

122-143 (203,6) foram lavadas com acetona levando à obtenção de friedelina (I), β -friedelinol (II) e 28-hidroxi-friedelina (III), respectivamente.

A fração 240-245 (622,3 mg) foi recromatografada em coluna de sílica gel (230-400 Mesh, para cromatografia rápida) utilizando como eluente hexano-acetato de etila (9:1) originando 25 frações. A fração 14 foi purificada por cromatografia em camada delgada preparativa (CHCl₃/EtOAc 65:35). O constituinte que apresentou *R_f* 0,65 foi separado e lavado com hexano levando à obtenção do sesquiterpeno (IV).

Teste de atividade antiespartmatogênica: Uma parte do extrato hexânico (EH), dissolvida em óleo de girassol, foi inoculada (1,0 g/kgpc/dia, p.o. via cânula) em ratos Wistar machos e adultos, durante 14 dias. Posteriormente os testículos foram seccionados em três partes, sendo a mediana fixada em solução de Karnovsky e as demais em ALFAC. Cortes histológicos de 3 mm foram corados em hematoxilina/eosina e analisados por ensaio cego (aleatorizados por outro experimentador).

Referências

- Fátima Silva GD, "Constituintes Químicos de *Austroplenckia populnea*: Estrutura molecular e de cristal e ensaios farmacológicos", Tese de doutorado. Departamento de Química, ICEX, UFMG. 1990; 274 p
- Correa MP. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil. Vol. V Ministério da Agricultura, RJ. 1969; 152
- Monache FD. Populnic acid, a new triterpenic acid with friedelane carbon skeleton. *Gaz. Chim. Ital.* 1972; 102: 636-646
- Vieira Filho SA, Duarte LP, Paes HCS, Silva GDF, Sousa JR & Lanna MCS. Antibacterial Activity of Pentacyclic Triterpenes from *Austroplenckia populnea*. *Acta Horticulturae.* 1999; 501: 199-203
- Mazaro R, Di Stasi LC, Vieira Filho SA, Kempinas WG, Decrease in sperm number after treatment of rats with *Austroplenckia populnea*. *Contraception.* 2000; 62: 45-50
- Patra A, Chaudhuri SK, Assignment of carbon - 13 nuclear magnetic resonance spectra of some friedelanes. *Magnetic Resonance in Chemistry.* 1987; 25, 95-100
- Salazar GCM, Silva GDF, Duarte LP, Vieira Filho AS, Lula, IS., Two epimeric friedelane triterpenes isolated from *Maytenus truncata* Reiss: ¹H and ¹³C chemical shift assignments. *Magnetic Resonance in Chemistry.* 2000; 38 (11): 977-980
- Salazar GCM, "Análise da Constituição Química da Casca da Madeira e Folhas de *Maytenus Floribunda*". Belo Horizonte, Departamento de Química. ICEX - UFMG. Dissertação de Mestrado. 1993; 93 p
- Vieira Filho AS, Duarte LP, Santos MH, Silva GDF, Lula, IS., Afonso RJCF. Complete assignment of the ¹H and ¹³C NMR spectra of a new polyester sesquiterpene from *Austroplenckia populnea*, *Magnetic Resonance in Chemistry.* 2000; 38 (11): 1023-1026

Substâncias fenólicas com atividade antioxidante de *Pseudopiptadenia contorta* (Leguminosae-Mimosoideae)

Davyson de Lima Moreira¹; Renata L. Engelhardt¹; Alexandre da Silva Reis²; Edgar Marteleto Sanches¹; Suzana Guimarães Leitão²; Gilda Guimarães Leitão^{1*}

¹ Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ

² Departamento de Produtos Naturais e Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ggleitao@nppn.ufrj.br

Resumo

O extrato bruto em acetona/ água das folhas de *Pseudopiptadenia contorta* foi purificado rendendo frações e substâncias puras. A atividade antioxidante foi avaliada para o extrato e frações, empregando-se o teste químico do DPPH. As frações contendo taninos condensados e substâncias fenólicas de baixo peso molecular mostraram ser as responsáveis pela atividade antioxidante do extrato bruto das folhas de *P. contorta*.

Pseudopiptadenia contorta pertence à família Leguminosae, que possui distribuição geográfica ampla e é representada por 650 gêneros e cerca de 18000 espécies, distribuídas em três subfamílias: Mimosoideae, Papilionoideae e Caesalpinioideae¹. *P. contorta* é encontrada em fragmentos de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro e faz parte da dieta alimentar do primata folívolo *Alouatta fusca*². Os radicais livres são espécies reativas associadas como causa ou consequência de inúmeras doenças crônicas, entre elas artrite reumatóide e a aterosclerose. A busca por substâncias antioxidantes naturais vem aumentando nos últimos anos, especialmente após a introdução do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* na terapêutica como antioxidante³. A atividade antioxidante pode ser avaliada in vitro com êxito pelo teste do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), um radical livre estável à temperatura ambiente, com coloração violeta característica em solução etanólica^{4,5}. A cromatografia em coluna com gel de Sephadex LH-20 do extrato em acetona/ água das folhas de *P. contorta* levou ao isolamento de 6 frações. As frações 1 e 4 foram purificadas por recristalização. O conjunto de dados espectrométricos (RMN ¹H e ¹³C, UV, APT, COSY H-H) obtidos para a substância da fração 1 permitiu identificá-la como o flavonol myricetrina. A substância purificada da fração 4 foi identificada como 2',4-diidroxi-4'-metoxichalcona^{6,7}. Análise da fração 5 por HPLC-DAD, utilizando-se sistema de solvente próprio para taninos condensados (sistema D)⁸, mostrou a presença de sinais em 19,01 min e entre 25 e 35 min. O espectro de UV desses sinais mostrou

absorção máxima em 278 nm. Esses dados estão concordantes com a presença de somente taninos condensados na amostra⁸. Os cromatogramas obtidos da análise por HPLC-DAD da fração 6 (sistema II), mostraram sinais na região do UV com absorção máxima em 278 nm, concordantes com o espectro de catequinas⁸. Análises por co-injeção com padrões permitiram identificar na fração 6 o ácido gálico livre e os galatos de catequina e de epicatequina. Avaliação da atividade antioxidante do extrato, frações e das substâncias puras mostrou valores de CE50% bastante significativos. O extrato em acetona/ água (7:3) apresentou valor de CE50% semelhante ao da rutina, utilizada como padrão ($14,40 \pm 0,29$ e $12,90 \pm 0,39$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). A fração 5, rica em taninos condensados, mostrou um alto poder antioxidante (CE50% = $8,74 \pm 0,26$ $\mu\text{g/ml}$). A fração 1 não apresentou boa atividade antioxidante (CE50% >250 $\mu\text{g/ml}$), porém, o flavonol purificado desta fração (myricetrina) mostrou um menor valor de CE50% do que os taninos condensados ($7,67 \pm 0,31$ $\mu\text{g/ml}$). A fração 6, rica em ácido gálico e catequinas, foi a mais ativa das testadas, com CE50% igual a $6,3 \pm 0,19$ $\mu\text{g/ml}$. Os padrões fenólicos mostraram excelente poder antioxidante, sendo que o ácido gálico foi o mais ativo (CE50% = $2,67 \pm 0,08$ $\mu\text{g/ml}$). Não houve diferença significativa entre o CE50% da catequina e da epi-catequina ($3,41 \pm 0,13$ e $3,36 \pm 0,10$ $\text{mg}/\mu\text{l}$, respectivamente).

Material e métodos

Folhas de *Pseudopiptadenia contorta* (DC.) G.P. Lewis & M.P. Lima foram coletadas na Mata Boa Vista, Levy Gasparian/RJ em 1995. O material vegetal foi identificado por Haroldo Lima e uma amostra foi depositada no herbário do Museu Nacional da UFRJ, Rio de Janeiro. O material vegetal foi seco em estufa a 37 °C, moído em moinho de facas e submetido à extração por maceração estática em acetona/ água (7:3). O extrato obtido foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Uma alíquota desse extrato foi purificada por cromatografia em coluna com gel de Sephadex LH-20, eluída inicialmente com EtOH 95 % e com mistura de acetona/ água 1:1. O extrato bruto e as frações foram analisadas por HPLC com detector DAD, empregando-se aparelho Lachrom Merck, equipado com coluna RP 18 (250 x 4 mm ID, 5 μm partícula), fluxo de 1 ml/ min. e sistema de análise: I- gradientes de água/ ácido acético 1% e CH_3CN ; II- gradientes de água/ ácido acético 1% e metanol. Os padrões ácido gálico, catequina, epi-catequina, galato de catequina, galato de epi-catequina e rutina foram obtidos da Sigma. A atividade antioxidante foi avaliada segundo técnica descrita anteriormente⁵.

Referências

- ¹Zomlefer W B. Guide to flowering plant families. The University of North Caroline Press. Chapel Hill, USA. 1994: 160-66
- ²Limeira V I G. Comportamento alimentar, padrão de atividades e uso do espaço por *Alouatta fusca* (Primates, Platyrrhini) em um fragmento degradado de Floresta Atlântica. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1996
- ³Pincemail J, Deby C. Propriétés anti radicalares de l'extrait de

Ginkgo biloba. La Presse Médicâle. 1986; 15(31): 1475-9

- ⁴Mensor L L. Atividade antioxidante de plantas brasileiras. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1999
- ⁵Mensor L L, Menezes F S, Leitão G G, Reis A S, Santos T C, Coube C S, Leitão S G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* 2001; 15: 127-30
- ⁶Sanders J K M, Hunter B K. Modern nmr spectroscopy - A guide for chemists. 2nd ed. Oxford University Press. New York. 1993; 314pp
- ⁷Mabry J T, Markham K R, Thomas M B. Systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag. New York. 1970
- ⁸Guyot S, Doco T, Souquet Jean-Marc, Moutounet M, Drilleau Jean-François. Characterization of highly polymerized procyanidins in cider apple (*Malus sylvestris* var. kermerrien) skin and pulp. *Phytochemistry.* 1997; 44(2): 351-7