



ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA PLANTA *VERNONIA CRASSA* (ASTERACEAE)

Drielli Rhiane P. C. Arêas (PIBIC/CNPq/Uem), Débora Cistina Baldoqui (Co-orientadora), Maria Helena Sarragiotto (Orientadora), e-mail: mhsarragiotto@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas -
Departamento de Química/Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra / Química;

Palavras-chave: *Vernonia crassa*, flavonóide, Asteraceae.

Resumo:

Dentre as espécies da família Asteraceae que ocorrem na região dos Campos Gerais do Paraná, uma área de investigação de nosso grupo de pesquisa, destaca-se as pertencentes ao gênero *Vernonia*, cujos estudos descritos na literatura mostram a presença de compostos ativos, tais como lactonas sesquiterpênicas e flavonoides. Uma espécie de ocorrência na região, *Vernonia crassa*, não foi ainda estudada química ou biologicamente. Em continuidade às investigações químicas sobre a família Asteraceae, neste trabalho desenvolvemos o estudo químico dos extratos hexânico, diclorometano e da fração hidrometanólica, obtidos da espécie *Vernonia crassa*, o qual resultou no isolamento e caracterização das substâncias estigmasterol, β -sitosterol, α -amirina, β -amirina, lupeol e isovitexina. A utilização de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) levou a identificação de uma lactona sesquiterpenica e de dois flavonoides, já isolados anteriormente, no extrato acetato de etila.

Introdução

Espécies da família Asteraceae apresentam uma variedade de metabólitos secundários com destaque para as lactonas sesquiterpenicas e flavonoides, considerados como importantes marcadores quimiotaxonômicos, além de sua reconhecida importância para a medicina, no tratamento e prevenção de várias doenças. O gênero *Vernonia* compreende cerca de 1000 espécies e é





distribuído principalmente nas zonas tórridas da América, da Ásia, e África. Os membros deste gênero são boas fontes de lactonas sesquiterpênicas com diferentes esqueletos carbocíclicos, tais como germacranolídeos, eudesmanolídeos e guaianolídeos (BUSKUHL et al., 2010). Em continuidade às investigações químicas sobre a família Asteraceae, neste trabalho desenvolvemos o estudo químico de *Vernonia crassa*.

Materiais e métodos

As folhas de *Vernonia crassa* (834,41g) foram secas a temperatura ambiente e moídas. O material moído foi extraído com solventes em ordem crescente de polaridade, sendo estes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol. A evaporação dos solventes forneceu os extratos hexânico (EHA) (20,55g), diclorometano (ED) (24,10g), acetato de etila (EAE) (10,59g) e metanólico (EM) (50,46g). O extrato hidrometanólico (EHMA) (10,80g) foi obtida através do fracionamento do extrato bruto obtido da 1ª coleta da espécie. Parte do extrato EHA (4,86g) foi purificado por CC em sílica gel, eluída em hexano e hexano-AcOEt em gradiente de polaridade, resultando em 30 frações que estão sendo estudadas e caracterizadas por RMN. O extrato ED (7,0g) foi purificado por CC (sílica gel), eluída com hexano, hexano-acetona 5 a 75%, acetona. Da fração eluída em hexano-acetona 35%, foram obtidas, após sucessivas CC, uma mistura de duas substâncias codificadas como **VC-1** e **VC-2** e outra mistura de três substâncias codificadas como **VC-3**, **VC-4** e **VC-5**. O extrato EAE foi analisado por LC-MS, utilizando uma coluna de fase reversa C-18 e acetonitrila/água/ácido fórmico 0,1%. A fração FHMA (606,3mg) foi submetida à filtração em coluna Sephadex LH-20 eluída em H₂O, H₂O-MeOH e MeOH, resultando em 20 frações. Sucessivas purificações das frações reunidas forneceu a substância codificada como **VC-6**.

Resultados e Discussão

O espectro de RMN ¹H da mistura **VC-1** e **VC-2** apresentou sinais em δ_H 5,37 (t, J=2,4 Hz), e em δ_H 5,20 (d, J=5,4 Hz) referentes aos hidrogênios olefínicos (H-6), e hidrogênios oximetínicos (H-3), respectivamente, além de sinais de hidrogênios metílicos e metilênicos, sendo tais sinais característicos de compostos contendo o esqueleto esteroidal. Os dados de RMN de ¹H para **VC-1** e **VC-2** foram concordantes com os da literatura





(CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) para o estigmasterol e β -sitosterol, respectivamente (**Figura 1**).

O espectro de RMN ^1H da mistura **VC-3**, **VC-4** e **VC-5** apresentou sinais característicos de triterpenos. Foi observado um duplete em $\delta_{\text{H}} 4,69$ ($J=5\text{Hz}$, 1H) e um quarteto em $\delta_{\text{H}} 4,57$ que correspondem aos dois hidrogênios geminais (H-29a e H-29b) da classe dos lupanos. Estes sinais, somados ao sinal de hidrogênio do grupo metila em $\delta_{\text{H}} 1,17$ evidenciaram a presença de um triterpeno pentacíclico do tipo lupeno. Dois tripletos característicos em $\delta_{\text{H}} 5,14$ (H12) e em $\delta_{\text{H}} 5,19$ (H12) evidenciaram a presença das substâncias α -amirina e β -amirina, respectivamente. Os dados de RMN ^1H para **VC-3**, **VC-4** e **VC-5** foram concordantes com os da literatura (ZANON et al., 2008) para o lupeol, α -amirina e β -amirina, respectivamente (**Figura 1**).

O espectro de RMN ^1H para a substância **VC-6** apresentou sinais característicos de hidrogênios ligados a anel aromático na região de $\delta_{\text{H}} 6,52$ -7,94. Os deslocamentos químicos de hidrogênio, juntamente com os padrões de acoplamento, indicaram que **VC-6** trata-se de um flavonol, cuja unidade aglicônica foi caracterizada como apigenina. Os sinais em $\delta_{\text{H}} 4,59$ (H-anomérico, H-1'') e na região de $\delta_{\text{H}} 3,17$ -4,05 (H-oximetínicos) evidenciaram a presença de uma unidade glicosídica. Com base na comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C com os da literatura (LIN et al., 2009), a substância **VC-6** foi identificada como 6-C-glucosilapigenina (isovitexina) (**Figura 1**).

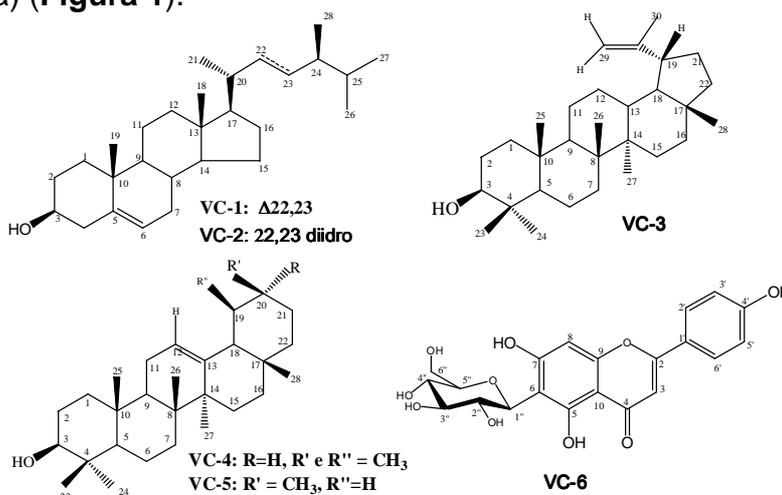


Figura 1 – Estruturas dos compostos isolados e caracterizados de *Vernonia crassa*.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



A partir da análise dos dados de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) para o extrato EAE e, comparação com os espectros de massas obtidos em trabalhos anteriores, pode-se detectar a presença da lactona sesquiterpenica 8 α -4-hidroximetacrilóil-10-hidróxi-13-metoxi-hirsutinólídeo (m/z 433 [M+Na⁺]⁺) e dos flavonoides genkwanina (m/z 285 [M+Na⁺]⁺) e 3,7 di-O-metilquercetina (m/z 331 [M+Na⁺]⁺) neste extrato.

Conclusões

O estudo químico dos extratos hexânico e diclorometano e da fração hidrometanólica, obtidos da espécie *Vernonia crassa*, resultou no isolamento e caracterização das substâncias estigmasterol, β -sitosterol, α -amirina, β -amirina, lupeol e isovitexina. A utilização de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) levou a identificação de uma lactona sesquiterpenica e de dois flavonoides, já isolados anteriormente, no extrato acetato de etila.

Agradecimentos

CNPq/UEM.

Referências

BUSKUHL, H.; OLIVEIRA, F.L.; BLIND, L.Z.; FREITAS, R.A.; BARISON, A.; CAMPOS, F.R.; CORILO, Y.E.; EBERLIN, M.N.; CARAMORI, G.F.; BIAVATT, M.W. Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their in vitro cytotoxicity. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1539-1544, 2010.

CHATURVEDULA, V.; PRAKASH, I. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, p. 239-242, 2012.

LIN, Y.; CHEN, T.; TSENG, H.; LEE, M.; CHEN, S. Neural cell protective compounds isolated from Phoenix hanceana var. formosana. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1173-1181, 2009.

ZANON, R. B.; PEREIRA, D. F.; BOSCHETTI, T. K.; SANTOS, M.; ATHAYDE, M. L. Fitoconstituintes isolados da fração em diclorometano das folhas de *Vernonia tweediana* Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 226-229, 2008.

