

## FENILPROPANÓIDES E OUTROS CONSTITUINTES BIOATIVOS DE *Nectandra megapotamica*

Fernanda R. Garcez\*, Walmir S. Garcez, Lidilhone Hamerski e Carlos Henrique Miguita

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Muller 1555, 79074-900 Campo Grande - MS, Brasil.

Recebido em 19/5/08; aceito em 6/10/08; publicado na web em 2/2/09

PHENYLPROPANOIDS AND OTHER BIOACTIVE CONSTITUENTS FROM *NECTANDRA MEGAPOTAMICA*. From the trunk bark of *Nectandra megapotamica* (Lauraceae) four phenylpropanoids, elemicin, isoelemicin, ( $\pm$ )-*erythro*-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,2-propanediol and ( $\pm$ )-*threo*-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,2-propanediol have been isolated, in addition to 3,4,5-trimethoxybenzoic acid, (-)-epicatechin and *trans*-1(10)-epoxy-4(15)-caryophyllene. The diastereoisomeric *erythro*- and *threo*- phenylpropanoids are being reported for the first time in a plant taxon as well as the occurrence of the other compounds in *Nectandra*. The structures of the isolated compounds have been established on the basis of 1D and 2D NMR spectroscopic techniques. Their *in vitro* antifungal activities against standard strains of *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* and *Cryptococcus neoformans* and antioxidant properties were also evaluated in this work.

Keywords: *Nectandra megapotamica*; Lauraceae; phenylpropanoids.

### INTRODUÇÃO

A família Lauraceae engloba cerca de 52 gêneros e 3 mil espécies dispersos predominantemente nas regiões tropical e subtropical do planeta, especialmente nas matas centro- e sul-americanas, sendo excepcionalmente encontradas em zonas temperadas. No Brasil, é representada por 22 gêneros, compreendendo espécies em geral arbóreas.<sup>1</sup> *Nectandra* é um dos principais gêneros de Lauraceae no Novo Mundo, com 114 espécies distribuídas em todos os biomas da América tropical e subtropical, sendo encontrados no Brasil 43 representantes.<sup>2</sup> Em Mato Grosso do Sul foram relatadas 8 espécies de *Nectandra* (*N. amazonum*, *N. cissiflora*, *N. cuspidata*, *N. falcifolia*, *N. gardneri*, *N. hihua*, *N. megapotamica* e *N. psammophila*).<sup>3</sup>

*Nectandra megapotamica*, conhecida popularmente por “canela-preta”, ocorre desde o sul de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul e também na região Centro-Oeste, sendo que em Mato Grosso do Sul é encontrada nas regiões central e sul do estado.<sup>3,4</sup> A literatura relata 5 trabalhos realizados com espécimes desta planta coletados no estado de São Paulo, 3 dos quais relacionados a atividades biológicas de alguns de seus constituintes químicos. Das cascas do caule foram obtidos dois alcalóides (N-metiltryptamina e 6-metóxi-N-metil-1,2,4-tetraidro- $\beta$ -carbolina) inibidores do crescimento *in vitro* de *Crithidia fasciculata* e *Trypanosoma cruzi*.<sup>5</sup> Outro estudo realizado com as cascas do caule forneceu um fenilpropanóide ( $\alpha$ -asarona) que apresentou atividade analgésica, além das neolignananas tetraidrofurânicas galgravinina e veraguensina com atividade antiinflamatória em ratos e camundongos, enquanto que das folhas foram obtidas onze neolignananas tetraidrofurânicas, três das quais com atividade tripanocida *in vitro*.<sup>6</sup>

A investigação da composição química de lauráceas que ocorrem no Cerrado e Pantanal de Mato Grosso do Sul, incluindo as do gênero *Nectandra*, tem sido motivo de estudos desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa.<sup>7</sup> Nas coletas de plantas realizadas, constatamos a presença de *Nectandra megapotamica* em diferentes locais das regiões central e sul do estado, porém sempre em matas ciliares. Considerando a possibilidade destas plantas se constituírem numa população

genotipicamente distinta das anteriormente estudadas, decidimos investigar a composição química das cascas do caule de um exemplar de *N. megapotamica* ocorrente em Mato Grosso do Sul.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Instrumentação e procedimentos gerais

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) e <sup>13</sup>C (75 MHz) 1D e 2D foram obtidos em espectrômetro Bruker DPX-300, empregando-se seqüências de pulso tradicionais para os experimentos de correlação homo- e heteronucleares. As rotações ópticas foram determinadas em polarímetro Perkin Elmer 341. As separações cromatográficas em coluna foram realizadas utilizando-se gel de sílica 70-230 e 230-400 mesh (Merck) e Sephadex LH-20, partículas de 25-100  $\mu$ m (Sigma). As separações por CLAE semipreparativa foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu LC-6AD, empregando-se coluna de fase reversa C-18 Phenomenex Luna 21,2 x 250 mm, partícula 5  $\mu$ m, com fluxo de 10 mL min<sup>-1</sup> a 254 nm.  $\beta$ -Caroteno, ácido linoléico, 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), *tween* 40 e anfotericina B foram adquiridos da Sigma e di-terc-butil metil fenol (BHT), da Viafarma. Os solventes empregados foram das marcas Tedia, Vetec e Synth e os meios de cultura da marca CultiLab.

#### Material vegetal

As cascas do caule de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez foram coletadas no município de Campo Grande, MS, em agosto de 2005. A identificação botânica foi realizada pelo MSc. Flávio M. Alves (Departamento de Biologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS) e uma exsiccata (n° 15433) encontra-se depositada no Herbário CGMS da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

#### Ensaio de atividade antioxidante

##### Ensaio com DPPH

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando-se o

\*e-mail: fgarcez@nin.ufms.br

radical estável 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) pelo método da microdiluição com algumas modificações.<sup>8</sup> A solução de DPPH foi preparada em etanol numa concentração de 200 µM. As substâncias puras, incluindo uma amostra autêntica de ácido gálico obtido em nosso laboratório, foram preparadas em etanol nas concentrações de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 µM. Primeiramente, foram adicionados em uma placa de 96 poços, em triplicata, 100 µL das substâncias puras nas várias concentrações, o controle positivo (BHT) e o controle negativo (etanol). Em seguida, foram adicionados 100 µL da solução de DPPH. Em cada poço a concentração das substâncias foi diluída 1:1, assim como a concentração do DPPH. A placa foi incubada por 30 min à temperatura ambiente, efetuando-se em seguida a leitura a 517 nm em espectrofotômetro de microplaca Thermo Plate – TP-Reader. A atividade seqüestradora de radical (ASR) foi determinada de acordo com a fórmula ASR (%) = [(absorbância do controle negativo - absorbância da amostra)/absorbância do controle negativo]/100. A  $CI_{50}$  foi determinada de acordo com o método de regressão linear.

#### Ensaio com β-caroteno/ácido linoléico

O ensaio com β-caroteno/ácido linoléico no método da microdiluição foi realizado de acordo com a técnica desenvolvida por Muller, com algumas modificações.<sup>9</sup> Foram adicionados em erlenmeyer 25 µL de ácido linoléico, 200 mg de Tween 40 e 500 µL de solução de β-caroteno (0,5 mg/mL em clorofórmio). Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio sob nitrogênio. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se cerca de 100 mL de água (previamente saturada com oxigênio durante 60 min) e agitou-se vigorosamente. As concentrações das substâncias puras e do controle positivo (BHT) foram de 200 µM em cada caso. Em cada poço da microplaca foram adicionados 150 µL da mistura reativa (β-caroteno/ácido linoléico) e 50 µL de etanol (controle negativo) ou o mesmo volume para as substâncias puras e para o controle positivo (BHT), todos em triplicata. A placa foi incubada a 40 °C para acelerar as reações de oxidação e iniciar o descolorimento do β-caroteno. As leituras das absorbâncias foram realizadas imediatamente e com intervalos de 30 min em 430 nm, durante 240 min, em espectrofotômetro de microplaca Thermo Plate – TP-Reader. Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação, que foi calculada em relação ao decaimento da absorbância do controle negativo de acordo com a fórmula:  $I(\%) = [(\Delta \text{absorbância controle negativo} - \Delta \text{absorbância amostra}) / \Delta \text{absorbância controle negativo}] / 100$ .

#### Ensaio de atividade antifúngica

Para avaliação da atividade antifúngica dos compostos isolados foram utilizadas cepas padronizadas de *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida tropicalis* (ATCC 760) e *Cryptococcus neoformans* (ATCC 32045), disponíveis no Núcleo do Hospital Universitário, Divisão de Farmácia-Bioquímica, Seção de Análises Clínicas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Como meios de cultura foram utilizados os meios de Sabouraud e RPMI-1640 líquido (com glutamina, sem bicarbonato de sódio e com indicador de vermelho de fenol). O meio RPMI-1640 foi tamponado a pH 7,0 ± 0,1, em temperatura de 25 °C, com uma solução tampão de MOPS [ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico], numa concentração final de 0,165 mol/L, pH 7,0. A padronização do inóculo foi realizada de acordo com o Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica.<sup>10</sup> Para avaliação da atividade antifúngica foi adotado o ensaio sem alvo específico, utilizando-se a técnica da microdiluição, de acordo com metodologia descrita na literatura.<sup>11</sup> Os testes (diluições) foram realizados em triplicata, sendo

a concentração inibitória mínima (CIM) estabelecida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico. Como controle padrão utilizou-se o antimicrobiano anfotericina B.

#### Extração e isolamento dos constituintes químicos

As cascas do caule (1 kg) de *N. megapotamica* foram secas ao ar e, posteriormente, moídas e extraídas com etanol, à temperatura ambiente. O extrato etanólico foi concentrado sob pressão reduzida, resultando em 235 g de extrato bruto. Este foi submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica 70-230 mesh, utilizando-se misturas de hexano-AcOEt e AcOEt-MeOH em gradiente de polaridade crescente. Deste processo resultaram 40 frações de 500 mL cada, as quais, após análise cromatográfica, foram reunidas em 13 grupos de frações (A→N). O grupo F (hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1, 735 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 3:2), seguida de cromatografia em coluna de gel de sílica 230-400 mesh (hexano-AcOEt 98:2), fornecendo *trans*-1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno (**7**, 7,9 mg) e uma mistura de elemicina (**1**) e isoelemicina (**2**). Esta foi separada por CLAE (MeOH-H<sub>2</sub>O 70:30), originando **1** (10,8 mg) e **2** (5,9 mg). O grupo H (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 6,11 g) forneceu o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**5**, 15,8 mg), após cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 em CHCl<sub>3</sub>-MeOH (3:2). O grupo L (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-AcOEt 1:1, 1,7 g) foi submetido a sucessivas separações em colunas de Sephadex LH-20 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 3:2) e gel de sílica 230-400 mesh (CHCl<sub>3</sub>-MeOH 1%), originando uma mistura dos diastereoisômeros *eritro*-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (**3**) e *treo*-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (**4**). Esta mistura foi finalmente separada por CLAE (MeOH-H<sub>2</sub>O 1:1), fornecendo **3** (30,9 mg) e **4** (46,8 mg). O grupo M (AcOEt, 647,3 mg) originou (-)-epicatequina (**6**, 45,0 mg) após ser submetido a uma separação em coluna de Sephadex LH-20 (MeOH).

#### Elemicina (1)

Óleo amarelo. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,34 (d, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,83 (s, OCH<sub>3</sub>-2); 3,86 (s, OCH<sub>3</sub>-1/OCH<sub>3</sub>-3); 5,10 (m, H-9); 5,97 (m, H-8); 6,42 (s, H-4/H-6). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 153,0 (C-1 e C-3); 136,0 (C-2); 105,6 (C-4 e C-6); 136,4 (C-5); 40,8 (C-7); 137,2 (C-8); 116,0 (C-9); 56,0 (OCH<sub>3</sub>-1 e OCH<sub>3</sub>-3); 60,8 (OCH<sub>3</sub>-2).

#### Isoelemicina (2)

Óleo incolor. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 1,87 (dd; *J* = 6,0 e 3,0 Hz, H-9); 3,84 (s, OCH<sub>3</sub>-2); 3,87 (s, OCH<sub>3</sub>-1/OCH<sub>3</sub>-3); 6,16 (dq, *J* = 15,0 e 6,0 Hz, H-8); 6,32 (dq, *J* = 15,0 e 3,0 Hz, H-7); 6,53 (s, H-4/H-6). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 153,0 (C-1/C-3); 137,0 (C-2); 102,7 (C-4/C-6); 133,5 (C-5); 130,7 (C-7); 125,0 (C-8); 18,1 (C-9); 55,8 (s, OCH<sub>3</sub>-1/OCH<sub>3</sub>-3); 60,7 (s, OCH<sub>3</sub>-2).

#### (±)-Eritro-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (3)

Sólido amorfo. [α]<sub>D</sub> = 0° (c = 2,34, CHCl<sub>3</sub>). RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C: Tabela 1.

#### (±)-Treo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (4)

Sólido amorfo. [α]<sub>D</sub> = 0° (c = 1,06, CHCl<sub>3</sub>). RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C: Tabela 1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas das substâncias obtidas foram determinadas com base em seus respectivos dados espectrais de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, incluindo experimentos bidimensionais e, também, por comparação com dados da literatura.

**Tabela 1.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) das substâncias **3** e **4**,  $\text{CDCl}_3$ 

H/C	<b>3</b>		<b>4</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult.; J Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1,3	-	153,0	-	153,0
2	-	137,0	-	137,0
4,6	6,53 (s)	104,0	6,49 (s)	104,0
5	-	137,0	-	137,0
7	4,51 (d; 4,2)	77,3	4,16 (d; 7,5)	79,4
8	3,83-3,91 (m)	71,3	3,68-3,74 (m)	72,0
9	1,03 (d; 6,0)	16,9	0,97 (d; 6,0)	18,7
$\text{OCH}_3$ -1/3	3,79 (s)	56,0	3,77 (s)	56,0
$\text{OCH}_3$ -2	3,76 (s)	60,7	3,74 (s)	60,7

O composto **1** apresentou em seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  dois sim-pletos relativos a grupos metoxila a  $\delta$  3,86 (6H) e 3,83 (3H), juntamente com um simpleto a  $\delta$  6,42 (2H), sugerindo a presença de um anel aromático 1,2,3,5-tetrassubstituído. Apresentou, ainda, um duplete a  $\delta$  3,34 (1H,  $J = 6,7$  Hz) e dois multipletos nas regiões de  $\delta$  5,92 a 6,01 e  $\delta$  5,08 a 5,11, indicativos da presença de um resíduo alílico ligado ao anel aromático em C-5. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  foram observados dois sinais a  $\delta$  56,0 e 60,8 relativos aos carbonos dos grupos metoxila, sendo o sinal a  $\delta$  60,8 atribuído à metoxila estericamente impedida em C-2. O espectro também apresentou quatro sinais de carbonos aromáticos, sendo um sinal referente aos carbonos metínicos C-4 e C-6 a  $\delta$  105,6 e três sinais relativos a carbonos tetrassubstituídos a  $\delta$  153,0 (C-1 e C-3), 136,0 (C-2) e 136,4 (C-5). A presença do grupo alila ligado ao carbono C-5 do anel aromático foi confirmada pelos sinais de carbonos metilênicos a  $\delta$  40,8 (C-7) e 116,0 (C-9) e de um carbono metínico a 137,2 (C-8). Assim, a estrutura de **1** foi definida como sendo a do 5-alil-1,2,3-trimetoxibenzeno. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **2** apresentaram uma acentuada semelhança com os de **1**, indicando que aquele se tratava do isômero correspondente 1,2,3-trimetóxi-5-[(1E)-1-propenil]benzeno. No espectro de RMN  $^1\text{H}$ , os sinais do substituinte 1-propenila foram caracterizados pelo duplo duplete a  $\delta$  1,87 ( $J = 3,0$  e 6,0 Hz, 3H), atribuído aos hidrogênios da metila terminal, além de um duplo quarteto a  $\delta$  6,32 ( $J = 3,0$  e 15,0 Hz, 1H), atribuído ao hidrogênio olefínico H-7 e um duplo quarteto a  $\delta$  6,16 ( $J = 6,0$  e 15,0 Hz), relativo ao hidrogênio olefínico H-8. Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135° de **2** confirmaram a presença do grupo propenila, pelos sinais de dois carbonos olefínicos metínicos a  $\delta$  125,0 e 130,7 e um sinal de carbono metílico a  $\delta$  18,1. Os dados espectrais de **1** e **2** mostraram-se de acordo com os descritos na literatura para os fenilpropanóides denominados elemicina e isoelemicina, respectivamente.<sup>12</sup>

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **3** foram observados sinais indicativos da presença de anel aromático 1,2,3,5-tetrassubstituído já observados nos compostos **1** e **2**. Este espectro apresentou, ainda, sinais atribuíveis a dois hidrogênios oximetínicos a  $\delta$  4,51 (duplete,  $J = 4,2$  Hz) e 3,83-3,91 (multiplete), além de um dublete a  $\delta$  1,03 ( $J = 6,0$  Hz) referente a hidrogênios de um grupo metila (Tabela 1). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **3** (Tabela 1), os sinais dos carbonos oximetínicos e metílico foram observados a  $\delta$  77,3; 71,3 e 16,9, os quais sugeriram, em conjunto com os dados de RMN  $^1\text{H}$ , a presença de uma cadeia lateral de três carbonos, contendo hidroxilas em C-7 e C-8. Assim, a estrutura do fenilpropanóide **3** foi definida como 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **4** (Tabela 1) apresentaram sinais praticamente idênticos aos de **3**, indicando que se tratava também de 1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-

propanodiol, diferindo de **3** unicamente pela estereoquímica em C-7 e C-8. A diferença mais significativa observada nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **3** e **4** referiu-se aos valores de deslocamento químico e constante de acoplamento de H-7, que no composto **3** foi observado como um duplete a  $\delta$  4,51 ( $J = 4,2$  Hz), enquanto que em **4** apresentou-se como um duplete a  $\delta$  4,16 ( $J = 7,5$  Hz), o que indicou que estes compostos eram diastereoisômeros. Segundo a literatura, o valor da constante de acoplamento de H-7 em fenilpropanóides distereoisoméricos em C-7 e C-8 é de aproximadamente 4 Hz para o isômero *eritro* e cerca de 7 a 8 Hz para o isômero *treo*.<sup>13,14</sup> Desta forma, o composto **3** corresponderia ao *eritro*-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol e **4** ao *treo*-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol. Esta conclusão também pôde ser confirmada pela ordem de eluição destes dois compostos na separação por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, onde isômeros *eritro* com estruturas semelhantes à de **4** apresentam tempo de retenção menor que os dos isômeros *treo* correspondentes.<sup>14,15</sup> As diferenças observadas nos valores de deslocamento químico de C-7, C-8 e C-9 em **3** e **4** também estão de acordo com as relatadas para fenilpropanóides diastereoisoméricos contendo hidroxilas em C-7 e C-8.<sup>14</sup> Os diastereoisômeros **3** e **4** foram descritos anteriormente apenas como produtos de metabolismo de alquenilbenzenos em ratos<sup>16</sup> e **4** (na forma dos enantiômeros 7R,8R e 7S,8S) também como produto de síntese.<sup>13</sup> Os valores de rotação óptica obtidos para os compostos **3** e **4** (ambos, 0°) indicaram que se tratavam de misturas racêmicas dos respectivos isômeros 7R,8S/7S,8R e 7R,8R/7S,8S. Os valores de  $[\alpha]_{\text{D}}$  relatados para os enantiômeros 7R,8R e 7S,8S de **4** foram de  $-28^\circ$  ( $c = 0,805$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) e  $+25^\circ$  ( $c = 1,081$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), respectivamente.<sup>13</sup>

As substâncias **5**, **6** e **7** foram identificadas como ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico, (-)-epicatequina e *trans*-1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno, respectivamente, com base nos dados espectroscópicos e por comparação com os mesmos relatados na literatura.<sup>17</sup>

Os compostos aromáticos obtidos foram avaliados quanto ao seu potencial antioxidante frente a dois ensaios, DPPH e  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico. No ensaio com DPPH é avaliada a capacidade de uma substância em seqüestrar o radical estável 2,2-difenil-1-picrilidrazila. Vários exemplos são descritos de substâncias com atividade antioxidante frente ao DPPH, sendo que os mais ativos neste ensaio são compostos fenólicos, como os flavonóides.<sup>18</sup> As substâncias **1** a **5**, pelo fato de não apresentarem hidroxilas fenólicas, mostraram-se, portanto, destituídas de atividade neste ensaio ( $\text{CI}_{50} > 100 \mu\text{M}$ ), enquanto que epicatequina (**6**) apresentou atividade antioxidante superior à do controle positivo ( $\text{CI}_{50} = 42,90 \pm 0,10$  e  $55,97 \pm 0,08 \mu\text{M}$ , respectivamente). A importância da presença das hidroxilas fenólicas neste ensaio fica evidente quando é comparada a  $\text{CI}_{50}$  do ácido gálico ( $24,86 \pm 0,12 \mu\text{M}$ ) com a do ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico **5** ( $\text{CI}_{50} > 100 \mu\text{M}$ ). Já no teste com  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, é avaliada a capacidade da substância de prevenir ou impedir a oxidação do  $\beta$ -caroteno. Neste ensaio, foi observado que o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (**5**) nos primeiros 60 min inibiu 60% a oxidação do  $\beta$ -caroteno (Figura 2), sugerindo que a presença de hidroxilas fenólicas não é a única característica estrutural necessária para prevenir ou impedir a oxidação do  $\beta$ -caroteno, enquanto que as substâncias **3** e **4** apresentaram atividade pró-oxidante, acelerando a oxidação do  $\beta$ -caroteno. Os compostos **1** a **6** foram também avaliados com relação às suas atividades antifúngicas frente a cepas padrão de leveduras dos gêneros *Candida* e *Cryptococcus* (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *Cryptococcus neoformans*). As quatro linhagens fúngicas investigadas neste trabalho demonstraram ser susceptíveis a todas as substâncias testadas, sendo que **1** a **5** inibiram o seu crescimento com valores de CIM = 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , enquanto que (-)-epicatequina (**6**) apresentou valores de CIM = 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  frente às linhagens de *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans* e de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  frente às cepas de *Candida albicans* e

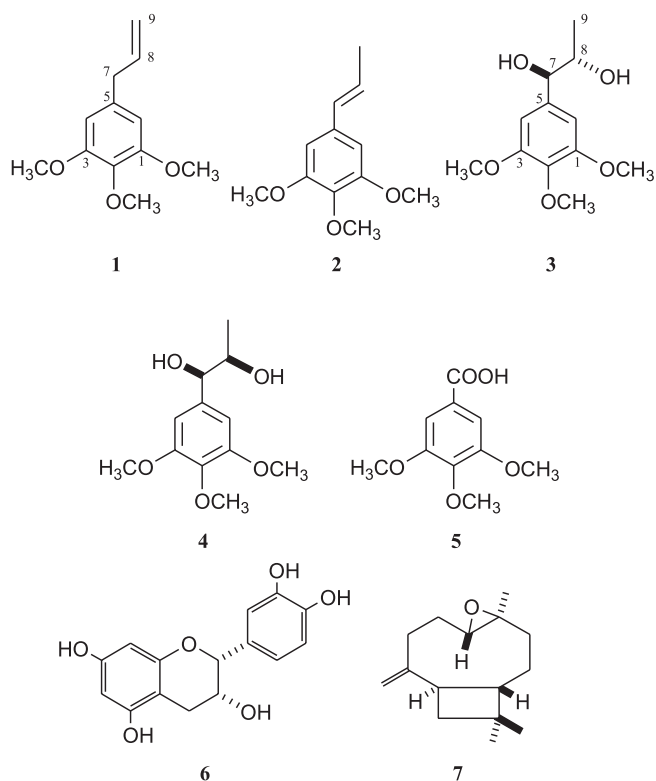


Figura 1. Estruturas das substâncias isoladas das cascas do caule de *N. megapotamica*

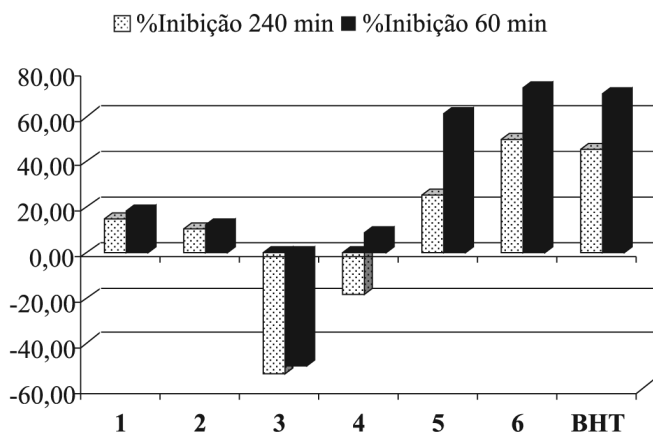


Figura 2. Capacidade antioxidante das substâncias 1 a 6 e de BHT no ensaio com  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico

*C. tropicalis*. Os valores de CIM obtidos para o controle positivo foram 0,25 (*C. krusei*), 1,00 (*C. albicans*) e 0,5  $\mu\text{g/mL}$  (*C. tropicalis* e *Cryptococcus neoformans*).

## CONCLUSÕES

O estudo químico das cascas do caule de um espécime de *N. megapotamica* coletado na região do Cerrado de Mato Grosso do Sul resultou no isolamento e identificação de quatro fenilpropanóides, elemicina (1), isoelemicina (2), ( $\pm$ )-eritro-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (3) e ( $\pm$ )-treo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1,2-propanodiol (4), um derivado do ácido gálico, ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (5), uma flavana, (-)-epicatequina (6) e um sesquiterpeno, *trans*-1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno (7). Os diastereoisômeros 3 e 4 estão sendo relatados pela primeira vez como produtos naturais de origem vegetal. Os fenilpropanóides 1 e 2, embora sejam componentes de óleos

essenciais de algumas plantas aromáticas, estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Nectandra*, assim como o ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico (5) e a flavana 6. Dentre os compostos aromáticos obtidos, a (-)-epicatequina (6) apresentou atividade antioxidante frente ao DPPH e ao  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, enquanto que o ácido 3,4,5-trimetóxi-benzóico (5) inibiu a oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico. Os fenilpropanóides 3 e 4, por sua vez, apresentaram atividade pró-oxidante neste ensaio. As seis substâncias aromáticas isoladas foram ativas frente às cepas dos gêneros *Candida* e *Cryptococcus* avaliadas neste trabalho. Diferentemente dos espécimes de *N. megapotamica* coletados em São Paulo, que forneceram alcalóides e neolignanais, não foi detectada nas cascas do caule do exemplar que ocorre em Mato Grosso do Sul e investigado no presente trabalho a presença destas classes de compostos, tendo sido obtidos, no entanto, derivados de alil e propenil fenóis, considerados precursores de neolignanais.

## AGRADECIMENTOS

À FUNDECT-MS e CNPq pelo apoio financeiro, ao PIBIC-CNPq e FUNDECT-CNPq pelas bolsas de C. H. Miguita e L. Hamerski e ao botânico MSc. F. M. Alves pela identificação do material vegetal.

## REFERÊNCIAS

- Rohwer, J. G. Em *The Families and Genera of Vascular Plants*; Kubitzki, K.; Rohwer, J. G.; Bittrich, V., eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1993, p. 336; Gottlieb, O. R.; *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1537.
- Baitello, J. B.; Lorea-Hernández, F. G. L.; Moraes, P. L. R.; Esteves, R.; Marcovino, J. R. Em *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*; Wanderley, M. G. L.; Shepherd, G. J.; Giuletti, A. M.; Melhem, T. S., eds.; Fapesp Rima: São Paulo, 2003, p. 149; Kubitzki, K.; Rohwer, J. G.; *Bot. Acta* **1993**, *106*, 88; Pio Corrêa, M.; *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal: Rio de Janeiro, 1984.
- Alves, F. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2007.
- Lorenzi, H.; *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil*, 4ª ed., Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2002.
- dos Santos Filho, D.; Gilbert, B.; *Phytochemistry* **1975**, *14*, 821; dos Santos Filho, D.; Sarti, S. J.; *Rev. Fac. Farm. Odontol. Rib. Preto* **1980**, *17*, 21.
- da Silva Filho, A. A.; Albuquerque, S.; Eberlin, M. N.; Tomazela, D. M.; Bastos, J. K.; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 42; da Silva Filho, A. A.; Andrade, E.; Silva, M. L.; Carvalho, J. C. T.; Bastos, J. K.; *J. Pharm. Pharmacol.* **2004**, *56*, 1179.
- Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Martins, M.; Matos, M. F. C.; Guterres, Z. R.; Mantovani, M. S.; Misu, C. K.; Nakashita, S. T.; *Planta Med.* **2005**, *71*, 923; Garcez, W. S.; Garcez, F. R.; Silva, L. M. G. E.; Shimabukuro, A. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16B*, 1382; Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Martins, M.; Cruz, A. C.; *Planta Med.* **1999**, *65*, 775.
- Matsukawa, R.; Dubinsky, Z.; Kishimoto, E.; Masaki, K.; Masuda, Y.; Takeuchi, T.; Chihara, M.; Yamamoto, Y.; Niki, E.; Karube, I.; *J. Appl. Phycol.* **1997**, *9*, 29; Zhang, X.; Xu, J.-K.; Wang, J.; Wang, N.; Kurihara, H.; Kitanaka, S.; Yao, X.; *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 24.
- Miller, H. E.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1971**, *48*, 91; Bouaziz, M.; Sayadi, S.; Damak, M.; Grayer, R. J.; Simmonds, M. S. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 236.
- NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards; *Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras*, Norma Aprovada, 2ª ed., Norma M27-A2 do NCCLS, v. 22, n. 15, Pennsylvania, 2002.

11. Mitscher, L. A.; Beal, J. L.; Bathala, M. S.; *Lloydia* **1972**, 35, 157.
12. Siergiejczyk, L.; Poplawski, J.; Lozowicka, B.; Dubis, A.; Lachowska, B.; *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 1037; Enriquez, R. G.; Chavez, M. A.; Jauregui, F.; *Phytochemistry* **1980**, 19, 2024; Fujita, S.; Fujita, Y.; *Yakugaku Zasshi* **1972**, 92, 1285.
13. Ley, S. V.; Lee, A-L.; *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 3957.
14. Balboul, B. A. A.; Ahmed, A. A.; Otsuka, H.; Adams, A.; *Phytochemistry* **1996**, 42, 1191.
15. Otsuka, H.; Takeuchi, M.; Inoshiri, S.; Sato, T.; Yamasaki, K.; *Phytochemistry* **1989**, 28, 883.
16. Solheim, E.; Scheline, R. R.; *Xenobiotica* **1980**, 10, 371.
17. Pouchert, C. J.; Behnke, J.; *The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT-NMR Spectra*, Aldrich Chemical Company Inc.: Milwaukee, 1993; Agrawal, P. K.; *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier: Amsterdam, 1989; Nuñez, C. V.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1996.
18. Brahmachari, G.; Gorai, D.; *Curr. Org. Chem.* **2006**, 10, 873.