

## ESTUDO FITOQUÍMICO DOS GALHOS DE *Diploptropis purpurea* (FABACEAE)

Laís Souza MENEZES<sup>1</sup>; Mariana da Silva Lima MONTEIRO<sup>2</sup>; Lorena Mayara de Carvalho CURSINO<sup>3</sup>; Cecília Verônica NUNEZ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Bolsista PIBIC/CNPq; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Bolsista PIBIC/CNPq-INPA; <sup>3</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Bolsista Doutorado/CAPES; <sup>4</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Orientadora LABB/COTI

### 1. Introdução

De clima quente e úmido, a Amazônia possui grande biodiversidade, com um sistema complexo que vem sendo explorado há milhares de anos por populações autóctones e, mais recentemente por pesquisadores de várias áreas. Com isso, olhos nativos e estrangeiros estão voltados para essa região na busca por novos produtos (Guehl *et al.* 1998; Ribeiro *et al.* 1999; Nogueira *et al.* 2007).

Na flora, a família Fabaceae, anteriormente chamada de Leguminosae, destaca-se em variedade de espécies e de usos alimentícios e medicinais (Ribeiro *et al.* 1999). Em estudos fitoquímicos, essa é uma família de destaque na produção de flavonóides (Braz-Filho *et al.* 1973). Papilionoidae é a maior das três subfamílias de Fabaceae. Tem distribuição ampla e representantes de diversos hábitos (Ribeiro, *et al.*, 1999). É nela que encontramos o gênero *Diploptropis*, o qual apresenta alguns estudos realizados com *D. ferruginea* como isolamento do triterpeno lupeol e do 2-hidroxi-4-metoxi-6-propil-benzoato de etila (ALMEIDA *et al.*, 2003) e um flavonóide diploptropina (Lima *et al.* 2005). Outro estudo realizado foi com *D. martiusii*, que mostrou o isolamento de alcalóides (Kinghorn *et al.* 1982).

Destaca-se para estudo a *Diploptropis purpurea*, popularmente conhecida como sucupira-preta. É uma angiosperma amplamente distribuída na Amazônia por vários ambientes, como a campinarana (Ferreira *et al.* 1999). Além de Manaus e arredores, já foi registrada sua ocorrência em Pernambuco, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Suriname e Venezuela (MOBOT 2013). Sua madeira densa e durável é muito apreciada para construção de estruturas e para revestimento de pisos (Nogueira *et al.* 2007; Kaiser 2007). Estudos científicos mostram sua alta resistência a certos fungos (Kaiser 2007; Carneiro *et al.* 2009). Essa espécie apresenta sinônimas como *Bowdichia brasiliensis* (Tul.) Ducke, *Bowdichia guianensis* (Tul.) Ducke, *Dibrachion guianensis* Tul., *Diploptropis guianensis* Benth. e *Tachigali purpurea* Rich. (MOBOT 2013). Quanto ao estudo fitoquímico, *D. purpurea*, apresenta o isolamento de flavonóides, esteróides e do triterpeno lupeol (Braz-Filho *et al.* 1973).

O presente estudo apresenta o isolamento e a determinação estrutural do triterpeno lupeol do extrato hexânico dos galhos de *Diploptropis purpurea* (Fabaceae).

### 2. Material e Métodos

#### 2.1 Coleta e identificação

Os galhos de *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff foram coletados na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) no município de Presidente Figueiredo, AM, em julho de 2012.

#### 2.2 Preparação dos extratos vegetais

O material vegetal foi seco à temperatura ambiente, moído e extraído com hexano durante 20 minutos utilizando ultra-som. Após isso, foram filtrados e re-extraídos até a extração exaustiva do material vegetal. A torta foi seca em temperatura ambiente e extraída com metanol da mesma forma. Por fim, os extratos obtidos foram concentrados em rota-evaporador.

#### 2.3 Perfil químico dos extratos

Os extratos dos galhos de *D. purpurea* foram primeiramente analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), sendo as amostras eluídas e reveladas com luz UV (comprimento de onda de 254 nm e 365 nm), iodo, anisaldeído sulfúrico, sulfato cérico e Dragendorff. Em seguida, foram analisados por RMN de <sup>1</sup>H (60 MHz) a fim de identificar possíveis classes químicas para começar o fracionamento.

#### 2.4 Fracionamento do extrato hexânico dos galhos

Durante a realização da concentração desse extrato em rota-evaporador, observou-se a formação de cristais brancos. Esses cristais (35,6 mg) foram separados e analisados por CCD. Após a análise, verificou-se mais de uma mancha quando revelado com anisaldeído sulfúrico, então, para possível purificação, foi realizada uma cromatografia em coluna aberta (8 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro) de sílica gel 60 (200-400 Mesh), usando gradiente de acetona em hexano, acetona 100%, MeOH em acetona até MeOH 100%. O volume de cada sistema de eluição adicionado à coluna cromatográfica foi de 30 mL, enquanto que o volume coletado das frações variou de 5 a 10 mL. Foram obtidas 54 frações que após serem analisadas por CCD foram reunidas. Dentre estas, a fração Dpg1.4 (7,6 mg) apresentou apenas uma mancha e então foi enviada para análise em RMN de <sup>1</sup>H.

A fim de purificar as demais substâncias presentes no extrato dos galhos, foi realizado o fracionamento do extrato hexânico restante (4,322 g) de *D. purpurea* em coluna aberta (44 cm de altura e 2 cm de diâmetro) de sílica gel 60 (200-400 Mesh), usando gradiente de DCM em hexano, DCM 100%, AcOEt em DCM, AcOEt 100%, MeOH em AcOEt até MeOH 100%. O volume de cada sistema de eluição adicionado à coluna cromatográfica foi de 300 a 500 mL, enquanto que o volume das frações recolhidas variou de 20 a 150 mL. As frações obtidas foram analisadas por CCD a fim de reunir as semelhantes e determinar qual seria a próxima fração a ser fracionada.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Perfil químico por CCD e RMN

Após análises por CCD do extrato hexânico foram observadas manchas com características de terpenos. Entre as características verificou-se a presença de ligação dupla quando reveladas com iodo, cores lilás e rosa quando reveladas com anisaldeído sulfúrico e sulfato cérico e também verificou-se a ausência de manchas quando reveladas com Dragendorff o que permite afirmar que não há indícios de alcalóides.

Os espectros de RMN (60 MHz) mostraram sinais característicos de triterpenos. Foram observados sinais entre 0,8 e 1,7 ppm referentes a metilas, entre 4 e 5 ppm a presença de ligação dupla terminal e em 5 e 6 ppm a presença de ligação dupla isolada (espectro não mostrado). Com isso pode observar que o extrato hexânico dos galhos de *D. purpurea* é rico em triterpenos.

#### 3.2 Identificação da substância pura

A fração Dpg1.4 foi analisada por RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (figuras 1 e 2). Foram observados sinais em  $\delta_{\text{H}}$  4,58 (*dd*) e em 4,70 (*d*) referentes à ligação dupla terminal do triterpeno com esqueleto lupano e sinais também em  $\delta_{\text{H}}$  3,20 e em  $\delta_{\text{H}}$  2,38. Outros sinais observados em  $\delta_{\text{H}}$  0,77; 0,80; 0,84; 0,96; 0,98; 1,04 e 1,69 referentes a sete metilas justificam essa afirmação (figura 1). Ao analisar o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 2) observaram-se sinais em  $\delta_{\text{C}}$  151,00 e 109,34 característicos de carbonos olefínicos do esqueleto lupano. Os demais sinais foram comparados com a literatura (tabela 1). Este triterpeno foi isolado anteriormente dos troncos de *Diplotropis purpurea* (BRAZ-FILHO et al., 1973).

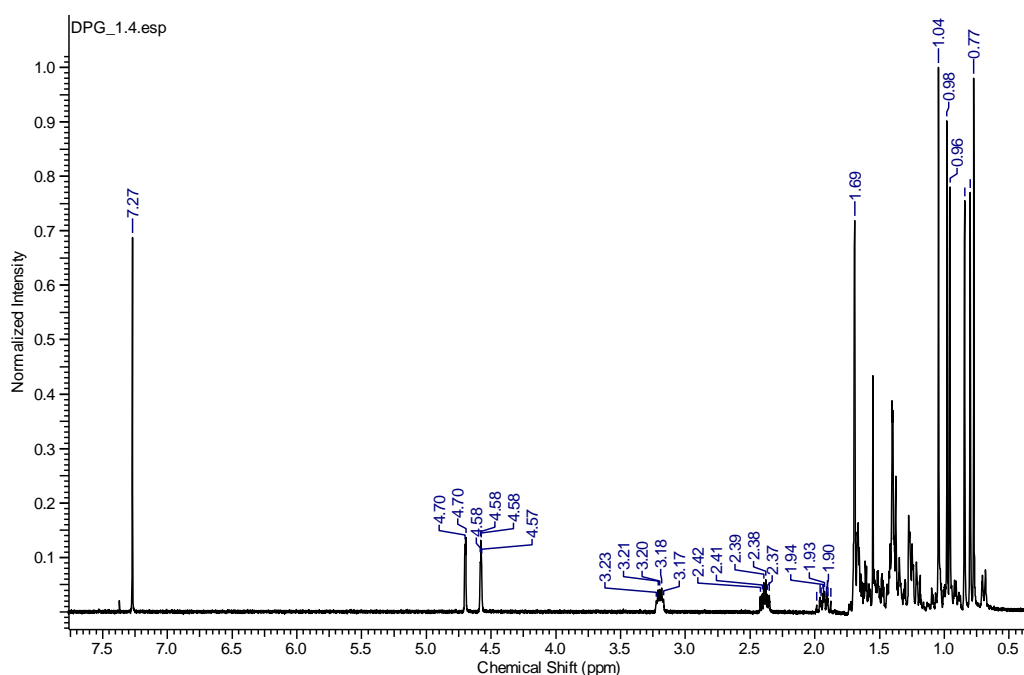


Figura 1. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do lupeol obtido dos galhos de *D. purpurea*.

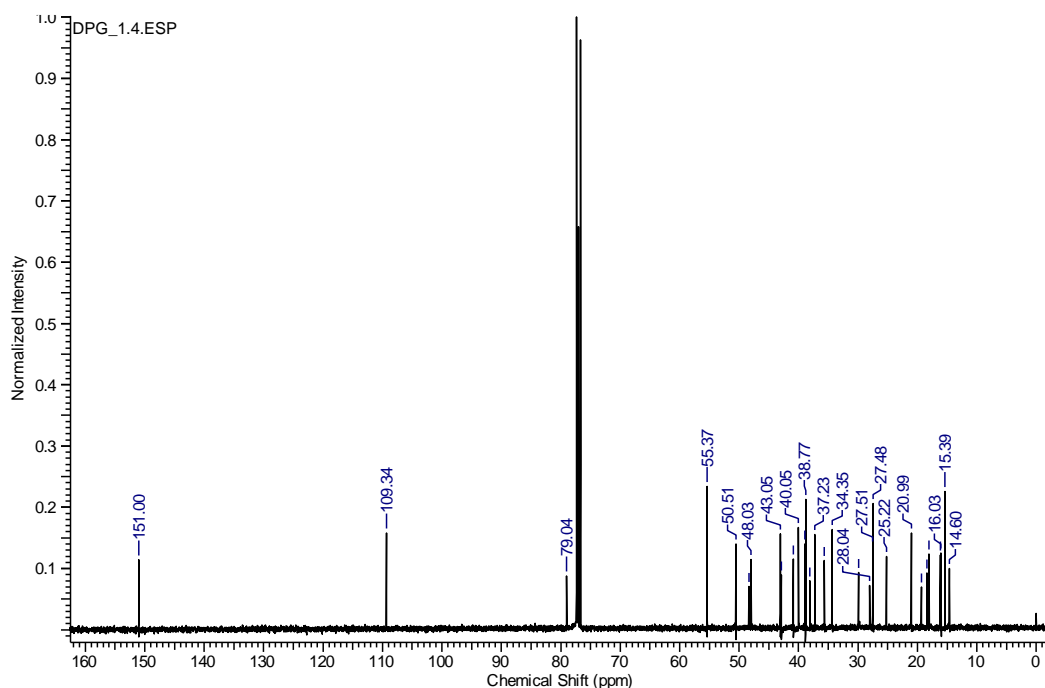
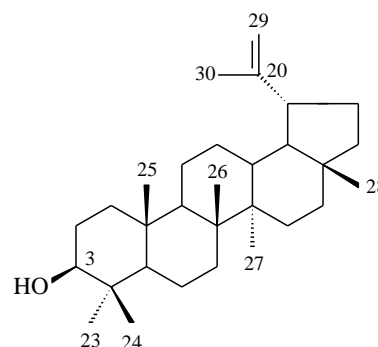


Figura 2. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) do lupeol obtido dos galhos de *D. purpurea*.

Tabela 1. Deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do lupeol (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

|    | $\delta_c$ |                                      |
|----|------------|--------------------------------------|
|    | Observado  | Literatura<br>(CURSINO et al., 2009) |
| 1  | 38,77      | 38,74                                |
| 2  | 27,51      | 27,47                                |
| 3  | 79,04      | 79,01                                |
| 4  | 38,91      | 38,86                                |
| 5  | 55,37      | 55,34                                |
| 6  | 18,36      | 18,33                                |
| 7  | 34,35      | 34,32                                |
| 8  | 40,90      | 40,86                                |
| 9  | 50,51      | 50,47                                |
| 10 | 37,23      | 37,19                                |
| 11 | 20,99      | 20,95                                |
| 12 | 25,22      | 25,19                                |
| 13 | 38,12      | 38,09                                |
| 14 | 42,89      | 42,85                                |
| 15 | 27,48      | 27,42                                |
| 16 | 35,64      | 35,60                                |
| 17 | 43,05      | 43,00                                |
| 18 | 48,37      | 48,34                                |
| 19 | 48,03      | 47,98                                |
| 20 | 151,00     | 150,91                               |
| 21 | 29,90      | 29,87                                |
| 22 | 40,05      | 40,01                                |
| 23 | 28,04      | 27,99                                |
| 24 | 15,39      | 15,35                                |
| 25 | 16,15      | 16,10                                |
| 26 | 16,03      | 15,98                                |
| 27 | 14,60      | 14,55                                |
| 28 | 18,04      | 18,00                                |
| 29 | 109,34     | 109,30                               |
| 30 | 19,34      | 19,31                                |



#### 4. Conclusão

Este trabalho apresentou o perfil químico do extrato hexânico dos galhos de *Diploptropis purpurea*, que mostrou a predominância de substâncias terpênicas. O fracionamento cromatográfico permitiu o isolamento e a identificação estrutural do triterpeno lupeol do extrato hexânico dos galhos de *D. purpurea*. Vale ressaltar que diversas frações obtidas do fracionamento do extrato hexânico mostraram a presença de outros triterpenos. Assim, para a continuidade deste estudo será dada ênfase no isolamento destes, visando à determinação/elucidação estrutural e também determinar o seu potencial biológico.

#### 5. Referências Bibliográficas

- Almeida, J.R.G.S.; Da-Cunha, E.V.L.; Silbva, M.S.; Athayde-Filho, P.F.; Braz-Filho, R.; Barbosa-Filho, J.M. 2003. Outros constituintes químicos de *Diploptropis ferruginea* Benth. (Fabaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13: 44-46.
- Braz-Filho, R.B.; Gottlieb, O.R.; Pinho, S.L.V.; Monte, F.J.Q.; Da Rocha, A.I. 1973. Flavonoids from Amazonian Leguminosae *Phytochemistry*, 12: 1184-1186.
- Carneiro, J.S.; Emmert, L.; Sternadt, G.H.; Mendes, J.C.; Almeida, G.F. 2009. Decay susceptibility of Amazon wood species from Brazil against white rot and brown rot decay fungi. *Holzforschung*, 63: 676-772.
- Cursino, L.M.C.; Mesquita, A.S.S.; Mesquita, D.W.O.; Fernandes, C.C.; Pereira Jr, O.L.P.; Amaral, I.L.; Nunez, C.V. 2009. Triterpenos das folhas de *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). *Acta Amazonica*, 39: 181-186.
- Ferreira, C.A.C. et al. 1999 *Cachoeira da Onça*. Manaus: Fundação Rede Amazônica/ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia- INPA. 106p.
- Guehl, J.M.; Domenach, A.M.; Bereau, M.; Barigah, T.S.; Casabianca, H.; Ferhi, A.; Garbaye, J. 1998. *Functional diversity in a rainforest of French Guyana: a dual isotope approach (615N and 613C)*.
- Kaiser, J. Prepare to be floored. *Wood & Wood Products*, 2007. Kinghorn, A.D.; Balandrin, M.F.; Lin, L.J. *Phytochemistry*, 21: 2269.
- Lima, J.T.; Almeida, J.R.G.S.; Barbosa-Filho, J.M.; Assis, T.S.; Silva, M.S.; Da-Cunha, E.V.L.; Braz-Filho, R.; Silva, B.A. 2005. Spasmolytic Action of Diploptropin, a Furanoflavan from *Diploptropis ferruginea* Benth., Involves Calcium Blockade in Guinea-Pig Ileum, *Z. Naturforsch*, 60b: 1093-1100.
- MOBOT, 2013. <http://www.tropicos.org/Name/13000464?tab=synonyms>, acessado em junho de 2013.
- Mantovani, W. <http://www.comciencia.br/reportagens/2005/08/10.shtml>, acessado em junho de 2013.
- Nogueira, E.M.; Fearnside, P.M.; Nelson, B.W.; França, M.B. 2007. Wood density in forests of Brazil's 'arc of deforestation': Implications for biomass and flux of carbon from land-use change in Amazonia. *Forest Ecology and Management*, 248: 119-135.
- Ribeiro, J.E.L. Da S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A. da S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E. da C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R.; Procópio, L.C. 1999. *Guia à Flora da Reserva Ducke – Identificando as plantas vasculares de uma floresta de terra-firma na Amazônia Central*. INPA. Manaus – AM. 464 p.
- Vogt, C. <http://www.comciencia.br/reportagens/2005/04/01.shtml>, acessado em junho de 2013.