

TRABALHOS ORIGINAIS

PRESENÇA DE COMPOSTOS ANTRACÊNICOS EM FOLHAS DE *Cassia fastuosa* WILLD*

Presence of anthracenic compounds in leaves
of *Cassia fastuosa* Willd

RENI KRAMBECK**; EDUARDO A. MOREIRA**; RUBEM LEONART** e OBDOLIO Q. MIGUEL***

Foram submetidas a técnicas de extração para compostos antracênicos de Cassia fastuosa Willd. Constatada a presença de aloemodina, reína, emodina, enósido A e de enósido B, foram procedidos de doses mentos da reína e do enósido B. Além disso, foi realizado ensaio biológico preliminar, com o extrato aquoso a 10%, para a verificação da atividade laxante.

UNITERMOS: *Compostos antracênicos, enósido B, Cassia fastuosa, ensaio biológico.*

INTRODUÇÃO

Os compostos antracênicos representam um grupo de produtos naturais numeroso e importante. Os derivados do antraceno, tais como os do grupo da sene, da cáscara sagrada e do ruibarbo, têm sido indicados no tratamento da constipação. A sene já era utilizada pelos árabes no século IX, e sua importância é atribuída ao uso medicinal como laxante(7,8,17,20,26).

Entretanto, o consumo deles, em particular o das antraquinonas, não se restringe ao uso medicinal, mas engloba também o emprego em indústrias de corantes, tinturarias, curtumes e, ainda, como precursores de outros compostos químicos(1,3,4).

* Prêmio S.F.Q.S.P. de 1984 - terceiro lugar.

** Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná - PR - Brasil.

*** Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná - PR - Brasil - Bolsista do CNPq.

Segundo dados da Cacex(5), o Brasil importou, em 1982, o equivalente a US\$ 1.000.000 em derivados antracênicos.

Esses compostos podem ocorrer em vegetais superiores ou em inferiores. Os de interesse farmacêutico (antraquinonas, antrones e diantrones) são encontrados principalmente nas famílias *Leguminosae*, *Verbenaceae*, *Rhamnaceae*, *Polygonaceae*, *Liliaceae*, *Rubiaceae*, *Bignoniaceae* e *Scrophulariaceae* (9,10,12,22,23,24,25).

As antraquinonas são compostas de fórmula molecular $C_{14}H_8O_2$, obtidas por oxidação dos antracenos, e possuem vários isômeros. O isômero 9,10-antracenediona é o mais importante deles e, comumente, designado por antraquinona.

As antrones heterosídicas, ou senósides, são facilmente hidrolisadas, liberando as diantrones, de fórmula molecular $C_{14}H_{10}O_2$.

Devido ao interesse econômico e farmacológico desses compostos, procuramos pesquisá-los em *Cassia fastuosa* Willd., espécie bem representada na flora do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material botânico — *Cassia fastuosa* Willd. pode ocorrer em florestas, entre capoeiras, em locais sombreados ou em pastos(6).

No Paraná, conforme levantamentos realizados nos Herbários do Museu Botânico da Prefeitura Municipal de Curitiba, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná e do Instituto Agrônomo do Paraná, essa espécie foi coletada nos municípios de São João do Triunfo, Imbituva, Prudentópolis, Rio Branco do Sul e Curitiba.

O material botânico utilizado neste trabalho foi coletado no jardim do prédio onde funciona o Curso de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Depois de terem sido secos à temperatura de 30/40°C, todos os órgãos foram reduzidos a pó fino (tamis 80, Farm. Bras.) e acondicionados em recipientes adequados.

Extração das hidroxiantraquinonas — Após terem sido realizados os extratos aquosos e alcoólicos, seguindo-se o método proposto por MOREIRA(19) para a pesquisa preliminar de princípios ativos, foram procedidas as extrações das hidroxiantraquinonas: as livres, pelo método proposto por ANTON(2), as combinadas, pelo estabelecido por FRIEDRICH & BAIER(11).

Sistemas cromatográficos em camada delgada (CCD) para a separação das hidroxiantraquinonas e dos açúcares.

Para as hidroxiantraquinonas livres:

- Fase estacionária: silicagel G Merck, ativada.
- Fase móvel: n-hexano-acetato de etila-ácido fórmico(85:20:3).
- Visualizadores: luz ultravioleta, dietilamina.
- Substâncias de referência (padrões): aloemodina, refina, emodina, crisofanol, fision e extrato de *Senna alexandrina* P.MILL. (sin.: *Cassia acutifolia* Del.).

Para as hidroxiantraquinonas combinadas:

- Fase estacionária: silicagel 60F₂₀ Merck, ativada.
- Fase móvel: n-propanol-acetato de etila-água(4:4:3).
- Visualizador: dietilamina.
- Padrões: senósida A, senósida B e "Pursennid" (comprimido produzido pelo Laboratório Sandoz, Suíça, contendo o equivalente a 12 mg de sais cálcicos de glicósides da sene).

Para os açúcares foi empregado o sistema proposto por MOREIRA(18).

Doseamentos das hidroxiantraquinonas - Os doseamentos foram feitos com base na técnica de ANTON(2) e na de LEMLI & CUVEELE(14).

Ensaio biológico preliminar para derivados antraquinônicos purgativos - O método escolhido para esse ensaio foi o de LOU(16), modificado.

Foram utilizados 40 camundongos jovens-adultos, saudáveis e de mesma idade, divididos em 8 grupos de 5 indivíduos cada: 4 grupos (A,B,C e D) para as análises com os extratos aquosos a 10% de *Senna alexandrina*, e 4 grupos (E,F,G e H) para as de *Cassia fastuosa*.

RESULTADOS

Pesquisa de princípios ativos - Os resultados obtidos na investigação química preliminar estão relacionados na Tabela 1.

Identificação das agliconas de *Cassia fastuosa* e dos açúcares - Nas Figuras 1 e 2 estão os cromatogramas dos extratos e dos padrões correspondentes.

A análise do cromatograma da Figura 1 mostra que *Cassia fastuosa* apresenta 3 agliconas livres, chamadas, a priori, aglicona A (Rf 0,24), aglicona B (Rf 0,30) e aglicona C (Rf 0,38).

A separação dessas 3 agliconas foi feita através de CCD preparativa. Posteriormente, foram cristalizadas em etanol.

Aglicona A: pf. 275°C.

Aglicona B: pf. 320°C.

U.V. λ	EtOH	
Max	229 nm	
	259 nm	
	285 nm	
	435 nm	

i.V. ν	KBr	
Max	3300, 2900, 1400, 1050, 860 e 640 cm^{-1} .	

Aglicona C: pf. 254°C.

A análise do cromatograma da Figura 2 mostra que o extrato etanólico de *Cassia fastuosa* apresenta uma mancha à altura do Rf 0,02 (senósida A); e outra, à altura do Rf 0,08 (senósida B).

O extrato piridínico, correspondente à fração contendo açúcares, mostrou apenas uma mancha, à altura do Rf 0,50 (glucose).

Determinação quantitativa das agliconas e dos senósides - Pelo método de ANTON(2), foi obtido o rendimento médio de 2,8% de agliconas livres, calculado em refina.

Pelo método de LEMLI & CUVEELE(14), foi obtido o rendimento médio de 4,8% de agliconas totais, calculado em senósida B.

Ensaio biológico preliminar - Os camundongos submetidos ao ensaio biológico preliminar foram observados a intervalos de tempo conforme mostra a Tabela 2.

DISCUSSÃO

De acordo com as investigações químicas preliminares a que foram submetidos os vários órgãos de *Cassia fastuosa* (Tabela 1), foi encontrada maior concentração de heterosídeos antraquinônicos nas folhas, coincidindo com os resultados obtidos por alguns autores em outras espécies desse gênero(2,27,28).

Todas as modificações procedidas nos métodos de extração e hidrólise, bem como nos métodos de doseamento e ensaio biológico preliminar, foram tão somente no sentido de adaptá-los às nossas condições laboratoriais.

TABELA 1 - Investigação química preliminar em *Cassia fastuosa* Willd.

TABLE 1 - Preliminary chemical investigation in *Cassia fastuosa* Willd.

Composto pesquisado	raiz	caule	folhas
Ácidos fixos	+	+	+
Ácidos orgânicos	+	+	+
Ácidos voláteis	-	-	-
Alcalóides	-	-	-
Amino-grupos	+	+	+
Esteróides e/ou triterpenos	-	-	-
Fenóis o-m-livres	+	+	+
Fenóis p-livres	-	-	-
Gomas, mucilagens	+	+	+
Heterosídeos antocianícos	+	+	++
Heterosídeos antraquinônicos	+	+	+++
Heterosídeos cianogenéticos	-	-	-
Heterosídeos cumarínicos	-	-	-
Heterosídeos flavônicos	+	+	+
Heterosídeos cardíolivos	-	-	-
Heterosídeos saponínicos	-	-	-
Açúcares livres	+	+	+
Açúcares combinados	+	+	+
Taninos condensáveis	+	+	+
Taninos hidrolisáveis	+	+	+

- = resultado negativo

+ = traços

++ = resultado positivo

+++ = resultado fortemente positivo



FIGURA 1 - Cromatograma (CCD) dos compostos antracênicos de *Cassia fastuosa* e *Senna alexandrina*.

FIGURA 2 - Chromatogram (TLC) of *Cassia fastuosa* and *Senna alexandrina* anthracenic compounds.

- 1 - geninas livres
- 2 - aloemodina
- 3 - geninas totais após hidrólise
- 4 - refina
- 5 - geninas não refinadas após hidrólise
- 6 - emodina
- 7 - geninas refinadas após hidrólise
- 8 - crisofanol
- 9 - geninas oxidadas após a hidrólise
- 10 - fiscion
- 11 - C-agiliconas
- 12 - geninas livres (*Senna alexandrina*)
- 13 - geninas totais após a hidrólise (*Senna alexandrina*)

Fase estacionária: silicagel G Merck, ativada.
Fase móvel: n-hexano-acetato de etila-ácido fórmico (85:20:3).
Visualizador: dietilamina.

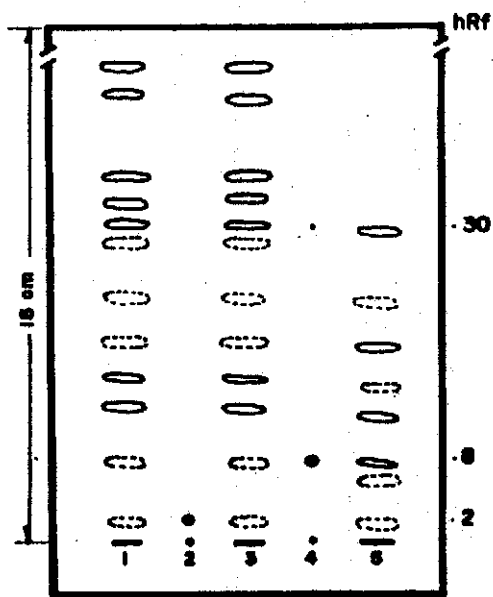


FIGURA 2 - Cromatograma (CCD) do extrato etanólico total de *Cassia fastuosa*.

FIGURE 2 - Chromatogram (TLC) of *Cassia fastuosa* total ethanolic extract.

- 1 e 3 - extrato total de *Cassia fastuosa*.
- 2 - senósido A
- 4 - senósido B
- 5 - extrato do comprimido "Pursennid" (Lab. Sandoz, contendo o equivalente a 12mg de sais cálcicos de glicósides da sene).

Fase estacionária: silicagel 60F₂₅, Merck.
 Fase móvel: n-propanol:acetato de etila:água (4:4:3).
 Visualizador: dietilamina.

TABELA 2 - Efeito purgativo dos extratos aquosos a 10% de *Cassia fastuosa* Willd. e de *Senna alexandrina* P.Mill. Dose administrada: 1ml a cada camundongo.

TABLE 2 - Purgative effect of 10% aqueous extracts *Cassia fastuosa* Willd. and *Senna alexandrina* P.Mill. Administered dose: 1ml per mouse.

Extrato	Grupo	Intervalo de tempo (horas)					
		1	2	3	4	5	24
<i>Senna alexandrina</i>	A	-	-	FP	FL	FL	N
	B	-	-	-	FP	FL	N
	C	-	-	-	FP	FL	N
	D	-	-	-	FP	FL	N
<i>Cassia fastuosa</i>	E	-	-	FP	FL	FL	N
	F	-	FP	FL	FL	FL	N
	G	-	-	FP	FL	FL	N
	H	-	-	FP	FL	FL	N

FP = fezes pastosas
 FL = fezes líquidas
 N = fezes normais

Na execução das CCD, as soluções etanólicas dos padrões foram depositadas sobre as placas cromatográficas em forma de ponto, e as dos extratos em forma de linha. Assim foi possível aplicar maior quantidade de extrato, manter a separação adequada das substâncias e, conseqüentemente, análises mais acuradas dos cromatogramas.

A análise dos dados espectrais da aglicona B são condizentes com a estrutura da refina.

Os valores de Rf e pontos de microfusão das agliconas A e C são condizentes, respectivamente, com a estrutura da aloemodina e da emodina.

Os valores de Rf das duas hidroxiantraquinonas combinadas de *Cassia fastuosa* são sugestivos de que sejam do senósido A e do senósido B.

O cromatograma do extrato piridínico mostrou a presença de somente uma mancha, à altura do Rf 0,50, coincidente com a do padrão glucose e com os dados da literatura (7,8,13,15,21).

A reprodutibilidade dos resultados obtidos pelos métodos espectrofotométricos utilizados foi considerada boa.

O rendimento dos compostos antracênicos de *Cassia fastuosa*, obtidos em termos de refina e senósido B, comparado ao de *Senna alexandrina*, foi considerado excelente.

No ensaio biológico preliminar, o extrato aquoso a 10% de *Cassia fastuosa* causou efeito purgativo em menor intervalo de tempo que o de *Senna alexandrina*, porém os animais apresentaram sintomas bem mais evidentes de cólicas. Não se verificou, contudo, sinais de intoxicação, na dose usada.

CONCLUSÕES

Considerando os resultados experimentais do presente trabalho, concluímos:

- As folhas de *Cassia fastuosa* Willd. apresentaram compostos hidroxiantracênicos livres e combinados: os livres, representados pela aloemodina, refina e emodina; os combinados, pelo senósido A e B.

- O rendimento médio dos compostos antracênicos livres foi de 2,87%, expresso em termos de refina, e o dos combinados foi de 4,87%, expresso em termos de senósido B.

- O extrato aquoso de 10% das folhas tem atividade purgativa.

SUMMARY

Leaves of *Cassia fastuosa* Willd., Leguminosae, were subjected to extraction methods of anthracenic compounds. Three aglycons were detected in the ethereous extract: aloemodin, emodin and rhein (3,48%). Senosides A and B were detected in the ethanolic extract. Preliminary biological assay in 10% aqueous extract confirmed the laxative activity and no toxic effect was observed in this concentration.

Key-words: Anthracenic compounds, senoside B, *Cassia fastuosa*, biological assay.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLINGER, L.H. et al. - Química orgânica. 2.ed., Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1978. 961p.
- 2 - ANTON, R. - Contribution à l'étude chimique qualitative de quelques espèces du genre *Cassia*. Université de Strasbourg. Facul. Pharm., 1968. p.852.
- 3 - ANTON, R. & DUQUENOÏS, P. - L'emploi des *Cassia* dans les pays tropicaux et subtropicaux, examiné d'après quelques uns des constituants chimiques des ces plantes médicinales. Plant. Med. Phytoth., 2(4): 255-68, 1968.
- 4 - AUTEERHOFF, H. & SCHERFF, F.C. - Die dianthron der pharmazeutisch interessierenden Hydroxyanthrachinone. Archiv. Pharm., 293(10):918-25, 1960.
- 5 - BRASIL, Secretaria da Receita Federal. Coordenação do sistema de informações econômico-fiscais. Comércio exterior do Brasil: importação. Cacex. Brasília, 1982. p.1-4.
- 6 - CONTIN, L.F. - Anatomia foliar de *Cassia fastuosa* Willd. Boletim do Museu Botânico Municipal, 12, 1974.
- 7 - COSTA, A.F. - Farmacognosia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1967. v.2.
- 8 - COSTA, A.F. - Farmacognosia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1970. v.3.
- 9 - FAIRBAIRN, J.W.; FRIEDMANN, C.A.; RYAN, H.A. - Vegetable purgatives containing anthracene derivatives. Part.X. A new active glycoside of senna. J. Pharm. Pharmacol., 10:168, 1958.

- 10 - FARMACOPÉIA brasileira. 3.ed., São Paulo, Org. Andrei, 1977.
- 11 - FRIEDRICH, H. & BAIER, S. - Untersuchungen über die inhaltstoffe der sennesblätter. Planta Medica, 23:74-87, 1973.
- 12 - KAPADIA, G.J. & KHORANA, M.L. - Studies on actives constituents of *Cassia fistula* Pulp. I. Colorimetric estimation of free rhein and combined sennidin like compounds. Lloydia, 25(1):55-8, 1962.
- 13 - LABADIE, R.P. - Preparative thin layer chromatografie separation of naturally occurring hydroxyantraquinones, hydroxyanthrones and hydroxydianthrones. Pharm. Weekblad., 104:257-61, 1969.
- 14 - LEMLI, J. & CUVEELE, J. - Les transformations des heterosides anthroniques pedant le séchage des feuilles du *Cassia senna* et *Rhamnus frangula*. Planta Medica, 34(3):311-8, 1978.
- 15 - LEMLI, J. & CUVEELE, J. - Les glucides des feuilles du *Cassia angustifolia*. Plant. Med. Phytoth., 10(3):175-8, 1976.
- 16 - LOU, T.C. - The biological assay of vegetable purgatives. J. Pharm. Pharmacol., 1:673-82, 1949.
- 17 - MARTINDALE. - The extra pharmacopeia. 26.ed., London, Pharmaceutical Press, 1972, 2320.
- 18 - MOREIRA, E.A. et al. - Análises fitoquímicas de *Baccharis maritima*. Trib. Farm., 42(1-2):2-16, 1975.
- 19 - MOREIRA, E.A. et al. - Solasodina em *Solanum erianthum* D.Don. Trib. Farm., 48(1-2):61-84, 1980.
- 20 - SILVA, P. - Farmacologia. Rio de Janeiro, Guanabara Koogam, 1980. p. 904-11.
- 21 - STAHL, E. - Thin layer chromatography. 2.ed., Berlin, Springer Verlag, 1969.
- 22 - STEINEGGER, E. & HANSEL, R. - Lehrbuch der allgemeinen pharmakognosie. Berlin, Springer Verlag, 1963. 595p.
- 23 - STRASBURGER, S. - Textbook of botany. London, New English Edition, 1975. p.696-8.
- 24 - THE MERCK index. 9.ed., U.S.A., Merck & Co. Inc., 1976.
- 25 - THOMSON, R.H. - Naturally occurring quinones. 2.ed., London, Academic Press, 1971. 734p.
- 26 - ULLMANN, F. - Enciclopédia química industrial. 2.ed., Barcelona, Edi-

corial Gustavo Gili, 1953. v.1,2 e 4.

- 27 - WASICKY, R. - Contribuição ao conhecimento dos compostos antraquinônicos e das substâncias oxiantraquinônicas presentes nas plantas. An. Acad. Bras. Cien., 14(2):143-57, 1942.
- 28 - WASICKY, R. - Brasilianische abfühdrogen mit Betrachtungen über ihre Wirkungen und Wirkstoffe. Sci. Pharm., 28:144-50, 1960.