

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE *Riedeliella graciliflora* Harms (LEGUMINOSAE)

Mayker Lazaro Dantas Miranda, Alex Fonseca Souza, Edilene Delphino Rodrigues, Fernanda Rodrigues Garcez e Walmir Silva Garcez\*

Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CP 549, 79070-900 Campo Grande – MS, Brasil

Alfredo Abot

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, 79200-000 Aquidauana – MS, Brasil

Recebido em 29/6/11; aceito em 28/2/12; publicado na web em 15/6/12

CHEMICAL CONSTITUENTS OF LEAVES FROM *Riedeliella graciliflora* HARMS (LEGUMINOSAE). A new salicylic acid derivative, pentacosanyl salicylate, was isolated from the leaves of the plant toxic to cattle, *Riedeliella graciliflora*, in addition to a digalactosyldiacylglycerol (DGDG), 1,2-di-*O*- $\alpha$ -linolenoyl-3-*O*- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopyranosyl-glycerol, kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, quercetin-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, rutin, (+)-catechin and the dimer (+)-catechin-(4 $\beta$ -8)-catechin, glutinol, squalene,  $\beta$ -sitosterol, stigmaterol, phytol,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol and ficaprenol-12. Their structures were determined using spectral techniques (MS, IR, and NMR-1D and 2D) and based on literature data.

Keywords: *Riedeliella graciliflora*; alkyl salicylate; toxic plant.

## INTRODUÇÃO

A intoxicação de ruminantes por plantas tóxicas causa a morte de aproximadamente 1 milhão de animais anualmente no Brasil.<sup>1-3</sup> Entre estas plantas tóxicas encontra-se *Riedeliella graciliflora* Harms Leguminosae, conhecida como falsa-ciganinha, a qual possui porte arbustivo e com ocorrência em cerrados, campos e matas ciliares da região sudeste da América do Sul.<sup>4</sup> A intoxicação experimental de gado e animais de laboratório por folhas desta planta resultou em danos histológicos severos em diversos órgãos.<sup>5</sup> Outros experimentos demonstraram que 10 g de folhas por kg de peso de animal são suficientes para causar edema e hemorragia no gado.<sup>6</sup>

Uma investigação preliminar da composição química desta espécie revelou a presença de proantocianidinas na fração tóxica,<sup>7</sup> sem, contudo, terem sido efetuados o isolamento e a caracterização das mesmas.

O impacto econômico resultante das intoxicações de ruminantes por plantas tóxicas confere relevância ao estudo destas espécies, principalmente no intuito de se conhecer os princípios ativos e, assim, possibilitar a racionalização da terapia apropriada.

Dando continuidade à nossa linha de pesquisa que visa conhecer a composição química de plantas tóxicas para o gado ocorrentes em Mato Grosso do Sul,<sup>8</sup> o presente trabalho refere-se ao estudo químico das folhas de *R. graciliflora*.

## PARTE EXPERIMENTAL

## Instrumentação e procedimentos gerais

Foram utilizadas placas de gel de sílica das marcas Whatman e Merck, com indicador de fluorescência UV<sub>254</sub>, empregando-se como revelador solução saturada de sulfato de cério IV em ácido sulfúrico 36%. As separações cromatográficas em coluna foram realizadas utilizando-se gel de sílica 70-230 e 230-400 mesh, marca Acros Organics, e Sephadex LH-20, Sigma-Aldrich. Os experimentos de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (uni- e bidimensionais) foram obtidos em espectrômetro Bruker

DPX-300 (300/75 MHz), utilizando-se CDCl<sub>3</sub> e CD<sub>3</sub>OD como solventes e o sinal do CHCl<sub>3</sub> ou do hidrogênio residual do CHD<sub>2</sub>OD como referência. Os espectros de IV foram registrados em espectrômetro Bomem-Hartmann & Braun FT, tendo sido as amostras preparadas sob a forma de pastilha de KBr. As medidas de rotação óptica foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer 341 e os espectros de massas obtidos em espectrômetro GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu.

## Material vegetal

As folhas de *R. graciliflora* foram coletadas em março de 2009, no município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação botânica da espécie foi efetuada por A. R. Abot, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, sendo uma exsiccata depositada no Herbário CGMS, da UFMS, sob n° 5218.

## Extração e isolamento dos constituintes químicos

As folhas secas (11 kg) foram trituradas e submetidas à extração com etanol/água (7:3), à temperatura ambiente, por uma semana. A solução resultante após filtração foi concentrada sob pressão reduzida até consistência xaroposa, fornecendo o extrato hidroetanólico bruto. Este foi submetido a partições líquido-líquido entre metanol/água (9:1) e hexano, seguido por acetato de etila, dando origem a três resíduos após evaporação dos solventes: hexânico (50 g), acetato de etila (55 g) e hidrometanólico (156 g).

Parte do resíduo hexânico (25 g), após sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica (esquema de separação consta no material suplementar), utilizando-se misturas de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade como eluentes, conduziu ao isolamento do salicilato de pentacosanila (**1**, 7,2 mg), glutinol (**9**, 13 mg), esqualeno (**10**, 58 mg), estigmasterol (**11**, 20 mg),  $\beta$ -sitosterol (**12**, 30 mg), fitol (**13**, 14 mg), ficaprenol-12 (**14**, 14 mg),  $\alpha$ -tocopherol (**15**, 31 mg) e  $\beta$ -caroteno (**16**, 7 mg). (esquema do fracionamento consta no material suplementar). Especificamente, a substância **1** foi obtida a partir da fração 4 (Hex/AcOEt 8:2, 100 mg), proveniente do fracionamento em gel de sílica (70-230 mesh) do resíduo hexânico.

\*e-mail: walmir.garcez@ufms.br

Esta fração foi cromatografada em Sephadex LH-20, sendo coletadas 50 subfrações. As subfrações 12-30 (30 mg) foram reunidas e submetidas a um novo fracionamento em gel de sílica (200-400 mesh), resultando no isolamento da substância **1** (Hex/AcOEt 7:3).

Parte do resíduo acetato de etila (35 g) foi cromatografada em gel de sílica (70-230 mesh) utilizando-se misturas de clorofórmio, acetato de etila e metanol em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas 20 subfrações. As subfrações 7 (CHCl<sub>3</sub>/AcOEt 8:2, 70 mg), 13 (AcOEt/MeOH 8:2, 2 g), 15 (AcOEt/MeOH 7:3, 2 g) e 16 (AcOEt/MeOH 6:4, 2 g) foram fracionadas em Sephadex LH-20 (MeOH). Este processo resultou no isolamento de: kaempferol-3-*O*-β-D-glucopiranosídeo (**3**, 6 mg) da subfração 7, (+)-catequina (**7**, 20 mg) e (+)-catequina-(4β-8)-catequina (**8**, 10 mg) da subfração 13, quercetina-3-*O*-α-L-rhamnopiranosídeo (**5**, 18 mg), da subfração 15, kaempferol-3-*O*-α-L-rhamnopiranosídeo (**4**, 4 mg), rutina (**6**, 20 mg) e 1,2-di-*O*-α-linolenil-3-*O*-α-D-galactopiranosil-(1→6)-β-D-galactopiranosil-glicerol (**2**, 7 mg), da subfração 16.

Para a obtenção dos ésteres metílicos, 2 mg da substância **2** foram dissolvidos em 4 mL de solução 0,5 N de NaOH em metanol em um tubo de ensaio e, em seguida, a solução foi aquecida em banho-maria (30 °C) por 10 min. Após resfriamento, foram adicionados à mistura reacional 5 mL de solução ácida (1 g de cloreto de amônio, 30 mL de metanol e 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado) e 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio, sob agitação vigorosa. Os ésteres metílicos foram extraídos, em seguida, com 5 mL de hexano e analisados por CG/EM.

#### Salicilato de pentacosanila (**1**)

Sólido branco. p.f. 67-68 °C. IV (KBr)  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup>: 3200; 2910; 2830; 1650; 1450 e 1200. EM (70 eV)  $m/z$  (intensidade relativa): 488 (M<sup>+</sup>), 138 (100), 120 (34), 83 (9), 71 (12), 57 (20). RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C: Tabela 1.

**Tabela 1.** Dados de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) e <sup>13</sup>C (75 MHz) do salicilato de pentacosanila (**1**)

C/H	$\delta$ <sup>1</sup> H	$\delta$ <sup>13</sup> C
1	–	161,7
2	–	112,7
3	7,82 (1H, dd, J = 1,6 e 8,0 Hz)	129,9
4	6,86 (1H, ddd, J = 1,0; 7,1 e 8,0 Hz)	119,1
5	7,43 (1H, ddd, J = 1,6; 7,1 e 8,4 Hz)	135,6
6	6,96 (1H, dd, J = 1,0 e 8,4 Hz)	117,6
7	–	170,2
1'	4,32 (2H, m) <sup>a</sup>	65,5
2'	1,79 <sup>a</sup>	28,6
3'	1,43 <sup>a</sup>	25,9
4'	1,20-1,35 (m) <sup>a</sup>	29,4*
5'-21'	1,20-1,35 (m) <sup>a</sup>	29,5 a 29,9
22'	1,20-1,35 (m) <sup>a</sup>	29,2*
23'	1,25 (m) <sup>a</sup>	31,9
24'	1,28 (m) <sup>a</sup>	22,7
25'	0,86 (t; 6,5 Hz)	14,1
OH	10,83 (s)	–

<sup>a</sup>atribuídos de acordo com as correlações observadas no HMBC e/ou HSQC; \*podem estar trocados

#### 1,2-di-*O*-α-Linolenil-3-*O*-α-D-galactopiranosil-(1→6)-β-D-galactopiranosil-glicerol (**2**)

Óleo incolor,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 13,9^\circ$  (CH<sub>3</sub>OH; conc. 0,93). RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C: Tabela 2.

**Tabela 2.** Dados de RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz) e <sup>13</sup>C (75 MHz) do 1,2-di-*O*-α-linolenil-3-*O*-α-D-galactopiranosil-(1→6)-β-D-galactopiranosil-glicerol (**2**)

C	$\delta$ <sup>1</sup> H	$\delta$ <sup>13</sup> C
1	4,24; d; J = 6,9 Hz	64,0
2	5,20-5,35; m	62,8
3	4,24; d; J = 6,9 Hz	71,8
1'	4,87; d; J = 3,6 Hz	101,0
2'	3,40-3,55; m	72,8
3'	3,60-3,80; m	70,5
4'	3,60-3,70; m	71,4
5'	3,40-3,55; m	75,0
6'	3,90-3,95; m	69,0
1''	4,20; d; J = 6,8 Hz	105,6
2''	3,85-3,95; m	72,7
3''	3,75-3,85; m	70,3
4''	3,90-3,95; m	71,4
5''	3,75-3,85; m	74,9
6''	3,75-3,85; m	68,1
1'''	–	175,1/174,8
2'''	2,10; t; J = 7,2 Hz	35,2/35,0
3'''	1,60; m	28,2
4'''	1,29; m	30,8
5'''	1,29; m	30,5
6'''	1,29; m	30,3
7'''	2,32; td; J = 7,3 e 3,9 Hz	30,2
8'''	2,81; t; J = 5,8 Hz	26,7
9'''	5,30-5,45; m	129,2
10'''	5,30-5,45; m	128,2
11'''	2,81; t; J = 5,8 Hz	26,6
12'''	5,30-5,45; m	128,9
13'''	5,30-5,45; m	129,2
14'''	2,81; t; J = 5,8 Hz	26,4
15'''	5,30-5,45; m	131,1
16'''	5,30-5,45; m	132,7
17'''	2,02; ql; J = 7,4 Hz	23,7
18'''	0,98; t; J = 7,2 Hz	14,4 e 14,7

#### Kaempferol-3-*O*-β-D-glucopiranosídeo (**3**)

Sólido amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$ : 158,7 (C-2), 135,5 (C-3), 179,3 (C-4), 162,9 (C-5), 100,8 (C-6), 168,0 (C-7), 95,4 (C-8), 158,7 (C-9), 105,2 (C-10), 122,7 (C-1'), 132,3 (C-2' e 6'), 116,1 (C-3' e 5'), 161,6 (C-4'), 104,2 (C-1''), 73,0 (C-2''), 77,1 (C-3''), 69,9 (C-4''), 75,0 (C-5''), 61,9 (C-6'').

#### Kaempferol-3-*O*-α-L-rhamnopiranosídeo (**4**)

Sólido amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$ : 156,3 (C-2), 131,5 (C-3), 177,0 (C-4), 160,3 (C-5), 99,8 (C-6), 163,8 (C-7), 94,9 (C-8), 155,7 (C-9), 105,6 (C-10), 119,8 (C-1'), 131,6 (C-2' e 6'), 116,3 (C-3' e 5'), 158,8 (C-4'), 103,9 (C-1''), 71,9 (C-2''), 71,6 (C-3''), 72,7 (C-4''), 65,1 (C-5''), 17,7 (C-6'').

#### Quercetina-3-*O*-α-L-rhamnopiranosídeo (**5**)

Sólido amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$ : 159,2 (C-2), 136,2 (C-3), 179,6 (C-4), 163,1 (C-5), 99,8 (C-6), 165,9 (C-7), 94,7 (C-8), 158,4 (C-9), 105,8 (C-10), 122,9 (C-1'), 116,3 (C-2'), 146,3

(C-3'), 149,7 (C-4'), 116,9 (C-5'), 122,8 (C-6'), 103,5 (C-1''), 71,8 (C-2''), 72,0 (C-3''), 73,2 (C-4''), 72,0 (C-5''), 17,6 (C-6'').

#### Rutina (6)

Sólido amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>c</sub>: 158,5 (C-2), 135,6 (C-3), 179,4 (C-4), 162,9 (C-5), 100,0 (C-6), 166,3 (C-7), 94,9 (C-8), 159,3 (C-9), 105,6 (C-10), 123,1 (C-1'), 117,7 (C-2'), 145,8 (C-3'), 149,8 (C-4'), 116,0 (C-5'), 123,5 (C-6'), 104,6 (C-1''), 75,7 (C-2''), 78,1 (C-3''), 71,3 (C-4''), 77,1 (C-5''), 68,5 (C-6''), 102,4 (C-1'''), 72,0 (C-2'''), 72,2 (C-3'''), 73,9 (C-4'''), 69,7 (C-5'''), 17,8 (C-6''').

#### (+)-Catequina (7)

Sólido amarelo. [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 15° (CH<sub>3</sub>OH; conc. 0,88). e Lit.<sup>9</sup> [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 15° (CH<sub>3</sub>OH; conc. 0,88). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>c</sub>: 82,3 (C-2), 68,3 (C-3), 28,6 (C-4), 156,4 (C-5), 96,5 (C-6), 157,1 (C-7), 95,6 (C-8), 156,9 (C-9), 101,0 (C-10), 131,7 (C-1'), 115,3 (C-2'), 145,8 (C-3'), 145,7 (C-4'), 116,4 (C-5'), 120,1 (C-6').

#### (+)-Catequina-(4β-8)-catequina (8)

Óleo alaranjado. [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 22,6° (CH<sub>3</sub>OH; conc. 0,93) e Lit.<sup>10</sup> [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> + 22,6° (CH<sub>3</sub>OH; conc. 0,93). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>c</sub>, unidade I: 82,4 (C-2), 72,7 (C-3), 37,3 (C-4), 106,5 (C-4), 155,3 (C-5), 95,5 (C-6), 154,2 (C-7), 96,8 (C-8), 155,6 (C-8'), 130,7 (C-1'), 115,4 (C-2'), 144,8 (C-3'), 144,1 (C-4'), 115,5 (C-5'), 119,9 (C-6'); unidade II: 80,0 (C-2), 68,8 (C-3), 27,4 (C-4), 153,4 (C-5), 95,5 (C-6), 153,9 (C-7), 107,8 (C-8), 153,7 (C-8'), 130,7 (C-1'), 114,6 (C-2'), 144,3 (C-3'), 144,2 (C-4'), 118,6 (C-5'), 119,1 (C-6').

#### Glutanol (9)

Sólido branco. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 18,2 (C-1), 27,8 (C-2), 76,3 (C-3), 39,2 (C-4), 141,6 (C-5), 122,0 (C-6), 23,6 (C-7), 49,6 (C-8), 34,8 (C-9), 47,4 (C-10), 34,5 (C-11), 30,3 (C-12), 40,8 (C-13), 37,8 (C-14), 32,0 (C-15), 36,0 (C-16), 30,0 (C-17), 43,0 (C-18), 35,0 (C-19), 28,2 (C-20), 33,1 (C-21), 38,9 (C-22), 28,9 (C-23), 25,4 (C-24), 16,1 (C-25), 19,6 (C-26), 18,4 (C-27), 32,3 (C-28), 34,4 (C-29), 32,1 (C-30).

#### Esqualeno (10)

Óleo amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 25,6 (C-1), 131,2 (C-2), 17,6 (C-3), 124,4 (C-4), 26,7 (C-5), 39,8 (C-6), 134,8 (C-7), 16,0 (C-8), 124,3 (C-9), 26,6 (C-10), 39,7 (C-11), 135,0 (C-12), 15,9 (C-13), 124,2 (C-14), 28,2 (C-15).

#### Estigmasterol (11)

Sólido branco. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 37,2 (C-1), 31,6 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 31,6 (C-7), 31,9 (C-8), 50,1 (C-9), 36,5 (C-10), 21,0 (C-11), 39,7 (C-12), 56,8 (C-13), 56,7 (C-14), 24,3 (C-15), 28,9 (C-16), 56,0 (C-17), 12,2 (C-18), 19,0 (C-19), 40,4 (C-20), 21,2 (C-21), 138,3 (C-22), 129,2 (C-23), 51,2 (C-24), 29,7 (C-25), 21,2 (C-26), 18,9 (C-27), 25,4 (C-28), 12,2 (C-29).

#### β-Sitosterol (12)

Sólido branco. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 37,4 (C-1), 31,6 (C-2), 71,8 (C-3), 42,3 (C-4), 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 31,6 (C-7), 31,9 (C-8), 50,1 (C-9), 36,1 (C-10), 21,0 (C-11), 39,7 (C-12), 42,3 (C-13), 56,7 (C-14), 24,3 (C-15), 28,2 (C-16), 56,0 (C-17), 11,9 (C-18), 19,0 (C-19), 36,1 (C-20), 18,7 (C-21), 33,9 (C-22), 26,0 (C-23), 45,8 (C-24), 29,1 (C-25), 19,8 (C-26), 19,3 (C-27), 23,0 (C-28), 12,0 (C-29).

#### Fitol (13)

Óleo amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 59,4 (C-1), 123,0

(C-2), 140,3 (C-3), 39,8 (C-4), 25,2 (C-5), 36,6 (C-6), 32,7 (C-7), 37,4 (C-8), 24,4 (C-9), 37,4 (C-10), 32,7 (C-11), 39,3 (C-12), 24,4 (C-13), 39,3 (C-14), 27,9 (C-15), 22,7 (C-16), 22,6 (C-17), 19,7 (C-18), 19,7 (C-19), 16,1 (C-20).

#### Ficaprenol-12 (14)

Óleo amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 59,0 (C-1), 124,9 (C-2), 139,9 (C-3), 32,0 (C-4), 31,9-32,2 (C-a), 26,3-26,7 (C-b), 124,1-124,4 (C-c), 131,2-136,1 (C-d), 39,7 (C-e), 25,7 (C-f), 17,7 (C-g), 16,0 (C-h), 23,4 (C-i), 23,7 (C-j).

#### α-Tocoferol (15)

Óleo amarelo. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 145,5 (C-8a), 122,5 (C-8), 118,5 (C-7), 11,2 (C-7a), 144,5 (C-6), 117,3 (C-5), 11,4 (C-5a), 122,5 (C-4a), 24,7 (C-4), 32,7 (C-3), 74,4 (C-2), 39,3 (C-1'), 24,7 (C-2'), 37,3 (C-3', 4', 5', 7', 8', 9'), 24,4 (C-6'), 24,7 (C-10'), 39,3 (C-11'), 27,9 (C-12'), 22,7 (C-12'a, 13'), 19,7 (C-8'a, 4'a), 23,7 (C-2a), 12,2 (C-8b).

#### β-Caroteno (16)

Óleo avermelhado. RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>c</sub>: 34,2 (C-1/1'), 39,6 (C-2/2'), 19,2 (C-3/3'), 33,1 (C-4/4'), 129,3 (C-5/5'), 137,9 (C-6/6'), 126,6 (C-7/7'), 137,7 (C-8/8'), 136,0 (C-9/9'), 130,8 (C-10/10'), 125,0 (C-11/11'), 137,2 (C-12/12'), 136,4 (C-13/13'), 132,4 (C-14/14'), 129,9 (C-15/15'), 28,9 (C-16/16', 17/17'), 21,7 (C-18/18'), 12,8 (C-19/19'), 12,7 (C-20/20').

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de IV de **1** mostrou uma banda intensa de carbonila conjugada em 1650 cm<sup>-1</sup> e uma banda de OH em 3200 cm<sup>-1</sup>. Seu espectro de RMN <sup>1</sup>H apresentou sinais para um anel aromático e para uma cadeia carbônica longa. A parte aromática da molécula foi definida como sendo de um anel benzênico 1,2-dissubstituído, com base no padrão de acoplamento dos hidrogênios: [δ<sub>H</sub> 7,82 (*dd*, *J* = 8,0 e 1,6 Hz, H-3), δ<sub>H</sub> 6,86 (*ddd*, *J* = 8,0, 7,1 e 1,0 Hz, H-4), δ<sub>H</sub> 7,43 (*ddd*, *J* = 8,4, 7,1 e 1,6 Hz; H-5), δ<sub>H</sub> 6,96 (*dd*, *J* = 8,4 e 1,0 Hz, H-6)]. A parte alifática da molécula foi caracterizada como uma cadeia linear longa (sinais intensos em δ<sub>H</sub> 1,20-1,35, *m* e δ<sub>C</sub> 29,5 a 29,9), tendo um grupo oximetilênico (δ<sub>H</sub> 4,32, *m* e δ<sub>C</sub> 65,5) numa extremidade e uma metila na outra (δ<sub>H</sub> 0,86, *t*, 6,5 Hz e δ<sub>C</sub> 14,1). Ainda no espectro de RMN <sup>1</sup>H, um sinal em δ<sub>H</sub> 10,83 foi atribuído a um hidrogênio de hidroxila fenólica (ligada ao carbono referente ao sinal em δ<sub>C</sub> 161,7) fazendo ligação de hidrogênio com o oxigênio da carboxila (δ<sub>C</sub> 170,2). Desta forma, a substância **1** foi caracterizada como sendo um éster derivado do ácido salicílico. As correlações observadas nos experimentos de RMN bidimensionais mostraram-se coerentes com esta proposta, levando às atribuições mostradas na Tabela 1. O espectro de massas de **1** apresentou [M]<sup>++</sup> em *m/z* 488, compatível com a fórmula molecular C<sub>32</sub>H<sub>56</sub>O<sub>3</sub>, indicando que este composto possui uma cadeia linear com 25 carbonos. O pico base aparece em *m/z* 138 (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), que corresponde ao ácido salicílico originado por um rearranjo do tipo McLafferty. Assim, o composto **1** foi caracterizado como sendo o salicilato de pentacosanila, que é inédito na literatura. Trata-se também do primeiro relato da ocorrência na natureza de um salicilato de alquila com cadeia longa, sendo conhecidos apenas ésteres do ácido salicílico com cadeias alquílicas até seis carbonos, presentes em óleos essenciais.<sup>11</sup> Vários ésteres de ácido salicílico com cadeia alquílicas longas são utilizados em formulações tópicas, com atividade de proteção cutânea.<sup>12</sup> Por outro lado, o salicilato de metila é considerado tóxico se ingerido e drogas contendo mais de 5% deste produto não podem ser registradas na FDA.<sup>12</sup>

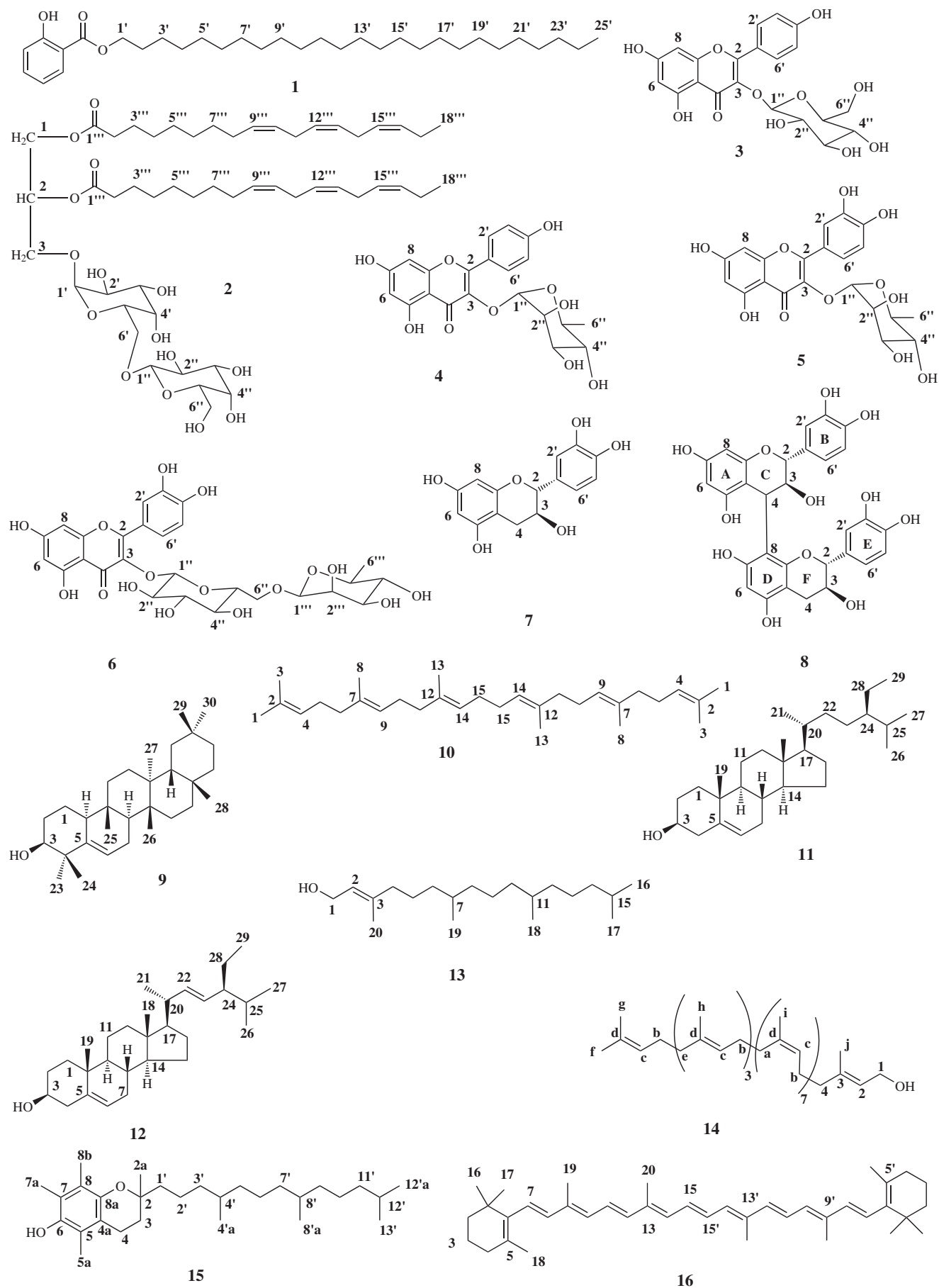


Figura 1. Estruturas dos constituintes químicos isolados das folhas de *Riedeliella graciliflora*

O composto **2** foi obtido da fase acetato de etila e seus espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (Tabela 2) apresentaram sinais característicos de ácidos graxos insaturados, incluindo dois sinais de carboxilas a  $\delta_{\text{C}}$  175,1 e 174,8. Observaram-se, também, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  treze sinais de carbonos carbinólicos, entre  $\delta_{\text{C}}$  62,8 e 75,0, e dois sinais em  $\delta_{\text{C}}$  100,6 e 105,3, os quais sugeriram a presença de duas unidades de hexoses e uma unidade de glicerol. A análise destes dados mostrou tratar-se de duas unidades de galactose,<sup>13</sup> possuindo uma delas o oxigênio anomérico em  $\alpha$  e a outra em  $\beta$ . Os experimentos HSQC e HMBC permitiram atribuir os sinais de hidrogênios e carbonos de **2**, bem como definir que a ligação entre as unidades glicosídicas é do tipo  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 6. Da mesma maneira, foi demonstrada a ligação do diglicosídeo ao carbono terminal do glicerol, através da correlação  $^3J$  entre o hidrogênio anomérico da  $\beta$ -galactose ( $\delta_{\text{H}}$  4,20, *d*,  $J = 6,8\text{Hz}$ ) e o carbono oximetilênico C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  71,8) do glicerol. A reação de transesterificação de **2** com metanol originou ésteres metílicos dos ácidos graxos. Estes foram analisados por CG/EM, revelando somente a presença do  $\alpha$ -linolenato de metila, que mostrou pico a *m/z* 292, indicando a fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$ , e tempo de retenção coincidente com o do padrão. Portanto, os ácidos graxos esterificados nas posições 1 e 2 do glicerol foram identificadas como duas unidades de ácido  $\alpha$ -linolênico. Desta maneira, o composto **2** foi caracterizado como sendo o 1,2-di-*O*- $\alpha$ -linolenil-3-*O*- $\alpha$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopiranosil-glicerol. Este composto pertence à classe dos digalactosildiácilgliceróis (DGDG), que são substâncias constituintes de membrana de cloroplastos.<sup>14</sup> A ocorrência livre de **2** foi relatada anteriormente em óleo de oliva<sup>15</sup> e propriedades anti-inflamatória e antiviral têm sido descritas para DGDGs e seus derivados sintéticos.<sup>16-17</sup>

Os flavonoides kaempferol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosídeo (**3**), kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopiranosídeo (**4**), quercetina-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopiranosídeo (**5**) e rutina (**6**) foram identificados com base na análise dos seus dados de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , os quais se mostraram de acordo com os da literatura.<sup>18,19</sup>

O composto **7** foi caracterizado como sendo a (+)-catequina e o composto **8** como o dímero de **7** com ligação entre as unidades do tipo 4 $\beta$ -8. Estas estruturas mostraram-se de acordo com os dados de RMN<sup>20-22</sup> bem como com as correlações observadas nos experimentos bidimensionais.

Outras substâncias mais frequentemente encontradas em plantas foram isoladas de *R. graciliflora* e caracterizadas com base em seus dados espectroscópicos e/ou comparação com amostras autênticas. Especificamente foram isolados os triterpenos glutinol<sup>23</sup> (**9**) e esqualeno<sup>24</sup> (**10**), os esteroides  $\beta$ -sitosterol<sup>24</sup> (**11**) e estigmasterol<sup>25</sup> (**12**), o diterpeno fitol<sup>24</sup> (**13**), o carotenoide  $\beta$ -caroteno<sup>24</sup> (**14**),  $\alpha$ -tocoferol<sup>25</sup> (**15**) e o poliprenol ficaprenol-12<sup>26</sup> (**16**).

## CONCLUSÃO

Diferentemente de outros gêneros pertencentes à família Leguminosae, não há relatos na literatura sobre o isolamento e caracterização de metabólitos secundários de espécies do gênero *Riedeliella*. O estudo químico das folhas de *Riedeliella graciliflora* levou à obtenção de 16 substâncias, compreendendo um derivado do ácido salicílico, salicilato de pentacosanila, um diacildigalactosilglicerol, 1,2-di-*O*- $\alpha$ -linolenil-3-*O*- $\alpha$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-galactopiranosil-glicerol, 6 flavonoides, incluindo 4 glicosilados e 1 dímero de flavana, 2 triterpenos, 2 esteroides e 1 poliprenol, além de fitol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -caroteno.

O isolamento de salicilato de pentacosanila de *R. graciliflora* é digno de nota, pois além de ser um derivado inédito do ácido salicílico, trata-se do primeiro relato da ocorrência na natureza de um salicilato de alquila de cadeia longa. Embora ésteres de ácido salicílico com

cadeias alquílicas de até seis carbonos tenham sido descritos como componentes de óleos essenciais, apenas o salicilato de metila foi relatado no óleo essencial de uma única espécie de Leguminosae.<sup>27</sup> A toxicidade das folhas de *R. graciliflora* para ruminantes pode estar relacionada à presença do salicilato de pentacosanila, que ocorre numa proporção da ordem de 10 mg/kg de folhas.

Deve-se destacar também neste trabalho o primeiro relato do isolamento de um diacildigalactosilglicerol de uma espécie da família Leguminosae.

Considerando-se que a espécie motivo do presente trabalho é uma das principais responsáveis pela intoxicação de ruminantes, causando impactos negativos na pecuária, os resultados obtidos no presente trabalho podem fornecer subsídios para estudos futuros visando à identificação do princípio ativo tóxico.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC e TOCSY bem como os esquemas de isolamento das substâncias das folhas de *Riedeliella graciliflora*, estão disponíveis gratuitamente em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo PDF.

## AGRADECIMENTOS

À FUNDECT-MS, CNPq, CAPES, CPq-PROPP/UFMS pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Tokarnia, C. H.; Dobereiner, J.; Peixoto, P. V.; *Toxicon* **2002**, *40*, 1660.
2. Dagli, M. L. Z.; Perrone, E. A.; Haraguchi, M.; Górnack, S. L.; Hara, A.; *Vet. Hum. Toxicol.* **1995**, *37*, 544.
3. Górnack, S. L.; Dagli, M. L. Z.; Perrone, E. A.; Haraguchi, M.; *Vet. Hum. Toxicol.* **1995**, *37*, 447.
4. Barroso, G. M.; *Sistemática de angiospermas do Brasil*, Imprensa Universitária/UFV: Viçosa, 1986.
5. Riet-Correa, F.; Górnack, S. L.; Haraguchi, M.; Dagli, M. L. Z.; *Pesq. Vet. Bras.* **2001**, *21*, 5.
6. Haraguchi, M.; *Arq. Inst. Biol.* **2003**, *65*, 37.
7. Haraguchi, M.; Nobre, D.; Guimarães, R. D. B.; Maria, H. S.; *Rev. Latinoam. Quím.* **1992**, *23*, 34.
8. Garcez, W. S.; Garcez, F. R.; Zanella, D. F. P.; Hamerski, L.; Ferreira, A. G.; Barison, A.; Abot, A. R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 679.
9. Leopoldine, M.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 5878.
10. Muranaka, A.; *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2450.
11. Andersen, F. A.; *Int. J. Toxicol.* **2003**, *Suppl. 3*, 122.
12. Moronkola, D. O.; Ogunwande, I. A.; Oyewole, I. O.; Baser, K. H. C.; Ozek, T. L.; Ozek, G.; *J. Essent. Oil Res.* **2009**, *21*, 393.
13. Breitmaier, E.; Voelter, W.; *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Application in Organic Chemistry and Biochemistry*, 3<sup>rd</sup> ed., VCH: Weinheim, 1989.
14. Holzl, G.; Dormann, P.; *Prog. Lipid. Res.* **2007**, *46*, 225.
15. Bianco, A.; Mazzei, R. A.; Melchioni, C.; Scarpati, M. L.; Romeo, G.; Uccella, N.; *Food Chem.* **1998**, *62*, 343.
16. Shirahashi, H.; Murakami, N.; Watanabe, M.; Nagatsu, A.; Sakakibara, J.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashima, A.; *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1664.
17. Colombo, D.; Tringali, C.; Franchinia, L.; Cirillo, F.; Venerando, B.; *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1827.
18. Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; *The Flavonoids: Advances in Research*, Chapman and Hall: New York, 1982.
19. Agrawal, P. K.; Thakur, R. S.; Bansal, M. C. Em *Carbon-13 NMR of Flavonoids*; Agrawal, P. K., ed.; 1<sup>st</sup> ed., Elsevier: Amsterdam, 1989.

20. Lobo, T. L.; Castro, F. C. K.; Arruda, P. S. M.; Silva, N. M.; Arruda, C. A.; Muller, H. A.; Arruda, P. S. M. G.; Santos, S. A.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 493.
21. Tarascou, A.; Barathieu, K.; Simon, C.; Ducasse, A. M.; André, Y.; Fouquet, E.; Dufourc, J. E.; Freitas, V.; Laguerre, M.; Pianet, I.; *Magn. Reson. Chem.* **2006**, *44*, 868.
22. Pessuto, M. B.; Costa, I. C.; Souza, A. B.; Nicoli, F. M.; Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Luftmann, H.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 412.
23. Fraga, B. M.; Reina, M.; Luis, J. G.; Rodriguez, M. L.; *Z. Naturforsch., C: J. Biosci.* **2003**, *58*, 621.
24. Pouchert, C. J.; Behnke, J.; *The Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT NMR Spectra*, 1<sup>st</sup> ed., Aldrich Chemical Company, Inc: Milwaukee, 1993.
25. Ayres, M. C. C.; Chaves, M. H.; Rinaldo, D.; Vilegas, W.; Vieira Jr., G. M.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1509.
26. Aoki, T.; Matsuo, K.; Suga, T.; Ohta, S.; *Phytochemistry* **1997**, *46*, 715.
27. Araújo, M. F.; Passos, M. V. G. M.; Lima, O. E.; Roque, F. N.; Guedes, S. L. M.; Souza-Neta, C. L.; Cruz, G. F.; Martins, D.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *10*, 1805.