Estudo fitoquímico de folhas de *Xylopia laevigata:* Identificação estrutural do constituinte majoritário da fração EHF100MeOH

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

Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitario, S/N - Guararema, Alegre - ES, 29500-000 – Alegre, ES, Brasil, hillarygcaprini214@gmail.com, joao.andrade.75@edu.ufes.br, adrielymacedo13@gmail.com, danielalvesdepaula96@gmail.com, mariaeduardadan2003@gmail.com, mariosantos408@gmail.com.

Resumo

A busca por alternativas sustentáveis ao controle de fitopatógenos tem estimulado a investigação de produtos naturais de origem vegetal. Este trabalho teve por objetivo isolar e identificar estruturalmente um constituinte das folhas de *Xylopia laevigata* (Annonaceae). O material vegetal seco e moído foi submetido à maceração a frio em etanol e à partição líquido-líquido com hexano, acetato de etila e diclorometano. O extrato hexânico foi fracionado por cromatografia em coluna em fase normal e, em seguida, em fase reversa com sílica C18 sob gradiente MeOH/H_2O, obtendo-se a fração EHF100MeOH (0,0403 g), que apresentou mancha única em cromatografia em camada delgada analítica. A fração foi analisada por Ressonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^{1}H, ^{13}C e DEPT-135 em DMSO-d_6, identificando-se vinte e cinco sinais de carbono. Os sinais em δC 173,81 e δH 3,54/δC 51,61 evidenciaram carbonila de éster e grupo metoxila, enquanto δH 0,85 e δC 14,39 confirmaram a metila terminal de cadeia linear. Propõe-se que o constituinte majoritário corresponda a um éster metílico de ácido graxo saturado de cadeia longa e não ramificada.

Palavras-chave: *Xylopia laevigata*. Annonaceae. Ressonância magnética nuclear. Éster metílico de ácido graxo.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra - Química

Introdução

Para buscar reduzir os impactos ambientais causados por defensivos agrícolas, novas alternativas mais sustentáveis vêm sendo desenvolvidas a partir de extrato bruto ou óleo essencial, feitos a partir de plantas e fungos adquiridos da flora e fauna brasileira (Barbosa *et al.*, 2020). Em diversos estudos, é possível observar que estas alternativas provenientes da biodiversidade, vem ganhando espaço, por causa de extratos, frações e compostos isolados que possuem ação fungitóxica (Barbosa *et al.*, 2020). Vários fitopatógenos, como os do gênero Colletotrichum, associado as culturas são resistentes a fungicidas (Ribeiro *et al*., 2016). Assim, a busca por métodos alternativos de controle de doenças tem sido uma constante, e os produtos naturais são uma alternativa na busca por antifúngicos mais eficientes.

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* afetam o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem como principal sintoma, aquilo que é denominado flor-preta, atingindo tanto as flores, como também frutos e as folhas (Ribeiro *et al*., 2016). A antracnose, é uma doença complexa, pois além de atingir os frutos, pode atingir também a parte central das plantas, que acabam morrendo devido a destruição do meristema apical (Rava; Purchio; Sartorato, 1994).

A espécie vegetal escolhida para esta pesquisa, a *Xylopia laevigata,* apresenta uma grande diversidade metabólica. Estas espécies são utilizadas como fitoterápicos (Menezes *et al.*, 2016), pois possuem diversas propriedades biológicas, já de conhecimento popular, podendo assim se tornar uma possível alternativa para o controle biológico de pragas e doenças em diversas culturas agrícolas (Costa *et al*, 2013).

Esse trabalho teve por objetivo isolar e caracterizar diterpenos e outros metabólitos secundários de *Xylopia laevigata*, visando avaliar o potencial antifúngico contra a antracnose do feijoeiro (*C. lindemuthianum*), e identificar estruturalmente os compostos isolados por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas avançadas (Ressonância Magnética Nuclear (RMN),

Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE-EM), entre outras).

Metodologia

Para o presente trabalho, foram realizadas as coletas da espécie vegetal *Xylopia laevigata*, no municipio de Bom Jesus do Norte, na usina de Mangaravite. A identificação da espécie vegetal utilizada foi feita por botânicos da Universidade Federal do Espirito Santo (UFES), e seguindo a metodologia de confronto de exsicatas, depositado no Herbário CAP da UFES – Campus Alegre. As folhas foram separadas do caule e secas em estufa de ar circulante, ao abrigo da luz, à temperatura de 60 °C, por 48 horas, sendo posteriormente pulverizadas em moinho de facas.

O material vegetal seco e moído (1500 g) foi submetido à extração a frio por maceração em etanol, com renovação do solvente em intervalos de 72 horas, empregando-se um volume total de 2 L. Após filtração, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à temperatura de 45 °C, até o volume de 500 mL, ao qual foram adicionados 50 mL de água destilada. O concentrado hidroalcoólico foi então submetido à partição líquido-líquido, em triplicata, sucessivamente com hexano, acetato de etila e diclorometano. As fases orgânicas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo, solubilizadas em metanol e secas em capela de ar circulante, resultando em quatro extratos: bruto, hexânico, acetato de etila e diclorometano. Os extratos foram monitorados por CCD, com revelação sob radiação ultravioleta em 254 nm e 366 nm.

Os fracionamentos cromatográficos foram conduzidos em coluna de vidro aberta. Para as separações em fase normal empregou-se sílica gel 60 com partículas de 0,063–0,200 mm (70–230 mesh ASTM), da Macherey-Nagel, ao passo que as separações em fase reversa foram realizadas em sílica gel derivatizada com grupos octadecilsilano (C18).

Entre as frações obtidas, aquela eluída com a mistura hexano:acetato de etila na proporção 60:40 (EHF60Hex40EtOAc, aqui abreviada EHF60H40A) apresentou resposta positiva frente aos reagentes de Dragendorff e de vanilina sulfúrica, além de perfil cromatográfico com número reduzido de bandas, razão pela qual foi selecionada para o refracionamento subsequente.

A fração EHF60H40A foi submetida a uma segunda etapa cromatográfica, desta vez em modo de fase reversa, utilizando-se 10 g de sílica gel derivatizada com grupos octadecilsilano (C18) como fase estacionária. A eluição foi realizada mediante gradiente descontínuo do sistema MeOH/H_2O, com volume fixo de 100 mL para cada proporção empregada, partindo-se da condição de maior conteúdo aquoso em direção ao metanol puro. A inversão da polaridade da fase estacionária em relação à etapa anterior justifica-se pela necessidade de resolver constituintes de polaridade semelhante não separados em sílica não derivatizada, uma vez que, em fase reversa, a retenção passa a ser governada predominantemente por interações hidrofóbicas. Ao final da separação foram obtidas quatro frações, denominadas conforme a composição do eluente que as originou: EHF50MeOH (50% H_2O/50% MeOH), EHF80MeOH (20% H_2O/80% MeOH), EHF90MeOH (10% H_2O/90% MeOH) e EHF100MeOH (100% MeOH).

A fração EHF100MeOH, obtida com massa de 0,0403 g, foi avaliada quanto à sua homogeneidade por cromatografia em camada delgada analítica, empregando-se como sistema eluente a mistura acetato de etila:hexano (7:3) acrescida de duas gotas de ácido acético, adicionadas com a finalidade de acidificar o meio e suprimir o arraste característico de substâncias de caráter básico sobre a sílica. Nessas condições, observou-se a presença de uma única mancha, tanto sob irradiação ultravioleta em 254 nm quanto após revelação com o reagente de Dragendorff, indicando grau de pureza compatível com a análise espectroscópica. A fração foi, então, encaminhada às análises de RMN de ^1H, ^{13}C e DEPT-135, visando à elucidação estrutural de seu constituinte majoritário.

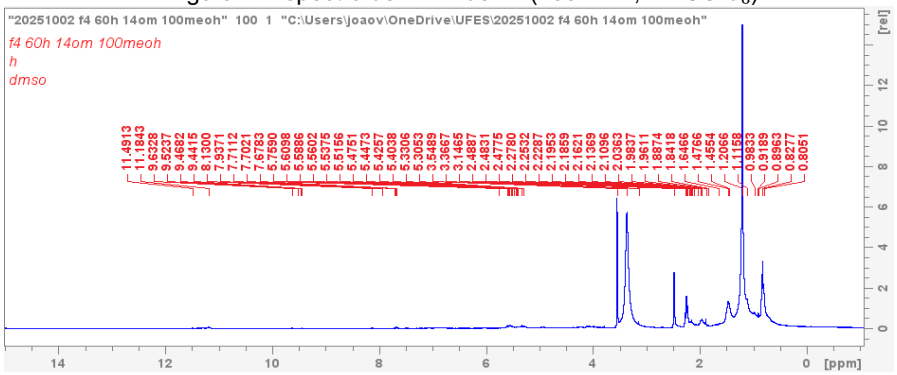
Os espectros de ressonância magnética nuclear unidimensionais foram registrados em espectrômetro Bruker Avance III-400, operando a 9,4 T (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C), pertencente ao Instituto de Química da Universidade Federal de Alfenas (IQ/UNIFAL-MG), sob coordenação da Profª Drª Marisi Gomes Soares. Foram adquiridos os experimentos de RMN de ^1H, de ^{13}C e DEPT-135. As amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6). Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (δ) e as multiplicidades dos sinais indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (dupleto), dd (duplo dupleto), t (tripleto), m (multipleto) e sl (sinal largo). As constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hertz (Hz).

Resultados

A fração EHF100MeOH (0,0403 g) foi obtida como sólido de aspecto homogêneo, tendo apresentado mancha única em CCDA sob irradiação ultravioleta em 254 nm e após revelação com reagente de Dragendorff. A amostra foi analisada por RMN de ^{1}H, ^{13}C e DEPT-135 em DMSO-d_6.

O espectro de RMN de ^{1}H (Figura 1) apresentou a maior parte de seus sinais concentrada na região entre δ_H 0,85 e 2,27. Observou-se um singleto em δ_H 3,54, integrando para três hidrogênios, e um tripleto em δ_H 2,27, atribuído a H-3. Entre δ_H 1,11 e 1,50 registrou-se um conjunto de sinais sobrepostos, de difícil resolução individual, correspondente a múltiplos hidrogênios metilênicos. Na região blindada do espectro observou-se um tripleto em δ_H 0,85, referente a H-25. Foram ainda detectados sinais de baixa intensidade em δ_H 5,75 e δ_H 5,40.

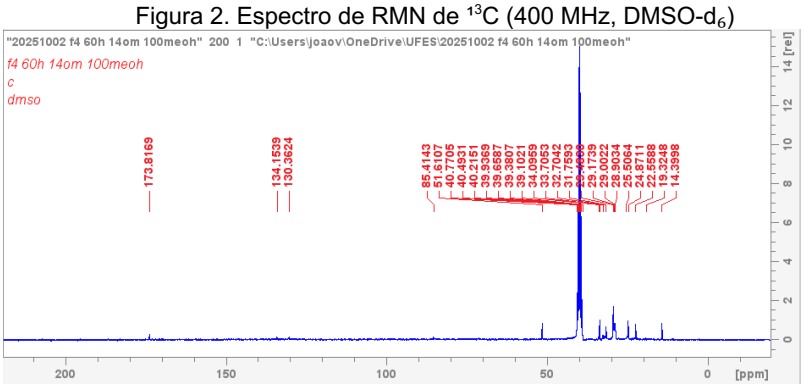
Figura 1. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6).



Fonte: Do próprio autor (2026)

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2), permitiu a identificação de vinte e cinco sinais de carbono. Registrou-se um sinal em δ_C 173,81 (C-1). O sinal em δ_C 51,61 (C-2) apresentou-se intenso e isolado dos demais. Entre δ_C 28,90 e 29,46 concentrou-se um conjunto de sinais sobrepostos, igualmente em fase negativa. Na região blindada foram observados os sinais em δ_C 31,75 (C-23), δ_C 22,55 (C-24), ambos em fase negativa, e δ_C 14,39 (C-25), em fase positiva. Registraram-se, ainda, sinais em δ_C 134,15 e δ_C 130,36.

Figura 2. Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO-d_6)



Fonte: Do próprio autor (2026)

Os dados de deslocamento químico de ^{1}H e ^{13}C encontram-se reunidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados de deslocamentos químicos de RMN de 1H (400 MHz) e 13C (100 MHz)

Posição	δ_C (ppm)	δ_H (ppm), mult, J (Hz)
1	173,81	---

2	51,61	3,54 (s)
3	33,70	2,27 (t)
4	24,87	1,50 (m)
5	29,46	1,20 (sl)
6	29,17	1,11 (sl)
19	29,00	
20	28,90	
23	31,75	1,22 (m)
24	22,55	1,20 (m)
25	14,39	0,85 (t)

Fonte: Do próprio autor (2026)

Discussão

O perfil geral do espectro de RMN de ^1H, com a maior parte dos sinais concentrada na região blindada, é característico de compostos de natureza alifática e cadeia longa. O sinal de hidrogênio em δ_H 3,54 ppm (s, H-2) é característico de um singleto e indica a presença de uma metoxila ($–OCH_3$) ligada diretamente a uma carbonila de éster, pois não há hidrogênios vizinhos ao oxigênio. Trata-se de um sinal fortemente desblindado, por estar ligado diretamente a um elemento eletronegativo.

O sinal em δ_H 2,27 ppm (H-3) é característico de um tripleto, o que confirma que ele está acoplado a dois hidrogênios no carbono β (H-4). O efeito retirador de elétrons da carbonila (C=O) desprotege esses núcleos, uma vez que o oxigênio, elemento muito mais eletronegativo que o carbono, retira densidade eletrônica através das ligações sigma. Esse efeito se propaga pela cadeia e atinge os hidrogênios do carbono α, mas atenua-se rapidamente, o que explica a sobreposição observada entre δ_H 1,11 e 1,50 ppm, região em que os metilenos internos encontram-se em ambientes químicos praticamente equivalentes.

O deslocamento químico em δ_H 0,85 ppm (H-25) é característico de uma metila terminal, ou seja, dos prótons da extremidade CH_3 da cadeia alquílica, e sua multiplicidade de tripleto confirma que a cadeia é linear e termina em $CH_3–CH_2$. Os sinais de hidrogênio em δ_H 5,75 ppm e δ_H 5,40 ppm indicam a presença de hidrogênios olefínicos, ligados a carbonos sp^2 da ligação dupla, desblindados devido ao efeito de anisotropia magnética.

O sinal em δ_C 173,81 ppm (C-1) indica a presença de uma carbonila de éster. No DEPT-135 esse sinal não aparece, pois não está ligado a nenhum hidrogênio diretamente, o que confirma sua natureza. Os sinais de carbono em δ_C 134,15 ppm e δ_C 130,36 ppm indicam a presença de carbonos olefínicos (C=O).

O sinal em δ_C 51,61 ppm (C-2) é intenso e isolado, confirmado como um grupo metila ($–CH_3$), indicando o carbono da metoxila de um éster metílico, desblindado pelo efeito retirador do oxigênio. O valor corresponde ao relatado para o carbono metoxílico de ésteres metílicos, em 51,49 ppm.

O sinal em δ_C 33,70 ppm (C-3) indica a presença de um carbono α, caracterizado no DEPT-135 como CH_2 (sinal em fase negativa). Por ter proximidade com a carbonila, é o mais desblindado da parte saturada da molécula. O sinal em δ_C 24,87 ppm (C-4) indica a presença de um CH_2 na posição β. Os sinais entre δ_C 28,90 e 29,46 ppm correspondem aos metilenos internos.

O conjunto dos dados permite propor que o constituinte majoritário da fração EHF100MeOH corresponde a um éster metílico de ácido graxo saturado de cadeia longa e não ramificada, acompanhado de pequena proporção de material insaturado. Essa proposta é coerente com o comportamento cromatográfico observado, uma vez que um éster graxo de cadeia longa é altamente

hidrofóbico e, em fase reversa C18, deve ser retido até a condição de metanol puro, exatamente onde a fração foi eluída.

Conclusão

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das folhas de Xylopia laevigata, conduzido em fase normal e posteriormente em fase reversa sob gradiente MeOH/H_2O, permitiu a obtenção da fração EHF100MeOH em grau de pureza compatível com a análise espectroscópica, conforme atestado pela presença de mancha única em cromatografia em camada delgada analítica.

A análise conjunta dos espectros de RMN de ^1H, ^{13}C e DEPT-135 possibilitou identificar as principais funções presentes na molécula. A carbonila de éster, em δC 173,81 ppm e ausente no DEPT-135, e a metoxila, evidenciada pelo singleto em δH 3,54 ppm e pelo sinal em δC 51,61 ppm, caracterizam a função éster metílico. A multiplicidade tripleto do sinal em δH 0,85 ppm, correlacionada ao carbono mais blindado do espectro, em δC 14,39 ppm, confirma a existência de metila terminal e o caráter linear e não ramificado da cadeia, ao passo que o agrupamento de sinais entre δC 28,90 e 29,46 ppm corresponde ao envelope característico de metilenos internos de cadeias graxas.

Conclui-se, portanto, que o constituinte majoritário da fração EHF100MeOH corresponde a um éster metílico de ácido graxo saturado de cadeia longa e não ramificada, acompanhado de pequena proporção de material insaturado, evidenciada pelos sinais olefínicos minoritários em δH 5,40–5,75 e δC 130,36–134,15 ppm. A proposta mostra-se coerente com o comportamento cromatográfico observado, uma vez que compostos dessa natureza, por serem altamente hidrofóbicos, são retidos em fase reversa C18 até a condição de metanol puro.

Referências

BARBOSA, D. R. S. *et al.* Efficacy of bioactive compounds and their association with different cowpea cultivars against their major stored pest. **Pest Management Science**, v. 76, n. 11, p. 3770-3779, 2020.

COSTA, E.V.; *et al.* (a) Biological activities of the essential oil from the leaves of *Xylopia laevigata* (Annonaceae). **The Journal of Essential Oil Research,** v. 25, n.3, p.179-85, 2013.

MENEZES, L. R.; *et al*. Cytotoxic Alkaloids from the Stem of *Xylopia laevigata.* **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 890, 2016.

RAVA, CA; PURCHIO, AF; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de Colletotrichum lindemuthianum que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. pág. , v. 167, pág. 172, 1994.

RIBEIRO, Tamires; *et al.* Classification of Colletotrichum lindemuthianum races in differential cultivars of common bean. Acta Scientiarum. Agronomy, [S. l.], v. 38, n. 2, p. 179–184, 2016. DOI: 10.4025/actasciagron.v38i2.27866. Disponível em: https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/27866. Acesso em: 30 set. 2026.