

CONTITUENTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE *Byrsonima coccolobifolia* KUNTH. (MALPIGHIACEAE)

Kamilla Cristina Lorenzi, Wagner Vilegas, Clenilson M. Rodrigues, Miriam Sannomya. - Química - Bacharelado em Química - Departamento de Química Orgânica – Instituto de Química – Campus Araraquara

Byrsonima coccolobifolia Kunth, conhecida popularmente como murici ou sumera, é uma espécie nativa do cerrado brasileiro, distribuindo-se predominantemente na região do Planalto Central, irradiando-se também para outras áreas do sul e nordeste brasileiro. Sua fisionomia é savanóide, caracterizada pelo estrato arbustivo-arbóreo descontínuo e pelo estrato contínuo de herbácea. As árvores e arbustos são tortuosos e possuem em geral a casca grossa.

No Brasil, membros do gênero *Byrsonima* (Malpighiaceae) são empregados não apenas na medicina popular mas também como fonte alimentícia na forma de sucos, geléias e licores, principalmente na região norte e nordeste do Brasil¹.

A existência de poucos relatos na literatura sobre o gênero *Byrsonima* juntamente com a ausência de estudos químico-farmacológicos para esta espécie justifica o estudo químico do extrato polar de suas folhas.

Para a obtenção dos extratos, inicialmente foram realizadas etapas de maceração das folhas secas de *B. coccolobifolia* em CHCl₃ (8,1 g) seguido de percolação em MeOH (110,7 g).

Avaliação do trânsito intestinal para o EMeOH, conforme metodologia proposta por Janssen & Jageneau² e Wong & Wai³, indicou redução na motilidade intestinal e aumento de peso do mesmo, quando comparado ao controle, sugerindo desta forma uma possível atividade anti-diarréica do extrato polar.

Na etapa de investigação fitoquímica, uma porção do EMeOH foi submetida a um processo de destanificação, onde foi empregado uma partição líquido-líquido entre H₂O/AcOEt (1:1 v/v)⁴. Triagem por cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC) das porções obtidas indicou a presença de taninos e açúcares na fase aquosa, enquanto que na fase orgânica foi verificada a presença de flavonóides, catequinas e derivados de ácidos fenólicos.

A porção AcOEt foi fracionada por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), onde o suporte Sephadex LH-20 foi empregado como fase estacionária e MeOH como fase móvel. As frações obtidas foram purificadas por refractionamentos em colunas de sílica-gel ou por HPLC semi-preparativo.

Após etapas de purificação da fração 26 por sílica-gel e triagem por CCDC foi verificado que as subfrações Fr11 e Fr14 apresentaram-se como uma mistura de catequinas e a subfração Fr21 como uma mistura de flavonóides (Figura 1).

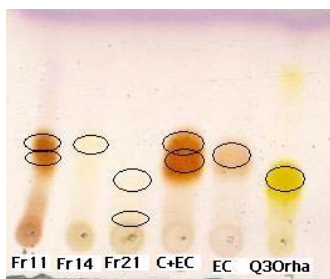


Figura 1: CCDC das frações Fr11; Fr14 e Fr21 e padrões (+)-catequina e (-)-epicatequina (C+EC); (-)-epicatequina (EC) e quercetina-3-O-rhamnopiranosídeo (Q3Orha); FM: clorofórmio:metanol:ácido fórmico 8:2:0,05 v/v/v, anisaldeído/H₂SO₄.

Através de análises empregando o uso da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) foi possível estabelecer a identificação das substâncias obtidas em mistura. Por meio de experimentos baseados na comparação dos tempos retenção, comparação dos espectros na região do UV e por co-injeção de padrões comerciais autênticos foi possível determinar que as frações Fr11 e Fr14 eram compostas pela mistura da (+)-catequina (**Bc1**) e (-)-epicatequina (**Bc2**), já na fração Fr21 foi confirmada a presença do flavonol quercetina-3-*O*-rhamnopiranosídeo (**Bc3**) e de um outro flavonóide não identificado pelas metodologias empregadas. A partir de outras frações obtidas da separação em Sephadex LH-20 foram também identificadas por HPLC as substâncias quercetina-3-*O*-arabinopiranosídeo (**Bc6**), quercetina (**Bc7**), ácido gálico (**Bc4**) e galato de metila (**Bc5**).

Posteriormente foi realizado um novo fracionamento da porção AcOEt em CPG com a finalidade de se chegar ao isolamento das substâncias presentes em *B. coccolobifolia*, principalmente do flavonóide não identificado e promover sua caracterização por experimentos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Refracionamento em coluna de sílica-gel para a fração 7 proveniente da separação cromatográfica realizada em CPG forneceu as subfrações Fr4 e Fr5, triagem cromatográfica em CCDC revelou a presença de duas manchas amarelas indicando tratar-se de uma mistura de flavonóides. Etapas de purificação da Fr4 por HPLC semi-preparativo resultou na separação de dois picos cromatográficos (Figura 2), após a realização de análises por RMN a substância indicada pelo pico 1 foi caracterizada como quercetina-3-*O*-rhamnopiranosil-(1→6)-galactopiranosídeo (**Bc8**) e a substância indicada pelo pico 2 caracterizada como **Bc3**.

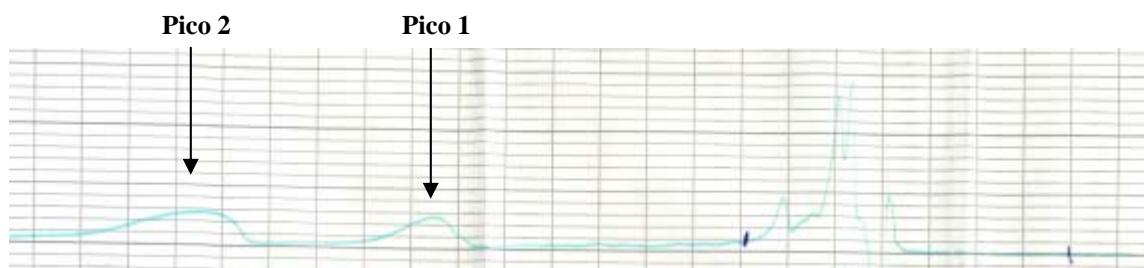


Figura 2: Análise da Fr4 por HPLC (modo semi-preparativo – Knauer®). Fase móvel = H₂O/MeOH 1:1 (v/v), coluna cromatográfica de fase reversa (RP18) Nucleosil-100 (250 x 8,0 mm DI, 5 µm), *loop* = 100 µl, fluxo 2 ml min⁻¹.

O mesmo procedimento de purificação por HPLC semi-preparativo foi aplicado para a Fr5 e a separação cromatográfica forneceu o reisolamento do flavonol **Bc3**, o qual é indicado no cromatograma da Figura 3.

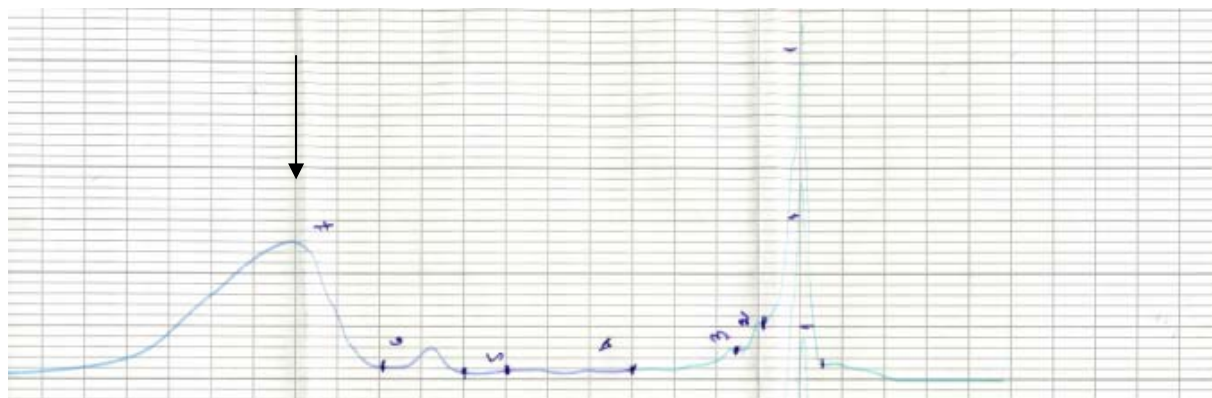
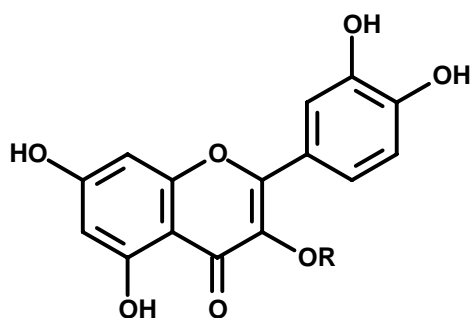
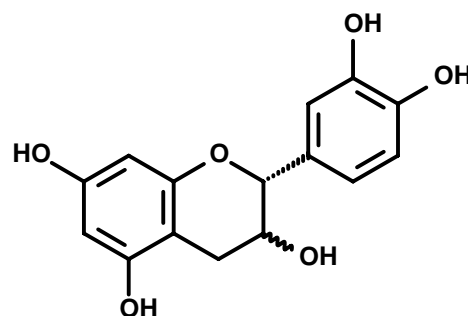


Figura 3: Análise da Fr5 por HPLC (modo semi-preparativo – Knauer®). Fase móvel = H₂O/MeOH 1:1 (v/v), coluna cromatográfica de fase reversa (RP18) Nucleosil-100 (250 x 8,0 mm DI, 5 µm), *loop* = 100 µl, fluxo 2 ml min⁻¹.

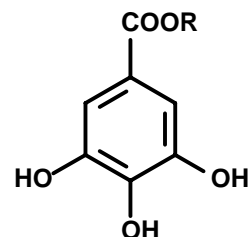
O estudo preliminar do extrato MeOH das folhas de *B. coccolobifolia* mostra uma grande diversidade de substâncias polifenólicas, até o presente momento foram identificados e/ou isolados dois derivados de ácidos fenólicos, duas catequinas e quatro flavonóis (Figura 4). Estas substâncias podem estar diretamente relacionadas à atividade anti-diarréica observada para o extrato MeOH.



Bc3; R = Rha = quercetina-3-O-rhamnopiranosídeo
Bc4; R = Ara = quercetina-3-O-arabinopiranosídeo
Bc5; R = H = quercetina
Bc8; R = Rha(1->6)Gal =
 = querceina-3-O-rhamonopiranosil-(1->6)-galactopiranosídeo



Bc1 = (2R, 3S) (+)-catequina
Bc2 = (2R, 3R) (-)-epicatequina



Bc6; R = H = ácido gálico
Bc7; R = CH₃ = galato de metila

Figura 4: Substâncias identificadas de *B. coccolobifolia*

Embora a composição química de *B. coccolobifolia* tenha apresentado grande similaridade entre as demais espécies de *Byrsomina* estudadas pelo grupo de pesquisa, observamos a presença de alguns metabólitos até então não encontrados nas outras espécies, como por exemplo, quercetina-3-O-rhamnopiranosídeo e quercetina-3-O-rhamnopiranosil-(1->6)-galactopiranosídeo. Além desse estudo contribuir para o conhecimento da composição química desta espécie, ele também deverá auxiliar no estabelecimento de correlações entre as informações etnofarmacológicas e o efeito/atividade de ensaios biológicos.

Referências Bibliográficas

- 1 Sannomiya, M., Rodrigues, C. M., Coelho, R. G., dos Santos, L. C., Hiruma-Lima, C. A., Souza-Brito, A. R., Vilegas, W., 2004. Application of preparative high-speed counter-current chromatography for the separation of flavonoids from the leaves of *Byrsonima crassa* Niedzu (Ik). **Journal of Chromatography A** 1035, 47-51
- 2 Janssen, P., Jageneau, A. H. A new series of potent analgesics. Part I – Chemical structure and pharmacological activity. **Journal Pharmacy Pharmacology**, v.9, p.381-400, 1957.
- 3 Wong, C. L., Way, M. K. Effects of aspirin and paracetamol on naloxone reversal of morphine-induced inhibition of gastrointestinal propulsion in mice. **Eur. Journal Pharmacology**, v.73, p.11-19, 1981.
- 4 Putman, L.J.; Butler, L.G. Fractionation of condensed tannins by Counter-Current Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 318 p. 85-93, 1985.

Bolsa: CNPq/PIBIC