

FLAVONOIDES E OUTRAS SUBSTÂNCIAS DE *Lippia sidoides* E SUAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTES

Macia Cleane S. de Almeida, Leonardo A. Alves, Luciana Gregório da S. Souza, Luciana L. Machado, Marcos C. de Matos, Maria Conceição F. de Oliveira e Telma L. G. Lemos*

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, 60021-970 Fortaleza - CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro / Universidade Estadual do Norte Fluminense / Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-603 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Recebido em 5/1/10; aceito em 11/6/10; publicado na web em 22/9/10

FLAVONOIDS AND OTHER SUBSTANCES FROM *Lippia sidoides* AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITIES. The chemical investigation of the ethanol extracts of stems, roots and leaves of *Lippia sidoides* led to the isolation of: steroid β -sitosterol, naphthoquinone tecomaquinone, monoterpene carvacrol, flavonoid 4',5,7-trihydroxyflavanone (naringenin), 3',4',5,7-tetrahydroxyflavanone and 4',5,7-trihydroxy-6-methoxyflavone flavonoids mixture, and 3,4,4',6'-tetrahydroxydihydrochalcone-2'-O- β -D-glucopyranoside and 4,4',6'-trihydroxydihydrochalcone-2'-O- β -D-glucopyranoside dihydrochalcones mixture. Their structures were characterized on the basis of spectral data, mainly ^1H and ^{13}C NMR (1D and 2D) and mass spectra. The ethanol extract and isolated compounds were evaluated for their antioxidative properties using the method of inhibition of free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Keywords: *Lippia*; Verbenaceae; chalcones.

INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* (Verbenaceae), possui cerca de 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores, que são naturais da América do Sul e Central.¹ Espécies deste gênero destacam-se pelo aroma forte e agradável e seu aspecto atrativo no período de floração. A espécie *Lippia sidoides* é conhecida popularmente como alecrim-pimenta e é encontrada no sertão nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Estudos anteriores realizados com esta espécie relataram a presença de flavonoides, quinonas, triterpenos, lignanas, esteroides livres e glicosilados e ácidos orgânicos.² A exemplo de outras plantas do gênero, a referida espécie tem uso comprovado na medicina popular, principalmente como antisséptico e antimicrobiano.² As folhas e flores constituem a parte medicinal desta planta. Seu óleo essencial possui elevado valor comercial, tendo o timol e o carvacrol como constituintes principais, os quais apresentam propriedades antisséptica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória e larvicida.³ O chá ou a tintura diluída desta espécie é também usado no tratamento de problemas de pele.⁴ Apesar de existirem vários trabalhos na literatura⁵ acerca da sua composição química, o presente trabalho constitui uma reinvestigação fitoquímica da espécie por esta ser uma das plantas selecionadas pelo Governo do Estado do Ceará² e pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para produção de fitoterápico,⁶ além de permitir avaliação comparativa dos perfis fitoquímicos da planta cultivada e daquela coletada no seu habitat natural.

Neste trabalho registra-se o resultado obtido do estudo fitoquímico dos talos, das raízes e das folhas da espécie *L. sidoides*, descrevendo-se o isolamento e a identificação da naftoquinona tecomaquinona (**1**), do flavonoide 4',5,7-tri-hidroxiflavanona (**2**, naringenina), da mistura de flavonoides 3',4',5,7-tetra-hidroxiflavanona (**3**) e 4',5,7-tri-hidroxi-6-metoxiflavona (**4**), e da mistura de di-hidrochalconas 2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona (**5**) e 2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-

hidrochalcona (**6**), além do β -sitosterol e do carvacrol. Ensaios de atividade antioxidante foram realizados com o extrato etanólico das folhas (LSFE) e os compostos isolados, empregando-se o método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila).⁷

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os pontos de fusão foram determinados em equipamento da Microquímica, modelo MQAPF 302. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 4 °C/min e os valores obtidos não foram corrigidos.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000, utilizando pastilhas de KBr e filme de NaCl para análise das amostras.

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C , uni (1D) e bidimensionais (2D), foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e DRX-500, operando na frequência de 300 e 500 MHz para hidrogênio (^1H), e de 75 e 125 MHz para carbono-13 (^{13}C), respectivamente. Na dissolução das amostras utilizou-se como solvente CDCl_3 e CD_3OD .

Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro Shimadzu, modelo QP5050A e em espectrômetro Shimadzu, modelo LCMS-IT-TOF, equipado com fonte de ionização por electrospray.

A determinação da rotação óptica foi realizada em um polarímetro 341 da Perkin Elmer, a temperatura de 20 °C.

Nas cromatografias de adsorção em coluna (CC) foram utilizadas gel de sílica 60 (63-200 μm). Os tamanhos das colunas (comprimento e diâmetro) variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas e adsorventes empregados. Para a eluição das amostras foram usados os seguintes solventes de qualidade P.A. (Synth): hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias em gradiente de polaridade crescente. Para as cromatografias em camada delgada (CCD) utilizou-se gel de sílica

*e-mail: tlemos@dqi.ufc.br

60 G sobre suporte de vidro e gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre poliéster. As revelações das substâncias foram realizadas pela aspersão em solução ácida de vanilina, seguida de aquecimento com soprador térmico.

Material vegetal

A espécie estudada, *Lippia sidoides*, foi coletada no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará (UFC). A exsiccata de número 25149 encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia (UFC).

Extração e isolamento dos constituintes químicos

Talos (551,0 g), raízes (2,0 kg) e folhas (208,5 g) foram separados, secos, submetidos à extração com etanol a temperatura ambiente e, em seguida, foram concentrados sob pressão reduzida, fornecendo respectivamente: LSTE (27,7 g), LSRE (56,0 g) e LSFE (36,8 g).

LSTE (18,0 g) foi adsorvido em gel de sílica e submetido a fracionamento cromatográfico em funil de vidro sinterizado utilizando como eluentes hexano, diclorometano e metanol puros em ordem crescente de polaridade, fornecendo as respectivas frações (432,0 mg, 691,0 mg, 4,6 g) após destilação do solvente sob pressão reduzida. A fração diclorometano (691,0 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica em gel de sílica, usando-se eluentes puros e misturas binárias de hexano/diclorometano (0-100%, v/v), diclorometano/acetato de etila (0-100%, v/v) e acetato de etila/metanol (0-100%, v/v). As frações obtidas foram analisadas em CCD usando como eluentes hexano/diclorometano (3/7), hexano/acetato de etila (9/1; 8/2; 7/3; 5/5), diclorometano (100%) e diclorometano/acetato de etila (9/1; 8/2), as quais foram reunidas de acordo com suas similaridades, resultando no isolamento do esteroide β -sitosterol (40,0 mg).

LSRE (56,0 g) foi adsorvido em gel de sílica e submetido a fracionamento cromatográfico em funil de vidro sinterizado utilizando como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros em ordem crescente de polaridade, fornecendo as respectivas frações (1,2g; 14,5g; 8,2g; 22,0g) após destilação do solvente sob pressão reduzida. Parte da fração diclorometano (5,0 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica em gel de sílica, usando-se eluentes puros e misturas binárias de hexano/acetato de etila (0-100%, v/v) e acetato de etila/metanol (0-100%, v/v). Foram coletadas um total de 19 frações que, após análise por CCD em hexano/acetato de etila (8/2; 5/5; 2/8), acetato de etila (100%) e acetato de etila/metanol (8/2; 5/5; 2/8), foram reunidas em 9 frações (F1 a F9). A fração F4 eluída com hexano/acetato de etila 6/4 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas em gel de sílica, resultando no isolamento de **1** (15,0 mg).

LSFE (36,8 g) também foi adsorvido em gel de sílica e submetido a fracionamento cromatográfico em funil de vidro sinterizado utilizando como eluentes hexano, acetato de etila e metanol puros em ordem crescente de polaridade, fornecendo as respectivas frações (883,0 mg; 5,4 g; 19,7 g) após destilação do solvente sob pressão reduzida. Parte da fração acetato de etila (2,0 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica em gel de sílica, usando-se eluentes puros e misturas binárias de hexano/acetato de etila (0-100%, v/v) e acetato de etila/metanol (0-100%, v/v). Foram obtidas 157 frações que, após análise em CCD em hexano (100%), hexano/acetato de etila (9/1; 7/3), diclorometano/acetato de etila (8/2), acetato de etila (100%) e acetato de etila/metanol (9/1), foram reunidas em 20 frações (F1 a F20). As frações F2–F14 eluídas com hexano/acetato de etila (9/1; 8/2; 7/3; 6/4; 5/5; 4/6; 3/7; 2/8; 1/9), acetato de etila (100%) e acetato de etila/metanol (9/1) foram recromatografadas em gel de sílica, usando-se eluentes puros e misturas binárias de hexano/diclorometano (0-100%, v/v), diclorometano/acetato de etila (0-100%, v/v) e acetato

de etila/metanol (0-100%, v/v), levando ao isolamento do monoterpeno carvacrol (60,0 mg), de **2** (27,0 mg), da mistura (22,0 mg) **3/4** (59% / 41%), e da mistura (157,0 mg) **5/6** (67% / 33%).

Acetilação de 5/6

A mistura **5/6** (50,0 mg) foi dissolvida em anidrido acético/ piridina (2,0/1,0 mL) e mantida sob agitação magnética por 24 h à temperatura ambiente. Após adição de sulfato de cobre e extração com acetato de etila (2 x 10 mL), a fase orgânica foi lavada com água, tratada com sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida. Os produtos **5a/6a**, provenientes da mistura **5/6**, foram purificados em coluna cromatográfica empregando gel de sílica como adsorvente e acetato de etila como eluente, obtendo-se 73,0 mg (85,9%) do derivado acetilado.

Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radical DPPH

Para avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método de sequestro de radical DPPH e comparação com padrões positivos, usando a metodologia proposta por Hegazy e El-Hady.⁷ Amostras do extrato etanólico das folhas (LSFE) e das substâncias isoladas (**1**, **2**, **3/4** e **5/6**) nas concentrações de 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1 e 1,0 mg/mL foram dissolvidas em metanol e 1,0 mL de cada amostra foi adicionada a uma solução metanólica de DPPH (1,0 mL), na concentração de 60 μ M. Foram realizadas medidas de absorbância na faixa de 520 nm em espectrofotômetro de UV, após 30 min. A percentagem de inibição foi obtida por comparação da absorção da solução contendo amostra, em relação a uma solução controle de DPPH sem amostra.

Os resultados mostrados na Tabela 2 representam a média aritmética de 3 leituras. Como padrões positivos de referência utilizaram-se Trolox e Vitamínica-C, adquiridos da Sigma Aldrich.

Tecomaquinona (1)

Sólido amorfo verde; solubilidade: clorofórmio; Rf = 0,5 (hexano/diclorometano 1/1); p.f. 188-189 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -15,2° (c 0,00105, CHCl₃); IV (filme de NaCl), ν_{Max} (cm⁻¹): 2969; 2922; 1653; 1594; 1548; 1247; RMN ¹H e ¹³C: de acordo com a literatura.⁵

Naringenina (2)

Sólido amarelo; solubilidade: metanol; Rf = 0,43 (diclorometano/acetato de etila 4/1); p.f. 229-231 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -10,9° (c 0,0011, MeOH); IV (pastilha de KBr), ν_{Max} (cm⁻¹): 3134; 1603; 1519; 1461; 1312; RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) – δ_H (H, multiplicidade, J em Hz, integração): 7,29 (H-2', 6'; d; 8,5; 2H); 6,81 (H-3', 5'; d; 8,5; 2H); 5,88 (H-6; d; 2,1; 1H); 5,87 (H-8; d; 2,1; 1H); 5,31 (H-2; dd; 12,9 e 2,7; 1H); 3,09 (H-3 axial; dd; 17,1 e 12,9; 1H); 2,67 (H-3 equatorial; dd; 17,1 e 2,7; 1H); RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD) – δ_C : 197,9 (C-4); 168,5 (C-7); 165,6 (C-5); 165,0 (C-9); 159,2 (C-4'); 131,2 (C-1'); 129,2 (C-2', 6'); 116,5 (C-3', 5'); 103,5 (C-10); 97,2 (C-6); 96,3 (C-8); 80,6 (C-2); 44,2 (C-3).

3',4',5,7-tetra-hidroxi-flavanona (3) e 4',5,7-tri-hidroxi-6-metoxiflavona (4)

Sólido amarelo; solubilidade: metanol; Rf = 0,43 (diclorometano/acetato de etila 3/2); IV (pastilha de KBr), ν_{Max} (cm⁻¹): 3368; 1639; 1606; 1459; 1365; RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) – δ_H (H, multiplicidade, J em Hz, integração): **3**: 6,90 (H-2'; s; 1H); 6,77

(H-6'; m; 1H); 6,77 (H-5'; m; 1H); 5,87 (H-8; d; 2,4; 1H); 5,85 (H-6; d; 2,4; 1H); 5,23 (H-2; dd; 12,7 e 3,0; 1H); 3,03 (H-3; dd; 17,0 e 12,7; 1H); 2,66 (H-3; dd; 17,0 e 3,0; 1H); **4**: 7,74 (H-2'; d; 8,6; 1H); 7,74 (H-6'; d; 8,6; 1H); 6,87 (H-3'; d; 6,8; 1H); 6,87 (H-5'; d; 8,6; 1H); 6,47 (H-3; s; 1H); 6,47 (H-8; s; 1H); 3,89 (MeO-6; s; 3H); RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD) – δ_c : **3**: 197,9 (C-4); 168,5 (C-7); 166,4 (C-5); 165,5 (C-9); 147,0 (C-3'); 146,6 (C-4'); 131,9 (C-1'); 119,4 (C-6'); 117,0 (C-5'); 114,5 (C-2'); 106,0 (C-10); 97,2 (C-6); 96,3 (C-8); 80,6 (C-2); 44,2 (C-3); **4**: 184,2 (C-4); 164,9 (C-2); 162,8 (C-4'); 158,7 (C-7); 154,7 (C-9); 154,0 (C-5); 132,0 (C-6); 129,5 (C-2'); 129,5 (C-6'); 123,7 (C-1'); 117,1 (C-3'); 117,1 (C-5'); 106,0 (C-10); 101,5 (C-3); 95,4 (C-8); 59,6 (MeO-6).

2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona (**5**) e 2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona (**6**)

Sólido amarelo; solubilidade: metanol; Rf = 0,69 (acetato de etila/metanol 4/1); $[\alpha]_D^{20}$ -77,7° (c 0,001, MeOH); IV (pastilha de KBr), ν_{Max} (cm⁻¹): 3411; 2926; 1631; 1517; 1453; 1367; EM *m/z*: 5: 451,1270 [M - H] (calc.: 451,1240), 6: 435,1314 [M - H] (calc.: 435,1291); RMN ¹H e ¹³C: Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento do extrato etanólico dos talos de *L. sidoides* resultou no isolamento e identificação do esteroide β -sistosterol.⁸ Do extrato etanólico das raízes foi isolada e identificada a naftoquinona tecomaquinona (**1**),⁵ e do extrato etanólico das folhas foram isolados e identificados o monoterpene carvacrol,⁹ o flavonoide naringenina (4',5,7-tri-hidroxi-flavanona, **2**),¹⁰ a mistura de 3',4',5,7-tetra-hidroxi-flavanona (**3**)¹¹ e 4',5,7-tri-hidroxi-6-metoxiflavona (**4**)¹¹ e a mistura de 2'-O-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona (**5**)¹² e 2'-O-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona (**6**)¹³ (Figura 1). Estes compostos foram identificados por métodos espectrométricos, tais como IV, EM e, principalmente RMN ¹H e ¹³C (1D e 2D). A confirmação destas estruturas baseou-se na análise comparativa com valores descritos na literatura.^{5,8-12}

O espectro na região do IV [ν_{Max} cm⁻¹ (KBr)] de **5/6** revelou bandas de absorção em 3411 (OH), 1631 (C=O), 1517 e 1453 (C=C_{arom.}). O espectro de RMN ¹H revelou sinais de hidrogênios

alifáticos em δ_H 2,82 (t, *J*=7,8 Hz, 2H) e 3,47 (t, *J*=7,8 Hz, 2H), compatíveis com dois grupos CH₂ ligados entre si e sendo um deles alfa à carbonila, além de sinais de anel aromático, compreendidos entre δ_H 5,96-7,06, sugerindo tratar-se do esqueleto básico Ph-CH₂-CH₂-CO-Ph, característico de di-hidrochalconas. Os sinais em δ_H 6,19 (d, *J*=2,1 Hz, 1H) e 5,96 (d, *J*=2,1 Hz, 1H) indicaram a presença de dois hidrogênios *meta* posicionados em um grupo fenila tetrassubstituído. A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C-¹H e RMN ¹³C-DEPT-135° mostrou sinais característicos de uma unidade de monossacarídeo com absorções em δ_C 102,0 (CH-1''), 74,7 (CH-2''), 78,4 (CH-3''), 71,1 (CH-4''), 78,4 (CH-5'') e 62,4 (CH₂-6''), típico de uma unidade β -D-glicopiranosila. O acoplamento heteronuclear a longa distância de H-1'' (δ_H 5,02) com C-2' (δ_C 162,78, ³J_{CH}) revelado pelo espectro de HMBC permitiu definir a localização desta unidade glicosídica no anel A (C-2'). A análise do espectro de RMN ¹H da mistura permitiu reconhecer os sinais correspondentes ao componente **5** (Tabela 1) em δ_H 6,70 (d, *J*=1,7 Hz, H-2), 6,69 (d, *J*=8,0 Hz, H-5) e 6,56 (dd, *J*=8,0; 1,7 Hz, H-6), indicando a presença de um grupo fenila trissubstituído, estando dois destes hidrogênios acoplados em *orto*; já os sinais dos átomos de hidrogênio deste grupo arila em **6** apareceram em δ_H 7,06 (d, *J*=8,3 Hz, H-2/H-6) e δ_H 6,67 (d, *J*=8,3 Hz, H-3/H-5), compatíveis com um sistema aromático *para*-dissubstituído (típico sistema AA'BB') na molécula. Estes dados, juntamente com os picos dos íons moleculares em *m/z* 451,1270 ([M - H]⁻, **5**, calc.: 451,1240) e *m/z* 435,1314 ([M - H]⁻, **6**, calc.: 435,1291) revelados pelo espectro de massas de alta resolução (modo negativo) permitiram deduzir a fórmula molecular C₂₁H₂₄O₁₁ e C₂₁H₂₄O₁₀ para **5** e **6**, respectivamente. Assim, todos estes dados e os resultados adicionais fornecidos pelos espectros de RMN ¹³C (¹H) e DEPT-135° e pelas experiências 2D (¹H-¹H COSY, HSQC e HMBC), resumidos na Tabela 1, foram usados para deduzir as estruturas dos componentes da mistura como 2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona (**5**) e 2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona (**6**). Os dados da Tabela 1 permitiram também estabelecer a correlação inequívoca dos deslocamentos dos átomos de hidrogênio e carbono das duas di-hidrochalconas (**5** e **6**).

O flavonoide **5** já foi descrito na espécie *Malus*¹² e o flavonoide **6** nas espécies *Symplocos lancifolia*,¹⁴ *S. spicata*¹⁴ e *Lithophragma affine*.¹⁴ Dentre as substâncias naturais isoladas, os flavonoides (**2** - **6**) estão sendo registradas pela primeira vez na espécie *L. sidoides*.

A mistura contendo **5** e **6** foi submetida à reação de acetilação usando anidrido acético/piridina, obtendo-se os derivados acetilados **5a** e **6a**, respectivamente. Os derivados acetilados **5a/6a** comprovaram a estrutura proposta com *m/z* 811,1991 ([M + Na]⁺, calc.: 811,2061) para **5a** e *m/z* 753,1958 ([M + Na]⁺, calc.: 753,2007) para **6a**. Dados adicionais destes acetilados obtidos por RMN ¹H e ¹³C (Tabela 1) colaboraram para a completa caracterização das estruturas como sendo: 2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona (**5a**) e 2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona (**6a**).

O extrato etanólico das folhas e as substâncias isoladas foram submetidos ao teste de atividade antioxidante utilizando o método do sequestro do radical DPPH.⁷ Através dessa metodologia foi observada atividade significativa na concentração de 1 mg/mL para o extrato etanólico (LSFE), para a mistura de flavonoides **3/4** e para a mistura de di-hidrochalconas **5/6** com inibição de 99,9% de radicais. A Tabela 2 mostra os resultados obtidos no ensaio antioxidante, juntamente com os valores de IC₅₀. Os dados mostram que dentre as substâncias testadas, a que se revelou mais ativa foi a mistura de di-hidrochalconas com IC₅₀ de 2,50 x 10⁻³ mg/mL, resultado superior ao padrão Trolox. A alta atividade antioxidante

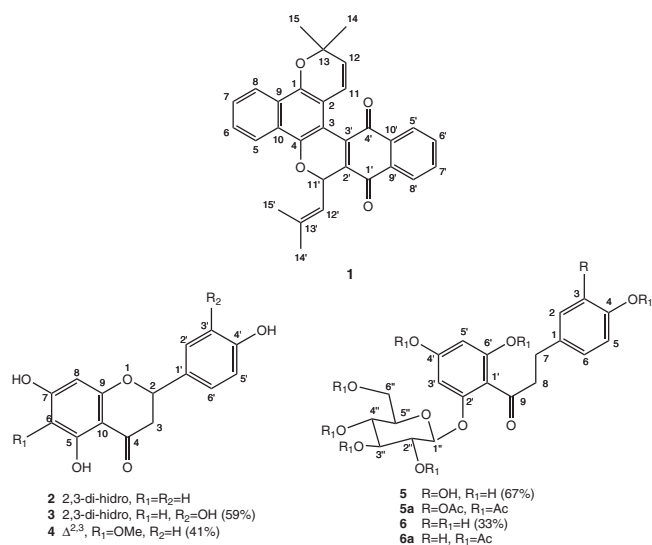


Figura 1. Substâncias isoladas de *Lippia sidoides* e derivadas acetilados **5a** e **6a**

Tabela 1. Dados de RMN ¹H e ¹³C de **5/6** (CD₃OD) e **5a/6a** (CDCl₃), e de correlação heteronuclear HMQC e HMBC. Deslocamentos químicos em δ_C e δ_H (ppm) e constantes de acoplamento (*J*) em Hz*

C	HSQC 5		HSQC 6		HMBC 5/6		HSQC 5a		HSQC 6a	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
1	134,87		134,03		2H-7	H-5; 3H-8	140,47		142,58	
2	116,67	6,70 (d, 1,7)	130,38	7,06 (d, 8,3)		H-6; 2H-7	123,32	7,05 (d, 2,0)	129,65	7,27 (d, 8,5)
3	146,09		116,12	6,67 (d, 8,3)	H-2	H-5	142,03		121,61	6,96 (d, 8,5)
4	144,36		156,00		H-5	H-6	140,02		149,13	
5	116,82	6,69 (d, 8,0)	116,12	6,67 (d, 8,3)			123,81	7,06 (d, 8,5)	121,61	6,96 (d, 8,5)
6	120,78	6,56 (dd, 8,0; 1,7)	130,38	7,06 (d, 8,3)		H-2; 2H-7	126,86	7,11 (dd, 8,5; 2,0)	129,65	7,27 (d, 8,5)
7	31,05	2,82 (t, 7,8)	31,05	2,82 (t, 7,8)	2H-8		28,74	2,90 (m)	28,84	2,90 (m)
8	46,85	3,47 (t, 7,8)	46,85	3,47 (t, 7,8)	2H-7		45,63	3,13 (m) 2,98 (m)	45,93	3,13 (m) 2,98 (m)
9	206,79		206,79		2H-8	3H-7	200,26		200,46	
1'	106,95		106,95			H-3'; H-5'	123,19			
2'	162,78		162,78			H-1''	154,48			
3'	95,48	6,19 (d, 2,1)	95,48	6,19 (d, 2,1)		H-5'	107,09	6,68 (d, 1,6)	107,09	6,68 (d, 1,6)
4'	164,64		164,64		H-3'; H-5'		152,11			
5'	97,99	5,96 (d, 2,1)	97,99	5,96 (d, 2,1)		H-3'	111,78	6,77 (d, 1,6)	111,78	6,77 (d, 1,6)
6'	167,59		167,59		H-5'		148,06			
1''	102,02	5,02 (d, 7,1)	102,02	5,02 (d, 7,1)	H-2''		98,53	5,01 (d, 7,0)		5,01 (d, 7,0)
2''	74,67	3,50 (m)	74,67	3,50 (m)	H-3''		70,62	5,25	71,06	5,25
3''	78,38	3,45 (m)	78,38	3,45 (m)	H-2''; H-4''		72,54	5,27	72,56	5,27
4''	71,09	3,40 (m)	71,09	3,40 (m)	H-3''; H-5''		68,37	5,12 (m)		5,12 (m)
5''	78,43	3,35 (m)	78,43	3,35 (m)	H-5''		72,70	3,88 (m)	72,71	3,88 (m)
6''	62,43	3,91 (d, 12,2) 3,73 (dd, 12,2; 5,3)	62,43	3,91 (d, 12,2) 3,73 (dd, 12,2; 5,3)			62,08	4,23 (dd, 12,0; 5,5) 4,15 (dt, 12,0)	60,46	4,23 (dd, 12,0; 5,5) 4,15 (dt, 12,0)
Ac							21,19-20,51	2,25-1,96	21,19-20,51	2,25-1,96

* O número de átomos de hidrogênio foi deduzido com base na análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C-¹H e RMN ¹³C-DEPT.

Tabela 2. Resultado do teste da atividade antioxidante com extrato e substâncias usando o método do sequestro de radical DPPH

Substâncias	Concentração (mg/mL)		IC ₅₀ (mg/mL)
	1,0	0,1	
Trolox	99,9%	99,8%	2,6 X 10 ⁻³
Vit-C	99,8%	92,8%	4,3 X 10 ⁻²
LSFE	99,9%	99,5%	1,63 X 10 ⁻²
1	NA	NA	NA
2	64,7%	25,2%	0,72
3/4	99,9%	99,6%	1,62 X 10 ⁻²
5/6	99,9%	99,8%	2,50 x 10 ⁻³

LSFE – Extrato EtOH das folhas; **1** – tecomaquinona; **2** – naringenina; **3/4** – mistura de flavonoides; **5/6** – mistura de di-hidrochalconas; NA – não apresentou atividade.

encontrada para o extrato de *L. sidoides* pode ser atribuída à presença de substâncias flavonoidicas, o que justifica em parte o uso desta espécie na medicina popular.

CONCLUSÃO

Estudo fitoquímico da espécie *Lippia sidoides* cultivada no Horto de Plantas Mediciniais-UFC resultou no isolamento e identificação de 6 compostos, dos quais 3 são inéditos na espécie [o

flavonoide naringenina (**2**), a mistura de flavonoides 3',4',5,7-tetra-hidroxi-flavanona (**3**) e 4',5,7-tri-hidroxi-6-metoxiflavona (**4**) e a mistura de di-hidrochalconas 2'-O-β-D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona (**5**) e 2'-O-β-D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona (**6**)] e os outros já foram reportados [a naftoquinona tecomaquinona (**1**), o monoterpene carvacrol e o esteroide β-sitosterol].

O estudo apresentou alguns constituintes químicos diferentes daqueles já registrados. Este fato pode estar relacionado a diferentes locais de coleta, um no habitat natural e outro de planta cultivada. Extratos, flavonoides e outros constituintes apresentaram significativa atividade antioxidante, semelhante a padrões, no ensaio de inibição de radicais usando DPPH. Este representa o primeiro registro desta atividade em substâncias isoladas desta espécie.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.s bq.org.br>, em forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Às instituições de fomento à pesquisa CNPq, CAPES, PRONEX e FUNCAP pelos auxílios financeiros, ao CENAUREMN-UFC pelos espectros RMN, Programa de Pós-graduação em Química - UFC e FA-PERJ pela Bolsa de Pesquisador Visitante Emérito concedida a R. B. F.

REFERÊNCIAS

1. Pascual, M. E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sánchez Mata, D.; Villar, A.; *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *76*, 201.
2. Costa, S. M. O.; Lemos, T. L. G.; Pessoa, O. D. L.; Assunção, J. C. C.; Braz-Filho, R.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2002**, *12*, 66.
3. Costa, A. S.; Arrigoni-Blank, M. F.; Blank, A. F.; Mendonça, A. B.; Amancio, V. F.; Ledo, A. S.; *Hortic. Bras.* **2007**, *25*, 68; Lemos, T. L. G.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Craveiro, A. A.; Clark, A. M.; McChesney, J. D.; *Phytother. Res.* **1990**, *4*, 82; Fontenelle, R. O. S.; Morais, S. M.; Brito, E. H. S.; Kerntopf, M. R.; Brilhante, R. S. N.; Cordeiro, R. A.; Tome, A. R.; Queiroz, M. G. R.; Nascimento, N. R. E.; Sidrim, J. J. C.; Rocha, M. E. G.; *J. Antimicrob. Chemother.* **2007**, *59*, 934; Monteiro, M. V. B.; Leite, A. K. R. D. M.; Bertini, L. M.; Morais, S. M.; Nunes-Pinheiro, D. C. S.; *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *111*, 378; Carvalho, A. F. U.; Melo, V. M. M.; Craveiro, A. A.; Machado, M. I. L.; Bantim, M. B.; Rabelo, E. F.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2003**, *98*, 569.
4. Matos, F. J. A.; Sousa, M. P.; Matos, M. E. O.; Machado, M. I. L.; Craveiro, A. A.; *Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras*, 2ª ed., Edições UFC: Fortaleza, 2004.
5. Santos, A. K. L.; Assunção, J. C. C.; Fonseca, A. M.; Pessoa, O. D. L.; Monte, F. J. Q.; Lemos, T. L. G.; Braz-Filho, R.; *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 582; Lemos, T. L. G.; Costa, S. M. O.; Pessoa, O. D. L.; Braz-Filho, R.; *Magn. Reson. Chem.* **1999**, *37*, 908; Costa, S. M. O.; Lemos, T. L. G.; Pessoa, O. D. L.; Pessoa, C.; Braz-Filho, R.; *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 792; Lemos, T. L. G.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Craveiro, A. A.; Clark, A. M.; McChesney, J. D.; *Phytother. Res.* **1990**, *4*, 82.
6. <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>, acessada em Setembro 2010.
7. Hegazi, A. G.; Hady, F. K. A.; *Z. Naturforsch. C: J. Biosci.* **2002**, *57*, 395.
8. Macari, P. T. A.; Emerenciano, V. P.; Ferreira, Z. M. G. S.; *Quim. Nova* **1990**, *13*, 260.
9. Macambira, L. M. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 1985.
10. Niwa, M.; Otsuji, S.; Tatematsu, H.; Liu, G. Q.; Chen, X. F.; Hirata, Y.; *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 3249.
11. Agrawal, P. K.; Thakur, R. S.; Bansal, M. C. Em *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Agrawal, P. K., ed.; Elsevier: Amsterdam, 1989.
12. Lu, Y.; Foo, L. Y.; *Food Chem.* **1997**, *59*, 187.
13. Bernonville, T. D.; Guyot, S.; Paulin, J.; Gaucher, M.; Loufrani, L.; Henrion, D.; Derbré, S.; Guilet, D.; Richomme, P.; Dat, J. F.; Brisset, M.; *Phytochemistry* **2010**, *71*, 443; Hilt, P.; Schieber, A.; Yildirim, C.; Arnold, G.; Klaiber, I.; Conrad, J.; Beifuss, U.; Carle, R.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2896.
14. Harborne, J. B.; *The Flavonoids: advances in research since 1980*, Chapman and Hall: London, 1988.

FLAVONOIDES E OUTRAS SUBSTÂNCIAS DE *Lippia sidoides* E SUAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTES

Macia Cleane S. de Almeida, Leonardo A. Alves, Luciana Gregório da S. Souza, Luciana L. Machado, Marcos C. de Matos, Maria Conceição F. de Oliveira e Telma L. G. Lemos*

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, 60021-970 Fortaleza - CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro / Universidade Estadual do Norte Fluminense / Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-603 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

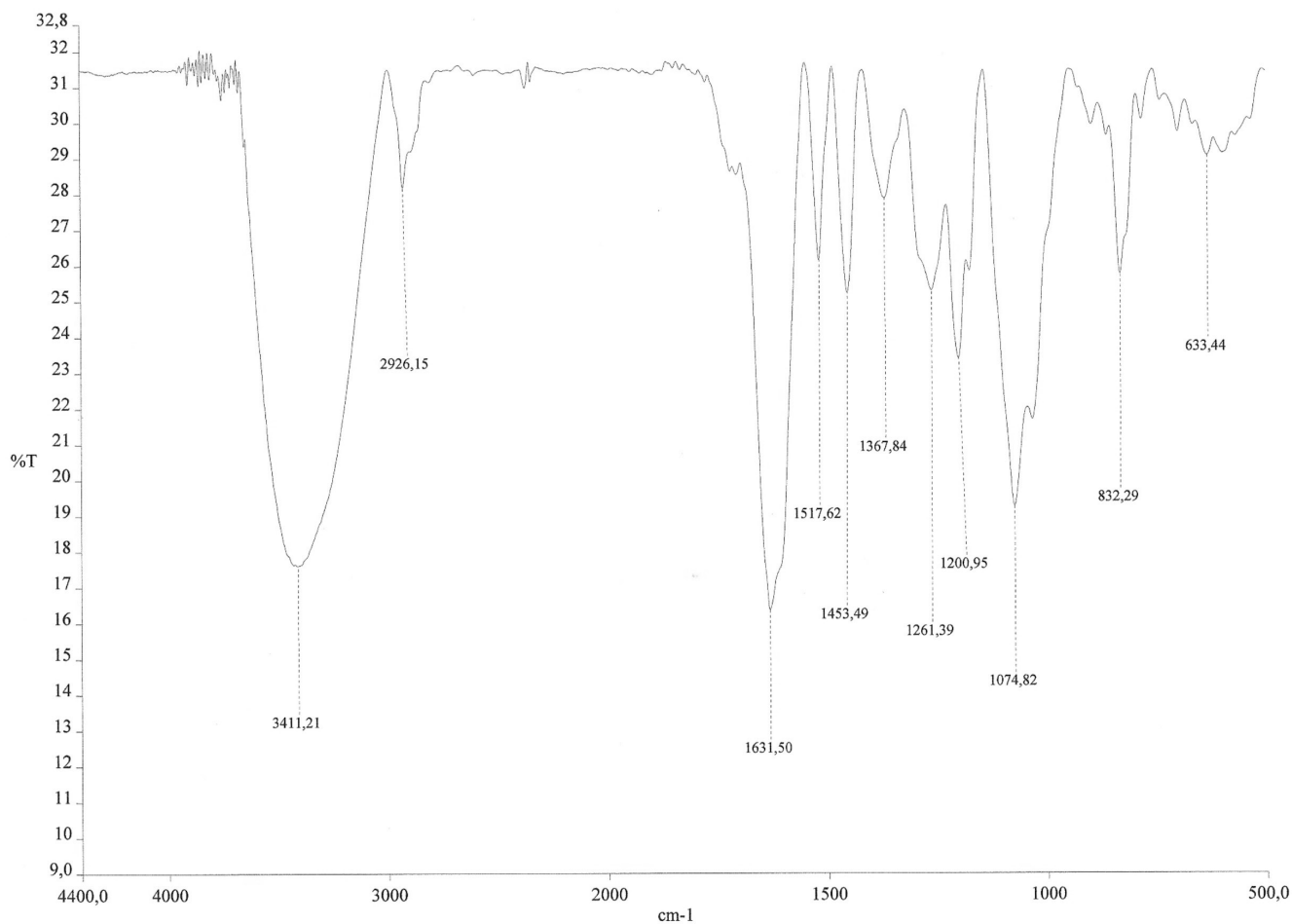


Figura 1S. IV (KBr) de 5 (2'-O-β-D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e 6 (2'-O-β-D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

*e-mail: tlemos@dqi.ufc.br

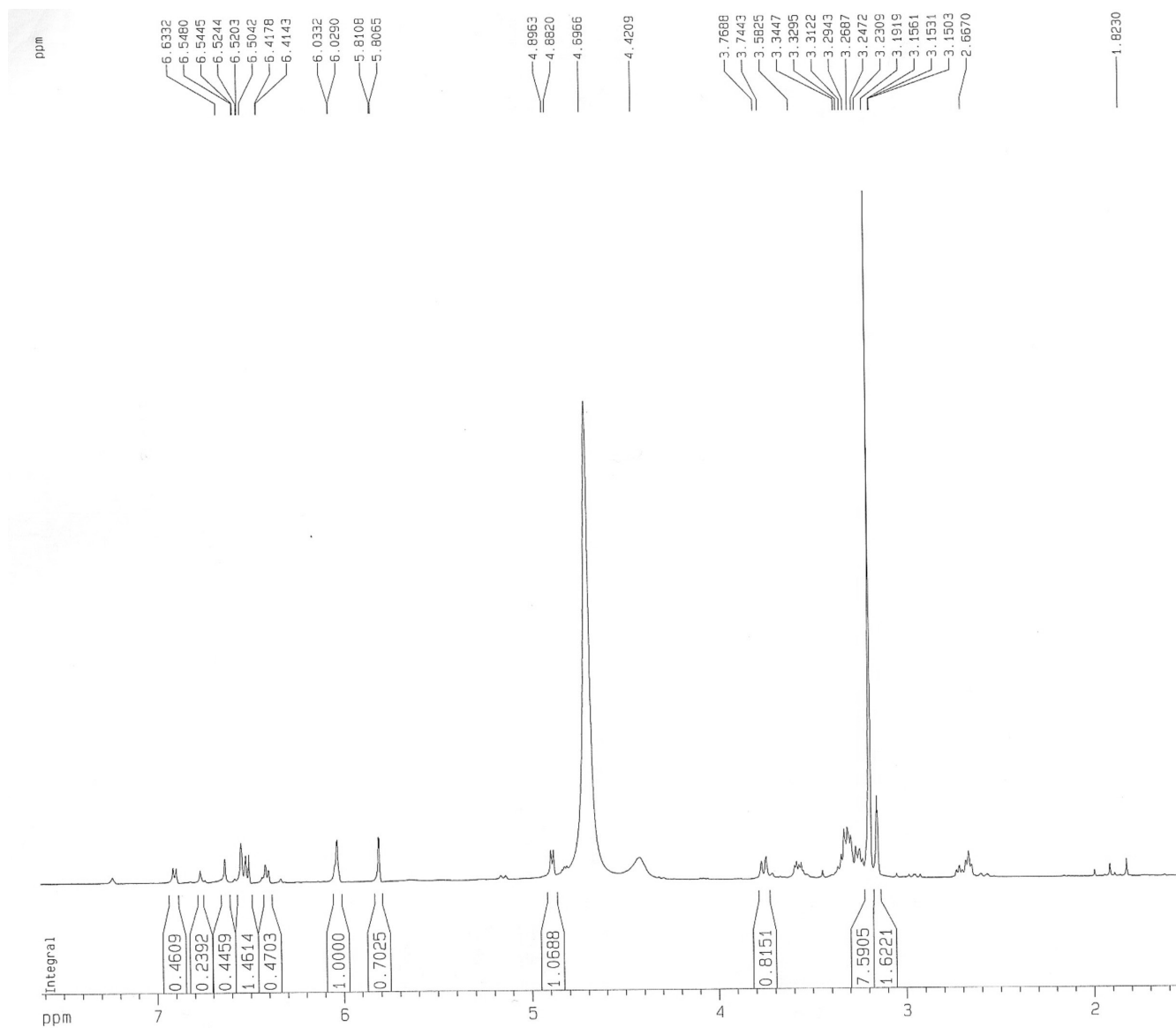


Figura 2S. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de **5** (2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e **6** (2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

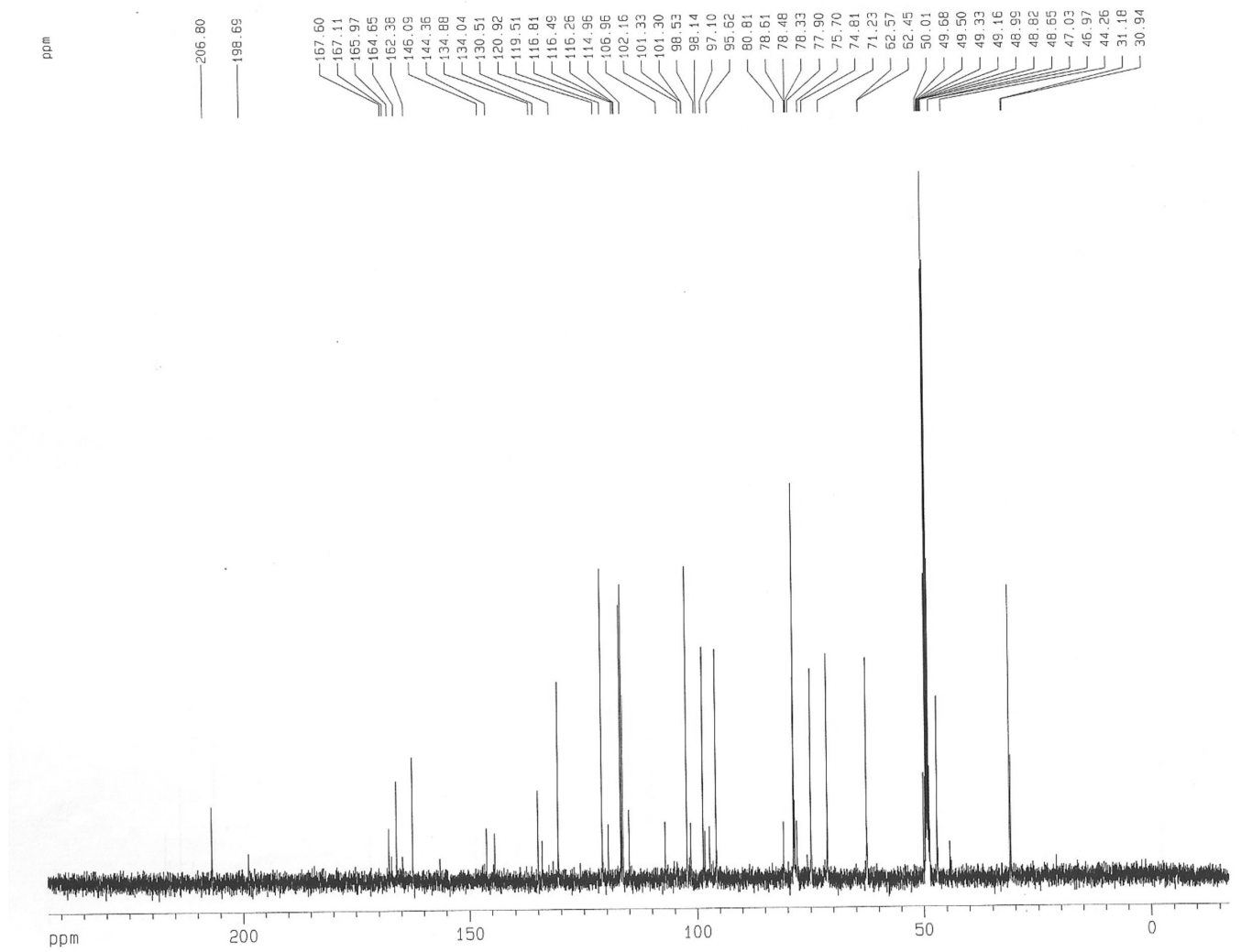


Figura 3S. Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CD_3OD) de **5** (2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e **6** (2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

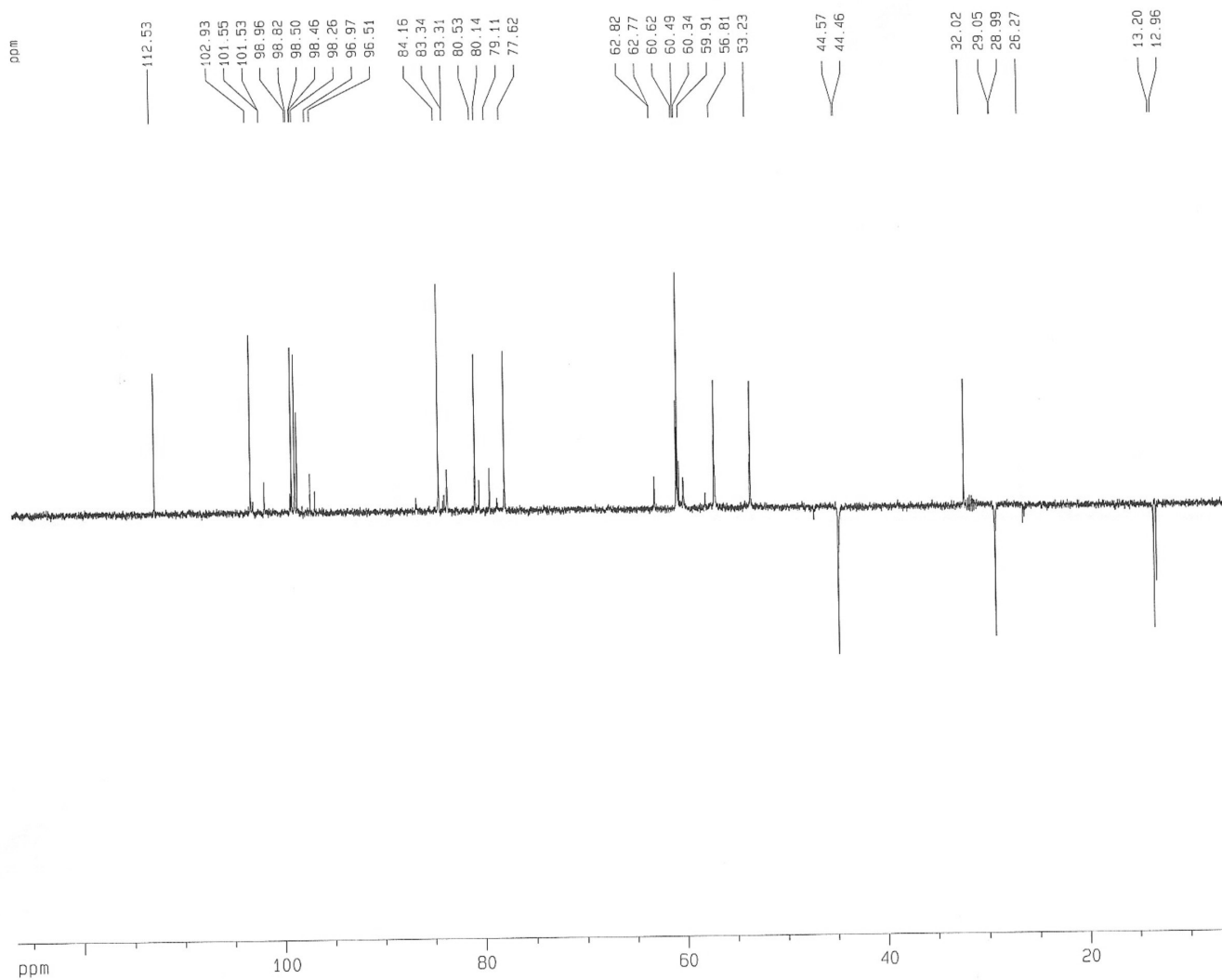


Figura 4S. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (125 MHz, CD_3OD) de **5** (2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e **6** (2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

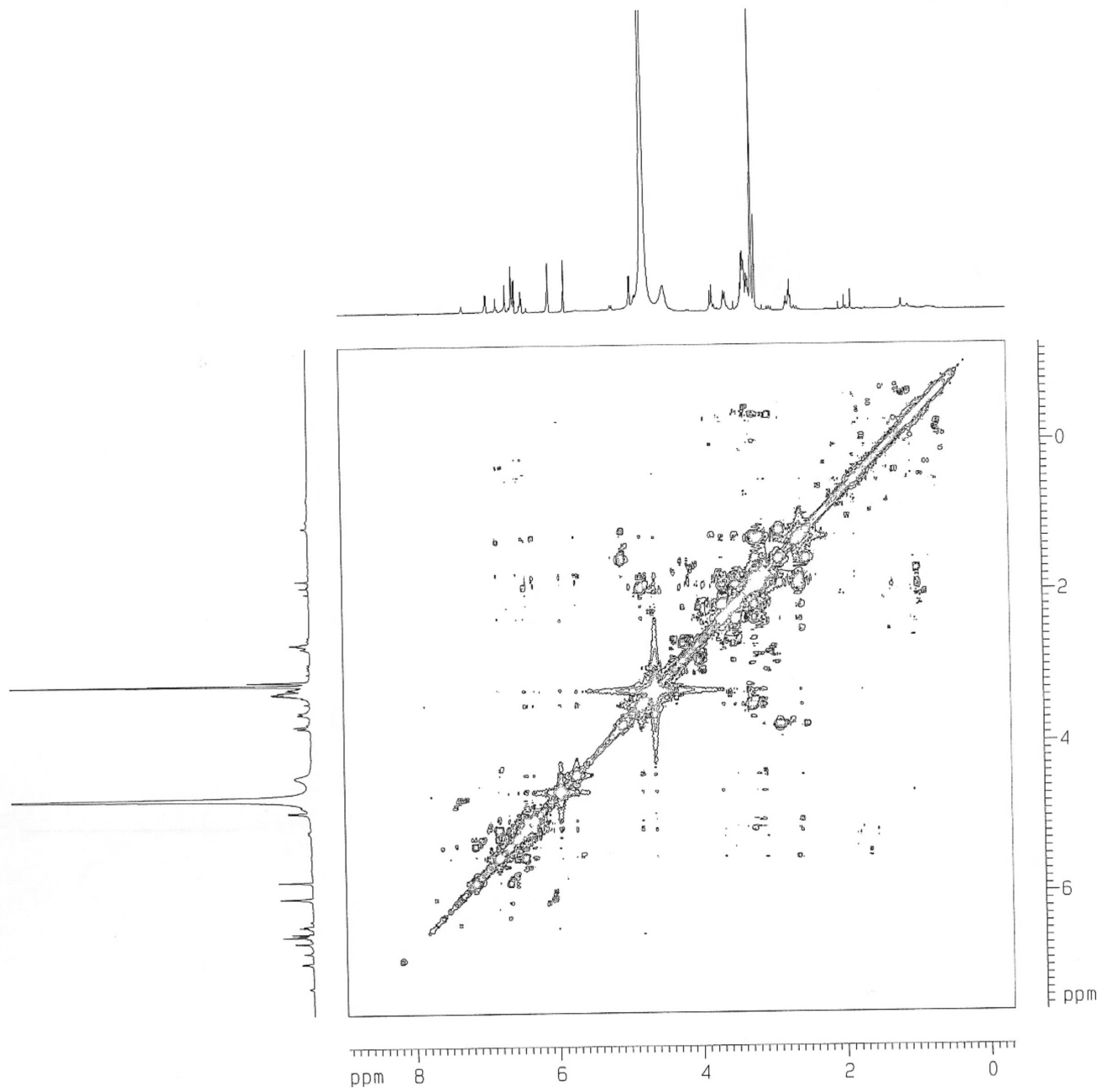


Figura 5S. Espectro de RMN COSY (500 MHz, CD₃OD) de **5** (2'-O-β-D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e **6** (2'-O-β-D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

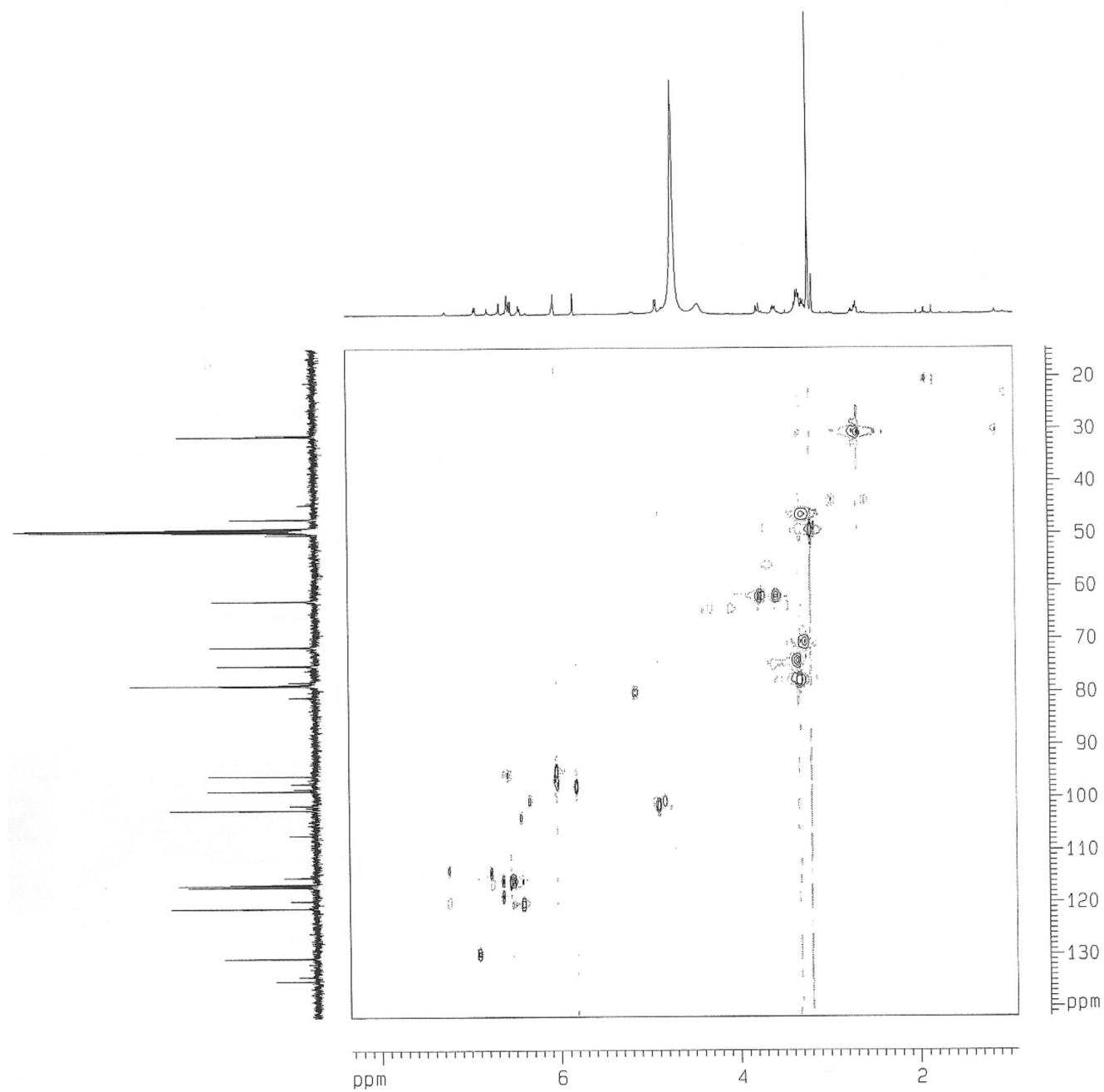


Figura 6S. Espectro de RMN HSQC (500 MHz, CD₃OD) de **5** (2'-O-β-D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e **6** (2'-O-β-D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

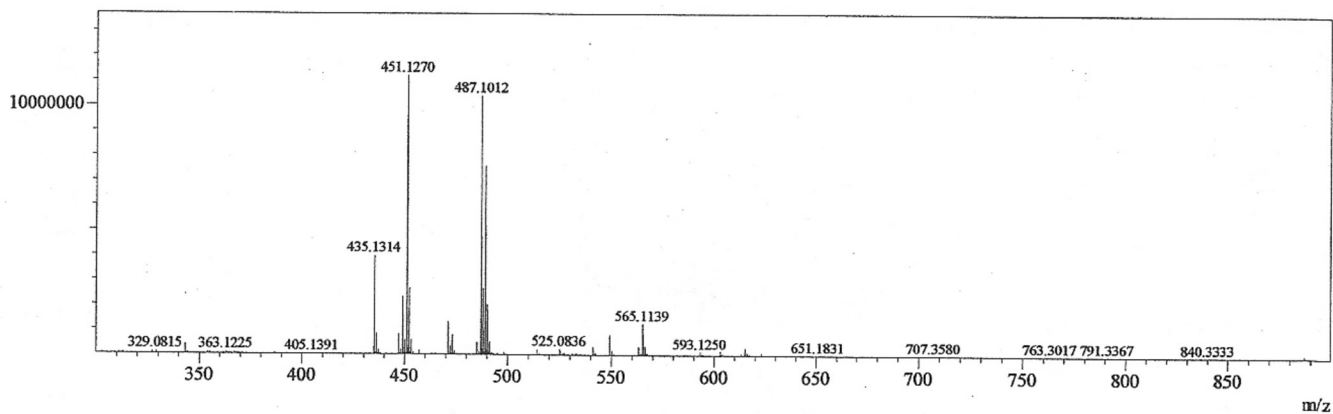


Figura 7S. Espectro de massas de alta resolução de 5 (2'-O- β -D-glicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-hidroxi-di-hidrochalcona) e 6 (2'-O- β -D-glicopiranosil-4,4',6'-tri-hidroxi-di-hidrochalcona)

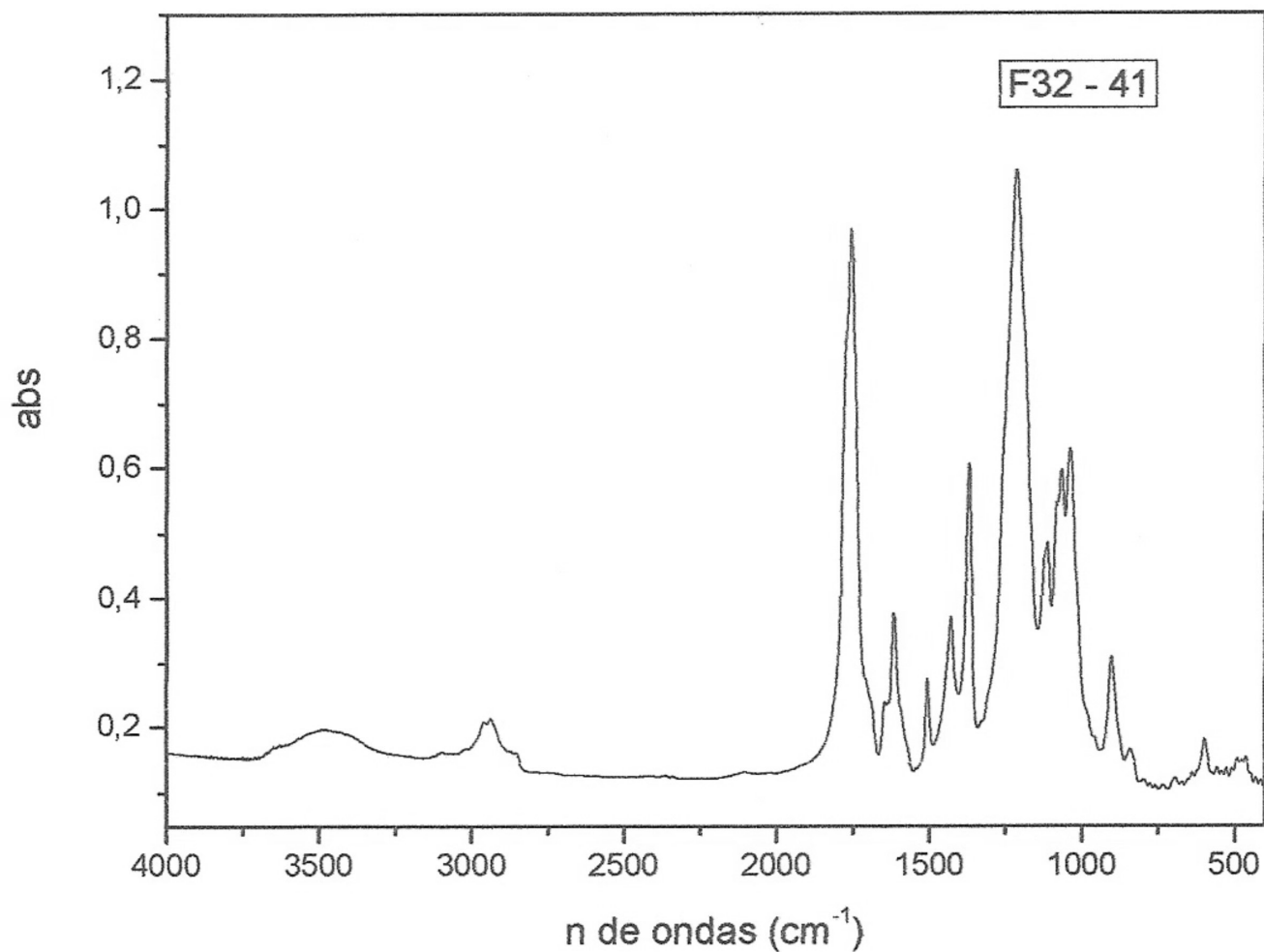


Figura 8S. IV (filme) de 5a (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e 6a (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

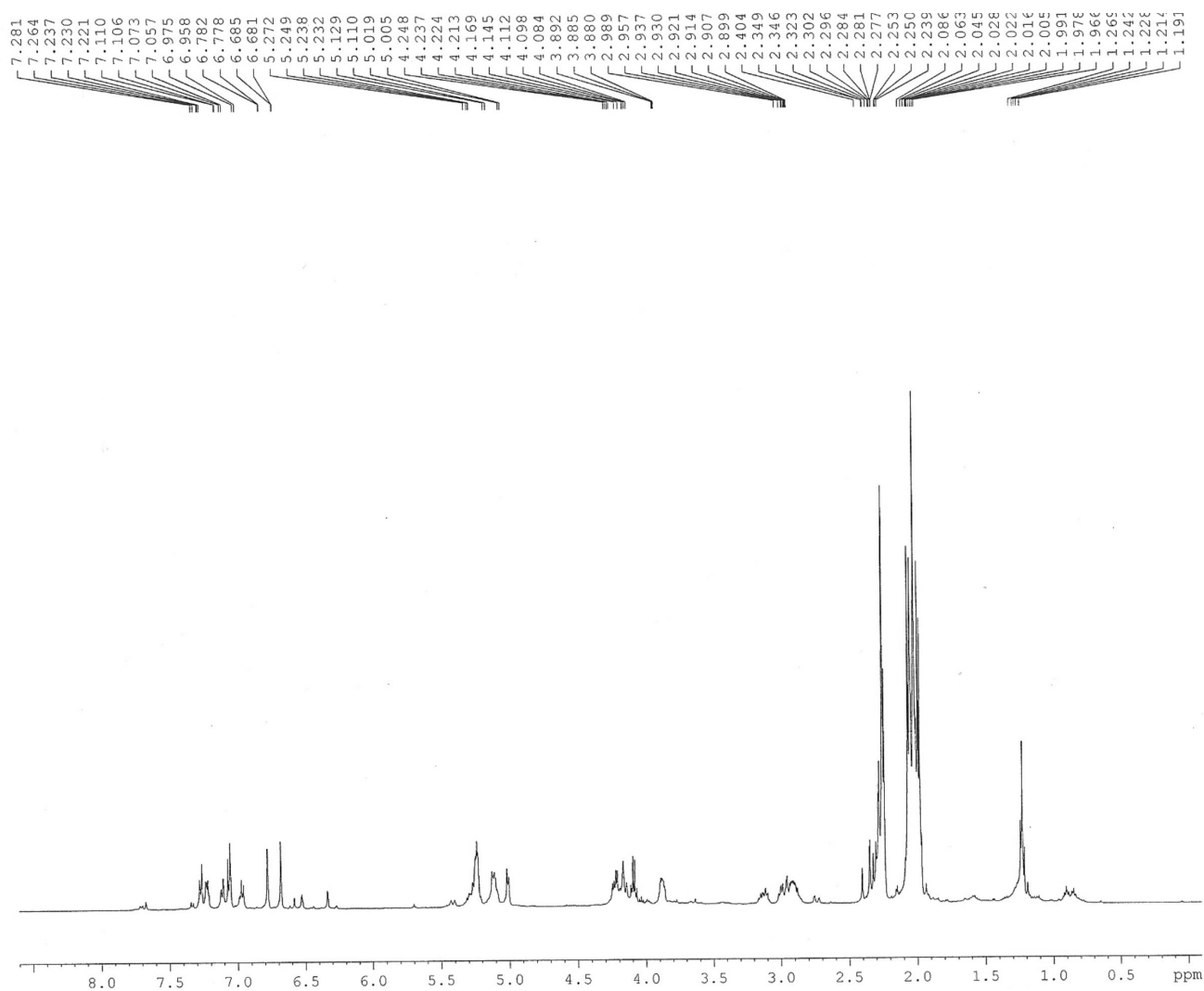


Figura 9S. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **5a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e **6a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

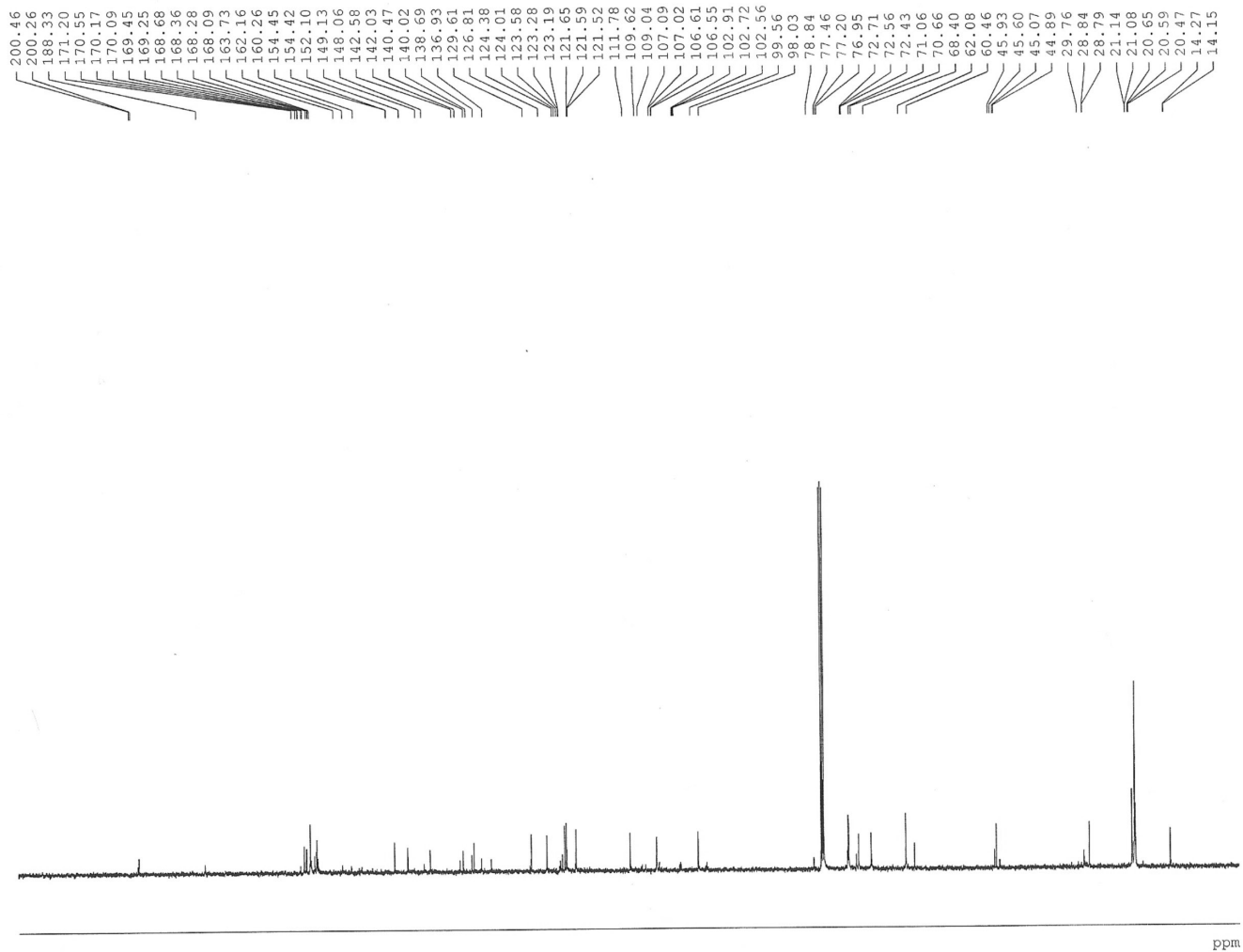


Figura 10S. Espectro de RMN¹³C-BB (125 MHz, CDCl₃) de **5a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e **6a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

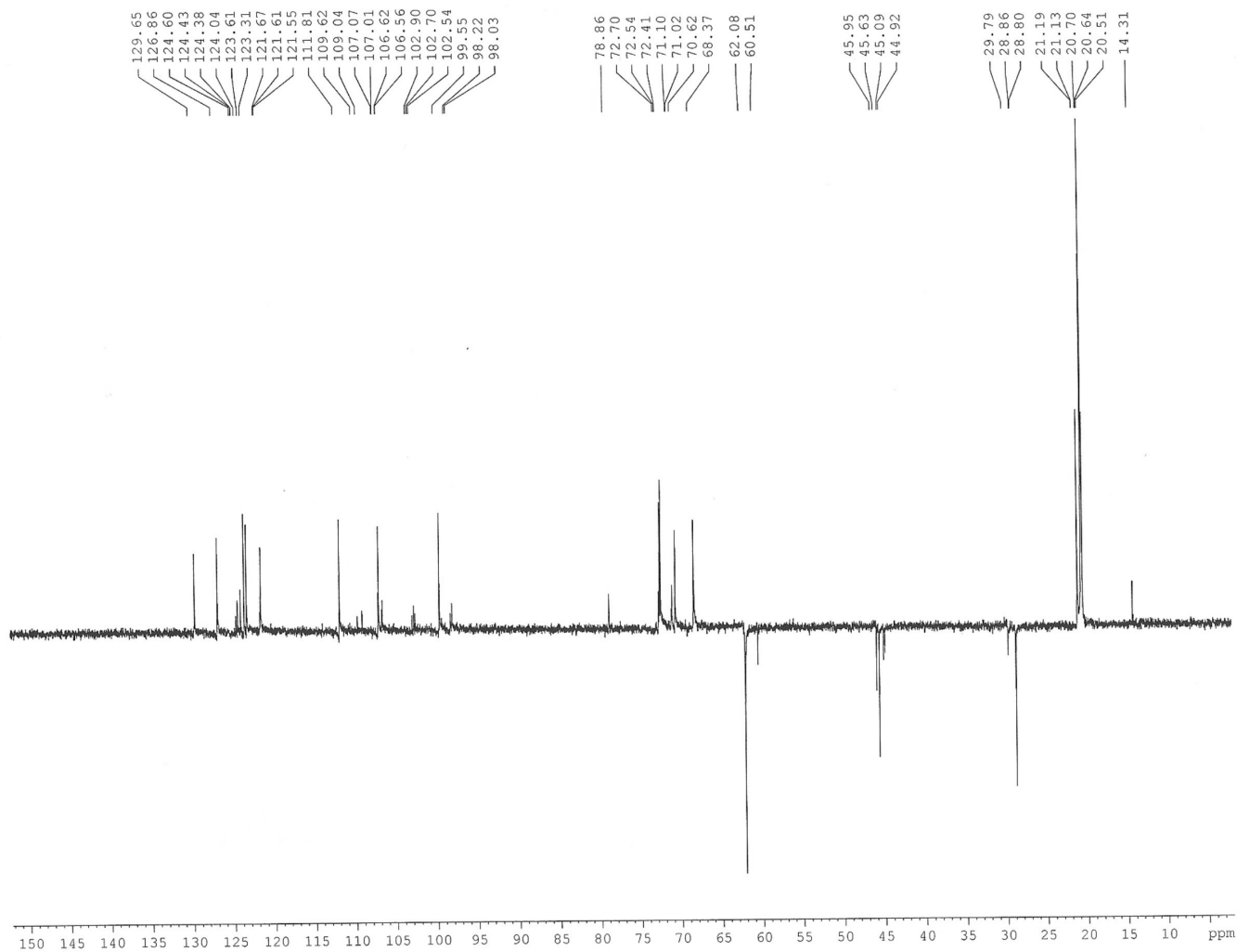


Figura 11S. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (125 MHz, CDCl_3) de **5a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidro-chalcona) e **6a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

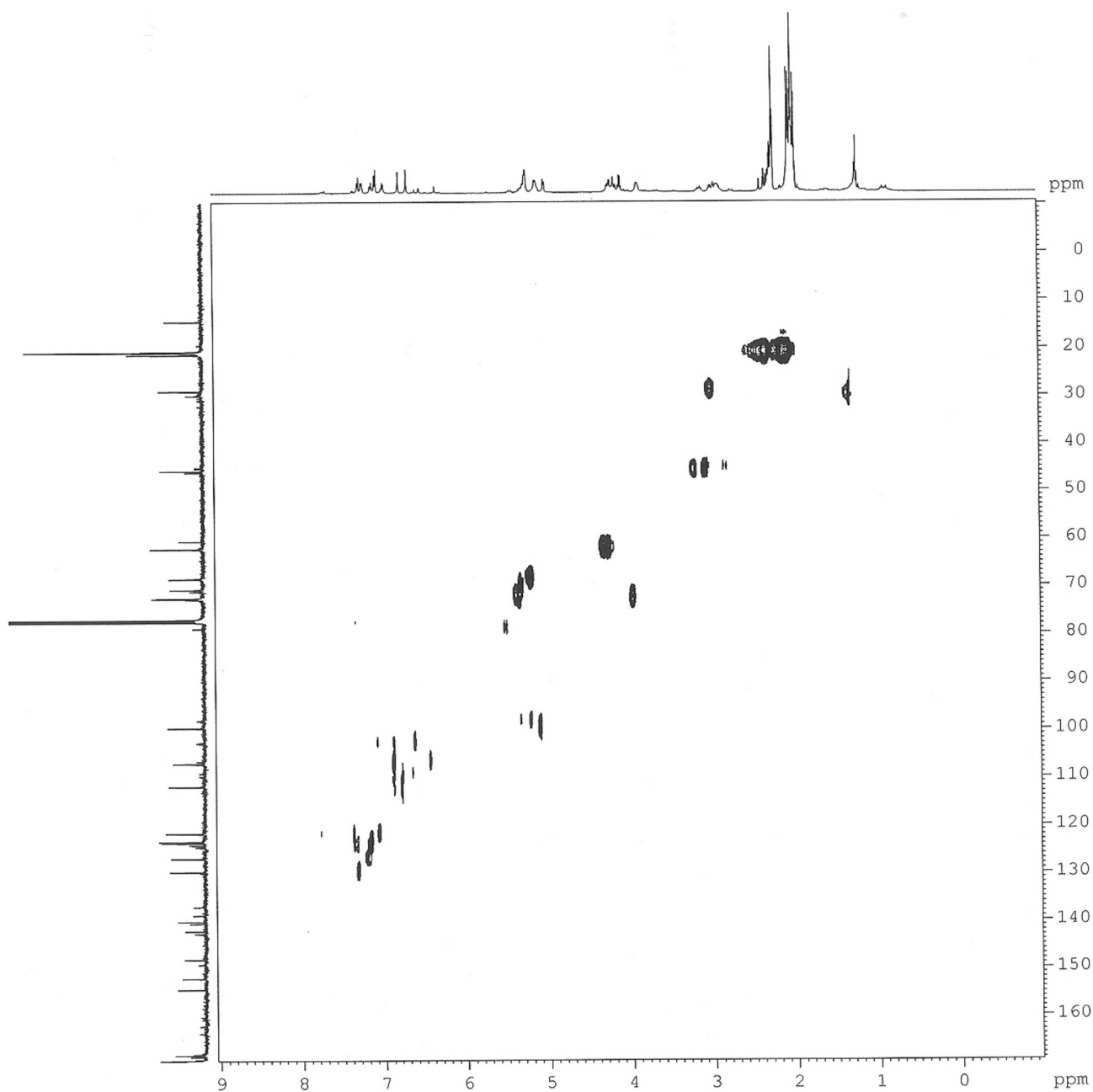


Figura 13S. Espectro de RMN HSQC (500 MHz, CDCl₃) de **5a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e **6a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

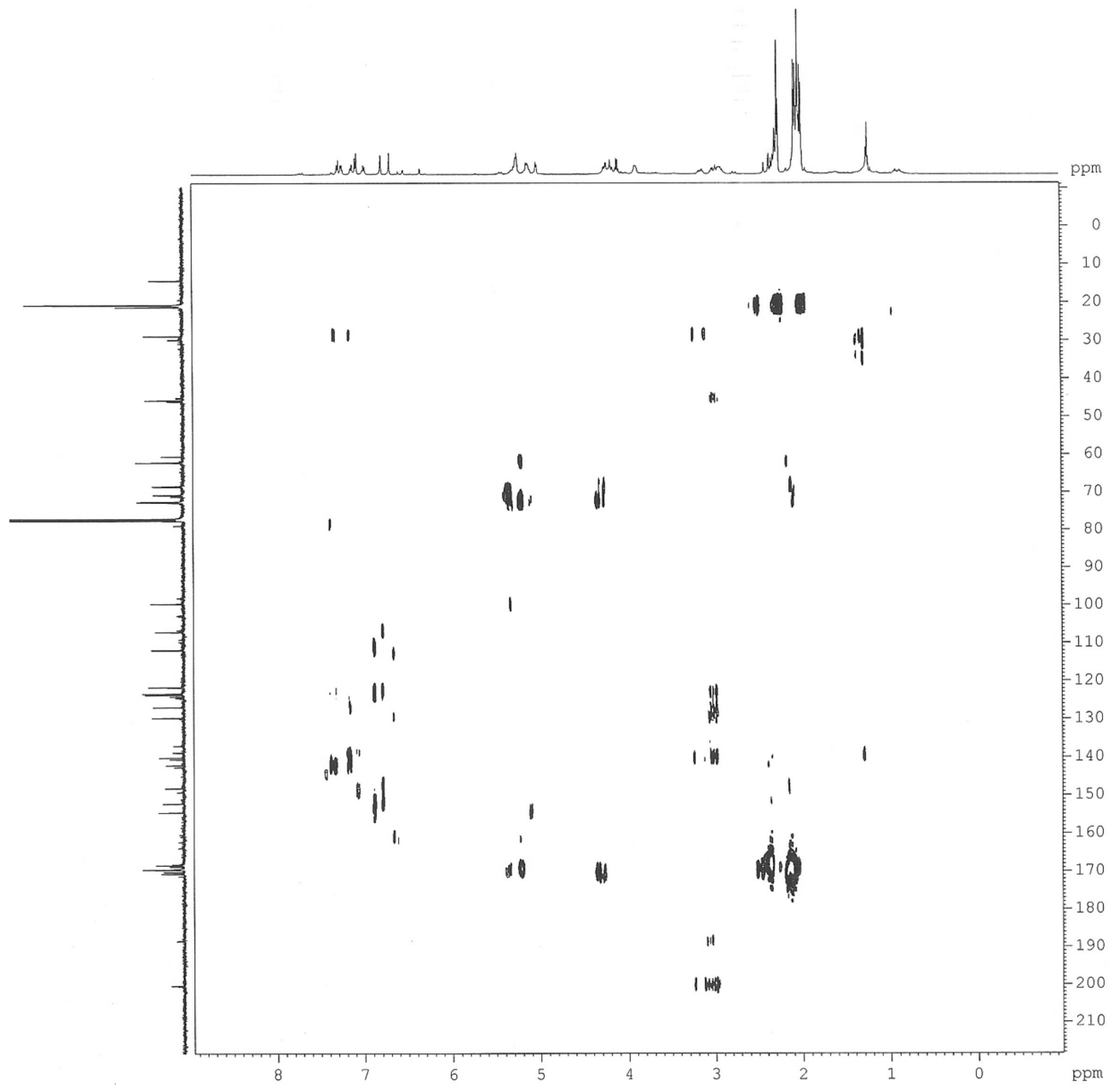


Figura 14S. Espectro de RMN HMBC (500 MHz, CDCl₃) de **5a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e **6a** (2'-O-β-D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)

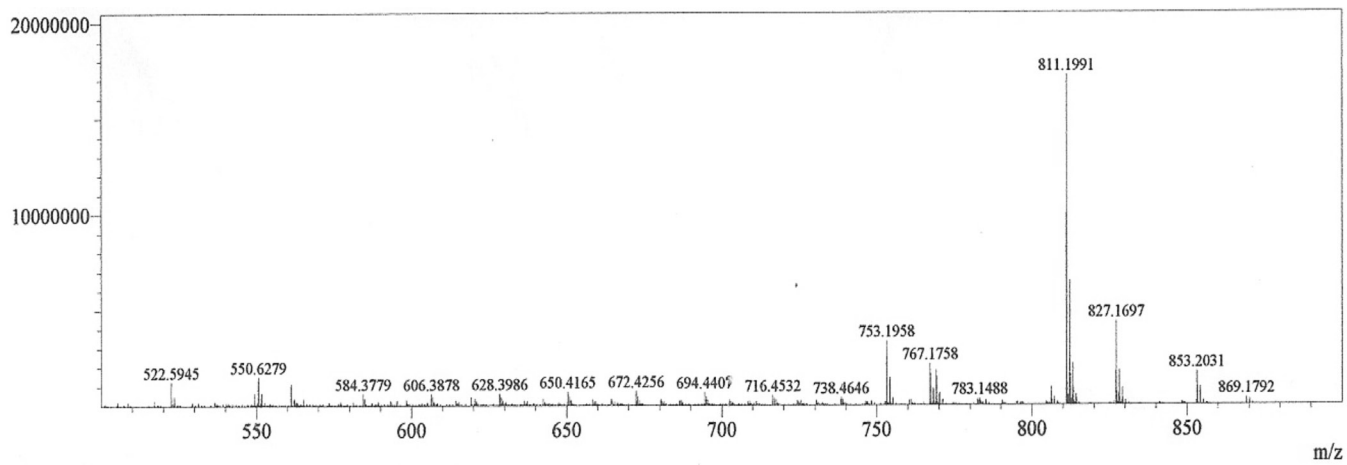


Figura 15S. Espectro de massas de alta resolução de **5a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-3,4,4',6'-tetra-O-acetil-di-hidrochalcona) e **6a** (2'-O- β -D-2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetilglicopiranosil-4,4',6'-tri-O-acetil-di-hidrochalcona)