

Tilirosídeo em *Croton gnaphalii* BAILL

Lencina, C.1; Pires, V.S.1; Gosmann, G.1; Taketa, A.T.C.2; Schenkel, E.P.3*

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul;
Bonn Universität, Bonn, Germany;

³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina.

RESUMO: O gênero *Croton* possui seiscentas espécies e é originário de regiões tropicais. *Croton gnaphalii* é conhecida no sul do Brasil como infalivina, sendo utilizada popularmente nos distúrbios hepáticos. A substância majoritária presente nas partes aéreas desta planta foi isolada e identificada através de métodos espectroscópicos, sendo identificada como um glicosídeo acilado, o canferol-3-O-(6"-O-*p*-cumaroil)-β-D-glicopiranosose, também chamado de tilirosídeo.

Unitermos: *Croton gnaphalii*; Euphorbiaceae; tilirosídeo; acilglicosídeo; flavonol.

ABSTRACT: *Croton* genus comprises six hundred species being native in tropical forests. *Croton gnaphalii* is popularly known as "infalivina" in South of Brazil and it is traditionally used for hepatic disorders. The major compound from aerial parts of this plant was isolated and its structure elucidated through spectroscopic analysis. It was identified as an acylglycoside, kaempferol-3-O-(6"-O-*p*-coumaroyl)-β-D-glucopyranoside, known as tiliroside.

Key words: *Croton gnaphalii*; Euphorbiaceae; tiliroside; acylglycoside; flavonol.

INTRODUÇÃO

Croton gnaphalii BAILL pertence à família Euphorbiaceae, sendo uma, dentre, aproximadamente, seiscentas espécies existentes. O nome dado a esse gênero deriva da palavra grega *croton*, que significa carrapato, devido a semelhança de suas sementes com este animal. O gênero ocorre em todas as regiões tropicais do mundo (SMITH et al., 1988). Essa espécie apresenta-se como uma erva, sendo popularmente conhecida no sul do Brasil como infalivina, possuindo uma ampla utilização na medicina popular para distúrbios hepato-biliares. Não foram encontrados relatos de estudos fitoquímicos e/ou farmacológicos para este vegetal.

Este trabalho relata o isolamento e a elucidação estrutural da substância majoritária presente no extrato etanólico obtido a partir das partes aéreas de *Croton gnaphalii*. Este composto foi identificado como sendo o flavonóide tilirosídeo, isolado previamente de *Tilia argentea* (CHARI et al., 1978), sendo, no entanto, uma substância inédita para o gênero.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

As partes aéreas de *Croton gnaphalii* BAILL foram coletadas no município de Porto Alegre, em maio de 2000, e identificadas por Marcos Sobral. O material testemunho encontra-se depositado no herbário do Instituto de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o registro ICN 121171.

Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram: aparelho de ponto de fusão do tipo Kofler, polarímetro Perkin-Elmer 341, espectrofotômetro de ultravioleta Shimadzu UV2201, espectrômetro de massas VG ZAB HS e espectrômetro Bruker AMX 500 para obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de hidrogênio e de carbono em CD₃OD, incluindo técnicas de correlação ¹H-¹H-COSY e HMQC.

Preparação dos extratos

O extrato bruto de *Croton gnaphalii* foi obtido das partes aéreas secas e moídas (50 g), através de maceração etanólica. A planta ficou em contato com o solvente por 10 dias e, após filtração, o material vegetal moído voltou a ser macerado em etanol durante 10 dias. Com a reunião dos extratos obtidos e, após evaporação do solvente em evaporador rotatório, foi obtido um resíduo bruto com 4,9 g.

Análise cromatográfica

A cromatografia em coluna foi realizada utilizando gel de sílica. As cromatografias analíticas das frações da coluna foram realizadas em placas de gel de sílica GF₂₅₄, utilizando como eluente acetato de etila:metanol (9:1, v/v). As substâncias obtidas após a hidrólise ácida foram cromatografadas em placas de gel de sílica GF₂₅₄, utilizando como eluente tolueno:acetona:clorofórmio (40:35:25, v/v). Os compostos foram visualizados sob luz ultravioleta 254 nm, 365 nm e 365 nm/NH₄OH e, em seguida, a placa cromatográfica foi borrifada com revelador anisalaldeído sulfúrico; a coloração obtida, após aquecimento, foi observada sob luz visível e ultravioleta 365 nm.

Isolamento da substância CGI – O extrato bruto (4,9 g) foi cromatografado em coluna de gel de sílica, utilizando como eluente acetato de etila:etanol, em proporções crescentes. As primeiras frações coletadas desta coluna cromatográfica foram reunidas e, ao serem deixadas evaporar lentamente, foi possível obter cristais amarelos que foram filtrados e codificados como CGI (50 mg).

CGI, canferol-3-O-(6''-O-*p*-cumaroil)-β-D-glicopiranosose: sólido amarelo, PF 264-266°C; [α]_D^{-59,7°} (c 0,71, 20°C, CH₃OH). FAB-MS (modo positivo) *m/z* 617 [M + Na]⁺. UV (metanol), λ_{max}: 315, 267, 207. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) *d*: 3,30 (1H, *m*, H-4''); 3,48 (3H, *m*, H-2'', H-3'', H-5''); 4,32 (2H, *m*, H-6''); 5,23 (1H, *d*, *J* 7,5 Hz, H-1''); 6,07 (1H, *d*, *J* 16 Hz, H-8''); 6,15 (1H, *s*, H-6); 6,30 (1H, *s*, H-8), 6,79 (2H, *d*, *J* 8,5 Hz, H-3', H-5'); 6,81 (2H, *d*, *J* 8,5 Hz, H-3''', H-5'''); 7,31 (2H, *d*, *J* 8,5 Hz, H-2', H-6'); 7,42 (1H, *d*, *J* 16 Hz, H-7'''); 8,0 (2H, *d*, *J* 8,5 Hz, H-2''', H-6''').

Hidrólise ácida

Cerca de 5 mg da substância CGI foram dissolvidos em solução aquosa de HCl a 2% e submetidos a refluxo por 2 h. A solução ácida foi levada a secar em evaporador rotatório, originando um resíduo que foi retomado em metanol e analisado por cromatografia em camada delgada, utilizando canferol, quercetina e miricitina (procedência Roth) como substâncias de referência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico, obtido por maceração das partes aéreas de *Croton gnaphalii*, foi cromatografado em coluna de gel de sílica, usando acetato de etila e etanol em proporções crescentes. As frações eluídas com acetato de etila forneceram cristais, que foram filtrados e, após secagem, resultaram em um pó amarelo denominado CGI. Na análise cromatográfica, essa substância foi visualizada no UV₂₅₄ como uma extinção de fluorescência e no UV₃₆₅ como uma mancha de fluorescência azul fraco que não se modificou com vapores de amônia. No espectro de ultravioleta, os máximos de absorção foram em λ_{\max} 315, 267, 207, característicos para acilglicosídeos derivados de flavonol (HIGUCHI e DONNELLY, 1978; MARKHAM, 1989). Uma amostra da substância CGI foi submetida à hidrólise ácida sendo que, após, foi realizada uma cromatografia com os compostos resultantes desta hidrólise. Foi possível confirmar que a aglicona de CGI é o canferol através de comparação cromatográfica com substância de referência. Este fato foi importante na elucidação estrutural da substância. O valor obtido no espectro de massas através de FAB-MS, m/z 617 $[M + Na]^+$, indicou uma massa molecular de 594. Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C indicaram a presença de sinais relativos a um flavonol 5,7,4'-tri-hidroxilado com um açúcar ligado ao carbono 3, correspondentes ao canferol-3-O-glicosídeo. A presença de β -glicose foi confirmada pelas absorções δ_H 5,23 (1H, *d*, *J* 7,5 Hz, H-1'') e δ_C 102,9 do carbono anomérico. Foi possível ainda evidenciar a presença de um resíduo do ácido *p*-cumárico através dos sinais característicos da dupla ligação em *trans* δ 6,07 (1H, *d*, *J* 16 Hz, H-8''') e δ 7,42 (1H, *d*, *J* 16 Hz, H-7''') e dos prótons aromáticos. A ligação do ácido *p*-cumárico à glicose, *via* uma função éster no carbono 6, foi confirmada através das absorções do açúcar, especialmente do carbono 5 (δ 74,8) e 6 (δ 63,3), que encontram-se, respectivamente, 3 ppm em campo mais alto e 2 ppm em campo mais baixo em relação à glicose (Tabela 1).

Tabela 1. Dados espectrais de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) das substâncias CGI e tilirosídeo (DMSO-d_6 , 22,63 MHz).

| Carbono | Tilirosídeo* | CGI |
|---------|--------------------|--------------------|
| 2 | 156,3 ^a | 157,4 ^a |
| 3 | 133,1 | 134,2 |
| 4 | 177,4 | 178,4 |
| 5 | 161,1 | 162,0 |
| 6 | 98,7 | 98,9 |
| 7 | 164,1 | 164,9 |
| 8 | 93,2 | 93,8 |
| 9 | 156,4 ^a | 158,3 ^a |
| 10 | 103,9 | 104,6 |
| 1' | 120,0 | 121,7 |
| 2' | 130,0 | 130,2 |
| 3' | 115,7 | 115,7 |
| 4' | 159,9 | 160,5 |
| 5' | 115,7 | 115,7 |
| 6' | 130,0 | 130,2 |
| 1'' | 101,1 | 102,9 |
| 2'' | 74,2 | 74,7 |
| 3'' | 76,3 | 77,0 |
| 4'' | 70,0 | 70,7 |
| 5'' | 74,2 | 74,7 |
| 6'' | 63,0 | 63,3 |
| 1''' | 124,9 | 126,0 |
| 2''' | 130,7 | 131,2 |
| 3''' | 115,0 | 115,0 |
| 4''' | 159,7 | 160,2 |
| 5''' | 115,0 | 115,0 |
| 6''' | 130,7 | 131,2 |
| 7''' | 144,5 | 145,5 |
| 8''' | 113,7 | 113,7 |
| 9''' | 166,0 | 167,8 |

*conforme CHARI et al., 1978; (a) as absorções podem ser intercambiáveis.

Através da análise dos dados obtidos, incluindo as correlações de ^1H - ^1H -COSY e HMQC, foi possível identificar CGI como o tilirosídeo (Figura 1). O ponto de fusão encontrado estava entre 264 e 266°C, e o valor obtido para rotação óptica foi $-59,72^\circ$. Essas informações correspondem aos dados de literatura descritos para essa substância (CHARI et al., 1978; BAJAJ et al., 1986; LEITÃO et al., 2000). O tilirosídeo encontrado em *Croton gnaphalii* foi identificado anteriormente em outras famílias de plantas, tendo sido testado em células tumorais, nas quais provocou inibição de crescimento (BAJAJ et al., 1986).

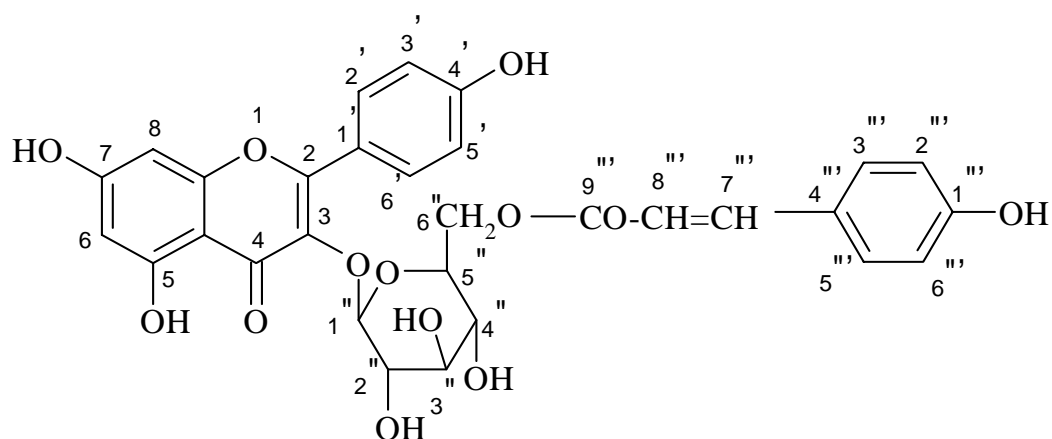


Figura 1. Estrutura química do tilirosídeo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Marcos Sobral pela coleta e identificação do material vegetal, e ao CNPq e à CAPES pelas bolsas de pesquisa dos autores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAJAJ, R.; CHANG, C.J.; MACLAUGHLIN, J.L.; POWELL, R.G.; SMITH JR, C.R. Tiliroside from the seeds of *Eremocarpus setigerus*. *Journal of Natural Products*, v. 49, p. 1174, 1986.
- CHARI, V.M.; JORDAN, M.; WAGNER, H. Structure elucidation and synthesis of naturally occurring acylglycosides. *Planta Medica*, v. 34, p. 93-96, 1978.
- HIGUCHI, R.; DONNELLY, D.M.X. Acylated flavonol glucosides of *Pinus contorta* needles. *Phytochemistry*, v. 17, p. 787-791, 1978.
- LEITÃO, G.G.; SOARES, S.S.V., BRITO, T.B.M.; MONACHE, F.D. Kaempferol glycosides from *Siparuna apiosyce*. *Phytochemistry*, v. 55, n.6, p. 679-682, 2000.
- MARKHAM, K.R. Flavones, flavonols and their glycosides. In: DEY, P.M.; HARBONE, J.B. (Eds.) *Methods in Plant Biochemistry*. San Diego: Academic, 1989. v. 1.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J.; KLEIN, R.M. As Plantas Euforbiáceas. In: REITZ, P.R. (Ed.) *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí: EMPASC, 1988.

*Autor para correspondência:

Prof. Dr. Eloir Paulo Schenkel
 Departamento de Ciências Farmacêuticas
 Centro de Ciências da Saúde,
 Universidade Federal de Santa Catarina
 Campus Universitário Trindade
 88040-900 - Florianópolis – SC
 E-mail: schenkel@ccs.ufsc.br