



## **ESTUDO QUÍMICO BIOGUIADO DAS PARTES AÉREAS DE *Lonchocarpus cultratus* VISANDO A DETERMINAÇÃO E ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS ALELOQUÍMICAS**

Emanuelle M. B. M. da Silva (PIBIC/CNPq/Uem), Silvana Maria O. Santin (Orientador), Lindamir Hernandez Pastorini (Co-orientador), e-mail: smoliveira@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Química /Maringá, PR.

**Ciências Exatas e da Terra-Química dos Produtos Naturais-1.06.01.05-8**

**Palavras-chave:** *Lonchocarpus*, alelopatia, chalconas

### **Resumo:**

*Lonchocarpus cultratus* (Vell.) Azevedo-Tozzi & H.C. Lima (Fabaceae) é uma espécie arbórea nativa vulgarmente conhecida como rabo-de-bugio e embira-sapo. Um levantamento bibliográfico para a espécie revelou a carência de estudos químicos. Este trabalho teve como objetivo o estudo químico das frações das partes aéreas desta espécie, visando o isolamento dos seus metabólitos secundários com atividade alelopática. O extrato bruto de *L. cultratus* foi obtido das partes aéreas secas, trituradas e maceradas com metanol a frio. Esse extrato foi particionado com solventes de diferentes polaridades resultando nas frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica. As frações apolares foram submetidas a métodos cromatográficos e resultaram no isolamento das substâncias isocordoína (1), 2',4'-di-hidroxi-5'-prenilchalcona (2) e glabranina (3). As estruturas foram caracterizadas através de análises espectroscópicas uni e bidimensionais de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os testes alelopáticos realizados com o extrato bruto e suas frações demonstraram significativa redução de germinação em todos os parâmetros analisados.

### **Introdução**

*Lonchocarpus cultratus* (Vell.) Azevedo-Tozzi & H.C. Lima (Fabaceae) é uma espécie arbórea nativa vulgarmente conhecida como rabo-de-bugio e embira-sapo. Através de um levantamento bibliográfico foi encontrado apenas um estudo químico realizado por Magalhães e col. (2002), para a espécie, que revelou a presença de polihidroxicalconas nos extratos das raízes através de análises de CG-EM. O gênero *Lonchocarpus* apresenta



grande diversidade de flavonoides, dentre eles flavanonas, chalconas, isoflavanos e rotenoides, sendo estes últimos conhecidos por suas propriedades inseticidas e larvicidas. A literatura relaciona também outras atividades como antibacteriana, antioxidante (VASCONCELOS *et al.*, 2014) e citotóxica (CUNHA *et al.*, 2003).

A carência em estudos da espécie *L. cultratus* e ainda o reconhecido potencial químico e biológico do gênero, motivou o estudo desta espécie que visou o isolamento das principais substâncias encontradas nas frações biomonitoradas por ensaios de atividade alelopática.

## Materiais e métodos

Para as cromatografias foram utilizadas colunas de sílica gel 60. As eluições foram realizadas com solventes orgânicos de grau de pureza P.A ou foram destilados. As frações coletadas foram concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotativo, até eliminação de solvente. As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) uni ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e bidimensionais de COSY, NOESY, HSQC e HMBC foram obtidos em espectrômetro de RMN de 500 MHz e 300 MHz, Bruker, modelo AVANCE III HD. As partes aéreas de *L. cultratus*, após serem secas, foram trituradas e maceradas em MeOH a frio. Após a eliminação do solvente, foi obtido 39,79 g do extrato bruto. Parte deste extrato (20,79 g) foi diluída em MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 e submetida a uma partição em solventes por ordem crescente de polaridade obtendo as frações hexânica (FHex- 1,67g), clorofórmica (FCHCl<sub>3</sub>- 0,37g), acetato de etila (FACoEt- 0,38g) e hidrometanólica (H<sub>2</sub>O/MeOH- 12,00g). A FHex apresentou precipitados, que foram separados (28,0mg) e submetidos a uma coluna cromatográfica (CC) realizada numa pipeta de 2mL (0,4 mm de diâmetro) empacotada com CHCl<sub>3</sub> e eluída com CHCl<sub>3</sub> e MeOH, fornecendo 136 subfrações, que após a análise por CCD, foram recombinadas por semelhanças. Da subfração 02-13 (6,5 mg) foi isolada substância **1** (um cristal amarelo), da subfração 48-63 (3,8mg) foi isolada uma mistura das substâncias **2** e **3** (um óleo amarelo), as demais subfrações devido à complexidade em CCD não foram analisadas. Nos bioensaios alelopáticos foram utilizadas sementes da *Lactuca sativa* L. e câmara de germinação com temperatura de 25°C. Os testes de germinação foram realizados em placas de Petri contendo 25 sementes e quatro repetições em cada tratamento. Os extratos e frações foram testadas nas concentrações de 0,4 g/L, 0,2g/L, 0,1g/L e 0,05g/L.

## Resultados e Discussão

A análise de RMN de  $^1\text{H}$  para a substância **1** apresentou dois multipletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,66 (H-2,6) e 7,36 (H-3,4,5) característicos do anel aromático



monossustituído, dois dupletos em  $\delta_H$  7,61 e 7,82 ( $J = 15,5$  Hz) característicos de hidrogênios vinílicos de carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada com configuração em *trans*. E ainda, foram observadas dois dupletos em  $\delta_H$  6,36 e 7,75 ( $J = 9,0$  MHz) característicos de aromático tetrassustituído com hidrogênios em posição *orto*. Os espectros de RMN de  $^{13}C$ /DEPT de **1** apresentaram 20 sinais, dentre eles, em  $\delta_C$  192,3 (C=O), 120,7 (CH) e 144,5 (CH) característicos de carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada de chalconas, e sinais em  $\delta_C$  22,0 (CH<sub>2</sub>), 121,3 (CH), 136,3 (C), 18,2 e 26,1 (CH<sub>3</sub>) de um grupamento prenil. Através da análise do mapa de contornos HMBC foi possível observar a correlação entre C-3' ( $\delta_C$  114,3) e H-1'' ( $\delta_H$  3,42) que confirmou a posição do substituinte prenil em C-3' da estrutura da chalcona. Os dados de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  foram comparados com os da literatura e confirmaram a substância **1** como sendo 2',4'-di-hidroxi-3'-prenilchalcona (isocordoína) (CUNHA *et al.*, 2003).

Através da análise de RMN de  $^1H$  da subfração 48-63 foi constatado que se tratava de uma mistura de 2 substâncias (**2** e **3**). Para a substância **2** (majoritária), o espectro apresentou dois multipletos em  $\delta_H$  7,60 (H-2,6) e 7,45 (H-3,4,5), dois dupletos em  $\delta_H$  7,58 e 7,89 ( $J = 15,5$  Hz), e dois singletos em  $\delta_H$  6,43 e 7,65 característicos de chalconas. As análises de RMN de  $^{13}C$ /DEPT de **2** apresentaram sinais muito semelhantes a chalcona **1**. Através do mapa de contornos HMBC foi possível observar a correlação entre C-5' ( $\delta_C$  106,3) com o H-1'' ( $\delta_H$  3,37) que confirmou a posição do grupo prenil em C-5'. Com os dados obtidos destas análises foi possível identificar **2** como sendo 2',4'-di-hidroxi-5'-prenilchalcona. A análise de RMN de  $^1H$  para substância **3** apresentou um multipletto em  $\delta_H$  7,45 (H-2',3',4',5',6') característico do anel aromático monossustituído (anel B), três duplos dupletos em  $\delta_H$  5,43 ( $J = 3,6$  e 15,6 Hz, H-2), 2,86 ( $J = 3,6$  e 15,6 Hz) e 3,07 ( $J = 15,6$  e 15,6 Hz) de hidrogênios carbinólico e metilênico de flavanona e ainda, um singletto em  $\delta_H$  6,04 sugerindo um anel aromático tetrassustituído (anel A). Os espectros de RMN de  $^{13}C$ /DEPT da substância **3** apresentaram 20 sinais, dentre eles, em  $\delta_C$  196,4 (C-4) de carbonila,  $\delta_C$  79,2 e 43,6 de carbonos carbinólico (C-2) e metilênico (C-3). Ainda foram observados sinais em  $\delta_C$  22,0; 120,7; 135,8; 17,7 e 26,0 de um substituinte prenil. Através dos dados de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  uni e bidimensionais foi possível identificar a substância **3** como 8-prenilnaringenina (glabranina).

O extrato bruto e das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica apresentaram atividade alelopática inibindo a germinação, o que foi determinada pelo cálculo dos seguintes parâmetros: porcentagem de germinação, tempo médio de germinação e índice de velocidade de germinação. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey com significância 5%. Os testes alelopáticos realizados com diferentes diluições das frações demonstraram significativa redução de germinação nos parâmetros analisados nas frações



menos polares testadas, sendo o efeito mais efetivo nas diluições de maior concentração. A fração hidrometanólica não demonstrou efeito relevante na germinação da espécie alvo.

## Conclusões

Do estudo químico da fração hexânica das partes aéreas da espécie vegetal *L. cultratus* foi possível o isolamento e caracterização de duas chalconas e uma flavanona identificadas como isocordoína (1), 2',4'-di-hidroxi-5'-prenilchalcona (2) e glabranina (3). Esse é o primeiro relato do isolamento destas substâncias nesta espécie. O gênero *Lonchocarpus* é particularmente rico em flavonoides, onde estão inseridas as chalconas e flavanonas, Esta classe de substâncias é reconhecida por apresentarem atividades anti-inflamatória, antimalárica, diurética, antidiabética, antimicrobiana, antifúngica e antitumoral. E os testes alelopáticos realizados demonstraram a redução na porcentagem, no tempo médio e no índice de velocidade da germinação no extrato bruto e nas frações menos polares.

## Agradecimentos

PIBIC – CNPq – FA – UEM

## Referências

- CUNHA, G. M. A.; FONTENELE, J. B.; SILVEIRA, E. R.; NOGUEIRA, N. A. P.; MORAES, M. O.; VIANAL, G. S. B.; COSTA-LOTUFO, L.V. Cytotoxic activity of chalcones isolated from *Lonchocarpus sericeus* (Pocr.) Kunth. **Phytochemistry Research**, 17, 155–159, 2003.
- MAGALHÃES, A. F.; SANTOS, C. C.; MAGALHÃES, E. G.; NOGUEIRA, M. A. Detection of polyhydroxyalkaloids in *Lonchocarpus* extracts by GC-MS of acetylated derivatives. **Phytochemistry Analysis**. 13, 215–21, 2002.
- VASCONCELOS, M. A.; ARRUDA, F. V. S.; ALENCAR, D. B.; SAKER-SAMPAIO, S.; ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; CAVADA, B. S.; HENRIQUES, M.; PEREIRA, M. O.; TEIXEIRA, E. H. Antibacterial and antioxidant activities of derriobtusone, isolated from *Lonchocarpus obtusus*". **BioMed Research International**, 1-9, 2014.