IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DO COMPOSTO INÉDITO EBF70H30A50M ISOLADO DAS FOLHAS DE *Xylopia laevigata*

Autores: Híllary Ozorio Gobeti Caprini, João Victor Andrade, Maria Eduarda Dan Macedo, Adriely Valerio de Macêdo, Gilvana de Oliveira Costa, Daniel Alves de Paula, Mario Ferreira Conceição dos Santos

Universidade Federal do Espírito Santo Alegre, ES, Brasil, hillarygcaprini214@gmail.com, joaovictorandrade927@gmail.com, mariaeduardadan2003@gmail.com, adrielymacedo13@gmail.com, oliveiragil999@gmail.com, danielalvesdepaula96@gmail.com, mariosantos408@gmail.com

Resumo
A investigação fitoquímica de espécies vegetais contribui para a identificação e caracterização de metabólitos secundários e para o conhecimento da diversidade química das plantas. *Xylopia laevigata* destaca-se pela ocorrência de diferentes classes de metabólitos, incluindo terpenoides. Assim, o presente trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar o constituinte presente na subfração EBF70H30A50M, obtida a partir das folhas de *Xylopia laevigata*. As folhas foram submetidas à extração etanólica, partição líquido-líquido e fracionamentos cromatográficos em coluna de sílica e fase reversa C18. A subfração EBF70H30A50M apresentou massa de 0,0660 g, aspecto de sólido branco cristalino e apenas um *spot* em análise por cromatografia em camada delgada. A caracterização por RMN de ^{1}H e ^{13}C evidenciou sinais correspondentes a 20 posições carbônicas, uma região insaturada, um carbono oxigenado e um carbono carbonílico compatível com função ácido carboxílico. Os resultados demonstram a eficiência do procedimento de isolamento e permitiram a caracterização estrutural preliminar do constituinte, contribuindo para o conhecimento da composição química das folhas de *X. laevigata*.
Palavras-chave: *Xylopia laevigata*. Terpenos. Investigação fitoquímica. Isolamento de compostos naturais.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra, Química.

Introdução

A investigação fitoquímica de espécies vegetais constitui uma estratégia importante para a identificação e caracterização de metabólitos secundários, contribuindo para o conhecimento da diversidade química presente nas plantas. Entre esses metabólitos, os terpenoides destacam-se como uma das classes mais amplamente distribuídas e estruturalmente diversificadas de produtos naturais, apresentando diferentes esqueletos carbônicos e padrões de funcionalização (Dewick, 2009; Tholl, 2015). Essa diversidade estrutural torna a investigação fitoquímica relevante para a caracterização dos constituintes presentes em diferentes espécies vegetais e para a ampliação do conhecimento sobre sua composição química.

Xylopia laevigata é uma espécie pertencente à família Annonaceae, conhecida popularmente como meiú e pindaíba. Estudos fitoquímicos anteriores demonstram que a espécie apresenta considerável diversidade química. Investigações realizadas com diferentes partes vegetais permitiram o isolamento de alcaloides, terpenoides e constituintes presentes em óleos essenciais, evidenciando o potencial de *X. laevigata* como fonte de metabólitos secundários estruturalmente diversificados (Menezes et al., 2016).

Em relação aos terpenoides, estudos realizados com o caule de X. laevigata resultaram no isolamento de diversos diterpenos do tipo ent-caurano, incluindo o ácido ent-caur-16-en-19-oico, o ácido 4-epi-caurênico, o ent-3β-hidroxicaur-16-en-19-oico e o ent-16β,17-dihidroxicauran-19-oico. Esses resultados demonstram a ocorrência de diterpenos contendo diferentes padrões de oxigenação e insaturação na espécie (Silva et al., 2012).

Ademais, a investigação fitoquímica das folhas de *X. laevigata* também revelou uma expressiva diversidade de diterpenos. Foram isolados compostos pertencentes a diferentes classes estruturais,

incluindo diterpenos dos tipos abietano, caurano e labdano, além do sesquiterpeno espatulenol. Esses achados reforçam a diversidade metabólica da espécie e demonstram que as folhas constituem uma fonte relevante para a investigação de substâncias terpênicas (Costa et al., 2020).

Nesse contexto, a continuidade dos estudos fitoquímicos de *X. laevigata* é relevante para ampliar o conhecimento sobre a composição química da espécie e possibilitar o isolamento e a caracterização de seus constituintes. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar, por meio de técnicas cromatográficas e espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H e ^{13}C, o constituinte presente na subfração EBF70H30A50M, obtida a partir das folhas de *Xylopia laevigata*.

Metodologia

A metodologia empregada para o estudo da fração EBF70H30A iniciou-se com a coleta e o processamento das folhas de *Xylopia laevigata*. O material vegetal foi seco em estufa de ar circulante, na ausência de luz, a 60 °C por 48 horas e, posteriormente, pulverizado. As folhas secas e moídas foram submetidas à extração a frio por maceração com etanol, com renovação do solvente a cada 72 horas. Após filtração e concentração do extrato, realizou-se partição líquido-líquido, em triplicata, utilizando hexano, acetato de etila e diclorometano, obtendo-se os respectivos extratos, posteriormente analisados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

Uma porção de 1,0 g da fração EBF foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna utilizando sílica gel com partículas de 0,063–0,200 mm, empregando hexano, acetato de etila e metanol em misturas de polaridade crescente. Entre as frações obtidas, a EBF70H30A apresentou elevada concentração de alcaloides, identificada por CCD após revelação com o reagente de Dragendorff.

Para o isolamento de seus constituintes, a fração EBF70H30A foi submetida a um segundo fracionamento cromatográfico em coluna contendo 10 g de sílica derivatizada com grupos octadecilsilano (C18), utilizando um gradiente de MeOH/H_2O como sistema de eluição. Foram obtidas cinco subfrações, entre elas a EBF50M, correspondente à fração obtida com 50% de H_2O e 50% de MeOH. A fração EBF50M, com massa de 0,0660 g, foi analisada por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), utilizando hexano:acetato de etila (1:1) como eluente. Foi observada a presença de apenas um *spot* após revelação com o reagente de Dragendorff e exposição à radiação ultravioleta a 254 nm.

Posteriormente, a fração foi submetida à caracterização estrutural por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C. Os espectros foram registrados em equipamentos Bruker Avance III-400 e Avance III-600, utilizando DMSO deuterado como solvente. A análise dos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento permitiu investigar as principais características estruturais do composto isolado.

Resultados

A primeira avaliação da fração EBF70H30A por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) evidenciou elevada concentração de alcaloides, indicada pela coloração alaranjada observada após a revelação com o reagente de Dragendorff. O posterior fracionamento cromatográfico em fase reversa, utilizando sílica derivatizada com grupos octadecilsilano (C18) e gradiente de MeOH/H_2O, resultou na obtenção de cinco subfrações: EBF30M, EBF50M, EBF75M, EBF85M e EBF100M.

A subfração EBF50M, correspondente à fração EBF70H30A50M, apresentou massa de 0,0660 g e aspecto de sólido branco com formação de cristais. A análise por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), utilizando hexano:acetato de etila (1:1) como sistema eluente, revelou a presença de apenas um *spot* após exposição à radiação ultravioleta a 254 nm e após revelação com o reagente de Dragendorff, indicando homogeneidade cromatográfica do material obtido.

A caracterização por RMN de ^{1}H e ^{13}C permitiu identificar características estruturais relevantes da substância isolada (Figura 1). No espectro de RMN de ^{13}C, foram observados sinais correspondentes a 20 posições carbônicas, destacando-se os sinais em δC 154,53 e 104,30 ppm, associados à presença de uma região insaturada, o sinal em δC 79,36 ppm, correspondente a um carbono oxigenado, e o sinal em δC 179,95 ppm, característico de carbono carbonílico (Figura 2).

Figura 1. Estrutura química do composto EBF70H30A50M.

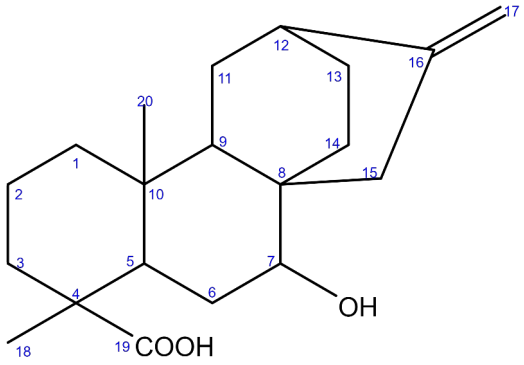
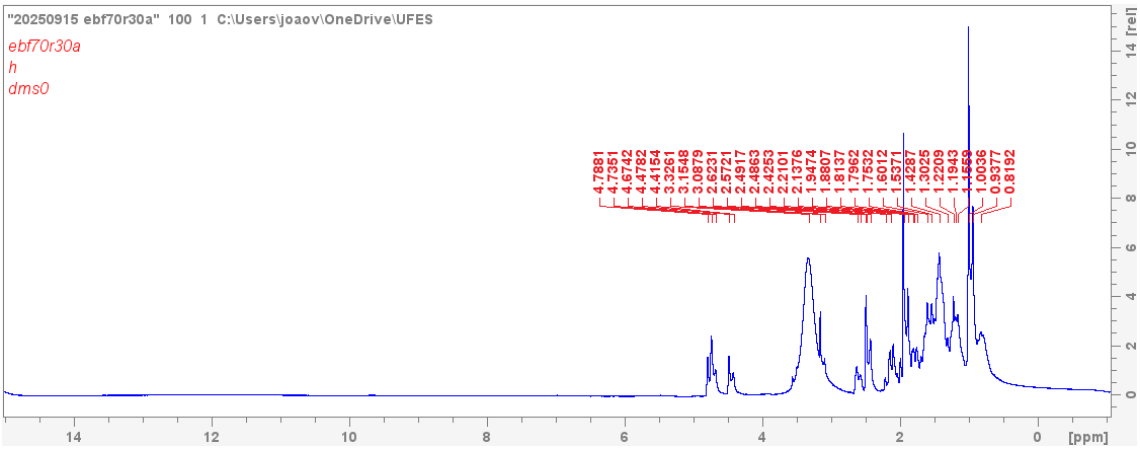


Figura 2. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6).



No espectro de RMN de ^{1}H, destacaram-se os sinais em δH 4,78 e 4,73 ppm, atribuídos aos hidrogênios de um grupo metilênico exocíclico, e o sinal em δH 3,15 ppm, associado a um hidrogênio ligado a um carbono oxigenado. Também foram observados sinais na região alifática, incluindo o sinal em δH 1,15 ppm, atribuído ao H-18.

Em conjunto, os dados cromatográficos e espectroscópicos permitiram a caracterização estrutural preliminar do constituinte isolado da fração EBF70H30A50M, evidenciando a presença de um esqueleto contendo 20 posições carbônicas, uma região insaturada, um grupo hidroxilado e uma função ácido carboxílico.

Discussão

A análise da fração EBF70H30A e da subfração EBF70H30A50M demonstra a importância da associação entre procedimentos cromatográficos e técnicas espectroscópicas na investigação dos constituintes químicos de *Xylopia laevigata*. Inicialmente, a resposta positiva ao reagente de Dragendorff permitiu selecionar a fração EBF70H30A para posterior fracionamento. Entretanto, a caracterização da substância isolada foi realizada posteriormente a partir dos dados cromatográficos e dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C.

A obtenção de apenas um spot na análise cromatográfica da subfração EBF70H30A50M indica que o procedimento de fracionamento foi eficiente para a obtenção de um material cromatograficamente homogêneo. Além disso, a obtenção da substância na forma de sólido branco com formação de cristais possibilitou sua análise espectroscópica e a investigação de suas características estruturais.

Os dados de RMN de ^{1}H e ^{13}C revelaram a presença de características estruturais relevantes para a identificação da substância. A observação de sinais em δC 154,53 e 104,30 ppm, associada aos sinais de hidrogênio em δH 4,78 e 4,73 ppm, indica a presença de uma região insaturada compatível

com um grupo metilênico exocíclico. A presença desses sinais constitui uma característica importante para a diferenciação estrutural do composto isolado.

Outro aspecto relevante foi a identificação do sinal em δC 179,95 ppm, correspondente a um carbono carbonílico. Esse deslocamento químico é compatível com a presença de uma função ácido carboxílico, constituindo uma das principais características estruturais observadas na substância.

A presença de um carbono oxigenado também foi evidenciada pelo sinal em δC 79,36 ppm, associado ao sinal de hidrogênio observado em δH 3,15 ppm. A multiplicidade apresentada por esse sinal, juntamente com seu deslocamento químico, contribui para a identificação de uma região estrutural contendo uma função hidroxilada.

A presença de 20 posições carbônicas, associada à região insaturada, ao carbono oxigenado e ao grupo ácido carboxílico, fornece informações importantes sobre a natureza química da substância isolada. Esses elementos estruturais constituem parâmetros relevantes para a comparação dos dados obtidos com metabólitos terpênicos previamente descritos para *Xylopia laevigata*, especialmente compostos contendo esqueleto carbônico de 20 átomos e diferentes padrões de oxigenação e insaturação.

Assim, o conjunto dos resultados demonstra que o procedimento de fracionamento adotado foi eficiente para o isolamento de um constituinte cromatograficamente homogêneo. A análise dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C permitiu identificar importantes características estruturais da substância EBF70H30A50M, contribuindo para sua caracterização e para o avanço da investigação fitoquímica das folhas de *X. laevigata*.

Conclusão

O procedimento de extração e fracionamento cromatográfico empregado permitiu a obtenção da subfração EBF70H30A50M como um material cromatograficamente homogêneo, apresentando massa de 0,0660 g e aspecto de sólido branco cristalino. A análise por RMN de ^{1}H e ^{13}C possibilitou a identificação de importantes características estruturais da substância isolada, incluindo um esqueleto contendo 20 posições carbônicas, uma região insaturada, um carbono oxigenado associado a uma função hidroxilada e um carbono carbonílico compatível com a presença de um grupo ácido carboxílico. Dessa forma, os resultados obtidos permitiram a caracterização estrutural preliminar do constituinte EBF70H30A50M e demonstram a eficiência das etapas cromatográficas empregadas no seu isolamento. O estudo contribui para a ampliação do conhecimento fitoquímico das folhas de *Xylopia laevigata* e fornece subsídios para a continuidade da investigação estrutural e da identificação definitiva da substância isolada.

Referências

Costa E. V. et al. Diversity of the diterpenes in the leaves of *Xylopia laevigata* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Química Nova**. v.43, n. 4, p. 419–25, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170504

DEWICK, Paul M.; DEWICK, Paul M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. Chichester: Wiley, 2009.

MENEZES, L. R., et al. (2016). Cytotoxic Alkaloids from the Stem of Xylopia laevigata. **Molecules** (Basel, Switzerland), v. 21, n. 7, p. 890 (2016). DOI: 10.3390/molecules21070890

SILVA, D. M. et al. Ent-kaurane diterpenoids and other constituents from the stem of Xylopia laevigata (Annonaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 8, p. 1570-1576, 2012. Disponível em: https://www.scielo.br/j/qn/a/kp4NVBgm9xQWGRXBtRBn4Hj/?lang=en. Acesso em: 22 jul. 2026.

THOLL, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 148, p. 63–106, 2015.