

Mitsue Haraguchi (\*)

Mario Motidome (\*)

Otto R. Gottlieb (\*)

## RESUMO

As saponinas fitolacósidos B e E e uma nova saponina, o 30-metil-éster do ácido 3-O-β-D-glicopiranosil jaligônico, foram isolados do resíduo butanólico das raízes frescas de *Phytolacca thyrsoiflora* (família Phytolaccaceae). A hidrólise ácida da saponina bruta forneceu as sapogeninas, a fitolacagenina e o ácido jaligônico. A identificação dos compostos foi realizada principalmente por análises espectroscópicas.

## INTRODUÇÃO

A quimioterapia tem-se mostrado valiosa no combate à esquistossomose. Todavia, seu custo é muito elevado. Considerando que a parasitose não confere imunidade ao portador como medida profilática há necessidade de se eliminar o vetor de transmissão, isto é, o hospedeiro intermediário, mediante aplicação de substâncias dotadas de propriedades moluscidas. Diversos agentes químicos foram empregados, mas a maioria apresentou efeitos indesejáveis. No início da década de 1960 aplicou-se, pela primeira vez, a *Phytolacca dodecandra* para o controle da esquistossomose em foco endêmico na Etiópia (Kloos & McCullough, 1982). Dos frutos dessa planta foram isoladas as saponinas oleanoglicotoxina-A (1) e lematoxina (2), ambas dotadas de propriedades moluscidas (Parkhurst et al., 1973). Estimulados por esses estudos, surgiram inúmeros trabalhos com os mesmos objetivos. A Organização Mundial de Saúde (Genebra, janeiro de 1983) recomenda a procura de plantas ou de produtos vegetais dotadas de propriedades moluscidas e que sejam aplicáveis *in natura* sem afetar o equilíbrio do meio ambiente. O uso de plantas com propriedades moluscidas é simples e pouco dispendioso, constituindo uma técnica apropriada para o controle do vetor de transmissão.

A flora brasileira apresenta uma espécie de *Phytolacca*, a *P. thyrsoiflora* Fenzl ex Schmidt, popularmente conhecida como "papo de peru", estudada botanicamente por Rocha (Rocha, 1976, 1978) que constatou a presença de substâncias de natureza triterpênica. O

---

(\*) Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 05508, São Paulo, SP.

objetivo do presente trabalho é o estudo fitoquímico da *P. thyriflora* principalmente com respeito às suas saponinas.

## MATERIAL E MÉTODO

As raízes frescas de *P. thyriflora* foram extraídas com EtOH 96%. O extrato concentrado foi dissolvido em água e as saponinas extraídas com n-butanol. Inicialmente, procurou-se obter a(s) sapogenina(s). A saponina bruta hidrolisada em meio ácido (HCl N/EtOH) forneceu um resíduo que em CCD de sílica-gel, desenvolvimento com  $\text{CHCl}_3$ :MeOH(9:1) e revelação com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% seguido de aquecimento, mostrou presença de duas substâncias. Estas foram separadas por cromatografia de coluna de sílica-gel G, seguida de cromatografia de sílica-gel H sob pressão, eluídas pelo sistema de solventes utilizadas para o desenvolvimento da cromatografia em placa. Isolaram-se as sapogeninas 3 e 4.

As saponinas foram isoladas através de coluna cromatográfica de sílica-gel H sob pressão no sistema de solventes  $\text{CHCl}_3$ :MeOH:H<sub>2</sub>O (64:36:8). As frações contendo misturas foram submetidas à DCCC (cromatografia em contracorrente de gotas, modalidade descendente), empregando sistema de solventes  $\text{CHCl}_3$ :MeOH:H<sub>2</sub>O (35:65:45), obtendo-se as saponinas 5, 6 e 7. A hidrólise ácida (HCl N/EtOH) das saponinas isoladas forneceu a sapogenina 3. A parte aquosa ácida, após neutralização em coluna de resina de troca-iônica, mostrou em CP, desenvolvimento pelo sistema de solventes n-butanol:ácido acético:água (4:1:2), revelação em ftalato de anilina seguida de aquecimento, a presença de xilose, glicose, xilose e glicose, respectivamente.

## RESULTADO

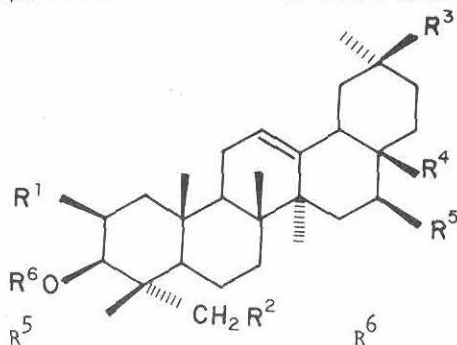
A reação positiva ao teste de Liebermann-Burchard mostra que as sapogeninas 3 e 4 são de natureza triterpênica. Seus espectros no infravermelho revelam a presença de grupos carboxílicos e hidroxílicos e de insaturação. Os espectros de massas indicam os padrões de fragmentação retro Diels-Alder e os demais picos principais característicos da presença de triterpeno da série do olean-12-eno (Budzikiewicz, et al., 1963). Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C, principalmente este último, mostraram que as geninas são de natureza triterpênica pentacíclica com dois grupos carboxílicos, três hidroxílicos e ligação dupla em C<sub>12-13</sub>. Por comparação dos deslocamentos químicos de carbono 13 e dos demais dados espectroscópicos com os dados da literatura conclui-se que as sapogeninas 3 e 4 correspondem à fitolacagenina e ao ácido jaligônico, respectivamente (Woo et al. 1978). Este último foi isolado das raízes de *P. esculenta* (Woo, 1973) e aquela de *P. americana* (Stout et al., 1964), respectivamente.

Os espectros de massas, obtidos por método FD/FAB, e de RMN de <sup>13</sup>C das saponinas 5, 6 e 7 indicaram a presença de fitolacagenina e dos açúcares: xilose, glicose, xilose e glicose, respectivamente. A primeira e a terceira são conhecidas como fitolacósido-B

e -E, respectivamente, ambas isoladas anteriormente de *Phytolacca americana* (Woo et al., 1975, 1978).

A saponina 6 contém fitolacagenina e a porção glicídica é constituída de glicose. Comparando seus deslocamentos químicos com aqueles das saponinas 5 e 7 e, também com os da saikosapogenina 8, isolada de *Platycodon grandiflorum* (Ishii et al., 1981) (Tabela 1) conclue-se que a porção glicídica está unida no C-3. Essa saponina ainda não está descrita na literatura.

A atividade moluscicida foi ensaiada no M. S. Fiocruz, Centro de Pesquisa "Rene Rachou" de Belo Horizonte e a saponina bruta mostrou-se relativamente ativa.



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>
(1)	H	H	CH <sub>3</sub>	COOH	H	β-D-glicopiranosil (1→2)   β-D-glicopiranosil (1→4)   β-D-glicopiranosil-
(2)	H	H	CH <sub>3</sub>	COOH	H	β-D-glicopiranosil (1→4)   β-D-glicopiranosil (1→3)   β-D-glicopiranosil-
(3)	OH	OH	COOCH <sub>3</sub>	COOH	H	H
(4)	OH	OH	COOH	COOH	H	H
(5)	OH	OH	COOCH <sub>3</sub>	COOH	H	β-D-xilopiranosil-
(6)	OH	OH	COOCH <sub>3</sub>	COOH	H	β-D-glicopiranosil-
(7)	OH	OH	COOCH <sub>3</sub>	COOH	H	β-D-glicopiranosil (1→4)-β-D-xilopiranosil-
(8)	OH	OH	CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	OH	β-D-glicopiranosil-

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup>C em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N das sapogeninas 3 e 4 e das saponinas 5, 6, 7 e 8, tendo como referência interna o TMS.

Carbano.	3	4	5	6	7	8
1	43,8	44,6	44,0	44,7	44,6	44,2
2	71,2	71,4	70,8	70,2	70,6	70,3
3	72,7	72,9	82,8	82,8	82,8	83,8
4	41,9	42,1	42,6	42,5	42,6	42,8
5	47,8	47,9	47,5	47,4	47,5	48,3
6	18,0	18,1	17,8	17,8	17,9	18,3
7	33,0	32,7	32,9	33,0	32,8	33,4
8	39,5	39,7	39,7	39,6	39,7	40,3

continuação da Tabela 1).

Carbono	3	4	5	6	7	8
9	48,6	48,4	48,4	48,2	48,4	47,8
10	36,8	37,0	36,8	36,7	36,8	37,2
11	23,6	23,7	23,7	23,6	23,7	24,1
12	122,9	122,9	123,4	123,0	123,0	123,0
13	144,1	144,6	144,3	144,4	144,6	144,6
14	41,9	42,1	42,1	42,0	42,0	42,3
15	28,1	28,2	28,3	28,2	28,3	36,1
16	23,6	23,5	23,7	23,6	23,7	74,5
17	45,6	46,2	46,0	45,9	46,0	49,5
18	43,0	43,8	43,2	43,2	43,3	41,6
19	42,4	42,8	42,5	42,0	42,8	47,1
20	43,8	43,2	44,0	43,9	43,9	30,8
21	30,0	30,9	30,7	30,7	30,6	36,1
22	34,2	34,5	34,4	34,5	34,4	32,1
23	67,3	67,4	65,1	65,3	64,4	66,5
24	14,1	14,2	14,8	14,5	14,7	14,8
25	17,1	17,8	17,3	17,2	17,0	17,4
26	16,9	17,0	17,1	16,7	17,3	17,4
27	25,9	26,1	26,0	26,0	26,0	27,3
28	179,6	179,9	179,5	179,8	179,9	177,6
29	28,2	28,8	28,3	28,2	28,3	33,1
30	176,8	179,3	177,0	177,0	177,0	24,9
OCH <sub>3</sub>	51,5	-	51,5	51,5	51,5	-
1'	-	-	106,4	105,3	106,1	105,2
2'	-	-	75,1	75,2	74,8	75,5
3'	-	-	78,3	78,3	76,1	78,6
4'	-	-	70,7	71,2	77,4	72,0
5'	-	-	67,0	77,9	64,4	78,0
6'	-	-	-	62,3	-	63,0
1''	-	-	-	-	103,3	-
2''	-	-	-	-	74,0	-
3''	-	-	-	-	78,6	-
4''	-	-	-	-	71,5	-
5''	-	-	-	-	77,9	-
6''	-	-	-	-	62,5	-

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Sylvio Panizza do Instituto de Biociências da USP pela classificação botânica, a Dra. Cecília Pereira da Silva do Centro de Pesquisa "Rene Rachou", de Belo Horizonte, MG, pelos ensaios biológicos e ao CNPq pela bolsa concedida.

## SUMMARY

The saponins phytolaccosides B and E and a new saponin, the 3-O- $\beta$ -D-glycopyranosyl-jaligonic acid 30-methyl ester, were isolated from the butanolic residue of fresh roots of *Phytolacca thyrsoiflora* (Phytolaccaceae). The acid hydrolysis of the crude saponin yielded sapogenins, phytolaccagenin and jaligonic acid. The identification of the compounds was made mainly by spectroscopic analysis.

## Referências bibliográficas

- Budzikiewicz, H.; Wilson, J. M.; Djerassi, C. - 1963. Mass Spectrometry in Structure and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* 85, 3688-3699.
- Ishii, H.; Tori, K.; Tozjo, T.; Yoshimura, Y. - 1981. Saponins from roots of *Platycodon grandiflorum*. Part 1. Structure of Prosapogenins. *J. C. S. Perkin I*, 1928-1933.
- Kloos, H. & Cullough, F. S. - 1982. Plant Molluscicides. *Planta Medica* 46, 195-209.
- Parkhurst, R. M.; Thomas, D. W.; Skinner, W. A.; Cary, L. W. - 1973a. - Molluscicidal Saponins of *Phytolacca dodecandra*: Lemmatoxin-C. *Indian J. Chem.* 11, 1192-1195.
- - 1973b. Molluscicidal Saponins of *Phytolacca dodecandra*: Oleanoglycotoxin-A. *Phytochemistry* 12, 1437-1442.
- Rocha, A. B. - 1976. Variedades Químicas de *Phytolacca thyrsoiflora* Fenzl ex Schmidt. *Rev. Fac. Farm. Odont.*, Araraquara, 10 (Supl. 2), 271-274.
- - 1978. Anatomia e Fitoquímica do Axófito de *Phytolacca thyrsoiflora* Fenzl ex Schmidt. *Rev. Fac. Ciên. Farm.*, Araraquara, 1 (nº único), 13-37.
- Stout, G. H.; Malofsky, B. M.; Stout, V. F. - 1964. Phytolaccagenin: A Light Atom X-Ray Structure Proof Using Chemical Information. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 957-958.
- Woo, W. S. - 1973. The Structure of Jaligonic Acid, a New Triterpene from *Phytolacca esculenta*. *Lloydia* 36, 326.
- Woo, W. S. & Kang, S. S. - 1975. The Occurrence and Chemistry of *Phytolacca* triterpenoids. *J. Pharm. Soc. Korea* 19, 189-208.
- Woo, W. S.; Kang, S. S.; Yamasaki, K.; Tanaka, O. - 1978. Carbon-13 NMR Spectra of Phytolaccagenin and its Glycosides. *Arch. Pharm. Res.* 1(1), 21-25.