

CARACTERIZAÇÃO DOS ALCALÓIDES EM ESPÉCIE COMERCIALIZADA COMO *RAUWOLFIA SELLOWII* MÜLL. ARG.

Gilsane Lino von Poser,* Amélia T. Henriques,** João A.P. Henriques***

SUMMARY

Rauwolfia sellowii Müll. Arg. was analysed concerning the alkaloid contents. The root bark showed five indole alkaloids: aricine, ajmaline, tetrahydroalstonine, ajmalicine and reserpine. From a species commercially sold as *Rauwolfia sellowii* were isolated the alkaloids chelerythrine, skimmianine, maculosidine and nitidine. This chemical composition indicates that this species does not belong to the Apocynaceae family. Some alkaloids were analysed by means of the SOS-chromotest as to their genotoxic activity in a prokaryotic system. Skimmianine showed positive response in presence of mixture of metabolization.

KEY WORDS: indole alkaloids, *Rauwolfia sellowii*, furoquinoleinics alkaloids, genotoxicity, benzophenanthridinics alkaloids.

INTRODUÇÃO

Rauwolfia sellowii Müll. Arg. (Apocynaceae) é uma árvore que aparece principalmente nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Suas raízes, comercializadas pela indústria de fitoterápicos, são de ampla utilização popular, como agente sedativo e anti-hipertensivo. A planta é conhecida vulgarmente como "pau-para-tudo", "casca d'anta" e "mandioqueira amarela".¹⁰ As denominações populares, entretanto, compreendem diversas plantas, fato que dificulta a localização e aquisição de espécies autênticas ocorrendo, freqüentemente, substituições por espécies morfologicamente semelhantes, porém com princípios ativos distintos.

Visando estabelecer um controle de qualidade, foram isolados e caracterizados alcalóides em espécie autêntica de *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg. e em amostra comercializada pela indústria de fitoterápicos.

MATERIAL E MÉTODOS

EXTRAÇÃO DOS ALCALÓIDES TOTAIS DE *R. SELLOWII*: As cascas das raízes secas, moídas e reduzidas a pó fino (1 kg), foram extraídas pelo método clássico de Stas-Otto, apresentando rendimento de 4.4%. O extrato dos alcalóides totais

*Parte da dissertação para a obtenção do grau de mestre em Farmácia realizada no curso de Pós-Graduação em Farmácia. Faculdade de Farmácia. UFRGS, Av. Ipiranga, 2752, 90.610, Porto Alegre, RS.

**Departamento de produção de matéria-prima, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga, 2752, 90.610, Porto Alegre, RS.

***Departamento de Biofísica, Fisiologia e Farmacologia. Instituto de Biociências, UFRGS, Rua Sarmento Leite, 500, 90.049, Porto Alegre, RS.

foi submetido a cromatografias preparativas em gel de sílica HF₂₅₄, usando como eluente clorofórmio:metanol (98:2). Deste extrato foram isolados três alcalóides.

ALCALÓIDE A: (Rf 0.86), tetraidroalstonina (0.28%), P.F. 228-230°C (dec.) (clorofórmio/metanol), M + 352, R ν max (KBr): 3400, 1710, 1620, 1475, 1210, 1190 e 1085 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 225 (4.64), 284 (3.85) e 290 (3.83) nm.

ALCALÓIDE B: (Rf 0.78), aricina (1,11%), P.E. 188°C (clorofórmio-metanol), M + 382, IR ν max (KBr): 3350, 1690, 1630, 1600, 1288, 1220, 1190 e 1090 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 226 (4.54), 278 (3.98) e 293 (3.96) nm.

ALCALÓIDE C: (Rf 0.12), ajmalina (0.89%), P.F. 145-146°C (metanol), UV χ (MeOH) (log ξ): 251 (3.94) e 290 (3.49) nm.

EXTRAÇÃO DOS ALCALÓIDES TOTAIS DA AMOSTRA COMERCIAL: O cerne das raízes da amostra comercial seco e reduzido a pó fino (1 kg) também foi extraído pelo método de Stas-Otto, apresentando rendimento de 0.30%. Através de cromatografias preparativas em gel de sílica HF₂₅₄, usando como eluente clorofórmio:metanol (95:5), foram isolados sete alcalóides.

ALCALÓIDE D: (Rf 0.59), esquimianina (4.16%), P.F. 178-180°C (clorofórmio/metanol), M + 259, IR ν max (KBr): 3350, 2920, 1615, 1575, 1500, 1490, 1447, 1390, 1365, 1290, 1270, 1105, 1095, 1060, 870 e 825 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 251 (4.90), 320 (3.91) e 332 (3.91) nm.

ALCALÓIDE E: (Rf 0.35), celeritrina (6.3%), P.F. 208°C (clorofórmio/metanol), M + 348, IR ν max (KBr): 3350, 1595, 1475, 1450, 1365, 1285, 1260, 1110, 1035 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 227 (4.27), 282 (4.55) e 320 (4.16) nm, RMN¹H: (90 MHz, δ CDC1₃): 7.95 (1H, s), 7.7 (1H, d, J=8Hz), 7.5 (1H, d, J=8Hz), 7.4 (1H, d, J=8Hz), 7.15 (1H, s), 6.82 (1H, d, J=8Hz), 6.6 (1H, s), 6.1 (2H, s), 3.75 (3H, s), 3.07 (3H, s) e 2.45 (3H, s) ppm.

ALCALÓIDE F: (Rf 0.16) (1.93%), M + 362, IR ν max (KBr): 3400, 1650, 1490, 1385, 1305, 1295, 1265, 1250, 1210, 1105 e 1035 cm⁻¹, UV χ (MeOH): 240, 280 (sh), 315, 340 (sh) e 375 (sh) nm.

ALCALÓIDE G: (Rf 0.14), maculosidina (1.84%), M + 259, IR ν max (KBr): 3100, 2900, 1380, 1090, 770 e 740 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 250 (4.50), 285 (3.54) e 30 (sh) (3.32) nm.

ALCALÓIDE H: (Rf 0.12) (1.32%), P.F. 261-263°C (clorofórmio/metanol) (sublimação: 185°C), IR ν max (KBr): 3350, 2900, 1615, 1480, 1460, 1380, 1268 e 1040 cm⁻¹, UV χ (MeOH): 232, 272, 290 (sh), 299 (sh) e 325 nm.

ALCALÓIDE I: (Rf 0.09) nitidina (2.28%), P.F. 276-278°C (clorofórmio/metanol) (sublimação: 210°C), IR ν max (KBr): 3350, 1610, 1500, 1468, 1430, 1385, 1285, 1210, 1175 e 1038 cm⁻¹, UV χ (MeOH) (log ξ): 234 (4.11), 270 (4.49), 290 (4.42), 300 (sh) (4.40) e 330 (4.38) nm.

ALCALÓIDE J: (Rf 0.06) (2.07%), P.F. 220-227°C (dec.) (clorofórmio/metanol) IR ν max (KBr): 3350, 2900, 2830, 1720, 1600 e 1460 cm⁻¹, UV χ (MeOH): 251, 266 (sh), 295, 322, 330 (sh) e 420 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato dos alcalóides totais das raízes de *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg. mostrou uma série de alcalóides, sendo três deles identificados: aricina e ajmalina, como componentes majoritários, e tetraidroalstonina, todos eles já isolados anteriormente desta espécie.^{4, 7, 8, 12} Foram também evidenciados, por cromatografia comparativa com padrões, os alcalóides reserpina e ajmalicina presentes como traços.

Após caracterização dos alcalóides da espécie autêntica, foi realizada uma comparação com a amostra comercial.

Macroscopicamente, as duas amostras mostraram-se bastante semelhantes. A comparação cromatográfica, entretanto, mostrou desigualdade na composição, indicando tratarem-se de espécies vegetais diferentes.

Na tentativa de identificar esta amostra a partir do conhecimento de seus componentes, uma análise química foi realizada nesta espécie vegetal.

Sete alcalóides foram isolados: esquimianina e maculosidina, do grupo das furoquinoleínas, encontrados exclusivamente na família *Rutaceae*,⁶ celeritrina e nitidina, ambos do grupo benzofenantridínico, comumente encontrados nesta família, mas não exclusivos.³ Os outros três produtos isolados foram classificados como pertencentes aos grupos benzofenantridínico e oxiaporfínico.

Do ponto de vista da química dos alcalóides, as rutáceas são caracterizadas por apresentarem um vasto número de bases da família do ácido antranílico, como os alcalóides furoquinoleínicos que não foram encontrados em outra fonte natural.⁶ Baseando-se neste fato, pode-se afirmar que a espécie comercializada pertence à família *Rutaceae*, uma vez que foram isolados deste vegetal os alcalóides esquimianina e maculosidina.

Sendo a especialidade farmacêutica comercializada como *Rauwolfia sellowii*, as duas amostras foram submetidas a ensaios para verificação de toxicidade excessiva, utilizando-se a metodologia indicada por Seba *et al.*¹⁰ para análise desta espécie vegetal. Observou-se que na dosagem utilizada os extratos das amostras comercial e autêntica não apresentaram efeitos letais nos camundongos testados.¹³

Devido à utilização destes vegetais em medicina, tornou-se indispensável a avaliação de outros riscos de toxidez, uma vez que alcalóides são moléculas extremamente reativas, capazes de se ligarem ao DNA celular, modificando-lhe a estrutura e, conseqüentemente, a informação genética.^{2, 11} Em vista disto, foram utilizados testes microbianos para determinação de atividade mutagênica que evidenciaram a possível potencialidade oncogênica destas substâncias.^{1, 5}

Os alcalóides indólicos ajmalicina, reserpina e ioimbina, comumente encontrados no gênero *Rauwolfia*, e os alcalóides celeritrina e esquimianina, isolados como componentes majoritários da espécie comercializada como *Rauwolfia sellowii*, foram testados quanto à atividade genotóxica através do cromoteste SOS⁹ na ausência e presença de mistura de ativação metabólica. Observou-se que os três alcalóides indólicos e a celeritrina não se mostraram genotóxicos, mesmo na presença de mistura de ativação metabólica.¹³ A esquimianina foi o único dos alcalóides testados que, com metabolização, mostrou-se genotóxico.¹³

A comercialização desta planta como medicamento e a adulteração constatada mostram ser imprescindível que a matéria-prima adquirida pelos laboratórios de fitoterápicos seja devidamente analisada. Como agravante, constatou-se a presença do alcalóide furoquinoleínico esquimianina, o qual, além da atividade genotóxica verificada neste trabalho, é o principal componente da planta tóxica *Skimia japonica* Thumb., conhecida por sua toxicidade sobre a musculatura e podendo, em doses mais elevadas, causar parada respiratória ou cardíaca.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos concluiu-se que a amostra comercial analisada tratava-se de um vegetal da família *Rutaceae*. A espécie apresenta genotoxicidade quando testada em sistema procariótico devido à presença do alcalóide esquimianina.

RESUMO

Foi realizada análise química em espécie autêntica de *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg. e em amostra comercial. O extrato das cascas das raízes da amostra autêntica mostrou a presença dos alcalóides aricina, ajmalina, tetraidroalstonina, ajmalicina e reserpina. Da amostra comercial foram isolados os alcalóides celeritrina, nitidina, esquimianina e maculosidina, indicando tratar-se de uma falsificação. Alguns alcalóides foram testados quanto ao aspecto tóxico-genético, sendo que a esquimianina mostrou resposta positiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — AMES, B.N. Identifying environmental chemical causing mutations and cancer. *Sciencés*, 204:587-93, 1979.
- 2 — FRIEDBERG, E.C. *DNA repair*. New York, W.H. Freeman, 1985. p. 614.
- 3 — HEGNAUER, R. The taxonomic significance of alkaloids. In: SWAIN, T., ed. *Chemical Plant Taxonomy*, New York, Academic, 1963. p.389-427.
- 4 — HOCHSTEIN, F.A. Alkaloids of *Rauwolfia sellowii*. *Journal American Chemical Society*, 77: 5744-5, 1955.
- 5 — McCANN, J. & AMES, B.N. The salmonella/microsome mutagenicity test: preductive value for animal carcinogenicity. In: HIATT, H.H.; WATSON, J.D.; WINSTEN, J. A., ed. *Origins of Human Cancer*. New York, Cold Spring Harbor, 1976. p. 1431-50.
- 6 — MESTER, I. The occurrence of the alkaloids in Rutaceae. *Fitoterapia*, 44: 123-50, 1973.
- 7 — PAKRASHI, S.C.; DJERASSI, C.; WASICKY, R.; NEUSS, N. Alkaloids studies. IX. *Rauwolfia* alkaloids. IV. Isolation of reserpine and other alkaloids from *Rauwolfia sellowii*Muell. *Argov. Journal American Chemical Society*, 77:6687-9 1955.
- 8 — PEREIRA, N.A. Composição alcaloídica da *Rauwolfia sellowii*Müll. Arg. *Revista Brasileira de Farmácia*, 37 (9): 419-22, 1956.
- 9 — QUILLARDET, P.; HUISMAN, O.; D'ARI, R.; HOFNUNG, M. SOS-chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79:5971-5, 1982.
- 10 — SEBA, R.A.; CAMPOS, J.S.; KUHLMANN, J.G. Aspectos farmacológicos da *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg. Suas prováveis indicações no tratamento da hipertensão arterial. *Revista de Química e Farmácia*, (2):11-33, 1954.

- 11 — SINGER, B. & KUSMIEREK, J.T. Chemical mutagenesis. *Annual Review of Biochemistry*, 52:655, 1982.
- 12 — TOLEDO, T.A.N. & WASICKY, R. Teor alcaloídico da espécie brasileira *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg., algumas reações e caracterização histoquímica dos alcalóides. *Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo*, 13: 159-67, 1955.
- 13 — VON POSER, G.L. *Rauwolfia sellowii* Müll. Arg.: *Análise química em espécies autêntica e comercializada. Determinação dos efeitos genotóxico, mutagênico e recombinogênico dos alcalóides em sistemas eucariótico e procariótico*. Porto Alegre, Curso de Pós-Graduação em Farmácia da UFRGS, 1987. 188f. Diss. Mestrado Farmácia.