

# ISOLAMENTO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO ÉSTER METÁLICO DO ÁCIDO 3,5-DIIDRÓXI-7-FENIL-6-HEPTENÓICO DE FOLHAS DE *Cryptocarya moschata* (Lauraceae)

Fernanda Rodrigues Martinelli, Alberto José Cavaleiro, Karin Fabiana Bandeira  
Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química – Campus de Araraquara

A utilização de plantas como drogas ou matéria-prima para a obtenção de princípios ativos se perde no tempo. Atualmente, cerca de 25% das drogas prescritas no mundo são de origem vegetal, entre as quais 121 substâncias ativas são de uso corrente. Das 252 drogas consideradas como básicas e essenciais pela Organização Mundial da Saúde (OMS), 11% são exclusivamente de origem vegetal, além de um número significativo de drogas sintéticas obtidas de precursores naturais, via processos de semissíntese<sup>1</sup>. O mercado mundial para produtos fitomedicinais, em 1997, foi estimado em US\$ 10 bilhões, com um crescimento anual da ordem de 6,5%<sup>2</sup>. A OMS dá importância significativa à fitoterapia em seus programas de saúde e sugere procedimentos básicos para a validação de drogas de origem vegetal em países subdesenvolvidos<sup>3</sup>.

Nesse contexto social e econômico, e aliado à enorme biodiversidade de países tropicais, vários programas de bioprospecção privados e governamentais têm surgido visando à busca de novas drogas vegetais.

A espécie selecionada é submetida a procedimentos fitoquímicos biomonitorados visando à identificação dos princípios ativos e a avaliação de seu potencial como novo fitofármaco. *Cryptocarya* é um gênero pantropical com cerca de 350 espécies, a maioria na Malásia, e cerca de 10 espécies na América do Sul. Destas, 9 ocorrem no Brasil, sendo 8 endêmicas da Mata Atlântica. No Estado de São Paulo são reconhecidas as espécies *C. aschersoniana*, *C. saligna*, *C. moschata* e *C. mandioccana* (para alguns autores estas duas últimas são sinônimas)<sup>4</sup>.

No Brasil, *C. moschata* é conhecida popularmente por canela-fogo (SC), canela pururuca (SC), canela-batalha, canela-areia, canela-de-porco (SC e PR), canela-pimenta (SC), canela-amarela (PR) e canela-branca. Atinge alturas de 15 a 25m e seu tronco chega a medir 70 a 90cm de diâmetro. Suas folhas são glabras, de 5 a 10cm de comprimento por 3 a 5cm de largura, sustentadas por pecíolo de 7 a 8cm. Ocorre principalmente em áreas de Floresta Estacional Semidecídua, desde as regiões de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Estudos fitoquímicos realizados com *Cryptocarya moschata* mostraram a presença de estilipironas e flavonóides como principais metabólitos encontrados em suas folhas.

Partindo do extrato diclorometânico de folhas de *C. moschata* foram realizadas partições com MeOH, Hex, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt. As partições com CHCl<sub>3</sub> e AcOEt foram reunidas por apresentarem semelhantes perfis cromatográficos constituindo a partição CAD-ClAc. Essa partição foi submetida a extração em fase sólida. Entre as frações obtidas, a partir dessa extração, encontra-se a fração CAD-ClAc F67. Devido à impotência dessa fração pela verificação de atividades biológicas, antitumorais e antifúngicas, esse trabalho teve como objetivo o isolamento das substâncias constituintes da fração CAD-ClAc-F67.

Para o isolamento e purificação dos constituintes da fração CAD-ClAc-F67, primeiramente foi estabelecida uma condição em CLAE-analítico. Para o preparo da amostra de interesse (CAD-ClAc-F67), pesou-se 5 mg e esta foi dissolvida em 1 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5). Foi utilizada uma coluna de aproximadamente 1,5 g de fase estacionária (LiChroprep RP-18, 40-63 µm, Merck). A coluna foi ambientada com 5mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5) e logo em seguida a amostra foi eluída com 4,0 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5). Essa solução foi filtrada em membrana de 0,45µm e em seguida analisada via CLAE-analítico em diferentes comprimentos de onda e força de eluição, Tabela 1.

Depois de estabelecida uma condição em CLAE-analítico, as frações foram separadas via CLAE em escala preparativa (Tabela 2). Para o preparo da amostra pesou-se 50mg que foi dissolvida em 4 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5). Foi utilizada uma coluna de aproximadamente 6,0 g de

fase estacionária (LiChroprep RP-18, 40-63  $\mu\text{m}$ , Merck). A coluna foi ambientada com 20mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5) e logo em seguida a amostra foi eluída com 16,0 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5). As frações obtidas foram analisadas em CLAE – analítico. Em seguida as frações foram concentradas em Buchi Rotavapor R- 114 e posteriormente pesadas em balança analítica. Para a elucidação estrutural das substâncias foram realizados experimentos espectrométricos de RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, HMQC, HMBC, DEPT e COSY.

Pela comparação dos cromatogramas obtidos, tem-se que o melhor comprimento de onda utilizado foi de 254nm por apresentar um maior número de picos cromatográficos. A partir do comprimento de onda selecionado ( $\lambda=254\text{nm}$ ) e tentando melhorar ainda mais a condição analítica, foi testado outras condições com diferentes proporções de solvente. Os resultados dessas análises mostraram que o cromatograma obtido da condição MeOH:H<sub>2</sub>O (45:55) apresentava uma melhor resolução dos picos cromatográficos, Figura 1.

Com a condição estabelecida em CLAE-analítico foi realizado o fracionamento em CLAE-preparativo (Figura 2). Desse fracionamento foram obtidas 7 frações, sendo que uma delas (F67-f5.1) apresentou bom grau de pureza (Figura 3). A fração F67-F5-1 por apresentar somente um pico cromatográfico, aparentemente puro foi analisada por RMN. Os dados obtidos bem como a estrutura proposta (substância 1) estão apresentados na Tabela 3 e Figura 4 respectivamente.

Ao final desse trabalho, conclui-se que a partir da condição estabelecida via CLAE-analítico foi possível o isolamento e caracterização da substância (1). Para a elucidação estrutural dessa substância foram realizados experimentos espectrométricos RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, HMQC, HMBC, DEPT 135°, e 90°. A análise destes dados permitiu a caracterização do éster metílico do ácido 3,5-diidroxí-7-fenil-heptenóico, ainda não descrito na literatura química. O ácido livre desta substância, provavelmente biossintetizada a partir da condensação de uma unidade de cinamato com duas unidades de acetato, seria o precursor da goniotalamina - uma estilírpirona facilmente obtido das folhas de *C. moschata*.

**Tabela 1:** Condições cromatográficas para CLAE-analítico

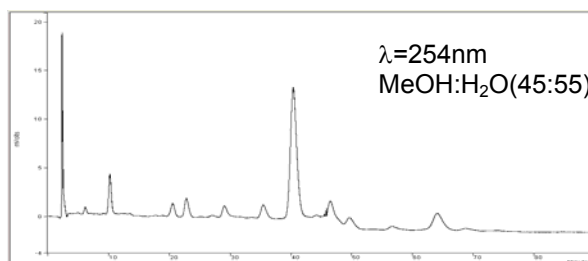
Parâmetro	Condição
Coluna	C18
Fase Móvel	MeOH/H <sub>2</sub> O (60:40),(1:1),(45:55)
Tempo de equilíbrio	15
Fluxo (mL/min)	1,0
$\lambda$ (nm)	340, 280, 254
Volume de injeção ( $\mu\text{L}$ )	20

**Tabela 2:** Condições cromatográficas para CLAE-preparativo

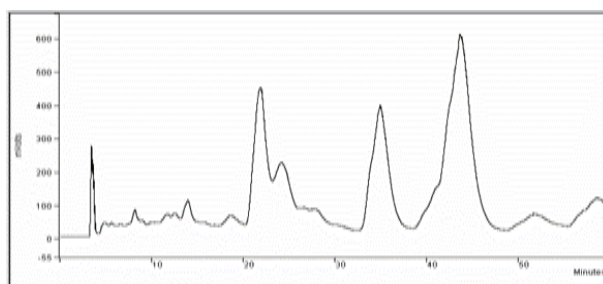
Parâmetro	Condição
Coluna	C18
Fase Móvel	MeOH/H <sub>2</sub> O (45:55)
Fluxo (mL/min)	20
( $\lambda$ ) nm	254
m / v injeção 1 (mg/ mL)	400 / 6

**Tabela 3:** Dados de RMN da substância (1) (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm)

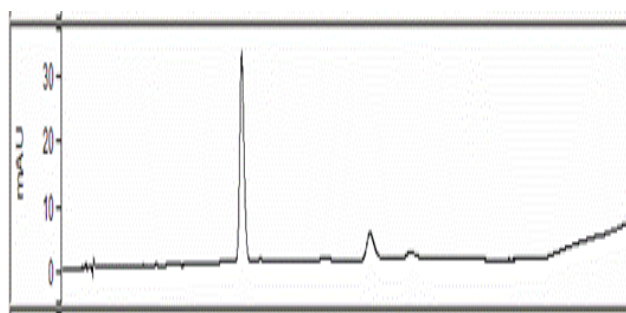
N°C	<sup>13</sup> C	<sup>1</sup> H	M	J (Hz)	gCOSY	gHMBC
1	56,201	3,314	s	-		
2	169,554					2,679
3	35,628	2,679	d		3,772	
4	71,322	3,772	m		2,679/1,816	3,314/2,679
5	33,696	1,816	t		5,158/3,772	2,679
6	76,041	5,158	dd		1,816/6,131	6,131/6,630
7	126,602	6,131	dd	16; 16	5,158/6,630	
8	132,421	6,630	d	16	6,131	7,318
1'	135,954	-	-	-		7,260/6,630
2' e 6'	126,666	7,318	d	7,5		7,207
3' e 5'	128,669	7,260	t	7,5		7,260
4'	128,224	7,207	d	7,5		7,318



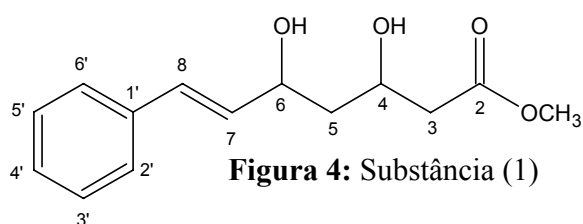
**Figura 1:** Cromatograma obtido em CLAE-analítico



**Figura 2:** Cromatograma preparativo



**Figura 3:** Cromatograma da fração F67-f5.1



**Figura 4:** Substância (1)

- 1- Rates S. M. K. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* **39**: 603-613.
- 2- Soldati F. 1997. The registration of medicinal plant products, what quality of documentation should be required? The industrial point of view. In: *World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare*, 2, 1997. Mendoza: ICMIPA/ISHS/SAIPOA, p. L-48.
- 3- WHO - World Health Organization, 1992. *Quality control methods for medicinal plants material*, Geneva.
- 4- Moraes PLRd e, Alves MC. Biometria de frutos e diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* Mez e *Cryptocarya mochat* Nees (Lauraceae): Implicações taxonômicas e ecológicas. Manuscrito.