

FLAVONOIDES E OUTROS COMPOSTOS ISOLADOS DE *Mimosa artemisiana* Heringer E Paula[#]

Ildomar Alves do Nascimento*

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, 23890-000 Seropédica - RJ, Brasil

Raimundo Braz-Filho^{##}

Laboratório de Ciências Químicas, Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28015-620 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Mário Geraldo de Carvalho

Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais, Centro de Ciências da Saúde, Bloco H, 1º andar, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902 Rio de Janeiro - RJ / Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, 23890-000 Seropédica - RJ, Brasil

Leda Mathias

Laboratório de Ciências Químicas, Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28015-620 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Fábio de Alcântara Fonseca

Instituto Estadual de Florestas, Rodovia Prefeito Américo Gianetti, s/n, 31630-900 Belo Horizonte - MG, Brasil

Recebido em 31/5/12; aceito em 17/9/12; publicado na web em 26/10/12

FLAVONOLIGNOIDS AND OTHER COMPOUNDS ISOLATED FROM *Mimosa artemisiana* Heringer e Paula. This the first phytochemical investigation of *Mimosa artemisiana* (Leguminosae-Mimosoideae) describing the isolation and identification of quercitrin, myricitrin, 3,5,4'-trihydroxy-6,7-dimethoxyflavone (6,7-dimethylkaempferol), flavolignans, 3-O-β-D-glucopyranosil sitosterol, lupeol, sitostenone, stigmastenone, campestenone, sitosterol, stigmasterol, campesterol, methyl indole-3-carboxilate and indole-3-carboxaldehyde in the extracts from the leaves and wood of this plant. This is the first registry of 6,7-dimethoxy,4'-hydroxy-flavona and the flavonolignans in this genera. The isolation of all metabolites was made by chromatographic methods and the structures were established on the basis of IR, MS, ¹H and ¹³C NMR spectra analysis, comparison with literature data and GC-MS of mixtures analysis.

Keywords: *Mimosa artemisiana*; flavolignoids, flavonoids.

INTRODUÇÃO

Leguminosae é uma das maiores famílias de plantas abrangendo aproximadamente 650 gêneros e 18000 espécies. Ocorrem em diversas regiões do planeta, desde áreas alagadas, desertos frios ou florestas tropicais, subtropicais ou no nível do mar até uma altitude de 7000 m. Esta família pode ser dividida em três subfamílias: Mimosoideae, Faboideae e Caesalpinoideae. Diversos estudos relatam atividades medicinais em espécies da família Leguminosae, como atividade antitumoral,¹ atividade antiviral,² antitérmica, anti-inflamatória,³ vermífuga, antisséptica e estimulante,⁴ entre outras.

A espécie em estudo, *Mimosa artemisiana* (Leguminosae), pertence à subfamília Mimosoideae e é conhecida popularmente como jurema branca. Apresenta-se como uma árvore variando entre 12-25 m de altura, ocorrendo naturalmente nos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro.⁵ O gênero *Mimosa* L. compreende aproximadamente 480 espécies distribuídas em diversas regiões do mundo, principalmente no Brasil, México, Paraguai, Uruguai e Argentina. No Brasil estima-se a ocorrência de cerca de 340 espécies do gênero.^{5,6} A literatura descreve alguns estudos de espécie de *Mimosa*, que relatam o isolamento de flavonoides,^{7,8} saponinas e chalconas.⁹⁻¹¹ Algumas espécies de *Mimosa* L. são utilizadas na medicina popular e em rituais folclóricos. São usadas como cicatrizante em queimaduras,¹¹ como

medicamento contra picadas de cobra e de escorpião,^{12,13} tratamento de dor de cabeça, insônia, diarreia e febre,¹⁴ como sedativo, febrífugo e contra úlceras.¹⁵ Algumas tribos indígenas utilizam espécies de *Mimosa* no preparo de bebidas alucinógenas em rituais místicos e religiosos.^{16,17}

Este é o primeiro estudo fitoquímico da espécie *M. artemisiana* e as substâncias (3), (4) e (5) estão sendo descritas pela primeira vez neste gênero. Além disso, o presente trabalho descreve o isolamento e a identificação dos flavonoides (1-3), das flavonolignanas (4) e (5) do esteroide glicosilado (6), do triterpeno lupeol (7), dos esteroides (8-13), do metil-indol-3-carboxilato (14) e do indol-3-carboxialdeído (15) como forma de contribuição para o conhecimento sobre a química do gênero *Mimosa* L.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C, uni- e bi-dimensionais, foram registrados em espectrômetro Jeol Eclipse, operando a uma frequência de 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C e em espectrômetro Bruker Avance IIITM operando a uma frequência de 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C. Os solventes utilizados foram CDCl₃, D₃COD e DMSO-*d*₆, utilizando o tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados

*e-mail: ildomar@gmail.com

[#]Artigo em homenagem ao Prof. Otto R. Gottlieb (31/8/1920-19/6/2011)

^{##}Pesquisador Visitante Emérito - FAPERJ/UENF/UFRRJ

em espectrômetro Perkin Elmer FT-IR 1600 em pastilhas de KBr. Os espectros de massas foram obtidos no aparelho GC/EM - QP-5050 Shimadzu com ionização com impacto de elétrons a 70 eV.

Os pontos de fusão, sem correção, foram obtidos em aparelho MQAPF - 301 da Microquímica. A concentração dos extratos e frações foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, Buchi B-480 e Fisatom 802. Análises por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatofolhas de sílica gel 60 GF₂₅₄, RP-18 F_{254s} e Celulose (Merck). As substâncias foram detectadas por irradiação com lâmpada ultravioleta a 254 e 365 nm e/ou aspersão com reveladores cromogênicos (vanilina sulfúrica, seguida de aquecimento, ou solução alcoólica de cloreto férrico hexa-hidratado, com leitura no instrumento Bel Photoonics 1105).

Os critérios de pureza adotados foram a observação de uma única mancha em (CCDA), variando-se a fase móvel. Nas separações cromatográficas em coluna (CC), foram utilizados dois tipos de sílica: sílica gel 60 G (0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM) Merck e Vetec e sílica gel 60 G (0,04-0,063 mm; 230-400 mesh ASTM e Merck). Os fracionamentos por cromatografia de exclusão foram efetuados em gel de dextrana Sephadex LH-20 da Pharmacia Fine Chemicals.

Material vegetal

O material vegetal, folhas e galhos, de *M. artemisiana* foi coletado no município de Paracambi-RJ, Brasil. A coleta e identificação da espécie foram realizadas pelo Engenheiro Florestal F. de A. Fonseca, do Instituto Estadual de Florestas (IEF-MG).

Extração e isolamento dos constituintes

Folhas secas (495,8 g) de *M. artemisiana* foram submetidas à extração por maceração exaustiva com *n*-hexano e, em seguida, com metanol. Os solventes foram retirados através de destilação em evaporador rotatório. Após seco em dessecador obtiveram-se os extratos 15 g de extrato com hexano (MAFH) e 35 g do extrato com metanol (MAFM). 3,5 kg de madeira (galhos) da planta após secos e moídos foram submetidas à maceração exaustiva com metanol usando o mesmo procedimento descrito acima, obtendo-se o extrato MAGM (70 g). O extrato hexânico (MAFH, 15 g) foi fracionado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando como fase móvel hexano puro, hexano:acetato de etila (10, 20 e 30% de acetato de etila) e acetato de etila puro. 126 frações (15 mL cada) foram recolhidas e reunidas segundo a semelhança observada na análise por cromatografia de camada fina. As frações 63-66 foram reunidas e submetidas à cromatografia em coluna com gel de sílica, utilizando como fase móvel hexano:diclorometano em ordem crescente de polaridade (0, 10, 20, 30, 50 e 100% de diclorometano), fornecendo 50 frações de 10 mL. A subfração 20 forneceu um precipitado que foi separado e recristalizado em metanol. Obtiveram-se 80,0 mg de um material cristalino.

A análise dos espectros permitiu reconhecer a presença dos esteroides: sitosterol (7), estigmasterol (8) e campesterol (9). O extrato metanólico de *M. artemisiana* MAFM (35 g) foi solubilizado em metanol:água (1:1) e submetido a sucessivas extrações com clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol, respectivamente, obtendo-se as frações MAFMC (5,4 g), MAFMAc (12,0 g), MAFMB (5,0 g) e o resíduo MAFMR (12 g). A fração MAFMC (5,4 g) foi submetida à cromatografia em coluna com gel sílica, eluída com mistura de hexano:acetato de etila em ordem crescente de polaridade (5, 10, 20, 30, 40, 50 e 100% de acetato de etila). Foram recolhidas 100 frações (20 mL cada). Após análise em cromatografia de camada fina, foram selecionadas as subfrações 57-60, 65, 66 e 85-87 para estudo. O grupo de subfrações 57-60 (40 mg) foi submetido à cromatografia em coluna

com gel de sílica (técnica *flash*) sendo eluída com diclorometano. As frações 15-19 forneceram uma substância que foi identificada como o indol-3-carboxilato de metila (13) (4,3 mg). A fração 66 (37 mg) foi submetida ao mesmo procedimento descrito acima e as frações 20-32 deste fracionamento forneceram o indol-3-carboxialdeído (14). A fração 65 forneceu um precipitado amarelo que após filtração forneceu as substâncias (4) e (5).

O grupo de frações 85-87 também forneceu um precipitado amarelo que foi separado por filtração e identificado como o flavonoide (3). O extrato MAFMAc (12 g) foi fracionado em coluna de gel de sílica, usando como eluente mistura de CHCl₃:CH₃OH em ordem crescente de polaridade (0, 10, 20, 30, 40, 50 e 100% de metanol). Recolheram-se 119 frações (15 mL cada fração), que foram reunidas após análise em cromatografia de camada fina. Nas frações 46-51 foi observada a formação de um precipitado amarelo (35,0 mg). Essa fração foi submetida à cromatografia de coluna com Sephadex LH-20, eluída com metanol e foram recolhidas 36 frações (10 mL cada fração). As frações 5-6 (20 mg) forneceram um precipitado amarelo, solúvel em metanol, e revelaram teste positivo para substâncias fenólicas na reação com o reagente cloreto férrico. Estas foram reunidas e, após análise com RMN ¹H e ¹³C, identificou-se a quercetina-3-O-raminosídeo (1).

As frações 65-71 (57 mg) também revelaram teste positivo para substâncias fenólicas com o reagente cloreto férrico e forneceram um precipitado alaranjado. Este material foi filtrado em Sephadex LH-20, eluído com metanol e recolheram-se 40 frações. As frações 5-10 forneceram um precipitado amarelo (30 mg, P.F. 189-192 °C) que, após análise com RMN de ¹H e ¹³C e comparação com valores da literatura, permitiu identificar este material como a miricetina-3-O-raminosídeo (2).

O extrato metanólico de galhos de *M. artemisiana* (MAGM, 70,0 g) foi adsorvido em sílica para coluna (1:1). A mistura obtida foi aplicada sobre uma camada de sílica para coluna em funil de Buchner e filtrado à pressão reduzida com diclorometano, acetato de etila, acetato de etila:metanol (7:3) e metanol (100%). As soluções obtidas com cada solvente foram concentradas com destilação à pressão reduzida e secas. As frações obtidas foram codificadas da seguinte forma: MAGD (fração em diclorometano), MAGAE (fração em acetato de etila), MAGAEM (fração em acetato de etila:metanol) e MAGMM (fração em metanol). O resíduo proveniente da filtração com diclorometano (MAGD; 6,0 g) foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, usando mistura de hexano/diclorometano (0, 10, 20, 30, 40, 50 e 100% de diclorometano) como eluente e recolhidas 52 frações (20 mL cada). As frações foram reunidas segundo a semelhança observada em cromatografia de camada fina e escolheram-se as frações MAGD-33 e MAGD-36-38 para estudo.

A fração MAGD-33 forneceu um sólido branco impuro que, após análise com espectro de RMN de ¹H e ¹³C e espectrometria de massas acoplada à cromatografia a gás, levou à identificação da mistura dos esteroides (10), (11) e (12). A fração MAGD-36-38 foi cromatografada em coluna de gel de sílica, utilizando diclorometano como eluente e recolheram-se 87 frações. Estas foram reunidas de acordo com semelhança por análise em cromatografia de camada fina. O grupo de frações 50-57 forneceu um sólido cristalino branco (26,0 mg) cuja análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C e espectro de massas foi identificado como lupeol (15). A fração MAGAE (4,5 g) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica e eluída com mistura de hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade até acetato de etila 100%. Foram recolhidas 56 frações (20 mL cada). As frações 10-15 forneceram um precipitado branco amorfo (15 mg) que apresentou coloração azul-violácea quando revelado com Reagente de Liebermann-Buchard, cuja análise do espectro de RMN ¹H e ¹³C levou à identificação do glicosídeo (6).

Quercetina-3-O-ramanosídeo (quercetrina) (1)

Sólido amarelo. IV v_{\max} (cm⁻¹) (KBr): 3460,31; 2926,45; 1655,10; 1608,49; 1360,46; 1197,75; 1058,47 e 1125,87. RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} (mult.; J em Hz; H) 6,19 (d; 1,8; H-6), 6,35 (d; 1,8; H-8), 7,32 (d; 2,0; H-2'), 6,89 (d; 8,3; H-5'), 7,29 (dd; 8,3; 2,0; H-6'), 5,33 (d; 1,2; H-1''), 4,20 (dd; 3,3 e 1,2; H-2''), 3,73 (dd; 9,5; 3,3; H-3''), 3,31 (t; 9,5; H-4''), 3,40 (dq; 9,5; 6,1; H-5''), 0,92 (d; 6,1; H-6''). RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 159,45 (C-2), 136,38 (C-3), 179,80 (C-4), 163,38 (C-5), 166,23 (C-7), 158,71 (C-9), 106,01 (C-10), 123,13 (C-1'), 146,59 (C-3'), 149,97 (C-4'), 100,2 (C-6), 94,90 (C-8), 117,08 (C-2''), 116,52 (C-5'), 123,00 (C-6'), 103,71 (C-1''), 72,06 (C-2''), 72,28 (C-3''), 73,42 (C-4''), 72,18 (C-5''), 17,60 (C-6'').

Miricetina-3-O-ramanosídeo (miricetrina) (2)

Sólido amarelo. IV v_{\max} (cm⁻¹) (KBr): 3431,75; 2923,45; 1651,37; 1615,94; 1383,71; 1202,89; 1166,42 e 1091,19. RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} (mult.; J em Hz; H) 6,18 (d; 2,1; H-6), 6,35 (d; 2,1; H-8), 6,93 (s; H-2'), 6,39 (s; H-6'), 5,30 (d; 1,4; H-1''), 4,20 (dd; 3,2 e 1,4; H-2''), 3,76 (dd; 9,5 e 3,2; H-3''), 3,32 (t; 9,5; H-4''), 3,50 (dq; 9,5 e 6,2; H-5''), 0,95 (d; 6,2; H-6''). RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 159,60 (C-2), 136,47 (C-3), 180,00 (C-4), 163,39 (C-5), 166,17 (C-7), 158,70 (C-9), 106,01 (C-10), 122,08 (C-1'), 147,03 (C-3', 5'), 138,00 (C-4'), 100,00 (C-6), 94,86 (C-8), 109,72 (C-2', 6'), 103,81

(C-1''), 72,05 (C-2''), 72,29 (C-3''), 73,52 (C-4''), 72,20 (C-5''), 17,83 (C-6'').

Eupaletina, 3,5,4'-tri-hidroxi-6,7-dimetoxiflavona (3)

Sólido amarelo; p.f. 288-291. IV v_{\max} (cm⁻¹) (KBr): 3337,59; 2923,45; 1651,42; 1615,94; 1492,18; 1448,61; 1367,60; 1202,89; 1166,42 e 1063,79. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} (mult.; J em Hz; H) 6,6; (s, H-8), 8,1 (d; 8,8; H-2', 6'), 6,9 (d; 8,8; H-3', 5'), 3,8 (s, CH₃O-6); 3,9 (s, CH₃O-7). RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 147,6 (C-2), 135,9 (C-3), 176,2 (C-4), 151,2 (C-5), 131,2 (C-6) 158,5 (C-7), 152,2 (C-9), 104,3 (C-10), 122,1 (C-1'), 158,9 (C-4'), 90,6 (C-8), 129,6 (C-2', 6'), 115,2 (C-3', 5').

Flavonolignana (4)

Sólido amarelo. TOF MS-ES: 494,1172 (M⁺), 464,1120 (M⁺ perda CH₂O), 463,1048 (M⁺ - H - CH₂O, 100%), 283,0301 (M⁺ - H - C₁₁H₁₄O₄). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): Tabela 1. RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): Tabela 1.

Flavonolignana (5)

Sólido amarelo. TOF MS-ES: 495,1274 [M+1]⁺; 465,1169 (perda de CH₂O, 100%) e 301,0469 (perda de C₁₁H₁₄O₃). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): Tabela 2. RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): Tabela 2.

Tabela 1. Dados de RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) referentes à substância (4) obtidos em DMSO-*d*₆, inclusive resultados de HSQC e HMBC*

C	HMQC		HMBC		Lit ²⁴⁻²⁷ (DMSO- <i>d</i> ₆)	Lit ²⁴⁻²⁷ (DMSO- <i>d</i> ₆)
	δ_{C}	δ_{H}	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ_{C}	δ_{H}
2	162,01	-	H-3	H-2'; H-6'	164,3	
4	182,32	-			181,8	
5	163,47	-	HO-5		162,9	
7	165,05	-			161,4	
9	157,95	-	H-8		157,3	
10	104,31	-		H-3; HO-5; H-6; H-8	103,8	
1'	124,3	-		H-3; H-5'	123,7	
3'	144,25	-		H-5'	143,7	
4'	147,76	-		H-2'; H-6'	147,1	
1''	126,80	-	H-7''	H-5''	126,9	
3''	148,57	-	H-2''		147,6	
4''	136,60	-		H-2''; H-6''	136,1	
5''	148,57	-	H-6''		147,6	
CH						
3	104,51	6,87 (s)			103,9	6,95
6	99,55	6,20 (sl)		HO-5; H-8	98,9	6,16
8	94,70	6,52 (sl)		H-6	94,1	6,49
2'	115,40	7,67 (sl)		H-6'	115,1	7,31
5'	112,42	7,08 (d; J= 8,8 Hz)			111,0	-
6'	120,47	7,60 (dl; J= 8,8 Hz)		H-2'	120,1	7,26
2''	106,05	6,75 (s)			105,4	6,73
6''	106,05	6,75 (s)		H-2''; H-7''	105,4	6,73
7''	77,26	5,02 (d; J= 7,6 Hz)			76,2	4,93
8''	78,59	4,29 (m)	H-7''		78,5	4,25
CH₂						
9''	60,67	3,59 (d; J= 11,7 Hz)			60,0	3,36-3,61
MeO						
3'', 5''	56,72	3,72 (s)			56,1	3,76
HO-5		12,91 (s)				12,89

*O número de hidrogênios ligados a átomos de carbono foi deduzido pela análise comparativa dos espectros {¹H}-- e DEPT-¹³C RMN ou APT. Os deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (J) foram obtidos em 1D espectros de ¹H RMN. As sobreposições de sinais de ¹H foram descritas sem multiplicidade e os deslocamentos químicos aproximados deduzidos por espectros 2D HMQC, HMBC e ¹H-¹H-COSY.

Tabela 2. Dados de RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) referentes à substância (5) obtidos em DMSO-*d*₆, inclusive resultados de HSQC e HMBC*

C	HMQC		HMBC		Lit ²⁴⁻²⁷ (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H
2	162,01	-	-	H-2'; H-6'	164,2	-
3	136,80	-	-	-	-	-
4	182,32	-	-	-	181,8	-
5	163,47	-	HO-5	-	161,4	-
7	165,05	-	-	-	162,9	-
9	157,95	-	H-8	-	157,3	-
10	104,31	-	-	H-3; HO-5; H-6; H-8	103,9	-
1'	124,3	-	-	H-3; H-5'	123,7	-
3'	144,25	-	-	H-5'	143,7	-
4'	147,76	-	-	H-2'; H-6'	147,1	-
1''	127,55	-	H-7''	H-5''	126,9	-
3''	148,57	-	H-2''	MeO-3''; H-5''	147,6	-
4''	148,24	-	-	H-2''; MeO-4''; H-6''	147,2	-
CH						
6	99,55	6,20 (<i>sl</i>)	-	HO-5; H-8	98,9	6,20
8	94,70	6,52 (<i>sl</i>)	-	H-6	94,1	6,52
2'	115,40	7,67 (<i>sl</i>)	-	H-6'	114,8	7,66
5'	112,42	7,08 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,8 Hz)	-	-	117,0	7,08
6'	120,47	7,60 (<i>dl</i> ; <i>J</i> = 8,8 Hz)	-	H-2'	119,9	7,60
2''	118,10	7,04 (<i>sl</i>)	-	-	111,7	7,03
5''	115,95	6,82 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,6 Hz)	-	-	115,3	6,81
6''	121,18	6,88 (<i>dl</i> ; <i>J</i> = 8,8 Hz)	-	H-2''; H-7''	120,0	6,87
7''	76,95	5,02 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,6 Hz)	-	-	76,0	5,01
8''	78,59	4,29 (<i>m</i>)	H-7''	-	78,0	4,27
CH₂						
9''	60,67	3,59 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 11,7 Hz)	-	-	60,0	3,37-3,58
MeO						
3''	56,32	3,78 (<i>s</i>)	-	-	55,7	3,78
4''	56,32	3,78 (<i>s</i>)	-	-	-	-
HO-5						
		12,91 (<i>s</i>)	-	-		12,90

*O número de hidrogênios ligados a átomos de carbono foi deduzido pela análise comparativa dos espectros {¹H}-- e DEPT-¹³C RMN ou APT. Os deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (*J*) foram obtidos em 1D espectros de ¹H RMN. As sobreposições de sinais de ¹H foram descritas sem multiplicidade e os deslocamentos químicos aproximados deduzidos por espectros 2D HMQC, HMBC e ¹H-¹H-COSY.

Sitosterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (6)

Sólido branco. IV ν_{max} (cm⁻¹) (KBr): 2958, 2933, 2968, 1462, 1377, 1367, 1165. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD + CDCl₃): 5,38 (*d*; H-6), 4,40 (*d*; 9,4; H-1'), 3,17 (*dd*; H-2') 3,85 (H-6'a) e 3,67 (H-6'b). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ_C: 140,0 (C-5), 36,5 (C-10), 42,1 (C-13), 78,6 (C-3), 121,7 (C-6), 31,8 (C-8), 50,2 (C-9), 56,7 (C-14), 55,9 (C-17), 36,0 (C-20), 28,9 (C-24), 45,8 (C-25), 101,4 (C-1'), 73,6 (C-2'), 76,4 (C-3'), 70,3 (C-4'), 76,6 (C-5'), 61,4 (C-6'), 37,1 (C-1), 29,4 (C-2), 38,3 (C-4), 31,6 (C-7), 20,8 (C-11), 39,7 (C-12), 23,9 (C-15), 28,0 (C-16), 33,7 (C-22), 25,7 (C-23), 22,7 (C-28), 11,1 (C-18), 18,2 (C-19), 18,6 (C-21), 19,0 (C-26), 18,0 (C-27), 11,1 (C-29).

Lupeol (15)

Sólido branco; p.f. 163-165. IV ν_{max} (cm⁻¹) (KBr): 3346, 3066, 2941, 2872, 1637, 1450. EM m/z 426, 189 (100%), 218, 297, 175. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ_H (mult.; *J* em Hz; H) 3,1 (*dd*; 9,9 e 5,2; H-3), 2,3 (*ddd*; 10,8; 10,8; 5,3; H-19), 4,6 (*dl*; 2,2; H-29), 4,5 (*m*; H-29). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ_C: 38,8 (C-1), 27,3 (C-2), 78,3 (C-3), 38,8 (C-4), 55,2 (C-5), 18,2 (C-6), 34,2 (C-7), 40,7 (C-8), 50,3 (C-9), 37,1 (C-10), 20,8 (C-11), 25,0 (C-12), 37,9 (C-13), 42,7 (C-14), 27,9 (C-15), 35,5 (C-16), 42,9 (C-17), 48,2 (C-18), 47,3 (C-19), 150,9 (C-20), 29,7 (C-21), 39,7 (C-22), 28,6 (C-23), 15,3

(C-24), 16,0 (C-25), 15,9 (C-26), 14,5 (C-27), 17,9 (C-28), 109,3 (C-29), 19,2 (C-30).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados espectrométricos [IV, RMN ¹H e ¹³C (1D e 2D)] da substância (1) permitiu atribuir a estrutura do flavonoide quercetrina para esta substância. Além da análise dos espectros IV, o espectro de RMN ¹H apresentou sinais dos hidrogênios H-6 (δ_H 6,19; *d*; *J* = 1,8 Hz) que acopla com o H-8 (δ_H 6,35; *d*; *J* = 1,8 Hz) e do H-6' (δ_H 7,29; *dd*; *J*₁ = 8,3 Hz; *J*₂ = 2,0 Hz) que acopla com H-5' (δ_H 6,89; *d*; *J* = 8,3 Hz) e H-2' (δ_H 7,32; *d*; *J* = 2,0 Hz). A comparação dos dados de RMN ¹³C com valores da literatura foi compatível com a estrutura do flavonoide (1), Figura 1.^{18,19}

Os espectros de RMN ¹H (1D e 2D) do flavonoide (2) mostraram sinais de absorções em δ_H 6,18 (*d*; *J* = 2,1 Hz) e δ_H 6,35 (*d*; *J* = 2,1 Hz) referentes aos H-6 e H-8, respectivamente, do anel A do flavonoide um sinal simples em δ_H 6,93 (2H) atribuído aos H-2' e H-6' do anel B. A unidade de raminose foi sugerida baseada na presença dos sinais de hidrogênio anomérico em δ_H 5,30 (*d*; *J* = 1,4 Hz; 1H) e pelo sinal de metila em 0,95 (*d*; *J* = 6,2 Hz; 3H). Os demais sinais da unidade do carboidrato foram confirmados pela presença de correlação no

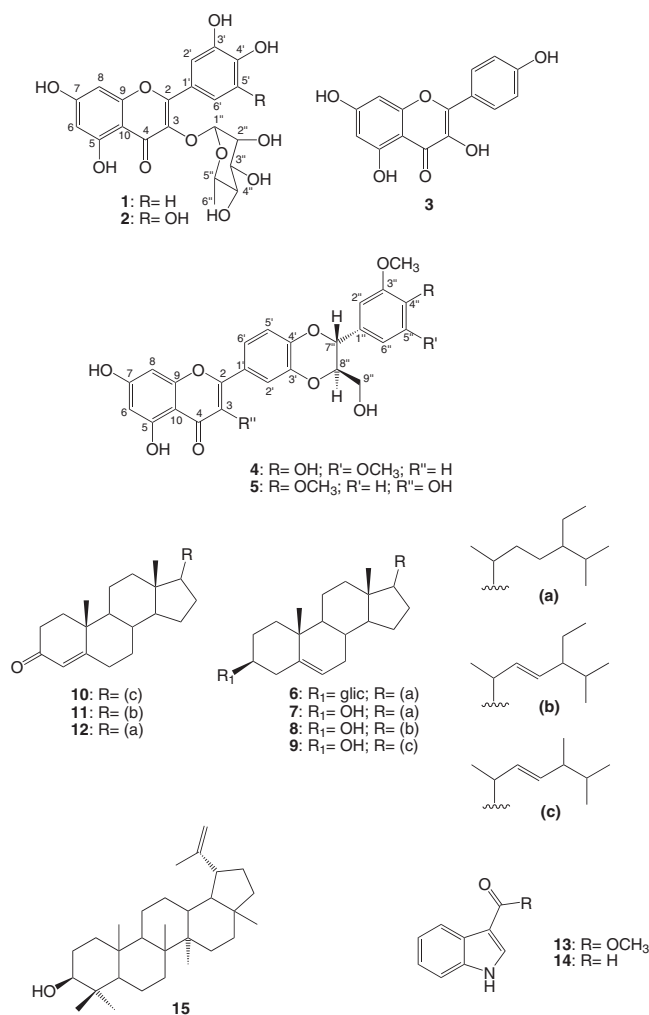


Figura 1. Substâncias isoladas de *Mimosa artemisiana*

espectro HMQC entre os seguintes sinais: δ_C 72,0 (C-2'')/ δ_H 4,2 (dd; $J_1 = 1,4$ Hz; $J_2 = 3,2$; H-2''); δ_C 72,2 (C-3'')/ δ_H 3,7 (dd; $J_1 = 3,2$ Hz; $J_2 = 9,5$ Hz; H-3''); δ_C 73,5 (C-4'')/ δ_H 3,3 (t; H-4'') e δ_C 72,2 (C-5'')/ δ_H 3,5 (dq; H-5''). A análise do espectro de RMN ¹³C permitiu identificar sinais correspondentes a carbonos não hidrogenados (11 carbonos), metínicos (três sinais representando 4 carbonos sp² e 5 carbonos sp³ oxigenados) além um carbono metílico (grupo metila da ramifose em δ_C 17,8 correlacionando com o sinal em δ_H 0,95 (d; $J = 6,2$ Hz). O sinal em 103,81 foi atribuído ao carbono anomérico C-1'', que apresentou sinal de correlação com δ_H 5,30 (d, 1,4 Hz) atribuído ao H-1'' no espectro de HMQC. Os dados de RMN obtidos para esta substância corroboram os valores descritos na literatura para a miricetrina.¹⁸⁻²⁰

A estrutura da 3,5,4'-tri-hidróxi-6,7-dimetóxi-flavona (**3**) foi definida com base na análise dos espectros de IV e de RMN ¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) uni- e bidimensionais, incluindo experimento de NOESY. Além de dois sinais simples em δ_H 3,85 e 3,95 de grupos metoxilas, o espectro de RMN ¹H apresentou três sinais de hidrogênios ligados a anel aromático; um sinal simples em δ_H 6,65 e dois dubletos em δ_H 8,1 (8,8 Hz; 2H) e 6,9 (8,8 Hz; 2H), respectivamente, típicos de um sistema AA'BB'. A ausência de sinal de NOE na frequência dos dubletos permitiu eliminar a posição das metoxilas em 4' e 3', e localizá-las em 6 e 7 devido ao NOE no sinal em 6,65 do H-8 proposto. Estas propostas foram confirmadas pela análise do espectro HMBC que apresentou sinais de correlação a longa distância entre hidrogênios e sinais de carbonos quaternários

como o ²J_{CH} de C-7/H-8; C-9/H-8 e C-10/H-8, e ³J_{CH} de C-6/H-8, C-6/CH₃O-6 e C-7/CH₃O-7. Estas informações permitiram propor a estrutura 3,5,4'-tri-hidróxi-6,7-dimetóxi-flavona, também conhecida como eupaletina (**3**). Os dados de RMN ¹H e ¹³C estão de acordo com valores registrados na literatura para esta substância.²¹⁻²³

As substâncias (**4**) e (**5**) foram identificadas através de análise dos espectros de IV e RMN ¹H, ¹³C (BBD e APT) uni- e bidimensionais da fração contendo ambas substâncias, incluindo comparação com dados da literatura.² O espectro na região do infravermelho de (**4** + **5**) apresentou bandas de absorção em 3425 cm⁻¹ (ν_{OH}), 2922 e 2849 (ν_{CH} de CH₂ e CH₃), 1657 (ν_{C=O} de carbonila conjugada), 1621 e 1436 (deformação axial ν_{C=C} de sistema aromático). O espectro de RMN ¹H da substância **4** apresentou um sinal em δ_H 6,87 característico de H-3 de flavonas. Esse sinal apresentou acoplamento a uma ligação com o sinal em δ_C 104,5 observado no espectro de HSQC. O espectro de RMN ¹H exibiu um sistema ABX em δ_H 7,08 (d; $J = 8,8$; H-5'), 7,67 (sl; H-2') e 7,60 (dl; $J = 8,8$ Hz; H-6'). Esses sinais estão consistentes com um anel C trissubstituído de uma flavona, cujos acoplamentos foram confirmados através do espectro bidimensional ¹H-¹H COSY. Os sinais simples e largos em δ_H 6,20 e 6,52, referentes aos H-6 e H-8, respectivamente, são consistentes com o anel A de um flavonoide 5,7-dioxigenado. Estes hidrogênios apresentaram sinais de correlação com carbonos em δ_C 99,55 (C-6) e 94,70 (C-8) no espectro de HSQC, respectivamente. A análise do espectro bidimensional de correlação ¹H x ¹H COSY revelou um sistema de acoplamento que permitiu sugerir a presença dos hidrogênios metínicos e metilênicos oxigenados (H-7, H-8 e H-9a,b), sugerindo que estes hidrogênios pertencem a um fragmento de propanol que forma um anel dioxânico ligado a um anel aromático. A análise do espectro bidimensional HSQC permitiu observar que estes hidrogênios apresentaram sinais de acoplamento a uma ligação com os carbonos δ_C 77,26 (C-7''), 78,59 (C-8'') e 60,67 (C-9''), respectivamente. Estes sinais permitiram propor a presença da substância **4** na mistura, que foi confirmada pelas informações adicionais descritas a seguir. O sinal simples em δ_H 3,72 foi atribuído aos hidrogênios das metoxilas ligadas em C-3'', 5'' de (**4**).

Na Tabela 1 estão as atribuições de todos os sinais de ¹H e ¹³C e as correlações observadas para (**4**). O espectro de massas de **4** apresentou picos em m/z 494,1172 (M⁺), 464,1120 (M⁺ perda de CH₂O), 463,1048 (M⁺ perda de H e de CH₂O, 100%) e 283,0301 [M⁺- 211,0970, (perda de H e de C₁₁H₁₄O₄)] confirmando a proposta da estrutura. O experimento NOESY 1D obtido através da irradiação em δ_H 7,67 (H-2') forneceu nOe no sinal em δ_H 6,87 (H-3), confirmando a posição proposta para os hidrogênios referentes a esses sinais; o espectro bidimensional NOESY apresentou sinal de interação espacial entre a metoxila em δ_H 3,72 e H-2'', 6'' (δ_H 6,75). O espectro de carbono-13 PENDANT apresentou, além dos sinais já atribuídos a **4**, sinais adicionais em δ_C 148,57 (C-3''), 136,80 (C-3), 124,30 (C-1'), 118,10 (C-2''), 77,95 (C-7'') e 56,32 (2 X H₃CO-). Esses sinais permitiram sugerir a presença da substância **5**, conforme relacionado na Tabela 2, que apresenta os dados de RMN ¹H e ¹³C da mesma. Os sinais de três hidrogênios em δ_H 7,04 (sl), 6,82 (d; $J = 7,6$ Hz) e 6,88 (dl; $J = 8,8$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-2'', H-5'' e H-6'', respectivamente, do anel aromático 1,3,4-trissubstituído da substância **5**. Os sinais dubleto em δ_H 5,02 (H-7''); $J = 7,6$ Hz), multipletos em 4,29 e 3,59 observados no espectro de ¹H RMN e ¹H-¹H-COSY representam os hidrogênios ligados aos carbonos sp³ da unidade C₆C₃ proposta. Esta proposta foi confirmada pela análise do espectro HMQC ¹J_{HC} de 7'' (5,02/76,95), 8'' (4,29/78,59) e 9'' (3,59/60,67). Os valores das constantes de acoplamento entre os hidrogênios 7'' e 8'' ($J = 7,6$ Hz) permitiram definir a configuração relativa *trans* no sistema dioxânico de **5**. O espectro bidimensional HMBC foi útil na atribuição dos deslocamentos químicos dos demais carbonos através da identificação de sinais de acoplamentos a longa

distância $^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$ (Tabela 2). O singlete em δ_H 3,78 (6H) foi atribuído aos hidrogênios das metoxilas em C-3'' e C-4'' de **5**. A análise do espectro de NOESY 1D, cuja irradiação no sinal em 3,78 gerou nOe nos sinais de H-2'' e H-5'', confirmou a posição das metoxilas vizinhas ao H-2'' e H-5''. O espectro de massas de **5** apresentou picos em m/z 495,1274 $[M+1]^+$; 465,1169 (perda de CH_2O , 100%) e 301,0469 (perda de 194,0942, $C_{11}H_{14}O_3$) estando de acordo com a estrutura proposta. A análise detalhada da integração dos espectros de hidrogênio permitiu propor a percentagem relativa de **4** (32,6%) e **5** (67,4%) na fração analisada.

A saponina esteroidal **6** e o triterpeno **15** foram identificados através da análise dos espectros de IV, RMN 1H e ^{13}C (APT), espectros de massas e comparação com valores da literatura para o glicopiranosil-sitosterol e o lupeol.^{28,29}

Os esteroides **10**, **11** e **12** tiveram suas estruturas definidas mediante análise dos espectros de IV e RMN 1H e ^{13}C (APT), que apresentaram sinais compatíveis para a mistura de esteroides contendo uma enona no anel A. A análise dos espectros de massas detectados para os componentes da mistura permitiu observar os valores de M^+ em m/z 398 para **10** (TR: 21,425); m/z 410 para **11** (TR: 22,158) e m/z 412 para **12** (TR: 23,742). A comparação dos espectros com os da espectroteca confirmou as propostas. Análise semelhante foi feita para a fração contendo as substâncias sitosterol (**7**), estigmasterol (**8**) e campesterol (**9**). Além dos sinais compatíveis para o esqueleto esteroidal, os espectros de massas de cada componente, identificados pelos picos no cromatograma do CG, T_R 21,55; 21,17 e 19,84 min, apresentaram, respectivamente, m/z em 414 (M^+ , **7**), 412 (M^+ , **8**) e 400 (M^+ , **9**). A confirmação das estruturas foi feita por comparação com dados da literatura³⁰⁻³² e com o uso de padrões em cromatografia de camada analítica com mistura semelhante isolada de outras espécies vegetais.

As estruturas das substâncias **13** e **14** foram definidas com base dos espectros de IV, massas e RMN 1H e ^{13}C uni- e bidimensionais. Além da comparação dos dados de RMN com valores da literatura.^{33,34} Os espectros de massas de ambas foram compatíveis com as propostas, sendo m/z 175 (M^+), 144 ($M^+ - OCH_3$); 116 (144 - C=O); 89 (116 - HCN) para **13**, indol-3-carboxilato de metila, e m/z : 145 (M^+ , 80%), 144 ($[M^+] - H$; 100%), 116 (144 - C=O), 89 (116 - HCN) para **14**, indol-3-carboxialdeído.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e FAPERJ pelos auxílios e bolsas concedidos. Ao MSc. F. de A. Fonseca (IEF-MG) pela coleta e identificação do material vegetal.

REFERÊNCIAS

- Muller, B. M.; Kraus, J.; Franz, G.; *Planta Med.* **1989**, *55*, 536.
- Sydiskis, R. J.; Owen, D. G.; Lohr, J. H.; Rosler, K. H. A.; Blomster, R. N.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 2463.
- Chopra, R. N.; Nayar, S. L.; Chopra, I. C.; *Glossary of Indian Medicinal Plants*, Council of Scientific and Industrial Research: New Delhi, 1956.
- Mendonça, D. E.; Onofre, S. B.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2009**, *19*, 577.
- Lorenzi, H.; *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, 2ª ed., Ed. Plantarum: Nova Odessa, 1998, vol. 2.
- Silva, J. S.; Sales, M. F. de; *Rodriguesia* **2008**, *59*, 435.
- Yusuf, U. K.; Abdullah, A.; Bakar, B.; Itam, K.; Abdullah, F.; Sukari, M. A.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 443.
- Kirk, L. F.; Møller, M. V.; Christensen, J.; Staerk, D.; Ekpe, P.; Jaroszewski, J. W.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 103.
- Jiang, Y.; Berrurier, M. H.; Anton, R.; *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1247.
- Englert, J.; Weniger, B.; Lobstein, A.; Anton, R.; *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1265.
- Dominguez, X. A.; Garcia, S.; Williams, H. J.; Ortiz, C.; Scott, A. I.; *J. Nat. Prod.* **1989**, *53*, 865.
- Mahanta, M.; Mukherjee, A. K.; *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *75*, 55.
- Girish, K. S.; Mohanakumari, H. P.; Nagaraju, S.; Vishwanath, B. S.; Kemparaju, K.; *Fitoterapia* **2004**, *75*, 378.
- Ngo Bum, E.; Dawack, D. L.; Schmutz, M.; Rakotonirina, A.; Rakotonirina, S. V.; Portet, C.; Jeker, A.; Olpe, H.-R.; Herrling, P.; *Fitoterapia* **2004**, *75*, 309.
- Desmarchelier, C.; Romão, R. L.; Coussio, J.; Ciccica, G.; *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *67*, 69.
- Gupta, M. P.; Arias, T. D.; *J. Nat. Prod.* **1979**, *42*, 234.
- Pachter, I. J.; Zacharias, D. E.; Ribeiro, O.; *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1285.
- Agrawal, P. K.; *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Ed. Elsevier: Amsterdam, 1989.
- Santos, P. M. L.; Schripsema, J.; Kuster, R. M.; *Rev. Bras. de Farmacogn.* **2005**, *15*, 321.
- Mahmoud, I. I.; Marzouk, M. S. A.; Moharram, F. A.; El-Gind, M. R.; Hassan, A. M. K.; *Phytochemistry* **2001**, *58*, 1239.
- Wei, X.; Huang, H.; Wu, P.; Cao, H.; Ye, W.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2004**, *32*, 1091.
- Pandey, R.; Maurya, R.; Singh, G.; Sathiamoorthy, B.; Naik, S.; *Int. Immunopharmacol.* **2005**, *5*, 541.
- Córdova, W. H. P.; Mesa, L. G.; Hill, A. L. P.; Lima, C. N.; Lamas, G. D.; Suárez, M. O.; Dominguez, R. S.; *Pharmacologyonline* **2006**, *3*, 757.
- Guz, N. R.; Stermitz, F. R.; Johnson, J. B.; Beeson, T. D.; Willen, S.; Hsiang, J. F.; Lewis, K.; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 261.
- Pan, L.; Chin, Y. W.; Chai, H. B.; Ninh, T. N.; Soejarto, D. D.; Kinghorn, A. D.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2219.
- Guz, N. R.; Stermitz, F. R.; *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1140; Pettit, G. R.; Meng, Y.; Clare, A. S.; Doubek, D. L.; Knight, J. C.; Cichacz, Z.; Pettit, R. K.; Chapuis, J.-C.; Schmidt, J. M.; *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 259.
- Harbone, J. B.; Mabry, T. J.; *The Flavonoids – Advances Reserch*, Chapman and Hill: London, 1976.
- Costa, H. N. R.; Santos, M. C.; Alcântara, A. F. C.; Silva, M. C.; França, R. C.; Piló-Veloso, D.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 744.
- Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517.
- Forgo, P.; Kövér, K. E.; *Steroids* **2004**, *69*, 43.
- Macari, P. A. T.; Emerenciano, V. P.; Ferreira, Z. M. G. S.; *Quim. Nova* **1990**, *13*, 260.
- Kontiza, I.; Abatis, D.; Malakate, K.; Vagias, C.; Roussis, V.; *Steroids* **2006**, *71*, 177.
- Yue, Q.; Miller, C. J.; White, J. F. Jr.; Richardson, M. D.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4687.
- Lin, C. F.; Huang, Y. L.; Cheng, L. Y.; Sheu, S.; Chen, C. C.; *Zhogyi Xuebao* **2006**, *17*, 103.