

Heterosídeos antraquinônicos em frutos de *Senna macranthera*
(Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby.

Tese apresentada para o Concurso de
Professor Titular de Farmacognosia,
Departamento de Farmácia, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde,
Pontifícia Universidade Católica do
Paraná.

Curitiba

1993

À Irene, minha mulher, e ao Ricardo,
Daniela e Adriana, meus filhos.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. ANTONIO CARLOS MIRA, Chefe do Departamento de Farmácia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelo incentivo e apoio na realização deste trabalho.

Ao Dr. RUPERT BARNEBY, Curador do Jardim Botânico de Nova Iorque, pela classificação da espécie estudada.

Ao Prof. EDUARDO AUGUSTO MOREIRA pela orientação e colaboração, permitindo o uso dos equipamentos do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná.

Ao Prof. CID AIMBIRÉ DE MORAES SANTOS, pelo estímulo e colaboração na execução e interpretação dos espectros de ultravioleta.

À Prof^a. YOSHIKO YASSUMOTO, pelo auxílio na execução dos desenhos.

Ao Prof. JOÃO BATISTA CHAVES CORREA, pela execução e interpretação das análises de cromatografia gasosa (*in memoriam*).

À todos os colegas da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela amizade e pelo estímulo para que este trabalho pudesse chegar a bom termo.

S U M Á R I O

AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO.....	VIII
1 - INTRODUÇÃO.....	01
1.1 - Revisão bibliográfica.....	02
1.2 - Enquadramento taxonômico.....	11
1.3 - Os heterosídeos antraquinônicos.....	17
1.4 - Proposição.....	21
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1 - Material.....	23
2.2 - Métodos.....	24
2.2.1 - Abordagem farmacológica.....	24
2.2.2 - Análise dicotômica.....	25
2.2.2.1 - Análise cromatográfica da frações.....	30
2.2.3 - Determinações quantitativas.....	32
2.2.3.1 - Método gravimétrico.....	32
2.2.3.2 - Método espectrofotométrico.....	32
2.2.4 - Extração e identificação da genina.....	34
2.2.4.1 - Determinação do ponto de fusão.....	35
2.2.4.2 - Espectrofotometria de ultravioleta.....	35
2.2.5 - Extração e identificação da glicona.....	35
2.2.5.1 - Cromatografia em camada delgada.....	36
2.2.5.2 - Cromatografia gasosa.....	38
2.2.6 - Análise farmacodinâmica preliminar.....	38
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4 - CONCLUSÕES.....	58
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig. 1 - *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel)
Irwin & Barneby. Exemplar florido cultivado como
ornamental.....14

Fig. 2 - *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel)
Irwin & Barneby. Exemplar com frutos maduros.....14

Fig. 3 - Detalhes do fruto e da folha.....15

Fig. 4 - Detalhes de um rácimo corimboso com flores abertas...16

Fig. 5 - Estrutura da antraquinona.....17

Fig. 6 - Estruturas dos derivados da antraquinona: antronas
e diantronas.....19

Fig. 7 - Esquema do fracionamento dicotômico para extração
da genina.....29

Fig. 8 - Esquema do processo de obtenção da glicona.....37

Fig. 9 - Cromatografia em camada delgada das frações obtidas..42

Fig. 10 - Espectro de ultra-violeta do composto 1. Absorção
máxima: 226, 256, 278 e 436 nm.....47

Fig. 11 - Espectro de ultra-violeta do composto 2. Absorção máxima: 224, 265, 287 e 435 nm.....	48
Fig. 12 - Espectro de ultra-violeta do composto 3. Absorção máxima: 222, 252, 265, 289 e 437 nm.....	49
Fig. 13 - Cromatografia em camada delgada da glicona e dos padrões de ramnose e glicose.....	52
Fig. 14 - Cromatografia gasosa dos padrões acetilados: ramnose, arabinose, xilose, manose, galactose e glicose.....	53
Fig. 15 - Cromatografia gasosa da glicona separada após e hidrólise e acetilada.....	54

LISTA DE TABELAS

Tab. I - Resultados da abordagem farmacológica preliminar..40

Tab. II - Pontos de fusão obtidos com os compostos isolados..45

Tab. III - Pontos de fusão dos derivados antraquinônicos
citados na literatura (31, 60).....45

Tab. IV - Resultados dos doseamentos gravimétrico e
espectrofotométrico.....51

A ocorrência de heterosídeos antraquinônicos nos frutos de *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* Irwin & Barneby foi determinada qualitativa e quantitativamente. Por cromatografia preparativa foram isolados 3 compostos do grupo, que, submetidos às análises de cromatografia em camada delgada, ponto de fusão e espectrofotometria de ultra-violeta, constatou-se tratarem-se de modina, crisofanol e fiscion. A análise quantitativa realizada pelo método gravimétrico apontou 0,542% de geninas totais, enquanto o método espectrofotométrico apontou 0,295% de geninas totais. As análises biológicas realizadas em camundongos, para aquilatar-se o possível efeito catártico, resultaram negativas. Os resultados obtidos contribuíram para o conhecimento fitoquímico da espécie e para o seu enquadramento quimiotaxonômico. Todavia, os baixos teores de derivados antraquinônicos encontrados, desaconselham o seu emprego como substituto do sene oficial ou como fonte para obtenção desses compostos.

I - I N T R O D U Ç Ã O

Tem sido frequentes, nos encontros de Farmacognosia e de Produtos Naturais, os apelos no sentido de se aprofundarem as pesquisas sobre plantas, visando aquilatar-se melhor as potencialidades da flora brasileira.

Com efeito, atualmente considera-se existir no Brasil aproximadamente 120.000 espécies. Destas, muito poucas têm sido estudadas no que tange a ocorrência de metabólitos secundários. Somente com esse conhecimento poder-se-á avaliar cada espécie, quer para o seu aproveitamento como fonte de fitofármacos, quer como droga alternativa. Por outro lado, tal conhecimento também é importante para a quimiotaxonomia, ciência que vem se firmando como elemento de apoio na sistemática vegetal e cuja expansão tem sido dificultada exatamente pela falta de informações desse tipo.

Há muitos séculos drogas ricas em heterosídeos antraquinônicos vêm sendo empregadas como laxativas. Por não perderem a ação com o uso prolongado, nem apresentarem efeitos colaterais graves, elas tem se mantido prestigiadas no arsenal terapêutico. Assim, a Farmacopéia Brasileira III inscreve quatro drogas desse grupo: áloe, cáscara sagrada, ruibarbo e sene. Nenhuma delas é nativa do Brasil. Nosso País as adquire no mercado internacional, dispendendo anualmente mais de um milhão de dólares na sua importação. Este fato tem estimulado inúmeras pesquisas objetivando a substituição das drogas importadas por nacionais.²²

Particular interesse tem merecido as espécies do gênero

Cassia, extremamente abundantes, e que há muito vem sendo estudadas quanto à possibilidade de substituírem o sene. A propósito, WASICKY, já em 1941, destacava o grande número de espécies de *Cassia* citadas na Flora Brasiliensis e sugeria uma pesquisa sistemática do gênero, pois acreditava na possibilidade de se encontrar alguma espécie equivalente ou superior a essa droga.⁶⁸⁻⁶⁹

O presente trabalho é uma contribuição ao conhecimento da espécie *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby.

1.1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A abundância do gênero *Cassia*, em nosso país, pode ser verificada pelos registros, entre outros, da Flora Fluminensis, que cataloga 19 espécies, e da Flora Brasiliensis de MARTIUS, onde estão relacionadas 189 espécies.⁶⁸

As primeiras pesquisas realizadas no Brasil sobre o gênero *Cassia* datam do século passado. COSTA, numa revisão bibliográfica das plantas medicinais brasileiras, cita onze trabalhos sobre esse gênero, onde se destaca, como o mais antigo, o de THEODOR PECKOLT, datado de 1876, no qual é procedida pesquisa de ácido crisofânico em *C. bijuga* Vogel.¹⁴

Dessa época data também a tese do Dr. JOSÉ MANOEL DE CASTRO, intitulada "Purgativos indígenas do Brasil", apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1877. O autor considera o sene uma droga perfeitamente substituível e refere-se à ação laxativa da *C. fistula* L., conhecida popularmente como cana

fístula; da *C. molis*, conhecida por mari-mari; da *C. cathartica* Mart., conhecida por sene-do-campo; da *C. médica* Vell., conhecida por mamangá; da *C. rugosa* Don., conhecida por amendoerinha; da *C. leiandra* Benth.; da *C. splendida* Vog.; da *C. occidentalis* L.; da *C. sericea* Sw.; da *C. magnífica*; da *C. bicapsularis* L. e da *C. pubescens* Jacq.¹¹

PIO CORREA, no levantamento que procedeu de plantas úteis do Brasil, entre as inúmeras espécies de *Cassia* que registra, menciona como purgativas: *C. rugosa* Don., *C. ferruginea* Schrader, *C. grandis* L., *C. fistula* L., *C. chamaecrista* L., *C. alata* L., *C. oblongifolia* Vog., *C. corumbosa* Lam., *C. quinqueangulata* Rich., *C. occidentalis* L., *C. sclerocarpa* Vog., *C. tora* L., *C. desvauxii* Collad, *C. marylandica* L., *C. mucronata* Spreng e *C. uniflora* Spreng. De todas essas espécies, poucas são as que mereceram, até hoje, estudos mais aprofundados.⁴⁵

WALDEMAR PECKOLT, em 1934, estudando a *C. cathartica* Mart., considerou-a de efeitos laxativos mais brandos que os do sene, podendo este substituir, desde que utilizada em doses maiores. Nesse sentido, propôs à Comissão Revisora da Farmacopéia Brasileira a inclusão dessa espécie no nosso Código como sena brasileira, tendo lembrado igualmente a necessidade da substituição da droga importada pela nacional na fórmula da Água laxativa vienense.⁴⁹

Os estudos e sugestões de WALDEMAR PECKOLT foram, no mesmo ano, contestados por LUCAS, que embora considerasse provável a existência de uma *Cassia* brasileira com as propriedades laxativas

do sene, achava que o assunto necessitava ainda maiores pesquisas. Este autor analisou mais de vinte espécies de Leguminosae, entre as quais a *C. cathartica* Mart., e constatou que nenhuma delas encerrava os princípios purgativos do sene.³⁷

WASICKY, procedeu análises químicas e farmacológicas em diversas espécies de *Cassia*. Em *C. alata* L., observou os efeitos purgativos das folhas e a presença de derivados antraquinônicos reduzidos nas folhas, caules e raízes. Em *C. fistula* L., também observou os efeitos purgativos das folhas e a presença de antraquinonas. Nas folhas de *C. grandis* L., de *C. multijuga* L. e de *C. bicapsularis* Rich., registrou a presença de derivados antraquinônicos. Animado por tais resultados, o autor considerou muito provável a existência de uma espécie capaz de substituir o sene e recomendou que se fizessem pesquisas mais abrangentes.⁶⁸⁻⁶⁹

STELLFELD, em 1943, procedeu estudos em folíolos de *C. neglecta* Vog., constatando a presença de derivados antraquinônicos reduzidos. Nesse trabalho é mencionado TSCHIRCH, que teria recomendado o estudo químico das cássias, visando agrupá-las sistematicamente, segundo apresentassem ou não antraquinonas.⁵⁵

Em 1948, TOLEDO retomou as pesquisas sobre *C. alata* L. Após proceder um completo estudo anátomo-morfológico dos folíolos, efetuou exames químicos e biológicos, que confirmaram os resultados anteriormente obtidos por WASICKY.⁶⁵

TOLEDO & GROTTA, em 1951, analisaram a *C. leptophylla* Vog., conhecida popularmente por barbatimão ou canafístula. Os folíolos dessa espécie, submetidos a ensaios químicos e biológicos,

demonstraram possuir derivados antraquinônicos e ação laxativa em camundongos, equivalentes a 50% do sene verdadeiro. Estes autores examinaram também folhas de *C. silvestris* Vell., da *C. Arlindo-Andradei* Hoehne e da *C. speciosa* Schrader, obtendo reações de Bornträger negativas nas duas primeiras e levemente positiva na última.⁶⁷

BRAGA, em 1952, confirmou os registros anteriores sobre a presença de antraquinonas em folíolos de *C. neglecta* Vog. e promoveu um completo estudo botânico dessa espécie.¹⁰

MATOS, em 1958, estudou diversas espécies de *Cassia* nativas do Estado do Ceará, particularmente quanto à presença de derivados antraquinônicos. Constatou reação de Bornträger positiva em folíolos de *C. hoffmannseguii* Mart. ex Bth., e em frutos de *C. chrysocarpa* Desv. e de *C. splendida* Vog. Idênticos exames em folíolos e frutos de *C. bicapsularis* L., resultaram negativos.³⁹

SILVA, em 1965, promoveu análises farmacológicas com frutos verdes e maduros de *C. alata* L., comparativamente com folíolos de sene. Trabalhando com camundongos, constatou que os frutos verdes apresentavam em ação laxativa equivalente a 50% da desenvolvida pelo fármaco oficializado. Atribuiu o fato à presença de antra-derivados, na forma reduzida (antronas e antranois).⁵¹

MOREIRA & CONTIN, em 1973, promoveram estudos químicos e anatômicos em folíolos de *C. fastuosa* Willd., tendo registrado a ocorrência de derivados antraquinônicos.⁴²

OLIVEIRA et al., em 1977, estudaram a composição química de caules de *C. dentata* Vog., *C. macranthera* D.C., *C. multijuga*

Rich. e de *C. speciosa* Schrader, tendo constatado a ocorrência de derivados antracênicos apenas nesta última espécie.⁴⁴

KRAMBECK e KRAMBECK et al., em 1984, aprofundaram as análises até então existentes sobre *C. fastuosa* Willd., registrando a ocorrência nos folíolos de um elevado teor de aloemodina, reína, emodina e senósido B. Os ensaios biológicos, efetuados em camundongos, demonstraram que os folíolos apresentam ação purgativa e ausência de efeitos tóxicos. Tais resultados levaram os autores a sugerirem a exploração da espécie "tanto na área econômica, como, após novos experimentos, na terapêutica".³²⁻³³

O interesse em se descobrir plantas capazes de substituírem o sene tem motivado trabalhos também no exterior, quase sempre voltados ao gênero *Cassia*, conforme observou-se na revisão da literatura efetuada.

KAPADIA & KHORANA determinaram o teor de derivados antraquinônicos livres e combinados, bem como a presença de senosídeos A e B em *C. fistula* L., cujos frutos são usados na Índia como purgativo suave. Os autores atribuíram esta propriedade à presença dos mencionados senosídeos.²⁸⁻²⁹

SABER et al., da Universidade de Cairo, trabalhando com folhas e frutos de *C. obovata* Colladon, constataram a presença de reína, aloemodina, crisofanol e senosídeos A e B.⁴⁸

IYENGAR et al. procederam análises biológicas com *C. fistula* L. Utilizando camundongos, compararam as diversas técnicas existentes e concluíram que o método proposto por LOU é o mais acurado. Os frutos de *C. fistula* L. foram considerados de ação

laxativa equivalente a 80% do sene.²⁵

MESSMER et al. analisaram flores de *C. reticulata* Willd. e constataram a presença de reína e aloemodina.⁴⁰

ANTON, em trabalho que se constituiu em sua tese de doutorado, propôs o emprego de uma técnica dicotômica para a pesquisa sistemática de derivados antraquinônicos e submeteu à mesma vinte espécies de *Cassia*. Utilizando folhas, constatou que todas as espécies apresentavam algum tipo de composto antraquinônico. Foram as seguintes as espécies examinadas: *C. obovata* Colladon, *C. nigricans* Vahl, *C. podocarpa* Guill. et Perr., *C. sieberiana* D.C., *C. marylandica* L., *C. occidentalis* L., *C. punctata* Vog., *C. spectabilis* D.C., *C. alata* L., *C. siamea* Lam., *C. mimosoides* L., *C. tora* L., *C. fistula* L., *C. moschata* H.B. et K., *C. mexicana* Jacq., *C. didymobotrya* Fres., *C. latopetiolata* Domb., *C. laevigata* Willd., *C. sophera* L. e *C. corymbosa* Lam. No mesmo trabalho, o autor, após analisar as vias biossintéticas que conduzem aos derivados antraquinônicos, propôs uma divisão quimiotaxonômica para as espécies do gênero *Cassia*.³

ANTON & DUQUÉNOIS analisaram diversos órgãos de *C. occidentalis* L., tendo observado que as folhas apresentavam traços de heterosídeos diantrônicos; as raízes jovens, crisofanol e emodina; as raízes adultas, fiscion e uma heterodiantrona constituída por crisofanol e fiscion; as sementes, uma homodiantrona de fiscion, até então não encontrada no reino vegetal.⁶

Os mesmos autores, em outro trabalho, procederam uma

revisão sobre o emprego de espécies de *Cassia* em países tropicais e subtropicais, colocando em destaque a *C. obovata* Colladon, *C. podocarpa* Guill. et Perr., *C. alata* L., *C. sieberiana* D.C., *C. fistula* L., *C. occidentalis* L., *C. sophera* L., *C. marylandica* L., *C. nigricans* Vahl (= *C. micrantha* Guill. et Perr.), *C. mimosoides* L., *C. obsus* L., *C. laevigata* Willd., *C. corymbosa* Lam., *C. spectabilis* D.C., *C. tora* L., e *C. siamea* Lam. Constataram que as folhas jovens de algumas espécies (*C. sophera* e *C. tora*) são empregadas como alimentos e, como purgativas, quando adultas. Os autores concluíram que existem duas grandes tendências quanto ao emprego terapêutico das espécies citadas: como laxantes, por estimularem o intestino grosso, e como parasiticidas e antimicrobianos, em doenças da pele e das mucosas.⁵

JAEGER et al. estudaram a composição de folíolos de *C. jaegeri* Keay, coletadas na África, e registraram apenas um baixo teor de crisofanol, fision e emodina.²⁶

DUQUÉNOIS & ANTON examinaram folíolos de *C. nigricans* Vahl. e de *C. podocarpa* Guill. et Perr., empregadas na terapêutica africana. Na primeira, constataram a ocorrência de emodina e emodina-antrona, enquanto na segunda, um teor significativo de reína, reína-antrona, senosídeos A e B, que justificaram o uso empírico desta planta como laxativa.¹⁷

Em outro trabalho, DUQUÉNOIS & ANTON analisaram folíolos de *C. sieberiana* D.C., empregada como laxativa em alguns países africanos. Constataram a ocorrência apenas de reína e de reína-antrona.¹⁶

SUBRAMANIAN & NAGARAJAN, trabalhando com folhas de *C. mimosoides* L., identificaram a presença de emodina, tanto livre como na forma heterosídica.⁵⁹

RIZVI et al. isolaram de folhas de *C. nodosa* Buch-Ham. um heterosídeo antraquinônico, e concluíram, baseados em estudos espectrais, tratar-se de 8-O- α -D-glucopiranosídeo do 1,3,5,8-tetrahidroxi-2,7-dimetilantraquinona e o denominaram de nodosídeo.⁴⁷

LAL & GUPTA, trabalhando com sementes de *C. occidentalis* L., utilizadas na Índia pelas propriedades catárticas, isolaram um heterosídeo antraquinônico, que identificaram como 1-glicósido-fiscion.³⁴

HAAG-BERRURIER et al. promoveram análises em folíolos de *C. rogeoni* Ghesq., constatando sua riqueza em compostos antracênicos. Identificaram os seguintes derivados: emodina-antrona, emodina, fiscion e crisofanol, tanto livres como na forma heterosídica.²³

ALVES et al., trabalhando com cascas do caule de *C. angolensis* Welw. ex. Hiern., utilizadas em Angola como purgativas, identificaram a presença de crisofanol, emodina e fiscion.²

TAWARI et al. realizaram pesquisas sistemáticas em diversas espécies de *Cassia*, reputadas na Índia como medicinais. Constataram a presença de derivados antraquinônicos em *C. tora* L., *C. sophera* L., *C. reginera* e *C. javânica*.⁶¹⁻⁶²⁻⁶³⁻⁶⁴

SINGH, trabalhando com sementes de *C. multijuga* Rich., conseguiu isolar e determinar a estrutura de três derivados antraquinônicos até então não encontrados no reino vegetal.⁵³

MALHOTRA & MISRA isolaram do lenho do caule de *C. sophera* L. dois novos isômeros de derivados antraquinônicos, que identificaram como sendo 1,2,7-trihidroxi-6,8-dimetoxi-3-metilantraquinona e 1,2,6-trihidroxi-7,8-dimetoxi-3-metilantraquinona.³⁸

KITANAKA & TAKIDO, trabalhando com sementes maduras de *C. torosa* Cavanilles, isolaram fision-8-antrona e diversos derivados de fision-10-10-diantrona, cujas estruturas determinaram através de análises espectrais.³⁰

EL-SAYYAD & ROSS, analisaram várias espécies de *Cassia* cultivadas no Egito e reputadas como medicinais. Trabalhando com folhas de *C. javanica* L., *C. didymobotrya* Fres. e *C. nodosa* Buch-Ham., identificaram diversos derivados antraquinônicos nas duas primeiras.¹⁸

ELUJOBA & IWEIBO analisaram *C. podocarpa* Guill. et Perr., empregada na medicina popular de Nigéria como purgativas. Após ensaios químicos e biológicos, concluíram que a espécie contém derivados antraquinônicos, recomendando sua utilização em substituição ao sene oficial.¹⁹

A revisão da literatura levada a efeito permitiu constatar a ausência de qualquer pesquisa sobre espécies *Cassia speciosa* var. *nervosa* (Vogel) Bentham e *C. nervosa* Vogel que, segundo estudos dos botânicos IRWIN e BARNEBY, passaram a constituir a *Senna macranthera* (Collandon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby.²⁴

1.2 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO

Apresentando aproximadamente 600 gêneros e mais de 13.000 espécies, Leguminosae constitui a segunda maior família entre as Angiospermae. Ela divide-se em três subfamílias: Faboideae, Mimosoideae e Caesalpinoideae, contendo, respectivamente, cerca de 400, 40 e 150 gêneros, que se encontram espalhados em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais ou subtropicais. É natural, portanto, que seja a família donde se obtém o maior número de drogas.²⁷

A subfamília Caesalpinoideae, à qual pertence o gênero *Cassia*, foi subdividida por BENTHAM em oito tribos: Cadiées, Eucaesalpieniées, Sclérelobiées, Amherstiées, Bauhiniées, Cassiées, Copaiférées e Dimorphandrées. Segundo o mesmo autor, a tribo Cassiées constitui-se de três subgêneros (Fístula, Senna e Lasiorhegma) e nove secções (Fístula, Chamaefístula, Oncolombium, Prososperma, Chamaessena, Psilorhegma, Apouconita, Absus e Chamaecrista).

A sistemática do gênero *Cassia* tem evoluído desde que BENTHAM promoveu, baseado na morfologia das flores e dos frutos, a primeira revisão do mesmo. Ele englobou numerosos gêneros ou reduziu-os à condição de subgêneros.

Ao contrário da proposta aglutinadora de BENTHAM, na América do Norte as Cassias encontram-se pulverizadas em quase 30 gêneros.

Essa desarmonia vinha causando inúmeras dificuldades aos sistematas e à comunidade científica em geral.

Dispostos a por um paradeiro na situação existe, IRWIN e BARNEBY fizeram uma profunda revisão na subtribo Cassinae, em particular das espécies que ocorrem nas Américas. Baseados nas características das flores e dos frutos, propuseram uma nova distribuição das espécies, as quais ficaram englobadas em 3 gêneros: *Cassia*, *Senna* e *Chamaecrista*. Segundo esses autores, *Cassia speciosa* var. *nervosa* (Vogel) Benth. e *Cassia nervosa* Vogel passaram a constituir a *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* Irwin & Barneby, cujo enquadramento taxonômico, conforme ENGLER, segue.²⁴

Divisão:	Angiospermae
Classe:	Dicotyledoneae
Subclasse:	Archychlamydeae
Ordem:	Rosales
Subordem:	Leguminosineae
Família:	Leguminosae
Subfamília:	Caesalpinoideae
Tribo:	Cassieae
Subtribo:	Cassiinae
Gênero:	<i>Senna</i>
Espécie	<i>S. macranthera</i> (Colladon) var. <i>nervosa</i> (Vogel) Irwin & Barneby.

1.3 - DESCRIÇÃO SUCINTA DA PLANTA

Árvores ou arbustos de 3 a 9 m de altura, com troncos de 6 a 15 cm de diâmetro, apresentando, quando em espaço aberto, uma copa arredondada (Fig. 1); ramos finos com pêlos aveludados ascendentes de 0,2 a 0,35 mm de comprimento. Folhas pinadas com até 20 cm de comprimento, compostas de dois pares de folíolos (Fig. 3); folíolos elípticos-acuminados, elíptico-ovalados ou ovado-obtusos, sendo o superior bem maior que o inferior, podendo apresentar glândulas atrás dos pulvínulos distais. Os folíolos são aveludados na face inferior, com pêlos de 0,2 a 0,35 mm de comprimento e glabros na face superior.

Flores amarelo-douradas dispostas em ráculos corimbosos, abertos, desprovidos de folhas e localizados no ápice dos ramos (Fig. 4). O fruto é uma vagem de comprimento variando de 15 a 36 cm, podendo apresentar de 140 a 208 sementes (Fig. 2 e 3).

A variedade ocorre em solos com 700 a 1350 m de altitude. É nativa do sul da Bahia até a Serra do Itatiaia, no Rio de Janeiro; no sul a leste de Goiás, inclusive no Distrito Federal; e, em Minas Gerais ao longo do Vale do São Francisco e na Serra do Espinhaço. É cultivada como ornamental nas cidades das regiões sul e leste do Brasil.²⁴

Fig. 1 - *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby. Exemplar florido cultivado como ornamental.



Fig. 2 - *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby. Exemplar com frutos maduros.



Fig. 3 - Detalhes do fruto maduro e da folha.

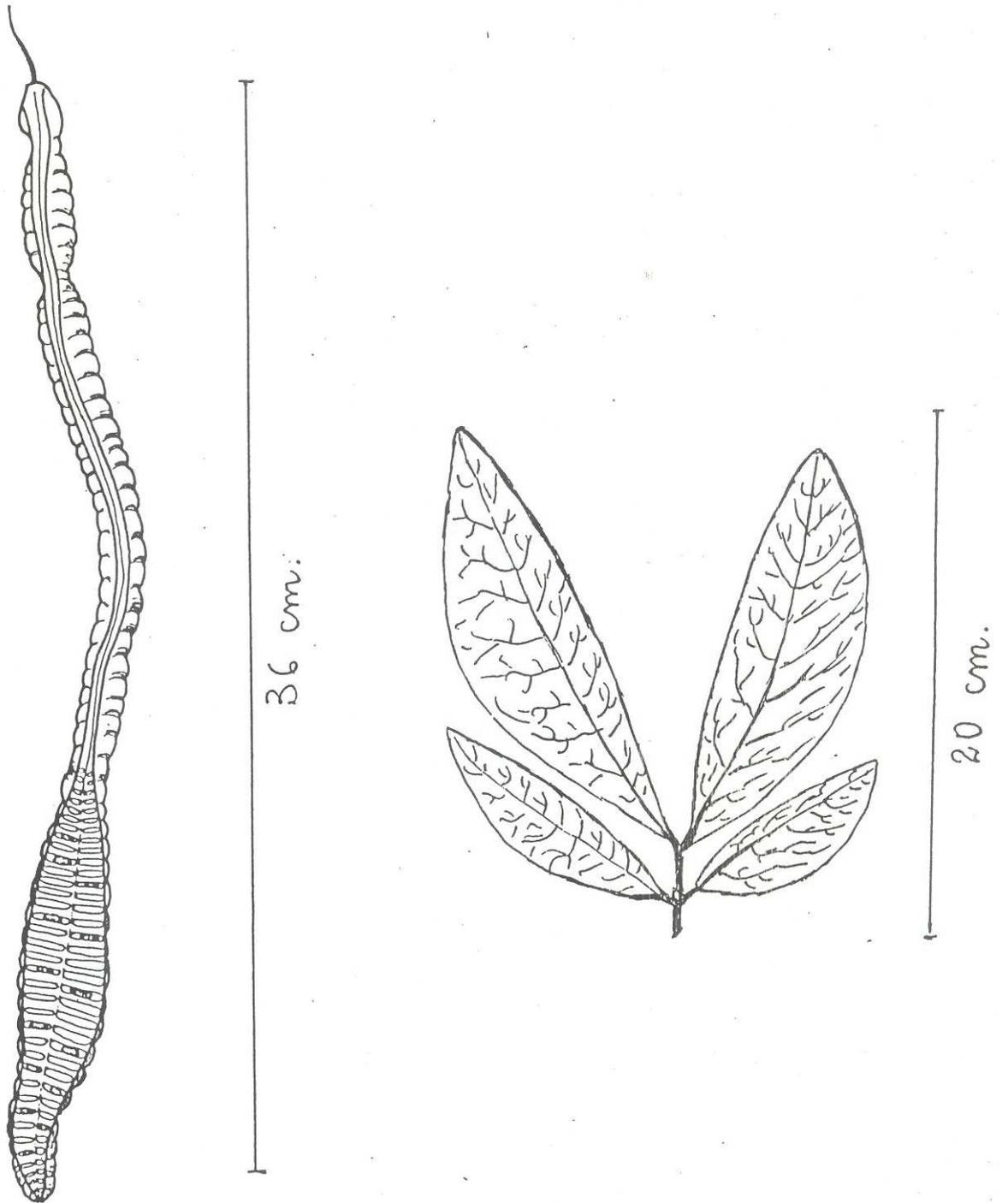


Fig. 4 - Detalhes de um rácimo corimboso com flores abertas.

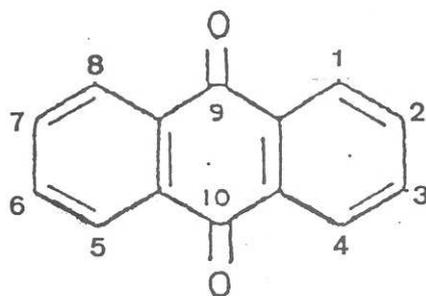


1.4 - OS HETEROSÍDEOS ANTRAQUINÔNICOS

A atividade catártica apresentada por diversas espécies do gênero *Cassia* é devida à presença de heterosídeos antraquinônicos.

A antraquinona, estruturalmente uma dicetona do antraceno (Fig. 5), é o núcleo de muitos derivados fenólicos encontrados no reino vegetal. Estes compostos, também conhecidos como oxiantracênicos, podem ocorrer formando geninas de heterosídeos, sob a forma combinada, ou na forma livre.¹²

Fig.5 - Estrutura da antraquinona.



A glicona, normalmente constituída de glicose ou ramnose, liga-se através do carbono 6.

Alguns derivados deste grupo têm propriedades corantes, como a alizarina e o carmim, enquanto outros são purgativos. Esta diferença explica-se através de variações observadas na estrutura química. Os corantes sempre têm hidroxilas nas posições 1 e 2, enquanto os compostos de ação purgativa as apresentam nas posições 1 e 8, do núcleo fundamental.

Os derivados antraquinônicos dividem-se em vários sub-

grupos, conforme o grau de redução ou oxidação que pode sofrer o núcleo básico. Assim, quando ocorre a redução de uma das carbonilas temos as antronas. Estas, podem oxidar-se, dando origem às diantronas. Na Fig. 6 estão relacionados os principais derivados de interesse farmacológico desses subgrupos.

Os compostos antraquinônicos dão positiva a reação de Bornträger. Esta baseia-se na solubilização da genina em solvente orgânico imiscível com a água e agitação dessas soluções com álcalis. A fase aquosa, alcalina, adquire tons do vermelho.

Existem várias maneiras de se praticar a reação de Bornträger; a escolha depende de como os compostos antraquinônicos ocorrem no vegetal.

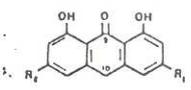
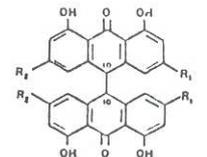
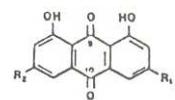
O modo mais simples é realizá-la diretamente, colocando a droga em pó em contato com a solução alcalina. Existindo antraquinonas livres, a solução toma imediatamente cor púrpura-cereja.

As outras maneiras constam da extração prévia das geninas e da reação propriamente dita.

Quando a droga apresenta geninas livres, pode-se esgotá-la diretamente com o solvente orgânico. Este, uma vez decantado, será agitado com solução alcalina.

Nos casos em que derivados antraquinônicos ocorrem apenas na forma combinada, isto é, como heterosídeos, faz-se necessário promover a sua hidrólise. Esta pode ser executada em meio ácido ou alcalino.

Fig. 6 - Estruturas dos derivados da antraquinona: antronas e diantronas.

ANTRONAS	DIANTRONAS	ANTRAQUINONAS
		
$R_1 = -CH_3; R_2 = H$ CRISOFANOL-9-ANTRONA	$R_1 = R'_1 = -CH_3; R'_2 = R_2 = H$ CRISOFANOL-10,10'-DIANTRONA	$R_1 = -CH_3; R_2 = H$ CRISOFANOL
$R_1 = -CH_2OH; R_2 = H$ ALOEMODINA-9-ANTRONA	$R_1 = R'_1 = -CH_2OH; R_2 = R'_2 = H$ ALOEMODINA-10,10'-DIANTRONA	$R_1 = CH_2OH; R_2 = H$ ALOEMODINA
$R_1 = -COOH; R_2 = H$ REINA-9-ANTRONA	$R_1 = R'_1 = -COOH; R_2 = R'_2 = H$ REINA-10,10'-DIANTRONA (Senidina A, B)	$R_1 = -COOH; R_2 = H$ REINA
$R_1 = -CH_3; R_2 = -OH$ EMODINA-9-ANTRONA	$R_1 = R'_1 = -CH_3; R_2 = R'_2 = -OH$ EMODINA-10,10'-DIANTRONA	$R_1 = -CH_3; R_2 = -OH$ EMODINA
$R_1 = -CH_3; R_2 = -OCH_3$ FISCION-9-ANTRONA	$R_1 = R'_1 = -CH_3; R_2 = R'_2 = CH_2OH$ FISCION-10,10'-DIANTRONA	$R_1 = -CH_3; R_2 = -OCH_3$ FISCION
	$R_1 = CH_3; R_2 = H; R'_1 = CH_2OH; R'_2 = H$ CRISOFANOL-ALOEMODINA-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_3; R_2 = H; R'_1 = COOH; R'_2 = H$ CRISOFANOL-REINA-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_3; R_2 = H; R'_1 = -CH_3; R'_2 = OH$ CRISOFANOL-EMODINA-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_3; R_2 = H; R'_1 = CH_3; R'_2 = -OCH_3$ CRISOFANOL-FISCION-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_2OH; R_2 = H; R'_1 = -COOH; R'_2 = H$ ALOEMODINA-REINA-DIANTRONA	
	$R_1 = CH_2OH; R_2 = H; R'_1 = -CH_3; R'_2 = OH$ ALOEMODINA-EMODINA-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_2OH; R_2 = H; R'_1 = -CH_3; R'_2 = -CH_2OH$ ALOEMODINA-FISCION-DIANTRONA	
	$R_1 = -COOH; R_2 = H; R'_1 = -CH_3; R'_2 = -OH$ REINA-EMODINA-DIANTRONA	
	$R_1 = -COOH; R_2 = H; R'_1 = CH_3; R'_2 = -CH_2OH$ REINA-FISCION-DIANTRONA	
	$R_1 = -CH_3; R_2 = -OH; R'_1 = -CH_3; R'_2 = -CH_2OH$ EMODINA-FISCION-DIANTRONA	

Hidrólise ácida - Ferve-se a droga em pó com ácido sulfúrico a 5%, durante 10 minutos. Reconstitui-se com água destilada o volume inicial e filtra-se. O filtrado esgota-se com solventes orgânico. Finalmente, separa-se a fase orgânica e agita-se com solução de amônia diluída.

Hidrólise alcalina - Ferve-se a droga em pó com solução de hidróxido de potássio a 5%, durante 5 minutos. Dilui-se com água e filtra-se. Acidifica-se o filtrado com ácido clorídrico a 10% e esgota-se com solvente orgânico. Separa-se a fase orgânica e agita-se com solução de amônia diluída.

A dosagem dos compostos antraquinônicos efetua-se principalmente por processos gravimétricos, colorimétricos e biológicos.

O método gravimétrico consiste na hidrólise do heterosídeo, separação das geninas com solventes orgânicos, evaporação destes, dessecação e pesagem do resíduo obtido.

O processo colorimétrico baseia-se na determinação da absorvância após a realização da reação de Bornträger, em determinado comprimento de onda. Em geral, de 510 a 530 nm. Como a intensidade da coloração obtida é proporcional à concentração dos compostos presentes na droga, obedecendo à Lei de BEER, o método é bastante preciso.

As dosagens biológicas fundamentam-se na determinação da atividade purgativa em animais de laboratório, após a administração oral da droga. Observa-se a consistência das fezes expedidas após um determinado tempo. Os melhores resultados se tem

conseguido com camundongos machos.

Todos os processos citados apresentam limitações. Todavia, apesar delas, os métodos biológicos são os únicos que efetivamente exprimem a atividade purgativa dos fármacos.

Convém destacar que esta atividade purgativa somente se desenvolve quando os compostos antraquinônicos ocorrem na forma heterosídica. A glicona, no caso, atua apenas como grupo de "transporte", sendo hidrolisada no organismo. As geninas são absorvidas e, através da circulação, liberadas no intestino grosso. Neste local, pela ação irritante que possuem, provocam estimulação da motilidade do plexo de AUERBACH. Portanto, raramente a ação catártica ocorre antes de 6 horas da administração do fármaco.⁸⁻²⁰⁻²¹

Embora seja regra geral que todos os derivados antraquinônicos hidroxilados nas posições 2 e 8 possuem ação laxativa, os constituintes do sene que efetivamente respondem por essa atividade são os senosídeos. Segundo LEMLI, estes compostos foram isolados pela primeira vez por STOLL et al., em 1949, que lhes determinaram a estrutura.³⁵ Tais produtos passaram a constituir uma nova classe de heterosídeos, na qual a genina é um dímero da reína-antrona.

1.5 - PROPOSIÇÃO

A inexistência de informações científicas sobre o conteúdo de princípios ativos em *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby foi o fator preponderante que levou à execução do presente trabalho, que tem por objetivos específicos:

- identificar os principais grupos de metabólitos secundários em folhas, frutos, raízes, casca e lenho do caule;
- determinar, através de análise dicotômica, os grupos dos derivados antraquinônicos, que ocorrem nos frutos maduros.
- quantificar o conteúdo de derivados antraquinônicos.
- isolar e identificar os compostos antraquinônicos predominantes; e,
- verificar, através de ensaios biológicos, a possível atividade catártica dos frutos.

2.2 - MÉTODOS

2.2.1 - ABORDAGEM FARMACQUÍMICA

ALCALÓIDES

Procedida a extração pelo método clássico de STASS-OTTO, o resíduo foi dissolvido em ácido clorídrico diluído e testado pelos reativos de Mayer, Bertrand, Dragendorff e Bouchardat.¹³

SAPONINAS

Verificou-se a capacidade do extrato aquoso produzir espuma abundante após forte agitação. Executou-se, também, a prova do poder hemolítico, em placas de gelatina sangue.¹⁵

ÓLEO ESSENCIAL

Sua ocorrência foi verificada por destilação em aparelho de Clevenger, analisando-se os caracteres organolépticos do hidrodestilado e do seu comportamento frente ao Sudam III.¹³

TANINOS

O extrato aquoso foi tratado com solução de gelatina a 1%, de cloridrato de quinino a 0,5% e cloreto férrico a 2%.¹³

ESTERÓIDES

Preparou-se um extrato alcoólico a 10%, purificou-se com solução de acetato básico de chumbo saturada e evaporou-se o solvente em banho-maria. O resíduo foi retomado em clorofórmio e submetido à reação de Liebermann-Bouchard.¹⁵

ANTRAQUINONAS

Foram pesquisadas através da reação de Bornträger, executada com prévia hidrólise ácida.¹³

FLAVONÓIDES

Preparou-se um extrato metanólico, filtrou-se e evaporou-se em banho-maria. O resíduo foi retomado em álcool diluído (60%) e o extrato submetido à reação da cianidina.¹³

2.2.2 - ANÁLISE DICOTÔMICA

A abordagem farmacológica realizada indicou a presença de derivados antraquinônicos nos frutos maduros. Esses compostos, além da importância que representam na terapêutica como catárticos, vem se constituindo em elementos para o enquadramento quimiotaxonômico de plantas.³⁻⁴⁻⁶⁻⁹ Em razão disso, a presente pesquisa foi orientada no sentido da identificação e quantificação desses constituintes.

A identificação de compostos antraquinônicos em vegetais tem se constituído motivo de preocupação dos pesquisadores. Devido a variação estrutural que podem apresentar, tem sido propostas técnicas dicotômicas de caracterização. A primeira delas foi elaborada por ANTON, que, pela sua eficiência vêm sendo empregada com freqüência.³ Com ligeiras modificações, foi o método aplicado no presente trabalho.

A extração dicotômica realizada (Fig. 7) permitiu a separação de seis frações, correspondentes a geninas livres,

geninas totais após hidrólise, geninas não reínicas, geninas reínicas, geninas oxidadas após hidrólise e C-geninas.

Todas as frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada.

Extração das geninas livres (Fração I)

Em aparelho de Soxhlet esgotou-se 5 g do material pulverizado, utilizando-se éter etílico isento de peróxidos como líquido extrator. A extração foi executada a 40°C e continuada até dar negativa a reação de Bornträger. O extrato obtido foi desidratado com sulfato de sódio anidro e teve seu volume final ajustado a 100 cm³, com éter etílico isento de peróxidos.

Extração das geninas totais após hidrólise (Fração II)

O resíduo resultante da obtenção da Fração I foi dessecado, adicionado de 50 cm³. de água destilada e aquecido em banho maria fervente, durante 15 minutos. O líquido foi filtrado e o filtro lavado com água destilada quente. Ao filtrado adicionou-se 40 cm³. de ácido clorídrico a 25% e submeteu-se a novo aquecimento em banho-maria fervente, por 15 minutos. Após o resfriamento extraiu-se o hidrolisado em funil de separação com éter etílico isento de peróxidos, utilizando-se sucessivas alíquotas de 20 cm³. Reuniu-se os extratos etéreos, desidratou-se com sulfato de sódio anidro e ajustou-se o volume para 150 cm³., com éter etílico isento de peróxidos. O extrato obtido foi dividido em 3 alíquotas, de 50 cm³. cada, reservando-se a primeira para a determinação das geninas

totais (Fração II) e as demais para a obtenção das frações subsequentes. A fase aquosa foi reservada para a pesquisa das C-geninas (Fração VI).

Extração das geninas não reínicas (Fração III)

Uma das alíquotas anteriormente obtidas foi extraída com quatro sucessivas porções de 20 cm³. de solução aquosa de borato de sódio a 0,05M. O extrato etéreo resultante foi ajustado a 50 cm³. com éter etílico isento de peróxidos. Os líquidos de lavagem foram reunidos e reservados para a obtenção das geninas reínicas.

Extração das geninas reínicas (Fração IV)

A solução aquosa resultante da obtenção da fração anterior foi acidulada com ácido clorídrico a 25%, transferida para um balão de separação e extraída com éter etílico isento de peróxidos. Os extratos etéreos foram reunidos e desidratados com sulfato de sódio anidro. O volume final foi ajustado para 50 cm³.

Extração das geninas oxidadas após hidrólise (Fração V)

A última alíquota do extrato etéreo obtida inicialmente, foi evaporada em banho-maria até secura. Ao resíduo adicionou-se 1 cm³. de etanol a 50%, 24 cm³. de solução aquosa de cloreto férrico a 26% e colocou-se em banho-maria fervente, por trinta minutos. Após o resfriamento, a solução foi repetidamente extraída com porções de 10 cm³. de éter etílico. Os extratos foram reunidos e

lavados com água destilada. O volume final foi ajustado para 50 cm³. com éter etílico.

Extração das C-geninas (Fração VI)

À solução aquosa resultante da obtenção da Fração II adicionou-se 24 cm³. de solução de cloreto férrico a 26% e aqueceu-se em banho-maria fervente durante 30 minutos. Após resfriamento, extraiu-se com sucessivas porções de 10 cm³. de éter etílico. Reuniu-se as frações etéreas, lavou-se com água destilada e ajustou-se o volume final para 50 cm³.

2.2.2.1 - ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DAS FRAÇÕES

A cromatografia em camada delgada tem se constituído no método de escolha para a separação e identificação de derivados antraquinônicos. Para a sua execução tem se empregado com freqüência a silicagel G Merck como suporte e diversos tipos de eluentes e reveladores.

Preparou-se placas cromatográficas de 10 x 20 cm. e de 20x20 cm., com suspensão de silicagel G e com 300 um de espessura. As placas foram ativadas em estufa a 105°C, por 30 minutos, e guardadas em dessecador até o momento do uso.

O equipamento cromatográfico utilizado foi fabricado pela PRODICIL - Produtos Didáticos e Científicos Ltda.

Como eluente optou-se pelo proposto por KRAMBECK, por fornecer boa separação: hexano - acetado de etila - ácido fórmico (85:20:3).³²

O percurso foi de 15 cm.

Os cromatogramas, após a evaporação do eluente, foram examinados à luz branca, à luz ultravioleta (UVANALYS - HOERNER) e após nebulização de dietilamina.

As seis frações obtidas pela análise dicotômica foram cromatografadas paralelamente aos seguintes padrões:

Crisofanol (1,8-dihidroxi-3-metil-antraquinona)

Fiscion (1,8-dihidroxi-3-metil-6-metoxi-antraquinona)

Emodina (1,6,8-trihidroxi-3-metil-antraquinona)

Reina (1,8-dihidroxi-3-carboxi-antraquinona)

Aloemodina (1,8-dihidroxi-3-hidroximetil antraquinona).

Os padrões foram solubilizados em éter etílico isento de peróxido, na concentração de 10 mg.%.

As provas cromatográficas foram realizadas à temperatura do laboratório, que variava de 15 a 20°C.

2.2.3 - DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS

A determinação quantitativa dos derivados antraquinônicos foi realizada com o emprego dos métodos gravimétrico e espectrofotométrico.

2.2.3.1 - MÉTODO GRAVIMÉTRICO

Empregou-se a técnica de ULLOA, modificada por NAKASHIMA⁴², que consistiu do seguinte: 30 g. de frutos maduros pulverizados foram colocados num balão com condensador de refluxo, juntamente com 300 cm³. de solução a 20% de ácido sulfúrico e 300 cm³. de clorofórmio. A mistura foi aquecida a 80°C, durante 48 horas. O balão foi resfriado e o conteúdo filtrado, primeiro por gaze e depois por filtro de vidro sinterizado. A camada clorofórmica foi separada e concentrada em evaporador rotatório (TECNAL, mod. TE 120). O produto obtido foi esgotado várias vezes com solução a 10% de hidróxido de sódio. Os extratos alcalinos reunidos foram acidificados com ácido sulfúrico e extraídos com clorofórmio até esgotamento total. Concentrou-se novamente o extrato clorofórmico e o resíduo passou-se a um dessecador tarado. Após a evaporação completa, o resíduo foi mantido em dessecador durante 3 dias. Pesou-se e calculou-se o percentual dos derivados antraquinônicos totais.

2.2.3.2 - MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

Este método consiste em esgotar-se com solução N de

hidróxido de sódio a fase orgânica na qual acham-se dissolvidos os derivados antraquinônicos e determinar-se a absorvância em certo comprimento de onda. O processo nada mais é do que a utilização da reação de Bornträger com fins quantitativos, já testado por TOLEDO, com o sene.⁶⁶

Como as cromatografias revelaram predominância de emodina, procedeu-se as determinações em função desse composto. Segundo COSTA¹³, sua absorvância a 510 nm é $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 330$. Os cálculos foram procedidos com base nesse dado, aplicando-se a fórmula:

$$Cd = \frac{Ad \cdot Cp}{Ap}$$

Onde, Cd = concentração do desconhecido; Ad = absorvância do desconhecido; Cp = concentração do padrão (= 1%) e Ap = absorvância do padrão (330).¹⁻⁴³⁻⁵¹

Para as leituras, que foram feitas em aparelho JOUAN-PARIS, utilizou-se as frações obtidas na análise dicotômica. Estas, foram esgotadas em funil de separação com solução N de hidróxido de sódio e passadas a um balão volumétrico de 25 cm. Quando necessário, foram procedidas diluições com a mesma solução alcalina.

2.2.4 - EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA GENINA.

As análises cromatográficas realizadas indicaram a presença de 3 compostos, que doravante serão designados por 1, 2 e 3, cujos Rfs. corresponderam aos padrões de crisofanol, fiscion e emodina. Visando a correta identificação de tais constituintes, procedeu-se a sua extração e purificação através de cromatografia preparativa.

O resíduo obtido do doseamento gravimétrico foi retomado em clorofórmio e submetido à separação cromatográfica. Para tanto utilizou-se o mesmo sistema citado em 2.2.2.1.

As placas foram preparadas com espessura de 500 um e dispensou-se o uso de revelador, uma vez que a coloração amarela dos compostos permite a fácil localização das manchas. Os pós, obtidos das raspagens, foram ressuspensos em clorofórmio e filtrados por papel. As soluções clorofórmicas foram evaporadas e os resíduos retomados em isopropanol. Após repouso das soluções obtidas, conseguiu-se a cristalização dos compostos. Os cristais foram separados por filtração através de papel e dessecados, durante 3 dias, em estufa de baixa pressão (JOUAN-PARIS).

O composto 3 foi o que apresentou maiores dificuldades em cristalizar. Após inúmeras tentativas em diversos solventes, conseguiu-se boa cristalização utilizando-se benzeno, previamente desidratado com sulfato de sódio anidro.

2.2.4.1 - DETERMINAÇÃO DO PONTO DE FUSÃO

Foi realizada em microscópio de KOFLER, marca REICHERT.

2.2.4.2 - ESPECTROFOTOMETRIA DE ULTRAVIOLETA

Os espectros de ultravioleta foram obtidos em aparelho BAUSCH & LOMB, mod. Spectronic 700, no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba, utilizando-se soluções etanólicas dos compostos cristalizados. As leituras foram procedidas em comprimento de onda de 200 a 500 nm., seguindo as recomendações da literatura.⁵²⁻⁵⁷

2.2.5 - EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA GLICONA

Para a identificação da glicona foi primeiramente procedida a extração dos heterosídeos. Após a hidrólise destes, a glicona foi separada e identificada por cromatografia em camada delgada e gasosa.

Com base na técnica descrita por SU & FERGUSON, com ligeiras modificações, procedeu-se a extração dos heterosídeos e sua hidrólise.⁵⁸ Cerca de 30 g. do material em análise foram extraídos em aparelho de Soxhlet com clorofórmio, até reação de Bornträger negativa. O resíduo foi dessecado ao ar, extraído com etanol a 95%, em aparelho de Soxhlet, durante 6 horas. Após arrefecimento, a solução alcoólica foi filtrada e alcalinizada com hidróxido de potássio a 5%. Os heterosídeos precipitaram e foram separados por centrifugação (JANETZKI - T23). O precipitado foi lavado com etanol a 95% e a seguir, ressuspensão em etanol a 40%.

Adicionou-se ácido acético glacial, gota a gota, até dissolução completa do precipitado. Após a adição de algumas gotas de ácido clorídrico conc., evaporou-se o líquido em banho-maria. O resíduo foi dissolvido em piridina (Fig. 8).

2.2.5.1 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A solução piridínica obtida foi analisada em cromatografia de camada delgada, utilizando-se placas de sílicagel G Merck, tamponadas.

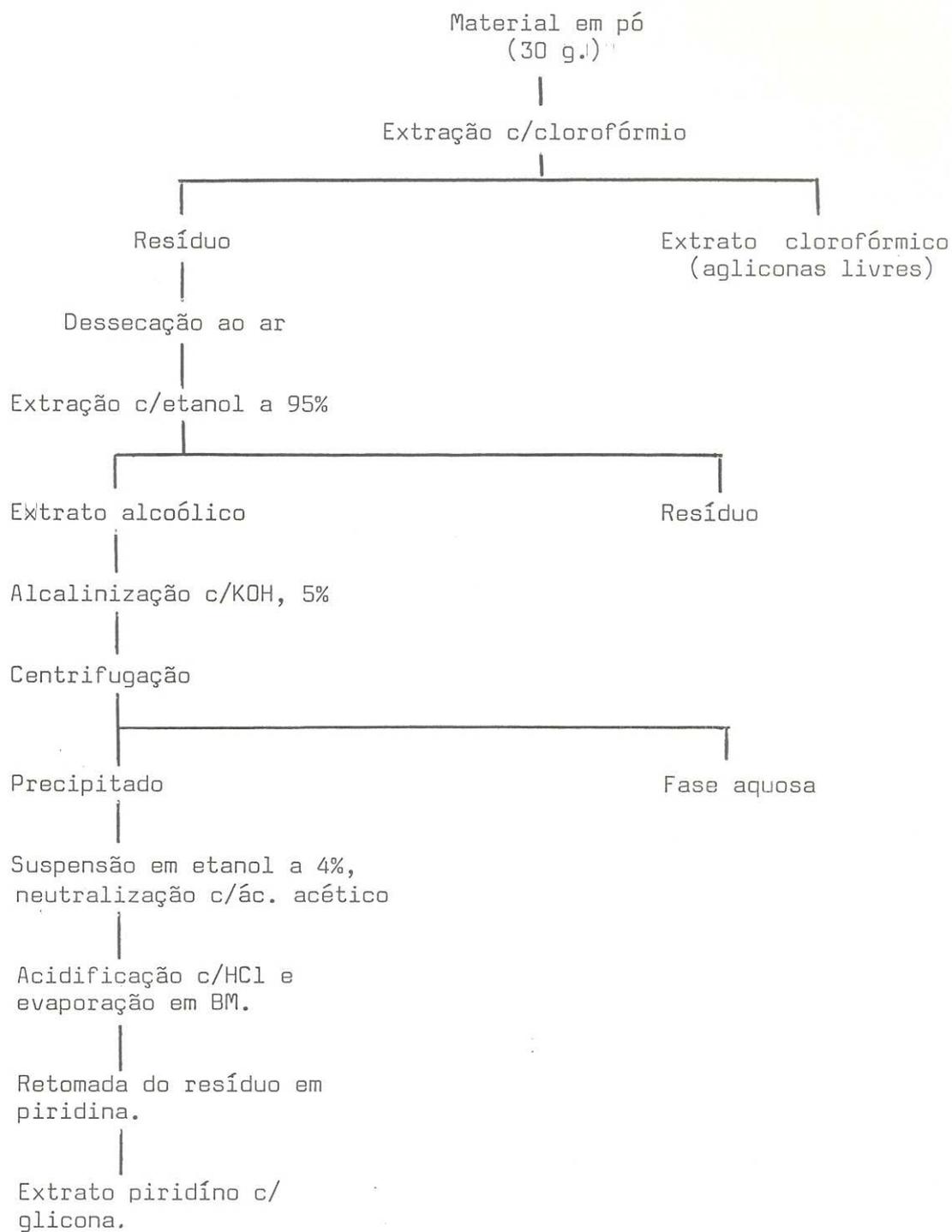
Prepararam-se placas cromatográficas de 10 x 20 cm., com suspensão de sílicagel G Merck em solução 0,4 M de fosfato de sódio e 300 um de espessura. As placas foram ativadas a 105°C, por trinta minutos e guardadas em dessecador até o momento do uso.

Antes da escolha da fase móvel, testou-se diversos sistemas citados por MOREIRA et al.⁴¹ Optou-se, todavia, isopropanol - acetona - água (5:3:2), a qual, num percurso de 15 cm., forneceu ótima separação dos açúcares testados.

Para a revelação optou-se pela nebulização com anilina fosfórica, segundo STAHL, seguida de aquecimento a 105°C, por 5 minutos.⁵⁴

Juntamente com a solução piridínica da glicona, correu-se os padrões de glicose e râmnose, igualmente em solução piridínica (50 mg.%).

Fig. 8 - Esquema do processo de obtenção da glicona.



2.2.5.2 - CROMATOGRAFIA GASOSA

Utilizou-se um cromatógrafo VARIAN mod. 2.440, com detector de ionização de chama. O gás de arraste foi o nitrogênio e a velocidade de deslocamento da carta 20 cm/h. Coluna: 3% de OV-225 sobre GÁS CHROMM Q de 100-120 mesh, em tubo de aço inox de 200 x 0,15 cm (d.i.), com detector a 250°C, câmara de injeção a 230°C e fluxo de gás de arraste de 60 cm³/min. Foi empregada a temperatura de 190°C para os acetados de alditóis de açúcar, segundo STEPHEN et al.⁵⁶

O tempo de retenção relativo ao produto acetilado foi calculado em relação a uma mistura de padrões acetilados, constituídas de ramnose, arabinose, xilose, manose, galactose e glicose.

2.2.6 - ANÁLISE FARMACODINÂMICA PRELIMINAR

Baseado na técnica descrita por SILVA, utilizou-se camundongos albinos, com cerca de 33 g. de peso.⁵¹ Estes, após terem permanecido 16 horas em jejum, foram alimentados com pílulas de queijo moído e salsicha, contendo também o pó em análise. As pílulas foram preparadas com quantidades crescentes do pó: 5, 10, 15 e 25 mg. Decorridas 8 horas da administração observou-se o aspecto das fezes: normal, semi-fluída ou pastosa. As pílulas foram administradas separadamente, a lotes de 3 animais.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 1960, WASICKY, ao proceder uma revisão das espécies brasileiras do gênero *Cassia*, até então estudadas, refere-se ao resultado levemente positivo obtido por TOLEDO, quando submeteu à reação de Bornträger, folhas de *C. speciosa* Schrader. Com base nessa indicação, a pesquisa de derivados antraquinônicos foi repetida várias vezes em folhas recentemente colhidas ou depois de algum tempo de estocagem, porém os resultados foram sempre negativos.⁷⁰

Estas observações levam a crer que a espécie estudada por TOLEDO não corresponde à *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby. Com efeito, PIO CORREIA, registra sob a designação de Cabo Verde, a *Cassia speciosa* Schrader, a qual teria ainda como sinônimos *C. bijunga* Vogel, *C. micans* Nees e *Chamaefistula speciosa* Don.⁴⁵ IRWIN e BARNEBY, na revisão que fizeram sobre o gênero *Cassia* na América, enquadraram a *C. speciosa* Schrader como *Senna macranthera* (Colladon) var. *micans* Irwin & Barneby. A propósito da denominação "speciosa", estes autores comentam "O termo *speciosa* tem sido mal aplicado, sendo aconselhável esquecê-lo e adotar-se para a genuína *Cassia speciosa*, a nível de variedade, a designação *micans*, livrando-a assim de conotações enganosas."²³

São, como se observa, duas espécies distintas.

O estudo da composição química da espécie iniciou-se por uma abordagem farmacológica preliminar, cujos resultados encontram-se na Tabela I. Da sua análise observa-se a ocorrência de

heterosídeos saponosídeos na casca do caule e na raiz; de

TABELA I - Resultado da abordagem fitoquímicas preliminares

	Saponinas	Antraqui- nonas	Flavono- ides	Taninos	Esteróides	Alcalóides	Óleos essenciais
Folhas	-	-	++	+	+	+	-
Casca do Caule	++	-	-	+	-	+	-
Lenho do Caule	-	-	-	-	-	+	-
Raiz	+	-	-	-	-	-	-
Frutos	-	+++	-	+	+	+	-

Convenção: (-) negativo; (+) traços; (++) positivo; (+++) fortemente positivo

flavonóides nas folhas; traços de taninos nas folhas, nos frutos e na casca do caule; traços de compostos esteróides nas folhas e frutos; traços de alcalóides nas folhas, nos frutos, na casca e no lenho do caule; e de antraquinonas nos frutos.

Conforme ficou mencionado em 2.2.2, a pesquisa voltou-se ao esclarecimento dos compostos antraquinônicos, de vez que apresentam interesse para a quimiotaxonomia e para a terapêutica.

O método de análise dicotômica idealizado por ANTON para esclarecimento da composição de misturas de derivados antraquinônicos tem sido aplicado com frequência e sucesso por inúmeros pesquisadores.³⁻¹⁶⁻³²⁻⁴³ Embora lhe tenham introduzido pequenas modificações, a estrutura fundamental tem sido mantida e seus resultados são considerados confiáveis. Para isso, entretanto, o autor recomenda que se observe com rigor o tempo estipulado para as diversas hidrólises. A primeira delas deve ser de 15 minutos, apenas para separar as geninas (antronas e diantronas) das gliconas. Se esse tempo for ampliado para 30 minutos, já poderá

ocorrer o rompimento das ligações C-C, em 10-10', com a liberação das respectivas antronas.

A aplicação do método permitiu a constatação de, pelo menos, duas dificuldades. A primeira diz respeito à separação das geninas não reínicas das reínicas, Frações 3 e 4, que se processa pelo esgotamento do extrato etéreo com solução de borato de sódio 0,05 M. Na prática constata-se que a emodina, embora não possua radical carboxílico, dissolve-se parcialmente na solução alcalina. Isto foi comprovado pela análise cromatográfica da Fração 4, que indicou a presença de emodina, confirmando aliás o que já registra a literatura a propósito da solubilidade desse composto.⁶⁰

A outra dificuldade observada foi quanto à obtenção das Frações 5 e 6, na fase em que se esgota o produto da hidrólise com cloreto férrico a 26%, com clorofórmio. Este sal dissolve-se parcialmente no clorofórmio, conferindo-lhe cor amarela, idêntica à das antraquinonas, impossibilitando que se identifique o final do esgotamento. Para contornar tal inconveniente utilizou-se éter etílico, conforme a técnica de FAYERBAIRN & SIMIC e SHAL et al.²¹⁻⁵⁰

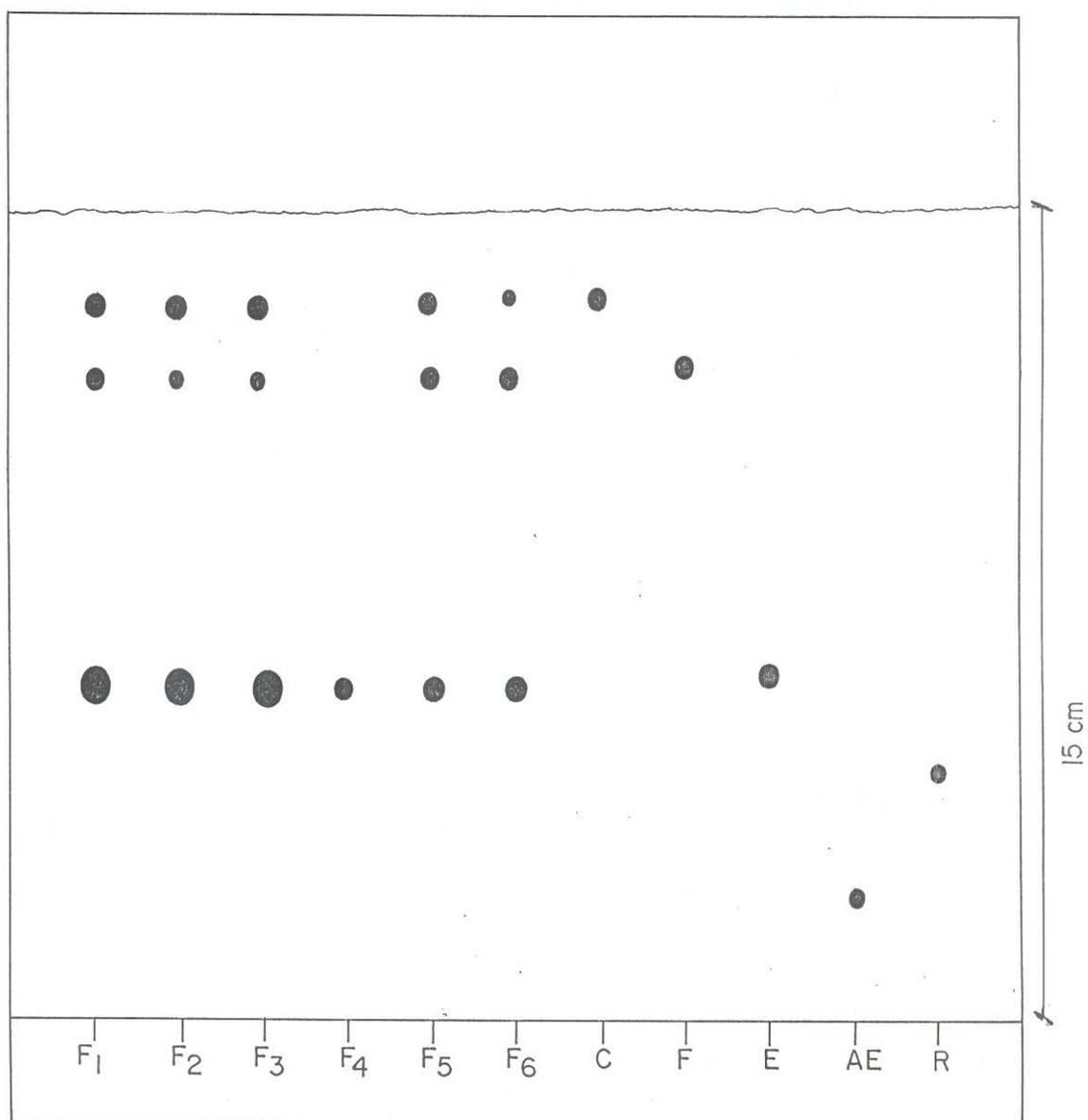
Todas as frações obtidas na separação dicotômica foram analisadas por cromatografia em camada delgada e doseadas por espectrofotometria. A análise cromatográfica indicou nas Frações 1, 2 e 3, a presença de três derivados antraquinônicos,

Fig. 9 - Cromatografia em camada delgada das frações obtidas e dos padrões obtidos: crisofanol (C), fiscion (F), emodina (E), áloe-emodina (AE) e reina (R).

Fase estacionária: silicagel G Merck, 300 um de espessura.

Fase móvel: hexano-acetato de etila-ácido fórmico
(85:20:3)

Revelador: dietilamina.



conforme observa-se na Fig. 9. A mancha 1, que corresponde ao Rf. 0,86, coincidiu com a obtida com o padrão de crisofanol. A mancha nº 2, de Rf. 0,76, coincidiu com o padrão de fiscion. Finalmente, a mancha nº 3, com Rf. 0,40, coincidiu com o padrão de emodina. Na Fração 4 apenas observa-se uma mancha na altura do padrão de emodina. As Frações 5 e 6 apresentaram as mesmas manchas das três primeiras, porém de forma muito tênue, indicando a inexistência de diantronas e de C-heterosídeos no vegetal em estudo.

A comprovação da identidade dos compostos antraquinônicos observados através da cromatografia em camada delgada foi realizada pela determinação do ponto de fusão e por espectrofotometria de ultravioleta, após o isolamento dos mesmos por cromatografia preparativa.

A Tabela II fornece os pontos de fusão de cada um dos constituintes isolados, enquanto a Tabela III, os dos compostos mais prováveis.

Não pairou dúvidas quanto aos constituintes 1 e 2, pois fundiram nas temperaturas indicadas para o crisofanol e fiscion, quais sejam 196 e 207°C, respectivamente. O composto 3, todavia, fundiu a 262°C, identificando-se com a emodina, quando se considera o ponto de fusão referido em KOFLER et al.³¹ Observa-se na tabela a diferença relativamente grande referida na literatura do ponto de fusão deste último composto.

Como terceiro recurso para a comprovação da identidade dos compostos isolados, lançou-se mão da espectrofotometria de ultravioleta. Os espectros obtidos podem ser observados nas Fig.

10, 11, 12, tendo os pontos máximos de absorção coincidentes com os mencionados na literatura²³⁻⁴⁶⁻⁶⁰, para o crisofanol, fiscion e emodina.

Os compostos antraquinônicos vem sendo utilizados como marcadores taxonômicos.⁹ Com efeito, ANTON & DUQUÉNOIS, ao analisarem os derivados antraquinônicos presentes em 21 espécies do gênero *Cássia*, verificaram que a distribuição desses compostos se faz de duas maneiras, distinguindo-se nitidamente dois grupos. No primeiro, registra-se a presença de crisofanol, aloemodina e reína. Podem ocorrer as três geninas simultaneamente ou só a reína. O segundo grupo caracteriza-se pela presença de crisofanol, emodina e fiscion. Podem estar presentes as três geninas ou, apenas uma, das duas últimas.⁷

TABELA II

Pontos de fusão obtidos com os compostos isolados.

Composto	Ponto de Fusão*
1	195/196
2	207
3	262

(*) Em graus Celsius.

TABELA III

Pontos de fusão* dos derivados antraquinônicos, segundo a literatura

Substância	Referência	
	Index Merck ⁶⁰	Kofler ³¹
Crisofanol	196	195
Fiscion	207	-
Emodina	256	262
Aloemodina	223	-
Reina	322	-

(*) Em graus Celsius.

Os derivados do tipo aloemodina e reína de um lado, e emodina e fiscion de outro, não são observados simultaneamente na mesma espécie. O fato do crisofanol estar presente nos dois grupos levou os autores a formularem uma hipótese biogenética para os derivados antraquinônicos do gênero *Cassia*.⁷ Segundo eles, a biossíntese começaria pela ciclização, redução e descarboxilação de uma cadeia acetogênica, dando origem ao crisofanol-antrona. A partir deste composto, duas vias surgiriam: Primeira: via oxidativa do grupo $-CH^3$, na posição 3, levando à aloemodina-antrona e, depois, à emodina-antrona. Segunda: via oxidativa do carbono da posição 6, levando a emodina-antrona e, depois, por metilação, à fiscion-antrona. Segundo observou ANTON, a distribuição proposta, baseada nas geninas antraquinônicas, apresenta uma relação muito próxima da classificação morfológica do gênero *Cassia*, elaborada por BENTHAM.³ Pelo exposto, a *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby, enquadra-se no grupo 2, aliás o mais numeroso, segundo o trabalho citado.

Na determinação quantitativa dos derivados antraquinônicos, cujos resultados encontram-se na Tabela IV, o processo gravimétrico foi o que indicou maior teor. Todavia, convém ressaltar que apesar do método pretender purificar os derivados antraquinônicos isolados, ora com o uso bissulfito de sódio¹², ora tratando-se tais derivados com hidróxido de sódio, acidificando e extraíndo-se com solvente orgânico, nem assim foi possível a eliminação completa dos interferentes. Em virtude

Fig. 10 - Espectro de absorção em ultra-violeta do composto 1.

Absorção máxima: 226, 256, 278 e 436 nm.

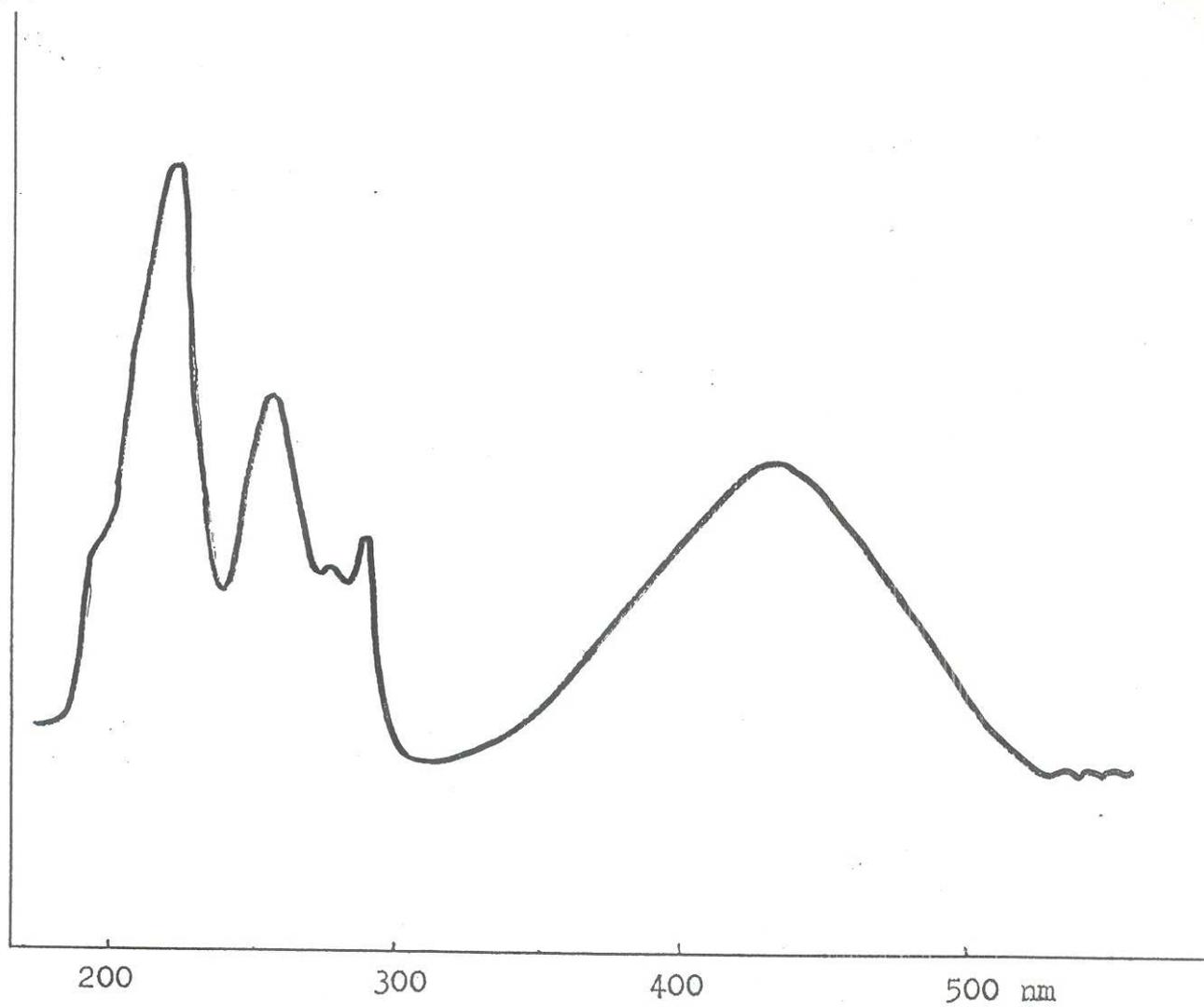


Fig. 11 - Espectro de absorção em ultra-violeta do composto 2.

Absorção máxima: 224, 265, 287 e 435 nm.

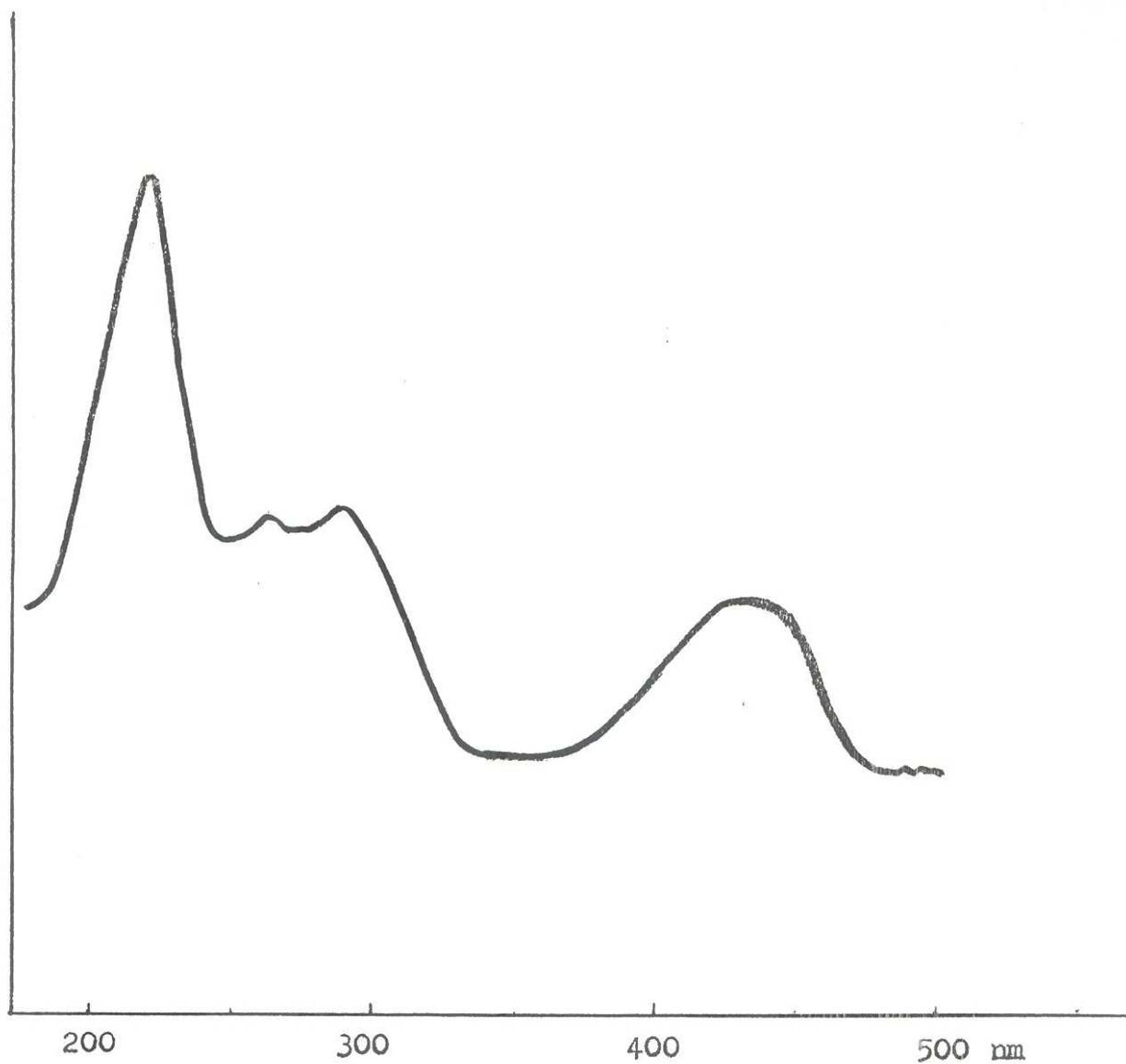
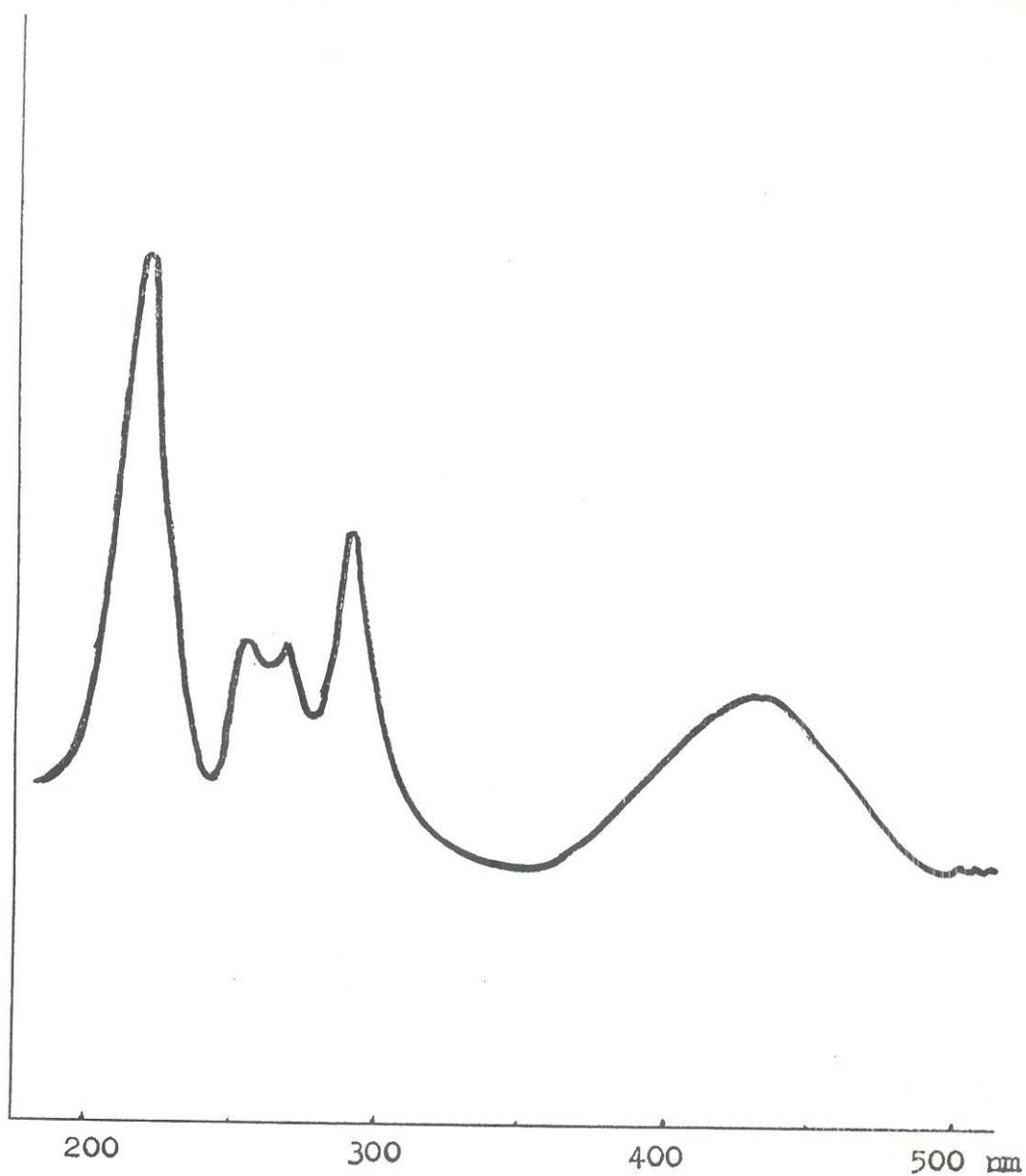


Fig. 12 - Espectro de absorção em ultra-violeta do composto 3.

Absorção máxima: 222, 252, 265, 289 e 437 nm.



disto, o método forneceu um resultado correspondente a quase o dobro de método espectrofotométrico, deixando dúvidas quanto à sua confiabilidade. Este fato, aliás, já havia sido discutido por POPINIGIS, que teria observado os mesmos inconvenientes ao pretender quantificar os derivados antracênicos que ocorrem em *Picramnia parvifolia* Engler.⁴⁶

A execução do método espectrofotométrico não apresentou dificuldade, exigindo apenas que se fizessem diluições com solução N de hidróxido de sódio, nos casos em que a coloração por demais intensa, não permitia a leitura. Esta só foi possível nas quatro primeiras frações. As frações 5 e 6 forneceram colorações tão fracas que não possibilitaram a leitura. Pela análise cromatográfica, pode-se observar que essas frações apresentaram os mesmos constituintes das demais, porém em manchas bem fracas. Isto indica que o esgotamento com éter etílico, por mais que repetido várias vezes, nunca se dá completamente.

Embora a separação dicotômica de ANTON tenha sido originalmente proposta para um análise qualitativa dos derivados antraquinônicos, se conduzida com os cuidados necessários, poderá servir para uma avaliação quantitativa. Diversos autores a tem empregado nesse sentido, valendo-se do processo espectrofotométrico. Deve-se observar, todavia, que o teor dos derivados antraquinônicos totais é fornecido pela soma das Frações 1, 2 e 6. As Frações 3, 4 e 5, são desdobramento da Fração 2 e, portanto, não devem ser consideradas. A Tabela IV fornece o resultado do doseamento espectrofotométrico, importando registrar

que o conteúdo em geninas totais representou 0,295 g.%, portanto, muito aquém do teor de 1 a 3% referido na literatura para o sene.¹²

TABELA IV

Resultados dos doseamentos gravimétricos e espectrofotométricos.

Método	Porcentagem
Gravimétrico (geninas totais)	0,542
Espectrofotométrico: Geninas totais	0,295
Fração 1	0,120
Fração 2	0,175
Fração 3	0,088
Fração 4	0,085
Fração 6	traços
Fração 7	traços

No que concerne à composição da glicona, as análises cromatográficas não deixaram margens a dúvidas. Após a hidrólise do heterosídeo, o açúcar isolado foi cromatografado em placas tamponadas, paralelamente a padrões de ramnose e glicose. A Fig. 13 mostra o cromatograma revelado, pelo qual evidencia-se tratar-se de glicose o açúcar que compõe os heterosídeos. Outra alíquota do produto isolado foi acetilada e submetida à cromatografia

Fig. 13 - Cromatografia em camada delgada da glicona e dos padrões de ramnose e glicose.

Fase estacionária: silicagel G Merck, 300 μ m de espessura, tamponadas com fosfato de sódio.

Fase móvel: isopropanol-acetona-água (5:3:2).

Revelador: Anilina fosfórica.

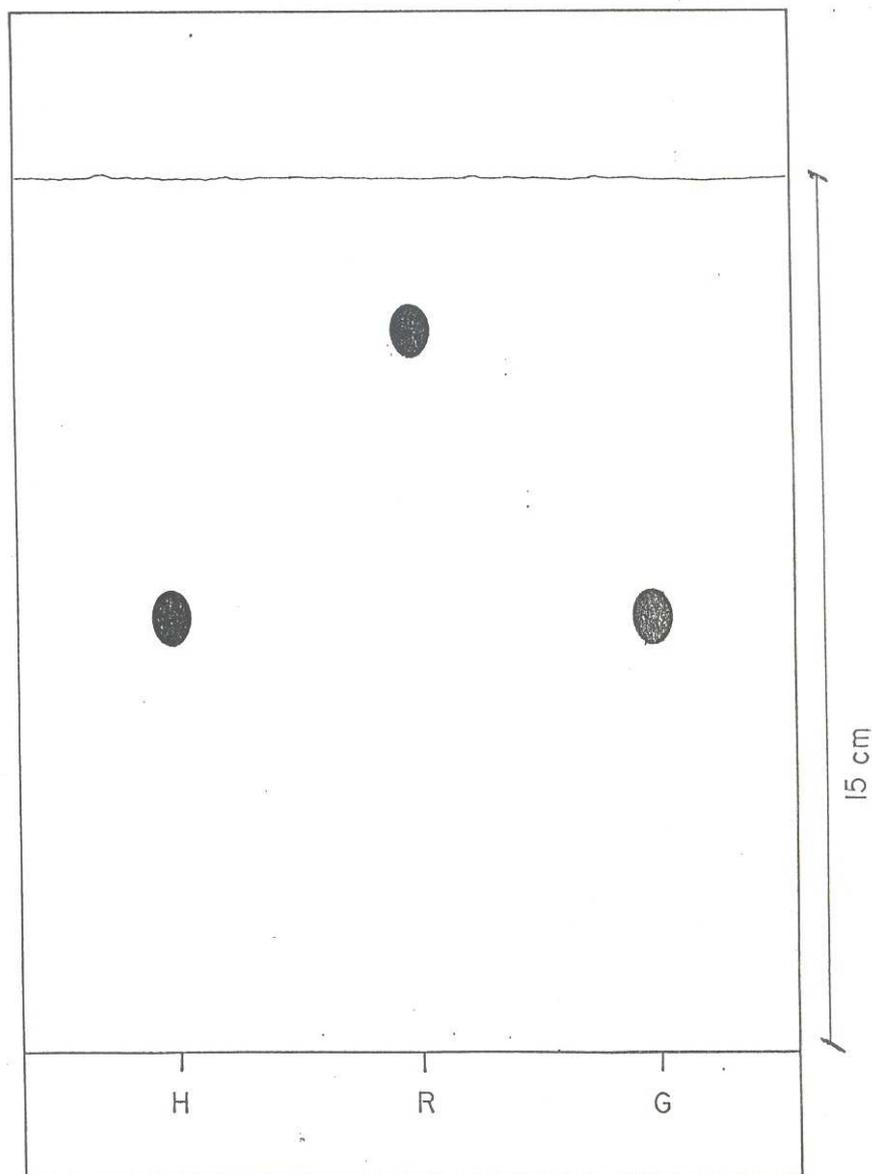


Fig. 14 - Cromatografia gasosa dos padrões acetilados: ramnose, arabinose, xilose, manose, galactose e glicose.

Temp. 190°C. At. = 32×10^{-1} .

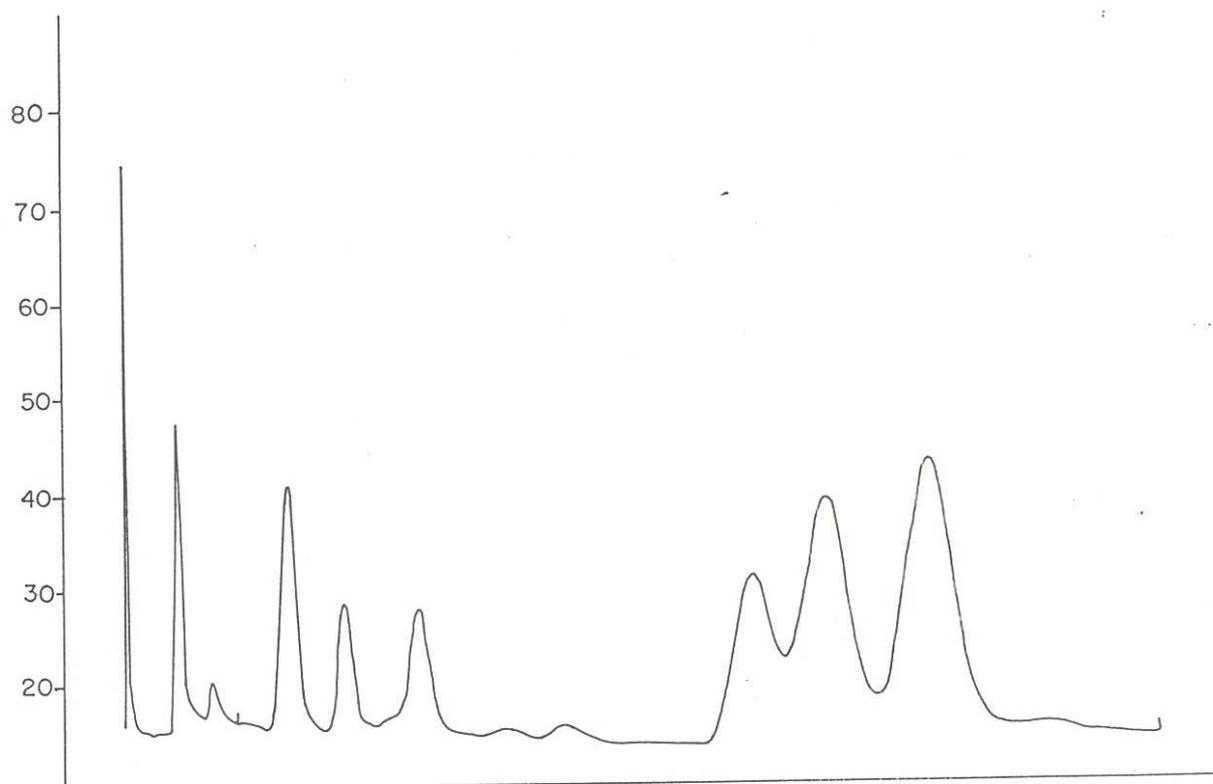
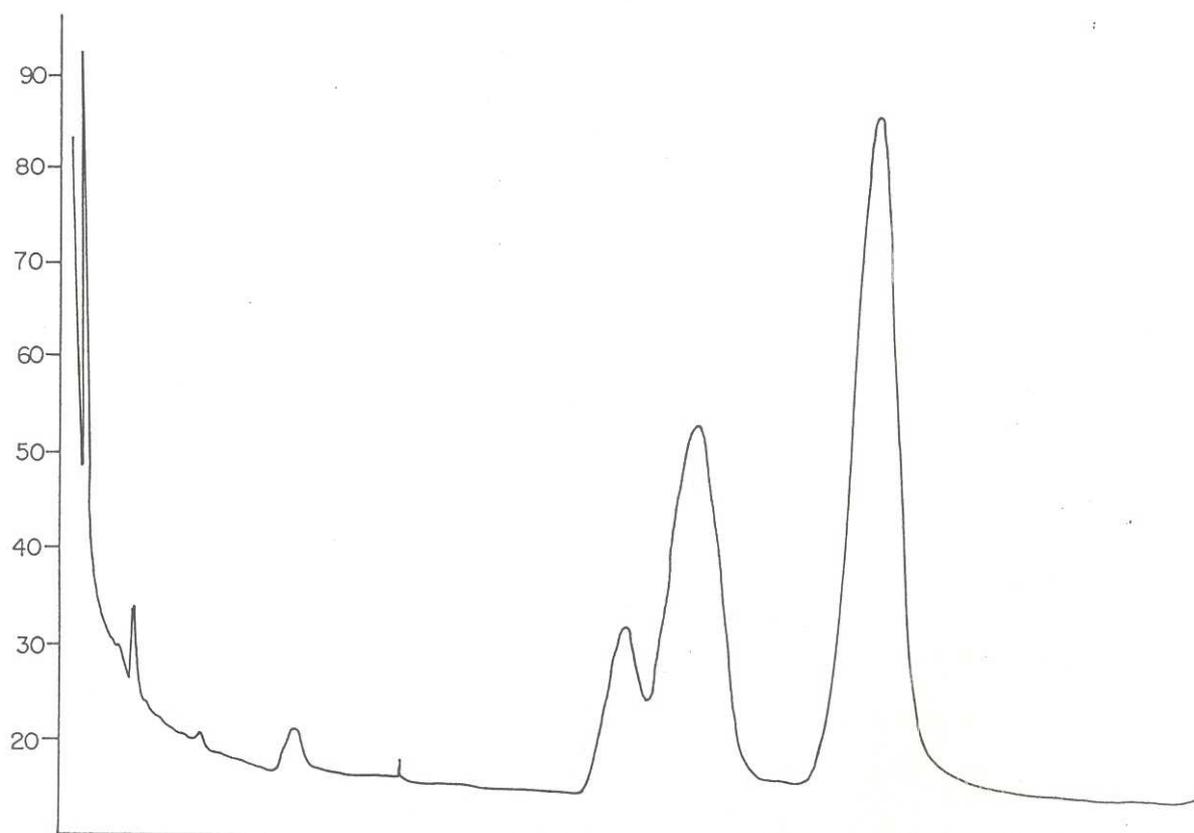


Fig. 15 - Cromatografia gasosa da glicona separada após hidrólise e acetilada.

Temp. 190°C. At. = 32×10^{-1} .



gasosa. O cromatograma dos padrões acetilados consta na Fig. 14, enquanto o do açúcar isolado consta na Fig. 15. Pelo tempo de retenção concluiu-se tratar-se de glicose o açúcar isolado. O cromatograma da Fig. 15 mostra, ainda, dois picos, devidos possivelmente à presença de compostos antracênicos.

A pesquisa farmacodinâmica destinou-se a verificar a eventual ação catártica dos frutos maduros da planta em estudo, uma vez que apresentavam derivados antraquinônicos em sua composição.

A escolha da técnica a ser aplicada foi antecedida de uma revisão dos processos existentes. Assim verificou-se que os experimentos mais antigos datam de 1941, e são de autoria de WASICKY.⁶⁸ Com efeito, ao analisar as ações farmacológicas de *Cassia fistula* L. e de *Cassia alata* L., este autor descreve os procedimentos que empregou utilizando cobaias, cães e camundongos. A experiência no homem limitou-se a uma só pessoa, porém os resultados alcançados assemelharam-se àqueles obtidos com o sene.

Em 1949, LOU, desenvolveu um método de análise de fármacos catárticos utilizando camundongos para os testes e comprovando estatisticamente a reprodutividade da técnica proposta. O autor detalha todos os cuidados que devem cercar a escolha dos animais, sua alimentação e higiene, bem como o tipo de gaiola que melhor se presta para a realização dos testes.³⁶

TOLEDO, ao proceder estudos farmacodinâmicos do sene e da *Cassia alata* L., desenvolveu um método utilizando cobaias. Após a realização de uma laparotomia, um decocto da droga era injetado diretamente no estômago do animal.⁶⁵

TOLEDO & GROTTA, ao estudarem a ação catártica de *Cassia leptophylla* Vog. e outras espécies de *Cassia*, empregaram camundongos nos ensaios que realizaram.⁶⁷

SILVA, baseado nos trabalhos de WASICKY e TOLEDO, desenvolveu uma técnica para a determinação da ação purgativa dos frutos de *Cassia alata* L., empregando camundongos como animais de teste.⁵¹

Após a análise dos métodos citados, optou-se pelo proposto por SILVA, por ser de realização mais simples. Este, executado conforme indicado em 2.2.6, resultou sempre negativo. Isto possivelmente explica-se pelo baixo teor de derivados antraquinônicos que ocorrem na forma glicosídica, conforme ficou determinado pelas análises quantitativas. FAIRBAIRN demonstrou que esses compostos apenas desenvolvem ação catártica quando apresentam-se na forma heterosídica. Esse autor considera que o açúcar auxilia o "transporte" da genina ativa até o intestino grosso e age também prevenindo a sua oxidação, a qual poderia originar uma antraquinona inativa.¹⁹

A pesquisa levada a efeito demonstrou que a espécie *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* (Vogel) Irwin & Barneby, embora apresente compostos antraquinônicos nos frutos, a quantidade é insuficiente para justificar seu uso em terapêutica ou como fonte para a obtenção preparativa dos mesmos.

Todavia, o esclarecimento da composição química realizado, possivelmente será de valia para os estudos quimiotaxonômicos que hoje se desenvolvem. Quiçá chegue logo o dia

em que, estando suficientemente definida a composição de cada espécie vegetal, possa essa ciência auxiliar os botânicos sistematas no esclarecimento das dúvidas taxonômicas que tantas dificuldades criam.

Este trabalho é apenas uma singela contribuição nesse sentido.

4 - C O N C L U S Õ E S

1 - A abordagem farmacológica realizada demonstrou a ocorrência em *Senna macranthera* (Colladon) var. *nervosa* Irwin & Barneby de heterosídeos saponosídeos na casca do caule e na raiz; de flavonóides nas folhas; de traços de taninos nas folhas, nos frutos e na casca do caule; de compostos esteróides nas folhas e frutos; de traços de alcalóide nas folhas, nos frutos e na casca e no lenho do caule; e de heterosídeos antraquinônicos nos frutos.

2 - Os derivados antraquinônicos presentes nos frutos foram identificados como crisofanol, fiscion e emodina.

3 - A análise quantitativa, realizada pelo método gravimétrico, indicou a ocorrência de 0,542 g% de geninas totais nos frutos. O método espectrofométrico apontou 0,295 g% de geninas totais, sendo que 0,120 g% apresentam-se na forma livre e 0,175 g% na forma heterosídica.

4 - A glicona dos compostos analisados foi identificada como glicose.

5 - Os ensaios biológicos demonstraram a inexistência de ação laxativa nos frutos.

6 - Os três constituintes antraquinônicos identificados permitem o enquadramento taxonômico da planta no grupo 2, proposto por ANTON & DUQUÉNOIS.⁷

7 - O baixo teor de derivados antraquinônicos presentes nos frutos inviabiliza o uso do vegetal como catártico ou como fonte para obtenção desses princípios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ABDEL-MONEN, M.M., HENKEL, J.G. **Essentials of drug product quality**. St. Louis (USA), Mosby Co., 1978.
- 2 - ALVES, A.C.; COSTA, M.A.C.; PAUL, M.I. Antraquinonas em *Cassia angolensis*. *Rev. Port. Farm.*, Lisboa, v. 28, n. 1, p. 1-6, jan./mar. 1978.
- 3 - ANTON, R. **Contribution à l'étude qualitative de quelques espèces du genre *Cassia* L.** Strasbourg, 1968. Tese (Doutorado), Universidade de Strasbourg.
- 4 - ANTON, R.; DUQUÉNOIS, P. Utilisation de la chromatographie en couche mince pour la caractérisation des dérivés anthracéniques dans les espèces du genre *Cassia* L. et leur identification. *Ann. Pharm. Françaises*, Paris, v. 25, n. 9-10, p. 589-99, 1967.
- 5 - ----- L'emploi des *Cassia* dans les pays tropicaux et subtropicaux, examiné d'après quelques uns des constituants chimiques de ces plantes médicinales. *Plantes Médicinales et Pithothérapie*, Paris, v. 2, n. 4, p. 255-68, 1968
- 6 - ----- Contribution à l'étude Chimique du *Cassia occidentalis*. *Ann. Pharm. Françaises*, Paris, v. 26, n. 11,

p. 673-80, 1968.

- 7 - ----- Sur deux modes de formation des dérives dioxi-1,8-anthracéniques dans le genre *Cassia* L. C.R. Acard. Sc. Paris, Paris, v. 267, p.1227-9, 1968.
- 8 - BETTARELLO, Agostinho Secreções e motilidade do tubo digestivo. In: CORBETT, Charles E. *Farmacodinâmica*. S. Paulo, Guanabara Koogan, 1982. p. 595-623.
- 9 - BERHANU, E.; FETENE, M.; DAGNE, E. Anthraquinones as taxonomic markers in Ethiopian *Kniphofia* species. *Phytochem.*, v. 25, n. 4, p. 847-50, 1986.
- 10 - BRAGA, Rubens Elke *Contribuição ao estudo da Cassia neglecta* Vog. Curitiba, 1952. Tese em (Livre-docência em Botânica Aplicada à Farmácia), Faculdade de Farmácia Universidade Federal do Paraná.
- 11 - CASTRO, J.M. Purgativos indígenas do Brasil. *Rev. Flora Medicinal*, Rio de Janeiro, v.7, n. 10, p. 579-83, 1940.
- 12 - COSTA, Aloísio Fernandes *Farmacognosia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, 1967.
- 13 - ----- *Farmacognosia*, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian,

- v. 3, 1970.
- 14 - COSTA, Osvaldo de Almeida Bibliografia sobre plantas medicinais brasileiras An. Fac. Nac. Farm. Rio de Janeiro, v. 8, p. 175-328, 1963-64-65.
 - 15 - DOMINGUEZ, Xorge A. Métodos de investigación fitoquímica. México, Ed. Lamusa, 1973.
 - 16 - DUQUÉNOIS, P.; ANTON, R. Contribution a l'étude chimique des feuills du *Cassia sieberiana* D.C. *Planta Médica*, New York, v. 17, p. 184-90, 1968.
 - 17 - ----- Recherche des dérivés anthracéniques dans deux *Cassia* africains: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr. *Ann. Pharm. Françaises*, Paris, v. 26, n. 9-10, p. 607-14, 1968.
 - 18 - EL-SAYYAD, S.M.; ROSS, S.A. A phytochemical study of some *Cassia* species cultivated in Egypt. *J. Nat. Prod.*, Cincinnati (USA), v. 46, n. 3, p. 431-9, 1983.
 - 19 - ELUJOBA, Anthony A.; IWEIBO, Glory O. *Cassia podocarpa* as substitute for official senna. *Planta Medica*, New York, v. 54, p. 372, 1988.

- 20 - FAIRBAIRN, J.W. The active constituents of the vegetable purgatives containing anthracene derivatives. Part I - Glycosides and Aglycones. *J. Pharm. Pharmacol.* London, v. 1, p. 683-94, 1949.
- 21 - FAIRBAIRN, J. W.; SIMIC, S. Estimation of C-glycosides and O-glycosides in cascara (*Rhamnus purshiana* DC., bark) and cascara extract. *J. Pharm. Pharmacol.* London, v. 16, p. 450-4, 1964.
- 22 - FARMACOPÉIA BRASILEIRA. S. Paulo, 3ª ed., Organização Andrei Editora, 1977.
- 23 - HAAG-BERRURIER, M.; GARNIER, P.; ANTON, R. Etude chimique du *Cassia rogeoni*. *Planta médica*, New York, v. 31, p. 201-11, 1977.
- 24 - IRWIN, Howard S.; BARNEBY, Rupert C. The American Cassiinae. A Synoptical Revision of Leguminosae tribe Cassieae subtribe Cassiinae in the New World. *Mem. N. York Bot. Garden*, v. 35, p. 1-454, 1982.
- 25 - IYENGAR, M.A.; PENDSE, G.S.; NARAYANA, N. Bioassay of *Cassia fistula* L. (Aragvadha). *Planta Medica*, New York, v. 14, p. 289-301, 1966.

- 26 - JAEGER, P.; ANTON, R.; DUQUÉNOIS, P. Premières constatations sur la composition chimique des folioles du *Cassia jaegeri* Keay. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, Paris, v. 3, n. 3, p. 204-13, 1969.
- 27 - JOLY, Aylthon Brandão *Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*. S. Paulo, Cia. Ed. Nacional, 1985.
- 28 - KAPADIA, Govind J.; KHORANA, M.L. Studies on Active Constituents of *Cassia fistula* Pulp. I Colorimetric Estimation of Free Rhein and Combined Sennidin-Like Compounds. *Lloydia*, Cincinnati (USA), v. 25, p. 55-8, 1962.
- 29 - ----- Studies on Active Constituents of *Cassia fistula* Pulp. II. The Combined 1,8-Dihydroxyanthraquinone Derivatives. *Lloydia*, Cincinnati (USA), v. 25, p. 59-64, 1962.
- 30 - KITANAKA, Susumo; TAKIDO, Michio Dimeric hydroanthracenes from the unripe seeds of *Cassia torosa*. *Phytochem.*, London, v. 21, n. 8, p. 2103-6, 1982.
- 31 - KOFLER, Ludwig L.; KOFLER, Adelheid; BRANDSTATTER, Maria *Thermo-Mikro-Methoden Zur Kennzeichnung Organischer*. Innsbruck (Austria). 1954.
- 32 - KRAMBECK, Reni *Presença de compostos antracênicos em folhas de*

Cassia fastuosa Willd, Curitiba, 1984. Tese (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná.

- 33 - KRAMBECK, Reni; Moreira, Eduardo A.; LEONART, Rubens; MIGUEL, Obdúlio Q. Presença de compostos antracênicos em folhas de *Cassia fastuosa* Willd. *Rev. Bras. Farmacognosia*, S. Paulo, v. 2-4, p. 1-12, 1987/89.
- 34 - LAL, Jawahar; GUPTA, P.C. Anthraquinone glycoside from the seeds of *Cassia occidentalis* L. *Experientia*, v. 29, n. 2, p. 141-2, 1973.
- 35 - LEMLI, J. The Chemistry of Senna. *Fitoterapia*, Milan, v. LVII, n.1, p. 33-40, 1986.
- 36 - LOU, T.C. The Biological Assay of Vegetable Purgatives. Part. I - Senna Leaf and Fruit and Their Preparations. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 1, p. 673-82, 1949.
- 37 - LUCAS, Virgilio Senne brasileira? *A Gazeta da Farmacia*, Rio de Janeiro, v. IX, n. 101, p. 24, 1940.
- 38 - MALHOTRA, Swadesh; MISRA, Krishna. Anthraquinones from *Cassia sophera* Heartwood. *Phytochem.*, New York, v. 21 p. 197-9, 1982.

- 39 - MATOS, F. J. Abreu Pesquisa de derivados oxi-antracênicos em espécies do gênero *Cassia* L. nativas do Ceará. *An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de S. Paulo*, v. XV, p. 125-8, 1957-58.
- 40 - MESSMER, W.M.; FARSWORTH, N.R.; PERSINOS, G.J.; WILKES, J.D. Investigation of the Flowers of *Cassia reticulata* Willd. (Leguminosae). *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 57, p. 1996-8, 1968.
- 41 - MOREIRA, Eduardo A.; CECY, Carlos; NAKASHIRA, Tomoe; CAVAZZANI, José Roberto; MIGUEL, Obdúlio G.; KRAMBECK, Reni Solasodina em *Solanum erianthum*. *Trib. Farm.*, Curitiba, v. 48, n. 1-2, p. 61-84, 1980.
- 42 - MOREIRA, Eduardo A.; CONTIN, Luis Fernando *Cassia fastuosa* Willd. Pesquisa de antraquinonas e anatomia foliar. *Anais do XXIV Congresso Nacional de Botânica. Soc. Bot. do Brasil*, Pelotas, 1973, p. 87. Resumo.
- 43 - NAKASHIMA, Tomoe Contribuição ao estudo das hidroxiantraquinonas em *Rhamnus sectipetala* Mart. *Rhamnaceae*. Porto Alegre, 1977. Tese (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- 44 - OLIVEIRA, Alaide; FERNANDES, Maria de Lourdes M.; SHAAT, Vanilda T.; VASCONCELOS, I. A.; GOTTLIEB, Otto Constituents of *Cassia* species Rev. Latinoam. Quim., México, v. 8, n. 2, p. 82-5, 1977.
- 45 - PIO CORRÊA, Manuel Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1926-1978. 6 v.
- 46 - POPINIGIS, Ivone Contribuição ao estudo farmacognóstico da *Picramnia parvifolia* Engler, Simaroubaceae. Ponta Grossa. 1976. Tese (Livre-docência em Farmacognosia), Fac. Farmácia, Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- 47 - RIZVI, S.A.I.; GUPTA, P.C.; KAUL, R.K. Chemical and spectral studies of nososide a new anthraquinone glycoside from flowers of *Cassia nodosa*. Planta Medica, New York, v. 21, p. 103-8, 1972.
- 48 - SABER, A. Hifny; BALBAA, S.I., AWAD, Albert The identification of anthracenes derivatives of the leaves and pods of *Cassia obvata* grow in Egypt. Lloydia, Cincinnati (USA), v. 25, n. 4, p. 238-40, 1962.
- 49 - SENNE BRASILEIRA. A Gazeta da Farmácia, Rio de Janeiro, v. IX, n. 100, p. 8, 1940.

- 50 - SHAH, C.S.; QADRY, J.S., BHATT, J.G. Qualitative and quantitative evaluation of anthraquinone derivatives in indian rhubarb. *Planta Medica*, New York, v. 21, p. 103-8, 1972.
- 51 - SILVA, José Bonzani Ação purgativa do fruto de *Cassia alata* L., comparativamente com folíolos de sene. *Rev. Fac. Farm. Bioquim. Universidade de São Paulo*, v. 3, n. 1, p. 89-92, 1965.
- 52 - SILVERSTEIN, Robert M.; BASSLER, G. Clayton; MORRIL, Terence *Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos*. 3ª ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Dois, 1979.
- 53 - SINGH, J. Phytochemical Investigation of *Cassia multijunga* seeds. *Planta Médica*, New York, v. 41, p. 397-9, 1981.
- 54 - STAHL, Egon *Thin-Layer Chromatography*. New York, Springer-Verlag, 1969.
- 55 - STELLFELD, Carlos A sena brasileira. Nota prévia sobre a *Cassia neglecta* Vog. *Trib. Farm.*, Curitiba, v. XI,, n. 5, p. 87-90, 1943.
- 56 - STEPHEN, A.M.; KAPLAN, M.; TAYLOR, G.L.; LEISENGANG, E.C. Application of gas-liquid chromatography to the structural

- investigation of polyssaccharides. *Tetrahedron Suppl.*, Oxford, v. 7, p. 233-40, 1966.
- 57 - STROBEL, Howard A. *Les méthodes physiques en chimie*. Paris, Masson Cie., 1962.
- 58 - SU, S.C.Y.; FERGUSON, N.M. Extraction and separation of anthraquinone glycosides. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 62, n. 6, p. 899-901, 1973.
- 59 - SUBRAMANIAN, S.S.; NAGARAJAN, S. Chemical examination of the leaves of *Cassia mimosoides*. *Indian J. Pharm.*, v. 31, n. 4, p. 110-1, 1969. In: *Chem. Abstr.*, v. 72, p. 90, 1970.
- 60 - **THE INDEX MERCK**: An encyclopedia of chemicals drugs, and biológicos. 11th. Ed. Rahway, N.J. (USA), Merck, 1989.
- 61 - TIWARI, R.D.; BEHARI, J.R. Chemical examination of the roots of *Cassia tora*. *Planta Médica*, New York, v. 21, p. 393-7, 1972.
- 62 - TIWARI, R.D.; MISTRA, G. Chemical examination of the flowers of *Cassia sophera*. *Planta Médica*, New York, v. 28, p. 183-5, 1975.

- 63 - TIWARI, R.D.; RICHARDS, Anjali Anthraquinone pigments from seeds of *Cassia renigera*. *Planta Médica*, New York, v. 36, p. 91-4, 1979.
- 64 - TIWARI, R.D.; SHARMA, M.N. Anthraquinone pigments from *Cassia javanica*. *Planta Médica*, New York, v. 43, p. 381-3, 1981.
- 65 - TOLEDO, Tharcillo A.N. Estudo farmacognóstico da *Cassia alata* L. *An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de São Paulo*, v. VII, p. 105-13, 1948-49.
- 66 - ----- Determinação colorimétrica dos princípios ativos do sene. *An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de S. Paulo*, v. VII, p. 115-20, 1948-49.
- 67 - TOLEDO, Tharcillo A. N.; GROTTA, Astolpho Souza Notas farmacológicas sobre a *Cassia leptophylla* Vog. e outras espécies de *Cassia*. *An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de S. Paulo*, v.IX, p. 179-84, 1951.
- 68 - WASICKY, Richard Pesquisas farmacológicas sobre as folhas de *Cassia fistula* L. e de algumas espécies brasileiras de *Cassia*. *An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de S. Paulo*, v.II, p. 90-7, 1941-42.
- 69 - ----- *Cassia alata* L., uma droga purgativa semelhante ao

sene. An. Fac. Farm. Odonto. Universidade de S. Paulo, v.
II, p. 57-62, 1941-42.

70 - ----- Brasilianische Abführdrogen mit Betrachtungen über
ihre Wirkungen und Wirkstoffe. *Sci. Pharm.*, Wien, v. 28, n.
2, p. 144-50, 1960.