



Constituintes químicos das folhas de *Murraya paniculata* (Rutaceae)

Sumaia G. Mesquita,¹ Marcela F. Martinez,¹ Paulete Romoff,¹ Oriana A. Fávero,² Sofia R. Lieber,² João Henrique G. Lago*¹

¹Centro de Ciências e Humanidades, Universidade Presbiteriana Mackenzie, 01302-907 São Paulo-SP, Brasil,

²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Presbiteriana Mackenzie, 01302-907 São Paulo-SP, Brasil

RESUMO: A separação cromatográfica do extrato hexânico e da fase em CH₂Cl₂ do extrato etanólico das folhas de *Murraya paniculata* resultou no isolamento de um triterpeno (24-metileno-cicloartan-3β-ol), um fenilpropanóide (cafeato de metila) e sete cumarinas preniladas [isomeranzina, acetato de murranganona, murrayatina, murrangatina, hidrato de meranzina, febalosina e murranganona]. Entre as substâncias isoladas, as cumarinas foram detectadas anteriormente em *M. paniculata* ao passo que 24-metileno-cicloartan-3β-ol e cafeato de metila estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Murraya*. Os extratos e frações além das substâncias puras foram submetidos à avaliação do potencial antimicrobiano frente à *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* indicando que somente a cumarina hidrato de meranzina mostrou fraca atividade.

Unitermos: *Murraya paniculata*, cumarinas, terpenóide, fenilpropanóide, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: "Chemical constituents from leaves of *Murraya paniculata* (Rutaceae)". Chromatographic separation of the hexane extract and the CH₂Cl₂ phase from the ethanol extract from leaves of *Murraya paniculata* yielded one triterpenoid (24-methylene-cycloartan-3β-ol), one phenylpropanoid (methyl caffeate) and seven coumarins [isomeranzine, murranganone acetate, murrayatine, murrangatine, meranzine hydrate, phebalosine and murranganone]. All the isolated coumarins were previously obtained from *M. paniculata* while 24-methylene-cycloartan-3β-ol and methyl caffeate have been described for first time in the *Murraya* genus. The crude extracts, fractions and pure substances were submitted to evaluation of antimicrobial potential against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which indicated that the coumarin meranzine hydrate showed weak activity.

Keywords: *Murraya paniculata*, coumarins, terpenoid, phenylpropanoid, antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

Murraya paniculata (sinonímia *Murraya exotica*), pertencente à família Rutaceae, é uma árvore nativa da Índia que foi introduzida no Brasil, sendo largamente utilizada em arborização e em jardins da cidade de São Paulo. Esta espécie é considerada medicinal nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia e também na China e Indonésia. Nesses países, as folhas e raízes são utilizadas para o tratamento de problemas intestinais, de reumatismo e tosse (Veloza, 1995; Lorenzi et al., 2003).

Do ponto de vista químico, esta espécie acumula principalmente cumarinas preniladas e flavonóides, além de derivados do ácido cinâmico e alcalóides (Ito & Furukawa, 1987; Rahman et al., 1997; Wu et al., 1994; Ferracin et al., 1999). Porém, uma análise dos

trabalhos publicados na literatura indica que existe uma variação química significativa entre espécies de diferentes localidades. Assim, em vista da versatilidade de constituintes químicos e potencial biológico desta espécie vegetal, neste trabalho foi realizada a análise fitoquímica do extrato hexânico e da fase em CH₂Cl₂ do extrato etanólico das folhas de *Murraya paniculata*, os quais após procedimentos cromatográficos forneceram um triterpeno (24-metileno-cicloartan-3β-ol - **1**), um fenilpropanóide (cafeato de metila - **2**) e sete cumarinas preniladas [isomeranzina - **3**, 7-metoxi-8-(1'-acetoxi-2'-oxo-3'-metilbutil)-cumarina - **4**, murrayatina - **5**, murrangatina - **6**, hidrato de meranzina - **7**, febalosina - **8** e murranganona - **9**]. A identificação estrutural desses compostos foi realizada, principalmente, por análises espectroscópicas de RMN de ¹H, de ¹³C e EM. Adicionalmente, neste trabalho foi avaliada a

* E-mail: joao.lago@unifesp.br

atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* dos extratos, frações e substâncias puras obtidas do fracionamento cromatográfico.

MATERIAL E MÉTODOS

Procedimentos gerais

Os espectros de massas (EM) foram registrados em espectros INCOS SO Finnigan - Mat (quadrupolo) operando a impacto eletrônico (IE) a 70 eV acoplado ao cromatográfico 3400 Varian, equipado com coluna capilar DB5 de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro. As condições empregadas nos experimentos foram: injetor automático (180 °C), detector por ionização de chama (260 °C), gás carregador (He), vazão 6 mL/min (30 °C), temperaturas programadas 100 °C (2 min) - 100-240 °C (5 °C/min) - 240 °C (5 min). Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Varian Advance operando a 300 MHz para o núcleo de ¹H e a 75 MHz para o núcleo de ¹³C, utilizando-se CDCl₃ como solvente e TMS (Merck) como padrão de referência interna.

As cromatografias em coluna foram realizadas com sílica gel 70-230 Mesh (Merck) e Sephadex LH-20 (Amersham) enquanto que para as de camada delgada comparativa foram utilizadas placas de gel de sílica (Merck Art. 1.05554) utilizando reveladores como luz ultravioleta (UV) e H₂SO₄ - 6M, seguido de aquecimento. Para separações por cromatografia de camada delgada preparativa foram confeccionadas placas de gel de sílica PF₂₅₄ (Merck Art. 1.07730) de 1,0 mm de espessura.

Material vegetal

As folhas de *Murraya paniculata* foram coletadas no Campus da Universidade Presbiteriana Mackenzie, na cidade de São Paulo, em 31 de janeiro de 2005. A espécie foi identificada pela Profa. Oriana A. Fávero e uma exsiccata foi depositada no Herbário da Prefeitura Municipal de São Paulo sob número 8762.

Extração e isolamento

As folhas secas de *Murraya paniculata* (280 g) foram extraídas com hexano até esgotamento gerando, após eliminação do solvente sob vácuo, 7 g de extrato hexânico bruto (H). A seguir, a torta foi submetida à extração com EtOH até esgotamento. Após evaporação total do solvente, em sistema de vácuo, foram obtidos 13 g de extrato etanólico bruto (E). Esse extrato suspenso em EtOH:H₂O 7:3 e então extraído com hexano (2 L), CH₂Cl₂ (2 L), AcOEt (2 L) e n-BuOH (1 L). Após evaporação dos respectivos solventes, foram obtidas 4 g da fase hexânica (FH), 5 g da fase em CH₂Cl₂ (FD), 2 g da fase em AcOEt (FA) e 1 g da fase em n-BuOH (FB).

Uma pequena porção do extrato hexânico bruto

(H - 1g) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica sendo o sistema eluído com misturas de CH₂Cl₂/AcOEt em gradiente crescente de polaridade. Deste processo foram obtidos 14 grupos (GH-1 - GH-14). O grupo GH-2 (102 mg) foi submetido à coluna de gel de sílica eluída com uma mistura de hexano/AcOEt em gradiente de polaridade fornecendo 6 subgrupos (GH-2/1 - GH-2/6). O subgrupo GH-2/4 (92 mg) foi purificado por CCDP (CH₂Cl₂/AcOEt 8:2) fornecendo 6 mg de **1**. A análise dos espectros de RMN de ¹H e de ¹³C dos grupos GH-4 e GH-5 mostrou que as mesmas eram constituídas exclusivamente por **8** (223 mg). O grupo GH-7 (282 mg) foi fracionado em coluna de gel de sílica (CH₂Cl₂/AcOEt em gradiente de polaridade) gerando 7 subgrupos (GH-7/1 - GH-7/7). A substância **7** (90 mg) foi obtida, na forma pura, do subgrupo GH-7/4. As frações GH-9 e GH-10 foram reunidas (45 mg) e submetidas à CCDP (CH₂Cl₂/AcOEt 7:3) fornecendo 7 frações (GH-9+10/1 - GH-9+10/7). A fração GH-9+10/4 mostrou-se constituída pela substância **9** (6 mg).

A fase em CH₂Cl₂ (FD - 5 g) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica sendo o sistema eluído com misturas de hexano/AcOEt e AcOEt/MeOH em polaridade crescente. Deste processo foram obtidos 14 grupos (FD-1 - FD-14). As análises espectrais dos grupos FD-1 (151 mg) e FD-2 (211 mg) mostraram que os mesmos eram compostos basicamente por material graxo. O grupo FD-3 (203 mg) foi submetido à permeação em gel de Sephadex LH-20 (hexano/CH₂Cl₂ 1:4 e CH₂Cl₂/Me₂CO 3:2) do qual foram obtidos 7 subgrupos (FD-3/1 - FD-3/7) das quais FD-3/6 (12 mg) mostrou-se constituído por **2**. O grupo FD-4 (174 mg) foi submetido a fracionamento em coluna de gel de sílica eluída com hexano/AcOEt em gradiente de polaridade. Deste processo foram obtidos 9 subgrupos (FD-4/1 - FD-4/9) sendo a substância **3** (5 mg) isolada de FD-4/9. O grupo FD-5 (759 mg) foi separado em coluna de gel de sílica eluída com misturas de hexano/AcOEt em gradiente de polaridade. Esse procedimento resultou na obtenção de 13 subgrupos (FD-5/1 - FD-5/13). Os subgrupos FD-5/6, FD-5/7 e FD-5/8 foram reunidos (46 mg) e então submetidos à purificação através de CCDP (hexano/AcOEt 3:7) sendo obtidos 7 mg de **4** e 13 mg de **5**. O grupo FD-7 (1,0 g) foi submetido à separação em coluna de gel de sílica, eluída com misturas de hexano/AcOEt em gradiente de polaridade, e posteriormente com AcOEt/MeOH 1:1 da qual foram obtidos 9 subgrupos (FD-7/1 - FD-7/9). Os subgrupos FD-7/3 e FD-7/4 foram reunidos (512 mg) e submetidos à permeação em gel de Sephadex LH-20 (MeOH puro) sendo obtidas 4 frações (FD-7/3+4/1 - FD-7/3+4/4). A fração FD-7/3+4/2 (139 mg) foi purificada por CCDP (AcOEt puro) fornecendo 5 mg de **6**. O grupo FD-8 (460 mg) foi submetido à permeação em gel de Sephadex LH-20 (hexano/CH₂Cl₂ 1:4 e CH₂Cl₂/Me₂CO 3:2) fornecendo 9 subgrupos (FD-8/1 - FD-8/9). Os subgrupos FD-8/6 (149 mg) e FD-8/7 (19 mg) mostraram-se constituídos

por **7** e **6**, respectivamente.

Ensaio biológicos

Avaliação da atividade antibacteriana

A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos e frações das folhas de *Murraya paniculata* foi determinada através do método de difusão em gel (Bauer et al., 1966; Ulubelen et al., 2000; Andrade et al., 2005) pela Prof^a Dr^a Sofia R. Lieber no Laboratório de Microbiologia do CCBS da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Assim, o extrato hexânico (H), as fases em hexano (FH), em CH₂Cl₂ (FD), em AcOEt (FA) e em n-BuOH (FB) proveniente da partição do extrato EtOH bruto foram esterilizados através de filtração em membranas de poro de 0,20 µm e em seguida adicionados em discos de papel de filtro estéreis de 6 mm de diâmetro, na concentração de 1000 µg/disco.

Para o ensaio em questão foram utilizadas duas bactérias, uma Gram positiva (*Staphylococcus aureus* - ATCC 6538) e outra Gram negativa (*Escherichia coli* - ATCC 8739). A avaliação da atividade foi verificada através da presença de uma zona de inibição do crescimento ao redor do disco.

O crescimento bacteriano foi avaliado após 24 horas de incubação da placa a 37 °C. Como controles positivos da inibição foram utilizados discos de gentamicina (240 µg/disco) além de discos impregnados com os solventes, para verificação do controle de inibição dos mesmos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A separação cromatográfica do extrato hexânico e da fase em CH₂Cl₂ do extrato etanólico das folhas de *Murraya paniculata* resultou no isolamento de um triterpeno (**1**), um fenil propanóide (**2**) e sete cumarinas preniladas (**3-9**). Destas, as substâncias **1** e **2** estão sendo descritas pela primeira vez no gênero *Murraya* enquanto que todas as cumarinas isoladas foram detectadas anteriormente em *M. paniculata* (Ito & Furukawa, 1987).

O espectro de RMN de ¹H de **1** mostra, entre outros, dois dubletos centrados em δ 0,33 (*J* = 4,2 Hz, 1H) e em δ 0,50 (*J* = 4,2 Hz, 1H), os quais são atribuídos ao H-19 de derivados triterpênicos com esqueleto cicloartano (Teresa et al., 1987; Lago et al., 2002). Esses sinais, associados aqueles característicos de hidrogênios geminados ligados a carbono sp² em δ 4,78 (s, H-31a) e em δ 4,63 (s, H-31b), e referente ao H-3 ligado a carbono carbinólico em δ 3,46 (sl), permite inferir que **1** apresenta a estrutura de um cicloartan-3β-ol com uma ligação dupla terminal na cadeia lateral. Para confirmação estrutural, esse composto foi submetido à análise por espectrometria de massas, sendo observado o pico do íon-molecular em *m/z* 440 Da, compatível

com a fórmula molecular C₃₁H₅₂O. Finalmente, a análise por RMN de ¹³C mostrou 31 sinais sendo aqueles em δ 78,8 (C-3), 156,8 (C-24) e 106,1 (C-31) compatíveis aos carbonos oximetínicos e de ligação dupla terminal, respectivamente. Desta forma, após comparação com os dados espectrais descritos para o 24-metileno-cicloartan-3β-ol (Teresa et al., 1987), tornou-se possível identificar a estrutura de **1**.

O espectro de RMN de ¹H de **2** mostra dois dubletos em δ 7,59 (*J* = 15,9 Hz, 1H) e em δ 6,25 (*J* = 15,9 Hz, 1H), correspondentes a hidrogênios de ligação dupla com configuração *trans*. Além desses sinais, foram observados um dubleto em δ 6,88 (*J* = 8,1 Hz, 1H), um dubleto em δ 7,00 (*J* = 1,8 Hz, 1H) e um duplo-dubleto em δ 7,04 (*J* = 8,1 e 1,8 Hz, 1H), referentes a hidrogênios de um sistema aromático 1,3,4-trissubstituído. Este espectro mostra ainda dois singletos em δ 3,77 (3H) e em δ 3,89 (3H), referentes a dois grupos metoxílicos. A análise do espectro de massas de **2** mostrou o pico do íon-molecular em *m/z* 208 Da, compatível com a fórmula C₁₁H₁₂O₄. A comparação dos dados de espectrométricos com aqueles descritos na literatura (Moreira et al., 2000) permitiu a caracterização estrutural de **2** como 4-hidroxi-3-metoxi-cinamato de metila, também conhecido como cafeato de metila.

O espectro de RMN de ¹H de **3** mostrou dois dubletos em δ 6,23 (*J* = 9,6 Hz, 1H) e em δ 7,64 (*J* = 9,6 Hz, 1H), característicos de hidrogênios de ligação dupla de configuração *cis* além de outros dois dubletos em δ 7,38 (*J* = 8,7 Hz, 1H) e em δ 6,85 (*J* = 8,7 Hz, 1H) relativos a dois hidrogênios vicinais de anel aromático. Esse perfil mostrou-se indicativo da ocorrência de substâncias das classes das cumarinas (Ito & Furukawa, 1987). Uma vez que foram observados apenas dois sinais referentes aos hidrogênios aromáticos que acoplam entre si, pode-se inferir que está presente, na molécula de **3**, um substituinte na posição 8. O espectro de RMN de ¹H mostra, além dos sinais descritos acima, um dubleto em δ 1,21 (*J* = 6,9 Hz, 6H) e um hepteto em δ 2,82 (*J* = 6,9 Hz, 1H) que associados a presença de um singlete em δ 4,02 (2H) sugerem a presença de uma unidade derivada do isopreno em C-8. Além disso, os valores de deslocamento químico dos hidrogênios da cadeia lateral são sugestivos da presença de um grupo carbonílico em C-2' (Silverstein et al., 1991). Finalmente, a estrutura de **3** foi totalmente elucidada pela atribuição do singlete em δ 3,87 (3H) ao grupo metoxílico ligado ao anel aromático na posição 7. A confirmação da identidade estrutural de **3** foi realizada após análise dos dados do espectro de RMN de ¹³C (Tabela 1), o qual mostrou treze sinais, dos quais dois relativos aos grupos carbonílicos da cadeia isoprênica em δ 210,7 e do anel lactônico em δ 161,0. Além desses foram observados os sinais do anel aromático e da ligação dupla em δ 160,5 (C), 153,2 (C), 143,8 (CH), 127,5 (CH), 113,0 (CH), 112,9 (C), 112,3 (C) e em δ 107,3 (CH) e dos sinais relativos a cadeia lateral em δ 40,9 (CH), 34,7 (CH₂) e δ 18,4 (2

X CH₃) e do grupo metoxílico em δ 56,1. Desta forma, através da comparação dos dados de RMN com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987; Abaul et al., 1994), a estrutura de **3** foi definida como 7-metoxi-8-(2'-oxo-3'-metilbutil)-cumarina também conhecida como isomeranzina.

O espectro de RMN de ¹H de **4** mostra quatro dubletos em δ 6,27 ($J = 9,6$ Hz, 1H), 7,65 ($J = 9,6$ Hz, 1H), 6,90 ($J = 8,7$ Hz, 1H) e em δ 7,48 ($J = 8,7$ Hz, 1H) além de um singlete em δ 3,90 (3H), semelhantes aqueles observados para a substância **3**. Tal perfil sugere que **4** seja uma cumarina contendo um grupo metoxílico em C-7. Além desses sinais, foi observado neste espectro um singlete em δ 2,16 (3H), característico de grupo acetila, um hepteto em δ 2,80 ($J = 6,7$ Hz, 1H) e dois dubletos em δ 1,18 ($J = 6,7$ Hz, 3H) e em δ 1,03 ($J = 6,7$ Hz, 3H) os quais foram atribuídos, respectivamente, a H-3', H-4' e H-5'. Após a comparação com dados dos dados de RMN de ¹H com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987) a estrutura de **4** foi definida como 7-metoxi-8-(1'-acetoxil-2'-oxo-3'-metilbutil)-cumarina, conhecida como acetato de murranganona. Para confirmação da estrutura proposta, foi registrado o espectro de RMN de ¹³C onde foram observados, entre outros, sinais relativos à unidade cumarínica em δ 161,1 (C-2), 114,1 (C-3), 143,4 (C-4), 113,4 (C-4a), 130,3 (C-5), 108,1 (C-6), 160,0 (C-7), 114,8 (C-8), 153,0 (C-8a) e δ 56,7 (OCH₃). Os sinais em δ 173,0 (C) e em δ 21,0 (CH₃) foram atribuídos ao grupamento acetoxílico

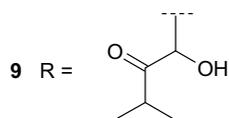
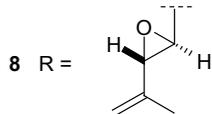
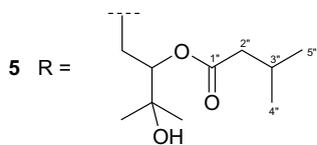
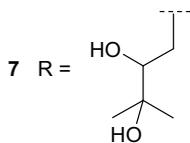
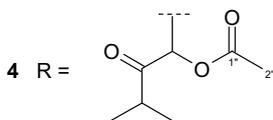
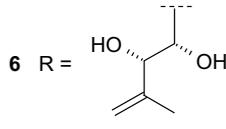
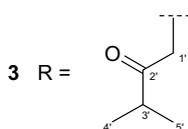
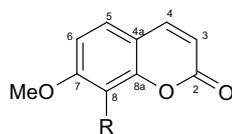
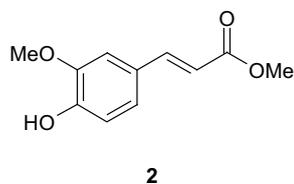
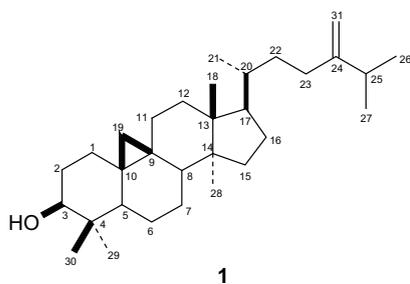
e aquele em δ 69,7 (CH), característico de carbono carbinólico, foi atribuído ao carbono C-1'. Além desses, o sinal referente ao carbono carbonílico C-2' foi observado em δ 212,1 e o dos grupos metílicos C-4' e C-5' em δ 19,2 e 18,3, respectivamente (Tabela 1).

O espectro de RMN de ¹H de **5** mostrou sinais característicos de cumarina 7,8-dissubstituída, como observado para **3** e **4**. Além desses, foram observados dois dubletos em δ 0,72 ($J = 6,3$ Hz, 3H) e em δ 0,66 ($J = 6,3$ Hz, 3H), referentes a dois grupos metílicos ligados a carbono metínico além de dois singletos em δ 1,36 (3H) e em δ 1,32 (3H), característicos de grupos metílicos ligados a carbono carbinólico. O espectro de RMN de ¹³C mostrou, entre outros, sinais referentes a carbonos do tipo sp² (anel aromático e ligação dupla) em δ 112,9 (C-3), 143,7 (C-4), 112,9 (C-4a), 127,1 (C-5), 107,2 (C-6), 160,0 (C-7), 114,8 (C-8) e 153,0 (C-8a), a carbonos carbinólicos em δ 78,3 (C-2') e δ 72,6 (C-3') e a quatro grupos metílicos em δ 25,1 (C-4'), 25,2 (C-5'), 22,0 (C-4'') e em δ 22,1 (C-5''), como mostrado na Tabela 1. Após a comparação dos dados de RMN com aqueles descritos na literatura (Barik et al., 1983; Ito & Furukawa, 1987) foi possível identificar o composto **5** como 7-metoxi-8-[2'-(3'')-metilbutanoato]-3'-hidroxil-3'-metilbutil]-cumarina, conhecida como murrayatina.

No espectro de RMN de ¹H de **6** foram observados sinais característicos de cumarinas C-7 metoxiladas (Ito & Furukawa, 1987) além de dois dubletos em δ 4,67 ($J = 1,8$ Hz, 1H) e δ 4,59 ($J = 1,8$ Hz,

Tabela 1. Dados de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) para as cumarinas **3 - 9**.

posição	3	4	5	6	7	8	9
2	161,0	161,1	161,2	160,1	161,3	160,3	160,0
3	113,0	114,1	112,9	113,7	112,7	113,3	113,4
4	143,8	143,4	143,7	143,9	143,9	143,4	143,5
4a	112,9	113,4	112,9	113,5	112,9	112,4	113,4
5	127,5	130,3	127,1	128,5	126,9	128,9	129,6
6	107,3	108,1	107,2	107,8	107,4	107,5	107,8
7	160,0	160,0	160,5	160,0	160,5	161,8	160,5
8	112,0	114,8	116,0	116,1	115,8	113,4	114,0
8a	153,2	153,0	153,2	152,9	153,3	153,7	153,3
1'	34,7	69,7	23,2	69,6	25,5	51,7	68,4
2'	210,8	212,1	78,3	78,3	78,1	60,5	212,5
3'	40,9	36,5	72,6	143,8	73,0	141,2	35,8
4'	18,4	19,2	25,1	113,1	24,1	113,4	19,5
5'	18,4	18,3	25,2	17,8	25,9	17,3	17,9
OMe	56,1	56,7	56,1	56,1	56,1	56,2	56,1
1''	-	173,0	172,8	-	-	-	-
2''	-	21,0	43,2	-	-	-	-
3''	-	-	26,6	-	-	-	-
4''	-	-	22,0	-	-	-	-
5''	-	-	22,1	-	-	-	-



1H), característicos de hidrogênios geminados de ligação dupla terminal. Essa observação, associada à presença de um singleto em δ 1,79 (3H), característico de grupo metílico ligado a carbono sp^2 , permite inferir a presença de uma unidade 3-metil-3-butenil ligado a C-8. Uma vez que no espectro de RMN de 1H foram observados ainda um dubleto em δ 5,33 ($J = 8,7$ Hz, 1H) e um dubleto em δ 4,54 ($J = 8,7$ Hz, 1H) foi sugerida a presença de dois carbonos carbinólicos vicinais, o que foi confirmado pela observação, no espectro de RMN de ^{13}C , dos sinais em δ 69,5 e δ 78,3 atribuídos aos carbonos oximetínicos C-1' e C-2'. Neste espectro foram ainda observados sinais

em δ 143,8, 113,8 e 17,3, relativos aos carbonos C-3', C-4' e C-5', respectivamente. Finalmente a comparação dos dados espectrais, principalmente RMN de ^{13}C , com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987; Kinoshita et al., 1996) para 7-metoxi-8-(1',2'-diidroxil-3'-metilbut-3'-enil)-cumarina, conhecida como murrangatina, permitiu a identificação de **6**.

O espectro de RMN de 1H de **7** mostrou, além dos sinais referentes a unidade cumarínica, um singleto em δ 1,31 (6H), referente a dois grupos metílicos equivalentes ligados a carbono carbinólico. Esse sinal, associado à presença de um duplo-dubleto em δ 3,61 ($J = 8,9$ e 3,9 Hz, 1H), indicativo de hidrogênio ligado a carbono oximetínico, e um multiplete em δ 3,02 (2H), sugere a presença de uma unidade isoprênica 2,3-diidroxilada. O espectro de RMN de ^{13}C mostrou quinze sinais, dentre os quais dois carbonos carbinólicos em δ 78,1 (C-2') e em δ 73,0 (C-3') e três carbonos alifáticos em δ 25,5 (C-1'), δ 24,1 (C-4') e δ 25,9 (C-5') o que confirma a presença do grupo 2',3'-diidroxil-isoprênico, além de sinais referentes aos carbonos da unidade cumarínica, os quais foram atribuídos tendo como modelos os compostos **3** - **6** (Tabela 1). A comparação dos dados de RMN com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987; Dondon et al., 2006) permitiu a identificação de **7** como 7-metoxi-8-(1',2'-diidroxil-3'-metilbutil)-cumarina, conhecida como hidrato de meranzina.

O espectro de RMN de 1H de **8** mostrou grande semelhança com aquele observado para **6**, inclusive pela presença de um singleto em δ 1,83 (3H), referente a hidrogênios metílicos ligados a carbono sp^2 , de dois dubletos em δ 5,04 ($J = 1,7$ Hz, 1H) e em δ 5,27 ($J = 1,7$ Hz, 1H), relativos a hidrogênios de carbono metilênico terminal e de dois dubletos em δ 3,95 ($J = 2,4$ Hz, 1H) e em δ 3,87 ($J = 2,4$ Hz, 1H), cujos valores de deslocamento químico são indicativos de hidrogênios ligados a carbonos oximetínicos de epóxido (Pohlit & Ferraz, 1995). O espectro de massas de **8** mostrou o íon-molecular em m/z 258 Da, compatível com a fórmula molecular $C_{15}H_{14}O_4$, com nove graus de insaturação, sugerindo de um anel epóxido na cadeia lateral. Tais dados sugerem a ocorrência da cumarina febasolina, cuja estrutura foi definida após comparação dos dados de RMN de 1H e de EM com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987). A análise do espectro de RMN de ^{13}C permitiu confirmar a estrutura de **8** devido aos nove sinais referentes a unidade cumarínica (entre δ 161,8 - 107,5), ao grupo metoxílico ligado a C-7 (δ 56,2), aos carbonos sp^2 C-3' (δ 141,2) e C-4' (δ 113,4), ao grupo metílico C-5' (δ 17,3), e aos carbonos carbinólicos de epóxido C-1' (δ 51,7) e C-2' (δ 60,5), como mostrado na Tabela 1.

Além dos sinais referentes à unidade cumarínica, no espectro de RMN de 1H de **9** foram observados dois dubletos em δ 1,06 ($J = 6,9$ Hz, 3H) e em δ 1,00 ($J = 6,9$ Hz, 3H), os quais podem ser atribuídos a dois grupos metílicos de uma unidade isoprênica, ou seja, a H-4' e

H-5'. Ainda nesse espectro, foi observado um singlete largo em δ 5,92 (1H), que devido à desproteção observada, foi atribuído ao hidrogênio ligado a C-1', carbinólico. Uma vez que não foram observados outros sinais no espectro de RMN de ^1H , os quais possam ser atribuídos a H-2', foi sugerido o carbono C-2' é carbonílico. Para confirmação estrutural, a substância **9** foi analisada por espectrometria de massas, a qual mostrou, para esse derivado, o pico do íon molecular em m/z 276 Da, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_5$, com oito insaturações. Destas, quatro são referentes ao anel aromático, três à lactona α,β -insaturada e uma à carbonila da cadeia lateral. Além disso, neste espectro foi observado o pico base em m/z 205, compatível com o fragmento $[\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_4]^+$, relativo a clivagem da ligação C-1'/C-2' somente possível pela presença do grupo carbonila em C-2' na cadeia isoprênica. Finalmente, a estrutura de **9** foi confirmada pela análise dos dados de RMN de ^{13}C (Tabela 1), principalmente pelos sinais referentes aos carbonos da cadeia lateral em δ 68,4 e em δ 212,5 atribuídos a C-1' e C-2', respectivamente, e por comparação com os dados espectrais com aqueles descritos na literatura (Ito & Furukawa, 1987; Imai et al., 1989) para 7-metoxi-8-(1'-hidroxi-2'-oxo-3'-metilbutil)-cumarina, conhecida como murranganona.

Na avaliação da atividade antibacteriana dos extratos hexânico (H) e etanólico (E) assim como das fases de partição desse último (FH, FD, FA e FB) foi observado que o extrato hexânico bruto (H) e a fase em diclorometano (FD) apresentaram atividade antibacteriana frente a *S. aureus*. Após separação dos principais componentes dessas fases, estes foram avaliados quanto ao potencial antimicrobiano tendo sido observado que somente a substância **7** apresentou fraca atividade (halo de inibição = 11 mm - 1000 $\mu\text{g}/\text{disco}$) em relação ao controle positivo - gentamicina (halo de inibição = 27 mm - 240 $\mu\text{g}/\text{disco}$) ao passo que as substâncias restantes foram inativas neste ensaio.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as agências de fomento (MackPesquisa e FAPESP) pelo auxílio concedido para realização desse trabalho.

REFERENCIAS

- Abaul J, Philogène E, Bourgeois, Poupat C, Ahond A, Potier P 1994. Contribution à la connaissance des Rutacées Américaines: étude des feuilles de *Triphasia trifolia*. *J Nat Prod* 57: 846-848.
- Andrade CA, Peitz C, Cúnico M, Carvalho JLS, Abrahão WM, Miguel OG, Miguel MD, Kerber VA 2005. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. Ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae. *Rev Bras Farmacogn* 15: 13-15.
- Barik BR, Dey AK, Chatterjee A 1983. Murrayatin, a coumarins from *Murraya exotica*. *Phytochemistry* 22: 2273-2275.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *Am J Clin Patol* 45: 493-496.
- Dondon R, Bourgeois P, Fery-Forgues S 2006. A new bicoumarin from the leaves and stems of *Triphasia trifolia*. *Fitoterapia* 77: 129-133.
- Ferracin RJ, da Silva MFGF, Fernandes JB, Vieira PC 1999. Flavonoids from the fruits of *Murraya paniculata*. *Phytochemistry* 47: 393-396.
- Imai F, Kinoshita T, Sankawa U 1989. Constituents of the leaves of *Murraya paniculata* collected in Taiwan. *Chem Pharm Bull* 37: 358-362.
- Ito C, Furukawa H 1987. Constituents of *Murraya exotica* L. Structure elucidation of new coumarins. *Chem Pharm Bull* 35: 4277-4285.
- Kinoshita T, Wu JB, Ho FC 1996. The isolation of a prenylcoumarin of chemotaxonomic significance from *Murraya paniculata* var. *omphalocarpa*. *Phytochemistry* 43: 125-128.
- Lago JHG, Roque NF 2002. Cycloartane triterpenoids from *Guarea macrophylla*. *Phytochemistry* 60: 329-332.
- Lorenzi H, Souza HM, Torres MAV, Bacher LB 2003. *Árvores Exóticas no Brasil, madeiras, ornamentais e aromáticas*. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p 332.
- Moreira DL, Guimarães EF, Kaplan MAC 2000. A C-glucosylflavone from leaves of *Piper lhotzkyanum*. *Phytochemistry* 55: 783-786.
- Pohlit AM, Ferraz HMC 1995. Estudos de RMN de epóxidos: Uma visão geral. *Quim Nova* 18: 160-170.
- Rahman AU, Shabber M, Sultani SZ, Jabbar A, Choudhary MI 1997. Cinnamates and coumarins from the leaves of *Murraya paniculata*. *Phytochemistry* 44: 483-485.
- Silverstein RM, Bassler GC, Morrill TC 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 5th Edition, p 212.
- Teresa JP, Urone JG, Marcos JS, Basabe P, Cuadrado MJS, Moro RF 1987. Triterpenes from *Euphorbia broteri*. *Phytochemistry* 26: 1767-1776.
- Ulubelen A, Öksüz S, Bozok-Johansson C, Celik C, Voelter W 2000. Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia viridis*. *Planta Med* 66: 458-462.
- Veloze ES 1995. *Fitoquímica comparada dos gêneros Angostura, Almeidea e Rauia (Rutaceae)*. São Carlos, 127 p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos.
- Wu TS, Chan YY, Leu YL, Huang SC 1994. A flavonoid and indole alkaloid from flowers of *Murraya paniculata*. *Phytochemistry* 37: 287-288.