

## Micromoléculas de raízes de *Zanthoxylum stelligerum* (Turcz)

Silva, C. V.<sup>1</sup>, Oliveira, É. L.<sup>1</sup>, Guedes, M. L. S.<sup>2</sup>, Velozo, E. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa em Matéria Médica (LAPEMM) Faculdade de Farmácia – UFBA. Rua Barão de Jeremoabo, s/n – Campus Universitário de Ondina, 40.170-290, Salvador (BA). e-mail: euvelozo@ufba.br;

<sup>2</sup>Instituto de Biologia - UFBA.

**RESUMO:** O estudo fitoquímico das raízes de *Zanthoxylum stelligerum* (Turcz), conhecida popularmente como laranjinha brava, espécie pertencente à família *Rutaceae*, objetivou o isolamento, a purificação e a determinação estrutural das substâncias presentes nos seus extratos metanólicos e hexânicos. Através de técnicas fitoquímicas convencionais, foram identificados dois tipos de alcalóides, sendo três furoquinolínicos: esquimianina, dictamina e robustina e dois benzofenantridínicos: N-metildiidroquelitrina e o produto de oxidação da amina secundária, além de lupeol,  $\beta$ -sitosterol e de dois fenilpropanóides: sesamina e imperatorina. Estas substâncias tiveram suas estruturas identificadas com base na análises dos seus espectros de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IV, de massa e comparação com dados da literatura. Este é o primeiro relato da composição química desta espécie.

**Palavras-chave:** plantas medicinais, alcalóides, óleos voláteis

**ABSTRACT:** Micro-molecules of *Zanthoxylum stelligerum* (Turcz) Roots. This phyto-chemical study of roots of *Zanthoxylum stelligerum* (Turcz), *Rutaceae*, permitted the isolation, purification, structural determination of eight substances in the metanolic and hexanic extracts. Using conventional phyto-chemical methods, two types of alkaloids were identified; three furoquinolins (?): skimianin, dictamin, and robustin; and two benzophenantridins: N-methyl-hydrochelitrine, and the product of oxidization of secondary amine, beyond lupeol, -sitosterol; and two phenipropanoids: sesamin and imperatorin. These structures were identified by analyses of spectral data of <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR, IR, and GC-MS, and comparison with literature reports. This is the first report of the chemical composition of this species.

**Key words:** medicinal plants, alkaloids, volatile oils.

### INTRODUÇÃO

A diversidade vegetal do nordeste brasileiro vem sendo utilizada pelas comunidades locais, antes e depois da colonização para os mais diferentes fins, especialmente o medicinal. As *Fagaras*, antiga denominação do gênero *Zanthoxylum*, são mencionadas por Hoehne (1978) como detentoras de alcalóides com efeito similar ao da pilocarpina, além dos óleos essenciais característicos da família. Atualmente, metabólitos como fenilpropanóides, flavonóides, alcalóides, alquilamidas e óleos essenciais compostos por mono e sesquiterpenos são relatados nas mais de 200 espécies descritas neste gênero. Estas substâncias estão associadas a propriedades farmacológicas como: antibacteriana (Hoehne, 1978), antitumoral (Albuquerque, 1976), antifúngica (Talapatra *et al.*, 1973), antiinflamatória (Moura *et al.*, 1997), anti-helmíntica (Swinehart & Stermitz, 1980), analgésica (Facundo *et al.*, 1997) e anti-agregação plaquetária (Chen *et al.*, 1994).

Em nosso laboratório, temos estudado a composição química de algumas espécies de *Rutaceae* que ocorrem no estado da Bahia, como *Ertela bahiensis* e *Spiranthera odoratissima* de onde foram isolados alcalóides e cumarinas, entre outros metabólitos. A indicação para o estudo

destas plantas foi etnobotânica, em ambos casos. O arbusto *E. bahiensis* é utilizado nos rituais do Candomblé, já a raiz de *S. odoratissima* é aplicada pelos moradores da região de Mucugê (BA) no tratamento de distúrbios digestivos (Freitas *et al.*, 2001).

Este trabalho descreve o estudo fitoquímico de um espécime de arbusto conhecido popularmente como laranjinha brava. A partir das raízes de *Z. stelligerum* foram isoladas 8 substâncias (Figura 2). A literatura pesquisada indica que este é o primeiro relato da composição química desta espécie.

### MATERIAL E MÉTODO

As raízes de *Zanthoxylum stelligerum* Turcz (*Rutaceae*) foram coletadas no município de Mucugê (BA), em fevereiro de 1999. O material foi identificado e uma excisada, número 40919, está depositada no Herbário Alexandre Leal Costa do Instituto de Biologia da UFBA. Este material foi seco à temperatura ambiente, moído e extraído por maceração com hexano e metanol. O extrato hexânico das raízes forneceu um sólido e um óleo. Uma alíquota do óleo foi submetida a cromatografia em coluna, tendo como fase estacionária sílica gel e fase móvel misturas de diclorometano/acetato de etila em gradiente de

Recebido para publicação em 29/11/01 e aceito para publicação em 28.08.02.

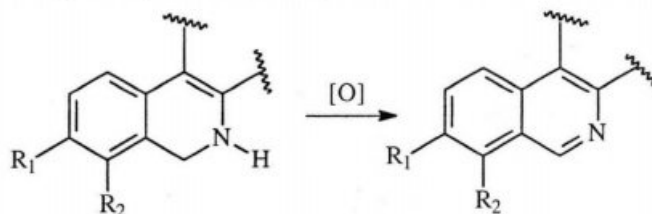
polaridade. Uma alíquota da primeira fração desta coluna foi submetida a cromatografia em coluna tendo como eluente misturas de hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade. Este procedimento levou ao isolamento de 660 mg da substância **1**, 208,6 mg de **2**, 27,2 mg de **3** e 514,6 mg de **7**. O extrato metanólico da raiz foi submetido a cromatografia em coluna com sílica gel, sendo o eluente misturas de  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  em gradiente de polaridade. O posterior fracionamento cromatográfico das frações **1**, **5** e **7** desta coluna, tendo como eluente misturas de hexano/acetato de etila, clorofórmio/metanol e clorofórmio/metanol/trietilamina, respectivamente, resultaram na obtenção das substâncias **4** (42,1 mg), **6** (3,7mg) e **5** em mistura com **7**. Além de 1,2 mg **8** e 25,0 mg **1**. Os instrumentos utilizados para a determinação estrutural foram um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) marca Varian modelo Gemini 300, operando a 300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ , cromatógrafo a gás marca Shimadzu modelo GC-17A, equipado com coluna DB-5 com 25 m x 0,25 mm d.i. e espectrômetro de massa marca Shimadzu, modelo GC-MS-QP 5000, CI-controller, 70 eV.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A substância **1**, foi o primeiro e mais abundante alcalóide isolado das raízes de *Z. stelligerum*. Seu espectro no infravermelho revela a presença de ligações C-C e C-H aromática ( $1464$ ,  $1494$ ,  $1600$  e  $3004\text{ cm}^{-1}$ ), C-O-C ( $1040\text{ cm}^{-1}$ ) e C-N ( $1334\text{ cm}^{-1}$ ). Na espectroscopia de massa de baixa resolução observa-se o pico relativo a  $\text{M}^+$  em  $m/z$  349 (100%), compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$ . No RMN  $^1\text{H}$  observa-se na região aromática, a presença de 6 sinais: dois singletos que integram para um hidrogênio cada e 4 dubletos, que integram para 4 hidrogênios. As constantes de acoplamento ( $J=8,7\text{ Hz}$ ) destes sinais indicam que estes átomos mantêm uma posição relativa orto entre si. A análise revela ainda a presença de um grupamento metilenodioxí, singleto (2H) em  $\delta$  6,05 além de metoxilas em  $\delta$  3,89 (s, 3H) e  $\delta$  3,93 (s, 3H). A soma das integrais dos sinais mostra que esta substância possui realmente 19 átomos de hidrogênio. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  indica a presença de 21 átomos de carbono na estrutura,

sendo 6 C-H aromáticos. Estes dados estão de acordo com a estrutura da N-metildiidro-queleritrina, para a substância **1** (Facundo *et. al.*, 1997).

Ao submeter-se o extrato hexânico da raiz a cromatografia em coluna, observa-se o aparecimento de uma coloração amarelada poucos minutos após a coleta das primeiras frações. Esta transformação pode estar associada à existência de um segundo alcalóide benzofenantridínico, uma amina secundária benzílica facilmente oxidável ao ar, um artefato completamente aromatizado conforme ilustra a Figura 1 (Gilchrist, 1992).



**Figura 1** – Oxidação da benzofenantridina N-H

O extrato metanólico forneceu três alcalóides furoquinolínicos. Seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  possuem em comum os dubletos típicos dos hidrogênios do anel furano. O padrão de substituição por metoxilas no anel aromático diferencia a dictamina (**4**) da esquimianina (**6**). A hidroxila fenólica da robustina (**5**), obtida em mistura com lupeol, pôde ser detectada pelo singleto largo em  $\delta$  9,75. De acordo com Waterman & Grundon (1983), alcalóides furoquinolínicos derivados do ácido antranílico, são os mais comuns em Rutaceae, sendo a dictamina a estrutura mais simples e esquimianina a de maior ocorrência.

Foram isoladas 208,6 mg da substância (**2**). A comparação de seus dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , I.V. com a literatura levou à estrutura da furanocumarina imperatorina para esta substância (Swinehart & Stermitz, 1980). A lignana sesamina (**3**) foi identificada através da comparação dos seus dados de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  com a literatura. (Ludwig *et. al.*, 1964)

O triterpeno lupeol (**7**) foi um dos metabólitos mais abundantes encontrado na raiz. Também foi obtido  $\beta$ -sitosterol (**8**) do mesmo extrato, porém em quantidade bem menor. Suas identificações foram efetuadas através da comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  com a literatura (Ferracin, 1992).

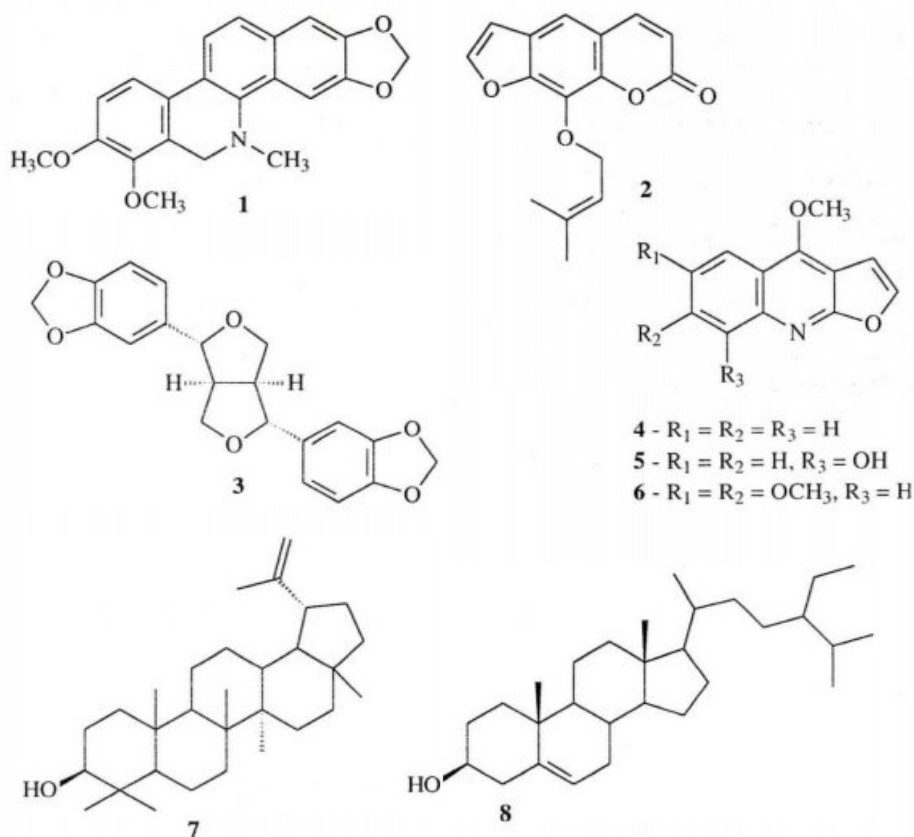


FIGURA 2: Substâncias isoladas de *Z. stelligerum*

## CONCLUSÃO

O isolamento de 5 alcalóides, uma lignana, uma furanocumarina, um triterpenóide e um esteróide ressalta a variedade de substâncias presentes nas espécies de *Zanthoxylum* e seus potenciais como fornecedores de matéria-prima para a obtenção de moléculas com atividade biológica.

Das substâncias isoladas, destacam-se as atividades da dictamina, conhecida por produzir contrações da musculatura lisa uterina e da diidroqueleritrina, alcalóide majoritário nas raízes e com possível ação antimicrobiana, já que apresenta grandes semelhanças estruturais com a sanguinarina, benzofenantridina utilizada em dentifrícios e enxaguatórios bucais por sua ação inibitória da formação da placa bacteriana.

## AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao PIBIC/CADCT – CNPQ pelas bolsas concedidas, ao Prof. Dr. Paulo César Vieira e ao doutorando Waldir Tavaras do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos pelo suporte no desenvolvimento de parte do trabalho experimental e auxílio na identificação de algumas substâncias.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALBUQUERQUE, B.,W.P. Revisão Taxonômica de Rutaceae do estado do Amazonas. *Acta Amazônica*, v. 6, n.3, supl.1-67, 1976.
- CHEN, I., WU, S., LIN, Y., *et al.* Dimeric 2-quinolone alkaloid and antiplatelet aggregation constituents of *Zanthoxylum simulans*. *Phytochemistry*, v.36, v.1, p. 237-9, 1994.
- FACUNDO, V. A., MORAIS, S. M., BRAZ, R. F., *et al.* Estudo químico de plantas potencialmente bioativas do nordeste brasileiro: *Zanthoxylum syncarpum* Tull. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.78, n.3, p. 57-9, 1997.
- FERRACIN, R.J. *Estudo fitoquímico de Horti arborea: uma contribuição quimiosistemática de Cusparineae*. 1992. 141p. Dissertação (mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- FREITAS, C.M.J., GUEDES, M.L.S., CERQUEIRA, M.D., *et al.* Extração com solventes e fluido supercrítico dos constituintes da folha e do caule subterrâneo de *Spiranthera odoratissima* A.ST. – HIL. (Rutaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 24, *Livro de Resumos da 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, res. PN 044. 2001.
- GILCHRIST, T.L. *Heterocyclic Chemistry*. Essex: Longman Scientific & Technical, 1992. 396p.
- HOEHNE, F.C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo: Departamento de Botânica do Estado de São Paulo, 1978.

- LUDWIG, C. H., NIST, B.J., McCARTHY, J.I. The high resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy of protons in compounds related to lignin. **Journal American Chemical Society**, v. 86, p.1186-1196, 1964.
- MOURA, N. F., RIBEIRO, H. B., MACHADO, E. C. S., *et al.*. Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Phytochemistry**, v.46, n.8, p.1443-6, 1997.
- SWINEHART, J.A ., STERMITZ, F.R. Bishordeninyl terpene alkaloids and other constituents of *Zanthoxylum culantrillo* and *Zanthoxylum coriaceum*. **Phytochemistry**, v.19, n.6, p.1219-23, 1980.
- TALAPATRA, S. K., DUTTA, S., TALAPATRA, B. Alkaloids and terpenoids of *Zanthoxylum ovalium* . **Phytochemistry**, v.12, n. 729-30, 1973.
- WATERMAN, P.G., GRUNDON, M.F. **Chemistry and chemical taxonomy of Rutales**. London: Academic Press, 1983. 464p.