

Isoafricanol, um sesquiterpeno incomum encontrado na Pteridófito *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*

Santos, M.G.¹; Rocha, L.M.²; Carvalho, E.S.²; Kelecom, A.³

¹ Departamento de Ciências (FFP-UERJ), Dr. Francisco Portela 794, 24435-000 São Gonçalo (RJ) ² Faculdade de Farmácia (LTPN-UFF), Rua Mário Viana, 523, 24241-002 Niterói (RJ). ³ Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Química Bio-orgânica (GBG-UFF), Caixa Postal 100.436, 24001-970 Niterói (RJ). E-mail: mguerras@bol.com.br.

RESUMO: Este trabalho relata a obtenção e o estudo químico preliminar do óleo essencial de *Anemia tomentosa* (Savigny) Swartz var. *anthriscifolia* (Schrader) Mickel (Schizaeaceae). As plantas foram coletadas em local rochoso no estado do Rio de Janeiro e as folhas frescas submetidas à extração pelo método de Clevenger modificado. O óleo obtido foi analisado por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton e de carbono-13. O componente majoritário do óleo foi identificado como isoafricanol. Este é o primeiro registro de um esqueleto africano em pteridófito.

Palavras-chave: Isoafricanol, sesquiterpeno, africano, pteridófito, *Anemia tomentosa*

ABSTRACT: Isoafricanol, an unusual sesquiterpene from the Pteridophyte *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*. This work reports the isolation and preliminary chemical analyses of the essential oil from *Anemia tomentosa* (Savigny) Swartz var. *anthriscifolia* (Schrader) Mickel (Schizaeaceae). Plants were collected from a rocky area in the State of Rio de Janeiro, and fresh leaves were submitted to modified Clevenger extraction. The essential oil was analyzed by GC-MS and by ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopies. The major component was unambiguously identified as isoafricanol. This is the first report of an African sesquiterpene in Pteridophyta.

Key words: Isoafricanol, sesquiterpene, African, pteridophytes, *Anemia tomentosa*

INTRODUÇÃO

Schizaeaceae é uma família primitiva de pteridófitas formada por quatro gêneros *Lygodium*, *Schizaea*, *Mohria* e *Anemia*. O gênero *Anemia* possui cerca de 80 a 100 espécies distribuídas pela América Tropical, África e sudeste da Índia (Mickel, 1962; Tryon e Tryon, 1982; Kramer e Green, 1990). As regiões Sudeste e Central do Brasil são um dos centros de diversidade do gênero, possuindo, portanto muitas espécies endêmicas (Tryon e Tryon, 1982). *Anemia tomentosa* (Savigny) Swartz var. *anthriscifolia* (Schrader) Mickel é uma pteridófito de ocorrência comum em regiões rochosas e, segundo Mickel (1962), essa espécie pode ser distinguida de outras variedades pela combinação da lâmina deltóidea, segmentos foliares agudos, pecíolo com manchas escuras e pina basal fértil maior que a lâmina foliar. Suas folhas são muito aromáticas, o que sugere a presença de óleos essenciais. Estudos químicos em espécies de pteridófitas no Brasil são escassos, merecendo destaque o trabalho de Salatino e Prado (1998). No tocante aos terpenóides, poucos têm sido registrados em pteridófitas, e alguns sesquiterpenos são exclusivos delas (Soeder, 1985; Gottlieb O.R. et al., 1990). O presente trabalho relata a obtenção do óleo essencial de *A. tomentosa* var. *anthriscifolia* e o estudo preliminar de sua composição química.

Recebido para publicação em 01/03/2004.
Aceito para publicação em 31/10/2006.

MATERIAL E MÉTODO

Material botânico

O material botânico (planta inteira) foi coletado no período da manhã (6 horas), em uma pedreira desativada no município de São Gonçalo (RJ). Exsicatas encontraram-se depositadas no Herbário do Museu Nacional do Rio de Janeiro (R), M. Guerra Santos 1007 (R-192953) e 1008 (R-192951). A identificação da espécie foi realizada seguindo Mickel (1962) e também por comparações feitas em herbários (R e RB). Os cortes histológicos das folhas foram feitos a mão livre com auxílio de lâminas de barbear e os testes histoquímicos para óleos com Sudan III.

Obtenção e análise do óleo essencial

Folhas frescas (389,6g) foram submetidas à extração pelo método de Clevenger modificado. O óleo obtido (0,8 mL, rendimento 0,17%) foi analisado por CG-EM equipado com banco de dados e por RMN-¹H e RMN-¹³C (BBD, APT) uni- e bidimensional. O óleo essencial foi dissolvido em hexano e analisado em cromatógrafo HP-6890, equipado com coluna capilar apolar HP-5 (compr. 30m), no modo programação de temperatura: t° inicial 70°C durante 5 minutos, rampa de 3 °C/min. até 280 °C, fluxo de 0,5 mL/min. Os tempos de retenção foram medidos em minutos e as quantidades relativas das substâncias na mistura foram obtidas em valores percentuais diretamente do integrador do equipamento. Essa análise revelou a presença de um componente majoritário -1- (76% da composição total do óleo). Os espectros de RMN de

^1H e de ^{13}C foram registrados em equipamento AC-200, a 200 MHz para hidrogênio e a 50 MHz para carbono, sendo a amostra de óleo essencial dissolvida em CDCl_3 .

Isoafricanol (**1**): EM (70eV) m/z (intensidade): 222 (M^+ , 7), 207 (15,5; $\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 204 (11,6; $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 189 (19; $\text{M}^+ - \text{CH}_3, \text{H}_2\text{O}$), 165 (25), 151 (22,5), 125 (29), 109 (73), 98 (84), 83 (90), 79 (47,5), 67 (57) e 55 (100); RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) (Tabela 1); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) (Tabela 1).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Anemia tomentosa var. *anthriscifolia* (Figura 1) é uma espécie litofílica, muito aromática, sem uso popular no Estado do Rio de Janeiro. Cortes histológicos dessa planta permitiram determinar que o óleo essencial é produzido por pêlos glandulares existentes na epiderme da lâmina foliar. O óleo obtido, em rendimento de 0,17%, é de cor alaranjada; mostrou em CG-EM a presença de um componente - **1** - majoritário (76% da composição total do óleo) e de diversos outros componentes (~30) de abundância relativa $\leq 1\%$. Essa característica permitiu obter espectros de RMN- ^1H e de RMN- ^{13}C (Tabela 1), praticamente, sem interferência de sinais de impurezas, não sendo necessário purificar o óleo.

Dados de EM e RMN- ^{13}C (BBD e ATP) do óleo essencial indicaram a fórmula molecular de **1** ($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$), a ausência de ligações múltiplas, logo sua natureza tricíclica, bem como a presença de 4 CH_3 , 5 CH_2 , 3 CH , 2 C e 1 $\text{C}(\text{OH})$. O espectro de RMN- ^1H revelou três grupos metilas em carbonos quaternários

(δ 0,92, 0,96 e 1,09) e 1 em carbono terciário (δ 0,89), além de sinais característicos para 3H em anel ciclopropano centrados em δ 0,13-0,40 e 0,68. Simulação computadorizada dos dados de RMN sugeriu que o esqueleto não fosse formado por dois anéis de seis membros, além do ciclopropano, e apontou para uma estrutura do tipo triciclo [5.7.3] undecano. Esse padrão estrutural é raro entre sesquiterpenos; o mais comum, aromadendrano, foi descartado por ter apenas dois e não três hidrogênios em anel ciclopropano. Análise minuciosa da literatura permitiu concluir que apenas o esqueleto africano preenchia os requisitos apontados acima. O primeiro representante dessa classe, africanol **2**, foi isolado por um de nós há 30 anos (Tursch *et al.*, 1974). O esqueleto africano resulta de uma ciclização incomum do precursor humuleno (Figura 2), a qual estabelece de uma só vez as configurações relativas dos quatro carbonos das junções cíclicas (Tursch *et al.*, 1974). Comparação dos dados espectrais de **1**, com todos os africanos conhecidos, permitiu a fácil identificação de **1** como isoafricanol (Tabela 1), um metabólito encontrado no fungo *Leptographium lundbergii* (Abraham *et al.*, 1986) e na hepática *Pellia epiphylla* (Fricke *et al.*, 1999) e cuja síntese já foi descrita como subproduto da síntese de africanol (**2**), um metabólito que chamou muita atenção em vista da originalidade do seu esqueleto e, principalmente, em razão do desafio que representava a síntese estereoespecífica de um composto que possui cinco carbonos assimétricos sequenciais (Paquette e Ham, 1986; Marques *et al.*, 2000).

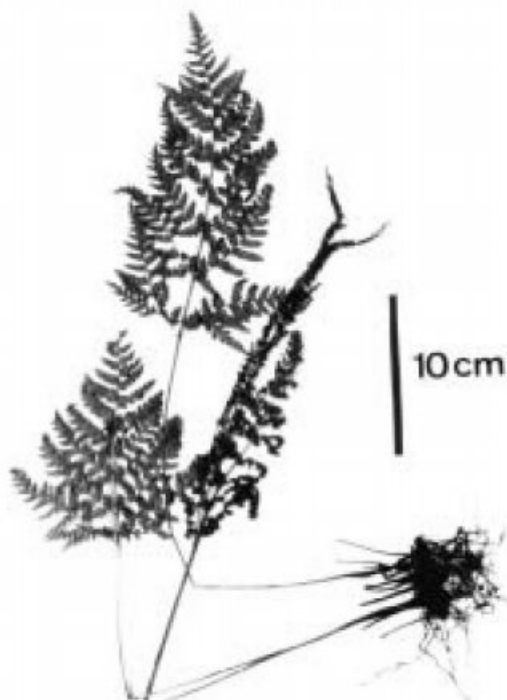
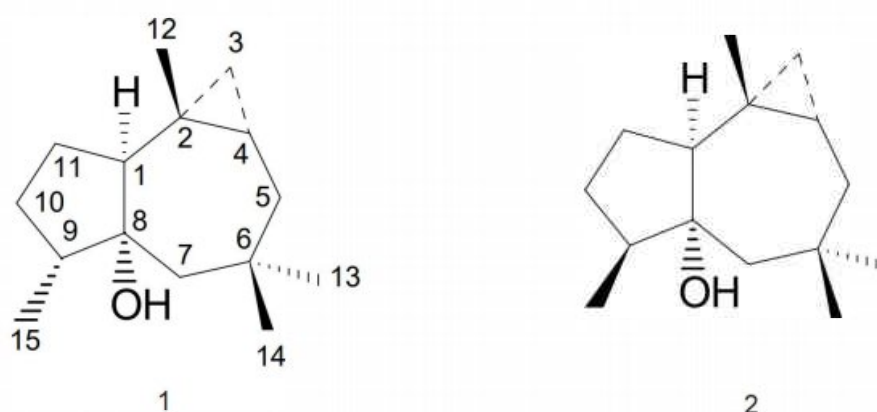


FIGURA 1. *Anemia tomentosa* (Savigny) Swartz var. *anthriscifolia* (Schrader) Mickel.

TABELA 1. Dados de RMN-¹H e de ¹³C de isoafrikanol (**1**) comparados com dados da literatura sobre isoafrikanol e africano (**2**)

Nº	isoafrikanol este trabalho (*)		isoafrikanol literatura (**)		africano literatura (***)	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
1	~ 1,7 m	53,56 CH	1,74 m	54,06	n.d.	56,06
2	-	18,41 C	-	18,45	-	18,52
3	0,13 dd (J= 4,2;4,7) 0,40 dd (J= 8,3; 4,3)	22,46 CH ₂	0,12 dd (J= 4,1; 5,1) 0,39 dd (J= 8,3 e 4,1)	22,76	3H de 0,10	23,76
4	0,68 dddd (J=4,2; 8,3; 5,0; 12,1)	20,66 CH	0,66 dddd (J= 4,2; 8,3; 5,1; 12,3)	21,02	Até 0,75	20,75
5	1,27 dd (J=12,2; 14,3) 1,68 dd (J=14,3; 4,5)	40,67CH ₂	1,26 dd (J=12,3; 14,1) 1,67 ddd (J=4,2; 14,1; 1,1)	41,06	n.d.	40,46
6	-	33,81C	-	34,10	-	34,38
7	1,43 d (J=15) 1,51 d (J=15)	46,12 CH ₂	1,46 dd (J= 1,1; 14,8) 1,53 d (J= 14,8)	46,51	n.d.	45,19
8	-	85,49 C(O)	-	85,81	-	87,12
9	1,58 dt (J=11; 7)	45,44 CH	1,56 ddq (J=11,9, 6,8; 6,7)	45,74	n.d.	50,11
10	1,38 m e ~ 1,7 m	31,07 CH ₂	1,37 m e 1,7 m	31,39	n.d.	32,18
11	1,85 m e ~ 1,7 m	23,25 CH ₂	1,84 m e 1,7 m	23,56	n.d.	26,09
12	0,92 s	21,92 CH ₃	0,90	22,14	0,95 s	23,05
13	1,11 s	30,92 CH ₃	1,09	31,16	1,10 s	31,53
14	0,97 s	31,45 CH ₃	0,96	31,67	1,00 s	31,79
15	0,90 d (J=6,5)	12,14 CH ₃	0,89 d (J=6,7)	12,33	0,88 d (J=7)	15,41

(*) 200MHz para ¹H e 50MHz para ¹³C; solvente: CDCl₃; constantes de acoplamento (J) expressas em Hz; s: singlete, d: duplete, t=tripleto, q=quadruplete e m=multiplete; (**)RMN-¹H: CDCl₃ (400MHz) e ¹³C: CDCl₃ (75,5MHz) (Abraham *et al.*, 1986) ; (***) RMN-¹H: CDCl₃ (60MHz) e ¹³C: CDCl₃ (22,63MHz); n.d.=não descrito (Tursch *et al.*, 1974).



O esqueleto africano tem de c.a. 30 representantes. Foi obtido pela primeira vez, do octocoral *Lemnalia africana* (Tursch *et al.*, 1974); a seguir, da Compositae *Senecio oxyriifolius* (Bohlmann e Zdero, 1978), da Verbenaceae *Lippia integrifolia* (Dartayet *et al.*, 1984; Catalán *et al.*, 1992; Fricke *et al.*, 1999), do fungo *L. lundbergii* (Abraham *et al.*, 1986), de seis octocorais do gênero *Sinularia* (Kashman *et*

al., 1980; Braekman *et al.*, 1980; Anjaneyulu *et al.*, 1997, 1999; Bala-Show-Reddy *et al.*, 1999; Ramesh *et al.*, 1999; Reddy *et al.*, 2002), e de quatro hepáticas dos gêneros *Pellia* (Cullmann e Becker, 1998) e *Porella* (Asakawa *et al.*, 1980; Toyota *et al.*, 1992; Tori *et al.*, 1993a, 1993b, 1996; Nagashima *et al.*, 1996; Nagashima e Asakawa, 2001). Esta é a primeira ocorrência de um africano em pteridofita.

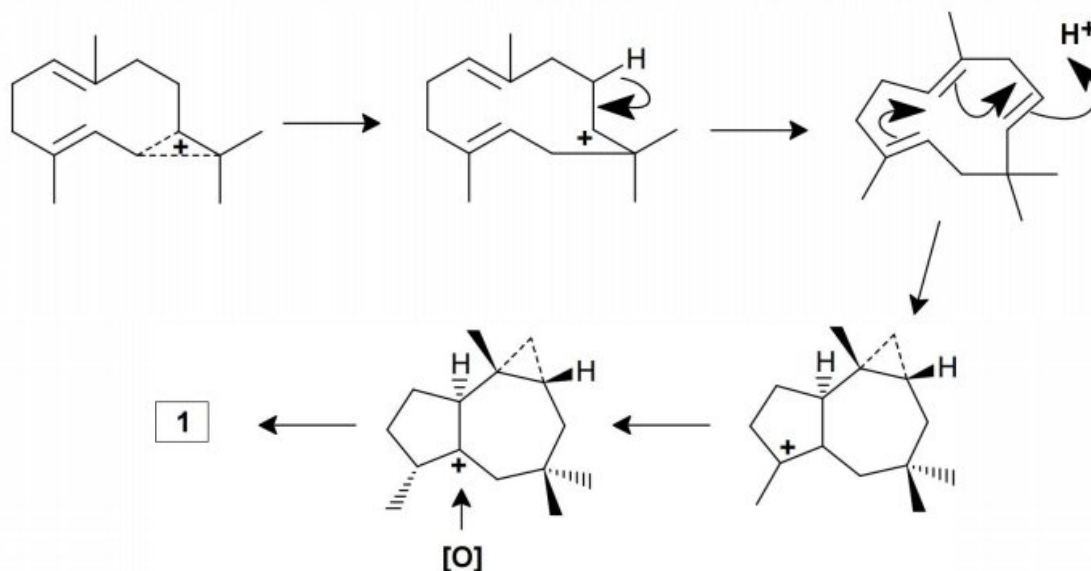


FIGURA 2. Proposta biogenética para o esqueleto africano (adaptado de Tursch *et al.*, 1974).

Curiosamente, os africanos das hepáticas pertencem à série enantiomérica daqueles de octocorais. Esse fato já foi apontado na década de 70 para outros esqueletos sesquiterpênicos de hepáticas e octocorais (Ciereszko e Karns, 1973, p.193; Kelecom, 1976), mas permanece até hoje sem explicação.

Até aqui, não se conhece nenhum tipo de uso popular para os africanos, embora o uso potencial na perfumaria de sesquiterpenos marinhos, entre os quais africanol, foi avaliado pelo grupo Roussel-Uclaf dentro da sua filial carioca SARSA (Kannengiesser e Kelecom, 1981). Mais recentemente, seco-africanos foram obtidos da Verbenaceae *L. integrifolia*, usada na Argentina como diurética e emenagoga, mas a atividade não foi atribuída a esses sesquiterpenos (Catalán *et al.*, 1992).

Em observações de campo constatamos que diferentes espécies de *Anemia* possuem aromas singulares, reafirmando Page (2002) de que muitas pteridófitas podem ser distinguidas olfativamente. Desse modo, os resultados apresentados no presente trabalho, demonstram a importância de estudos ecológicos e químicos das espécies de *Anemia*.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao NPPN-UFRJ e à Farmanguinhos (FIOCRUZ-RJ) pelos espectros de RMN e pela análise em CG-EM. Parte deste trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), através de auxílio à infra-estrutura (PAI, nº E-26/170.694/2001).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABRAHAM, W.R.; ERNST, L.; WITTE, L.; HASSEN, H.P.; SPRECHER, E.. New trans-fused africanols

from *Leptographium lundbergii*. **Tetrahedron**, v.42, n.16, p. 4475-4480, 1986

ANJANEYULU, A.S.R.; KRISHNAMURTHY, M.V.R.; RAO, G.V. Rare aromadendrane diterpenoids from a new soft coral species of *Sinularia* genus of the Indian Ocean. **Tetrahedron**, v. 53, n.27, p.9301-9312, 1997.

ANJANEYULU, A.S.R.; GOWRI, P.M.; MURTHY, M.V.R. New sesquiterpenoids from the soft coral *Sinularia intacta* of the Indian Ocean. **Journal of Natural Products**, v. 62, n.12, p. 1600-1604, 1999.

ASAKAWA, Y.; YAMAMURA, A.; WAKI, T.; TAKEMOTO, T. Caespitone, a new cyclopropanoid pseudoguaiane and *ent*-sesquiterpenes from *Porella* species. **Phytochemistry**, v. 19, n.4, p. 603-607, 1980.

BALA SHOW REDDY, G.; VENKATA RAO, D.; BHEEMASANKARA RAO, C.; DHANANJAYA, N., KUTTAN, R.; BABU, T.D. Isolation and structure determination of new sphingolipids and pharmacological activity of africanene and other metabolites from *Sinularia leptoclados*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 47, n.9, p. 1214-1220, 1999.

Bohlmann, F.; Zdero, C. Über einen neuen sesquiterpentyp aus *Senecio oxyriifolius*. **Phytochemistry**, v.17, n.9, p. 1669-1671, 1978.

BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D.; TURSCH, B.; HULL, S.E.; DECLERCQ, J.P.; GERMAIN, G.; VAN MEERSCH, M. Chemical Studies of Marine Invertebrates XXXVIII. $\Delta^{9(15)}$ -africanene, a new sesquiterpene hydrocarbon from the soft coral *Sinularia polydactyla* (Coelenterata, Octocorallia, Alcyonaceae). **Experientia**, v. 36, n.8, p. 893, 1980.

CATALÁN, C.A.N.; FENIK, I.J.S.; ARRIAZU, P.J.; KOKKE, W.C.M.C. 4,5-seco-african-4,5-dione from *Lippia integrifolia*. **Phytochemistry**, v.31, n.11, p. 4025-4026, 1992

- CIERESZKO, L.S.; KARNS, T.K.B. Comparative biochemistry of coral reef coelenterates. In: JONES, A.; ENDEAN, R. (Org.). **Biology and Geology of Coral Reefs**. vol. II, Biology 1, cap. 6. New York: Academic Press, 1973.
- CULLMANN, F.; BECKER, H. Terpenoid constituents of *Pellia epiphylla*. **Phytochemistry**, v. 47, n.2, p. 237-245, 1998.
- DARTAYET, G.H.; CATALÁN, C.A.N.; RETAMAR, J.A.; GROS, E.G. Sesquiterpenoids from *Lippia integrifolia* – Africanone, a tricyclic sesquiterpene ketone. **Phytochemistry**, v. 23, n. 3, p. 688-689, 1984.
- FRICKE, C.; HARDT, I.H.; KÖNIG, W.A.; JOULAIN, D.; ZYGADLO, J.A.; GUZMÁN, C.A. Sesquiterpenes from *Lippia integrifolia* essential oil. **Journal of Natural Products**, v.62, n.5, p. 694-696, 1999.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; ZOCHER, D.H.T.; KUBITZKI, K. A Chemosystematic Overview of Pteridophytes and Gymnosperms pp. 2-10. In: KUBITZKI, K. (Org.). **The Families and Genera of Vascular Plants**. Vol. 1, Pteridophytes and Gymnosperms, vol. 1. Berlin: Springer-Verlag, 1990.
- KANNEGIESSER, G.J.; KELECOM, A. **Unidade de Pesquisa SARSA: relatório de atividades para o quinquênio 1976-1981**. Paris: Roussel-Uclaf, 1981.
- KASHMAN, Y.; BODNER, M.; FINER-MOORE, J.S.; CLARDY, J. $\Delta^9(15)$ -africanene, a new sesquiterpene hydrocarbon from the soft coral *Sinularia erecta*. **Experientia**, v. 36, n.8, p. 891-892, 1980.
- KELECOM, A. On propose un ensemble d'expériences pour comprendre pourquoi les sesquiterpènes marins sont les enantiomères de leurs correspondant terrestres. 1976. Tese (Doutorado) (thèse-annexe), Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique.
- KRAMER, K.U.; GREEN, P.S. Pteridophytes and Gymnosperms. In: KUBITZKI, K. (Org.). **The families and genera of vascular plants**. v.1. Berlin: Springer-Verlag, 1990. p. 258-261.
- MARQUES, F. A.; FERREIRA, J.T.; PIERS, E. Synthesis of (\pm)-africanol. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.11, n.5, p. 502-511, 2000.
- MICKEL, J.T. A monographic study of the fern genus *Anemia*, subgenus *Coptophyllum*. **Iowa State Journal of Science**, v. 36, n.4, p. 349-482, 1962.
- NAGASHIMA, F.; ASAKAWA, Y. Sesqui- and diterpenoids from two Japanese and three European liverworts. **Phytochemistry**, v. 56, n.4, p. 347-352, 2001.
- NAGASHIMA, F.; IZUMO, H.; ISHIMARU, A.; MOMASAKI, S.; TOYOTA, M.; HASHIMOTO, T.; ASAKAWA, Y. Africane and monocyclofarnesane-type sesquiterpenoids from the liverwort *Porella subobtusa*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1285-1291, 1996.
- PAGE, C.N. Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 119, n. 1, p. 1-33, p. 2002.
- PAQUETTE, L.A.; HAM, W.H. Total synthesis of africanol. **Tetrahedron Letters**, v. 27, n. 21, p. 2341-2344, 1986.
- RAMESH, P.; REDDY, N.V.; RAO, T.P.; VENKATESWARLU, Y. New oxygenated africanenes from the soft coral *Sinularia dissecta*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 7, p. 1019-1021, 1999.
- REDDY, N.V.; GOUD, T.V.; VENKATESWARLU, Y. Seco-sethukarailin, a novel diterpenoid from the soft coral *Sinularia dissecta*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 7, p.1059-1060, 2002.
- SALATINO, M.L.F.; PRADO, J. Flavonoid glycosides of Pteridaceae from Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, n.7, p. 761-769, 1998.
- SOEDER, R.W. Fern constituents: including occurrence, chemotaxonomy and physiological activity. **Botanical Review**, v. 51, n.4, p. 442-536, 1985.
- TORI, M.; NAKASHIMA, K.; TOYOTA, M.; ASAKAWA, Y. Revised structure of caespitane isolated from the liverwort *Porella caespitans* var. *setigera* and *Porella swartziana*. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n.23, p. 3751-3752, 1993a.
- TORI, M.; NAKASHIMA, K.; TAKEDA, T.; ASAKAWA, Y. Structure of secoswartzinins A and B isolated from the liverwort *Portella swartziana*. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 23, p. 3753-3754, 1993b.
- TORI, M., NAKASHIMA, K., TAKEDA, T., KAN, Y., TAKAOKA, S. & ASAKAWA, Y. Novel sesquiterpenoids from the Colombian liverwort *Porella swartziana*. **Tetrahedron**, v. 52, n. 18, p. 6339-6354, 1996.
- TOYOTA, M.; NAGASHIMA, F.; SHIMA, K.; ASAKAWA, Y. Africane- and santalane-type sesquiterpenoids from the liverwort *Porella caespitans* var. *setigera*. **Phytochemistry**, v. 31, n.1, p. 183-189, 1992.
- TRYON, R.M.; TRYON, A.F. **Ferns and allied plants with special reference to Tropical America**. Berlin: Springer-Verlag, 1982. 857 p.
- TURSCH, B.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D.; FRITZ, P.; KELECOM, A.; KARLSSON, R.; LOSMAN, D. Africanol, an unusual sesquiterpene from *Lemnalia africana* (Coelenterata, Octocorallia, Alcyonaceae). **Tetrahedron Letters**, v. 9, p. 747-750, 1974