

ECDISTERONA DE *Pfaffia tuberosa* (SPRENG.) HICKEN

Ecdysterone from *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken

NOBUSHIGUE NISHIMOTO*; YOSHINORI SHIOBARA*; SHUN-SUKE INOUE*; MASUMI FUJINO*;
TSUNEMATSU TAKEMOTO ; CHEOW LIN YEOH** e GORO HASHIMOTO***

As raízes secas da espécie brasileira *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken foram submetidas à extração com metanol. Deste extrato metanólico foram isolados a ecdisterona e o ácido oleanólico, através de processos de separação por HPLC e cromatografia em coluna. Tanto a ecdisterona como o ácido oleanólico foram identificados comparativamente com os respectivos padrões. Análise quantitativa por HPLC mostrou 0,23% de ecdisterona. Este teor foi considerado baixo em relação à outra espécie, também brasileira, a *Pfaffia iresinoiões*.

UNITERMOS: *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken; ecdisterona; ácido oleanólico.

1 - INTRODUÇÃO

As raízes conhecidas popularmente por "Ginseng brasileiro" têm sido utilizadas principalmente como tônicas, afrodisíacas e antidiabéticas (5). Nas nossas investigações anteriores foram utilizadas raízes de 2 espécies: *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze e *Pfaffia iresinoiões* Spreng. Do primeiro material foram isolados o ácido púlfico e seus glicósidos, que mostraram ação inibidora do crescimento de células tumorais (2,3 e 6) enquanto que da *Pfaffia iresinoiões* Spreng. foi isolada grande quantidade de ecdisterona (4). Estes resultados foram bastante animadores, despertando nosso

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Yamashirocho, Tokushima-770, Japan.

** Japan Bio Institute Co., Ltd., Minami-oi, Shinagawa-ku, Tokyo 140, Japan.

*** Centro de Pesquisas de História Natural - Rua Potsdam, 67 - 1º andar - 05318 - São Paulo, SP - Brasil.

interesse para o estudo de outras espécies da família *Amaranthaceae*. Neste trabalho, procuramos identificar alguns componentes da espécie *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken, que é muito utilizada popularmente no tratamento da infertilidade (1).

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O material, constituído de raízes, destinado a este estudo foi coletado no estado de Mato Grosso - Brasil.

As raízes foram secas, pulverizadas e submetidas a extração com metanol.

Foram utilizados para o isolamento de substâncias do extrato metanólico os processos cromatográficos de partição líquido-líquido e de coluna; utilizando como adsorvente silicagel e fase móvel constituído de CHCl_3 - MeOH - H_2O (80:20:10).

A identificação foi feita utilizando-se padrões de ecdisterona e ácido oleanólico.

Para a determinação quantitativa foi utilizado o cromatógrafo de alta pressão (HPLC).

Processos de recristalização foram utilizados para purificação das substâncias obtidas, empregando-se os seguintes solventes: Etanol, Acetato de Etila e Metanol.

3 - RESULTADOS

197 g de raízes rasuradas foram tratadas com metanol a quente, obtendo-se o extrato metanólico. O resíduo do extrato metanólico foi ressuspenso em água e extraído com n-butanol.

O extrato butanólico foi concentrado a vácuo, resultando um óleo viscoso de coloração marrom que pesou 5 g. Este foi submetido à cromatografia em coluna de silicagel (65 g) e fase móvel constituído de mistura de Clorofórmio - Metanol - Água (80:20:10), utilizando-se a fase inferior. Foram coletadas frações a volumes constantes de 15 ml. As frações de 11 a 13 foram concentradas e o resíduo foi recristalizado em Etanol. Obteve-se 65 mg de uma substância, que foi identificada como ácido oleanólico.

O resíduo cristalino das frações 45 a 56 foi recristalizado em mistura de Acetato de Etila e Metanol, dando 87 mg de uma substância que foi identificada como sendo a ecdisterona.

As identificações destas duas substâncias foram feitas utilizando-se padrões autênticos de ácido oleanólico e ecdisterona.

Posteriormente, a análise quantitativa em cromatôgrafo de alta pressão (HPLC) mostrou teor de ecdisterona 0,23%. Este teor foi considerado baixo em relação ao encontrado na *Pfaffia trestinoidea* (Spreng.) Hicken (4).

Agradecimento

Nosso sincero agradecimento à AMÉRICA LATINA NATURAL, Indústria e Comércio Ltda., São Paulo - Brasil pela colaboração na coleta deste material para estudo.

SUMMARY

In this paper, we wish to report the isolation and identification of ecdysterone from *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. The roots of *P. tuberosa* (Spreng.) Hicken were collected in the Mato Grosso State - Brazil. The dried and sliced roots (197 g) were extracted with hot MeOH. A suspension of the resulting MeOH extract in the water was treated with n-BuOH. The n-BuOH layer was concentrated in vacuo to give a brown viscous oil (6 g), which was chromatographed on silica gel (65 g) using CHCl₃ - MeOH - H₂O (80:20:10) lower phase, and 15 ml fractions were collected. Fractions 11-13 were concentrated and the residual solid was recrystallized from EtOH to afford oleanolic acid (85 mg). The crystalline residue obtained from fractions 14-58 was recrystallized from EtOAc-MeOH to give ecdysterone (87 mg). Each compound was identified by direct comparison with an authentic sample. Further HPLC quantitative analysis showed lower content of ecdysterone (0,23%) compared with that of *Pfaffia trestinoidea* Spreng.

Key words: *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken; ecdysterone; oleanolic acid.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ARENAS, P. & AZORERO, M.R. Plant used as means of abortion, contraception, sterilization and fecundation by Paraguayan Indigenous People. *Economic Botany*, **31**:302-6, 1977.
- 2 - NAKAI, N.; TAKAGI, N.; MIICHI, N.; HAYASHI, S.; NISHIMOTO, N.; TAKEMOTO, T.; KIZU, H. Pfaffosides, nortriterpenoid saponins from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, **23**(8):1703-5, 1984.
- 3 - NISHIMOTO, N.; NAKAI, S.; TAKAGI, N.; HAYASHI, S.; TAKEMOTO, T.; ODASHI MA, S.; KIZU, H.; WADA, Y. Pfaffosides and nortriterpenoid saponins

from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, **23**(1):139-42, 1984.

- 4 - NISHIMOTO, N.; SHIOBARA, Y.; FUJINO, M.; INOUE, S.; TAKEMOTO, T.; OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K.; HASHIMOTO, G.; TANAKA, O.; KASAI, R.; MATSUURA, H. Ecdysteroids from *Pfaffia trestinoidea* and reassignment of some ¹³C-NMR chemical shifts. *Phytochemistry*, **26**(9):2505-7, 1987.
- 5 - OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do "Ginseng brasileiro" *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. *An. Farm. Quím. S.Paulo*, **20**(1/2):261-77, 1980.
- 6 - TAKEMOTO, T.; NISHIMOTO, N.; NAKAI, S.; TAKAGI, N.; HAYASHI, S.; ODASHI MA, S.; WADA, Y. Pfaffic acid, a novel nortriterpene from *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. *Tetrahedron Letters*, **24**(10):1057-60, 1983.