

## ESTUDO QUÍMICO DE *Dorstenia bryoniifolia* MART. EX MIQ. (MORACEAE)

Gilberto Luiz POZETTI\*

**RESUMO:** Estudou-se a composição química dos rizomas de *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq. (Moraceae) tendo sido obtidas diferentes frações com a seguinte composição: a) ácidos graxos esterificados (triglicerídeos): láurico (C<sub>12</sub>), mirístico (C<sub>14</sub>), pentadecanóico (C<sub>15</sub>), palmítico (C<sub>16</sub>), 9-hexadecenóico (C<sub>16:1</sub>), esteárico (C<sub>18</sub>), oleico (C<sub>18:1</sub>), linoléico (C<sub>18:2</sub>), eicosanóico (C<sub>20</sub>); b) ácidos graxos livres: palmítico (C<sub>16</sub>), esteárico (C<sub>18</sub>), eicosanóico (C<sub>20</sub>); c) furocumarinas: isobergapteno e pimpinelina.

**UNITERMOS:** *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq.; rizoma; ácidos graxos livres e esterificados; furocumarinas.

## INTRODUÇÃO

No Brasil ocorrem trinta e sete espécies de *Dorstenia*<sup>8</sup> que, curiosamente, até o presente mereceram praticamente apenas a atenção de botânicos<sup>5,8</sup>, registrando-se na literatura apenas o trabalho de KOCH<sup>18</sup> com a *D. brasiliensis* coletada na Bolívia e a pesquisa de CASAGRANDE *et alii*<sup>9</sup> com rizomas de *D. contrajerva* coletada no México, muito embora inúmeras espécies de *Dorstenia* sejam utilizadas empiricamente como medicamento pelos leigos<sup>6,10,21,28</sup>. A proposição do presente trabalho é, justamente, iniciar o estudo fitoquímico dessas Moraceae, associando a este, com a colaboração de pesquisadores da área farmacológica, a determinação de atividade biológica, procurando assim justificativas para as aplicações dadas a tais vegetais.

Começamos nossos estudos pela análise da espécie *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq., espécie coletada nos municípios de Rincão e de Araraquara (SP).

\* Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - UNESP - 14800 - Araraquara - SP.

## MATERIAL E MÉTODOS

Rizomas estabilizados e secos do vegetal em pó (1 kg) foram extraídos, por maceração, por 20 dias, com 5 litros da mistura solvente clorofórmio: etanol a 96% (1:1)<sup>9</sup>. O macerato foi então concentrado a vácuo, separando-se uma porção cristalina, restando resíduo xaroposo. A fração cristalina foi analisada cromatograficamente (HPTLC de sílica gel 60 F 254 Merck) com o emprego de diferentes misturas solventes (clorofórmio:metanol - 95,5:1,5; benzeno:acetato de etila - 85:15) e reveladores (luz UV de ondas longas e ondas curtas, vapores de iodo)<sup>16</sup>. Posteriormente a mesma foi fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) empregando benzeno como eluente, tendo sido separadas diversas frações que foram posteriormente analisadas cromatograficamente de acordo com processo já citado. Aquelas de igual comportamento foram reunidas. As primeiras frações reunidas, menos polares, identificadas pelas siglas Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub>, foram recristalizadas de etanol a 98% e submetidas novamente à análise cromatográfica em camada delgada (HPTLC de sílica gel 60 F 254 - Merck, mistura solvente: n-hexano:éter etílico:ácido acético - 90:10:1); revelador: vapores de iodo<sup>16,19,31</sup>. Foram empregados padrões de triglicéridos e de ácidos graxos, evidenciando os pontos de fusão complexas desse tipo de substâncias. Das mesmas foram determinados os pontos de fusão (aparelho Kofler e FP-51 Metler) e obtidos espectros IV (Espectrofotômetro Perkin-Elmer Mod. 457, pastilhas de KBr 1:200), e RMN (Espectrofotômetro Varian T 60-60 MHz, solvente CDCI<sub>3</sub>, referência interna TMS). As frações foram transesterificadas com MeOK<sup>19,20</sup> e também tratadas com BF<sub>3</sub>/MeOH<sup>19,30</sup>. Os produtos resultantes de tais tratamentos foram analisados por meio de CFG (Cromatógrafo Varian mod. 1520C, coluna SE 30 com 3% de metilsilicone em Chromosorb W, 70-80 mesh, de aço inoxidável, 6 pés de comprimento e 1/8 polegada de diâmetro; Isoterma: 148°C, temperatura do injetor: 200°C, temperatura do detector: 200°C, detector: ionização de chama, volume de injeção: 2 µl). A identificação dos componentes de uma outra amostra resultante foi conseguida através da comparação dos Tr dos seus componentes com aquele da mistura padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos e de padrões de ácidos graxos livres empregando ainda a técnica de enriquecimento da amostra com a mistura padrão e verificando o aumento relativo dos picos correspondentes às diferentes substâncias.

As demais frações coletadas através do fracionamento, responsáveis inclusive pelo odor característico dos rizomas, foram analisadas cromatograficamente em placas de sílica gel G, mistura solvente (benzeno:acetato de etila - 85:15), reveladores (luz UV de onda longa e onda curta e vapores de iodo). As frações de comportamento cromatográfico e pontos de fusão semelhantes foram reagrupadas, obtendo-se, então, duas frações identificadas pelas siglas Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub>, respectivamente. As citadas frações foram então analisadas respectivamente ao IV (Espectrofotômetro Perkin-Elmer mod. 457, pastilhas de KBr, concentração de 1/200 mg); ao UV (Espectrofotômetro Perkin-Elmer mod. 402, solução a 0,001 g % em etanol a 95% e solução etanólica de NaOH 0,1N), RMN (Espectrofotômetro Varian T 60-60 MHz, solvente: CDCI<sub>3</sub>, referência interna TMS) e massa (Espectrofotômetro Finnigan - mod. 1015, com introdução direta da amostra na

câmara de ionização). Determinou-se também o ponto de fusão das frações Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub> em aparelho Kofler e em FP 51 Metler.

## RESULTADOS

O rendimento de Db<sub>1</sub> foi da ordem de 0,418 g e de Db<sub>2</sub>, 0,603 g, com ponto de fusão respectivamente de 67,1°C e 66,3°C. Os espectros IV de Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub> apresentaram bandas características de éster alifático (1730, 1198, 738 e 725 cm<sup>-1</sup>)<sup>21</sup>. Os resultados da análise cromatográfica dos produtos de transesterificação e do tratamento por BF<sub>3</sub>/MeOH estão expressos nas Tabelas 1 a 6. A fração Db<sub>3</sub> apresentou rendimento da ordem de 1,010 g, com ponto de fusão = 222-224°C, enquanto Db<sub>4</sub> rendeu 3,860 g com ponto de fusão = 117-119°C. Os espectros IV de Db<sub>3</sub> apresentaram bandas características de cumarina (1750, 1310, 1250, 1202, 1000 cm<sup>-1</sup>)<sup>24, 25</sup>, o mesmo sucedendo com aquele de Db<sub>4</sub> (1728, 1322, 1262 e 1095 cm<sup>-1</sup>).

Os dados da RMN de Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub> estão expressos na Tabela 7.

TABELA 1 - Cromatografia em F.G. da fração Db<sub>1</sub> transesterificada - G.C. of the Db<sub>1</sub> trans-sterified fraction

Ácido graxo	% (em área)
C <sub>12</sub>	vestígios
C <sub>14</sub>	~ 0,50
C <sub>15</sub>	7,00
C <sub>16</sub>	4,00
C <sub>16:1</sub>	25,00
C <sub>18</sub>	1,00
C <sub>18:1</sub>	~ 0,50
C <sub>20</sub>	57,00

TABELA 2 - Cromatografia F.G. da fração Db<sub>1</sub> esterificada com BF<sub>3</sub>/MeOH - G.C. of the sterified (BF<sub>3</sub>/MeOH) fraction

Ácidos livres	% (em área)
C <sub>16</sub>	1,86
C <sub>18</sub>	58,87
C <sub>20</sub>	39,25

TABELA 3 - Cromatografia F.G. da fração Db<sub>2</sub> transesterificada - G.C. of the Db<sub>2</sub> trans-sterified fraction

Ácido graxo	% (em área)
C <sub>15</sub>	4,09
C <sub>16</sub>	2,51
C <sub>16:1</sub>	2,51
C <sub>18</sub>	36,00
C <sub>18:1</sub>	1,80
C <sub>20</sub>	51,71

TABELA 4 - Cromatografia em F.G. da fração Db<sub>2</sub> esterificada com BF<sub>3</sub>/MeOH - G.C. of the Db<sub>2</sub> sterified (BF<sub>3</sub>/MeOH) fraction

Ácidos livres	% (em área)
C <sub>16</sub>	2,77
C <sub>18</sub>	55,55
C <sub>20</sub>	41,66

TABELA 5 - Ácidos graxos esterificados presentes nas frações Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub> - Sterified fatty acids presents in the Db<sub>1</sub> and Db<sub>2</sub> fractions

Ésteres metílicos de ácidos graxos	Db <sub>1</sub> % (em área)	Db <sub>2</sub> % (em área)
C <sub>12</sub>	vestígios	0,0
C <sub>14</sub>	3,50	0,0
C <sub>15</sub>	~0,50	4,09
C <sub>16</sub>	7,00	2,51
C <sub>16:1</sub>	4,00	2,51
C <sub>18</sub>	25,00	36,00
C <sub>18:1</sub>	1,00	1,80
C <sub>18:2</sub>	~0,50	0,0
C <sub>20</sub>	57,00	51,71

TABELA 6 - Ácidos graxos livres presentes nas frações Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub> - Free fatty-acids presents in the Db<sub>1</sub> and Db<sub>2</sub> fractions

Ácidos livres	Db <sub>1</sub> % (em área)	Db <sub>2</sub> % (em área)
C <sub>16</sub>	1,86	2,77
C <sub>18</sub>	58,87	55,55
C <sub>20</sub>	39,25	41,66

TABELA 7 - Espectros de RMN - <sup>1</sup>H de Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub>\* - RMN - <sup>1</sup>H spectra of Db<sub>3</sub> and Db<sub>4</sub>

Substância	Deslocamento químico (δ) em ppm*					
	H-4	H-3	H-2'	H-3'	H-6	MeO-5 MeO-6
Db <sub>3</sub>	8,03d	6,21d	7,47d	6,96d	6,8s	3,9s
	(9,6)	(9,6)	(2,4)	(2,4)		
Db <sub>4</sub>	8,01d	6,31d	7,61d	7,03d	-	4,03s
	(9,6)	(9,6)	(2,3)	(2,4)		4,15s

\* Obtidos dos espectros efetuados em aparelho Varian T60 (60 MHz), solvente CDCl<sub>3</sub>, tendo como referência interna TMS.

\*\* s - singlete; d - dublete; ( ) - constante de acoplamento em cps.

## DISCUSSÃO

O aspecto das frações Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub> e alguns dados da espectrometria no infravermelho nos levaram a aplicar para as mesmas a metodologia citada anteriormente, considerando a possibilidade de tratar-se de misturas complexas de ésteres de ácidos graxos, empregando para tal padrões de triglicerídeos, como aqueles derivados dos ácidos oleanólico, mirístico, behênico, margárico, esteárico, palmítico, oleico e linoleico. Utilizando a cromatografia em camada delgada foi possível evidenciar que as citadas frações, que apresentaram pontos de fusão próximos, características macro e microscópicas semelhantes, eram na realidade misturas complexas formadas principalmente por triglicerídeos e alguns ácidos graxos livres. A análise dessas frações através da espectrometria na região do infravermelho veio confirmar alguns daqueles dados obtidos por meio de CCD. Assim, na região de 1730 cm<sup>-1</sup> pode-se observar absorção forte, tanto para Db<sub>1</sub> como para Db<sub>2</sub>, a qual pode ser atribuída ao estiramento de carbonila de ésteres<sup>3, 22</sup>. Outras bandas correspondentes à carbonila (vibração de estiramento) são também observadas a 1182 cm<sup>-1</sup> e 1198 cm<sup>-1</sup>, sendo que nas regiões de 725 cm<sup>-1</sup> e 738 cm<sup>-1</sup> estão evidenciadas duas bandas, como dubletos, atribuíveis à deformação de grupamentos (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, onde n > 4 correspondendo a cadeia alifática longa<sup>2, 21, 26</sup>. Os espectros de RMN de Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub> são compatíveis com compostos saturados, pois as múltiplas absorções de CH<sub>2</sub> e CH vão se superpondo impedindo análise mais detalhada, muito embora o espectro seja característico de estrutura contendo muitos átomos de carbono saturados<sup>17</sup>. À vista desses resultados foi necessária a obtenção de ésteres metílicos dos triglicerídeos presentes em ambas as frações, empregando para tal a reação de transesterificação segundo método de LUDDY *et alii*<sup>20</sup>, passando a analisá-las por meio de CFG, com o emprego de padrões. Através do estudo

dos diferentes cromatogramas foi possível evidenciar a diferença relativa de composição de Db<sub>1</sub> e Db<sub>2</sub>, o que justificaria também os seus pontos de fusão distintos. As diferenças existentes entre ambas não se prendem apenas ao aspecto qualitativo dos ácidos graxos que constituem os triglicerídeos, mas também ao aspecto quantitativo (Tabelas 1 a 6).

O espectro de absorção na região de IV das frações Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub> chama a atenção para alguns detalhes como aquele da presença de múltiplas bandas de absorção próximas a 1000 cm<sup>-1</sup>, com intensidade razoável, lembrando a presença de diversas ligações C-O; outras absorções registradas são todas características de cumarinas<sup>24, 25</sup> ou, mais especificamente, de furocumarinas substituídas<sup>24</sup>. A análise do espectro UV deixa evidente que absorções características de cumarinas estão presentes nas regiões de 222, 243 e 310 nm<sup>4, 14, 15, 23, 24, 29</sup>. O máximo de 310 nm pode ser atribuído ao anel lactônico<sup>5</sup> e a absorção em torno de 222 nm à configuração da dupla ligação C=O<sup>24</sup>, enquanto que aquela a 243 nm corresponde à conjugação O=C-CH=CH em um anel hexagonal<sup>24</sup>.

Pela análise do espectro de RMN é possível constatar a presença de grupo metoxila em 3,90 ppm (δ) e as absorções presentes como dubletos (J = 9,6 cps) respectivamente a 6,21 ppm e 8,03 ppm (Tabela 7) são indicativas da presença de hidrogênio em carbono olefínico no anel lactônico. Os prótons que aparecem como dubletos na região de 7,47 e 6,97 ppm (δ) e J = 2,4 cps podem ser atribuídos ao próton do anel furânico<sup>25</sup>. Esses dados sugerem que a metoxila possa estar como substituinte no anel benzenóide. O singlete a 6,80 ppm (δ) é atribuído a um próton aromático. Esses dados levantados através de espectrometria de IV, UV, RMN, determinação de propriedades químicas e mais aquele obtido através da espectrometria de massa (PM = 216) e posterior comparação com dados da literatura, nos levaram à conclusão de que Db<sub>3</sub> é o isobergapteno (5-metoxiangelicina)<sup>11</sup>, Fig. 1. O comportamento de Db<sub>4</sub> é quase todo ele semelhante àquele de Db<sub>3</sub>, levando também a pensar em uma estrutura de furocumarina. O espectro RMN não apresenta o singlete a 7,37 ppm devido ao próton<sup>1</sup> em 6 como o observado no espectro de Db<sub>3</sub>, significando que as posições 5 e 6 estão ocupadas. Por outro lado, os deslocamentos químicos observados (Tabela 7) diferem ligeiramente daqueles de Db<sub>3</sub>, o que realmente permite supor que ambas as frações, Db<sub>3</sub> e Db<sub>4</sub>, são formadas por substâncias que têm aproximadamente a mesma estrutura. De acordo com os dados levantados a respeito de Db<sub>4</sub> pode-se afirmar que o íon molecular a m/e 246 é compatível com a fórmula C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> que corresponde à isopimpinina e à pimpinina<sup>12, 13</sup>. Considerando a diferença de p.f. entre estas substâncias e levando-se em conta o p.f. obtido para Db<sub>4</sub> exclui-se a primeira possibilidade, pois a isopimpinina tem p.f. = 149°C<sup>24</sup> ou 151°C<sup>12</sup>, enquanto que a pimpinina funde a 119°C<sup>12</sup>, o que estaria de acordo com a constante obtida para Db<sub>4</sub>, podendo-se, à vista dos dados obtidos através da espectrometria ao IV, UV, RMN e massa (Fig. 2), atribuir a estrutura da pimpinina a Db<sub>4</sub>.

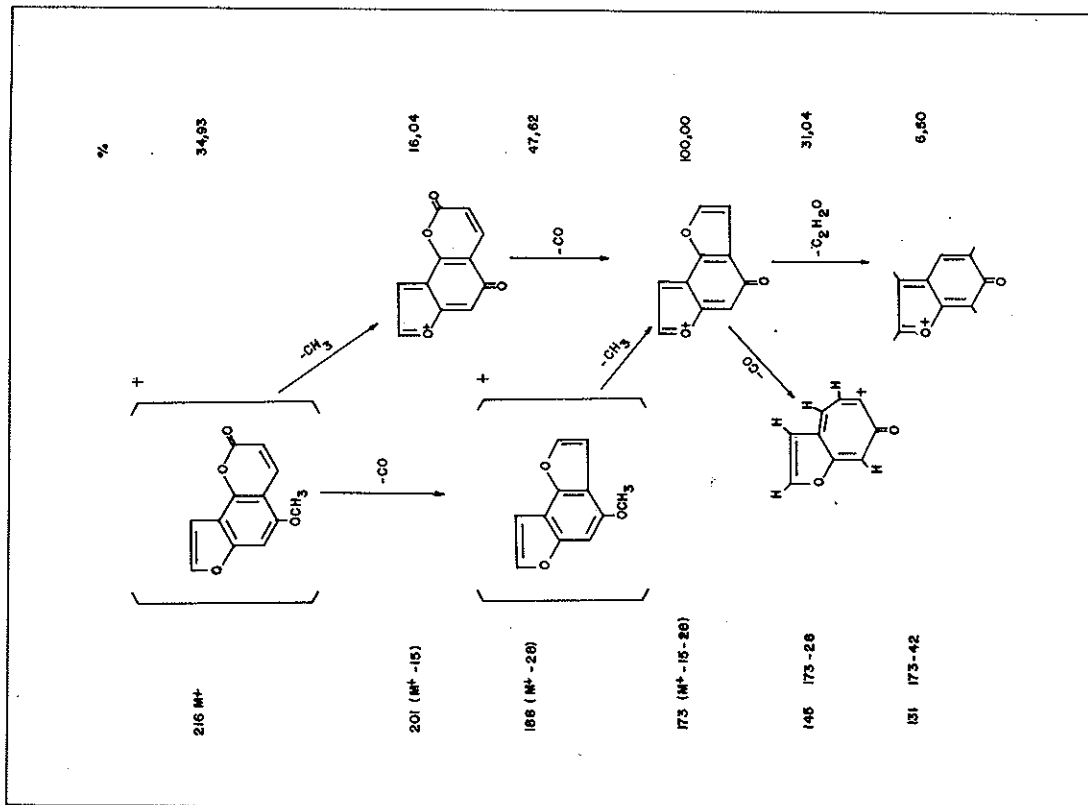


FIG. 1 - Esquema da fragmentação do espectro de massa de Db<sub>3</sub>.

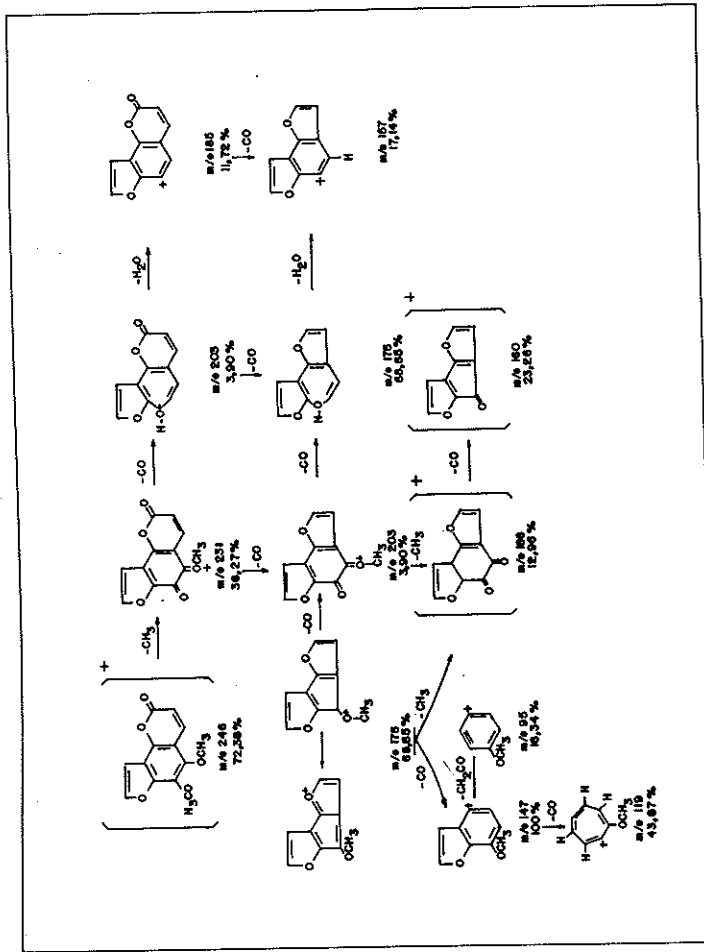


FIG. 2 - Esquema da fragmentação do espectro de massa de Db<sub>4</sub>.

**CONCLUSÕES**

1. Nos rizomas de *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq. (Moraceae) ocorrem diferentes tipos de compostos orgânicos, a saber, ácidos graxos livres e ácidos graxos esterificados (triglicérides) e furocumarinas.
2. Os ácidos graxos livres encontrados foram: palmítico (C<sub>16</sub>), esteárico (C<sub>18</sub>), eicosanóico (C<sub>20</sub>); tendo sido isolados e identificados os seguintes ácidos graxos esterificados: láurico (C<sub>12</sub>), mirístico (C<sub>14</sub>), pentadecanóico (C<sub>15</sub>), palmítico (C<sub>16</sub>), 9-hexadecenóico (C<sub>16:1</sub>), esteárico (C<sub>18</sub>), oleico (C<sub>18:1</sub>), linoleico (C<sub>18:2</sub>) e eicosanóico (C<sub>20</sub>).
3. Foram isoladas e identificadas duas furocumarinas, a saber: isobergapteno e pimpinelina.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. J. P. P. Carauta, da Fundação de Engenharia do Meio Ambiente (Rio de Janeiro) pela classificação botânica da espécie em estudo; aos Profs. Drs. Ana Maria T. T. Nasi, J. N. Callegari Lopes, W. Wichniewski, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (USP); J. L. Callegari Lopes, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto e A. F. de Magalhães, da UNICAMP, que nos permitiram a realização da análise instrumental necessária à execução do presente trabalho.

POZETTI, G. L. - Chemical study of *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq. (Moraceae). Ecl. Quím., São Paulo, 13: 41-51, 1988.

**ABSTRACT:** The chemical composition of the *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq. (Moraceae) rhizomes was studied. Different fractions were obtained with the following composition: a) sterified fatty acids (triglycerides): lauric (C<sub>12</sub>), myristic (C<sub>14</sub>), pentadecanoic (C<sub>15</sub>), palmitic (C<sub>16</sub>), 9-hexadecenoic (C<sub>16:1</sub>), stearic (C<sub>18</sub>), oleic (C<sub>18:1</sub>), linoleic (C<sub>18:2</sub>), eicosanoic (C<sub>20</sub>); b) free fatty acids: palmitic (C<sub>16</sub>), stearic (C<sub>18</sub>), eicosanoic (C<sub>20</sub>); c) furocoumarins: isobergapien and pimpinellin.

**KEY-WORDS:** *Dorstenia bryoniifolia* Mart. ex Miq.; rhizomes; sterified and free acids; furocoumarins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATHERHAM, T. J. & LAMBERTON, J. A. - *Australian J. Chem.*, 17, 1305 (1964).
- BELLAMY, L. J. - *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, 2<sup>nd</sup> ed., J. Wiley & Sons, New York, 1966, p. 27.
- Idem*, *ibidem*, p. 179.
- BEYRICK, von Th - *Pflanzl. Med.*, 13, 441 (1965).
- CARAUTA, J. P. P. - *Vellozia*, 6, 32 (1968).
- CARAUTA, J. P. P.; VALENTE, M. C. & SUCRE, D. - *Rodriguésia*, 27, 225 (1974).
- CARAUTA, J. P. P.; VALENTE, M. C. & SUCRE, D. - *Ciência e Cultura*, 28, 357 (1976).
- CARAUTA, J. P. P. - *Rodriguésia*, 44, 53 (1978).
- CASAGRANDE, C.; ROUCHEITI, F. & RUSSO, G. - *Tetrahedron*, 30, 3587 (1974).
- COIMBRA, R. - *Notas de Fitoterapia - Catálogo dos dados principais sobre plantas utilizadas em Medicina e Farmácia*, 2<sup>a</sup> ed., L. C. Silva Araújo, Rio de Janeiro, 1958, p. 101.
- DEAN, F. M. - *Naturally Occuring Oxygen Ring Compounds*, Butterworths, London, 1963, p. 177.
- Idem*, *ibidem*, p. 203
- Idem*, *ibidem*, p. 204
- DESAI, P. D.; GOVINDACHARI, R. T.; NAGARAJAN, K. & WISWANATHAN, N. - *Indian J. Chem.*, 5, 41 (1967).

- GANGULY, B. K. & BABCHI, P. - *J. Org. Chem.*, 21, 1415 (1956).
- LITCHFIELD, C. - *Analysis of Triglycerides*, Academic Press, New York, 1972, p. 36.
- Idem*, *ibidem*, p. 218.
- KOCH, L. - *Arch Pharm.*, 274, 343 (1936). Apud *Chem. Abstr.*, 30, 6508<sup>7</sup> (1936).
- LOPES, J. N. C.; NASI, A. M. T. T. & LOPES, J. L. C. - *Científica*, 4, 181 (1976).
- LUDDY, F. E.; BARFOED, R. A.; HERB, S. F. & MAGIDMAN, P. - *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 549 (1968).
- NAKANISHI, K. - *Infrared absorption Spectroscopy-Practical*, Holden-Day, São Francisco, 1964, p. 21.
- Idem*, *ibidem*, p. 44.
- NOVAK, I.; BUZÁS, G.; MINKER, E.; KOTTAL, M. & ZSENDRI, K. - *Acta Pharm. Hung.*, 37, 130 (1967).
- REYES, R. E. & GONZALES, A. G. - *An. Real Soc. Esp. Fis. Quím.*, 59, 765 (1963).
- REYES, R. E.; GONZALES, A. G.; LUIZ, F. R. - *An. Fis. Quím.*, 62, 775 (1966).
- SCHWARDZ, J. C. P. - *Métodos Físicos em Química Orgânica*, Acríbia, Zaragoza, 1968, p. 105.
- SEPLANTEC - *Inventário de Plantas Mediciniais do Estado da Bahia*, Seplante, Salvador, 1979, p. 410.
- Idem*, *ibidem*, p. 412.
- SIEBURG, E. - *Biochem. Z.*, 113, 176 (1921).
- SUPELCO - *Chromatography Lipids - Methylation Convenient with BF<sub>3</sub> - Methanol microesterification method*, Bulletin 721, Supelco Inc., Bellefonte, 1972.
- SUPELCO - *Chromatography catalog*, Bellefonte, 1977, p. 43.