

SÔBRE A PRESENÇA DE ALCALÓIDES NAS RAÍZES DE LEITEIRO (*Tabernaemontana affinis* M. Arg.)

MIGUEL M. CHAVES (*)

Introdução:

O leiteiro, uma apocinácea, é conhecido como altamente prejudicial à nossa lavoura. Invadindo os pastos, êle se manifesta notavelmente tóxico e de difícilima extinção. É de esperar, porém, que contenha teores apreciáveis de alcalóides, como é comum aos representantes desta família, sendo, assim, de interêsse farmacológico.

O presente estudo visa, pois, à evidenciação de alcalóides, nas raízes de leiteiro, parte em que, com maior probabilidade, se espera teor mais relevante. A título de comparação foi igualmente analisado material de *Rauwolfia sp.*

Material:

O material trabalhado, raízes de *Tabernaemontana* e casca do tronco de *Rauwolfia sp.*, foi coletado nas proximidades da Capital de São Paulo e doado por gentileza do Dr. Helmut P. Krug, do Hôrto florestal de São Paulo.

O material foi secado a vácuo a 45°C, finamente moído e armazenado à prova de umidade.

Os alcalóides de referências foram doados pela Doutora A. Chatterjee, University College of Science and Technology, Calcutta, india.

Método:

O material foi extraído seguindo-se, a principio, diversas informações ao alcance (2, 3, 7, 8, 9, 11 e 12).

A extração foi acompanhada, passo a passo, por aná-

(*) Engenheiro Agrônomo. — Shell Brazil Limited. — Rio de Janeiro

lises cromatográficas em papel, a fim de estudar o método extrativo mais apropriado para o material em estudo.

Os extratos obtidos foram postos em contato com uma série de reagentes para alcalóides. Várias tentativas de cristalização estão ainda em fase de observação.

Resultados:

A apresentação dos resultados está dividida em duas partes, (a) resultados obtidos com leiteiro e com *Rauwolfia sp.*, e (b) com os alcalóides de referência. Em ambas as partes serão apresentados apenas os resultados que me levaram a conclusões satisfatórias.

1.^a PARTE DOS RESULTADOS

a) *Rauwolfia sp.*

I. Reações de precipitação com o extrato final (vide parte experimental (*))

1. Reativo de Dragendorff:	precipitado alaranjado	(++)
2. Reativo de Mayer:	« amarelo	(+)
3. Ácido Pícrico:	« amarelo canário	(++)
4. Ácido Picrolônico:	« amarelo	(+)
5. Reativo de Folin-Ciocalteu	« vermelho	(+)
6. Tricloreto de ouro	« violeta invertendo lentamente a marron	(++)

(*) Reação bem forte (++) e média (+).

II Reação de Coloração com extrato final:

1. Tricloreto de ouro . . . violeta (invertendo lentamente para marron)

2. Reativo de Mandelin . . . violeta escuro
3. Ácido sulfanílico diazotado . violeta

III. Cromatogramas em papel:

QUADRO I

Extrato	Fluorescência em luz ultra-violeta	Valor Rf
A	verde	0,58
	verde	0,70
	violeta	0,78
Final	verde	0,47
	verde	0,58
	violeta	0,64
	verde	0,70
Extrato	Reativo de Folin Ciocalteu	
Final	azul escuro	0,76

Tabernaemontana affinis

I. Reações de precipitação:

1. Ácido picrico: precipitado amarelo canário (++)
2. Reativo de Meyer: « amarelo claro (++)
3. Reativo de Dragendorff: « alaranjado (++)
4. Tricloreto de ouro: « marron (++)
5. Ácido Picrolônico: « amarelo (++)

II. Reações de coloração: com extrato final

1. Tricloreto de ouro: marron (++)
2. Reativo de Mandelin: violeta (+); fugaz
3. Reativo de Keller: verde (++)

III. Cromatogramas: dos extratos finais

QUADRO II

Extratos	Fluorescência em luz ultra-violeta	Valor Rf
B	verde	0,61
	violeta	0,64
	verde	0,73
Final	verde	0,60
	violeta	0,65
	verde	0,71

A revelação sempre deu resultado positivo, quer com o reagente de Dragendorff, quer por observação em luz ultra violeta.

2.ª PARTE DOS RESULTADOS

I. *Reações de precipitação* (realizadas em tubo de ensaio e placa de toque).

QUADRO III

Alcalóides	REAGENTES				
	MAYER	DRAGENDORFF	ÁC. PÍCRICO	TRICLORETO DE OURO	ÁC. PÍCRO-LÔNICO
Serpentine	amarelo	Alaranjado	amarelo	amarelo	amarelo
Reserpine	«	«	«	-----	«
Sarpagine	«	«	vermelho	verde	«
Rauwolscine	«	«	amarelo	marron	«
c-yohimbine	«	«	«	«	«
y-yohimbine	«	«	vermelho	-----	«
Ajmaline	«	«	amarelo	violeta	«

Reações com os alcalóides de referência em solução ácida (HCl n/10).

(Os ensaios em branco não acusam, em qualquer caso, coloração perceptível ou precipitação).

II. *Reações de coloração* (realizadas em tubos de ensaios e placas de toque).

QUADRO IV

Alcalóides	REAGENTES		
	Keller	Mandelin	ác. sulfanílico diazotado
Serpentine	-----	-----	-----
Reserpine	-----	azul	-----
Sarpagine	marron	marron	vermelho
Rauwolscine	"	amarelo	-----
c-yohimbine	verde	"	-----
y-yohimbine	marron	-----	-----
Ajmaline	-----	violeta	violeta
Ensaios em branco	verde	amarelo	incolor

Reação com os alcalóides de referência em solução ácida (HCl n/10).

III. *Cromatografia em papel.*

Para os alcalóides que não apresentam fluorescência, foi escolhido para a revelação o revelador mais sensível conforme informações dos Quadros III e IV.

QUADRO V

Alcalóides	Extrato	Valor R _f	Revelador	Côr revelada
Sarpagine	Soluções(*) I e II	0,49	ác. sulfanílico diazotado	vermelho
Ajmaline	Soluções I e II	0,75	triclóreto de ouro	violeta
Serpentine	Soluções I a III	0,65	luz ultra violeta	violeta
Reserpine	Soluções I a III	0,71	luz ultra violeta	verde
Rauwolscine	Soluções I a III	0,50	luz ultra violeta	verde
c-yohimbine (**)	Soluções I a III	0,69	luz ultra violeta	verde
y-yohimbine	Soluções I a III	0,75	luz ultra violeta	verde

Observações: (*) Solução I: solução ácida (HCl n/10)
 Solução II: solução clorofórmica
 Solução III: solução CHCl₃/CH₃OH (85 + 15 vol.).

(**) A revelação com o reativo de Dragendorff acusou o mesmo valor R_f.

Parte Experimental

Extração — Seguiu-se, na extração, em tese, as orientações de Klohs e col. (8) introduzindo-se, quando julgado oportuno, algumas modificações. O material original, devidamente acondicionado, foi extraído com etanol a 95% (Soxhlet) até reação de Dragendorff negativa. Depois de filtrado, evaporou-se o dissolvente. O resíduo foi triturado e extraído por forte agitação com água. O extrato aquoso foi alcalinizado com amoníaco até inversão de cor de timolftaleína formando assim um precipitado amarelo, eliminando-se este por filtração. O filtrado foi extraído com clorofórmio. O extrato clorofórmico foi secado sobre sulfato de sódio anidro, filtrado e evaporado, dando em fim um resíduo amarelo cristalino impuro e de sabor amargo, o qual foi parcialmente dissolvido em clorofórmio/metanol (85 + 15 vol.). A parte solúvel (extrato A) foi submetida à cromatografia em coluna, usando-se alumina segundo Brockmann. O filtrado resultante apresentou cor amarela clara que, depois de evaporado o dissolvente, rendeu um resíduo cristalino com pouca impureza. O resíduo foi dissolvido novamente em clorofórmio e passado pela coluna de alumina, desenvolvendo-se com clorofórmio/metanol três faixas, sendo duas amarelas e uma violeta. Após a evaporação do extrato (extrato B) assim obtido, o resíduo foi dissolvido parcialmente em ácido clorídrico n/10 (extrato final). Este extrato, evaporado e dissolvente, apresentou um resíduo praticamente puro, sendo possível observar três formas diferentes de cristais.

Cromatografia em papel.

Na obtenção dos cromatogramas seguiu-se a técnica de Brune (2) trabalhando-se pelo método monodimensional e ascendente em tiras de papel de 1 x 25 cm (Whatman n.º 1), impregnada de cloreto de potássio m/2 (9). O sistema de dissolventes em fim aplicado consistiu de acetato de butila (1)/butanol/ácido acético/água (47 + 9 + 28 + 16 vol.) (13).

Cromatografia em colunas.

Aplicou-se alumina ácida (anionotrópica) «Woelm» e neutra segundo Brockman. As eluições foram realizadas com clorofórmio, ácido clorídrico n/10 e clorofórmio/metanol (85 + 15 vol.).

Reagentes.

Para a revelação dos cromatogramas em papel (r), precipitação (p) e coloração (c) foram escolhidos os reagentes:

- a) Dragendorff, modificado por Munier e Macheboruf (r,p) (10).
- b) Folin-Ciocalteu (r, p, c).
- c) Tricloreto de ouro a 1% (r, p, c).
- d) Ferrocianeto de potássio 2 m (r, p).
- e) Ácido sulfanílico diazotado (4) em solução clorofórmica (r, c).
- f) Vapores de iodo (r).
- g) Tetracloreto de platina a 5% (r, p, c).
- h) Ácido picríco em solução aquosa saturada (p).
- i) Mandelin (c).
- j) Mayer (r, p).
- k) Keller (c) (6).
- l) Sal de Reinecke em solução aquosa diluída (p).
- m) Ácido picrolônico a 0,125% em solução etanólica (p).

Conclusões.

Os resultados seguem, em tôdas as suas fases, a presença de alcalóides nas raízes do leiteiro. Ainda é de supôr que, em face das reações de precipitação, coloração, e nos cromatogramas em papel, um seja c-yohimbine e outro serpentine.

As reações de precipitação com o extrato final de leiteiro e *Rauwolfia* foram aparentemente idênticas. É conveniente ressaltar que as reações de coloração foram semelhantes nos extratos de leiteiro e *Rauwolfia*, entretanto o ácido sulfanílico diazotado não acusou resultado em *Tabernaemontana*, mas sim em *Rauwolfia*, dando-se o inverso com o reativo de Keller. A reação de Keller, conforme o Quadro IV, sugere a presença de y-yohimbine. Quanto aos valores R_f , o material de leiteiro apresenta três

manchas bem nítidas, de fluorescência, em luz ultra violeta, verde e violeta.

As informações sobre alcalóides em *Tabernaemontana* são bem escassas. Henry (5) menciona sua presença em *T. coronatia* Br. e *T. laevis* Vell.

AGRADECIMENTO:

O autor agradece ao Dr. Walter Brune, Chefe do Departamento de Química da Escola Superior de Agricultura da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, pelo material e aparelhagem postos à sua disposição e pelas sugestões durante o andamento da fase experimental. A éle, assim como aos Drs. Helmut P. Krug e A. Chattergee, pelo material doado, expressa seus sentimentos de gratidão.

LITERATURA:

1. Adams R. e Johnson J. R. (1939) "Elementary Laboratory Experiments in Organic Chemistry". Mac. Millan, New York. 363 pags.
2. Brune W. (1956) "Observações químicas e bioquímicas sobre flavonóides e em Rutáceas Benth et Hook". Tese. Escola Superior de Agricultura. Viçosa.
3. E. Camargo de Fonseca M. (1952) "Contribuição ao estudo químico-toxicológico do *Senecio brasiliensis* Less". Tese. Faculdade de Farmácia e Odontologia, Universidade de São Paulo. 90 pags.
4. Cramer F. (1953) "Papierchromatographie" 2.^a edição. Verlag Chemie. Weinheim. 136 pags.
5. Henry T. A. (1949) "The Plants Alkaloids". 4.^a edição.
6. Hoffmann A. (1954) *Helv. Chim. Acta* 37; 314-320.
7. Horhammer L. e S. B. Rao (1954) *Arc. Pharmaz.* 287/59; 76/79.

8. Klohs M. W., Draper M.D., Keller F., Malesh W. e Petracok F. J. (1954) *J. Am. Chem. Soc.* 76; 1332-1334.
9. Liberalli C. H. e Aisic C. (1955). *Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia, Universidade de São Paulo* 13; 67-80.
10. Munier R. e Macheboeuf M. (1950) *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1144 e (1950) 32: 192.
11. Neuwald F. Loges W. (1956) *Arch. Pharmaz.* 289/61; 226-231.
12. Peach K. e Tracey M. V. (1955) *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse Vol. IV*; 373.
13. Thies H. e Reuther F. W. (1955) *Naturwissenschaften* 42; 462.

