem informações tanto sobre os resíduos de açúcar quanto sobre a aglicona dos flavonoides fragmentados. Com base nessa análise, 13 flavonoides glicosilados presentes na fração MPF_A13, proveniente das folhas de *M. macrocalyx*, foram tentativamente anotados por espectrometria de massas (Tabela 3) e estão apresentados no cromatograma de pico de base (Figura 22).

Figura 22 –Cromatograma de Pico base de CLAE-IES-EM da fração MPF_A13 de *M. Macrocalyx*



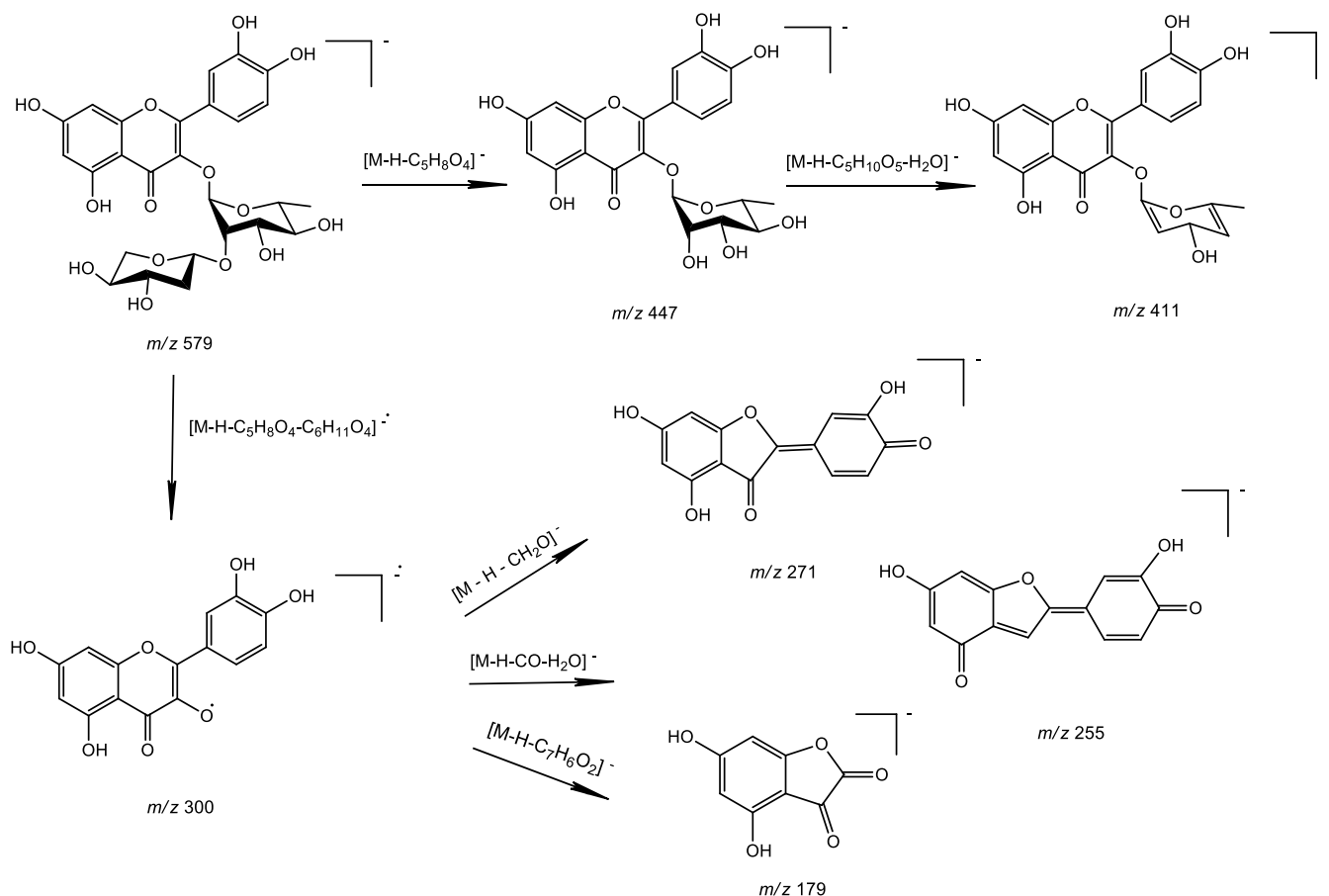
Fonte: Elaboração própria, 2025.

Dessa forma, entre os compostos caracterizados, destaca-se a substância MMA-2, previamente identificada, correspondente ao pico 13. No experimento de EM/EM, apresentou um íon precursor $[M-H]^-$ com m/z 563,1426 ($C_{26}H_{28}O_{14}$, $\Delta = -3,5$ ppm), sendo observados íons fragmentos em m/z 431 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$, 413 $[M-H-C_5H_8O_4-H_2O]^-$, as perdas de 132 Da e 146 Da e a perda 279 Da ($133 + 136$ Da) corroboram a presença de um resíduo de pentose e desóxi-hexose ligados na mesma porção da aglicona. A aglicona do tipo canferol foi caracterizada pela presença dos fragmentos característicos em m/z 284 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{11}O_4]^-$, 255 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{10}O_4-CH_2O]^-$ e 179, em consonância com todos os dados de RMN discutidos na seção anterior (Figura 23).

Figura 23 – Proposta de fragmentação do composto MMA-2.

Fonte: Elaboração própria, 2025.

O pico 8 (Tr = 38.2 min), majoritário da fração, apresentou um $[M-H]^-$ em 579,1369 m/z . Seu espectro de EM/EM, foram observados fragmentos em 475 $[M-H-C_4H_8O_3]^-$, 447 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$, 429 $[M-H-C_5H_{10}O_5]^-$, 411 $[M-H-C_5H_{10}O_5-H_2O]^-$ e um fragmento predominante em 300 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{11}O_4]^-$. As perdas neutras de 132 Da e 146 Da e a perda de 279 Da (133 + 146 Da) sugerem a presença de um resíduo de pentose e desóxi-hexose ligadas na mesma porção da aglicona. A aglicona quercetina foi corroborada pela presença dos fragmentos característicos (271 m/z , 255 e 179). Sua fórmula molecular foi definida como $C_{26}H_{28}O_{15}$ por IES-EMAR com m/z 579,1369 $[M-H]^-$ (calculado para $C_{26}H_{27}O_{15}$, $\Delta = -2,3$ ppm). Diante do exposto, o composto 8 foi anotado como quercetina-3-O-xilopiranosil-(1-2)- α -ramnosídeo (Figura 24).

Figura 24 – Proposta de fragmentação do composto 8.

Fonte: Elaboração própria, 2025.

De modo geral, os derivados biossintéticos da quercetina apresentaram fragmentos característicos em 301 ou 300 m/z , além dos fragmentos em 271 m/z , 255 m/z e 179 m/z , enquanto os derivados do canferol foram diferenciados pela presença dos íons fragmentos 285 ou 284 m/z , além dos possíveis fragmentos em 255 e 179 m/z . Ademais, as perdas neutras de hexose (-162/180 Da), 6-desóxihexose (-146/164 Da) e pentose (-132/150 Da) foram utilizadas para entender o padrão de glicosilação dos flavonoides. As perdas neutras de água (18 Da) e CO (28 Da) corroboraram as estruturas propostas. Em consonância com esse padrão de fragmentação, similar ao observado para substância 13 isolada, purificada e identificada, os picos 2,7,10,11,12 foram anotados como derivados do canferol, enquanto os picos 1,3,4,5,6,8 e 9 como derivados da quercetina semelhante a proposta de fragmentação do composto 8 (Tabela 3).

5.2.1 Derivados da quercetina

A análise do pico 1 ($T_r = 33,3$ min) revelou um íon molecular $[M-H]^-$ em m/z 595,1327 ($C_{26}H_{28}O_{16}$, $\Delta = -3,7$ ppm), com padrão de fragmentação caracterizado por perdas sequenciais típicas. Observou-se m/z 463 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$ indicando a eliminação de um resíduo de pentose (132 Da) e em m/z 433 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ correspondente à perda de um resíduo de hexose (162 Da), e finalmente m/z 300 $[M-H-C_5H_8O_4-C_6H_{11}O_5]^-$. Com base nesses dados, o composto foi anotado como quercetina-pentosídeo-hexosídeo (Apel *et al.*, 2021).

O pico 3 ($T_r = 36,1$ min), por sua vez, exibiu um íon molecular $[M-H]^-$ em m/z 463,0903 ($C_{21}H_{20}O_{12}$, $\Delta = -4,3$ ppm), apresentando em m/z 343 $[M-H-C_4H_8O_4]^-$ e m/z 301 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$. A perda neutra de um resíduo de hexose (162 Da) permitiu anotar o composto como quercetina-hexosídeo (Apel *et al.*, 2021).

O pico 4 ($T_r = 35,3$ min) apresentou um íon molecular $[M-H]^-$ em m/z 565,1218 ($C_{25}H_{26}O_{15}$, $\Delta = -3,3$ ppm), com fragmentação característica em m/z 519 $[M-H-H_2O-CO]^-$, m/z 475 $[M-H-C_3H_6O_3]^-$, m/z 433 $[M-H-C_5H_8O_4]^-$ e 415 $[M-H-C_5H_{10}O_5]^-$ (perda de pentose) e m/z 300 $[M-H-C_5H_{10}O_5-C_5H_{11}O_5]^-$ (aglicona quercetina após perda neutra de dois resíduos de pentose). Esses dados permitiram anotar o composto como quercetina-pentosil-pentosídeo, um derivado glicosilado contendo duas pentoses ligadas ao núcleo da quercetina.

O pico 5 ($T_r = 36,5$ min) revelou um íon $[M-H]^-$ em m/z 609,1470 ($C_{27}H_{30}O_{16}$, $\Delta = -1,5$ ppm). A fragmentação indicou perda de um resíduo de desóxihexose (146 Da), com sinal em m/z 463 $[M-H-C_6H_{10}O_4]^-$, além de m/z 343 $[M-H-C_6H_{10}O_4-C_4H_8O_4]^-$ e 300 $[M-H-C_6H_{10}O_4-C_6H_{11}O_5]^-$, representando a aglicona quercetina após perda neutra de um resíduo de hexose, anotando o composto como quercetina-desoxihexosil-hexosídeo (Lescano *et al.*, 2024).

Outro íon molecular foi observado no pico 6 ($T_r = 37,0$ min, $C_{27}H_{30}O_{16}$, $\Delta = -0,3$ ppm), em m/z 609,1459 com fragmentação distinta. Foram identificados fragmentos em m/z 505 $[M-H-C_4H_8O_3]^-$, 463 $[M-H-C_6H_{10}O_4]^-$; (eliminação de resíduo de desóxihexose, 146 Da), m/z 447 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ e 429 $[M-H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^-$

(perda neutra de um resíduo de hexose, seguida de uma perda de H₂O, 162+18 Da), m/z 300 [M-H-C₆H₁₀O₄-C₆H₁₁O₅]⁻ (aglicona quercetina) e 271 [M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₄-CH₂O]⁻. Com isso, o composto foi caracterizado como quercetina-desoxihexosídeo-hexosídeo (Lescano *et al.*, 2024).

O pico 9 (Tr= 38,5 min) mostrou um íon molecular [M-H]⁻ em m/z 447,0954 (C₂₁H₂₀O₁₁, Δ = -4,7 ppm), com fragmento em m/z 301 [M-H-C₆H₁₀O₄]⁻ resultante da eliminação de um resíduo de desóxi-hexose (146 Da). Esses dados permitiram anotar o composto como quercetina-desoxihexosídeo, um flavonoide monoglicosilado (Li *et al.*, 2011).

5.2.2 Derivados do canferol

Entre os derivados de canferol, o pico 2 (Tr = 34,8 min) apresentou íon molecular [M-H]⁻ em m/z 725,1949 (C₃₂H₃₈O₁₉, Δ = -2,0 ppm). A fragmentação resultou em m/z 593 [M-H-C₅H₈O₄]⁻ (perda neutra de um resíduo de pentose, 132 Da), 327 [M-H-C₅H₈O₄-C₆H₁₀O₄-C₄H₈O₄]⁻ sugerindo a perda neutra de um resíduo de pentose, desóxi-hexose e hexose (132+146+120 Da) e 285 [M-H-C₅H₈O₄-C₆H₁₀O₄-C₆H₁₀O₅]⁻, esses dados permitiram anotar o composto como canferol-desoxihexosídeo-pentosil-hexosídeo (Apel *et al.*, 2021).

O pico 7 (Tr= 37,9 min) apontou um [M-H]⁻ em m/z 549,1261 (C₂₅H₂₆O₁₄, Δ = -2,1 ppm), com fragmentação em 503 [M-H-CO-H₂O]⁻, 417 [M-H-C₅H₈O₄]⁻ (eliminação de um resíduo de pentose, 132 Da), 327 [M-H-C₅H₈O₄-C₃H₆O₃]⁻ e 284 [M-H-C₅H₈O₄-C₅H₉O₄]⁻ indicando a perda neutra de um resíduo de pentose e uma fissão homolítica para eliminação de um segundo resíduo de pentose, assim o composto foi anotado como canferol-dipentosídeo.

O pico 10 (Tr = 39,0 min) revelou [M-H]⁻ em m/z 593,1535 (C₂₇H₃₀O₁₅, Δ = -4,0 ppm), com fragmentação em m/z 285 [M-H-C₆H₁₀O₄-C₆H₁₀O₅]⁻ correspondente à aglicona canferol após a eliminação de um resíduo de desóxi-hexose (146 Da) e um de hexose (162 Da). Com base nas perdas sequenciais, o composto foi anotado como canferol-desoxihexosil-hexosídeo (Soria-Lopez *et al.*, 2025).

Por fim, os picos 11 e 12 apresentaram íons moleculares [M-H]⁻ em m/z

593,1526 e m/z 593,1522 ($C_{27}H_{30}O_{15}$, $\Delta = -2,4$ e $-1,7$ ppm, respectivamente), demonstrando padrões de fragmentação semelhantes com perdas características em m/z 431 $[M-H-C_6H_{10}O_5]^-$ (162 Da), 413 $[M-H-C_6H_{10}O_5-H_2O]^-$, 339 $[M-H-C_6H_{10}O_4-C_3H_6O_3-H_2O]^-$ e 285 $[M-H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4]^-$ (aglicona canferol). Estas fragmentações sequenciais indicam a presença de derivados glicosilados de canferol contendo uma hexose e uma desóxihexose. Com base nas diferenças nos tempos de retenção e nos perfis de fragmentação, os compostos foram anotados como isômeros, o pico 11 foi anotado como canferol-desoxihexosil-hexosídeo isômero I e o pico 12 como canferol-desoxihexosil-hexosídeo isômero II (Soria-Lopez *et al.*, 2025).

Tabela 3 - Caracterização de anotados por CLAE-IES-EM/EM da Fração MPF-A13 de *M. Macrocalyx*

Pico nº	Tr (min)	m/z	EM ²	Fórmula Molecular	Erro (ppm)	Anotação	Referências
1	33.3	595,1327 [M-H] ⁻	463, 433, 373, 343, 300	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	-3.7	Quercetina-pentosídeo-hexosídeo	Apel <i>et al.</i> , 2021
2	34.8	725,1949 [M-H] ⁻	593, 327, 285, 255	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₉	-2.0	Canferol-desoxihexosídeo-pentosil-hexosídeo	
3	36.1	463,0903 [M-H] ⁻	343, 301	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	-4.3	Quercetina-hexosídeo	Apel <i>et al.</i> , 2021
4	35.3	565,1218 [M-H] ⁻	519, 475, 433, 415, 300	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₅	-3.3	Quercetina-pentosil-pentosídeo	
5	36.5	609,1470 [M-H] ⁻	463, 343, 301, 255	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-1.5	Quercetina-desoxihexosil-hexosídeo	Lescano <i>et al.</i> , 2024
6	37.0	609,1459 [M-H] ⁻	505, 447, 300	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-0.3	Quercetina-desoxihexosídeo-hexosídeo	Lescano <i>et al.</i> , 2024
7	37.9	549,1261 [M-H] ⁻	503, 417, 327, 284, 255	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₄	-2.1	Canferol-dipentosídeo	
8	38.2	579,1369 [M-H] ⁻	475, 447, 429, 411, 355, 300	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	-2.3	Quercetina-3-O-xilopiranosil-(1-2)- α -ramnosídeo	Ürményi <i>et al.</i> , 2016
9	38.5	447,0954 [M-H] ⁻	301	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-4.7	Quercetina-desoxihexosídeo	Li <i>et al.</i> , 2011
10	39.0	593,1535 [M-H] ⁻	285	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	-4.0	Canferol-desoxihexosil-hexosídeo	Soria-Lopez <i>et al.</i> , 2025
11	40.3	593,1526 [M-H] ⁻	431, 413, 339, 285	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	-2.4	Canferol-desoxihexosil-hexosídeo isômero I	Soria-Lopez <i>et al.</i> , 2025
12	40.9	593,1522 [M-H] ⁻	431, 413, 339, 285	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	-1.7	Canferol-desoxihexosil-hexosídeo isômero II	Soria-Lopez <i>et al.</i> , 2025
13	41.0	563,1426 [M-H] ⁻	431, 413, 284, 255, 179	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	-3.5	Canferol-3-O-xilopiranosil-(1-2)- α -ramnosídeo	Ürményi <i>et al.</i> , 2016

Fonte: Elaboração própria, 2025.

6. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos neste estudo fitoquímico do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de *M. macrocalyx*, foi possível isolar uma substância por meio de métodos cromatográficos clássicos e modernos. A identificação da substância MMA-2 foi confirmada por técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , incluindo análises bidimensionais, e espectrometria de massas, sendo os resultados comparados com dados da literatura. A substância identificada, o flavonoide glicosilado Canferol-3-O-D-xilopiranosil-(1-2)- α -L-ramnosídeo, representa o primeiro relato de sua ocorrência tanto na espécie quanto no gênero.

Como parte desta investigação, desenvolveu-se uma metodologia analítica por CLAE-IES-EM/EM para caracterização dos flavonoides glicosilados presentes na fração MPF_A13 da fase acetato de folhas de *M. macrocalyx*. Através de análises por espectrometria de massas em *tandem* (EM/EM) complementadas por estudos de fragmentação via dissociação induzida por colisão (CID), foi possível identificar ou propor estruturas tentativas para 13 flavonoides glicosilados, sendo 7 derivados de quercetina e 6 derivados de canferol.

Em consonância com os objetivos propostos, este estudo representa um avanço significativo no conhecimento fitoquímico do gênero *Metternichia* e da espécie *M. macrocalyx*, constituindo o primeiro relato científico da identificação e caracterização de flavonoides glicosilados nesta espécie. Além disso, a pesquisa contribui para o enriquecimento do conhecimento químico de espécimes vegetais do Nordeste brasileiro, com ênfase no bioma Caatinga, uma área ainda pouco explorada do ponto de vista fitoquímico.

7. REFERÊNCIAS

- AFROZ, M. *et al.* Ethnobotany and Antimicrobial Peptides From Plants of the Solanaceae Family: An Update and Future Prospects. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 11, p. 565, 2020.
- AGRA, M. DE F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, LR Flora da Paraíba, Brasil: Solanum L. (Solanaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 3, pág. 826–842, conjunto. 2009.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [S. l.], v. 141, n. 4, p. 399-436, Apr. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>.
- APEL, L. *et al.* Phytochemical characterization of different yarrow species (*Achillea* sp.) and investigations into their antimicrobial activity. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 76, n. 1-2, p. 55-65, 2021.
- BARROS, M. C. **Avaliação do potencial antioxidante e anti-inflamatório de extratos de plantas medicinais da região centro de Portugal**. 145 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Univ. Coimbra, Coimbra, 2012.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.
- BRITO, Thiago Araújo de Medeiros. **Investigação Fitoquímica de *Metternichia princeps* J. C. Mikan (Solanaceae)**. 166 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2021.
- CALDAS, S. A. *et al.* Intoxicação experimental por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em ovinos e bovinos. **Pesqui. vet. bras**, v. 32, n. 10, p. 1023-1029, 2012.
- CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 37–39, 1 set. 2003.
- CARVALHO, L. d' A. F. O gênero *Metternichia* no Brasil. In: D'ARCY, W. G. (Ed.). **Solanaceae: biologia e sistemática**. Nova York: Columbia University Press, 1986. p. 5-14.
- COMITÊ DE PADRÕES E PETIÇÕES DA UICN. Diretrizes para o uso das categorias e critérios da Lista Vermelha da UICN. Versão 16. Gland: UICN, 2024. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/resources/redlistguidelines>. Acesso em: 12. Fev. 2025.

DE SOUZA, L. S. *et al.* Revisiting *Metternichia* (Solanaceae) Through an Integrative Approach: A Monotypic Genus?. **Systematic Botany**, v. 48, n. 3, p. 419-434, 2023.

DONATO, M. *et al.* Bioprospecção e inovação tecnológica de produtos naturais e derivados de plantas e animais. [s.l.] **Editora UFPB**, 2020.

GENG, C.-A. *et al.* Rapid characterization of chemical constituents in *Saniculiphyllum guangxiense* by ultra fast liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **International journal of mass spectrometry**, v. 361, p. 9–22, 1 mar. 2014.

LESCANO, L. *et al.* Antioxidant activity, enzyme inhibition, photoprotection, cytotoxicity, and phytochemical profiling of sea lavender (*Limonium algarvense* Erben) seed extracts for dermo-cosmetic use. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 13, n. 1, p. 112, 2024.

LI, X. *et al.* Chemical profiling of bioactive constituents in *Sarcandra glabra* and its preparations using ultra-high-pressure liquid chromatography coupled with LTQ Orbitrap mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 25, n. 17, p. 2439-2447, 2011.

MARAN, N. B. *et al.* Intoxicação experimental por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em coelhos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 872–880, 1 set. 2012.

MENTZ, L.A. & Oliveira, P.L. 2004. O gênero *Solanum* na Região Sul do Brasil. **Pesquisas, Sér. Botânica** 54: 1-327.

MOURA, J. N.; CAIRES, C. S. família Solanaceae Juss. no município de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. **Paubrasilia**, v. 4, p. e0049, 27 mar. 2021.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, 12 mar. 2020.

PALCHETTI, M. V.; CANTERO, J. J.; BARBOZA, G. E. Solanaceae diversity in South America and its distribution in Argentina. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.

PEDROSO, P. M. O. *et al.* Intoxicação por *Metternichia princeps* (Solanaceae) em caprinos no Estado da Bahia1. **Pesq. Vet. Bras**, v. 35, n. 5, p. 448-450, 2015.

PIMENTEL, V. P. *et al.* Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. **Revista do BNCDES**, Rio de Janeiro, n.43 , p. 41-89, jun. 2015.

SANTOS, C. L. G. *et al.* LC-MS guided isolation of *N*, β -glucopyranosyl vincosamide and other compounds from the curare ingredient *Strychnos*

peckii. **Frontiers in Natural Products**, v. 2, p. 1189619, 2023.

SANTOS, J. C. *et al.* Caatinga: The Scientific Negligence Experienced by a Dry Tropical Forest. **Tropical Conservation Science**, v. 4, n. 3, p. 276–286, set. 2011.

SANTOS, S. *et al.* Uso de plantas medicinais por usuários na atenção primária à saúde: uma abordagem complementar ao tratamento convencional. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 7, n. 14, p. e141132–e141132, 23 maio 2024.

SÄRKINEN, T. *et al.* A phylogenetic framework for evolutionary study of the nightshades (Solanaceae): a dated 1000-tip tree. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, n. 1, p. 214, 2013.

SILVA, L. R. *et al.* Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, Buenos Aires, v. 23, n. 1, p. 36-43, maio 2015.

SILVA, R. E. S.; BANDEIRA, M. A. M. **Estudo químico de *Cestrum laevigatum* Schlecht (Solanaceae)**. 2009. 159 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

SILVEIRA, F. A. O. *et al.* Biome Awareness Disparity is BAD for tropical ecosystem conservation and restoration. **Journal of Applied Ecology**, 23 out. 2021.

SIMÕES, C. M. O. (Org.) *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 484 p.

SOARES, E.L.C.; MENTZ, L.A. 2006. As espécies de *Solanum* subgênero *Bassovia* seção *Pachyphylla* (= *Cyphomandra* Mart. ex Sendtn. -Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas, Sér. Botânica** **57**: 231-254.

SOICKE, H.; GÖRLER, K.; WARING, H. Flavonol glykoside aus *Moghania faginea*. **Planta Med.**, v. 56, n. 4, p. 410-412, 1990.

SORIA-LOPEZ, A. *et al.* Metabolic profiling via UPLC/MS/MS and in vitro cholinesterase, amylase, glucosidase, and tyrosinase inhibitory effects of *Carica papaya* L. extracts reveal promising nutraceutical potential. **Food Analytical Methods**, v. 18, n. 1, p. 57-74, 2025.

SOUZA, C. M. *et al.* Reconstructing Three Decades of Land Use and Land Cover Changes in Brazilian Biomes with Landsat Archive and Earth Engine. **Remote Sensing**, v. 12, n. 17, p. 2735, 1 jan. 2020.

SOUZA, L.S.; STEHMANN, J.R. *Metternichia* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB14673>>. Acesso em: 31 mar. 2025.

STEHMANN, J. R.; GARCIA DE OLIVEIRA, D. M.; TABOSA, F. R. *Solanum confertiflorum* (Solanaceae), a New Species from Brazil for the Cyphomandra Clade. **Systematic Botany**, v. 45, n. 4, p. 931–936, 8 dez. 2020.

TROPICOS.ORG. Solanaceae Juss. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/42000282>. Acesso em: 01 fev. 2025.

ÜRMÉNYI, F. G. G. *et al.* Anti-HSV-1 and HSV-2 flavonoids and a new kaempferol triglycoside from the medicinal plant *Kalanchoe daigremontiana*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 12, p. 1707-1714, 2016.

YANG, B. *et al.* New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 79, p. 116-124, July 2018.