

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Banco de Dados NAPRALERT, da Universidade de Illinois, USA, pelo levantamento bibliográfico e ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

Refrências

- ¹Hutchinson J. The genera of flowering plants. Clarendon Press, Oxford, 1964. p. 71-108
- ²Ribeiro JEL. Flora da Reserva Duck: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. INPA, Manaus, 1999. 816p
- ³Sette IMF, Da-Cunha EVL, Barbosa-Filho JM, Silva MS. Tetrahydroprotoberberine and aporphine alkaloids from *Rollinia leptopetala*. *Pharmaceutical Biology* 2000; 38: 318-320
- ⁴Navarro VR, Sette IMF, Da-Cunha EVL, Silva MS, Barbosa-Filho JM, Maia JGS. Alcalóides de *Duguetia flagellaris* Huber (Annonaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 2001 (No prelo)
- ⁵Hussain AR, Kim J, Beecher WWC, Kinghprn DA. Unambiguous carbon-13 NMR assignments of some biologically active protoberberine alkaloids. *Heterocycles* 1989; 29: 2257-2260
- ⁶Bhakuni DS, Gupta S. The alkaloids of *Stephania glabra*. *J. Nat. Prod.* 1982; 45: 406-411
- ⁷Chang HM, El-Fishawy AM, Slatkin DJ, Schiff-Junior PL. Quaternary alkaloids of *Tinospora capillipes*. *Planta Medica* 1984; 88-90
- ⁸Ohiri FC, Verpoorte R, Baerheim-Svendsen A. ¹H NMR chemical shifts values for aromatic prótons in 2, 3, 9, 10- and 2, 3, 10, 11-tetrasubstituted tetrahydroprotoberberine alkaloids. *Planta Medica* 1983; 49: 162-164

Extração com solvente e fluido supercrítico dos constituintes do caule subterrâneo de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae)

Clécia Maria de Jesus Freitas¹; Maria Lenise da Silva Guedes²; Eudes da Silva Velozo^{1*}

¹Laboratório de Pesquisa em Matéria Médica (LAPEMM), Faculdade de Farmácia

²Instituto de Biologia

Universidade Federal da Bahia, 40.170-290, Salvador, BA, Brasil

lapemm@ufba.br

Resumo

O arbusto *Spiranthera odoratissima* (Rutaceae) foi coletado no município de Mucugê (BA). Seu caule subterrâneo foi submetido a extração com solvente orgânico e fluido supercrítico. A extração com CO₂ supercrítico forneceu a 8-prenil-7-geraniloxicumarina. A partir do extrato CH₂Cl₂ isolou-se a cumarina aurapteno e identificou-se o alcalóide esquimianina. Estas substâncias foram identificadas com base na análise dos seus espectros de RMN ¹H e ¹³C, IV e comparação com dados da literatura.

Abstract

Supercritical fluid and solvent extraction of rhizome from *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae).

The shrub *S. odoratissima* was collected at Mucugê (Chapada Diamantina - Bahia, Brazil). Its rhizome was extracted by maceration with CH₂Cl₂ and supercritical CO₂. The supercritical extraction supplied a coumarin, 8-prenyl-7-geranyloxy coumarin. Another coumarin, the auraptene, and an alkaloid, skimmianine, were obtained from the CH₂Cl₂ extract. The structures of the compounds were elucidated based on spectroscopic studies, and by comparison with literature data.

A medicina popular tem profundas raízes na cultura do povo nordestino alicerçada nos conhecimentos dos negros, trazidos como escravos durante os séculos XVI a XIX, fundido com o saber dos nativos. Esta farmacopéia tem mostrado-se uma fonte valiosa de informações para o conhecimento e aplicação terapêutica da flora regional. A planta conhecida como acabadeira ou sarrinha, na região da Chapada Diamantina (BA), e manacá no estado do Mato Grosso, tem suas folhas e caules subterrâneos utilizados, na forma de decocto no vinho ou na cachaça, no tratamento de reumatismo, gota, infecções nos rins e inflamações em geral, tendo ainda ação diurética e depurativa. As informações tradicionais relatam que seu consumo em ex-

cesso pode provocar coceiras, diarreia e vômito¹. A *Spiranthera odoratissima*, vegetal de hábito arbustivo pertencente à família Rutaceae, distribui-se pelos cerrados e campos das regiões Central e Nordeste do Brasil².

A família Rutaceae possui uma composição química bastante diversificada sendo capaz de produzir uma grande variedade de alcalóides, além de cumarinas, lignanas, limonóides, flavonóides e terpenóides. Aos alcalóides é atribuído um amplo espectro de atividades biológicas. Por sua vez, as cumarinas também possuem propriedades farmacológicas com aplicações terapêuticas³.

A extração destas substâncias em geral é feita por solventes orgânicos, porém para aplicações farmacêuticas deve-se buscar a obtenção de insumos e produtos intermediários de alta qualidade, com a minimização de tratamentos químicos ou térmicos, de forma a eliminar traços do processo no produto final, tais como solventes residuais, contaminantes, impurezas e compostos degradados. A técnica de extração com fluido supercrítico vem conquistando posições de destaque nos processos de obtenção de matérias-primas naturais, pois é capaz de afastar tais inconvenientes.

Este trabalho tem como objetivo iniciar o estudo da composição química desta espécie, ainda não descrita na literatura, e comparar a seletividade da extração por maceração com a extração por fluido supercrítico.

A extração com CO₂ supercrítico levou a obtenção da substância 1 (figura 1). O espectro de RMN ¹H desta substância apresenta quatro dubletos na região aromática típicos de cumarinas 7,8 substituídas. Observa-se ainda dubletos em δ 4,60 (2H, J = 6,8Hz) e δ 3,30 (2H, J = 7,1 Hz) além de sinais de metilas sobre ligação dupla. Estes conjuntos de sinais são característicos de substituição por C e O-prenila. A comparação destes dados com a literatura permite propor a estrutura da 8-prenil-7-geraniloxicumarina para esta substância³.

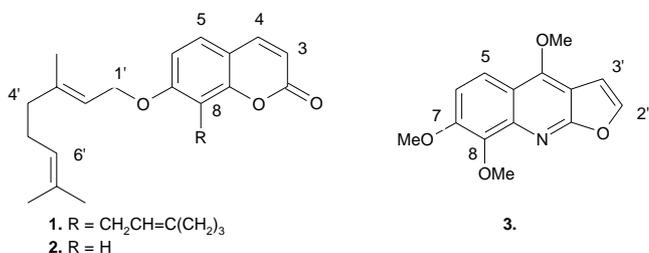


Figura 1. Substâncias identificadas em *S. odoratissima*.

A partir do extrato diclorometânico do caule subterrâneo foram isoladas cerca de 150 mg da substância 2 (figura 1). Esta estrutura apresentou em seu espectro na região do IV uma banda em 1728 cm⁻¹ correspondente ao estiramento de carbonila. O espectro de RMN ¹H revela um padrão de substituição semelhante ao da substância 1. Porém, apenas o

dublete relativo a O-prenilação em δ 4,61 (2H, J = 6,6 Hz) é observável. A análise destes dados e dos sinais do espectro de RMN ¹³C, como aquele em δ 65, 4 relativo ao carbono 1', permite propor a estrutura da cumarina aurapteno⁴.

O extrato CH₂Cl₂ dos caules subterrâneos forneceu ainda 390 mg de uma mistura de substâncias, cuja solução precipita-se na presença do reagente de Dragendorff indicando tratar-se de uma mistura de alcalóides. Nesta mistura, através da análise do espectro de RMN ¹H, identificou-se a presença da substância 3, a esquimianina. Este alcalóide possui os seguintes sinais característicos: δ 7,99 d (J=9,4 Hz, H-5); 7,21 d (J=9,4 Hz, H-6); 7,02 d (J=2,7 Hz, H-2'); 7,55 d (J=2,7 Hz, H-3'); 4,41 s (OMe-4); 4,01s (OMe-7); 4,09 s (OMe-8).

Os rendimentos obtidos através das extrações com fluido supercrítico foram inferiores àqueles obtidos por maceração com solvente (tabela 1). A extração com CO₂ supercrítico forneceu apenas misturas de cumarinas preniladas, onde a substância 1 foi o componente majoritário. Este método e condições de extração utilizadas (tabela 2) apresentou uma seletividade maior para cumarinas, não sendo significativa a extração de alcalóides.

Tabela 1. Massas e rendimentos obtidos após extração supercrítica (SC) e com solvente

Extração	Massa	Rendimento
SCI	8,7 mg	0,047 %
SC II	9,0 mg	0,049 %
SC III	3,5 mg	0,019 %
CH ₂ Cl ₂	22,4 g	1,867%

Tabela 2. Condições utilizadas para extração com CO₂ supercrítico

Extração	Extrato	Temperatura (°C)	Pressão (ATM)	Tempo (min)
I	E1	40	136	50
II	E2	50	272	90
III	E3	65	272	150

Material e Métodos

O material botânico estudado foi coletado no município de Mucugê (BA) em janeiro de 2000. O espécime de *Spiranthera odoratissima* teve sua identificação botânica realizada pela Professora Maria Lenise da Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa da UFBA, onde as excisatas estão depositadas sob número 038109.

O caule subterrâneo seco e moído (1,2 kg) foi extraído por maceração com diclorometano. A eliminação do solvente produziu 22,4 g de extrato. Uma alíquota de 20 g foi fracionada através de coluna filtrante, utilizando-se gel de sílica 60 como fase estacionária e como eluente, uma mistura de diclorometano (CH₂Cl₂) e metanol (MeOH), em ordem crescente de polaridade. A fração 1 (3,5 g) foi submetida a cromatografia em gel de sílica

60 utilizando-se um gradiente de hexano-CH₂Cl₂. As frações 1.7 e 1.8 foram recristalizadas de hexano.

A fração 5 (4,1 g) sofreu uma extração ácido-básica. Uma alíquota de 3,5 g desta fração foi acidificada com HCl (1N), o precipitado formado foi filtrado e a fase aquosa extraída com CHCl₃.

O caule subterrâneo seco e moído (18,4 g) foi submetido a 3 extrações com CO₂ supercrítico, em uma unidade piloto da Autoclave Engineers, extrator com capacidade de 75 ml, pressão máxima de trabalho de 10x10³ psi a 238 °C nas condições de operação especificadas na tabela 2.

Agradecimentos

À Universidade Federal da Bahia, ao Programa de Capacitação para o Ensino Superior e ao Banco do Nordeste.

Referências

- ¹De La Cruz, M. G. F. Plantas medicinais utilizadas por raizeiros. Uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e da doença. Cuiabá: Dissertação de Mestrado, UFMT. 1997
- ²Pirani, J. R. Estudos Taxonômicos em Rutaceae. São Paulo: Tese de Livre Docência, Departamento de Biociências, USP. 1999
- ³Veloza, E. S. Fitoquímica comparada dos gêneros *Angostura*, *Almeidea* e *Rauia* (Rutaceae). São Paulo: Tese de Doutorado, D.Q. - UFSCar. 1995
- ⁴Müller, A. H. Constituintes Químicos de *Metrodorea* e *Pilocarpus*: Contribuição à Quimiosistemática de Pilocarpinae. São Paulo: Dissertação de Doutorado, D.Q. - UFSCar. 1994

***Physalis angulata* L. antineoplastic activity, in vitro, evaluation from its stems and fruit capsules**

I.M. Ribeiro^{1*}; M.T.G. Silva¹; R.D.A. Soares³; C.M. Stutz²; M. Bozza⁴; T.C.B. Tomassini¹

¹Laboratório de Química Produtos Naturais, PN₂

²Laboratório de Farmacologia Aplicada I, Rua Sizenando Nabuco, 100, 21041-250, Far-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ

³Laboratório de Imunopatologia/DBBM-IOC- Fiocruz, Av. Brasil, 4365, Manguinhos, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ

⁴Laboratório de Informação e Imunidade, Cidade Universitária CCS/Ilha do Fundão, 21941-190, Rio de Janeiro, RJ, Brazil tomassini@base.com.br

Abstract

Physalis angulata L. (genus *Physalis*; family Solanaceae) is an herbaceous specimen that grows plentifully at North, Northeast and Middle East Brazilian's regions¹. Its fruits are edible, roots and epigeal parts are taken as tea or infusion, all through the world as traditional medicine. Despite of this usefulness not much scientific work has been done on it. This research carried out with plant material (stems and fruit capsules) has the main aim to find out anti-neoplastic activity. The obtained results are described in Table 1. The most significant inhibition values are those for fruit capsules fractions such as 97% mouse lymphoma; 93% Erlich carcinoma strains when was assayed with MGTS-1-2ai and MGTS-1-1ai respectively. In the course on going studies on the biological response and chemical constituents of *P. angulata* some fractions were obtained from stems and fruit capsules ethanolic and methanolic extracts. The extract prepared from roots of *P. angulata* is the most clinically used by physicians for treatment of human hepatic disorders, despite the substance responsible for the efficacy still a matter of argument.

Physalis species have been reported as a source of steroids derivatives² such as withasteroids comprising: withanolides, ixocarplactones, withaphysalins, acnistins, perulactones, and physalins. Steroid derivatives have a broad spectrum biological activities such as anti-inflammatory, antiviral, antimicrobial, immunostimulant, trypanocidal that could be justified by the large structural diversification of this class of compounds.

Withangulatin A^{3,4} and physalins F, D, B have been described as interfering on antitumor responses⁵.

Physalin F has been mentioned as an antitumor agent