

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE *Senna spectabilis* (DC) IRWIN & BARNEBY var. *excelsa* (Schrad.) IRWIN & BARNEBY

Fábio de Oliveira Silva, Írville Ricarte de Oliveira e Maria Goretti de Vasconcelos Silva*

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, 60455-970 Fortaleza - CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-600 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Recebido em 31/12/09; aceito em 15/6/10; publicado na web em 22/9/10

Chemical COMPOUNDS OF LEAVES FROM *SENNA SPECTABILIS* (DC) IRWIN & BARNEBY var. *excelsa* (SCHRAD.) IRWIN & BARNEBY. From leaves of *Senna spectabilis* var. *excelsa* were isolated caffeine, the triterpenes lupeol, α -amyrin, β -amyrin, cycloeucalenol, friedelin and ursolic, oleanolic and betulinic acids, besides the steroids sitosterol and stigmasterol and their respective glucosides. The structures of these compounds were established by spectroscopic analysis including two-dimensional NMR methods and comparison with published spectral data. This paper deals with the first report of these compounds in *S. spectabilis* var. *excelsa*.

Keywords: *Senna spectabilis* var. *excelsa*; triterpene; caffeine.

INTRODUÇÃO

No Brasil ocorrem 200 gêneros e 1.500 espécies da família Fabaceae. Presente na maioria dos ecossistemas brasileiros, é relatada como a família botânica mais bem representada na caatinga, com 293 espécies em 77 gêneros, constituindo aproximadamente um terço de todos os vegetais deste bioma.^{1,2}

O gênero *Senna* Mill. pertence à tribo Cassieae Bronn, subtribo Cassinae Irwin & Barneby, juntamente com o gênero *Cassia*, são fontes importantes de substâncias com grande diversidade estrutural na família Fabaceae. Espécies de *Senna* são utilizadas tradicionalmente como laxantes e purgativas (*Senna alexandrina* Mill, syn. *Cassia angustifolia* Vahl, *Senna acutifolia* Delile) e como corantes (*Senna cernua* (Balbis) I. & B., *Senna multijuga* (L. C. Rich.) I. & B.³ Atividade laxativa comparável ao padrão bisacodil (princípio ativo da Lacto-purga®) e anti-inflamatória similar ao diclofenaco de sódio foi observada para o extrato das folhas de *Senna macranthera*.⁴ Outras diversas atividades relevantes como antimicrobiana, analgésica, antiparasitária, inseticida, antitumoral e hepatoprotetora são comprovadas para várias espécies de *Senna*.⁵

Espécimes de *Senna spectabilis* são empregadas no Brasil principalmente no paisagismo, devido à grande beleza das suas flores amarelas, sendo uma espécie com grande potencial para recomposição de áreas degradadas. *S. spectabilis* ocorre em duas variedades distintas principalmente pelo porte: *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. *spectabilis* (*Cassia spectabilis* DC.), (*Cassia carnaval*), árvore de grande porte (até 17 m) e *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) Irwin & Barneby (*Cassia excelsa* Schrad), de pequeno porte (até 6 m) conhecida como cássia-do-nordeste.⁶

Até o presente, o alcaloide piperidínico conhecido por cassina⁷ isolado há mais de 40 anos, é o único registro de estudo químico de *Senna spectabilis* var. *excelsa* (Schrad.).

O estudo químico das folhas de *S. spectabilis* var. *excelsa* (Schrad) levou ao isolamento e identificação de oito triterpenos pentacíclicos: quatro na forma pura (ácido betulínico, lupeol, cicloeucalenol, friedelina) e quatro como misturas (α -amirina, β -amirina, ácido ursólico e oleanólico). Apesar de serem substâncias conhecidas, este é o

primeiro relato dessa classe química na espécie *Senna spectabilis* var. *excelsa*. Também foram identificadas duas misturas de esteroides (estigmasterol e β -sitosterol) na forma livre e glicosilada, além de um alcaloide (caféina) ainda inédito no gênero *Senna*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico das folhas de *S. spectabilis* var. *excelsa* (Schrad) através de técnicas cromatográficas levou ao isolamento dos triterpenos pentacíclicos ácido betulínico (**1**), lupeol (**2**), α -amirina e β -amirina (**3** e **4**), da fração não alcaloídica (FNA) ($m = 13,5$ g). A identificação foi possível após a análise dos dados espectrais de RMN ¹H, RMN ¹³C e DEPT 135 e comparação com dados da literatura. A comparação dos dados obtidos com a literatura permitiu identificar o composto **1** como um triterpene pentacíclico de esqueleto lupano denominado ácido betulínico.^{8,9}

A substância (**2**) apresentou sinais de RMN ¹H em δ_H 4,57 e 4,69 referentes a hidrogênios vinílicos de dupla terminal e em δ_H 3,19 de hidrogênio carbinólico indicando a presença da β -configuração além dos sinais em δ_H 0,76 a 1,68 referentes às metilas. O sinal de RMN ¹³C em δ_C 76,8 (CH), além das absorções em δ_C 151,1 (C) e δ_C 109,2 (CH₂) caracterizam um triterpene com esqueleto lup-20 (29)-eno e por comparação dos dados obtidos com a literatura foi possível identificar (**2**) como lupeol (lup-20(29)-en-3 β -ol).^{9,10}

O tratamento cromatográfico da fração diclorometânica levou ao isolamento e identificação de (**5**), (**6**) (**7**) e (**8**). A substância (**5**) apresentou-se como um sólido branco amorfo, que após a análise se observaram de RMN ¹H, RMN ¹³C e DEPT 135°, se observou sinais em: δ_H 4,72 (s) e δ_H 4,66 (d, $J=1,0$) característicos de hidrogênios de dupla terminal; em δ_H 0,15 (d, $J=4,0$) e δ_H 0,39 (d, $J=4,0$) referentes a hidrogênios metilênicos; em δ_H 1,44 (s) e δ_H 1,98 (m) também referentes a hidrogênios metilênicos; em δ_H 3,21 (m) característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado (carbono carbinólico); foi possível observar também em δ_H 2,24 (m) absorção de hidrogênio metínico e em δ_H 0,90 (s), δ_H 0,98 (s), δ_H 0,99 (d, $J=7,1$), δ_H 1,02 (d, $J=6,8$), δ_H 1,03 (d, $J=6,8$) absorções de hidrogênios metílicos. A análise dos dados obtidos em comparação com dados da literatura permitiu identificar (**5**), como um triterpene de esqueleto cicloartano denominado 4 β -demetil-24-metilen-cicloartanol (cicloeucalenol), já

*e-mail: mgvsilva@ufc.br

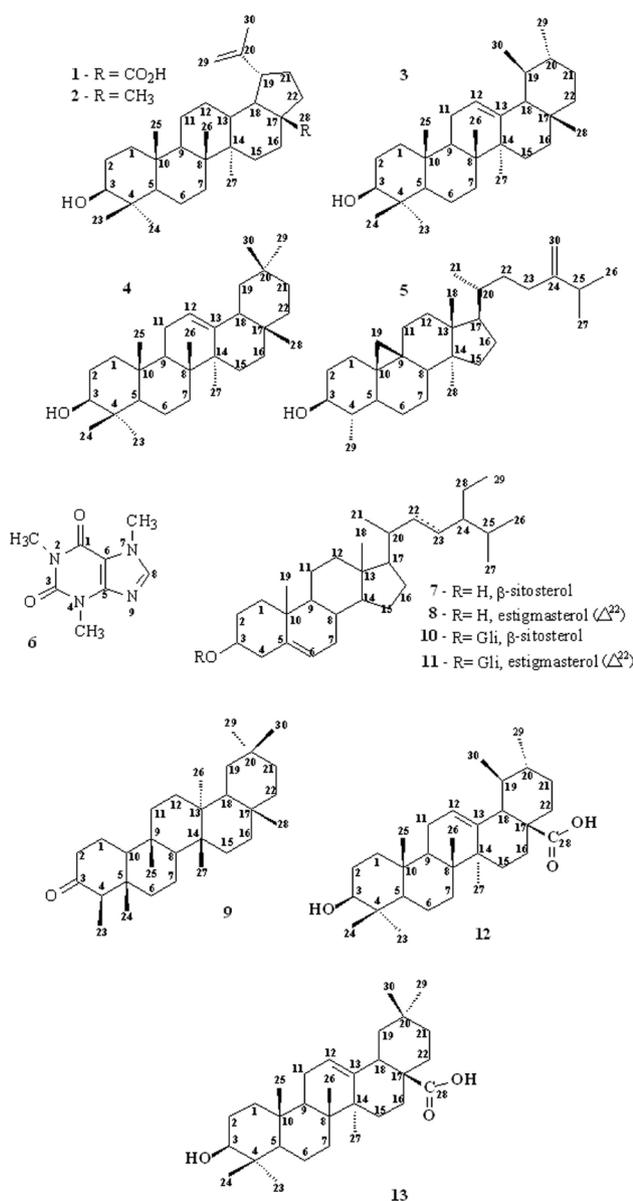


Figura 1. Representação das estruturas das substâncias isoladas das folhas de *Senna spectabilis* var. *excelsa*

isolado de várias espécies de plantas e dos moluscos *Calyptogena soyoae* e *Bathymodiolus septemdiarium*.¹¹⁻¹⁴

Para o composto (6), solúvel em clorofórmio, o espectro de RMN ¹H, apresentou sinal em δ_H 7,51 (s) para hidrogênio aromático e em δ_H 3,99 (s), δ_H 3,59 (s) e δ_H 3,41 (s) caracterizados como hidrogênios metílicos. A análise dos dados de RMN ¹³C possibilitou observar oito linhas espectrais para átomos de carbono, em δ_C 155,54 e δ_C 151,83, para carbonos carbonílicos; em δ_C 148,90 e δ_C 107,83 referentes a carbonos não hidrogenados e três absorções de carbonos metílicos em δ_C 33,88; δ_C 30,03 e δ_C 28,18. A análise do espectro de massas de alta resolução apresentou os picos *m/z* 195 e 217 [(M+H) e (M+Na)]. A análise dos dados obtidos em comparação com dados da literatura e com amostra autêntica, permitiu identificar (6) como a mais conhecida das metilxantinas, a cafeína¹⁵ cuja presença foi detectada por CCD também nos extratos de folhas, caule e raízes da planta. Apesar do registro do uso popular, principalmente no Nordeste do Brasil, de espécies do gênero *Senna* no preparo de uma bebida semelhante ao café¹⁶ não se encontrou nenhuma referência da presença de cafeína em outras espécies do gênero.

A fração diclorometânica F10-14, após ser submetida à cromatografia gravitacional em coluna, forneceu as substâncias (9), (10), (11), (12) e (13). A análise dos dados de RMN ¹H, e de RMN ¹³C, em comparação com dados da literatura, possibilitou determinar estruturalmente (9) como friedelan-3-ona (friedelina).^{10,17,18}

As estruturas das misturas de α-amirina (3) e β-amirina (4); β-sitosterol (7) e estigmasterol (8) na forma livre; β-sitosterol (10) e estigmasterol (11) na forma glicosilada; ácido ursólico (12) e oleanólico (13) foram identificadas usando-se padrões em CCDA, análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C, DEPT-135° e comparação com dados da literatura. A literatura relata que misturas destas classes são frequentemente tidas como substâncias puras, sendo sua separação considerada muito difícil.^{8,10}

O estudo realizado com *S. spectabilis* var. *excelsa* contribui para o conhecimento da química do gênero *Senna* e da flora nordestina. Todas as substâncias isoladas e identificadas neste trabalho não foram descritas previamente na espécie *Senna spectabilis* var. *excelsa*.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Na determinação dos pontos de fusão (p.f.) das substâncias isoladas usou-se um aparelho de microdeterminação Microquímica, provido de placa aquecedora modelo MQAPF-301. A determinação foi feita a uma velocidade de aquecimento de 1 °C/min, e não houve correção. O processo cromatográfico de separação foi majoritariamente de adsorção. Nos experimentos cromatográficos de adsorção em coluna (CC) foi utilizado gel de sílica (0,063-0,200 mm, 70-230 mesh, Vetec), enquanto para os experimentos de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram utilizadas cromatoplasas de gel de sílica, com indicador de fluorescência na faixa de 254 ηm (Merck). As substâncias foram reveladas sob luz ultravioleta (254 e 366 ηm) e/ou pela aspersão com solução de vanilina/ácido perclórico/EtOH, seguida de aquecimento ou, ainda, pela exposição a vapores de iodo.

Os espectros de RMN foram produzidos em espectrômetros Bruker, modelos Avance DPX-300 e DRX-500, operando na frequência do hidrogênio a 300 e 500 MHz, e na frequência do carbono a 75 e 125 MHz, respectivamente. Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), modelo QP5050A da Shimadzu, operando a 70 eV. O espectro de massas de alta resolução foi adquirido usando um espectrômetro de massas mod. LCMS-IT-TOF (225-07100-34) - Shimadzu, equipado com fonte de ionização por.

Material vegetal

As folhas de *Senna spectabilis* var. *excelsa* foram coletadas em agosto de 2003 no município de Boa Viagem – CE, de árvores adultas e sua exsiccata encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra sob o número 33.013, no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Extração e isolamento

O material botânico foi triturado, seco e extraído exaustivamente com etanol (95%) a frio e concentrado em evaporador rotativo, obtendo-se 39,0 g. O extrato das folhas foi então submetido à técnica de extração seletiva de alcaloides,¹⁹ obtendo-se assim uma fração alcaloídica (FA) (m=15,8 g), que está sendo estudada e uma não alcaloídica (FNA) (m=13,5 g). A fração não alcaloídica foi submetida à coluna cromatográfica (CC) em gel de sílica, eluída com hexano,

diclorometano, acetato de etila e metanol, na forma isocrática e/ou usando gradiente de eluição. A subfração diclorometânica F04-09, foi então submetida a novo processo cromatográfico, fornecendo a fração F10-23C, que após análise por CCDA e determinação do ponto de fusão resultou no isolamento do ácido 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-óico (ácido betulínico, **1**, 12,0 mg, p.f. 285,2 °C lit.⁹ 285,0 °C), lup-20(29)-en-3 β -ol (lupeol, **2**, 8,0 mg, p.f. 246,0 °C, lit.⁹ 212,0 °C) e urs-12-en-3 β -ol e olean-12-en-3 β -ol (α -amirina e β -amirina, **3** e **4**, 90,0 mg, p.f. 178,4 °C).

O tratamento cromatográfico da subfração F48-53E, oriunda da fração diclorometânica F04-09, forneceu um sólido branco amorfo, que após análise em CCDA e determinação do seu ponto de fusão foi identificada como 4 β -demetil 24-metilencicloartanol (cicloeucaleanol, **5**, 26,0 mg, p.f. 143,0 °C, lit.¹² 139,0 °C). O tratamento por coluna cromatográfica e posterior análise por CCD da fração FDF04-09 resultou na obtenção das subfrações FDF48-53E e FDF28-53G. A subfração FDF48-53E forneceu um sólido branco amorfo (17 mg) com faixa de fusão 149,3-150,1 °C identificado como cafeína (**6**). Amostras dos extratos etanólicos de folhas, caule e raízes foram submetidas à comparação através de CCDA com o composto **6** e padrão autêntico de cafeína (Rf = 0,62; fase móvel: diclorometano/metanol 95:5), revelando por similaridade de Rfs que, em todas as partes da planta testadas, a cafeína estava presente. A partir do tratamento cromatográfico de FDF28-53G obteve-se um sólido na forma de agulhas incolores (25 mg), solúvel em clorofórmio e faixa de fusão 140-142 °C, que após análise dos dados foi identificado com a mistura dos esteroides β -sitosterol e estigmasterol (**7**) e (**8**).

A investigação da fração diclorometânica F10-14, ao ser submetida à CC, CCDA e determinação do ponto de fusão das substâncias isoladas, permitiu identificar: friedelan-3-ona (friedelina, **9**, 28,0 mg, p.f. 258,7 °C, lit.¹⁷ 249,0 °C) e ácido 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-óico (ácido ursólico) e 3 β -hidroxi-olean-12-en-28-óico (ácido oleanólico), **12** e **13**, 9,0 mg, p.f. 269,1 °C).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e FUNCAP, pelas bolsas concedidas e apoio financeiro no desenvolvimento dessa pesquisa, ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAU-REMN), pela obtenção dos espectros de RMN e ao Laboratório de Espectrometria de Massas do Nordeste (LEMANOR).

REFERÊNCIAS

1. Córdula, E.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2008.
2. Melo-Pinna, G. F. A.; Neiva, M. S. M.; Barbosa, D. C. A.; *Rev. Bras. Bot.* **1999**, 375.
3. Sá, I. M.; Valle, L. S.; Almeida, G. S.; *Rev. Bras. Bio.* **2007**, 5, 276.
4. Nogueira, L. G.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil, 2009.
5. Viegas, C. J.; Rezende, A.; Silva, D. H. S.; Castro-Gambôa, I.; Bolzani, V. S.; *Quim. Nova* **2006**, 29, 1279; Takkis, K.; Sild, S.; Maran, U.; *QSAR Comb. Sci.* **2009**, 28, 829; Macedo E. M. S.; Wiggers, H. J.; Silva, M. G. V.; Montanari, C. A.; Braz Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, 20, 947.
6. Irwin, H. S.; Barneby, R. C.; *The American Cassiinae: A synoptical Revision of Leguminosae tribe Cassia subtribe Cassiinae in the new world*, The New York Botanical Garden: New York, 1982.
7. Highet, R. J.; *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 471.
8. Falcão, D. Q.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2008.
9. Silva, V. C.; Alves, A. N.; Santana, A.; Carvalho, M. G.; Silva, S. L. C.; Schripsema, J.; *Quim. Nova* **2006**, 29, 1184.
10. Carvalho, M. G.; Velandia, J. R.; Oliveira, L. F.; Bezerra, F. B.; *Quim. Nova* **1998**, 21, 740.
11. Kongkathip, N.; Dhumma-upakorn, P.; Kongkathip, B.; Chawanoraset, K.; Sangchomkao, P.; Hatthakitpanichakul, S.; *J. Ethnopharmacol.* **2002**, 83, 95.
12. Paula, J. R.; Vieira, I. J. C.; Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Pinheiro, A. L.; Vilela, E. F.; *Phytochemistry* **1997**, 44, 1449.
13. Haba, H.; Lavaud, C.; Harkat, H.; Magid, A. A.; Marcourt, L.; Benkhaled, M.; *Phytochemistry* **2007**, 68, 1255.
14. Hawaii, S.; Takada, W.; Tsuchida, S.; Kado, R.; Kimura, J.; *Fish. Sci.* **2007**, 73, 902.
15. Montrucchio, D. P.; Miguel, G.; Miguel, M. D.; Monache, F. D.; Carvalho, J. L. S.; *Visão acadêmica* **2005**, 6, 1518.
16. Lombardo, M.; Kiyota, S.; Kaneko, T.M.; *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **30**, **2009**, 1.
17. Costa, F. J.; Bandeira, P. N.; Albuquerque, M. R. J.; Pessoa, O. D. L.; Silveira, E.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **2008**, 31, 1691.
18. David, J. M.; Santos, F. A.; Guedes, M. L. S.; David, J. P.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 484.
19. Matos, F.J.A.; *Introdução à Fitoquímica Experimental*, 3ª. Ed. EUFC: Fortaleza, 2009.