

## ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FRAÇÕES POLARES OBTIDAS DA ESPÉCIE VEGETAL *Machaerium brasiliense* VOGEL (FABACEAE)

Jaqueline Oenning Jasper<sup>1</sup> (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Silvana Maria de Oliveira<sup>1</sup> (Orientadora), e-mail: [silvanamsantin@gmail.com](mailto:silvanamsantin@gmail.com)

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas / Departamento de Química / Maringá, PR.

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

**Palavras-chave:** *Machaerium*, Fabaceae, fitoquímica.

### Resumo:

O gênero *Machaerium* destaca-se pela produção de triterpenos, flavonoides, esteroides, estilbenos e derivados de ácidos graxos. No gênero também é relatado diversas atividades biológicas, dentre elas, antimicrobiana, antiparasitária, anti-inflamatória, antioxidante, alelopática e citotóxica. A espécie *M. brasiliense* apresentou potencial alelopático acentuado frente algumas espécies daninhas, o que despertou interesse na constituição química da espécie. Este trabalho visou o estudo químico das frações polares obtidas das folhas da espécie *Machaerium brasiliense* Vogel, a fim de isolar e caracterizar pela técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C seus principais metabólitos secundários. As técnicas cromatográficas empregadas permitiram o isolamento da substância uracila e dos triterpenos hopeno e lupeol, e ainda das substâncias 4-hidróxi-*N*-metilprolina e hopenona B.

### Introdução

O gênero *Machaerium* é rico em metabólitos secundários, principalmente flavonoides, triterpenos, esteroides, estilbenos e derivados de ácidos graxos, sendo também relatado uma diversidade de atividades biológicas ao gênero, dentre estas ressalta-se, a atividade antimicrobiana, antiparasitária, anti-inflamatória, antioxidante, alelopática e citotóxica (AMEN et al., 2015). A espécie *M. brasiliense* foi investigada por nosso grupo de pesquisa em relação ao seu potencial alelopático frente a espécies daninhas leiteiras (*Euphorbia heterophylla* L.), corda-de-viola (*Ipomoea purpurea*) e a alface (*Lactuca sativa* L.) (XIMENES, 2017). Estes estudos apresentaram resultados promissores, despertando o interesse pelo estudo químico desta espécie a fim de isolar seus metabolitos ativos. Em um estudo anterior em nosso grupo de pesquisa com as folhas da espécie *M. brasiliense*, projeto do PIBIC cujo número do processo é 3504/2017, foram isolados o triterpeno hopenona B, os esteroides estigmasterol e  $\beta$ -sitosterol e o alcaloide 4-hidroxi-*N*-metil-prolina. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo fitoquímico das frações polares obtidas da espécie *Machaerium brasiliense*, e ainda foi realizado um re-estudo das frações

apolares, visto que as análises cromatográficas do perfil destas frações mostraram-se ricas em constituintes.

## Materiais e métodos

Na realização das técnicas de cromatografia foi utilizado gel de sílica 60 Merck (0,063-0,200mm). Nas cromatografias em camada delgada (CCD) foi utilizada sílica gel 60G ou 60 GF<sub>254</sub> da Merck em placas de vidro com dimensões 5,0 por 20,0 e espessura entre 0,25 e 0,50mm. As placas cromatográficas foram reveladas com solução de anisaldeído-ácido sulfúrico e reagente Dragendorff. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e suas correlações foram obtidos através do espectrômetro Bruker Avance III HD 500,03 MHz e 125,7 MHz, respectivamente. As folhas secas da *M. brasiliense* foram submetidas a um processo de trituração em moinho rotativo de facas, obtendo-se uma massa vegetal de 1124,10 g. Posteriormente, foi realizada a extração exaustiva com metanol (MeOH) a temperatura ambiente, seguida de evaporação a vácuo, obtendo-se assim 59,44 g de extrato bruto (MBEB). Foi realizada uma partição líquido-líquido com 28,0 g de MBEB empregando os solventes em ordem crescente de polaridade. O extrato foi solubilizado com uma mistura de solventes MeOH: H<sub>2</sub>O (1:1), e submetido a um processo de extração com solventes de diferentes polaridades, obtendo as frações hexânica (4,47g), clorofórmica (2,83g) e acetato de etila (3,57 g) e butanólica (1,82 g). A solução remanescente foi nomeada como fração hidrometanólica (0,90 g). Uma parte da fração acetato de etila (2,07 g) foi submetida a uma filtração em Sephadex LH-20 empregando como eluente metanol em modo isocrático obtendo 12 subfrações. A subfração MBFAc-9 (158,9 g) foi submetida a um novo processo de purificação em Sephadex LH-20 empregando novamente metanol de modo isocrático obtendo 33 novas subfrações. Entre essas, a subfração MBFAc-9-20 (16,4 mg) apresentou-se pura, e então foi nomeada MB1 e submetida a análise RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A subfração MBFAc-9-16 (23,7 mg) também se apresentou pura, sendo submetida a análise RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e identificada como a substância 4-hidroxi-N-metilprolina. Uma parte da fração hexânica (3,82 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica em gel de sílica 60 e empacotada com hexano. Neste processo foram usados como eluentes os solventes hexano, acetato de etila e metanol em gradiente crescente de polaridade, obtendo 12 subfrações. A subfração MBFH-3 (698,5 mg) foi submetida a um tratamento em coluna cromatográfica com gel de sílica 60 e empacotada com hexano, empregando os mesmos eluentes em gradiente crescente de polaridade, obtendo 12 novas subfrações. A subfração MBFH-3-6 (19,4 mg) foi purificada através de lavagem com hexano e acetona, obtendo MB2 (15,5 mg) que foi submetida a análise RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Também foi isolada a substância hopenona B, obtida a partir da subfração MBFH-3-31 (19,4 mg) e identificada a partir de análise RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

## Resultados e Discussão

O estudo químico das folhas de *M. brasiliense* resultou no isolamento da uracila (MB1) e uma mistura dos dois triterpenos hopeno e lupeol (MB2), que foram identificadas por meio das análises de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e comparação com dados da

literatura. Através das metodologias empregadas, também foi possível a obtenção da 4-hidróxi-*N*-metilprolina e da hopenona B, já isolados no estudo anterior com a espécie.

A substância MB1 foi isolada da fração acetato de etila na forma de cristais de coloração amarelo solúveis em DMSO. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MB1 foi observado dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,44 (1H,  $J = 7,6$  Hz) e 7,39 (1H,  $J = 7,6$  Hz), indicando um acoplamento orto entre os dois hidrogênios, os quais foram atribuídos as posições H-5 e H-6 da estrutura, respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  observa-se dois sinais em  $\delta_{\text{C}}$  151,5 e 164,3 que foram atribuídas a duas carbonilas na posição C-2 e C-4 do núcleo pirimidínico, assim como também foi observado sinais de carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  100,2 e 142,1 que são atribuídos aos carbonos C-5 e C-6 da estrutura, respectivamente. Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância MB1 foram comparados com os dados reportados na literatura (MOURA et al., 2011) e foram condizentes para a estrutura da uracila (2,4-pirimidinadiona). Ressalta-se que este o primeiro relato do isolamento dessa substância no gênero *Machaerium*.

No re-estudo da fração hexânica foi isolado MB2 na forma de um óleo amarelo, solúvel em clorofórmio. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MB2 foi observado um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,78 característico do hidrogênio vinílico H-29 do esqueleto de triterpeno do tipo hopano. Sendo também observados no espectro, o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  4,56 e o duplete de quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  4,67, ambos sinais característicos dos hidrogênios vinílicos H-29 de triterpeno com esqueleto do tipo lupano. Logo MB2 constitui-se em uma mistura de triterpenos com esqueleto hopeno (MB2a) lupano (MB2b).

No RMN  $^1\text{H}$  para a substância MB2a foram observados, além do simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,78, 6 sinais característicos de hidrogênios metílicos, os quais são atribuídos aos hidrogênios H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  0,84; s), H-24 ( $\delta_{\text{H}}$  0,79; s), H-25 ( $\delta_{\text{H}}$  0,81; s), H-26 ( $\delta_{\text{H}}$  0,96; s), H-27 ( $\delta_{\text{H}}$  0,94; s), H-28 ( $\delta_{\text{H}}$  0,72; s) e H-30 ( $\delta_{\text{H}}$  1,75; s). Foi observado ainda em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 um multiplete que é atribuído ao hidrogênio metínico H-21 da estrutura. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  observa-se os sinais  $\delta_{\text{C}}$  110,1 e 148,8 que são característicos dos carbonos vinílicos C-22 e C-29 do esqueleto do triterpeno do tipo hopano. Sendo também observados os sinais referentes aos seis grupos metila em  $\delta_{\text{C}}$  33,4 (C-23),  $\delta_{\text{C}}$  21,6 (C-24),  $\delta_{\text{C}}$  15,8 (C-25),  $\delta_{\text{C}}$  16,7 (C-26),  $\delta_{\text{C}}$  16,1 (C-28) e  $\delta_{\text{C}}$  25,0 (C-30). Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância MB2-a foram comparados com os dados reportados na literatura (AGETA et al., 1993) e foram condizentes para a estruturas do triterpeno hopeno (hop-22(29)-eno). Ressalta-se, que este é o primeiro relato do isolamento desse triterpeno na família Fabaceae. Para a substância MB2b, o espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou, além dos dupletos referentes aos hidrogênios vinílicos H-29, um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  1,67 característico de grupo metila alílico, o qual é atribuído ao hidrogênio H-30 da estrutura. Observa-se também a presença de mais sinais característicos de hidrogênios metílicos, os quais são atribuídos aos hidrogênios H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  0,78; s), H-24 ( $\delta_{\text{H}}$  0,80; s), H-25 ( $\delta_{\text{H}}$  0,92; s), H-26 ( $\delta_{\text{H}}$  0,93; s), H-27 ( $\delta_{\text{H}}$  1,03; s) e H-28 ( $\delta_{\text{H}}$  0,76; s). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  confirmou a presença dos carbonos vinílicos C-22 e C-29 do esqueleto lupano, respectivamente, em  $\delta_{\text{C}}$  109,5 e 151,2. Sendo também observado o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  79,3 referente ao carbono carbinólico C-3 da estrutura, assim como os sinais referentes aos grupos metila em  $\delta_{\text{C}}$  28,2 (C-23),  $\delta_{\text{C}}$  15,6 (C-24),  $\delta_{\text{C}}$  16,4 (C-25),  $\delta_{\text{C}}$  16,1 (C-26),  $\delta_{\text{C}}$  18,2 (C-28) e  $\delta_{\text{C}}$  19,5 (C-30). Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância MB2b foram comparados com os dados reportados na literatura (SILVA et al., 2017) e foram condizentes para

a estruturas do triterpeno lupeol ( $3\beta$ -lup-20(29)-en-3-ol). Este é o segundo relato do isolamento dessa substância no gênero, anteriormente isolado em *Machaerium hirtum* pelo nosso grupo de pesquisa Fitosín (AMEN et al., 2015).

## Conclusões

O estudo químico das folhas da espécie *Machaerium brasiliense* resultou no isolamento da pirimidina uracila e dos triterpenos hopeno e lupeol, assim como o reisolamento da 4-hidróxi-N-metilprolina e do triterpeno hopenona B. Cabe ainda ressaltar que este é o primeiro relato da presença da uracila e do triterpeno hopeno no gênero *Machaerium*.

## Agradecimentos

Universidade Estadual de Maringá (UEM), CNPq, CAPES, Departamento de Química (DQI), Grupo de Pesquisa em Fitoquímica e Síntese Orgânica (FitoSín).

## Referências

AGETA, H.; SHIOJIMA, K.; SUZUKI, H.; NAKAMURA, S.; NMR Spectra of triterpenoids. I. Conformation of hopane and isohopane, and their derivatives. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 11, p. 1939 – 1943, 1993.

AMEN, Y. M.; MARZOUK, A. M.; ZAGHLOUL, M. G.; AFIFI, M. S.; The genus *Machaerium* (*Fabaceae*): taxonomy, phytochemistry, traditional uses and biological activities. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 29, n.15, p. 1388-1405, 2015.

MOURA, A. C. S.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C.; Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* Linn. (FABACEAE) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1136-1140, 2011.

SILVA, A. T. M.; MAGALHÃES, C. G.; DUARTE, L. P.; MUSSEL, W. N.; RUIZ, A. L. T. G.; SHIOZAWA, L.; CARVALHO, J. E.; TRINDADE, I. C.; VIEIRA FILHO, S. A.; Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 3, 2017.

XIMENEZ, G. R. Potencial alelopático de *Machaerium* sp. sobre *Lactuca sativa* e espécies invasoras. 95 f. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual de Maringá, 2017.