

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Arrabidaea samydoides* (BIGNONIACEAE)

Patrícia Mendonça Pauletti e Vanderlan da Silva Bolzani*

Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara - SP

Maria Claudia Marx Young

Secção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, CP 4005, 01061-970 São Paulo - SP

Recebido em 15/5/02; aceito em 15/5/03

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *ARRABIDAEA SAMYDOIDES* (BIGNONIACEAE). Chemical investigation of *Arrabidaea samydoides* resulted in the isolation of the flavone chrysin; five triterpenes: lupeol, ursolic acid, 3 β ,16 α -dihydroxy-urs-12-ene, uvaol, and erythrodiol; and two sterols: sitosterol and stigmasterol. The structures of these compounds were established by spectroscopic analysis. This paper deal with the first phytochemical study of *Arrabidaea samydoides*.

Keywords: *Arrabidaea samydoides*; Bignoniaceae; triterpenes.

INTRODUÇÃO

Como parte da nossa busca por substâncias com atividades antitumoral, antifúngica e antioxidante em plantas do Cerrado e da Mata Atlântica do Estado de São Paulo, *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae) foi escolhida para estudo fitoquímico detalhado, devido à atividade no reparo do DNA apresentada pelo extrato EtOH dos caules, que mostrou inibição seletiva numa das linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* (RS 321, IC₅₀ = 1500). O resultado da atividade no reparo do DNA detectada no extrato de *A. samydoides* é um indício da presença de metabólitos especiais bioativos.

A família Bignoniaceae está constituída por 113 gêneros e 800 espécies de plantas arbustivas, arbóreas e trepadeiras¹. As espécies deste táxon encontram-se distribuídas nas regiões tropicais de todo o mundo, sendo de ocorrência freqüente no continente americano, cujos jacarandás (*Jacaranda brasiliana*) e ipês amarelo e roxo (*Tabebuia alba* e *T. avellanedae*) são os exemplos mais representativos da família. Plantas destas espécies são muito utilizadas na construção civil, carpintaria e construção de instrumentos musicais devido à natureza rígida da madeira; em planejamento urbano é também usada como planta ornamental, devido à beleza de suas florações², que têm no ipê o exemplo mais conhecido no paisagismo urbano. No Brasil, plantas desta família ocorrem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, não possuindo um habitat único, podem ser encontradas nos Cerrados, Mata Atlântica e região Amazônica². Existem poucos relatos de estudos químicos do gênero *Arrabidaea*, sendo *A. chica* a principal espécie estudada, da qual foram isolados fitosteróis, flavonóides e pigmentos utilizados em cosméticos: carajurona, carajurina e 3-deoxiantocianidinas³⁻⁷.

A ausência de estudos químicos sobre a espécie em questão, aliada ao fato da importância do registro químico de espécies endêmicas dos biomas brasileiros, motivaram o presente trabalho que descreve o estudo fitoquímico de *Arrabidaea samydoides*. Foram isoladas da fração AcOEt 6 xantonas com atividade antioxidante⁸, das quais 3 são inéditas; da fração CHCl₃ e da fração hexânica, 1 flavona, 5 triterpenos pentacíclicos e 2 esteróides. A ocorrência de xantonas e triterpenos na espécie é relevante para a quimiotaxonomia de Bignoniaceae, já que esta é a terceira espécie do gênero a ser estudada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A investigação fitoquímica de *Arrabidaea samydoides* resultou no isolamento do lupeol (**1**)⁹, sitosterol (**2**)¹⁰, estigmasterol (**3**)¹⁰, crisina (**4**)¹¹, 3 β ,16 α -diidroxiolean-12-eno (**5**)⁹, eritrodiol (**6**)^{9,12}, uvaol (**7**)^{9,13} e ácido ursólico (**8**)⁹. Os triterpenos **6-7** foram identificados neste estudo como uma mistura na proporção de 2:1, respectivamente.

A identificação de todas as substâncias acima mencionadas foi baseada na comparação de seus dados espectroscópicos (RMN ¹H e ¹³C, experimentos DEPT 135°, COSY, HMQC, HMBC, IV e EM) com valores disponíveis na literatura.

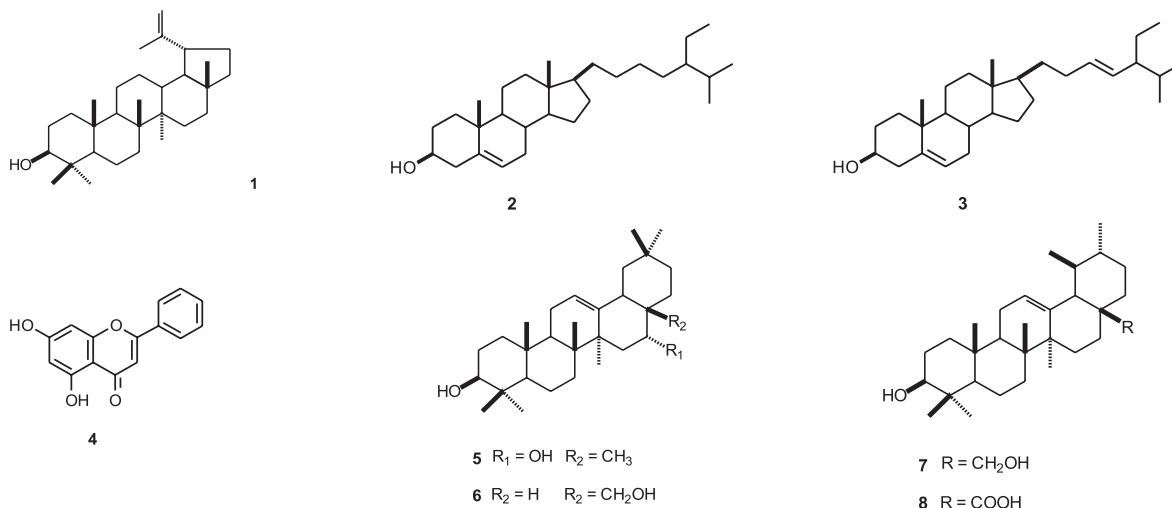
Em ensaios preliminares, visando a detecção de atividade antitumoral, o extrato bruto dos caules de *A. samydoides* apresentou atividade inibidora do crescimento de linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* rad + (12,0 mm) e rad 52 Y (13,0 mm), exceto na linhagem RS 321. A inibição do crescimento destas leveduras é um teste preliminar seletivo para verificar a ação de uma determinada amostra no reparo do DNA¹⁴, o que pode ser interpretado como uma atividade citotóxica. Atualmente muitas doenças podem estar relacionadas com alterações no DNA, entre elas, o câncer¹⁴. Assim, dado o interesse por produtos naturais com ação no DNA, priorizou-se o fracionamento da fração CHCl₃ bioativa [rad + (11,0 mm), RS 321 (inativa) e rad 52 Y (12,0 mm)]. O fracionamento e purificações subsequentes das frações bioativas indicaram uma diminuição gradativa da bioatividade das subfrações, quando comparadas com os valores de inibição determinados para o extrato bruto. Estes resultados são bastante freqüentes quando se faz estudo químico bio guiado e pode estar relacionado a vários fatores. Os mais comuns devem-se à perda de atividade durante a separação cromatográfica e ao sinergismo¹⁵.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação e material cromatográfico

Os espectros de RMN foram registrados em CDCl₃ e DMSO-*d*₆ no espectrômetro Bruker AC-200 F e Varian Inova 300 e 500, usando TMS como padrão de referência. Os experimentos COSY, HMBC e HMQC foram realizados em espectrômetro Varian Inova 500 e DEPT 135° em espectrômetro Bruker AC-200 F. O espectro de absorção no IV foi obtido no espectrômetro PERKIN ELMER- FT-IR,

*e-mail: bolzaniv@iq.unesp.br



utilizando-se pastilhas de KBr. Os espectros de massas foram registrados em espectrômetro de massas de baixa resolução FISIONS-Modelo VG Platform II, no modo Electrospray. Nas análises por CCDC e CCDP foram utilizadas placas de sílica gel 60 G F₂₅₄. As placas foram observadas sob luz UV 254 - 366 nm (Chromatovus) e reveladas com vapores de iodo ressublimado e solução de anisaldeído, seguida de aquecimento. Nas cromatografias em coluna foram utilizadas como fase estacionária sílica gel (230 - 400 mesh), sílica quimicamente modificada com grupos octadecila (ODS)¹⁶ e PVPP (polivinilpirrolidona).

Material vegetal

A espécie vegetal *Arrabidaea samydoides* Sandw. foi coletada na Estação Ecológica e Experimental de Mogi-Guaçu (SP) em abril de 2000. A exsiccata (Moraes 43) encontra-se depositada no Herbário do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo (SP).

Bioensaio

Para a detecção de atividade antitumoral em extratos e substâncias puras, foram utilizadas três linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* (rad+, 52Y e RS321) segundo a metodologia descrita na literatura¹⁴.

Os padrões utilizados foram: Camptotecina: rad⁺ 200 µg/mL (16,0 mm) e 52Y 5 µg/mL (21,0 mm) e estreptonigrina: RS-321 4 µg/mL (20,0 mm).

Extração

As folhas de *A. samydoides* (845,45 g) e os caules (837,80 g) foram secos, pulverizados e extraídos com etanol. Os extratos brutos das folhas (72,67 g) e do caule (22,86 g) foram suspensos em CH₃OH:H₂O (8:2) e submetidos a partição com hexano, CHCl₃ e AcOEt. Após a concentração dos solventes, foram obtidas das folhas as frações: hexânica (1,65 g), CHCl₃ (11,79 g), AcOEt (36,19 g), aquosa (9,45 g) e emulsão (10,8 g) e dos caules, as frações hexânica (0,46 g), CHCl₃ (2,5 g), AcOEt (4,77 g), aquosa (6,46 g) e emulsão (3,77 g).

A fração CHCl₃ dos caules (1,0 g) foi fracionada em uma coluna de sílica gel empregando gradiente de CH₂Cl₂:CH₃OH. A subfração 16-28 forneceu a substância **1** (34,3 mg). Da subfração 29-39 (51,7 mg) foi obtida a mistura de **2** e **3** (9,1 mg) após CCDP usando como eluente CH₂Cl₂. A subfração 44-51 (154,6 mg) apresentou atividade

inibidora do crescimento de linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* [rad + (14,0 mm), RS 321 (13,0 mm) e rad 52 Y (12,0 mm)] e foi submetida à coluna cromatográfica de PVPP usando como eluente CHCl₃, sendo a substância **4** (10,5 mg) isolada desta.

A fração hexânica dos caules (0,46 g) foi submetida à coluna de sílica gel utilizando gradiente de Hexano:AcOEt. A subfração 69-78 (48,7 mg) foi submetida a CCDP usando como eluente Hexano:AcOEt (7:3). Deste procedimento foi isolada a substância **5** (9,8 mg).

Uma parte da fração CHCl₃ (5,0 g) das folhas foi fracionada em coluna de sílica gel usando gradiente de Hexano:AcOEt. A mistura formada pelas substâncias **6** e **7** (9,1 mg) foi obtida da subfração 15 (44,2 mg), após cromatografia em coluna em sílica ODS utilizando como eluente gradiente de CH₃OH:CHCl₃. A substância **8** (73,0 mg) foi isolada da subfração 28-30 (678,0 mg) após coluna cromatográfica de sílica C-18 empregando como eluente gradiente de CH₃OH:CHCl₃.

CONCLUSÃO

Arrabidaea samydoides está incluída nas poucas espécies com atividade antitumoral, antifúngica e/ou antioxidante selecionada entre cerca de 1500 espécies coletadas na Mata Atlântica e Cerrados paulistas dentro do programa de bioprospecção do Biota-FAPESP. O presente estudo demonstrou que a atividade no reparo do DNA apresentada pelo extrato bruto manteve-se até frações semi purificadas. No entanto, as substâncias isoladas mostraram-se inativas.

O isolamento de uma flavona, triterpenos e esteróides de *A. samydoides* é bastante relevante tendo em vista ser o primeiro estudo químico e biológico dessa espécie da família Bignoniaceae, conhecida como um grupo de plantas de ocorrência marcante nos Cerrados brasileiros, hoje considerado um ecossistema seriamente ameaçado de extinção (área definida como "hots spots"¹⁷).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao programa Biota-FAPESP e CNPq pelos auxílios e bolsas concedidos.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.inform.umd.edu/PBIO>, acessada em Setembro 2002.
2. Lorenzi, H.; *Árvores Brasileiras I*, Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA: Nova Odessa, 1988.
3. Takemura, O. S.; Inuma, M.; Tosa, H.; Miguel, O. G.; Moreira, E. A.; Nozawa, Y.; *Phytochemistry* **1995**, *38*, 1299.

4. Harborne, J. B.; *Phytochemistry* **1967**, *6*, 1643.
5. Zorn, B.; Garcana-Pineres, A. J.; Castro, V.; Murillo, R.; Mora, G.; Merfort, I.; *Phytochemistry* **2001**, *56*, 831.
6. Devia, B.; Labres, G.; Wouters, J.; Escribano-Bailon, M. T.; de Pascual-Teresa, S.; Angenot, L.; Titis, M.; *Phytochem. Anal.* **2002**, *13*, 114.
7. Alcerito, T.; Barbo, F. E.; Negri, G.; Santos, D. Y. A. C.; Meda, C. I.; Young, M. C. M.; Chavez, D.; Blatt, C. T. T.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2002**, *30*, 677.
8. Pauletti, P. M.; Castro-Gamboa, I.; Silva, D. H. S.; Young, M. C. M.; Tomazela, D. M.; Eberlin, M. N.; Bolzani, V. da S.; *J. Nat. Prod.*, no prelo.
9. Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517.
10. Goulart, M. O. F.; Sant'Ana, A. E. G.; Lima, R. A.; Cavalcante, S. H.; Carvalho, M. G.; Filho, R. B.; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 95.
11. Agrawal, P. K.; Thakur, R. S.; Bansal, M. C. Em *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Agrawal, P. K., ed.; Elsevier: Amsterdam, 1989, cap. 3.
12. Siddiqui, S.; Hafeez, F.; Begun, S.; Siddiqui, B. S.; *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 1086.
13. Pant, P.; Rastogi, R. P.; *Phytochemistry* **1977**, *16*, 1787.
14. Gunatilaka, A. A. L.; Kingston, D. G. I.; Johnson, R. K.; *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 2219.
15. Hostettmann, K.; Marston, A.; Hostettmann, M.; *Preparative Chromatography Techniques: Application in Natural Product Isolation*, Springer: Berlin, 1998.
16. Snyder, L. R.; Glajch, J. L.; Kirkland, J. J.; *Practical HPLC Method Development*, John Wiley & Sons: Nova Iorque, 1988.
17. Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Da Fonseca, G. A. B.; Kent, J.; *Nature* **2000**, *403*, 853.