

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Vernonia scorpioides* (Lam) Pers. (Asteraceae)

Adalva Lopes Machado, Fabiana Martins Aragão, Paulo N. Bandeira, Hélcio Silva dos Santos 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

Otília 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

Edson Paula Nunes

Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará, CP 6021, 60455-760 Fortaleza – CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Pesquisador Visitante Emérito - FAPERJ, Laboratório de Ciências Químicas, Universidade Estadual do Norte Fluminense / Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 28013-602 Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil

Recebido em 17/6/12; aceito em 13/11/12; publicado na web em 20/2/13

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Vernonia scorpioides* (Lam) Pers. (Asteraceae). The chemical investigation of hexane and ethanol extracts from the aerial parts of *Vernonia scorpioides* resulted in the isolation and characterization of a new polyacetylene lactone, *rel*-4-dihydro-4 β -hydroxy-5 α -octa-2,4,6-triynyl-furan-2-(5H)-one, along with the new ethyl 3,4-dihydroxy-6,8,10-triynyl-dodecanoate, and seven known compounds: taraxasteryl acetate, lupeyl acetate, lupeol, lupenone, β -sitosterol, stigmasterol and luteolin. The structure of all compounds was determined by spectrometric techniques (HR-ESI-MS, ^1H and ^{13}C NMR and IV) and comparison with published spectral data.

Keywords: *Vernonia scorpioides*; Asteraceae; lactones.

INTRODUÇÃO

Vernonia scorpioides (Lam.) Pers. (Asteraceae) [sin. *Conyza scorpioides* Lam., *Lepidaploa scorpioides* Cass], conhecida popularmente por piracá, enxuga ou erva-de-São Simão, é uma planta perene, de porte subarborescente de até 2,50 m de altura, muito ramificada e encontrada comumente em pastagens, terrenos baldios e beira de estradas de todo o território nacional.^{1,2} O extrato etanólico das folhas frescas de *V. scorpioides* é empregado amplamente em aplicações tópicas no tratamento de enfermidades da pele, incluindo feridas crônicas e úlceras.² Estudos prévios dos extratos brutos e das frações revelaram que esta espécie apresenta relevantes propriedades farmacológicas, como antitumoral e citotóxica, além de antibacteriana e fungicida.³

Várias espécies de *Vernonia* são muito difundidas na medicina tradicional, em diversas partes do mundo, principalmente nos continentes americano e africano.⁴ Dentre as espécies do mesmo gênero, reconhecidas como medicinais, destacam-se *V. amygdalina*, utilizada no tratamento da esquistossomose, disenteria amebiana, distúrbios gastrointestinais, malária, doenças venéreas, hepatites e diabetes,⁵ e *V. colorata*, empregada no tratamento de furúnculos, distúrbios intestinais, febres, tosse e no controle da *diabetes mellitus*.⁶ No Brasil, destacam-se *V. condensata*, administrada na forma de chá para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, dores de cabeça e contra picada de cobra,⁴ e *V. scorpioides*, cujo extrato alcoólico é utilizado no tratamento de ferimentos cutâneos.⁷ Estudos químicos relacionados a essas espécies relatam a ocorrência de triterpenos, esteroides, glicosídeos esteroidais, lignóides, carotenóides, alcalóides, taninos, flavonóides, um derivado do ácido vernólico, um éter alifático, alcoóis e lactonas sesquiterpênicas, sendo estas últimas consideradas marcadores taxonômicos para o gênero.⁸

Estudos anteriores relacionados à composição química de *V. scorpioides* relatam a ocorrência de lactonas sesquiterpênicas, incluindo um derivado poliacetilênico.^{2,3} A composição química do óleo essencial desta espécie foi relatada previamente,⁹ enquanto que, neste trabalho, se relata a composição química dos extratos hexânico e etanólico de suas partes aéreas.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação e material cromatográfico

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento de microdeterminação 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 °C/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. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C (1D e 2D), foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelos DRX-300 (300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C) e Avance DRX-500 (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C). Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetro de massa Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50, por impacto eletrônico a 70 eV, enquanto os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um LCMS-IT-TOF equipado com fonte de ionização por *electrospray* (Shimadzu). Nas cromatografias de adsorção utilizou-se gel de sílica 60 da Vetec (\emptyset μm 70-230 mesh), enquanto nos fracionamentos cromatográficos por exclusão molecular foi empregado Sephadex LH-20. Nas cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se gel de sílica 60 (\emptyset μm 5-40 Merck) com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm (F_{254}). As substâncias foram reveladas com solução de vanilina/ácido perclórico/EtOH, seguida por aquecimento em estufa (~ 100 °C).

*e-mail: rjane_7@hotmail.com

Material vegetal

As partes aéreas de *Vernonia scorpioides*, em estágio de floração, foram coletadas no Pico Alto, Guaramiranga - CE, em abril de 2008. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. E. P. Nunes (Departamento de Biologia, UFC). Uma exsiccata da planta, preparada a partir do material coletado, encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra (EAC) do Departamento de Biologia - UFC, sob o registro 33.739.

Extração e isolamento

As partes aéreas (1.000,0 g) de *V. scorpioides* foram secas à temperatura ambiente, trituradas e, em seguida, submetidas à extração com hexano a frio, seguida por etanol (três vezes cada). As soluções obtidas foram destiladas sob pressão reduzida, resultando nos extratos hexânico (14,5 g) e etanólico (27,6 g). O extrato hexânico, após fracionamento cromatográfico sobre gel de sílica (40,0 g), forneceu as seguintes frações: hexano [IA (6,7 g), IIA (0,9 g) e IIIA (0,6 g)], hexano/CHCl₃ 3:1 (500 mL; 2,8 g), hexano/CHCl₃ 1:1 (500 mL; 1,2 g), hexano/CHCl₃ 3:7 (500 mL; 1,4 g), CHCl₃ (500 mL; 0,1 g), AcOEt (200 mL; 0,2 g) e MeOH (200 mL; 0,05 g).

A fração hexano IA (6,7 g) foi submetida a fracionamento cromatográfico sobre 40,0 g de gel de sílica utilizando 150 mL de misturas binárias de hexano/CH₂Cl₂, em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 9 frações que, após análise por CCDA, foram reunidas em 7 grupos (A-I a A-VII). O grupo A-II (hexano/CH₂Cl₂ 9:1; 1,0 g) foi acondicionado sobre 37,0 g de gel de sílica e sujeito a fracionamento cromatográfico empregando os solventes hexano, CH₂Cl₂, e AcOEt, puros ou em misturas binárias, obtendo-se um total de 171 frações de aproximadamente 8 mL. A análise por CCDA permitiu reuni-las em 15 grupos (B-I a B-XV). O grupo B-V (hexano/CH₂Cl₂ 9,5:0,5; 131,3 mg), após fracionamento sobre gel de sílica (5,7 g) com os solventes hexano e CH₂Cl₂, em gradiente crescente de polaridade, resultou na obtenção de 113,4 mg de um sólido (hexano/CH₂Cl₂ 49:1) que, apesar de apresentar uma única mancha em CCDA, se constituiu em uma mistura dos acetatos de taraxasterila (**1**) e lupeol (**2**).¹⁰ O grupo A-III (hexano/CH₂Cl₂ 4:1, 7:3 e 2:3; 2,05 g) foi disposto sobre 24,0 g de gel de sílica e submetido a uma coluna cromatográfica, utilizando um gradiente de hexano/CH₂Cl₂ (49:1 até CH₂Cl₂) e, depois, AcOEt. Deste procedimento foram obtidas 260 frações de 8 mL que, após análise por CCDA, resultaram em 14 grupos (C-I a C-XIV). O grupo C-V (hexano/CH₂Cl₂ 8,8:1,2; 92-129; 244,2 mg) após fracionamento cromatográfico sobre gel de sílica (19,5 g), empregando os solventes hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt em ordem crescente de polaridade, culminou no isolamento da substância **3** (hexano/CH₂Cl₂ 8,8:1,2; 7,2 mg), caracterizada como o triterpeno lupenona.¹⁰ A fração hexano/CHCl₃ 3:1 (2,8 g) foi sujeita a fracionamento cromatográfico sobre gel de sílica (25,5 g), utilizando a mistura binária dos solventes hexano/AcOEt, aumentando a concentração de 9,8:0,2 até 8,6:1,4, seguida por AcOEt e MeOH. Deste fracionamento foram coletadas 141 frações de 8 mL que, após analisadas por CCDA, foram reunidas em 7 grupos (D-I a D-VII).

O grupo D-III (47-78, hexano/AcOEt 9,4:0,6; 1,8 g), após sucessivos fracionamentos cromatográficos sobre gel de sílica empregando o sistema de solvente hexano/AcOEt, aumentando a concentração de 49:1, até AcOEt, resultou no isolamento do triterpeno lupeol (**4**) (28,9 mg, hexano/AcOEt 9,8:0,2; p.f 196,2-197,7 °C; lit. 195-197°C).¹⁰

A fração hexano/CHCl₃ 1:1 (1,2 g) foi acondicionada sobre 37,0 g de gel de sílica e eluída com hexano, CHCl₃ e AcOEt, seguindo ordem crescente de polaridade resultando em 147 frações de 8 mL, que após monitoramento por CCDA culminaram em 12 grupos. O grupo V (52-62, hexano/CHCl₃ 6:4; 24,2 mg), após comparação

com padrões, foi caracterizado como sendo composto por esteroides sitosterol (**5**) e estigmasterol (**6**).

O extrato EtOH bruto (27,6 g) foi dissolvido em 100 mL de MeOH e, em seguida, acrescentada H₂O até a proporção de 4:1. Esta mistura, após filtração, forneceu um resíduo (17,1 g) e a fase hidroalcoólica que, após extração com hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt (5 x 50 mL cada), resultou em 0,3; 3,7 e 1,3 g de material, respectivamente. A fração CH₂Cl₂ (3,7 g) foi acondicionada sobre 39,0 g de gel de sílica e eluída com a mistura de solventes hexano/AcOEt (8:2; 6:4; 4:6; 2:8) e, posteriormente, AcOEt. Este fracionamento resultou em 29 frações de 50 mL que, após destilação do solvente e monitoramento em CCDA, resultou em 9 grupos (E-I a E-IX). O grupo E-II (8-14, hexano/AcOEt 6:4; 229,3 mg) foi disposto sobre 7,4 g de gel de sílica e eluído com hexano, AcOEt e MeOH. Um total de 160 frações de 8 mL foi coletado que, após análise por CCDA, produziu 14 grupos (F-I a F-XIV). F-VIII (80-99, hexano/AcOEt 8:2; 63,7 mg) foi submetida à cromatografia em gel de sílica (7,0 g) e eluída com misturas binárias de hexano/AcOEt, seguindo um gradiente de polaridade e, finalmente, MeOH. 180 frações de 5,0 mL foram obtidas e, após monitoramento por CCDA, resultaram em 10 grupos (G-I a G-X). G-IV (84-115, hexano/AcOEt 7,9:2,1; 33,1 mg), após cromatografia sobre gel de sílica (2,4 g), utilizando hexano/AcOEt

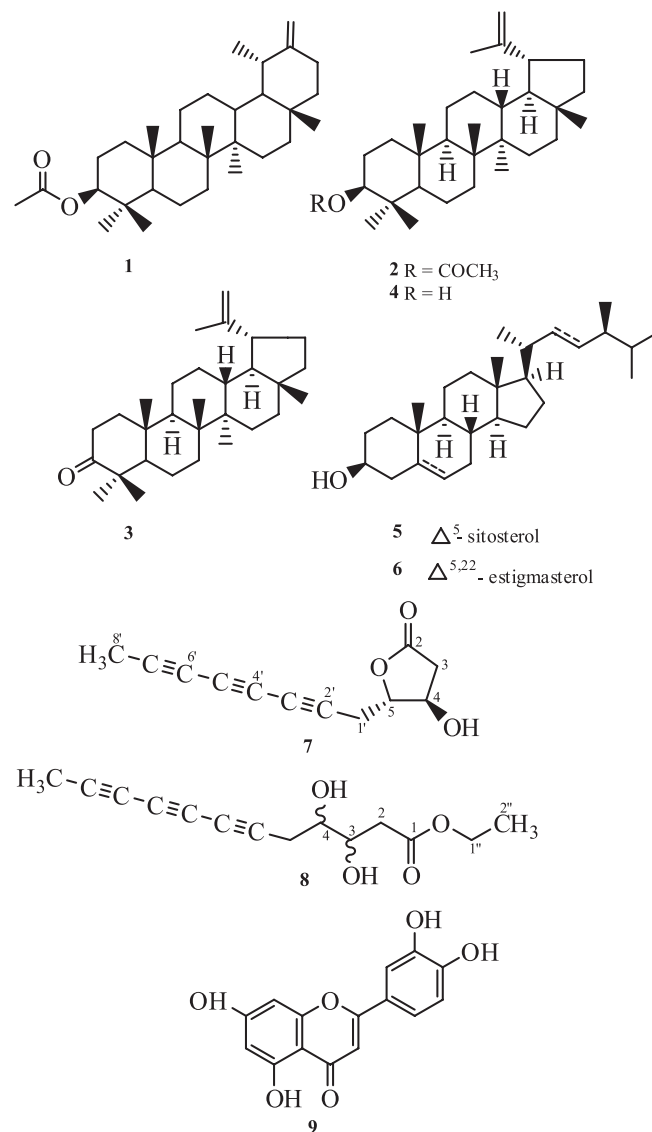


Figura 1. Estruturas dos metabólitos secundários isolados de *V. scorpioides*

9,5:0,5 até AcOEt, resultou em 120 frações de 2,5 mL, cuja análise por CCDA originou 10 grupos (H-I a H-X). H-V (50-74, hexano/AcOEt 8,5:1,5; 24,5 mg), após fracionamento em Sephadex LH-20 e MeOH como fase móvel, culminou no isolamento do composto **7** (17,7 mg; p.f. 105,5-106,4 °C). O grupo F-X (108-121, hexano/AcOEt 7:3; 36,3 mg) foi submetido ao mesmo procedimento anterior, levando ao isolamento do composto **8** (4,0 mg). O grupo E-V (19-21, hexano/AcOEt 2:8; 182,4 mg) após fracionamento em Sephadex LH-20 e MeOH como eluente resultou no isolamento do flavonoide luteolina (**9**) (5,6 mg; p.f. 322-324 °C; lit. >320 °C).¹¹

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prospecção química dos extratos hexânico e etanólico das partes aéreas de *V. scorpioides* resultou no isolamento de triterpenos, esteroides, um flavonoide, uma lactona poliacetilênica e seu produto de transesterificação. Do extrato hexânico foram isolados os triterpenos acetato de taraxasterila (**1**) e acetato de lupefla (**2**),¹⁰ lupenona (**3**)¹⁰ e lupeol (**4**)¹⁰ além dos esteroides sitosterol (**5**) e estigmasterol (**6**). Os compostos **1-2** e **5-6** foram isolados como misturas binárias. Do extrato etanólico foram isolados uma nova lactona poliacetilênica (**7**), um éster etílico derivado desta (**8**), obtido possivelmente pela reação de **7** com EtOH, solvente utilizado no processo da extração, e 3',4',5,7-tetra-hidroxi-flavona (luteolina) (**9**).¹¹ A estrutura de todos os compostos isolados foi determinada pela análise dos espectros de RMN de ¹H e de ¹³C, e por comparação de seus dados espectrais descritos previamente na literatura.

O composto **7**, p.f. 105,5-106,4 °C, isolado na forma de cristais de cor vinho, teve sua fórmula molecular C₁₂H₁₀O₃ determinada por espectrometria de massa de alta resolução através do pico *m/z* 201,0557 [M-H]⁻ (massa calculada 201,0551). Seu espectro na região do infravermelho apresenta bandas de absorção em 3424 e 2220 cm⁻¹ compatíveis com deformação axial de ligações O-H e ≡C-H, respectivamente. Uma banda em 1754 cm⁻¹, correspondente à deformação axial de ligação C=O, além de bandas em 1208 e 1021 cm⁻¹, correspondentes à deformação axial de ligação C-O.¹²

O espectro de RMN de ¹H mostra sinais em δ 4,58 (m) e 4,46 (m) correspondentes a átomos de hidrogênio ligados a átomos de carbono oxigenado. Estes sinais mostram correlação HSQC com os sinais de carbonos metínicos em δ 83,6 e 68,9, respectivamente. O espectro revelou também sinais para dois pares de átomos de hidrogênio diastereotópicos em δ 2,91 (dd, *J* = 17,6 e 5,5 Hz)/2,42 (dd, *J* = 17,6 e 0,5 Hz) e 2,82 (dd, *J* = 17,5 e 7,2)/2,77 (dd, *J* = 17,5 e 5,9), os quais no mapa de contorno HSQC exibiram correlações com os carbonos metilínicos em δ 40,1 (C-3) e 20,5 (C-1'), respectivamente. Apresentou ainda um singleto em δ 1,95 para um carbono metílico (3H-8'), Tabela 1.

O espectro de RMN de ¹³C-PND de **7** mostrou doze linhas espectrais que, em comparação com o DEPT 135°, foram atribuídas a dois carbonos metilínicos (δ 40,1 e 20,5), dois carbonos oxi-metínicos (δ 83,6 e 68,9), um carbono metílico (δ 3,84) e sete carbonos não hidrogenados, dos quais o sinal em 177,9 corresponde a uma carbonila de γ-lactona, enquanto os sinais em δ 76,9; 75,2; 67,7; 65,2; 61,9 e 59,9 foram atribuídos a carbonos de tripla ligação. Vale ressaltar que, com base no valor do deslocamento químico do carbono do grupo metila em δ 3,8, este se encontra ligado a um carbono com hibridização sp, justificando a acentuada blindagem provocada pelo efeito anisotrópico deste tipo de ligação.¹² Esses dados, juntamente com as correlações observadas no mapa de contorno HMBC entre os hidrogênios em δ 2,91(H-3a), 2,42 (H-3b), 4,46 (H-4) e 4,58 (H-5) com o carbono da carbonila (δ 177,9), em adição ao fragmento com *m/z* 83 (Figura 2), mostraram a presença de um anel β-lactônico na molécula. Um grupo hidroxila e uma unidade poliacetilênica constituída de três

Tabela 1. Dados de RMN ¹H (500 MHz) e de ¹³C (125 MHz) de **7** e **8**

| No | 7a | | 8b | |
|-----|----------------|--|----------------|--|
| | δ _C | δ _H | δ _C | δ _H |
| 1 | - | - | 172,7 | |
| 2 | 177,9 | - | 39,8 | 3,08 (dd, <i>J</i> = 17,3, 5,6) 2,95 (dd, <i>J</i> = 17,3; 7,4) |
| 3 | 40,1 | 2,91 (dd, <i>J</i> = 17,6; 5,5) 2,42 (dd, <i>J</i> = 17,6; 0,5) | 70,7 73,0 | 4,70 (m) |
| 4 | 68,9 | 4,46 (tl, <i>J</i> = 4,0) | - | 4,25 (m) |
| 5 | 83,6 | 4,58 (td, <i>J</i> = 6,8; 4,0) | - | - |
| 1' | 20,5 | 2,82 (dd, <i>J</i> = 17,5; 7,2) 2,77 (dd, <i>J</i> = 17,5; 5,9) | 27,7 | 3,03 (m) |
| 2' | 75,2 | - | 76,7 | - |
| 3' | 67,7 | - | 67,4 | - |
| 4' | 59,9 | - | 61,1 | - |
| 5' | 61,9 | - | 61,7 | - |
| 6' | 65,2 | - | 65,7 | - |
| 7' | 76,9 | - | 79,4 | - |
| 8' | 3,8 | 1,95 (s) | 4,27 | 1,78 (s) |
| 1'' | - | - | 60,7 | 4,14 (dq, <i>J</i> = 7,1) |
| 2'' | - | - | 14,6 | 1,11 (t, <i>J</i> = 7,1) |

triples ligações foram posicionados em C-4 e C-5, respectivamente. A estereoquímica relativa para os centros estereogênicos C-4 e C-5 foi determinada com base nos valores das constantes de acoplamento observadas para átomos de hidrogênio vicinais em lactonas de cinco membros, onde para hidrogênios que mantêm uma relação *cis* (~ 8,0 Hz) o valor da constante de acoplamento é maior do que *trans* (~ 6,0 Hz).¹³ Conforme pode ser observado na Tabela 1, os valores das constantes de acoplamento encontrados para H-4 e H-5 foram de 4,0 Hz, compatíveis portanto com a relação *trans*. Os dados espectrais discutidos acima permitiram identificar o composto **7** como sendo a lactona poliacetilênica *rel*-di-hidro-4β-hidróxi-5α(octa-2,4,6-triil) furan-2-(5H)-ona.

O composto **8**, cristais de cor lilás, teve sua fórmula molecular C₁₄H₁₆O₄ determinada por espectrometria de massa de alta resolução através do pico *m/z* 271,0941 [M+Na]⁺ (massa calculada 271,0946). Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C de **8** mostraram-se semelhantes a aqueles observados para **7**, exceto pelos sinais correspondentes a um grupo etoxila, evidenciado pelos sinais de hidrogênios em δ 4,14 (dq, *J* = 7,1 Hz) e 1,11 (t, *J* = 7,1 Hz) e de carbonos em δ 60,7 e 14,6. No mapa de contorno HMBC, a correlação entre o sinal em δ 4,14 com o sinal em δ 172,7 revelou que **8** se tratava de um éster etílico derivado de **7**, o qual pode ser um artefato, formado durante o processo de extração com EtOH.

Ambos os compostos **7** e **8** foram avaliados sobre várias linhagens de células tumorais humanas (SF-295, MDAMB-435, HCT-8 e HL-60), visto que em trabalho prévio uma lactona semelhante a **7** mostrou atividade citotóxica.³ No entanto, contrariando essa expectativa, nenhum dos compostos foi ativo.

CONCLUSÃO

A prospecção química de *V. scorpioides* resultou no isolamento de triterpenos, esteroides, um flavonoide e uma nova γ-lactona contendo uma cadeia lateral poliacetilênica. Uma lactona semelhante a esta foi

