
Constituintes químicos da erva daninha *Scleria Pterota* (Cyperaceae)

VAGNER MARQUES DE MOURA(UNINGÁ)¹
SILVANA MARIA DE OLIVEIRA SANTIN²
BENEDITO PRADO DIAS FILHO²

RESUMO

Descreve os componentes químicos de partes aéreas da planta pterota de *Scleria*. De um extrato de etanólico, o stigmasterol de steroids, campesterol, β -sitosterol, 3-O- β -glycopiranosyl sitosterol e sacarose isolados. Foram identificadas as estruturas dos produtos naturais em base de dados espectrais, enquanto incluindo 2D experiências de NMR. Foram investigadas o antibacterial e propriedades de antifungal das frações obtidas dividindo o extrato de etanólico.

Palavras-chave: Pterota de *Scleria*. Esteróides. Microbiana de atividade.

INTRODUÇÃO

Plantas invasoras são espécies vegetais, tanto silvestres quanto exóticas, que nascem e se reproduzem espontaneamente, comportando-se de forma indesejável e geralmente encontradas em áreas de grande interesse econômico, sem que seu cultivo seja de interesse.

As plantas daninhas, infestantes e nocivas interferem nas atitudes humanas tanto em ambientes agrícolas como em não agrícolas, em razão da adaptabilidade aos nichos deixados pelas culturas. Estas plantas são oportunistas e, por sua fácil disseminação e germinação, rápido crescimento inicial e alto crescimento morfológico e fisiológico, adaptam-se

¹ Professor Mestre Faculdade Ingá – UNINGÁ

² Professores UEM – Maringá -PR

facilmente aos distúrbios antropogênicos. Dessa forma, a maioria das pesquisas desenvolvidas com planta daninha objetiva o manejo racional e sustentável nos agroecossistemas e não levam em consideração os aspectos relevantes quanto as suas propriedades nutricêuticas, fitodescontaminantes ambientais e até sua utilização na medicina tradicional para cura de diversos males (SIQUEIRA, 2005).

Neste contexto, considerando a utilização de algumas plantas daninhas na medicina popular e a carência de estudos químico e biológico destas espécies, o presente trabalho vem contribuir para um maior conhecimento do potencial químico e farmacológico do gênero *Scleria* pertencente à família Cyperaceae.

Scleria pterota Presl (sinonímias: *Scleria communis* Kunth, *S. pratensis* Nees, *S. ottonis* Boeck e *S. pittieri* Boeck) é uma planta daninha de pequeno porte muito freqüente na região amazônica e na planície litorânea brasileira e é comumente conhecida pelos nomes de capachorro e navalha-de-mico. Sua infestação ocorre principalmente em pastagens, beira de estradas e margens de canais. Esta espécie é muito temida pelos agricultores e pelos animais devido aos cortes produzidos pelas folhas e caules quando em contato com a pele (LORENZI, 1991; KISSMANN, 1997).

Plantas do gênero *Scleria* são empregadas na medicina popular e tradicional como poderosos diuréticos, diaforéticos e no combate a tosse crônica (CORRÊA, 1984; GROSVENOR, 1995). Estudos químicos anteriores de 170 espécies da família Cyperaceae revelaram a existência de diversos tipos de flavonóides, dentre as flavonas (tricinas e luteolinas), flavonóis e seus derivados metil-éteres. No gênero *Scleria*, há relatos da ocorrência de flavonas C-glicosídicas, flavonóis, proantocianidinas, auronas em estudos realizados para as espécies *Scleria brownii*, *S. sphacelata*, *S. tricuspidata*, *S. caricina* e *S. mackaviensis* (HARBORNE, 1985). A composição química do óleo essencial de *Scleria hirtella* revelou a presença das substâncias nonanal, geraniol e nerol em maior proporção (MAIA, 2005).

O presente trabalho descreve os resultados obtidos do estudo químico de *S. pterota*, bem como a avaliação preliminar antibacteriana e antifúngica do extrato bruto etanólico e das frações obtidas deste extrato.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O fracionamento do extrato etanólico das partes aéreas de *Scleria pterota* resultou no isolamento de uma mistura dos esteróides campesterol (1), estigmasterol (2) e sitosterol (3), do 3-*O*- β -glicopiranosil sitosterol (4) e da sacarose. As estruturas das substâncias isoladas foram elucidadas com base nas análises de dados de IV, EM, RMN ^1H e ^{13}C , experimentos de DEPT 135°, ^1H - ^1H COSY e HETCOR.

A mistura das substâncias (1, 2 e 3) foi isolada da fração hexânica e clorofórmica como um sólido branco. O espectro na região do infravermelho (IV) apresentou bandas de absorção típicas de grupo hidroxila (3384 cm^{-1}) e de carbonos olefínicos (1638 cm^{-1}). Através de análise da mistura em CG/EM foi possível observar a presença de três substâncias nas proporções. Os dados espectroscópicos de RMN apresentou sinais característicos de grupos vinílicos em $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 5,38 (*d*, Hz, H-6)/121,9; 5,15 (*dd*, Hz, H-22)/138,4 e 5,01 (*dd*, Hz, H-23)/129,3 referente ao composto (2). A presença do carbono carbinólico é evidenciado em δ_{C} 71,8 e os sinais das metilas compreendem entre δ_{H} 0,65 – 1,30, todos coerentes para os três compostos. Através dos valores de deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e observados para a mistura (Tabela 1) e por comparação com os dados existentes na literatura Goulart, 1993, foi possível confirmar a estrutura para os três compostos.

A substância 4 foi isolada da fração clorofórmica como um sólido branco. O espectro no IV apresentou bandas de absorção dos grupos hidroxilas (3417 cm^{-1}) e de carbonos olefínicos (1638 cm^{-1}). Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C mostraram sinais com deslocamentos químicos semelhantes àqueles apresentados para o sitosterol (1) da mistura, diferenciando apenas nos sinais na região entre δ_{H} 3,90 – 4,70 em conjunto com o sinal em δ_{H} 5,08 (*d*, $J=7,8\text{ Hz}$, H-1') evidenciando a presença de uma unidade D- β -glucose. As atribuições foram confirmadas após análises dos espectros bidimensionais (2D) de correlação homonuclear ^1H - ^1H COSY e heteronuclear HETCOR e por comparação dos valores encontrados na literatura (MATIDA, 1996). Os valores mostraram-se concordantes, e a substância foi identificada como sendo 3-*O*- β -glicopiranosil sitosterol.

O estudo da fração butanólica resultou no isolamento de um sólido cristalino, solúvel em água. O espectro no IV mostrou intensas bandas de absorção característica de grupo hidroxila entre 3000 a 3450 cm^{-1} . A análise dos dados espectroscópicos de RMN ^1H evidenciaram a presença

de sinais característicos de açúcares entre δ_H 3,00 a 5,40. O dubleto em δ_H 5,10 com uma constante de acoplamento $J=7,8$ sugere a presença de uma glicose. A comparação e a coerência entre os dados de IV, RMN 1H e $^{13}C/DEPT$ com os valores encontrados na literatura Pouchert. (1984) permitiu-nos caracterizar e identificar a estrutura molecular da substância como sendo a sacarose.

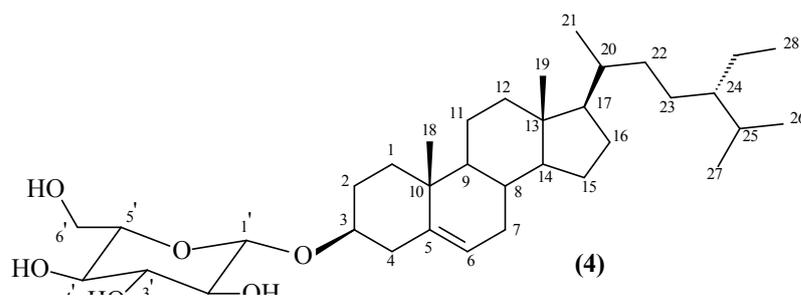
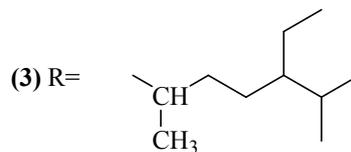
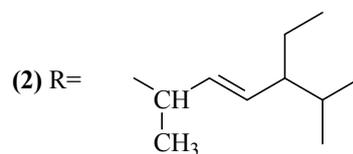
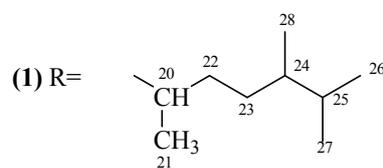
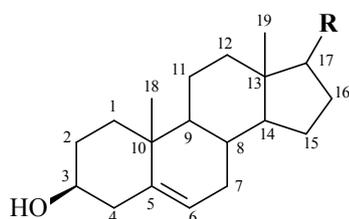
TABELA 1 – Valores de deslocamentos químicos de RMN de $^{13}C/DEPT$ para os esteróides (1), (2), (3) em mistura e dados da literatura do campesterol, estigmasterol e sitosterol.

Carbono	1 δ^a (DEPT)	2 δ^a (DEPT)	3 δ^a (DEPT)	campesterol δ^b	estigmasterol δ^b	sitosterol δ^a
1	37,3 (CH ₂)	37,3 (CH ₂)	37,3 (CH ₂)	37,2	37,2	37,2
2	31,5 (CH ₂)	31,5 (CH ₂)	31,5 (CH ₂)	31,6	31,6	31,6
3	71,8 (CH)	71,8 (CH)	71,8 (CH)	71,8	71,8	71,8
4	42,2 (CH ₂)	42,2 (CH ₂)	42,2 (CH ₂)	42,2	42,2	42,2
5	140,8 (C _{quat.})	140,8 (C _{quat.})	140,8 (C _{quat.})	140,7	140,7	140,7
6	121,9 (CH)	121,9 (CH)	121,9 (CH)	121,7	121,7	121,7
7	31,8 (CH ₂)	31,8 (CH ₂)	31,8 (CH ₂)	31,9	31,8	31,8
8	31,8 (CH)	31,8 (CH)	31,8 (CH)	31,8	31,8	31,8
9	50,1 (CH)	50,1 (CH)	50,1 (CH)	50,1	50,1	50,1
10	36,5 (C _{quat.})	36,4 (C _{quat.})	36,4 (C _{quat.})	36,5	36,4	36,4
11	21,0 (CH ₂)	21,0 (CH ₂)	21,0 (CH ₂)	21,0	21,0	21,0
12	39,7 (CH ₂)	39,7 (CH ₂)	39,7 (CH ₂)	39,7	39,6	39,7
13	42,2 (C _{quat.})	42,2 (C _{quat.})	42,2 (C _{quat.})	42,2	42,2	42,2
14	56,7 (CH)	56,7 (CH)	56,7 (CH)	56,7	56,8	56,7
15	24,3 (CH ₂)	24,3 (CH ₂)	24,3 (CH ₂)	24,2	24,3	24,3
16	28,1 (CH ₂)	28,1 (CH ₂)	28,1 (CH ₂)	28,2	28,2	28,2
17	56,0 (CH)	56,0 (CH)	56,0 (CH)	56,0	55,9	56,0
18	11,7 (CH ₃)	11,7 (CH ₃)	11,7 (CH ₃)	11,8	11,8	11,8
19	19,3 (CH ₃)	19,3 (CH ₃)	19,3 (CH ₃)	19,3	19,3	19,3
20	36,1 (CH)	40,4 (CH)	36,1 (CH)	36,1	40,5	36,1
21	18,9 (CH ₃)	19,0 (CH ₃)	18,9 (CH ₃)	18,9	21,2	19,0
22	34,0 (CH ₂)	138,4 (CH)	33,6 (CH ₂)	33,9	138,4	33,6

23	21,0 (CH ₂)	129,3 (CH)	28,8 (CH ₂)	19,1	129,2	28,9
24	45,8 (CH)	51,2 (CH)	56,0 (CH)	45,8	51,2	56,0
25	29,1 (CH)	31,8 (CH)	29,1 (CH)	29,6	31,8	26,0
26	18,7 (CH ₃)	19,0 (CH ₃)	18,7 (CH ₃)	18,7	19,0	18,7
27	19,7 (CH ₃)	19,0 (CH ₃)	19,7 (CH ₃)	19,8	19,0	19,8
28	18,6 (CH ₃)	25,3 (CH ₂)	23,0 (CH ₂)	18,2	25,4	23,0
29		11,9 (CH ₃)	11,8 (CH ₃)		12,2	11,9

(a) - solvente CDCl₃ – 75,5 MHz

(b) - solvente CDCl₃ – 50,3 MHz



Na avaliação da atividade do extrato bruto, foi observado que as bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* e *Escherichia coli* não foram sensíveis até a concentração de 1000 µg/mL do mesmo. Dentre as frações estudadas, as frações hexânica e clorofórmica apresentaram ação contra a bactéria *S. aureus*, com concentração mínima inibitória de 250 e 1000 µg/mL, respectivamente. No estudo da atividade antifúngica foi observado que a fração clorofórmica apresentou ação frente ao fungo *Candida albicans* com concentração mínima inibitória de 1000 µg/mL.

As atividades observadas nas frações hexânica e clorofórmica podem estar relacionadas, em parte, aos esteróides isolados. Na literatura é comprovada a atividade antibacteriana do β-sitosterol e do sitosterol glicosilado (CORTEZ, 2002). Uma série de outras atividades é também reportada referente aos metabólitos isolados desta planta, tais como antiofídica, antiinflamatória, antimutagênica, citotóxica e analgésica (MORS, 2000; CECHINEL FILHO, 1998, 2000; LIM, 2005; NGUYEN, 2004; RATNAYAKE, 1992; SANTOS, 1995).

Estes dados são extremamente significativos uma vez que plantas daninhas são vistas apenas como espécies invasoras e oportunistas sem valor econômico algum, porém são possuidoras de substâncias altamente efetivas no combate a diversas enfermidades, podendo se tornar modelos para o desenvolvimento de novos fármacos potenciais de origem vegetal.

Apesar de as substâncias isoladas e descritas neste trabalho serem todas já conhecidas e amplamente difundidas no reino vegetal, é preciso levar em conta que espécies de *Scleria*, consideradas como daninhas, nunca foram avaliadas sob o ponto de vista químico e farmacológico. Os resultados do estudo químico e a atividade observada das frações obtidas da planta *S. pterota* ampliam o conhecimento do potencial químico e farmacológico da família Cyperaceae, à qual o gênero *Scleria* pertence.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro Bomem, modelo MB-séries, em pastilha de KBr, na região de 400 a 4000 cm⁻¹. Utilizou-se absorção em 1028 cm⁻¹ de um filme de poliestireno como referência. Os espectros de

massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetro Shimadzu-CG/MS modelo QP 2000A operando pelo modo de ionização por impacto eletrônico (70 eV), equipado com probe para sólidos. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Varian modelo Gemini 2000, operando a 300 MHz para ^1H e 75,5 MHz para ^{13}C , tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente. Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm e os solventes deuterados utilizados foram CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e D_2O . Nas cromatografias em coluna (CC) utilizaram-se colunas de vidro de variadas dimensões e como fase estacionária sílica gel 60 (0,063 – 0,200 mm) da Merck e sílica gel 60 (0,04 – 0,063 mm) da Fluka.

As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em placas de sílica gel 60 GF254 da Merck. Para a visualização dos compostos em placa utilizou-se radiação no ultravioleta $\lambda = 254$ e 366 nm, seguida de nebulização com solução de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ (1:1) ou $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Anisaldeído}/\text{Ácido acético}$ (1:0,5:50) e levadas à aquecimento.

Material vegetal

A espécie daninha *Scleria pterota* foi coletada às margens da bacia de inundação do rio Paraná de Porto Rico/PR em outubro de 1994. Uma excisada do material vegetal encontra-se depositada no Herbário da UEM, sob registro HUM 2165.

Extração e isolamento dos constituintes químicos

As partes aéreas secas ao ar e moídas (200,00 g) foram submetidas à maceração em etanol, à temperatura ambiente durante seis dias. A evaporação do solvente sob vácuo em evaporador rotativo e posterior liofilização resultou no extrato bruto etanólico (11,20 g). Parte deste extrato foi submetida a um fracionamento por partição utilizando como solvente hexano (**H**; 1,10 g), clorofórmio (**C**; 2,84 g), acetato de etila (**AC**; 0,44 g) e butanol (**B**; 2,81 g).

A fração **H** (1,05 g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC) de sílica gel, utilizando-se como eluente clorofórmio em todo o processo. A purificação da subfração **H-5** resultou após recristalização em

acetona, no isolamento da mistura dos esteróides sitosterol, estigmasterol e campesterol (50,50 mg).

O tratamento da fração **C** foi levada a uma separação em CC de sílica gel, eluída com *n*-C₆H₁₄/AcOEt em gradiente crescente de polaridade obtendo-se 128 frações de 30 mL cada e reunidas em 17 novas subfrações. A subfração **C-3** forneceu a mesma mistura dos esteróides isolados em **H-5**. A subfração **C-15** (280,70 mg) foi recromatografada em coluna de sílica gel (*n*-C₆H₁₄/AcOEt 1:5 e 1:7; 5 frações) sendo que da subfração **C-15.4** foi obtido a substância sitosterol glicosilado (58,20 mg).

A fração **B** (1,50 g) foi fracionada em coluna de sílica gel, eluída com CHCl₃/MeOH em gradiente crescente de polaridade (5-40%) resultou em 65 frações de 30 mL cada e reunidas em 7 novas frações. A subfração **B-5** foi submetida a uma CC de sílica gel (CHCl₃/MeOH 20-30%) e a subfração **B-5.8** forneceu após sucessivas lavagens com acetona a frio a substância sacarose (60,50 mg).

Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica

Na determinação da concentração mínima inibitória (CMI), o extrato bruto bem como as frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e butanólica, foram mantidas em ágar simples e uma série de diluições foram conduzidas utilizando caldo Mueller-Hinton. O inóculo da suspensão bacteriana foi preparado considerando densidade idêntica à suspensão do padrão (BaSO₄), ajustada para 0,5 McFarland (10⁸ UFC/mL) e diluídos em 1:10 para o processo de microdiluição. Uma porção de 100 µL da suspensão de cada bactéria foi adicionada em todos os poços da placa de microdiluição que continha 100 µL das amostras e os antibióticos de referência (cloranfenicol e penicilina) foram utilizados como controle nos ensaios. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A determinação da MIC foi evidenciada pela ausência de crescimento da bactéria no meio.

Na determinação da concentração mínima fungicida (CMF) utilizou-se como meio de cultura o RPMI. O inóculo foi preparado com 10⁴ e 10⁶ células e em cada poço da placa de microdiluição o fungo leveduriforme em ágar Sabourand dextrose foi semeado. Como controle da análise utilizou-se a micostatina e a placa foi incubada a 25 °C por 48 h. A determinação da CMF foi avaliada pela ausência de crescimento do fungo no meio.

REFERÊNCIAS

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.**, Rio de Janeiro, 1984. v. 5

CORTEZ, D. A. G. et al. Evaluation of the antidiabetic and antibacterial activity of *Cissus sicyoides*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 45, n. 1, p. 21-25, 2002.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím. Nova*, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. *Quím. Nova*. v. 23, n. 5, p. 680-685, 2000.

GOULART, M. O. et al. *Quím. Nova*, v. 16, n. 2, p. 95-100, 1993.

GROSVENOR, P. W. et al. *Medical plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 1: Uses*. n. 45, p. 75-79, 1995.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.; WILSON, K. L. Flavonoids in leaves and inflorescences of Australian cyperaceae. *Phytochemistry*, v. 24, n. 4, p. 751-766, 1985.

KISMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas Infestantes e Nocivas** -. 2 ed., São Paulo: BASF, 1997. Tomo III

LIM, J. C. et al. Antimutagenic constituents from the thorns of *Gleditsia sinensis*. *Chem. & Pharm. Bull.* v. 53, n. 5, p. 561-564, 2005.

LORENZI, R. **Plantas daninhas do Brasil**. 2 ed. São Paulo: Plantarum, 1991.

MAIA, J. G. S. et al. Essencial oil composition of *Scleria hirtella* Swartz (Cyperaceae). *Flavour and Fragrance Journal*. v.20, n. 5, p. 472-473, 2005.

MATIDA, A. K. et al. *Anais Assoc. Bras. Quím.* v. 45, n. 3, p. 147-151, 1996.

MORS, W. B. Plant natural products active against snake bite – the molecular approach. *Phytochemistry*. v. 55, p. 627-642, 2000.

MURRAY, P.R et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 6 ed., Washington American Society for Microbiology, 1994.

NGUYEN, A. T. et al. Cytotoxic constituents from *Plumbago zeylanica*. *Fitoterapia*. v. 75, p. 500-504, 2004.

POUCHERT, C. J. **The Aldrich Library of Infrared Spectra**. 3 ed, USA: Aldrich Chemical Company Inc., 1984.

RATNAYAKE, S. et al. L. Bioactive constituents from the twigs of *Asimina parviflora*. *Journal Natural Products*. v. 55, n. 10, p. 1462-1467, 1992.

SANTOS, A. R. et al. A triterpene and phenolic-compounds from leaves and stems of *Phyllanthus sellowianus*. *Planta Medica*. v. 61, n. 4, p. 391, 1995.

SIQUEIRA, J. M. et al. Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina* – “Ciganinha” – Bignoniaceae, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. *Quím. Nova*, v. 28, n.2, p. 199-203, 2005.