

ESTUDO FITOQUÍMICO EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Casearia sylvestris*.
Elisângela Simões de Carvalho(IC), André Gonzaga dos Santos(PG), Alberto José Cavaleiro(PQ). NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Depto. de Química Orgânica - Instituto de Química (IQ) – UNESP – Araraquara.

Casearia sylvestris (Guaçatonga, erva-de-bugre, cafezinho do mato) pertence a família Flacourtiaceae, representada no Brasil por 19 gêneros e cerca de 92 espécies (BARROSO, 1978). Trata-se de uma planta com ampla utilização na medicina popular no Brasil. Preparados de suas partes são utilizados na medicina popular principalmente no tratamento de gastrites e úlceras, como antiofídico (uso tópico ou sistêmico) e como cicatrizante (COIMBRA, 1958; CORREA, 1975; SCAVONE et al., 1979). Dentre as atividades farmacológicas exibidas pelo extrato das folhas de *C. sylvestris*, merecem destaque as ações antiofídica, antiulcerogênica e citotóxica. A atividade citotóxica, indicativa de ação antitumoral, foi encontrada nos extratos etanólico e metanólico, a partir dos quais, através de fracionamento biomonitorado, foram isoladas as substâncias responsáveis pela atividade, casearinas e casearvestrinas, respectivamente (CARVALHO et al., 1998; ITOKAWA et al., 1990; MORITA et al., 1991; OBERLIES et al., 2002). Estas substâncias são metabólitos secundários pertencentes à classe dos diterpenos do tipo clerodânico. O extrato etanólico das folhas de *C. sylvestris* apresentou ação antiulcerogênica e o fracionamento biomonitorado deste extrato conduziu a uma fração ativa cujos principais componentes são casearinas (BASILE et al., 1990; FAPESP, 2003; SERTIE et al., 2000). Os ensaios toxicológicos têm indicado baixa toxicidade dos extratos testados. O extrato etanólico 75% também não apresentou efeitos genotóxicos (MAISTRO et al., 2004).

Neste estudo foi investigada a presença de diterpenos clerodânicos (especialmente casearinas e casearvestrinas) em outras partes da planta exceto as folhas. Após secagem e fragmentação das flores, raízes, caules e cascas do caule, cada órgão foi submetido à extração com etanol, hexano e metanol, sucessivamente, em ultrassom. Em rotaevaporador cada extrato foi concentrado e a identificação de diterpenos do tipo clerodânicos e possíveis casearinas foi realizada por meio de métodos cromatográficos e espectrométricos: cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV com arranjo de diodos (CLAE-DAD) e ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H).

As análises em CCDC foram realizadas em sílica gel eluída com Hex/AcOEt/IPA 65:32:03. A concentração das amostras foi de 10 mg/mL. Revelador: anisaldeído sulfúrico. Em CLAE-DAD foi utilizada coluna de fase reversa fenilhexil (250 x 4,6 mm, 5 mm), eluída por gradiente linear de 48-100 % MeOH em água, 80 min; mais 100% de MeOH por 5 min e vazão de 0,8 mL/min. Os espectros no UV foram obtidos na faixa de 200 a 400 nm, sendo os cromatogramas registrados a 235 nm. Os espectros de RMN ^1H foram obtidos com as amostras dissolvidas em CDCl_3 , numa concentração de 50mg.

O cromatograma planar apresentou diversas bandas eluídas entre R_f 0,2 e 0,8, região onde eluem as casearinas obtidas de folhas de *C. sylvestris*. Os cromatogramas obtidos em CLAE-DAD indicaram perfil metabólico mais complexo nos extratos hexânicos de flores e folhas. Entre os vários extratos avaliados, aqueles picos cromatográficos que apresentaram espectros no UV característicos de casearinas estão indicados na figura 1 (CARVALHO et al., 1998, ITIKAWA et al., 1990; MORITA et al., 1991; SANTOS, 2001).. Além disso, foram observados deslocamentos químicos característicos nos espectros de RMN ^1H nos diversos extratos (Figura 1), confirmando a ocorrência de diterpenos clerodânicos nestas amostras (CARVALHO et al., 1998, ITIKAWA et al., 1990; MORITA et al., 1991; SANTOS, 2001). Concluiu-se também que o extrato hexânico de folhas apresenta maior diversidade dessa classe de substâncias.

Desta forma, foi obtido um perfil fitoquímico de outros órgãos, que podem ser utilizados na obtenção de substâncias de interesse, relacionadas a propriedades farmacológicas exibidas pelos extratos das folhas, bem como associadas a algum tipo de utilização popular. A ocorrência da mesma classe de metabólitos secundários, os diterpenos clerodânicos, em diversos órgãos da planta pode significar sua biossíntese em diferentes locais ou sua translocação.

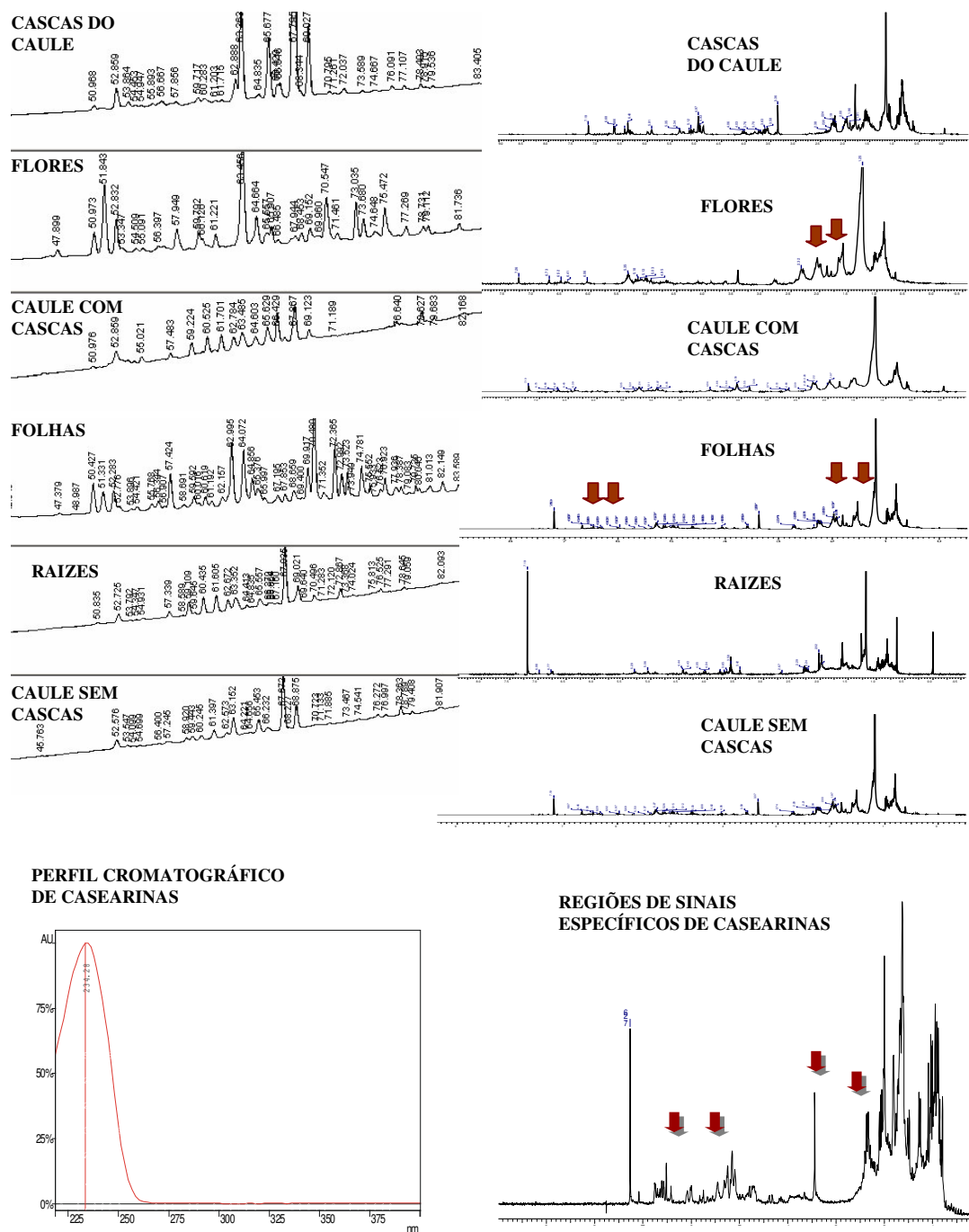


Figura 1: Cromatogramas em CLAE-DAD e espectros de RMN¹H dos extratos hexânicos em diversos órgãos

Referências Bibliográficas

BARROSO, G. M. *Sistemática de angiospermas no Brasil*. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1978. v.1.

BASILE, A. C.; SERTIÈ, J. A. A.; PANNIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C. A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v.30, p.185-197, 1990.

CARVALHO, P. R. F.; FURLAN, M.; YOUNG, M. C. M.; KINGSTON, D. G. I.; BOLZANI, V. da S. Acetylated DNA-damage clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. *Phytochemistry*, v.49, n.6, p.1659-1662, 1998.

COIMBRA, R. *Notas de fitoterapia*. Rio de Janeiro: Lab. Clín. Silva Araújo, 1958. p.169-170.

CORREA, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das espécies cultivadas*. Brasília: Ministério da Agricultura/IBDF, 1975, p. 514-516.

FAPESP - FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA NO ESTADO DE SÃO PAULO (Brasil).

SERTIÉ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; SANTOS, A. G.; TININIS, A. G.. Processo de obtenção de extratos de *Casearia sylvestris*, processos de obtenção de frações ativas, extratos, frações ativas, uso de extratos e frações ativas, composição, unidade de dosagem, método para prevenir, tratar, combater ou suspender distúrbios gastrointestinais, medicamento e princípio ativo. PI 0306167-1, 18 dez. 2003.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; TAKEYA, K.; WATANABE, K.; OBATA, E. New Antitumor Principles, Casearins A-F, from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v.36, n.4, p.1585-1588, 1990.

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J.C.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and V79 cells by the comet assay. *Toxicology In vitro*. v.18, n.3, p.337-342, 2004.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v.39, n.3, 693-697, 1991.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel Bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. *Journal of Natural Products*, v.65, n. 2, p.95-99, 2002.

SANTOS, A. G. Desenvolvimento de metodologia para a análise de variabilidade intra-específica e dinâmica de casearinas em *Casearia sylvestris* Sw (Flacourtiaceae). 2001. 120f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química – Universidade Estadual Paulista-UNESP, Araraquara.

SCAVONE, O.; GRECCHI, R.; PANIZZA, S.; SILVA, R. A. P. S. Guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz): aspectos botânicos da planta, ensaios fitoquímicos e propriedade cicatrizante da folha. *Anais de Farmácia e Química de São Paulo*, v.19, n.1, p.73-81, 1979.

SERTIÉ, J. A. A.; CARVALHO, J. C. T.; PANIZZA, S. Antiulcer activity of the crude extract from the leaves of *Casearia sylvestris*. *Pharmaceutical Biology*, v.38, n.2, p. 112-119, 2000.

Bolsa: FAPESP