

## ESTUDO QUÍMICO DOS CAULES DE *Alibertia macrophylla* (RUBIACEAE). Andréia de Oliveira Faria, Márcia Nasser Lopes, Viviane Cândida, Vanderlan da Silva Bolzani – Química – Química Tecnológica – Departamento de Química Orgânica – Instituto de Química – Campus de Araraquara.

A composição química das espécies vegetais, especialmente das plantas encontradas nas florestas tropicais (representando apenas 7% da superfície da Terra), ainda está longe de ser descrita em sua totalidade. Uma gama enorme de constituintes naturais ainda não foi isolada e estudada sob o ponto de vista químico. Por outro lado, uma grande quantidade de substâncias, já isoladas e com as estruturas químicas determinadas, ainda não foram avaliadas quanto às atividades biológicas e/ou farmacológicas (DI STASI, 1996), enfatizando que, possivelmente, estas substâncias podem ser o princípio ativo ou o protótipo para o desenvolvimento de um determinado fármaco.

Assim, diversas famílias com um número significativo de espécies ainda não investigadas química e farmacologicamente, vêm sendo estudadas dentro do Projeto Temático – BIOTA/FAPESP, intitulado “Conservation and sustainable use of the plant biodiversity from cerrado and Atlantic Forest: chemical diversity and prospecting for potencial drugs”, desenvolvido pelo Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais (NuBBE). A seleção das espécies vegetais a serem estudadas, do cerrado e Mata Atlântica do Estado de São Paulo, está baseada em bioensaios prévios (antitumoral e antifúngico) dos extratos vegetais, com vistas ao estabelecimento de modelo para a preservação, estudo e exploração racional da flora remanescente do Estado.

No *screening* de famílias para o Projeto Temático, Rubiaceae está representada por espécies dos gêneros *Alibertia*, *Faramea*, *Psycotria*, *Rudgea*, que apresentaram potencial atividade antifúngica.

A família Rubiaceae, pertence à ordem Gentianales (JUDD et al., 1999), compreende cerca de 600 gêneros e 6000 espécies, dispersas por todo o hemisfério, desde os trópicos até as regiões temperadas e frias (WATSON & DALLWITZ, 2000). No Estado de São Paulo, nas regiões de cerrado e Mata Atlântica, ocorrem cerca de 47 gêneros e 230 espécies (ANGELI, 1970).

O levantamento bibliográfico sobre a constituição química de espécies de Rubiaceae, mostrou uma grande diversificação de classes de metabólitos secundários: alcalóides dos tipos quinolínicos, indoloterpênicos, isoquinolínicos, piridínicos e piperidínicos (SIMÕES et al., 1999); iridóides (YOUNG et al., 1992; OLEA et al., 1997); triterpenos (OLEA et al., 1997; BROCHINI et al., 1994; BOLZANI et al., 1991; YOUNG et al., 1998; LOPES et al., 1999); flavonóides (OLEA et al., 1997); saponinas (YOUNG et al., 1998); quinonas (VERMES & WAGNER, 1980); lignóides (KITUCHI, 1985); diterpenos (KOIKE et al., 1980) e esteróides (NAGASAMPAGI, 1971).

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório com espécies desta família levaram ao isolamento e identificação de alguns metabólitos secundários com atividade antifúngica, como iridóides das folhas de *Alibertia macrophylla* (YOUNG et al., 1992). Além desses compostos, foram isolados três ésteres do ácido cafeico e sete triterpenos ( $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirenona, lupeol, lupenona e germanicon) obtidos dos caules e folhas de *Alibertia macrophylla* (BOLZANI et al., 1991). Todas estas substâncias foram isoladas a partir de cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) e colunas cromatográficas (sílica gel), comprometendo assim o estudo das frações mais polares.

A espécie escolhida para estudo, *Alibertia macrophylla*, foi coletada na Fazenda Campininha, município de Mogi-Guaçu/SP e identificada pela botânica Inês Cordeiro do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, local onde se encontra depositada sua exsicata. O material vegetal coletado, depois de separado em folhas e caules, foi seco em estufa a 40 °C, moído e extraído exaustivamente com etanol, a temperatura ambiente. A concentração dos extratos foi realizada em evaporador rotativo à pressão reduzida. Em seguida, o extrato bruto etanólico dos caules foi solubilizado em metanol: água (8:2) e submetido à partição líquido-líquido com hexano e acetato de etila.

O extrato em acetato de etila foi então cromatografado em coluna a vácuo usando C18 como fase estacionária, eluída em água, metanol e acetato de etila, modo gradiente, resultando em 14 frações.

A fração 3 (411,9 mg) foi submetida a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no modo gradiente exploratório, utilizando coluna C18, modelo Luna (2) (Phenomenex<sup>®</sup>) de 250 x 4,6 mm, partículas com tamanho de 5 µm, F = 1,0 mL min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm, sistema 5 a 100% de metanol em 30 minutos.

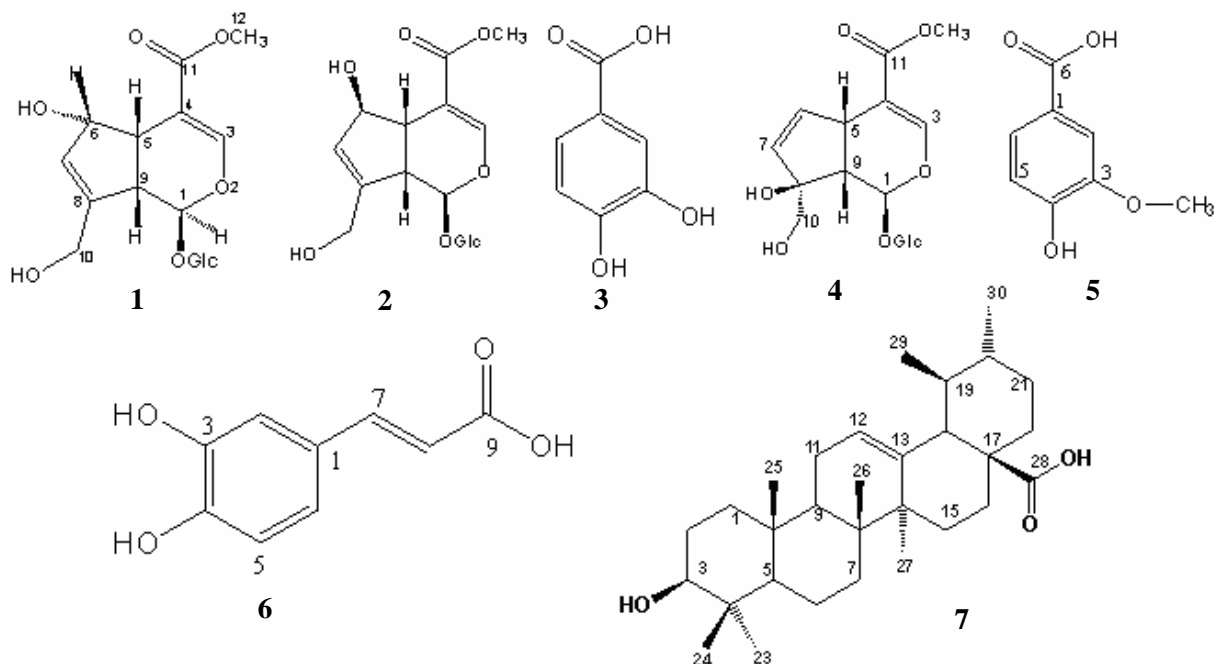
Após esta análise a amostra foi novamente submetida à CLAE, utilizando uma coluna C18 analítica, modelo Luna (2) (Phenomenex<sup>®</sup>) de 250 x 4,6 mm, partículas com tamanho de 5 µm e fase móvel isocrática metanol/água (17:83) com fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e detecção no UV em 254 nm, o que permitiu determinar a melhor condição para uma análise preparativa, que foi executada sob as seguintes condições: Coluna C18, modelo Luna (2) (Phenomenex<sup>®</sup>) de 250 x 21,20 mm, partículas com tamanho de 10 µm, F = 12,0 mL min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm e sistema de solventes metanol/água (17:83) modo isocrático.

Obteve-se, assim, 5 subfrações nas quais foram identificados dois iridóides: 6α-hidroxigeniposídeo **1** (48,0 mg) e 6β-hidroxigeniposídeo **2** (15,0 mg); um derivado fenólico e um iridóide, em mistura: ácido protocatéquico **3** e gardenosídeo **4** (13,2 mg), respectivamente; e dois derivados fenólicos: ácido vanílico **5** e ácido cafeico **6**, também em mistura (9,0 mg).

A fração 4 (1,50 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando C18 como fase estacionária, eluída com metanol e água, modo gradiente. A subfração 4.4, após análise por espectrométrica, foi identificada como o mesmo iridóide da fração 3, 6α-hidroxigeniposídeo **1** (45,2 mg).

A fração 6.2 (263,3 mg) apresentou um precipitado o qual foi separado e submetido à análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e DEPT 135° resultando na elucidação de um triterpeno, ácido ursólico **7** (150,0 mg).

Todas as substâncias isoladas tiveram suas estruturas elucidadas através de métodos espectrométricos, principalmente RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e DEPT 135° e por comparação com dados da literatura. As estruturas moleculares dessas substâncias estão relacionadas na figura 1.



**Figura 1.** Estruturas moleculares das substâncias isoladas de *Alibertia macrophylla*.

O fracionamento do extrato em acetato de etila resultou no isolamento de sete substâncias, sendo um triterpeno, três iridóides e três compostos fenólicos.

A presença de triterpenos pentacíclicos e iridóides no extrato estudado está de acordo com a constituição terpenoídica previamente relatada na literatura para o gênero *Alibertia*.

O objetivo deste trabalho foi alcançado, uma vez que se ampliou o conhecimento da constituição química da espécie *Alibertia macrophylla*, pertencente à família Rubiaceae. Espera-se que os resultados obtidos possam auxiliar na busca de novos metabólitos secundários em espécies do Cerrado e Mata Atlântica, bem como subsidiar novos estudos fitoquímicos e/ou farmacológicos de outras espécies desta família.

## Referências Bibliográficas

- ANGELI, J. *Flora analítica e fitogeográfica do Estado de São Paulo*. São Paulo, Editora Phytos, 1970, v.4.
- BOLZANI, V. da S.; TREVISAN, L.M.V.; YOUNG, M.C.M. *Phytochemistry* **1991**, 30, 2089.
- BROCHINI, C.B.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F.; BOLZANI, V. da S. *Phytochemistry* **1994**, 36, 1293.
- DI STASI, L.C. (organizador). *Plantas Mediciniais: Arte e Ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo, Editora UNESP, 1996.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. *Plant systematics. A Phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. USA, 1999.
- KITUCHI, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 2535.
- KOIKE, K.; COEDEL, A.G.; FARNSWORTH, N.R. *Tetrahedron* **1980**, 36, 1167.
- LOPES, M.N.; MAZZA, F.C.; YOUNG, M.C.M.; BOLZANI, V. da S. *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, 10, 237.
- NAGASAMPAGI, B.A. *Phytochemistry* **1971**, 10, 1101.
- OLEA, R.S.G.; ROQUE, N.F.; BOLZANI, V. da S. *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, 8, 257.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENDKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 1 ed. Rio Grande do Sul, Editora da UFRS. **1999**, cap. 20, p. 519-535.
- VERMES, B.; WAGNER, H. *Phytochemistry* **1980**, 19, 2493.
- WATSON, L.; DALLWITZ, M.J. *The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval*. Version: December 2000. <http://biodiversity.uno.edu/delta>, acessada em 05/08/2005.
- YOUNG, M.C.M.; ARAÚJO, A.R.; DA SILVA, C.A.; LOPES, M.N.; TREVISAN, L.M.V.; BOLZANI, V. da S. *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 936.
- YOUNG, M.C.M.; BRAGA, M.R.; DIETRICH, S.M.C.; GOTTLIEB, H.E.; TREVISAN, L.M.V.; BOLZANI, V. da S. *Phytochemistry* **1992**, 31, 3433.

**Bolsa:** CNPq/PIBIC