



Ecdisteróide e iridóide glicosilado de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae)

L.C.L. de Sá Barreto^{1*}, H.S. Xavier¹, J. M. Barbosa-Filho², R. Braz-Filho³

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, 50740-521, Recife, PE, Brasil,

²Laboratório de Tecnologia Farmacêutica "Delby Fernandes de Medeiros", Universidade Federal da Paraíba, Caixa Postal 5009, 58051-970, João Pessoa, PB, Brasil,

³Setor de Química de Produtos Naturais, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28015-620, Campos, RJ, Brasil

RESUMO: O extrato metanólico das cascas do caule de *Vitex gardneriana* Schauer forneceu o ecdisteróide, 20-hidroxi-ecdisona e o iridóide glicosilado, aucubina. As estruturas foram caracterizadas por métodos químicos e espectroscópicos.

Unitermos: *Vitex gardneriana*, β -ecdisona, aucubina.

ABSTRACT: "Ecdysteroid and iridoid glycoside from *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae)". The methanolic extract of the stem bark of *Vitex gardneriana* Schauer afforded the ecdysteroid, 20-hydroxy-ecdysone and the iridoid glycoside, aucubin. Their structures were established on the basis of chemical and spectroscopic studies.

Keywords: *Vitex gardneriana*, β -ecdysone, aucubin.

INTRODUÇÃO

Farmacotimologicamente, *Vitex* deriva do latim *vitilium*, ou do grego *vieo* que significa trançado, entrelaçado, unido, uma alusão aos ramos duros, mas flexíveis, usados na construção de cercas, vergas, e ripas (Maia et al, 2001; Plowden, 1968). O nome da espécie, *gardneriana*, por sua vez, é uma homenagem feita pelo botânico alemão Johan Konrad Schauer, que descreveu a espécie, ao pesquisador inglês George Gardner, que em meados do século XVII, excursionou pelo Vale do Jaguaribe (CE), tendo habitado durante muito tempo o cariri cearense (Braga, 1976).

Árvore de pequeno porte, *Vitex gardneriana* Schauer, é uma das poucas *Verbenaceae* encontradas no sertão nordestino, freqüentemente às margens ou leito dos rios, como na ribanceira do rio Piranhas e rio Espinharas, na Paraíba; às margens do rio Moxotó, em Pernambuco, e em Taperuaba, no Ceará. Apresenta folhas simples, opostas, decussadas, obovado-lanceoladas com limbo coriáceo e face dorsal pubescente. Suas inflorescências são axilar-terminais, densamente pubérulas, cálice sinsépalo, subcampanulado, piloso, 5-lanciniado, sua corola apresenta coloração roxa clara com tubo torcido para cima e comprimido lateralmente na porção superior, com o lacínios superior mais desenvolvido. Possui drupa

comestível, carnosa, ovóide a elipsóide, com apículo diminutivo, verde oliva, passando, quando seco, a quase negro, apresenta cálice sinsépalo, permanente no fruto, com paredes espessas e rígidas, com 1 semente por lóculo, de coloração castanha clara, com superfície fosca, em pequenas câmaras (Lima, 1989).

Pesquisa bibliográfica na literatura disponível indicou a ausência de citações sobre esta espécie do ponto de vista farmacognóstico. Entretanto, outras espécies de *Vitex* são bastante conhecidas quimicamente, destacando-se *V. agnus-castus* (Sorensen, 2000) e *V. negundo* (Singh, 1999). O presente trabalho busca oferecer maiores subsídios ao conhecimento dos metabólitos secundários deste vegetal.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Vitex gardneriana Schauer foi coletada em agosto de 2002, no município de São José das Espinharas, Paraíba, Brasil. A espécie foi identificada pela Profa. Dra. Rita de Cássia e o material testemunho (60308) foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Recife, Pernambuco.

* E-mail: liviabarretofarm@hotmail.com, Tel. + 55-81-34652497

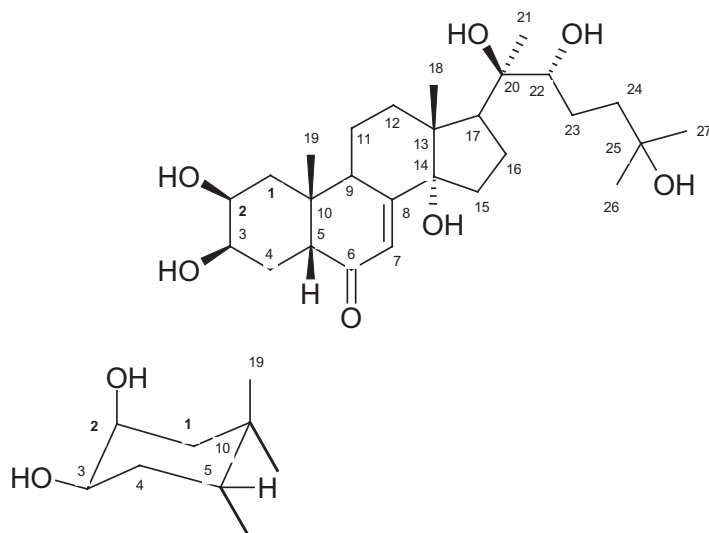


Figura 1. Substância VA: 20-hidroxi-ecdisona

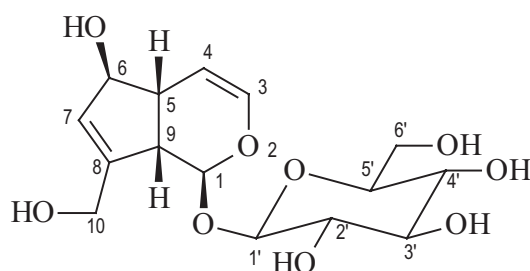


Figura 2. Substância VB: aucubina

Procedimentos gerais

Foram realizadas colunas cromatográficas utilizando Sephadex LH 20 (Pharmacia Chemicals) e gel de sílica 70-230 Mesh (MERCK). Cromatografias em camada delgada foram desenvolvidas utilizando placas cromatográficas de gel de sílica Art. 015533 (MERCK). Manchas em CCD foram visualizadas após revelação com vanilina clorídrica. Para a determinação estrutural as substâncias foram dissolvidas em CD_3OD e submetidas a análise espectrofotométrica utilizando ^{13}C -RMN (125 MHz, BRUKER DRX 500), ^1H -RMN (500 MHz, BRUKER DRX 500), ^{13}C -RMN (75 MHz, Varian Unity Plus 300), ^1H -RMN (300 MHz, Varian Unity Plus 300), para a determinação estrutural de VA e VB, respectivamente. O espectro de massas de VB foi obtido em espectrômetro Finnigan GCR MAT Íon-traq.

Extração e isolamento

Cascas do caule secas (100 g) foram submetidas à infusão metanólica. Após evaporação do solvente

sob pressão reduzida (30 °C), o resíduo foi dissolvido em MeOH e submetido a cromatografia em coluna, utilizando Sephadex LH 20 empacotada e eluída com MeOH. As frações 11 a 18, apresentavam 500 mg de material cristalino, que foram recromatografados em gel de sílica, utilizando uma mistura de AcOEt : MeOH (9 : 1), eluindo-se 160 frações de 15 mL. As frações 98 a 109 constituíram-se de material cristalino (50 mg). Estes cristais foram solubilizados em MeOH e pré-purificados após cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com uma mistura de CHCl_3 : MeOH (5 : 1). Setenta frações de 15 mL foram monitoradas através de CCD desenvolvidas em AcOEt:HCOOH:AcOH:H₂O (100:11:11:27) e reveladas com vanilina clorídrica. As frações 19 a 60 apresentaram a substância VA (100 mg). A purificação foi obtida após concentração à vácuo, solubilização em MeOH, seguido de lavagem com benzeno a frio e à quente, obtendo-se VA puro (40 mg). A partir das frações 121-158 da primeira coluna sobre gel de sílica, obteve-se 410 mg de material cristalino. A purificação do composto VB foi realizada por recristalização e lavagem com acetato de etila, obtendo-se 400 mg.

Tabela 1. Dados de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) em CD₃OD do Composto VA

Composto VA				
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
C				
6	206.44	-	H-5	
8	167.95	-	H-9	H-11a
10	39.26	-	2H-1; H-9; 3H-19	
13	48.6	-		
14	85.23	-	H-15b	H-7; 3H-18
20	77.91	-	H-22	
25	71.29	-		
CH				
2	68.70	3.83 (td, 11.8, 4.0)		
3	68.52	3.94 (ql)		
5	51.78	2.37 (dd, 12.4, 4.3)	H-4a	2H-1; H-3; H-7; 3H-19
7	122.13	5.79 (2, 2.4)		H-9
9	35.10	3.14 (ddd)		H-1b; H-5; H-7; H-12b; 3H-19
17	50.53	2.38 (m)	H-16b	H-12a; H-15b; 3H-18; 3H-21
22	78.42	3.31 (dd)		3H-21
CH₂				
1	37.37	1.80; 1.42		H-3
4	32.84	1.80; 1.68		
11	21.50	1.80; 1.70	H-9	
12	32.51	2.12 (dt, 13.2, 4.8) 1.87		H-17; 3H-18
15	31.77	1.95; 1.59		
16	21.50	1.97; 1.78	2H-15; H-17	
23	27.34	1.67; 1.29	H-22; 2H-24	
24	42.38	1.80; 1.43	H-23a	H-22; 3H-26; 3H-27
CH₃				
18	18.04	0.88(s)		H-12a; H-17
19	24.39	0.96(s)		H-1b; H-9
21	21.05	1.19(s)		H-22
26	29.69	1.18(s) ^a		3H-27
27	28.97	1.20 (s) ^a		3H-26

^a Atribuições que podem ser invertidas.

20-Hidroxi-ecdisona (VA): sólido branco cristalino; ¹H-RMN e ¹³C-RMN: Tabela 1.

Aucubina (VB): sólido branco cristalino; EM m/z (int. rel. %): 346 [M]⁺ (2,0), 148 (11,5), 147 (12,9), 120 (13,3), 119 (35,6), 118 (100); ¹H-RMN e ¹³C-RMN: Tabela 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos VA e VB, obtidos na forma cristalina, foram identificados espectroscopicamente como o ecdisteróide, 20-hidroxi-ecdisona (cf. Figura 1) e o iridóide glicosilado, aucubina, respectivamente (cf. Figura 2).

Os espectros obtidos de VA (cf. Tabela 1) evidenciam tratar-se de uma estrutura esteróide, pela presença de 27 átomos de carbono. Na análise do APT observa-se a presença de 7 carbonos quaternários, 5 grupos metilas, 8 metilenos e 7 metinos. O espectro ¹H-RMN permitiu verificar a presença de 38 prótons.

Baseando-se nos deslocamentos químicos de

sinais superpostos atribuídos através dos espectros 2D ¹H-¹H-COSY, ¹H-¹H-NOESY, HMQC, HMBC e nos dados descritos na literatura (Faten e Manfred, 2003), pode-se afirmar que a substância VA é a 20-hidroxi-ecdisona, de fórmula molecular C₂₇H₄₄O₇ e peso molecular 480. Este esteróide está sendo relatado pela segunda vez na natureza, sendo descrito para a família *Verbenaceae* pela primeira vez.

Analisando os espectros (cf. Tabela 2), ¹³C-RMN, ¹H-RMN, HETCOR, DEPT, HMBC, ¹H-¹H-COSY e massas de VB em comparação com relatos da literatura (Akdemir et al; 1991), pode-se verificar que a substância VB apresenta a estrutura do iridóide glicosilado, aucubina, de fórmula molecular C₁₅H₂₂O₉. Esta substância, pela frequência com a qual tem sido descrita em *Vitex*, poderá vir a ser considerada como um marcador taxonômico (Okuyama et al; 1998; Rao et al; 1997; Kooiman, 1975; Hansel et al; 1965).

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos ao CNPq, pelo suporte

Tabela 2. Dados de RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) em CD_3OD do Composto VB

	Composto VB		
	δ_{C}	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-COSY}-^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H}-^{13}\text{C}\text{-COSY}-^n\text{J}_{\text{CH}}$
		δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$
C			
8	148	-	H-7; H-9; 2H-10
CH			
1	97.36	4.95 (d, 6.9)	H-9
3	141.21	6.31 (dd, 6.0; 1.8)	H-4
4	105.48	5.09 (dd, 6.0; 3.9)	H-3
5	45.77	2.65 (m)	
6	82.43	4.44 (m)	H-7
7	129.90	5.76(m)	
9	47.56	2.89 (t, 7.5)	H-9
1'	99.55	4.68 (d, 8.1)	
2'	74.51	3.20	
3'	77.46	3.38 (t, 9.3)	
4'	71.14	3.24	H-3'
5'	77.84	3.24	
CH₂			
10	61.03	4.34 (dt, 15.3; 1.5) 4.16 (md, 15.3)	
6'	62.23	3.85 (dd, 12.0; 1.8) 3.64 (m)	

financeiro à aluna de mestrado Livia Cristina Lira de Sá Barreto. Agradecemos também a Profa. Dra. Rita de Cássia, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA, pela identificação botânica. Ao Banco de dados NAPRALERT.

yield and composition of the essential oil from Cretan *Vitex agnus-castus* fruits. *Planta Med* 66: 245-250.

REFERÊNCIAS

- Akdemir Z, Calis I, Júnior P 1991. Iridoid and Phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis condensate*. *Phytochemistry* 30: 2401-2402.
- Braga, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. Fortaleza: Coleção Mossoroense, 1976.
- Faten MMD, Manfred GR 2003. Ecdysteroids and other constituents from *Sida spinosa* L. *Phytochemistry* 62: 1179-1184.
- Hansel R, Leuckert CH, Rimpler H, Schaaf KD 1965. Chemotaxonomic investigation of the genus *Vitex* L. *Phytochemistry* 4: 19-27.
- Kooiman P 1975. The occurrence of iridoid glycosides in the *Verbenaceae*. *Acta Bot Neerl* 24: 459-468.
- Lima DA 1989. *Plantas das Caatingas*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências.
- Maia ACCM, Soares FCC, Martins Jr, HB, Baptista ER 2001. *Vitex agnus castus*: Etnobotanical end ethnopharmacological study. *Revista Virtual da Iniciação Acadêmica da UFPA* 1: 15. <http://www.ufpa.br/revistaic>, acessada em julho de 2001.
- Okuyama E, Fujimori S, Yamazaki M, Deyama T 1998. Pharmacologically active components of *Vitex fructus* (*Vitex rotundifolia*), the components having analgesic effects. *Chem Pharm Bull* 46: 655-662.
- Plowden CC 1968. *A Manual of plant names*. London: George Allen and Unwin Ltd.
- Rao RVK, Satyanarayan T, Jena R 1997. Phytochemical studies on *Vitex leucoxylon* Linn. *Indian Drugs* 34: 50-51.
- Singh V, Dayal R, Bartley JP 1999. Volatile constituents of *Vitex negundo* leaves. *Planta Med* 65: 580-582.
- Sorensen JM, Katsiotis ST 2000. Parameters influencing the