

Artigo

Constituintes Químicos e avaliação da Letalidade de *Pseudopiptadenia Contorta* (DC.) G. P. Lewis & M. P. Lima (Fabaceae) frente à *Artemia salina* Leach**de Azevedo, F. M.;* Matos, C. R. R.; Braz-Filho, R.; Mathias, L.***Rev. Virtual Quim.*, 2016, 8 (1), 78-86. Data de publicação na Web: 3 de janeiro de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**Chemical Constituents and Lethality of *Pseudopiptadenia Contorta* (DC.) G. P. Lewis & M. P. Lima (Fabaceae) against *Artemia salina* Leach**

Abstract: This article is the first phytochemical study of the extract from stem of *Pseudopiptadenia contorta* (DC) G.P. Lewis & M. P. Lima. The potential toxicity of the extract was evaluated *in vitro* through the lethality test on *Artemia salina*. From the hexane extract were isolated and characterized the triterpenes lupeol, betulin and lupenone and fatty acids identified by the methyl ester derivatives: docosanoic acid, tetracosanoic and hexacosanoic. From the ethyl acetate extract was identified the indole alkaloid 3-indolecarboxylic acid and in the methanol extract were identified sucrose, besides the alditols, iditol and glucitol, as peracetylated derivatives. The isolation of all metabolites was performed by chromatographic methods and the structures were established based on the analysis IV, CG-MS, ¹H and ¹³C NMR spectra analysis and comparison with literature data. In the lethality test against *Artemia salina* the extracts in hexane, ethyl acetate, methanol and methanol/water mixture caused significant mortality of the crustacean larvae, with LD₅₀ less than 10³ µg/mL.

Keywords: *Pseudopiptadenia contorta*; *Artemia salina*; special metabolites.

Resumo

Este artigo trata do primeiro estudo fitoquímico dos extratos do caule de *Pseudopiptadenia contorta* (DC.) G.P. Lewis & M.P. Lima. A toxicidade dos extratos foi avaliada *in vitro* através do teste de letalidade frente à *Artemia salina*. Do extrato em hexano foram isolados e caracterizados os triterpenos lupeol, betulina e lupenona e os ácidos graxos na forma de ésteres metílicos via reação de transesterificação: ácido docosanoico, tetracosanoico e hexacosanoico. Do extrato em acetato de etila foi identificado o alcaloide ácido 3-indolcarboxílico e do extrato em metanol foram identificados na forma de derivados peracetilados: a sacarose e dois alditóis, iditol e glucitol. O isolamento de todos os metabolitos foi feito por meio de métodos cromatográficos e as estruturas foram estabelecidas com base na análise dos espectros de IV, CG-EM, RMN ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura. No teste de letalidade frente à *Artemia salina*, os extratos em hexano, acetato de etila, metanol e metanol/água causaram significativa mortalidade das larvas do crustáceo com uma DL₅₀ inferior a 10³ µg/mL.

Palavras-chave: *Pseudopiptadenia contorta*; *Artemia salina*; metabólitos especiais.

* Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Químicas, Centro de Ciências e Tecnologia, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28035-602, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

✉ fernanda_mda@live.com

DOI: [10.5935/1984-6835.20160006](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160006)

Constituintes Químicos e avaliação da Letalidade de *Pseudopiptadenia Contorta* (DC.) G. P. Lewis & M. P. Lima (Fabaceae) frente à *Artemia salina* Leach

Fernanda M. de Azevedo,* Carlos Roberto R. Matos, Raimundo Braz-Filho, Leda Mathias

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Químicas, Centro de Ciências e Tecnologia, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, CEP 28035-602, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

* fernanda_mda@live.com

Recebido em 3 de janeiro de 2016. Aceito para publicação em 3 de janeiro de 2016

1. Introdução
2. Resultados e Discussão
3. Materiais e Métodos
 - 3.1. Procedimentos Experimentais
 - 3.2. Material Vegetal
 - 3.3. Extração e Isolamento dos Constituintes
 - 3.4. Avaliação da letalidade frente às larvas de *Artemia salina*
4. Conclusão

1. Introdução

Pseudopiptadenia contorta (DC.) G. P. Lewis & M. P. Lima, sinonímia *Acacia contorta* DC., *Newtonia contorta* (DC.) Burkart, *Newtonia nitida* (Benth.) Brenan, *Piptadenia contorta* (DC.) Benth., *Piptadenia nitida* Benth., pertence a tribo Mimosaceae e família Fabaceae.^{1,2} Popularmente é conhecida como angico, angico-branco e saia-de-comadre.³

No Brasil o habitat predominante das espécies do gênero é a Mata Atlântica, ocorrendo nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Piauí,

Pernambuco, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo.⁴ Na indústria de curtume são bastante utilizadas por possuírem a casca rica em taninos e a madeira dura e pesada é utilizada na construção naval e civil e na produção de lenha e carvão. As espécies também são bastante utilizadas na recuperação ambiental, devido ao crescimento rápido em solos pobres e degradados.⁵

A química do gênero esta caracterizada pela presença de alcalóides,^{6,7} flavonóides,⁸⁻¹⁰ triterpenóides¹¹ e taninos.¹² Algumas espécies do gênero são utilizadas na medicina tradicional no tratamento de diarreia, infecções do trato urinário, dores de cabeça e

garganta, gastrite, tuberculose, pneumonia, gonorreia e varíola.¹³

Neste trabalho é relatado o estudo da letalidade dos extratos em *n*-hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e metanol/água (8:2) do caule de *Pseudopiptadenia contorta* frente às larvas de *Artemia salina* Leach. O estudo fitoquímico foi realizado com todos os extratos, com exceção dos extratos em diclorometano e metanol/água.

2. Resultados e Discussão

O caule seco e moído (1,000 Kg) de *P. contorta* foi sucessivamente extraído à quente em aparelho de Soxhlet utilizando *n*-

hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. O resíduo das sucessivas extrações foi macerado exaustivamente com metanol/água (8:2). As soluções resultantes foram destiladas fornecendo 9,5 g (0,95%) de extrato em *n*-hexano, 5,4 g (0,54%) de extrato em diclorometano, 7,9 g (0,79%) de extrato em acetato de etila, 25,1 g (2,51%) de extrato em metanol e 20,8 g (2,08%) de extrato em metanol/água. Todos os extratos foram testados frente às larvas de *Artemia salina* de acordo com a metodologia proposta por McLaughlin e colaboradores.¹⁴ Segundo McLaughlin são considerados ativos os extratos com $DL_{50} \leq 10^3 \mu\text{g/mL}$. Os resultados obtidos para os extratos estão descritos Tabela 1. Dentre os extratos examinados, o único que não apresentou toxicidade frente às larvas de *A. salina* foi o extrato em diclorometano.

Tabela 1. Resultados da letalidade dos extratos do caule de *P. contorta* frente às larvas de *A. salina*

	$DL_{50} \mu\text{g/mL}$
Extrato em <i>n</i> -hexano	$565,37 \pm 0,06$
Extrato em diclorometano	>1000
Extrato em acetato de Etila	$551,00 \pm 0,07$
Extrato metanólico	$758,80 \pm 0,14$
Extrato em metanol/água (8:2)	$310,50 \pm 0,03$

A investigação fitoquímica dos extratos em *n*-hexano, acetato de etila e metanol do caule de *P. contorta* permitiu a identificação de três triterpenos: lupeol (1), betulina (2) e lupenona (3), ácidos graxos: ácido docosanoico (4), tetracosanoico (5) e hexacosanoico (6), um alcaloide, ácido 3-indol-carboxílico (7), um dissacarídeo: sacarose (10) e dois alditóis: iditol (8) e glucitol (9) (Figura 1). As substâncias 4-10 estão sendo identificadas pela primeira vez no gênero. As estruturas das substâncias foram estabelecidas com base na análise de dados espectrométricos de IV, GC-EM, RMN ¹H e ¹³C (1D e 2D) e comparação com dados da literatura das substâncias naturais e dos

derivados.

O triterpeno 1 apresentou-se na forma de um sólido cristalino, solúvel em diclorometano. O espectro de infravermelho apresentou, entre outros sinais de absorção, uma banda em 3302 cm^{-1} , relativo à deformação axial do grupo OH. O espectro de massas apresentou pico em m/z 426 (M^+ , compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$), 411 ($M^+ - CH_3$), 218 ($M^+ - C_{14}H_{23}OH$) e 189 ($M^+ - C_{16}H_{27}OH$), característicos de triterpeno com esqueleto tipo lupano. O espectro de RMN ¹H revelou a presença de sete sinais simples, relativos aos grupos metilas, sendo um deles em frequência mais

alta δ_H 1,67 atribuído a um grupo metila ligado a um carbono sp^2 . Também foram observados sinais em δ_H 4,63 referentes aos hidrogênios de ligação dupla terminal (2H-29) e δ_H 3,19 (*dd*, $J_1=4$ Hz e $J_2=12$ Hz, H-3). A análise dos dados de RMN ^{13}C permitiu confirmar o esqueleto tipo lupano, principalmente pela presença dos sinais em δ_C 151,0 e 109,4 relativos à ligação dupla entre os carbonos C-20 e C-29. A comparação dos dados de RMN ^{13}C e de EM de **1** com os valores registrados na literatura,¹⁵ levaram a concluir que a substância **1** é o 3 β -lup-20(29)-en-3-ol.

O triterpeno **2** apresentou-se na forma de cristais incolores, solúvel em diclorometano. O espectro de infravermelho de **2** mostrou, entre outros sinais, uma banda intensa em

1728 cm^{-1} referente ao $\nu_{C=O}$ de cetona. O espectro de massas apresentou um pico em m/z 424 (M^+ , compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O$) e outros picos com valores típicos de padrão de fragmentação de triterpeno de esqueleto lupano. Comparando os espectros de RMN 1H da substância **2** com os da substância **1** observaram-se sinais característicos de mesmo esqueleto triterpênico, porém com ausência dos sinais referentes ao hidrogênio carbinólico na posição 3. Em contrapartida, no espectro de RMN ^{13}C verificou-se um sinal em δ_C 218,2 característico de carbono carbonílico. Comparando-se os dados espectrométricos de **2** com os dados da literatura¹⁵ conclui-se que a substância **2** é a lupenona, lup-20(29)-en-3-ona.

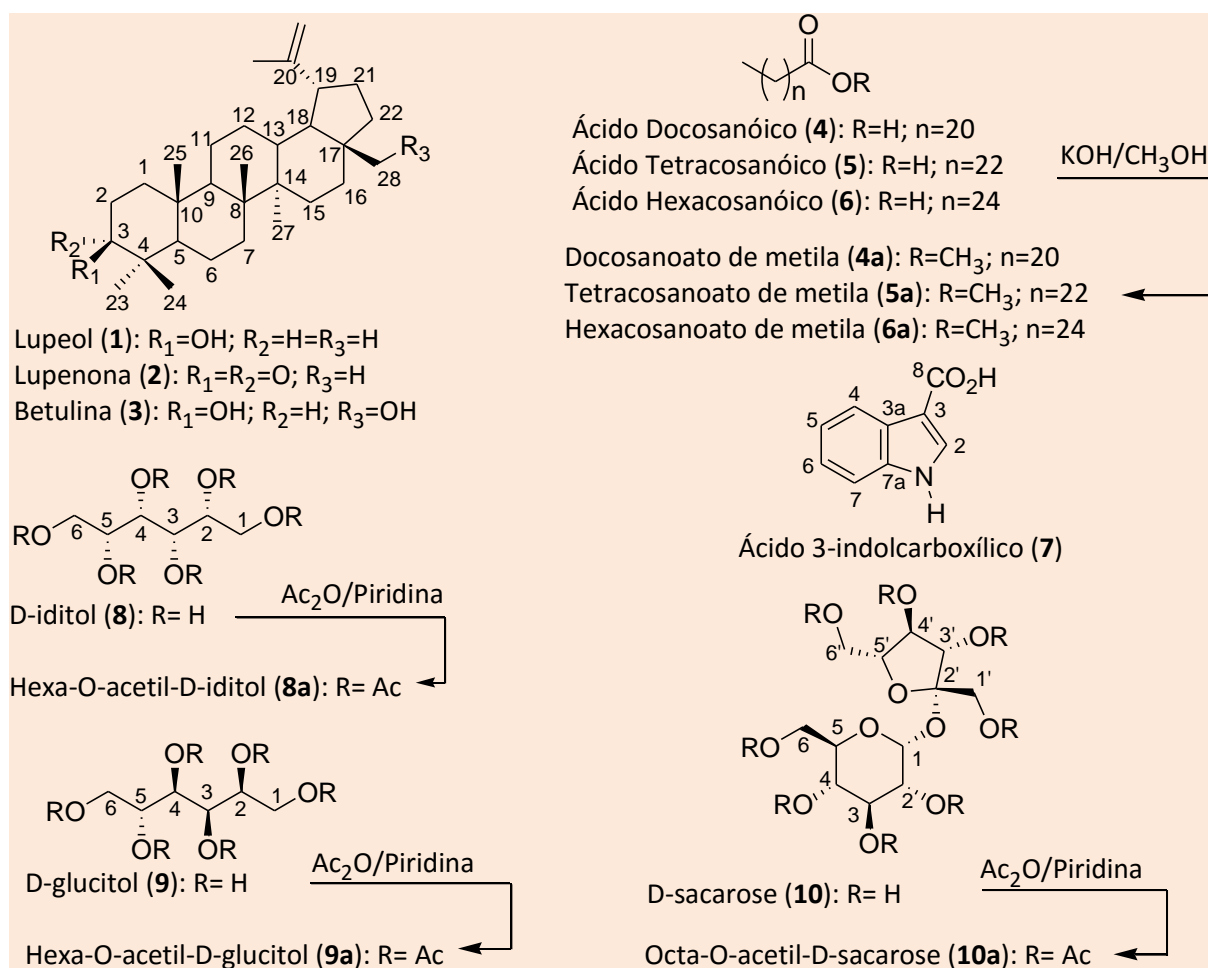


Figura 1. Substâncias identificadas no caule de *P. contorta*

O triterpeno **3** foi obtido na forma de um sólido amorfo branco, solúvel em diclorometano. O espectro de infravermelho de **3** mostrou similaridade com o espectro da substância **1** (banda larga e intensa acima de 3300 cm^{-1}). O espectro de massas apresentou pico em m/z 442 (M^+ , compatível com a fórmula molecular $(C_{30}H_{50}O_2)$), 411 ($M^+ - CH_3OH$), 249 ($M^+ - C_{14}H_{23}OH$) e 206 ($M^+ - C_{16}H_{27}OH$). Comparando o espectro de RMN 1H da substância **3** com a substância **1** observou-se a ausência de sinal simples relativo à metila (C-28) e presença de sinais a δ_H 3,79 (d , $J=12\text{ Hz}$) e 3,32 (d , $J=12\text{ Hz}$) relativos ao metileno carbinólico (CH_2 -28). A presença do carbono carbinólico C-28 foi confirmada pelo sinal a δ_C 60,6 no espectro de RMN ^{13}C . Esses dados estão de acordo com os dados descritos na literatura¹⁵ para o 3- β -lup-20(29)-en-3,28-diol, conhecido como betulina.

A identificação estrutural dos componentes da mistura de ésteres metílicos derivados de ésteres ou ácidos graxos naturais foi realizada através de análise dos espectros CG-EM e por comparação com o

banco de dados da biblioteca NIST. Os ésteres majoritários foram identificados como: docosanoato de metila (**4a**; 5,30%), tetracosanoato de metila (**5b**; 28,73%) e hexacosanoato de metila (**6c**; 45%).

A substância **7** foi isolada do extrato em acetato de etila, com aspecto de um sólido amarelo e solúvel em metanol. O espectro de infravermelho revelou, entre outros sinais, uma banda larga na região de $3317 - 2500\text{ cm}^{-1}$ relativa ao grupo O-H e um sinal em 1612 cm^{-1} correspondente à deformação axial de carboxila de ácido.

Na análise do espectro obtido por cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) foi possível identificar o pico em $m/z = 161$ (M^+) e em $m/z = 144$ (perda de OH), 116 (perda de CO) e 89 (perda de HCN), que confirmam a presença do grupamento carboxila e do sistema indólico (**Figura 2**). Os espectros de RMN 1H e ^{13}C apresentaram sinais na região de hidrogênios e carbonos aromáticos (δ_H 7,0 – 8,0; δ_C 110,0 -138,0). Os dados obtidos são compatíveis com os dados descritos na literatura,¹⁶ para o ácido 3-indolcarboxílico.

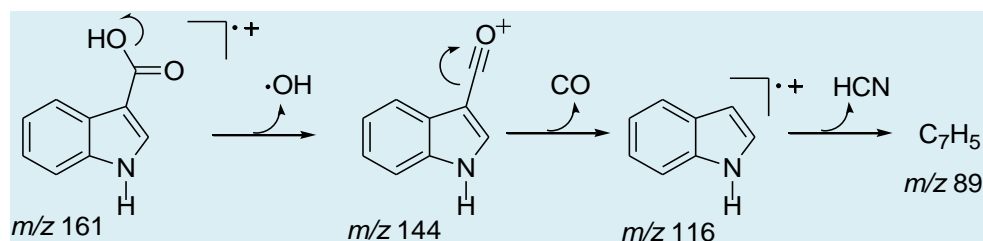


Figura 2. Proposta de alguns fragmentos de massas para a substância **7**

A acetilação do extrato metanólico forneceu uma mistura de peracetil-alditóis cujas estruturas foram identificadas através da análise dos espectros de RMN 1H e ^{13}C e por CG-EM seguido de comparação com o banco de dados da biblioteca NIST e da literatura.^{17,18} Os derivados majoritários foram identificados como: hexa-O-acetil-D-itol (**8a**; 37,4%) e hexa-O-acetil-D-glucitol (**9a**; 31,3%). No espectro de RMN 1H verificou-se a presença de sinais intensos na região de δ_H 2,04 - 2,13 atribuídos aos hidrogênios das metilas do grupo acetoxila ($-OCOCH_3$); δ_H 4,0

a 4,3 atribuídos aos hidrogênios de grupos metilênicos ($-CH_2OAc$) e δ_H 5,0 a 5,48 atribuídos aos hidrogênios de carbonos metínicos ($-CHO-OAc$). O espectro de RMN ^{13}C apresentou sinais na região de δ_C (170,5 – 169,6) confirmando a presença dos carbonos carboxílicos ($-O-COCH_3$) e δ_C (20,5 – 20,8) relativos às metilas do grupo acetato ($-O-CO-CH_3$). No espectro de RMN ^{13}C identificaram-se sinais compatíveis para o hexa-O-acetil-D-glucitol em δ_C 61,9 (C-1); 69,4 (C-2); 68,7 (C-3); 69,0 (C-4); 68,3 (C-5) e 61,7 (C-6) e para o hexa-O-acetil-D-itol em δ_C 61,8 (C-1 e C-6);

69, 2 (C-2 e C-5) e 68,7 (C-3 e C-4). Esses dados são similares aos descritos por Angyal e colaboradores^{17,18}, assim é possível inferir que no extrato metanólico apresenta os carboidratos D-Glucitol e D-itol

A substância **10** foi identificada a partir da acetilação do extrato metanólico, cujo produto (**10a**) apresentou-se na forma de um sólido incolor, solúvel em clorofórmio. A estrutura do derivado foi definida com base na análise dos espectros de infravermelho (C=O; 1772 cm⁻¹) e RMN ¹H e ¹³C. No espectro de RMN ¹³C foram identificados sinais compatíveis com uma unidade de glicose [δ_c 90,0 (CH, C-1); 70,3 (CH, C-2); 69,7 (CH, C-3); 68,2 (CH, C-4); 68,6 (CH, C-5) e 61,8 (CH₂, C-6)] e da frutose [δ_c 62,9 (CH₂, C-1'); 104,1 (C, C-2'); 75,7 (CH, C-3'); 75,0 (CH, C-4'); 70,0 (CH, C-5') e 63,7 (CH₂, C-6')] ambas unidas através de uma ligação hemiacetálica, além de oito sinais dos grupamentos acetoxilas nas regiões de 169,8-170,8 (C=O) e 20,7-20,8 (CH₃). Sendo assim, após comparação com dados da literatura^{19,20} a substância **10** foi caracterizada como a sacarose.

3. Materiais e Métodos

3.1. Procedimentos experimentais gerais

A concentração dos extratos e frações foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo Fisatom 802. Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro CG/EM QP-5050 Shimadzu e CG/EM QP-210 Plus Shimadzu com ionização por impacto de elétrons a 70 eV. Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram registrados em espectrofotômetro Perkin Elmer FT-IR 1600 em pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C uni- e bi-dimensionais, foram registrados em espectrômetro Jeol Eclipse e Bruker Avance IIITM operando a uma frequência de 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C. Os solventes utilizados foram CDCl₃ e DOCD₃, utilizando o

tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz. Nas separações cromatográficas em coluna (CC) foram utilizados dois tipos de sílica: sílica gel 60 G (0,063 – 0,200 mm; 70-230 mesh ASTM) e sílica gel 60 (0,04 – 0,063 mm; 230-400 mesh ASTM) ambas da Vetec. Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em Sephadex LH-20 da Sigma-Aldrich. As análises em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatofolhas de sílica gel 60 GF₂₅₄ da Merck. As substâncias foram detectadas por irradiação com lâmpada ultravioleta a 254 e 365 nm e/ou aspensão com revelador cromogênico (vanilina sulfúrica, seguido de aquecimento). Os critérios de pureza adotados foram à observação de uma única mancha em CCDA, variando-se a fase móvel.

3.2. Material Vegetal

Os caules de *P. contorta* foram coletados, em maio de 2008 no Parque Taquaraçu (Mata do Bom Jesus), localizado no município de Campos dos Goytacazes - RJ. Uma exsiccata (HUENF 3050) da espécie esta depositada no Herbário HUENF (Herbário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro).

3.3. Extração e Isolamento dos Constituintes químicos

O caule de *P. contorta* foi seco ao ar, moído (1,0 kg) e foi submetido à extração à quente em aparelho de Soxhlet utilizando hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e metanol/água (8:2) em gradiente de polaridade crescente. Os solventes dos extratos brutos obtidos foram removidos sob pressão reduzida, obtendo-se 9,5 g; 5,4 g; 7,9 g; 25,1 g e 20,8 g de extrato bruto seco de *n*-hexano, CH₂Cl₂, AcOEt, MeOH e MeOH/H₂O, respectivamente. Uma alíquota (7,3 g) do extrato em *n*-hexano foi submetida à filtração

utilizando como material filtrante uma mistura contendo sílica gel, celite, carbonato de cálcio e carbonato de sódio. Como eluente foram utilizados diclorometano e metanol. Esse procedimento resultou em duas frações: fração **A** (filtrado em CH_2Cl_2) e fração **B** (filtrado em MeOH).

O solvente da fração **A** (CH_2Cl_2) foi retirado através de destilação sob pressão reduzida e o resíduo mantido em dessecador até peso constante. Uma alíquota do resíduo (100,0 mg) foi submetida a uma reação de transesterificação com solução metanólica 2 mol L^{-1} de KOH. A análise do produto dessa reação através de cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) resultou na identificação dos ésteres metílicos dos ácidos docosanóico (**4**), tetracosanóico (**5**) e hexacosanóico (**6**). Os índices de similaridade dos fragmentogramas obtidos foram comparados com a biblioteca (NIST) do espectrômetro de massa.

Outra alíquota da fração **A** (680,0 mg) foi submetida a cromatografia tipo *flash* em coluna de gel de sílica utilizando como eluente: hexano e diclorometano (1:2). Foram coletadas 45 frações que foram reunidas de acordo com o comportamento em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). A reunião das frações 14 – 20 (100,0 mg) resultou no isolamento do triterpeno lupeol (**1**).

As frações 6-10 (90,0 mg) foram submetidas à cromatografia tipo *flash*, utilizando como eluente: éter de petróleo: clorofórmio (2:1). Foram obtidas 13 frações e as que apresentaram comportamento idêntico em CCDA foram reunidas. Esse procedimento resultou no isolamento de 63,0 mg do triterpeno lupenona (**2**).

O solvente da fração **B** (MeOH) foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo mantido em dessecador até peso constante. Uma alíquota dessa fração (2,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna aberta de gel de sílica, utilizando como eluente: CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH em gradiente crescente de polaridade. Foram recolhidas 145 frações. A reunião das frações 7 – 35

(63,5 mg) resultou no isolamento de quantidades adicionais do triterpeno lupeol, isolado anteriormente da fração **A**. A reunião das frações 103 -117 (145,2 mg) resultou no isolamento do triterpeno 28-hidroxiupeol (**3**, betulina).

O extrato em acetato de etila (7,8 g) foi filtrado à vácuo sobre sílica em funil de Buchner, utilizando-se os seguintes solventes: CH_2Cl_2 , AcOEt e MeOH. O filtrado em acetato de etila, após evaporação do solvente sob pressão reduzida, produziu 2,2 g de um sólido pastoso que foi submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica misturada com carvão ativo e utilizando como eluente: AcOEt/ CHCl_3 (100:0 →50:50). Foram recolhidas 45 frações, sendo que a fração de número 6 (200,0 mg) foi submetida à cromatografia tipo *flash* com o seguinte eluente: CHCl_3 /AcOEt (4:0,5). Foram recolhidas 63 frações que foram reunidas por semelhança de comportamento em CCDA. A fração 9 (105,3 mg) foi posteriormente submetida a cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20 utilizando MeOH como eluente. Este procedimento resultou no isolamento do ácido 3-indolcarboxílico (**7**).

Cerca de 25,0 g do extrato bruto obtido com MeOH foi dissolvido em MeOH e em seguida adicionou-se AcOEt até a formação de precipitado. O precipitado foi separado do sobrenadante através de filtração em papel de filtro. O precipitado (977,0 mg) foi submetido a cromatografia de exclusão em Sephadex LH-20, utilizando como eluente MeOH. Este procedimento resultou em 25 frações que foram reunidas através de semelhança de comportamento em CCDA. A fração 9 – 25 (508,0 mg) foi submetida ao mesmo procedimento anterior, utilizando desta vez como eluente CHCl_3 e MeOH (1:1). Este procedimento resultou em 27 frações. As frações 15 - 27 (316,5 mg) foram submetidas a reação de acetilação com anidrido acético e piridina (9:1). O produto da reação (323,5 mg) foi submetido à cromatografia tipo *flash* em gel de sílica, utilizando como eluente CHCl_3 , AcOEt e MeOH em gradiente de polaridade crescente. Este procedimento resultou em 51 frações.

As frações 7 - 8 (38,1 mg) foram identificadas como uma mistura contendo como componentes majoritários os peracetatos de iditol (**8a**) e glicitol (**9a**). As frações 12-51 (32,0 mg) foram submetidas ao mesmo procedimento anterior utilizando como eluente CHCl_3 e AcOEt (1:1). Foram obtidas 33 frações, sendo que a análise das frações 4 a 8 reunidas (10,8 mg) resultou na identificação do sacarose peracetilada (**10a**). Estes procedimentos conduziram a identificação dos carboidratos sacarose (**10**), iditol (**8**) e glicitol (**9**) no extrato metanólico.

3.4. Avaliação da atividade citotóxica frente às larvas de *Artemia salina*

Cerca de 15 larvas de *A. salina* foram transferidas para tubos de ensaio contendo água do mar artificial e os extratos brutos a serem testados, em cinco concentrações diferentes (100, 200, 400, 600 e 1000 $\mu\text{g/mL}$). Os testes foram realizados em triplicata. A contagem dos animais vivos e mortos foi feita após 24 h. O método Probit de análise foi utilizado para obtenção das DL_{50} . Como controle positivo foi utilizado uma solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), nas mesmas concentrações das amostras e como controle negativo foi utilizado a mistura de solventes $\text{H}_2\text{O:DMSO}$ (3:2).

4. Conclusão

A investigação fitoquímica do caule de *P. contorta* resultou na identificação de três triterpenos: lupeol (**1**), 28-hidroxi-lupeol, conhecido como betulina (**2**), lupenona (**3**), uma mistura de ésteres resultantes de transesterificação, docosanoato de metila (**4a**), tetracosanoato de metila (**5a**), hexacosanoato de metila (**6a**), um alcaloide, ácido 3-indol carboxílico (**7**), uma mistura dos alditóis: iditol (**8**) e glicitol (**9**) e o dissacarídeo sacarose (**10**). A identificação dos ésteres metílicos (**4a-6a**) revela as unidades acílicas

constituintes dos ésteres ou ácidos livres na fração analisada. Pelo melhor do nosso conhecimento as substâncias de **4 – 10** estão sendo reportadas pela primeira vez no gênero. A avaliação da letalidade dos extratos brutos contra larvas de *Artemia salina* mostrou que com exceção do extrato em diclorometano, todos foram ativos.

Referências Bibliográficas

- ¹ Sitio Tropicos. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/50197494>>. Acesso em: 08 de outubro de 2014.
- ² Barroso, G. M.; *Sistemática de Angiospermae do Brasil*, EDUSP: São Paulo, 1978, vol. I.
- ³ Rizzini, C. T.; *Manual de Dendrologia Brasileira - Árvores e madeiras úteis do Brasil*, Ed. Nacional: São Paulo, 1998.
- ⁴ Lorenzi, H.; *Árvores Brasileiras*, Instituto Plantarum, Ed. Nova Odessa, Vol. I.
- ⁵ Correa, M. P.; *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas cultivadas*, Ed. Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1984, Vol. I.
- ⁶ Yamasato, S.; Kawanishi, K.; Kato, A.; Hashimoto, Y. Organic Bases from Brazilian *Piptadenia* Species. *Phytochemistry* **1972**, *11*, 737. [CrossRef]
- ⁷ Lacobucci, G. A.; Ruveda, E. A. Bases derived from tryptamine in Argentine *Piptadenia* species. *Phytochemistry* **1964**, *3*, 465. [CrossRef]
- ⁸ MacKenzie, A. M. The flavonoids of the leaves of *Acacia mearnsii*. *Phytochemistry* **1969**, *8*, 1813. [CrossRef]
- ⁹ Carvalho, M. G. de; Cardozo, M. A. R.; Junior, F. E. A. C.; Carvalho, A. G. de. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (pau jacaré). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2010**, *82*, 561. [CrossRef]
- ¹⁰ Malan, E. A (42125)- Linked Proteracacinidin dimer from the Heartwood of *Acacia caffra*. *Phytochemistry* **1995**, *20*, 1519. [CrossRef]
- ¹¹ Mutai, C.; Abatis, D.; Vagias, C.; Moreau, D.; Roussakis, C.; Roussis, V. Lupane

Triterpenoids from *Acacia mellifera* with Cytotoxic Activity. *Molecules* **2007**, *12*, 1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

¹² Machado, C. M.; da Costa, A. B.; Renner, R. R.; Bastos, L. F.; Ferrão, M. F.; Dresslere, V. L. Direct Determination of Tannins in *Acacia mearnsii* Bark Using Near-infrared Spectroscopy. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 8299. [[CrossRef](#)]

¹³ Jelassi, A.; Zardi-Bergaoui, A.; Nejma, A. B.; Belaiba, M.; Bouajila, J.; Jannet, H. B. Two New Unusual Monoterpene Acid Glycosides from *Acacia cyclops* with Potential Cytotoxic Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24*, 3777. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

¹⁴ McLaughlin, J. L. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal* **1998**, *32*, 513. [[CrossRef](#)]

¹⁵ Mahato, S. B.; Kundu, A. P. ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids – A compilation and some salient features. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517. [[CrossRef](#)]

¹⁶ Hagemeyer, J.; Schneider, B.; Oldham, N. J.; Hahlbrock, K. Accumulation of soluble and wall-bound indolic metabolites in *Arabidopsis*

thaliana leaves infected with virulent and avirulent *Pseudomonas syringae* pathovar tomato strains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2001**, *98*, 753. [[CrossRef](#)]

¹⁷ Angyal, S. J.; Le Fur, R.; Gagnaire, D. Conformation of Acyclic Sugar Derivates Part II*. Determination of the Conformations of Alditol Acetates in Solution by the Use of 250 MHz N.M.R. Spectra. *Carbohydrate Research* **1972**, *23*, 121. [[CrossRef](#)]

¹⁸ Angyal, S. J.; Le Fur, R. The ¹³C-N.M.R. Spectra of Alditols. *Carbohydrate Research* **1980**, *84*, 201. [[CrossRef](#)]

¹⁹ Nishida, T.; Enzell, C.R.; Morris, G. A. Concerted use of homo- and hetero-nuclear 2D NMR: ¹³C and ¹H assignment of sucrose octaacetate. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2005**, *24*, 179. [[CrossRef](#)]

²⁰ Binkley, W. W.; Horton, D.; Bhaca, N. S. Physical studies on oligosaccharides related to sucrose: Part I. N.M.R. studies on the peracetates of sucrose, 1-kestose, and nystose. *Carbohydrate Research* **1969**, *10*, 245. [[CrossRef](#)]