

# Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae)

Pizzolatti, M. G<sup>1\*</sup>; Cristiano, R.<sup>1</sup>; Monache, F. D.<sup>2</sup>; Branco, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Química de Produtos Naturais, Departamento de Química, CFM, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC;

<sup>2</sup>Centro Chimica Recettori, CNR, Università Cattolica Del Sacro Cuore, Roma, Itália

---

**RESUMO:** A partir do fracionamento em coluna de gel de sílica do extrato clorofórmico de *Polygala paniculata* (Polygalaceae), foram isolados 7-metóxi-8-(1',2'-epóxi-3'-metil-3'-butenil)-cumarina (**1**) e dois artefatos cumarínicos (**2a-2b**), formados a partir da abertura do anel epóxido de **1** durante o processo de isolamento. O tratamento de **1** com EtOH/SiO<sub>2</sub>, sob agitação e à temperatura ambiente durante 24 horas, resultou na formação dos respectivos artefatos: 7-metóxi-8-(1'-hidróxi-2'-etóxi-3'-metil-3'-butenil)-cumarina (**2a**) e 7-metóxi-8-(1'-etóxi-2'-hidróxi-3'-metil-3'-butenil)-cumarina (**2b**). As estruturas químicas desses compostos foram determinadas através da análise de seus dados espectrais, incluindo RMN bidimensional.

**Unitermos:** *Polygala paniculata*; Polygalaceae; cumarina; artefatos; RMN.

**ABSTRACT:** Coumarinic artifacts isolated from *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Fractionation of a chloroform extract of *Polygala paniculata* (Polygalaceae) on silica gel column chromatography yielded 7-methoxy-8-(1',2'-epoxy-3'-methyl-3'-butenyl)-coumarin (**1**) and two coumarinic artifacts (**2a-2b**). The reaction of **1** with EtOH/SiO<sub>2</sub> at room temperature for 24 hours yielded 7-methoxy-8-(1'-hydroxy-2'-ethoxy-3'-methyl-3'-butenyl)-coumarin (**2a**) and 7-methoxy-8-(1'-ethoxy-2'-hydroxy-3'-methyl-3'-butenyl)-coumarin (**2b**). The structures have been determined by spectral data, including 2D NMR experiments.

**Key words:** *Polygala paniculata*; Polygalaceae; coumarin; artifacts; NMR.

---

## INTRODUÇÃO

Os procedimentos utilizados para a obtenção de extratos e para o isolamento de produtos naturais podem favorecer a ocorrência de reações químicas envolvendo metabólitos secundários, resultando na formação dos chamados artefatos de isolamento. Entre os processos responsáveis pela formação de artefatos, destacam-se as reações térmicas e as reações de solvólise (ASFAW et al., 2001; BRITTON et al., 2001). Na suspeita de obtenção de um artefato, o pesquisador deve realizar procedimentos que conduzam à caracterização do mesmo e/ou à verificação da estabilidade do respectivo produto natural. Assim, reações químicas estratégicas e até mesmo a síntese total devem ser providenciadas (HUSSAIN e LEONARD, 1987; PINTO et al., 1991).

As cumarinas representam uma importante e diversificada classe de compostos naturais com atividade biológica (GOTTLIEB et al., 1996; DEWICK, 1997). Os anticoagulantes orais mais utilizados nos Estados Unidos pertencem a esta classe de compostos naturais (CLARK et al., 2000).

A febalosina (1) é uma cumarina C-prenilada encontrada em espécies da família Polygalaceae (HAMBURGER et al., 1985). Artefatos de 1, provenientes da abertura do anel epóxido, foram isolados e identificados no gênero *Murraya* (MURRAY, 1995). HAMBURGER (1985) isolou três cumarinas preniladas de *Polygala paniculata* e constatou, posteriormente, através da análise do extrato bruto por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que esses compostos não eram artefatos formados a partir da febalosina (1).

Dando continuidade ao estudo quimiosistemático de espécies vegetais do gênero *Polygala*, encontradas na região sul do Brasil (PINHEIRO et al., 1998; PIZZOLATTI et al., 2000), este trabalho descreve o isolamento da febalosina (1) e de outras duas cumarinas (2a-2b) de *P. paniculata*. A comprovação de 2a-2b como artefatos, formados durante o processo de isolamento, também está descrito.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Material Botânico

*Polygala paniculata* L. foi coletada na região de Massiambú, município de Palhoça (Santa Catarina), e identificada pelo Professor Olavo Araújo Guimarães, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Uma exsicata encontra-se depositada no herbário desse Departamento sob o registro UPCNB 26027.

### Extração e isolamento das cumarinas 2a e 2b

As partes aéreas de *P. paniculata* (277 g) foram secas, moídas e submetidas à extração por maceração com etanol/água (2:1) à temperatura ambiente, durante 15 dias, em recipiente fechado. Após filtração, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida em evaporador rotatório, resultando 28 g de extrato bruto. A esse extrato foi adicionado metanol, com leve aquecimento, para sua total dissolução e, posteriormente, foi mantido em geladeira por 24 horas para a precipitação do material graxo. Após este período, o sobrenadante foi removido com o auxílio de uma pipeta Pasteur e submetido a uma partição sucessiva com hexano, clorofórmio, acetato de etila (AcOEt) e n-butanol (BuOH). Este procedimento resultou na obtenção dos respectivos sub-extratos.

O sub-extrato clorofórmio (3,5 g) foi submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica (22 x 2,5 cm), eluída com o sistema de solventes hexano/acetato de etila, em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 36 frações, de aproximadamente 125 ml cada, as quais foram concentradas sob pressão reduzida e reunidas com base na análise por cromatografia em camada delgada (CCD). As frações 3, 4 e 5 foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica, no modo gradiente de polaridade, (tolueno/AcOEt) resultando em 16 frações de 15 ml cada. Assim, das frações 8 e 9 reunidas, obteve-se um sólido amarelado que, após recristalizações em acetona, forneceu as cumarinas 2a e 2b (10 mg), na forma de um sólido amarelo de PF 130°C.

### Obtenção da febalosina (1)

Uma nova amostra de *P. paniculata* (11 g) foi coletada, seca e macerada em hexano seco durante 24 horas (25°C). Com a evaporação parcial do solvente, à temperatura controlada, observou-se a precipitação de um sólido amorfo. A separação deste sólido, seguida de sucessivas recristalizações em acetona, forneceu 35 mg da febalosina (1), na forma de um sólido branco.

---

## Febalosina (1)

Sólido branco, p.f. 124°C (121-123°C, HAMBURGER et al., 1985); IV (v max KBr, cm<sup>-1</sup>): 3076, 2976, 1736, 1608, 1498, 1260, 1188; EM (IE) *m/z* (int. rel. %): 258(M<sup>+</sup>, 35), 229 (38), 213 (55), 199 (60), 189 (100), 175 (54); RMN <sup>1</sup>H (Acetona-D<sub>6</sub>, 200 MHz): 1,97 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'), 3,00 (1H, sl, H-2'), 4,03 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-3'), 4,12 (3H, s, CH<sub>3</sub>O-7), 5,19 (1H, sl, H-4'), 5,38 (1H, sl, H-4'), 6,36 (H, d, *J* = 10 Hz, H-3), 7,2 (H, d, *J* = 8Hz, H-6), 7,76 (H, d, *J* = 8Hz, H-5), 8,02 (H, d, *J* = 10 Hz, H-4).

## Obtenção de 2a e 2b a partir da febalosina

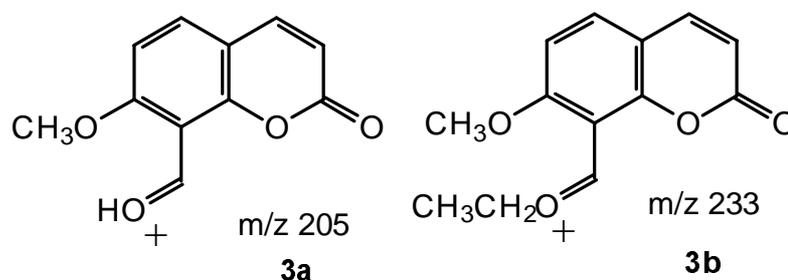
Dissolveu-se 11 mg da febalosina (1) em 0,2 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e 5 mL de EtOH em um balão de 25 mL. Adicionou-se 1,0 g de sílica gel e o sistema foi deixado sob agitação à temperatura ambiente. A reação foi monitorada por CCD (hexano/AcOEt 7:3), com desaparecimento total do epóxido após 24 horas. Em seguida, a mistura reacional foi eluída em coluna de gel de sílica com hexano/acetato de etila 1:1. Após evaporação do solvente, um sólido de cor branca foi obtido. O índice de retenção em CCD e o espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) deste material foram idênticos aos das cumarinas 2a e 2b obtidas inicialmente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cumarinas 2a e 2b, obtidas após fracionamento do extrato clorofórmico de *P. paniculata*, foram identificadas em mistura através da análise espectroscópica de IV, EM, e RMN uni- e bidimensional. Essas cumarinas ainda não foram descritas na literatura como produtos naturais.

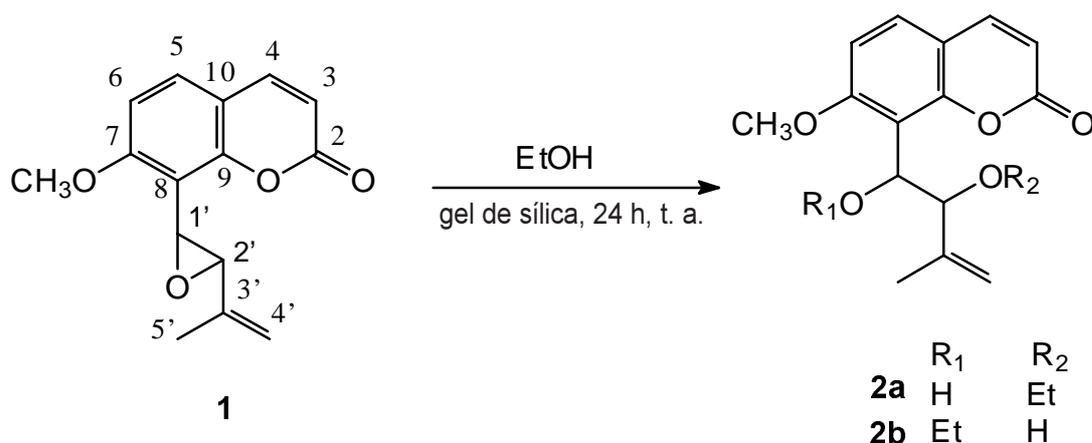
O espectro IV da mistura, contendo 2a e 2b, apresentou bandas em 3476 cm<sup>-1</sup> (OH), em 1726 cm<sup>-1</sup> (C=O) e em 1604 cm<sup>-1</sup> (C=C). O núcleo cumarínico foi caracterizado através do espectro de RMN <sup>1</sup>H pela presença de 4 dubletos { $\delta_{\text{H}}$  6,22 (1H, d, *J* = 9,5 Hz);  $\delta_{\text{H}}$  7,89 (1H, d, *J* = 9,5 Hz);  $\delta_{\text{H}}$  7,60 (1H, d, *J* = 8,7 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (1H, d, *J* = 8,7 Hz)}. Os grupos etóxicos (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) foram caracterizados pelos sinais em 1,11 ppm (6H, t, 2a e 2b) e em 3,38 [2H, m, (2b)]/3,46 [2H, m, (2a)], os quais foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos e metílicos do grupo etóxico de cada isômero, respectivamente. A correta atribuição dos deslocamentos químicos de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C de 2a e 2b foram acompanhados por RMN bidimensional [HETCOR (<sup>1</sup>J), COLOC (<sup>2</sup>J, <sup>3</sup>J) e INEPT] (Tabela 1).

O espectro de massas da mistura mostrou pico em *m/z* 258 (13 %, 2a e 2b) referente ao íon molecular e picos intensos em *m/z* 205 (100) e *m/z* 233 (46). Esses picos podem ser racionalizados através da quebra entre a ligação C-1' e C-2', formando os fragmentos iônicos 3a e 3b, respectivamente (Figura 1).



**Figura 1.** Fragmentos iônicos observados no espectro de massas de 2a e 2b em mistura. Estes fragmentos foram utilizados para caracterizar os respectivos compostos.

No entanto, o prévio isolamento da febalosina (**1**) desta espécie (HAMBURGER et al., 1985) e o fato das substituições etoxiladas serem raras em produtos naturais, fez surgir a suspeita de que **2a** e **2b** seriam artefatos de isolamento. Assim, um novo extrato de *P. paniculata* foi providenciado e processado, tomando as devidas precauções, tais como não usar sílica e solventes nucleofílicos, para evitar a possível abertura do anel epóxido (ver parte experimental). Deste modo, a febalosina (**1**) foi obtida como produto majoritário. Na tentativa de comprovar a formação dos respectivos artefatos, o composto (**1**) foi tratado com etanol na presença de gel de sílica à temperatura ambiente (Figura 2). Esse procedimento resultou na obtenção de uma mistura de compostos, cujos dados espectroscópicos se mostraram idênticos aos de **2a** e **2b**, isolados de *P. paniculata*, sendo esse um forte argumento na confirmação do artefato.



**Figura 2.** Obtenção da mistura dos artefatos isoméricos **2a** e **2b** a partir da febalosina (**1**).

Após o tempo reacional, o composto final apresentou espectro de RMN <sup>1</sup>H idêntico ao espectro de **2a** e **2b**, isolados de *P. paniculata*, confirmando, assim, tratar-se realmente de artefatos. O ataque nucleofílico do etanol às posições C1' e/ou C2', em presença de sílica, resultou na abertura do anel epóxido, com a formação de uma mistura de produtos com o grupamento etóxido em C1' (**2a**) e C2' (**2b**), reação esta que, certamente, ocorreu durante o processo fitoquímico.

**Tabela 1.** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) e  $^1\text{H}$  (300 MHz) (Acetona- $\text{D}_6$ ) de **2a** e **2b** em mistura.

| C                                 | HETCOR ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) |                                  | COLOC ( $^{2-3}\text{J}_{\text{CH}}$ ) | INEPT-seletivo   |
|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--|--|
|                                   | $\delta_{\text{C}}$                 | $\delta_{\text{H}}$              |  |  |
| 2                                 | 160,53                              | —                                | 7,89 (H-4)                             |  |
| 7                                 | 162,14                              | —                                |  |  |
| 8                                 | 115,36                              | —                                | 7,07 (H-6)                             |  |
| 9                                 | 154,68                              | —                                | 7,60 (H-5)                             |  |
| 10                                | 113,79                              | —                                | 7,07 (H-6)                             |  |
| 3'                                | 145,79                              | —                                | 1,63 ( $\text{CH}_3$ -5') $^2\text{J}$ |  |
| <b>CH</b>                         |                                     |                                  |  |  |
| 3                                 | 113,44                              | 6,22 (d, J=9,5Hz)                |  | 160 (C-2) $^2\text{J}$ , 113 (C-10) $^3\text{J}$                                 |
| 4                                 | 145,01                              | 7,89 (d, J=9,5Hz)                |  | 160 (C-2) $^2\text{J}$ , 154 (C-9), 130 (C-5) $^3\text{J}$                       |
| 5                                 | 130,01                              | 7,60 (d, J=8,7Hz)                |  | 162 (C-7), 154 (C-9) $^3\text{J}$  |
| 6                                 | 108,9                               | 7,07 (d, J=8,7Hz)                |  | 115,4 (C-8), 113 (C-10) $^3\text{J}$   |
| 1'                                | 77,2                                | 5,08 (d, J=8,5Hz)                |  | 162 (C-7), 154 (C-9),<br>77 (C-1', C2'), 65 (OCH <sub>2</sub> )                  |
| 2'                                | 77,2                                | 5,00 (d, J=8,5Hz)                |  | 77 (C-1', C2'), 154 (C-9)  |
| <b>CH<sub>2</sub></b>             |                                     |                                  |  |  |
| 4'                                | 113,1                               | 4,49 (sl)<br>4,62 (sl)           |  | 77 (C-1', C2')<br>77 (C-1', C2'), 145(C-3') $^2\text{J}$ , 17(C-5') $^3\text{J}$ |
| CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O | 65,6 (2a/2b)                        | 3,38 [m, (2b)]<br>3,46 [m, (2a)] |  |  |
| <b>CH<sub>3</sub></b>             |                                     |                                  |  |  |
| 5'                                | 17,29                               | 1,63(s)                          |  |  |
| CH <sub>3</sub> O-                | 56,7                                | 3,97 (s)                         |  |  |
| CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O | 15,58                               | 1,11 (t, 2a e 2b)                |  |  |

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Professor Olavo Araújo Guimarães do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) pela identificação da planta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASFAW, N.; STORESUND, H. J.; SKATTEBOL, L.; AASEN, A. J. Coexistence of chrysanthenone, filifolone and (Z)-isogeranic acid in hydrodistillates. *Artifacts. Phytochemistry*, v.58, p.489-492, 2001.
- BRITTON, R.; ROBERGE, M.; BERISCH, H.; ANDERSON, R. Antimitotic diterpenoids from *Erythropodium caribaceorum*: isolation artifacts and putative biosynthetic intermediates. *Tetrahedron Letters*, v.42, p.2953-2956, 2001.
- CLARK, S. L.; PORTER, F.; WEST, F. G. Coumarin derivatives and breast-feeding. *Obstetrics & Gynecology*, v.95, n.6, p.938-940, 2000.
- DEWICK, P. *Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach*. London: John Wiley & Sons, 1997.
- HAMBURGER, M.; GRUPTA, M.; HOSTETTMANN, K. Coumarins from *Polygala paniculata*. *Planta Medica*, v.51, p.215-217, 1985.
- HUSSAIN, N.; LEONARD, J. Total synthesis of specionin – natural product or artifact? *Tetrahedron Letters*, v.42, n.41, p.4871-4874, 1987.
- GOTTLIEB, O.; KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. *Biodiversidade, um Enfoque Químico-Biológico*. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 1996.
- MURRAY, R. D. H. Coumarins. *Natural Products Reports*, v.5, p.477-505, 1995.
- PINTO, A. C.; QUEIROZ, P. P. S.; GARCEZ, W. Diterpenes from *Vellozia bicolor*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.2, p.25-30, 1991.
- PINHEIRO, T. R.; CECHINEL, V.; SANTOS, A. R. S.; CAXLITO, J. B.; DELLE MONACHE, F.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. Three xanthenes from *Polygala cyparissias*. *Phytochemistry*, v.48, p.725-728, 1998.
- PIZZOLATTI, M.; LUCIANO, C.; DELLE MONACHE, F. Styryl- and dihydrostyryl-2-pyrones derivatives from *Polygala sabulosa*. *Phytochemistry*, v.55, p.819-822, 2000.

Recebido para publicação em: 12/04/2002

Aceito para publicação em: 04/06/2002

### \* Autor para correspondência:

Prof.Dr.Moacir G.Pizzolatti  
Laboratório de Química de Produtos Naturais  
Departamento de Química  
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas  
Universidade Federal de Santa Catarina  
Campus Universitário Trindade  
88040-900 – Florianópolis - SC  
E-mail: [moacir@gmc.ufsc.br](mailto:moacir@gmc.ufsc.br)