

CONSTITUINTES QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. (Fabaceae)

Leôncio M. de Sousa, Roberto W. da S. Gois, Telma L. G. Lemos, Ângela M. C. Arriaga e Manoel Andrade-Neto

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, 60451-970 Fortaleza – CE, Brasil

Gilvandete M. P. Santiago*

Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Rua Capitão Francisco Pedro, 1210, 60430-370 Fortaleza – CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho#

Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28013-602 Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil

José G. M. da Costa e Fabiola F. G. Rodrigues

Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, 63105-000 Crato – CE, Brasil

Recebido em 11/4/13; aceito em 11/6/13; publicado na web em 2/8/13

CHEMICAL CONSTITUENTS AND EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. (Fabaceae). The chemical investigation of the stems and branches of *Macroptilium lathyroides* led to the isolation of a mixture of β -sitosterol and stigmaterol. The extracts from the roots allowed the isolation of lasiodiplodin, a mixture of stigmast-4-en-6 β -ol-3-one and stigmast-4,22-dien-6 β -ol-3-one, de-*O*-methyllasiodiplodin, genistein and lupinalbin A. The structures of the isolated compounds were assigned on the basis of their NMR data, including comparison of their spectral data with values described in the literature. The antibacterial activity of crude extracts from stems, branches and roots was evaluated. This is the first report involving the chemical investigation of this species.

Keywords: *Macroptilium lathyroides*; lasiodiplodin derivatives; coumaronochromone.

INTRODUÇÃO

O gênero *Macroptilium*, pertencente à família Fabaceae, compreende cerca de 20 espécies distribuídas nas Américas. Algumas espécies deste gênero são usadas como forrageiras, como adubo verde e na medicina popular.¹

Macroptilium lathyroides (L.) Urb., conhecida popularmente como “Feijão-de-Pombinha” ou “Feijão-do-Campo”,² é originária da parte tropical da América do Sul e foi introduzida na Índia tropical e subtropical, Austrália, África e Sudeste da América do Norte.³

A ausência de relatos sobre a composição química desta espécie serviu como estímulo adicional para a investigação fitoquímica da mesma.

O presente trabalho descreve os resultados obtidos do estudo fitoquímico dos galhos, talos e raízes de *M. lathyroides* e, ainda, os resultados da avaliação da atividade antibacteriana dos seus extratos brutos.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Mettler Toledo, com placa aquecedora modelo FP82HT e central de processamento FP90, acoplado a um microscópio óptico monocular. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 5 °C/min e os valores obtidos não foram corrigidos.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro ABB, modelo FTLA 2000-102, utilizando-se pastilhas de KBr.

Os espectros 1D e 2D de ressonância magnética nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetro Bruker DRX-500, operando a 500,13 MHz para ¹H e 125,75 MHz para ¹³C. Os deslocamentos químicos (δ_H e δ_C) são dados em δ (ppm), tendo como referência interna o sinal residual do solvente usado. CDCl₃, metanol-*d*₄ e acetona-*d*₆ foram utilizados como solventes.

Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000, DI-50.

A determinação de rotação óptica foi realizada em um Polarímetro 341 da Perkin-Elmer, à temperatura de 20 °C.

Para as cromatografias de adsorção em coluna (CC) utilizou-se gel de sílica 60 (0,063-0,200 mm, Vetec) ou gel de sílica 60 (0,04-0,063 mm, Merck) como fase estacionária. Utilizou-se na eluição cromatográfica os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em gradiente de polaridade crescente. As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram efetuadas em gel de sílica 60 G (Vetec) sobre suporte de vidro e em gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre poliéster (Merck). A visualização dos compostos em CCD foi realizada por irradiação com luz ultravioleta em λ_{max} 254 e 365 nm, utilizando lâmpada Vilber Lourmat modelo VL-4LC, e/ou pela aspensão com solução de vanilina, seguida de aquecimento com soprador térmico.

Material vegetal

Talos, galhos, folhas e raízes de *Macroptilium lathyroides* foram coletados em agosto de 2009 no município de Pentecoste – CE. A identificação botânica desta espécie foi realizada pelo Professor Edson Pereira Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A exsiccata do material vegetal encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará, sob o número 45047.

*e-mail: gil@ufc.br

#Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Extração e isolamento dos constituintes químicos

Os galhos e talos de *M. lathyroides* (1531,0 g), após secagem e trituração, foram submetidos a extrações sucessivas, à temperatura ambiente, com hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e etanol (EtOH), resultando na obtenção de 14,4 g, 15,6 g e 56,0 g de extratos, respectivamente. Uma alíquota do extrato hexânico (9,3 g) foi fracionada em gel de sílica, utilizando Hex, diclorometano (CH₂Cl₂), AcOEt e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias, como eluentes. A fração Hex/CH₂Cl₂ 50% (6,2925 g) foi submetida a novo tratamento cromatográfico em gel de sílica com misturas de Hex/CH₂Cl₂ em ordem crescente de polaridade. A subfração Hex/CH₂Cl₂ 70% (**0,1171 g**) forneceu a mistura contendo os esteroides β-sitosterol (**1**) e estigmasterol (**2**).⁴

As raízes de *M. lathyroides* (1226,0 g), após secagem e trituração, foram submetidas a extrações sucessivas, à temperatura ambiente, com Hex, AcOEt e EtOH, resultando na obtenção de 5,4 g, 10,0 g e 19,0 g de extratos, respectivamente. O extrato hexânico (5,4 g) foi adsorvido em gel de sílica e submetido a coluna cromatográfica, utilizando-se Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH puros ou em misturas binárias como eluentes. A fração Hex/CH₂Cl₂ 50% (0,3791 g) foi fracionada em gel de sílica utilizando Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH como eluentes. A subfração Hex/CH₂Cl₂ 50% (0,2386 g) foi submetida a uma cromatografia *flash* em gel de sílica (0,04-0,063 mm), utilizando como eluentes CH₂Cl₂ e AcOEt em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se na subfração 16-20 (CH₂Cl₂/AcOEt 10%), um sólido cristalino incolor (0,828 g), identificado como sendo o macrolídeo conhecido (*R*)-lasiodiplodina (**3**).^{5,7} A subfração 39-112 (CH₂Cl₂/AcOEt 10%, 0,577 g), obtida do primeiro fracionamento por cromatografia *flash*, foi submetida a cromatografia *flash*, utilizando como eluentes CH₂Cl₂ e AcOEt em gradiente crescente de polaridade. A fração CH₂Cl₂/AcOEt 10% (0,0123 g) forneceu a mistura dos esteroides estigmast-4-en-6β-ol-3-ona (**4**)⁸ e estigmast-4,22-dien-6β-ol-3-ona (**5**).⁹

Parte do extrato AcOEt das raízes de *M. lathyroides* (9,2 g) foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída com Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH puros ou em misturas binárias. A fração 11-14 (CH₂Cl₂, 0,5630 g) foi submetida a uma cromatografia *flash*, utilizando gradiente de eluição composto por Hex e AcOEt. A subfração 17-48 (Hex/AcOEt 20%, 0,464 g) foi novamente submetida a cromatografia *flash*, utilizando Hex/AcOEt 70% como eluente, resultando no isolamento de um sólido cristalino incolor (0,0071 g), identificado como sendo o macrolídeo conhecido (*R*)-des-*O*-metil-lasiodiplodina (**6**).¹⁰

A fração 15-16 (CH₂Cl₂/AcOEt 50%, 1,1876 g), obtida a partir do primeiro tratamento cromatográfico do extrato AcOEt das raízes de *M. lathyroides*, também foi submetida à cromatografia *flash*, utilizando Hex/AcOEt em gradiente crescente de polaridade. A subfração 150-170 (Hex/AcOEt 30%) forneceu um sólido incolor (0,0454 g), identificado como sendo a cumaronocromona lupinalbina A (**7**).^{11,12} A subfração 183-213 (Hex/AcOEt 30%, 0,1138 g) foi purificada por cromatografia *flash*, obtendo-se na fração Hex/AcOEt 25% um sólido incolor (0,0177 g), identificado como sendo a isoflavona genisteína (**8**).¹³

Avaliação da atividade antibacteriana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A atividade antibacteriana dos extratos brutos foi avaliada através do método de microdiluição, com base no documento M7-A6 do NCCLS.¹⁴ No ensaio foram utilizadas duas linhagens de bactérias Gram (-) e três Gram (+), sendo estas linhagens padrão e isolados clínicos multirresistentes: *Escherichia coli* (27), isolada de escarro

e *Staphylococcus aureus* (358), isolada de ferida cirúrgica. Todas as linhagens foram fornecidas gentilmente pela Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima, chefe do Laboratório de Micologia Clínica da Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

Previamente aos testes, as cepas bacterianas foram ativadas em meio Brain Heart Infusion Broth (BHI 3,8%) para o crescimento bacteriano, a 35 ± 2 °C por 24 h. Após esse subcultivo, o inóculo foi padronizado a partir de uma suspensão bacteriana a uma concentração final de aproximadamente 1 × 10⁸ UFC/mL (0,5 unidades de turbidez nefelométrica - escala McFarland). Em seguida, essa suspensão foi diluída a 1 × 10⁶ UFC/mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100 μL foram adicionados e então homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações das amostras, resultando num inóculo final de 5 × 10⁵ UFC/mL.¹⁴

10 mg dos extratos foram diluídas em 1 mL de dimetilsulfóxido (concentração final = 10 mg/mL). Após isso, as soluções foram novamente diluídas, antes dos testes, para 1024 μg/mL em água destilada. Outras diluições seriadas foram realizadas através da adição de caldo BHI para alcançar uma concentração final no intervalo de 512 a 8 μg/mL. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e as placas de microdiluição foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h. A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico pela adição de 25 μL de solução de resazurina (0,01%) após o período de incubação.¹⁵ A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração das amostras capaz de inibir o crescimento de bactérias, como indicado pela coloração da resazurina.

Dados físicos dos metabólitos secundários isolados

(*R*)-Lasiodiplodina (**3**)

Cristais incolores; Pf.: 182,4-183,9 °C (lit.⁷ 182 °C); [α]_D²⁵ + 10° (c 0,05, CH₂Cl₂) (lit.^{7,10} [α]_D²⁰ + 7,3° (c 0,86, MeOH)); IV v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3392, 3100, 2930, 1693, 1608, 1165, 1094; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - δ_H (multiplicidade, *J* em Hz): 1,23 (H-6a); 1,26 (H-8a); 1,33 (d, *J* = 6,4 Hz, H-17); 1,40 (H-8b); 1,41 (H-5a); 1,42 (H-7); 1,63 (H-6b); 1,64 (H-9); 1,64 (m, H-4a); 1,66 (H-5b); 1,91 (m, H-4b); 2,47 (m, H-10a); 2,64 (m, H-10b); 3,70 (s, OCH₃); 5,29 (m, H-3); 6,21 (sl, H-11 e H-13); RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) - δ_C: 19,72 (CH₃-17); 21,58 (CH₂-5); 24,40 (CH₂-6); 25,69 (CH₂-8); 26,61 (CH₂-7); 30,26 (CH₂-9); 30,63 (CH₂-10); 32,58 (CH₂-4); 56,01 (12-OCH₃); 72,65 (CH-3); 97,22 (CH-13); 108,58 (CH-11); 117,56 (C-15); 143,21 (C-16); 157,92 (C-14); 158,18 (C-12); 169,39 (C-1).

(*R*)-Des-*O*-metil-lasiodiplodina (**6**)

Cristais incolores; Pf.: 128,2-129,1 °C (lit.¹⁰ 127-128 °C); [α]_D²⁵ + 18° (c 0,33, CH₂Cl₂) (lit.⁹ [α]_D²⁵ + 13,2° (c 0,265, CHCl₃)); IV v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3435, 2925, 2854, 1637, 1585, 1465, 1263; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - δ_H (multiplicidade, *J* em Hz): 1,37 (d, 6,2, H-17); 1,42 (m, H-7a); 1,43 (m, H-6a, H-6b); 1,52 (m, H-8a, H-8b); 1,52-1,68 (m, H-9a, H-9b); 1,57-1,69 (m, H-5a, H-5b); 1,63 (H-7b); 1,79 (m, H-4a); 1,93 (m, H-4b); 2,51 (m, H-10a); 3,29 (m, H-10b); 5,18 (H-3); 6,23 (d, 2,5, H-11); 6,28 (d, 2,5, H-13); 11,95 (s, OH); RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) - δ_C: 20,31 (CH₃-17); 21,37 (CH₂-7); 24,35 (CH₂-6); 24,87 (CH₂-5); 27,44 (CH₂-8); 30,99 (CH₂-9); 31,30 (CH₂-4); 33,74 (CH₂-10); 75,32 (CH-3); 101,58 (CH-13); 105,79 (C-15); 110,92 (CH-11); 149,65 (C-16); 160,25 (C-12); 165,65 (C-14); 172,06 (C-1).

Lupinalbina A (**7**)

Cristais incolores; IV v_{max} (KBr) cm⁻¹: 3340, 2913, 1612, 1585, 1439, 1239; RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD, (CD₃)₂CO) - δ_H (multiplicidade, *J* em Hz): 6,29 (d, 2,3, H-6); 6,47 (d, 2,3, H-8); 6,90 (dd,

8,9, 3,0, H-5'); 7,00 (d, 3,0, H-3'); 7,74 (d, 8,9, H-6'); RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) - δ_{C} : 95,96 (CH-8); 99,58 (CH-6); 99,75 (C-3); 100,95 (CH-3'); 104,61 (C-10); 114,83 (CH-5'); 115,30 (C-1'); 122,84 (CH-6'); 151,93 (C-2'); 156,59 (C-9); 157,87 (C-4'); 164,07 (C-5); 165,17 (C-7); 166,16 (C-2); 180,01 (C-4).

Genisteína (8)

Cristais incolores; Pf.: 295,6 – 296,7 °C (lit.¹³ 296 - 297 °C); IV v_{max} (KBr) cm^{-1} : 3413, 2532, 2341, 2256, 1639, 1571, 1519; RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) - δ_{H} (multiplicidade, J em Hz): 6,21 (d, 2,2, H-6); 6,32 (d, 2,2, H-8); 6,84 (dd, 8,7, H-3'/H-5'); 7,36 (dd, 8,7, H-2'/H-6'); 8,03 (s, H-2); RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) - δ_{C} : 94,96 (CH-8); 100,30 (CH-6); 106,45 (C-10); 116,42 (CH-3'/CH-5'); 123,49 (C-1'); 124,90 (C-3); 131,53 (CH-2'/CH-6'); 154,91 (CH-2); 158,96 (C-4'); 159,87 (C-9); 164,00 (C-5); 166,13 (C-7); 182,40 (C-4).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo químico do extrato hexânico dos talos e galhos de *M. lathyroides* resultou no isolamento e identificação da mistura de esteroides β -sitosterol (1) e estigmasterol (2).⁴ Do extrato hexânico das raízes de *M. lathyroides* foram isolados e identificados o macrolídeo (*R*)-lasiodiplodina (3)⁵⁻⁷ e a mistura de esteroides estigmast-4-en-6 β -ol-3-ona (4)⁸ e estigmast-4,22-dien-6 β -ol-3-ona (5)⁹ e do extrato acetato de etila das raízes foram isoladas e identificados (*R*)-des-*O*-metil-lasiodiplodina (6),¹⁰ lupinalbina A (7)^{11,12} e genisteína (8)¹³ (Figura 1). As estruturas destes metabólitos secundários isolados foram elucidadas através da análise dos dados espectrais 1D de RMN ^1H , RMN ^{13}C ($\{^1\text{H}\}$ e DEPT) e 2D de correlações homonuclear (^1H - ^1H -COSY) e heteronuclear, HSQC (^1H - ^{13}C - $^1J_{\text{CH}}$), HMBC (^1H - ^{13}C - nJ_{CH} , $n \geq 2$), envolvendo comparação com os valores registrados na literatura. A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT de cada substância foi utilizada para identificar os átomos de carbono metílicos, metilênicos, metínicos e quaternários.

A utilização extensiva de dados espectrais de RMN 1D e 2D permitiram a completa e inequívoca atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio (δ_{H}) e carbono (δ_{C}) das substâncias naturais descritas na parte experimental.

As percentagens dos esteroides (1) e (2) presentes na mistura isolada a partir do extrato hexânico dos talos e galhos de *M. lathyroides* foram deduzidas através da análise das integrações dos sinais do H-6 (1 e 2) e H-22 (2) reveladas pelo espectro de RMN ^1H ,¹⁶ obtendo-se percentuais aproximados de 65,75 % e 34,25 % para β -sitosterol (1) e estigmasterol (2), respectivamente.

A análise dos dados de RMN da substância (3) sugeriu a presença de um anel aromático tetrassubstituído, com átomos de hidrogênio representados pelo sinal em δ_{H} 6,21 (sl, 2H), observado no espectro de RMN ^1H , correlacionado no HSQC com os sinais de átomos de carbono em δ_{C} 108,58 (CH-11) e 97,22 (CH-13) nos espectros de RMN ^{13}C ($\{^1\text{H}\}$ e DEPT). Observou-se também a presença de um duplete em δ_{H} 1,33 ($J = 6,2$ Hz, 3H-17) no espectro de RMN ^1H , representando pela integração três hidrogênios, atribuído aos hidrogênios de um grupo metila ligado a carbono metínico e de um simpleto em δ_{H} 3,70, integrado para três hidrogênios, atribuído aos hidrogênios de uma metoxila. O multiplete em δ_{H} 5,29 (1H) foi atribuído a um hidrogênio oximetínico (H-3). Os sinais em δ_{C} 19,72, 56,01 e 72,65 confirmaram a presença do grupo metila, da metoxila ligada a carbono aromático e do carbono oximetínico, respectivamente. O sinal em δ_{C} 169,39 no espectro de RMN ^{13}C foi atribuído à presença de carbono de carbonila lactônica conjugada, que foi confirmada pela presença da banda de absorção centrada em 1693 cm^{-1} no seu espectro na região do infravermelho. Estas deduções, juntamente com a análise dos

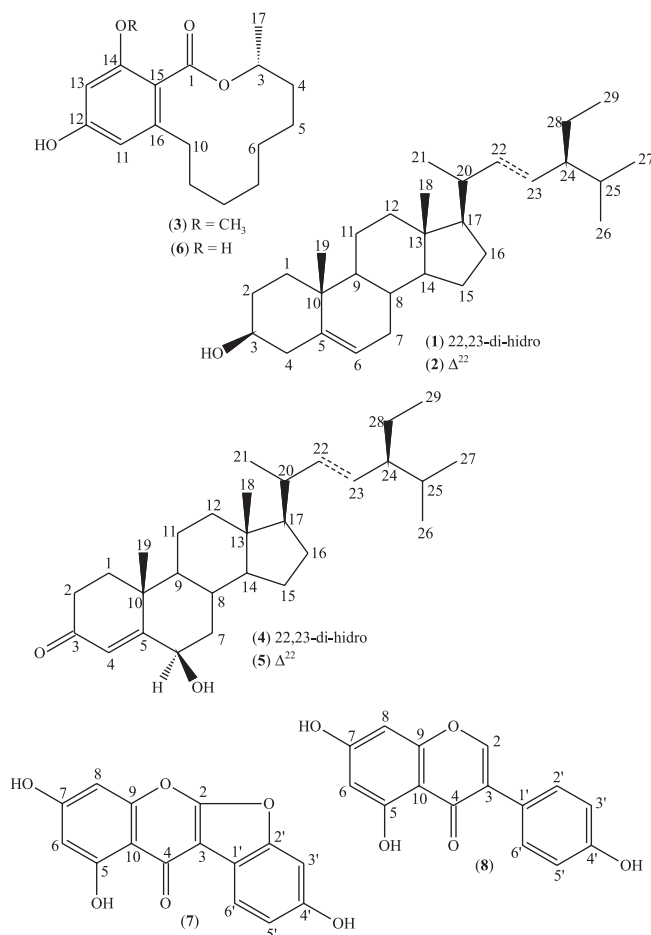


Figura 1. Substâncias isoladas de *Macroptilium lathyroides*

espectros 2D HSQC e HMBC e a comparação com dados descritos na literatura^{5,6} permitiram identificar a substância (3) como o macrolídeo lasiodiplodina, substância que foi isolada de *Lasiodiplodia theobromae*,¹⁷ *Euphorbia splendens*⁵ (Euphorbiaceae), *Euphorbia fidijiana*¹⁸ (Euphorbiaceae), *Annona dioica*¹⁹ (Annonaceae), *Erycbe expansa*²⁰ (Convolvulaceae), *Ficus nervosa*²¹ (Moraceae) e *Cyphostemma greveana*²² (Vitaceae).

A configuração do átomo de carbono C-3 da lasiodiplodina (3) foi deduzida através da comparação de seu respectivo valor de rotação óptica específica com os valores descritos na literatura para ambos os enantiômeros da lasiodiplodina (3).⁷ Assim, concluiu-se que o átomo de carbono C-3 da substância 3 possui configuração *R*.

O espectro na região do infravermelho da mistura das substâncias (4) e (5) apresentou bandas características de deformação axial de grupo hidroxila e de grupo carbonila em sistema α,β -insaturado. O espectro de RMN ^1H apresentou sinais múltiplos na região entre δ_{H} 0,75-2,55, que foram atribuídos a átomos de hidrogênio metílicos, metilênicos e metínicos compatíveis com a estrutura de esteroides. Esse espectro mostrou ainda sinais em δ_{H} 5,82, 5,15 e 5,03 característicos de hidrogênios ligados a carbonos olefínicos. Os sinais em δ_{C} 200,68 (C-3, 4/5), 168,72/168,69 (C-5, 4/5), 138,34 (CH-22, 5), 129,71 (CH-23, 5) e 126,55 (CH-4, 4/5) observados nos espectros de RMN ^{13}C ($\{^1\text{H}\}$ e DEPT), confirmaram a presença de uma carbonila α,β -insaturada e sugeriram, em combinação com o sinal em δ_{C} 73,51 (CH-6), a estrutura de um ceto-esteroide. A comparação desses dados com valores de RMN ^1H e ^{13}C registrados na literatura permitiram identificar a mistura de esteroides estigmast-4-en-6 β -ol-3-ona (4)⁸ e estigmast-4,22-dien-6 β -ol-3-ona (5).⁹

O espectro de RMN ^1H da substância (6) apresentou-se bastante

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos

Extratos	Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$)				
	<i>S. aureus</i> (ATCC-12692)	<i>S. aureus</i> (358)	<i>E. coli</i> (ATCC-25922)	<i>E. coli</i> (27)	<i>B. cereus</i> (ATCC-33018)
EHTG	512	512	512	512	512
EAR	512	512	≥ 1024	512	512

semelhante ao da (*R*)-lasiodiplodina (**3**). A principal diferença observada restringiu-se à ausência do sinal correspondente aos átomos de hidrogênio da metoxila. A comparação dos dados espectroscópicos com os da literatura¹⁰ permitiu identificar a substância (**6**) como sendo o macrolídio (*R*)-des-*O*-metil-lasiodiplodina (**6**). Esta substância (**6**) foi anteriormente isolada de *Durio zibethinus*¹⁰ (Bombacaceae), *Euphorbia fidiijiana*¹⁸ (Euphorbiaceae), *Arnebia euchroma*²³ (Boraginaceae), *Anthocleista grandiflora*²⁴ (Gentianaceae), *Kirkia acuminata*²⁵ (Simaroubaceae) e de fungos endofíticos.²⁶

O espectro na região do infravermelho da substância (**7**) apresentou bandas compatíveis com a presença de hidroxila fenólica e carbonila conjugada. A presença de dois dupletos em δ_{H} 6,29 ($J = 2,3\text{ Hz}$, 1H) e 6,47 ($J = 2,3\text{ Hz}$, 1H) no espectro de RMN ¹H da substância (**7**) sugeriu a presença de átomos de hidrogênios em acoplamento *meta* em anel aromático tetrassubstituído. Os sinais em δ_{H} 6,90 (dd, $J = 8,9\text{ Hz}$ e $3,0\text{ Hz}$), 7,00 (d, $J = 3,0\text{ Hz}$) e 7,74 (d, $J = 8,9\text{ Hz}$) sugeriram a presença de um anel aromático 1,2,4-trissubstituído. A análise dos dados de RMN ¹³C (¹H) e DEPT revelou, além dos sinais relativos aos átomos de carbono metínicos dos dois anéis aromáticos, um sinal em δ_{C} 180,01 que foi atribuído a um carbono carbonílico e nove sinais atribuídos a átomos de carbono *sp*² não hidrogenados (incluindo seis oxigenados). Essas deduções, juntamente com a análise dos espectros 2D HSQC e HMBC e a comparação com dados descritos na literatura^{11,12} permitiram identificar **7** como a cumaronocromona lupinalbina A, substância anteriormente isolada de *Lupinus albus*¹¹ (Fabaceae), *Iris pseudacorus*¹² (Iridaceae) e *Lupinus varius*²⁸ (Fabaceae).

Através da análise do espectro de RMN ¹H da substância (**8**) foi verificada a presença de um simpleto característico do H-2 de isoflavona em δ_{H} 8,03, de dois sinais que sugeriram a presença de um sistema do tipo AA'BB' de anel aromático *para*-dissubstituído em δ_{H} 7,36 ($J = 8,6, 2\text{H}$, H2'/H6') e 6,84 ($J = 8,6, 2\text{H}$, H3'/H-5'), além de dois dupletos em δ_{H} 6,32 ($J = 2,1\text{ Hz}$, 1H) e 6,21 ($J = 2,1\text{ Hz}$, 1H), sugerindo a presença de um anel aromático tetrassubstituído sustentando dois átomos de hidrogênio *meta* posicionados. A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C-¹H e RMN¹³C-DEPT 135 permitiu reconhecer cinco sinais de carbonos metínicos (todos *sp*²) e oito carbonos não hidrogenados (todos *sp*²), inclusive um carbonílico em δ_{C} 182,40 e mais quatro oxigenados. Estes dados, juntamente com a análise dos espectros 2D HSQC e HMBC e a comparação com dados descritos na literatura,¹³ permitiram identificar a substância **8** como a isoflavona genisteína.

O extrato hexânico dos talos e galhos (**EHTG**) e o extrato em acetato de etila das raízes (**EAR**) foram avaliados frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC-12692), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-15442), *Bacillus cereus* (ATCC-33018), *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Staphylococcus aureus* (358), isolada de ferida cirúrgica e *Escherichia coli* (27), isolada de escarro. Os valores da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos estão mostrados na Tabela 1.

A atividade antibacteriana de β -sitosterol (**1**), estigmasterol (**2**), (*R*)-des-*O*-metil-lasiodiplodina (**6**) e de genisteína (**8**) sobre *E. coli*,²⁹⁻³² *S. aureus*^{23,30-32} e *B. cereus*³³ já é conhecida, e a presença dessas substâncias nos extratos de *M. lathyroides* deve contribuir para a atividade antibacteriana destes.

CONCLUSÃO

Todos os metabólitos secundários isolados de *M. lathyroides*, apesar de conhecidos, estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Macroptilium*. Torna-se oportuno salientar que não foi verificado na literatura qualquer relato sobre a ocorrência de (*R*)-lasiodiplodina (**3**) e de (*R*)-des-*O*-metil-lasiodiplodina (**6**) na família Fabaceae.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Os espectros de RMN das substâncias (**3**), (**6**), (**7**) e (**8**) encontram-se disponíveis na forma de arquivo pdf, com acesso livre, na página <http://quimicanova.s bq.org.br>.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES, FUNCAP e FAPERJ pelas bolsas e auxílios financeiros concedidos; ao Centro Nordeste de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) pelos espectros 1D e 2D de Ressonância Magnética Nuclear e ao Professor Edson Nunes da Universidade Federal do Ceará pela identificação do material vegetal.

REFERÊNCIAS

- Barbosa-Fevreiro, V. P.; *Macroptilium (Bentham) Urban do Brasil (Leguminosae Faboideae – Phaseoleae – Phaseolinae)*. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 1986, v. 28.
- Ramos, L. A.; Cavalheiro, C. C. S.; Cavalheiro, E. T. G.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1114.
- Ferreira, O. G. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pelotas, Brasil, 2002
- Facundo, V. A.; Polli, A. R.; Rodrigues, R. V.; Militão, J. S. L. T.; Stabelli, R. G.; Cardoso, C. T.; *Acta Amaz.* **2008**, *38*, 733.
- Lee, K.-H.; Hayashi, N.; Okano, M.; Hall, I. H.; Wu, R.-Y.; McPhail, A. T.; *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1119.
- Li, P.; Takahashi, K.; Matsuura, H.; Yoshihara, T.; *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2005**, *69*, 1610.
- Bracher, F.; Shulte, B.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 2619.
- Correia, S. J.; David, J. P.; David, J. M.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 36.
- Asha, K. N.; Chowdhury, R.; Hasan, C. M.; Rashid, M. A.; *Acta Pharm.* **2004**, *54*, 57.
- Rudiyansyah; Garson, M. J.; *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1218.
- Tahara, S.; Ingham, J. L.; Mizutani, J.; *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 1775.
- Hanawa, F.; Tahara, S.; Mizutani, J.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 157.
- Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; do Nascimento, J. C.; Vieira, J. J.; dos Santos, M. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 335.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards; *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Approved Standard M7-A6, 6th ed.; Wayne, 2003.
- Salvat, A.; Antonnacci, L.; Fortunato, R. H.; Suarez, E. Y.; Godoy, H. M.; *Lett. Appl. Microbiol.* **2001**, *32*, 293.
- Goulart, M. O. F.; Sant'ana, A. E. G.; de Lima, R. A.; Cavalcante, S. H.; de Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 95.

17. Turner, W. B.; Aldridge, D. C.; Galt, S.; Giles, D.; *J. Chem. Soc. C* **1971**, 1623.
18. Cambie, R. C.; Lal, A. R.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D.; *Phytochemistry* **1991**, *30*, 287.
19. dos Santos, P. R. D.; Morais, A. A.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 396.
20. Morikawa, T.; Xu, F.; Matsuda, H.; Yoshikawa, M.; *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1530.
21. Chen, L-W.; Cheng, M-J.; Peng, C-F.; Chen, I-S.; *Chem. Biodivers.* **2010**, *7*, 1814.
22. Cao, S.; Hou, Y.; Brodie, P.; Miller, J. S.; Randrianaivo, R.; Rakotobe, E.; Rasamison, V. E.; Kingston, D. G. I.; *Chem. Biodivers.* **2011**, *8*, 643.
23. Xin-Sheng, Y.; Ebizuka, Y.; Noguchi, H.; Kiuchi, F.; Itaka, Y.; Sankawa, U.; Seto, H.; *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 2407; Li, H-M.; Tang, Y-L.; Zhang, Z-H.; Liu, C-J.; Li, H-Z.; Li, R-T.; Xia, X-S.; *Planta Med.* **2012**, *78*, 39.
24. Magadula, J. J.; Mulholland, D. A.; Crouch, N. R.; *Nat. Prod. Commun.* **2008**, *3*, 885.
25. Yang, R-Y.; Li, C-Y.; Lin, Y-C.; Peng, G-T.; She, Z-G.; Zhou, S-N.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4205.
26. Mulholland, D. A.; Cheplogoi, P.; Crouch, N. R.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 793.
27. Yang, S. S.; Gao, F.; Mabry, T. J.; Amer, M. E.; Abdel-Kader, M. A.; Mahmoud, Z. F.; Abdel-Salam, N. A.; *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1749.
28. Hassanean, H. A.; *Bull. Pharm. Sci.* **1998**, *21*, 109.
29. Hussain, H.; Badawy, A.; Elshazly, A.; Elsayed, A.; Krohn, K.; Riaz, M.; Schulz, B.; *Rec. Nat. Prod.* **2011**, *5*, 133.
30. Patil, B. S.; Rajput, A. P.; *Int. J. PharmTech. Res.* **2012**, *4*, 321.
31. Özçelik, B.; Kartal, M.; Orhan, I.; *Pharm. Biol.* **2011**, *49*, 396.
32. Rahman, M. M.; Gray, A. I.; Khondkar, P.; Sarker, S. D.; *Pharm. Biol.* **2008**, *46*, 356.
33. Verdrengh, M.; Collins, L. V.; Bergin, P.; Tarkowski, A.; *Microbes Infect.* **2004**, *6*, 86.