

CONSTITUINTES DAS CASCAS DE *Tapirira guianensis* (ANACARDIACEAE)**Suzimone de J. Correia**

Departamento de Química e Exatas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Av. José Moreira Sobrinho s/n, 45200-000 Jequié - BA

Juceni P. David

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador - BA

Jorge M. David*

Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador - BA

Recebido em 13/12/01; aceito em 3/6/02

CONSTITUENTS OF THE BARK OF *Tapirira guianensis* (ANACARDIACEAE). From the hexane extract of barks of *Tapirira guianensis* were isolated and identified β -sitosterol, 3β -O- β -D-glucopyranosyl-sitosterol, sitostenone and stigmast-4-en-6 β -ol-3-one. Besides these compounds six alkyl ferulates were obtained including a new one with an unusual odd alkyl chain, nonadecyl coumarate. All structures were determined by spectral data.

Keywords: *Tapirira guianensis*; alkyl ferulates; *p*-nonadecyl coumarate; sterols.

INTRODUÇÃO

O gênero *Tapirira* (Anacardiaceae) é composto de aproximadamente 15 espécies que ocorrem principalmente na América do Sul. *Tapirira guianensis* Aubl. é uma árvore alta facilmente encontrada na Mata Atlântica e popularmente conhecida como “pau-pombo”. Existem relatos na literatura demonstrando que o extrato aquoso das cascas dessa espécie apresenta efeito estimulante uterino¹ e estudo prévio biomonitorado do extrato das sementes permitiu identificar dois derivados alquilfenólicos com atividade citotóxica². O extrato CHCl₃ das cascas de *T. guianensis* também mostrou atividade contra câncer humano de próstata (LNCaP, IC₅₀ 5,5 mg/mL). Neste trabalho relatamos o estudo da composição química dos extratos hexânico e CHCl₃ das cascas de *T. guianensis*. Além de esteróides conhecidos foram isolados ésteres alquílicos do ácido ferúlico e um novo éster com cadeia de alquílica de número ímpar de carbonos, incomum na natureza.

PARTE EXPERIMENTAL

Os espectros de RMN foram registrados em equipamento Varian Gemini-300, utilizando o sinal do solvente como referencial interno. Os espectros de massa foram obtidos através de injeção direta em espectrômetro de Finnigan MAT 90. As análises de CG foram realizadas em instrumento HP modelo 5890 utilizando-se H₂ como gás de arraste (1 mL/min), temperatura do injetor (220 °C), coluna HP-5 (5% fenil metilsilicone, 50 m x 0,2 mm x 0,5 μ m de espessura do filme), temperatura do forno 270-280 °C, 0,5 °C/min, tempo total 35 min. Foi utilizada Si gel 60 nas separações por cromatografia em coluna. As frações foram monitoradas por CCD em Si 60 PF₂₅₄ (Merck) e as manchas foram reveladas com vapores de iodo, reagente de Lieberman-Buchard e irradiação no UV (254 nm).

O material botânico foi coletado no *Campus* Universitário de Ondina, Universidade da Federal da Bahia, Salvador (BA), Brasil. Um espécime testemunha (n° 032912) foi depositado no Herbário

“Alexandre Leal Costa”, do Instituto de Biologia da Universidade da Federal da Bahia, como descrito anteriormente².

Isolamento dos constituintes

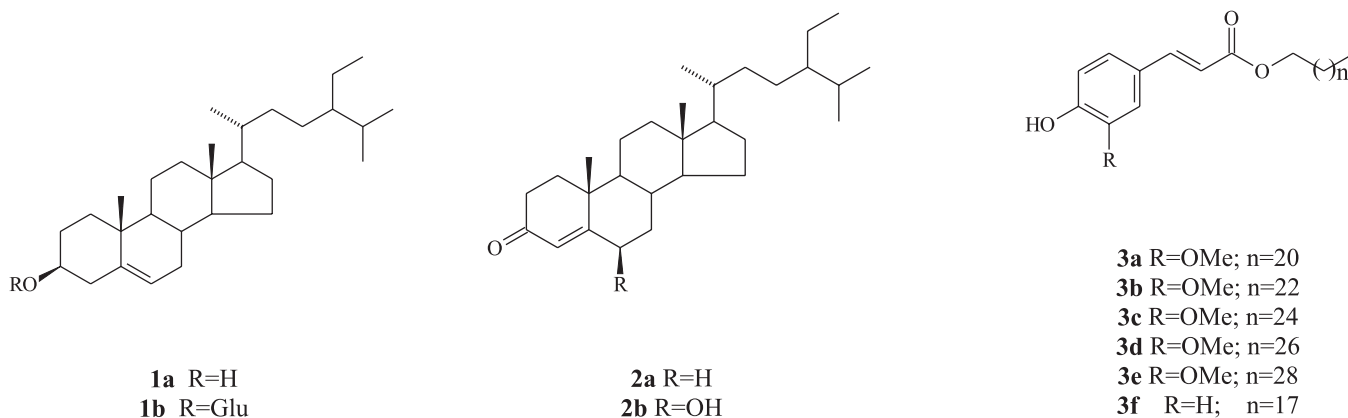
As cascas de *T. guianensis* (1,1 kg) foram secas, moídas e submetidas à extração através de maceração com hexano (4 L) e MeOH (4 L). O resíduo do extrato hexânico foi particionado entre hexano/MeOH:H₂O (9:1) e, em seguida, a fase metanólica foi particionada entre CHCl₃/MeOH:H₂O (3:2). A fração hexânica (3,1 g) foi fracionada em coluna cromatográfica de Si gel (A) eluída com misturas de hexano/AcOEt. Foram recolhidas frações de 100 mL, agrupadas posteriormente em vinte frações, através de monitoramento por CCD. A maioria de frações mostrou ser composta por misturas de ácidos graxos. A fração eluída com hexano:AcOEt (95:5) foi submetida à CCDP utilizando-se hexano:AcOEt (85:15) como eluente e forneceu a substância **2a** (100,3 mg). A mistura das substâncias **3a-3e** (16,1 mg) foi obtida por CCDP usando hexano:AcOEt (85:15) a partir da fração oriunda de A eluída com hexano:AcOEt (9:1). A fração eluída com hexano:AcOEt (8:2) foi recristalizada em MeOH e forneceu **1b** (174,1 mg).

O extrato CHCl₃ (5,28 g) foi fracionado em coluna cromatográfica de sílica gel (B) eluída com misturas de hexano/AcOEt. Frações de 100 mL foram coletadas e agrupadas com base na análise com CCD em 7 frações novas. A fração eluída com hexano:AcOEt (8:2) (186,7 mg) foi purificada por meio de CCDP usando-se eluições múltiplas em hexano/AcOEt (9:1) forneceu **1a** (55,0 mg) e **3f** (5,9 mg). A fração oriunda da coluna B eluída com hexano:AcOEt (7:3) foi submetida à purificação em CC de sílica gel usando CHCl₃/AcOEt em gradiente de polaridade e forneceu a substância **2a** pura (16,4 mg). A fração eluída com hexano:AcOEt (1:1) foi submetida à recristalização com CHCl₃ e forneceu 36,6 mg de **2b**.

Dados físicos das substâncias isoladas

3 β -O- β -D-glucopiranosil-sitosterol (**1b**). Cristais brancos. P. F. = 255-258 °C. Dados espectrométricos similares aos descritos na literatura³.

*e-mail: jmdavid@ufba.br



Stigmast-4-en-3-ona (**2a**). Óleo. Dados espectrométricos similares aos descritos na literatura⁴.

Stigmast-4-en-6 β -ol-3-ona (**2b**). Óleo. RMN ¹H [300 MHz, δ (ppm), CDCl₃]: 5,82 (s, H-4), 4,34 (dd, 3,0 Hz e indt., H-6), 1,18 (s, H-19), 0,92 (d, 6,5 Hz, H-21), 0,85 (t, 7,2 Hz, H-29), 0,84 (d, 6,5 Hz, H-26), 0,82 (d, 6,7 Hz, H-27), RMN ¹³C [75,5 MHz, δ (ppm), CDCl₃]: 200,3 (C-3), 168,3 (C-5), 126,2 (C-4), 73,2 (C-6), 56,0 (C-17), 55,8 (C-14), 53,5 (C-9), 45,7 (C-24), 42,2 (C-13), 39,5 (C-12), 38,5 (C-7), 37,9 (C-1 e C-10), 36,0 (C-20), 34,2 (C-2), 33,8 (C-22), 29,6 (C-8), 29,1 (C-25), 28,1 (C-16), 26,0 (C-23), 24,1 (C-15), 23,0 (C-28), 20,9 (C-11), 19,7 (C-26), 19,4 (C-19), 18,9 (C-27), 18,6 (C-21) e 11,9 (C-18 e C-29).

Ferulato de dodecosila (**3a**), *ferulato de tetracosila* (**3b**), *ferulato de hexacosila* (**3c**), *ferulato de octacosila* (**3d**), *ferulato de triacontila* (**3e**), IV ν_{max} KBr cm⁻¹: 3404, 3020, 2916, 2848, 1710, 1633, 1593, 1558, 1515, 1472, 1215, 1560, 1123, 1032, 980, 845, 816. EMIE *m/z* (int. rel.): 614(2) [M⁺, C₄₀H₇₀O₄] **3e**, 586(100) [M⁺, C₃₈H₆₆O₄] **3d**, 558(30) [M⁺, C₃₆H₆₂O₄] **3c**, 530(6) [M⁺, C₃₄H₅₈O₄] **3b**, 502(3) [M⁺, C₃₂H₅₄O₄] **3a**, 589(2), 588(8), 587(40), 572(4), 559(10), 531(3), 518(2), 504(3), 464(4), 233(17), 231(14), 196(23), 195(22), 194(61), 179(8), 177(68), 150(21), 149(22), 145(8), 137(20), 128(18), 117(46). Dados de RMN idênticos aos descritos na literatura⁵.

p-Cumarato de nonadecila (**3f**). Óleo. EMIE *m/z* (int. rel.): 430(4) [M⁺, C₂₈H₄₆O₃], 415(25), 413(39), 399(26), 396(36), 381(25), 303(37), 255(26), 213(35), 163(26), 145(42), 131(25), 107(48). RMN ¹H [300 MHz, δ (ppm), CDCl₃]: 7,62 (d, 17,0 Hz, H-7), 7,43 (d, 8,0 Hz, H-2/H-6), 6,84 (d, 8,0 Hz, H3/H-5), 6,30 (d, 17 Hz, H-8), 4,20 (t, 6,8 Hz, H-1'), 0,85 (t, 7,5 Hz, CH₃), RMN ¹³C [75,5 MHz, δ (ppm), CDCl₃]: 167,5 (C-9), 158,0 (C-4), 144,2 (C-7), 130,0 (C-1), 129,8 (C-2/C-6), 115,8 (C-8), 115,4 (C-3/C-5), 65,0 (C-1'), 29,2-29,6 [(CH₂)_n], 14,1 (CH₃).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do extrato hexânico de *T. guianensis* foram isolados através de técnicas cromatográficas os esteróides **1a**, **1b**, **2a**, **2b** e a mistura de ésteres alquílicos derivados do ácido ferúlico (**3a-3e**), além do novo éster, cumarato de nonadecila (**3f**). Os esteróides foram identificados baseando-se nos dados espectrais e por comparação com os dados de RMN já descritos na literatura. A configuração β de H-1' da porção glicosídica do composto **1b** foi estabelecida através da constante de acoplamento diaxial ($J=8,1$ Hz) observada entre H-1' e H-2'. A atribuição dos dados de ressonância para todos os carbonos foi confirmada por experiências de HETCOR e comparação com dados de literatura^{3,4}. A configuração β -axial do grupo hidroxílico ligado ao C-6 no composto **2b** foi atribuída com base na interação γ -gauche

observada entre este grupo e o hidrogênio axial ligado no C-8, quando comparado com o C-8 de **2a** ($\Delta\delta$ 6,0 ppm, Experimental). Este derivado hidroxílico da sitostenona foi anteriormente isolado de *Typha latifolia* (Thyphaceae)⁴.

O comprimento das cadeias alquílicas dos ferulatos presentes na mistura (**3a-3e**) foi estabelecido por GC/EM e a proporção 2:5:21:70:2 entre eles foi determinada com base nos valores dos picos: 502 [ferulato de dodecosila, C₃₂H₅₄O₄, (3)] **3a**; 530 [ferulato de tetracosila, C₃₄H₅₈O₄, (6)] **3b**; 558 [ferulato de hexacosila, C₃₆H₆₂O₄, (30)] **3c**; 586 [ferulato de octacosila, C₃₈H₆₆O₄, (100)] **3d**, e 614 [ferulato de triacontila, C₄₀H₇₀O₄, (2)] **3e**. O padrão de substituição do grupo fenil propanóico foi identificado facilmente por análise dos dados de RMN e comparação com valores de literatura⁵.

A fórmula molecular de **3f** (C₂₈H₄₆O₃) foi confirmada através de análises por EM, RMN de ¹H e de ¹³C (inclusive experimentos de DEPT). Análises detalhadas dos dados de RMN deste composto indicaram a presença de um anel aromático 1,4- dissubstituído devido aos dubletos característicos em δ 7,43 e δ 6,84 ($J=8$ Hz) observados no espectro RMN de ¹H, bem como pelos sinais de carbonos metínicos a δ 129,8 e δ 115,4 presentes nos espectros de RMN de ¹³C. Além disso, a presença de um grupo carboxílico de éster α,β -insaturado foi indicativo do cumarato na porção fenil propanoídica de **3f**. A presença desta carboxila conjugada pode ser confirmada pelos sinais de carbonos metílicos *sp*² e carbonílicos observados em δ 144,2, δ 115,8 e δ 167,5 no espectro de RMN de ¹³C. A constante de acoplamento ($J=17$ Hz) entre H-7 e H-8 observada no espectro de RMN de ¹H permitiu estabelecer configuração *E* para a ligação dupla. Finalmente, o tamanho da cadeia alquílica foi determinado pela análise do espectro de massas. Este é o primeiro relato sobre o isolamento deste tipo de cumarato em fontes naturais. Ferulatos contendo cadeias alquílicas com número ímpar de átomos de carbonos somente foram detectados por EM como misturas em *Pavetta owariensis*⁶, *Artemia campestris*⁷ e na epiderme de batatas em regeneração⁸. Foram relatados casos da presença de ésteres alquil ferúlicos de cadeia longa como parte da periderme de tubérculos atacados por agentes biológicos ou físicos⁸. Em espécies da família Anacardiaceae ainda não havia sido relatada a presença de ferulatos. É digno de nota que em *T. guianensis* estas substâncias não foram detectadas no cerne ou sementes² ocorrendo, portanto, somente nas cascas.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior (CAPES) e ao Conselho de Nacional Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa e apoio financeiro concedidos.

REFERÊNCIAS

1. Barros, G. S. G.; Matos, F. J. A.; Vieira, J. E. V.; Sousa, M. P.; Medeiros, M. C.; *J. Pharm. Pharmacol.* **1970**, *22*, 116.
2. David, J. M.; Chávez, J. P.; Chai, H.-B.; Pezzuto, J. M.; Cordell, G. A.; *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 287.
3. Matida, A. K.; Rossi, M.; Blumenthal, E. E. de A.; Schuquel, I. T. A.; Malheiros, A.; Vidotti, G. J.; *An. Assoc. Bras. Quím.* **1996**, *45*, 147.
4. Greca, M. D.; Monaco, P.; Previtera, L.; *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1430.
5. Kelley, C. J.; Harruff, R. C.; Carmack, M.; *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 449; Joshi, K. C.; Sharma, A. K.; Singh, P.; *Planta Med.* **1986**, *52*, 71.
6. Baldé, A. M.; Claeys, M.; Pieters, L. A.; Wray, V.; Vlietinck, A. J.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1024.
7. Vajs, V.; Jeremić, D.; Stefanović, M.; Milosavljević, S.; *Phytochemistry* **1975**, *14*, 1659.
8. Bernards, M. A.; Lewis, N. G.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 3409; Adamovics, J. A.; Johnson, G.; Stermitz, F. R.; *Phytochemistry* **1977**, *16*, 1089.