

Alcalóides de *Aspidosperma auriculatum* Standl.

Barbosa, W.L.R.*; Tavares, I.C.C.; Soares, D.C.

Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia
Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará

Resumo

Espécies do gênero *Aspidosperma* apresentam alcalóides do tipo indólico. A partir da espécie *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht isolou-se a quebracamina¹, de *A. olivaceum* obteve-se a olivacina², entre outras. O presente trabalho relata a determinação do perfil cromatográfico por Cromatografia em Camada Delgada e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de frações alcaloídicas de *Aspidosperma auriculatum*, espécie conhecida no Pará como carapanaúba e indicada popularmente para tratar febre e outras afecções, inclusive malária. O material vegetal foi extraído com ácido clorídrico a 5%. Três frações alcaloídicas foram extraídas a pH 7, pH 8 e pH 11, que analisadas em sistemas adequados apresentaram perfis distintos.

Abstract

Species from genus *Aspidosperma* show the presence of indol alkaloids. From *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht quebracacidine was obtained¹, from *A. olivaceum*. Schmutz and Hunziker² isolated olivacine, among others substances. This work reports the determination of the chromatographic profile of alkaloid fractions from *Aspidosperma auriculatum*, by Thin Layer Chromatography and High Performance Liquid Chromatography. At the Brazilian state Pará this plant species has the vernacular name carapanaúba and is traditionally indicated to heal fever and others affections and also malaria. The plant material - stem bark - was extracted with hydrochloridric acid 5%. Three principal alkaloid fractions were extracted at pH 7, pH 8 and pH 11, which were analysed in suitable systems showing characteristic profiles.

que é uma árvore de grande porte cujo nome popular, carapanaúba, refere-se ao fato possuir caule profundamente sulcado no sentido vertical e cheio de septos capazes de abrigar o carapanã, um mosquito muito comum na região amazônica; o tronco é longitudinalmente cilíndrico com lamelas delgadas, ramos angulosos e glabros, apresentando folha peciolada elíptica, obtusa, com até 18 cm de comprimento e 7 cm de largura, coriácea, luzidia na página superior e brancacenta na inferior, revoluta nas margens, retusa no ápice, nervada. Suas flores são brancacentas, aveludadas e dispostas em cimeiras densas; o ovário é glabro, o fruto, seco deiscente e muito rugoso. É comum nas florestas de terra firme do Pará e ocasionalmente, em locais úmidos.

A carapanaúba fornece madeira castanha - amarelada, amarga, elástica, bastante densa, compacta, forte e resistente aos cupins, constituindo-se uma verdadeira peroba, própria para a marcenaria. A casca é carminativa, estomáquica e, tomada na forma de chá, é muito útil para a bronquite, febre, icterícia, hepatopatias, diabetes, infecção renal.

O levantamento etnofarmacêutico realizado no município de Igarapé Mirí (PA) entre outubro de 2000 e janeiro de 2001, revelou que a população local utiliza a casca de algumas espécies do gênero *Aspidosperma* dentre as quais *A. auriculatum*, para tratar malária e febres em geral.

A característica química marcante deste gênero é a presença de uma vasta variedade de alcalóides contendo núcleo indólico. A síntese da *dl*- quebracamina e *dl*-aspidospermidina é descrita por Kuttney et al.³. Dentre os alcalóides identificados no gênero tem-se a quebracamina e aspidospermina que funcionam como bloqueadores adrenérgicos, tal como a ioimbina, que também foi detectada em *A. quebracho-blanco* segundo Deutsch et al.⁴.

Duarte e Miranda⁵ isolaram um alcalóide quaternário a partir da espécie *A. gilbertii* na forma de hidróxido. Umezawa et al.⁶ isolaram alcalóides indólicos de espécies deste gênero e Sakamoto et al.⁷ demonstraram a atividade antitumoral e citotóxica do alcalóide elipticina isolado de *A. williamsii*.

Também foi constatada a atividade antimicrobiana de alcalóides indólicos isolados da espécie *A. marcgravianum* contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, entre outros⁸.

A fim de contribuir para a caracterização química da espécie *A. auriculatum*, este trabalho apresenta perfis cromatográficos de três frações alcaloídicas determinados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Os perfis cromatográficos das frações alcaloídicas **A**, **B** e **C** obtidos por CCD são mostrados na tabela 1 com os respectivos fatores de retenção (Rf). A fração **A** mostra a presença de pelo menos 4 alcalóides quando analisada em gel de sílica de fase normal com o sistema 3. A eluição da fração **B** com o sistema 1 evidencia a presença de pelo menos 4 alcalóides, já no sistema 2 são observados 5 alcalóides. A fração **C**, que foi eluída com o sistema **1**, mostra 9 alcalóides.

O gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae) é composto de diversas espécies, entre as quais *Aspidosperma auriculatum*,

Tabela 1. Fatores de retenção (Rf) das frações alcalóidicas A, B e C

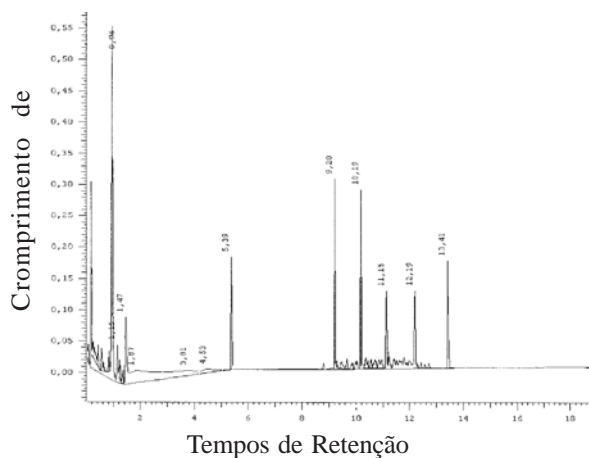
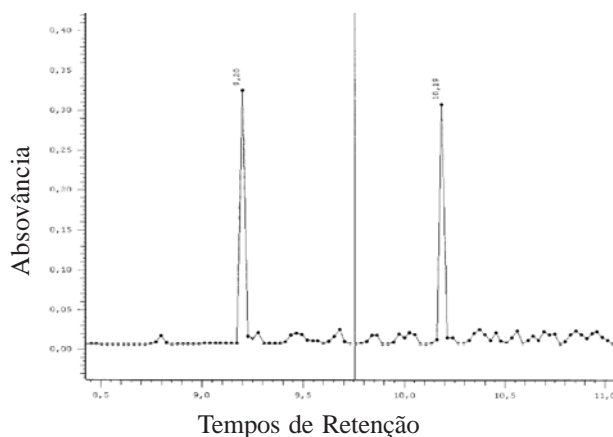
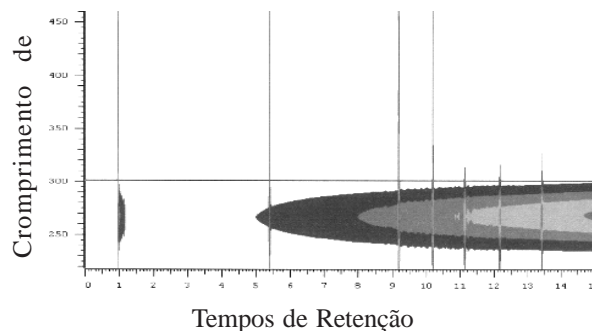
Fração A		Fração B				Fração C	
Sistema 3		Sistema 1		Sistema 2		Sistema 1	
Mancha	Rf	Mancha	Rf	Mancha	Rf	Mancha	Rf
1	0,31	1	0,34	1	0,31	1	0,21
2	0,42	2	0,53	2	0,41	2	0,28
3	0,70	3	0,95	3	0,43	3	0,39
4	0,77	4	0,98	4	0,51	4	0,43
				5	0,64	5	0,48
						6	0,66
						7	0,84
						8	0,93
						9	0,95

Sistema 1: gel de sílica de fase normal; CHCl₃/MeOH (95:5)

Sistema 2: gel de sílica RP-18; MeOH/H₂O (70:30)

Sistema 3: gel de sílica de fase normal; CHCl₃/MeOH/NH₄OH (95:05:0.05)

O perfil cromatográfico da fração B obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é apresentado nas figuras 3 - 5.

**Figura 3.** Perfil da fração B (pH 8).**Figura 4.** Picos dos principais componentes da fração B (pH 8).**Figura 5.** Cromatograma dos principais componentes da fração B (pH 8).

O cromatograma da fração B produzido pelo detector de arranjo de díodos (DAD) é apresentado acima, com os respectivos tempos de retenção (T_R). O sistema analítico empregado incluía uma coluna LiChrospher RP-18 125-4 Merck® e como fase móvel água / acetonitrila (10% / 90%) e proporcionou a detecção de seis picos, contra cinco manchas observadas na análise desenvolvida por CCD com o sistema 2 (tabela 2). Os picos com T_R 9,20 e 10,19 mostram-se mais intensos correspondendo a 2,145% e 1,099% respectivamente, as maiores dentre os seis picos registrados, exceto aquele referente ao solvente da amostra T_R 0,96.

A análise prévia dos espectros de ultravioleta produzidos pelo DAD para todos os picos do cromatograma da figura 3, indica contornos compatíveis com o núcleo indólico, característicos dos alcalóides de *Aspidosperma*.

O sistema utilizado para análise por cromatografia líquida de alta eficiência forneceu cromatogramas para a fração B, os quais mostram características bastante marcantes, tais como a regularidade do intervalo dos tempos de retenção e a intensidade de absorção de cada pico, que segundo as análises por CCD, correspondem aos alcalóides. Antes, somente Deutsch⁴ havia descrito a análise por cromatografia líquida de extratos obtidos a partir de espécies de *Aspidosperma*.

Este método mostrou-se ainda adequado, não só para

a análise visando o controle de qualidade da fração alcaloídica, como também para o isolamento dos alcalóides utilizando tecnologia LoBar Merck®, uma vez que os picos mostram-se suficientemente resolvidos para uma aplicação em escala preparativa.

Material e Métodos

O material vegetal foi fornecido, já botanicamente caracterizado através da exsiccata de nº 150541, MPEG - Museu Paraense Emílio Goeldi, além de seco e triturado. Amostra de 500 g foi repetidamente extraída com ácido clorídrico a 5%, resultando em 2,5 l de extrato ácido **EA**, que reagiu frente aos três reativos para a detecção de alcalóides - Dragendorff, Mayer e Bouchardat. Uma alíquota do **EA** foi então submetida à partição líquido-líquido com clorofórmio a pH 1, pH 7, pH 8 e pH 11. As três últimas frações foram denominadas **A**, **B** e **C** respectivamente, enquanto que a fração resultante da partição em meio ácido (pH 1) não se mostrou interessante.

O restante do extrato ácido foi extraído em pH neutro e alcalino até teste negativo para alcalóides. As frações obtidas foram submetidas à análise cromatográfica em camada delgada, que foi realizada usando-se tanto gel de sílica de fase reversa como de fase normal, sendo esta última a mais adequada como suporte. Dentre os eluentes testados (tabela 1), o sistema clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio (95:05:0.05) foi considerado o mais adequado para a separação dos componentes, principalmente das frações **A** e **B**, que como mostra a figura 1, são semelhantes.

A fração de pH 7 mostrou-se interessante para um fracionamento em coluna, sobretudo por apresentar maior massa, desta forma, partiu-se então da amostra de 250 mg, que foi eluída com o sistema 3 (tabela 1). Deste fracionamento, obteve-se um total de 50 frações, que após análise por CCD, foram reunidas em 5 grupos numerados de acordo com a figura 2, onde o grupo 2, mostra um componente aparentemente isolado, que foi denominado I, tendo massa suficiente para ser submetido à análise por CLAE e RMN (30 mg).

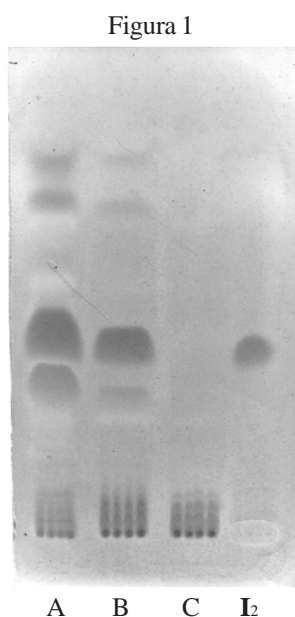


Figura 1. CCD das frações de pH 7 (A), 8 (B) e 11 (C) e da substância **I**, eluídas no sistema 3.

Figura 2

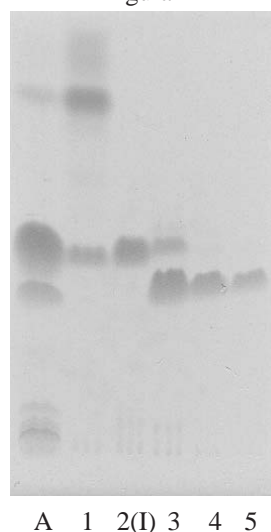


Figura 2. CCD da fração pH 7, fração pH 7 (A); frações (1) 1-10; (2) 11-19 (I); (3) 20-41; (4) 42-45; (5) 46-50 eluídas no sistema 3.

Referências

- 1 Tunmann, P.; Rachor, J. Naturwiss 47, 471, 1960: in Kulkarni, J.D.; Ramstad, E.; Rowson, J.M.; Trease, G.E. The pharmacognosy of the *Aspidosperma* barks of Brasil. Planta Médica, v. 23, n. 1, p. 23-34, 1973.
- 2 Schmutz, J.; Hunziker, F.: Helv. Chim. Acta 41, 288, 1958: in Kulkarni, J.D.; Ramstad, E.; Rowson, J.M. Trease, G.E. The pharmacognosy of the *Aspidosperma* barks of Brasil. Planta Médica, v. 23, n. 1, p. 23-34, 1973.
- 3 Kutney, J.P.; Abdurahman, N.; Gletsos, C.; Le Quesne, P.; Pieres, E.; Vlattas, I. Total synthesis of indole and dihydroindole alkaloids. V^{1,2}, The total synthesis of *dl*-quebrachamine and *dl*-aspidospermidine. A general entry into the *Aspidosperma* alkaloids. Journal of the American Chemical Society, p. 1727-1735, 1969.
- 4 Deutsch, H.F.; Evenson, M.A.; Drescher P.; Sparwasser C.; Madsen P.O. Isolation and biological activity of aspidospermine and quebrachamine from an *Aspidosperma* tree source. J. Pharma Biomed Anal, v. 12, n. 10, p. 1283-1287, 1994.
- 5 Duarte, A.P; Miranda, E.C. Um novo alcalóide quaternário de *Aspidosperma gilbertii*. Academia Brasileira de Ciências; v. 55, n. 2, p. 189-193, 1983.
- 6 Umezawa, K.; Ohse, T.; Yamamoto, T.; Koyano, T.; Takahashi, Y., Isolation of a new vinca alkaloid from the leaves of *Evatamina microphylla* as an inhibitor of functions. Anticancer Res, v. 14, n. 6B, p. 2413-2417, 1994.
- 7 Sakamoto-Hojo, E.T.; Takahashi, C.S.; Ferrari, I.; Motidome, M. Clastrogenic effect of the plant alkaloid allipticine on bone marrow cells of Wistar rats and on human peripheral blood lymphocytes. Mutat Res., v. 199, v. 1, p. 11-19, 1988.
- 8 Verpoorte R; Ruigrok, C.L.M; Bearheim, S.A. Antimicrobial active alkaloids from *Aspidosperma marcgravianum*. Planta Médica, v. 46, n. 3, p. 149-152, 1982.

*Autor para correspondência:

Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa
Campus Universitário do Guamá
CEP 66075-000 - Belém (PA)
Tel.: (91) 211-1204
E-mail: barbosa@ufpa.br