

ALCALÓIDES DE FLORES E FOLHAS DE *Erythrina speciosa* ANDREWS

Terezinha de Jesus Faria*, Mariana Carrara Cafêu, Gisele Akiyoshi, Dalva Trevisan Ferreira, Olívio Fernandes Galão e César Cornélio Andrei

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, 86051-990 Londrina – PR, Brasil

Phileno Píngue Filho e Manoel Ronaldo Carvalho Paiva

Departamento de Ciências Patológicas e Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, 86051-990 Londrina – PR, Brasil

Aneli de Melo Barbosa

Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, CP 6001, 86051-990 Londrina – PR, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Setor de Química de Produtos Naturais, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-602 Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil

Recebido em 14/12/05; aceito em 4/8/06; publicado na web em 10/1/07

ALKALOIDS FROM FLOWERS AND LEAVES OF *Erythrina speciosa* ANDREWS. *In vitro* bioassays with leave extracts of *Erythrina speciosa* showed promising activity against *Trypanosoma cruzi*. From the flowers of *E. speciosa* two alkaloids were isolated: erysotrine and erythartine. The leaves furnished one alkaloid, nororientaline. The structures were determined on the basis of spectroscopic evidence. This is the first report about the investigation of alkaloids in flowers and leaves of this species, as well the first report of nororientaline occurrence in this plant.

Keywords: *Erythrina speciosa*; alkaloids; trypanocidal activity.

INTRODUÇÃO

Os extratos de folhas, cascas e de raízes de várias espécies do gênero *Erythrina* são usados na medicina popular no tratamento de diversas doenças, tais como disenteria, asma, dor estomacal, infertilidade feminina e, principalmente, infecções microbianas. O gênero é conhecido pela bioprodução significativa de alcalóides, sendo que estudos mais recentes revelaram também a presença de flavanonas, isoflavonas e pteropcarpanos¹. O estudo de espécies de *Erythrina* foi estimulado após a verificação, entre os anos de 1930 e 1940, que extratos de sementes de várias espécies continham alcalóides com atividade fisiológica semelhante à ação do curare². Desde então, são vários os exemplos de alcalóides isolados de diferentes espécies do gênero²⁻⁶. Em relação ao aspecto químico, estes alcalóides destacam-se pela estrutura contendo um sistema *spiro* único⁷ e por serem bases terciárias, enquanto que outros alcalóides, com ação farmacológica semelhante, são sais quaternários².

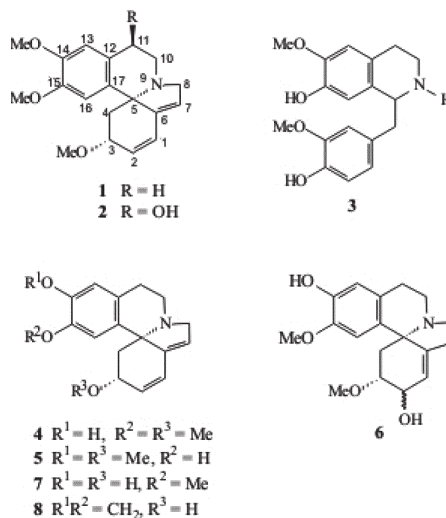
A espécie *Erythrina speciosa* Andrews (Fabaceae) ocorre na floresta pluvial atlântica, desde o Espírito Santo e Minas Gerais até Santa Catarina. A árvore, conhecida popularmente como mulungu-do-litoral e eritrina-candelabro, é bastante ornamental quando florida, podendo ser usada no paisagismo em geral⁸. Recentemente, testes realizados *in vitro* com extrato etanólico das folhas de *E. speciosa* evidenciaram efeitos significativos contra as formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* (cepa Y)⁹, o que serviu como estímulo adicional para iniciar atividades de investigação química da espécie.

O presente trabalho descreve o isolamento e a caracterização estrutural dos alcalóides erisotrina (1) e eritrartina (2) obtidos do extrato etanólico das flores e da nororientalina (3), do extrato etanólico

das folhas de *E. speciosa*. A literatura registra o isolamento de alcalóides de sementes e cascas de *E. speciosa*^{2,10,11}, porém este é o primeiro registro de estudo de flores e folhas desta espécie.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das flores de *E. speciosa* forneceu um grupo de frações eluídas com uma mistura de diclorometano/etanol 10%, que revelou teste positivo com reagente de Dragendorff, sugerindo a presença de substância nitrogenada. A purificação deste material resultou no isolamento e posterior identificação dos alcalóides erisotrina (1) e eritrartina (2).



*e-mail: tjfaria@uel.br

Os espectros de massas dos constituintes **1** e **2** apresentaram picos correspondentes aos íons moleculares em m/z 313 e 329, respectivamente, sugerindo a presença adicional de um átomo de oxigênio em **2**: $C_{19}H_{23}NO_5$ (**1**, m/z 313) e $C_{19}H_{23}NO_6$ (**2**, m/z 329). Os espectros apresentaram também picos característicos do padrão de fragmentação dos alcalóides eritrínicos dienóides¹². Este tipo estrutural foi confirmado pelos espectros de RMN 1H através dos sinais característicos dos átomos de hidrogênio H-1 [**1**: δ_H 6,05 (dl, $J=10,0$ Hz); **2**: δ_H 6,02 (dl, $J=10,0$ Hz)], H-2 [**1**: δ_H 6,58 (dd, $J=1,8$ e $10,0$ Hz); **2**: δ_H 6,59 (dd, $J=10,0$ e $1,8$ Hz)] e H-7 [**1**: δ_H 5,73 (sl); **2**: δ_H 5,72 (dl, $J=10,0$ Hz)], representantes do sistema diênico inserido entre os átomos de carbono 2 e 7. No espectro de **2**, o tripleto em δ_H 4,85 (H-11), ausente no espectro de **1** e que se correlaciona com o sinal em δ_C 66,70 (CH-11) no espectro 2D HMQC de **2**, foi utilizado para localizar um grupo hidroxílico no átomo de carbono C-11 de **2**. Os deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio revelados pelos espectros de RMN 1H de **1** e **2** mostraram-se de acordo com os dados registrados na literatura para a erisotrina (**1**)^{13,14} e eritartina (**2**)^{14,15}.

A análise comparativa dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio de **1** (Tabela 1) com os dados registrados na literatura para a erisotrina (**1** em CD_3OD e $CDCl_3$) mostrou a inexistência de atribuições relatadas para H-8, H-10 e H-11^{13,14}. As atribuições dos hidrogênios H-4 e H-11 foram feitas com base na comparação com os dados registrados na literatura para os alcalóides (+)-16 β -D-glicoisopina e (+)-15 β -D-glicoisopina, os quais apresentam agliconas de estruturas idênticas à da erisotrina (**1**)¹⁶.

Os dados de RMN ^{13}C revelaram-se também concordantes com os valores registrados na literatura para a erisotrina (**1**) e eritartina (**2**), com exceção dos δ_C dos sinais atribuídos aos carbonos C-1 e C-2. Sarragiotto¹⁴ atribuiu, respectivamente, a estes carbonos os deslocamentos químicos: δ_C 124,9 e 132,0 para a erisotrina (**1**) e δ_C 125,3 e 131,2 para a eritartina (**2**). O espectro 2D obtido através de experimento de correlação heteronuclear via uma ligação HMQC

Tabela 1. Dados de RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) de **1** (erisotrina) comparados com valores descritos na literatura (em CD_3OD ¹¹ e $CDCl_3$ ¹²). Deslocamentos químicos em δ_H (ppm) e constantes de acoplamento em Hz (parênteses)*

H	1	1 ¹³	1 ¹⁴
1	6,05 (dl; 10,0)	6,00 (dl; 10,0)	6,04 (dl; 10,0)
2	6,58 (dd; 1,8 e 10,0)	6,55 (dd; 2,0 e 10,0)	6,56 (dd; 3,0)
3	4,08 (m)	4,15 (m)	
4	1,89 (t; 11,5), H_{eq} 2,54 (dd; 5,6 e 11,5), H_{ax}	1,80 (t; 12,5), H_{ax} 2,50 (dd; 5,0 e 12,5), H_{eq}	1,89 (t; 10,5), H_{ax} 2,52 (dd; 5,0 e 10,5), H_{eq}
7	5,73 (sl)	5,80 (sl)	5,76 (sl)
8	3,56 (d, 14,8)		
10	3,90-3,70 (m)		
11	3,51 (m)		
	3,01 (m)		
14	2,65 (dl; 15,4), H_{eq} 2,95 (m), H_{ax}		
17	6,82 (s)	6,70 (s)	6,86 (s)
MeO-3	6,63 (s)	6,90 (s)	6,66 (s)
MeO-15	3,31 (s)	3,35 (s)	3,34 (s)
MeO-16	3,75 (s)	3,75 (s)	3,76 (s)
	3,86 (s)	3,85 (s)	3,86 (s)

*Espectros 2D homonuclear 1H - 1H -COSY e heteronuclear HMQC (1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{CH}$) foram também usados durante a análise destes dados.

foi utilizado para atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de C-1 [δ_C 131,7 (**1**) e 131,8 (**2**)] e C-2 [δ_C 125,4 (**1**) e 125,4 (**2**)], indicando que as atribuições descritas na literatura requerem correções. Anteriormente, Chawla e colaboradores¹⁵ já haviam verificado os equívocos nas atribuições destes carbonos durante a determinação estrutural da eritartina (**2**).

O extrato etanólico das folhas de *E. speciosa* forneceu o alcalóide tetra-hidrobenzilisoquinólico nororientalina (**3**), cuja estrutura foi caracterizada através da análise de dados fornecidos por CG-EM e pelos espectros de RMN 1H e ^{13}C 1D e 2D (HMQC), envolvendo comparação com dados descritos na literatura^{7,17}. Este é primeiro registro de ocorrência de nororientalina (**3**) nesta espécie.

Investigações anteriores com cascas e sementes de espécimes da espécie *E. speciosa* revelaram a presença de erisotrina (**1**), eritartina (**2**), erisodina (**4**), erisovina (**5**), erisonina (**7**) e eritrocarina (**8**) nas sementes^{2,10,11}, enquanto que das cascas foi isolada mistura de erisodina (**4**) e erisotina (**6**)¹¹. Este artigo registra a primeira investigação química das flores e folhas de *E. speciosa*.

A identificação dos alcalóides **1**, **2** e **3** bi produzidos por esta espécie tornou-se também importante pelo conhecimento estrutural dos constituintes químicos, que podem inclusive ser avaliados em futuros ensaios biológicos para investigação de atividade tripanosomicida.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros 1D e 2D de RMN foram obtidos em um aparelho Jeol Eclipse (1H : 400 MHz); ^{13}C : 100 MHz), utilizando-se $CDCl_3$ como solvente e TMS como referência interna. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico (70 eV) em CG-EM Shimadzu, modelo GC- 17A, com detector seletivo de massas, modelo QP 5000 (Shimadzu). A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) de sílica fundida com fase estacionária DB-1 (polimetilsiloxano), utilizando-se hélio como gás de arraste. As temperaturas foram de 300 °C no injetor e 250 °C no detector. A temperatura do forno foi programada de 60 a 250 °C, com acréscimo de 10 °C a cada min e de 250 a 320 °C com acréscimo de 20 °C a cada min. Para cromatografia em coluna utilizou-se gel de sílica (Merck, 60-230 mesh). As placas cromatográficas foram reveladas com luz UV, solução alcoólica de vanilina/ácido sulfúrico e reagente de Dragendorff.

Material vegetal

As flores e folhas de *Erythrina speciosa* foram coletadas no campus da Universidade Estadual de Londrina, no Estado do Paraná. Uma exsicata da espécie encontra-se depositada no Herbário da U.E.L., PR, Brasil, sob nº FUEL35133.

Extração e isolamento dos alcalóides

As flores recém coletadas de *E. speciosa* (840 g) foram extraídas, sucessivamente, com hexano e etanol à temperatura ambiente. As soluções obtidas foram concentradas por destilação do solvente em evaporador rotativo, fornecendo 2,0 g de extrato hexânico e 41,0 g de extrato etanólico. O extrato etanólico foi fracionado em coluna cromatográfica de gel de sílica eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em misturas de polaridades crescentes. O material das frações eluídas com a mistura acetato de etila-metanol (1:4) forneceu teste positivo com reagente de Dragendorff. O material foi, então, tratado com solução de ácido

acético 10%, e, em seguida, extraído com diclorometano. À fase aquosa, adicionou-se solução de hidróxido de amônio concentrada até a obtenção de pH 10 e, em seguida, foi feita a extração com diclorometano. Após a destilação do solvente CH_2Cl_2 em evaporador rotativo, o resíduo marrom da fase orgânica foi purificado através de cromatografia em camada delgada de gel de sílica, usando-se uma mistura de diclorometano-etanol (9:1) como eluente, obtendo-se os alcalóides erisotrina (**1**, 42 mg) e eritartina (**2**, 18 mg) como materiais pastosos marrons.

As folhas de *E. speciosa* foram desidratadas em estufa a 40 °C. O material seco (180 g) foi triturado e extraído com etanol à temperatura ambiente, fornecendo 17 g de extrato etanólico após remoção do solvente em evaporador rotativo. O extrato etanólico foi tratado com ácido acético 10% e, em seguida, extraído com diclorometano. À fase aquosa, foi adicionada solução de hidróxido de amônio concentrada até obtenção de pH 10. A mistura resultante foi extraída com diclorometano e a fase orgânica concentrada em evaporador rotativo. O resíduo resultante da fase orgânica foi purificado em placas preparativas de gel de sílica, eluídas com mistura de diclorometano-etanol (8:2). O processo resultou na obtenção do alcalóide nororientalina (**3**, 94 mg) como material pastoso marrom.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, Fundação Araucária, FAPERJ pelas bolsas e apoios financeiros concedidos.

REFERÊNCIAS

1. Nkengfack, A. E.; Kouam, J.; Vouffo, T. W.; Meyer, M.; Tempesta, M. S.; Fomum, Z. T.; *Phytochemistry* **1994**, *35*, 521.
2. Soto-Hernandez, M.; Jackson, A. H.; *Planta Med.* **1994**, *60*, 175.
3. Barakat, I.; Jackson, A. H.; Abdula, M. I.; *Lloydia* **1977**, *40*, 471.
4. Chawla, A. S.; Redha, F. M. J.; Jackson, A. H.; *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1821.
5. García-Mateos, R.; Soto-Hernandez, M.; Kelly, D.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1998**, *26*, 545.
6. Juma, B. F.; Majinda, R. R. T.; *Phytochemistry* **2004**, *65*, 1397.
7. Maier, U. H.; Rödl, W.; Deus-Neumann, B.; Zenk, M. H.; *Phytochemistry* **1999**, *52*, 373.
8. Lorenzi, H.; *Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, 2ª ed., Ed. Plantarum: Nova Odessa, 1998, vol. 2, p. 206.
9. Pinge-Filho, P.; Graça, V. K.; Menolli, R. A.; Marguti, I.; Malvezi, A. D.; Ogatta, S. F.; Furlaneto, L.; De Souza, F.; Faria, T. J.; *Resumo do II São Paulo Research Conference*, São Paulo, Brasil, 2004.
10. Hargreaves, R. T.; Johnson, R. D.; Millington, D. S.; Mondal, M. H.; Beavers, W.; Becker, L.; Young, C.; Rinehart, Jr. K.L.; *Lloydia* **1974**, *37*, 569.
11. Galão, O. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Maringá, Brasil, 1991.
12. Boar, R. B.; Widdowson, D. A.; *J. Chem. Soc. (B)* **1970**, *8*, 1591.
13. El-Olemy, M. M.; Ali, A. A.; El-Mottaleb, M. A.; *Lloydia* **1978**, *41*, 342.
14. Sarragiotto, M. H.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1981.
15. Chawla, A. S.; Sood, A.; Kumar, M.; Jackson, A. H.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 372.
16. Wanjala, C. C. W.; Majinda, R. R. T.; *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 871.
17. Ito, K.; Haruna, M.; Jinno, Y.; Furukawa, H.; *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 52.