



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

LETÍCIA DO VALE OLIVEIRA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DA MADEIRA DA ESPÉCIE
VEGETAL *MARTIODENDRON ELATUM* (FABACEAE)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BRASÍLIA - DF

1º/2021



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

LETÍCIA DO VALE OLIVEIRA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DA MADEIRA DA ESPÉCIE
VEGETAL *MARTIODENDRON ELATUM* (FABACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como requisito parcial para conclusão do curso de Bacharelado em Química.

Orientador: Prof. Mauro Vicentini Correia

BRASÍLIA – DF

1º / 2021

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Rose e Beto, por todo apoio, incentivo e amor durante a minha trajetória na graduação.

Agradeço ao meu irmão, André, pelo apoio e ajuda na correção da escrita do trabalho.

Agradeço aos meus amigos que conheci no curso, em especial a Clarisse, Ricardo, Matheus de Paula, Malaquias, Carol e Henrique, que tornaram todos esses anos mais fáceis. Uns escolheram caminhos diferentes, outros não, mas a amizade permanece.

Agradeço ao meu orientador Mauro Vicentini pela orientação, compreensão, paciência e apoio na realização deste trabalho. Aos professores, Aline e Wender, pela participação na banca e sugestões na correção do trabalho.

Agradeço a todos os meus colegas do LAQUIMET, em especial a Laís, minha dupla nos experimentos deste trabalho.

RESUMO

A família Fabaceae é a maior família botânica do Brasil conferindo uma grande diversidade de espécimes madeireiras com aplicações em diversas áreas, com foco na química medicinal. Entretanto, muitas espécies ainda precisam ser estudadas quimicamente no intuito de identificar metabólitos secundários presentes em seus organismos que podem possuir atividades biológicas. O presente trabalho descreve a análise fitoquímica da espécie vegetal *Martiodendron elatum*, no qual realizou-se a extração da madeira da espécie por maceração em acetato de etila como solvente, e em seguida, a obtenção do seu extrato bruto. Esse extrato foi submetido a testes fitoquímicos com o objetivo de detectar metabólitos secundários, resultando em positivo para fenóis/taninos e triterpenoides. A análise por RMN de próton do extrato bruto identificou picos característicos para os grupos que deram positivos na prospecção fitoquímica, como sinais intensos entre 0,7 e 3,0 ppm de grupos metílicos e metilenos de triterpenoides, e sinais na região dos aromáticos para compostos fenólicos. Portanto, essa análise qualitativa indica a possibilidade de haver essas duas classes de compostos químicos na espécie. Além disso, as frações obtidas após o fracionamento pela cromatografia em coluna foram analisadas pela cromatografia em camada delgada, onde as separações nas placas cromatográficas só foram visualizadas a 365 nm, sugerindo que há substâncias químicas com características fluorescentes.

Palavras-chave: fitoquímica; fabaceae; *Martiodendron elatum*; extrato vegetal.

ABSTRACT

The Fabaceae family is the largest botanical family in Brazil, providing a great diversity of wood specimens with applications in several areas, with a focus on medicinal chemistry. However, many species still need to be chemically studied to identify secondary metabolites present in their organisms that may have biological activities. The present work describes the phytochemical analysis of the plant species *Martiodendron elatum*, in which the wood of the species was extracted by maceration in ethyl acetate as a solvent, and then, its crude extract was obtained. This extract was submitted to phytochemical tests to detect secondary metabolites, resulting in a positive result for phenols/tannins and triterpenoids. Proton NMR analysis of the crude extract identified characteristic peaks for the groups that were positive in the phytochemical prospection, such as intense signals between 0.7 and 3.0 ppm of methyl and methylene groups of triterpenoids, and signals in the region of aromatics for compounds phenolics. Therefore, this qualitative analysis indicates the possibility of these two classes of chemical compounds in the species. In addition, the fractions obtained after fractionation by column chromatography were analyzed by thin layer chromatography, where separations on chromatographic plates were only visualized at 365 nm, suggesting that there are chemical substances with fluorescent characteristics.

Keywords: phytochemistry; fabaceae; *martiodendron elatum*; plant extract.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	10
2.1.1 Compostos fenólicos	12
2.1.2 Alcaloides	15
2.1.3 Terpenos	17
2.2 FAMÍLIA FABACEAE	18
2.2.1 Gênero <i>Martiodendron</i> Gleason	20
2.2.2 Espécie vegetal <i>Martiodendron elatum</i>	21
3 OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GERAL	24
3.1.1 Objetivos específicos.....	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	25
4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO VEGETAL	25
4.3 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	27
4.3.1 Teste para fenóis e taninos.....	27
4.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	27
4.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.....	28
4.3.4 Teste para flavonas, flavonóis, flavononois e xantonas (reação de Shinoda)	28
4.3.5 Teste para esteroides e triterpenoides (reação de Liebermann-Burchard)	29
4.3.6 Teste para saponinas.....	29
4.3.7 Teste para alcaloides	29
4.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO DE ACETATO DE ETILA POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA (CC)	30

4.5 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	31
4.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PRÓTON (RMN DE ¹ H).....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO DE ACETATO DE ETILA.....	32
5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	33
5.2.1 Fenóis e taninos.....	33
5.2.2 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides.....	34
5.2.3 Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	35
5.2.4 Flavonas, flavonóis, flavononois e xantonas (reação de Shinoda)	36
5.2.5 Esteroides e triterpenoides (reação de Liebermann-Burchard).....	38
5.2.6 Saponinas	39
5.2.7 Alcaloides	40
5.3 ANÁLISE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POSITIVOS PELO TESTE FITOQUÍMICO POR RMN DE ¹ H.....	41
5.4 ANÁLISE DAS FRAÇÕES OBTIDAS DA CROMATOGRAFIA EM COLUNA POR CCD	48
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	51
REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

As plantas estão distribuídas em diversos ambientes pelo mundo e, assim como todos os seres vivos, apresentam a capacidade de se adaptar ao meio em que estão inseridas produzindo compostos químicos, denominados de metabólitos secundários, em seus organismos como um mecanismo de defesa contra fatores que podem afetá-las na sobrevivência em ecossistemas, como as mudanças climáticas, poluição, ataques de patógenos e outros (PAGARE et al., 2015). Não estando relacionados apenas com as funções protetoras, alguns desses compostos também são responsáveis pelo aroma, sabor e pigmentação, servindo como atrativos de insetos polinizadores (KURMUKOV, 2013; WINKEL-SHIRLEY, 2001).

A diversidade estrutural dos metabólitos secundários aumenta o potencial de suas aplicações em variados setores, com destaque para o uso medicinal, uma vez que, muitos desses compostos possuem propriedades biológicas antioxidantes, antivirais, antimicrobianas, anti-inflamatórias e outras, que os tornam eficazes em tratamento de enfermidades e doenças humanas (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Um exemplo são os alcaloides vincristina (Figura 1-1) e vimblastina (Figura 1-2) isolados de uma planta chamada *Catharanthus roseus*, os quais são agentes antitumorais utilizados no tratamento de linfoma de Hodking, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil (BRANDÃO et al., 2010; FILHO, 2010).

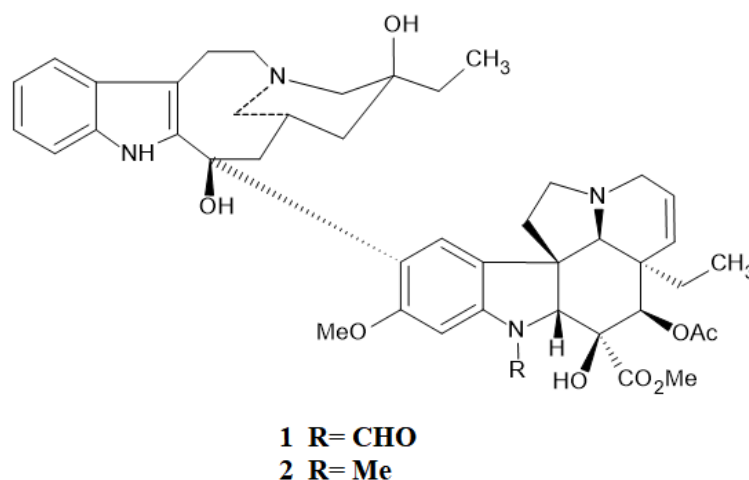


Figura 1 – Estruturas químicas da vincristina (1) e vimblastina (2). Fonte: BRANDÃO et al, 2010 – Feito no ChemSketch.

A área responsável pela análise de componentes químicos de espécies vegetais é a fitoquímica, que visa o isolamento de metabólitos secundários e suas elucidações estruturais utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas, assim como o entendimento de suas rotas biossintéticas (SIMÕES et al., 2017). Muitas famílias botânicas foram avaliadas fitoquimicamente, mas ainda é pouco considerando a diversidade de plantas no mundo. Estima-se que há mais de 250.000 espécies vegetais e apenas 5-15% foram investigadas quimicamente para o desenvolvimento de fármaco, evidenciando que ainda existe muitas fontes naturais com grandes potenciais biológicos a serem descobertas e que podem contribuir para o avanço na medicina tradicional (FILHO, 2010).

Um exemplo de família que abrange muitas espécies vegetais com utilidades medicinais, nutricionais e tecnológicas é a família Fabaceae ou Leguminosae. Os flavonoides, por exemplo, são compostos químicos que se encontram em abundância dentro dessa família e se destacam pelas suas atividades antioxidantes. Além dos flavonoides, estudos sobre a composição química de espécies leguminosas arbóreas revelaram a presença de alcaloides, terpenoides e outros (BARBOSA et al., 2006).

Uma das espécies que pertence à família Fabaceae é a *Martiodendron Elatum*. Conhecida pelo seu nome comum como Jutaí-cica, é uma árvore de grande porte que tem distribuição geográfica dentro do bioma Amazônia (SILVA; EVANGELISTA, 2021). Entretanto, pesquisas científicas relacionadas a análise fitoquímica em qualquer parte específica dessa espécie ou dentro do gênero *Martiodendron* são praticamente escassas, totalizando na identificação de apenas oito compostos químicos, sendo quatro triterpenoides (β -amirina, β -sitoesterol acetilado, β -sitoesterol e estigmasterol), um composto fenólico (álcool homovanílico), dois álcoois (3-hexanol e 1-fenil-1-propanol) e uma cetona (5-nonanona) (GARCIA, 2021; SOARES et al., 2018).

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo contribuir com estudos químicos da espécie *Martiodendron elatum* através de análises qualitativas a fim de identificar as principais classes de metabólitos secundários presentes em seus extratos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Uma série de reações químicas ocorre constantemente nas células dos organismos vivos constituindo o metabolismo (ÁVALOS; CARRIL, 2009). O produto e o intermediário dessas reações são chamados de metabólitos, onde nas células vegetais dividem-se em primários e secundários (SAAD et al., 2016; THIRUMURUGAN et al., 2018). Os primários cumprem funções que são comuns em todas as plantas e são fundamentais para o desenvolvimento, crescimento e reprodução. Referem-se aos aminoácidos, proteínas, carboidratos, nucleotídeos e ácidos graxos. Os secundários não tem distribuição universal, ou seja, são em geral biossintetizados em pequenas concentrações e distribuídos de forma restrita a uma determinada espécie, família ou gênero (SAAD et al., 2016; SIMÕES et al., 2017). Não são considerados essenciais como os metabólitos primários, mas desempenham papéis importantes para a sobrevivência de espécies que estão suscetíveis a viverem em ambientes desfavoráveis (BOURGAUD et al., 2001).

Os metabólitos secundários são derivados do metabolismo primário. Ou seja, são produzidos a partir de metabólitos das vias metabólicas primárias. Destaca-se entre esses metabólitos o fosfoenolpiruvato, piruvato, 3-fosfoglicerato, eritrose-4-fosfato e acetil-coA, que são precursores das principais vias do metabolismo secundário, e conseqüentemente, dos produtos secundários (compostos fenólicos, alcaloides e terpenos) (Figura 2) (COELHO, 2018; TAIZ; ZEIGER, 2002).

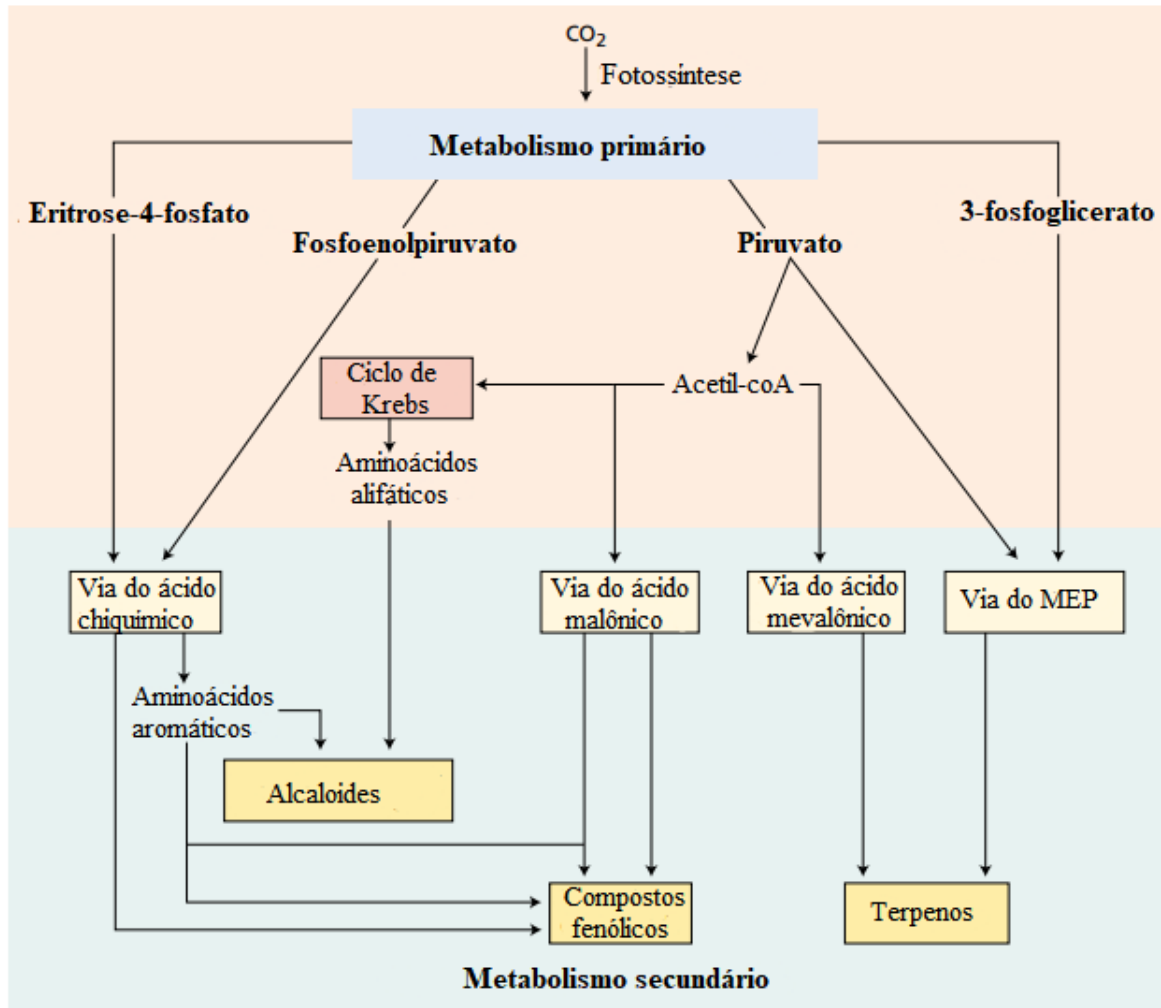


Figura 2 – Biossíntese dos metabólitos secundários, a partir da glicólise, resultante dos processos de fotossíntese. As vias ácido chiquímico, acetil-coA, ácido mevalônico e MEP são as principais rotas para a formação dos metabólitos secundários representados em retângulos amarelos (alcaloides, compostos fenólicos, terpenos). Fonte: TAIZ; ZEIGER, 2002.

Nas espécies vegetais, as principais funções dos metabólitos secundários estão relacionadas a proteção contra danos ambientais (poluição, exposição aos raios ultravioletas, seca), ataques de patógenos (vírus, fungos e bactérias) e animais herbívoros (KURMUKOV, 2013; SAAD et al., 2016). Muitos são responsáveis por atribuir cor e aroma a flores e frutos atraindo insetos polinizadores importantes para reprodução, ou animais para a dispersão de sementes com o objetivo de perpetuar suas espécies em outros locais (ÁVALOS; CARRIL, 2009).

O fornecimento de metabólitos secundários pelo reino vegetal contribui de forma significativa para aplicações em alimentos, cosméticos e medicamentos. As propriedades biológicas, como por exemplo as atividades antivirais, antimicrobianas e antioxidantes, além

de serem utilizadas pelas plantas em respostas aos estímulos do meio ambiente, são de interesse para o desenvolvimento de fármacos (SIMÕES et al., 2017). Apesar desses compostos químicos serem modelos para a produção de medicamentos sintéticos, como a morfina, penicilina, vincristina e paclitaxel, a variedade e complexidade de muitas moléculas que constituem os metabólitos secundários torna difícil a síntese em laboratório. Sendo assim, muitos fármacos são produzidos através de matéria-prima vegetal (SIMÕES et al., 2017; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). A tabela 1 apresenta alguns exemplos de medicamentos obtidos de matéria-prima vegetal e seus efeitos terapêuticos.

Tabela 1 – Exemplos de fármacos obtidos de matérias-primas vegetais.

Fármaco	Utilização terapêutica	Espécie
Capsaicina	Anestésico tópico	Espécies de <i>Capsum</i>
Reserpina	Anti-hipertensivo	Espécies de <i>Ravoulfia</i>
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i> L.
Quinina	Antimalárico	Espécies de <i>cinchona</i>
Colchicina	Antirreumático	<i>Colchicum autumnale</i> L.

Fonte: SIMÕES et al., 2017.

2.1.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, como o próprio nome diz, são compostos que apresentam pelo menos um anel aromático com substituintes hidroxilas (-OH). Algumas estruturas de fenóis simples estão representadas na Figura 3, entretanto esse grupo varia desde estruturas mais simples até as mais complexas, como os flavonoides (SAAD et al., 2016).

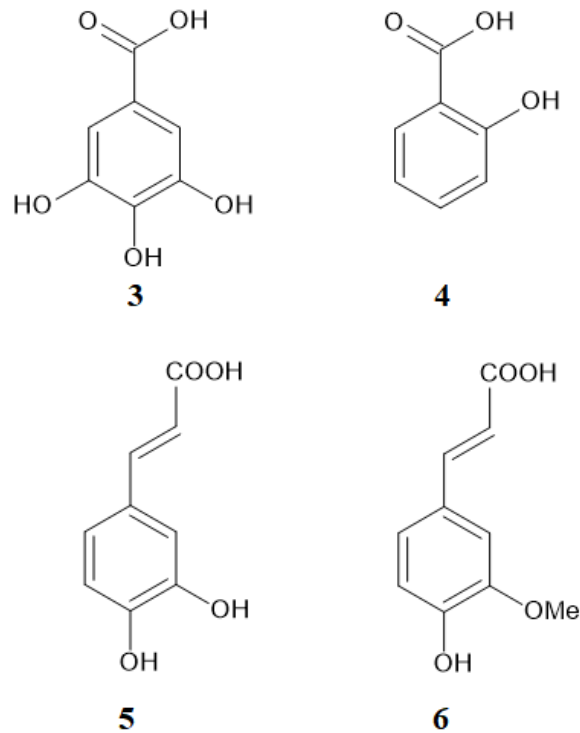


Figura 3 – Estrutura química de fenóis simples ou ácidos fenólicos: ácido gálico (3); ácido salicílico (4); ácido sinápico (5); ácido ferúlico (6). Fonte: KURMUKOV, 2013 - Feito no ChemSketch.

São considerados o maior grupo de metabólitos secundários e o mais distribuído dentro do reino vegetal. Desempenham papéis importantes para as células vegetais na proteção contra raios UV, que podem afetar o DNA e a fotossíntese das plantas, e na defesa contra patógenos (BABENKO et al., 2019). Uma propriedade biológica bem conhecida é a atividade antioxidante, que acaba se tornando foco de muitos estudos para a saúde humana, uma vez que nas células aeróbicas ocorrem várias reações oxidativas que levam a formação de radicais livres responsáveis por diversas doenças como inflamações, tumores, Alzheimer e doenças cardiovasculares (SILVA et al., 2010).

Os flavonoides são uma classe de polifenóis que se destacam por suas atividades biológicas, dentre elas antimicrobianas, citotóxicas, anti-inflamatórias e, principalmente, a capacidade de agirem como bons antioxidantes (BRODOWSKA, 2017; SILVA et al., 2010). Nas plantas, são responsáveis por suas defesas contra insetos, vírus, fungos e bactérias, proteção contra raios UV e pigmentação, além de conferir cores vibrante a folhas e flores (PAGARE et al., 2015). Estão bastante presentes na família Fabaceae, e por esse motivo, a família é alvo de

muitas pesquisas devido à essa diversidade de compostos flavonoides em suas espécies com grandes potenciais biológicos (BARBOSA et al., 2006).

Por terem uma grande variedade estrutural, os flavonoides são divididos em subgrupos representados pelos isoflavonoides, flavonóis, antocianinas, chalconas, flavonas e flavononas. A estrutura geral dos flavonoides segue um sistema C₆-C₃-C₆, onde os dois anéis aromáticos são ligados por uma cadeia de três carbonos entre eles (Figura 4). A divisão em subgrupos é em razão das diferentes posições do anel aromático B nas numerações 2 e 3 do anel cíclico C, com exceção das chalconas, cuja estrutura que liga as fenilas A e B é aberta, e das antocianinas que se diferenciam pela presença do cátion (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

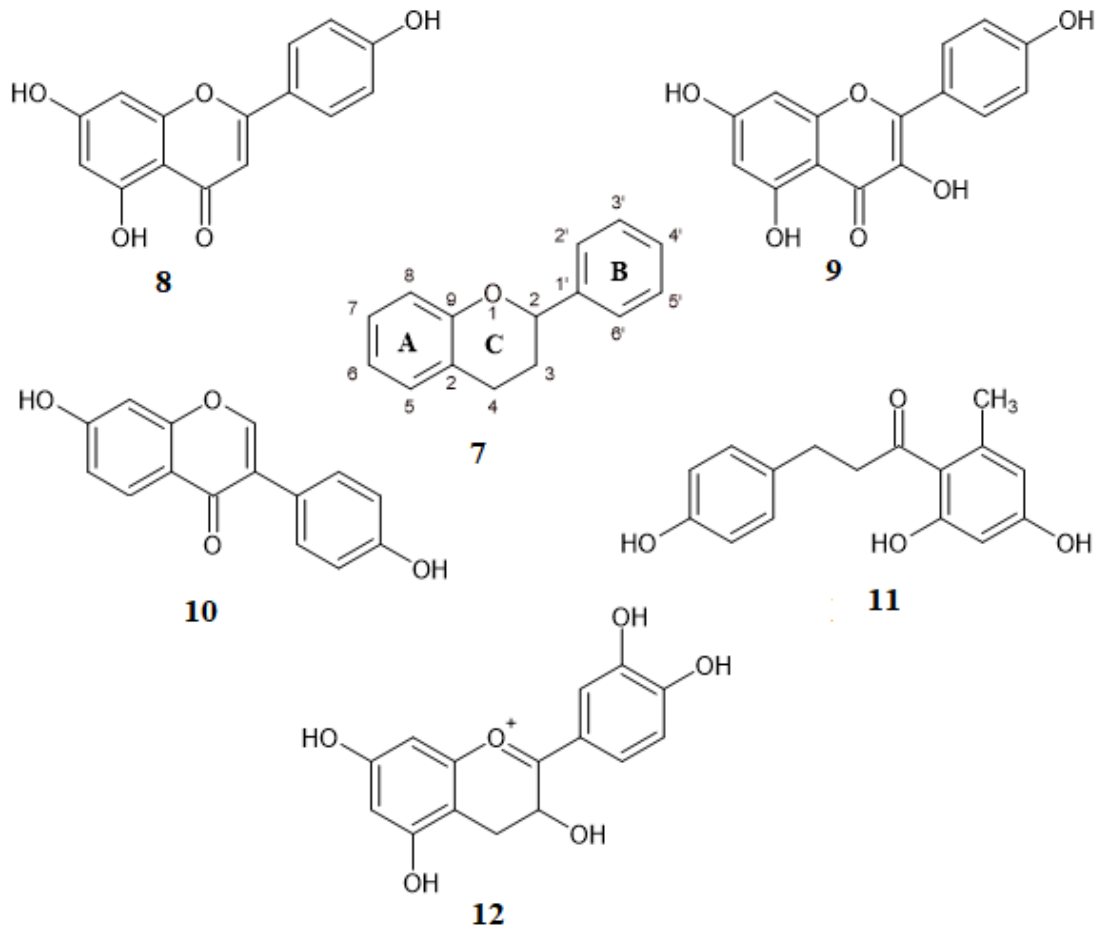


Figura 4 – Estrutura geral dos flavonoides (7) e exemplos dos subgrupos. Flavona: apigenina (8); flavonol: kaempferol (9); isoflavonoide: daidzeína (10); chalcona: fletina (11); antocianina: cianidina (12). Fonte: Adaptado de PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016 - Feito no ChemSketch.

2.1.2 Alcaloides

A origem biossintética dos alcaloides foi um ponto fundamental na definição mais atual sobre as características dos compostos orgânicos que se enquadram nesse grupo. O termo alcaloide foi proposto pela primeira vez pelo farmacêutico W. Meissner em 1819, referindo como compostos de origem vegetal com propriedades básicas (GÜVEN; PERCOT; SEZIK, 2010). Hoje, com estudos sobre a biossíntese do metabolismo vegetal, incluíram outros pré-requisitos, como a presença de nitrogênios em um heterociclo, aminoácidos como precursores, e não necessariamente ter características básicas. A grande variedade estrutural por parte desse grupo dificultou uma classificação racional de todas as substâncias, então três subclasses foram criadas na intenção de dividir os compostos nitrogenados de acordo com a rota biossintética, sendo elas os alcaloides verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides (Figura 5). Os alcaloides verdadeiros são àqueles derivados de aminoácidos e que contém o nitrogênio em um heterociclo, enquanto nos protoalcaloides, o nitrogênio não faz parte do anel heterocíclico. Os pseudoalcaloides não são derivados de aminoácidos e a presença do nitrogênio em suas estruturas se deve a reações de transaminação (KURMUKOV, 2013; SIMÕES et al., 2017)

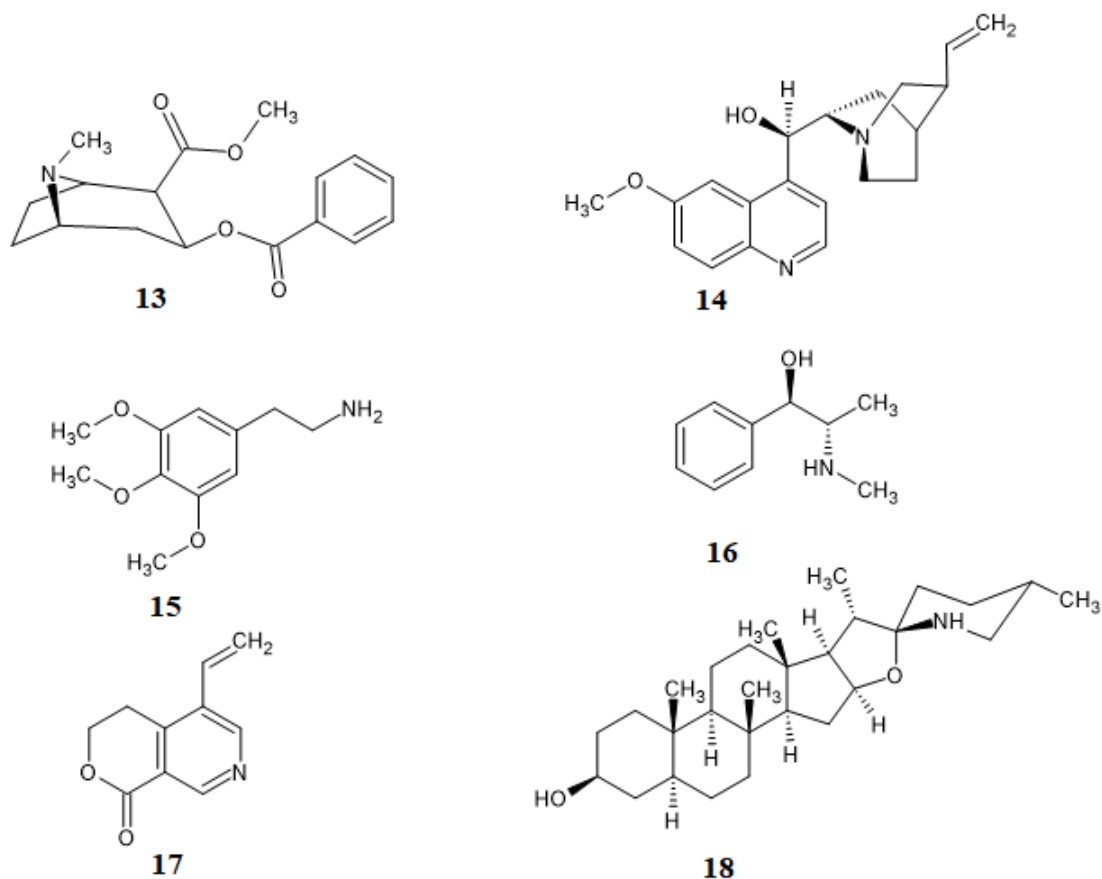


Figura 5 – Alcaloides verdadeiros: cocaína (13) e quinina (14). Protoalcaloides: mescalina (15) e efedrina (16). Pseudoalcaloides: gentianina (17) e tomatidina (18). Fonte: SOUZA, 2014 - Feito no ChemSketch.

Os alcaloides estão entre as drogas mais importantes da história humana. A morfina foi o primeiro alcaloide extraído da espécie vegetal *Papaver somniferum*, flor de papoula, em 1804. É utilizada como um forte analgésico e sua descoberta é considerada um fator que impulsionou estudos sobre os metabólitos secundários. As drogas mais conhecidas e usadas atualmente além da morfina são a cafeína e nicotina, que promovem efeitos estimulantes no sistema nervoso central (SNC), e a cocaína, uma droga psicoativa ilícita. A toxicidade é muito conhecida por parte desse grupo e essa propriedade é efetiva tanto na defesa de plantas contra predadores e patógenos, mas também na prospecção de novos medicamentos, como por exemplo, para combater certos tipos de células tumorais (MATSUURA; FETT-NETO, 2015).

2.1.3 Terpenos

Os terpenos são considerados o grupo mais diverso de produtos naturais, variando em estruturas lineares e policíclicas. São derivados da condensação de difosfato de isopentenila e difosfato de dimetilalila (análogos biossintéticos do isopreno) e classificados com base em unidades de cinco carbonos (C5). São separados em hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e os politerpenos, cujas estruturas contém mais de 40 unidades de carbonos (AGOSTINI-COSTA et al., 2012; OLDFIELD; LIN, 2012).

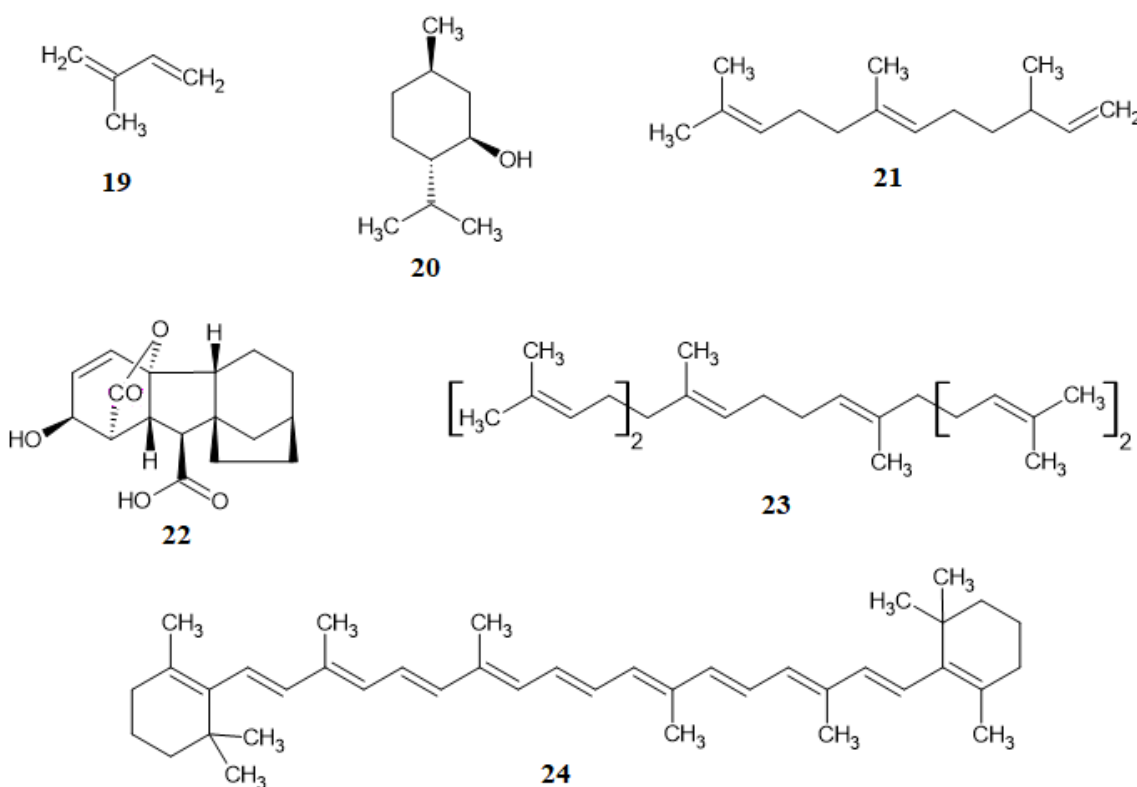


Figura 6 – Exemplos de terpenos de acordo com as suas classificações. Hemiterpeno: isopreno (19); monoterpeno: mentol (20); sesquiterpeno: farneseno (21); diterpeno: ácido giberélico (22); triterpeno: esqualeno (23); politerpeno: β -caroteno (24). Fonte: OLDFIELD; LIN, 2012 - Feito no ChemSketch.

As plantas possuem a capacidade de produzir terpenos voláteis na intenção de atrair insetos polinizadores ou afastar animais herbívoros. Os sesquiterpenos e monoterpenos, com estruturas de menor massa molecular, são exemplos de óleos que apresentam uma volatilidade

acentuada. Essa característica além de ser responsável pelo aroma das folhas, é importante por agir como inseticidas e repelentes de fungos e pragas (BORGES; AMORIM, 2020; FELIPE; BICAS, 2017). Propriedades medicinais também foram relatadas na literatura, dentre elas, as atividades cancerígenas, antimicrobianas e antiparasitas. A artemisinina, por exemplo, é uma lactona sesquiterpênica e um importante fármaco conhecido no tratamento de malária (BORGES; AMORIM, 2020; KURMUKOV, 2013; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

2.2 FAMÍLIA FABACEAE

Dentro das 416 famílias de angiospermas registradas desde 2016 pelo sistema de classificação das plantas com flores (APG IV), a família Fabaceae ou Leguminosae está entre as cinco maiores do mundo ocupando o terceiro lugar com 20.856 espécies, conforme a Tabela 2 (ALLKIN et al., 2017; GOMES; SILVA; CONCEIÇÃO, 2017). No Brasil, é a maior família botânica atribuindo 2.826 espécies e 222 gêneros, sendo encontrada em diversas regiões do país, sobretudo nos ecossistemas amazônicos. Essa grande diversidade confere uma importância econômica, principalmente pela presença de espécimes madeireiras. Entretanto, aplicações em outras áreas também vêm sendo exploradas, como na nutrição pela produção de grãos em vagens (feijão, lentilhas, ervilhas, vagens, favas e sojas), medicina, corantes, gomas naturais e outras (BARBOSA et al., 2006; MOTTA et al., 2016; SOUZA, 2012).

Tabela 2 – As cinco maiores famílias de angiospermas do mundo e o número de suas espécies.

Família	Número de espécies
Asteraceae	32.581
Orchidaceae	26.237
Fabaceae	20.856
Rubiaceae	13.686
Poaceae	11.434

Fonte: ALLKIN et al, 2017.

A flexibilidade viver em ambientes diferentes é uma particularidade dessa família, podendo estar presente em desertos, florestas tropicais úmidas, serras montanhosas, litorais arenosos, e até em ambientes aquáticos. As espécies variam em arbustos, subarbustos, trepadeiras, lianas, árvores de pequeno a grande porte e ervas. Em relação as características físicas, suas folhas são compostas e alternas com frutos do tipo legume, e as flores são andróginas (hermafroditas) (FERNANDES; GARGIA, 2008; SOUZA, 2012).

As espécies da família Fabaceae produzem diversos metabólitos secundários com variadas propriedades biológicas em seus organismos e apesar dos flavonoides estarem em predominância, outras classes de metabólitos secundários também são encontradas, como os alcaloides, terpenos e fenóis simples (BARBOSA et al., 2006). A Tabela 3 mostra alguns exemplos da ocorrência de metabólitos secundários dentro da família Fabaceae e suas atividades farmacológicas.

Tabela 3 – Metabólitos secundários na Leguminosae e suas propriedades farmacológicas.

Metabólito secundário	Nomes dos compostos orgânicos nas espécies	Principal ocorrência	Atividades farmacológicas
Alcaloides	Monocrotalina, senecionina	<i>Crotalaria;</i> <i>Lotononis</i>	Mutagênicos e carcinogênicos
Fenóis simples	Vanilina, ácido ferúlico, ácido gálico, hidroxibenzaldeído	Amplamente distribuídos pela família	Antioxidantes; antimicrobianos
Flavonoides	Quercetina, kaempferol	Amplamente distribuídos	Atividades antimicrobiana e anti-herbívora; antioxidantes
Terpenos	Linalol, citronelol, limoneno	Poucas espécies com flores perfumadas	Atrair insetos polinizadores; antimicrobianos

Fonte: Adaptado de WINK, 2013.

2.2.1 Gênero *Martiodendron* Gleason

O gênero *Martiodendron* Gleason pertence à família Fabaceae e é composto por quatro espécies: *Martiodendron elatum*, *Martiodendron excelsum*, *Martiodendron mediterraneum* e *Martiodendron parviflorum*. As espécies desse gênero são árvores de médio a grande porte, algumas com altas sapopemas na base do tronco, ou seja, um tipo de raiz grande que cresce junto com o tronco, e as flores são dispostas em inflorescência de coloração amarelo-intenso. No Brasil, encontram-se no Amazonas, Pará, Roraima, Acre, Amapá e no nordeste do país, especificamente na Bahia (SILVA; CARREIRA; SOUZA, 2005).

São poucas as publicações científicas referentes a análise fitoquímica do gênero *Martiodendron*, necessitando um maior estudo nessa área para determinar os compostos químicos presentes em suas espécies. Na figura 7 são apresentadas algumas estruturas isoladas do gênero *Martiodendron*, sendo todas da espécie *Martiodendron excelsum*.

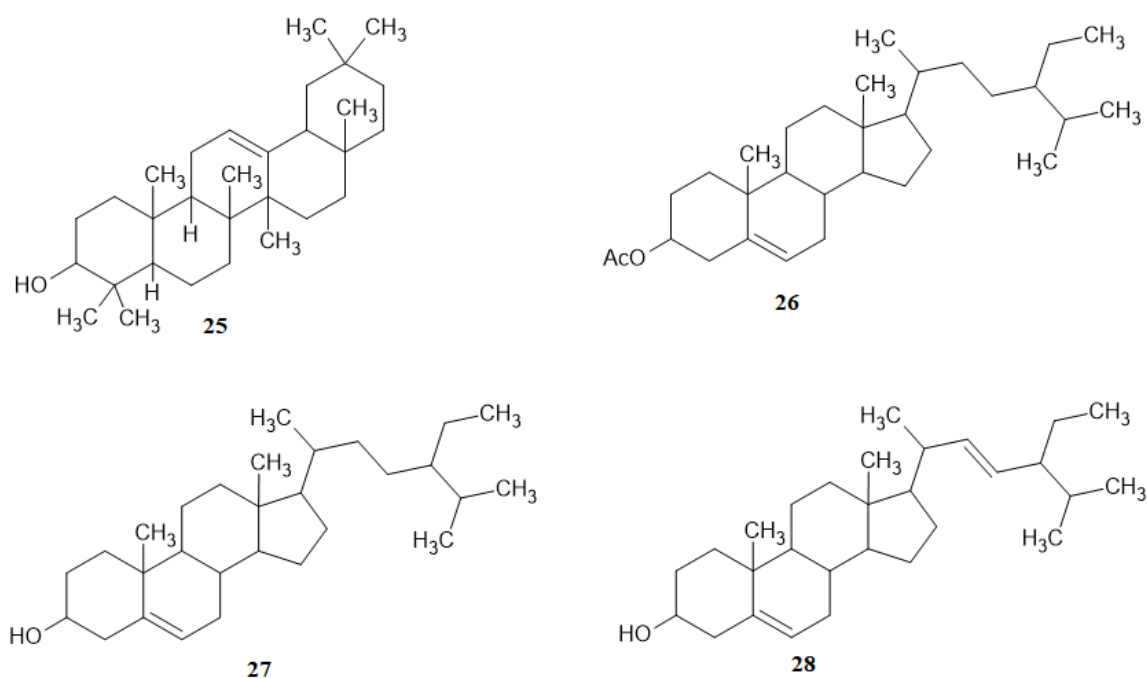


Figura 7 – Substâncias isoladas do extrato etanólico da casca de *Martiodendron excelsum*. β-amirina (25); β-sitosterol acetilado (26); mistura de β-sitosterol (27) e estigmasterol (28). Fonte: SOARES et al., 2018 - Feito no ChemSketch.

Todas as substâncias da Figura 7 são triterpenos, entretanto os compostos 26, 27 e 28 são chamados de esteroides pelo sistema tetracíclico peridrofenantrênico com três anéis de seis membros e um anel de cinco, diferenciando-se da β -amirina cuja estrutura é um pentacíclico (ARAGÃO, 2008; SILVA, 2005).

Não foram encontradas pesquisas sobre análise fitoquímica das espécies *Martiodendron mediterraneum* e *Martiodendron parviflorum*. Informações sobre a *Martiodendron elatum*, espécie estudada no presente trabalho, serão abordadas na seção seguinte.

2.2.2 Espécie vegetal *Martiodendron elatum*

Martiodendron elatum é uma espécie de árvore que tem como nome comum Jutaí-cica. Tem ampla distribuição geográfica no Brasil, sendo encontrada nos estados representados abaixo (SILVA; EVANGELISTA, 2021).



Figura 8 – Distribuição geográfica da Jutaí-cica nos estados do Amazonas, Acre, Pará, Roraima, Mato Grosso, Tocantins e Maranhão. Fonte: SIBBR, 2021.

A espécie possui árvores de grande porte com 30 a 50 m de altura, com ou sem sapopemas de até 3 m de altura. As folhas são alternas medindo entre 16-33 cm de comprimento e com inflorescência terminal, isto é, o eixo principal termina com flores (SILVA; EVANGELISTA, 2021; SILVA; CARREIRA; SOUZA, 2005). As flores são amareladas e os frutos são sâmaras, um tipo de fruto seco de cor vermelho a vináceo e que possui apenas uma semente (FALCÃO; MANSANO, 2020).

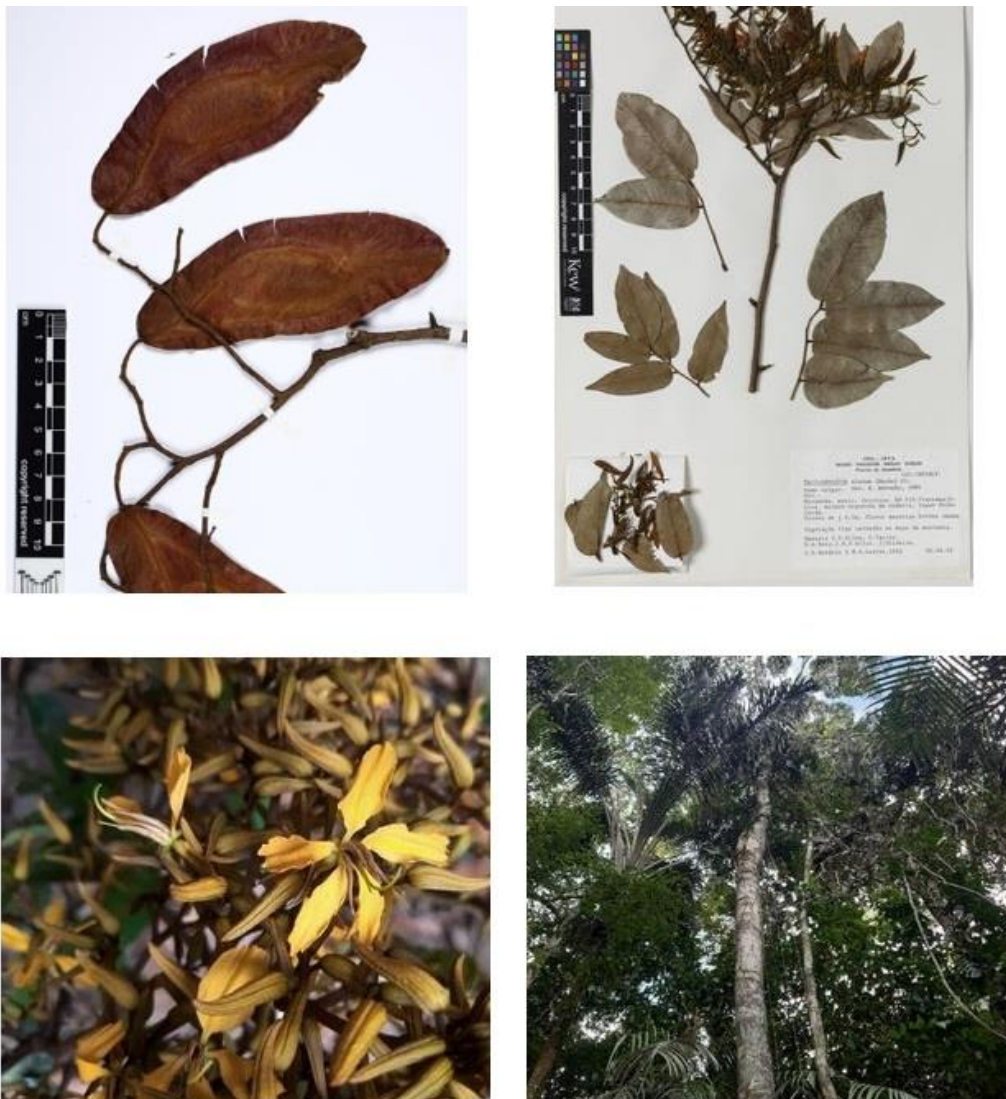


Figura 9 – *Martiodendron elatum*. Destaque para os frutos, folhas, flores e tronco. Fonte: PLANTS OF THE WORLD ONLINE, 2021; FALCÃO; MANSANO, 2020.

A madeira é considerada dura e moderadamente pesada, e apresenta coloração castanho-claro a avermelhada. É utilizada em construção civil na produção de móveis, guarnições, forros, vigas, marcos de portas, janelas e assoalhos (SILVA, 2018).

Com relação às pesquisas fitoquímicas, apenas quatro compostos químicos foram identificados em extratos brutos de acetato de etila e hexano da madeira da *Matiodendron elatum* em um trabalho feito por Garcia (2021) (Figura 10), evidenciando a falta de aprofundamento em estudos químicos na espécie.

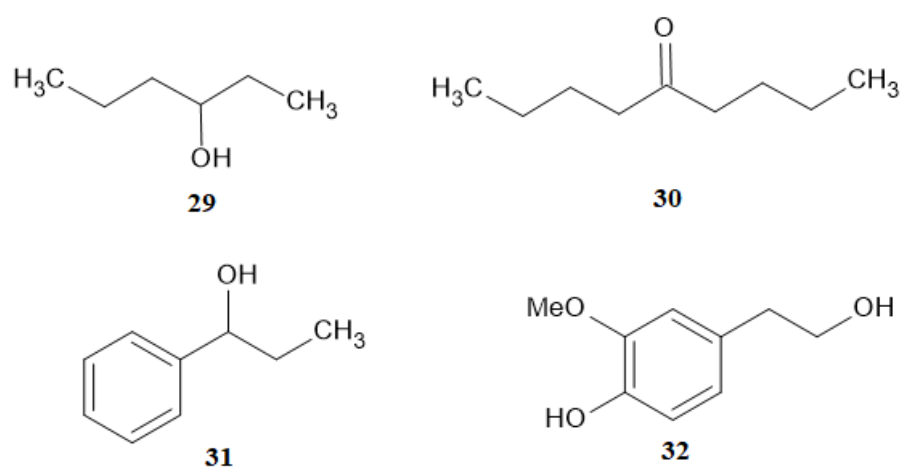


Figura 10 – Compostos químicos encontrados na madeira da *Matiodendron elatum*. 3-hexanol (29); 5-nonanona (30); 1-fenil-1-propanol (31); álcool homovanílico (32). Fonte: GARCIA, 2021 - Feito no ChemSketch.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Contribuir com estudos químicos da espécie vegetal *Martiodendron elatum* através de análises qualitativas.

3.1.1 Objetivos específicos

- Realizar a prospecção fitoquímica do extrato bruto de acetato da madeira da espécie a fim de identificar as principais classes de metabólitos secundários;
- Analisar o extrato bruto por RMN de ^1H ;
- Realizar procedimentos fitoquímicos, tais como a extração por maceração, fracionamento do extrato por cromatografia em coluna (CC) e análise por cromatografia em camada delgada (CCD).

4 METODOLOGIA

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

A amostra botânica foi coletada na Floresta Nacional do Jacundá, norte do Estado de Rondônia, em junho de 2017, sob autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e identificada pelos botânicos Carlos Alberto da Silva e Luiz Carlos Lobato do Museu Paraense Emílio Goeldi. Foi arquivada na Coleção Científica da Área de Anatomia e Morfologia da Madeira do Laboratório de Produtos Florestais (LPF), e seu número de registro é 1590.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO VEGETAL

Antes do processo extrativo, é preciso fazer o preparo do material vegetal que consiste na sua trituração. Essa etapa pode ser feita por diversas maneiras: em moinho de facas, triturador, martelo e até mesmo manualmente (RODRIGUES et al., 2016; SOARES et al., 2017). Garcia (2021), em um trabalho que consiste na avaliação da atividade larvicida de seis espécies nativas brasileiras, incluindo a madeira da *Martiodendron elatum*, fez o preparo da madeira no qual em cada disco, obteve-se uma cunha seccionada em aproximadamente $\frac{1}{4}$ do seu diâmetro. Em seguida, a cunha foi aplainada e posteriormente triturada em moinho de facas do tipo Wiley (Figura 11). Parte da amostra já moída foi disponibilizada para a realização do presente trabalho.



Figura 11 – Etapas para o preparo do material vegetal. Fonte: GARCIA, 2021.

O material triturado foi pesado (100g) e transferido para um Erlenmeyer de 1000 mL onde foi realizada a extração. O método utilizado foi a maceração, sendo o acetato de etila o solvente escolhido para este processo. O material vegetal foi imerso em 1000 mL de solvente à temperatura ambiente e agitado constantemente por um período de 2 dias. Em seguida, o extrato de acetato foi filtrado e rotoevaporado à 35°C (Figura 12).



Figura 12 – Filtração do extrato de acetato e rotoevaporação à 35°C feita no laboratório LAQUIMET.

Depois de rotoevaporado, o extrato bruto de acetato foi colocado em um frasco de vidro âmbar (pluma) de 60 mL previamente pesado e deixado para secar na capela.

4.3 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

A prospecção fitoquímica é um estudo preliminar que tem como objetivo detectar a presença de grupos de metabólitos secundários com base em reações químicas que resultam no aparecimento de cor e/ou precipitado nas amostras de extratos brutos de determinada planta. (SIMÕES et al., 2017).

O extrato bruto de acetato de etila foi submetido aos testes para fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas, esteroides, triterpenoides, seguindo a metodologia de Matos (1997). Os testes para saponinas e alcalóides seguiram a metodologia de Egbuna e seus colaboradores (2018).

4.3.1 Teste para fenóis e taninos

Para identificação de fenóis e taninos foram utilizados 4 mL do extrato bruto de acetato e em seguida, adicionados 3 gotas de solução alcóolica de FeCl_3 1%. Deixou em repouso e observou-se a mudança na coloração. A formação de precipitado e/ou coloração na tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e na tonalidade verde a presença de taninos condensados. Foi feita a comparação com um teste em branco (água e cloreto férrico 1%) e um controle positivo utilizando fenol.

4.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Método da variação de pH: Em 3 tubos de ensaio contendo 4 mL de extrato de acetato em cada, condicionou-se um deles a pH 3, outro a pH 8,5 e o terceiro a pH 11, utilizando HCl e NaOH concentrados com auxílio de papel tornassol para controle dos pH. Observou-se o aparecimento de cores, conforme a Tabela 4.

Tabela 4 – Relação entre as antocianinas, antocianidinas, flavonoides e suas cores obtidas no teste seguindo a literatura.

Compostos	Ácido (pH 3)	Base (pH 8,5)	Base (pH 11)
Antocianinas e antocianidinas	Vermelho	Lilás	Azul púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarelo
Chalconas e auronas	Vermelho	-	Vermelho púrpura
Flavononóis	-	-	Vermelho laranja

Fonte: MATOS, 1997.

4.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas

Um primeiro tubo de ensaio contendo 3 mL de extrato foi acidificado com HCl até pH 1-3 e um segundo tubo, também com 3 mL de extrato, foi alcalinizado com NaOH até pH 11. Posteriormente, os tubos foram aquecidos por 2 minutos. O aparecimento ou a intensificação das cores indicadas na Tabela 5 confirma a presença desses constituintes.

Tabela 5 - Relação entre as leucoantocianidinas, catequinas e flavononas e suas respectivas cores seguindo a literatura.

Compostos	Ácido	Base
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas	Pardo amarelado	-
Flavononas	-	Vermelho laranja

Fonte: MATOS, 1997.

4.3.4 Teste para flavonas, flavonóis, flavononóis e xantonas (reação de Shinoda)

Adicionou-se em um tubo de ensaio 2 mL de extrato e algumas raspas de magnésio. Em seguida, acrescentou-se 0,5 mL de HCl concentrado e esperou o fim da efervescência. O aparecimento da cor vermelha é indicativo para a presença de flavonas, flavonóis, flavononóis e xantonas.

4.3.5 Teste para esteroides e triterpenoides (reação de Liebermann-Burchard)

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL de extrato, adicionou-se 2 mL de clorofórmio. A solução clorofórmica foi filtrada com um funil e um algodão para um outro tubo de ensaio e em seguida, foram adicionados 1 mL de anidrido acético e 3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Observou-se o desenvolvimento de cores, sendo azul-esverdeada para esteroides, e pardo a vermelho para triterpenoides.

4.3.6 Teste para saponinas

Adicionou-se ao extrato 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada filtrando em seguida para um tubo de ensaio. A solução foi agitada fortemente por 3 minutos. A formação de espuma persistente é indicativo de saponinas.

4.3.7 Teste para alcaloides

Na detecção de alcaloides foi utilizado o reagente de Wagner. O extrato seco foi dissolvido em ácido clorídrico diluído (10%) e filtrado com algodão. Posteriormente, adicionou-se algumas gotas do reagente de Wagner. A formação de um precipitado amarelo indica positivo para a presença de alcaloides. A comparação foi feita com um teste em branco (água e reagente de Wagner) e um controle positivo utilizando cafeína e triptamina.

Reagente de Wagner: solução contendo 1 g de iodo, 2 g de iodeto de potássio e 100 mL de água.

4.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO DE ACETATO DE ETILA POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA (CC)

Na CC foi empregada uma coluna de vidro de 6 cm de diâmetro. Realizou-se o empacotamento de maneira uniforme com sílica gel como fase estacionária até uma altura de 15 cm. Para que a amostra sólida (extrato de acetato de etila) seja aplicada na coluna, precisa solubilizá-la com um volume mínimo de solvente. Portanto, 113 mg do extrato de acetato de etila foram solubilizados com hexano e misturados com um pouco de sílica até formar uma espécie de pasta a qual foi adicionada no topo da coluna.

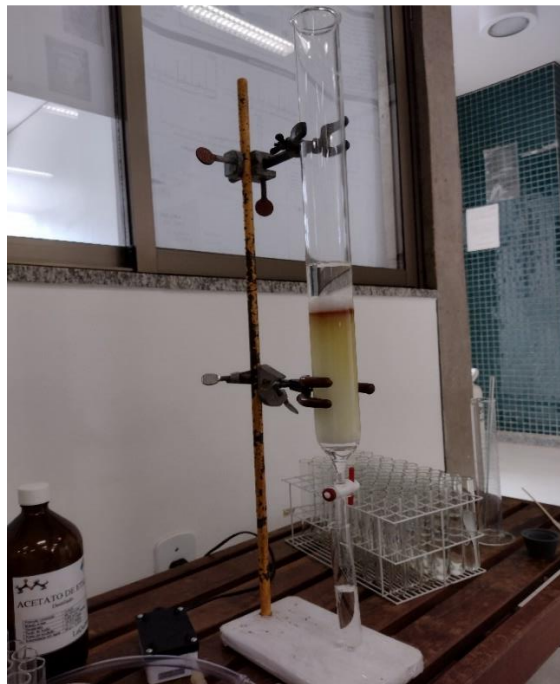


Figura 13 – Imagem da coluna cromatográfica feita no laboratório. Colocou-se um algodão por último para não causar perturbação na amostra no momento da adição do eluente.

Em seguida, foi realizada a eluição da amostra utilizando um sistema gradiente conforme a Tabela 6. O volume de cada eluente foi de 100 mL.

Tabela 6 – Sistema de eluição empregado na cromatografia em coluna.

Eluente	Proporções (%)	Eluente	Proporções (%)
Hexano	100	AcOEt:EtOH	90:10
Hex:AcOEt	90:10	AcOEt:EtOH	80:20
Hex:AcOEt	80:20	AcOEt:EtOH	70:30
Hex:AcOEt	70:30	AcOEt:EtOH	60:40
Hex:AcOEt	60:40	AcOEt:EtOH	50:50
Hex:AcOEt	50:50	AcOEt:EtOH	40:60
Hex:AcOEt	40:60	AcOEt:EtOH	30:70
Hex:AcOEt	30:70	AcOEt:EtOH	20:80
Hex:AcOEt	20:80	AcOEt:EtOH	10:90
Hex:AcOEt	10:90	EtOH	100
AcOEt	100		

As frações foram coletadas em tubos de ensaio para a próxima etapa de análise por cromatografia em camada delgada (CCD).

4.5 ANÁLISE POR CROMATOGRÁFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) foram usadas cromatofolhas de alumínio revestidas de sílica-gel 60 com 0,20 mm de espessura. Como fases móveis foram utilizados os solventes hexano, acetato de etila e etanol em diferentes proporções até que houvesse uma melhor separação dos compostos químicos das frações. Todas as placas cromatográficas foram visualizadas com luz UV (comprimento de onda 254 nm e 365 nm).

4.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PRÓTON (RMN DE ¹H)

Para a análise do extrato bruto foi utilizado o RMN de ¹H monodimensional no Espectrômetro de Ressonância Magnética nuclear de 600 MHz Bruker Avance III HD 600

pertencente ao IQ-UnB. O extrato foi dissolvido em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e empregou-se o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS, e os espectros foram tratados no software MestReNova.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO DE ACETATO DE ETILA

O extrato de acetato de etila da madeira da *Martiodendron elatum* demonstrou rendimento de aproximadamente 1,25% em relação ao peso do material vegetal antes da extração e após a preparação da extrato. Apesar de ser um rendimento baixo, foi o suficiente para a cromatografia em coluna e a prospecção fitoquímica. Os respectivos valores estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Pesos e rendimento do extrato de acetato da madeira da *Martiodendron elatum*.

<i>Martiodendron elatum</i>	Peso do material vegetal antes da extração	Extrato de acetato	Rendimento
Madeira	100g	1,2476g	1,25%

5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

5.2.1 Fenóis e taninos

A reação de cloreto férrico para o teste de fenóis e taninos é baseada no fato de que compostos fenólicos formam complexos coloridos com o íon Fe (III) (PAZINATO et al., 2012). Para o extrato bruto de acetato, o teste deu positivo para fenóis, uma vez que apresentou coloração verde (Figura 14-C), aproximando-se da coloração do controle positivo feito com fenol (Figura 14-B).

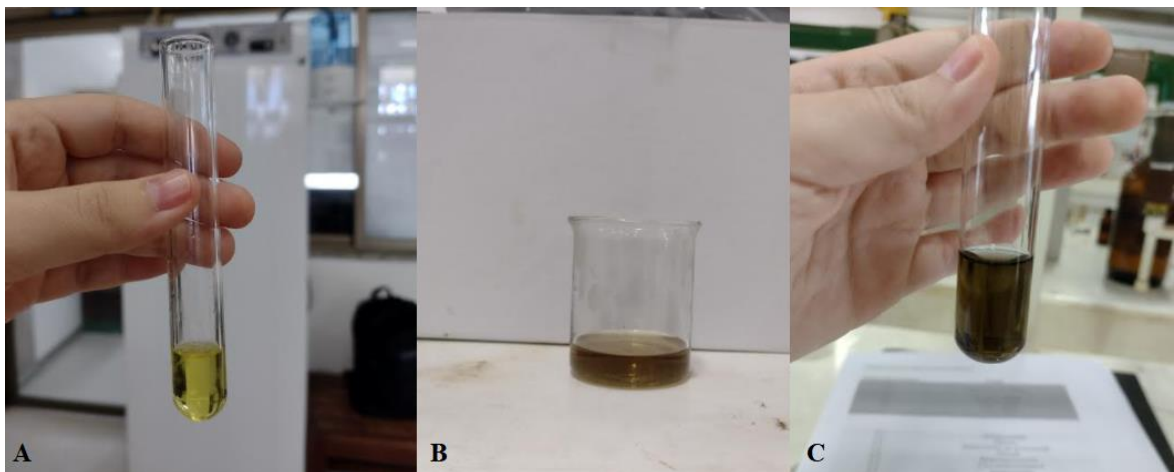


Figura 14 – Teste para fenóis e taninos: A mudança de coloração para verde (C) mostra o resultado positivo para taninos condensados ou fenóis simples quando comparado com o controle negativo (A) e positivo (B).

De acordo com a literatura, a cor verde também pode indicar teste positivo para taninos condensados (Figura 15), compostos que são formados por unidades de flavonoides (flavan-3-ols, flavon 3,4-diols) que sofreram variados graus de condensação (SARTORI et al., 2015). São tradicionalmente usados contra moléstias do tipo diarreias, hipertensão, queimaduras e em processos inflamatórios. Também possuem outras atividades biológicas, tais como: bactericida, fungicida, antiviral e antitumoral (GRÜNER et al., 2012).

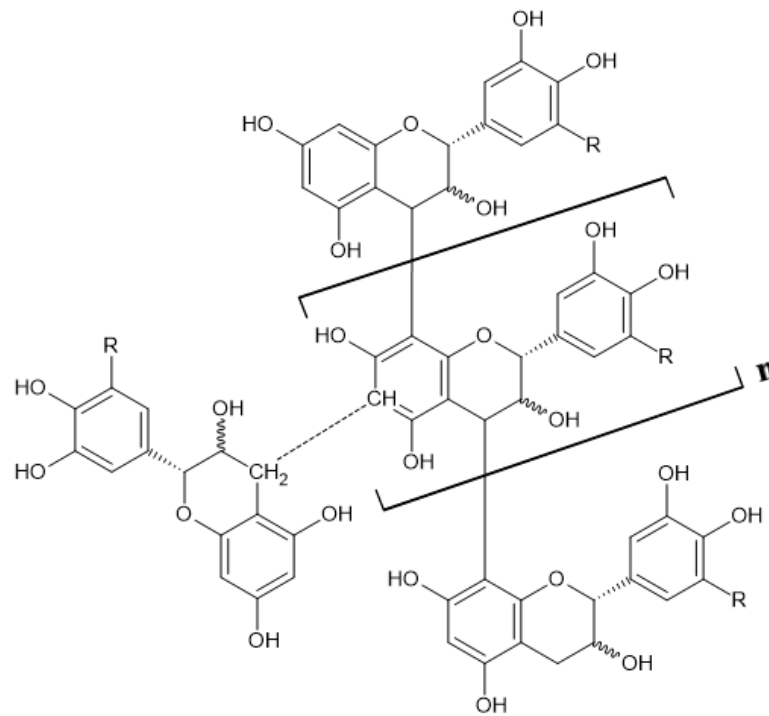


Figura 15 – Modelo de estrutura de tanino condensado. Fonte: SARTORI et al., 2015 - Feito no ChemSketch.

5.2.2 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides

O extrato bruto de acetato de etila em solução aquosa apresenta cor amarela (Figura 16-A), entretanto após acidificar o tubo a pH 3, observou-se que não houve mudança em sua coloração, o que indica um resultado negativo para antocianinas, antocianidinas, chalconas e auronas. Os tubos basificados a pH 8,5 e 11 exibem a mesma cor marrom mostrando a possibilidade de ser alguma substância desconhecida ou flavononóis a pH 11 (Figura 16-B).

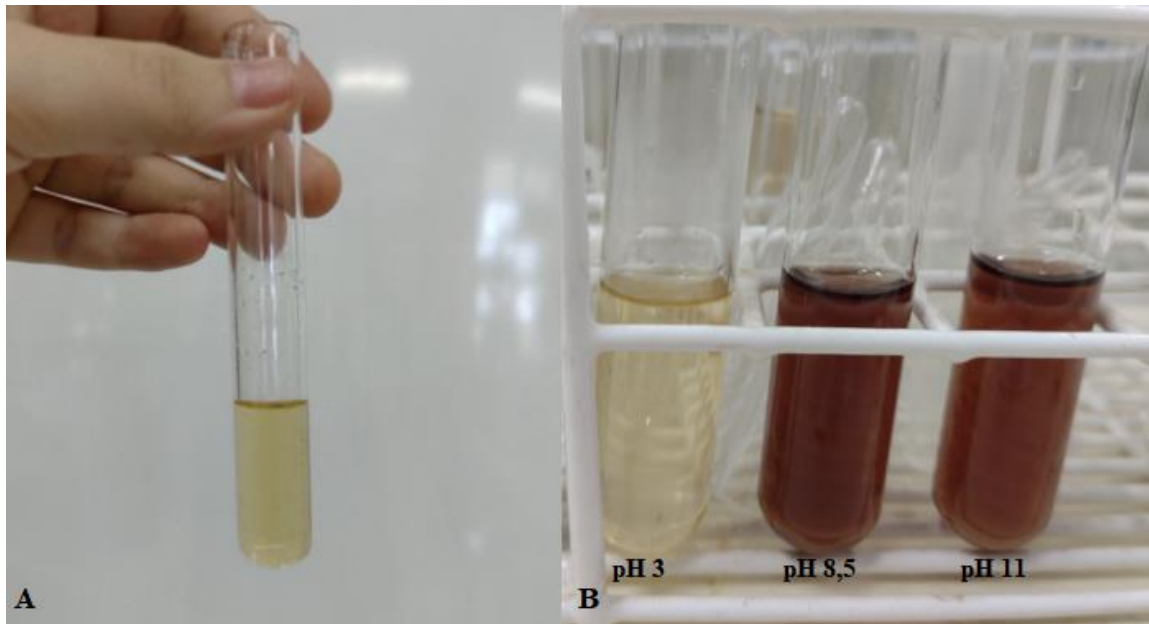


Figura 16 – Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides: extrato bruto em etanol (A); extratos brutos após variação de pH (B). Não houve alteração na cor no tubo ácido, em contrapartida, os tubos básicos apresentaram uma coloração marrom.

5.2.3 Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Para o teste de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas, a cor no tubo acidificado à pH 1-3, após aquecer por 2 minutos, manteve-se inalterada, resultando em negativo para leucoantocianidinas e catequinas. Ao aquecer o tubo básico, a coloração marrom se intensificou (Figura 17).

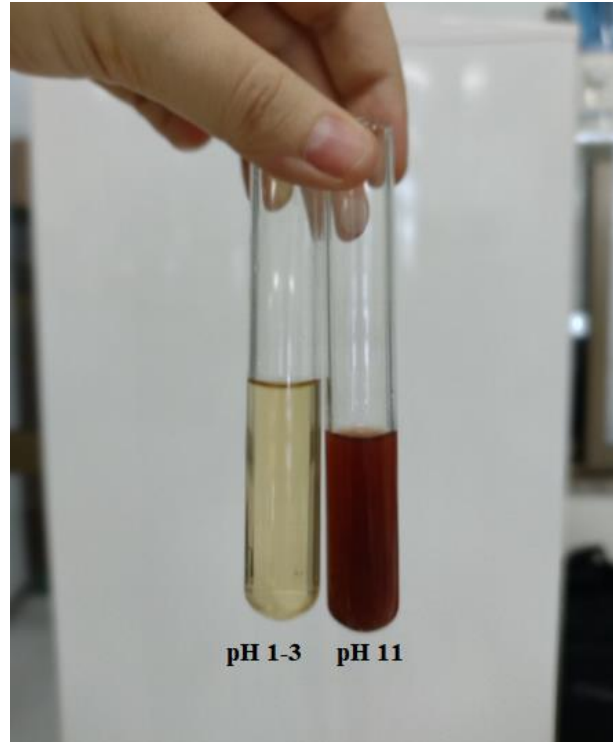


Figura 17 – Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas: O tubo de pH 11 intensificou sua cor após aquecer, enquanto o tubo acidificado não houve alteração.

A intensificação da cor pode ser um indicativo para flavononas ou algum outro constituinte desconhecido. A confirmação para a presença de algum flavonoide foi feita posteriormente através da reação de Shinoda.

5.2.4 Flavonas, flavonóis, flavonóis e xantonas (reação de Shinoda)

Para confirmar se há ou não flavonoides independente do aparecimento ou intensificação de cor nos testes de variação de pH, fez-se a reação de Shinoda, técnica mais utilizada para analisar este grupo de compostos químicos, visto que são sensíveis a este método. A reação consiste na redução de flavonoides (coloração amarela) presentes na amostra formando a antocianidina (coloração avermelhada). O desenvolvimento da cor avermelhada indica positividade para a reação de Shinoda (SIMÕES et al., 2017).

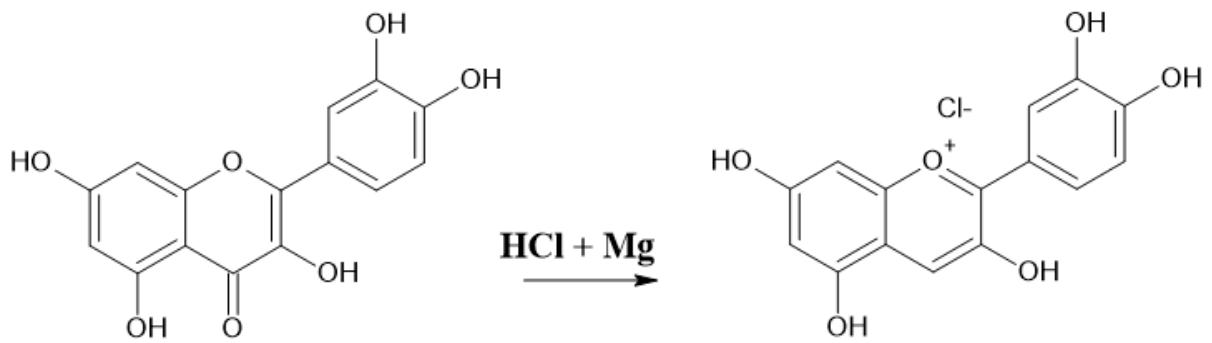


Figura 18 – Reação de Shinoda para flavonoides. Redução de flavonoides formando antocianidina. Fonte: ALMEIDA, 2015 - Feito no ChemSketch.

O teste da reação de Shinoda do extrato bruto de acetato não apresentou alteração de cor, indicando uma resposta negativa para flavonoides (Figura 19).



Figura 19 – Teste dos flavonoides pela reação de Shinoda: O extrato bruto em solução apresenta uma cor amarelada, e mesmo após a adição de HCl e raspas de magnésio, não houve mudança de cor característica para flavonoides.

Portanto, é provável que a mudança de cor nos tubos do teste de variação de pH seja correspondente a algum composto químico que tenha reagido em meio básico, não sendo flavonoides.

5.2.5 Esteroides e triterpenoides (reação de Liebermann-Burchard)

O resultado para esteroides e triterpenoides pela reação de Liebermann-Burchard foi positivo pelo aparecimento da cor parda a vermelho correspondente aos triterpenoides pentacíclico livres (Figura 20-B)

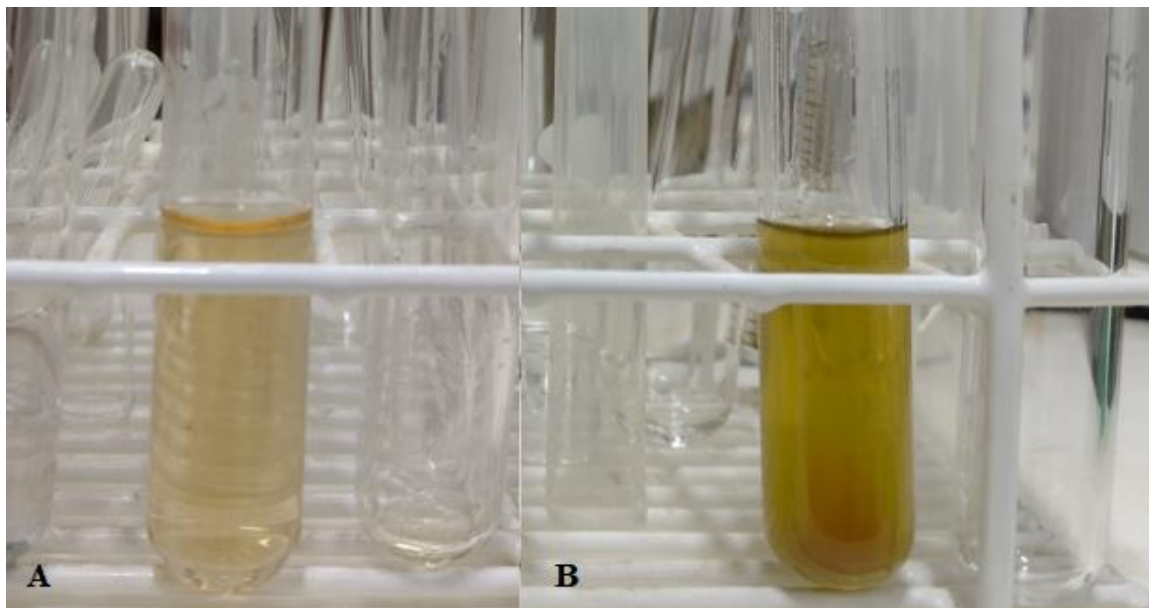


Figura 20 – Reação de Liebermann-Burchard: As imagens representam a diferença de coloração antes (A) e depois da reação de Liebermann-Burchard (B), indicando positividade para triterpenoides pelo aparecimento da cor parda a vermelha.

O reagente de Liebermann-Burchard promoverá reações de desidratações seguida de oxidações no núcleo fundamental do esteroide/triterpenoide resultando derivados com ligações duplas conjugadas, portanto corados (SIMÕES et al., 2017).

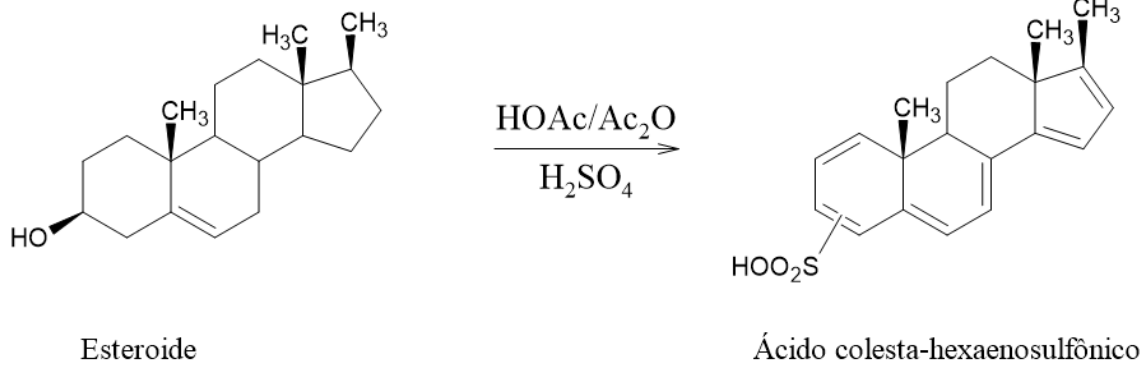


Figura 21 – Reação de Liebermann-Burchard para triterpenos e esteróides. A formação das duplas conjugadas é o que causa o aparecimento de cores nos testes fitoquímicos. Fonte: SIMÕES et al., 2017 - Feito no ChemSketch.

5.2.6 Saponinas

O teste de formação de espuma não apresentou espuma persistente (Figura 22-B) após a adição dos reagentes e agitação. Isso indica a ausência de saponinas no extrato. Para efeito de comparação, fez-se o mesmo teste utilizando a digitonina, uma saponina esteroidal (Figura 22-A).

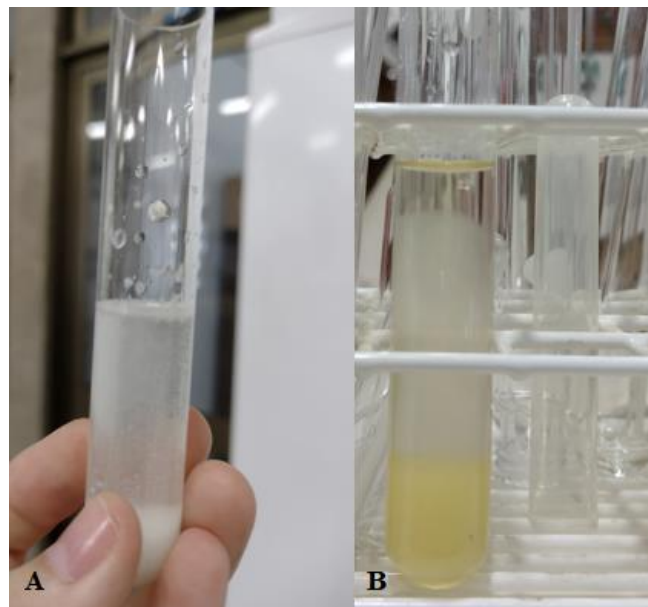


Figura 22 – Teste para saponinas: Comparação entre a primeira imagem (A), que contém uma saponina esteroidal (digitonina) e a formação de uma fina camada de espuma, e a segunda imagem (B) com o extrato bruto da amostra sem a presença de espuma.

5.2.7 Alcaloides

As reações gerais para alcaloides baseiam-se na formação de sais complexos devido à presença de metais (TOMITA, 2014). Duas substâncias conhecidas (triptamina e cafeína) do laboratório foram submetidas a esse teste de alcaloides com reagente de Wagner como controle positivo, porém não houve precipitação. Portanto, o presente teste não foi validado e foi dado como inconclusivo para a presença de alcaloides no extrato.

A Tabela 8 a seguir resume a análise preliminar dos metabólitos secundários do extrato de acetato de etila da espécie *Martiodendron elatum*.

Tabela 8 – Resultado das análises fitoquímicas do extrato de acetato da *Martiodendron elatum*.

Teste	Extrato de acetato de etila
Fenóis e taninos	+
Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	-
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	-
Flavonoides pela reação de Shinoda	-
Esteroides e triterpenoides	+ (triterpenoides)
Saponinas	-
Alcaloides	Inconclusivo

Apesar da prospecção fitoquímica ser uma etapa importante para a determinação de metabólitos secundários em uma espécie de planta, há uma limitação nessa metodologia que pode gerar resultados falso-positivos ou falso-negativos devido a possibilidade de ocorrer reações inespecíficas nos testes de cada classe de compostos químicos (SIMÕES et al., 2017).

5.3 ANÁLISE DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS POSITIVOS PELO TESTE FITOQUÍMICO POR RMN DE ^1H

A seguir, será discutido o espectro de RMN de ^1H para o extrato bruto de acetato. A Figura 23 ilustra o espectro de RMN de ^1H , obtido na frequência de 600 MHz utilizando CDCl_3 como solvente e TMS como padrão interno.

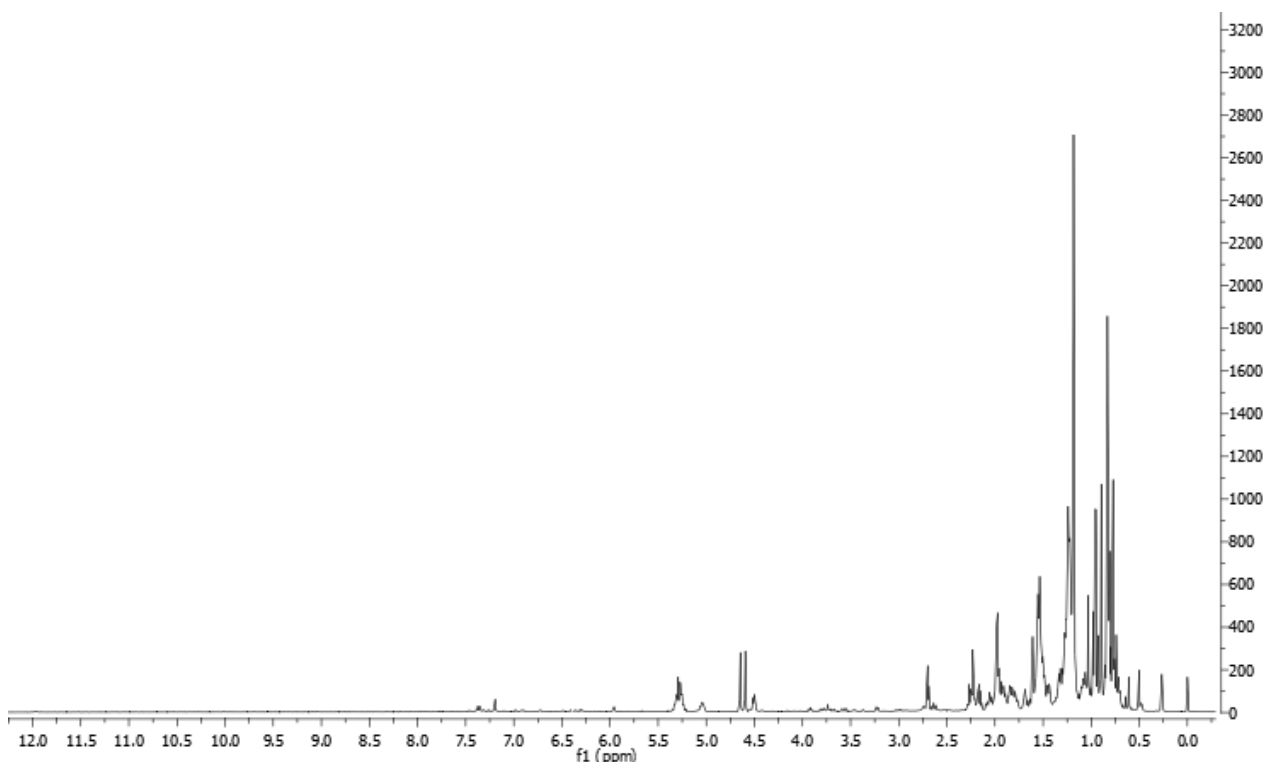


Figura 23 – Espectro de RMN de ^1H do extrato bruto de acetato da madeira da espécie *Matiodendron elatum* em CDCl_3 a 600 MHz.

Não é possível elucidar a estrutura de um composto químico apenas por RMN de próton quando a amostra não é pura, principalmente através do extrato bruto de uma planta que pode conter inúmeras substâncias. Entretanto, para este trabalho, é possível correlacionar alguns picos característicos dos compostos que deram resultados positivos na prospecção fitoquímica (triterpenoides e taninos condensados/fenóis) para uma análise mais qualitativa.

Os triterpenos apresentam um perfil típico em seus espectros de RMN de ^1H , principalmente pelo grande número de grupos metílicos em suas estruturas, como observado na Figura 24.

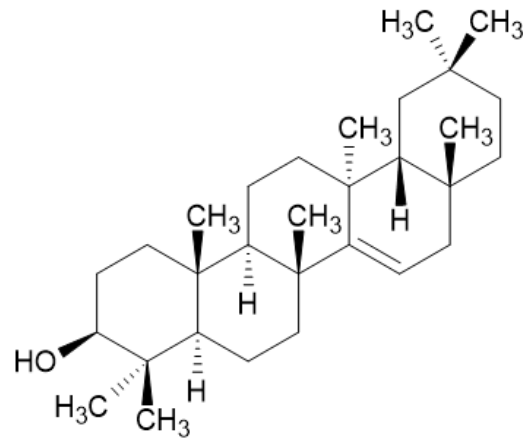


Figura 24 – Exemplos de uma estrutura de triterpeno (taraxerol). Fonte: CURSINO et al., 2009 - Feito no ChemSketch.

Sinais bastante intensos entre 0,7 e 3,0 ppm correspondem aos hidrogênios desses grupos metílicos, assim como grupos metílicos (LIMA, 2013; PEREIRA; GUILHON, 2020). No RMN de ^1H do extrato bruto da espécie, apesar de conter diversos compostos químicos que podem causar sobreposição de sinais, é possível visualizar os picos intensos entre 0,7 e 3,0 ppm, sendo um indicativo para triterpenos (Figura 25).

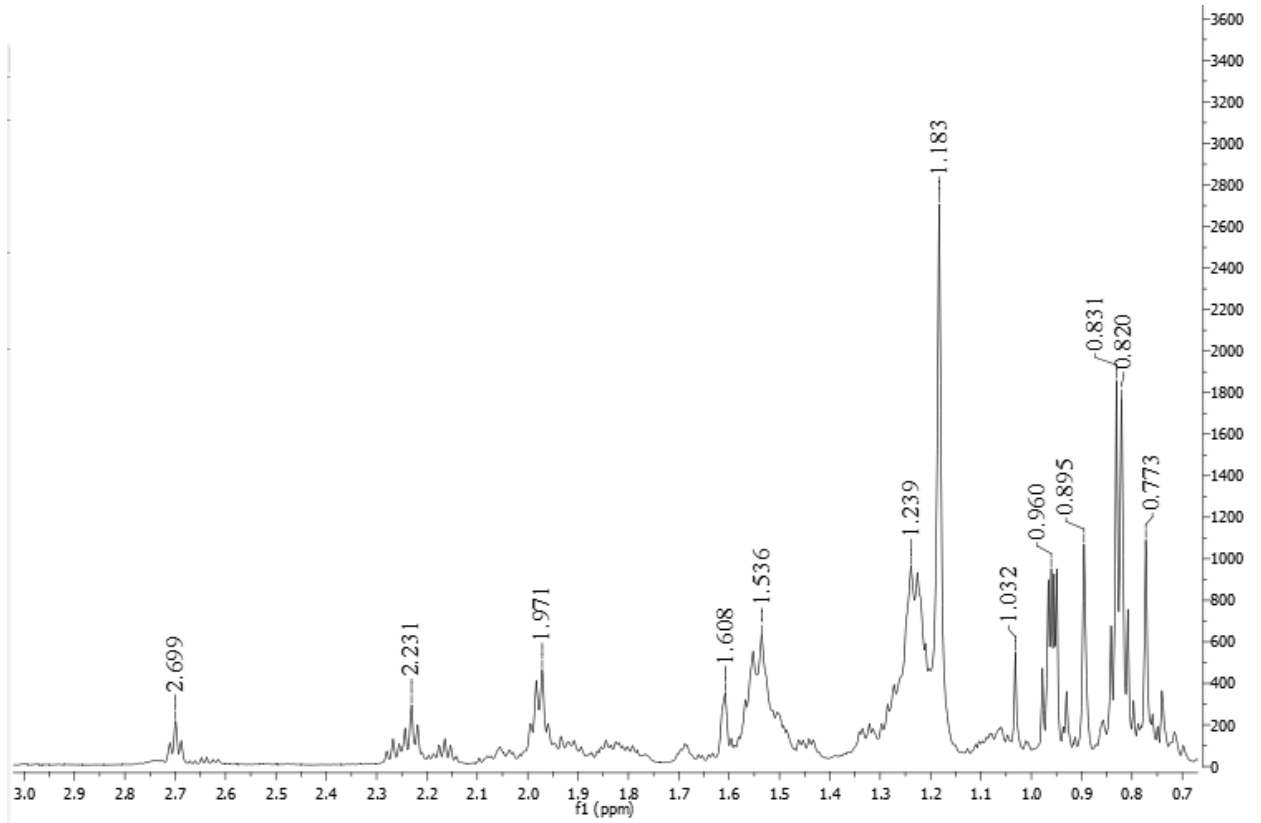


Figura 25 – RMN de ^1H do extrato bruto de acetato da *Martiodendron elatum* em CDCl_3 a 600 MHz com expansão nos picos entre 0,70 e 3,0 ppm.

Uma outra característica de triterpenos é a presença de hidrogênios vinílicos que corresponde a um sinal entre 5,2 e 5,5 ppm (LIMA, 2013). O RMN de ^1H do extrato representado na Figura 26 mostram sinais nessa região que podem ser desse grupo.

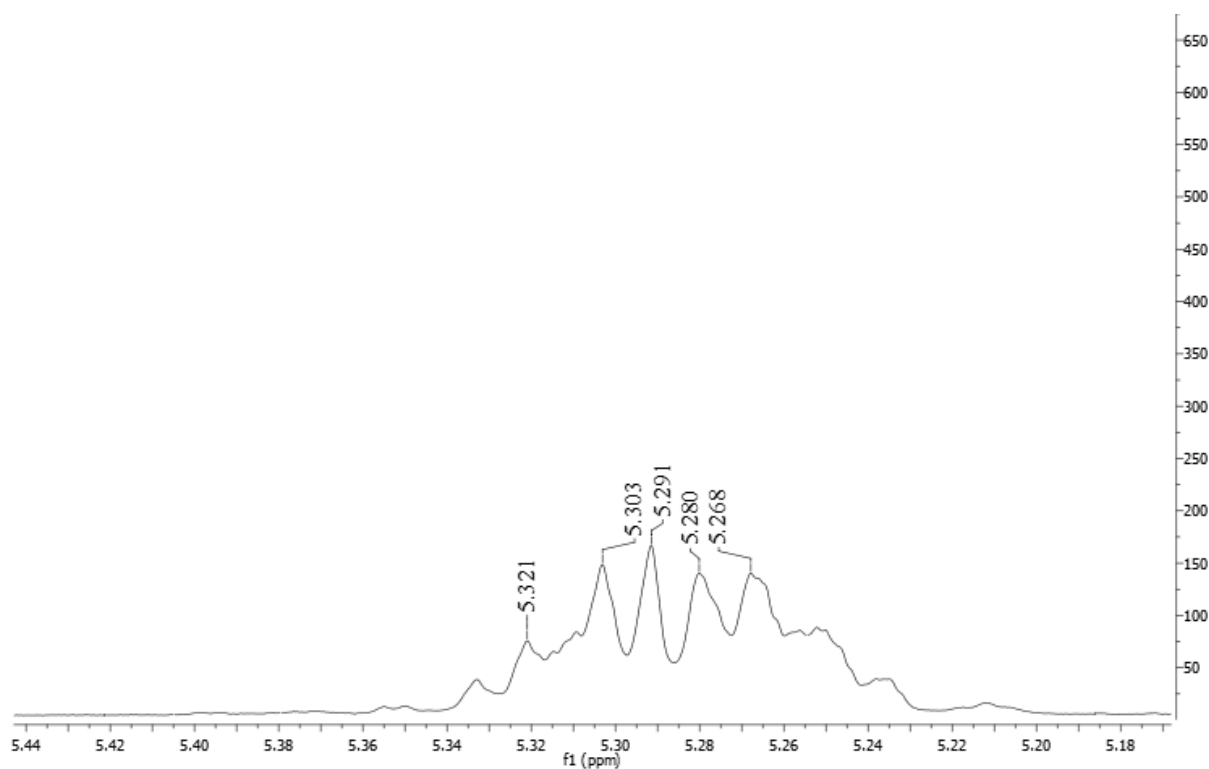


Figura 26 – Expansão do espectro que de RMN de ^1H em CDCl_3 a 600 MHz da região correspondente ao sinal dos hidrogênios vinílicos entre 5,2 e 5,5 ppm.

Ainda sobre hidrogênios vinílicos, observa-se dois simpletos em 4,59 e 4,65 ppm, sugerindo a presença de uma substância triterpênica com esqueleto carbônico que possui um grupo isopropenil (Figura 27).

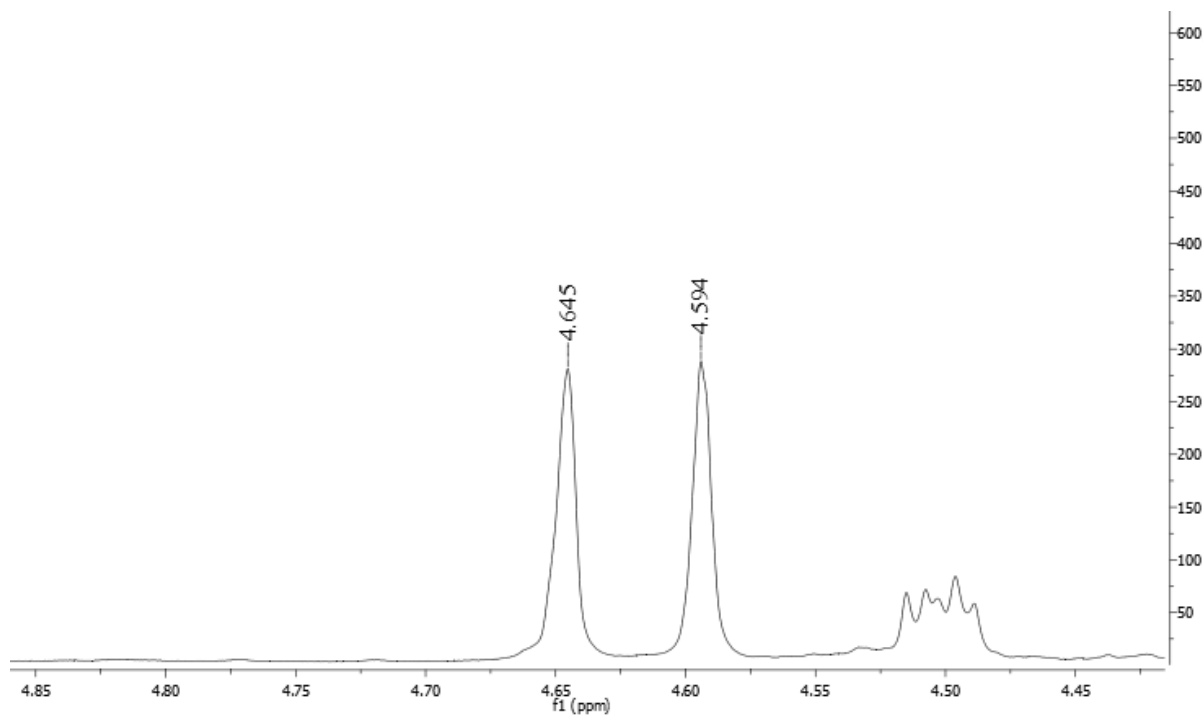


Figura 27 - Expansão do espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 a 600 MHz da região correspondente ao sinal dos hidrogênios vinílicos do grupo isoprenil (dois simpletos) nas regiões em 4,59 e 4,65 ppm.

Um exemplo de triterpenoide com grupo isoprenil na mesma região do espectro é a lupenona. A Figura 28 mostra os espectros da lupenona (Figura 28-A) e do extrato (Figura 28-B), ambos com dois picos entre 4,5 e 4,7 ppm.

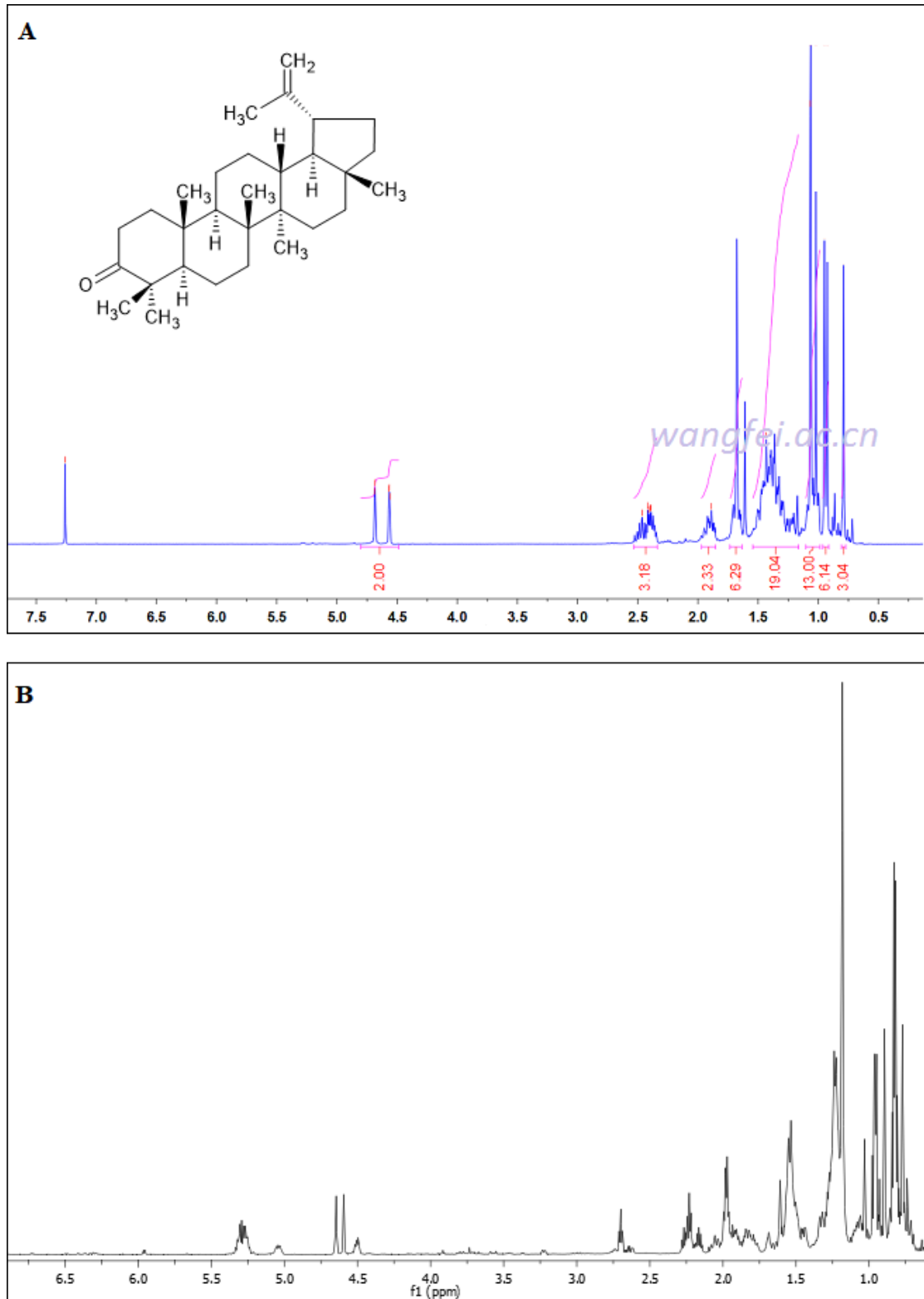


Figura 28 – Espectros de RMN de ^1H : lupenona (A); extrato bruto de acetato da espécie (B). Nos dois espectros observam-se os picos entre 4,50 e 4,70. Fonte imagem A: WANGFEI.AC.CN, 2021.

Ainda que não seja possível afirmar que os triterpenoides estejam presentes no extrato bruto de acetato da espécie apenas pelo RMN de ^1H , seu espectro possui muitos sinais característicos que são compatíveis com a literatura desses compostos, e juntando ao resultado positivo a prospecção fitoquímica para triterpenoides, é bem provável a ocorrência deles na espécie. Também deve-se levar em consideração a ocorrência de triterpenoides na espécie do mesmo gênero *Martiodendron*, a *Martiodendron excelsum*.

Para os fenóis/taninos condensados, a região dos hidrogênios aromáticos no RMN de ^1H ocorre entre 6,5 e 8,0 ppm (CHEMISTRYSTEPS, 2016). O espectro do extrato bruto apresenta picos nessa região, entretanto estão em uma concentração menor em comparação aos picos que podem ser dos triterpenoides. Uma hipótese para essa diferença foi o método utilizado na preparação do RMN em que o uso do clorofórmio como solvente solubilizou melhor os compostos triterpenoides em detrimento dos compostos fenólicos, principalmente àqueles que possuem estruturas maiores, como os taninos condensados. A outra hipótese pode ser que esses compostos fenólicos realmente estejam em concentrações menores no extrato de acetato.

A Figura 29 abaixo mostra os sinais na região dos hidrogênios aromáticos entre 6,5 e 8,0 ppm.

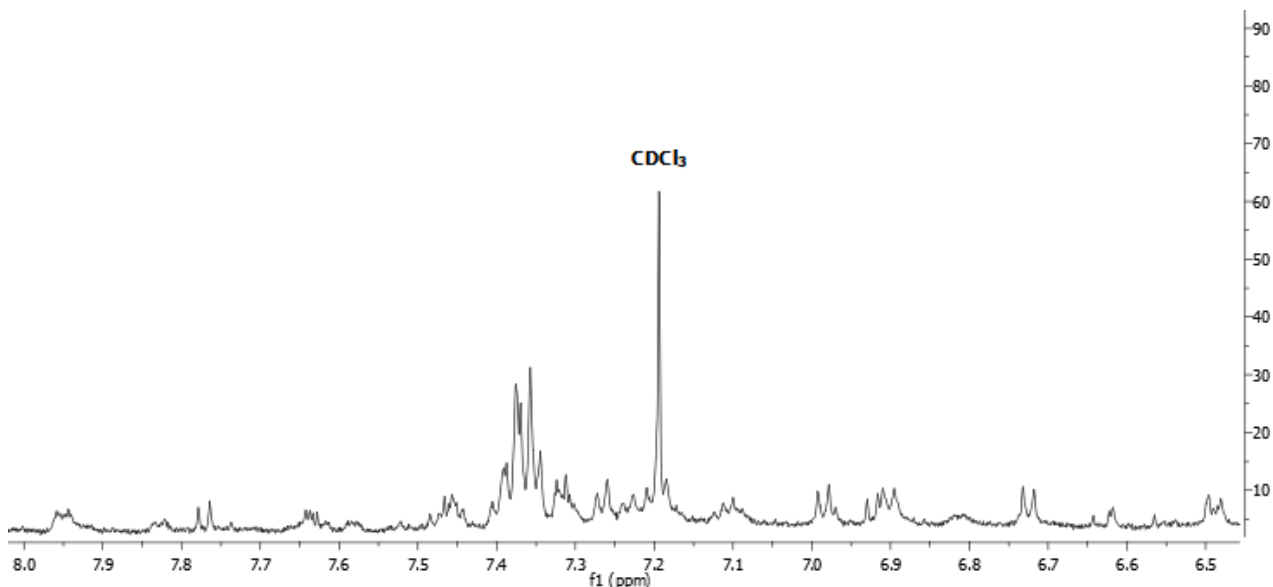


Figura 29 – Expansão do espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 a 600 MHz da região correspondente aos sinais dos hidrogênios aromáticos entre 6,5 e 8,0 ppm.

Como esses hidrogênios dos anéis aromáticos encontram-se em uma região própria, em que poucos outros hidrogênios apresentam absorção, é provável que se refiram aos compostos fenólicos. Portanto, a análise qualitativa através da prospecção fitoquímica e dos dados de RMN de ^1H indicam a presença de triterpenoides e fenóis no extrato.

5.4 ANÁLISE DAS FRAÇÕES OBTIDAS DA CROMATOGRAFIA EM COLUNA POR CCD

O fracionamento do extrato bruto de acetato por cromatografia em coluna resultou em 63 frações que foram recolhidas em tubos de ensaios e analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD). O agrupamento das frações está representado na Tabela 9.

Tabela 9 – Agrupamento das frações obtidas pela cromatografia em coluna do extrato bruto de acetato da *Martiodendron Elatum*.

Eluente (%)	Frações obtidas	Eluente (%)	Frações obtidas
Hexano 100	FR1 a FR3	AcOEt:EtOH 90:10	FR33 a FR35
Hex:AcOEt 90:10	FR4 a FR6	AcOEt:EtOH 80:20	FR36 a FR38
Hex:AcOEt 80:20	FR7 a FR9	AcOEt:EtOH 70:30	FR39 a FR41
Hex:AcOEt 70:30	FR10 a FR12	AcOEt:EtOH 60:40	FR42 a FR44
Hex:AcOEt 60:40	FR12 a FR14	AcOEt:EtOH 50:50	FR45 a FR47
Hex:AcOEt 50:50	FR15 a FR17	AcOEt:EtOH 40:60	FR48 a FR51
Hex:AcOEt 40:60	FR18 a FR20	AcOEt:EtOH 30:70	FR52 a FR54
Hex:AcOEt 30:70	FR21 a FR23	AcOEt:EtOH 20:80	FR55 a FR57
Hex:AcOEt 20:80	FR24 a FR26	AcOEt:EtOH 10:90	FR58 a FR60
Hex:AcOEt 10:90	FR27 a FR29	EtOH 100	FR61 a FR63
AcOEt 100	FR30 a FR32		

Após a eluição das frações na cromatografia em camada delgada, a visualização só foi possível pela luz UV no comprimento de onda 365 nm, e dessas 63 frações, apenas as frações FR6, FR7 e FR8 apresentaram perfis cromatográficos mais semelhantes (Figura 30). Além disso, foi observada uma afinidade pela fase móvel polar, acetato de etila: etanol (90:10), podendo concluir a presença de compostos polares no extrato.

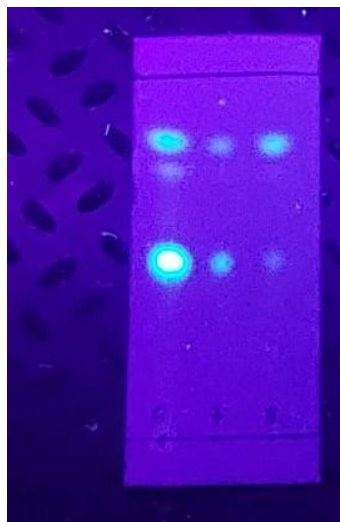


Figura 30 - Visualização das frações FR6, FR7 e FR8 pela luz UV em 365 nm. As três frações foram agrupadas por obterem perfis cromatográficos semelhantes.

O fato de as placas serem vistas apenas em um comprimento de onda de 365 nm sugere que algumas substâncias fenólicas presentes no extrato tenham características fluorescentes, entretanto é preciso de análises mais específicas para identificação desses compostos, como análises quantitativas.

As frações FR6, FR7 e FR8 foram agrupadas na intenção de fazer o RMN de ^1H e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) para elucidação de suas estruturas. Entretanto, obtiveram massas inferiores a 10 mg, entre 3 e 7 mg, não cumprindo os requisitos para o RMN de ^1H . As amostras também não foram enviadas ao LC-MS, uma vez que o problema estava no equipamento em manutenção por quase um mês.

O objetivo principal do projeto escrito no Trabalho de Conclusão de Curso 1 era elucidar as estruturas dos compostos químicos após analisar por LC-MS e por RMN de ^1H , mas infelizmente com esse imprevisto do LC-MS, juntamente com a pandemia e o tempo curto, não foi possível a realização dessa parte do trabalho.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O trabalho cumpriu com o seu objetivo de contribuir quimicamente com a espécie *Martiodendron elatum*, visto que só foi achado um trabalho na área da fitoquímica para a espécie. Seu extrato bruto de acetato deu resultados positivos para o testes fitoquímicos de fenóis/taninos condensados e triterpenoides, e posteriormente, conferiu-se os picos característicos desses compostos no espectro de RMN de ^1H do extrato.

Os triterpenoides apresentam em suas estruturas muitos grupos metílicos e metílenos, conferindo sinais intensos entre 0,70 e 3,0 ppm nos espectros de RMN de ^1H . O espectro do extrato se mostrou semelhante aos espectros para triterpenoides com picos intensos nessa região, e com sinais na região de hidrogênios vinílicos em 5,20 e 5,50 ppm. Dois simpletos em 4,594 e 4,645 ppm bem visíveis sugerem que são hidrogênios vinílicos de um grupo isopropenil ao comparar com dois singletos nessa mesma região no espectro do triterpenoide lupenona. Para o teste fitoquímico de fenóis e taninos, a cor verde pode ser tanto um indicativo para grupos fenóis (menos flavonoides), pois se aproximou da cor do controle positivo feito no teste, como também para taninos condensados. Em todo caso, o espectro de RMN de ^1H mostraram picos típicos da região de hidrogênios aromáticos entre 6,0 e 8,0 ppm. Como a concentração estava muito baixa nessa área de deslocamento químico, não foi possível uma análise mais aprofundada.

É importante ressaltar que não é possível afirmar com certeza que as classes de compostos químicos positivos pela prospecção fitoquímica e analisados por RMN de ^1H estejam presentes no extrato, uma vez que são análises qualitativas que necessitam de técnicas mais sofisticadas para melhor identificação e elucidação estrutural desses constituintes químicos.

Realizaram-se quase todas as etapas dos métodos fitoquímicos, desde a parte da extração do material vegetal até a análise por cromatografia em camada delgada (CCD), entretanto não foi possível a elucidação estrutural dos metabólitos secundários das frações de interesse obtidas do fracionamento por cromatografia em coluna (CC) por razões externas. Ainda assim, o presente trabalho terá continuidade, onde o extrato bruto de acetato e as frações FR6, FR7 e FR8 terão suas estruturas elucidadas após análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS). Essas informações direcionam estudos futuros para a

verificação da atividade biológica desses compostos químicos contribuindo para pesquisas em áreas como a química medicinal.

REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T. et al. Secondary Metabolites. **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2012.

ALLKIN, B. et al. **State of the world's plants**. Disponível em: <<https://stateoftheworldsplants.org/>>. Acesso em: 18 abr. 2021.

ARAGÃO, G. **Efeitos dos triterpenos α - e β -amirina e seus derivados acetilados no sistema nervoso central**. [s.l.] Universidade federal do Ceará, 2008.

ÁVALOS, A.; CARRIL, E. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (Biología)**, v. 8, n. 2, p. 119–145, 2009.

BABENKO, L. M. et al. Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. **Ukrainian Biochemical Journal**, v. 91, n. 3, p. 5–18, 2019.

BARBOSA, A. et al. Leguminosas Florestais da Amazônia Central . I . Prospecção das Classes de Compostos Presentes na Casca de Espécies Arbóreas A Chemical Survey of Central Amazonian Leguminosae Species . I . Substances Found in the Bark of Woody Species. **Revista Fitos**, v. 1, p. 47–57, 2006.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Secondary Plant Metabolites. **Plant Physiology**, p. 590–610, 2020.

BOURGAUD, F. et al. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839–851, 2001.

BRANDÃO, H. et al. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásticos de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 1–15, 2010.

BRODOWSKA, K. M. Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. **European Journal of Biological Research**, v. 7, n. 2, p. 108–123, 2017.

CHEMISTRYSTEPS, L. **Nuclear Magnetic resonance (NMR) spectroscopy**. Disponível em: <<https://www.chemistrysteps.com/nmr-chemical-shift-values-table/>>. Acesso em: 29 nov. 2021.

COELHO, L. **Estudo proteômico de calos, folhas e galhos de *Duroia macrophylla* huber (Rubiaceae)**. [s.l.] Universidade federal do Amazonas, 2018.

EGBUNA, Chukwuebuka et al. (Ed.). **Phytochemistry: Volume 1: Fundamentals, Modern Techniques, and Applications**. CRC Press, 2018.

FALCÃO, M. J. .; MANSANO, V. . **Martiodendron in Flora do Brasil 2020**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23082%3E>>. Acesso em: 2 out. 2021.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos: compostos majoritários de óleos essenciais. **Química e Sociedade**, v. 39, n. 2, p. 120–130, 2017.

FERNANDES, J. M.; GARGIA, F. C. P. **Leguminosae em dois fragmentos de floresta estacional semidecidual em Araponga, Minas Gerais, Brasil: arbustos, subarbustos e trepadeiras**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2008.

FILHO, R. B. Phytochemical contribution to development of a emergent country. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.

GARCIA, L. F. A. **A madeira como fonte de larvicidas naturais contra o *Aedes Aegypti*: estudo de revisão e avaliação da atividade larvicida de seis espécies vegetais nativas brasileiras**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2021.

GOMES, G.; SILVA, G.; CONCEIÇÃO, G. Diversidade De Leguminosas No Cerrado Do Município De São João Do Sóter, Maranhão, Brasil. **Agrarian Academy**, v. 4, n. 7, p. 166–175, 2017.

GRÜNER, J. M. et al. ANÁLISE DO PERFIL FITOQUÍMICO DE *Tripodanthus acutifolius* (RUIZ & PAVÓN) TIEGHEM, LORANTHACEAE. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 0, n. 1, 2012.

GÜVEN, K. C.; PERCOT, A.; SEZIK, E. Alkaloids in marine algae. **Marine Drugs**, v. 8, n. 2, p. 269–284, 2010.

KURMUKOV, A. G. Phytochemistry of medicinal plants. **Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan**, v. 1, n. 6, p. 13–14, 2013.

LIMA, D. Identificação de compostos orgânicos na química de produtos naturais por técnicas de RMN. 2013.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 1998.

MATSUURA, H. N.; FETT-NETO, A. G. Plant Alkaloids: Main Features, Toxicity, and Mechanisms of Action. **Plant Toxins**, n. July 2016, p. 1–15, 2015.

MOTTA, C. et al. A importância das leguminosas na alimentação, nutrição e promoção da saúde. **Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge**, v. 5, n. 8, p. 4–7, 2016.

OLDFIELD, E.; LIN, F. Y. Terpene biosynthesis: Modularity rules. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 51, n. 5, p. 1124–1137, 2012.

PAGARE, S. et al. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 293–304, 2015.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.

PAZINATO, M. S. et al. Uma Abordagem Diferenciada para o Ensino de Funções Orgânicas através da Temática Medicamentos. **Química Nova na Escola**, v. 34, n. 1, p. 21–25, 2012.

PEREIRA, S. G.; GUILHON, G. M. S. P. Triterpenos e atividade carrapaticida da espécie *Lecythis usitata* (Lecythidaceae). **Conexão Ciência (Online)**, v. 15, n. 2, p. 78–92, 2020.

WORLD, P. O. T. **Martiodendron elatum (Ducke) Gleason**. Disponível em: <<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:153725-2>>. Acesso em: 27 nov. 2021.

RODRIGUES, F. A. et al. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, n. 2015, p. 1637–1648, 2016.

SAAD, G. et al. **Fitoterapia contemporânea - Tradição e ciência na prática clínica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

SARTORI, C. et al. Teor de taninos totais e condensados em cascas e folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]. **Anais do II Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia da Madeira - CBCTEM**, 2015.

SILVA, A. **Determinação do teor de cinzas em dez espécies de madeira amazônicas**. [s.l.] Universidade do estado do Amazonas, 2018.

SILVA, C. **Estudos Visando a Síntese dos Anéis C e D de Esteróides**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2005.

SILVA, J. P.; EVANGELISTA, W. V. Propriedades Físico-Anatômicas De Madeiras De Cedro Amazonense E Tamarindo E Suas Correlações. p. 146–161, 2021.

SILVA, M. F.; CARREIRA, L. M. DE M.; SOUZA, L. A. G. Leguminosas da Amazônia Brasileira - X Martiodendron Gleason (Leguminosae-Caselpinoideae). **Ciência Florestal**, v. 1, n. 2, p. 7–29, 2005.

SILVA, M. L. et al. Compostos fenólicos , carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds , carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: artmed, 2017.

SOARES, I. J. et al. Estudo Fitoquímico e Ensaio Biológico de Martiodendron excelsum (Benth .). v. 6, 2018.

SOARES, N. P. et al. Técnica de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, p. 530–543, 2017.

SOUZA, L. A. G. DE. **Guia da biodiversidade de Fabaceae do Alto Rio Negro**. 583.322 ed. Manaus: INPA, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3^a ed. [s.l.] Sinauer Associates, 2002.

THIRUMURUGAN, D. et al. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. **Intech**, v. 32, n. July, p. 137–144, 2018.

TOMITA, L. Caracterização fitoquímica e ensaios biológicos de Syngonium podophyllum. p. 54, 2014.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Medicinal plants: Safe cure? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology¹. v. 126, n. June, p. 485–493, 2001.