

Diterpenos isolados de *Humirianthera ampla* Miers.

Ilmar Bernardo Graebner²; Ademir Farias Morel^{1*}; Robert A. Burrow¹; Marco Aurélio Mostardeiro¹; Eduardo Miranda Ethur¹; Emilia C. M. Dessoy¹; Alessandro Scher¹

¹ Departamento de Química (NPPN), Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900, Santa Maria, RS

² Departamento de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Acre, 69915-900, Rio Branco, AC, Brasil
a9870001@alunop.ufsm.br
afmorel@ufsm.br

Abstract

From *Humirianthera ampla*, Icacinaceae, were isolated a phthalate, lupeol, β -sitosterol, glycosyl-sitosterol, one known annonalide diterpene and two new diterpenes named Humirianthol and Acrenol. Humirianthol and Acrenol were determined by 1D and 2D NMR spectroscopic techniques to be 3 β , 20:14 β , 16-diepoxy-3 α , 15 α -dihydroxy-7-pimaren-19, 6 β -olide and 3 β , 20-epoxi-3 α , 15, 16-trihydroxy-7-pimaren-19, 6 β -olide, respectively. Acrenol has antimicrobial activity.

A planta *Humirianthera ampla*, pertence a família das Icacinaceae e é predominante da Amazônia¹. É conhecida popularmente, na região do vale do Purus no Estado do Acre, por surucuína ou surucucuína, devido a seus tubérculos, na forma macerada, serem aplicados como anti-ofídicos.

Estudos anteriores sobre espécies desta família isolaram e identificaram metabólitos com alto grau de oxidação^{2,3}.

A partir do extrato etanólico bruto foram isolados um ftalato, lupeol, β -sitosterol, sitosterol glicosilado e, três diterpenos, codificados por AI-1, AI-2 e AI-3. O diterpeno AI-1 já foi isolado anteriormente de *Annona coriaceae* e identificado por Annonalida.

Os diterpenos AI-3 (substância 1) e AI-4 foram elucidados com auxílio de métodos espectroscópicos e espectrométricos com RMN ¹H e ¹³C homo e heteronucleares (COSY, DEPT, HMQC e HMBC), EM-FAB(+), algumas reações químicas e comparações na literatura de deslocamentos químicos de substâncias similares. Estudos sugerem que o extrato etanólico bruto apresenta atividade anti inflamatória⁴. A substância 1 apresentou atividade contra *Candida albicans* e, por isto, será dada ênfase a esta substância.

Substância 1-(AI-3)-humirianthol: A elucidação da estrutura do Humirianthol já foi abordado profundamente⁵. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do Humirianthol são apresentados junto aos dados de isolamento.

A figura 1 apresenta os principais acoplamentos do humirianthol, observados através do espectro de RMN heteronuclear ¹H-¹³C HMBC o qual demonstra acoplamento a longa distância²J_{H-C-C} e ³J_{H-C-C-C}.

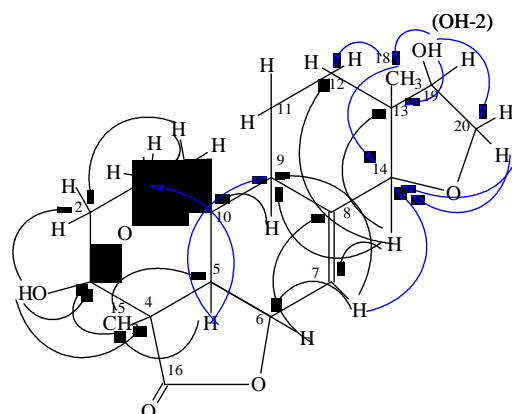


Figura 1. Acoplamentos observados pelo espectro RMN ¹H-¹³C- HMBC do Humirianthol.

Estereoquímica dos carbonos quirais do humirianthol e acrenol: O estudo de raio X dos carbonos quirais comuns as duas estruturas apresentaram as seguintes configurações 3S-4R-5R-6R-9R-10S. Do Humirianthol ficaram determinadas as configurações relativas:13R-14R-19S. A presença do álcool secundário (OH-2) do Humirianthol possibilitou a definição, através do Método Horeau^{6,7}, da configuração absoluta de 19S.

Atividade anti microbiana: O ensaio foi realizado pelo método de difusão em ágar, utilizando a técnica disco placa e o halo de inibição em mm. Os microorganismos utilizados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538)- *Staphylococcus epidermidis* (ATCC-12228)- *Bacillus cereus* (ATCC-14579)- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-10145)- *Candida albicans* (ICB-12)- *Candida tropicalis* (LM-9)- *Candida stellaloidea* (LM-6)- *Cryptococcus neoformans* (FCF-29)- *Trichosporon beigelli* (LM-5). Resultado: Humirianthol 15mm frente a *Candida albicans* (ICB-12).

Material e Métodos

Os espectros de ¹H e ¹³C foram realizados pelo equipamento BRUKER DPX operando a 400 e 100,6 MHz respectivamente. As unidades dos deslocamentos químicos (d) são fornecidos em ppm e foi usado TMS como padrão interno. FABMS foi realizado com o equipamento VG analytical 70-150-S equipado com a matriz ion-FAB álcool 3-nitrobenzílico.

Material coletado: para realização deste trabalho, tubérculos de *H. ampla* foram coletados no início do período das secas em 1997 (10 kg) as margens do rio Iaco no município de Sena Madureira, AC, Exsicata está no Herbário da UFAC sob No.8285 em Rio Branco, Ac.

Extração e isolamento: dos tubérculos da *H. ampla* foi obtido um extrato etanólico bruto (2,8 g), o qual foi fracionado em subextratos hexânico, cloroformico e acetoeílico. O Humirianthol (56 mg) e o Acrenol (98 mg) foram isolados do subextrato cloroformico (570 mg), após ter sido submetido a cromatografia de coluna usando como eluente $\text{CHCl}_3 + \text{MeOH}$ (9:1).

Humirianthol: Sólido cristalino incolor com ponto de fusão igual 268,8 °C, recristalizado em $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3/\text{HEXANO}$. $[\alpha]_D^{20} = -156,9^\circ$ $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1). Composição química determinada experimentalmente C=63,35%; H=7,13%; O=26,52%. Rf=0,62 [$\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1)].

Espectro RMN ^1H a 400MHz em DMSO-d_6 - δ ppm = 4,98 (1H,d,4Hz); 5,35 (1H,s); 3,5/4,2 (2H,dd/dd, 9,5/4,0); 3,67 (1H,dd, 4,0); 0,82 (3H,s); 3,43/3,73 (2H,dd, 9,0/3,0/2,0); 1,25 (3H,s); 3,83 (1H,s); 1,28 (2H,m); 1,15/1,52 (2H,m/m); 1,81 (1H,dd,12,4/2,8Hz); 5,84 (1H,d,5Hz); 4,92 (1H,dd,4/6Hz); 2,29 (1H,dd,6/2Hz); 1,70/1,98 (2H,m/m); 1,60/1,65 (2H,m/m).

Espectro RMN ^{13}C a 100 MHz em DMSO-d_6 - δ ppm = 178,17; 145,58; 116,38; 96,16; 85,26; 77,41; 75,08; 71,05; 71,04; 49,8; 48,1; 43,8; 36,21; 31,91; 29,80; 28,3; 27,9; 24,9; 18,3; 15,04.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Tecnologia). FAPERGS (Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio Grande do Sul). Ilmar B. Graebner agradece CAPES-PICDT (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Também ao professor D. H. Farrar e Dr. A. J. Lough do Departamento de Química da Universidade de Toronto, Canadá, pelos espectros de raio X. Ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, PB, pela realização da atividade antimicrobiana das substâncias em questão.

Referências

- ¹Hegnauer R (1966) Chematoxonomie der planzen. Vol. IV, 275-277
- ²Kaplan MA, Ribeiro J, Gottlieb OR (1991) Phytochemistry, 30, 2671
- ³Zogbi M G B, Roque N F, Gottlieb H E (1981) Phytochemistry. 20,1669
- ⁴Lima L M, Graebner I B, Morel A F, Carvalho J T C Estudo da atividade anti-inflamatória da espécie Humirianthera ampla XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil-ET56. (2000)
- ⁵Graebner I B, Mostardeiro M A, Ethur E M, Burrow R A, Dessoy E C M, Morel A F Diterpenoids from Humirianthera ampla; Phytochemistry, 53, 955. (2000)
- ⁶König W A, Gerhrke B, Weseloh G Chirality. (1994) 6,141.
- ⁷König W A, Icheln D, Runge T, Pforr I, Krebs A (1990) J. High Res. Chromatogr. (1990)13,702

Chemical investigation of *Spigelia anthelmia* Linn. used in Brazilian folk medicine as anthelmintic

Selene Maia de Morais^{1*}; Cláudia Maria Leal Beviláqua²; Júlia Aparecida L. de Souza¹; Luciana Moura de Assis²

¹ Departamento de Física e Química, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará

² Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, Serrinha, 60740-000, Fortaleza, CE, Brazil

selene@uece.br

Abstract

An ethanol extract of aerial parts of *Spigelia anthelmia* was submitted to vacuum column chromatography being eluted with hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. The four extracts were assayed for anthelmintic activity against *Haemonchus contortus*, the main nematode in caprines. The ethyl acetate extract showed the strongest anthelmintic activity and the chemical study of this extract revealed as main constituents the alkaloid spiganthine and 3,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone.

Spigelia anthelmia Linn. (Loganiaceae), popularly known as lombrigueira, is used in the Brazilian folk medicine as anthelmintic¹. In the German Homeopathic Pharmacopoeia, an extract of aerial parts of *Spigelia anthelmia* is official as a remedy for neuralgic and cardiac disorders. Previous phytochemical/pharmacological investigation has described the isolation of the alkaloid spiganthine that demonstrated cardiovascular activity². Another research group reported the presence of two volatile alkaloids, isoquinoline and actidine isomer, and three quaternary alkaloids, choline, benzoylcholine and 2,3-dimethylacroyl choline that are also involved in the cardiotoxic activity of the plant besides some widely distributed phenolcarboxylic acids and flavonoids. Spiganthine has a similar structure to ryanodine a type of compounds known for their insecticidal activity^{4,5}.

The presence of nematodes in caprines in the Northeastern Brazil is one of the main causes of mortality of these animals. The control of this problem is performed using synthetic antihelmintics but the intensive and incorrect management of these products has led to the development of resistance to them. In the search for alternatives, the medicinal plant *Spigelia anthelmia* was used to evaluate its efficacy as anthelmintic and showed in the test of larvae immobilization a