

## PREGNANOS E OUTROS CONSTITUINTES DAS RAÍZES DE *Macrosiphonia petraea* (A. St.-Hil.) Kuntze (Apocynaceae)

Luiz Roberto de Assis Junior, Fernanda Rodrigues Garcez e Walmir Silva Garcez\*

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CP 549, 79070-900 Campo Grande – MS, Brasil

Zaira da Rosa Guterres

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, BR 163, km 20,2, 79980-000 Mundo Novo – MS, Brasil

Recebido em 6/7/12; aceito em 30/10/12; publicado na web em 20/2/13

PREGNANES AND OTHER CONSTITUENTS OF THE ROOTS OF *Macrosiphonia petraea* (A. St.-Hil.) Kuntze (Apocynaceae). *Macrosiphonia petraea* (A. St.-Hil.) Kuntze is a plant popularly known as “velame”. Its root infusion is used in the folk medicine of Mato Grosso do Sul, Brazil, for the treatment of inflammatory diseases. Phytochemical investigation of the roots of this species led to the identification of 17 compounds belonging to four different classes: two pregnanes, 12 $\beta$ -hydroxypregna-4,6,16-triene-3,20-dione, neridenone A, and 12 $\beta$ -hydroxypregna-4,6-diene-3,20-dione, cybisterol, one hydroxylated fatty acid, 5-hydroxy-octadeca-6(E)-8(Z)-dienoic acid, two lignoids, pinosresinol and 8 $\alpha$ -hydroxypinosresinol, ten pentacyclic triterpenoids, and two steroids.

Keywords: Apocynaceae; *Macrosiphonia petraea*; pregnane.

### INTRODUÇÃO

A história do uso de plantas medicinais se confunde com a história humana e registros antigos têm demonstrado a sabedoria do homem no que tange à utilização destes produtos naturais.<sup>1,2</sup> No Brasil a cultura da utilização de plantas medicinais é passada de geração para geração principalmente de forma oral, o que torna distinta esta prática em cada região do país.<sup>3,4</sup> A família Apocynaceae, que no Brasil ocorre em diversos biomas, abrangendo cerca 850 espécies e 90 gêneros, possui grande importância devido a diversos exemplares com potencial medicinal.<sup>5</sup> Inúmeras espécies de Apocynaceae são utilizadas na medicina moderna, destacando-se as pertencentes aos gêneros *Catharanthus*, *Aspidosperma*, *Macrosiphonia*, *Mandevilla*, *Rauwolfia*, *Himatanthus*, *Plumeria* e *Strophantus*.<sup>6</sup>

Neste grupo de plantas há questões taxonômicas problemáticas envolvendo principalmente o grande gênero *Mandevilla* e os considerados seus gêneros satélites: *Macrosiphonia*, *Telosiphonia* e, mais recentemente *Quiotania*.<sup>7</sup> Tradicionalmente, *Mandevilla* é considerado um gênero de plantas medicinais, podendo-se destacar as espécies *Mandevilla velutina* e *Mandevilla illustris*, utilizadas na medicina popular contra mordida de cobra e como anti-inflamatório, respectivamente.<sup>8,9</sup> A investigação fitoquímica de plantas deste gênero levou ao isolamento de glicosídeos cardíacos, pregnanos e triterpenos e à caracterização de substância com importante propriedade anti-inflamatória e antinociceptiva.<sup>10</sup>

No gênero *Macrosiphonia*, a planta medicinal mais conhecida e estudada, para a qual são atribuídas diversas propriedades, destacando-se a atividade anti-inflamatória, é a *M. velame*, popularmente designada como velame-branco.<sup>11</sup> A espécie *Macrosiphonia petraea*, também designada pelas sinônimas *Macrosiphonia petrea*, *Macrosiphonia verticillata* var. *petrea* e *Mandevilla petrea*, é endêmica no estado de Mato Grosso do Sul e tem o chá de suas raízes indicado para o tratamento de inflamações. Este trabalho aborda o primeiro estudo fitoquímico de raízes de *M. petraea*, descrevendo o isolamento e identificação de 17 compostos pertencentes a quatro

classes, sendo dois pregnanos, um ácido graxo hidroxilado, dois lignoides, dez triterpenoides e dois esteroides.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Instrumentação e procedimentos gerais

Para as técnicas de cromatografia em coluna foram utilizadas como fases estacionárias sílica gel (70-200 e 200-400 mesh) e Sephadex® LH-20. As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando sílica gel 60 GF<sub>254</sub> e cromatofolhas de alumínio 60 F<sub>254</sub> da Merck®. Como reveladores foram utilizadas solução a 2% de sulfato de cério em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e luz UV. Os espectros de RMN foram obtidos nos espectrômetros Bruker® DPX-300 (300 MHz para <sup>1</sup>H e 75 MHz para <sup>13</sup>C) e Bruker® Avance DRX 500 (500 MHz para <sup>1</sup>H e 125 MHz para <sup>13</sup>C) e como solventes foram utilizados CDCl<sub>3</sub> e CD<sub>3</sub>OD, de procedência CIL® (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.); os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos no espectrômetro de massas acoplado a cromatógrafo a gás (CG-EM) Shimadzu® - QP2010 Plus e os de alta resolução-HRESIMS no espectrômetro Bruker® micrOTOF-QII, Compass. As medidas de rotação óptica foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer® 341.

#### Material vegetal

O espécime foi coletado no município de Bonito – MS e sua identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. A. Pott (DBI/UFMS), sendo uma exsicata (WG 272) incorporada ao Herbário-CGMS, da UFMS, em Campo Grande - MS.

#### Extração e isolamento dos compostos

As raízes (150,0 g) previamente limpas foram moídas e submetidas à extração com álcool etílico em excesso à temperatura ambiente. A solução resultante após filtração foi concentrada sob pressão reduzida, originando o extrato bruto (12,0 g). Este foi dissolvido em solução hidroalcoólica (MeOH:H<sub>2</sub>O 1:1) e submetido à partição com hexano e, posteriormente, com acetato de etila, dando origem a

\*e-mail: walimir.garcez@ufms.br

três fases: hexânica (5,2 g), acetato de etila (4,0 g) e hidrometanólica (2,2 g). O resíduo originado da fase AcOEt foi extraído com  $\text{CHCl}_3$  e o material obtido (1,70 g) foi submetido à cromatografia em coluna de sílica gel 70-200 mesh, utilizando  $\text{CHCl}_3$ :MeOH em gradiente de polaridade crescente (utilizando as proporções de 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 4:6, 3:7, 2:8 e 0:10 para  $\text{CHCl}_3$  e MeOH, respectivamente). Este processo originou 17 frações (150,0 mL cada), as quais, após análise por cromatografia em camada delgada, foram agrupadas em 9 frações (C). A fração 2C, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (9:1), foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 200-400 mesh, utilizando  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (99:1 a 95:5). Este processo originou 9 frações (2C1-9), sendo que na fração 2C1, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (99:1), foi possível identificar os compostos acetato de lupeol (**11**), acetato de  $\alpha$ -amirina (**12**) e acetato de  $\beta$ -amirina (**13**), em mistura. A fração 2C8, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (96:04), foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 200-400 mesh, com  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (95:5), obtendo-se os compostos 12 $\beta$ -hidroxipregna-4,6,16-trieno-3,20-diona (**1**) e 12 $\beta$ -hidroxipregna-4,6-dieno-3,20-diona (**2**). A partir da fração 3C, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (8:2), foram realizados sucessivos fracionamentos cromatográficos em colunas de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 em  $\text{CHCl}_3$ , resultando no isolamento do composto pinoresinol (**4**). A fração 5C, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (6:4), foi fracionada utilizando-se coluna de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 em  $\text{CHCl}_3$ , obtendo-se os compostos 8 $\alpha$ -hidroxipinoresinol (**5**) e ácido 5-hidróxi-octadeca-6(E)-8(Z)-dienoico (**3**). Na fração 8C, obtida no sistema eluente  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (3:7), houve a formação de um precipitado, constituído de ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-tri-hidróxi-olea-12-en-28-oico (ácido arjunólico, **6**) e ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-tri-hidróxi-urs-12-en-28-oico (ácido asiático, **7**). A fase hexânica foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel 70-200 mesh, utilizando-se misturas de hexano e acetato de etila (AcOEt) em gradiente de polaridade crescente (proporções de 10/0; 9,5/0,5; 9/1; 8/2; 7/3; 6/4; 5/5; 4/6 e 2/8 de hexano e AcOEt, respectivamente). Este processo originou 22 frações (200 mL cada), as quais, após análise por cromatografia em camada delgada, foram agrupadas em 12 frações (H). A fração 5H, obtida no sistema de solvente Hexano:AcOEt (9:1), foi submetida à cromatografia em coluna utilizando Sephadex<sup>®</sup> LH-20 e  $\text{CHCl}_3$ , fornecendo os compostos

lupeol (**8**),  $\alpha$ -amirina (**9**) e  $\beta$ -amirina (**10**), em mistura. A fração 6H, obtida no sistema de solvente hexano:AcOEt (8:2), foi submetida a processo de fracionamento cromatográfico empregando-se coluna de sílica gel 200-400 mesh, eluída com  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt (9:1), sendo obtidas 9 frações (6H1-9). Na fração 6H3 foram identificados os compostos  $\beta$ -sitosterol (**16**) e estigmasterol (**17**), em mistura, enquanto a fração 6H-8, após cromatografia em coluna de Sephadex<sup>®</sup> LH-20 em  $\text{CHCl}_3$ , forneceu ácido 3-O-acetil-ursólico (**14**) e ácido 3-O-acetil-oleanólico (**15**), em mistura (Figura 1).

#### 12 $\beta$ -hidroxipregna-4,6,16-trieno-3,20-diona (neridienona A) (**1**)

Sólido amarelo,  $[\alpha]_D^{23} +26,9^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ;  $c$  1,01), HRESIMS  $m/z$   $[M+H]^+ = 327,1949$  (calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3$ : 327,1953). RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ : Tabela 1.

#### 12 $\beta$ -hidroxipregna-4,6-dieno-3,20-diona (cybisterol) (**2**)

Sólido amarelo, CG-EM (70 eV)  $m/z$  328 ( $M^+$ ). RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ : Tabela 1.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O composto **1**, obtido como um sólido amarelo, apresentou no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  21 sinais, incluindo dois referentes a carbonilas conjugadas ( $\delta$  199,4 e 198,9) e seis sinais de carbonos  $\text{sp}^2$  (4CH e 2C). Este espectro mostrou também, entre outros, sinais de metilas ligadas a carbonos quaternários e de um carbono carbinólico ( $\delta$  73,2, CH). O espectro de massas de alta resolução (HRESIMS), obtido no modo positivo, exibiu um pico em  $m/z$  327,1949  $[M+H]^+$ , compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_3$  (calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3$ : 327,1953). No experimento HSQC foram observadas as correlações que permitiram realizar as atribuições dispostas na Tabela 1. Por meio das correlações observadas no experimento HMBC, foi possível definir as conexões entre os diversos grupos presentes na estrutura de **1**. Destacam-se as correlações entre os hidrogênios de H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  0,93) e os carbonos com  $\delta_{\text{C}}$  em 51,4 (C-14), 52,8 (C-13), 73,7 (C-12) e 155,2 (C-17) e entre o H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  1,59) e os carbonos com  $\delta_{\text{C}}$  em 31,7 (C-15), 34,8 (C-8), 49,0 (C-9), 52,4 (C-13) e 73,7 (C-12). Estas correlações, juntamente com as do hidrogênio H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  3,70) com o carbono metilênico C-11

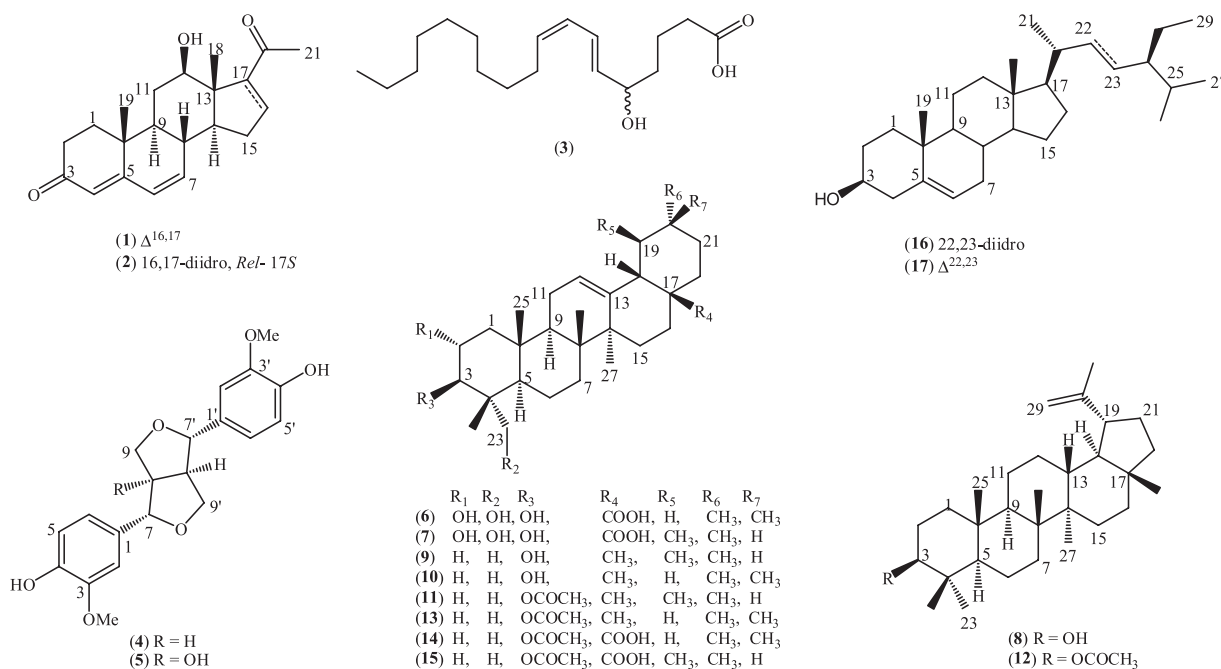


Figura 1. Estruturas dos constituintes químicos isolados das raízes de *Macrosiphonia petraea* Apocynaceae

**Tabela 1.** Dados de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz) e <sup>13</sup>C (75 MHz) dos compostos **1** e **2** (CDCl<sub>3</sub>)

C/H	Neridienona A (1)		Cybisterol (2)	
	δ <sup>1</sup> H	δ <sup>13</sup> C	δ <sup>1</sup> H	δ <sup>13</sup> C
1a	1,72 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 13,5 e 5,2 Hz)	33,6		33,8
1b	2,01 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 13,5, 5,2 e 2,4 Hz)			
2	2,5 (2H, <i>m</i> )	33,9		33,9
3	-	199,5	-	199,5
4	5,7 (1H, <i>sl</i> )	124,3	5,66 (1H, <i>s</i> )	124,1*
5	-	162,7	-	162,9
6	6,14 (1H, <i>dl</i> , <i>J</i> = 9,8 Hz)	129,1	6,10 (1H, <i>dl</i> , <i>J</i> = 10,1 Hz)	128,7*
7	6,16 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,8 e 2,4 Hz)	138,7	6,12 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,1 e 2,3 Hz)	139,2*
8	2,34 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 10,6 e 2,5 Hz)	34,8		36,4
9	1,33 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 10,6 e 3,5 Hz)	49,0		51,0
10	-	36,1	-	35,0
11	1,92 (2H, <i>m</i> )	28,6		28,8
12	3,70 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,5 e 5,3 Hz)	73,7	3,49 (H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 10,3 e 4,6 Hz)	77,2
13	-	52,8	-	48,6
14	1,59 (1H, <i>m</i> )	51,4		48,6
15a	2,39 (1H, <i>m</i> )	31,7		23,2
15b	2,58 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 17,0, 7,0 e 3,5 Hz)			
16	6,99 (1H, <i>tl</i> , <i>J</i> = 3,5 e 1,9 Hz)	149,0		24,9
17	-	155,2		63,7
18	0,93 (3H, <i>s</i> )	11,7	0,79 (3H, <i>s</i> )	7,9
19	1,12 (3H, <i>s</i> )	16,1	1,09 (3H, <i>s</i> )	16,3
20	-	198,9	-	213,8
21	2,38 (3H, <i>s</i> )	26,8	2,21 (3H, <i>s</i> )	30,2

\*Valores corrigidos no presente trabalho.

(δ 28,6), levaram à definição dos anéis C e D na estrutura de **1**. A presença e a localização de um grupo acetil em C-17 foram definidas pelas correlações entre o hidrogênio H-16 (δ<sub>H</sub> 6,98) e o carbono carbonílico (δ 198,9) e deste com os hidrogênios H-21 (δ<sub>H</sub> 2,38). Já os anéis A e B foram definidos através das correlações observadas no experimento HMBC entre hidrogênios e carbonos olefínicos de um sistema dienônico α, γ insaturado e entre os hidrogênios de H-19 (δ<sub>H</sub> 1,12) e os carbonos com δ<sub>C</sub> em 33,6 (C-1), 36,1 (C-10), 49,0 (C-9) e 163,8 (C-5). Estes dados levaram à definição da estrutura do composto **1**, conhecido com neridienona A (Figura 1), que corresponde a um pregnano isolado pela primeira vez de raízes de *Nerium oleander*, em 1976,<sup>12</sup> e posteriormente de *Apocynum venetum* var. *basikurumon*, em 1987,<sup>13</sup> e novamente de *Nerium oleander* em 1999 e 2007.<sup>14,15</sup> Esta substância, inédita no gênero *Macrosiphonia*, apresenta atividade anti-inflamatória e é citotóxica para células humanas,<sup>15</sup> sendo, portanto uma candidata a responsável pela atividade atribuída ao uso popular e pela atividade genotóxica demonstrada pelo extrato etanólico das raízes de *M. petraea*.

O composto **2** foi obtido em mistura com o composto **1** e os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C destas substâncias apresentaram sinais muito semelhantes, observando-se a duplicação da maioria deles. Foi possível listar os valores de deslocamento químico dos carbonos do composto **2** e constatar a presença de apenas duas ligações duplas na estrutura e que a carbonila C-20 (δ 213,8) não se encontra conjugada. Estas observações levaram à proposta de que o composto **2** possui a estrutura mostrada na Figura 1, que corresponde à de 12β-hidroxi-pregna-4,6-dieno-3,20-diona, também denominado cybisterol. A comparação dos dados de RMN <sup>13</sup>C de **2** com os do cybisterol<sup>13</sup> mostrou tratar-se da mesma substância. Cybisterol, identificado

inicialmente em secreções defensivas de besouro d'água<sup>16,17</sup> e, posteriormente, em três plantas da família Apocynaceae, *Nerium odorum*, *Apocynum venetum* e *Adenium obesum*,<sup>7,8,18</sup> está sendo descrito pela primeira vez em *Macrosiphonia*. A literatura revela que a ausência da ligação dupla C-16/C-17 na estrutura do composto **2** o torna não citotóxico.<sup>13</sup> As atribuições dos deslocamentos químicos de C-4, C-6 e C-7 descritas por Abe *et al.*<sup>13</sup> foram corrigidas no presente trabalho.

O composto **3** apresentou-se como um sólido amarelo e seu espectro de RMN <sup>1</sup>H apresentou sinais característicos de um composto de natureza graxa, além de sinais de quatro hidrogênios olefínicos e de um hidrogênio carbinólico. Os valores das constantes de acoplamento dos hidrogênios olefínicos indicaram tratar-se de uma ligação dupla *cis* (*J* = 10,4 Hz) e outra *trans* (*J* = 14,5 Hz). No espectro de RMN <sup>13</sup>C foram listados 18 sinais, incluindo os de quatro carbonos olefínicos (CH), um carbinólico (CH) e uma carboxila. O valor do deslocamento químico do hidrogênio carbinólico (4,14, 1H, *ddl*, *J* = 12,4 e 6,6 Hz) e a coincidência de uma das constantes de acoplamento deste (6,6 Hz) com uma das constantes de acoplamento do hidrogênio olefínico a δ 5,65 (1H, *dd*, *J* = 14,5 e 6,6 Hz) permitiu sugerir a localização da hidroxila no carbono alílico. O espectro de massas de alta resolução (HRESIMS), obtido no modo negativo, apresentou pico do íon pseudomolecular em *m/z* = 295,2258 [M-H]<sup>-</sup>, compatível com a fórmula C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (calculado para C<sub>18</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub>: 295,2265). Esses dados, aliados aos obtidos da literatura, permitiram identificar o composto **3** como sendo o ácido 5-hidróxi-octadeca-6(*E*)-8(*Z*)-dienoico, o qual foi isolado de *Allium neapolitanum*.<sup>19</sup> Nesse trabalho, este composto foi obtido como mistura racêmica e, possivelmente, teve origem não enzimática, como os próprios autores admitem. Investigações do metabolismo de derivados de ácidos graxos envolvidos em processos inflamatórios<sup>20</sup> mostraram que o ácido 5*R*-hidróxi-octadeca-6(*E*)-8(*Z*)-dienoico participa destes processos, sendo originado do ácido sebáico. Ambos os isômeros (5*R* e 5*S*) do composto **3** foram sintetizados,<sup>20,21</sup> porém os autores não forneceram os valores de rotação óptica específica e, portanto, não foi possível definir a configuração de C-5 do composto **3**, inédito na família Apocynaceae.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H de **4** mostrou sinais típicos de anel benzênico 1, 2, 4- trissubstituído, sinal de uma metoxila, sinais de hidrogênios carbinólicos, além de sinais de hidrogênios mais protegidos. O espectro de RMN <sup>13</sup>C de **4** exibiu sinais de carbonos do anel benzênico referido, da metoxila, de dois carbonos carbinólicos, um CH (δ 85,9) e um CH<sub>2</sub> (δ 71,7). Estes dados não permitem compor uma estrutura, sugerindo tratar-se de uma estrutura com duas unidades C6/C3 dimerizadas de forma simétrica, ou seja, uma lignana. Comparação dos dados de RMN de **4** com os descritos na literatura<sup>22</sup> confirmou que o composto **4** é o pinoresinol. Já o composto **5** apresentou características espectroscópicas semelhantes às de **4**, indicando tratar-se também de uma lignana, porém sem possuir uma estrutura simétrica. No espectro de RMN <sup>13</sup>C observou-se, na região referente a carbonos saturados, sinal de apenas um carbono metínico não ligado a oxigênio (δ 60,3) e de um carbono oxigenado não ligado a hidrogênio (δ<sub>C</sub> 91,9). Estes dados são compatíveis com a possibilidade de **5** ser de uma lignana furofurânica hidroxilada na junção dos anéis heterocíclicos (C-8). A comparação dos dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C de **5** com dados obtidos da literatura levou à identificação de **5** como sendo 8α-hidroxi-pinoresinol.<sup>23</sup> As lignanas **4** e **5** ainda não haviam sido descritas em espécies de *Macrosiphonia*.

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C dos compostos **6** e **7** indicaram tratar-se de dois triterpenos ácidos e os valores de deslocamento químico dos sinais dos carbonos de ligação dupla evidenciaram que estes compostos possuem esqueletos oleanano e ursano, respectivamente.<sup>24,25</sup> A localização da carboxila em C-28 foi definida, para ambos os casos, através dos valores de deslocamento químico de C-18 (δ 42,7 em **6** e δ 54,3 em **7**), que sofrem significativa variação

em função da presença deste grupo funcional no carbono 28. Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  destes compostos foram observados três sinais de carbonos carbinólicos, sendo dois CH ( $\delta$  78,2 e 69,7) e um  $\text{CH}_2$  ( $\delta$  66,3). As intensidades destes sinais indicaram que estes grupos funcionais estão presentes nas duas estruturas e, pela coincidência dos sinais, que se localizam em regiões distantes do anel E. Uma busca na literatura mostrou que as três hidroxilas presentes nas estruturas de **6** e **7** encontram-se em C-2 $\alpha$ , C-3 $\beta$  e C-23, levando à identificação de **6** como sendo o ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-tri-hidróxi-olean-12-en-28-oico,<sup>26</sup> conhecido também como ácido arjunólico, e de **7** como sendo o ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-tri-hidróxi-urs-12-en-28-oico,<sup>27</sup> denominado ácido asiático, ambos descritos pela primeira vez no gênero *Macrosiphonia*.

Os triterpenos lupeol (**8**),  $\alpha$ -amirina (**9**),  $\beta$ -amirina (**10**), obtidos em mistura, foram identificados com base na análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e comparação com dados descritos na literatura,<sup>24,28</sup> sendo as identificações confirmadas por CG/EM.

Observou-se, também, nesta espécie a presença de cinco triterpenos acetilados (**11-15**). O primeiro conjunto com três destes compostos, os menos polares, é constituído de acetato de lupeol (**11**), acetato de  $\alpha$ -amirina (**12**) e acetato de  $\beta$ -amirina (**13**). Estes triterpenos, obtidos em mistura em proporção aproximada de 2:4:1, respectivamente, foram identificados principalmente pelos dados de RMN  $^{13}\text{C}$ . Este espectro apresentou os sinais dos carbonos de ligação dupla típicos de cada esqueleto e as diferentes proporções dos componentes facilitou a listagem de cada conjunto de sinais e, portanto, a comparação com os dados descritos na literatura.<sup>24,25</sup> As presenças dos grupos acetato foram definidas com base nos sinais dos espectros de RMN  $^1\text{H}$   $\delta_{\text{H}}$  4,45 (H-3), 1,92 (H<sub>3</sub>CCOO) e de  $^{13}\text{C}$  em  $\delta_{\text{C}}$  80,8 (C-3), 170,8 (H<sub>3</sub>CCOO) e 22,6 (H<sub>3</sub>CCOO). A comparação destes dados com os relatados na literatura mostrou compatibilidade, confirmando a identificação dos compostos **11**, **12** e **13**.

O outro conjunto de triterpenos acetilados contém dois compostos (**14** e **15**), os quais demonstraram características de ácido carboxílico em cromatografia em camada delgada. O espectro de IV da mistura mostrou bandas de hidroxilas e carboxilas de ácidos (3433 e 1697  $\text{cm}^{-1}$ ) e de ésteres (1735  $\text{cm}^{-1}$ ). Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  evidenciaram a presença das unidades acetila de forma semelhante ao mencionado para as substâncias **11-13** e que se tratava de uma mistura de triterpenos com esqueleto oleanano e ursano.<sup>29,30</sup> A carboxila formada com o carbono 28 foi definida da mesma maneira que para os compostos **6** e **7**. Desta forma, os compostos **14** e **15** foram identificados como sendo o ácido 3-O-acetil-oleanólico e ácido 3-O-acetil-ursólico, respectivamente.

Os esteroides  $\beta$ -sitosterol (**16**) e estigmasterol (**17**), também em mistura, foram identificados com base em seus espectros<sup>31</sup> RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e por CG/EM.

Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e os respectivos espectros dos compostos isolados estão disponíveis no material suplementar.

Uma investigação paralela das propriedades do extrato etanólico de raízes de *M. petraea* mostrou, através do teste SMART,<sup>32</sup> que o mesmo possui atividade genotóxica e, portanto, pode ter ação nociva sobre o organismo humano.

## CONCLUSÃO

Plantas da família Apocynaceae demonstram grande potencial como produtoras de compostos bioativos, muitos deles tóxicos. O gênero *Macrosiphonia* é considerado um dos mais importantes desta família e abrange algumas espécies consideradas medicinais. No presente trabalho foi investigada a raiz de *M. petraea*, conhecida como velame, a qual é comercializada com fins medicinais, e cujo extrato apresentou atividade genotóxica numa investigação paralela. Este estudo resultou na identificação de compostos da classe dos

triterpenos (**6-15**), destacando-se o ácido arjunólico (**6**) e o ácido asiático (**7**), duas lignanas (**4** e **5**), um ácido graxo hidroxilado inédito na família (**3**), o qual consta como sendo dotado de atividade antibacteriana, e dos pregnanos, meridienona A (**1**) e cybisterol (**2**). Esta classe de compostos é precursora dos cardenolídeos, um importante grupo de substâncias que abrange alguns com propriedades tóxicas. Os próprios pregnanos são compostos dotados de atividades biológicas e que podem estar envolvidos na ação detectada no extrato etanólico das raízes de *M. petraea*. Lignanas e pregnanos não haviam sido isolados de *Macrosiphonia*, porém representantes destas classes de compostos foram caracterizadas em plantas de alguns gêneros de Apocynaceae.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC e tabelas contendo os dados de carbonos estão disponíveis gratuitamente em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas e à FUNDECT-MS e CPq-PROPP-UFMS pelo apoio financeiro; ao Dr. N. P. Lopes (FCF, USPRP) pelos experimentos HRESIMS e à Dra. L. W. Tinoco, do NPPN/UFRJ, pelos espectros bidimensionais da substância **1**.

## REFERÊNCIAS

- Phillipson, J. D.; *Phytochemistry* **2001**, *56*, 237.
- Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, M. K.; *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 215.
- Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 3<sup>a</sup> ed., Ed. UFSC: Porto Alegre, 2001.
- Maciél, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga Jr, V. F.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 429.
- Souza, V. C.; Lorenzi, H.; *Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*, Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2005.
- Di Stasi, L. C.; Hiruma-Lima, C. A.; *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*, Ed. UNESP: São Paulo, 2002.
- Simões, A. O.; Endress, M. E.; Niet, T. V.; Kinoshita, L. S.; Conti, E.; *Am. J. Bot.* **2004**, *91*, 1409.
- Bento, E. S.; Sant'Ana, E. G.; Hawkes, G. E.; Calixto, J. B.; Yunes, R. A.; *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8335.
- Biondo, R.; Soares, A. M.; Bertoni, B. W.; França, S. C.; Pereira, A. M. S.; *Plant. Cell. Rep.* **2004**, *22*, 549.
- Mattos, W. M.; Ferreira, J.; Richetti, G. P.; Niero, R.; Yunes, R. A.; Calixto, J. B.; *Neuropeptides* **2006**, *40*, 125.
- Ribeiro, R. V.; Silva, R. M.; Lima, J. C. S.; Martins, D. T. O.; *Braz. J. Pharm. Sci.* **2010**, *46*, 515.
- Abe, F.; Yamauchi, T.; *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1745.
- Abe, F.; Nagao, T.; Mori, Y.; Yamauchi, T.; Saiki, Y.; *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 4087.
- Huq, M. M.; Jabbar, A.; Rashid, M. A.; Hasan, C. M.; Ito, C.; Furukawa, H.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1065.
- Bai, L.; Wang, L.; Zhao, A.; Hasegawa, T.; Ogura, H.; Kataoka, T.; Hirose, K.; Sakai, J.; Bai, J.; Ando, M.; *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 14.
- Chadha, M.; Joshi, N. K.; Mamdapur, V. R.; Sipahimalani, A. T.; *Tetrahedron* **1970**, *26*, 2061.
- Schildknecht, H.; Koenig, W.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1968**, *7*, 62.
- Yamauchi, T.; Abe, F.; *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 669.
- O'Donnell, G.; Gibbons, S.; *Phytother. Res.* **2007**, *21*, 653.



20. Patel, P.; Cossete, C.; Anumolu, J. R.; Erlemann, K. R.; Grant, G. E.; Rokach, J.; Powell, W. S.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, 329, 335.
21. Cossete, C.; Patel, P.; Anumolu, J. R.; Sivendran, S.; Lee, G. J.; Gravel, S.; Graham, F. D.; Lesimple, A.; Maner, O. A.; Rokach, J.; Powell, W. S.; *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 11234.
22. Xue, J.; Xie, L.; Liu, B.; Yu, L.; *Chin. J. Nat. Med.* **2010**, 8, 414.
23. Yang, M. C.; Lee, K. H.; Kim, K. H.; Choi, S. U.; Lee, K. R.; *Arch. Pharm. Res.* **2007**, 30, 1067.
24. Sobrinho, D. C.; Hauptli, M. B.; Appolinário, E. V.; Kollenz, C. L. M.; Carvalho, M. G.; Braz Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1991**, 2, 15.
25. Li, J.; Lu, J.; Jin, Y-S.; Yang, X-N.; Chen, H-S.; *Chin. J. Nat. Med.* **2008**, 6, 271.
26. Li, E-N.; Zhou, G-D.; Kong, L-Y.; *Chin. J. Nat. Med.* **2009**, 7, 190.
27. Hu, H-B.; Zheng, X-D.; Jian, Y-F.; Liu, J-X.; Zhu, J-H.; *Arch. Pharm. Res.* **2011**, 34, 1097.
28. Balestrin, L.; Dias, J. F. G.; Miguel, O. G.; Dall' Stella, D. S. G.; Miguel, M. D.; *Braz. J. Pharmacogn.* **2008**, 18, 230.
29. Talapatra., S. K.; Sarkar, A. C.; Talapatra, B.; *Phytochemistry* **1981**, 20, 1923.
30. Kwon, J-H.; Chang, M-J.; Seo, H-W.; Lee, J-H.; Min, B-S.; Na, M.; Kim, J. C.; Woo, M. H.; Choi, J. S.; Lee, H. K.; Bae, K.; *Phytother. Res.* **2008**, 22, 1303.
31. Goulart, M. O. F.; Sant'Ana, A. E. G.; Lima, R. A.; Cavalcante, S. H.; *Quim. Nova* **1993**, 16, 95.
32. Graf, U.; Würgler, F.; Katz, A. J.; Frei, H.; Juon, H.; Hall, C. B.; Kale, P. G.; *Environ. Mutagen.* **1984**, 6, 153.