

## CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Vernonia chalybaea* MART.

Francisco José da Costa, Paulo N. Bandeira e Maria Rose Jane R. Albuquerque\*

Coordenação de Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Estadual Vale do Acaraú, CP D-3, 62040-340 Sobral - CE, Brasil

Otilia Deusdênia L. Pessoa e Edilberto R. Silveira

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, CP 12200, 60021-970 Fortaleza - CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Setor de Química de Produtos Naturais, LCQUI-CCT, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28013-602 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Recebido em 12/10/07; aceito em 16/4/08; publicado na web em 22/9/08

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Vernonia chalybaea* MART. The chemical investigation of the hexane and ethanol extracts from aerial parts of *Vernonia chalybaea* conducted to the isolation and characterization of a new aliphatic tetrahydroxyl ether, along with a series of known compounds such as 4 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epoxyaromadendrane, friedelin, taraxasteryl acetate, pseudotaraxasteryl acetate, lupeyl acetate, lupeol,  $\alpha$ -amiryn,  $\beta$ -amiryn,  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, 2,3-dimethyl-1,2,3-tri-hydroxybutanol, angophorol, angophorol-7-O-glucoside, angophorol-7-O-rutinoside, 3,7-dimethoxy-5,3',4'-trihydroxyflavone and acacetin. The structures of all compounds were determined by spectroscopic analysis and comparison with published spectral data.

Keywords: *Vernonia chalybaea*; Asteraceae; chemical constituents.

## INTRODUÇÃO

A família Asteraceae, também denominada Compositae, compreende cerca de 1.100 gêneros, representados por aproximadamente 25.000 espécies amplamente distribuídas em todas as regiões tropicais, subtropicais e temperadas. No Brasil, é representada por aproximadamente 180 gêneros, envolvendo espécies herbáceas, arbustivas ou subarbustivas e raramente arbóreas, podendo ser anuais ou perenes.<sup>1</sup>

O gênero *Vernonia* (tribo Vernonieae), um dos maiores desta família, é representado por cerca de 1000 espécies concentradas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, especialmente na África e América do Sul.<sup>2</sup> Estudos fitoquímicos envolvendo plantas do gênero relatam a ocorrência de classes distintas de metabólitos secundários como triterpenos,<sup>3,4</sup> diterpenos<sup>5</sup> e esteróides,<sup>6,7</sup> sendo, no entanto, os constituintes químicos mais freqüentes as lactonas sesquiterpênicas<sup>8-12</sup> e os flavonóides.<sup>13-16</sup> Estas duas classes de compostos, em particular as lactonas, são consideradas marcadores quimiotaxonômicos do gênero.<sup>8-12,15</sup>

Inúmeras espécies de *Vernonia* são empregadas na medicina tradicional no tratamento de patologias diversas e como resultado, muitas têm sido investigadas do ponto de vista farmacológico, revelando importantes propriedades como antiplasmódica,<sup>17-19</sup> analgésica, antipirética e antiinflamatória,<sup>20,21</sup> antimicrobiana,<sup>22-24</sup> hiperglicêmica,<sup>25</sup> antioxidante<sup>16</sup> e vasodilatadora.<sup>26</sup>

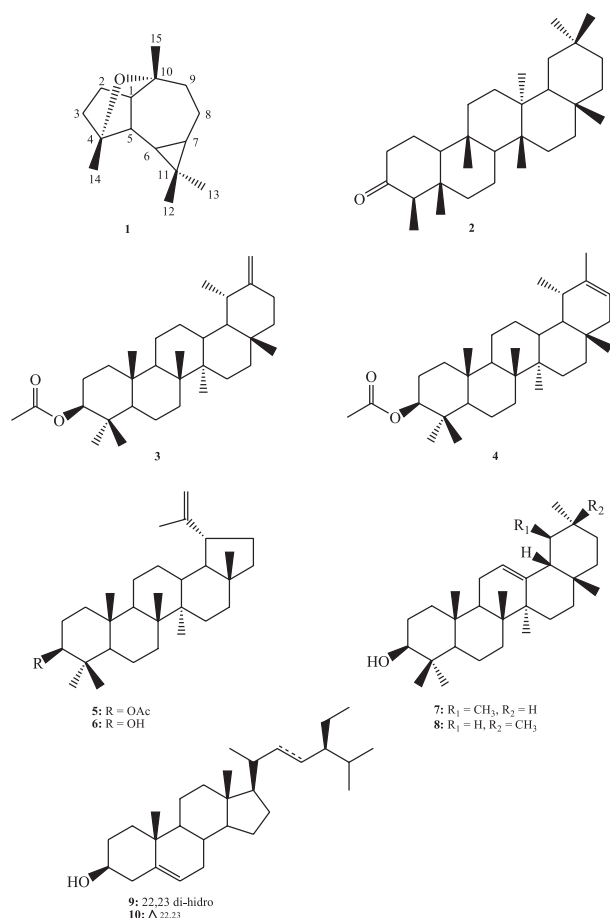
*Vernonia chalybaea* é uma planta de porte subarbustivo, com cerca de 1,0 m de altura e muito ramificada, freqüente na flora cearense.<sup>27</sup> A composição química de seu óleo essencial foi previamente investigada por nosso grupo de pesquisa.<sup>28</sup> Neste trabalho, descreve-se pela primeira vez, a prospecção química dos extratos da parte aérea de *V. chalybaea*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

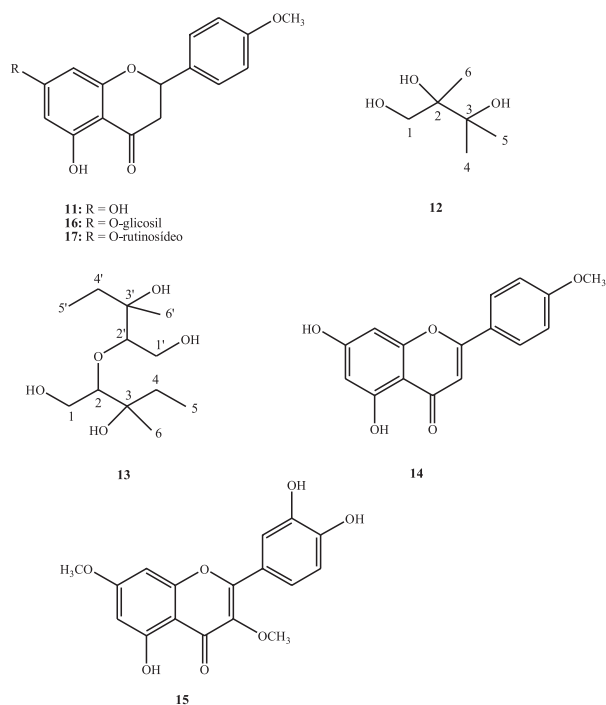
A investigação química dos extratos hexânico e etanólico da parte aérea de *V. chalybaea* resultou no isolamento de terpenóides, flavonóides, alcoóis e éteres alifáticos, cujas estruturas foram determinadas por métodos espectroscópicos, especialmente RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, incluindo técnicas uni- e bidimensionais (COSY, HMQC, HMBC e NOESY), e no caso dos compostos conhecidos, confirmadas através da comparação de seus dados espectroscópicos e propriedades físicas com aqueles registrados na literatura. Do extrato hexânico foram isolados os terpenóides 4 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epóxiaromadendrano (**1**), friedelina (**2**), os acetatos de taraxasterila (**3**), pseudo taraxasterila (**4**) e lupeila (**5**), além de lupeol (**6**),  $\alpha$ -amirina (**7**) e  $\beta$ -amirina (**8**). Os compostos **3-5**, assim como **6-8**, foram isolados como misturas ternárias. Uma mistura dos esteróides  $\beta$ -sitosterol (**9**) e stigmasterol (**10**) também foi isolada. Do extrato etanólico foi isolado um álcool tri-hidroxlado (**12**), um éter alifático tetra-hidroxlado, 2-(1,3-di-hidroxi-3-metilpenta-2-iloxi)-3-metilpentano-1,3-diol (**13**), e os flavonóides angoforol (**11**), acacetina (**14**), 3,7-dimetoxi-5,3',4'-tri-hidroxi-flavona (**15**), angoforol-7-O-glicosídeo (**16**) e angoforol-7-O-rutinosídeo (**17**). Vale salientar que o composto **13** é inédito, enquanto **1** e **12** estão sendo descritos pela primeira vez como produtos naturais (Figuras 1 e 2).

O composto **1**, obtido como um óleo incolor, apresentou no espectro de RMN <sup>1</sup>H sinais correspondentes a quatro grupos metila ( $\delta$  1,22; 1,12; 1,05 e 1,03), todos ligados a carbonos não-hidrogenados, sendo os dois primeiros ligados a carbonos terciários oxigenados. Todos os demais sinais de hidrogênios apareceram na faixa de  $\delta$  1,78 – 0,45 (Tabela 1), revelando uma natureza saturada. O espectro de RMN <sup>13</sup>C-CPD apresentou quinze linhas espectrais, cujo padrão de hidrogenação foi determinado através do espectro DEPT 135°: quatro grupos metila, corroborando com o espectro de RMN <sup>1</sup>H, quatro carbonos metilênicos, quatro metínicos, e por subtração dos sinais contidos em cada espectro, três carbonos não-hidrogenados (Tabela 1). Os sinais em  $\delta$  74,4 (C-4) e 80,1 (C-10), correspondentes a carbonos

\*e-mail:rjane\_7@hotmail.com



**Figura 1.** Estruturas dos triterpenos e esteróides isolados da parte aérea de *Vernonia chalybaea*

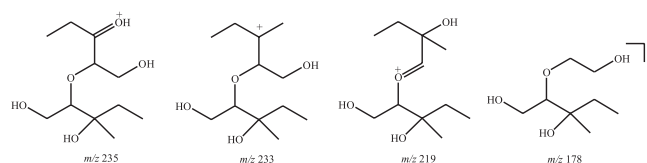


**Figura 2.** Estruturas dos constituintes químicos isolados do extrato etanólico da parte aérea de *Vernonia chalybaea*

oxigenados, aliados à ausência de absorção relativa a grupo hidroxila no espectro de IV, são compatíveis com a presença de um grupo éter. Estes dados, em conjunto com o pico em  $m/z$  220, apresentado pelo espectro de massas (70 eV), levaram à dedução da fórmula molecular  $C_{15}H_{24}O$ . Através do espectro RMN HMQC, cada sinal de carbono foi correlacionado ao seu respectivo sinal de hidrogênio, conforme demonstrado na Tabela 1. A interpretação dos dados espectrais, inclusive daqueles revelados pelos espectros HMBC e NOESY, levou à estrutura do sesquiterpeno  $4\alpha,10\alpha$ -epóxiaromadendrano (**1**). Vale ressaltar que os deslocamentos químicos referentes aos carbonos 6 e 15, atribuídos erroneamente na literatura, foram corrigidos. Conforme levantamento bibliográfico, um único registro deste composto foi encontrado, como um subproduto formado durante a síntese do sesquiterpeno ( $\pm$ )-*allo*-aromadendrano- $4\beta,10\alpha$ -diol.<sup>29</sup>

O composto **12** foi isolado na forma de um óleo incolor. Seu espectro de absorção na região do IV apresentou uma banda larga e intensa centrada em  $3420\text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença de grupos hidroxila. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **1** apresentou três simpletos em  $\delta$  1,21; 1,20 e 1,12 correspondentes a três grupos metila, sinais em  $\delta$  3,71 e 3,51 correspondentes a dois hidrogênios diastereotópicos do mesmo carbono metilênico, os quais no espectro HMQC mostraram correlação com o sinal de carbono em  $\delta$  68,4. Sinais relacionados a hidrogênios hidroxílicos foram observados em 4,08 (t,  $J = 5,8\text{ Hz}$ ), 3,78 (s) e 3,45 (s). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD de **1** mostrou apenas seis linhas espectrais que, em comparação com o espectro DEPT  $135^\circ$ , foram atribuídas a três grupos metila ( $\delta$  25,6; 25,4 e 20,5), um carbono oximetilênico ( $\delta$  68,4), e dois carbonos não-hidrogenados e oxigenados ( $\delta$  75,7 e 75,5). Estes dados quando associados ao valor correspondente ao íon molecular em  $m/z$  134, fornecido pelo espectro de massas obtido a 70 eV, permitiram deduzir a fórmula molecular  $C_6H_{14}O_3$ , compatível com um álcool tri-hidroxilado e em acordo com os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Estas informações levaram à estrutura do álcool 2,3-dimetil-1,2,3-butanotriol (**12**), confirmada através de correlações a longa distância exibidas no espectro HMBC. Este álcool não foi encontrado como produto natural, entretanto, há registro do mesmo como intermediário na síntese de 1,3-dioxanos, com propriedades herbicidas.<sup>30</sup>

O composto **13** também foi isolado na forma de um óleo incolor. Seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou sinais correspondentes a quatro grupos metilas, representados pelos simpletos em  $\delta$  1,07 e 1,03 e dois tripletos em  $\delta$  0,90 ( $J = 7,4\text{ Hz}$ ) e 0,88 ( $J = 7,5\text{ Hz}$ ). Sinais correspondentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados foram observados na faixa de 3,68 – 3,45, os quais no espectro HMQC mostraram correlações com os sinais de carbono em  $\delta$  77,3; 77,0; 63,9 e 63,8. Os sinais em  $\delta$  3,74; 3,72; 3,41 e 3,36, 1 hidrogênio cada, foram relacionados a hidrogênios de quatro grupos hidroxilas. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD apresentou onze linhas espectrais, dez das quais representadas por cinco pares com deslocamentos químicos muito próximos, conforme pode ser observado na Tabela 1. Com o auxílio da técnica DEPT  $135^\circ$  foram identificados dois carbonos oximetínicos ( $\delta$  77,3 e 77,0), quatro carbonos metilênicos, dois dos quais oxigenados ( $\delta$  63,9 e 63,8), três grupos metila e dois carbonos terciários oxigenados ( $\delta$  74,7 e 74,8). Estas informações permitiram concluir que o composto **13** se tratava do éter dimérico tetra-hidroxilado, 2-(1,3-di-hidroxi-3-metilpenta-2-iloxi)-3-metilpentano-1,3-diol. Embora o espectro de massas de **13** não tenha revelado o pico correspondente



**Figura 3.** Estruturas propostas para picos chaves detectados no espectro de massa do éter **13**

**Tabela 1.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de **1**, **12** e **13**, em acetona- $d_6$ 

| No. | <b>1</b>            |                     | No.   | <b>12</b>           |  | No.  | <b>13</b>            |                     |
|-----|---------------------|---------------------|-------|---------------------|--|------|----------------------|---------------------|
|     | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$ |       | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$                          |      | $\delta_{\text{C}}$  | $\delta_{\text{H}}$ |
| 1   | 48,9                | 1,28                | 1     | 68,4                | 3,71 (dd, 10,8; 4,1)<br>3,51 (dd, 10,8; 5,9) | 63,9 | 3,68 (m)<br>3,55 (m) |                     |
| 2   | 21,1                | 1,78/0,95           | 2     | 75,5                | -  | 77,3 | 3,45 (m)             |                     |
| 3   | 45,7                | 1,70/1,50           | 3     | 75,8                | -  | 75,0 | -                    |                     |
| 4   | 74,4                | -                   | 4     | 25,6                | 1,21 (s)                                     | 32,1 | 1,57 (m)<br>1,46 (m) |                     |
| 5   | 57,8                | 1,73 (m)            | 5     | 25,4                | 1,20 (s)                                     | 8,2  | 0,90 (t, 7,4)        |                     |
| 6   | 29,9                | 0,45 (dd)           | 6     | 20,5                | 1,12 (s)                                     | 22,5 | 1,03 (s)             |                     |
| 7   | 27,6                | 0,61 (ddd)          | 1'    | -                   | -  | 63,9 | 3,68 (m)<br>3,55 (m) |                     |
| 8   | 24,9                | 1,70/1,60           | 2'    | -                   | -  | 77,0 | 3,47                 |                     |
| 9   | 42,3                | 1,65/1,50           | 3'    | -                   | -  | 75,3 | -                    |                     |
| 10  | 80,1                | -                   | 4'    | -                   | -  | 31,8 | 1,57 (m)<br>1,46 (m) |                     |
| 11  | 20,7                | -                   | 5'    | -                   | -  | 7,7  | 0,88 (t, 7,5)        |                     |
| 12  | 29,2                | 1,03 (s)            | 6'    | -                   | -  | 22,5 | 1,03 (s)             |                     |
| 13  | 16,8                | 1,05 (s)            | HO-1  | -                   | 4,08 (t, 5,9)                                | -    | 3,74                 |                     |
| 14  | 20,4                | 1,12 (s)            | HO-2  | -                   | 3,45 (s)                                     | -    | -                    |                     |
| 15  | 24,9                | 1,22 (s)            | HO-3  | -                   | 3,78 (s)                                     | -    | 3,41                 |                     |
|     |                     |                     | HO-1' | -                   | -  | -    | 3,72                 |                     |
|     |                     |                     | HO-3' | -                   | -  | -    | 3,36                 |                     |

Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm. Multiplicidades e constantes de acoplamento ( $J$ ), em Hz, entre parênteses.

ao íon molecular ( $[\text{M}]^+$ ,  $m/z$  250), os picos em  $m/z$  235, 233, 219, e 178 (Figura 3), foram fundamentais na confirmação da estrutura proposta, a qual esta sendo registrada na literatura pela primeira vez.

Na Tabela 2 estão descritos os deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  dos flavonóides **11** e **14-17**.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Instrumentação e material cromatográfico

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento de micro-determinação digital da Mettler Toledo com placa aquecedora FP82HT e uma central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de  $2^\circ\text{C}/\text{min}$  e não foram corrigidas. Os espectros de absorção na região de IV foram registrados em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 1000 com transformada de Fourier, utilizando pastilhas de KBr para amostras sólidas e filmes para substâncias oleosas. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , uni- e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo DRX-300 (300 MHz para  $^1\text{H}$  e 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) e Avance DRX-500 (500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro de massa Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50, por impacto eletrônico a 70 eV. Nas cromatografias de adsorção utilizou-se gel de sílica 60 da Vetec ( $\emptyset$   $\mu\text{m}$  70-230 mesh, para cromatografias gravitacionais) e Merck ( $\emptyset$   $\mu\text{m}$  230-400 mesh, para cromatografias sobre pressão, *flash*), enquanto nos fracionamentos cromatográficos por exclusão molecular foi empregado Sephadex LH-20. As cromatografias de camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas com gel de sílica 60, ( $\emptyset$   $\mu\text{m}$  5-40, Merck) com indicador de fluorescência na faixa de 254  $\eta\text{m}$  ( $F_{254}$ ), sobre cromatofolha de poliéster. As substâncias foram reveladas com solução de vanilina/ácido perclórico/EtOH, seguida de aquecimento em estufa ( $\approx 100^\circ\text{C}$ ), por aproximadamente 5 min.

### Material vegetal

*Vernonia chalybaea* foi coletada no período de floração, na Fazenda Três Lagoas, Sobral-CE. A identificação botânica foi realizada pelos Profs. E. P. Nunes (Departamento de Biologia da UFC) e E. B. de Souza (Coordenação de Biologia da UVA). A exsiccata da planta, correspondente à coleta, encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra (EAC) do Departamento de Biologia – UFC, sob o registro 27.650.

### Extração e isolamento

A parte aérea (1.250 g) foi seca à temperatura ambiente, trituração e submetida a extrações com hexano, seguido de EtOH a frio (3 vezes cada). Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida, resultando nos extratos hexânico (19,4 g) e EtOH (50,6 g). O extrato hexânico, após fracionamento cromatográfico sobre gel de sílica (42,7 g), resultou nas seguintes frações: hexano (7,3 g), hexano/ $\text{CHCl}_3$  3:1 [IA (0,6 g) e IIA (2,3 g)], hexano/ $\text{CHCl}_3$  1:1 [IB (3,0 g) e IIB (1,1 g)],  $\text{CHCl}_3$  (1,2 g), AcOEt (2,0 g) e MeOH (0,6 g). Repetidas cromatografias *flash* da fração hexano/ $\text{CHCl}_3$  3:1, IA (0,6 g), utilizando o sistema de solvente hexano/ $\text{CHCl}_3$  8,5:1,5 resultaram no isolamento de **1** (6,0 mg). A fração hexano/ $\text{CHCl}_3$  3:1 IIA, (2,3 g) foi submetida à cromatografia *flash* sobre 60,0 g de gel de sílica, utilizando como eluente hexano-AcOEt (8:2). 252 frações de 10 mL foram coletadas, e após monitoramento em CCD, foram reunidas em 13 grupos (A-I a A-XIII). O grupo A-III (195 mg) após recristalização em acetona, resultou no composto **2** (32 mg; p.f. 247-249  $^\circ\text{C}$ ; lit. 267-269  $^\circ\text{C}$ ), identificado como o triterpeno friedelina.<sup>31</sup> O grupo A-VII (171 mg), depois de submetido a recristalizações em acetona, forneceu uma mistura ternária (80 mg) constituída dos acetatos de taraxasterila (**3**), pseudo-taraxasterila (**4**) e lupeila (**5**).<sup>32</sup> A fração hexano/ $\text{CHCl}_3$

**Tabela 2.** Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de **11**, **14** – **17**

| No.    | <b>11</b> <sup>a</sup> | <b>14</b> <sup>b</sup> | <b>15</b> <sup>c</sup> | <b>16</b> <sup>c</sup> | <b>17</b> <sup>d</sup> |
|--------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 2      | 78,9                   | 164,4                  | 157,1                  | 79,9                   | 80,5                   |
| 3      | 43,8                   | 105,0                  | 139,5                  | 43,6                   | 44,2                   |
| 4      | 195,9                  | 183,1                  | 179,7                  | 197,9                  | 198,5                  |
| 5      | 163,2                  | 163,3                  | 162,9                  | 161,0                  | 165,1                  |
| 6      | 96,5                   | 100,4                  | 98,5                   | 97,7                   | 98,2                   |
| 7      | 166,9                  | 166,3                  | 166,6                  | 166,6                  | 167,0                  |
| 8      | 95,7                   | 95,3                   | 92,9                   | 96,5                   | 97,2                   |
| 9      | 163,2                  | 158,9                  | 157,8                  | 161,1                  | 164,5                  |
| 10     | 102,4                  | 105,4                  | 106,6                  | 105,0                  | 105,0                  |
| 1'     | 130,6                  | 124,4                  | 123,2                  | 131,8                  | 132,3                  |
| 2'     | 127,8                  | 128,9                  | 116,5                  | 129,0                  | 129,2                  |
| 3'     | 114,2                  | 115,2                  | 146,0                  | 114,9                  | 115,2                  |
| 4'     | 160,0                  | 163,6                  | 149,3                  | 160,8                  | 161,6                  |
| 5'     | 114,2                  | 115,2                  | 116,4                  | 114,9                  | 115,2                  |
| 6'     | 127,8                  | 128,9                  | 122,2                  | 129,0                  | 129,2                  |
| 1''    | -                      | -                      | -                      | 101,1                  | 101,3                  |
| 2''    | -                      | -                      | -                      | 74,5                   | 74,7                   |
| 3''    | -                      | -                      | -                      | 78,0                   | 78,0                   |
| 4''    | -                      | -                      | -                      | 71,1                   | 71,4                   |
| 5''    | -                      | -                      | -                      | 77,8                   | 77,2                   |
| 6''    | -                      | -                      | -                      | 62,5                   | 67,5                   |
| 1'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 102,3                  |
| 2'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 72,1                   |
| 3'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 72,5                   |
| 4'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 74,2                   |
| 5'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 69,9                   |
| 6'''   | -                      | -                      | -                      | -                      | 18,1                   |
| 7-OMe  | -                      | -                      | 56,5                   | -                      | -                      |
| 3-OMe  | -                      | -                      | 60,3                   | -                      | -                      |
| 4'-OMe | 55,4                   | 55,9                   | -                      | 55,7                   | 55,9                   |

Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.; <sup>a</sup> $\text{CDCl}_3$ , <sup>b</sup> $\text{C}_3\text{D}_5\text{N}$ , <sup>c</sup> $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ , <sup>d</sup> $\text{CD}_3\text{OD}$ .

1:1 IB (3,0 g), após cromatografia *flash* empregando hexano-AcOEt (8:2) resultou em 152 frações de 10 mL que, após análise em CCD, forneceu um conjunto de 8 grupos (B-I a B-VIII). O grupo B-V (100 mg), foi sujeito à cromatografia sobre 60 g de gel de sílica, utilizando misturas binárias de hexano/AcOEt 9:1, 8:2, 7:3, 6:4 e 1:1. Por eluição com hexano/AcOEt 9:1 obteve-se 80 mg de um material sólido, que se apresentou como uma única mancha em CCD sendo, entretanto, constituído de uma mistura ternária de lupeol (**6**),  $\alpha$ -amirina (**7**) e  $\beta$ -amirina (**8**).<sup>32</sup> A fração hexano/ $\text{CHCl}_3$  1:1 IIB, (1,1 g), foi submetida à coluna *flash* sobre gel de sílica (60 g) e eluída com a mistura binária hexano/AcOEt 4:6, fornecendo 296 frações de 10 mL. A análise por CCD permitiu reunir estas frações em 7 grupos (C-I a C-VII). O grupo C-IV (405,0 mg) foi submetido ao mesmo procedimento cromatográfico anterior. Deste fracionamento obtiveram-se 160 frações de 10 mL, que após análise em CCD, forneceram 7 grupos (D-I a D-VII). No grupo D-III (139 mg), houve a formação de cristais que, após adição de acetona e algumas gotas de MeOH, seguida de filtração, resultou em 30 mg da mistura dos esteróides  $\beta$ -sitosterol (**9**) e estigmasterol (**10**).

O extrato EtOH (50,6 g) foi dissolvido em 150 mL de mistura MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (7:3) e extraído com os solventes hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e

AcOEt (5 vezes 100 mL de cada solvente). As frações obtidas foram secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida fornecendo as seguintes frações: hexano (4,2 g),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (21,5 g), AcOEt (2,8 g) e o resíduo (19,0 g). A fração hexânica (4,2 g), após comparação em CCD com amostras das substâncias previamente isoladas da fração hexânica, mostrou conter as substâncias **3-5**, **9** e **10**. A fração  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (21,5 g) foi fracionada sobre 45,8 g de gel de sílica utilizando os solventes hexano e AcOEt, puros ou em misturas binárias, seguido de MeOH. Ao final, foram obtidas as seguintes frações: hexano/AcOEt 4:6 (10,9 g); 2:8 (2,4 g), AcOEt (2,0 g), AcOEt/MeOH 1:1 (4,6 g) e MeOH (0,21 g). Uma alíquota da fração hexano/AcOEt 4:6 (3,6 g) foi submetida a fracionamento cromatográfico em gel de sílica (60,0 g), utilizando um gradiente crescente de polaridade constituído de hexano/AcOEt, aumentando a concentração de 10 em 10%, até AcOEt. Foram coletadas 234 frações de 10 mL que, após análise em CCD, resultaram em 9 grupos (E-I a E-IX). O grupo E-II (117,0 mg), depois de repetidas cromatografias *flash* empregando hexano/AcOEt 8,5:1,5, culminou no isolamento do composto **11** (24,0 mg; p.f. 159-161 °C; lit. 150 °C), identificado como o flavonóide angoforol.<sup>33</sup> O grupo VIII (1,2 g) foi sujeito a sucessivos fracionamentos cromatográficos empregando Sephadex LH-20 e o sistema de solvente acetona/MeOH 1:1, culminando em 220 mg de um material oleoso, constituído de duas substâncias majoritárias. Repetidas cromatografias em gel de sílica deste material, empregando misturas binárias de hexano/AcOEt, em ordem crescente de polaridade, levou ao isolamento de **12** (18,0 mg) e **13** (9,0 mg), por eluição com hexano/AcOEt 1:1 e hexano/AcOEt 3:7, respectivamente. O grupo IX (1,19 g), após diversos fracionamentos cromatográficos sobre Sephadex LH-20, usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH 1:1, forneceu as substâncias **14** (12 mg; p.f. 254-256 °C; lit. 263 °C), identificada como acetina<sup>34</sup> e **15** (10,0 mg; p.f. 227-228 °C; lit. 235 °C), 3,7-dimetoxi-5,3',4'-tri-hidroxi-flavona.<sup>35</sup> A fração hexano/AcOEt 2:8 (2,4 g) foi submetida à cromatografia em gel de sílica (45,0 g), eluindo com hexano/AcOEt 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 2,5:7,5, e finalmente AcOEt, fornecendo 150 frações de 10 mL, cada. Estas, após analisadas por CCD, resultaram em 7 grupos (I-VII). As frações provenientes do grupo V (800 mg) após cromatografias em Sephadex LH-20 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH 1:1) forneceu 6,0 mg da substância **16** p.f. 169-171 °C), o glicosídeo do angoforol.<sup>36</sup> A fração proveniente do grupo VII (90,0 mg) foi submetida ao mesmo procedimento cromatográfico anterior, do qual se obteve um sólido amarelo que, após adição de acetona, seguido de filtração, rendeu 18,0 mg da substância **17** p.f. 198-199 °C; lit. 210-212 °C), identificada como o rutinosídeo do angoforol.<sup>37</sup>

## CONCLUSÃO

A investigação química da parte aérea de *V. chalybaeae* resultou no isolamento de uma série de metabólitos secundários comuns no táxon *Vernonia*, como triterpenos e flavonóides. O isolamento do álcool 2,3-dimetil-1,2,3-butanotriol (**12**) e dos éteres 4 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epóxiaromadendrano (**1**) e 2-(1,3-di-hidroxi-3-metilpenta-2-iloxi)3-metilpenta-1,3-diol (**13**), os dois primeiros isolados como produtos naturais pela primeira vez, constitui uma interessante contribuição para o conhecimento químico do gênero *Vernonia*.

## AGRADECIMENTOS

À FUNCAP e PRONEX pelo apoio financeiro, ao CNPq pelas bolsas de estudo e de pesquisa, ao Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), pela obtenção dos espectros de RMN e ao Prof. F. Q. Monte, pela obtenção dos espectros de massa.

## REFERÊNCIAS

1. Barroso, G. M.; *Sistemática de Angiospermas do Brasil*, Imprensa Universitária: Minas Gerais, 1986.
2. Miserez, F.; Potterat, O.; Marston, A.; Mungai, G. M.; Hostettmann, K.; *Phytochemistry* **1996**, *43*, 283.
3. Alves, T. M.; Nagem, T. J.; Carvalho, L. H.; Krettli, A. U.; Zani, C. L.; *Planta Med.* **1997**, *63*, 554.
4. Liang, Q. L.; Min, Z. D.; *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **2003**, *28*, 235.
5. Kos, O.; Castro, V.; Murillo, R.; Poveta, L.; Merfort, I.; *Phytochemistry* **2006**, *67*, 62.
6. Tchinda, A. T.; Tane, P.; Ayafor, J. F.; Connolly, J. D.; *Phytochemistry* **2003**, *63*, 841.
7. Jisaka, M.; Ohigashi, H.; Takegawa, K.; Hirota, M.; Irie, R.; Huffman, M. A.; Koshimizu, K.; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 413.
8. Pollora, G. C.; Bardón, A.; Catálan, C. A. N.; Gedris, W. H.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 397.
9. Bazon, J. N.; Lopes, J. L. C.; Vichnewski, W.; Dias, D. A.; Nagamiti, K.; Cunha, W. R.; Herz, W.; *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1535.
10. Abegaz, B. M.; Keige, A. W.; Diaz, J. D.; Herz, W.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 191.
11. Zdero, C.; Bohlmann, F.; Mungai, G. M.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2653.
12. Perdue Júnior, R. E.; Tschritzis, F.; Jakupovic, J.; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 10715.
13. Morales-Escobar, L.; Braca, A.; Pizza, C.; Tommasi, N.; *Arkivoc* **2007**, *7*, 349.
14. Tian, G.; Zhang, U.; Zhang, T.; Yang, F.; Ito, Y.; *J. Chromatogr., A* **2004**, *1049*, 219.
15. Carvalho, M. G.; Costa, P. M.; Abreu, H. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, *10*, 163.
16. Igile, G. O.; Oleszek, W.; Jurzysta, M.; Burda, S.; Fafunso, M.; Fasanmade, A. A.; *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2445.
17. Muregi, F. W.; Chhabra, S. C.; Njagi, E. N. M.; Lang'at-Thoruwa, C. C.; Njue, W. M.; Orago, A. S. S.; Omar, S. A.; Ndiege, I. O.; *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *84*, 235.
18. Oketch-Rabah, H. A.; Christensen, S. B.; Frydenvang, K.; Dossaji, S. F.; Theander, T. G.; Cornett, C.; Watkins, W. M.; Kharazmi, A.; Lemmich, E.; *Planta Med.* **1998**, *64*, 559.
19. Tona, L.; Cimanga, R. K.; Mesia, K.; Musuamba, C. T.; De Bruyne, T.; Apers, S.; Hernans, N.; Miert, S. V.; Pieters, L.; Totté, J.; Vlietinck, A. J.; *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *93*, 27.
20. Iwalema, E. O.; Iwalema, O. J.; Adeboye, J. O.; *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *86*, 229.
21. Monteiro, M. H. D.; Gomes-Carneiro, M. R.; Felzenszwalb, I.; Chahoud, I.; Paumgarten, F. J. R.; *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *74*, 149.
22. Kelmanson, J. E.; Jäger, A. K.; Staden, van J.; *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *69*, 241.
23. Roos, G.; Prawat, H.; Walter, C. U.; Klaiber, I.; Vogler, B.; Guse, J.-H.; Kraus, W.; *Planta Med.* **1998**, *64*, 673.
24. Erasto, P.; Grierson, D. S.; Afolayan, A. J.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *106*, 117.
25. Sy, G. Y.; Cissé, A.; Nongonierma, R. B.; Sarr, M.; Mbodj, N. A.; Faye, B.; *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *98*, 171.
26. Silveira, R. R.; Foglio, M. A.; Gontijo, J. A. R.; *Phytomedicine* **2003**, *10*, 127.
27. Martius, C. F. P.; *Flora Brasiliensis*, Monachii: New York, 1967, vol. 6, part. I.
28. Albuquerque, M. R. J. R.; Souza, E. B.; Mesquita, E. F.; Nunes, E. P.; Cunha, A. N.; Silveira, E. R.; *J. Essent. Oil. Res.* **2001**, *13*, 3764.
29. Jenniskens, L. H. D.; Wijnberg, J. B. P. A.; Groot, A.; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6585.
30. Adam, W.; Epe, B.; Schiffmann, D.; Vargas, F.; Wild, D.; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 443.
31. Cano, A.; Bucio, J. L.; Espinoza, M.; Ruiz-Cancino, A.; *Rev. Quím. Mex.* **2000**, *44*, 155.
32. Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517.
33. Birch, A. J.; Pettit, D. G.; Ryan, A. J.; Speake, R. N.; *J. Chem. Soc.* **1960**, 2063.
34. Agrawal, P. K.; *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Amsterdam: Elsevier, 1989.
35. Guerrero, M. F.; Puebla, P.; Carrón, R.; Martín, M. L.; Román, S.; *J. Pharm. Pharmacol.* **2002**, *54*, 1373.
36. Jangwan, J. S.; Bahuguna, R. P.; *Int. J. Crud. Drug Res.* **1989**, *27*, 223.
37. Escudero, J.; López, J. C.; Rabanal, R. M.; Valverde, S.; *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 128.