



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO
DE ESPÉCIES DO GÊNERO *HYPTIS* DO NORDESTE: *H.*
MARTIUSII BENTH, *H. PLATANIFOLIA* MART EX. BENTH, *H.*
SUAVEOLENS (L.) POIT. E *H. PECTINATA* (L.) POIT.**

Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica,
como requisito parcial, para a obtenção do Título de Doutor.

Fortaleza-Ceará

2004

Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Grau de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 30/01/2004

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira (orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa Cavalcante
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Vanderlan da Silva Bolzani
Universidade Estadual Paulista - UNESP

Prof. Dr. Vitor Francisco Ferreira
Universidade Federal Fluminense - UFF

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

AGRADECIMENTOS

A grande motivação para este estudo foi a vivência desde criança com parentes que conhecem e utilizam bem o conhecimento popular sobre plantas. Na verdade quando ingressei no curso de Química Industrial em 1997 não fazia idéia que poderia chegar a estudar cientificamente sobre coisas tão inerentes a minha formação. Hoje posso dizer que conheço um pouquinho mais dessas coisas que compõem a vida, tudo criado por Deus e feito de química.

E por essa oportunidade primeiramente agradeço a Deus, que me deu a vida e força para estar aqui até hoje e poder dar a minha contribuição, e a minha amada família (Mãe, Tia, Chico, Eugênio, Ana Rosa, João Vitor e Polyanna) pelo apoio incondicional em todas as horas, especialmente aquelas de solidão e desespero onde a vontade de estar perto deles era maior que tudo.

Ao professor Edilberto pela orientação e confiança que depositou em mim todos esses anos.

As professoras Mary Anne e Conceição pelo imenso apoio, amizade e disponibilidade, em particular a Professora Mary Anne pela colaboração na publicação dos trabalhos.

Ao professor Raimundo Braz Filho pela valorosa contribuição na elucidação estrutural de alguns compostos.

Aos professores do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica e particularmente aos que fazem parte da Pós-Graduação em Química Orgânica pelo incentivo e amizade que foram imprescindíveis para o meu aperfeiçoamento e qualificação profissional.

A todos colegas operadores dos aparelhos de RMN em especial ao Adriano, Regina Cláudia e Kirley pelos espectros obtidos e ao Daniel Esdras, grande amigo e competente profissional a quem devo o pouco que sei sobre RMN e computação.

As amigas de sempre Regina Cláudia, Mônica, Gizelle, Fátima e Eunice, que são maravilhosas, pela grande amizade, apoio, incentivo e companheirismo.

Aos amigos Geraldo, Daniel Esdras e Adriano pelo incentivo e contribuições técnicas e pessoais bastante valiosas.

Aos professores Letícia (Faculdade de Medicina – UFC), pela contribuição no estudo farmacológico das substâncias isoladas, e aos professores Manoel Andrade

(DQOI - UFC) e Gilvandete (Departamento de Farmácia – UFC) pela contribuição na avaliação da atividade biológica de *Hyptis martiusii*.

Ao professor Edson de Paula Nunes, pela identificação botânica, e a Francy pelo apoio, amizade e companhia durante as viagens ao Crato.

A Olga Ramos (LPN – PADETEC) e João Carlos pela amizade e obtenção dos espectros de massa e ao João Paulo pela amizade e obtenção dos espectros de infravermelho.

Aos meus colegas de cumulativos, pelo companheirismo e grande amizade: Jane Eire, Furtado e Roberto.

Aos colegas do curso pela palavra amiga, na hora certa, e ótima convivência e especialmente aos colegas de bancada: Nilce, Hélder, Claudinha, Grazielle, Susiane, Nirlena, Martins, Cláudio, Alexandre, Henrique, Sávio, Bartholomeu, Adaíla e Eduardo pela ajuda, amizade e incentivo.

As amigas do laboratório de polímeros Jeanny, Cristina e Ducilene pelo apoio e amizade.

Aos funcionários e amigos Sr. Paulo, Lana, Célia, Mundinha, Orlando e Alan Kelvin pelo apoio e amizade.

Um agradecimento especial a Lincoln Davi, fundamental para que fosse finalizada esta etapa da minha vida, pois com seu carinho e dedicação me ajudou a superar todos os obstáculos.

Aos meus grandes amigos da Igreja pela compreensão, amizade e apoio nas horas que mais precisei, especialmente aos Padres Rondon e Humberto, ao Casal Zazal e Nadja, as Irmãs Zélia e Graciana, a Tereza, a Solange e aos casais do Grupo da Paz.

A CAPES, CNPq, FINEP, FUNCAP, PADCT e PRONEX pela concessão de bolsas e pelo suporte financeiro para a execução dos trabalhos aqui desenvolvidos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURA.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xvii
LISTA DE FLUXOGRAMAS.....	xx
LISTA DE QUADROS.....	xx
LISTA DE GRÁFICOS.....	xx
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xxii
CAPÍTULO I INTRODUÇÃO.....	2
CAPÍTULO II CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	8
2.1. Família Labiatae (Lamiaceae) e o gênero <i>Hyptis</i>	8
2.2. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	11
2.3. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Hyptis platanifolia</i> Mart ex. Benth.....	13
2.4. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.....	15
2.5. Considerações botânicas sobre a espécie <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit.....	17
CAPÍTULO III LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	20
3.1. Levantamento sobre atividades biológicas e farmacológicas atribuídas a diterpenos abietanos de espécies da família Labiatae (Lamiaceae).....	20
3.1.1. Atividade antibacteriana.....	20
3.1.2. Atividade citotóxica.....	24
3.1.3. Atividade antiviral.....	25
3.1.4. Atividade antiprotozoária.....	26
3.1.5. Atividade moluscicida.....	27
3.1.6. Atividade antioxidante.....	27
3.2. Levantamento bibliográfico dos dados de RMN ¹ H e ¹³ C de diterpenos abietanos com esqueleto normal contendo o anel C <i>orto</i> ou <i>para</i> quinônico.....	29
CAPÍTULO IV DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	49
4.1. Identificação dos componentes voláteis das espécies estudadas.....	49
4.1.1. Avaliação da constituição química circadiana dos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de <i>H. martiusii</i> Benth em intervalos de três horas.....	49

4.1.2. Identificação da composição química dos óleos essenciais de <i>H. platanifolia</i> Mart ex. Benth.....	56
4.1.3. Identificação da composição química volátil de <i>H. suaveolens</i> (L.) Poit.....	60
4.1.4. Identificação da composição química volátil de <i>H. pectinata</i> (L.) Poit.....	64
4.2. Determinação estrutural dos constituintes químicos não voláteis.....	77
4.2.1. Determinação estrutural de HM-7.....	78
4.2.2. Determinação estrutural de HM-8.....	90
4.2.3. Determinação estrutural de HM-9.....	102
4.2.4. Determinação estrutural de HM-10.....	114
4.2.5. Determinação estrutural de HM-11.....	127
4.2.6. Determinação estrutural de HM-12.....	132
4.2.7. Determinação estrutural de HP1.....	135
4.2.8. Determinação estrutural de HP-2.....	141
4.2.9. Determinação estrutural de HP-3.....	148
4.2.10. Determinação estrutural de HP-4.....	161
4.2.11. Determinação estrutural de HP-5.....	174
4.2.12. Determinação estrutural de HP-6.....	186
4.2.13. Determinação estrutural de HP-7.....	188
4.2.14. Determinação estrutural de HP-8.....	199
CAPÍTULO V ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	213
5.1. Importância econômica de espécies do gênero <i>Hyptis</i>	213
5.2. Estudo da atividade inseticida do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> Benth e do componente majoritário isolado 1,8-cineol.....	214
5.2.1. Ensaio contra <i>Bemisia argentifolii</i>	217
5.2.2. Ensaio contra larvas do <i>Aedes aegypti</i>	218
5.3. Estudos do efeito antiproliferativo de diterpenos abietanos isolados de <i>H.</i> <i>martiusii</i> , denominados carnosol (HM-1) e 11,14-dihidroxi-8,11,13-abietatrien- 7-ona (HM-2).....	220
CAPÍTULO VI PARTE EXPERIMENTAL.....	225
6.1. Obtenção do material botânico.....	225
6.1.1. <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	225
6.1.2. <i>Hyptis platanifolia</i> Mart ex. Benth.....	225
6.1.3. <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.....	226
6.1.4. <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit.....	226
6.2. Métodos cromatográficos.....	226
6.2.1. Cromatografia líquida gravitacional em coluna aberta (CC).....	226

6.2.2. Cromatografia líquida em coluna sob pressão (Flash).....	227
6.2.3. Cromatografia de exclusão molecular.....	227
6.2.4. Cromatografia em camada delgada analítica (CCD).....	227
6.3. Métodos espectrométricos.....	228
6.3.1. Espectrometria na região infravermelho (IV).....	228
6.3.2. Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN ¹ H) e de carbono-13 (RMN ¹³ C)	228
6.3.3. Espectrometria de massa (EM).....	230
6.4. Métodos para obtenção de dados físicos.....	230
6.4.1. Ponto de fusão (Pf).....	230
6.4.2. Rotações óptica (α) e específica.....	230
6.5. Constituição química volátil.....	231
6.5.1. <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	231
6.5.1.1. Obtenção do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> Benth.....	231
6.5.1.2. Tratamento cromatográfico de OEHM-F/99: isolamento de HM-12.....	232
6.5.1.3. Obtenção dos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de <i>H. martiusii</i> para estudo circadiano.....	232
6.5.2. <i>Hyptis plataniifolia</i> Mart ex. Benth.....	233
6.5.2.1. Obtenção do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas de <i>H. plataniifolia</i> Mart ex. Benth.....	233
6.5.3. <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.....	234
6.5.3.1. Obtenção dos óleos essenciais das folhas de <i>H. suaveolens</i> (L.) Poit.....	234
6.5.4. <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit.....	235
6.5.4.1. Obtenção dos óleos essenciais das folhas de <i>H. pectinata</i> (L.) Poit.....	235
6.6. Constituição química não volátil.....	238
6.6.1. <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	238
6.6.1.1. Obtenção dos extratos hexânicos (HMHI e HMHR) e etanólicos (HMEI e HMER) das inflorescências globulosas e raízes de <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	238
6.6.1.2. Tratamento cromatográfico de HMHI.....	238
6.6.1.3. Fracionamento cromatográfico de HMHI-A: isolamento de HM-1 e HM-7.....	239
6.6.1.4. Tratamento cromatográfico de HMHR.....	241
6.6.1.5. Fracionamento cromatográfico de HMHR-C1: isolamento de HM-2, HM-3, HM-8 e HM-11.....	241
6.6.1.6. Fracionamento cromatográfico de HMHR-C2: isolamento de HM-6.....	242
6.6.1.7. Tratamento cromatográfico de HMER.....	242
6.6.1.8. Fracionamento cromatográfico de HMER-C: isolamento de HM-4, HM-5 e HM-9.....	243
6.6.1.9. Fracionamento cromatográfico de HMER-A: isolamento de HM-10.....	243
6.6.2. <i>Hyptis plataniifolia</i> Mart ex. Benth.....	245

6.6.2.1	Obtenção dos extratos hexânico (HPHT e HPHR) e etanólico (HPET e HPER) dos talos e raízes de <i>H. platanifolia</i>	245
6.6.2.2	Isolamento de HP-1.....	245
6.6.2.3	Análise cromatográfica de HPHT.....	245
6.6.2.4	Fracionamento cromatográfico de HPHT-C: isolamento de HP-1 e HP-6.....	246
6.6.2.5	Particionamento líquido-líquido de HPET.....	246
6.6.2.6	Fracionamento cromatográfico de HPET-D: isolamento de HP-2.....	247
6.6.2.7	Análise cromatográfica de HPHR.....	249
6.6.2.8	Estudo da fração HPHR-H: isolamento de HP-3.....	249
6.6.2.9	Fracionamento cromatográfico de HPHR-C: isolamento de HP-4 e HP-7.....	250
6.6.2.10	Particionamento líquido-líquido de HPER.....	250
6.6.2.11	Fracionamento cromatográfico de HPER-D: isolamento de HP-5 e HP-8.....	251
CAPÍTULO VII CONCLUSÕES		254
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		257

LISTA DE ABREVIATURAS

BB	Broad-Band
CC	Coluna Cromatográfica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CGL/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COSY	Correlated Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EM	Espectro de Massa
HMBC	Heteronuclear Multiple Band Correlation
HMHI	<i>Hyptis martiusii</i> extrato Hexânico das Inflorescências globulosas
HMEI	<i>Hyptis martiusii</i> extrato Etanólico das Inflorescências globulosas
HMHR	<i>Hyptis martiusii</i> extrato Hexânico das Raízes
HMER	<i>Hyptis martiusii</i> extrato Etanólico das Raízes
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPHT	<i>Hyptis platanifolia</i> extrato Hexânico dos Talos
HPET	<i>Hyptis platanifolia</i> extrato Etanólico dos Talos
HPHR	<i>Hyptis platanifolia</i> extrato Hexânico das Raízes
HPER	<i>Hyptis platanifolia</i> extrato Etanólico das Raízes
IV	Infravermelho
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
OEHM-F	Oleo Essencial <i>Hyptis martiusii</i> Folhas
OEHM-I	Oleo Essencial <i>Hyptis martiusii</i> Inflorescências globulosas
OEHPL-F	Oleo Essencial <i>Hyptis platanifolia</i> Folhas
OEHPL-I	Oleo Essencial <i>Hyptis platanifolia</i> Inflorescências globulosas
OEHSF-G	Oleo Essencial <i>Hyptis suaveolens</i> Folhas coletadas no Garapa
OEHSF-P	Oleo Essencial <i>Hyptis suaveolens</i> Folhas coletadas no Pici
OEHPE-F	Oleo Essencial <i>Hyptis pectinata</i> Folhas
Pf	Ponto de Fusão
ppm	Parte por milhão
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio-1
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
UFC	Universidade Federal do Ceará

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Fotos de um espécime de <i>Hyptis martiusii</i> encontrado na localidade de Moreilândia – Chapada do Araripe – Pe.....	11
FIGURA 2-	Foto de um espécime de <i>Hyptis martiusii</i> , arbusto inteiro, mostrando seu habitat natural.....	12
FIGURA 3-	Foto de um espécimen de <i>Hyptis platanifolia</i> , destacando folhas e ramo com inflorescências globulosas.....	13
FIGURA 4-	Foto de um espécimen de <i>H. platanifolia</i> encontrado na localidade de Barreiro Grande – Crato – Ceará, detalhando arbustos em seu habitat natural.....	14
FIGURA 5-	Fotos de espécimens de <i>Hyptis suaveolens</i> encontrados no Campus do Pici – UFC-Fortaleza-Ceará.....	16
FIGURA 6-	Foto de um espécimen de <i>Hyptis pectinata</i> encontrado na cidade de Barbalha – Ceará, destacando ramo com folhas e flores lilás.....	17
FIGURA 7-	Foto de um espécimen de <i>Hyptis pectinata</i> encontrado em Barbalha-Ceará, detalhando arbusto em seu habitat natural.....	18
FIGURA 8-	Cromatograma do OEHMF-6.....	52
FIGURA 9-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-6.....	52
FIGURA 10-	Cromatograma do OEHMF-9.....	52
FIGURA 11-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-9.....	52
FIGURA 12-	Cromatograma do OEHMF-12.....	52
FIGURA 13-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-12.....	52
FIGURA 14-	Cromatograma do OEHMF-15.....	53
FIGURA 15-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-15.....	53
FIGURA 16	Cromatograma do OEHMF-18.....	53
FIGURA 17	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-18.....	53
FIGURA 18-	Cromatograma do OEHMF-21.....	53
FIGURA 19-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMF-21.....	53
FIGURA 20-	Cromatograma do OEHMI-6.....	53
FIGURA 21-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-6	54
FIGURA 22-	Cromatograma do OEHMI-9.....	54
FIGURA 23-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-9.....	54
FIGURA 24-	Cromatograma do OEHMI-12.....	54
FIGURA 25-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-12.....	54
FIGURA 26-	Cromatograma do OEHMI-15.....	55
FIGURA 27-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-15.....	55
FIGURA 28-	Cromatograma do OEHMI-18.....	55
FIGURA 29-	Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-18.....	55

FIGURA 30- Cromatograma do OEHMI-21.....	55
FIGURA 31- Espectro de RMN ¹ H do OEHMI-21.....	55
FIGURA 32- Cromatograma do OEHPL-F.....	58
FIGURA 33- Espectro de RMN ¹ H do OEHPL-F.....	58
FIGURA 34- Cromatograma do OEHPL-I.....	59
FIGURA 35- Espectro de RMN ¹ H do OEHPL-I.....	59
FIGURA 36- Cromatograma do OEHSF-G.....	62
FIGURA 37- Espectro de RMN ¹ H do OEHSF-G.....	62
FIGURA 38- Cromatograma do OEHSF-P.....	63
FIGURA 39- Espectro de RMN ¹ H do OEHSF-P.....	63
FIGURA 40- Cromatograma do OEHPE-F.....	66
FIGURA 41- Espectro de RMN ¹ H do OEHPE-F.....	66
FIGURA 42- Espectro do α -tujeno.....	67
FIGURA 43- Espectro do α -pineno.....	67
FIGURA 44- Espectro do sabineno.....	67
FIGURA 45- Espectro de massa do β -pineno.....	67
FIGURA 46- Espectro de massa do mirceno.....	67
FIGURA 47- Espectro de massa do Δ -3-careno.....	68
FIGURA 48- Espectro de massa do <i>p</i> -cimeno.....	68
FIGURA 49- Espectro de massa do limoneno.....	68
FIGURA 50- Espectro de massa do 1,8-cineol.....	68
FIGURA 51- Espectro de massa do γ -terpineno.....	68
FIGURA 52- Espectro de massa da fenchona.....	69
FIGURA 53- Espectro de massa do linalol.....	69
FIGURA 54- Espectro de massa do β -fenchol.....	69
FIGURA 55- Espectro de massa do mircenol.....	69
FIGURA 56- Espectro de massa do α -terpineol.....	69
FIGURA 57- Espectro de massa do α -cubebeno.....	70
FIGURA 58- Espectro de massa do α -copaeno.....	70
FIGURA 59- Espectro de massa do β -bourbuneno.....	70
FIGURA 60- Espectro de massa do β -elemeno.....	70
FIGURA 61- Espectro de massa do β -cariofileno.....	70
FIGURA 62- Espectro de massa do α -bergamoteno.....	71
FIGURA 63- Espectro de massa do α -humuleno.....	71
FIGURA 64- Espectro de massa do γ -muuroleno.....	71
FIGURA 65- Espectro de massa do germacreno D.....	71
FIGURA 66- Espectro de massa do viridifloreno.....	71
FIGURA 67- Espectro de massa do fenil-etil- α -metil butanoato.....	72
FIGURA 68- Espectro de massa do α -zingibereno.....	72

FIGURA 69-	Espectro de massa do biciclogermacreno.....	72
FIGURA 70-	Espectro de massa do β -bisaboleno.....	72
FIGURA 71-	Espectro de massa do germacreno A.....	72
FIGURA 72-	Espectro de massa do γ -cadineno.....	73
FIGURA 73-	Espectro de massa do α -cadineno.....	73
FIGURA 74-	Espectro de massa do <i>trans</i> -calameno.....	73
FIGURA 75-	Espectro de massa do germacreno B.....	73
FIGURA 76-	Espectro de massa do peruvio.....	73
FIGURA 77-	Espectro de massa do espatulenol	74
FIGURA 78-	Espectro de massa do óxido de cariofileno	74
FIGURA 79-	Espectro de massa do globulol	74
FIGURA 80-	Espectro de massa do 1,2-epóxido humuleno.....	74
FIGURA 81-	Espectro de massa do 5,7- <i>epi</i> - α -eudesmol.....	74
FIGURA 82-	Espectro de massa do 1,10- <i>di-epi</i> -cubenol.....	75
FIGURA 83-	Espectro de massa do τ -cadinol.....	75
FIGURA 84-	Espectro de massa do α -cadinol.....	75
FIGURA 85-	Espectro de massa do 10 β -calameno.....	75
FIGURA 86-	Espectro de massa do 10 α -calameno.....	75
FIGURA 87-	Espectro de massa do <i>cis</i> -14-muuroil-5-en-4-ona.....	76
FIGURA 88-	Espectro de IV de HM-7.....	85
FIGURA 89-	Espectro de massa de HM-7.....	85
FIGURA 90-	Espectro de RMN ^{13}C – BB de HM-7.....	86
FIGURA 91-	Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HM-7.....	86
FIGURA 92-	Espectro de RMN ^1H de HM-7.....	87
FIGURA 93-	Espectro de COSY de HM-7.....	87
FIGURA 94-	Espectro de TOCSY de HM-7.....	88
FIGURA 95-	Espectro de HMQC de HM-7.....	88
FIGURA 96-	Espectro de HMBC de HM-7.....	89
FIGURA 97-	Espectro de IV de HM-8.....	97
FIGURA 98-	Espectro de massa de HM-8.....	97
FIGURA 99-	Espectro de RMN ^{13}C – BB de HM-8.....	98
FIGURA 100-	Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HM-8.....	98
FIGURA 101-	Espectro de RMN ^1H de HM-8.....	99
FIGURA 102-	Espectro de RMN ^1H expansão de HM-8.....	99
FIGURA 103-	Espectro de COSY de HM-8.....	100
FIGURA 104-	Espectro de HMQC de HM-8.....	100
FIGURA 105-	Espectro de HMBC de HM-8.....	101
FIGURA 106-	Espectro de IV de HM-9.....	109
FIGURA 107-	Espectro de massa de HM-9.....	109
FIGURA 108-	Espectro de RMN ^{13}C – BB de HM-9.....	110

FIGURA 109-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HM-9.....	110
FIGURA 110-	Espectro de RMN ¹ H de HM-9.....	111
FIGURA 111-	Espectro de COSY de HM-9.....	111
FIGURA 112-	Espectro de NOESY de HM-9.....	112
FIGURA 113-	Espectro de HMQC de HM-9.....	112
FIGURA 114-	Espectro de HMBC de HM-9.....	113
FIGURA 115-	Espectro de IV de HM-10.....	122
FIGURA 116-	Espectro de massa de HM-10.....	122
FIGURA 117-	Espectro de RMN ¹³ C – BB de HM-10.....	123
FIGURA 118-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HM-10.....	123
FIGURA 119-	Espectro de RMN ¹ H de HM-10.....	124
FIGURA 120-	Espectro de COSY de HM-10.....	124
FIGURA 121-	Espectro de HMQC de HM-10.....	125
FIGURA 122-	Espectro de HMBC de HM-10.....	126
FIGURA 123-	Espectro de IV de HM-11.....	130
FIGURA 124-	Espectro de RMN ¹ H de HM-11.....	130
FIGURA 125-	Espectro de RMN ¹³ C – BB de HM-11.....	131
FIGURA 126-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HM-11.....	131
FIGURA 127-	Espectro de RMN ¹ H de HM-12.....	134
FIGURA 128-	Espectro de RMN ¹³ C – BB e DEPT 135 de HM-11.....	134
FIGURA 129-	Espectro de IV de HP-1.....	138
FIGURA 130-	Espectro de massa de HP-1.....	138
FIGURA 131-	Espectro de RMN ¹³ C – BB de HP-1.....	139
FIGURA 132-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HP-1.....	139
FIGURA 133-	Espectro de RMN ¹ H de HP-1.....	140
FIGURA 134-	Espectro de IV de HP-2.....	145
FIGURA 135-	Espectro de massa de HP-2.....	145
FIGURA 136-	Espectro de RMN ¹³ C – BB de HP-2.....	146
FIGURA 137-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HP-2.....	146
FIGURA 138-	Espectro de RMN ¹ H de HP-2.....	147
FIGURA 139-	Espectro de IV de HP-3.....	156
FIGURA 140-	Espectro de massa de HP-3.....	156
FIGURA 141-	Espectro de RMN ¹³ C – BB de HP-3.....	157
FIGURA 142-	Espectro de RMN ¹³ C – DEPT 135 de HP-3.....	157
FIGURA 143-	Espectro de RMN ¹ H de HP-3.....	158
FIGURA 144-	Espectro de COSY de HP-3.....	158
FIGURA 145-	Espectro de HMQC de HP-3.....	159
FIGURA 146-	Espectro de HMBC de HP-3.....	160
FIGURA 147-	Espectro de IV de HP-4.....	169
FIGURA 148-	Espectro de massa de HP-4.....	169

FIGURA 149- Espectro de RMN ^{13}C – BB de HP-4.....	170
FIGURA 150- Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HP-4.....	170
FIGURA 151- Espectro de RMN ^1H de HP-4.....	171
FIGURA 152- Espectro de RMN ^1H expansão de HP-4.....	171
FIGURA 153- Espectro de COSY de HP-4.....	172
FIGURA 154- Espectro de HMQC de HP-4.....	172
FIGURA 155- Espectro de HMBC de HP-4.....	173
FIGURA 156- Espectro de IV de HP-5.....	181
FIGURA 157- Espectro de massa de HP-5.....	181
FIGURA 158- Espectro de RMN ^{13}C – BB de HP-5.....	182
FIGURA 159- Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HP-5.....	182
FIGURA 160- Espectro de RMN ^1H de HP-5.....	183
FIGURA 161- Espectro de RMN ^1H expansão de HP-5.....	183
FIGURA 162- Espectro de COSY de HP-5.....	184
FIGURA 163- Espectro de HMQC de HP-5.....	184
FIGURA 164- Espectro de HMBC de HP-5.....	185
FIGURA 165- Espectro de IV de HP-6.....	187
FIGURA 166- Espectro de RMN ^1H de HP-6.....	187
FIGURA 167- Espectro de IV de HP-7.....	195
FIGURA 168- Espectro de RMN ^1H de HP-7.....	195
FIGURA 169- Espectro de RMN ^{13}C – BB de HP-7.....	196
FIGURA 170- Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HP-7.....	196
FIGURA 171- Espectro de COSY de HP-7.....	197
FIGURA 172- Espectro de HMQC de HP-7.....	197
FIGURA 173- Espectro de HMBC de HP-7.....	198
FIGURA 174- Espectro de IV de HP-8.....	207
FIGURA 175- Espectro de massa de HP-8.....	207
FIGURA 176- Espectro de RMN ^{13}C – BB de HP-8.....	208
FIGURA 177- Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135 de HP-8.....	208
FIGURA 178- Espectro de RMN ^1H de HP-8.....	209
FIGURA 179- Espectro de RMN ^1H expansão de HP-8.....	209
FIGURA 180- Espectro de COSY de HP-8.....	210
FIGURA 181- Espectro de HMQC de HP-8.....	210
FIGURA 182- Espectro de HMBC de HP-8.....	211

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	Relação de espécies do gênero <i>Hyptis</i> encontradas na flora brasileira.....	10
TABELA 2-	Dados de RMN ¹ H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para-quinônico.....	36
TABELA 3-	Dados de RMN ¹³ C de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para-quinônico.....	44
TABELA 4-	Avaliação da composição majoritária do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> durante o dia a partir de seis coletas, em intervalos de três horas.....	50
TABELA 5-	Avaliação da composição majoritária do óleo essencial das inflorescências globulosas de <i>H. martiusii</i> durante o dia a partir de seis coletas, em intervalos de três horas.....	51
TABELA 6-	Componentes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de <i>H. platanifolia</i>	57
TABELA 7-	Componentes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de espécimens de <i>H. suaveolens</i> coletados no Garapa e Pici.....	61
TABELA 8-	Componentes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de espécimens de <i>H. pectinata</i>	65
TABELA 9-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de HM-7, por padrão de hidrogenação.....	79
TABELA 10-	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, (CD ₃) ₂ CO) de HM-7 comparados com os valores de RMN ¹³ C (60 MHz, (CD ₃) ₂ CO) do isorosmanol.....	81
TABELA 11-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-7 (HMQC).....	83
TABELA 12-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-7 (HMBC).....	84
TABELA 13-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HM-8, por padrão de hidrogenação.....	91
TABELA 14-	Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de HM-8 comparados com os valores descritos na literatura para 7-acetilhorminona e horminona.....	93
TABELA 15-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-8 (HMQC).....	95
TABELA 16-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-8 (HMBC).....	96
TABELA 17-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125, MHz, CDCl ₃) de HM-9 por padrão de hidrogenação.....	103
TABELA 18-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-9 (HMQC).....	107
TABELA 19-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-9 (HMBC).....	108
TABELA 20-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, CD ₃ OD) de HM-10 por padrão de hidrogenação.....	115
TABELA 21-	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CD ₃ OD) de HM-10 comparados com os valores RMN ¹³ dos ácidos tormêntico, 2- <i>epi</i> -tormêntico e euscáfico.....	117

TABELA 22-	Dados de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de HM-10 comparados com os valores de RMN ¹ H do ácido tormêntico e euscáfico.....	118
TABELA 23-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-10 (HMQC).....	120
TABELA 24-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-10 (HMBC).....	121
TABELA 25-	Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HM-11 comparados com os valores da literatura para o sitosterol e estigmasterol.....	129
TABELA 26-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HM-12 por padrão de hidrogenação.....	132
TABELA 27-	Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HM-12 comparados com os valores da literatura para o 1,8-cineol.....	133
TABELA 28-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP-1 por padrão de hidrogenação.....	136
TABELA 29-	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP-1 comparados com os valores de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO-d ₆) do ácido betulínico.....	137
TABELA 30-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP-2 por padrão de hidrogenação.....	142
TABELA 31-	Dados de RMN ¹ H (500 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP-2 comparados com os valores de RMN ¹ H (300 MHz, C ₅ D ₅ N) do ácido ursólico.....	143
TABELA 32-	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de HP-2 comparados com os valores de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do ácido ursólico.....	144
TABELA 33-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-3 por padrão de hidrogenação.....	149
TABELA 34-	Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-3 comparados com os valores de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do inuroyleanol.....	152
TABELA 35-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-3 (HMQC).....	154
TABELA 36-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-3 (HMBC).....	155
TABELA 37-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP-4 por padrão de hidrogenação.....	162
TABELA 38-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-4 (HMQC).....	167
TABELA 39-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-4 (HMBC).....	168
TABELA 40-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-5 por padrão de hidrogenação.....	174
TABELA 41-	Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-5 comparados com os valores de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do inuroyleanol e do 20-oxoinuroyleanol.....	177
TABELA 42-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-5 (HMQC).....	179
TABELA 43-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-5 (HMBC).....	180
TABELA 44-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP-7 por padrão de hidrogenação.....	189

TABELA 45-	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP-7, majoritário e minoritário, comparados com os valores de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de HP-4.....	192
TABELA 46-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-7 major (HMQC).....	193
TABELA 47-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-7 major (HMBC).....	194
TABELA 48-	Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-8 por padrão de hidrogenação.....	200
TABELA 49-	Dados de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de HP-8 comparados com os valores de RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de coulterona.....	203
TABELA 50-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-8 (HMQC).....	205
TABELA 51-	Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-8 (HMBC).....	206
TABELA 52-	Componentes identificados no óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i>	216
TABELA 53-	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> contra <i>Bemisia argentifolii</i> ..	218
TABELA 54-	Efeito do 1,8-cineol contra <i>Bemisia argentifolii</i>	218
TABELA 55-	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> e 1,8-cineol contra larvas de <i>Aedes aegypti</i>	219
TABELA 56-	Atividade citotóxica de HM-1 e HM-2, isolados de <i>H. martiusii</i> em células tumorais.....	222
TABELA 57-	Atividade antimitótica de HM-1 e HM-2, isolados de <i>H. martiusii</i> no desenvolvimento embrionário de ouriço do mar (<i>Lytechinus variegatus</i>).....	223
TABELA 58-	Dados da extração do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i>	231
TABELA 59-	Frações obtidas da CC de OEHM-F/99.....	232
TABELA 60-	Análise circadiana e composição química dos óleos essenciais das folhas e inflorescências de <i>H. martiusii</i> em intervalos de três horas.....	233
TABELA 61-	Dados da extração do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas de <i>H. platanifolia</i>	234
TABELA 62-	Dados da extração do óleo essencial das folhas de <i>H. suaveolens</i>	234
TABELA 63-	Dados da extração do óleo essencial das folhas de <i>H. pectinata</i>	235
TABELA 64-	CC de HMHI.....	238
TABELA 65-	CC de HMHR.....	241
TABELA 66-	CC de HMER.....	243
TABELA 67-	CC de HPHT.....	246
TABELA 68-	Partição L/L de HPET.....	247
TABELA 69-	CC de HPHR.....	249
TABELA 70-	Partição L/L de HPER.....	251

LISTA DE FLUXOGRAMAS

FLUXOGRAMA 1-	Metodologia geral de obtenção dos óleos essenciais.....	236
FLUXOGRAMA 2-	Isolamento de HM-12.....	237
FLUXOGRAMA 3-	Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das inflorescências globulosas de <i>H. martiusii</i> e isolamento de HM-1 e HM-7.....	240
FLUXOGRAMA 4-	Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das raízes de <i>H. martiusii</i> e isolamento dos compostos HM-2, HM-3, HM-4, HM-5, HM-6, HM-8, HM-9, HM-10 e HM-11.....	244
FLUXOGRAMA 5-	Obtenção dos extratos hexânico e etanólico dos talos de <i>H. platanifolia</i> e isolamento dos compostos HP-1, HP-2 e HP-6.....	248
FLUXOGRAMA 6-	Obtenção dos extratos hexânicos e etanólicos das raízes de <i>H. platanifolia</i> e isolamento dos compostos HP-3, HP-4, HP-5, HP-7 e HP-8.....	252

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	Componentes não voláteis isolados de <i>Hyptis martiusii</i> Benth.....	5
QUADRO 2 -	Componentes não voláteis isolados de <i>Hyptis platanifolia</i> Mart ex Benth.....	6
QUADRO 3 -	Proposta biogenética para formação de abietanos <i>orto</i> e <i>para</i> -quinônicos.....	29
QUADRO 4 -	Estruturas dos compostos não voláteis caracterizados de <i>Hyptis martiusii</i>	77
QUADRO 5 -	Possíveis caminhos de fragmentação no espectrômetro de massa para HM-7...	82
QUADRO 6 -	Possíveis caminhos de fragmentação no espectrômetro de massa para HM-8...	94
QUADRO 7 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HM-9 no espectrômetro de massa...	106
QUADRO 8 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HM-10 no espectrômetro de massa.	119
QUADRO 9 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HP-3 no espectrômetro de massa...	153
QUADRO 10 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HP-4 no espectrômetro de massa...	166
QUADRO 11 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HP-5 no espectrômetro de massa...	178
QUADRO 12 -	Possíveis caminhos de fragmentação para HP-8 no espectrômetro de massa...	204
QUADRO 13 -	Proposta biogenética para a formação dos metabólitos secundários isolados de <i>Hyptis platanifolia</i>	255

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1-	Gráfico em barras representativo do estudo circadiano da composição majoritária do óleo essencial das folhas de <i>H. martiusii</i> durante o dia em intervalos de três horas.....	50
GRÁFICO 2 -	Gráfico em barras representativo do estudo circadiano da composição majoritária do óleo essencial das inflorescências globulosas de <i>H. martiusii</i> durante o dia em intervalos de três horas.....	51

RESUMO

Este trabalho relata o estudo químico dos componentes voláteis das espécies do gênero *Hyptis* (Labiatae) presentes na flora Nordestina: *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth (folhas e inflorescências globulosas), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (folhas) e *Hyptis pectinata* (L.) Poit. (folhas), bem como o estudo circadiano do óleo essencial de *Hyptis martiusii* Benth (folhas e inflorescências globulosas).

Foi também realizado o estudo fitoquímico para isolamento de componentes não voláteis das espécies *Hyptis martiusii* Benth e *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth, e ensaios biológicos com o óleo essencial das folhas, HM-12 (1,8-cineol) e HM-1 (carnasol) e HM-2 (11,14-diidroxi-8,11,13-trien-7-ona).

O estudo dos óleos essenciais resultou na identificação de quarenta e seis constituintes no total e a avaliação do potencial biológico do óleo essencial das folhas de *H. martiusii* e do 1,8-cineol, monoterpene oxigenado majoritário na composição, como agentes inseticidas.

A análise cromatográfica dos extratos obtidos para isolamento de componentes não voláteis resultou na caracterização de três diterpenos abietanos, um triterpeno e uma mistura de esteróides para *Hyptis martiusii* Benth e na caracterização de cinco diterpenos abietanos, dois triterpenos e uma mistura de esteróides para *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth. Das substâncias isoladas três são inéditas na literatura e todas as substâncias isoladas são inéditas para as espécies. O estudo do efeito antiproliferativo de HM-1 e HM-2, isoladas de *Hyptis martiusii* Benth, revelou que as substâncias testadas possuem baixa toxicidade para a célula.

Os constituintes voláteis foram identificados por CGL/EM, comparação dos índices de Kovat corrigidos e espectros de massa em espectroteca, seguida de comparação visual com dados da literatura. Técnicas espectrométricas, tais como, IV, EM, RMN ^1H e RMN ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais do tipo ^1H , ^1H -COSY e ^1H , ^{13}C -COSY ($^n\text{J}_{\text{CH}}$, n=1, 2 e 3) com detecção inversa, e comparação com dados da literatura; foram utilizadas para a determinação estrutural dos constituintes não voláteis.

ABSTRACT

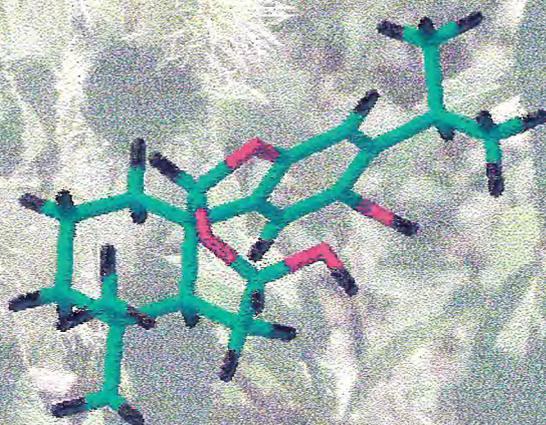
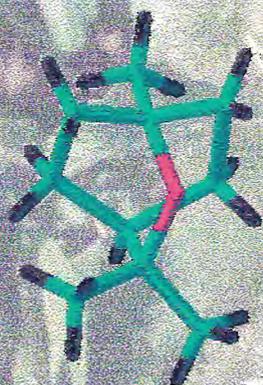
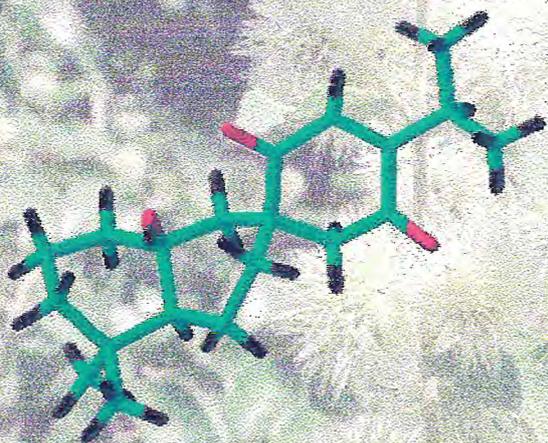
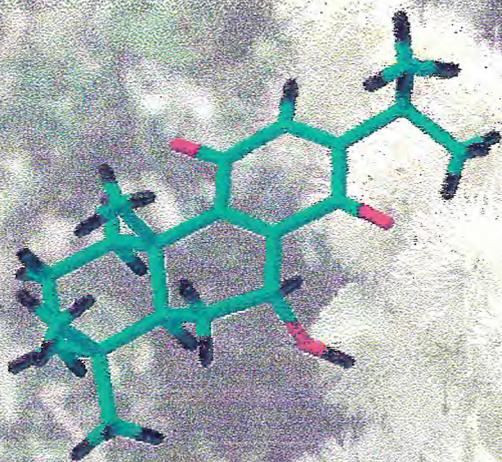
This work describes the chemical study of the volatile components of species of the genus *Hyptis* (Labiatae) endemic of the native flora of Northeastern Brazil: *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth (leaves and inflorescences), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (leaves) and *Hyptis pectinata* (L.) Poit. (leaves), as well as the circadian study of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth (leaves and inflorescences).

It was also accomplished the phytochemical study for isolation of the non volatile components of the species *Hyptis martiusii* Benth and *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth, and biological assays with the essential oil of the leaves, HM-12 (1,8-cineol) and HM-1 (carnasol) and HM-2 (11,14-dihydroxy-8,11,13-trien-7-one).

The study of the essential oils resulted in the constituent identification of forty-six volatile constituents in the total, and the evaluation of the biological potential of the essential oil of the leaves of *H. martiusii* and 1,8-cineol, majority oxygenated monoterpene in the composition, as insecticide agents.

The chromatographic analysis of the extracts obtained for isolation of non volatile components resulted in the further characterization of three abietane diterpenes, a triterpene and a steroids mixture, for *H. martiusii* Benth in the characterization of five abietane diterpenes, two triterpenes and a steroids mixture for *H. platanifolia* Mart ex. Benth. Of the isolated substances three are unpublished in the literature and all isolated substances are unpublished for the species. The study of the antiproliferative effect of HM-1 and HM-2, isolated of *H. martiusii* Benth, revealed that the tested substances possess low toxidade the cell.

The identification of the volatile constituents was accomplished by GC-MS after Kovat's indices and mass spectra comparison with data from a computer library, as well visual comparison to published spectral data. Spectrometric analysis such as infrared and nuclear magnetic ressonance including special pulse sequences such as ^1H , ^1H -COSY and ^1H , ^{13}C -COSY ($^n\text{J}_{\text{CH}}$, $n=1, 2 \text{ e } 3$) with normal and inverse detection, and comparison to literature data was utilized to structural determination of the non-volatile constituents and chemical derivatives.



INTRODUÇÃO

1.0. INTRODUÇÃO

Visando a continuidade da investigação fitoquímica de plantas da flora nordestina, foi iniciado um estudo sobre espécies do gênero *Hyptis*, conhecidas por serem ervas bastante aromáticas e com considerável uso na medicina popular, especialmente em populações indígenas. Os índios são sábios no conhecimento sobre o que a natureza tem a lhes oferecer e por isso servem como orientadores no reconhecimento de produtos naturais com importância econômica. Os primeiros médicos portugueses que vieram para o Brasil, diante da escassez na colônia, de remédios empregados na Europa, muito cedo foram obrigados a perceber a importância dos remédios indígenas. O cronista brasileiro Gabriel Soares de Souza denominava os produtos medicinais utilizados pelos índios de “as árvores e ervas da virtude” (PINTO, 2002).

Este trabalho de tese é resultado da continuidade do estudo da composição química volátil e não-volátil da espécie *Hyptis martiusii* Benth, que foi iniciado durante o mestrado, compondo minha dissertação (ARAÚJO, 2000), e que continuou no doutorado. Foram também realizados estudos de outras espécies do mesmo gênero: *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth (voláteis e não-voláteis), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (voláteis) e *Hyptis pectinata* (L.) Poit (voláteis).

A continuação do estudo com a espécie *Hyptis martiusii* Benth se deu com o isolamento e caracterização do constituinte principal do óleo essencial das folhas e posterior análise da atividade inseticida do óleo e do seu principal constituinte e estudo dos constituintes químicos não voláteis das inflorescências e raízes dos extratos hexânicos e etanólicos, dos quais foram isolados além dos seis compostos já relatados (ARAÚJO, 2000) mais cinco componentes não voláteis (**Quadro 1**).

O interesse pela espécie *H. platanifolia* surgiu durante uma viagem de coleta ao Crato-Ce onde observamos a presença de espécimens que cresciam nos barrancos das estradas, próximos aos barreiros (pequenos lagos artificiais), que os moradores da região denominam de melosa-de-bola, erva silvestre que serve de alimento para o gado. Alguns aspectos morfológicos dos espécimens encontrados, particularmente as inflorescências globulosas, se assemelhavam a *H. martiusii*, porém com odor bastante diferente. Coletamos alguns espécimens e logo após a identificação botânica, o levantamento bibliográfico revelou a ausência de estudos fitoquímicos com esta espécie, servindo de incentivo para iniciarmos este estudo. O resultado foi o isolamento de oito

constituíntes não voláteis (**Quadro 2**) e a identificação da composição química do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas.

H. suaveolens e *H. pectinata* são espécies abundantes no Ceará, além de serem ervas bastante utilizadas na medicina popular inclusive por tribos indígenas da América Latina e já possuem algum relato na literatura (AZEVEDO ET AL, 2002; MIRANDA ET AL, 1993). A primeira é conhecida popularmente por bamburral e é bastante estudada, existindo relatos de componentes não voláteis como di e triterpenos, porém o maior número de publicações é em relação a composição volátil das folhas e suas atividades biológicas e farmacológicas. Um dos objetivos deste trabalho é apresentar dados da composição química do óleo essencial das folhas de espécimens de *H. suaveolens* encontrados em diferentes localidades, já que é notório aos fitoquímicos que as variações edafoclimáticas podem interferir na composição química das plantas.

Hyptis pectinata, não tão popular quanto sua congênere *H. suaveolens*, é conhecida por seu odor e sabor quando utilizada como condimento na culinária regional da região sudeste do México. Apresenta alguns relatos na literatura onde são mencionados estudos fitoquímicos da parte aérea e isolamento de triterpenos pentacíclicos e α -pironas com atividade biológica (MIRANDA, 1993). O estudo realizado por nós foi de identificação dos componentes voláteis, uma vez que já existe este relato na literatura, em se tratando de uma erva medicinal é de fundamental importância a comparação entre os dados, pois encontram-se em regiões bastante diferentes.

O incentivo para se estudar espécies de *Hyptis* surgiu devido a abundância de espécies deste gênero no estado do Ceará aliado ao êxito na descoberta de novas estruturas e estudos fitoquímicos de novas espécies.

Para este estudo fitoquímico foram empregadas técnicas cromatográficas como: cromatografia líquida em coluna aberta e sob pressão (cromatografia flash) e cromatografia por exclusão molecular em Sephadex-LH 20; bem como as técnicas de caracterização estrutural, tais como: Infravermelho (IV), Espectrometria de Massa (EM), Cromatografia Gasosa-Líquida acoplada a Espectrometria de Massa (CGL/EM) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), inclusive técnicas bidimensionais.

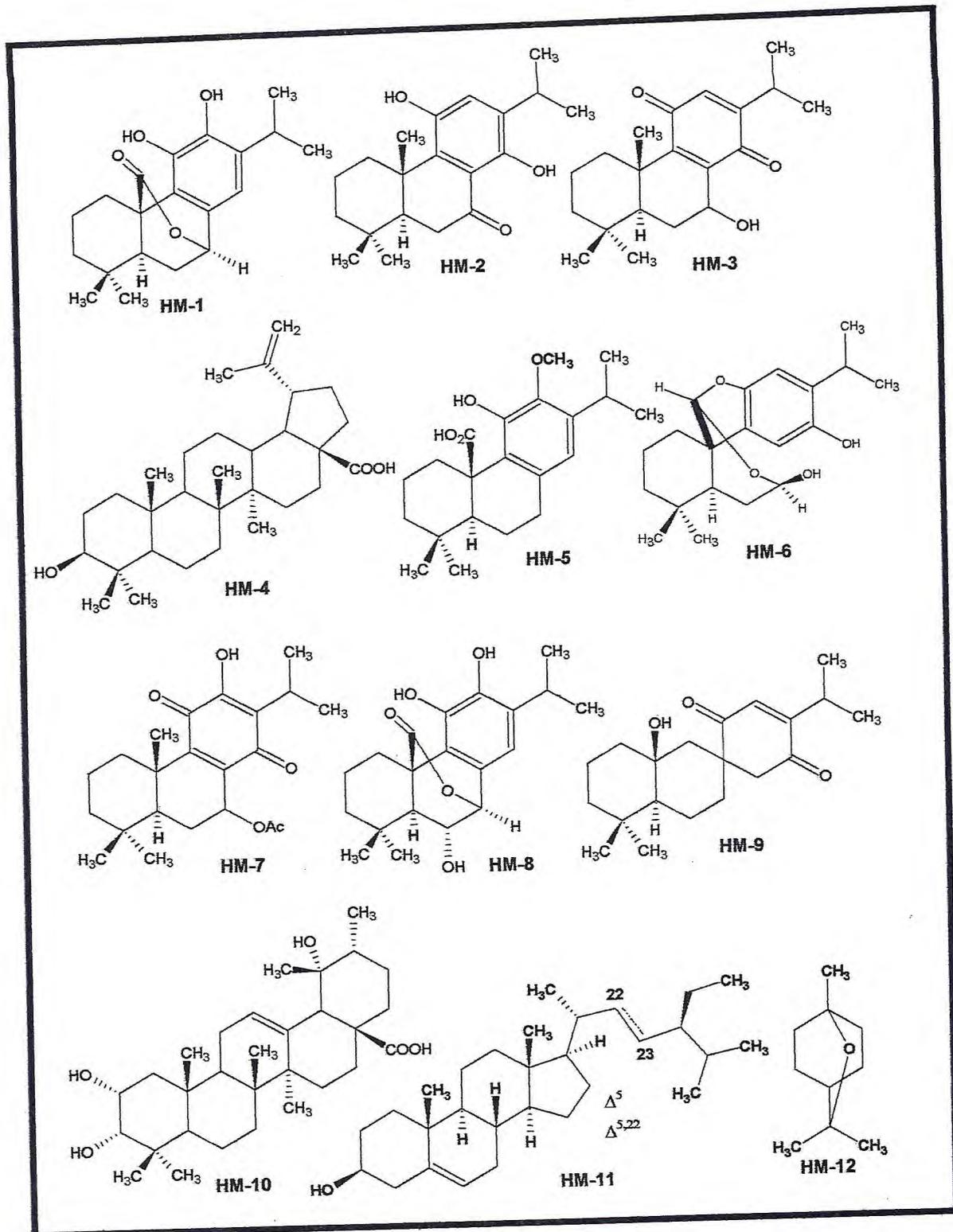
O estudo foi estruturado na avaliação da constituição química volátil das espécies estudadas e no isolamento e caracterização de componentes não voláteis das espécies *Hyptis martiusii* Benth e *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth.

Desta forma este trabalho, encontra-se dividido em sete capítulos:

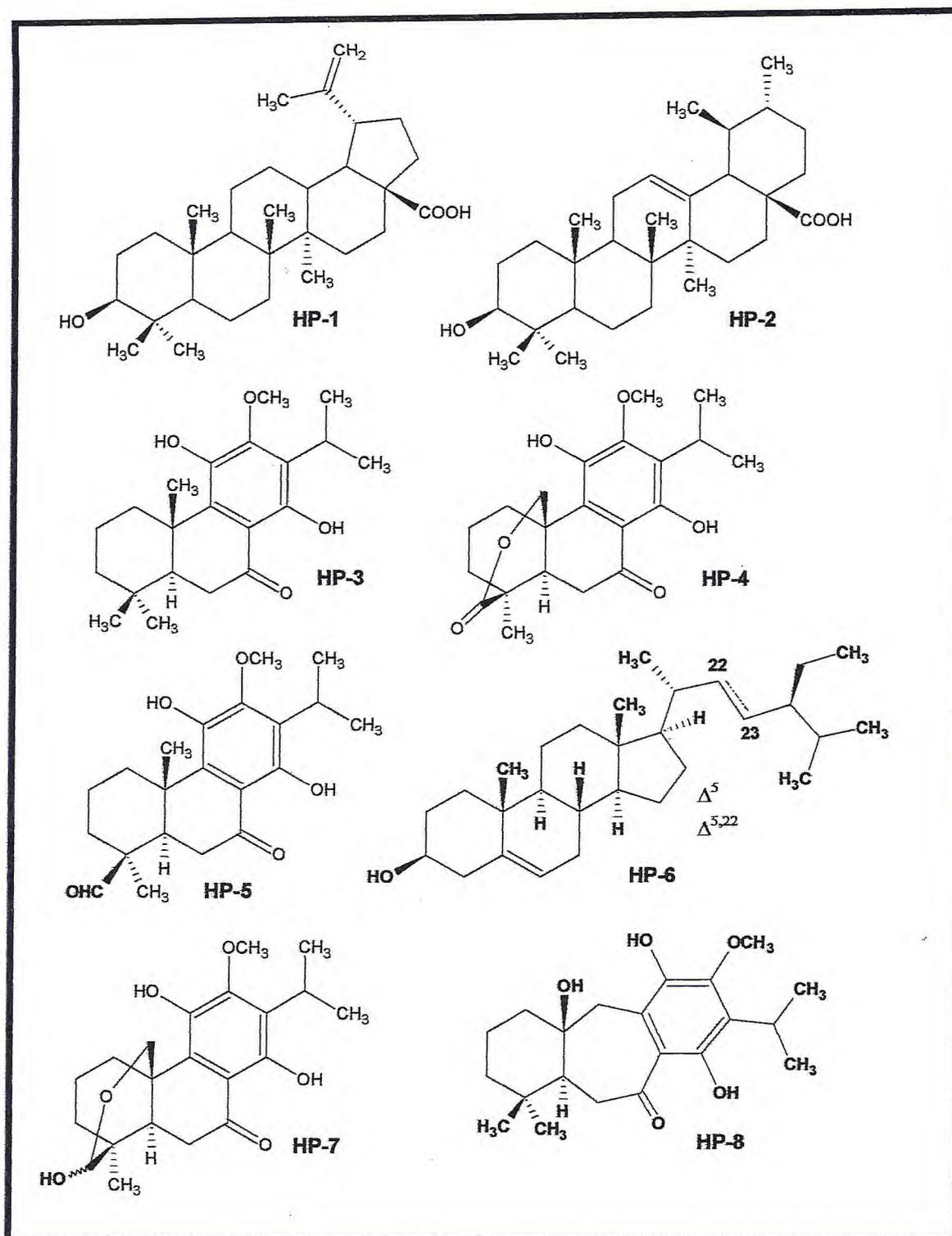
- ★ **Capítulo 1** **Introdução**
- ★ **Capítulo 2** **Considerações Botânicas - relatando fotos das espécies estudadas bem como suas descrições botânicas.**
- ★ **Capítulo 3** **Levantamento Bibliográfico - dividido em duas partes. A primeira relata estudos de atividades biológicas relevantes realizadas com diterpenos abietanos, e a segunda parte um levantamento de dados de RMN ¹H e ¹³C de diterpenos abietanos com o anel C *para* ou *orto*-quinônico.**
- ★ **Capítulo 4** **Determinação Estrutural - onde constam dados físicos e espectrométricos dos componentes identificados.**
- ★ **Capítulo 5** **Ensaio Biológico - este é um capítulo especial onde são mencionados os testes biológicos realizados que complementam o estudo fitoquímico.**
- ★ **Capítulo 6** **Parte Experimental**
- ★ **Capítulo 7** **Conclusões**

As referências bibliográficas foram todas citadas no final desta redação, baseadas nas normas da ABNT: NBR 10520 de 1992 e NBR 6023 de 2000.

A confecção deste trabalho e apresentação final foi baseada nas normas estabelecidas pelo curso de Pós-Graduação.

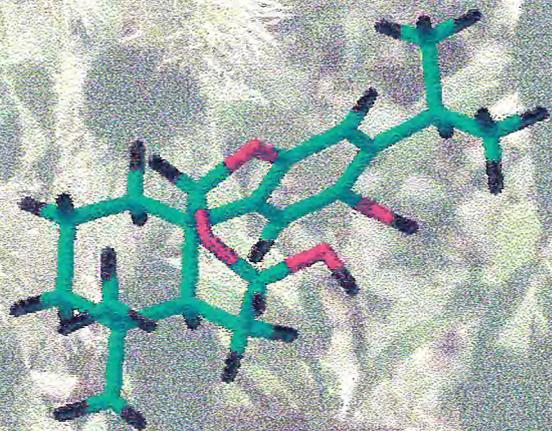
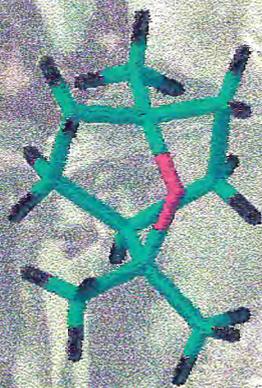
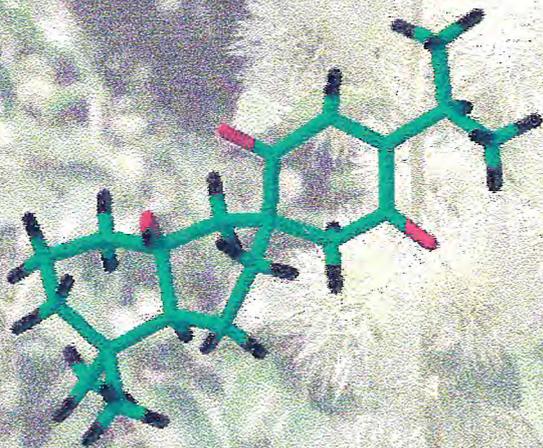
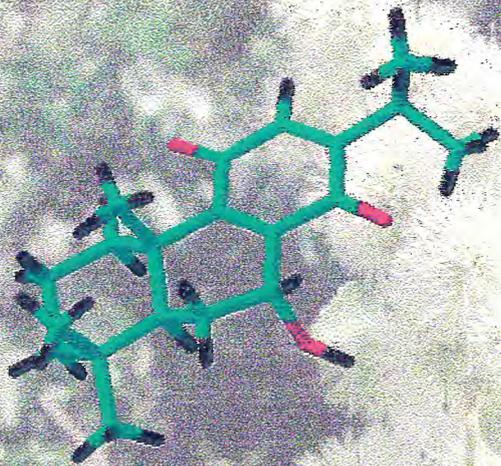


Quadro 1 - Componentes não voláteis isolados de *Hyptis martiusii* Benth



Quadro 2 – Componentes não voláteis isolados de *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth

2



CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.0. Considerações Botânicas

2.1. Família Labiatae (Lamiaceae) e o Gênero *Hyptis* (Lamiaceae)

Família cosmopolita, atualmente representada por cerca de 220 gêneros e 4000 espécies de ampla dispersão (HARLEY & REYNOLDS, 1992) ocorrendo principalmente nas regiões do Mediterrâneo, no Oriente e nas regiões montanhosas subtropicais. Alguns grupos são assinalados por serem peculiares a determinadas regiões, por exemplo, as tribos *Hyptidinae*, da subfamília *Ocimoideae*, e a *Gleochoneae*, da *Stachyoideae*, são essencialmente americanas (BARROSO, 1986). São conhecidas pelo cheiro intenso de menta e ocorrem em todos os ambientes e altitudes. Os representantes dessa família são conhecidos como plantas aromáticas. Próprias para perfumarias, alfazema (*Lavandula*), Patchouli (*Pogostemon*), devido à presença de óleos essenciais nos pêlos glandulares das folhas. Outras espécies são utilizadas como condimentos, chás, na indústria farmacêutica, na medicina popular e, ainda, como plantas ornamentais. Alguns gêneros bastante conhecidos são: *Mentha* (menta), *Ocimum* (alfavaca), *Origanum* (orégano), *Melissa* (cidreira) (RIBEIRO, 1999).

São ervas anuais ou perenes, subarbustos ou arbustos e só raramente mencionadas árvores de pequeno porte, como em certas espécies de *Hyptis*. Os ramos jovens geralmente são tetragonulares; as folhas são simples, opostas, cujo limbo mostra todas as transições de bordo inteiro, denteado, lobado ou partido. A inflorescência é tipicamente derivada de uma série de ramos cimosos. Frequentemente, formam-se em cada axila foliar pseudoverticilos florais (verticilastros), que se dispõem em pares opostos, para constituírem inflorescências cimosas compostas. Em casos mais simples, formam-se dicásios trifloros, que depois de uma ou mais divisões evoluem em duplos verticilos multifloros ou paucifloros, axilares ou distribuídos nas extremidades dos ramos. Nesse caso, as folhas superiores modificam-se em brácteas e o ramo passa a constituir uma falsa espiga ou racemo, a que se dá o nome de “epicastro”. Quando os “epicastro” são curtos e densos, originam-se os glomérulos capituliformes, que podem ser simples ou muito complexos, com formação de involúcro de brácteas altamente diferenciado, como em espécies de *Hyptis*, *Rhaphiodon*, *Peltodon* etc.

Sementes sem endosperma ou com endosperma escasso. Embrião reto. Informações interessantes sobre a biologia floral e da importância adaptativa dos caracteres florais explica o mecanismo explosivo de polinização das flores de *Eriope*, que fora observado antes por Burkart (1939), em flores de *Hyptis*. Informa Harley (1976) que as flores de *Hyptis* a variação do tubo estreito da corola o que teve papel importante com relação à especificidade dos polinizadores. Essas flores de *Hyptis* são visitadas por uma série de abelhas de língua longa (foto ilustrativa ao lado, evidenciando uma abelha pousando nas inflorescências de *Hyptis martiusii*), dependendo do comprimento do tubo da corola e, num grupo de grandes flores vermelhas deste gênero, os agentes polinizadores são beija-flores. Harley salienta também, as adaptações apresentadas por espécies de *Eriope* e *Hyptis* para



Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.

impedir a ação de formigas que as visitam, para lhes roubar néctar. Várias características, como por exemplo, os pêlos viscosos, glandulíferos e as cerdas rijas, distribuídos nos ramos das inflorescências dessas plantas, interpretados como estratégias adquiridos, que funcionam como defesas contra formigas (BARROSO, 1986).

Quase vinte diferentes espécies desta família são cultivadas, principalmente nos países da Europa e do Oriente, para obtenção do óleo essencial de diferentes aromas e usos. Hortelã, Lavanda e Melissa são algumas das mais conhecidas. Compostos de largo utilização presentes nos óleos essenciais de plantas desta família são: o mentol, timol e a cânfora. No Brasil a mais cultivada é a Hortelã (*Mentha arvensis* e suas variedades produtoras de mentol), importada do Japão e cultivada em São Paulo, é uma importante planta produtora de óleo essencial do país. Quase todas as espécies desta família são produtoras de óleo essencial e potencialmente exploráveis (CRAVEIRO, 1981). Alguns outros gêneros como *Marrubium* e *Thymus* são também cultivados pela presença de éteres aromáticos em seus óleos essenciais (CRONQUIST, 1981).

O gênero *Hyptis* é composto por várias espécies, algumas delas encontram-se presentes na flora brasileira, a Tabela 1 mostra uma relação destas espécies e onde foram coletadas (dados coletados no Herbário Prisco Bezerra – UFC).

Tabela 1 – Relação de espécies do gênero *Hyptis* encontradas na flora brasileira

ESPÉCIE	ESTADOS
<i>Hyptis atrorubens</i> Poit	Ceará
<i>Hyptis alutacea</i>	Maranhão
<i>Hyptis lanceolata</i> Poir	Ceará
<i>Hyptis longifolia</i>	Maranhão
<i>Hyptis lythroides</i>	Distrito Federal
<i>Hyptis lutescens</i>	Bahia
<i>Hyptis crenata</i>	Piauí
<i>Hyptis cunicoides</i>	Bahia
<i>Hyptis fruticosa</i> Salzm	Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba
<i>Hyptis brevipes</i>	Bahia
<i>Hyptis calida</i>	Bahia, Paraíba e Pernambuco
<i>Hyptis martiusii</i>	Ceará, Pernambuco, Bahia e Paraíba
<i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit	Pernambuco e Ceará
<i>Hyptis platanifolia</i>	Ceará
<i>Hyptis multiflora</i> Benth	Piauí e Bahia
<i>Hyptis mutabilis</i>	Pará e Ceará
<i>Hyptis suaveolens</i>	Ceará
<i>Hyptis simucans</i>	Ceará
<i>Hyptis sinuata</i>	Ceará e Piauí
<i>Hyptis rugosa</i>	Ceará
<i>Hyptis saxatilis</i>	Distrito Federal
<i>Hyptis salzmanii</i> Benth	Pernambuco, Paraíba, Piauí e Ceará
<i>Hyptis umbrosa</i>	Paraíba
<i>Hyptis villosa</i>	Distrito Federal

2.2. Considerações botânicas sobre a espécie *Hyptis martiusii* Benth

De acordo com Martius (MARTIUS, 1864) (descrição em latim traduzida generosamente pelo Professor Edson Paula Nunes do Departamento de Biologia da UFC) *Hyptis martiusii* Benth (**Figuras 1 e 2**), pertencente a família Labiatae, é descrita como:

“Um arbusto ereto e ramoso, de 1,6-2,3 m de altura. Ramo pouco-tomentoso. Folha oval-oblonga ou oblonga-lanceolada, obtusa ou pouco acuminada, crenada base rotundacuneada de 1,8-2,0 cm de comprimento e 1,4-1,8 cm de largura; face superior rugosa-pubescente; face inferior esbranquiçada-tomentosa. Pecíolo de 6-12 mm de comprimento. Capítulo breve-pedunculado disposto em ampla-panícula. Brácteas numerosas-suguladas quase iguais aos capítulos. Cálice frutífero-alongado. Dentes lineares-plumosos. Corola branca. Limbo campanulado-dilatado. Estames voltados para baixo. Anteras pequenas-globosas róseas. Estilete brevíssimo-bífido. Núcula ovóide pouco compressa”. Esta espécie é uma erva daninha de porte vistoso, que infesta terrenos nos períodos de fevereiro a setembro, e chama atenção por seus ramos com inflorescências globulosas e flores brancas. É bastante abundante no estado do Ceará, especificamente na Chapada do Araripe, mas pode ser encontrada também na Bahia, Paraíba e Pernambuco.



a



b

Figura 1 – Fotos de um espécime de *Hyptis martiusii* encontrado na localidade de Moreilândia – Chapada do Araripe – Pernambuco: **a)** ramo destacando folhas e inflorescências globulosas; **b)** Detalhes da inflorescência globulosa destacando as flores brancas. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.



Figura 2 – Foto de um espécimen de *Hyptis martiusii*, arbusto inteiro, mostrando seu habitat natural. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.

2.3. Considerações botânicas sobre a espécie *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth

A espécie *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth (Figuras 3 e 4) é uma erva perene ou subarbusto de 1,5 a 2,0 m de comprimento, caule longo prostrado, enraizado e ascendente a partir do centro, rizoma freqüentemente intumescido, plantas revestindo o solo. Folhas fortemente rugosas, desbotadas; folha (3-)4-7x(2,5-)3-6 cm, oval-cordada, ápice acuminado, margem duplamente dentada e geralmente lóbulos irregulares, angulares na metade inferior da lâmina, superfície superior cinza-esverdeada, geralmente tênue (delgada) com pêlos, superfície inferior cinza-tomentosa. Inflorescências saindo de diferentes pontos do caule ereto 35 cm, formando uma espiga interrompida de verticílios esféricos, bráctea oposta e não conspícuo. Encontra-se presente, preferencialmente, em solos agrícolas sujeitos a inundação e ao longo da margem de rios. Comumente encontrada em habitat semelhante pelo Nordeste do Brasil, especialmente Bahia e Ceará (STANNARD, 1995).



Figura 3 – Foto de um espécimen de *Hyptis platanifolia*, destacando folhas e ramo com inflorescências globulosas. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.



Figura 4 – Foto de espécimen de *Hyptis platanifolia* encontrado na localidade de Barreiro Grande – Crato - Ceará, detalhando as ervas em seu habitat natural. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.

2.4. Considerações botânicas sobre a espécie *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

Segundo Lorenzi é um subarbusto anual, ereto, ramificado, fortemente aromático, de hastes quadranguladas, de 0,50 a 1,90 m de altura, nativa de todo o continente Americano (Figura 5). Folhas opostas, membranáceas, glandular-pubescentes, de 4 a 8 cm de comprimento e muito aromáticas. Flores pequenas, sésseis, protegidas por brácteas filiformes, de cor azul-rosada, reunidas em pequenos grupos nas axilas foliares do ápice dos ramos. Propaga-se apenas por sementes. É amplamente distribuída em todo o território brasileiro, onde ocorre espontaneamente em solos agrícolas, beira de estradas e terrenos baldios, é mais freqüente em cerrado onde forma densas infestações de populações homogêneas, prefere solos férteis e bem drenados e floresce de janeiro a abril. É empregada na medicina popular em algumas regiões, principalmente no Nordeste do Brasil. A infusão de suas flores é utilizada para aliviar cólicas menstruais, problemas digestivos e, também para tratamento da gota. As flores são também indicadas contra gripes, febres e para problemas respiratórios em geral. As folhas e flores são empregadas na forma de cigarro para tratamento de cefaléias e como odontálgicas (LORENZI E MATOS, 2002).

É conhecida popularmente no Ceará por bamburral e como mentrasto-graçú na Bahia. Tem como sinônimas *Ballota suaveolens*, *Bystropogon suaveolens*, *Hyptis congesta*, *Hyptis ebracteata*, *Hyptis graveolens*, *Mesosphaerum suaveolens*, *Schaueria suaveolens* (LORENZI, 2000).



Figura 5 – Fotos de espécimens de *Hyptis suaveolens* encontrados no Campus do Pici – UFC – Fortaleza - Ceará: a) Ramo destacando folhas; b) Ramo detalhando flores rosadas c) Grupo de arbustos destacando o habitat natural da espécie. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.

2.5. Considerações botânicas sobre a espécie *Hyptis pectinata* (L.) Poit.

É uma planta anual, ereta, ramificada de maneira uniforme, herbácea de base lenhosa, aromática, de ramos quadrangulados e sulcados nos quatro lados, de 1,2 a 2,5 m de altura, flores de coloração lilás, nativa da América Tropical. Propaga-se apenas por sementes. É conhecida popularmente por hortelã-gigante e betônica (Figuras 6 e 7). É uma planta típica de verão e outono, comum em várzeas de terrenos férteis de todo o território brasileiro. Geralmente ocorre em baixa a média frequência, chegando em muitos casos a ser considerada indesejável quando ocorre em pastagens, terrenos baldios e terrenos cultivados com lavouras anuais e perenes. Seu florescimento ocorre no outono após um ciclo de mais ou menos 100 dias. É reputada como medicinal. (LORENZI, 2000)

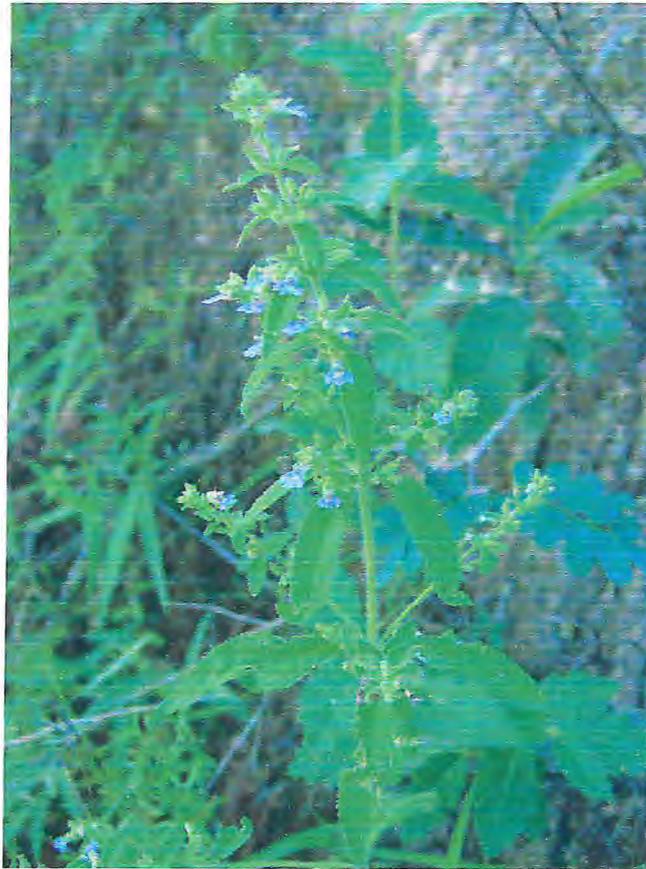
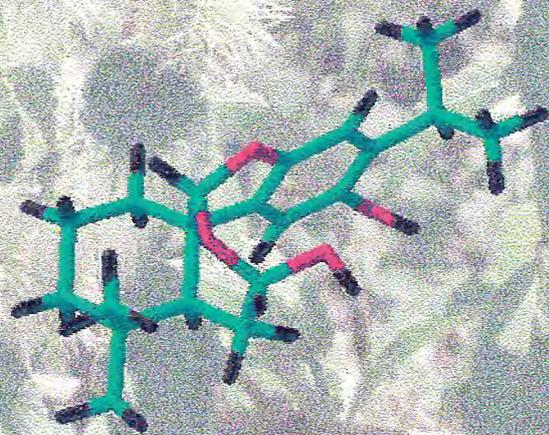
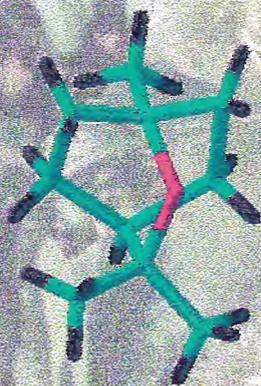
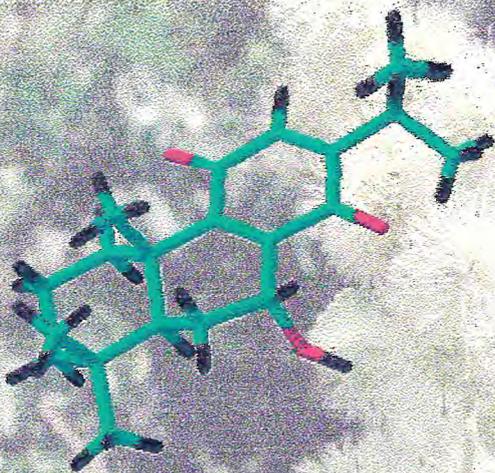


Figura 6 – Foto de um espécimen de *Hyptis pectinata* encontrado na localidade de Macaúbas – Ceará, destacando ramo com folhas e flores lilás. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.



Figura 7 – Foto de um espécimen de *Hyptis pectinata* encontrado em Macaúbas - Ceará, detalhando arbusto em seu habitat natural. Fotógrafo: Prof. Edilberto R. Silveira.

3



LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.0. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1. Levantamento sobre atividades biológicas e farmacológicas atribuídas a diterpenos abietanos isolados de espécies da família Labiatae (Lamiaceae)

Espécies da família Labiatae (Lamiaceae) são importantes fontes naturais para o mundo, suas utilizações na medicina popular, como condimentos em culinárias regionais e como agentes no controle de pestes são de extrema importância.

Várias espécies da família Labiatae possuem em sua constituição química diterpenos de várias classes, especialmente abietanos que há algum tempo vem despertando o interesse de áreas afins (química, farmacológica, agrônômica) pela versatilidade de sua estrutura química. Esta família é uma grande representante na descoberta de novos diterpenos, principalmente abietanos.

Os abietanos constituem uma classe de diterpenos com muitos representantes, muitos deles com anéis fenólicos e funções orgânicas variadas e até mesmo com rearranjos em seu esqueleto básico gerando novas configurações e conformações, que podem servir de conexão em se tratando de uma atividade biológica ou farmacológica específica, assim como os taxanos, que possuem um nobre representante, o Taxol, conhecido no mundo inteiro por sua eficiência no tratamento ao câncer.

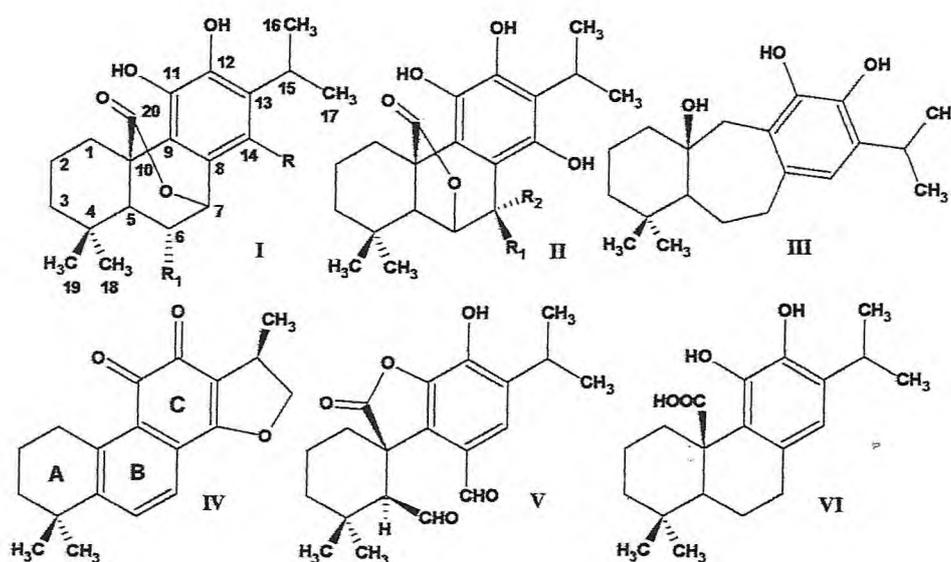
Este levantamento bibliográfico foi realizado na intenção de identificar importantes estudos de atividades com diterpenos abietanos isolados de espécies da família Labiatae, e dos ensaios realizados neste trabalho e os resultados mais relevantes estão relacionados com a utilização destes compostos como antibióticos e antioxidantes.

3.1.1. Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana é uma constante quando se refere a substâncias isoladas de Labiatae, principalmente com o esqueleto abietano. Todos os diterpenos já testados possuem alguma atividade frente à pelo menos um microrganismo.

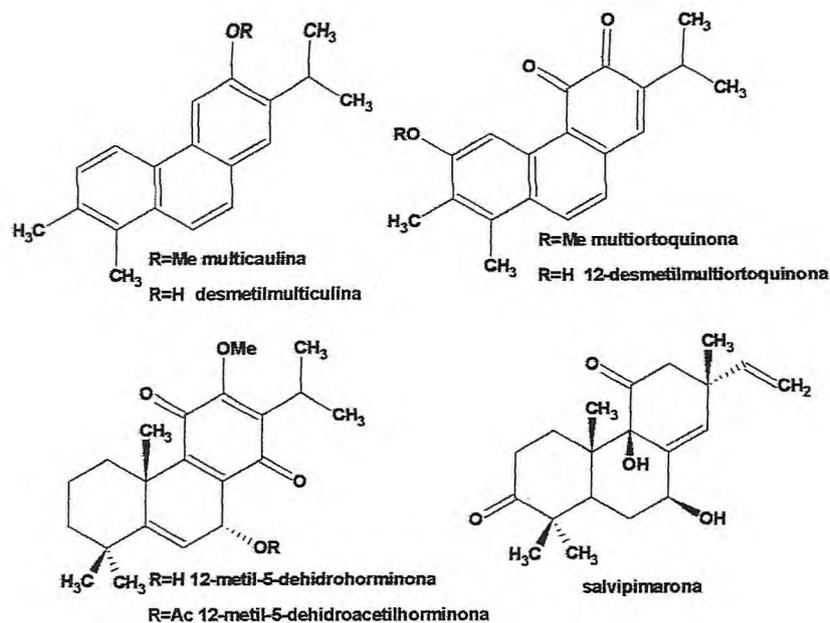
Da família Labiatae, o gênero que apresenta um grande número de relatos da ocorrência de diterpenos abietanos em sua constituição química é o gênero *Salvia*. A literatura descreve um estudo importante da relação estrutura-atividade antimicrobiana de diterpenos abietanos isolados das espécies *Salvia canariensis* e *Salvia mellifera* (MOUJIR, 1993).

Grupos de diterpenos contendo, um anel lactônico entre C-20 e C-7 (I) ou entre C-20 e C-6 (II), diterpenos com o anel B de sete membros (abietanos rearranjados) (III), com esqueleto *orto*-quinônico como a tashinona (IV), com estrutura 6,7 - *seco* (V) ou com grupamentos carboxílicos em C-10 (VI), foram testados contra bactérias Gram-positivas. Os microrganismos utilizados foram *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *S. albus*. Nenhuma das substâncias testadas mostrou atividade contra bactérias Gram-negativas, somente abietanos com estrutura tipo III mostraram-se ativos contra o fungo *Candida utilis*, no entanto as substâncias mostraram atividade moderada contra bactérias Gram-positivas (MOUJIR, 1993).

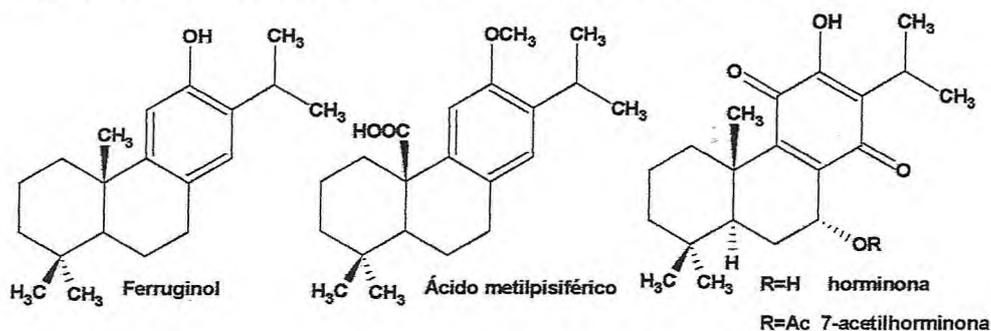


Um estudo da relação estrutura-atividade mostra que a porção catecólica (anel C benzênico e di ou tri-hidroxilado) da molécula precisa estar livre para se ter uma atividade frente a bactérias Gram-positivas e que a atividade independe da posição de ciclização do anel lactônico se C-20/C-7 ou C-20/C-6. Se existem hidroxilas extras em C-6 e C-7 a atividade é reduzida em um terço, e grupos hidroxi-metilenos em C-16 também geram substâncias sem efeito. Compostos em que a porção catecólica é oxidada a quinona exibem um aumento na atividade (MOUJIR, 1993).

Os diterpenos isolados de *Salvia multicaulis*, multicaulina, multiortoquinona, salvipimarona, 12-desmetilmultiortoquinona, 12-desmetilmulticaulina, 12-metil-5-dehidrohorminona, 12-metil-5-dehidroacetilhorminona, mostraram uma forte atividade antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis*, sendo que as quatro últimas substâncias foram bem mais potentes (ULUBELEN, 1997).



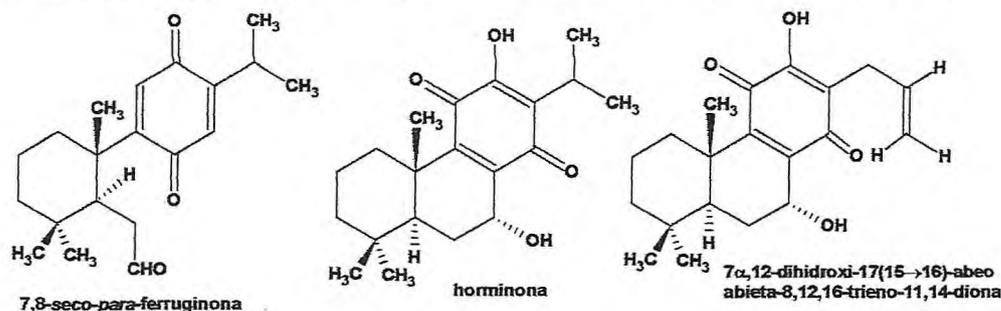
As substâncias, isoladas das raízes de *Salvia blepharochlaena*, horminona e 7-acetilhorminona foram ativas contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *B. subtilis*; a horminona e o ferruginol foram ativos contra *Enterococcus faecalis*, enquanto o ácido orto-metilpissiférico foi ativo somente contra *B. subtilis* (ULUBELEN, 2001).



Das raízes de *Salvia prionitis* foram isolados diterpenos *seco*-abietanos, um deles o 7,8-*seco*-*para*-ferruginona, mostrou uma atividade antimicrobiana contra dois organismos Gram-positivos, *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, com valores de CIM de 20,0 e 15,0 μ M, respectivamente (CHEN, 2002).

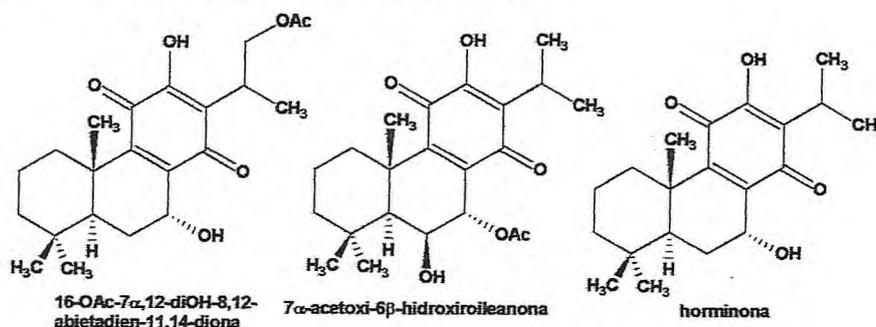
Diterpenos abietanos, horminona e o 7 α ,12-dihidroxi-17(15 \rightarrow 16)-abeo-abieta-8,12,16-trieno-11,14-diona, isolados de *Plectranthus hereroensis* também foram avaliados sobre sua atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* e *Pseudomonas aeruginosa*. O primeiro mostrou maior atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *V. cholerae* (CIM 7,8 μ g/mL, para ambos) do que o segundo que exibiu valores de MIC de 15,6 e 31,2 μ g/mL, respectivamente. Os valores de CIM no teste dos dois diterpenos contra o fungo *C. albicans* e a bactéria Gram-

negativa *P. aeruginosa* foram: 250 e 125 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente no teste com a horminona e 250 $\mu\text{g/mL}$, para ambos no segundo diterpeno (BATISTA, 1994).

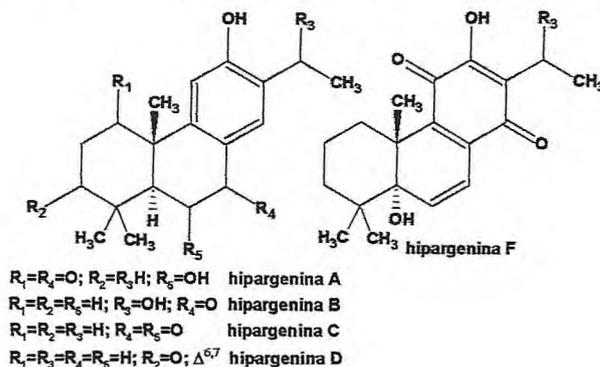


Outro diterpeno, 16-acetoxi-7 α ,12-diidroxi-8,12-abietadien-11,14-diona, também isolado de *P. hereroensis* demonstrou uma atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *V. cholerae* (BATISTA, 1995).

O diterpeno 7 α -acetoxi-6 β -hidroxiroileanona isolado de *P. grandidentatus* mostra moderada atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *Vibrio cholerae*, com valores de CIM 31,2 e 15,6 $\mu\text{g/mL}$ menores do que os observados para horminona, substância com conhecida atividade bactericida (TEIXEIRA, 1997).

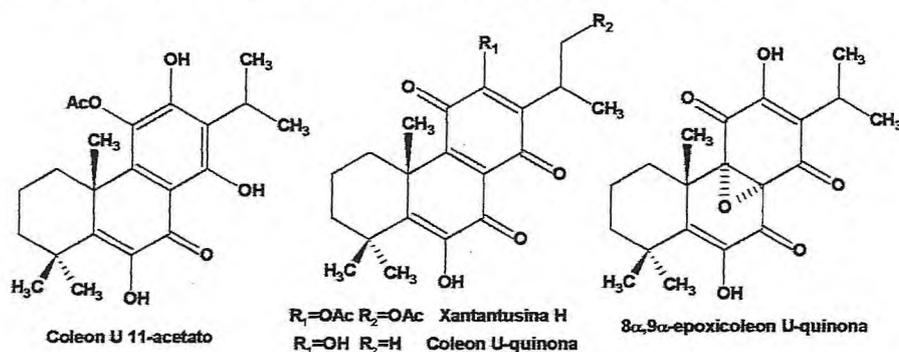


As hipargeninas A-D e F, isoladas das raízes de *Salvia hypargeia*, foram ativas contra *S. aureus*. As hipargeninas A e B foram também ativas contra *Klebsiella pneumoniae*, as hipargeninas C e D contra *B. subtilis*, enquanto que a hipargenina F foi ativa contra *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *M. tuberculosis* (ULUBELEN, 1988).

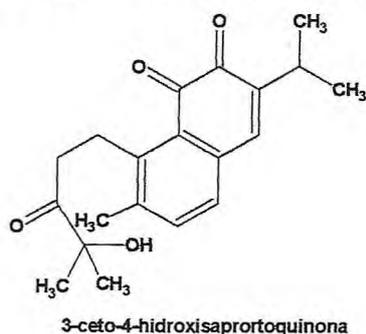


3.1.2. Atividade Citotóxica

Várias espécies da família Labiatae possuem utilização na medicina popular, um gênero bastante conhecido por conter em sua constituição química diterpenos abietanos é o gênero *Coleus* ou *Plectranthus*. Alguns diterpenos isolados deste gênero são mencionados na literatura por possuírem atividade antitumoral. Um bioensaio de atividade citotóxica mostrou que os compostos coleon U 11-acetilado, xantantusina H, coleon U-quinona e 8 α ,9 α -epoxicoleon U-quinona, mostraram atividade inibitória significativa contra células humanas leucêmicas K562 (MEI, 2002).

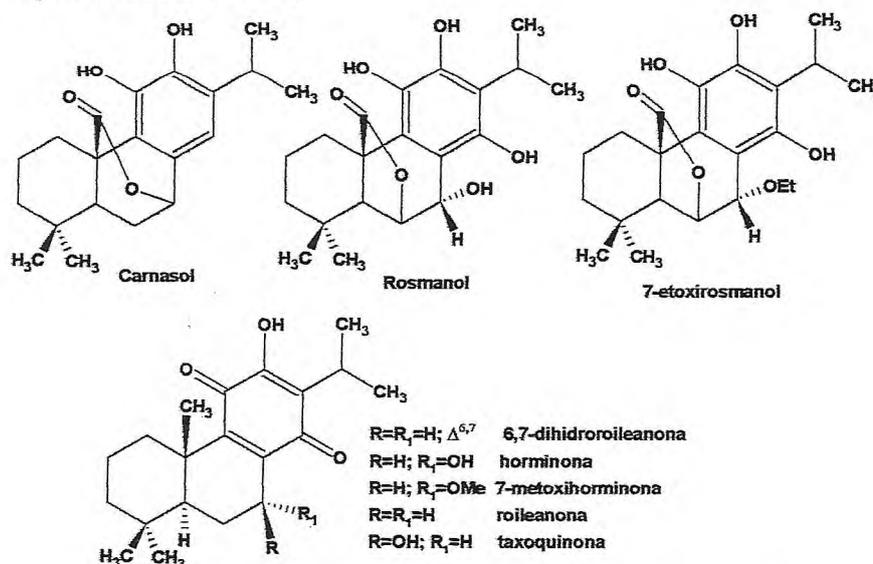


Diterpenos *seco*-abietanos das raízes de *Salvia prionitis*, tiveram sua atividade citotóxica avaliada e o composto 3-ceto-4-hidroxi-saportoquinona exibiu atividade contra células de leucemia humana HL-60, câncer de estômago SGC-7901 e MKN-28, com valores de CI₅₀ de 4,6; 0,2 e 0,3 μ M, respectivamente (CHEN, 2002).



Um ensaio frente a células KB (carcinoma) com o objetivo de encontrar agentes antitumorais de fonte natural foi realizado com constituintes isolados de *Rosmarinus officinalis*, popularmente conhecida no Paraguai como "romero", as substâncias testadas foram carnosol, rosmanol e 7-etoxirosmanol, que mostraram apenas uma leve citotoxicidade (HAYASHI, 1987). Um outro estudo com os compostos 6,7-dihidrooileanona, horminona e 7-metoxihorminona isolados de *Lepechinia bullata*, também revelou pouca atividade dos mesmos frente a células KB, apesar da semelhança

no esqueleto com roileanona e taxoquinona, que são representantes com forte atividade antitumoral (JONATHAN, 1989).

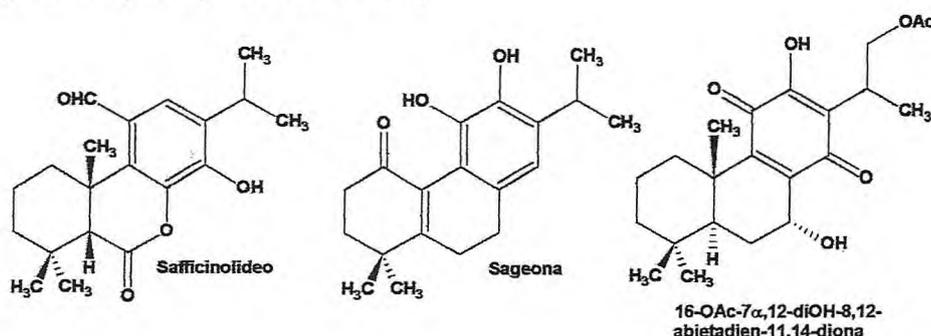


Os constituintes, 6,7-dihidroroileanona, horminona e 7-metoxihorminona, foram também testados frente a células leucêmicas (P-388), mostrando todos uma moderada atividade. A 6,7-dihidroroileanona foi considerada bastante ativa. É importante salientar que para ambos os sistemas testados, KB e P-388, a estrutura contendo dupla ligação em C6-C7 e C-7 oxigenado pareceu ter diminuído a atividade quando comparada àquelas apenas com a dupla ligação entre C6-C7. Com isso é possível especular que a atividade destas moléculas se deve aos substituintes do anel C. Esta informação é de interesse geral em termos de estudo da relação estrutura-atividade (JONATHAN, 1989).

3.1.3. Atividade Antiviral

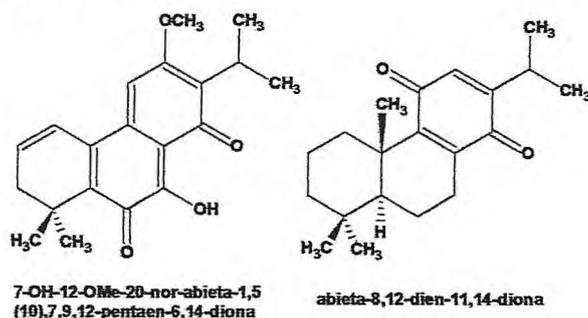
O gênero *Salvia*, como dito anteriormente, produz um grande número de diterpenos do tipo abietano e seus esqueletos carbônicos rearranjados. Algumas espécies de *Salvia* são utilizadas na medicina popular e já é bastante relatada a atividade bactericida de alguns abietanos. Apesar de plantas da espécie *Salvia officinalis* não apresentarem atividade antiviral, alguns constituintes isolados desta espécie foram testados contra VSV (vesicular stomatitis virus) e HSV (herpes simplex virus type 1). Os compostos testados foram os diterpenos abietanos safficinolideo e sageona. O primeiro mostrou redução da proliferação do VSV, enquanto que o segundo mostrou uma atividade de inativação de ambos VSV e HSV (TADA, 1994).

Um novo abietano, o 16-acetoxy-7 α ,12-diidroxi-8,12-abietadien-11,14-diona, isolado das raízes de *Plectranthus hereroensis* foi testado contra dois dos mais importantes vírus do herpes (HSV₁ e HSV₂). O resultado deste teste foi a inibição em 60% da formação de placas do HSV tipo II, com 0,2 μ g/mL (concentração máxima não citotóxica) do diterpeno (BATISTA, 1995).



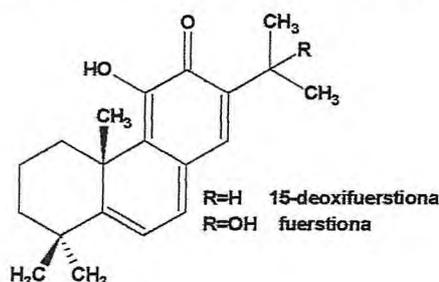
3.1.4. Atividade Antiprotozoária

Leishmaniose é um dos maiores problemas de saúde de países do terceiro mundo e em desenvolvimento, causando alto índice de mortalidade. A descoberta de parasitas resistentes à terapia e a disponibilidade de fármacos para o tratamento são os maiores problemas, devido a essas limitações existe uma necessidade urgente do desenvolvimento de novas terapias. Um número de diterpenos e alguns triterpenos mostram uma atividade antiprotozoária potente. Estudos com plantas do gênero *Salvia* revelam a presença de uma grande variedade de terpenos em sua constituição química. Substâncias isoladas de *Salvia cilicica* foram testadas *in vitro* contra formas promastigotas extracelulares e amastigotas intracelulares de *Leishmania donovani*, agente causador da leishmaniose visceral e *Leishmania major*, agente causador da leishmaniose cutânea. Os novos abietanos, 7-hidroxi-12-metoxi-20-nor-abieta-1,5(10),7,9,12-pentaen-6,14-diona e abieta-8,12-dien-11,14-diona mostraram apreciável atividade antiprotozoária *in vitro* contra formas amastigotas intracelulares de *L. donovani* e *L. major* (TAN, 2002).



3.1.5. Atividade Moluscicida

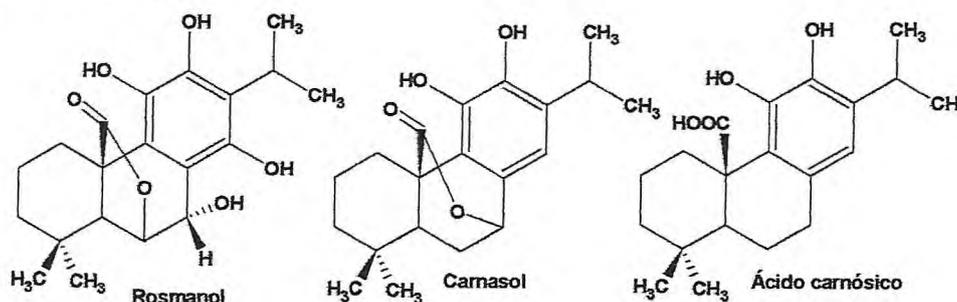
Os diterpenos benzoquinônicos, 15-deoxifuerstiona e fuerstiona, isolados das cascas das raízes de *Caryopteris x clandonensis*, comumente conhecida por “barba-azul”, tiveram sua atividade moluscicida testada contra o caramujo *Bulinus truncatus*, que é o hospedeiro do parasita da esquistossomose e mostraram uma atividade moluscicida com $LC_{100} \leq 4$ ppm (100% de mortalidade a 4 ppm) (HANNEDOUCHE, 2002).



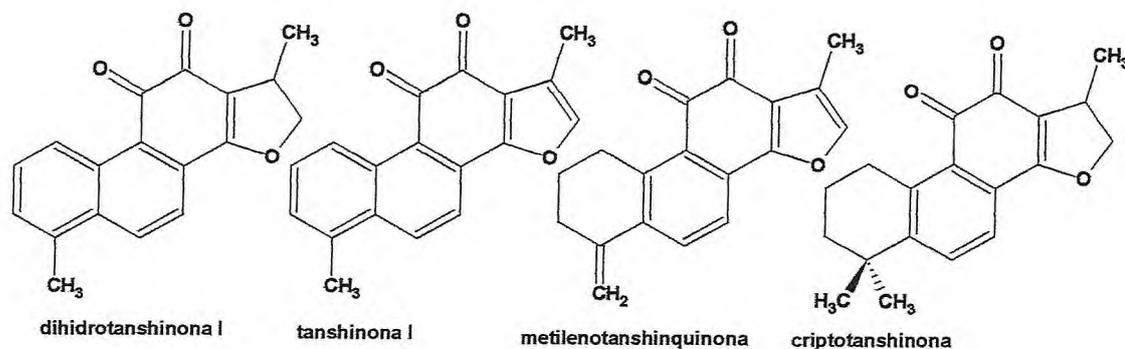
3.1.6. Atividade Antioxidante

O composto 15-deoxifuerstiona numa concentração de 4×10^{-4} M (Estrutura no Ítem 3.1.5) submetido à atividade de captura de radicais, utilizando como referência o ácido L-ascórbico e o α -tocoferol mostrando-se ativa. O efeito seqüestrador da 15-deoxifuerstiona foi quase a metade daquela do α -tocoferol. A presença de hidroxilas fenólicas nos compostos que são potentes antioxidantes é um parâmetro importante na observação da atividade de captura de radicais (HANNEDOUCHE, 2002).

Outros diterpenos fenólicos como rosmanol, carnosol, ácido carnósico e derivados, isolados de *Salvia officinalis* demonstraram uma forte atividade antioxidante (SANTOS-GOMES, 2002).



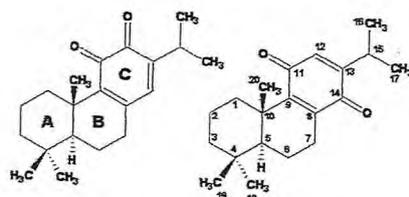
Alguns diterpenos abietanos quinônicos, conhecidos como tanshinonas, também exibem atividade antioxidante. diidrotanshinona I, tanshinona I, metilenotanshinquinona e criptotanshinona mostraram uma forte atividade antioxidante quando comparados a BHA (butil hidroxi-anisol) e BHT (butil hidroxi-tolueno). Desta forma podem ser utilizados em comidas e cosméticos como potentes oxidantes naturais (ZHANG, 1990).



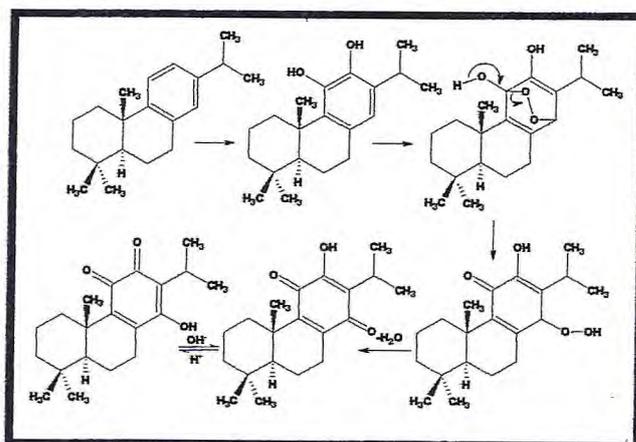
3.2. Levantamento Bibliográfico dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de diterpenos abietanos com esqueleto normal contendo o anel C *orto* ou *para* benzoquinônico

A segunda parte deste levantamento destina-se a apresentar dados de RMN ^1H e ^{13}C de diterpenos abietanos *orto* e *para*-quinônicos no anel C. Dois diterpenos abietanos com o anel C *para*-quinônico HM-3 (ARAÚJO, 2001) e HM-8, foram isolados de *H. martiusii*, uma das fortes razões para realização deste levantamento que completa, em parte, o realizado na dissertação de mestrado. A outra razão é a atenção particular que vem sendo dada pelos químicos medicinais e clínicos a este tipo de composto, que exhibe significativa atividade antibacteriana, antioxidante, antiinflamatória e antineoplásica (CHANG, 1990). Neste levantamento são mencionados 77 diterpenos. Toda a classificação foi realizada com o material bibliográfico disponível, os dados coletados encontram-se nas Tabelas 2 e 3 (RMN ^1H e ^{13}C , respectivamente, p. 36-47) e as estruturas foram agrupadas segundo semelhanças nos esqueletos (p. 30-35).

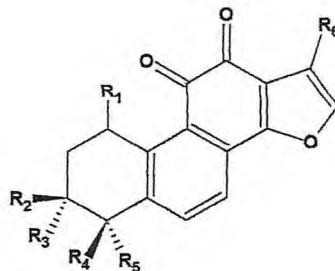
As estruturas abaixo mostram a numeração e denominação dos ciclos segundo a classe estabelecida.



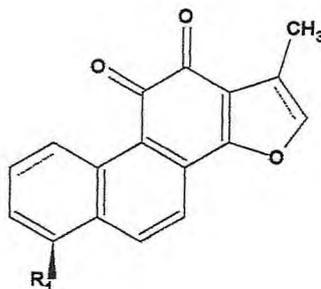
A presença de enzimas oxidantes altamente ativas favorece a formação de esqueletos bastante oxigenados, uma possível rota biogenética para formação das *orto*- e *para*-quinonas (GONZÁLEZ, 1992) é demonstrada no Quadro 3, abaixo:



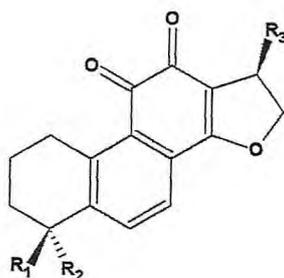
Quadro 3 – Proposta biogenética para a formação de abietanos *orto* e *para*-quinônicos



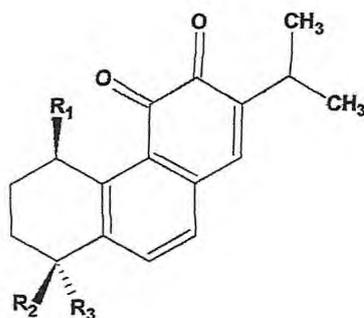
- | | | |
|----|---|--------------------------------|
| 1 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=R_5=CH_3; R_6=CH_2OH$ | przewaquinona A |
| 2 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=R_5=R_6=CH_3$ | tanshinona II A |
| 3 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=R_6=CH_3; R_5=CH_2OH$ | tanshinona II B |
| 4 | $R_1=OH; R_2=R_3=H; R_4=R_5=R_6=CH_3$ | 1-hidroxi-tanshinona |
| 5 | $R_1=R_2=H; R_3=OH; R_4=R_5=R_6=CH_3$ | 3 α -hidroxi-tanshinona |
| 6 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OH; R_5=CH_2OH; R_6=CH_3$ | tanshindiol A |
| 7 | $R_1=R_2=H; R_3=R_4=OH; R_5=R_6=CH_3$ | tanshindiol B |
| 8 | $R_1=R_3=H; R_2=R_4=OH; R_5=R_6=CH_3$ | tanshindiol C |
| 9 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4,R_5=O; R_6=CH_3$ | nortanshinona |
| 10 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=R_6=CH_3; R_5=CO_2CH_3$ | tanshinonato de metila |



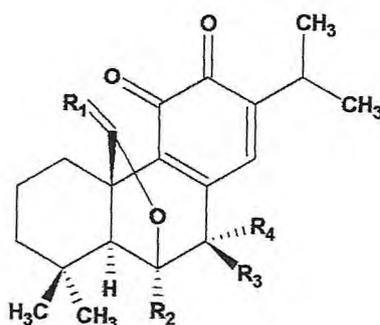
- | | | |
|----|--|-----------------------------------|
| 11 | $R_1=CH_3; 1,2=dupla; 15,16=dupla$ | tanshinona I |
| 12 | $R_1=CHO; 1,2=dupla; 15,16=dupla$ | formil tanshinona |
| 13 | $R_1=CH_3; 1,2=simples; 15,16=simples$ | 1,2,15,16-tetrahidro tanshinona I |



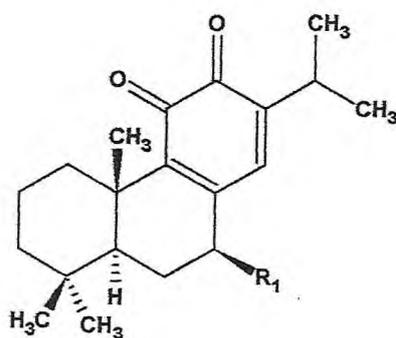
- | | | |
|----|----------------------------|------------------------------|
| 14 | $R_1=R_2=R_3=CH_3$ | criptotanshinona |
| 15 | $R_1=R_2=CH_3; R_3=CH_2OH$ | 17-hidroxi-criptotanshinona |
| 16 | $R_1,R_2=H_2; R_3=CH_3$ | metilenodihidotanshinquinona |



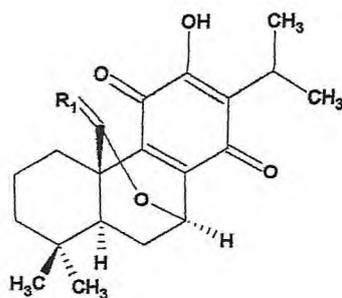
- | | | |
|----|------------------------|----------------------|
| 17 | $R_1=H; R_2=R_3=CH_3$ | miltirona |
| 18 | $R_1=OH; R_2=R_3=CH_3$ | 1R-hidroxi-miltirona |
| 19 | $R_1=H; R_2,R_3=H_2$ | 4-metileno-miltirona |



- | | | |
|----|------------------------------|------------------------|
| 20 | $R_1=O; R_2=R_3=H; R_4=OH$ | rosmaquinona |
| 21 | $R_1=H_2; R_2=OH; R_3,R_4=O$ | 6,20-epoxi-ortoquinona |



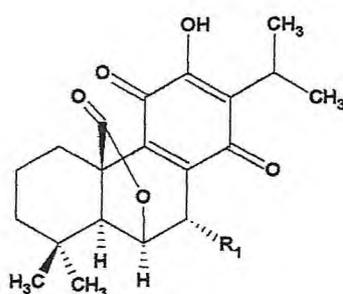
- | | | |
|----|----------|--|
| 22 | $R_1=H$ | 11,12-dioxoabieta-8,13-dieno |
| 23 | $R_1=OH$ | 7β-hidroxi-8,13-abietadien-11,12-diona |



24 $R_1=H_2$

25 $R_1=O$

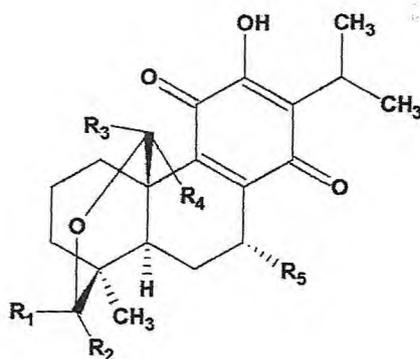
7,20-epoxi-roileanona
columbaridiona



26 $R_1=OH$

27 $R_1=OEt$

atuntzensina A
canariquinona



28 $R_1, R_2=O$; $R_3=R_4=H$; $R_5=OAc$

29 $R_1, R_2=O$; $R_3=R_4=H$; $R_5=OH$

30 $R_1=R_2=R_3=H$; $R_4=OH$; $R_5=OMe$

31 $R_1=H$; $R_2=OH$; $R_3=R_4=H$; $R_5=OH$

32 $R_1=OH$; $R_2=R_3=R_4=H$; $R_5=OH$

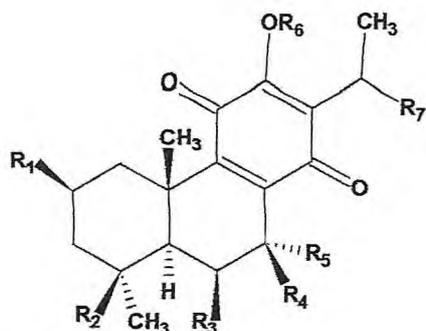
sesseina

desacetilsesseina

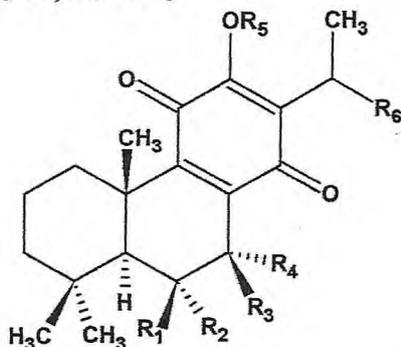
7-metoxi-conacitona

19-hidroxi-desacetilsesseina I

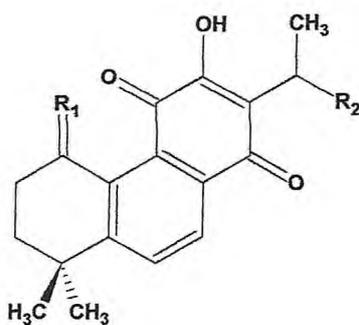
19-hidroxi-desacetilsesseina II



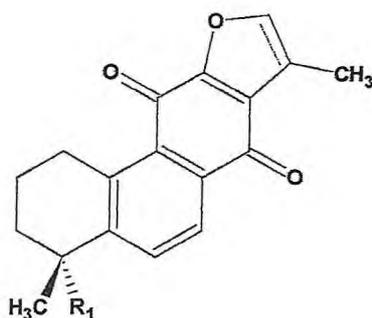
- | | | |
|----|--|---|
| 33 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=R_4=R_5=R_6=H; R_7=CH_2OH$ | 16-OH-roileanona |
| 34 | $R_1=H; R_2=CH_2OH; R_3=R_4=H; R_5=OAc; R_6=H; R_7=CH_3$ | 19-OH-7 α -OAc-roileanona |
| 35 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=R_4=H; R_5=OEt; R_6=H; R_7=CH_3$ | 7 α -OEt-roileanona |
| 36 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=R_4=H; R_5=OEt; R_6=R_7=CH_3$ | 7 α -OEt-12-OMe-roileanona |
| 37 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=H; R_4,R_5=O; R_6=H; R_7=CH_3$ | 7-oxo-roileanona |
| 38 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=R_4=H; R_5=OH; R_6=H; R_7=CH_3$ | horminona |
| 39 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=R_5=H; R_4=OH; R_6=H; R_7=CH_3$ | taxoquinona |
| 40 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=OH; R_5=R_6=H; R_4=OAc; R_7=CH_3$ | 7 β -OAc-6 β -OH-roileanona |
| 41 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4=R_6=H; R_5=OH; R_7=CH_2OAc$ | lophantoidina E |
| 42 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4=R_6=H; R_5=OMe; R_7=CH_2OAc$ | lophantoidina A |
| 43 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4=R_6=H; R_5=OEt; R_7=CH_2OAc$ | lophantoidina F |
| 44 | $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4=R_6=H; R_5=OAc; R_7=CH_2OAc$ | lophantoidina B |
| 45 | $R_1=H; R_2=CHO; R_3=R_4=H; R_5=OAc; R_6=Ac; R_7=CH_3$ | Di-OAc-19-oxo-taxoquinona |
| 46 | $R_1=OH; R_2=CH_3; R_3=R_4=R_5=R_6=H; R_7=CH_3$ | 2 β -OH-roileanona |



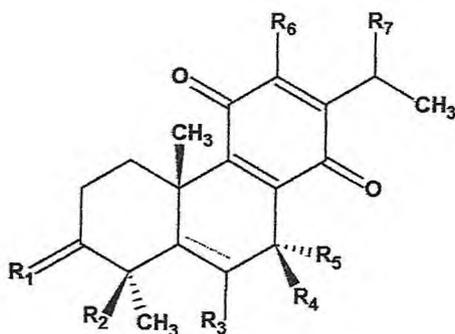
- | | | |
|----|--|--|
| 47 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OH; R_5=R_6=CH_3$ | 12-OMe-horminona |
| 48 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OH; R_5=H; R_6=CH_2OAc$ | 16-OAc-7-acetilhorminona |
| 49 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OMe; R_5=H; R_6=CH_3$ | 7-OMe-horminona |
| 50 | $R_1=OH; R_2=R_3=R_5=H; R_4=OAc; R_6=CH_2OH$ | lophantoidina C |
| 51 | $R_1=OH; R_2=R_3=R_5=H; R_4=OEt; R_6=CH_2OH$ | lophantoidina D |
| 52 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OAc; R_5=Ac; R_6=CH_3$ | di-O-OAc-horminona |
| 53 | $R_1=R_2=R_3=H; R_4=OAc; R_5=H; R_6=CH_3$ | 7-OAc-horminona |
| 54 | $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H; R_6=CH_3$ | roileanona |
| 55 | $R_1=OH; R_2=R_3=R_4=R_5=H; R_6=CH_3$ | 6 β -OH-roileanona |
| 56 | $R_2=OH; R_1=R_3=R_4=R_5=H; R_6=CH_3$ | 6 α -OH-roileanona |
| 57 | $R_1=R_2=R_4=H; R_3=OAc; R_5=Ac; R_6=CH_3$ | di-OAc-taxoquinona |
| 58 | $R_1=R_2=R_4=H; R_3=OAc; R_5=H; R_6=CH_3$ | 7-OAc-taxoquinona |
| 59 | $R_1=R_2=R_4=H; R_3=OH; R_5=R_6=CH_3$ | 12-OMe-taxoquinona |
| 60 | $R_1=OH; R_2=R_3=H; R_4=OAc; R_5=H; R_6=CH_3$ | 7 α -OAc-6 β -OH-roileanona |
| 61 | $R_1=OAc; R_2=R_3=H; R_4=OH; R_5=Ac; R_6=CH_3$ | 6 β , 7 α , 12-OAc-roileanona |
| 62 | $R_1=OH; R_2=R_3=H; R_4=OH; R_5=H; R_6=CH_3$ | 6 β , 7 α -di-OH-roileanona |



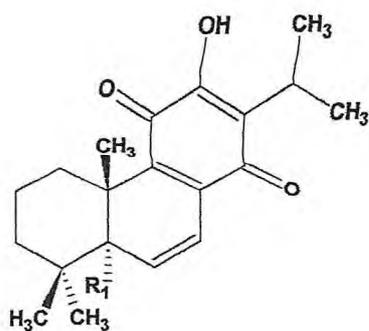
- | | | |
|----|----------------------------|---------------------------------|
| 63 | $R_1=O; R_2=CH_3$ | miltionona I |
| 64 | $R_1=H_2; R_2=CH_2Ooleoil$ | 16-O-oleoil-neocriptotanshinona |
| 65 | $R_1=H_2; R_2=CH_2OH$ | neocriptotanshinona |



- | | | |
|----|------------------------|---------------------|
| 66 | $R_1=H; 15,16=simples$ | isocriptotanshinona |
| 67 | $R_1=H; 15,16=dupla$ | isotanshinona II B |



- | | | |
|----|---|----------------------------------|
| 68 | $R_1=O; R_2=CH_2OH; R_3=R_4=R_5=R_6=H; R_7=CH_3; 5,6=simples$ | triptoquinona B |
| 69 | $R_1=H_2; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4,R_5=O; R_6=OH; R_7=CH_3; 5,6=dupla$ | coleon U quinona |
| 70 | $R_1=H_2; R_2=CH_3; R_3=R_4=R_5=R_6=H; R_7=CH_3; 5,6=simples$ | 12-deoxiroleanona |
| 71 | $R_1=H_2; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4,R_5=O; R_6=OAc; R_7=CH_2OAc; 5,6=dupla$ | xantantusina H |
| 72 | $R_1=H_2; R_2=CH_3; R_3=R_4=H; R_5=OH; R_6=OMe; R_7=CH_3; 5,6=dupla$ | 12-OMe-5-dehidro-horminona |
| 73 | $R_1=H_2; R_2=CH_3; R_3=R_4=H; R_5=OAc; R_6=OMe; R_7=CH_3; 5,6=dupla$ | 12-OMe-5-dehidro-acetilhorminona |

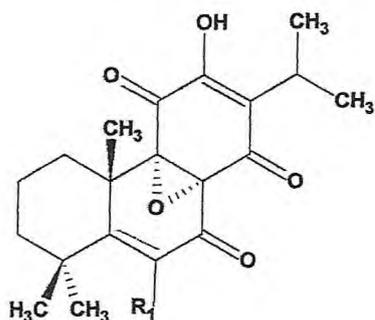


74 $R_1=H$

6,7-dihidro-roileanona

75 $R_1=OH$

hipargenina F

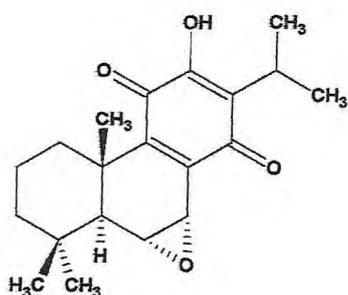


76 $R_1=H$; 5,6=simples

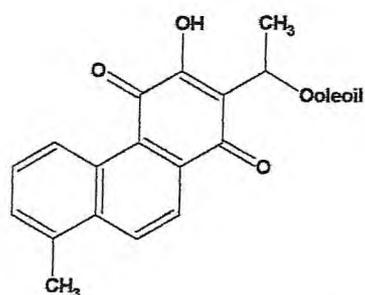
8α,9α-epoxi-7-oxo-roileanona

77 $R_1=OH$; 5,6=dupla

8α,9α-epoxi-coleon U quinona



78 6α,7α-epoxi-roileanona



79 16-O-oleoil-danshenxinkun A

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado

	1	2*	3	4	5	6	7	8	9	10
H-1	1,79	1,62	♣	4,38	3,31	2,69	3,35	2,14	2,70	1,80
	♣	♣	♣	-	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-2	1,65	1,50	♣	2,04	1,94	1,81	3,36	2,16	2,12	1,80
	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-3	3,14	3,18	♣	2,04	3,74	3,21	3,98	3,96	3,40	3,25
	♣	♣	♣	♣	-	♣	-	-	♣	♣
H-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-6	7,62	7,64	7,57	7,62	8,03	7,97	7,56	7,66	8,33	7,52
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-7	7,49	7,65	7,49	7,68	7,91	7,62	7,64	7,64	7,77	7,52
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-16	7,39	7,45	7,20	7,20	7,24	7,39	7,26	7,26	7,31	7,25
H-17	4,67	2,25	2,25	2,25	2,26	2,26	2,27	2,27	2,30	2,26
H-18	1,31	1,24	3,80 3,63	1,40	1,35	3,60	1,50	1,46	-	1,62
H-19	1,31	1,24	1,30	1,28	1,33	-	-	-	-	-
H-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ref.	LJ, 1991	LJ, 1991	LJ, 1991	KAKISAWA, 1968	LUO, 1985	LUO, 1985	LUO, 1985	LUO, 1985	LUO, 1985	KAKISAWA, 1968

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	11*	12	13	14	15	16	17	18	19	20
H-1	8,24	9,60	2,26	3,19	3,22	3,00	3,20	4,98	3,28	3,21
	-	-	♣	3,19	♣	2,50	♣	-	-	♣
H-2	9,52	9,80	3,38	1,77	1,80	2,00	1,70	1,90	1,89	♣
	-	-	♣	1,77	♣	1,80	♣	1,53	♣	♣
H-3	7,27	7,85	6,10	1,64	1,66	3,32	1,70	♣	2,51	♣
	-	-	-	1,64	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,05
H-6	7,79	8,10	7,54	7,60	7,52	7,52	7,34	7,22	7,13	4,40
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-7	7,50	8,00	7,43	7,47	7,66	7,90	7,34	7,68	7,88	4,52
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-14	-	-	-	-	-	-	7,10	7,10	7,11	6,79
H-15	-	-	3,62	3,58	3,79	3,62	3,02	3,01	3,04	2,93
H-16	7,46	7,40	4,91	4,87	4,95	4,91	1,50	1,17	1,18	1,12
			4,38	4,34		4,39				
H-17	2,23	2,35	1,38	1,34	3,79	1,38	1,50	1,17	1,18	1,11
H-18	2,53	10,35	2,07	1,29	1,32	5,54	1,30	1,24	5,50	0,88
						5,10			5,06	
H-19	-	-	-	1,29	1,31	-	1,30	1,38	-	1,02
H-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ref.	LI, 1991	CHANG, 1990	CHANG, 1990	RODRÍGUEZ, 2003	TORRE, 1992	CHANG, 1990	HAYASHI, 1970	MICHAVILA, 1986	CHANG, 1990	GONZÁLEZ, 1989

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 - Dados de RMN ^1H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl_3 , exceto quando mencionado(cont.)

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
H-1	2,85	2,70	2,20	2,68	2,74	3,22	*	*	2,85	*
	*	*	*	*	*	1,48	*	*	*	*
H-2	*	*	*	*	*	1,62	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
H-3	*	*	*	*	*	1,63	*	*	*	*
	*	*	*	*	*	1,25	*	*	*	*
H-5	1,67	*	2,65	*	*	1,65	2,23	*	*	*
H-6	-	*	*	*	*	4,60	4,39	*	*	*
	-	*	*	*	*	-	-	*	*	*
H-7	-	*	4,79	4,42	5,81	4,74	4,56	5,96	4,76	4,43
	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-
H-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-14	7,41	6,31	6,36	-	-	-	-	-	-	-
H-15	2,99	2,98	2,99	3,16	3,19	3,17	3,14	3,15	3,18	3,21
H-16	1,14	1,10	1,11	1,22	1,22	1,20	1,18	1,23	1,22	1,25
H-17	1,15	1,01	1,11	1,18	1,22	1,23	1,20	1,18	1,23	1,22
H-18	1,36	0,91	0,93	0,92	0,90	0,90	0,87	1,20	1,33	0,80
H-19	1,12	0,89	0,93	0,88	0,89	1,04	1,00	-	-	3,86
	4,41	1,28	1,37	3,73	-	-	-	4,81	4,81	3,32
	3,46	-	-	3,65	-	-	1,23	4,21	4,21	5,61
OCH_2CH_3	-	-	-	-	-	-	4,00 e 3,80	-	-	-
OCH_2CH_3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OCH_3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ref.	YOSHIZAKI, 1979	ULUBELEN, 1995	CHANG, 1990	ULUBELEN, 1995	LUIS, 1994	SHUN- HUA, 1993	GONZÁLEZ , 1988	JIMENEZ, 1988	HERNÁNDEZ, 1987	CARDENAS, 1995

* Espectros obtidos em $\text{C}_2\text{D}_2\text{N}$ / ♥ Espectro obtido em DMSO-d_6 / ** Espectros obtidos em CDCl_3 + CD_3OD / * Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 - Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
H-1	♣	♣	2,75	2,75	2,68	2,55	♣	2,68	♣	♣
H-2	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,17	♣	♣
H-3	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,72	♣	♣
H-5	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,55	♣	♣
H-6	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,46	♣	♣
H-7	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,23	♣	♣
H-12	-	-	-	-	-	-	-	1,80	-	-
H-14	-	-	-	-	-	-	-	1,51	-	-
H-15	3,17	3,17	3,27	3,16	3,17	3,17	-	1,95	3,10	3,15
H-16	1,22	1,22	3,80	123	1,23	1,21	1,22	1,20	1,27	1,15
H-17	1,20	1,20	1,18	1,18	1,19	1,17	1,22	1,19	1,15	1,20
H-18	1,03	0,95	0,89	1,27	0,94	0,92	0,95	0,97	0,95	0,90
H-19	-	-	0,92	3,73 e 3,52	0,91	0,91	0,93	0,89	0,95	1,20
H-20	4,13 3,87	4,41 3,72	1,24	0,98	1,21	1,26	1,35	1,20	1,35	1,60
OCOCH ₃	-	-	-	2,05	-	-	-	-	-	2,00
OCH ₂ CH ₃	-	-	-	-	3,71 e 3,68	3,68	-	-	-	-
OCH ₂ CH ₃	-	-	-	-	1,21	1,20	-	-	-	-
OCH ₃	-	-	-	-	-	3,82	-	-	-	-
Ref.	CARDEN AS, 1995	CARDEN AS, 1995	GONZÁLE Z, 1992	HERNÁNDE Z, 1987	MICHAVIL A, 1986	MICHAVIL A, 1986	HENSCH, 1975	RODRÍGUEZ, 2003	KUPCHAN, 1969	MEHROTRA, 1989

* Espectros obtidos em C₂D₂N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50*
H-1	2,65	2,58	2,58	2,58	♣	♣	2,59	2,68	2,68	2,95
	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,15	♣
H-2	♣	♣	♣	♣	♣	4,20	♣	♣	1,70	♣
	♣	♣	♣	♣	♣	-	♣	♣	1,25	♣
H-3	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,60	♣
	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	♣	1,40	♣
H-5	2,18	♣	♣	2,18	♣	♣	♣	♣	1,57	2,09
H-6	4,46	4,47	4,45	4,32	♣	♣	1,95	♣	2,04	4,93
	-	-	-	-	♣	♣	♣	♣	1,35	-
H-7	4,57	4,13	4,23	5,66	6,06	♣	4,73	4,73	4,31	5,43
	-	-	-	-	-	♣	-	-	-	-
H-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-15	3,39	3,40	3,40	3,36	3,12	3,14	3,18	3,36	3,18	3,89
H-16	4,33 e 4,25	4,32 e 4,23	4,31 e 4,23	4,30 e 4,22	1,02	1,25	1,20	4,27 e 4,25	1,19	4,73 e 4,60
H-17	1,23	1,24	1,24	1,24	1,18	1,25	1,18	1,21	1,22	1,38
H-18	1,05	1,04	1,03	0,95	1,02	0,90	0,98	0,97	0,95	1,22
H-19	1,26	1,25	1,25	1,23	9,71	0,88	0,90	0,90	0,91	1,53
H-20	1,62	1,60	1,60	1,63	1,13	1,27	1,27	1,21	1,21	1,92
OCOCH ₃	2,03	2,01	2,02	2,05 e 2,01	2,07 e 2,34	-	-	2,00	-	2,09
OCH ₃	-	-	-	-	-	-	3,89	-	3,45	-
OCH ₂ CH ₃	-	-	3,84 e 3,72	-	-	-	-	-	-	-
OCH ₂ CH ₃	-	-	1,18	-	-	-	-	-	-	-
Ref.	YUNLONG, 1989	YUNLONG, 1989	YUNLONG, 1989	YUNLONG, 1989	CÁRDENAS, 1995	ULUBELE N, 1987	TORRE, 1992	BATISTA, 1995	JONATHAN, 1989	YUNLONG, 1989

* Espectros obtidos em C₅D₂N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
H-1	2,59	2,60	2,71	2,74	2,67	2,70	2,50	2,73	2,61	2,64
H-2	♣	♣	1,18	1,09	♣	♣	♣	♣	2,21	♣
H-3	♣	♣	1,72	1,67	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-5	♣	♣	1,55	1,55	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-6	♣	♣	1,47	1,44	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-7	♣	♣	1,20	1,16	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-12	♣	♣	1,46	1,08	♣	♣	♣	♣	♣	♣
H-14	4,45	♣	1,92	1,84	4,65	4,11	♣	♣	♣	4,34
H-15	-	♣	1,59	1,34	-	-	♣	♣	♣	-
H-16	4,22	5,88	5,91	2,69	2,67	3,06	5,93	5,97	4,74	5,70
H-17	-	-	-	2,32	2,67	2,36	-	-	-	-
H-18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-19	3,31	3,06	3,13	3,13	3,15	3,09	3,01	3,10	3,29	3,16
H-20	3,87 e 3,74	1,10	1,20	1,19	1,22	1,22	1,14	1,14	1,20	1,20
OCOCH ₃	1,23	1,10	1,16	1,18	1,22	1,22	1,14	1,14	1,20	1,20
OCH ₂ CH ₃	1,02	0,87	0,85	0,91	1,25	1,22	0,80	0,93	0,93	1,24
OCH ₂ CH ₃	1,25	0,87	0,86	1,00	1,00	1,14	0,80	0,93	0,93	0,88
Ref.	1,59	1,20	1,22	1,23	1,63	1,32	1,20	1,34	1,40	1,62
	-	2,00 e 2,30	2,01	-	-	-	2,27 e 1,96	1,99	-	2,02
	3,84 e 3,72	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	YUNLONG, 1989	HENSCH, 1975	RODRÍG UEZ, 2003	RODRÍG UEZ, 2003	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	61	62	63	64	65	66	68	69	70	71	
H-1	*	2,53	-	3,23	3,25	3,25	3,36	2,76	2,74	2,52	
	*	*	-	3,23	3,25	3,25	3,36	1,56	1,09	1,73	
H-2	*	*	2,95	1,82	1,75	1,65	1,87	2,63	1,73	1,87	
	*	*	2,95	1,82	1,75	1,65	1,87	2,42	1,53	1,71	
H-3	*	*	2,09	1,65	1,75	1,65	2,10	-	1,48	2,08	
	*	*	2,09	1,65	1,75	1,65	2,10	-	1,18	1,61	
H-5	*	*	-	-	-	-	-	2,26	1,08	-	
H-6	5,44	4,39	7,68	7,74	7,73	7,75	7,59	2,22	1,86	-	
	-	-	-	-	-	-	-	1,41	1,42	-	
H-7	5,63	4,43	8,18	7,98	7,96	7,75	7,90	2,83	2,69	-	
	-	-	-	-	-	-	-	2,39	2,30	-	
H-12	-	-	-	-	-	-	-	6,38	6,31	-	
H-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H-15	3,06	3,10	3,37	3,54	3,50	3,65	-	3,01	2,98	3,40	
H-16	1,14	1,14	1,29	4,34	3,88	4,54	7,30	1,12	1,09	4,27	
H-17	1,14	1,14	1,29	1,26	1,24	1,35	2,28	1,12	1,10	1,26	
H-18	0,96	1,23	1,29	1,30	1,30	1,30	3,98 e 3,80	4,05 e 3,46	0,93	1,43	
H-19	0,96	0,99	1,29	1,30	1,30	1,30	1,46	2,12	0,90	1,43	
H-20	1,58	1,56	-	-	-	-	-	1,18	1,28	1,75	
OCOCH ₃	2,31 2,02	-	-	-	-	-	-	-	-	2,35 1,98	
Oleoil	-	-	-	2,20; 1,50; 1,98; 5,31; 5,31; 1,98; 1,20; 1,20; 0,85	-	-	-	-	-	-	-
Ref.	HENSCH, 1975	HENSCH, 1975	IKESHIRO , 1989	LIN, 2001	LEE, 1987	KAKISAWA, 1969	LEE, 1987	TAKAISHI, 1992	TAN, 2002	MEI, 2002	

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆ *** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 2 – Dados de RMN ¹H de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado(cont.)

	72	73	74	75	78	79
H-1	2,71	2,69	2,87	2,90	2,77	9,41
	1,50	1,48	1,40	♣	♣	-
H-2	2,56	2,55	1,67	♣	♣	7,60
	1,62	1,59	1,55	♣	♣	-
H-3	2,18	2,16	1,45	♣	♣	7,45
	1,38	1,37	1,20	♣	♣	-
H-5	-	-	2,12	-	♣	-
H-6	6,91	6,92	6,45	6,96	3,43	8,41
	-	-	-	-	-	-
H-7	4,70	5,35	6,80	7,35	3,77	8,25
	-	-	-	-	-	-
H-12	-	-	-	-	-	-
H-14	-	-	-	-	-	-
H-15	3,30	3,29	3,15	3,05	3,21	3,60
H-16	1,21	1,21	1,21	1,20	1,23	4,40 e 4,38
H-17	1,18	1,18	1,19	1,20	1,23	1,32
H-18	1,05	1,05	0,96	1,60	1,11	2,73
H-19	1,05	1,05	0,88	1,60	1,11	-
H-20	1,09	1,08	1,02	1,70	1,30	-
Oilcoil	-	2,03	-	-	-	2,21; 1,50; 1,98; 5,30; 5,30; 1,98; 1,20; 1,20; 0,85
OCH ₃	3,82	3,81	-	-	-	-
Ref.	ULUBELE N, 1997	ULUBELE N, 1997	RODRÍGU EZ, 2003	ULUBELE N, 1988	HENSCH, 1975	LIN, 2001

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 3 – Dados de RMN ¹³C de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado

	2**	9**	11	14	22	24	25	26	28	33
C-1	30,2	28,3	118,7	29,6	37,0	35,6	27,5	25,5	25,9	36,2
C-2	19,3	22,2	130,6	19,0	18,2	18,5	18,6	18,5	20,9	18,9
C-3	38,8	38,0	128,4	37,7	40,8	40,9	40,9	37,9	35,5	41,3
C-4	34,9	197,3	135,2	34,8	33,4	32,9	35,1	31,3	42,0	33,4
C-5	144,8	134,6	123,2	152,3	46,4	45,4	45,5	50,6	24,4	51,7
C-6	134,0	134,2	132,9	132,5	23,7	22,9	28,2	65,5	40,3	17,4
C-7	120,6	120,9	124,8	122,5	33,4	69,2	70,6	75,8	65,3	26,7
C-8	127,5	133,6	129,6	126,2	148,3	134,2	139,4	140,6	126,0	133,1
C-9	126,3	126,4	126,9	128,3	154,0	147,8	147,7	144,2	140,5	146,1
C-10	150,6	150,5	133,6	143,6	39,3	39,1	49,2	46,2	37,8	38,5
C-11	183,5	182,8	183,4	184,2	182,0	184,2	180,5	181,5	184,7	182,5
C-12	175,7	175,5	175,6	175,6	182,0	150,6	151,4	151,2	151,2	152,0
C-13	121,3	122,0	121,7	118,3	136,0	124,6	124,3	125,2	143,9	119,0
C-14	162,2	162,7	161,1	170,7	118,3	182,4	182,5	187,5	183,6	186,0
C-15	141,9	143,2	120,5	34,5	25,0	24,2	24,5	24,1	42,8	32,7
C-16	120,6	120,9	142,0	81,4	20,4	19,6	20,2	19,6	19,9	65,5
C-17	8,7	8,7	8,8	18,8	20,6	19,8	20,2	19,8	19,7	14,5
C-18	31,9	-	19,8	31,9	33,1	33,1	19,8	31,4	20,9	33,3
C-19	31,9	-	-	31,8	22,0	22,9	32,6	21,9	174,6	21,7
C-20	-	-	-	-	20,1	65,4	173,8	175,4	73,5	20,1
OCOCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
OCOCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	♣	-
REF.	LUO, 1985	LUO, 1985	RAHMAN, 1992	RODRÍGU EZ, 2003	ULUBELE N, 1995	ULUBELE N, 1995	LUIS, 1994	SHUN-HUA, 1993	RAHMAN, 1992	GONZAL EZ, 1992

* Espectros obtidos em C₅D₂N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 3- Dados de RMN ¹³C de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado (cont.)

	34	37	38	39	40	41 [▼]	42*	43 [▼]	44	45
C-1	36,1	35,1	35,9	36,2	38,5	37,8	38,5	37,7	38,8	35,0
C-2	19,7	18,4	18,9	19,8	24,0	18,8	19,6	18,8	19,0	18,6
C-3	35,6	40,7	41,2	41,0	42,5	42,2	42,8	42,1	42,3	33,7
C-4	39,0	33,1	33,2	33,3	39,0	33,4	34,0	33,4	33,6	47,7
C-5	46,7	48,9	45,8	49,0	49,5	47,7	49,7	48,5	49,8	46,9
C-6	25,3	36,3	25,9	26,3	68,0	65,8	67,0	64,7	66,7	24,4
C-7	64,7	196,5	63,3	68,1	70,0	68,3	77,2	74,0	68,8	63,7
C-8	149,9	132,9	143,4	144,5	137,5	140,9	139,9	139,0	137,4	139,4
C-9	139,4	155,2	148,0	148,1	150,5	146,9	148,8	147,5	150,3	*
C-10	38,3	39,8	39,2	39,5	34,5	38,3	39,5	38,2	38,4	39,2
C-11	183,8	184,6	184,2	184,1	183,5	183,4	184,8	183,2	182,9	*
C-12	151,0	150,6	151,4	151,2	151,0	153,7	156,6	153,9	152,0	151,5
C-13	124,9	125,3	124,4	124,5	126,0	119,4	120,6	119,5	120,0	137,9
C-14	185,4	184,9	189,3	189,9	179,0	186,9	187,8	186,6	185,6	*
C-15	26,9	24,1	24,1	24,0	23,0	28,8	30,0	28,7	29,3	25,2
C-16	18,9	19,6	19,8	19,9	22,0	65,8	65,2	65,7	66,3	20,2
C-17	18,7	19,6	19,8	19,9	22,5	15,0	15,5	15,0	14,9	20,2
C-18	21,0	32,5	33,2	33,2	21,0	33,4	34,2	33,4	33,6	23,9
C-19	65,9	21,1	21,8	21,7	20,0	23,7	24,3	23,6	23,7	204,3
C-20	24,3	17,8	18,5	18,7	23,5	21,4	22,0	21,3	21,5	17,9
OCOCH ₃	19,9	-	-	-	20,5	20,6	20,8	20,7	20,9	21,0 e 20,4
OCOCH ₃	169,4	-	-	-	166,0	170,2	170,9	170,2	171,2	169,4
OCH ₃	-	-	-	-	-	-	58,4	-	-	-
OCH ₂ CH ₃	-	-	-	-	-	-	-	65,6	-	-
OCH ₂ CH ₃	-	-	-	-	-	-	-	15,7	-	-
Ref.	HERNÁND EZ, 1987	RAHMAN, 1992	CÁRDENA S, 1995							

* Espectros obtidos em C₂D₂N₂/♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/♣ Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 3 – Dados de RMN ¹³C de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado (cont.)

	49	60	63	64	68	69	70	71	72	
C-1	35,7	38,7	199,5	29,9	31,8	30,5	36,5	30,8	37,4	
C-2	18,8	24,2	36,6	19,1	24,5	17,4	19,0	17,8	18,2	
C-3	41,0	42,5	36,6	37,7	124,5	36,1	41,4	36,4	40,8	
C-4	39,2	38,4	35,4	34,8	148,1	36,1	33,6	36,4	33,4	
C-5	45,5	49,9	135,1	152,7	47,3	143,0	51,6	143,9	127,7	
C-6	22,1	67,2	130,5	133,5	18,6	146,5	17,4	146,4	106,7	
C-7	70,7	68,9	129,3	125,0	25,1	177,3	26,0	177,1	77,8	
C-8	141,4	137,3	133,4	132,5	142,4	126,6	142,7	126,9	124,7	
C-9	147,8	150,1	128,8	126,3	148,6	154,9	150,9	158,1	142,6	
C-10	33,0	33,6	153,4	140,9	36,5	41,2	38,5	42,0	41,2	
C-11	184,1	185,9	181,0	182,9	187,8	183,4	188,0	179,8	183,2	
C-12	150,6	151,1	156,8	153,9	131,7	150,6	132,0	150,2	154,5	
C-13	124,7	124,8	127,3	121,5	153,1	125,8	152,8	135,8	129,4	
C-14	186,4	183,6	183,5	184,2	187,5	184,0	188,0	183,5	181,4	
C-15	24,2	23,8	24,6	29,7	26,3	24,2	26,3	31,0	26,4	
C-16	19,7	19,8	19,8	66,1	21,3	19,5	21,4	66,3	21,4	
C-17	19,9	19,7	19,8	14,8	21,3	19,5	21,4	15,2	21,6	
C-18	33,0	21,5	28,7	31,7	174,5	28,7	33,5	29,4	21,6	
C-19	21,9	33,7	28,7	31,7	18,4	26,9	21,8	27,1	33,4	
C-20	18,5	19,1	-	-	19,1	27,3	20,2	27,6	20,1	
OCOCH ₃	-	20,9	-	-	-	-	-	20,2 e 20,8	-	
OCOCH ₃	-	169,9	-	-	-	-	-	167,8 e 170,9	-	
OCH ₃	57,3	-	-	-	-	-	-	-	55,9	
Oleoil	-	-	-	173,7;34,3; 24,9; 27,20; 129,7; 129,9; 31,9; 22,6; 14,1	-	-	-	-	-	-
Ref.	JONATHA N, 1989	HENSCH, 1975	IKESHIRO, 1989	LIN, 2001	TAKAISHI, 1992	RAHMAN, 1992	TAN, 2002	MEI, 2002	ULUBELEN, 1997	

* Espectros obtidos em C₅D₅N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆/ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ #Sinais não mencionados nos artigos

TABELA 3 – Dados de RMN ¹³C de diterpenos abietanos com o anel C orto ou para quinônico-espectros em CDCl₃, exceto quando mencionado (Cont.)

	73	74	75	76	77	79
C-1	37,5	35,3	30,4	34,4	30,5	125,4
C-2	18,2	18,7	27,0	18,2	17,4	130,5
C-3	40,7	40,7	32,4	40,7	36,1	129,3
C-4	33,4	33,5	34,2	33,5	36,1	135,2
C-5	127,6	52,3	83,8	42,7	143,0	123,9
C-6	108,0	121,3	157,1	37,6	146,5	132,9
C-7	76,9	139,8	126,2	198,5	177,3	122,5
C-8	124,8	138,7	124,6	61,2	126,6	133,6
C-9	142,6	140,8	142,1	69,0	154,9	135,1
C-10	41,2	39,4	41,2	38,1	41,2	130,4
C-11	183,2	183,7	185,1	187,9	183,4	183,6
C-12	154,4	151,4	153,5	151,4	150,6	153,8
C-13	129,5	122,8	126,9	127,4	125,8	120,9
C-14	182,0	186,2	184,5	186,1	184,0	184,8
C-15	25,9	22,9	22,8	24,9	24,2	29,7
C-16	21,5	19,9	21,8	19,1	19,5	66,2
C-17	21,5	20,1	21,4	19,4	19,5	14,9
C-18	22,0	32,7	21,6	32,7	28,7	19,8
C-19	33,0	24,2	21,6	20,6	26,9	-
C-20	20,2	15,2	20,0	15,9	27,3	-
OCOCH ₃	22,3	-	-	-	-	-
O ₂ COCH ₃	172,6	-	-	-	-	-
OCH ₃	55,9	-	-	-	-	-
Oleoil	-	-	-	-	-	173,7; 34,3; 25,0; 27,2; 129,7; 129,9; 31,9; 22,6; 14,1
Ref.	ULUBELE N, 1997	RAHMAN, 1992	RAHMAN, 1992	RAHMAN, 1992	RAHMA N, 1992	LIN, 2001

* Espectros obtidos em C₂D₂N/ ♥ Espectro obtido em DMSO-d₆ ** Espectros obtidos em CDCl₃ + CD₃OD/ ♣ Sinais não mencionados nos artigos



DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.0 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1. Identificação dos Componentes voláteis das espécies estudadas

Os constituintes químicos voláteis de *Hyptis martiusii*, *H. platanifolia*, *H. suaveolens* e *H. pectinata* foram identificados a partir dos óleos essenciais obtidos por processo de hidrodestilação (ver **Fluxograma 1**, p. 236).

Os óleos essenciais obtidos foram armazenados em recipientes adequados, purgados com nitrogênio gasoso e encaminhados para análise por RMN ^1H e CGL-EM.

Os parâmetros utilizados nos espectros de massa para identificação dos constituintes químicos presentes em cada óleo essencial foram: pico do íon molecular, pico base, tempo de retenção, índice de Kovat, comparação com espectros de massa em banco de dados (espectroteca) (ALENCAR, 1990) e comparação visual com espectros de massa encontrados na literatura (ADAMS, 2001).

Os espectros de massa obtidos para cada um dos constituintes das misturas, através da técnica de identificação utilizada, encontram-se dispostos nas Figuras 42 a 87 (p. 67-76), por ordem de Índice Kovat.

4.1.1. Avaliação da constituição química circadiana dos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de *Hyptis martiusii* Benth, em intervalos de três horas

O estudo circadiano para verificar a variação na constituição volátil de *Hyptis martiusii* durante o dia, foi realizado com os óleos essenciais obtidos das folhas e inflorescências globulosas coletados na localidade de Moreilândia-PE, em maio de 2002.

Foram obtidas doze alíquotas de óleos essenciais; uma para cada hora analisada (6:00; 9:00; 12:00; 15:00; 18:00 e 21:00), para cada parte da planta (folhas e inflorescências globulosas).

Foi feita inicialmente uma comparação visual dos cromatogramas e espectros de RMN ^1H (**Figuras 8 a 31**) obtidos e, posteriormente, foram identificados os constituintes majoritários, que foram os mesmos em todas as análises, com pequena variação no percentual relativo, que pode ser atribuído tanto a variação no horário de

coleta (ver Gráficos 1 e 2), como também, devido ao teor descrito ser relativo a quantidade de constituintes detectados.

Os constituintes majoritários identificados, seus índices de Kovat corrigidos e percentagem relativa para cada experimento encontram-se descritos nas Tabelas 4 e 5.

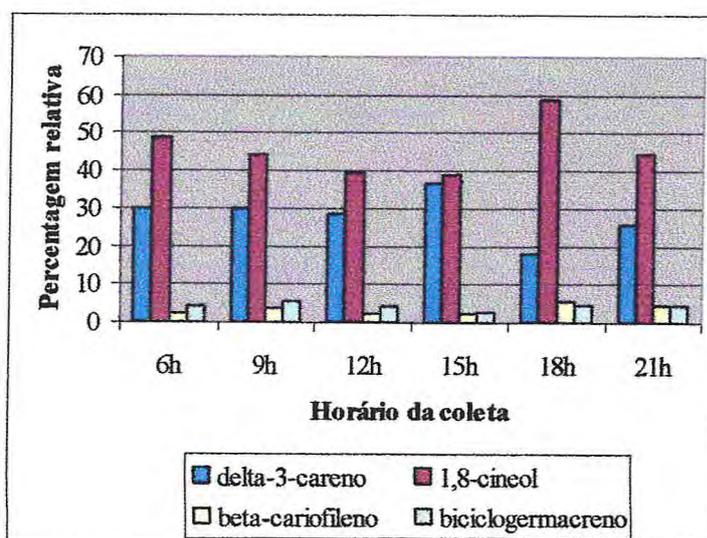
Para a composição química do óleo essencial das folhas o constituinte majoritário é sempre o 1,8-cineol, seguido do Δ -3-careno, também com teor considerável. Estes dados concordam com os dados obtidos anteriormente por nós e revelam que não houve variação significativa do óleo essencial durante o dia.

Tabela 4 – Avaliação da Composição majoritária do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* durante o dia a partir de seis coletas, em intervalos de três horas.

Componentes majoritários	IK*	Percentagens relativas (%)					
		HMF-6	HMF-9	HMF-12	HMF-15	HMF-18	HMF-21
Δ -3-careno	1011	29,78	29,80	28,68	36,95	17,80	25,96
1,8-cineol	1031	48,96	44,02	39,52	39,36	59,12	44,84
β -cariofileno	1417	2,31	3,50	4,37	2,47	5,54	4,63
biciclogermacreno	1486	4,20	5,50	5,56	2,76	4,48	4,79

* Índice de Kovat corrigido

Gráfico 1 – Gráfico em barras representativo do estudo circadiano da composição majoritária do óleo essencial das folhas de *H. martiusii*, durante o dia em intervalos de três horas.



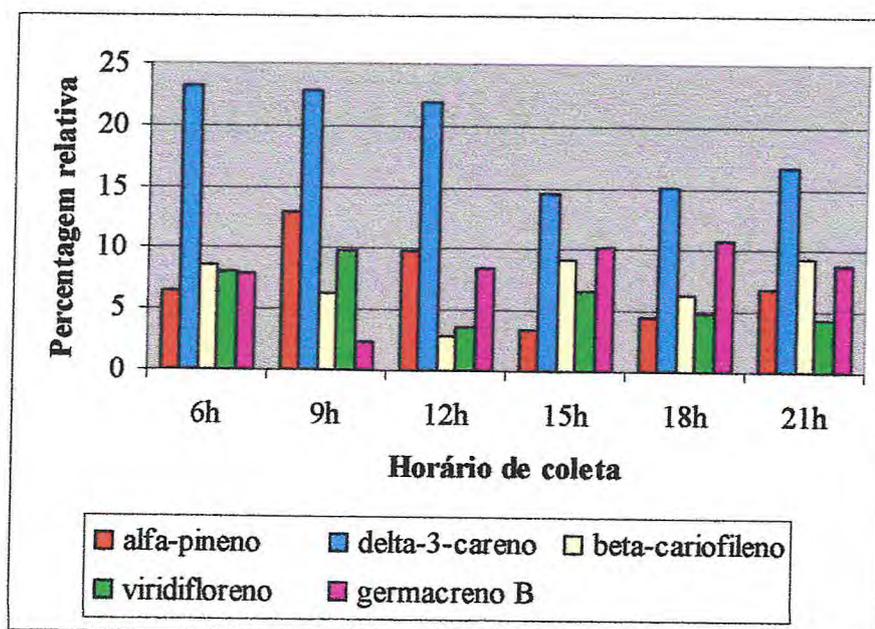
Para o óleo essencial obtido das inflorescências globulosas observou-se uma regularidade na composição química no transcorrer do dia, apesar de apresentar alguma variação nos teores relativos de cinco dos constituintes majoritários, o Δ -3-careno manteve o maior percentual em todas as análises e os dados obtidos são similares aos dados relatados anteriormente por nós.

Tabela 5 – Avaliação da Composição majoritária do óleo essencial das inflorescências globulosas de *Hyptis martiusii* durante o dia a partir de seis coletas, em intervalos de três horas.

Componentes majoritários	IK*	Percentagens relativas (%)					
		HMI-6	HMI-9	HMI-12	HMI-15	HMI-18	HMI-21
α -pineno	975	6,40	12,88	9,86	3,36	4,5	6,81
Δ -3-careno	1011	23,29	22,92	21,91	14,61	15,08	16,68
β -cariofileno	1417	8,68	6,27	2,93	9,11	6,32	9,31
viridifloreno	1487	8,05	9,94	8,45	9,09	4,92	5,43
germacreno B	1540	7,92	3,42	4,04	10,24	10,76	8,76

* Índice de Kovat corrigido

Gráfico 2 – Gráfico em barras representativo do estudo circadiano da composição majoritária do óleo essencial das inflorescências globulosas de *H. martiusii*, durante o dia em intervalos de três horas.



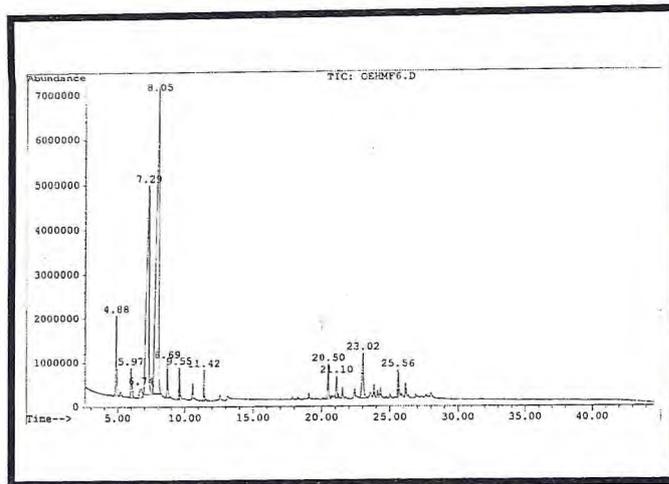


Figura 8 – Cromatograma do OEHMF-6

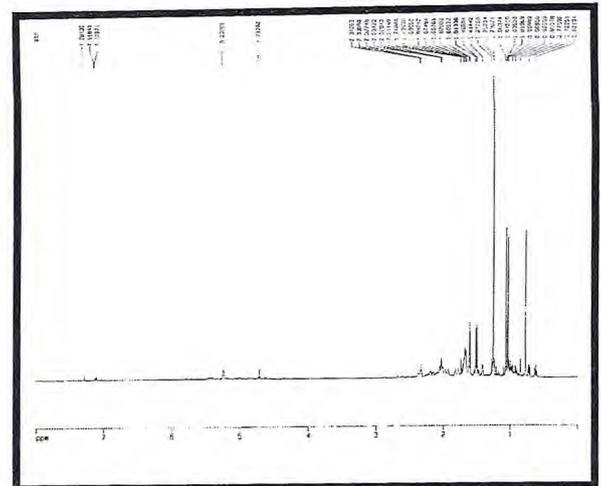


Figura 9 – RMN ^1H do OEHMF-6

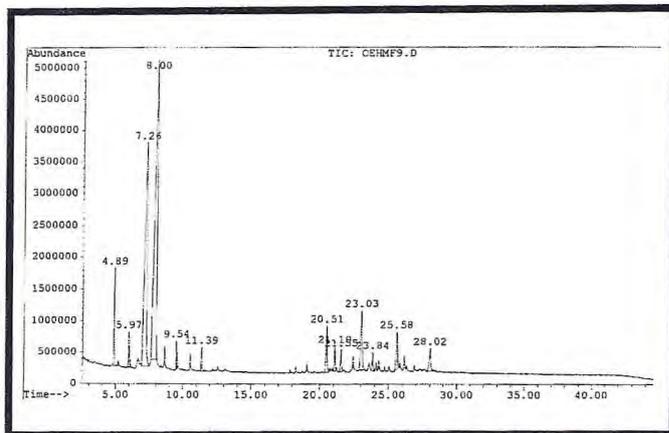


Figura 10 – Cromatograma do OEHMF-9

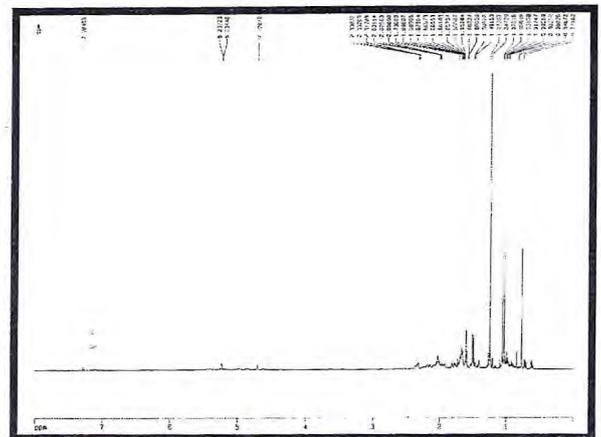


Figura 11 – RMN ^1H do OEHMF-9

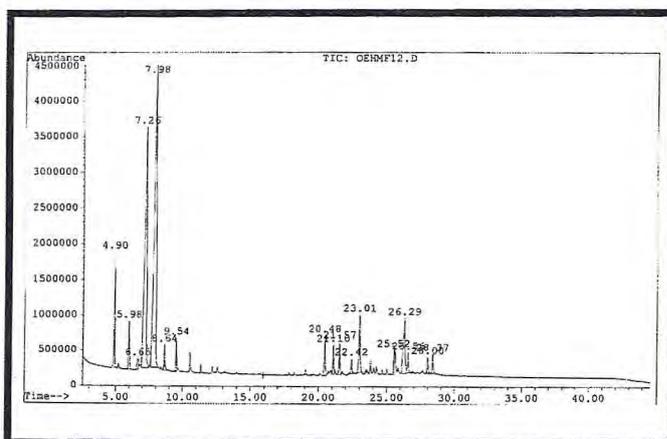


Figura 12 – Cromatograma do OEHMF-12

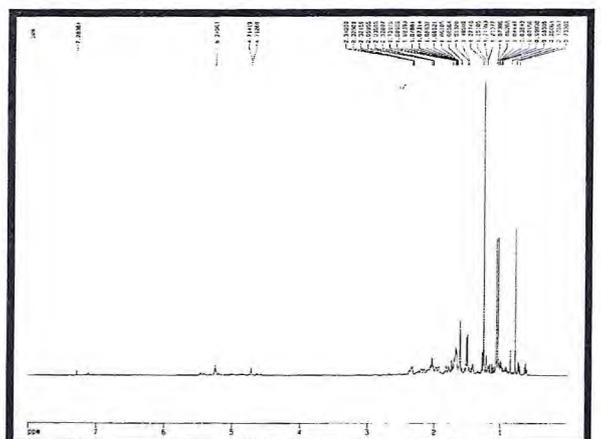


Figura 13 – RMN ^1H do OEHMF-12

*Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo gás-líquido e os espectros de RMN ^1H foram feitos em solução com clorofórmio deuterado.

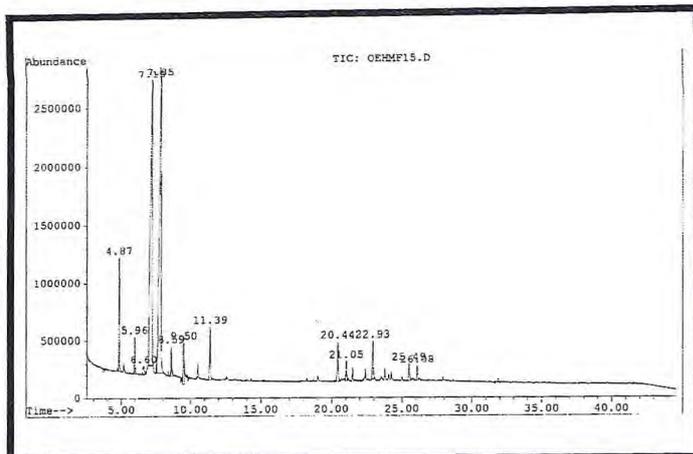


Figura 14 – Cromatograma do OEHMF-15

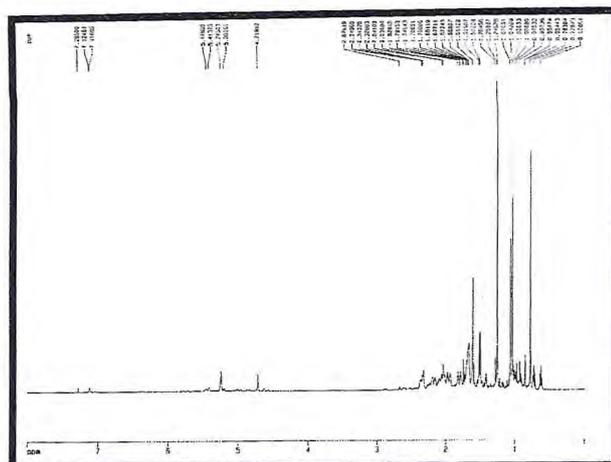


Figura 15 – RMN ¹H do OEHMF-15

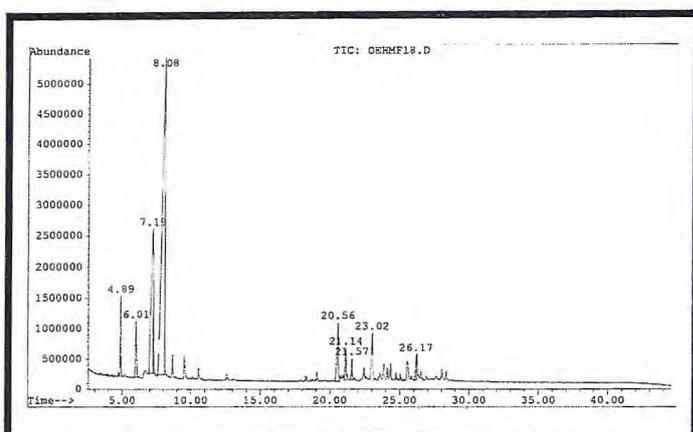


Figura 16 – Cromatograma do OEHMF-18

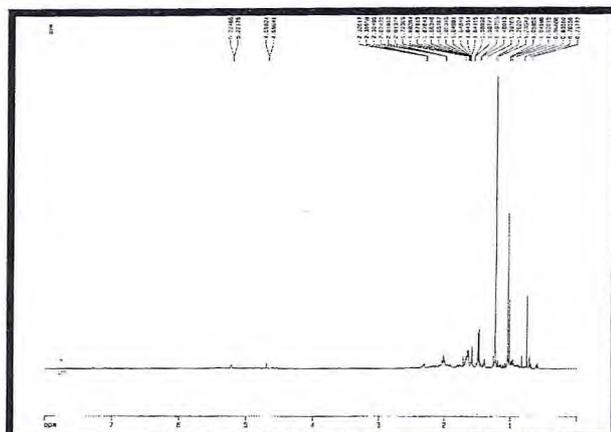


Figura 17 – RMN ¹H do OEHMF-18

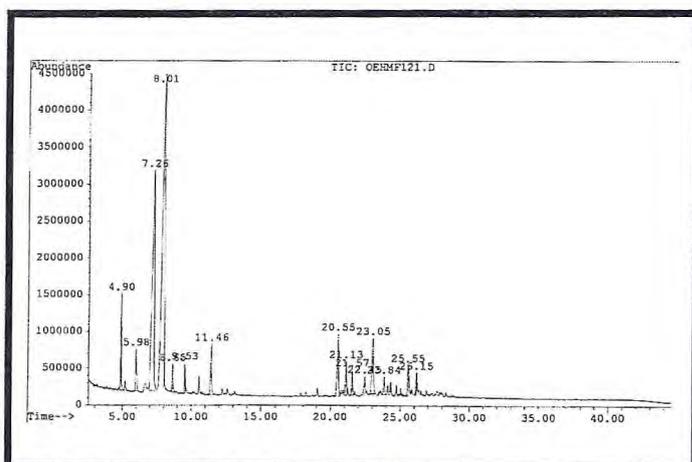


Figura 18 – Cromatograma do OEHMF-21

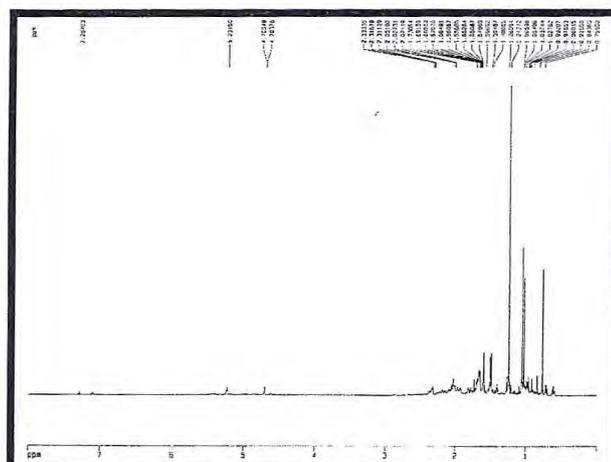


Figura 19 – RMN ¹H do OEHMF-21

*Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo gás-líquido e os espectros de RMN ¹H foram feitos em solução com clorofórmio deuterado.

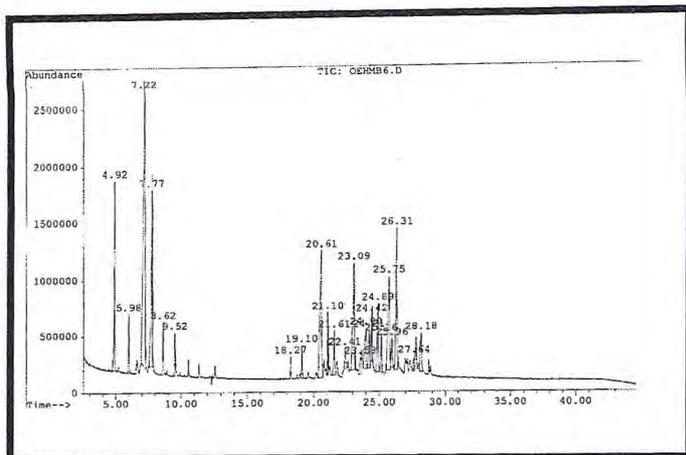


Figura 20 – Cromatograma do OEHMI-6

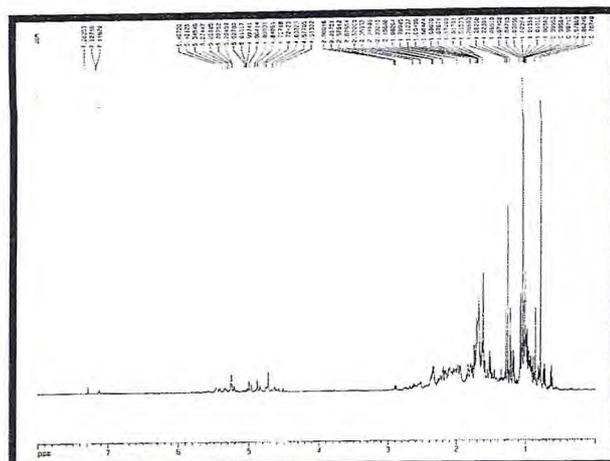


Figura 21 – RMN ¹H do OEHMI-6

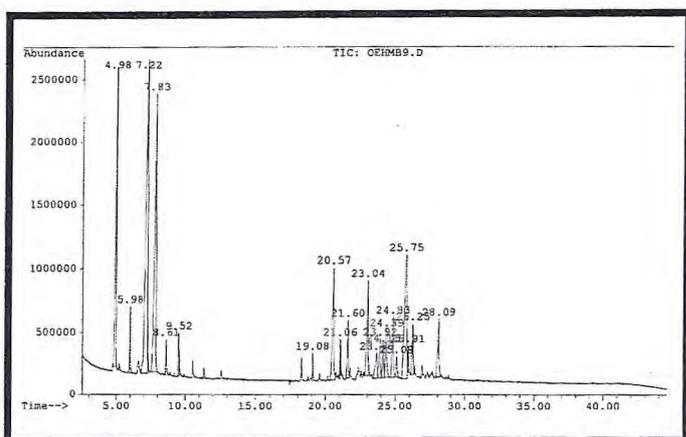


Figura 22 – Cromatograma do OEHMI-9

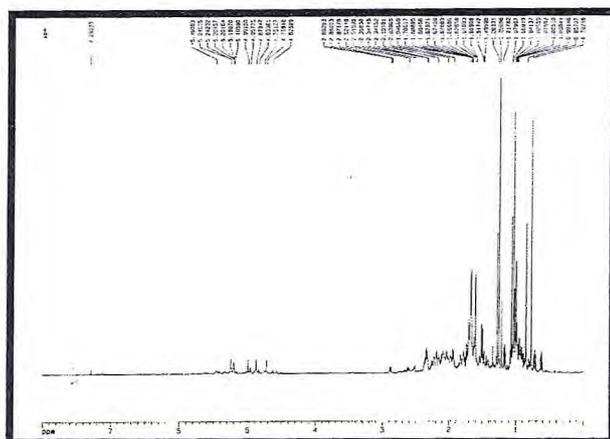


Figura 23 – RMN ¹H do OEHMI-9

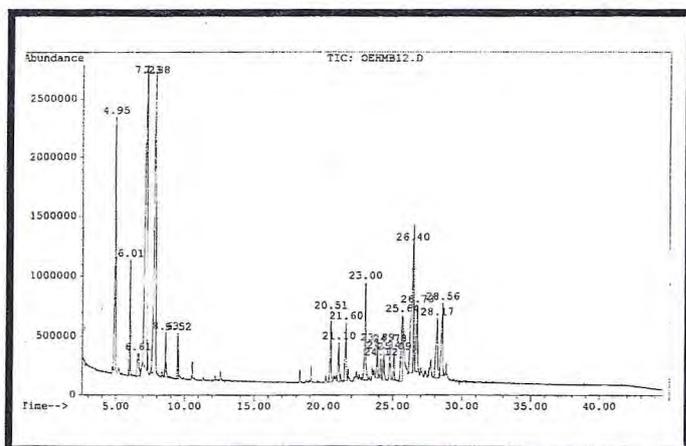


Figura 24 – Cromatograma do OEHMI-12

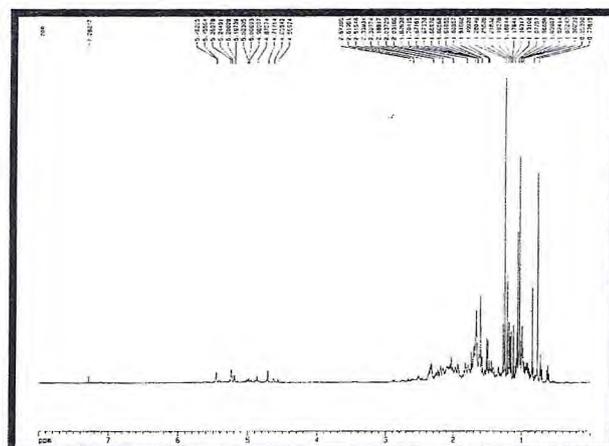


Figura 25 – RMN ¹H do OEHMI-12

*Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo gás-líquido e os espectros de RMN ¹H foram feitos em solução com clorofórmio deuterado.

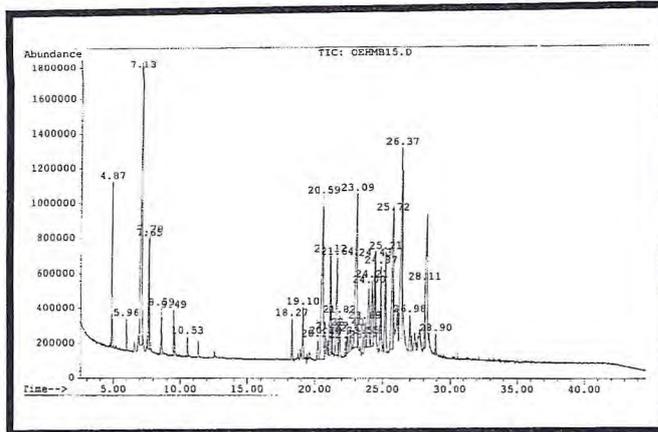


Figura 26 – Cromatograma do OEHMI-15

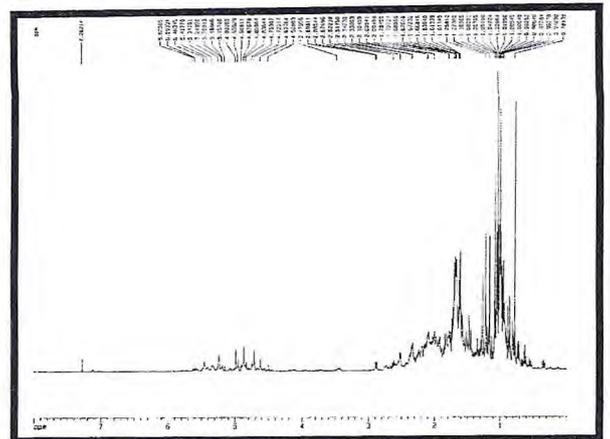


Figura 27 – RMN ¹H do OEHMI-15

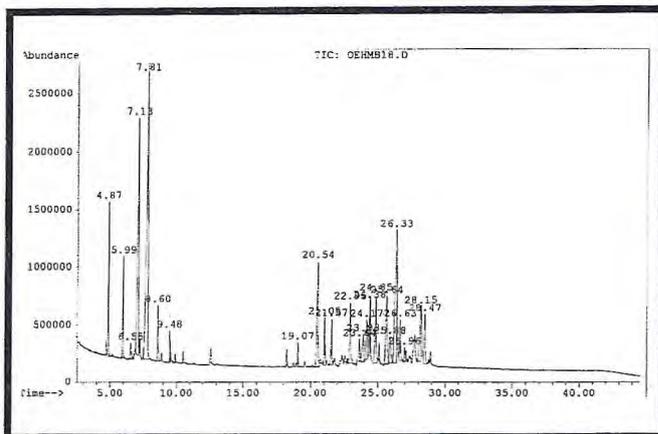


Figura 28 – Cromatograma do OEHMI-18

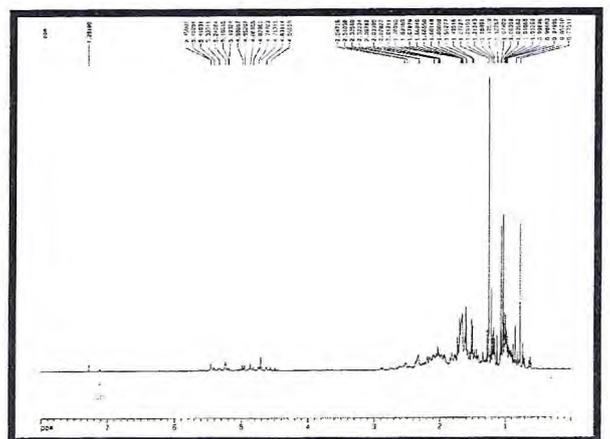


Figura 29 – RMN ¹H do OEHMI-18

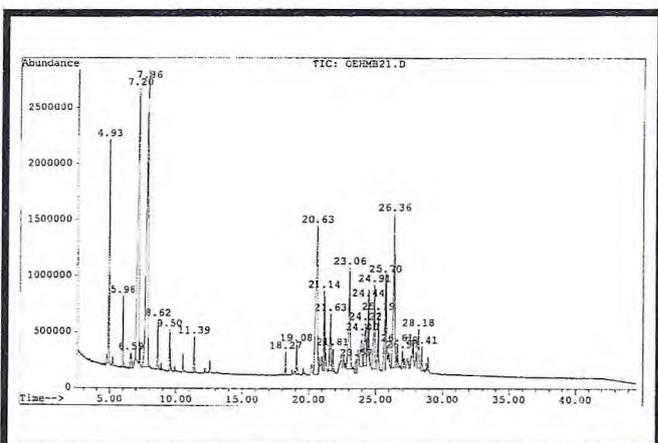


Figura 30 – Cromatograma do OEHMI-21

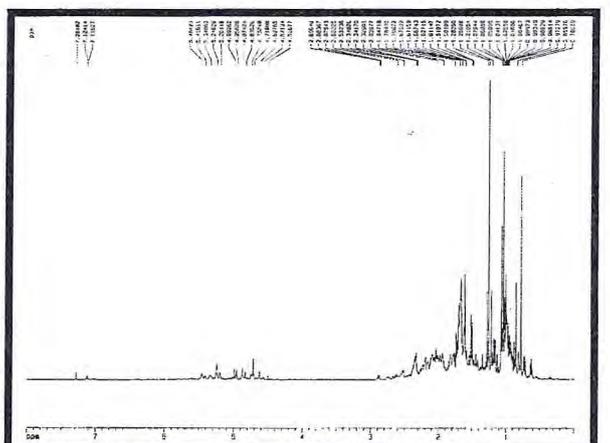


Figura 31 – RMN ¹H do OEHMI-21

*Os cromatogramas foram obtidos em cromatógrafo gás-líquido e os espectros de RMN ¹H foram feitos em solução com clorofórmio deuterado.

4.1.2. Identificação da composição química dos óleos essenciais de *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth

Exemplares de *Hyptis platanifolia* coletados na localidade de Barreiro Grande-Crato-Ceará, foram separados em folhas e inflorescências globulosas e submetidos a extração por hidrodestilação fornecendo os óleos essenciais denominados: OEHPL-F e OEHPL-I, respectivamente.

Análise por CGL/EM dos óleos essenciais obtidos forneceu os cromatogramas mostrados nas Figuras 32 e 34, que após análise dos espectros de massa permitiu a identificação de um monoterpene e vinte sesquiterpenos no óleo essencial das folhas e somente sesquiterpenos no óleo essencial das inflorescências globulosas, cujos componentes e seus percentuais são descritos na Tabela 6 (p. 57).

O cromatograma de OEHPL-F (Fig. 32, p. 58) exibe 21 picos dos quais foram identificados 16, perfazendo um total de 94,80 % da composição do óleo essencial das folhas de *H. platanifolia*. Entre os componentes detectados os majoritários foram: β -cariofileno (12,80%), α -humuleno (13,98 %), espatulenol (19,73 %), óxido de cariofileno (10,61 %), humuleno 1,2-epóxido (8,86 %) e τ -cadinol (9,06 %).

O cromatograma de OEHPL-I (Fig. 34, p. 59) mostra 22 picos dos quais apenas 13 foram identificados, totalizando 84,63 % da composição do óleo essencial das inflorescências globulosas de *H. platanifolia* e os componentes majoritários foram: β -cariofileno (12,58 %), α -humuleno (11,17 %); espatulenol (22,61 %) e humuleno 1,2-epóxido (17,45 %).

O estudo da composição volátil de *Hyptis platanifolia* é inédito na literatura uma vez que não existem relatos do estudo fitoquímico desta espécie.

Tabela 6 – Componentes químicos identificados nos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de *Hyptis platanifolia*

Componentes	IK*	Percentagens relativas	
		OEHP-L-F	OEHP-L-I
limoneno	1023	-	4,74
α -cubebeno	1364	0,93	-
β -bourbuneno	1397	2,23	1,43
β -elemeno	1404	3,79	6,06
β -cariofileno	1431	12,80	12,58
α -bergamoteno	1446	-	2,01
α -humuleno	1463	13,98	11,17
fenil etil 2-metilbutanoato	1492	-	1,73
β -bisaboleno	1504	0,63	-
germacreno A	1507	0,82	-
γ -cadineno	1519	5,73	0,74
<i>trans</i> -calameneno	1522	0,75	-
espatulenol	1579	19,73	22,61
óxido de cariofileno	1587	10,61	-
globulol	1601	2,16	-
humuleno 1,2-epóxido	1605	8,86	17,45
1,10-diepi-cubenol	1616	1,91	-
τ -cadinol	1619	9,06	2,19
10 β -calamenenol	1646	-	0,77
10 α -calamenenol	1653	-	1,15
<i>cis</i> -14-muurool-5-en-4-ona	1685	0,81	-
TOTAL		94,80	84,63

* Índice de Kovat corrigido

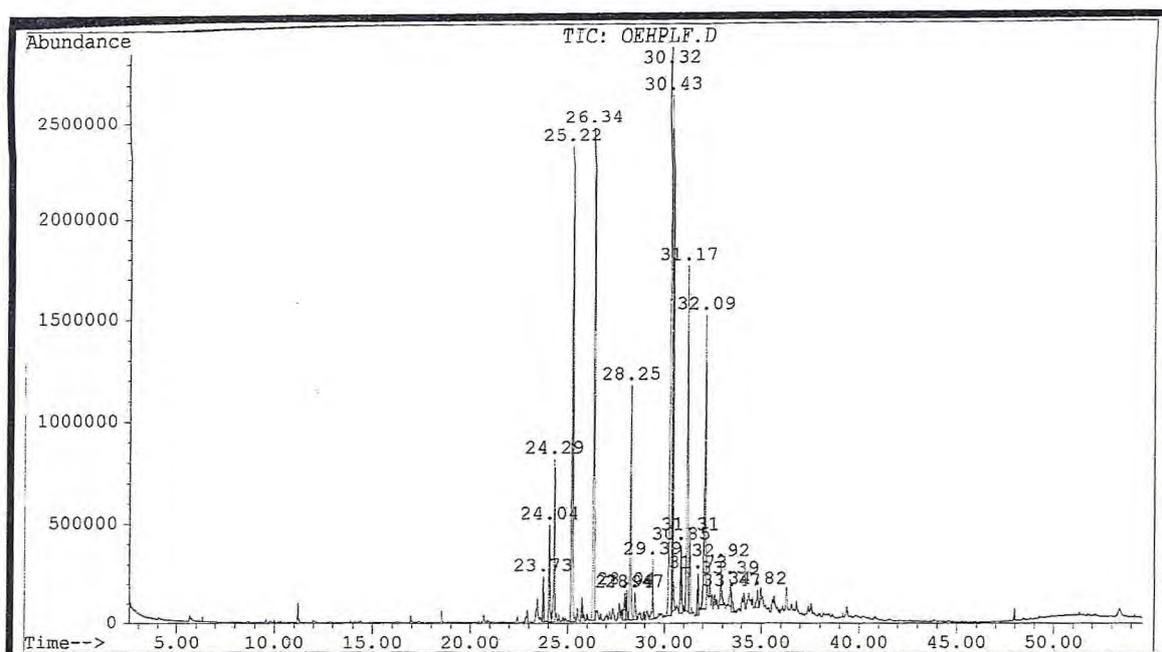


Figura 32 – Cromatograma gás-líquido de OEHLF-F

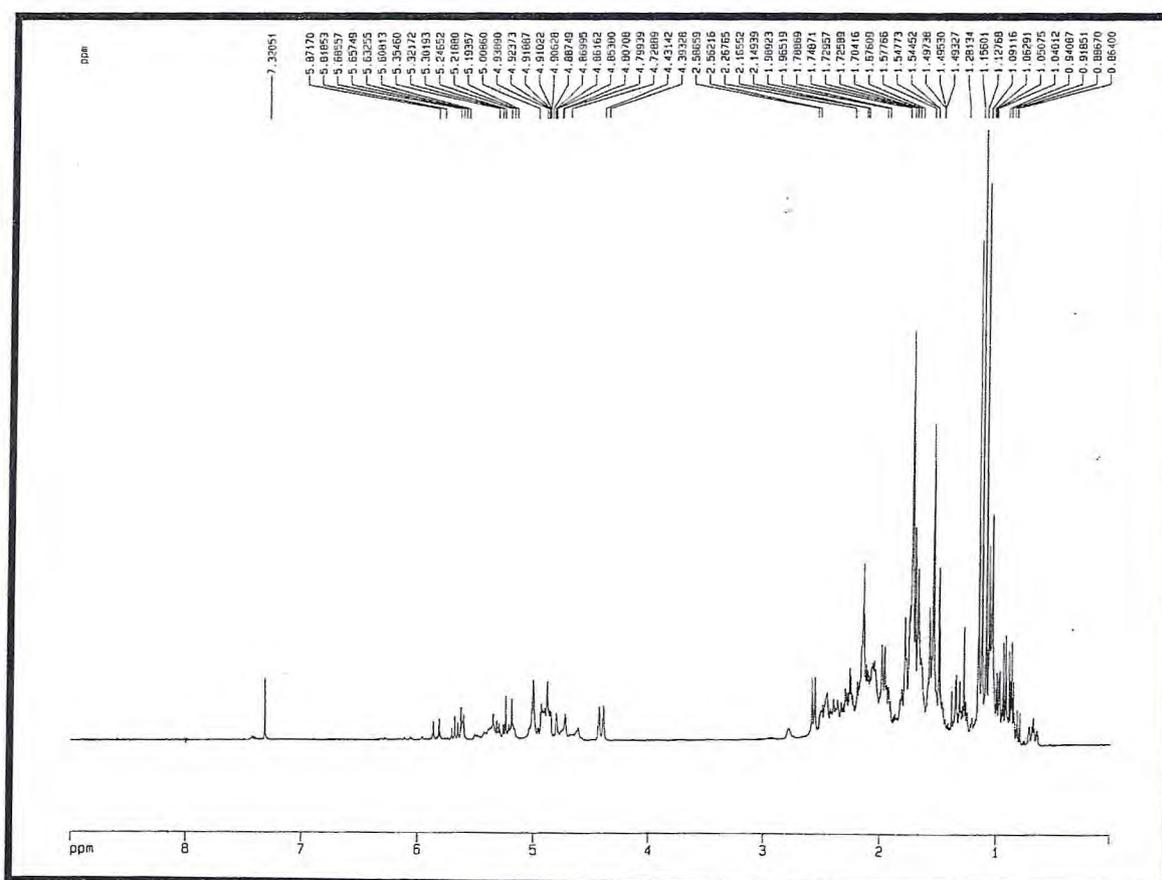


Figura 33 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de OEHLF-F

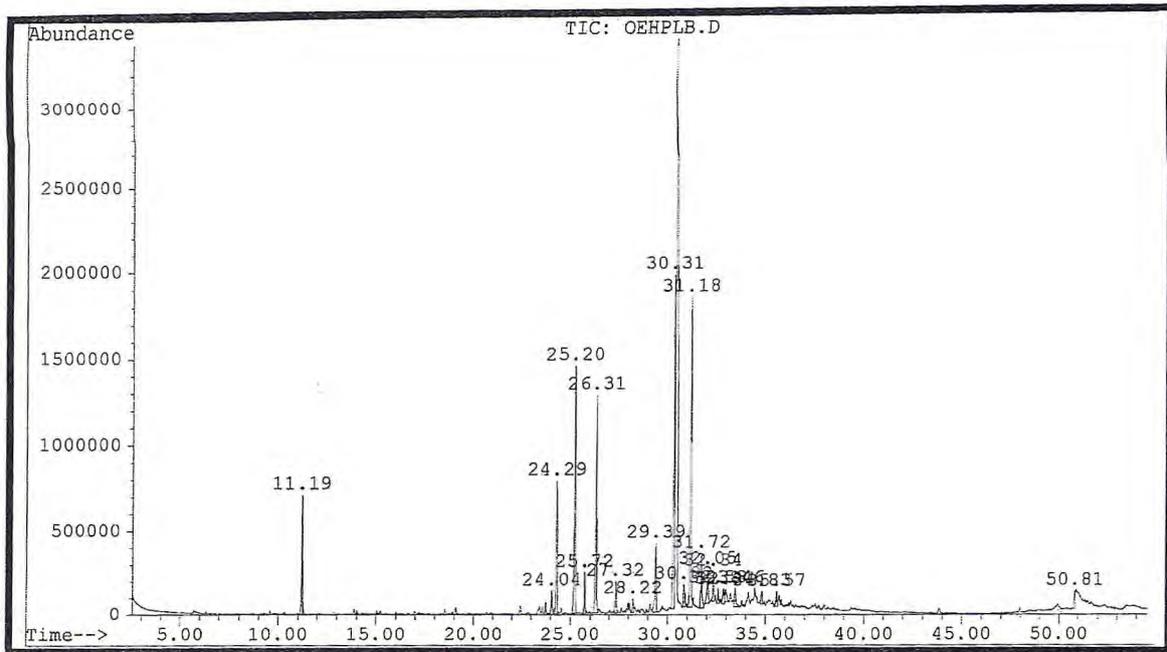


Figura 34 – Cromatograma gás-líquido de OEHPL-I

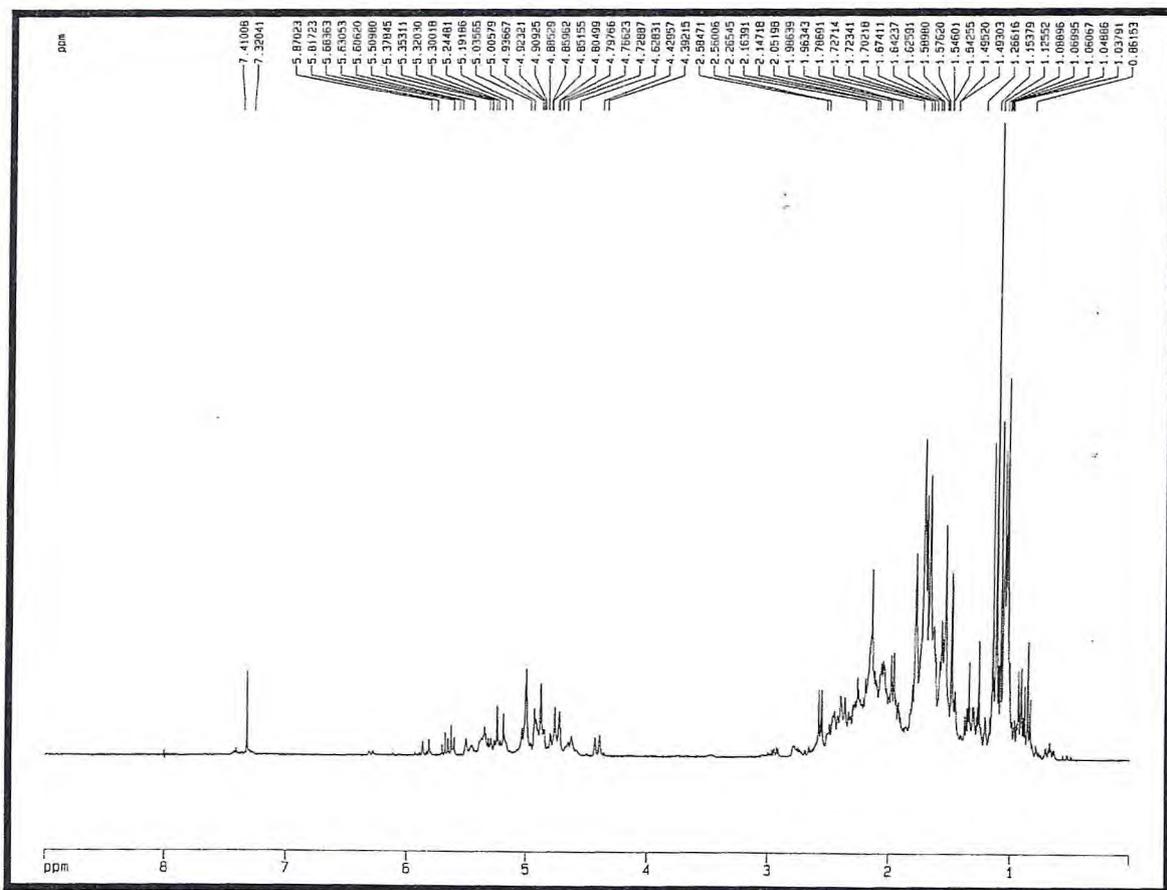


Figura 35 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) do OEHPL-I

4.1.3. Identificação da Composição Química volátil de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit

O estudo dos constituintes químicos voláteis de *Hyptis suaveolens* foi realizado com os óleos essenciais obtidos das folhas de exemplares coletados na localidade de Garapa-Acarape-Ceará, e no Campus Universitário do Pici-Fortaleza-Ceará.

A extração dos óleos essenciais foi feita por hidrodestilação e uma alíquota foi submetida à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CGL/EM) que permitiu a identificação dos constituintes.

As identificações foram efetuadas através das determinações dos índices de Kovat simulados (ALENCAR, 1990), pesquisa em espectroteca e comparação com dados da literatura (ADAMS, 2001).

Os óleos essenciais obtidos das folhas de *Hyptis suaveolens* foram denominados OEHSF-G, coleta no Garapa e OEHSF-P, coleta no Pici. Apesar do óleo das folhas ter sido obtido de plantas coletadas em localidades diferentes, não houve variação significativa na composição química dos óleos analisados (ver cromatogramas e espectros de RMN ^1H , **Figuras 36-39**).

No cromatograma do óleo essencial de OEHSF-G mostrado na Figura 36, nota-se que o pico com tempo de retenção 11,37 refere-se ao 1,8-cineol, apresentando um teor de 47,00 %, ratificando o observado no espectro de RMN ^1H (**Figura 37, p. 62**) que mostram os sinais referentes a este constituinte como majoritários. O mesmo pode ser observado no cromatograma do óleo essencial OEHSF-P (**Fig. 38, p. 63**), onde o pico com tempo de retenção que se refere ao 1,8-cineol é o 11,26, com teor majoritário de 50,56 %. Em ambos os óleos foi possível identificar a maioria dos constituintes presentes, no OEHSF-G foram identificados 20 dos 21 picos observados, totalizando um percentual de 98,79 %, enquanto para OEHSF-P foram identificados 17 picos dos 18 observados, um total de 98,81 %.

Outros constituintes que merecem destaque pelo teor considerável são o β -fenchol com 13,22 %, em OEHSF-G e o β -pineno com 16,65 %, em OEHSF-G.

Os estudos de óleos essenciais encontrados na literatura relatam a composição química volátil, de folhas e parte aérea de *H. suaveolens*, e mostram composições características do habitat em que se encontram, como observados para os quimiotipos, denominados segundo a composição majoritária: β -cariofileno (41%, Malásia); 19,8-22,15%, Nigéria), 1,8-cineol e sabineno (38,71 e 19,91%, EUA); (35,3 e 15,05%,

Índia); (35,9 e 12,0%, Aruba), 1,8-cineol e β -pineno (37 e 18,7%, Amazônia Brasileira), e 1,8-cineol (30,88%, Nordeste Brasileiro) (AZEVEDO, 2002). A composição química identificada neste trabalho para o óleo obtido do material coletado no Pici-Fortaleza se assemelha ao óleo essencial obtido de espécimens da Amazônia com 1,8-cineol e β -pineno como majoritários, enquanto que os componentes majoritários identificados para o óleo obtido do material coletado no Garapa 1,8-cineol e β -fenchol não pôde ser incluído em nenhum dos grupos mencionados anteriormente.

Tabela 7 – Componentes Químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de espécimens de *Hyptis suaveolens* coletados na localidade Garapa-Acarape e no Campus Universitário do Pici-Pici

Componentes	IK*	Percentagens relativas	
		OEHSF-G	OEHSF-P
α -pineno	937	1,98	3,53
β -pineno	978	5,84	16,65
mirreno	994	0,86	0,55
1,8-cineol	1037	47,00	50,56
γ -terpineno	1059	-	1,05
fenchona	1091	2,33	-
β -fenchol	1122	13,22	-
mirrenol	1174	1,82	1,34
α -terpineol	1199	1,45	1,46
α -copaeno	1382	1,03	0,71
β -bourboneno	1391	1,52	1,92
β -elemeno	1398	1,28	1,11
β -cariofileno	1423	2,79	4,50
α -humuleno	1454	0,98	0,90
germacreno D	1481	7,69	5,54
α -zingibereno	1491	0,57	-
biciclogermacreno	1494	5,35	3,92
germacreno A	1501	0,50	-
δ -cadineno	1516	0,54	-
espatulenol	1564	1,06	3,15
óxido de cariofileno	1571	-	0,86
5,7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1614	0,98	1,07
TOTAL		98,79	98,81

* Índice de Kovat corrigido

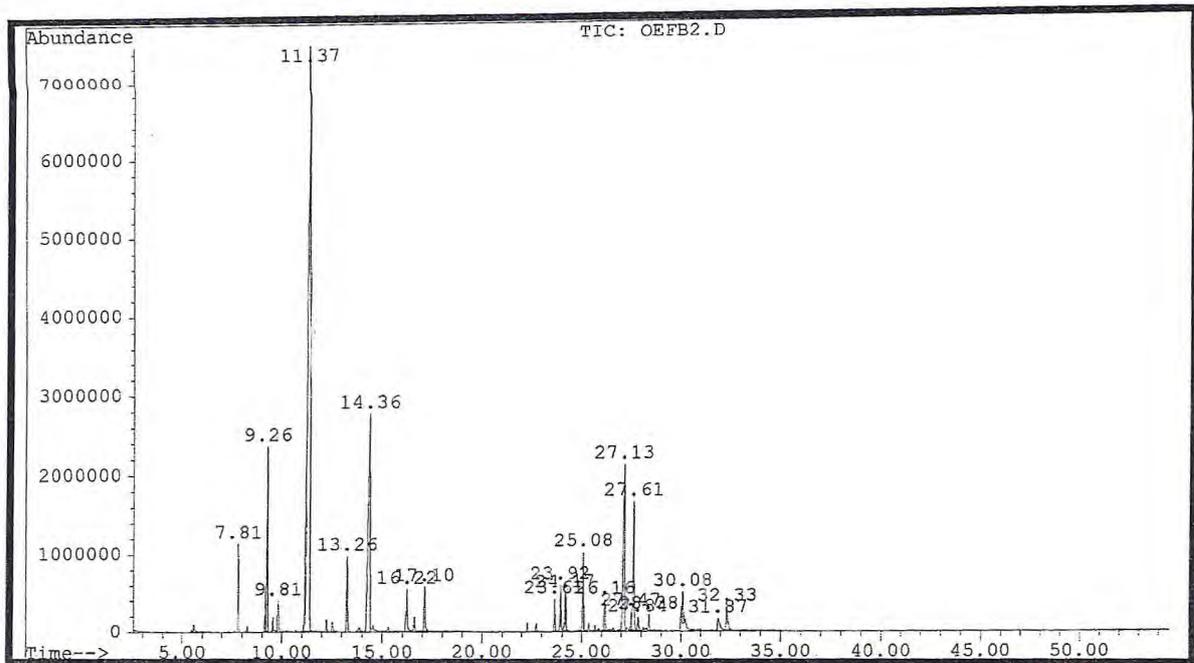


Figura 36 – Cromatograma gás-líquido de OEHSF-G

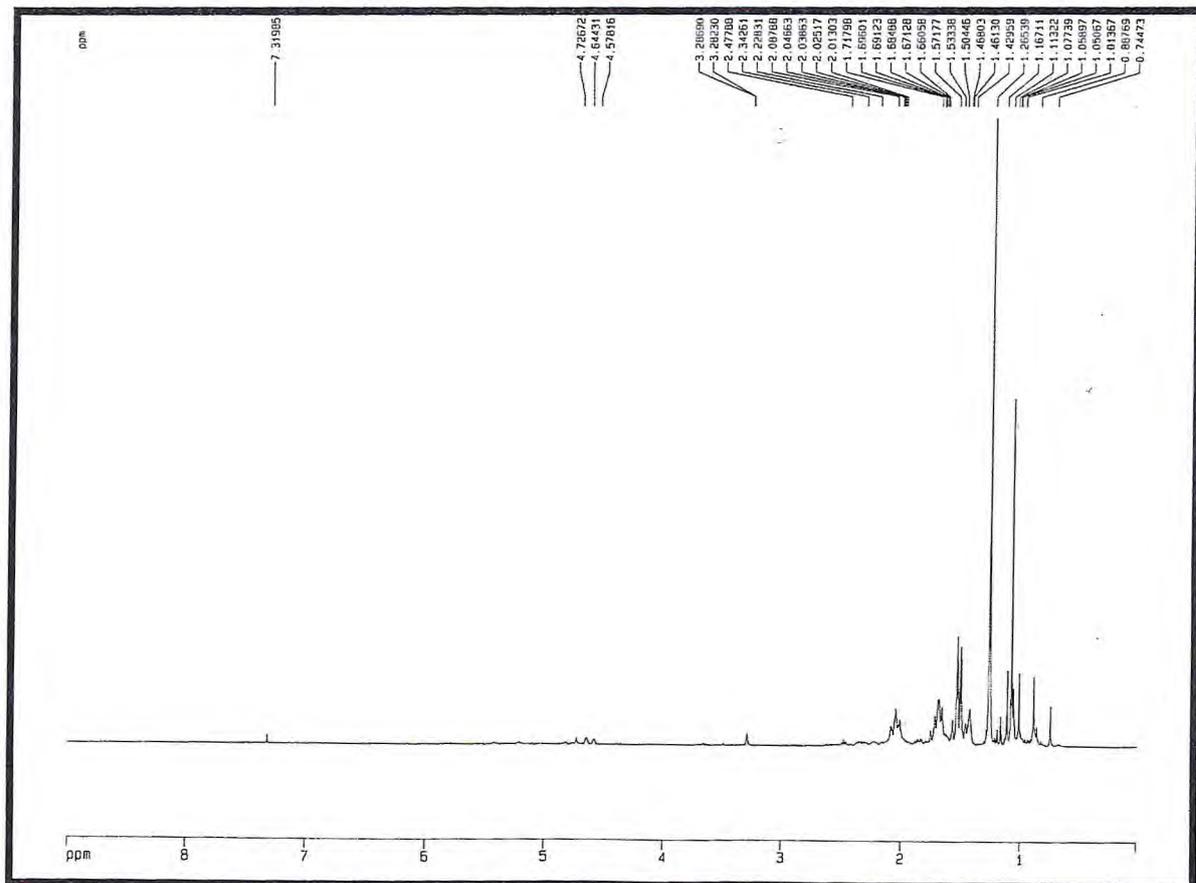


Figura 37 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de OEHSF-G

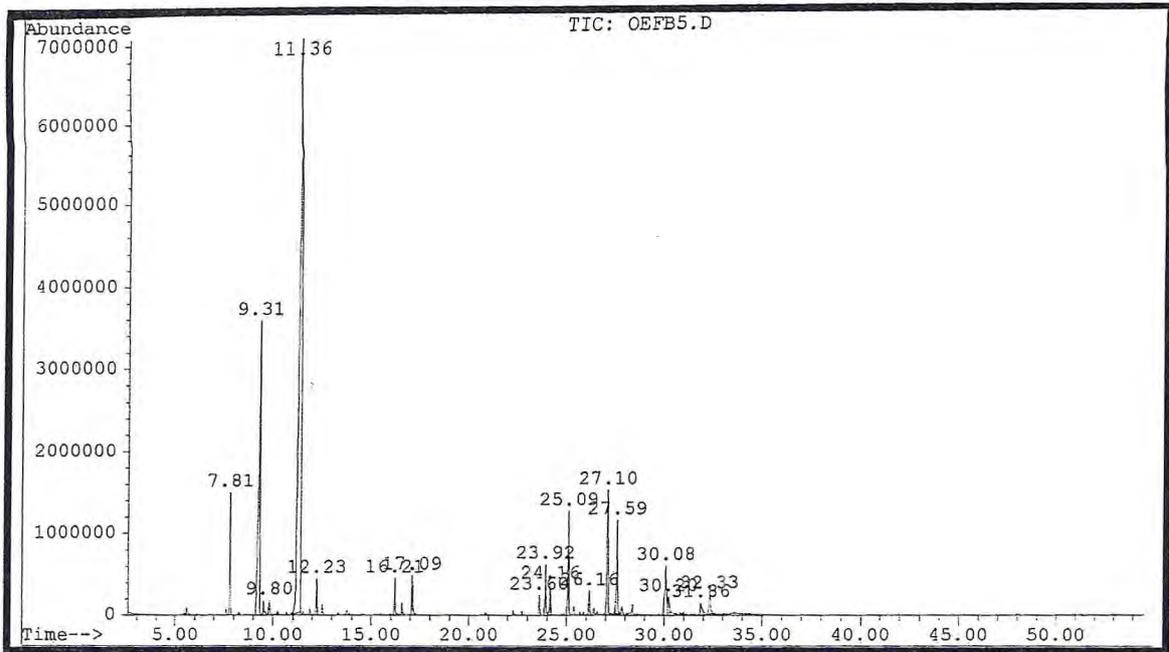


Figura 38 – Cromatograma gás-líquido de OEHSF-P

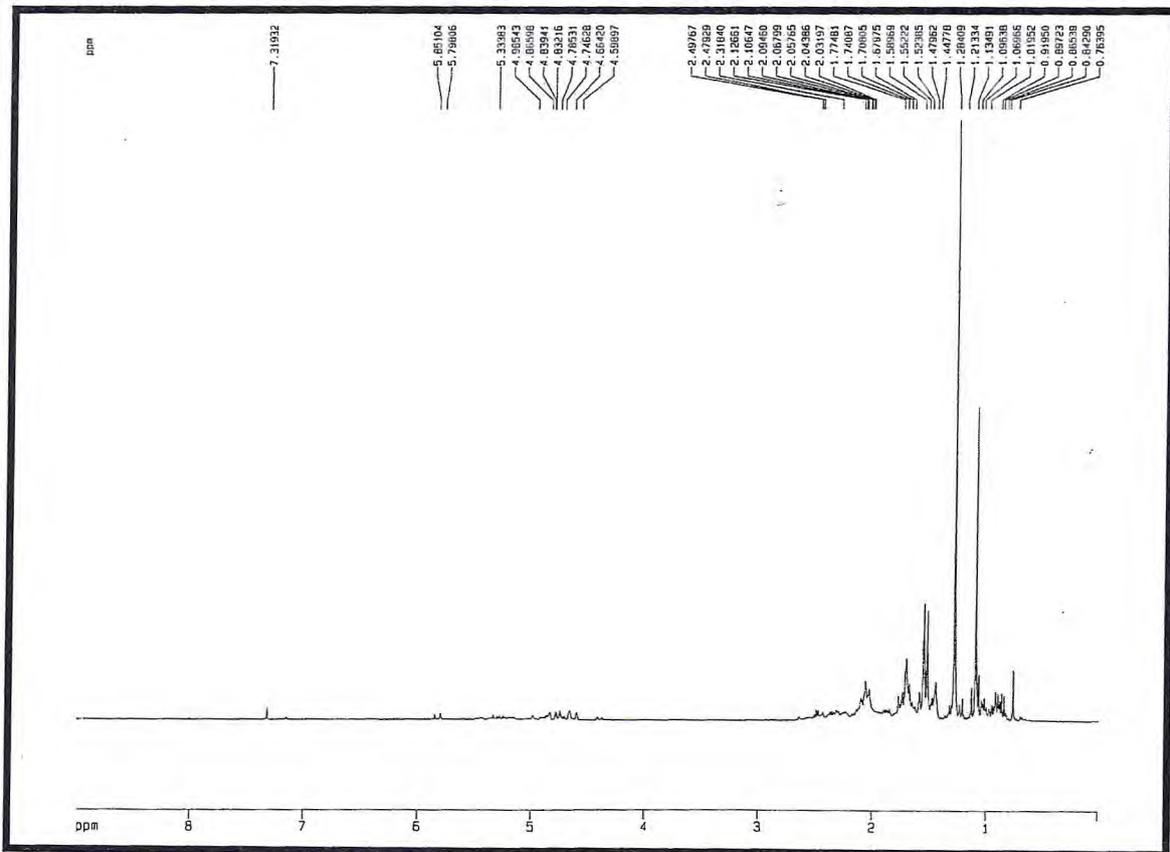


Figura 39 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) do OEHSF-P

4.1.4. Identificação da Composição Química volátil de *Hyptis pectinata* (L.) Poit

Os exemplares de *H. pectinata* foram coletados na localidade de Macaúbas, Barbalha-Ceará para avaliação da composição química volátil das folhas, que depois de separadas dos talos, foram submetidas a hidrodestilação, para obtenção do óleo essencial.

O óleo essencial extraído das folhas secas denominado OEHPE-F, foi enviado para análise em CGL/EM. A identificação dos constituintes foi realizada através das determinações dos índices de Kovat simulados (ALENCAR, 1990), pesquisa em espectroteca e comparação com dados da literatura (ADAMS, 2001).

A análise por CGL/EM e RMN ^1H dos óleos essenciais obtidos forneceu o cromatograma mostrado na Figura 40 (p. 66) e o espectro de RMN ^1H , Figura 41 (p.66), que após análise dos espectros de massa permitiu a identificação de nove monoterpenos e onze sesquiterpenos, cujos componentes e seus percentuais são descritos na Tabela 8.

O cromatograma de OEHPE-F (Fig. 40, p. 66) exhibe 25 picos dos quais foram identificados 19. Um total de 90,83 % da composição do óleo essencial das folhas secas de *H. pectinata* foi determinado, e entre os componentes detectados os majoritários foram: β -pineno (8,16 %), *para*-cimeno (17,55 %), β -cariofileno (21,54 %) e espatulenol (15,04 %).

No óleo essencial de *H. pectinata* publicado na literatura (MALAN, 1988) os componentes majoritários identificados são *para*-cimeno (33,7 %) e timol (26,0 %), o primeiro é também um dos principais da constituição do óleo estudado, porém o constituinte timol não foi identificado nem em pequenas quantidades o que sugere que as espécies de *H. pectinata* encontradas na região Nordeste do Brasil possuem uma composição volátil diferente das espécies encontradas na África (Costa do Marfim) (MALAN, 1988).

Tabela 8 – Componentes Químicos identificados nos óleos essenciais das folhas de espécimens de *Hyptis pectinata*

Componentes	IK*	Percentagens relativas
		OEHP-E-F
α -tujeno	931	1,44
α -pineno	937	1,13
sabineno	975	1,48
β -pineno	978	8,16
mirreno	993	0,83
<i>para</i> -cimeno	1027	17,55
limoneno	1031	2,01
linalol	1106	3,17
α -copaeno	1385	5,52
β -bourboneno	1393	4,10
β -elemeno	1400	2,65
β -cariofileno	1427	21,54
α -humuleno	1456	1,13
γ -muuroleno	1481	0,75
peruviol	1554	0,65
espatulenol	1570	15,04
humuleno 1,2-epóxido	1593	1,52
τ -cadinol	1619	1,30
α -cadinol	1630	0,86
	TOTAL	90,83

* Índice de Kovat corrigido

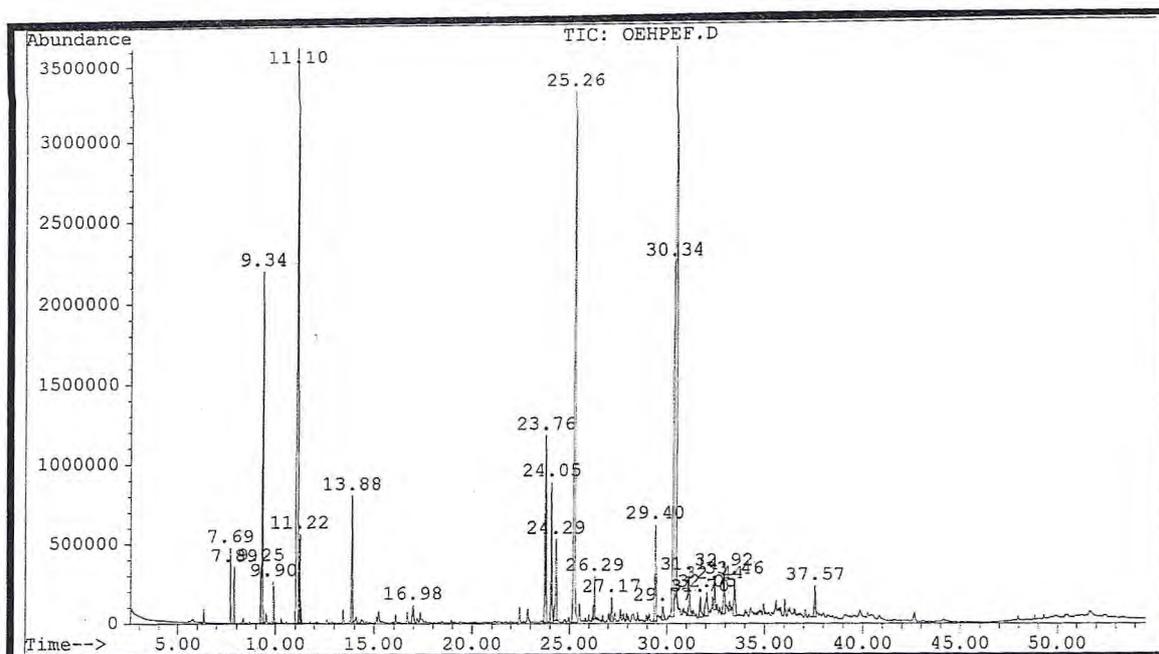


Figura 40 – Cromatograma gás-líquido de OEHPE-F

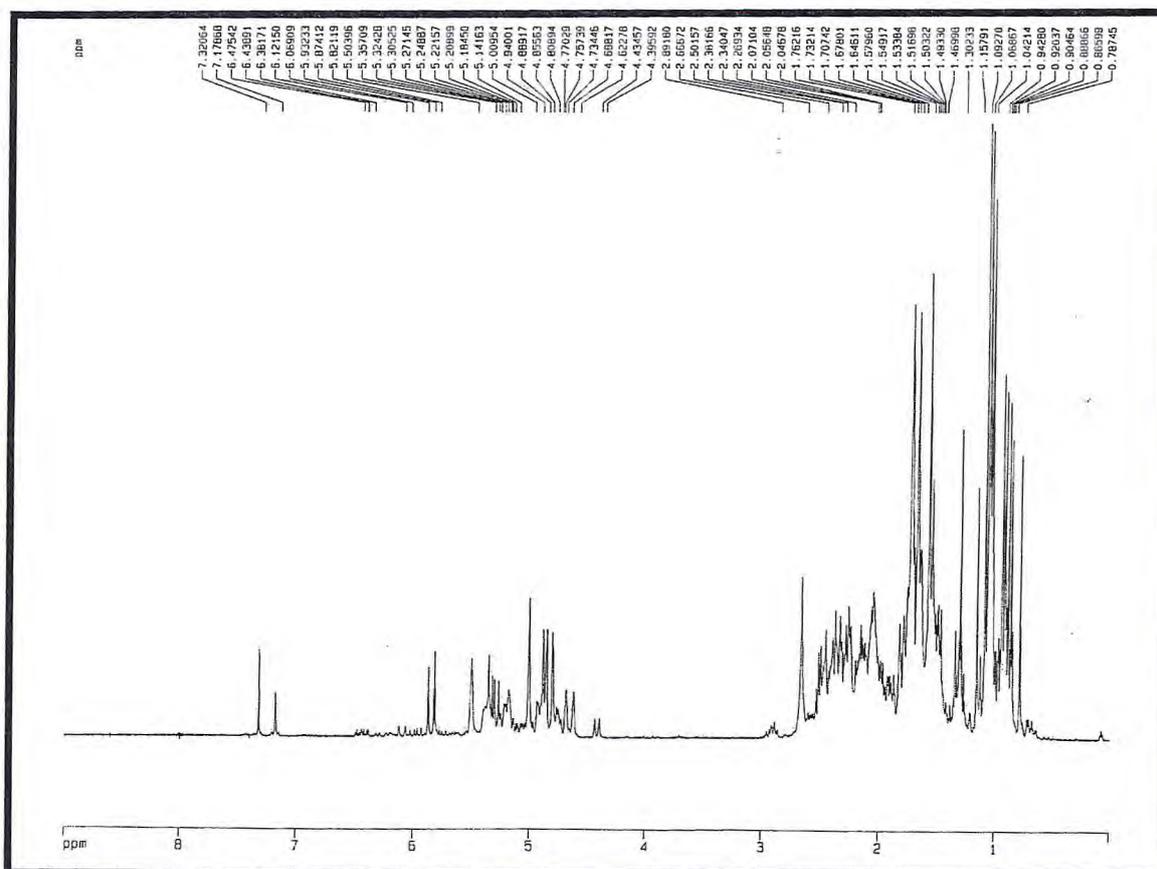


Figura 41 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) do OEHPE-F

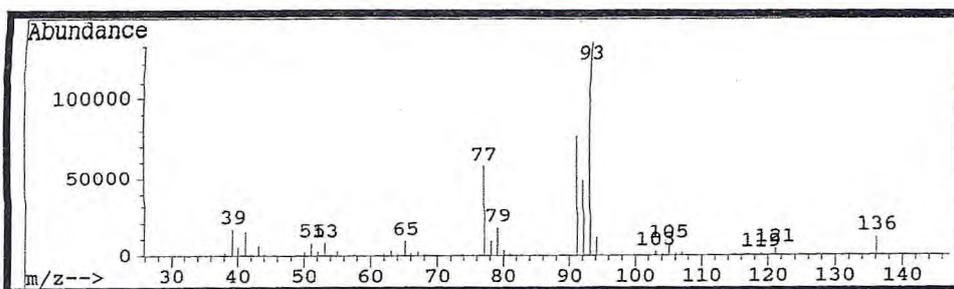


Figura 42 – Espectro de massa do α -tujeno (IK 931 e PM 136)

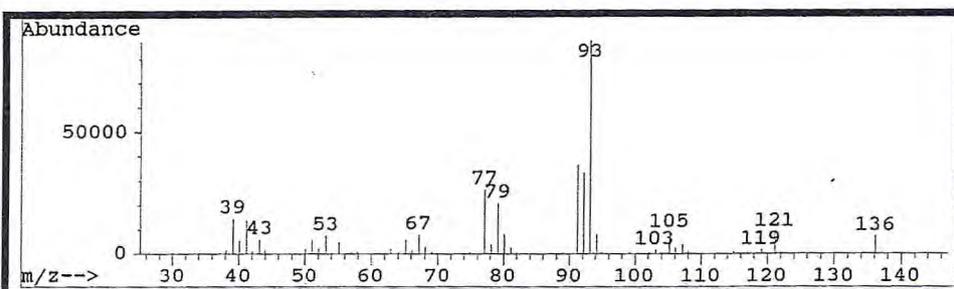
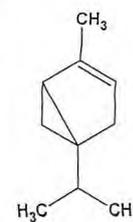


Figura 43 – Espectro de massa do α -pineno (IK 937 e PM 136)

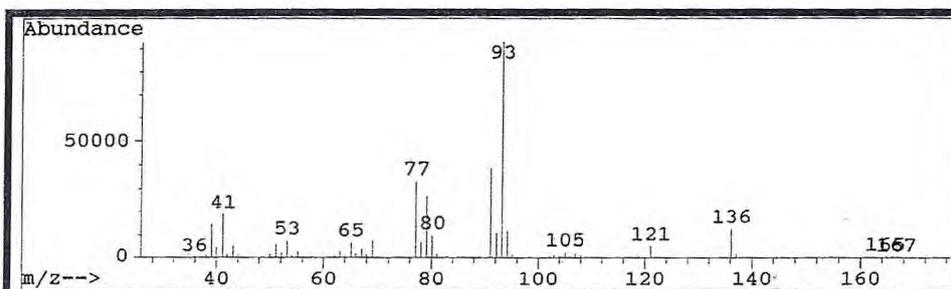
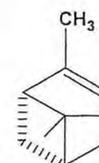


Figura 44 – Espectro de massa do sabineno (IK 975 e PM 136)

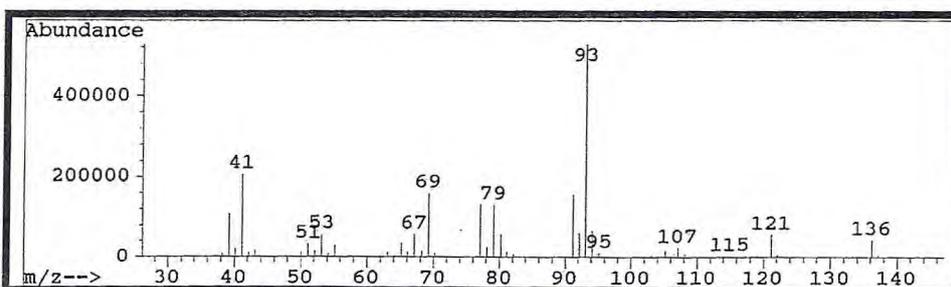
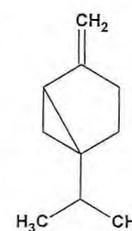


Figura 45 – Espectro de massa do β -pineno (IK 978 e PM 136)

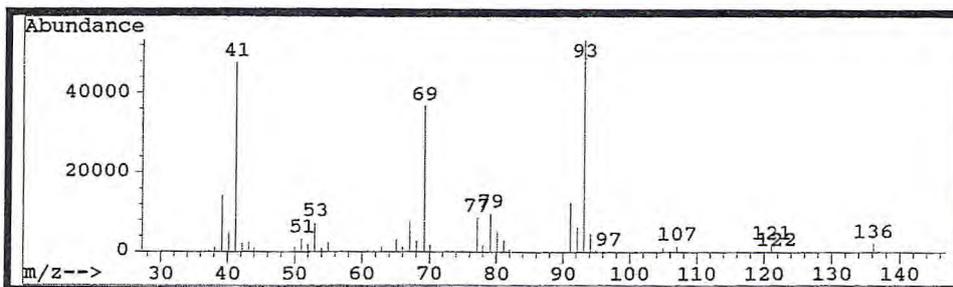
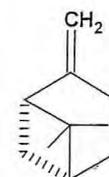
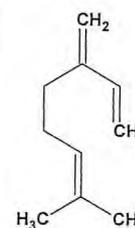


Figura 46 – Espectro de massa do mirceno (IK 993 e PM 136)



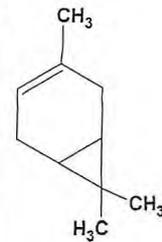
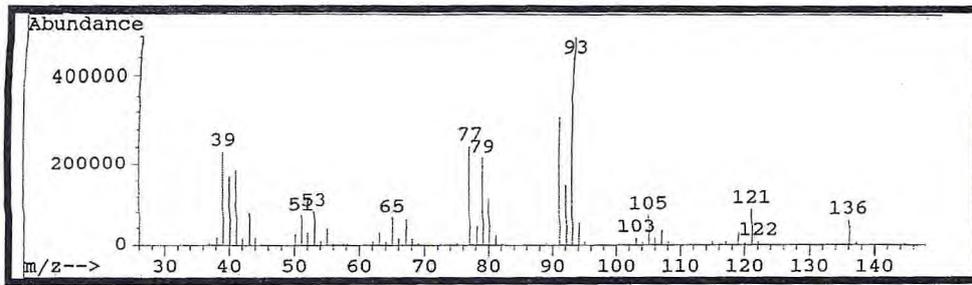


Figura 47 – Espectro de massa do Δ-3-careno (IK 1011 e PM 136)

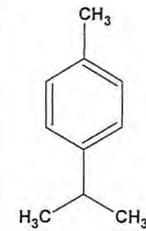
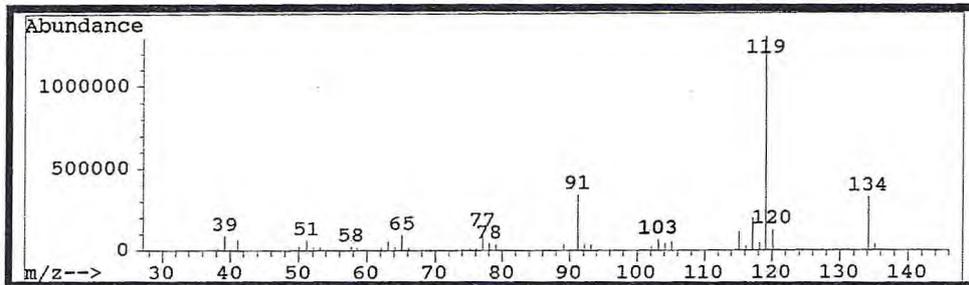


Figura 48 – Espectro de massa do *p*-cimeno (IK 1027 e PM 134)

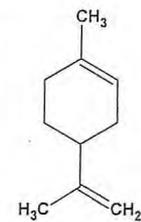
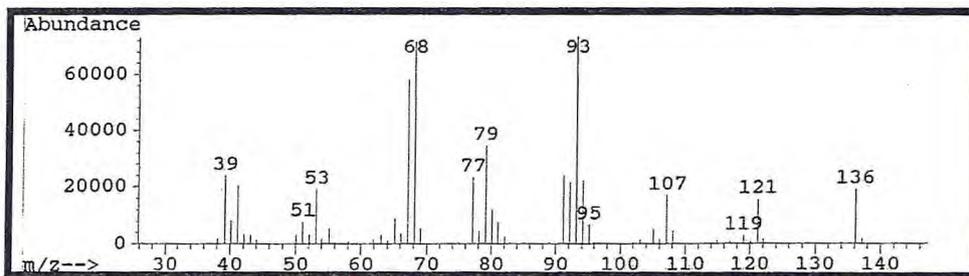


Figura 49 – Espectro de massa do limoneno (IK 1031 e PM 136)

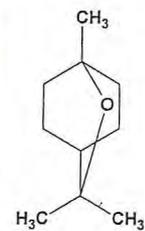
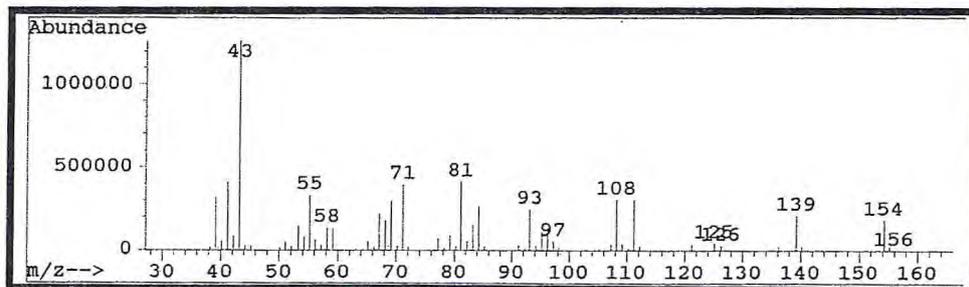


Figura 50 – Espectro de massa do 1,8-cineol (IK 1037 e PM 154)

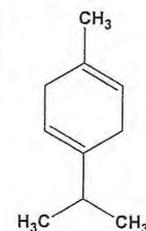
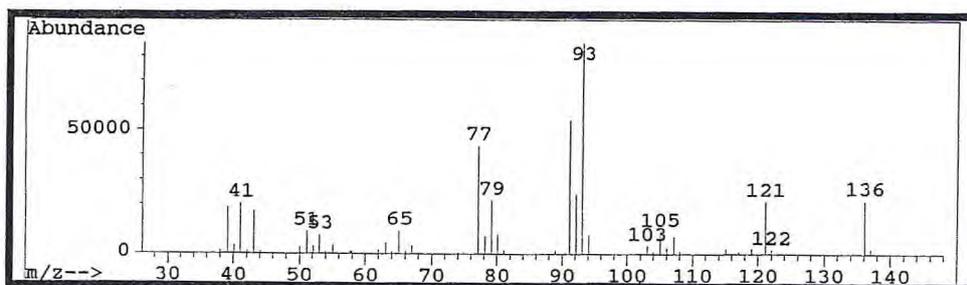


Figura 51 – Espectro de massa do γ-terpineno (IK 1059 e PM 136)

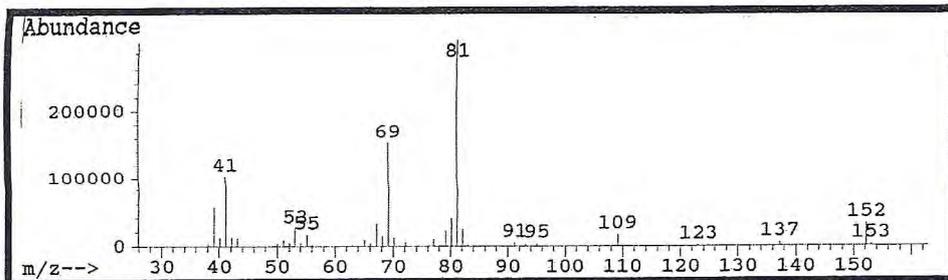


Figura 52 – Espectro de massa da fenchona (IK 1091 e PM 152)

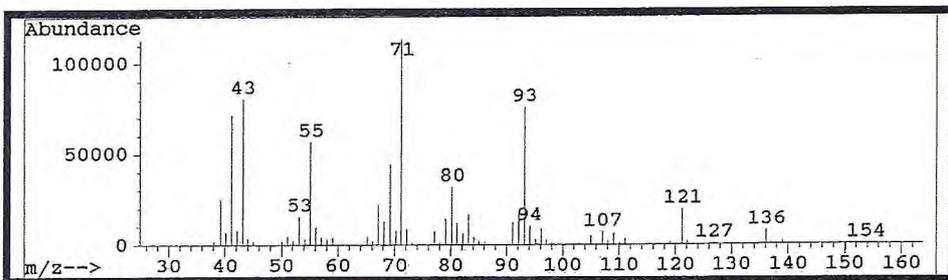
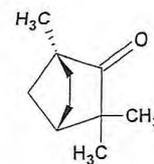


Figura 53 – Espectro de massa do linalol (IK 1106 e PM 154)

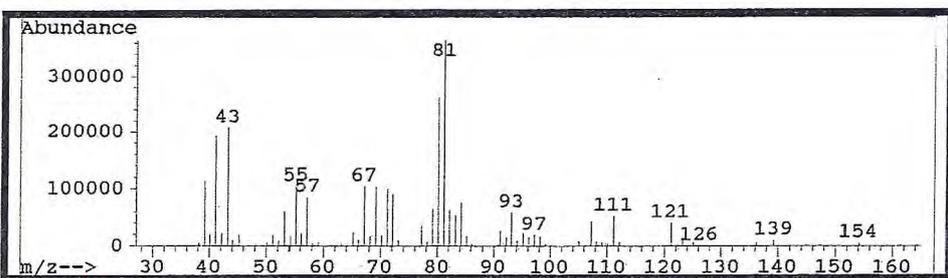
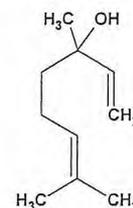


Figura 54 – Espectro de massa do β-fencol (IK 1122 e PM 154)

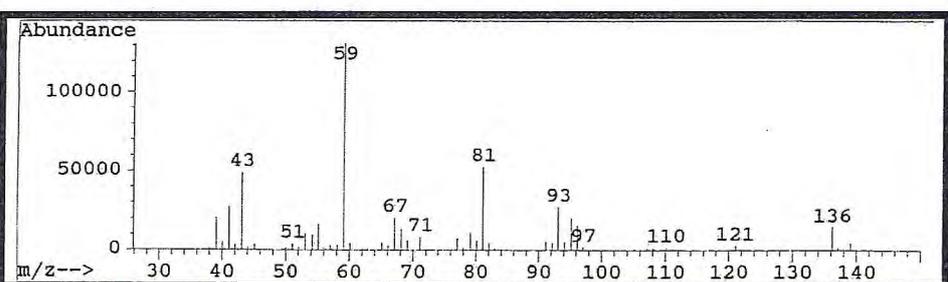
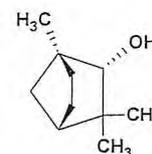


Figura 55 – Espectro de massa do mircenol (IK 1174 e PM 154)

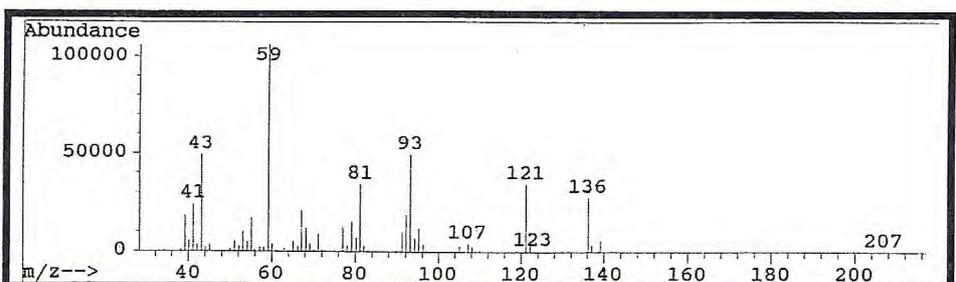
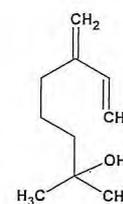
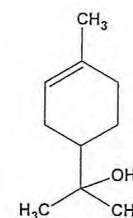


Figura 56 – Espectro de massa do α-terpineol (IK 1199 e PM 154)



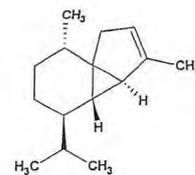
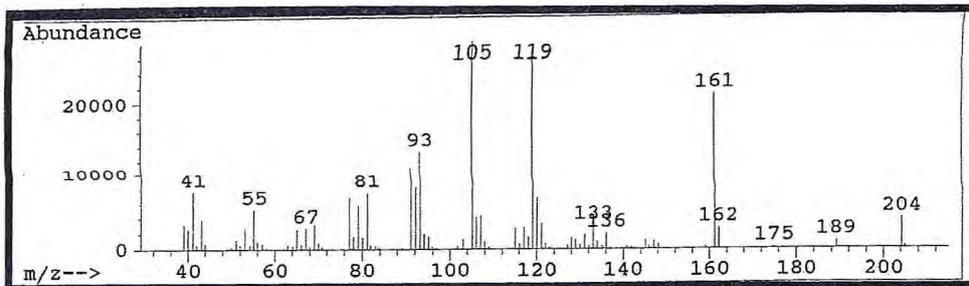


Figura 57 – Espectro de massa do α -cubebene (IK 1364 e PM 204)

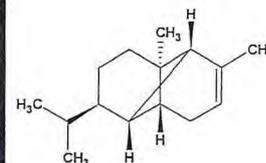
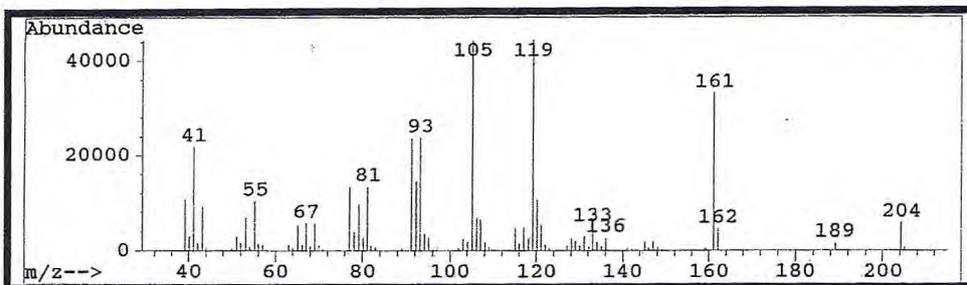


Figura 58 – Espectro de massa do α -copaene (IK 1382 e PM 204)

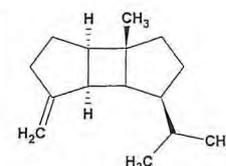
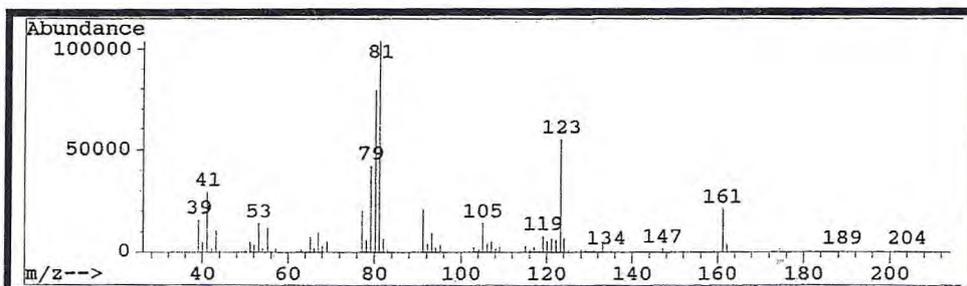


Figura 59 – Espectro de massa do β -bourbunene (IK 1397 e PM 204)

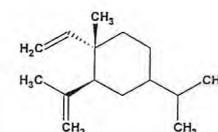
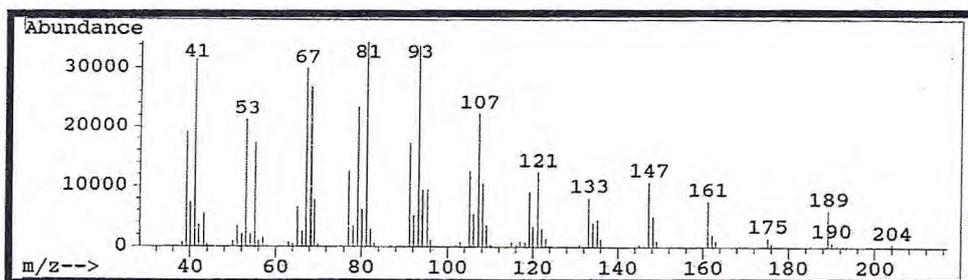


Figura 60 – Espectro de massa do β -elemene (IK 1404 e PM 206)

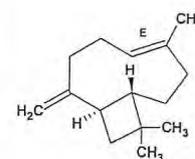
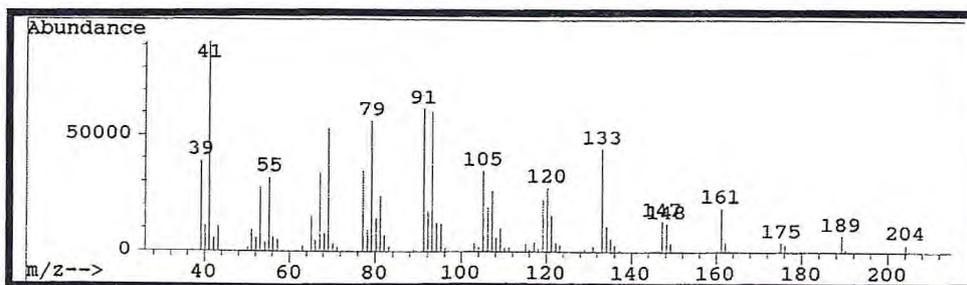


Figura 61 – Espectro de massa do β -cariofileno (IK 1431 e PM 204)

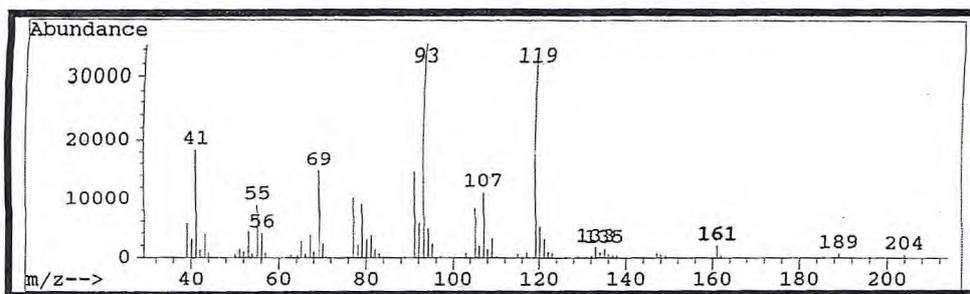


Figura 62 – Espectro de massa do α -bergamoteno (IK 1446 e PM 204)

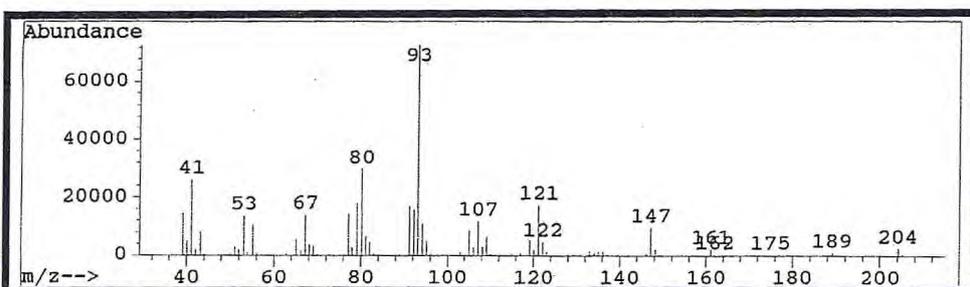
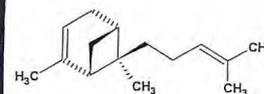


Figura 63 – Espectro de massa do α -humuleno (IK 1463 e PM 204)

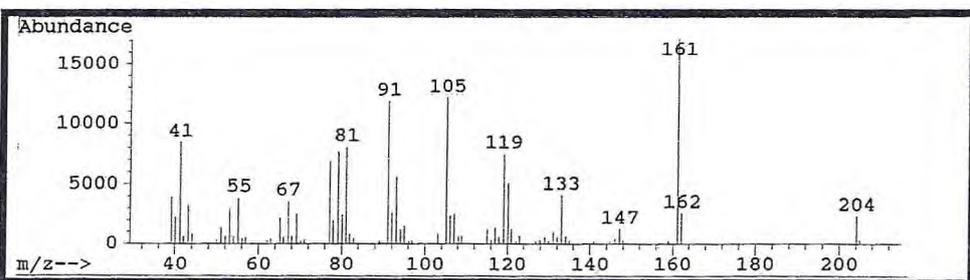
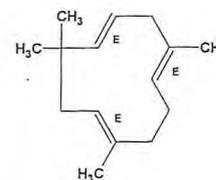


Figura 64 – Espectro de massa do γ -muuruleno (IK 1481 e PM 204)

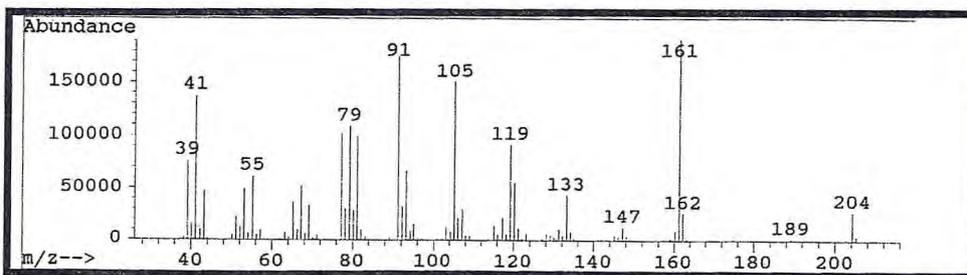
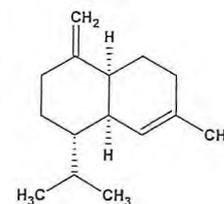


Figura 65 – Espectro de massa do germacreno D (IK 1481 e PM 204)

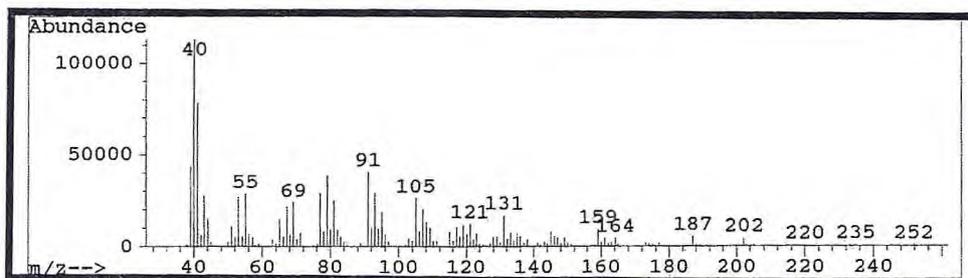
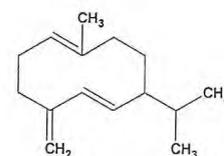
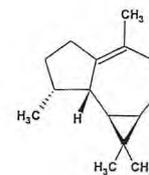


Figura 66 – Espectro de massa do viridifloreno (IK 1487 e PM 204)



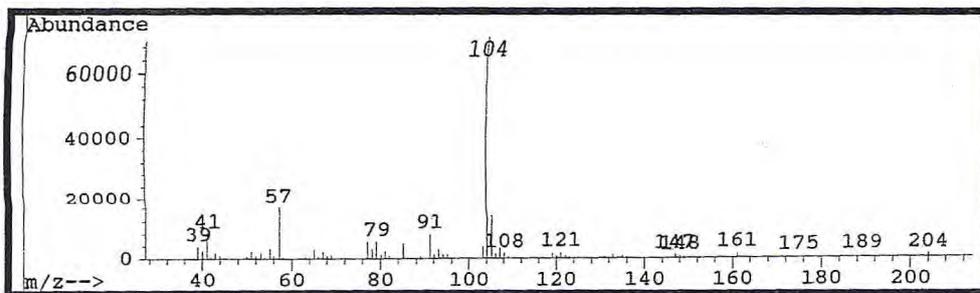


Figura 67 – Espectro de massa do fenil etil α -metil butanoato (IK 1492 e PM 206)

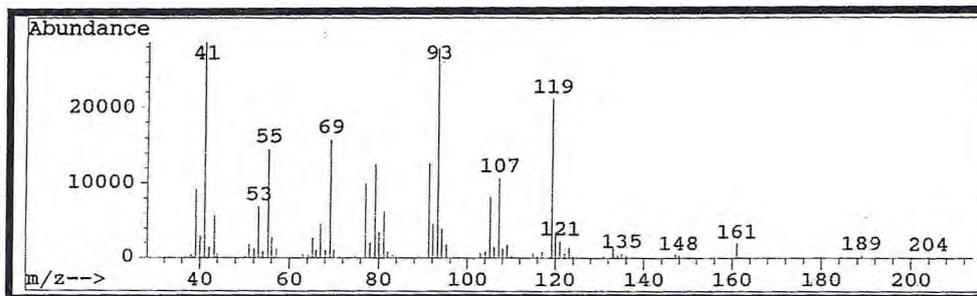
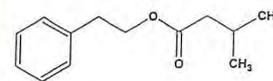


Figura 68 – Espectro de massa do α -zingibereno (IK 1491 e PM 204)

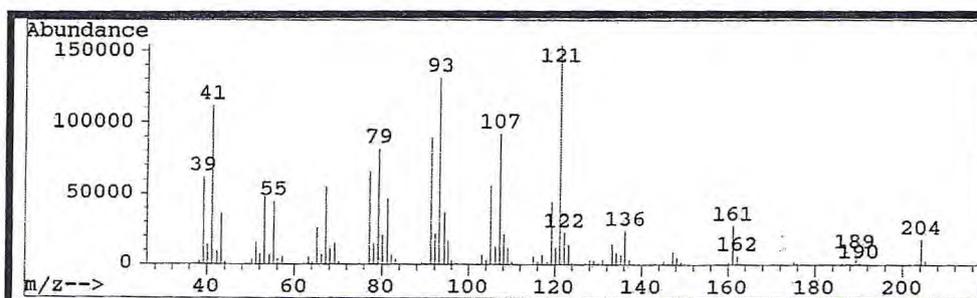
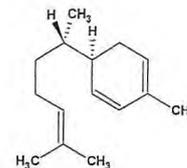


Figura 69 – Espectro de massa do bicylogermacreno (IK 1494 e PM 204)

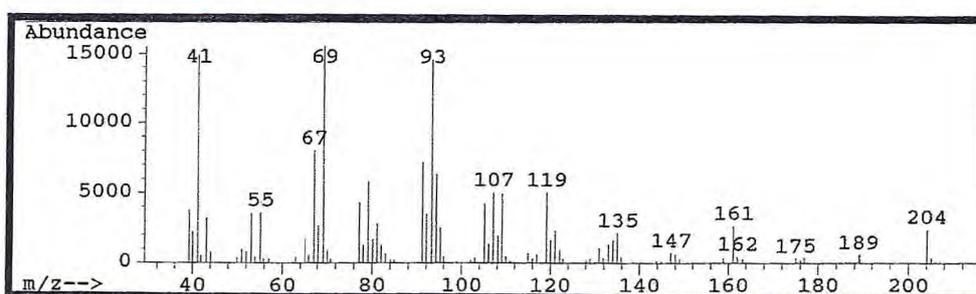
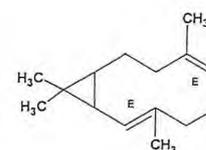


Figura 70 – Espectro de massa do β -bisaboleno (IK 1504 e PM 204)

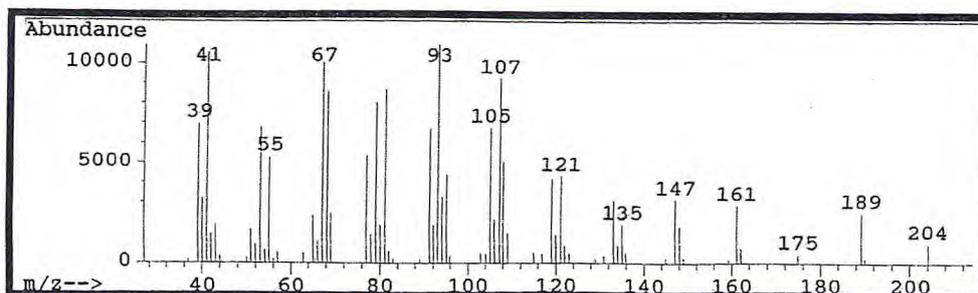
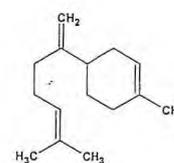
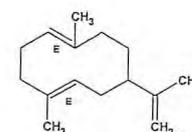


Figura 71 – Espectro de massa do germacreno A (IK 1507 e PM 204)



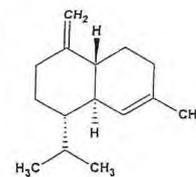
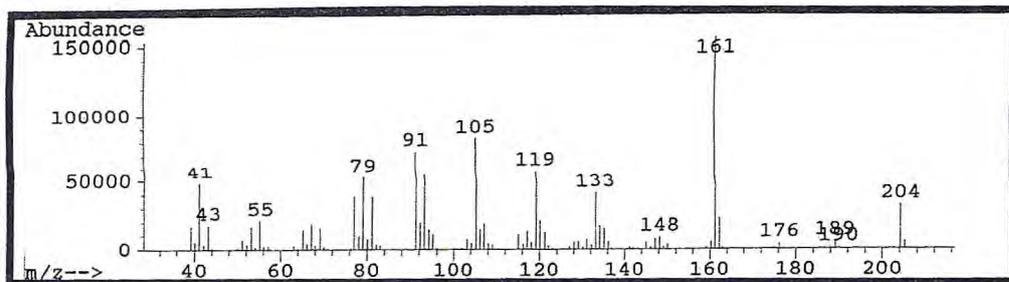


Figura 72 – Espectro de massa do γ -cadineno (IK 1519 e PM 204)

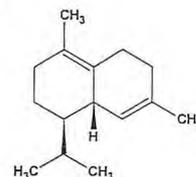
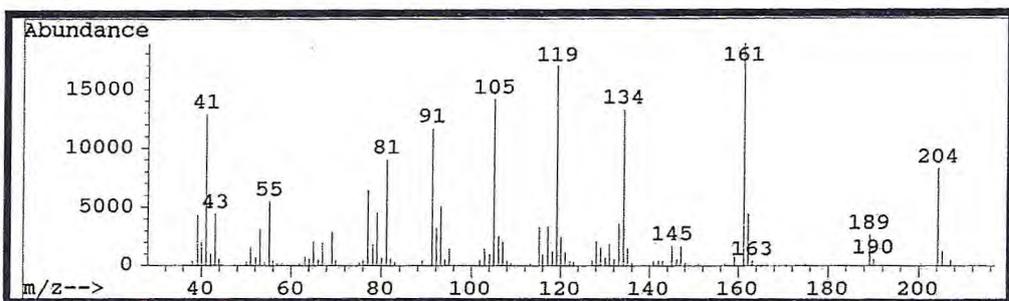


Figura 73 – Espectro de massa do δ -cadineno (IK 1516 e PM 204)

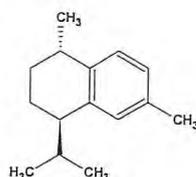
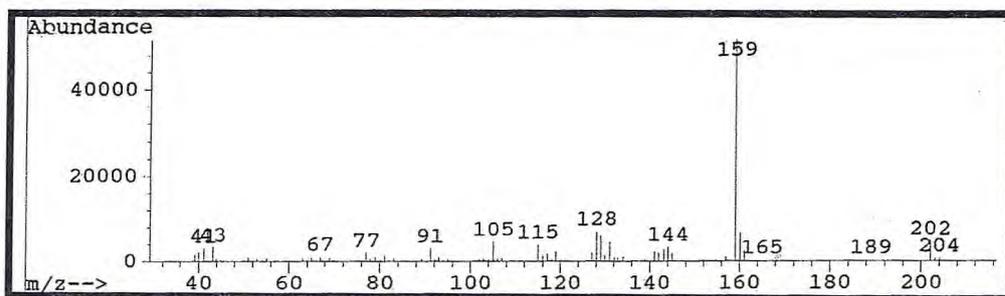


Figura 74 – Espectro de massa do *trans*-calameneno (IK 1522 e PM 202)

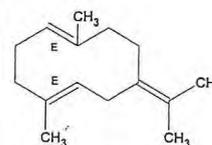
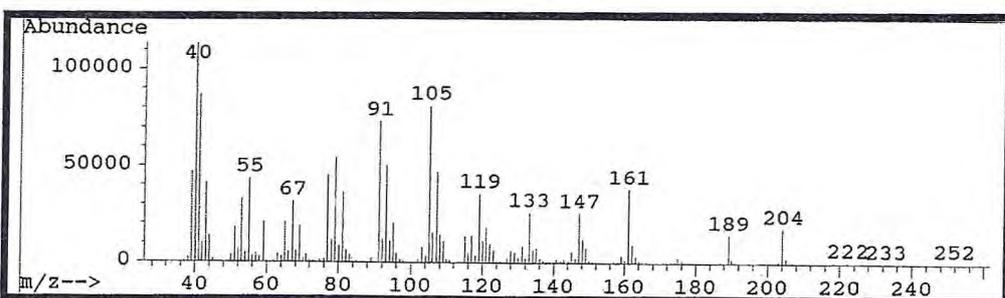


Figura 75 – Espectro de massa do germacreno B (IK 1540 e PM 204)

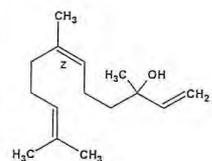
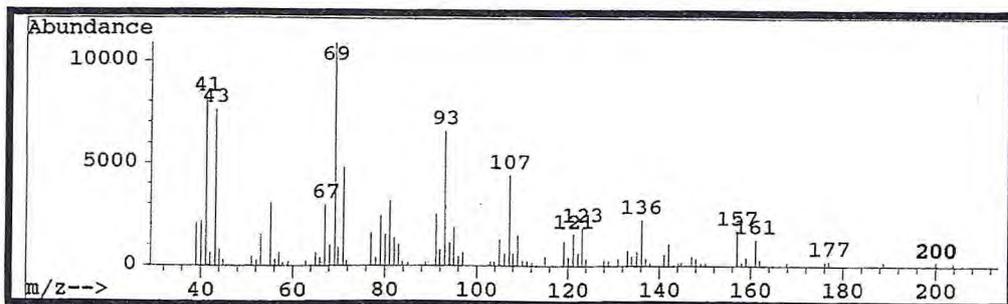


Figura 76 – Espectro de massa do peruviol (IK 1554 e PM 222)

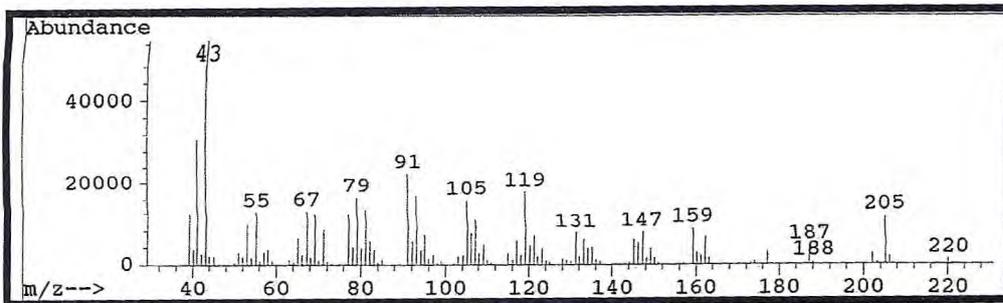


Figura 77 – Espectro de massa do spatulenol (IK 1579 e PM 220)

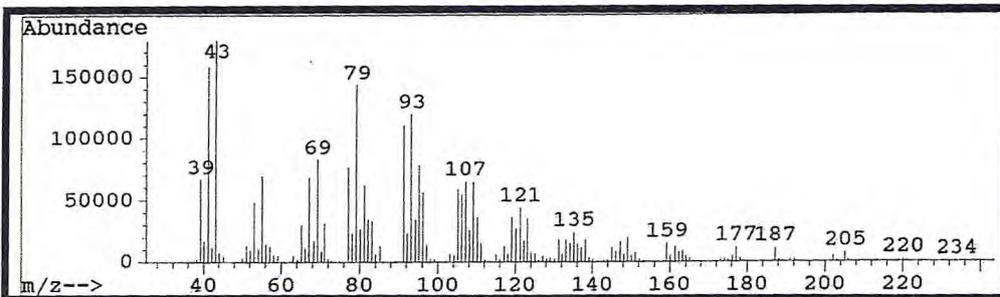
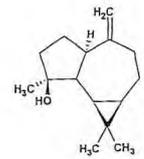


Figura 78 – Espectro de massa do óxido de cariofileno (IK 1587 e PM 220)

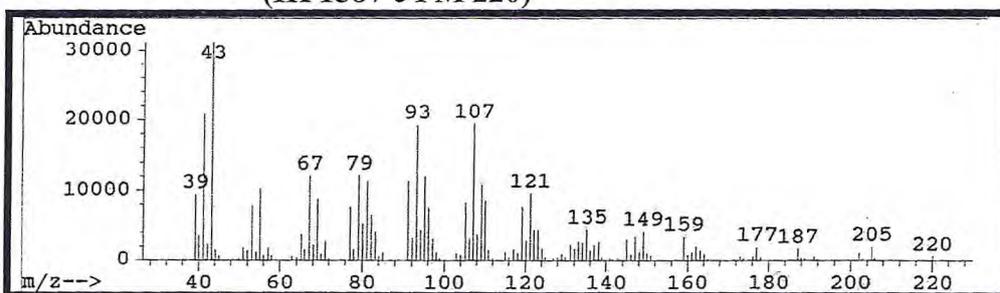
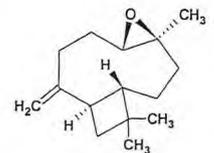


Figura 79 – Espectro de massa do globulol (IK 1601 e PM 222)

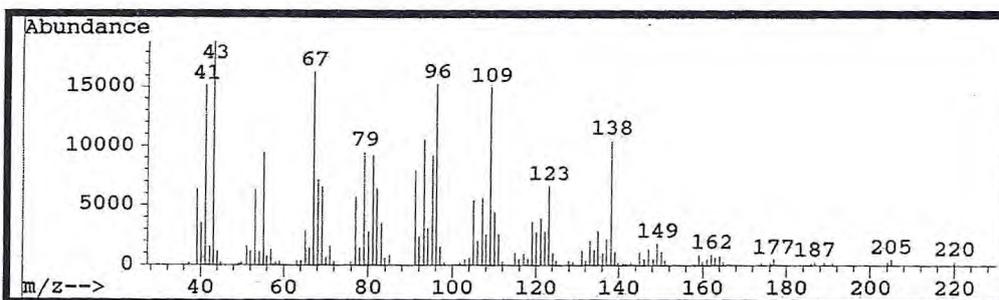
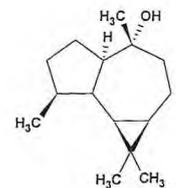


Figura 80 – Espectro de massa do humuleno 1,2-epóxido (IK 1605 e PM 220)

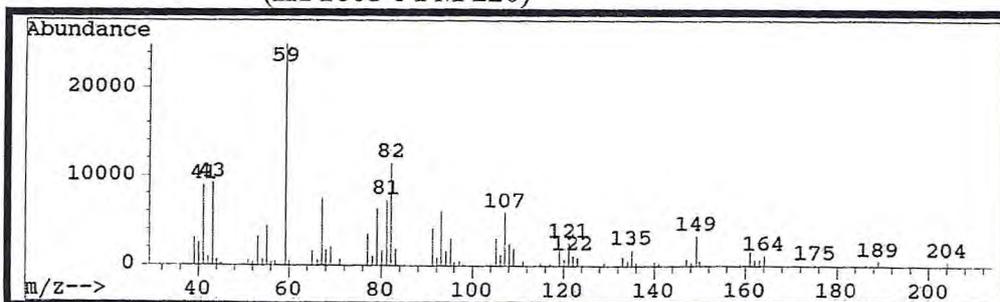
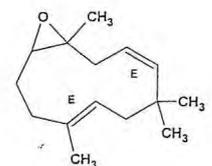
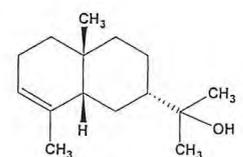


Figura 81 – Espectro de massa do 5,7-diepi- α -eudesmol (IK 1614 e PM 222)



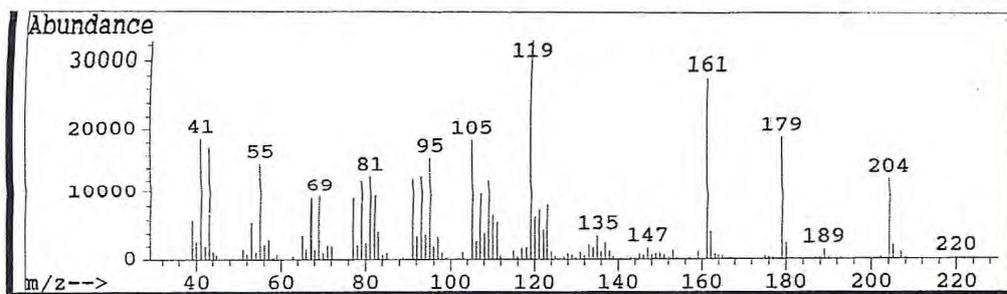


Figura 82 - Espectro de massa do 1,10-diepi-cubenol (IK 1616 e PM 222)

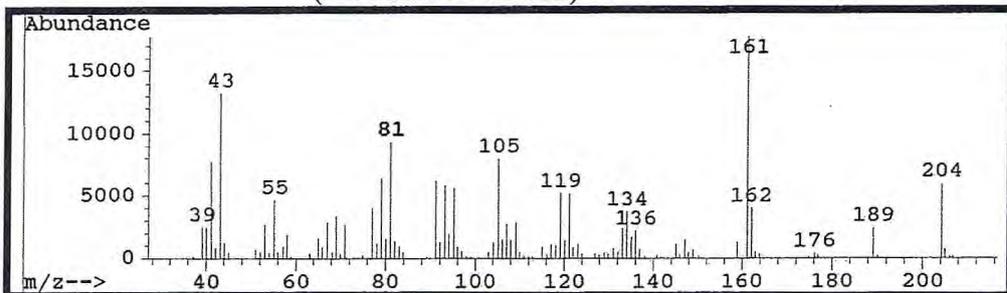
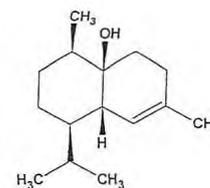


Figura 83 - Espectro de massa do τ -cadinol (IK 1619 e PM 222)

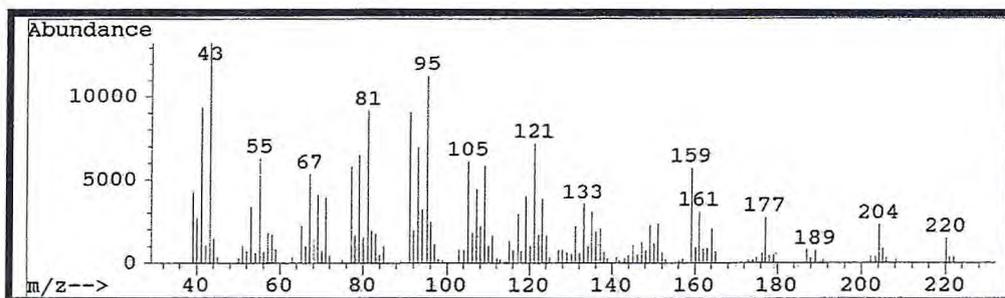
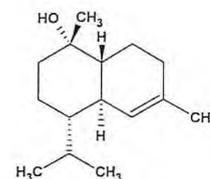


Figura 84 - Espectro de massa do α -cadinol (IK 1630 e PM 222)

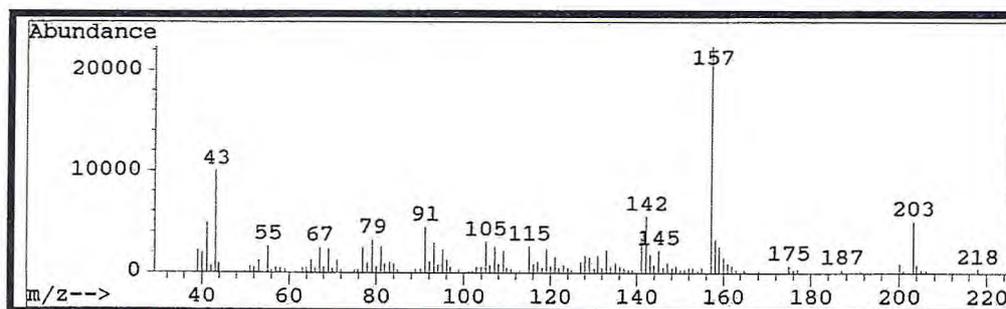
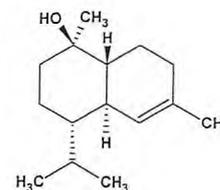


Figura 85 - Espectro de massa do 10 β -calamenol (IK 1646 e PM 218)

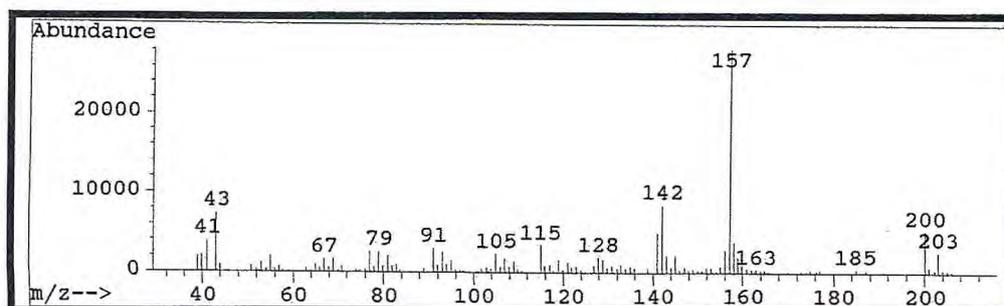
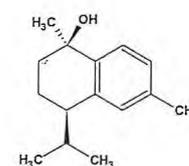
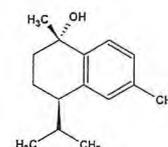


Figura 86 - Espectro de massa do 10 α -calamenol (IK 1653 e PM 218)



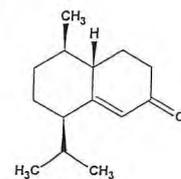
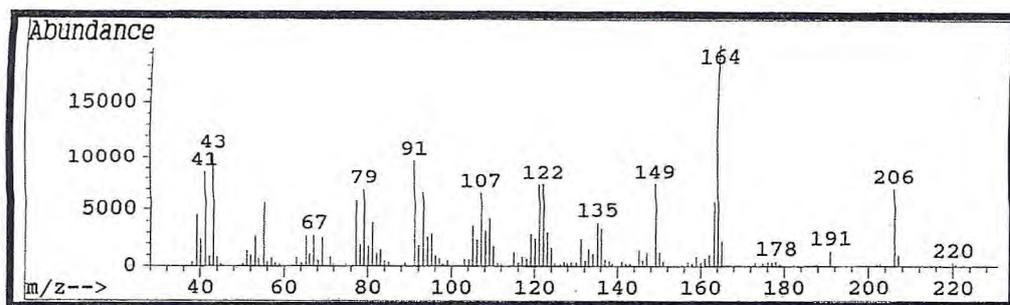
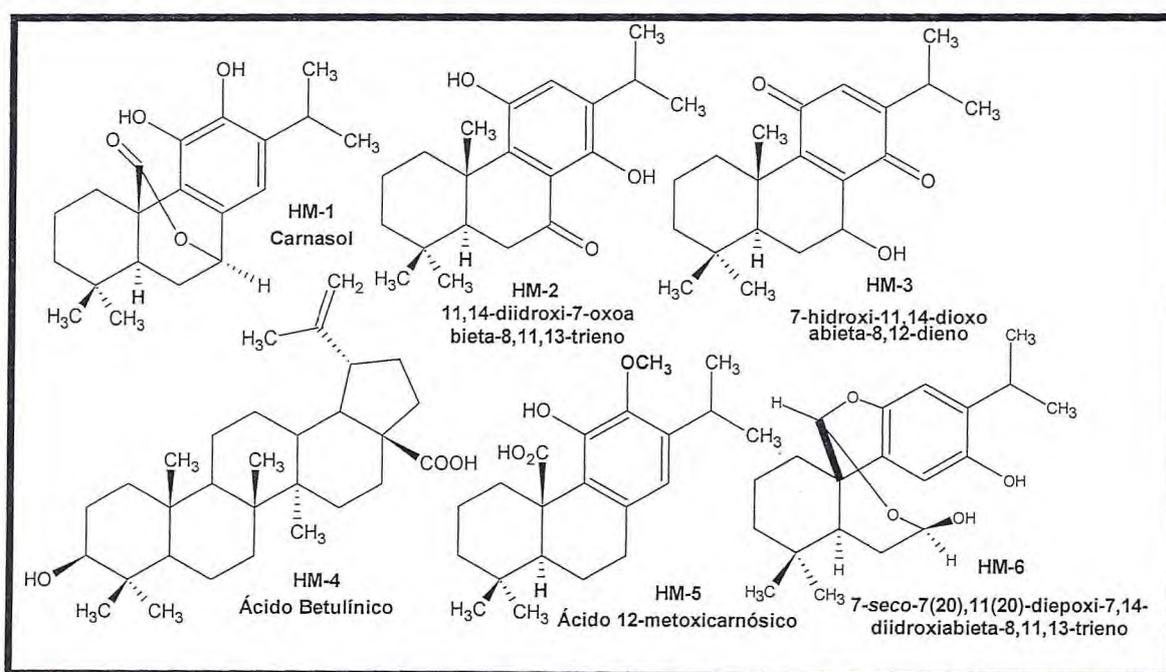


Figura 87 – Espectro de massa do cis-14-muurool-5-en-4-ona (IK 1685 e PM 206)

4.2. Determinação Estrutural dos Constituintes químicos não voláteis

Este capítulo aborda a determinação estrutural dos componentes não voláteis isolados das espécies *Hyptis martiusii* Benth (HM) e *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth (HP), sendo que a primeira espécie foi objeto de estudo anterior durante o mestrado, rendendo a dissertação que menciona o isolamento de seis substâncias, denominadas HM-1, HM-2, HM-3, HM-4, HM-5 e HM-6 (Quadro 4). Apesar de terem sido novamente isoladas neste trabalho, serão citadas, neste capítulo, apenas quando for conveniente.



Quadro 4 – Estruturas e nomes dos compostos não voláteis caracterizados em trabalho anterior (Araújo, 2000) e novamente isolados de *Hyptis martiusii*

4.2.1. Determinação estrutural de HM-7

Substância obtida da fração acetato de etila do extrato hexânico das inflorescências de *H. martiusii*, após sucessivas cromatografias em gel de sílica como cristais incolores, pf. 220,7-226,3 °C e $[\alpha]_D^{20} = +13$ (c. 0,1, acetona), denominado HM-7.

O espectro de absorção na região do IV (**Fig. 88, p. 85**) exhibe bandas em 3399 cm^{-1} , de estiramento de ligação O-H, em 1718 cm^{-1} de estiramento de ligação C=O, para carbonila de éster, em 1268 cm^{-1} de estiramento de ligação C-O, e em 2962 cm^{-1} deformação axial de ligação C-H em alifáticos, além de bandas esqueléticas de deformação angular fora do plano, 730 cm^{-1} , e no plano, 1013 e 1058 cm^{-1} , para anéis benzênicos.

O espectro de RMN ^{13}C BB de HM-7 [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] (**Fig. 90, p. 86**) mostrou a presença de 19 linhas espectrais das quais seis delas (116,1-143,9 ppm) encontram-se na região de carbonos aromáticos sugerindo a presença de um anel benzênico, com a possibilidade de dois oxigenados. O sinal em 175,3 ppm pode ser atribuído a carbonila, provavelmente de éster corroborando com os dados informados anteriormente, os sinais em 80,9 e 69,1 encontram-se na região de carbono sp^3 oxigenado e os demais na região de carbonos sp^3 não funcionalizados.

A comparação destes dados com aqueles obtidos do espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (**Fig. 91, p. 86**) possibilitou, além da visualização de um átomo de carbono a mais, no espectro analisado anteriormente encontrava-se sobreposto pelo sinal do solvente, a divisão destes carbonos em: cinco carbonos monohidrogenados, três carbonos metilênicos, quatro carbonos metílicos e oito carbonos não hidrogenados, totalizando assim vinte carbonos, permitindo sugerir que se trata de um produto natural da classe dos diterpenos devido a quantidade de carbonos aliada à análise do padrão espectral.

O espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] (**Fig. 92, p. 87**) exhibe sinais bem definidos tais como: dois sinais largos em 7,63 e 7,29 ppm referentes a hidroxilas fenólicas e um singlete para 1H em 6,79 ppm ratificando a presença do anel benzênico. Entre outros, temos ainda os sinais em 5,14 ppm (1H, dubleto) e 4,34 ppm (1H, quarteto) correspondentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados e um curioso dubleto em 3,96 ppm, referente a hidroxila ligada a um carbono sp^3 monohidrogenado, em que os hidrogênios acoplam entre si ($J_{\text{HO-CH}} = 6,0$ Hz). A característica presença de grupo isopropila através dos sinais em 3,29 ppm (1H), desdobrando em hepteto, e 1,18 e 1,20 ppm (3H cada), desdobrando como dubleto, e a presença de duas metilas, singletos,

angulares, sugere a possibilidade de um diterpeno de esqueleto abietano, observação retirada da literatura (RAHMAN & AHMAD, 1992) e da comparação com outros compostos da mesma classe isolados anteriormente.

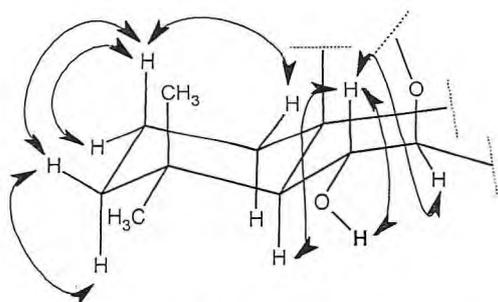
TABELA 9 - Deslocamentos químicos RMN ^{13}C [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
175,3	116,1	41,9	32,6
143,9	80,9	29,9	23,3
143,7	69,1	19,6	23,0
135,0	56,3		21,5
130,0	27,3		
123,0			
48,8			
34,9			
8 C	5 CH	3 CH ₂	4 CH ₃
			$\text{C}_{20}\text{H}_{24}$
(C=O)	2x (HC-O)		$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$
2 OH (Fenólicas)			

A análise dos dados, obtidos dos espectros de RMN unidimensionais bem como sinal referente ao pico do íon molecular em 346 u.m.a., observado no espectro de massa de HM-7 (Fig. 89, p. 85), concordam com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$. A fórmula molecular proposta apresenta índice de deficiência de hidrogênios igual a oito: quatro insaturações, correspondentes ao anel aromático, uma insaturação referente a carbonila e as outras três referentes a anéis.

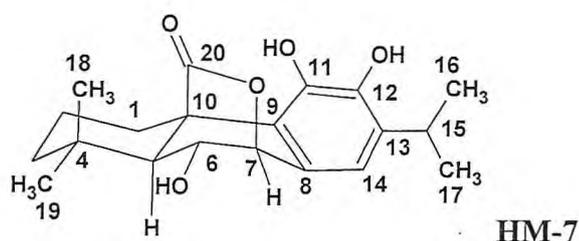
O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação com detecção inversa (HMQC) (Fig. 95, p. 88) permitiu associar corretamente todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos.

Os espectros de RMN 2D de correlação homonuclear $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 93, p. 87) e TOCSY (Fig. 94, p. 88), este último experimento mostra o acoplamento entre todos hidrogênios entre si, presentes em uma seqüência de carbonos e hidrogênios ininterrupta, por exemplo como no caso observado abaixo um sistema de acoplamento entre os hidrogênios dos carbonos C-5 a C-7, bem como entre os hidrogênios geminados dos carbonos C-1 a C-3 (ver estrutura parcial abaixo).

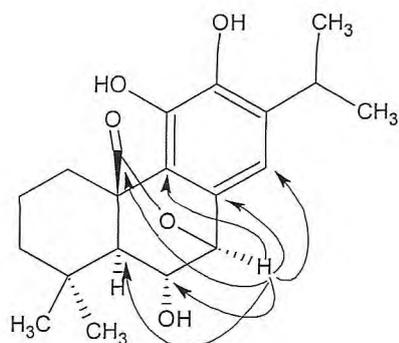


Setas duplas representando os acoplamentos escalares homonucleares geminais e vicinais observados através do espectro COSY de HM-7.

Através dos valores das constantes de acoplamentos para o sistema H5-H7 que são $J_{H5-H6}=4,1$ Hz, $J_{H6-H7}=4,4$ Hz e $J_{H6-OH}=6,0$ Hz; e devido à formação da ponte lactônica causando uma rigidez estrutural, foi possível atribuir a conformação em barco para o anel B e a estereoquímica relativa para os carbonos sp^3 oxigenados *alfa* para C-6 e *beta* para C-7. Com estes dados a estereofórmula sugerida para HM-7 é mostrada na estrutura abaixo:



O espectro de RMN 2D de correlação heteronuclear (1H , ^{13}C) a longa distância, com detecção no canal do hidrogênio (HMBC) (Fig. 96, p. 89) exhibe, entre outras, a importante correlação entre o hidrogênio em 5,14 ppm (H-7) a duas ligações com os carbonos em 130,0 (C-8) e 69,1 ppm (C-6) e a três ligações com os carbonos em 116,1 (C-14), 123,0 (C-9), 175,3 (C-20) e 56,3 ppm (C-5) caracterizando assim a presença da ponte lactônica sobre o anel B e a relação *orto* entre as hidroxilas fenólicas no anel C. Outras correlações encontram-se descritas na Tabela 12.

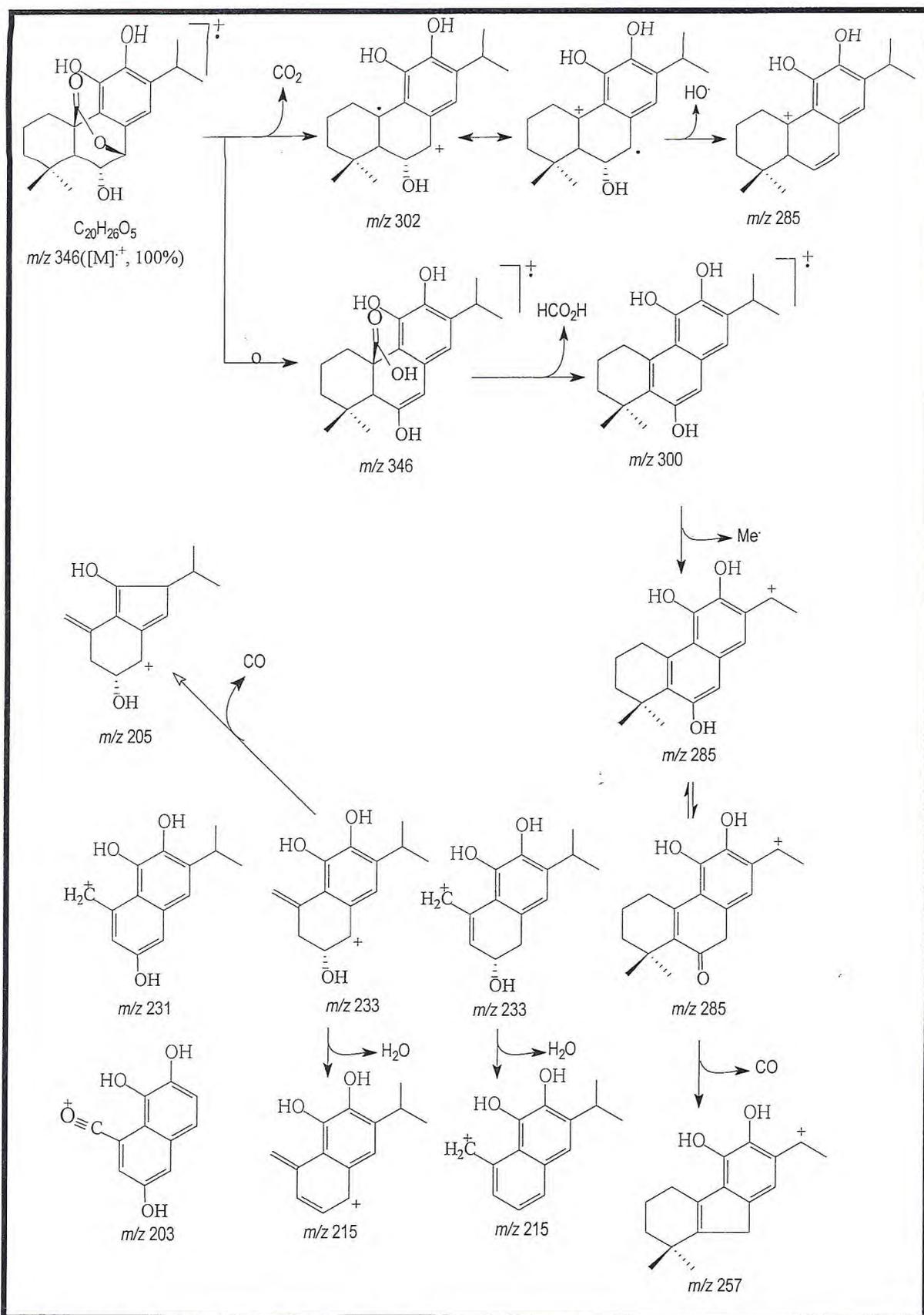


Importantes correlações hidrogênio-carbono, a mais de uma ligação, observadas para HM-7 através do experimento HMBC.

A comparação dos dados obtidos para HM-7 com os dados da substância anteriormente isolada HM-1 (ARAÚJO, 2000), foi decisiva na atribuição da estrutura, que é compatível com o 6 α ,11,12-trihidroxi-8,11,13-abietatrien-20,7-olídeo. É a primeira vez que esta substância está sendo relatada para o gênero, no entanto já é descrita na literatura como isorosmanol e foi isolada pela primeira vez de *Rosmarinus officinalis* como cristais incolores pf. 227 °C (NAKATANI E INATANI, 1984), os dados de hidrogênio descritos nesta literatura são comparados aos dados obtidos para HM-7 na Tabela 10.

TABELA 10 - Dados de RMN ^1H [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7 comparados com os valores RMN ^1H [60 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] do isorosmanol (NAKATANI E INATANI, 1984)

H	Isorosmanol	HM-7
1	-	2,77 (1H, dquart., $J=4,2$ e $1,5$ Hz)
	-	2,53 (1H, td, $J=13,8$ e $4,4$ Hz)
2	-	1,87 (1H, qt, $J=13,8$; $6,5$ e $3,3$)
	-	1,56 (1H, dquint., $J=10,8$; $6,9$ e $3,3$ Hz)
3	-	1,47 (1H, dquart., $J=13,1$; $4,8$ e $3,0$ Hz)
	-	1,30 (1H, td, $J=13,8$ e $4,4$ Hz)
5	1,42 (1H, d, $J=4,3$ Hz)	1,41 (1H, d, $J=4,1$ Hz)
6	4,34 (1H, t, $J=4,3$ Hz)	4,34 (1H, q, $J=6,0$; $4,1$ e $4,4$ Hz)
7	5,16 (1H, d, $J=4,3$ Hz)	5,14 (1H, d, $J=4,4$ Hz)
14	6,81 (1H, s)	6,79 (1H, s)
15	3,30	3,29 (1H, hepteto, $J=6,8$ Hz)
16	1,20 (3H, d, $J=6,6$ Hz)	1,18 (3H, d, $J=6,8$ Hz)
17	1,20 (3H, d, $J=6,6$ Hz)	1,20 (3H, d, $J=6,8$ Hz)
18	0,92 (3H, s)	0,90 (3H, s)
19	1,03 (3H, s)	1,04 (3H, s)
OH	-	3,96 (1H, d, $J=6,0$ Hz)



Quadro 5 – Possíveis caminhos de fragmentação no espectrômetro de massa para HM-7

TABELA 11 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-7 (HMQC)

	DEPT	¹ H/HMQC	
175,3	C(=O)		
143,9	=C(-O)		
143,7	=C(-O)		
135,0	=C		
123,0	=C		
116,1	=CH	6,79	s
80,9	CH(-O)	5,14	d ($J=4,4$ Hz)
69,1	CH(-O)	4,34	q ($J=6,0, 4,1$ e $4,4$ Hz)
56,3	CH	1,41	d ($J=4,1$ Hz)
48,8	C		
41,9	CH ₂	1,47	dquart. ($J= 13,1; 4,8$ e $3,0$ Hz)
		1,30	td ($J= 13,4$ e $3,3$ Hz)
34,9	C		
32,6	CH ₃	1,04	s
29,9	CH ₂	2,77	dquart. ($J=4,2$ e $1,5$ Hz)
		2,53	td ($J=13,8$ e $4,4$ Hz)
27,6	CH	3,29	hepteto ($J=6,8$ Hz)
23,3	CH ₃	1,18	d ($J=6,8$ Hz)
23,0	CH ₃	1,20	d ($J=6,8$ Hz)
21,5	CH ₃	0,90	s
19,6	CH ₂	1,87	qt ($J= 13,8; 6,5$ e $3,3$ Hz)
		1,56	dquint. ($J=10,8; 6,9$ e $3,3$ Hz)
OH		3,96	d ($J= 6,0$ Hz)

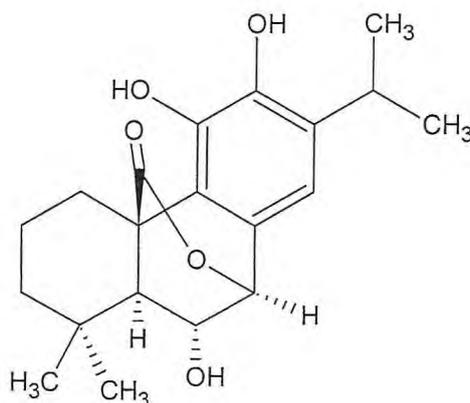
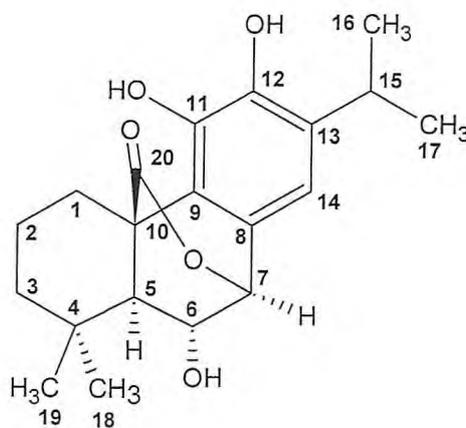


TABELA 12 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-7 (HMBC)

#C	¹³ C BB		HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	29,9	2,77 2,53		
2	19,6	1,87 1,56		
3	41,9	1,47 1,30		H-5, H-18, H-19
4	34,9		H-3, H-18, H-19	H-2, H-6
5	56,3	1,41		H-1, H-3, H-7, H-18, H-19, OH
6	69,1	4,34	H-5, H-7, OH	
7	80,9	5,14	H-6	H-14, OH
8	130,0		H-7	H-6
9	123,0			H-1, H-5, H-7, H-14
10	48,8		H-1, H-5	H-2, H-6
11	143,7			
12	143,9		H-15	H-14, H-15
13	135,0		H-14	H-16, H-17
14	116,1	6,79		H-7, H-15
15	27,6	3,29	H-16, H-17	H-14
16	23,3	1,18	H-15	
17	23,0	1,20	H-15	
18	21,5	0,90		H-5
19	32,6	1,04		H-5
20	175,3			H-1, H-5, H-7
OH		3,96		



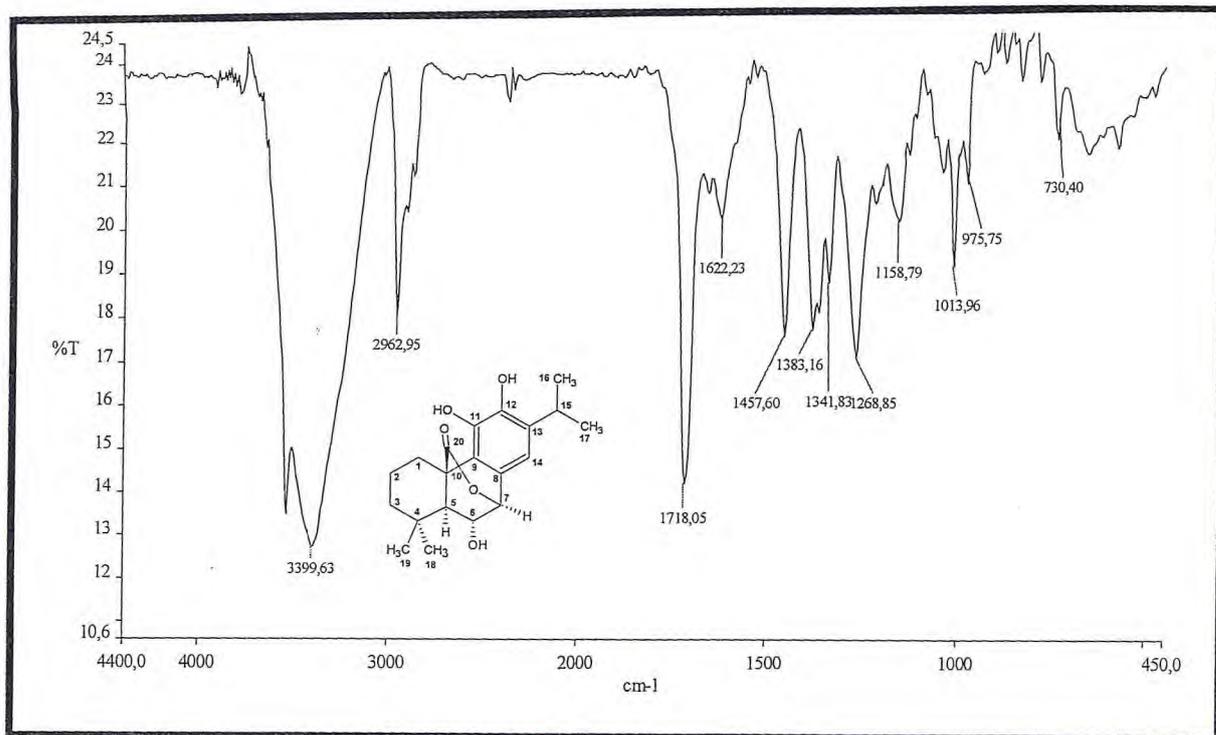


Figura 88 – Espectro de IV (KBr) de HM-7

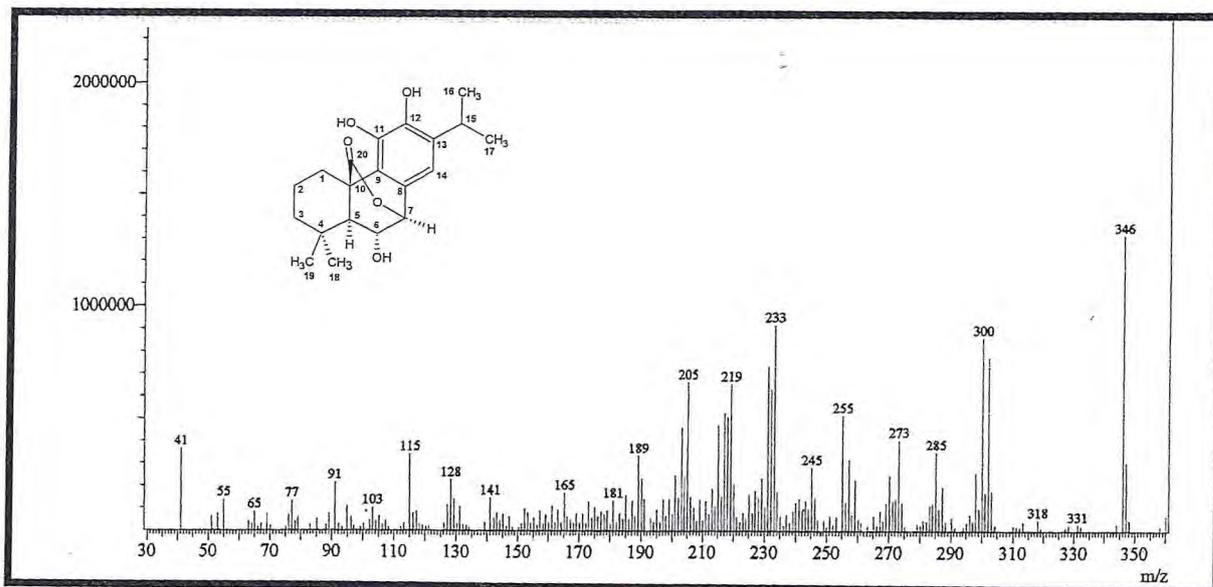


Figura 89 – Espectro de massa de HM-7

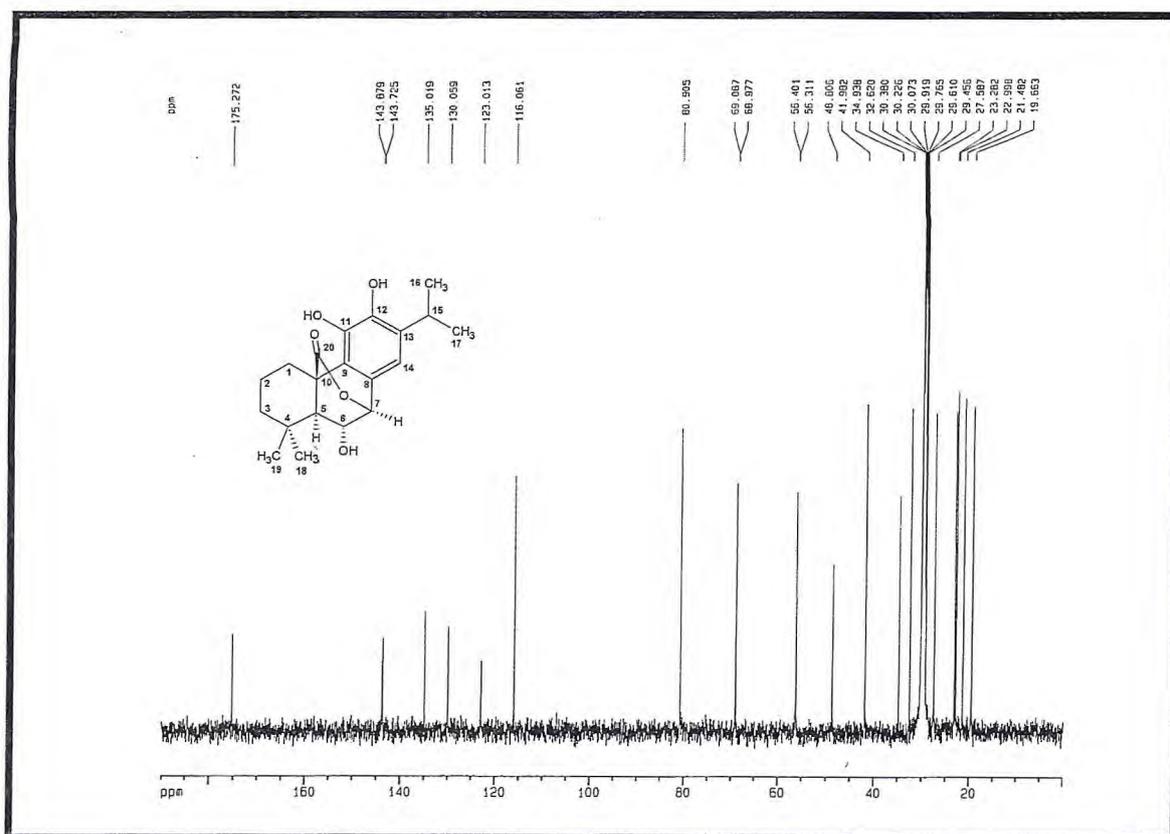


Figura 90 – Espectro de RMN ^{13}C BB [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7

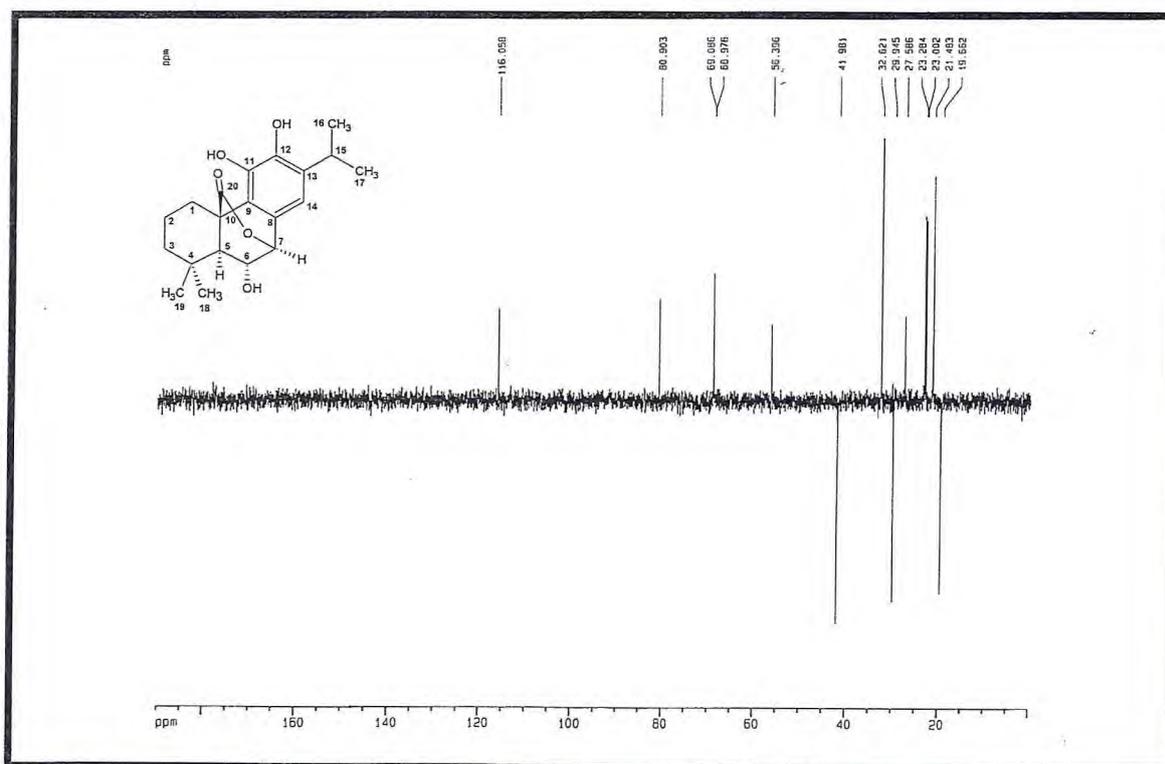


Figura 91 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 [125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7

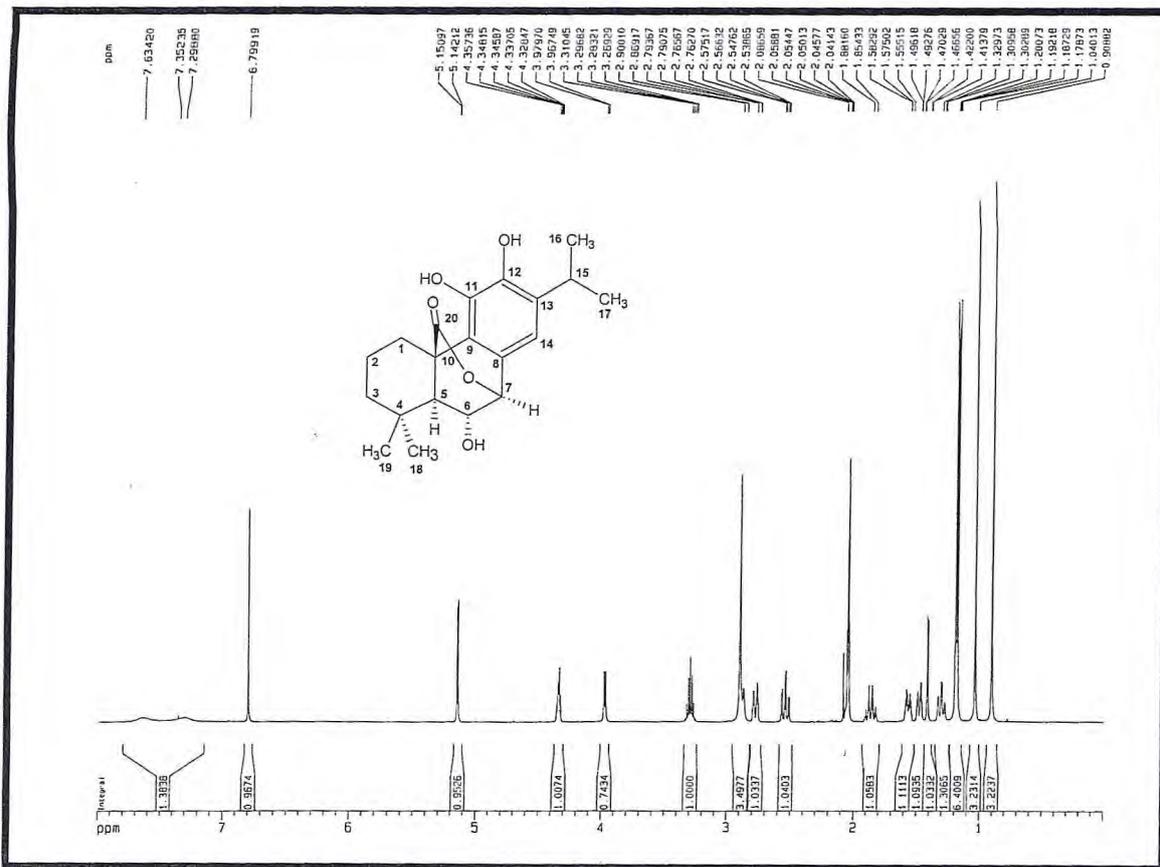


Figura 92 – Espectro de RMN ^1H [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7

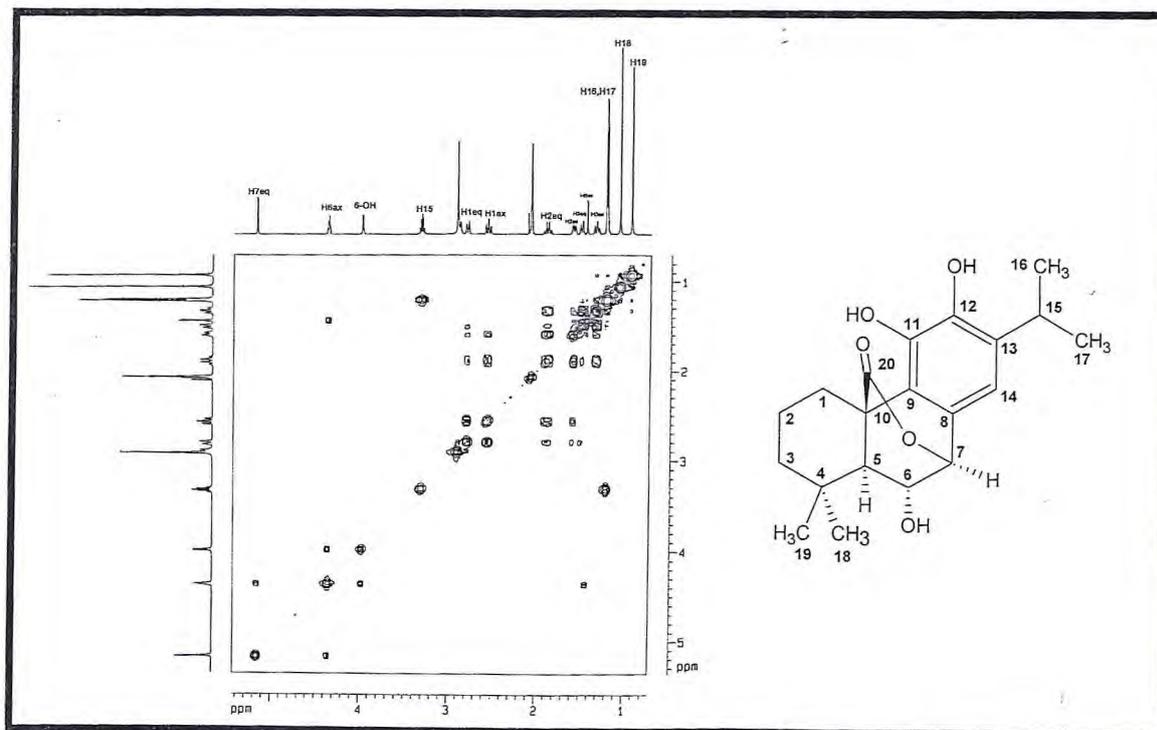


Figura 93 – Espectro de ^1H , ^1H -COSY [500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] de HM-7

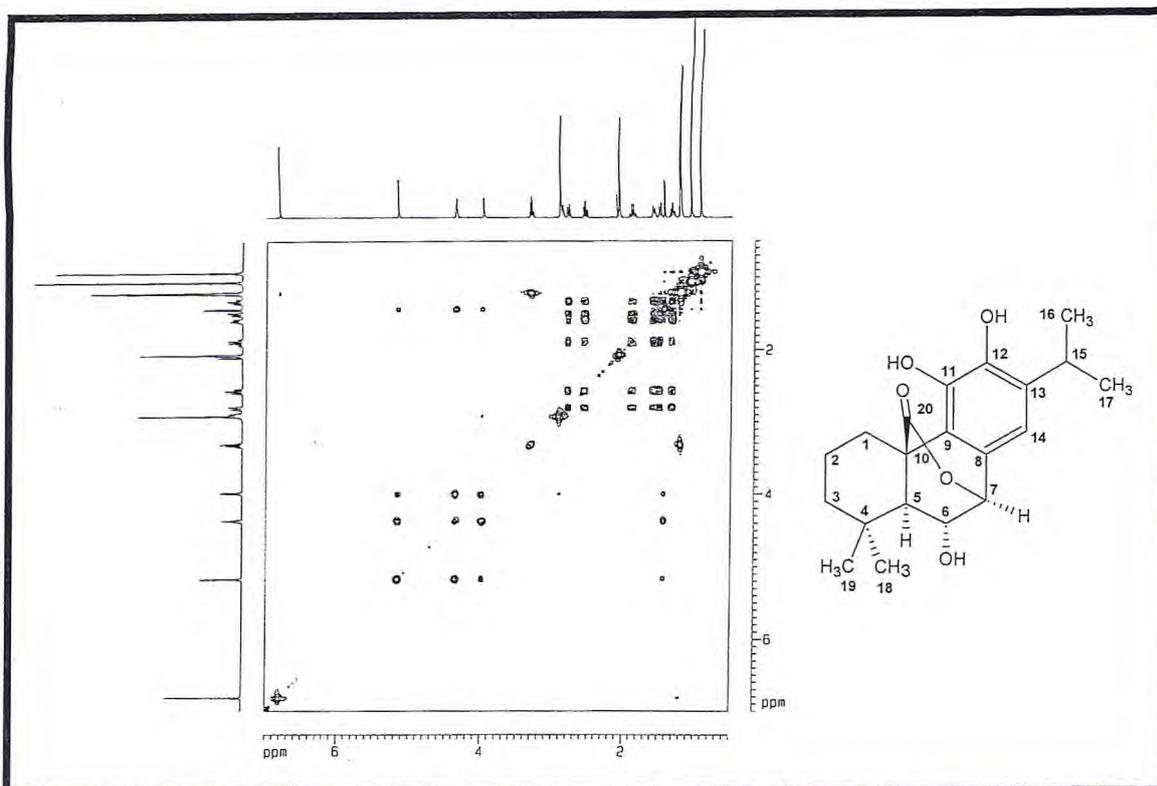


Figura 94 – Espectro de TOCSY [500 MHz, (CD₃)₂CO] de HM-7

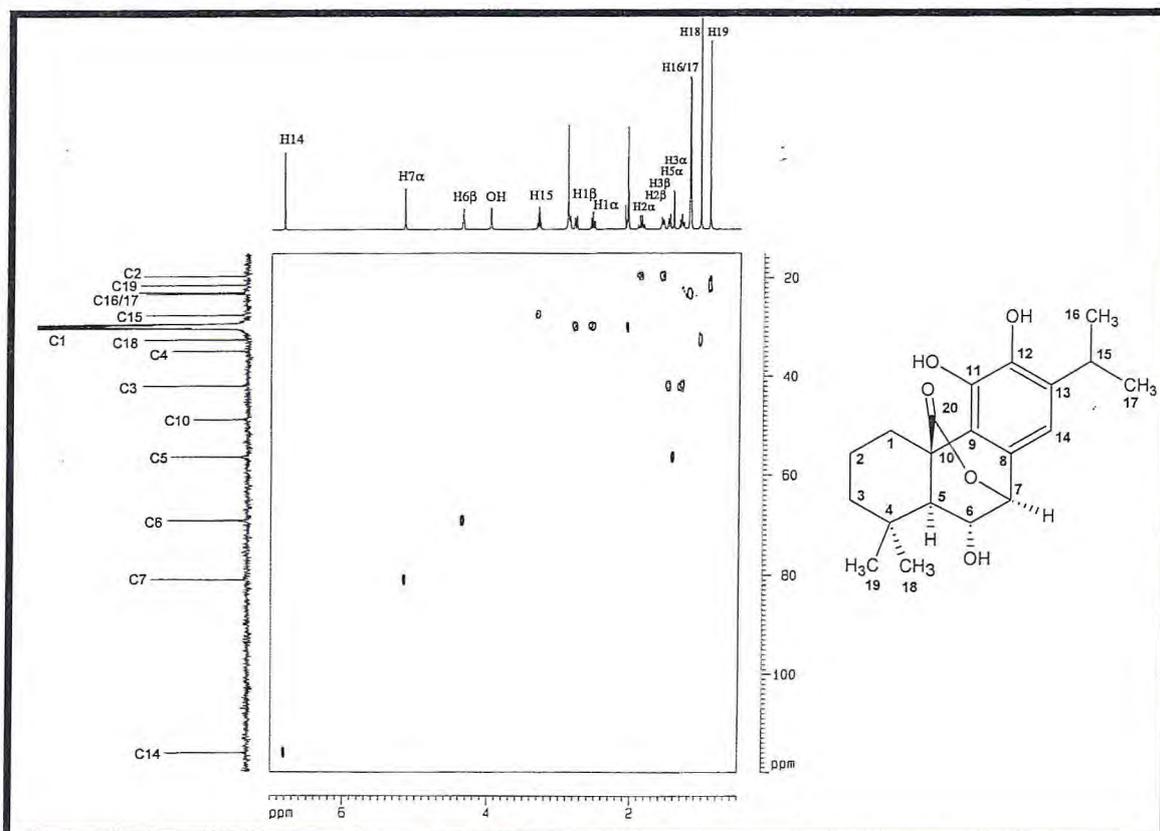


Figura 95 – Espectro de HMQC [500, 125 MHz, (CD₃)₂CO] de HM-7

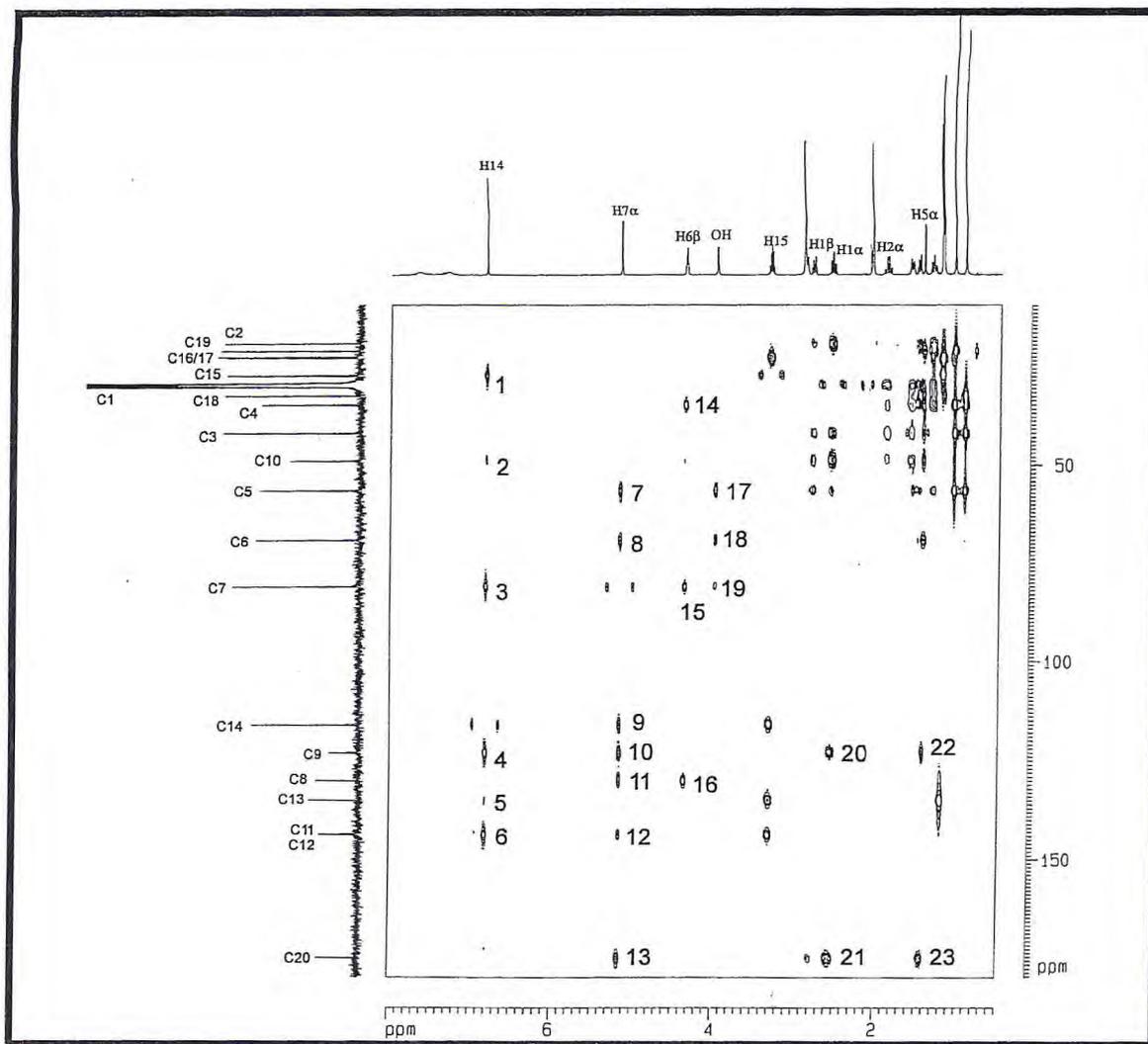
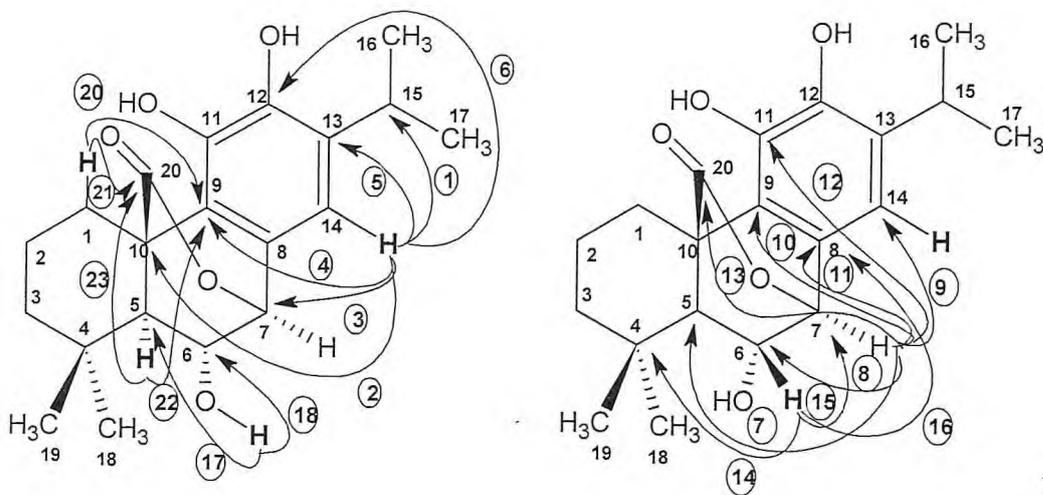


Figura 96 – Espectro de HMBC [500, 125 MHz, (CD₃)₂CO] de HM-7



4.2.2. Determinação Estrutural de HM-8

A substância denominada HM-8 foi obtida da fração clorofórmica do extrato hexânico das raízes de *H. martiusii*, após sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica com os solventes hexano e acetato de etila (eluição isocrática), como um sólido amarelo na forma de cristais aciculares, pf. 171,4-176,4 °C, $[\alpha]_D^{20} = -10$ (c. 0,07, CHCl₃).

A análise do espectro de absorção na região do IV de HM-8 (**Fig. 97, p. 97**) mostrou entre outras absorções intensas características de deformação axial de ligação O-H em 3423 cm⁻¹, de ligação C=O em 1717 cm⁻¹ (carbonila de éster) e em 1654 e 1652 cm⁻¹ (carbonilas de cetonas conjugadas), de ligação C-O em 1242 cm⁻¹ e de ligação C-H de alifáticos em 2958 cm⁻¹, foram observadas ainda bandas esqueléticas de deformação angular da ligação C=C, fora do plano em 766 e 944 cm⁻¹.

O espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CDCl₃) (**Fig. 99, p. 98**) apresenta 21 linhas espectrais das quais os sinais em 186,0; 184,0 e 170,0 ppm podem ser atribuídos a carbonos carbonílicos, quatro sinais entre 125,0 e 151,0 ppm são referentes a carbonos olefínicos, dois deles bastante desblindados (151,0 e 150,0 ppm), podendo ou não estar ligados a oxigênio, os demais sinais são referentes a carbonos sp³ e entre estes um sinal hidroximetínico em 65,0 ppm deslocado para a esquerda no espectro. Um sinal em 33,4 ppm chama atenção por sua intensidade e pode, se confirmado, ser atribuído a dois carbonos.

O espectro de RMN ¹³C-DEPT 135° (125 MHz, CDCl₃) (**Fig. 100, p. 98**) após comparação com o espectro de RMN ¹³C-BB permitiu a atribuição do padrão de hidrogenação dos carbonos como seis carbonos metílicos, quatro carbonos metilênicos, três carbonos metínicos e conseqüentemente oito carbonos não-hidrogenados.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) (**Fig. 101, p. 99**) revela a presença de um grupo isopropila (1,20; 1,25 e 3,18 ppm, $J = 6,9$ Hz) e quatro singletos relativos a grupos metila (0,90; 0,91; 1,30 e 2,00 ppm). O sinal em 2,0 ppm é característico de grupamento metílico ligado a carbonila, este dado aliado ao sinal obtido do espectro de RMN ¹³C em 170,0 ppm para carbono carbonílico sugere a presença de um grupo acetila. O sinal em 5,90 ppm, com integração para um hidrogênio, indica a conexão deste com um carbono oxigenado e os sinais múltiplos entre 1,00 e 3,00 ppm e

desdobramentos dos picos que se pode diferenciar, podem caracterizar acoplamentos axiais e equatoriais em anéis ciclohexânicos.

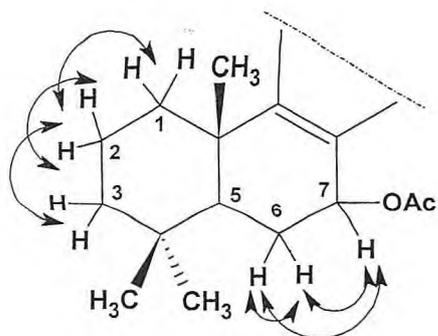
O padrão de substituição e o tipo de acoplamento indicam a estrutura de um diterpeno acetilado naturalmente, com isso a suspeita de que no espectro de RMN ^{13}C pudesse haver um sinal dobrado é real, já que de acordo com os dados analisados o diterpeno em questão deve possuir 22 carbonos.

TABELA 13 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HM-8 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
185,9	64,9	41,4	33,4
184,1	46,5	36,2	22,0
169,9	24,6	25,0	21,5
151,2		19,2	20,3
150,3			20,1
139,8			18,9
125,1			
39,5			
33,4			
9 C	3 CH	4 CH ₂	6 CH ₃
			$\text{C}_{22}\text{H}_{30}$
3x(C=O) OH	(HC-O)		$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_5$

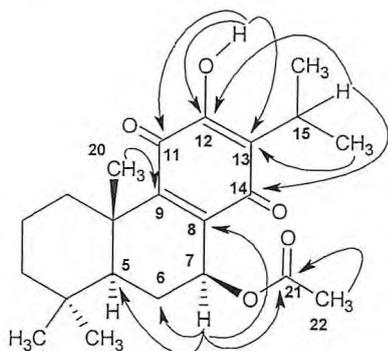
De posse dos dados espectrométricos de massa (**Fig. 98, p. 97**) foi possível observar o pico do íon molecular em 374 u.m.a., que confirma a suspeita anterior e comprova a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_5$, com índice de deficiência de hidrogênios igual a oito, onde três insaturações são referentes as carbonilas, duas insaturações são de duplas ligações, observação obtida anteriormente do espectro de RMN ^{13}C -BB onde existem quatro carbonos na região de olefínicos, restando ainda três insaturações que foram atribuídas a presença de três ciclos.

A análise dos espectros de RMN bidimensionais COSY (**Fig. 103, p. 100**) e HMQC (**Fig. 104, p. 100**) de HM-8 foram determinantes na associação inequívoca dos hidrogênios geminados e vicinais e dos carbonos a seus hidrogênios, respectivamente. Os contornos observados no COSY mostram a correlação entre os hidrogênios em C-6, entre si e com H-7, como também as correções dos hidrogênios em C-2, entre si e com H-1 e H-3, que foram demonstradas com setas duplas na estrutura a seguir:



Setas duplas representando os acoplamentos homonucleares observados através da análise da técnica COSY de HM-8.

O espectro bidimensional de correlação heteronuclear a mais de uma ligação, com detecção inversa HMBC de HM-8 (**Fig. 105, p. 101**) exibe entre outras as correlações do hidrogênio em 5,96 ppm (H-7) a três ligações com os carbonos 150,3 (C-9), 185,9 (C-14), 169,9 (C-21) e 46,5 ppm (C-5), dos hidrogênios metílicos em 1,26 ppm (H-20) a três ligações com 150,3 ppm (C-9), amarrando assim todos os carbonos do anel B, e correlações do hidrogênio metínico em 3,18 ppm (H-15) a três ligações com 151,2 (C-12) e 185,9 ppm (C-14) e do hidrogênio hidroxílico em 7,15 ppm a duas ligações com 151,2 ppm (C-12) e a três ligações com os carbonos em 184,1 (C-11) e 125,1 ppm (C-13), definindo assim as posições dos grupos no anel C e evidenciando a presença de um ciclo *para*-quinônico.



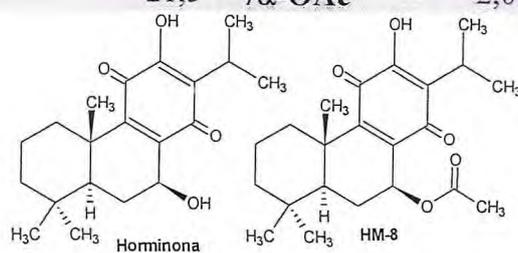
Principais correlações hidrogênio-carbono, a mais de uma ligação, observadas para HM-8 através do experimento HMBC.

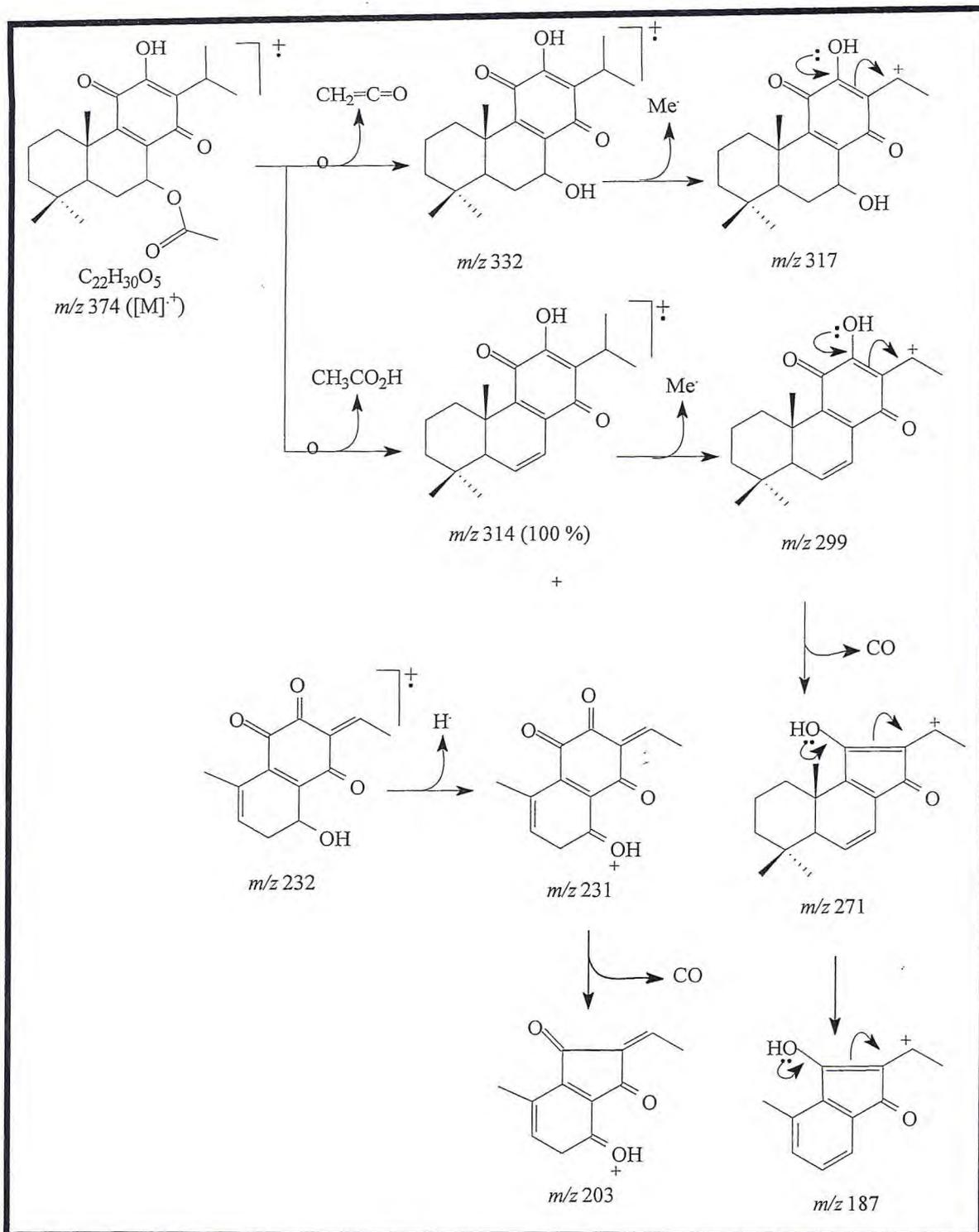
Substâncias com fórmula estrutural semelhante a sugerida para HM-8 são abundantemente encontradas em espécies da família labiatae, especialmente nos gêneros *Coleus* ou *Plectranthus*, por isso foi objeto do levantamento bibliográfico mostrado nesta tese. A estrutura de HM-8 condiz com 7-acetoxi-12-hidroxi-8,12-abietadien-11,14-diona, conhecida também por 7-acetil-horminona ou 7-acetil-roileanona, que é encontrado nas espécies *Horminum pyrenaicum*, *Coleus carnosus* e *Salvia phlomoides*, sua estrutura é também semelhante a proposta para HM-3 (**Quadro 4, p. 77**) que também é uma *para*-quinona. Não foram encontrados dados de RMN ¹³C da 7-acetil-horminona, por isso os dados de RMN ¹³C foram comparados aos da horminona na Tabela 14, onde encontra-se também a comparação dos dados de RMN ¹H obtidos para

HM-8 com os da literatura para 7-acetil-horminona (RODRÍGUEZ, 2003). Apesar do composto HM-8 já ser conhecido na literatura é a primeira vez que é isolado do gênero *Hyptis*.

TABELA 14 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de HM-8 comparados com os valores de RMN ^1H (RODRÍGUEZ, 2003) da 7-acetil-horminona e RMN ^{13}C (RAHMAN, 1992), em CDCl_3 , da horminona.

C	horminona		H	7-acetilhorminona	
	(Rahman et al., 1992)	HM-8		(Rodríguez, 2003)	HM-8
1	35,9	36,2	1 α	1,18	1,25
			1 β	2,71	2,77
2	18,9	19,2	2 α	1,55	1,62
			2 β	1,72	1,76
3	41,2	41,4	3 α	1,20	1,16
			3 β	1,47	1,51
4	33,2	33,4	-	-	-
5	45,8	46,5	5 α	1,46	1,52
6	25,9	25,0	6 α	1,92	1,95
			6 β	1,59	1,61
7	63,3	64,9	7 β	5,91	5,96
8	143,4	139,8	-	-	-
9	148,0	150,3	-	-	-
10	39,2	39,5	-	-	-
11	184,2	184,1	-	-	-
12	151,4	151,2	-	-	-
13	124,4	125,1	-	-	-
14	189,3	185,9	-	-	-
15	24,1	24,6	15	3,13	3,18
16	19,8	20,1	16	1,20	1,25
17	19,8	20,3	17	1,16	1,20
18	33,2	33,4	18	0,85	0,91
19	21,8	22,0	19	0,86	0,90
20	18,5	18,9	20	1,22	1,26
-	-	-	12-OH	7,14	7,15
OCOMe	-	21,5	7 α -OAc	2,01	2,00





Quadro 6 – Possíveis caminhos de fragmentação no espectrômetro de massa de HM-8

TABELA 15 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-8 (HMQC)

DEPT		¹ H/HMQC	
185,9	C(=O)		
184,1	C(=O)		
169,9	C(=O)		
151,2	=C(-O)		
150,3	=C		
139,8	=C		
125,1	=C		
64,9	CH(-O)	5,96	dd (<i>J</i> =4,2 e 1,6 Hz)
46,5	CH	1,52	m
41,4	CH ₂	1,51	m
		1,26	m
39,5	C		
36,2	CH ₂	2,77	dt (<i>J</i> =13,2 Hz)
		1,25	m
33,4	CH ₃	0,90	s
33,4	C		
25,0	CH ₂	1,95	d (<i>J</i> =14,7 Hz)
		1,61	m
24,6	CH	3,18	hepteto (<i>J</i> =6,9 Hz)
22,0	CH ₃	0,91	s
21,5	CH ₃	2,05	s
20,3	CH ₃	1,25	d (<i>J</i> =6,9 Hz)
20,1	CH ₃	1,20	d (<i>J</i> =6,9 Hz)
19,2	CH ₂	1,76	qt (<i>J</i> = 13,8; 7,0 e 3,5 Hz)
		1,62	m
18,9	CH ₃	1,26	s

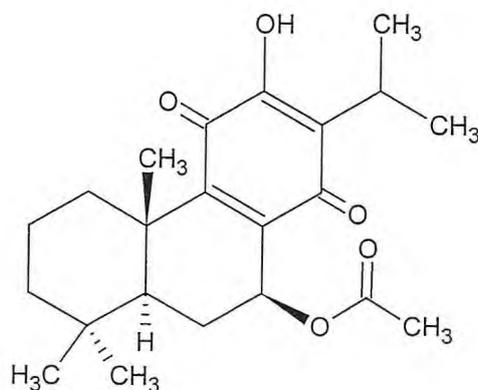
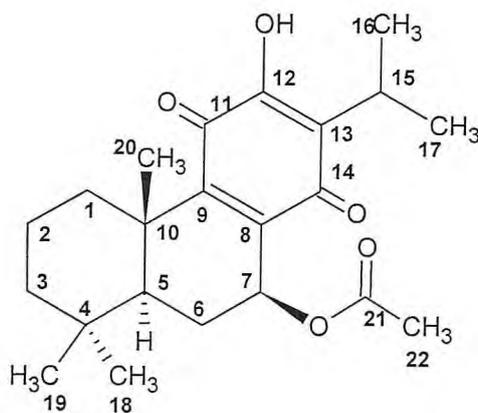


TABELA 16 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-8 (HMBC)

#C	¹³ C BB		HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	36,2	2,77 1,25		H-20
2	19,2	1,76 1,62	H-1, H-3	
3	41,4	1,51 1,26		H-18, H-19
4	33,4		H-5	H-6
5	46,5	1,52	H-6	H-7, H-18, H-19, H-20
6	25,0	1,95 1,61	H-5	
7	64,9	5,96	H-6	H-5
8	139,8		H-7	H-6
9	150,3			H-5, H-7, H-20
10	39,5		H-1, H-5, H-20	H-6
11	184,1			OH
12	151,2		OH	H-15
13	125,1		H-15	H-16, H-17, OH
14	185,9			H-7, H-15
15	24,6	3,18	H-16, H-17	
16	20,1	1,20	H-15	H-17
17	20,3	1,25	H-15	H-16
18	33,4	0,90		H-5, H-19
19	22,0	0,91		H-18
20	18,9	1,26		
21	169,9		H-22	H-7
22	21,5	2,05		
OH		7,15		



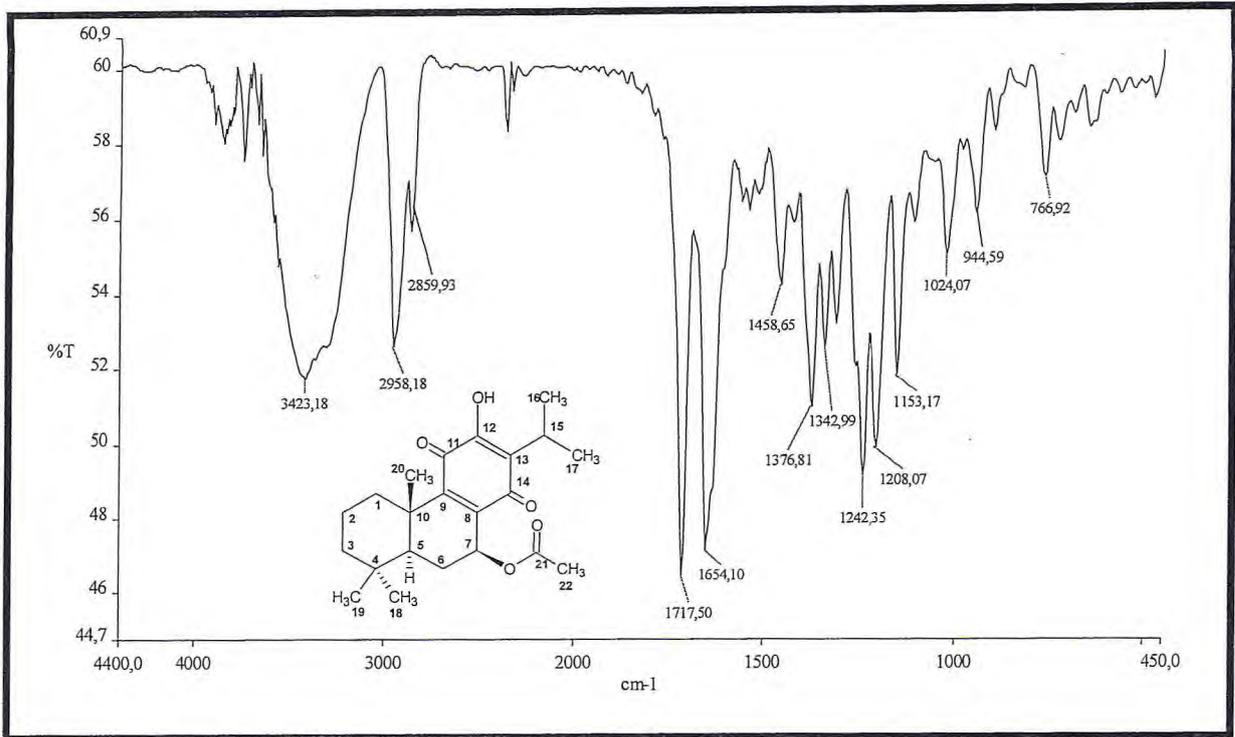


Figura 97 – Espectro de IV (KBr) de HM-8

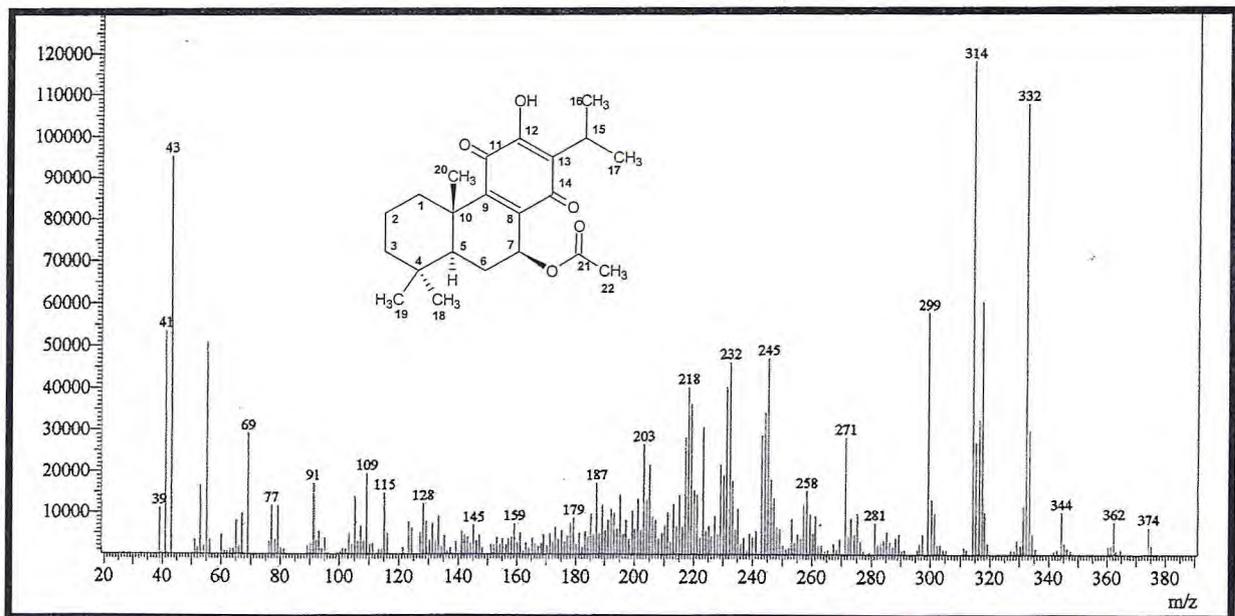


Figura 98 – Espectro de massa de HM-8

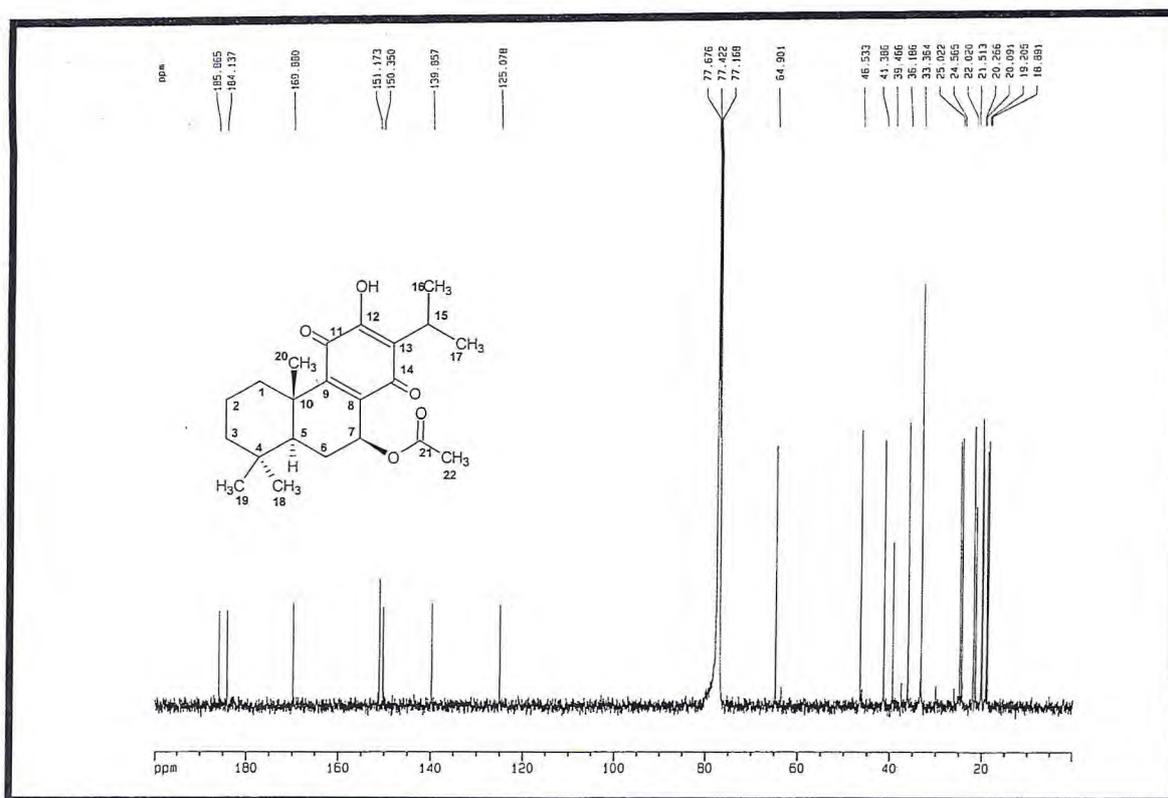


Figura 99 – Espectro de RMN ¹³C BB (125 MHz, CDCl₃) de HM-8

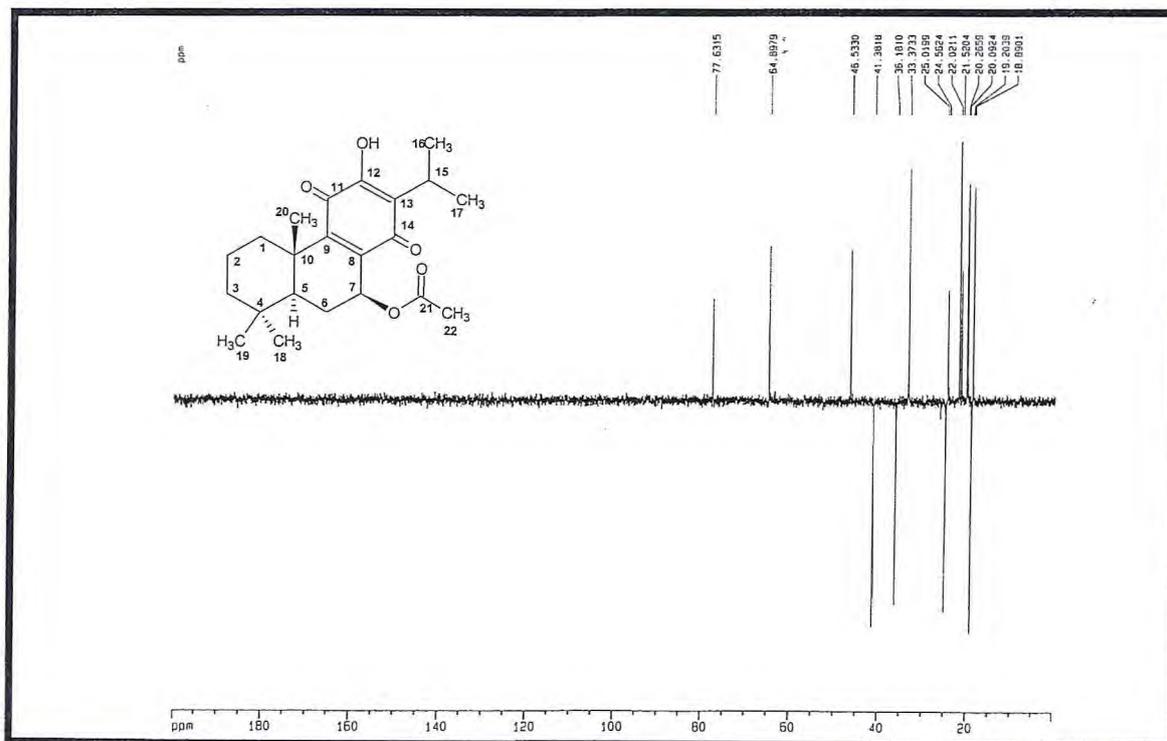


Figura 100 – Espectro de RMN ¹³C DEPT 135 (125 MHz, CDCl₃) de HM-8

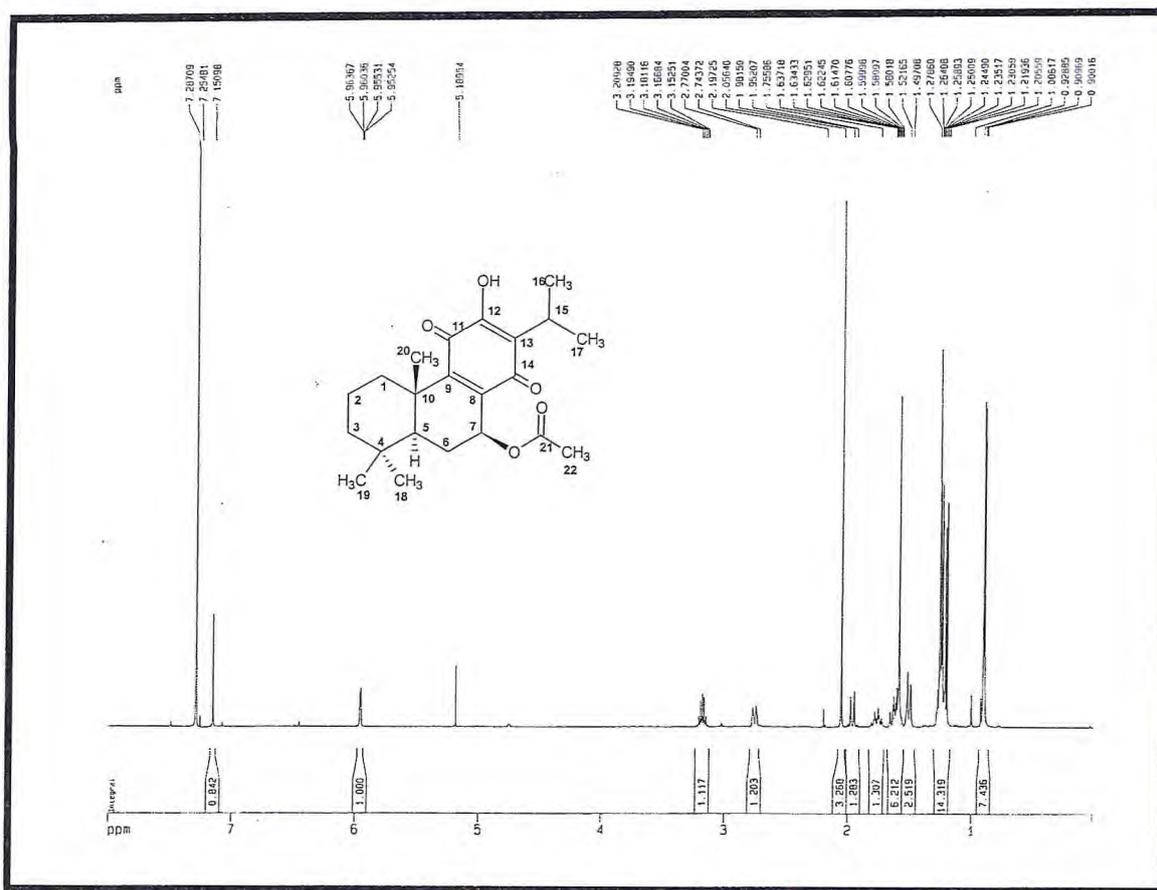


Figura 101 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HM-8

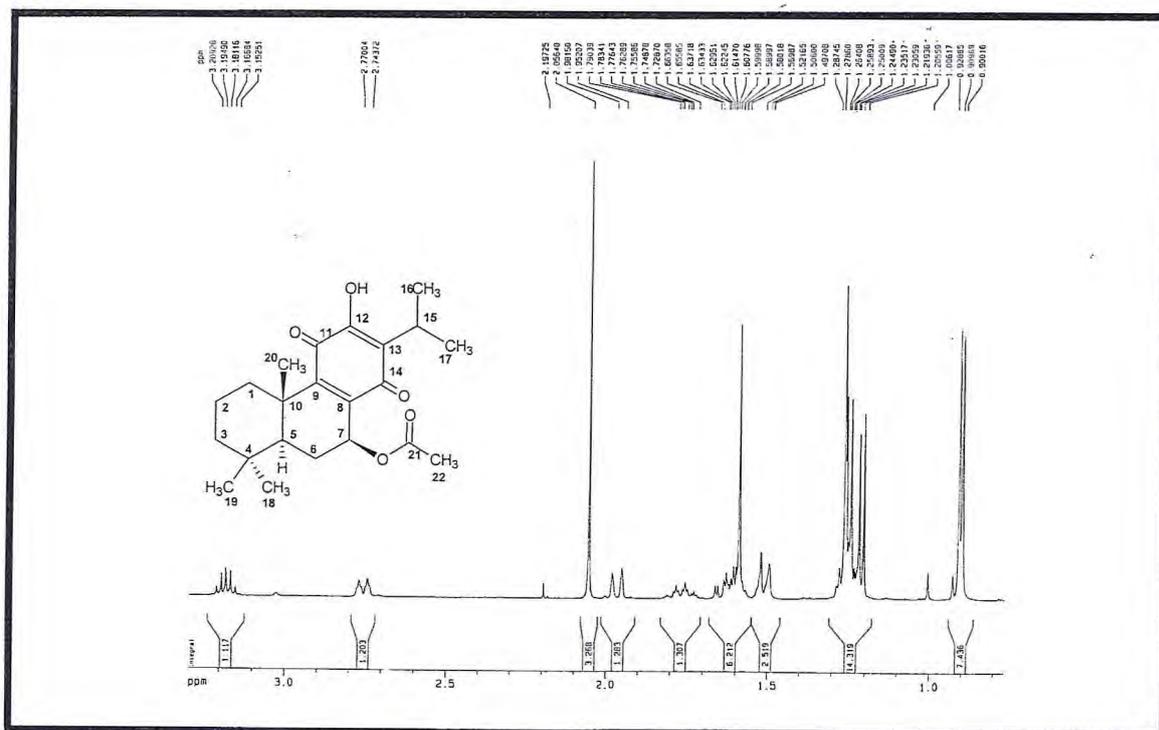


Figura 102 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expansão de HM-8

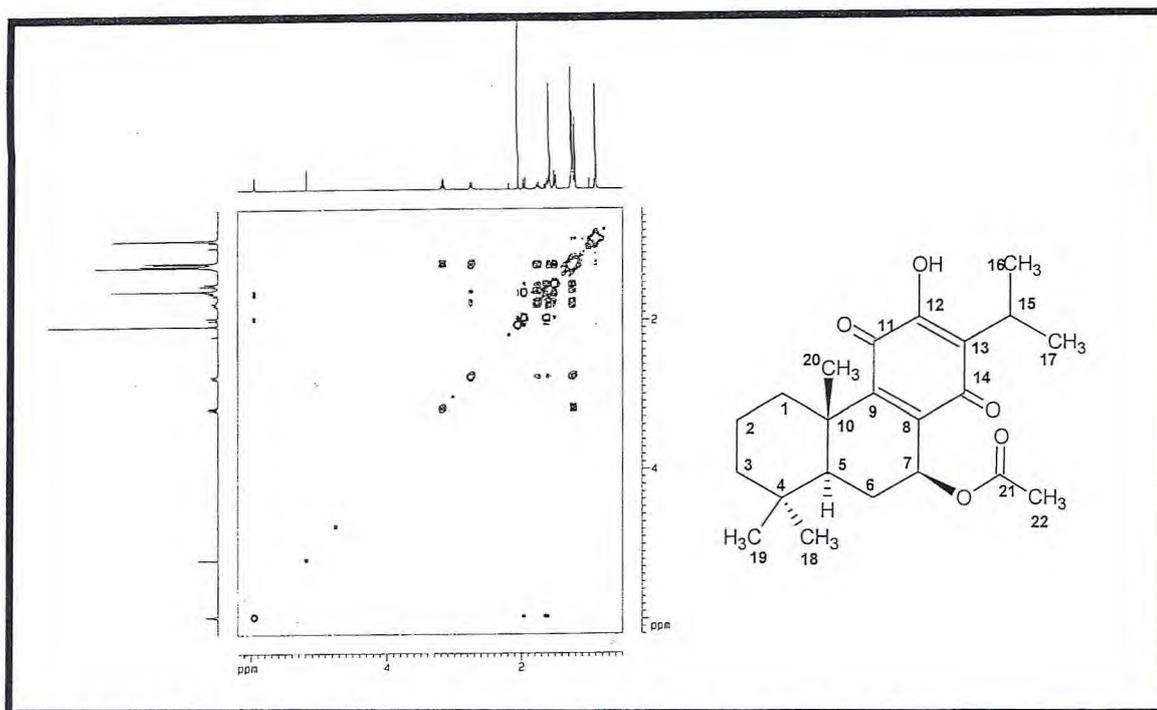


Figura 103 – Espectro de ^1H , ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) de HM-8

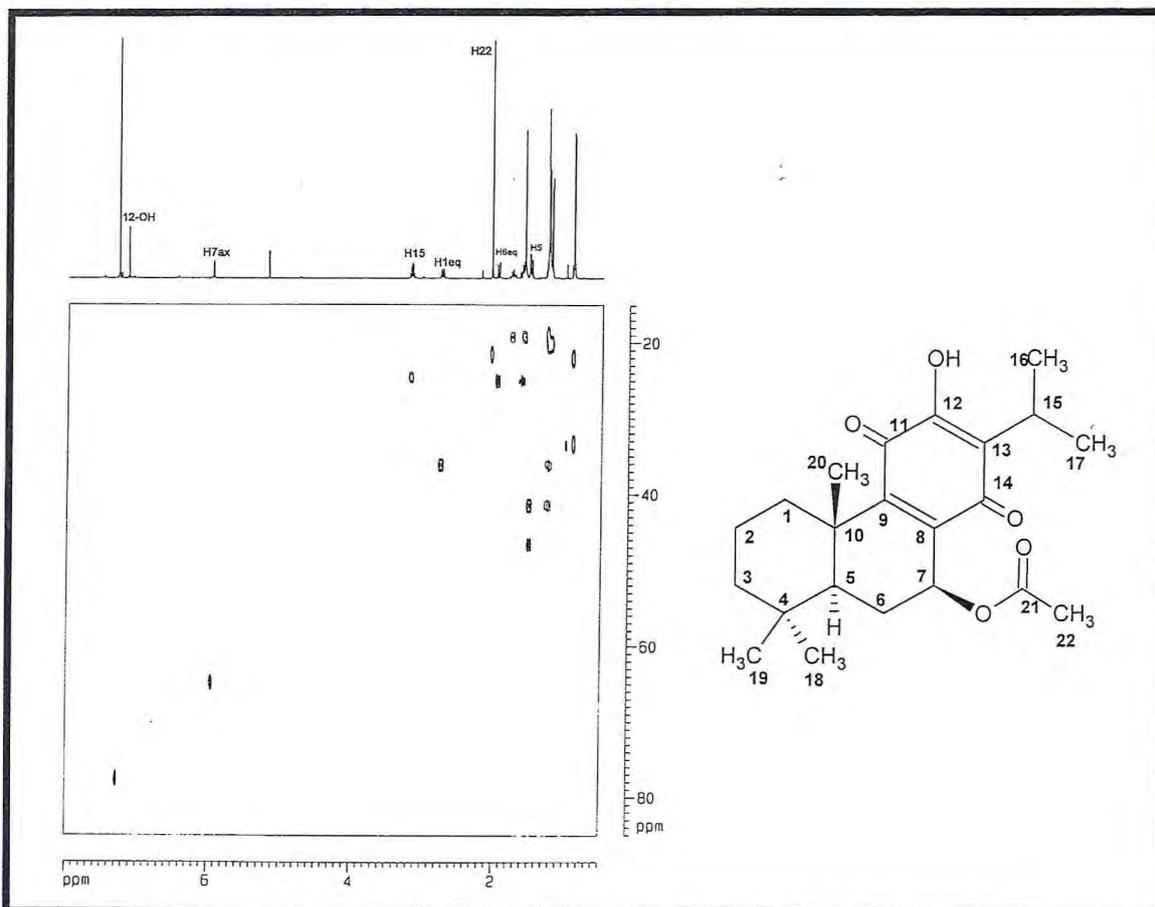


Figura 104 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl_3) de HM-8

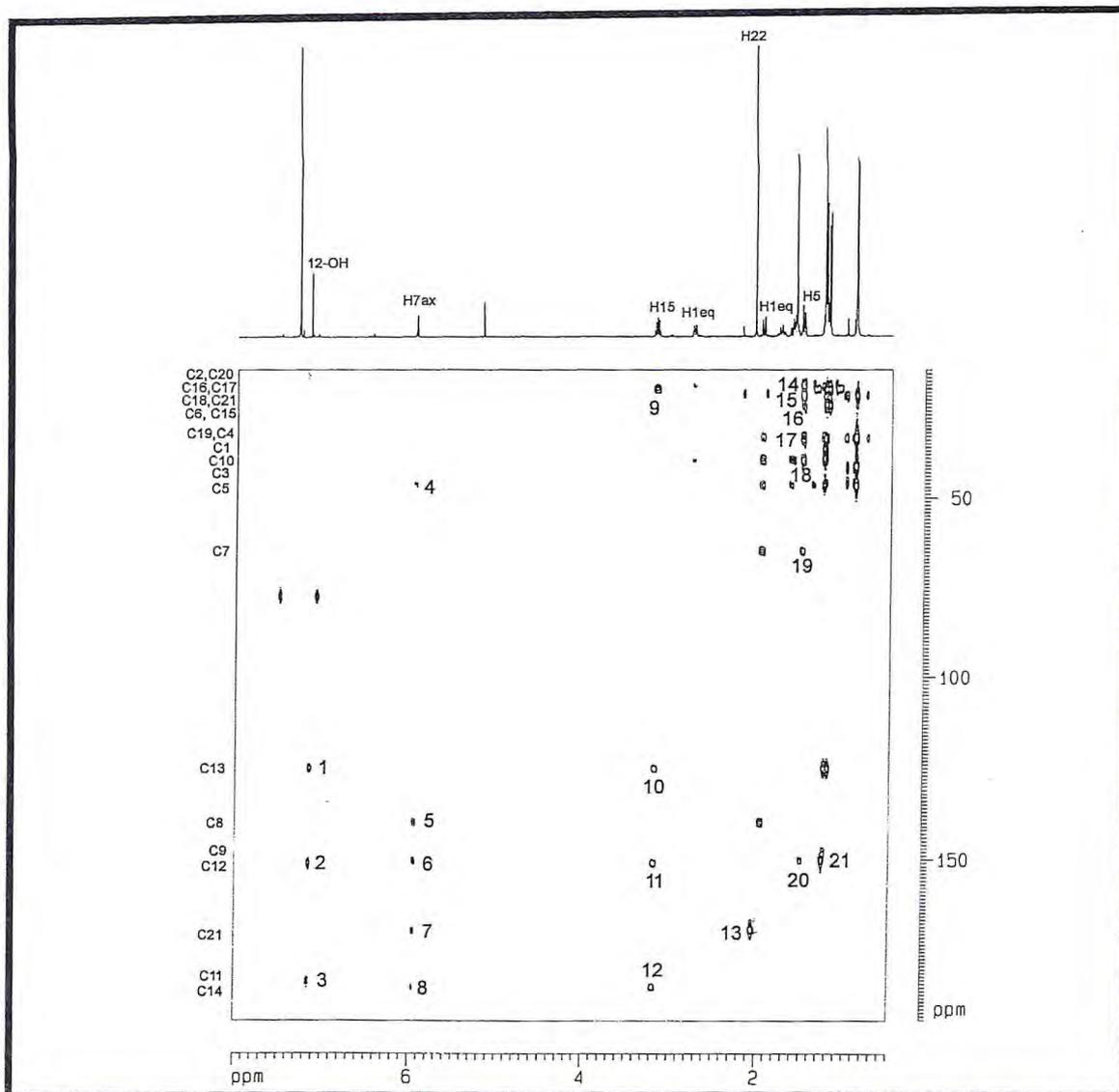
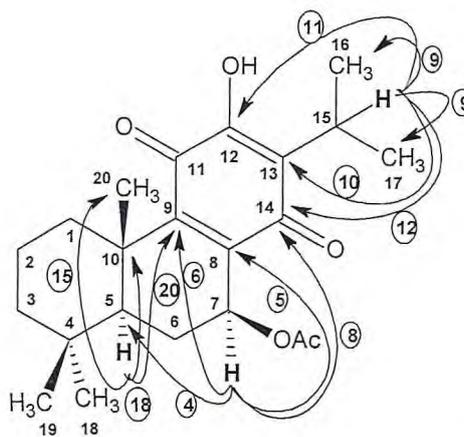
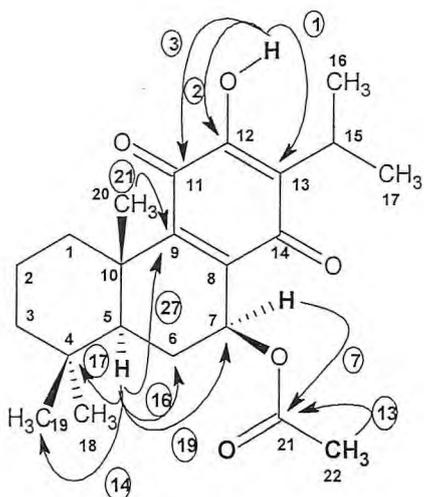


Figura 105 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HM-8



HM-8

4.2.3. Determinação Estrutural de HM-9

Após sucessivas cromatografias da fração clorofórmica oriunda do extrato etanólico das raízes de *H. martiusii* (HMER-C), em gel de sílica com os eluentes hexano e clorofórmio, em proporções variadas, foi evidenciada a presença de frações contendo cristais. A junção dessas frações, após análise em CCD, resultou na identificação de apenas um composto, que se apresentou na forma de cristais incolores pf. 165,2-167,6 °C, $[\alpha]_D^{20} = -5$ (c. 0,06, CHCl₃), denominado HM-9.

No espectro de absorção na região do IV de HM-9 (Fig. 106, p. 109) foi possível observar as bandas de estiramento de ligação O-H em 3432 cm⁻¹, de estiramento de ligação C-H de alifáticos em 2928 cm⁻¹, de deformação axial de ligação C=O em 1663 e 1626 cm⁻¹, referentes a carbonilas cetônicas provavelmente conjugadas e uma absorção em 1254 cm⁻¹ atribuída a deformação axial da ligação C-O.

O espectro de RMN ¹³C-BB de HM-9 (125 MHz, CDCl₃) (Fig. 108, p. 110) exhibe 21 linhas espectrais das quais após comparação com o espectro de RMN ¹³C DEPT 135° (Fig. 109, p. 110), três correspondem a carbonos monohidrogenados, oito a carbonos metilênicos, quatro a carbonos metílicos e seis a carbonos não hidrogenados. De acordo com deslocamentos químicos: dois carbonos encontram-se na região de carbonos sp² (159,4 e 133,2 ppm), um deles bastante desprotegido podendo ser oxigenado e outros dois estão na região de carbonos carbonílicos (204,2 e 199,7 ppm), ratificando a presença de carbonilas conjugadas como observado no Infravermelho, sugerindo um sistema quinônico como para HM-8, um carbono na região de carbono sp³ quaternário oxigenado (72,6 ppm) e os demais na região de carbono saturado não funcionalizados (CH, CH₂ e CH₃).

O espectro de RMN ¹H de HM-9 (500 MHz, CDCl₃) (Fig. 110, p. 111) revela a presença de um grupo isopropila (1,10 ppm 2xCH₃, dupletos e 2,98 ppm, hepteto, *J* = 6,0 Hz), duas metilas angulares (0,97 e 0,89 ppm, s, 3H, cada), um duplete em 6,4 ppm (1H, *J* = 1,1 Hz) e três dupletos em 3,30; 3,10 e 1,85 ppm para 1H cada com constantes de acoplamento iguais a 15,8; 15,8 e 14,4 Hz, respectivamente.

Esses dados em adição aos de Carbono-13, sugerem uma estrutura compatível com a de diterpeno, provavelmente de esqueleto abietano já que temos o grupo isopropila e as metilas geminadas.

Os dados analisados até o momento permitem propor, com a prévia observação que os valores em 30,10 ppm (RMN ¹³C) e 1,27 ppm (RMN ¹H) correspondem a impureza

(graxa), não identificada inicialmente, devido a intensidade do sinal, por parecer um sinal de metila, freqüentemente observado em alguns diterpenos deste tipo analisados anteriormente. Com isso o peso molecular obtido no espectro de massa de alta resolução (Fig. 107, p. 109) com razão massa/carga (m/z) de 318,21692 Daltons, concorda com a fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_3$, com índice de deficiência de hidrogênios igual a seis. O espectro de massa de alta resolução, juntamente com ponto de fusão e rotação ótica, foram obtidos após purificação da fração. Como já discutimos a presença de duas carbonilas e uma dupla ligação restam ainda 3 insaturações que foram atribuídas a anéis.

TABELA 17 - Deslocamentos químicos RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) de HM-9 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
204,2	133,2	48,6	32,6
199,7	51,9	46,8	21,9
159,4	27,2	42,1	21,5
72,6		41,8	21,6
50,7		35,3	
33,2		18,0	
		17,8	
6 C	3 CH	7 CH ₂	4 CH ₃
			$C_{20}H_{29}$
2x (C=O) (C-OH)			$C_{20}H_{30}O_3$

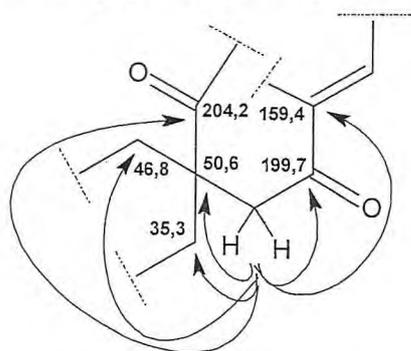
A importante observação da presença de sete carbonos metilênicos (já excetuando o CH_2 pertencente a impureza), onde nos diterpenos determinados anteriormente, o menos funcionalizado nos anéis A e B possui apenas cinco carbonos metilênicos, levou-nos a suspeitar que uma das metilas poderia ter se transformado em CH_2 e como não temos um sistema aromático como nos anteriores, pode-se sugerir a presença de pelo menos um carbono metilênico no anel C, já que provavelmente neste encontram-se a dupla ligação trissubstituída e as carbonilas.

O espectro de RMN 2D de correlação heteronuclear $^1H, ^{13}C$ a uma ligação (HMQC) de HM-9 (Fig. 113, p. 112) permitiu associar inequivocamente as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 18, p. 107).

O espectro de RMN 2D, de correlação homonuclear (COSY) de HM-9 (Fig. 111, p. 111) evidencia o acoplamento dos hidrogênios diastereotópicos do carbono em 48,6

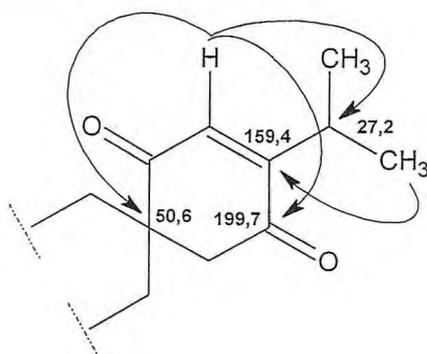
ppm, entre si, mostrando que provavelmente estes encontram-se isolados. Um outro caso de hidrogênios isolados acoplado entre si é o dos hidrogênios do carbono em 46,8 ppm, além do evidente acoplamento entre o carbono metínico (2,98 ppm) e as metilas (1,10 e 1,11 ppm) do grupo isopropílico presentes na molécula.

A união das informações obtidas até o momento como a ausência do anel aromático, a presença do grupo isopropila e duas metilas, a presença de duas carbonilas, uma dupla ligação trissubstituída e um carbono não hidrogenado oxigenado e, através do cálculo da IDH, a existência de mais três ciclos, não foram suficientes para propor uma estrutura sem antes analisar minuciosamente o espectro de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a longa distância, com detecção no canal do hidrogênio (HMBC) (Fig. 114, p. 113). Dentre as correlações observadas pode-se destacar a correlação simultânea dos hidrogênios em 3,30 e 3,10 ppm à duas ligações com os carbonos em 50,6 e 199,7 ppm e a três ligações com 46,8; 35,3; 159,4 e 204,2 ppm (ver esquema a seguir).



Esquema representativo indicando com setas simples as correlações entre hidrogênio-carbono a duas e três ligações observados no experimento HMBC para parte da estrutura de HM-9.

Os hidrogênios metílicos do grupo isopropila também acoplam a três ligações com o carbono em 159,4 ppm, e o hidrogênio olefínico acopla a três ligações com os carbonos em 199,7; 50,6 e 27,2 ppm, completando assim o primeiro ciclo analisado (ver esquema abaixo). Outras correlações encontram-se descritas na Tabela 19 (p. 108).

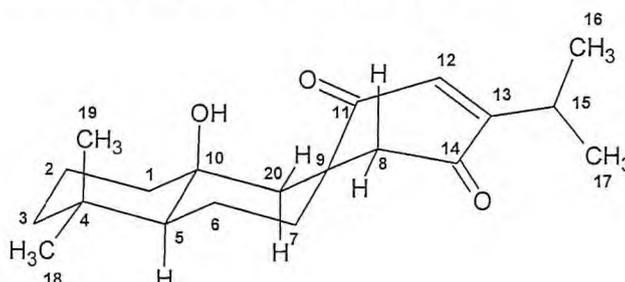


Esquema representativo indicando com setas simples as correlações entre o hidrogênio olefínico a duas e três ligações com os carbonos da estrutura parcial de HM-9, observados no experimento HMBC.

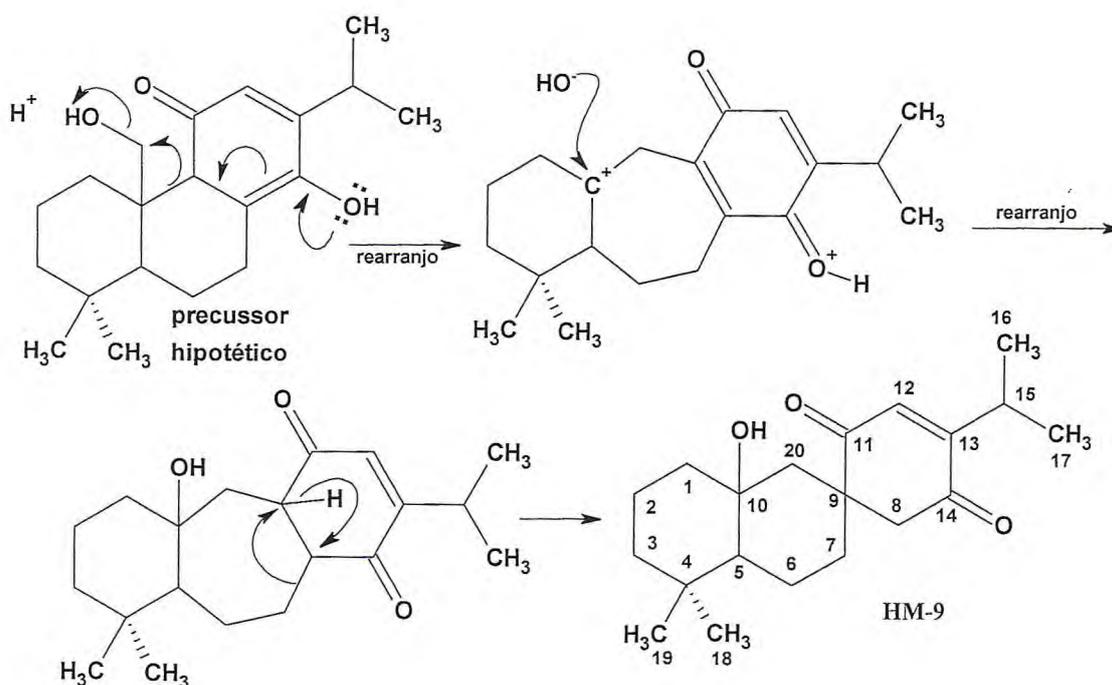
Considerando que temos um esqueleto diterpênico do tipo abietano espera-se que a parte complementar da molécula sejam os ciclos A e B. E assim finalmente temos a estrutura de um abietano rearranjado apresentando dois anéis espiro. Uma proposta de

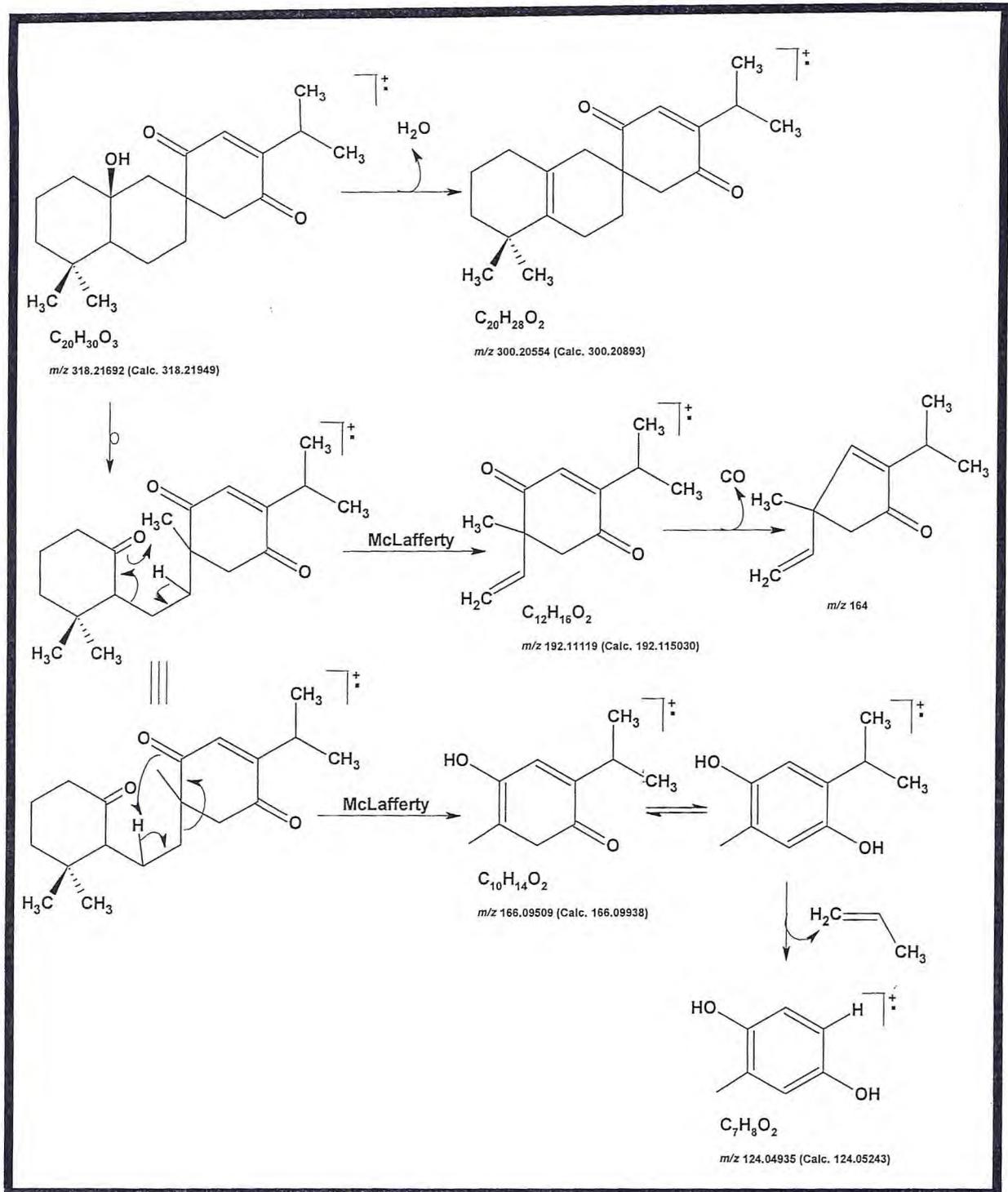
fragmentação para justificar os principais sinais observados no espectro de massa de alta resolução (**Fig. 107, p. 109**) de HM-9 encontra-se descrita no Quadro 7 (**p. 106**).

Na literatura são encontrados alguns relatos de outros tipos de diterpenos espiro, no entanto nenhum relato para diterpenos abietanos foi encontrado, portanto esta substância é inédita na literatura. Uma estereofórmula com conformação de cadeira para os ciclos **A** e **B** da estrutura é proposta na molécula abaixo:



Uma proposta biogenética para formação de HM-9 pode ser iniciada com a abstração enzimática de um hidrogênio de C-20 seguida de rearranjo da ligação entre C-10 e C-9 que passa a ser entre C-9 e C-20 e ataque do íon HO^- a C-10 que se encontra deficiente em elétrons. A etapa seguinte é um outro rearranjo da ligação entre C-7 e C-8 que passa a ser entre C-7 e C-9, com migração de hidrogênio de C-9 para formação do metileno em C-8.





Quadro 7 – Possíveis caminhos de fragmentação para HM-9 no espectrômetro de massa

TABELA 18 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-9 (HMQC)

DEPT		¹ H/HMQC	
204,2	C(=O)		
199,7	C(=O)		
159,4	=C		
133,2	=C-H	6,40	d (<i>J</i> =1,1 Hz)
72,6	C(-O)		
51,9	CH	1,00	m
50,7	C		
48,6	CH ₂	3,30	d (<i>J</i> = 15,8)
		3,10	d (<i>J</i> = 15,8)
46,8	CH ₂	1,85	d (<i>J</i> = 14,4)
		1,42	
42,2	CH ₂	1,42	
		1,22	
41,9	CH ₂	1,46	
		1,36	
35,3	CH ₂	1,73	
		1,73	
33,2	C		
32,6	CH ₃	0,89	
30,1	CH ₂	1,27	Impureza (graxa)
27,2	CH	2,98	hepteto (<i>J</i> = 6,0)
21,9	CH ₃	0,97	
21,6	CH ₃	1,10	d (<i>J</i> = 6,0)
21,5	CH ₃	1,11	d (<i>J</i> = 6,0)
18,0	CH ₂	1,73	
		1,42	
17,9	CH ₂	1,73	
		1,46	

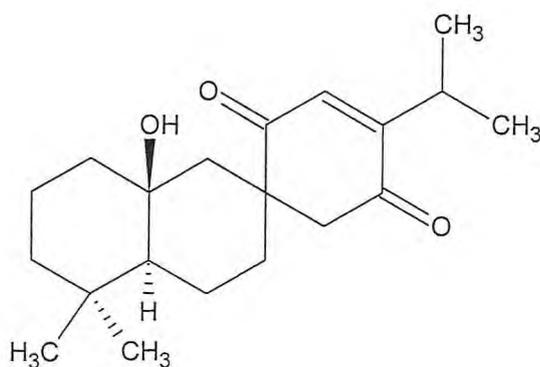
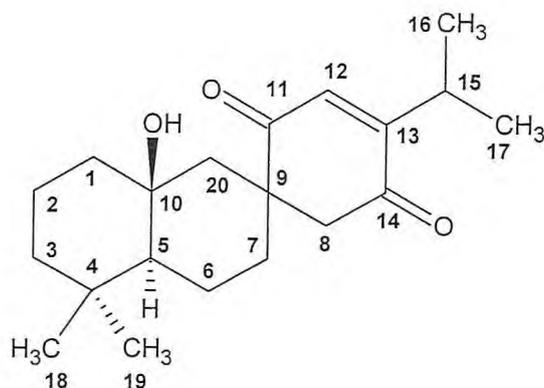


TABELA 19 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-9 (HMBC)

#C	¹³ C BB	HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH} / ³ J _{CH}
1	41,8	1,46 1,36	
2	17,8	1,73 1,46	
3	42,1	1,42 1,22	H-18, H-19
4	33,2		H-5, H-18
5	51,9	1,00	H-6
6	18,0	1,73 1,42	H-7, H-18, H-19
7	35,3	1,73 1,73	H-8
8	48,6	3,30 3,10	H-20
9	50,7		H-8, H-20
10	72,6		
11	204,2		H-8, H-20
12	133,2	6,40	
13	159,4		H-8, H-12, H-16, H-17
14	199,7		H-8
15	27,2	2,98	H-16, H-17
16	21,6	1,10	
17	21,5	1,11	
18	32,6	0,89	H-3, H-19
19	21,9	0,97	
20	46,8	1,85 1,42	H-8



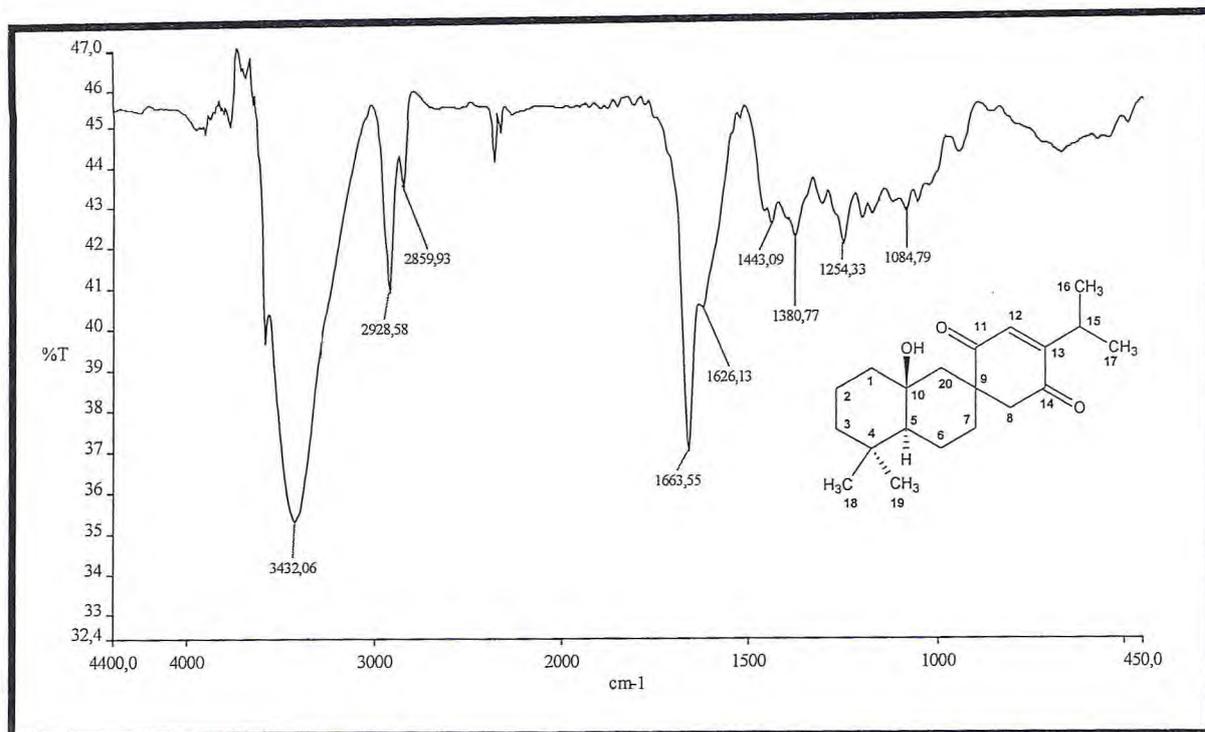


Figura 106 – Espectro de IV (KBr) de HM-9

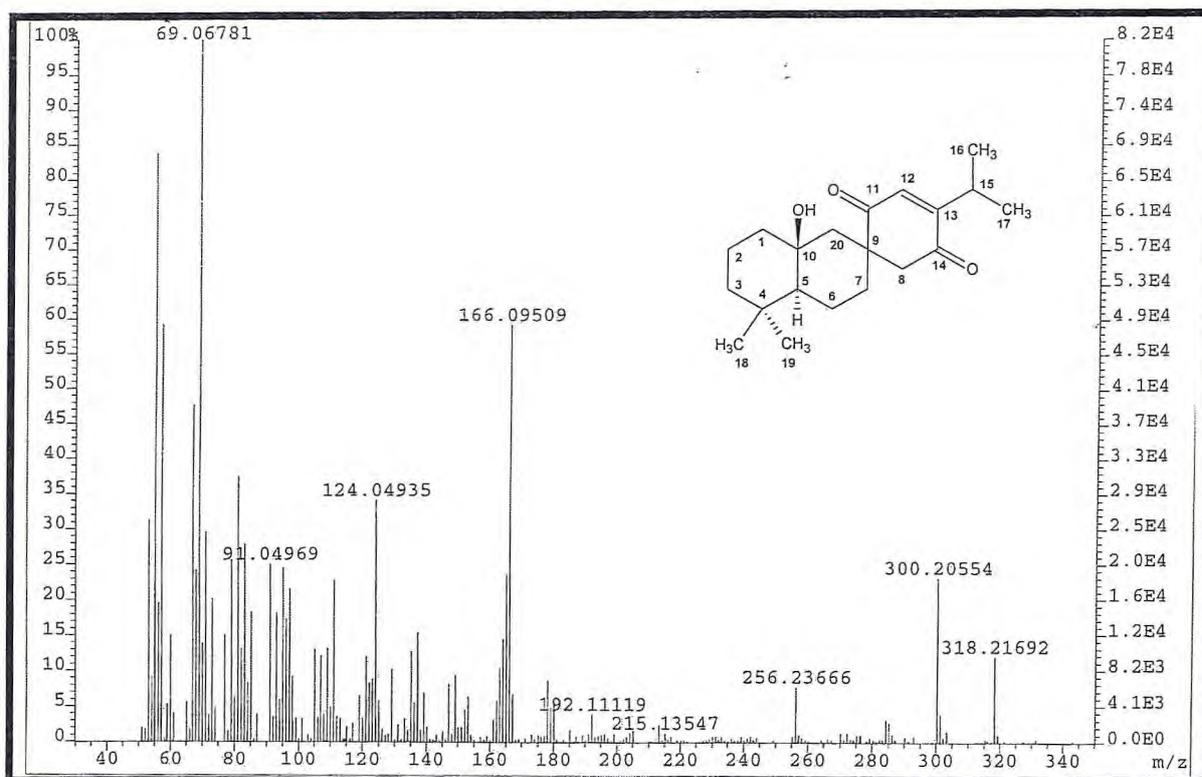


Figura 107 – Espectro de massa de HM-9

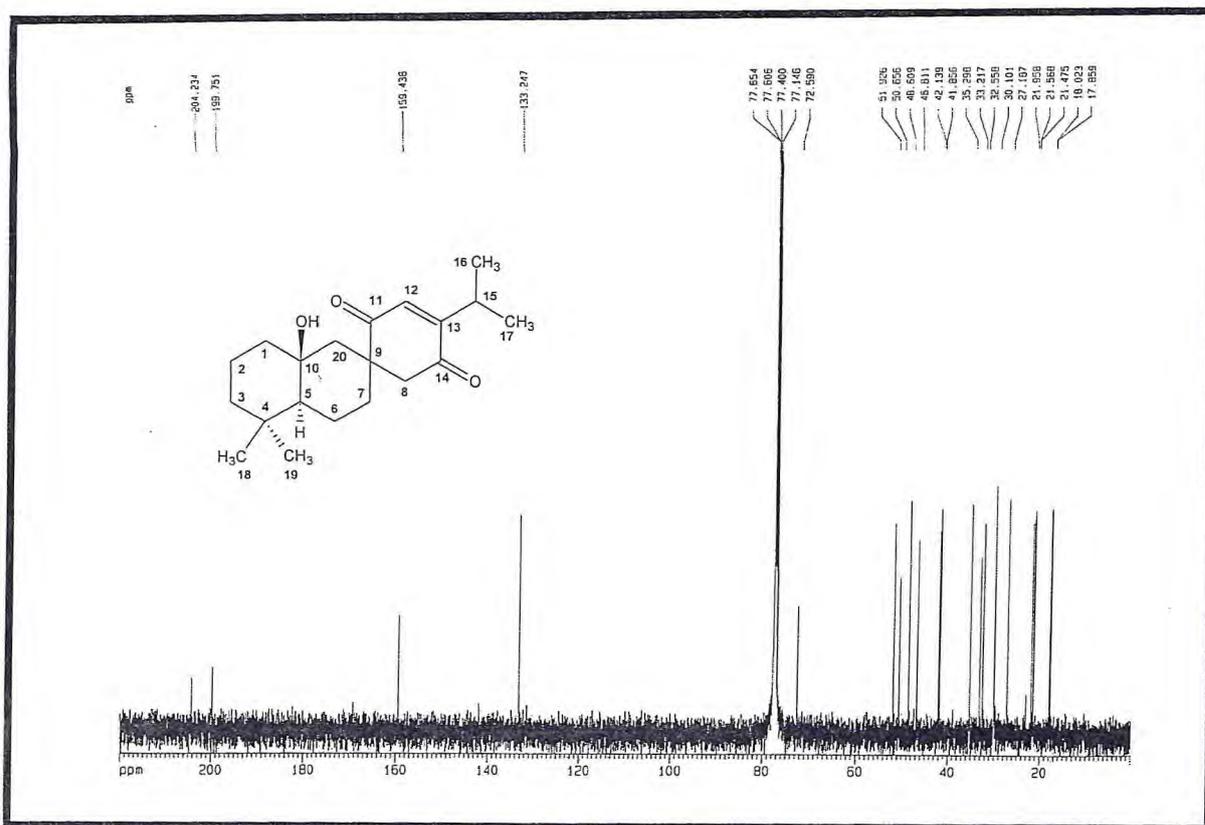


Figura 108 – Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, CDCl_3) de HM-9

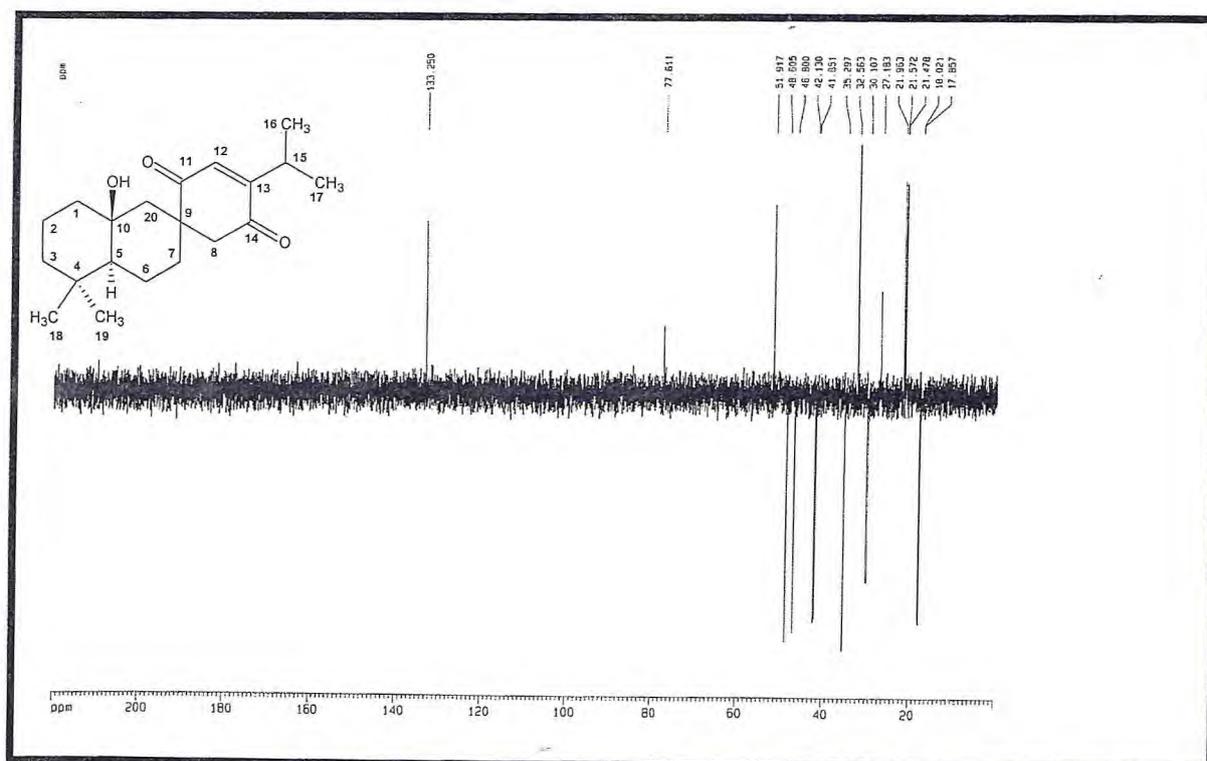


Figura 109 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) de HM-9

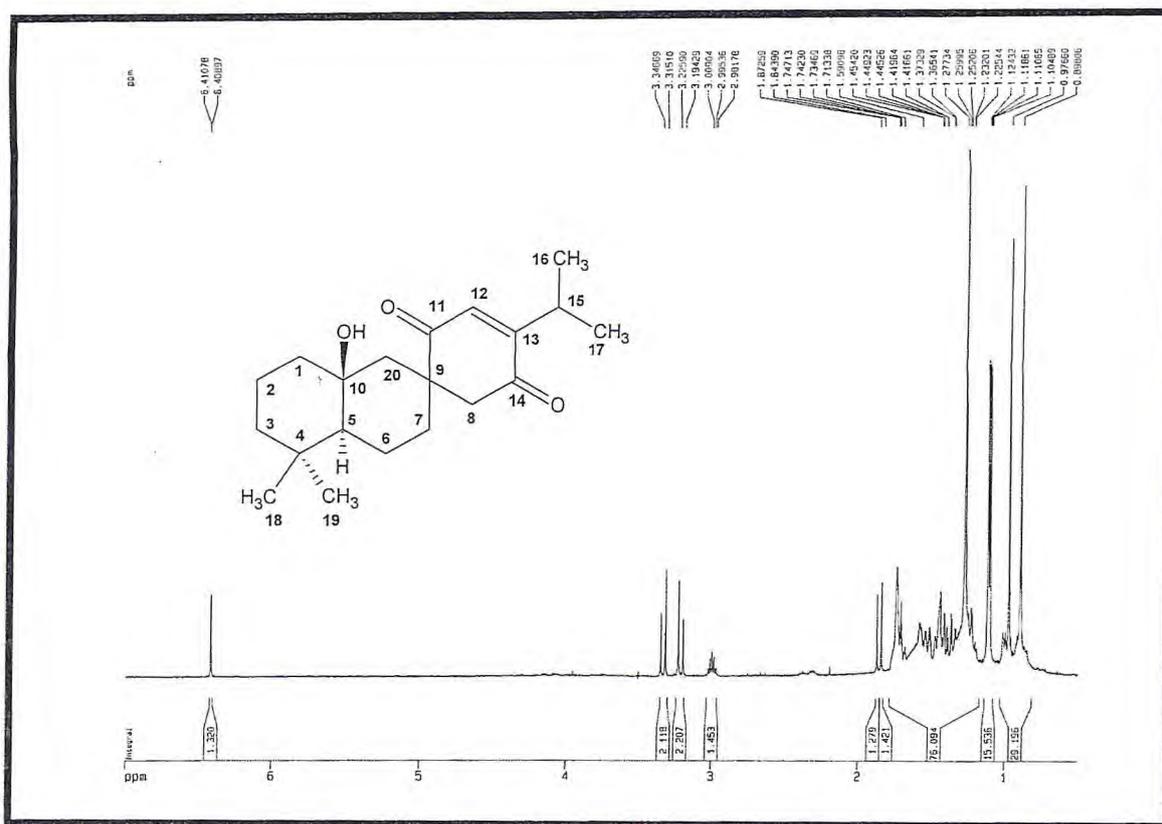


Figura 110 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HM-9

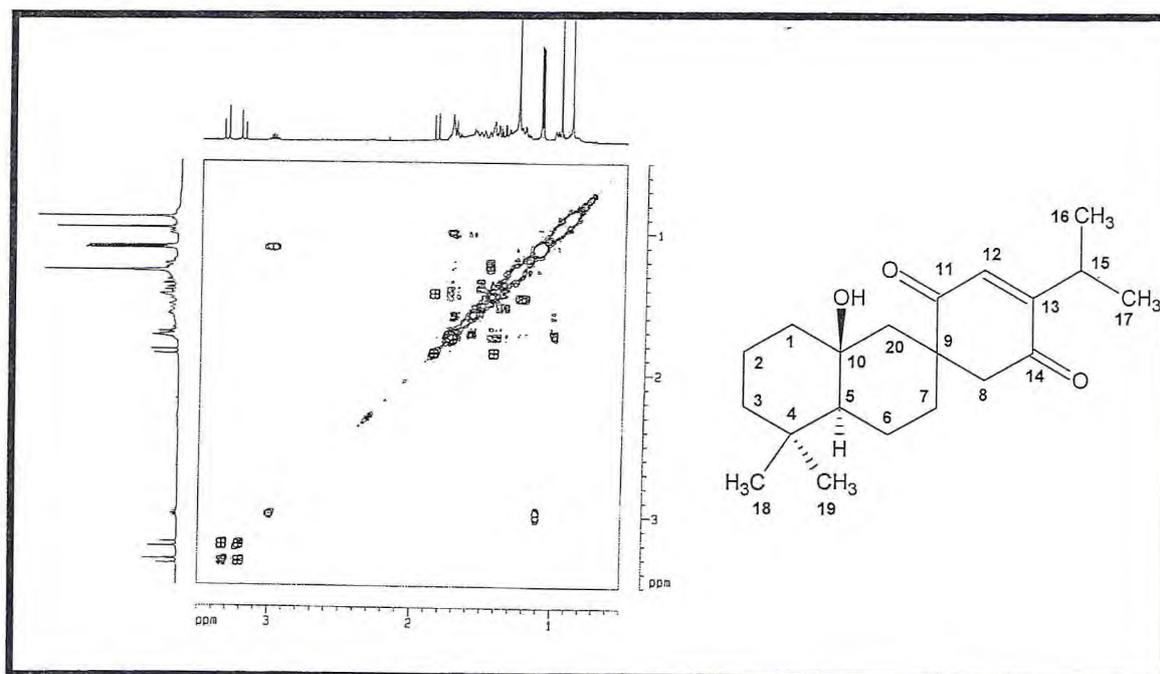


Figura 111 – Espectro de COSY (500 MHz, CDCl_3) de HM-9

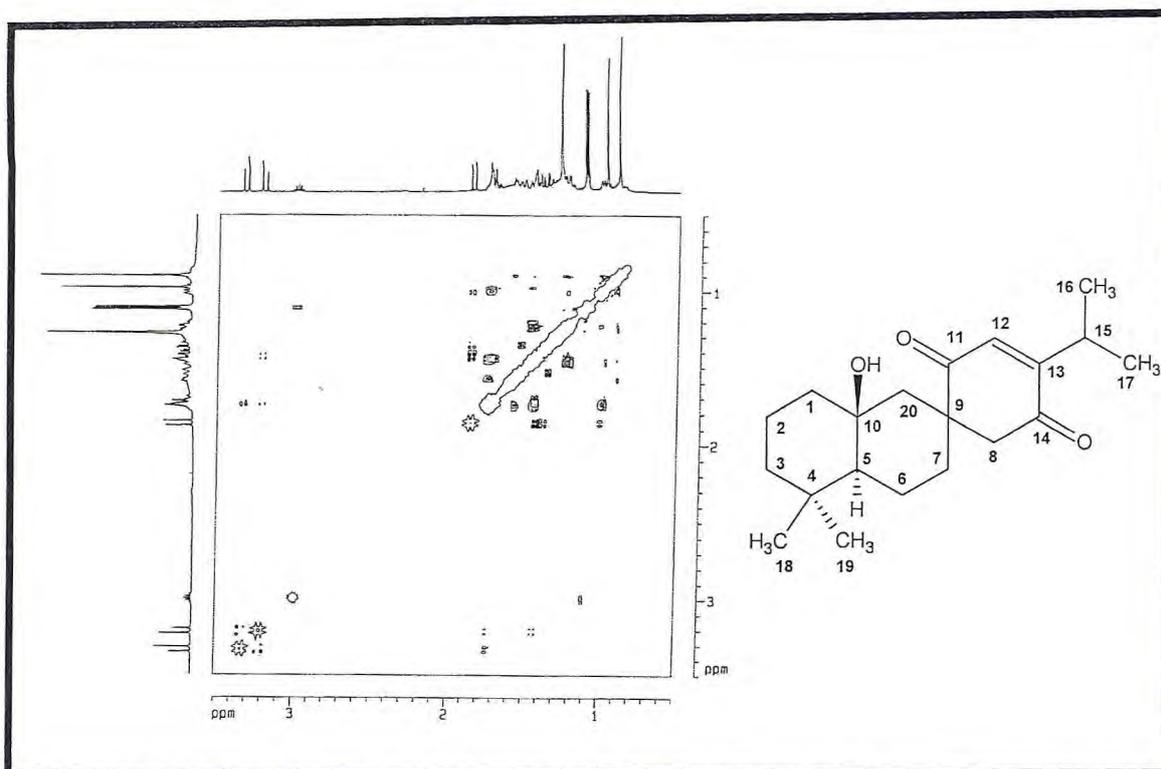


Figura 112 – Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl₃) de HM-9

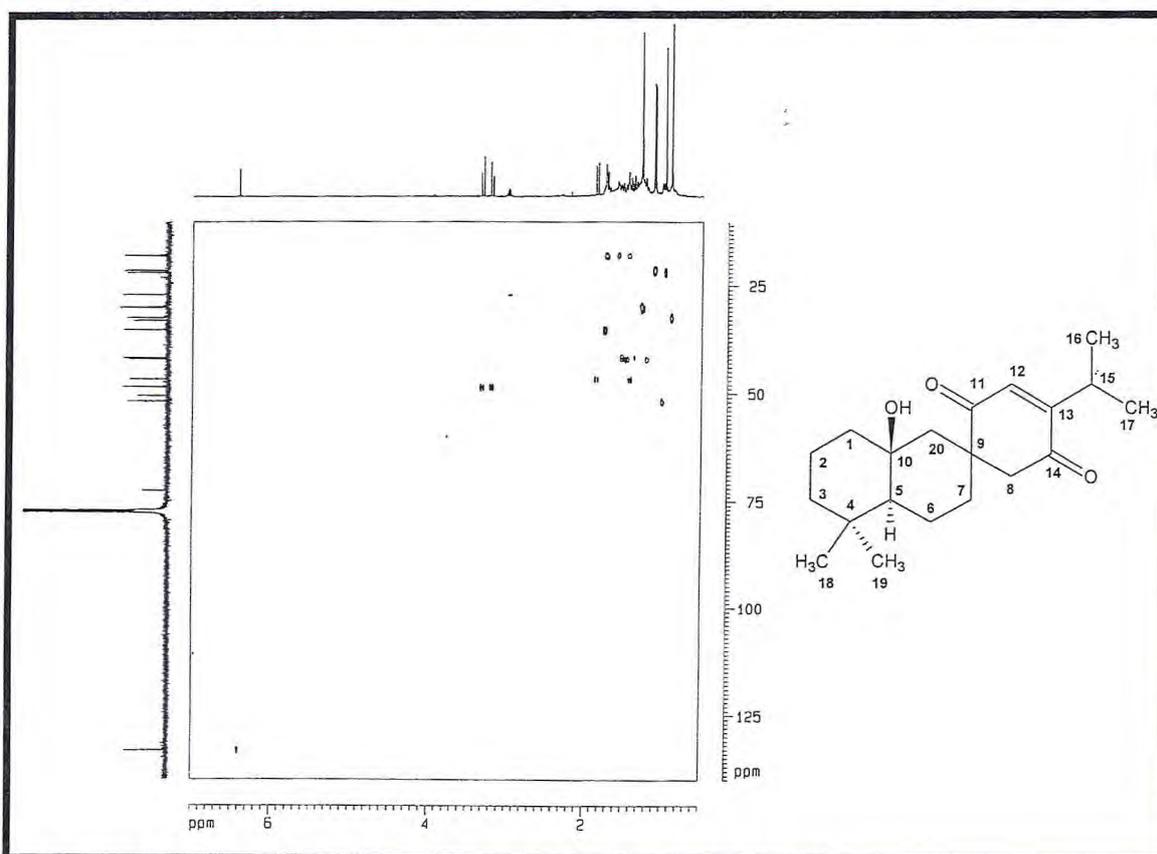


Figura 113 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HM-9

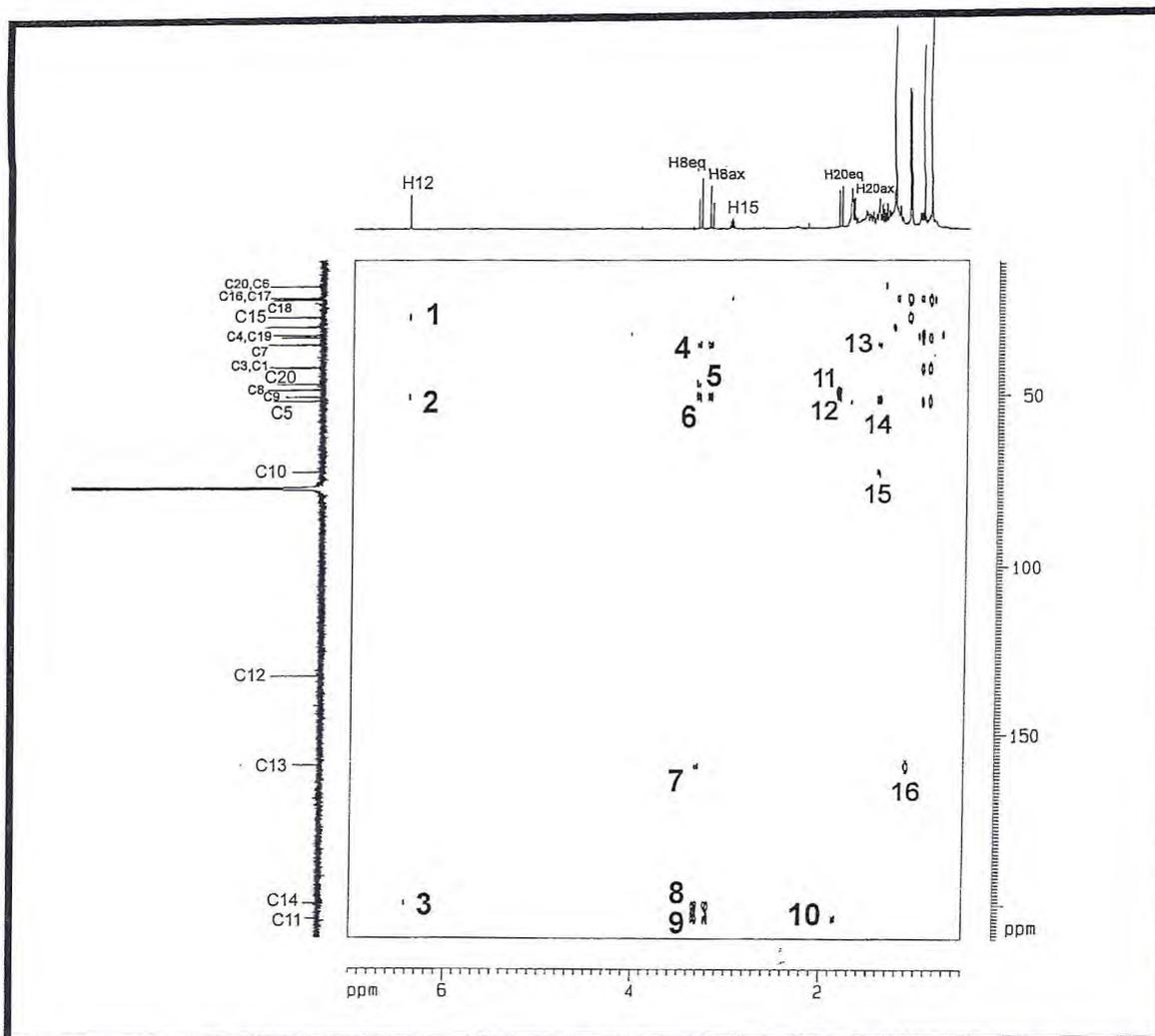
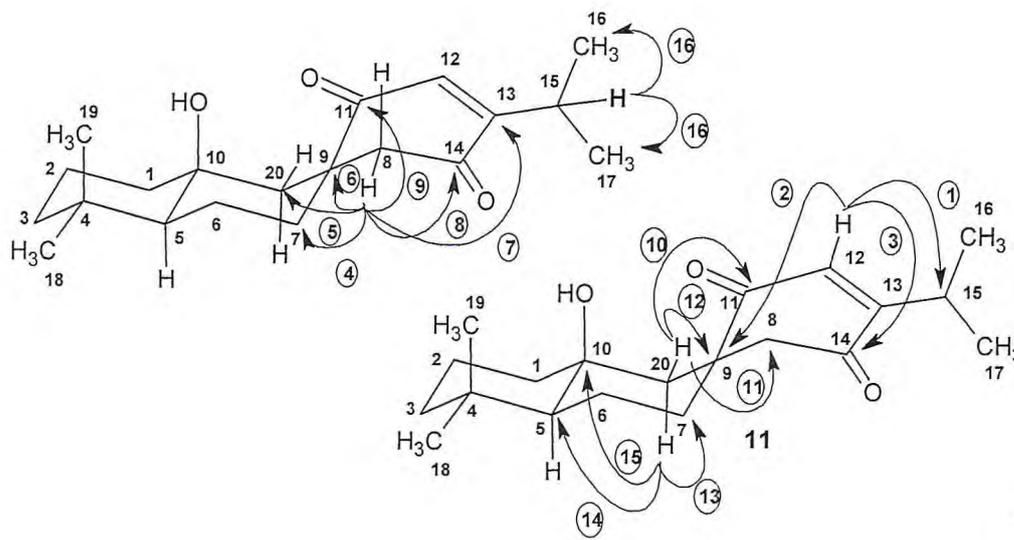


Figura 114 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HM-9



4.2.4. Determinação Estrutural de HM-10

Com a fração acetato de etila, HMER-A, obtida após coluna filtrante do extrato etanólico das raízes de *Hyptis martiusii*, foram realizadas sucessivas cromatografias em coluna, alternando com os tratamentos em adsorção em gel de sílica e exclusão em Sephadex, da qual foi isolado o composto denominado HM-10 que apresentou-se na forma de um sólido amorfo marron pf. 275,5-278,0 °C, $[\alpha]_D^{20} = -9$ (c. 0,05, MeOH).

O espectro na região do IV (**Fig. 115, p. 122**) de HM-10, permitiu a identificação de vibrações de deformação axial de O-H em 3445 cm^{-1} , bem como de C-O em 1040 cm^{-1} característico de álcoois, foram observadas ainda absorções de estiramento C=O em 1692 cm^{-1} característico de carboxila e de estiramento C-C alifático, em 2933 cm^{-1} .

A análise em conjunto dos espectros de RMN ^{13}C BB (125 MHz, CD_3OD) (**Fig. 117, p. 123**) e DEPT 135 ° (**Fig. 118, p. 123**) permitiu identificar, entre os vinte e oito carbonos observados, os carbonos não hidrogenados, metínicos, metilênicos e metílicos (**Tabela 20, p. 115**).

A quantidade de carbonos observada permite sugerir um esqueleto de triterpeno ou esteróide. Os sinais atribuídos a carbonos desblindados correspondem a dois carbonos olefínicos de dupla trissubstituída e um carbono carboxílico, além dos sinais em 79,1 e 66,2 ppm de carbonos carbinólicos e em 72,6 um carbono oxigenado não hidrogenado, ratificando a presença das funções observadas no espectro Infravermelho. Os demais sinais são referentes a carbonos não funcionalizados.

De acordo com a Tabela 20, os oito carbonos metilênicos, a presença de dois carbonos hidroximetínicos e um carbono olefínico de dupla trissubstituída, permitem enquadrar HM-10 no grupo dos triterpenos, a identificação da classe do triterpeno só foi possível após análise do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) (**Fig. 119, p. 124**) que ratifica a presença da dupla trissubstituída e dos carbonos oxigenados com os sinais em [5,31 (1H, t), 3,94 (1H, dt) e 3,33 ppm (1H, d)]. O mesmo espectro ainda registra a presença de pelo menos sete grupos metílicos através dos sinais em 0,80 (3H, s), 0,89 (3H, s); 0,93 (3H, d); 1,01 (6H, s); 1,18 (3H, s) e 1,37 ppm (3H, s), o que permite classificar o triterpeno na série ursano.

TABELA 20 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de HM-10 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH_2	CH_3
181,3	128,3	41,5	28,2
139,1	79,1	38,0	26,0
72,6	66,2	33,1	23,9
48,2	54,1	28,6	21,4
41,7	48,3	26,3	16,5
40,2	47,2	25,6	15,9
38,4	42,1	23,7	15,6
38,3		18,3	
8 C	7 CH	8 CH_2	7 CH_3
			$\text{C}_{30}\text{H}_{44}$
HO-C=O	HC=		
C=	2x(HC-OH)		
HO-C			
			$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$

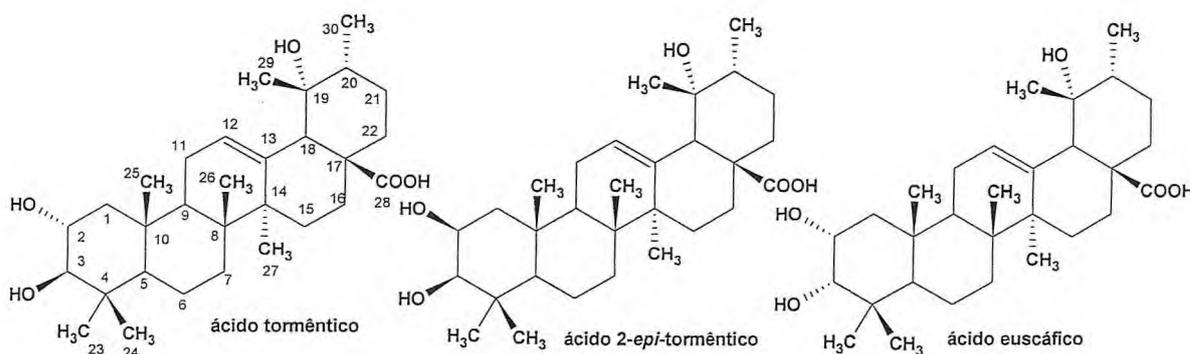
A fórmula molecular obtida após análise dos dados anteriores, $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$ (Tabela 20) concorda com o pico do íon molecular $m/z = 488$ observado no espectro de massa de HM-10 (Fig. 116, p. 122). O grau de insaturação da molécula foi calculado a partir da fórmula molecular e resultou em um índice de deficiência de hidrogênio igual a sete, que após subtração das insaturações referentes a carbonila e uma ligação dupla, restam ainda cinco que foram atribuídas a anéis, ratificando assim a estrutura de um triterpeno pentacíclico.

O espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear COSY de HM-10 (Fig. 120, p. 124) com gradiente de campo mostra claramente contornos da correlação de H-12 (5,31 ppm) com H-11 (2,04 ppm), de H-2 (3,94 ppm) com H-3 (1,33) e com os dois hidrogênios de C-1 (1,60 e 1,38 ppm) e dos hidrogênios do carbono-22 entre si (2,59 e 1,51 ppm) e com H-21 (1,80 e 1,03 ppm).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear HMQC de HM-10 (Fig. 121, p. 125) permitiu associar todos os hidrogênios a seus respectivos carbonos, enquanto que o espectro de RMN de correlação heteronuclear HMBC de HM-10 (Fig. 122, p. 126) exibiu contornos de acoplamento a três ligações dos hidrogênios metílicos com carbonos vizinhos como H-23 (1,01 ppm) com 79,1 (C-3), 48,3 (C-5) e 21,4 ppm

(C-24), H-25 (1,01 ppm) com 41,5 (C-1) e 48,3 ppm (C-5), H-26 (0,80 ppm) com 33,1 (C-7), 47,2 (C-9) e 41,7 ppm (C-14), H-27 (1,37 ppm) com 40,2 (C-8) e 139,1 ppm (C-13), H-29 (1,18 ppm) com 54,1 (C-18) e 42,1 ppm (C-20), e de H-30 com 72,6 (C-19) e 26,3 ppm (C-21), permitindo assim a atribuição inequívoca das metilas e conseqüentemente da maioria dos carbonos da molécula (**Tabela 24, p. 121**).

A comparação dos dados de RMN ^{13}C e ^1H obtidos para HM-10 com dados da literatura (AHMAD E RAHMAN, 1994) para os isômeros possíveis como os ácidos tormêntico, 2-*epi*-tormêntico e euscáfico (ácido 2,3,19 α -trihidroxiurs-12-en-28-óico), presentes nas Tabelas 21 e 22 respectivamente, permitiu que a dúvida sobre a configuração dos carbonos 2 e 3 fosse sanada.



Após comparação dos dados de RMN ^{13}C e considerando o deslocamento químico de C-5 que sofre proteção direta quando a hidroxila em C-3 encontra-se na posição *alfa*, a estrutura proposta para HM-10 foi do ácido 2 α ,3 α ,19 α -trihidroxiurs-12-en-28-óico, que de acordo com a análise anterior trata-se do ácido euscáfico, triterpeno ursano já isolado anteriormente de espécies da família Labiatae, entretanto é a primeira vez que é mencionado seu isolamento no gênero *Hyptis*.

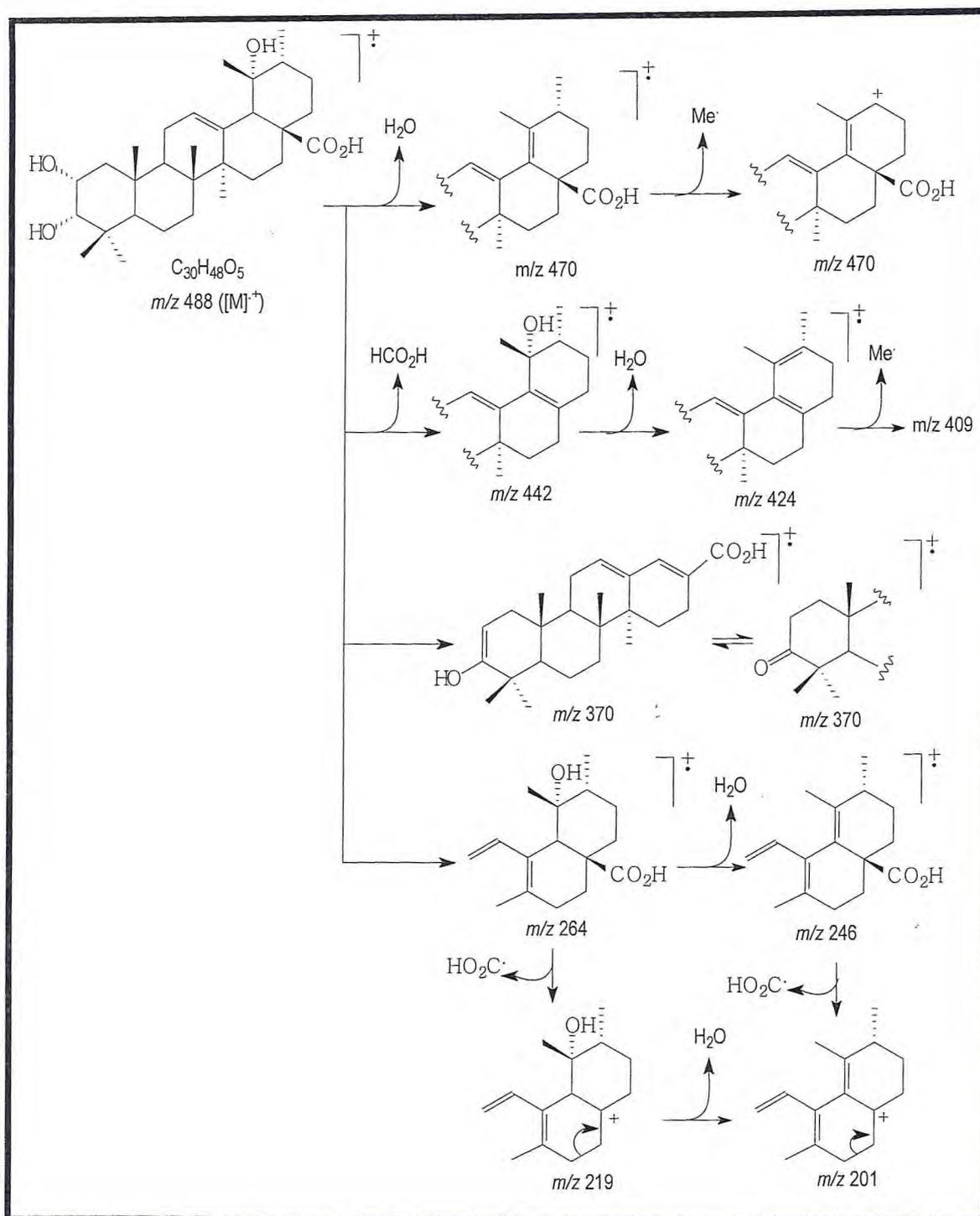
TABELA 21 - Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de HM-10 comparados com os valores RMN ^{13}C dos ácidos tormêntico, 2-*epi*-tormêntico e euscáfico (AHMAD E RAHMAN, 1994)

C	Ácido tormêntico (50 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	Acido 2- <i>epi</i> -tormêntico (22,5 MHz, CD_3OD)	Ácido euscáfico (90,56 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)	HM-10
1	46,8	46,3	41,4	41,5
2	68,9	73,0	65,2	66,2
3	83,8	80,5	78,3	79,1
4	39,1	38,7	37,8	38,3
5	55,4	57,6	47,7	48,3
6	18,4	20,2	17,7	18,3
7	32,5	35,1	32,5	33,1
8	39,9	40,0	39,6	40,2
9	47,2	45,0	46,6	47,2
10	36,9	43,6	37,7	38,4
11	23,7	25,7	23,1	23,7
12	129,1	130,4	127,0	128,3
13	138,0	140,7	138,9	139,1
14	41,1	42,0	41,8	41,7
15	28,1	30,3	28,2	38,0
16	25,5	27,5	25,4	28,6
17	47,9	48,0	47,3	48,2
18	53,2	55,9	53,6	54,1
19	73,1	74,4	71,8	72,6
20	41,1	45,0	41,2	42,1
21	26,0	28,1	26,0	26,3
22	37,4	39,8	37,5	25,6
23	28,7	31,1	28,4	28,2
24	17,0	18,4	21,4	21,4
25	17,0	17,7	15,8	15,9
26	17,0	18,7	16,3	16,5
27	24,5	25,7	23,7	23,9
28	179,0	183,0	179,7	181,3
29	27,4	27,9	26,2	26,0
30	16,1	17,3	15,7	15,6

TABELA 22 - Dados de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de HM-10 comparados com os valores RMN ^1H (300, 360 MHz, respectivamente em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) dos ácidos tormêntico e euscáfico (AHMAD E RAHMAN, 1994)

H	Ácido tormêntico	Ácido euscáfico	HM-10
2	4,12 (1H, dt, $J=3,8$; 9,3 Hz)	4,30 (1H, ddd, $J=3,0$; 4,1; 10,3 Hz)	3,94 (1H, dt, $J=3,3$; 11,0 Hz)
3	3,40 (1H, d, $J=9,3$ Hz)	3,76 (1H, d, $J=3,0$)	3,33 (1H, d, $J=3,3$)
12	5,60 (1H, t, $J=3,5$ Hz)	5,58 (1H, t, $J=3,2$ Hz)	5,31 (1H, t, $J=3,2$ Hz)
18	3,07 (1H, s)	3,40 (1H, s)	2,52 (1H, s)
23	1,28 (3H, s)	0,90 (3H, s)	1,01 (3H, s)
24	1,10 (3H, s)	1,26 (3H, s)	0,89 (3H, s)
25	1,02 (3H, s)	0,98 (3H, s)	1,01 (3H, s)
26	1,13 (3H, s)	1,11 (3H, s)	0,80 (3H, s)
27	1,73 (3H, s)	1,64 (3H, s)	1,37 (3H, s)
29	1,45 (3H, s)	1,42 (3H, s)	1,18 (3H, s)
30	1,13 (3H, d, $J=6,1$ Hz)	1,11 (3H, d, $J=6,5$ Hz)	0,93 (3H, d, $J=7,0$ Hz)

Apesar do ácido tormêntico ser mais comum em espécies da família Labiatae existe uma diferença no valor da constante de acoplamento de H-3 ($J=3,3$ Hz) de HM-10 com H-3 ($J=9,3$ Hz) do ácido tormêntico, que parece estar acoplando axial-equatorial com H-2, enquanto que em HM-10, este acoplamento é equatorial-equatorial, permitindo ratificar que ao invés do ácido tormêntico a estrutura é de um dos diastereoisômeros deste, no caso o $2\alpha,3\alpha,19\alpha$ -trihidroxiurs-12-en-28-óico, ácido euscáfico.



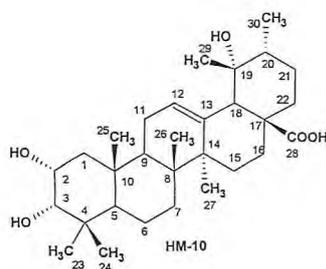
Quadro 8 – Possíveis caminhos para fragmentação de HM-10 no espectrômetro de massa

TABELA 23 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-10 (HMQC)

	DEPT	¹ H/HMQC	
181,3	C(=O)		
139,1	=C		
128,3	=CH	5,31	t (<i>J</i> =3,2 Hz)
79,1	CH(-O)	3,33	m
72,6	C(-O)		
66,2	CH(-O)	3,94	dt (<i>J</i> =11,9 e 3,2 Hz)
54,1	CH	2,52	s
48,3	CH	1,30	m
48,2	C		
47,2	CH	1,87	m
42,1	CH	1,39	m
41,7	C		
41,5	CH ₂	1,60	m
		1,38	m
40,2	C		
38,4	C		
38,3	C		
38,0	CH ₂	1,73	m
		1,65	m
33,1	CH ₂	1,63	m
		1,38	m
28,6	CH ₂	1,83	m
		1,70	m
28,2	CH ₃	1,01	s
26,3	CH ₂	1,80	m
		1,03	m
26,0	CH ₃	1,18	s
25,6	CH ₂	2,59	td (<i>J</i> =13,1 e 4,5 Hz)
		1,51	m
23,9	CH ₃	1,37	s
23,7	CH ₂	2,04	m
		1,33	m
21,4	CH ₃	0,89	s
18,3	CH ₂	1,51	m
		1,41	m
16,5	CH ₃	0,80	s
15,9	CH ₃	1,01	s
15,6	CH ₃	0,93	d (<i>J</i> =7,0 Hz)

TABELA 24 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HM-10 (HMBC)

#C	¹³ C BB	HMQC	HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	41,5	1,60 1,38		H-3, H-25
2	66,2	3,94	H-3	
3	79,1	3,33		H-23
4	38,3		H-23	
5	48,3	1,30		H-3, H-23, H-25
6	18,3	1,51 1,41		
7	33,1	1,63 1,38		H-26
8	40,2			H-27
9	47,2	1,87		H-26
10	38,4		H-25	
11	23,7	2,04 1,33	H-12	
12	128,3	5,31		H-22
13	139,1		H-22	H-27
14	41,7		H-27	H-12, H-22, H-26
15	38,0	1,73 1,66		
16	28,6	1,83 1,70		H-18
17	48,2		H-18, H-22	
18	54,1	2,59		H-12, H-29
19	72,6		H-22, H-29	H-30
20	42,1	1,39		H-29
21	26,3	1,80 1,03		H-30
22	25,6	2,52 1,51		
23	28,2	1,01		
24	21,4	0,89		H-23
25	15,9	1,01		
26	16,5	0,80		
27	23,9	1,37		
28	181,3			H-18, H-22
29	26,0	1,18		
30	15,6	0,93		



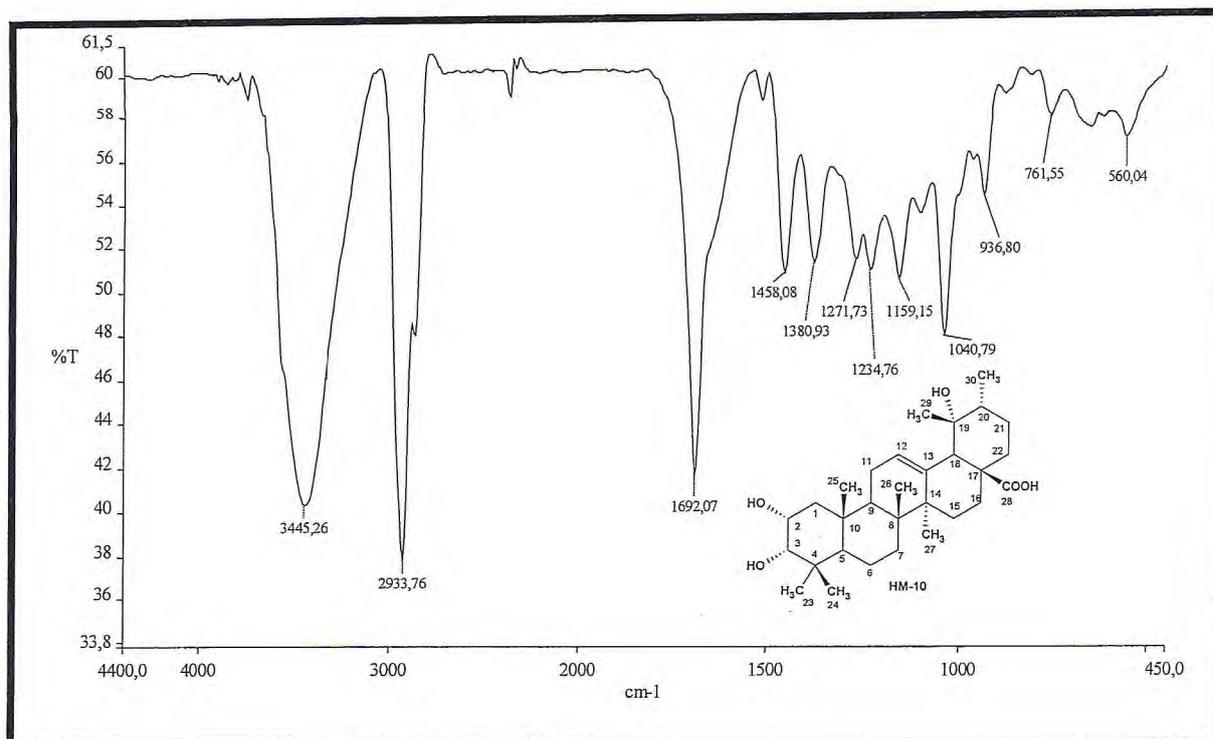


Figura 115 – Espectro de IV (KBr) de HM-10

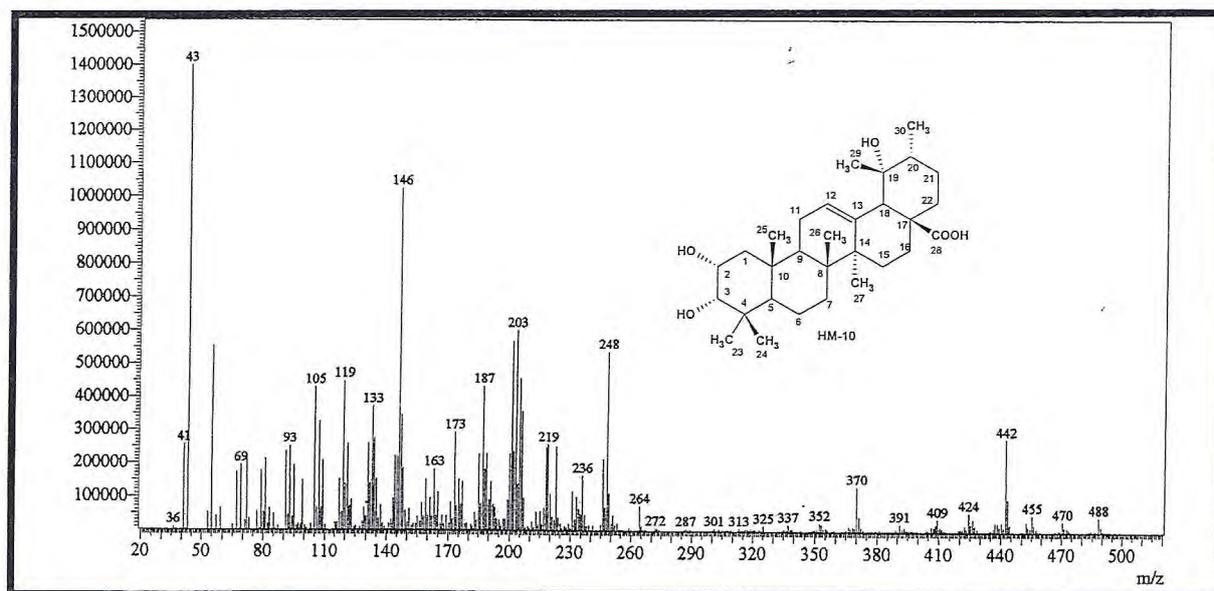


Figura 116 – Espectro de massa de HM-10

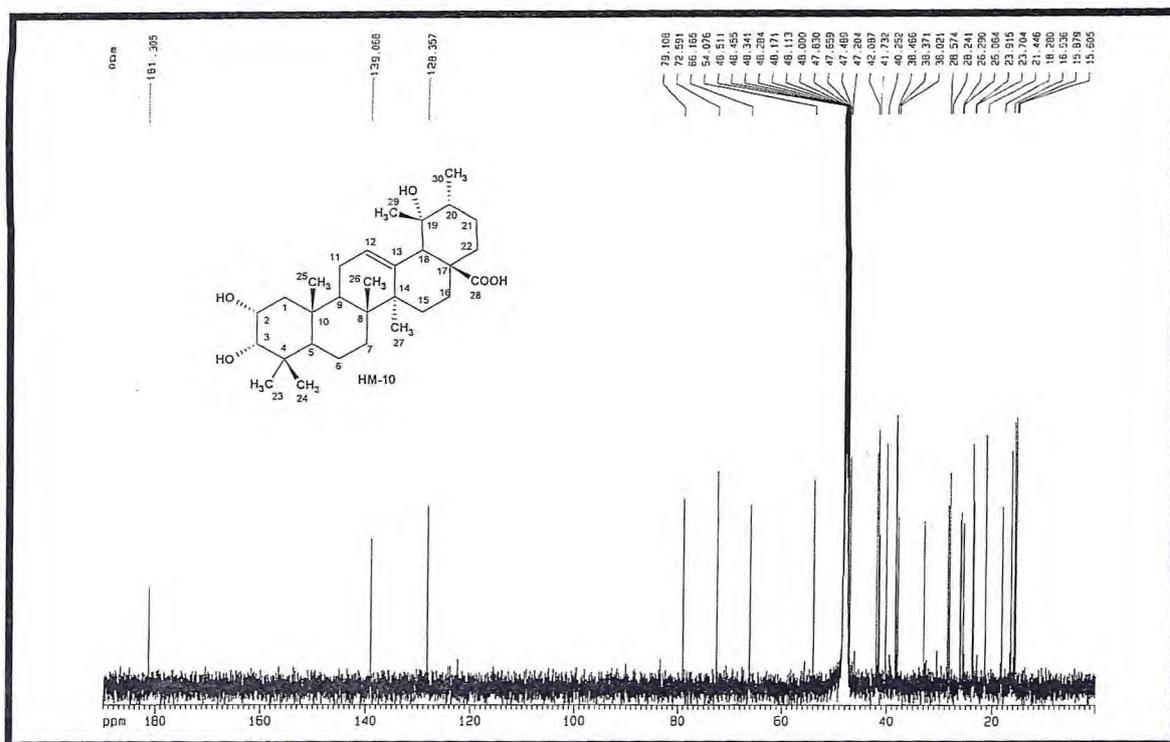


Figura 117 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) BB de HM-10

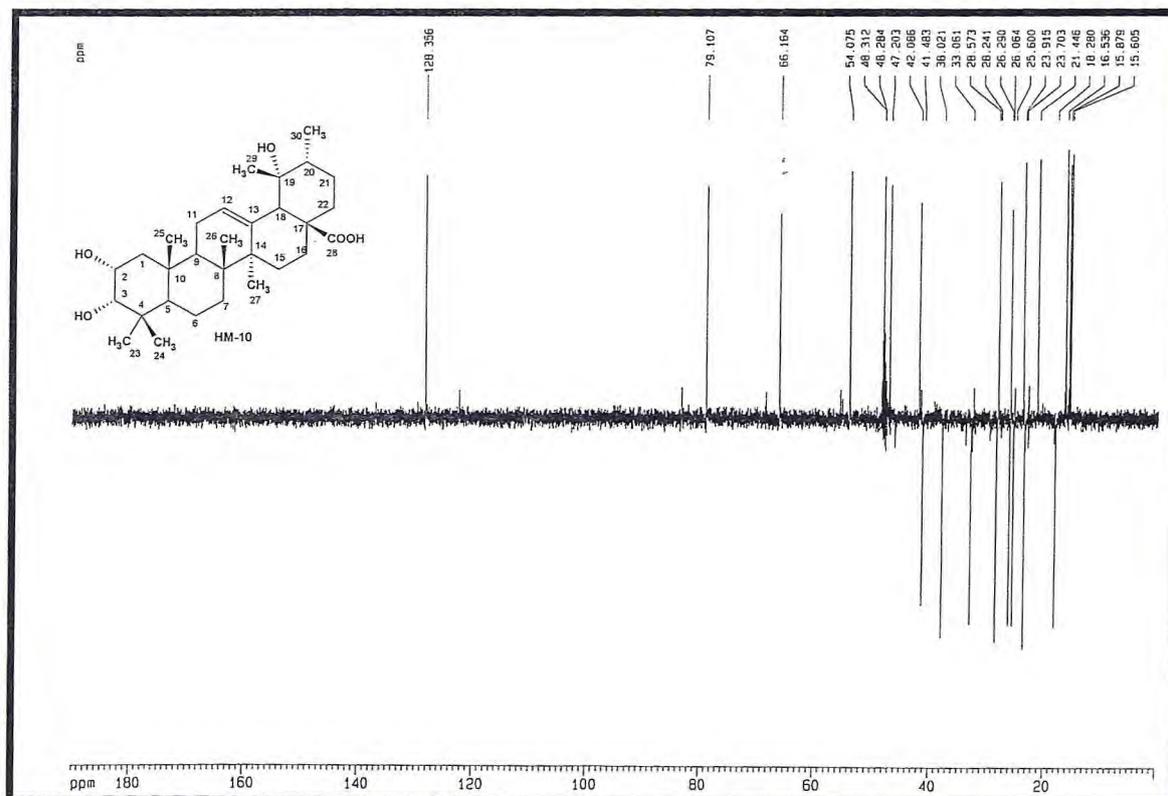


Figura 118 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CD_3OD) de HM-10

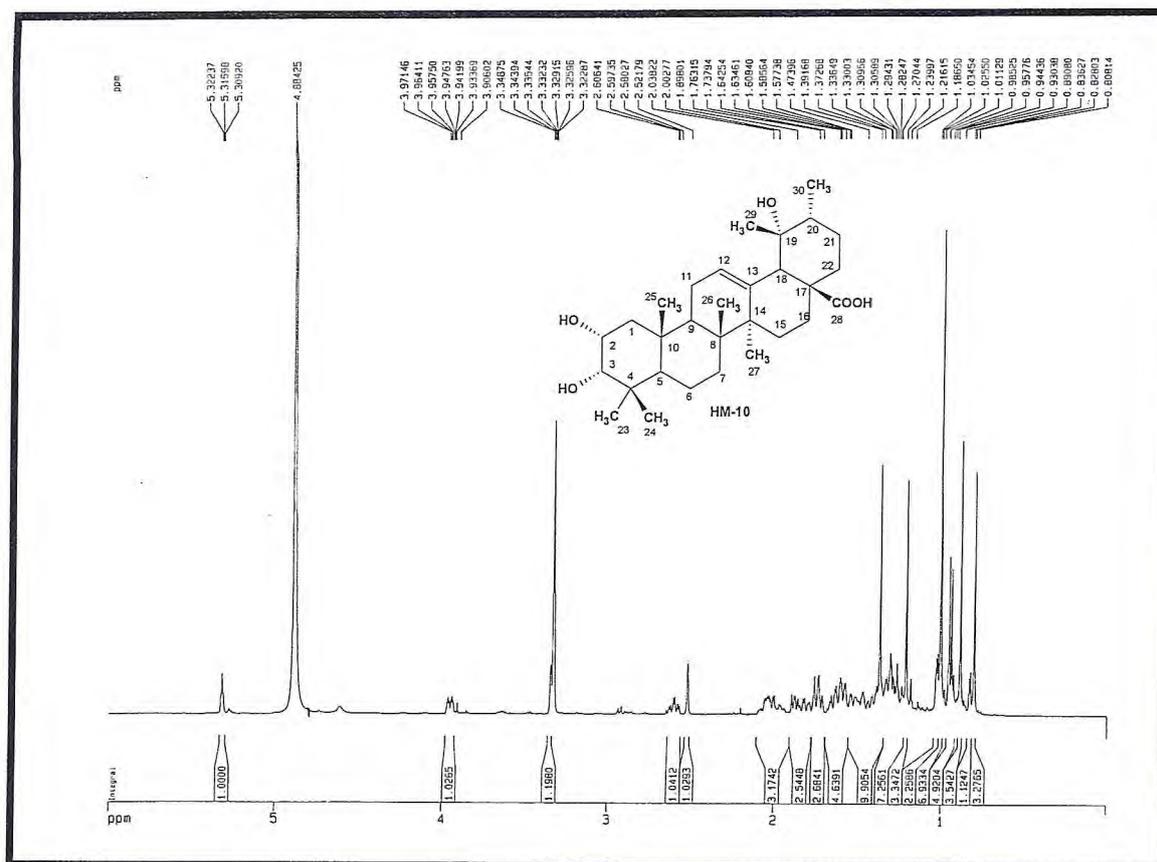


Figura 119 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de HM-10

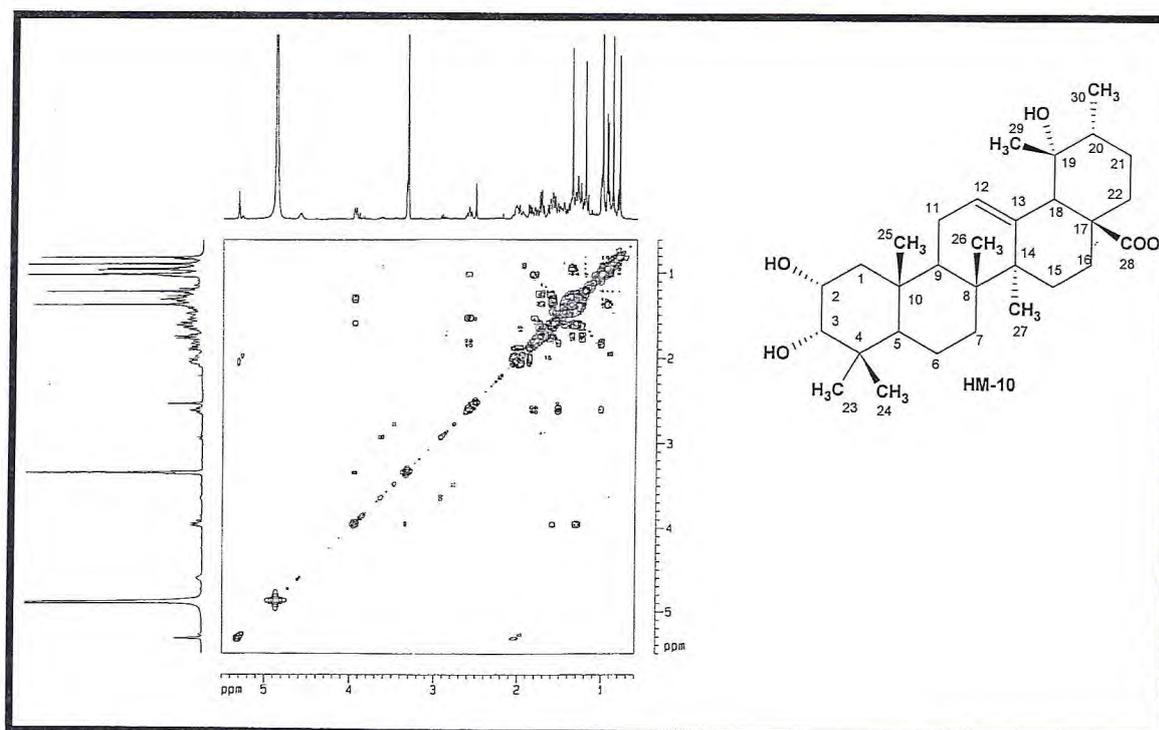


Figura 120 – Espectro de COSY (500 MHz, CD_3OD) de HM-10

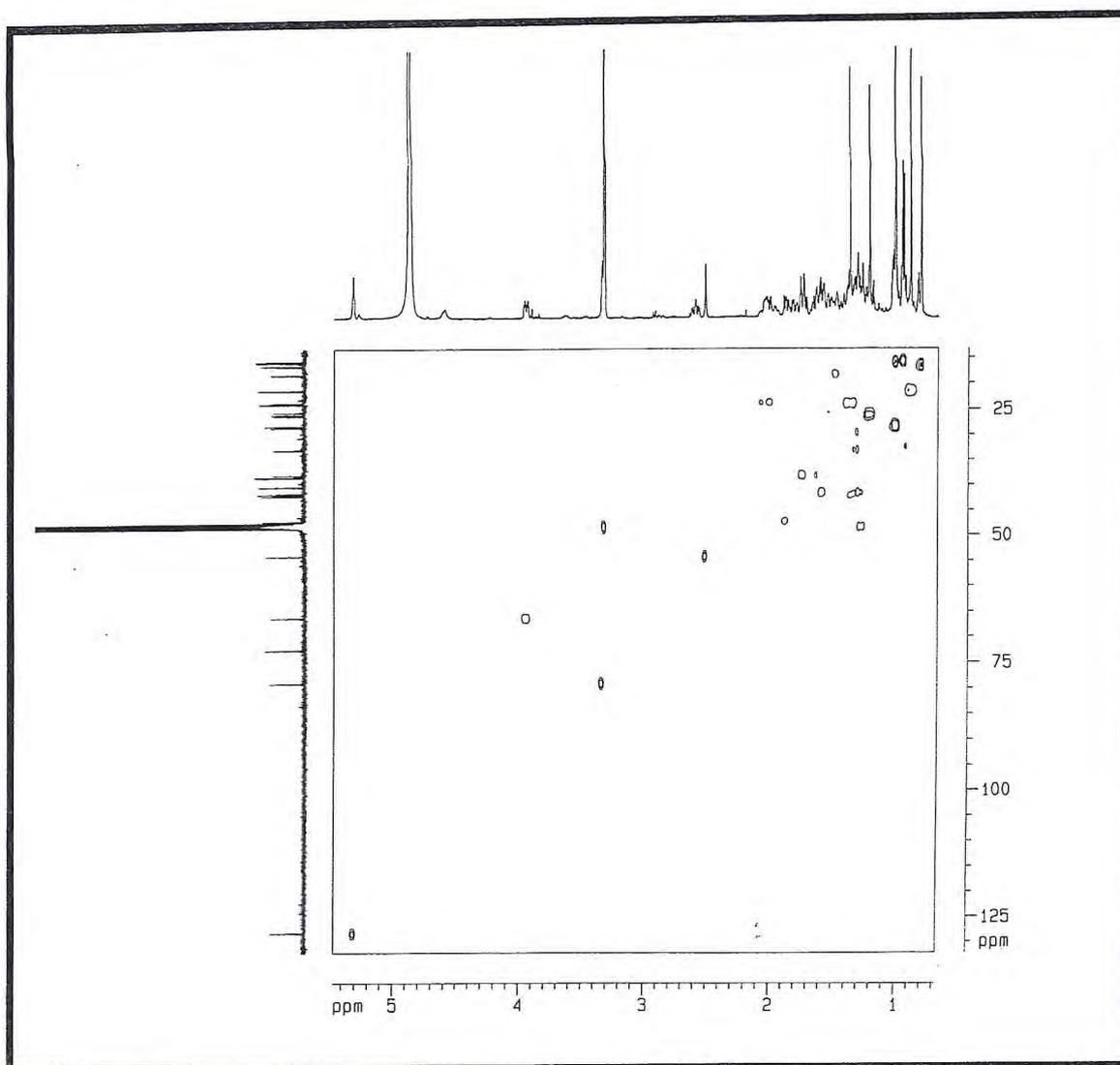
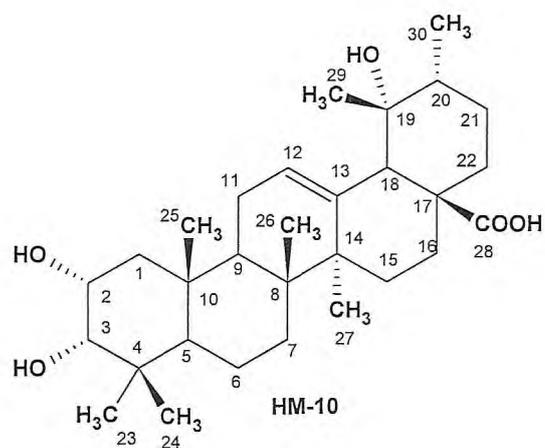


Figura 121 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CD₃OD) de HM-10



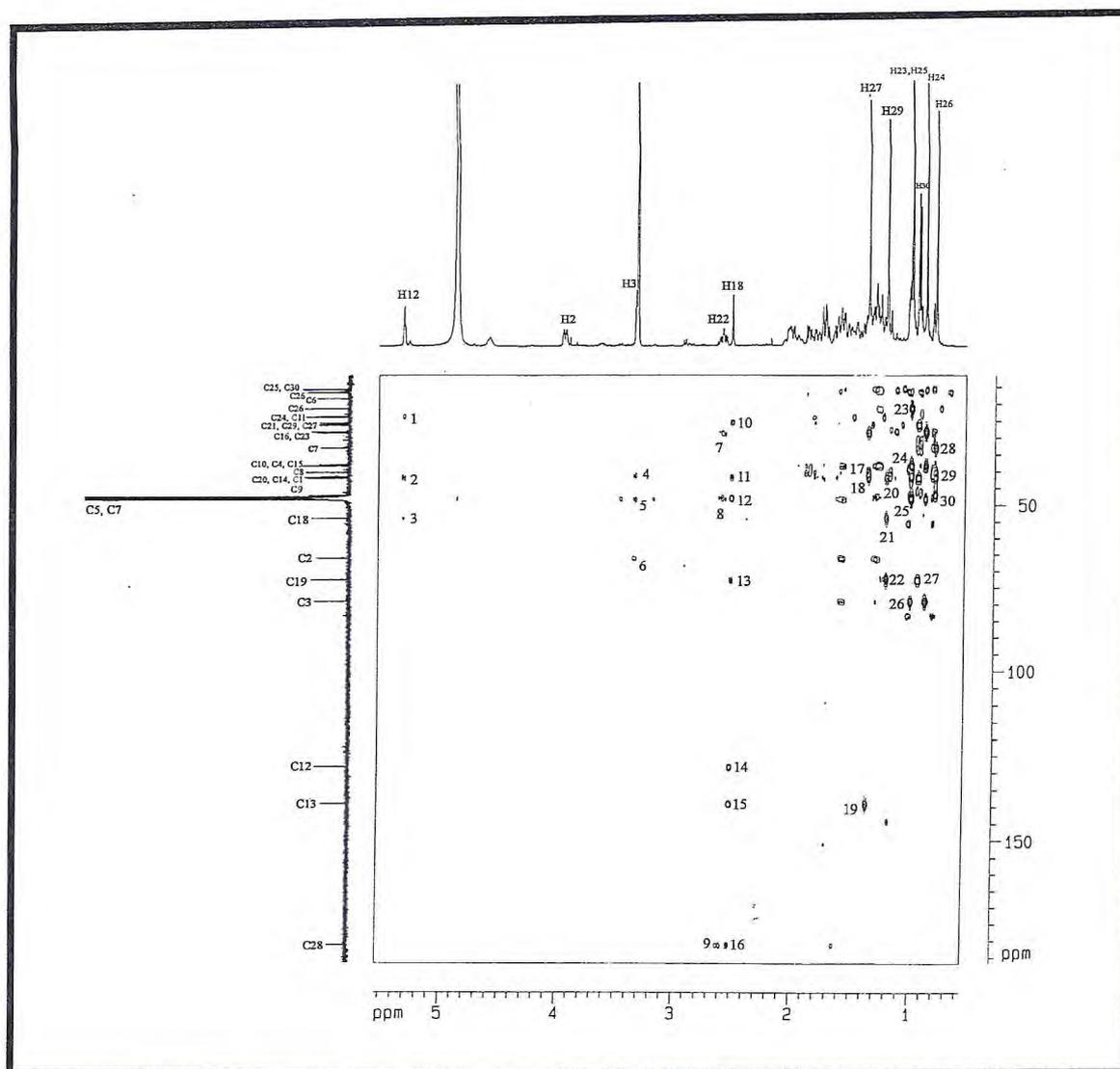
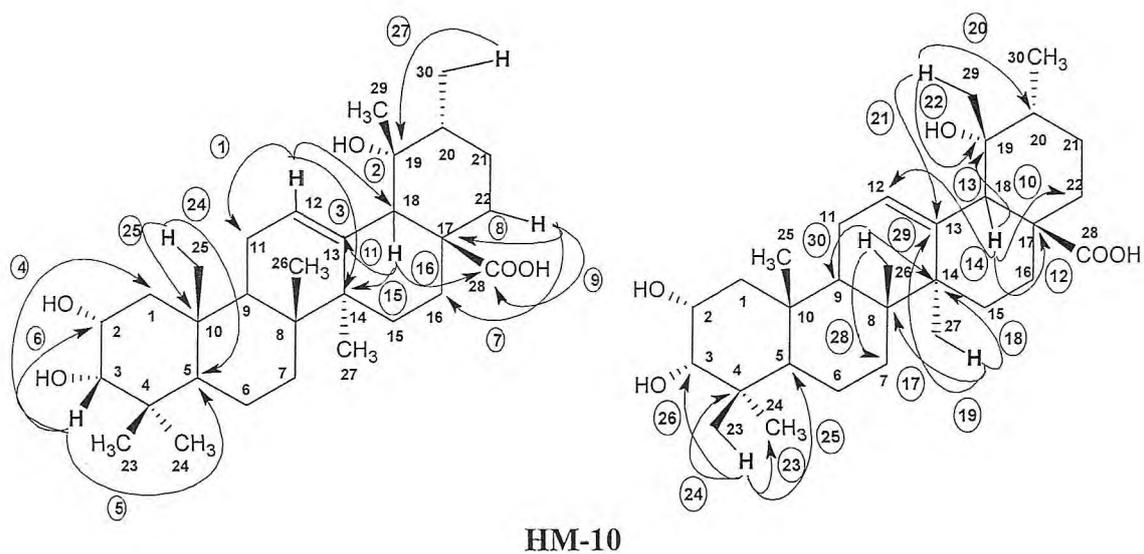


Figura 122 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CD₃OD) de HM-10



4.2.5. Determinação Estrutural de HM-11

Durante o fracionamento cromatográfico da fração clorofórmica do extrato hexânico das raízes de *Hyptis martiusii*, obteve-se a fração, homogênea em CCD, denominada HM-11 na forma de cristais aciculares incolores.

Em seu espectro de absorção na região do IV (**Fig. 123, p. 130**) apresentou uma banda em 3432 cm^{-1} típica de estiramento O-H de hidroxila; uma absorção em 2936 cm^{-1} característica de estiramento C-H de carbono sp^3 , duas bandas pouco intensas em aproximadamente 1655 cm^{-1} condizentes com estiramento C-H de carbonos sp^2 , além de uma banda em 1057 cm^{-1} característica de estiramento C-O.

No espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) (**Fig. 124, p. 130**) de HM-11 foram observados sinais de hidrogênios olefínicos na região de 5,40 e 5,05 e 5,20 ppm, um multipeto em 3,58 ppm característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado e sinais característicos de hidrogênios terpênicos ou esteroidais foram observados entre 0,70 e 2,40 ppm. A integração dos sinais foi um indício da presença de mais de uma substância.

O espectro de RMN ^{13}C BB (75 MHz, CDCl_3) (**Fig. 125, p. 131**) de HM-11 exhibe pelo menos 33 linhas espectrais, das quais quatro foram compatíveis com carbonos olefínicos (141,0; 138,5; 129,5 e 121,9 ppm) e o sinal em 72,0 ppm foi atribuído a um carbono carbinólico. As demais absorções entre 12 e 57 ppm foram relacionadas a carbonos alifáticos, metínicos, metilênicos, metílicos e não hidrogenados.

Dentre os sinais observados no espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (**Fig. 126, p. 131**) de HM-11 constatou-se que as absorções em 138,5; 129,5; 121,9 e 72,0 ppm eram referentes a carbonos monohidrogenados e por diferença que a absorção em 141,0 ppm era de carbono não hidrogenado, caracterizando a presença do esteróide estigmasterol. Ainda neste espectro, os sinais para carbonos metilênicos em 34,1 (C-22) e 26,3 (C-23) ppm, além de um metínico em 46,1 (C-24) ppm, são característicos do esteróide sitosterol, cuja a diferença estrutural em relação ao estigmasterol é a ausência de dupla ligação entre os carbonos C-22 e C-23. A existência de oito carbonos metílicos em 20,0; 19,6; 19,2; 19,0; 12,4; 12,3; 12,2 e 12,1 ppm reforçou a idéia proposta inicialmente de que se tratava de uma mistura de esteróides neste caso sitosterol (67%) e estigmasterol (33%) numa relação de praticamente 2:1 (cálculo realizado a partir dos dados de integração de área obtidos no espectro de RMN ^1H , para os sinais dos hidrogênios olefínicos em 5,40 e 5,20 ppm).

A configuração do carbono carbinólico, considerando aspectos biogênicos da *classe dos esteróides*, se dá no carbono 3 em posição *beta*. A comparação dos dados espectroscópicos de carbono-13 de HM-11 (**Tabela 25**) com dados da literatura do sitosterol e estigmasterol (ARAGÃO, 1990) confirmam a substância como sendo uma mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol, comumente encontrados em plantas superiores, e cujo isolamento a partir de *H. martiusii* é descrito pela primeira vez neste trabalho.

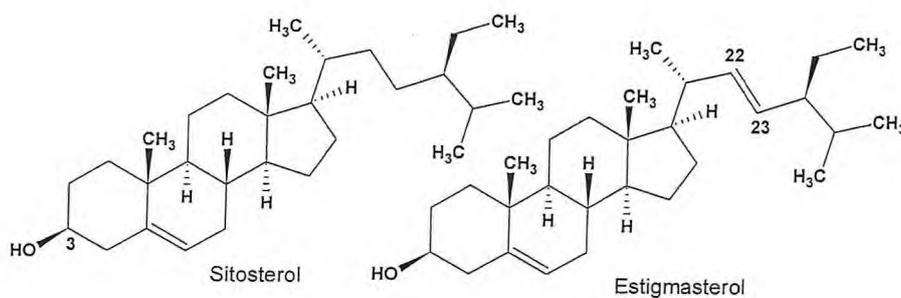
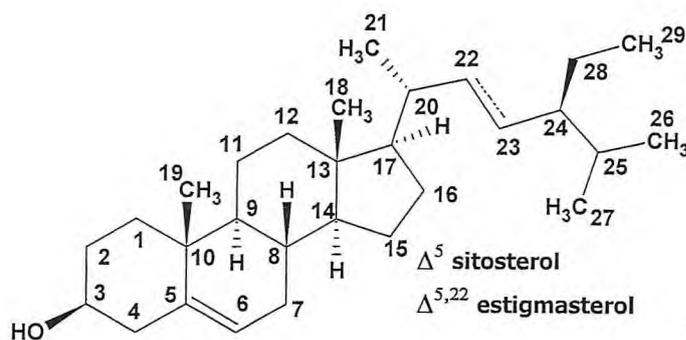


TABELA 25 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HM-11 comparados com os valores da literatura para o sitosterol e estigmasterol (ARAGÃO, 1990)

C	Sitosterol	HM-11	Estigmasterol
1	37,2	37,5; 37,5	37,4
2	31,6	31,9; 31,9	31,7
3	71,7	72,0; 72,0	74,1
4	38,9	40,0; 40,0	36,8
5	140,7	141,0; 141,0	139,8
6	121,6	121,9; 121,9	122,8
7	31,8	29,4; 29,4	32,0
8	31,8	32,1; 32,1	32,0
9	50,1	50,4; 50,4	50,3
10	36,4	36,7; 36,7	36,7
11	21,1	21,3; 21,3	21,1
12	39,7	42,5; 42,5	39,8
13	42,3	42,6; 42,6	42,3
14	56,7	57,1; 57,1	56,9
15	24,2	24,5; 24,5	24,5
16	28,1	28,4; 28,4	28,9
17	56,1	56,3; 56,3	56,1
18	11,9	12,1; 12,1	12,1
19	19,3	19,2; 19,2	19,3
20	36,0	36,3; 36,3	40,6
21	21,1	20,0; 20,0	21,1
22	33,9	34,2; 138,5	138,5
23	26,1	26,3; 129,5	129,5
24	45,8	46,1; 51,4	51,4
25	29,1	29,9; 29,9	32,0
26	19,6	19,0; 19,0	19,0
27	18,9	19,6; 19,6	21,1
28	23,0	25,6; 25,6	25,5
29	11,9	12,2; 12,2	12,2



HM-11

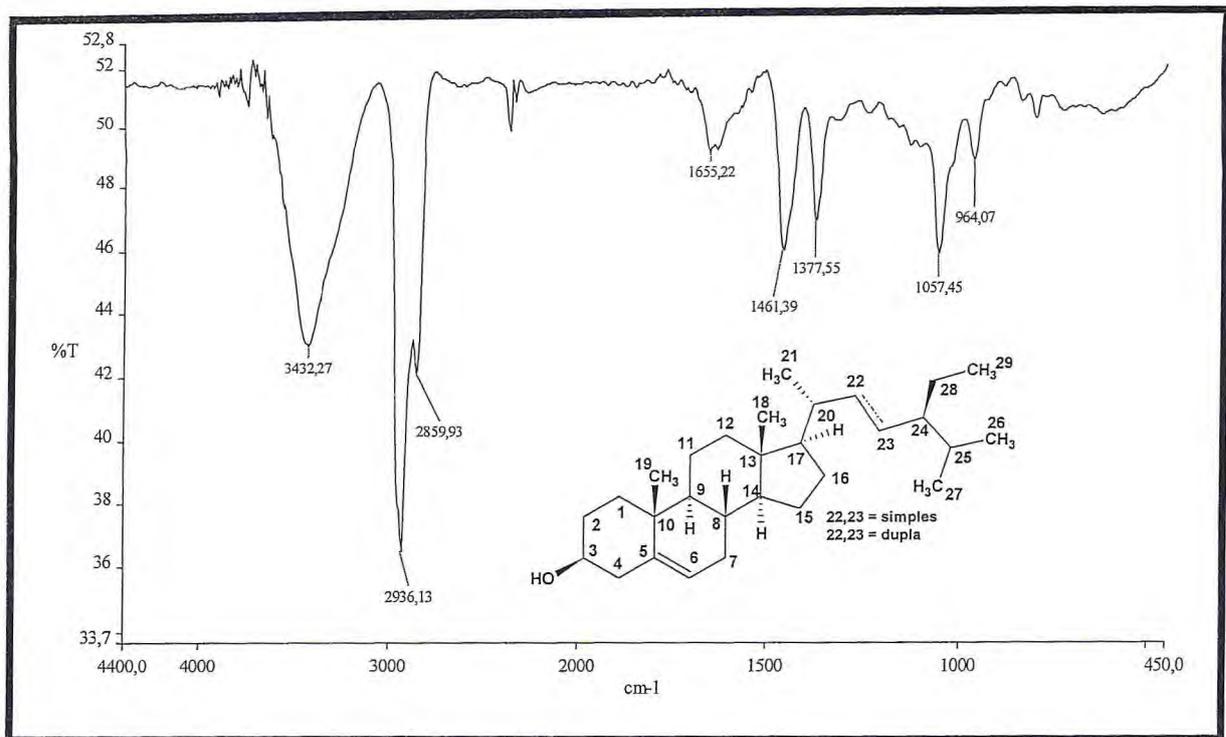


Figura 123 – Espectro de IV (KBr) de HM-11

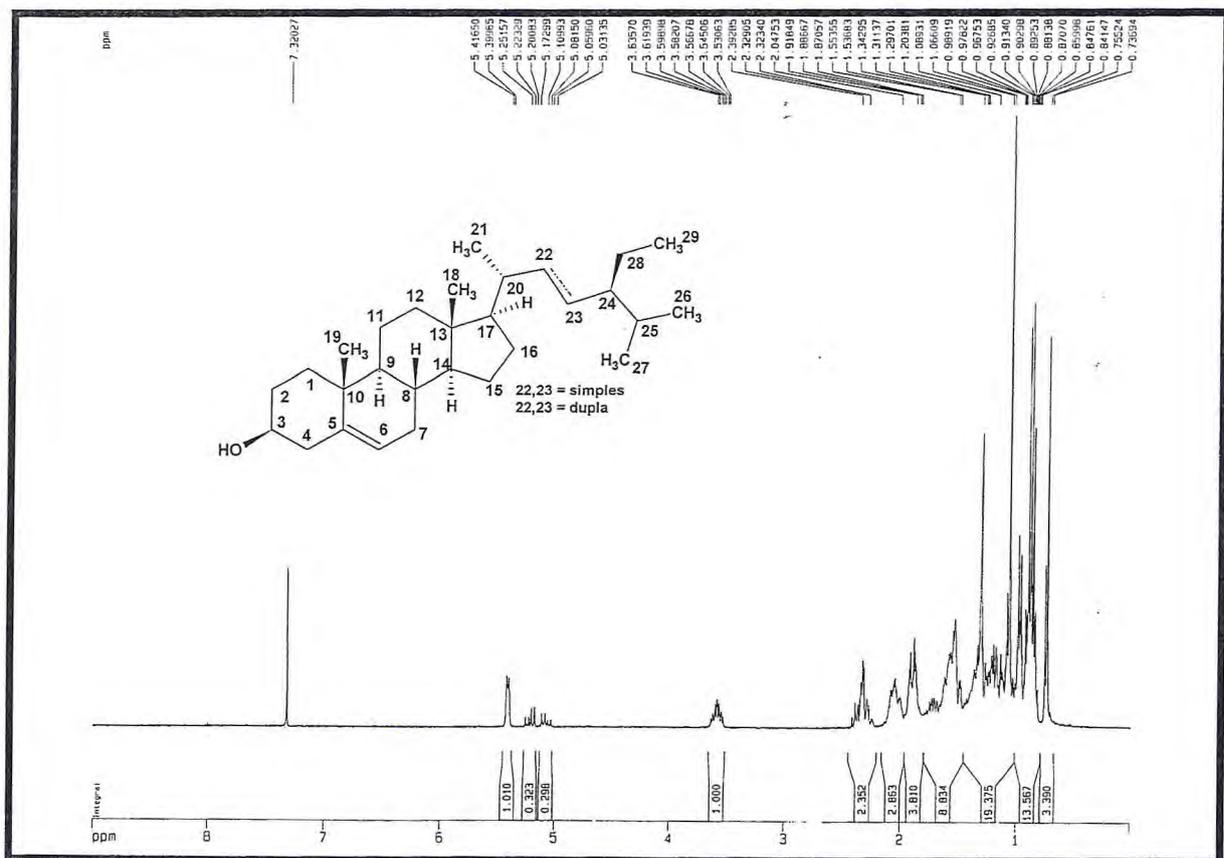


Figura 124 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de HM-11

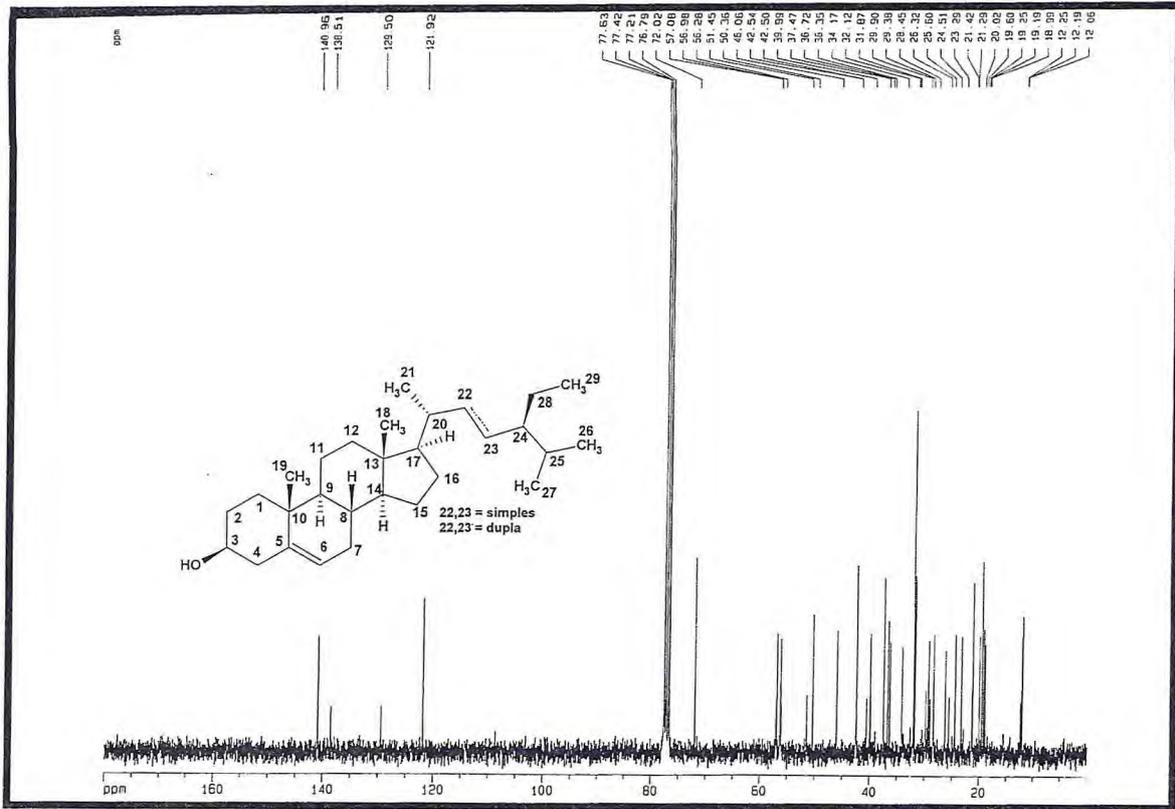


Figura 125 – Espectro de RMN ^{13}C BB (75 MHz, CDCl_3) de HM-11

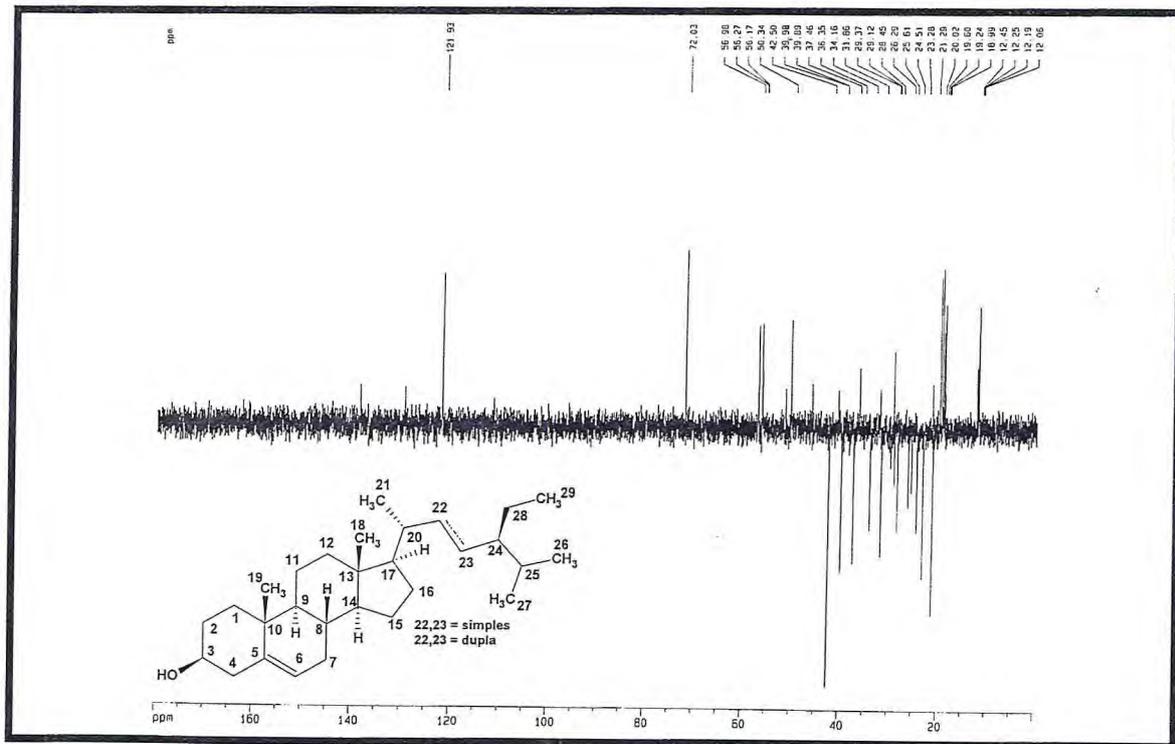


Figura 126 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) de HM-11

4.2.6. Determinação Estrutural de HM-12

O tratamento cromatográfico em gel de sílica do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* resultou no isolamento de um monoterpreno como um óleo amarelo claro, denominado HM-12.

O espectro de RMN ^{13}C de HM-12 (75 MHz, CDCl_3) (Fig. 128, p. 134) é bastante simples e exhibe apenas sete linhas espectrais todas para carbonos sp^3 , das quais duas encontram-se na posição de carbonos oxigenados, 74,0 e 70,2 ppm, e as demais pertencem a carbonos não funcionalizados, sendo três delas em 31,9; 29,3 e 23,2 ppm, bastante intensas podendo estar relacionadas a mais de um carbono.

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Fig. 128, p. 134), permitiu a distinção por padrão de hidrogenação de todos os carbonos em questão, sendo um carbono metínico, pelo menos dois carbonos metilênicos, dois carbonos metílicos e por conseguinte dois carbonos não hidrogenados (Tabela 26).

O constituinte que ocorre em maior quantidade no óleo é o monoterpreno oxigenado e, portanto possui em seu esqueleto básico dez átomos de carbono, como nos dados observados somente consta a presença de sete carbonos, com três sinais bastante intensos, sugere-se a possibilidade de uma molécula simétrica.

TABELA 26 - Deslocamentos químicos RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HM-12 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
74,0	33,3	31,9	29,3
70,2		31,9	29,3
		23,2	27,9
		23,2	
2 C	CH	4 CH ₂	3 CH ₃
			C ₁₀ H ₁₈
2x(C-O)			C ₁₀ H ₁₈ O

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) (Fig. 127, p. 134) exhibe apenas sinais complexos entre 2,0 e 0,5 ppm sendo os singletos em 0,98 ppm para três hidrogênios e 1,17 ppm para seis hidrogênios referentes as três metilas existentes na molécula, duas delas magneticamente equivalentes.

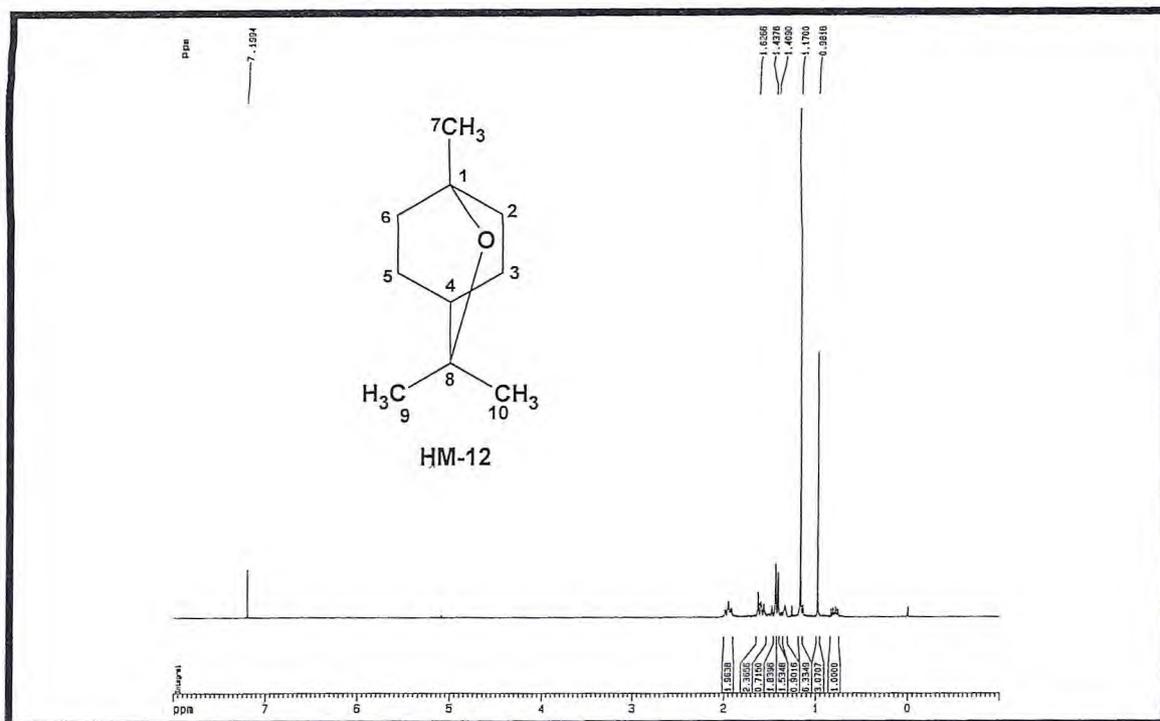


Figura 127 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de HM-12

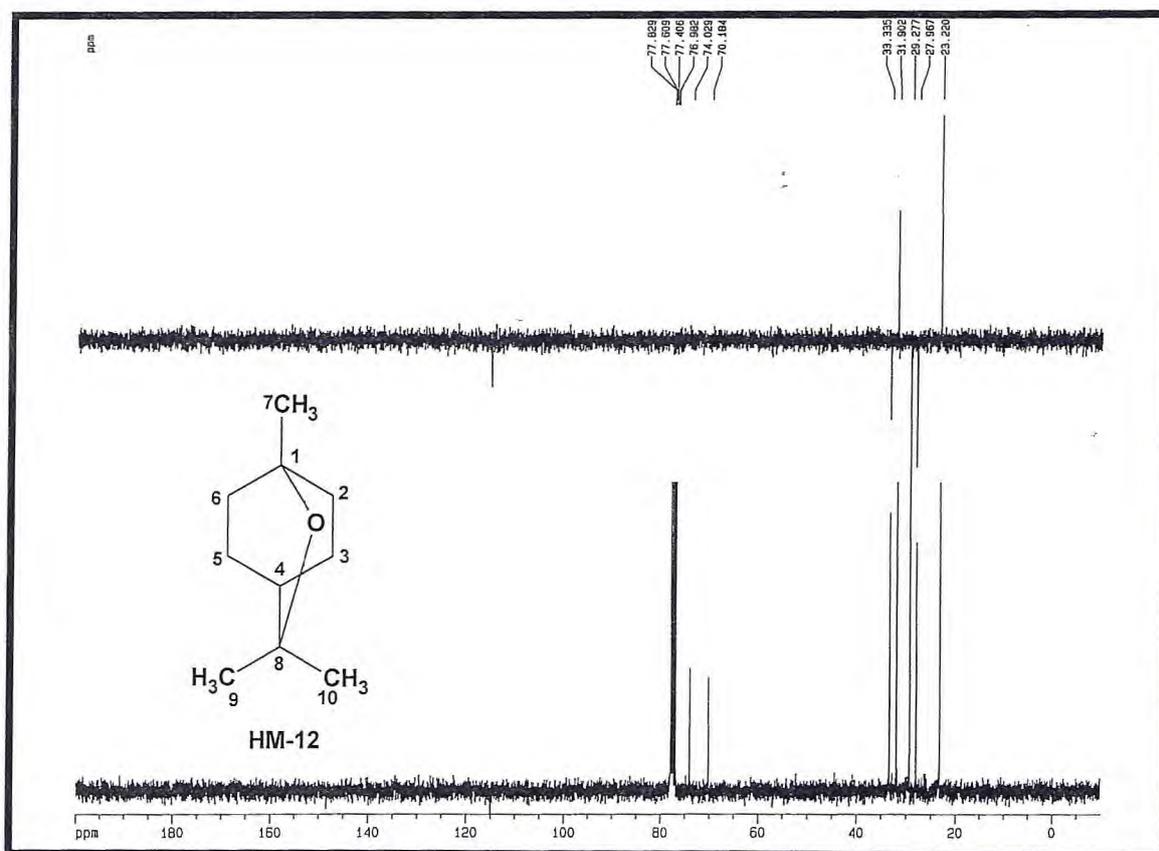


Figura 128 – Espectro de RMN ^{13}C BB e DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) de HM-12

4.2.7. Determinação Estrutural de HP-1

Um sólido branco ponto de fusão 264,8-268,4 °C, obtido durante a preparação do extrato hexânico dos talos de *H. platanifolia* por precipitação foi denominado HP-1, e mostrou-se solúvel apenas em piridina e DMSO.

O espectro na região do IV (**Fig. 129, p. 138**) de HP-1, permitiu a identificação de vibrações de deformação axial de O-H em 3457 cm⁻¹, bem como de C-O em 1036 cm⁻¹ característico de álcoois, foram observadas absorções características de estiramento C=O em 1690 cm⁻¹ de carboxila e de estiramento C-H alifático, em 2943 cm⁻¹.

A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C BB (125 MHz, C₅D₅N) (**Fig. 131, p. 139**) e RMN ¹³C DEPT 135° (**Fig. 132, p. 139**), permitiu discernir entre os carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e não hidrogenados. O espectro de RMN ¹³C BB (**Fig. 131, p. 139**) de HP-1 apresenta vinte e nove sinais principais, sugerindo um esqueleto de triterpeno. Dois destes carbonos são olefínicos correspondentes a uma dupla terminal, um carbono carbonílico, provavelmente de ácido, e um carbono oxigenado carbinólico, já observado no IV.

De acordo com a Tabela 28 (**p. 136**), os dez carbonos metilênicos, a presença de um carbono metínico carbinólico e um carbono olefínico de dupla terminal, juntamente com a quantidade de metilas, todas singletos, permite enquadrar HP-1 no grupo dos triterpenos com esqueleto lupano.

O espectro de RMN ¹H de HP-1 (500 MHz, C₅D₅N) (**Fig. 133, p. 140**) confirma a presença de um grupo metileno terminal, fazendo parte de um grupo isoprenila, devido à presença das absorções em 4,93 ppm (1H, d), 4,75 ppm (1H, d) e 1,78 ppm (3H, s). O mesmo espectro ainda registra a presença de mais cinco grupos metilas através das absorções em 0,81; 0,99; 1,04; 1,05; 1,23 ppm.

A observação do pico do íon molecular em 456 u.m.a no espectro de massa (**Fig. 130, p. 138**), colaborou com a dedução da fórmula molecular C₃₀H₄₈O₃ (**Tabela 28**), com índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. Após subtração das insaturações referentes a uma carbonila e uma dupla ligação, restam ainda cinco referentes a um triterpeno pentacíclico e, como já comentado, de esqueleto lupano. Comparação do ponto de fusão 264,8-268,4 °C da nossa substância com dados da literatura (MAFEZOLI, 1996) permitiram concluir pela identidade de HP-1 como ácido betulínico (**Tabela 29**).

TABELA 29 - Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-1 comparados com os valores de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO-d_6) do ácido betulínico (MAFEZOLI, 1996)

C	Ácido betulínico (Mafezoli, 1996)	HP-1
1	39,2	39,4
2	28,2	28,5
3	78,1	78,3
4	39,5	37,8
5	55,9	56,1
6	21,1	18,9
7	34,8	34,9
8	41,1	41,3
9	50,9	51,1
10	37,5	37,7
11	18,7	18,9
12	26,0	26,3
13	38,5	38,8
14	42,8	43,0
15	31,1	31,4
16	32,8	33,0
17	56,6	56,1
18	49,7	49,9
19	47,7	48,2
20	151,3	151,5
21	30,2	30,4
22	37,5	37,8
23	28,6	28,8
24	16,4	16,5
25	16,4	16,6
26	16,4	16,6
27	14,9	15,1
28	178,8	179,0
29	19,4	19,6
30	109,9	110,1

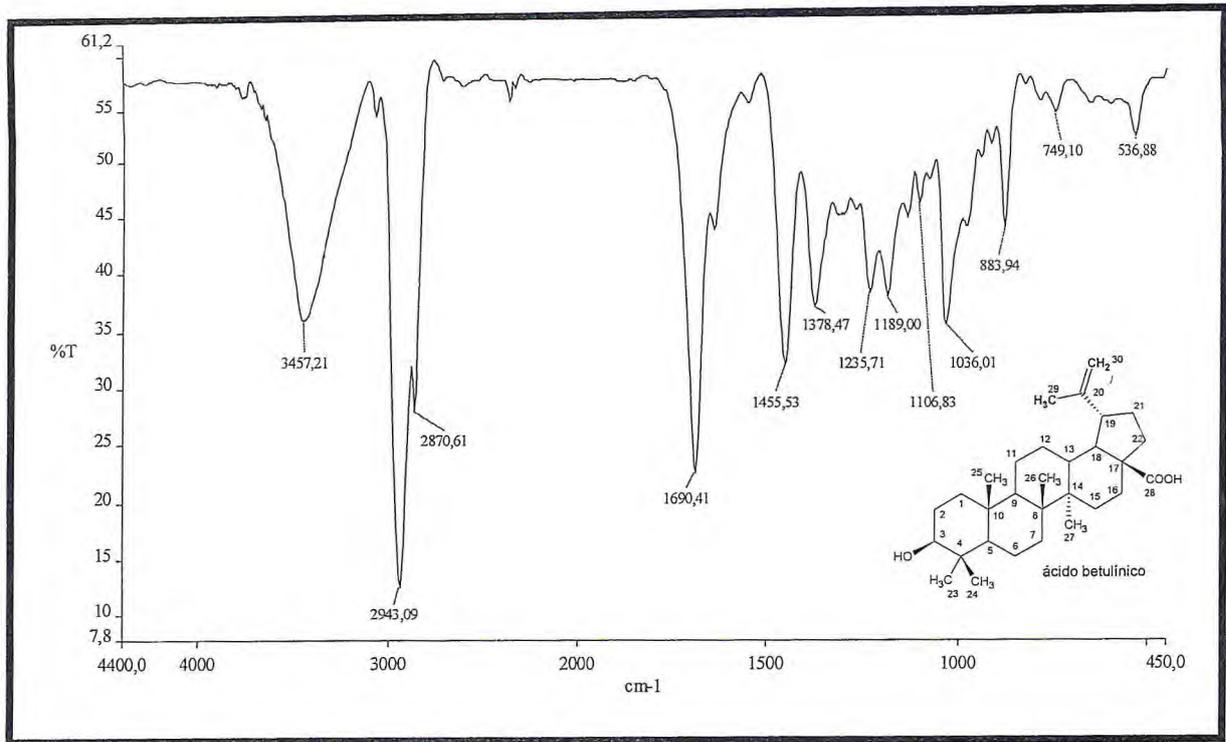


Figura 129 – Espectro de IV (KBr) de HP-1

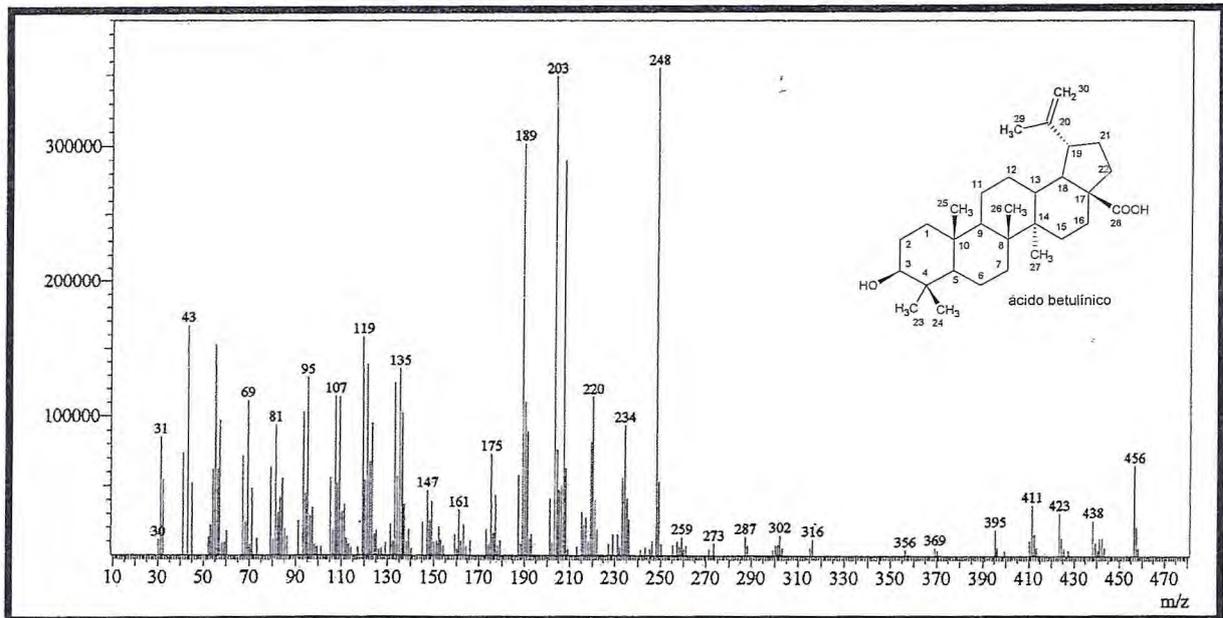


Figura 130 – Espectro de massa de HP-1

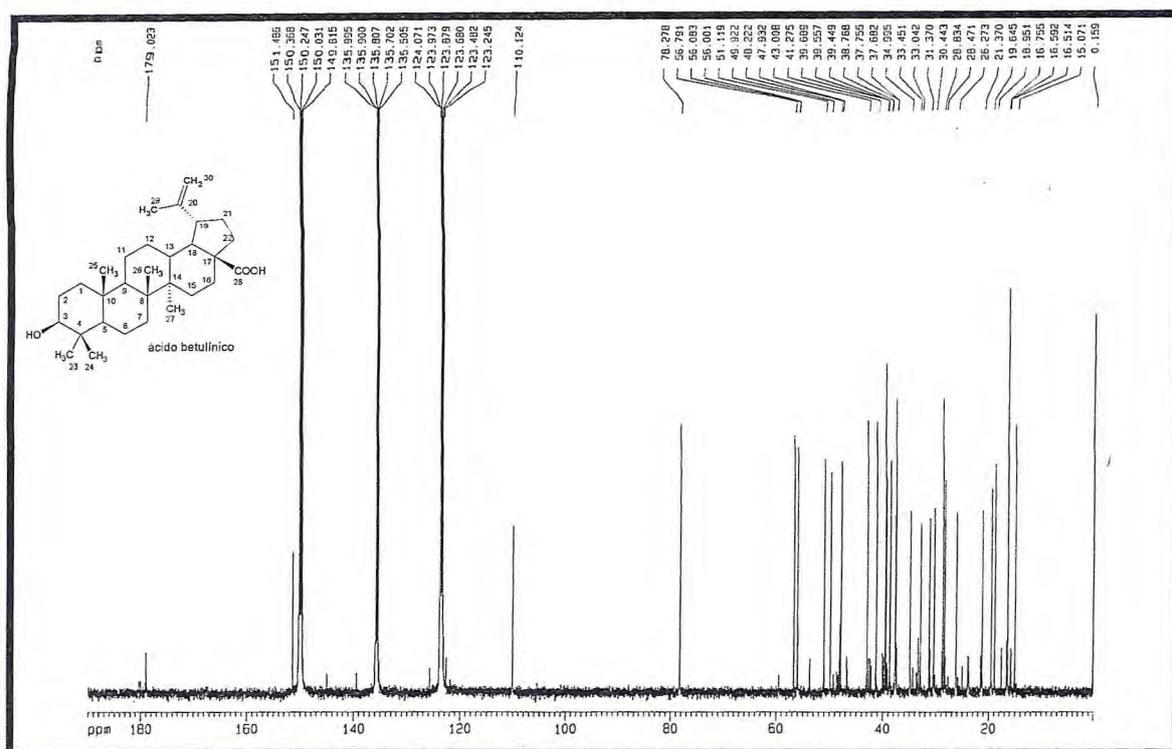


Figura 131 – Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-1

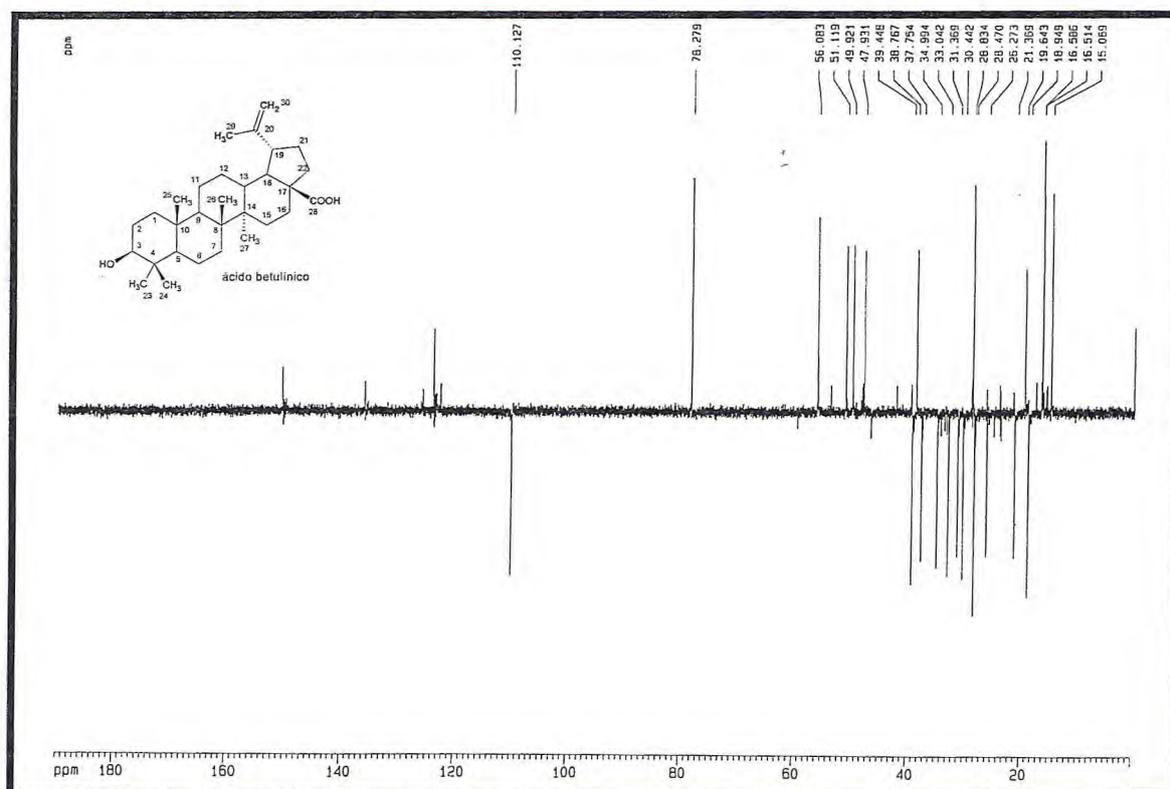


Figura 132 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-1

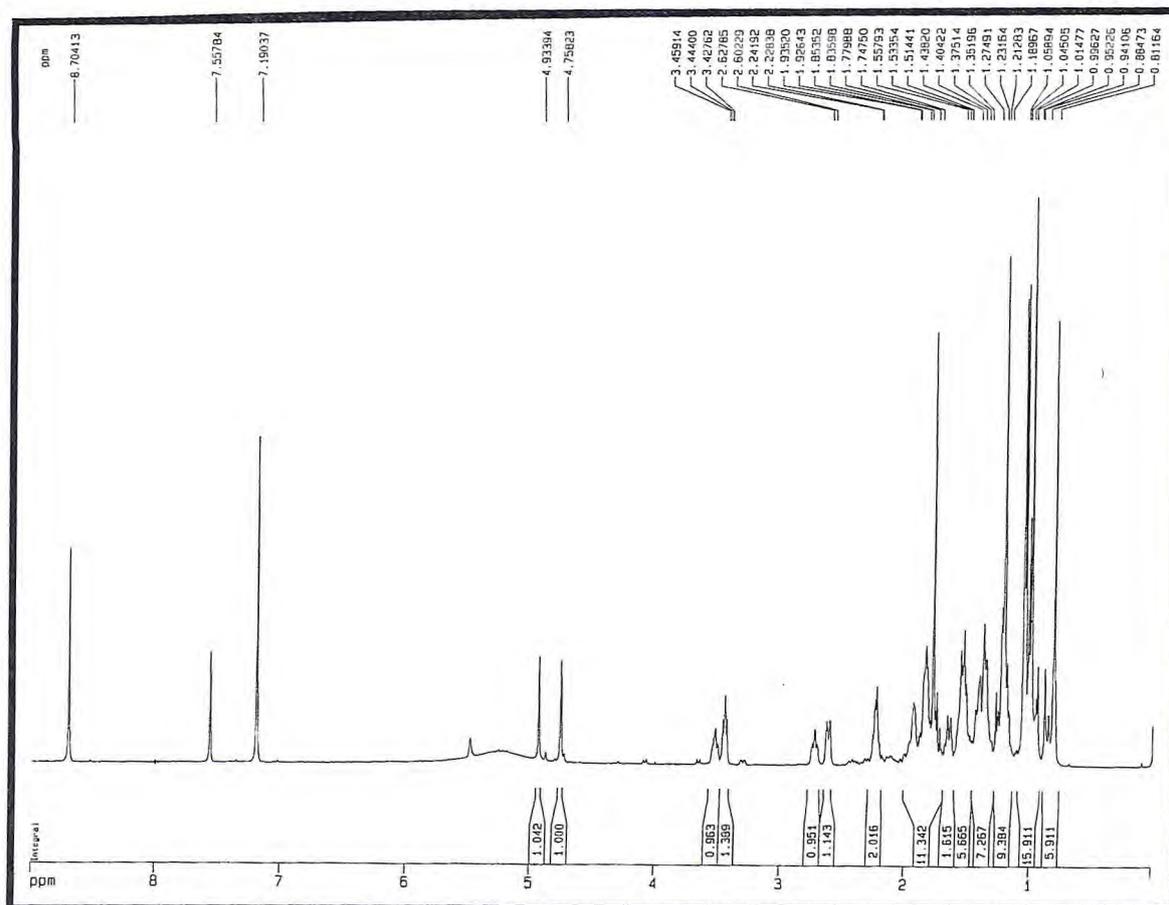
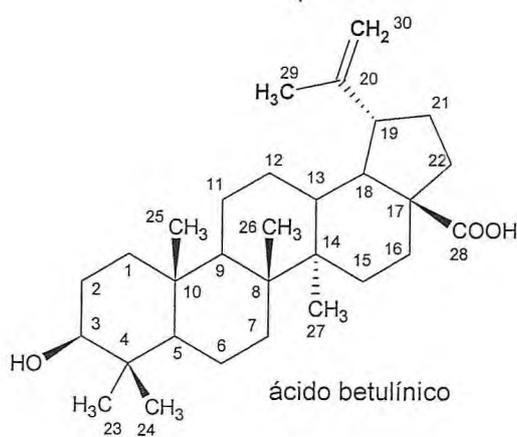


Figura 133 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-1



4.2.8. Determinação Estrutural de HP-2

A substância denominada HP-2, um sólido amorfo branco com ponto de fusão 230,9-234,5 °C, foi obtida após sucessivas cromatografias da fração diclorometânica, oriunda da partição líquido-líquido do extrato etanólico dos talos de *Hyptis platanifolia*.

O espectro na região do IV (Fig. 134, p. 145) de HP-2, permitiu a identificação de vibrações de deformação axial de O-H em 3435 cm⁻¹, bem como de C-O em 1036 cm⁻¹ característico de álcoois. Foram observadas ainda absorções de estiramento C=O em 1692 cm⁻¹ característico de carbonila e de estiramento C-H alifático, em 2933 cm⁻¹.

A análise em conjunto dos espectros de RMN ¹³C BB (125 MHz, C₅D₅N) (Fig. 136, p. 146) e DEPT 135 ° (Fig. 137, p. 146) permitiu identificar, entre os vinte e nove carbonos observados, os carbonos não hidrogenados, os metínicos, metilênicos e metílicos (Tabela 30).

A quantidade de carbonos observada permite sugerir um esqueleto de triterpeno. Os sinais atribuídos a carbonos desblindados correspondem a dois carbonos olefínicos de dupla trissubstituída e a um carbono carbonílico, provavelmente de ácido, além do sinal em 78,3 ppm de carbono carbinólico, como já foi observado no IV.

De acordo com a Tabela 30 (p. 142), os nove carbonos metilênicos, a presença de um carbono metínico carbinólico e um carbono olefínico de dupla trissubstituída, permitem propor que HP-2 seja um triterpeno ou esteróide. A confirmação da classe do triterpeno só foi possível após análise do espectro de RMN ¹H (500 MHz, C₅D₅N) (Fig. 138, p. 147) que ratifica a presença da dupla trissubstituída e do carbono oxigenado através dos sinais em 5,48 ppm (1H, t) e 3,44 ppm (1H, dd), respectivamente. O mesmo espectro ainda registra a presença de sete grupos metilas, através dos sinais em 0,89; 0,95; 1,00; 1,02; 1,05; 1,22 e 1,24 ppm, sendo dois deles dubletos (1,00 e 0,95 ppm), o que permite classificar o triterpeno na série ursano.

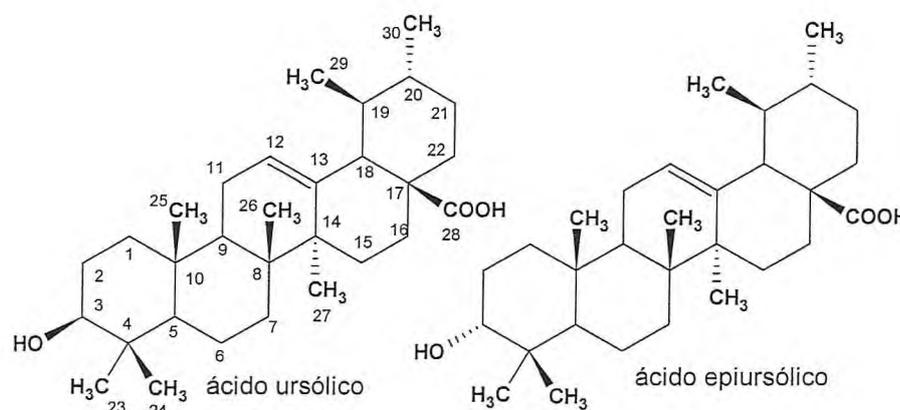
TABELA 30 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
180,1	125,8	39,3	29,0
139,4	78,3	37,6	24,1
42,6	56,0	33,7	21,6
40,1	53,7	31,3	17,7
39,5	48,2	28,9	17,6
39,5?	39,7	28,3	16,7
37,5	39,6	25,1	15,9
		23,8	
		18,9	
7 C	7 CH	9 CH ₂	7 CH ₃
			<u>C₃₀H₄₆</u>
(HO-C=O)	(HC=)		
(C=)	(HC-O)		
			<u>C₃₀H₄₈O₃</u>

O pico do íon molecular em $m/z = 456$ u.m.a., observado no espectro de massa de HP-2 (Fig. 135, p. 145), e os dados analisados anteriormente, concordam com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (Tabela 30). O grau de insaturação, da molécula foi calculado a partir da fórmula molecular e resultou em um índice de deficiência de hidrogênio igual a sete. Após a subtração das insaturações referentes a carbonila e uma dupla ligação, restavam ainda cinco que foram atribuídas a cinco anéis, ratificando assim a estrutura de um triterpeno e como já comentado, da série ursano.

Comparação dos dados de RMN ^1H ^{13}C obtidos com dados da literatura (AHMAD e RAHMAN, 1994) permitiu propor a estrutura do ácido ursólico para HP-2 (Tabelas 31 e 32). No entanto, o ponto de fusão obtido para HP-2 de 230,9-234,5 °C quando comparado a dados da literatura (AHMAD e RAHMAN, 1994) gerou uma dúvida na identidade de HP-2, entre os epímeros, ácido ursólico (pf. 279-281 °C) e ácido 3-epiursólico (pf. 232-235 °C). A dúvida pode ser esclarecida através da estereoquímica do carbono-3. O espectro de RMN ^1H mostra o sinal correspondente ao hidrogênio ligado ao carbono-3 em 3,47 ppm com multiplicidade duplo dubleto ($J=10$ e 6 Hz) que é característica de acoplamentos de hidrogênios com ângulos diédricos diferentes o que corresponde à hidroxila em posição *beta*, pois quando esta se encontra em posição *alfa* os ângulos diédricos formados entre os hidrogênios são pequenos e parecidos,

originando um sinal com constantes de acoplamento semelhantes e multiplicidade tripleto, que não é observado neste caso. Os dados obtidos na análise de RMN foram decisivos na escolha pela estrutura do ácido ursólico, mesmo com o ponto de fusão bastante diferente que pode ser explicado pela variação na rede cristalina do sólido.



O ácido ursólico também é um constituinte bastante presente em plantas superiores e em várias espécies do gênero *Hyptis* como: *H. capitata* (LEE, 1988), *H. pectinata* (MIRANDA, 1993), *H. urticoides* (VIVAR, 1991) e *H. albida* (MIRANDA, 1990). Apesar do seu isolamento ser bastante relatado é a primeira vez que está sendo referida a sua obtenção a partir de *Hyptis platanifolia*.

TABELA 31 - Dados de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2 comparados com os valores RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) do ácido ursólico (AHMAD E RAHMAN, 1994)

H	Ácido ursólico (Ahmad e Rahman, 1994)	HP-2
3 α	3,48 (1H, dd, $J=10,3$ e $4,1$ Hz)	3,44 (1H, dd, $J=10,0$ e $6,0$ Hz)
12	5,52 (1H, t, $J=3,5$ Hz)	5,49 (1H, t, $J=3,0$ Hz)
18	2,66 (1H, d, $J=13,5$ Hz)	2,62 (1H, d, $J=11,5$ Hz)
23	1,27 (3H, s)	1,24 (3H, s)
24	1,05 (3H, s)	1,02 (3H, s)
25	0,91 (3H, s)	0,89 (3H, s)
26	1,08 (3H, s)	1,05 (3H, s)
27	1,25 (3H, s)	1,22 (3H, s)
29	0,97 (3H, d, $J=6,3$ Hz)	0,95 (3H, d, $J=5,9$ Hz)
30	1,02 (3H, d, $J=6,6$ Hz)	1,00 (3H, d, $J=6,1$ Hz)

TABELA 32 - Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2 comparados com os valores de RMN ^{13}C (100,63 MHz, CDCl_3) do ácido ursólico (AHMAD E RAHMAN, 1994)

C	Ácido ursólico	
	(Ahmad e Rahman, 1994)	HP-2
1	38,7	39,2
2	23,5	31,2
3	79,0	78,3
4	39,6	39,5
5	52,7	56,0
6	18,3	18,9
7	33,0	33,7
8	39,1	40,1
9	47,6	48,2
10	36,7	37,4
11	23,7	23,8
12	125,8	125,8
13	138,0	139,4
14	42,0	39,5
15	29,4	28,8
16	23,3	25,0
17	47,9	42,6
18	55,3	53,7
19	30,6	39,7
20	30,4	39,6
21	27,3	28,2
22	37,0	37,6
23	23,4	29,0
24	17,0	16,7
25	17,0	15,8
26	15,5	17,7
27	24,2	24,0
28	176,0	180,0
29	21,1	21,6
30	23,4	17,6

Alguma variação (Δ) nos deslocamentos químicos pode ser atribuída ao uso de solventes deuterados diferentes, o que pode causar variações de 1,0 a 5,0 ppm durante a análise. Além do que a amostra encontra-se impurificada com o triterpeno isômero da classe oleanano.

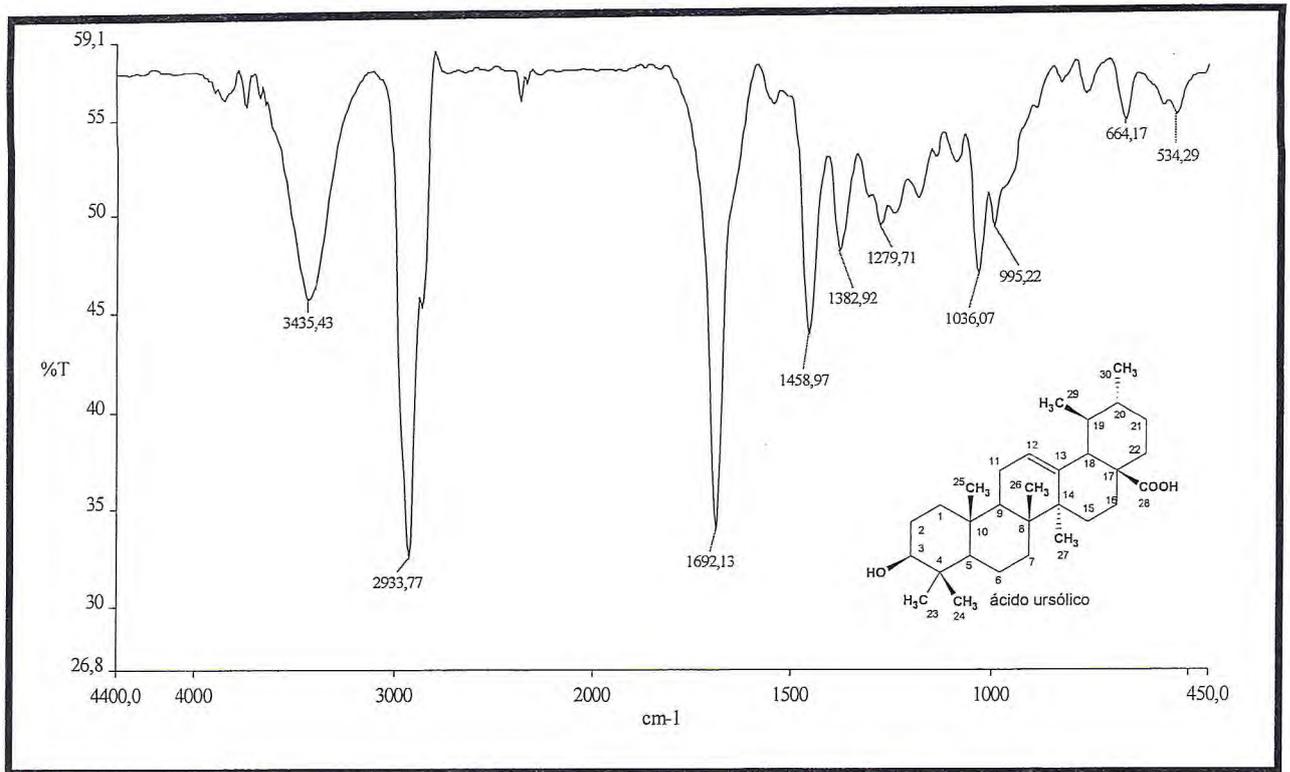


Figura 134 – Espectro de IV (KBr) de HP-2

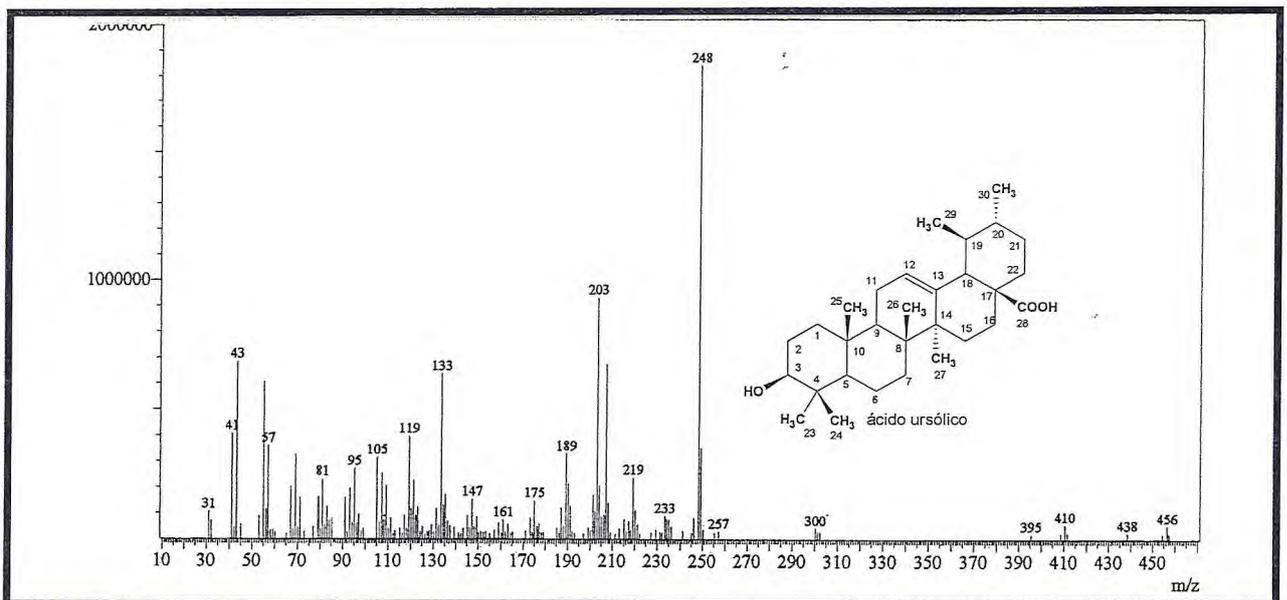


Figura 135 – Espectro de massa de HP-2

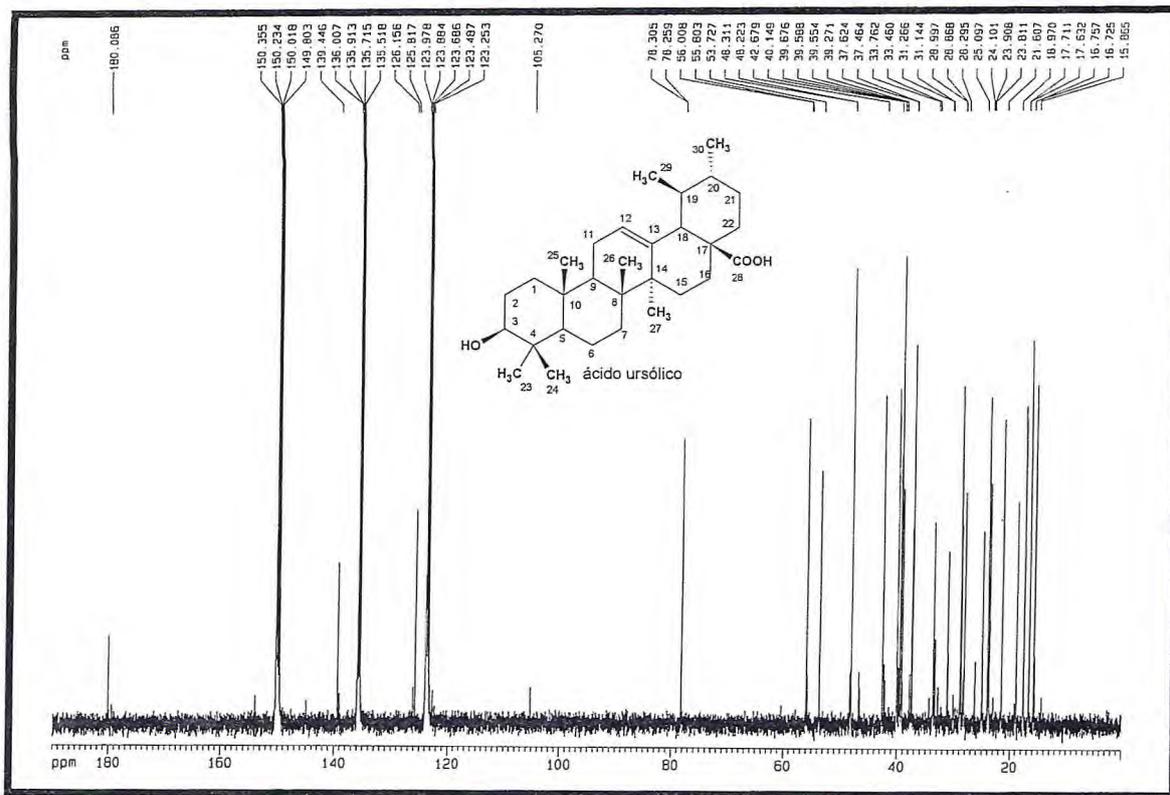


Figura 136 – Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2

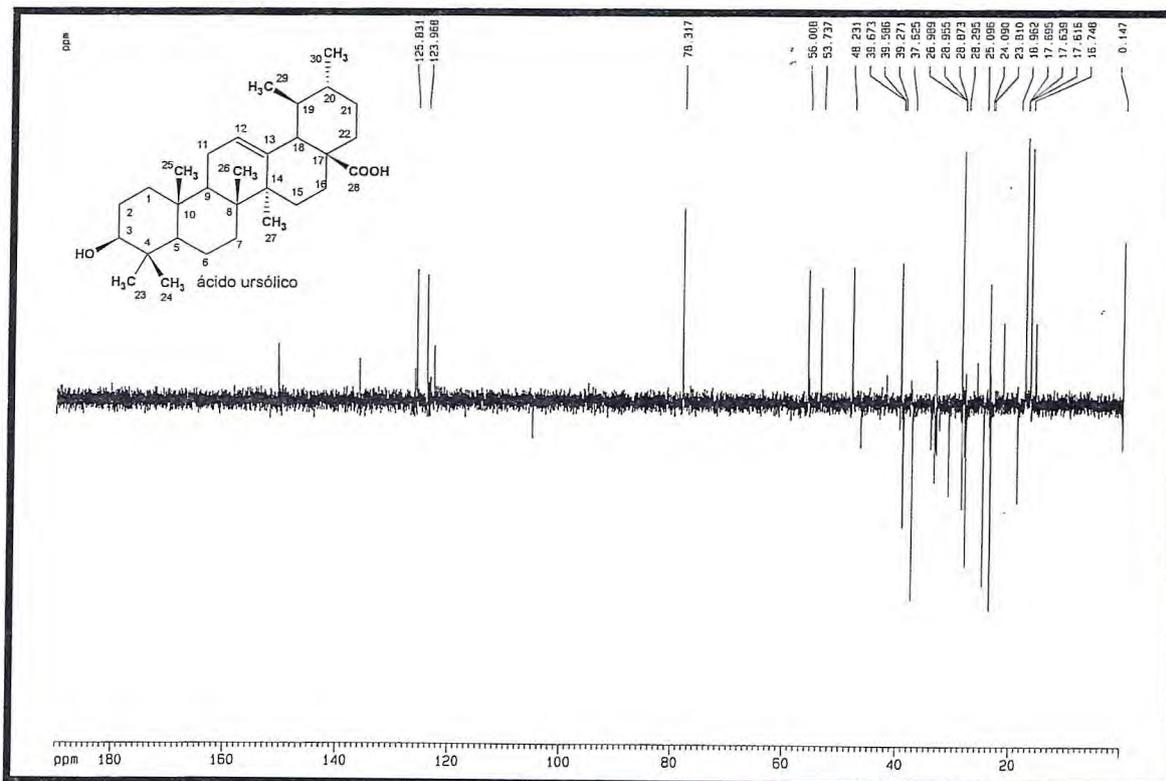


Figura 137 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2

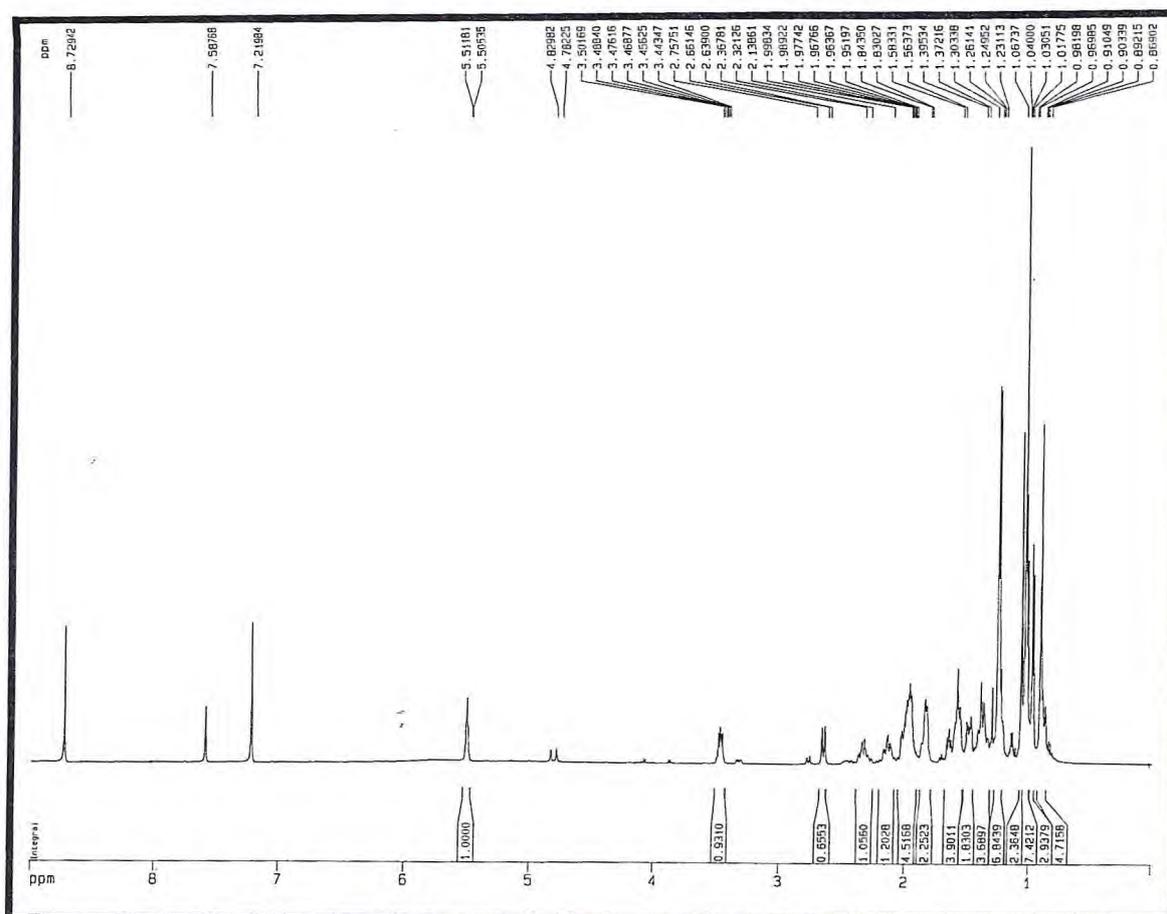
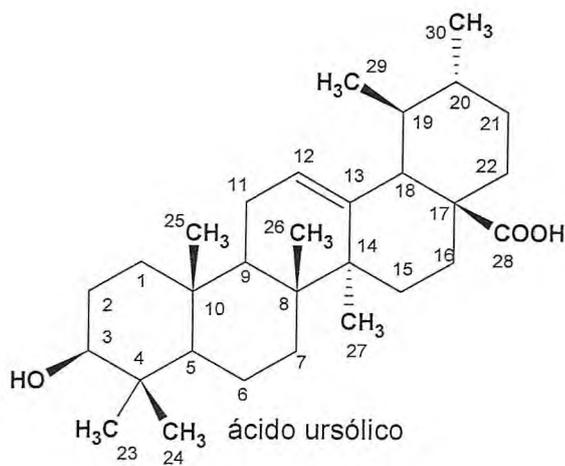


Figura 138 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de HP-2



4.2.9. Determinação Estrutural de HP-3

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes de *Hyptis platanifolia*, levou ao isolamento de uma substância cristalina amarela, homogênea em CCD, pf. 155-160 °C, $[\alpha]_D^{20} = + 60$ (c. 0,1, CHCl₃), denominada HP-3, conforme descrito no procedimento experimental.

O espectro de absorção na região do IV de HP-3 (**Fig. 139, p. 156**) apresentou, dentre outras, uma banda larga em 3408 cm⁻¹, característica de estiramento O-H de hidroxila fenólica, uma banda em 2930 cm⁻¹ associada a estiramento C-H de carbono sp³, uma banda em 1615 cm⁻¹ característica de estiramento carbonílico ($\nu_{C=O}$), que devido à baixa frequência sugere a existência de ligação de hidrogênio intramolecular e provavelmente em conjugação. Além disto, foram observadas bandas esqueléticas de anel aromático como: deformação angular fora do plano em 870, 805 e 617 cm⁻¹, bandas de deformação angular no plano de 1206-1010 cm⁻¹ e bandas de deformação axial em 1548, 1454 e 1414 cm⁻¹. Foi ainda observada uma banda em 1244 cm⁻¹ bastante característica de estiramento C-O.

O espectro de RMN ¹³C BB (75 MHz, CDCl₃) (**Fig. 141, p. 157**) de HP-3 apresentou 21 linhas espectrais, seis linhas se mostraram compatíveis com absorções de carbono sp² de anel aromático (112 a 158 ppm), um sinal em 62,2 ppm foi relacionado a carbono sp³ oxigenado e o sinal em 206,28 ppm foi atribuído a uma carbonila de cetona, provavelmente conjugada. Os demais sinais referentes a carbonos sp³ não funcionalizados, foram identificados após análise dos dados do espectro de RMN ¹³C DEPT 135 ° (**Fig. 142, p. 157**) de HP-3 onde foi possível associar, após comparação com o espectro de RMN ¹³C BB, nove linhas espectrais a carbonos não hidrogenados, dois carbonos monohidrogenados, quatro carbonos metilênicos e seis carbonos metílicos, sendo que o sinal em 62,2 ppm foi atribuído a uma metoxila provavelmente ligada a anel aromático (**Tabela 33, p. 149**).

TABELA 33 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HP-3 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
206,3	49,8	41,3	62,2
158,4	26,2	36,6	33,3
152,4		36,0	21,7
138,8		19,2	20,6
136,1			20,5
126,3			18,1
112,7			
40,5			
33,6			
9 C	2 CH	4 CH ₂	6 CH ₃
			$\text{C}_{21}\text{H}_{28}$
3x(O-C=)			OCH_3
			$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$

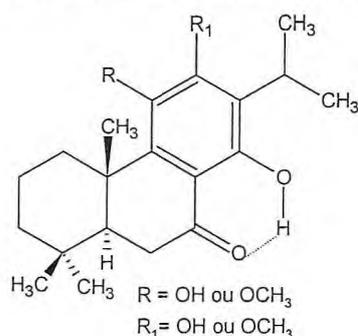
O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de HP-3 (Fig. 143, p. 158) apresentou um singlete em 13,38 ppm referente a hidrogênio de hidroxila quelada ratificando o observado nos dados do espectro de Infravermelho. Em conformidade com o observado no espectro COSY (Fig. 144, p. 158), foram observados também sinais relacionados a hidrogênios alifáticos compatíveis com sistema de acoplamentos axiais e equatoriais em anéis ciclohexânicos. O espectro de RMN ^1H registra ainda a presença de um sinal em 3,80 ppm referente a metoxila, três singletos em 1,3; 0,98 e 0,96 ppm atribuídos a metilas, dois sinais, dubletos, em 1,40 e 1,41 ppm (3H, $J = 7,0$ Hz) acoplando com o sinal, multiplete, em 3,30 ppm (1H, $J = 7,0$ Hz), sugerindo a presença de um grupo isopropila, além de um singlete largo em 5,69 ppm que pode ser atribuído à presença de hidroxilas fenólicas. A ausência de hidrogênios aromáticos permite caracterizar um anel aromático totalmente substituído.

Os dados espectrais fornecidos pelo HMQC (Fig. 145, p. 159) confirmaram o padrão de hidrogenação sugerido após análise do espectro RMN ^{13}C DEPT 135° permitindo associar inequivocamente todos os hidrogênios aos seus respectivos carbonos (Tabela 35, p. 154).

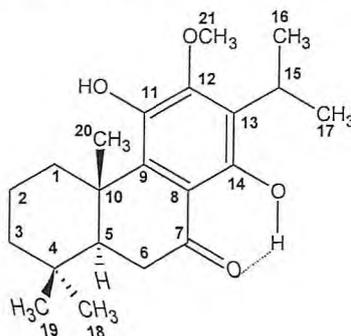
Os dados espectroscópicos mencionados até então, bem como a evidência de carbonos oxigenados permitiu propor a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ que se encontra de

acordo com o peso molecular 346 u.m.a. como mostra o pico do íon molecular observado no espectro de massa (**Fig. 140, p. 156**) como sendo o pico base.

A fórmula molecular proposta cujo índice de deficiência de hidrogênios é igual a sete aliada aos dados já mencionados, como a presença de anéis ciclohexânicos, metilas geminadas e um grupo isopropila permitem caracterizar o composto como um diterpeno de esqueleto abietano. A existência comprovada de um anel aromático totalmente substituído, uma metoxila ligada a anel aromático e duas hidroxilas fenólicas, sendo que uma encontra-se quelada a carbonila, permite propor a seguinte fórmula estrutural:



A incerteza pairava sobre a posição relativa da hidroxila e da metoxila no anel C aromático, que foi retirada após análise do espectro HMBC de HP-3 (**Fig. 146, p. 159**) que mostra entre outros, o acoplamento dos hidrogênios da metoxila a três ligações com o carbono em 152,4 ppm, indicando que a metoxila está ligada a este carbono. O acoplamento do hidrogênio do grupamento isopropílico em 3,30 ppm também a três ligações com o carbono em 152,4 ppm demonstra que o grupamento metoxílico deve se encontrar posicionado *orto* ao grupamento isopropílico. A confirmação desta afirmação veio através da observação de acoplamentos da hidroxila em 5,69 ppm: a três ligações, com os carbonos em 136,1 e 152,4 ppm, atribuídos assim aos carbonos C-9 e C-12, respectivamente, e a duas ligações com o carbono em 138,7 ppm (C-11), ao qual a hidroxila encontra-se ligada. Outros acoplamentos observados encontram-se descritos na Tabela 36 e os dados obtidos para HP-3 são condizentes com a estrutura do diterpeno abietano 11,14-diidroxí-12-metoxi-8,11,13-abietatrien-7-ona.



O isolamento de substâncias com este esqueleto, da espécie *Hyptis platanifolia*, é prognóstico importante, já que se trata de uma espécie congênere e coletada na mesma região de *H. martiusii*, espécie de onde foram isolados oito diterpenos abietanos. A literatura registra ainda outros diterpenos abietanos isolados de espécies do gênero *Hyptis* (MANCHAND, 1974; URONES, 1998).

Para o gênero *Hyptis* não há registro desta substância, porém o diterpeno 11,14-diidroxí-12-metoxi-8,11,13-abietatrien-7-ona já está descrito na literatura com a denominação de Inuroyleanol. Os dados de RMN ^{13}C da literatura (FRONTANA, 1994) são comparados aos de HP-3 na Tabela 34 (p. 152). A estrutura abaixo mostra a estereofórmula sugerida para HP-3, uma junção *trans*-decalina com o anel B adotando uma planaridade requerida para efetivação da conjugação e quelação.

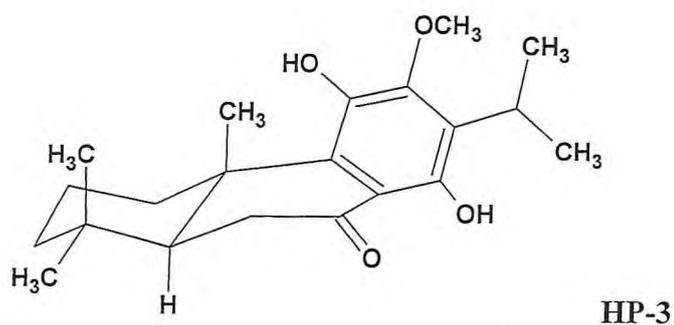
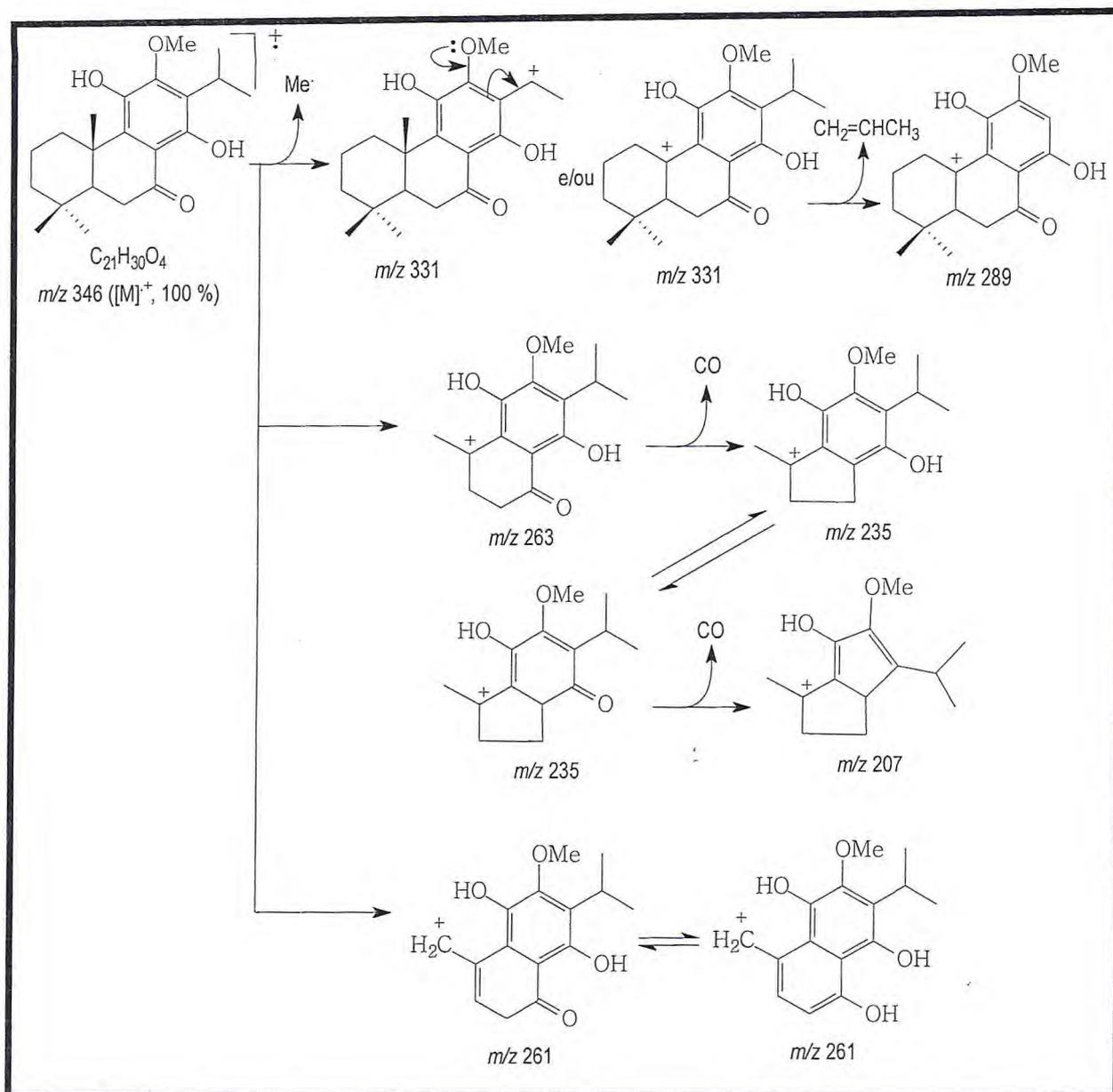


TABELA 34 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HP-3 comparados com os valores de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Inuroyleanol (FRONTANA, 1994)

C	Inuroyleanol	
	(Frontana et al., 1994)	HP-3
1	36,4	36,6
2	19,0	19,2
3	41,1	41,3
4	33,4	33,6
5	49,6	49,8
6	35,8	36,0
7	206,1	206,3
8	118,3	112,7
9	135,8	136,1
10	40,3	40,5
11	138,5	138,8
12	152,1	152,4
13	126,1	126,3
14	158,2	158,4
15	26,0	26,2
16	20,3	20,6
17	20,3	20,5
18	33,1	33,3
19	21,5	21,7
20	17,9	18,1
OCH_3	62,0	62,2



Quadro 9 – Possíveis caminhos para fragmentação de HP-3 no espectrômetro de massa

TABELA 35 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-3
(HMQC)

δ_C	DEPT	$^1H/HMQC$	
206,3	C=O		
158,4	C=C-O		
152,4	C=C-O		
138,8	C=C-O		
136,1	C=C		
126,3	C=C		s
112,7	C=C		
62,2	CH ₃ O	3,80	s
49,8	CH	1,81	d ($J=3,4$ Hz)
41,3	CH ₂	1,53	m
		1,28	m
40,5	C		
36,6	CH ₂	3,29	m
		1,40	m
36,0	CH ₂	2,65	d ($J=3,4$ Hz)
		2,63	s
33,6	C		
33,3	CH ₃		s
26,2	CH	3,30	m
21,7	CH ₃	0,98	s
20,6	CH ₃	1,41	d ($J=7,0$ Hz)
20,5	CH ₃	1,40	d ($J=7,0$ Hz)
19,2	CH ₂	1,74	m
		1,62	m
18,1	CH ₃	1,39	s
OH		5,69	sl
OH		13,38	s

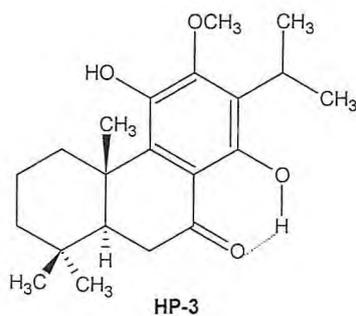
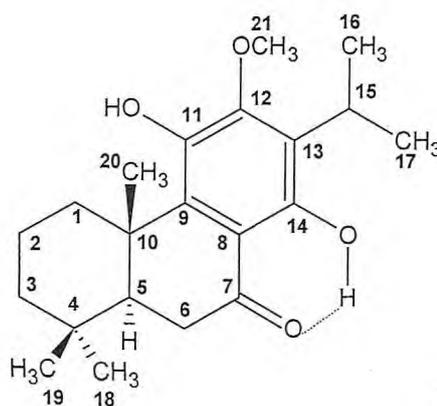


TABELA 36 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-3 (HMBC)

#C	¹³ C BB		HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	36,6	3,29 1,40		H-5, H-20
2	19,2	1,74 1,62		
3	41,3	1,53 1,28		H-5, H-18, H-19
4	33,6		H-5, H-18, H-19	
5	49,8	1,81		H-18, H-19, H-20
6	36,0	2,65 2,63	H-5	
7	206,3		H-6	H-5
8	112,7			
9	136,1			H-20, OH (5,69)
10	40,5		H-20	
11	138,8		OH (5,69)	
12	152,4			H-15, H-21, OH (5,69)
13	126,3		H-15	H-16, H-17
14	158,4		OH (13,38)	H-15
15	26,2	3,30		
16	20,6	1,41	H-15, C-15	H-17
17	20,5	1,40	H-15, C-15	H-16
18	33,3	0,96		H-5
19	21,7	0,98		H-5
20	18,1	1,39		H-5
21	62,2	3,80		
OH		5,69		
OH		13,38		



HP-3

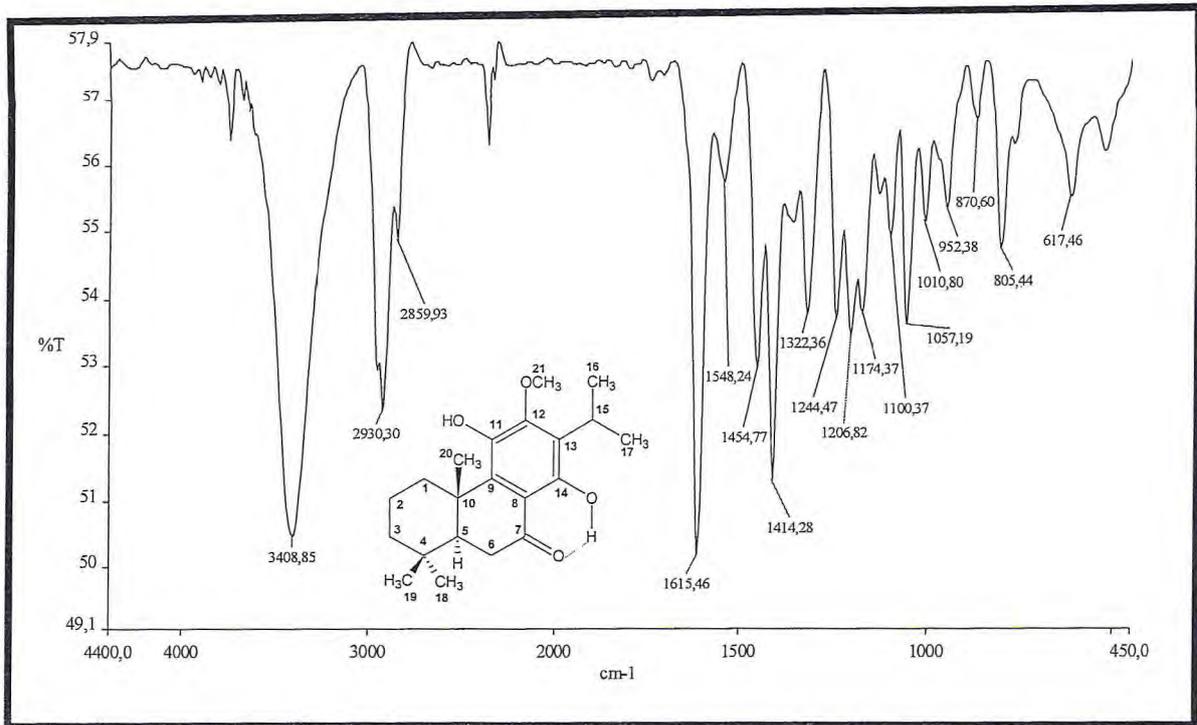


Figura 139 – Espectro de IV (KBr) de HP-3

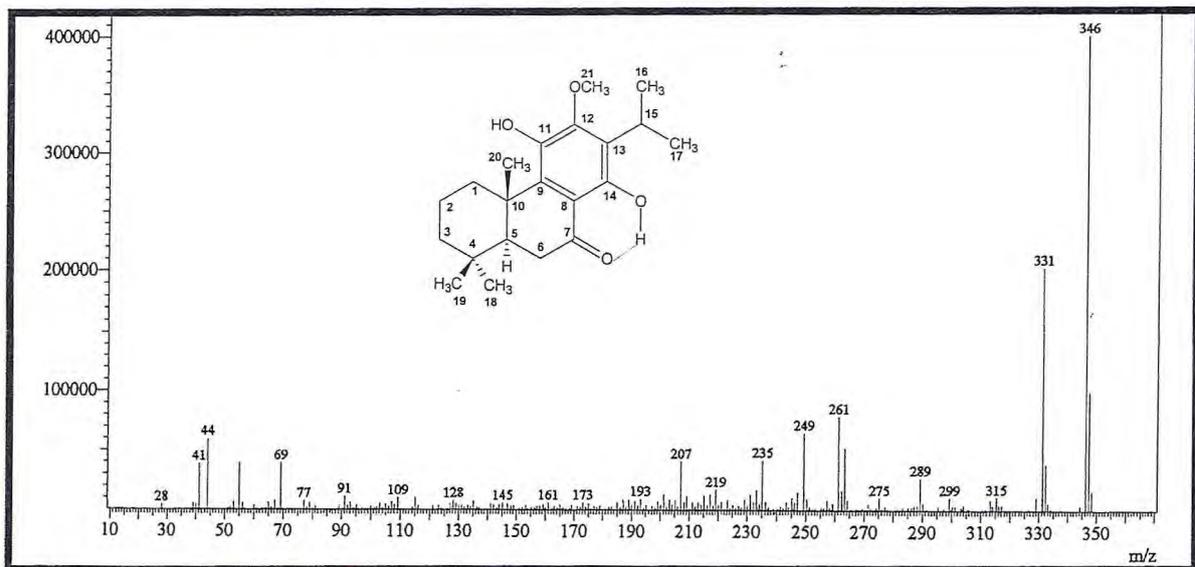


Figura 140 – Espectro de massa de HP-3

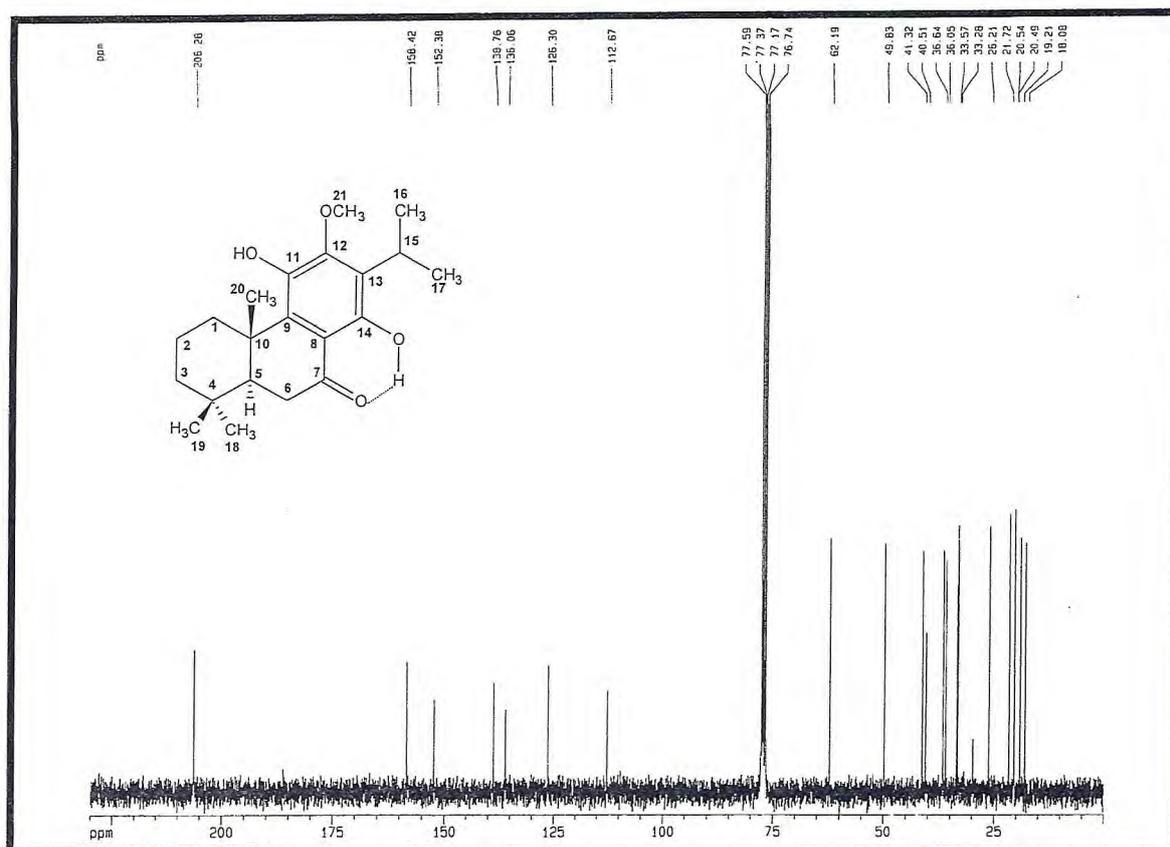


Figura 141 – Espectro de RMN ¹³C BB (75 MHz, CDCl₃) de HP-3

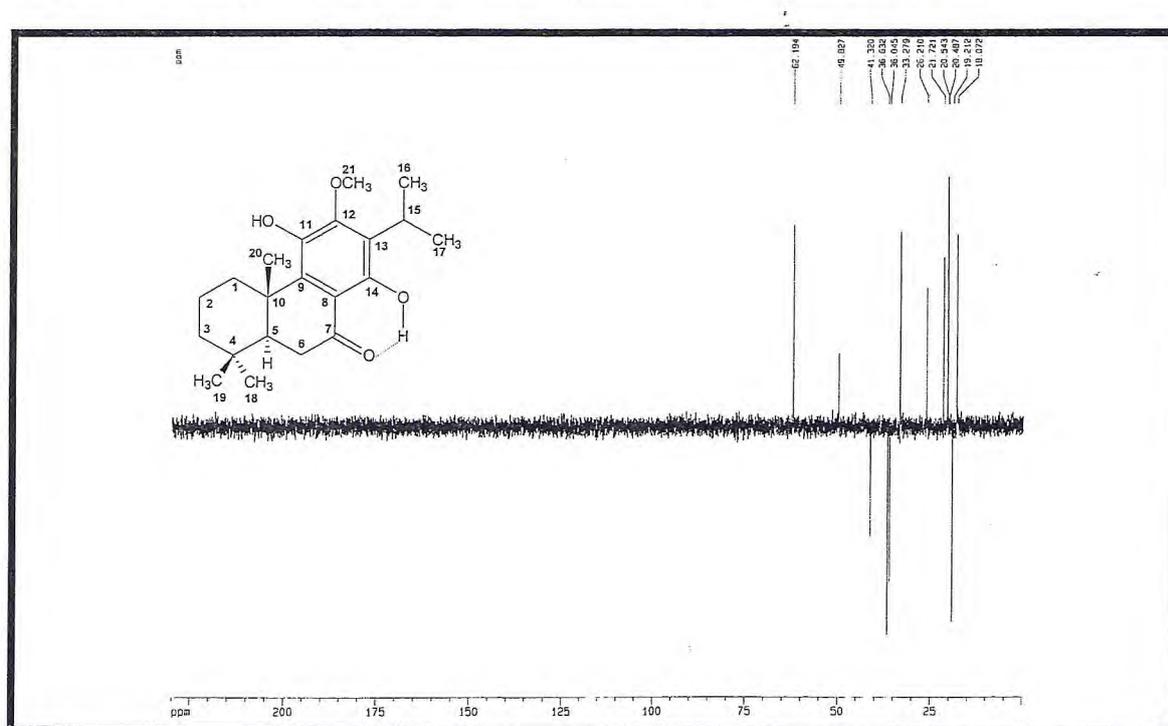


Figura 142 – Espectro de RMN ¹³C DEPT 135 (75 MHz, CDCl₃) de HP-3

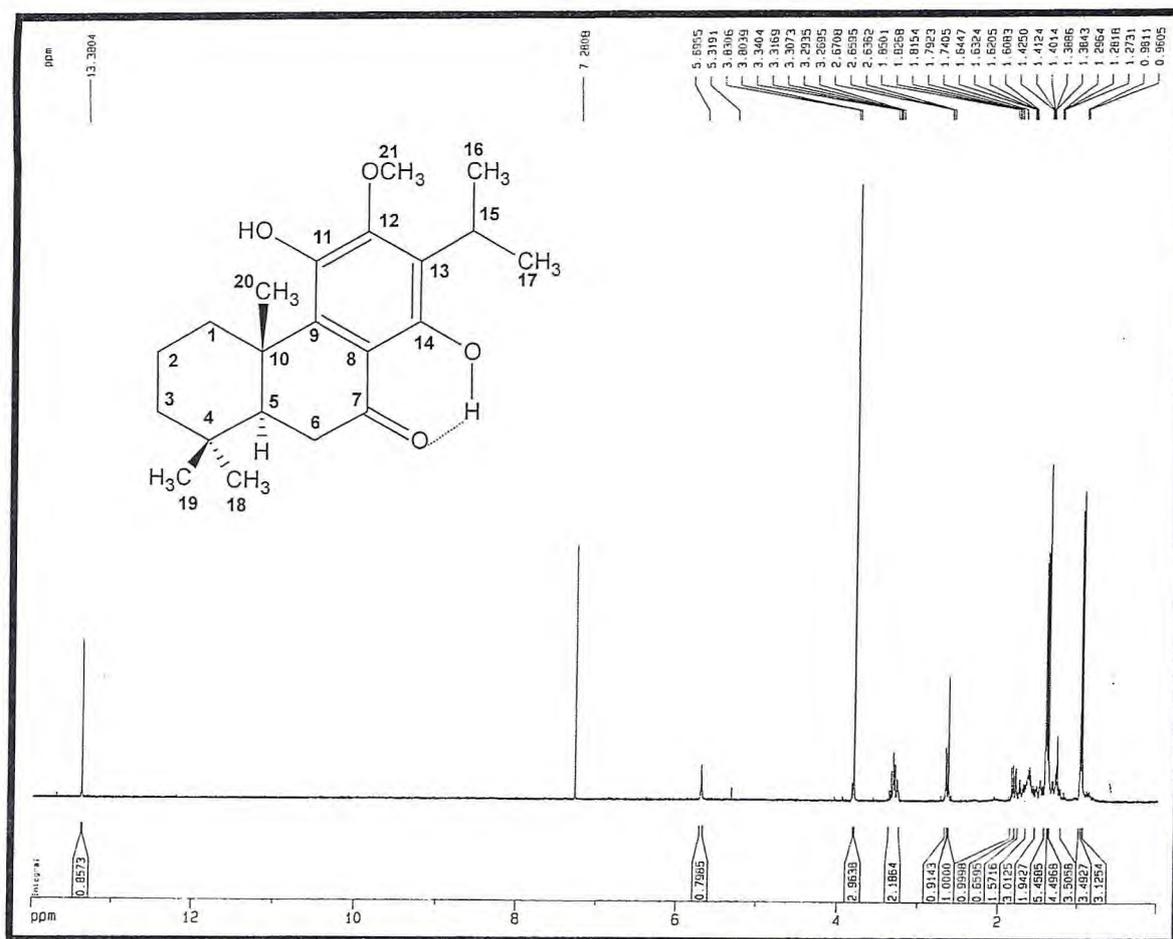


Figura 143 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de HP-3

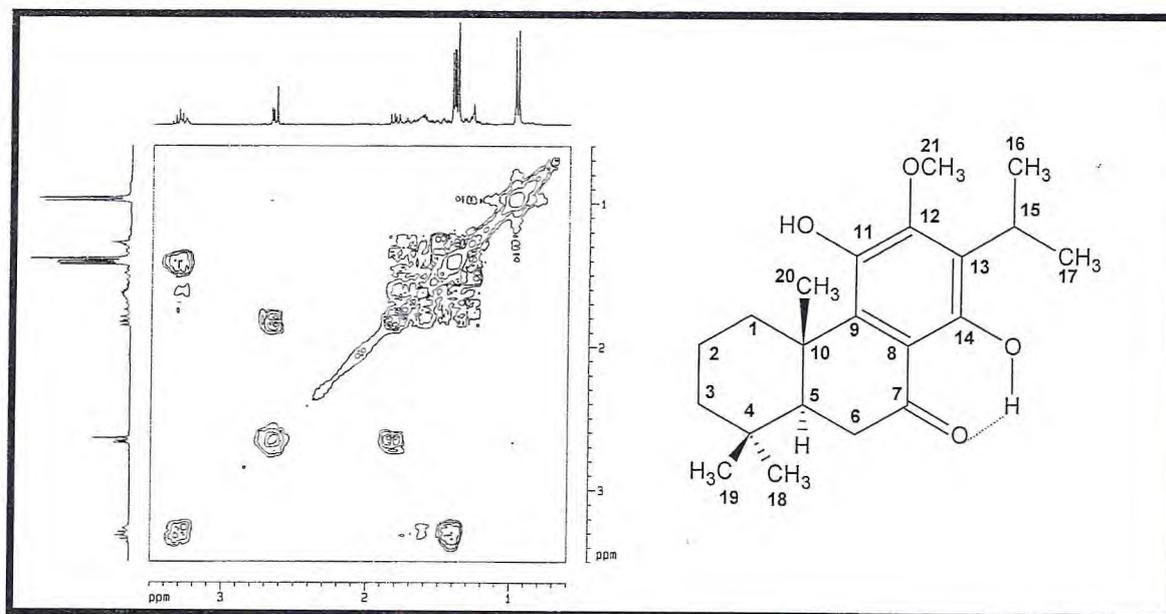


Figura 144 – Espectro de COSY (300 MHz, CDCl₃) de HP-3

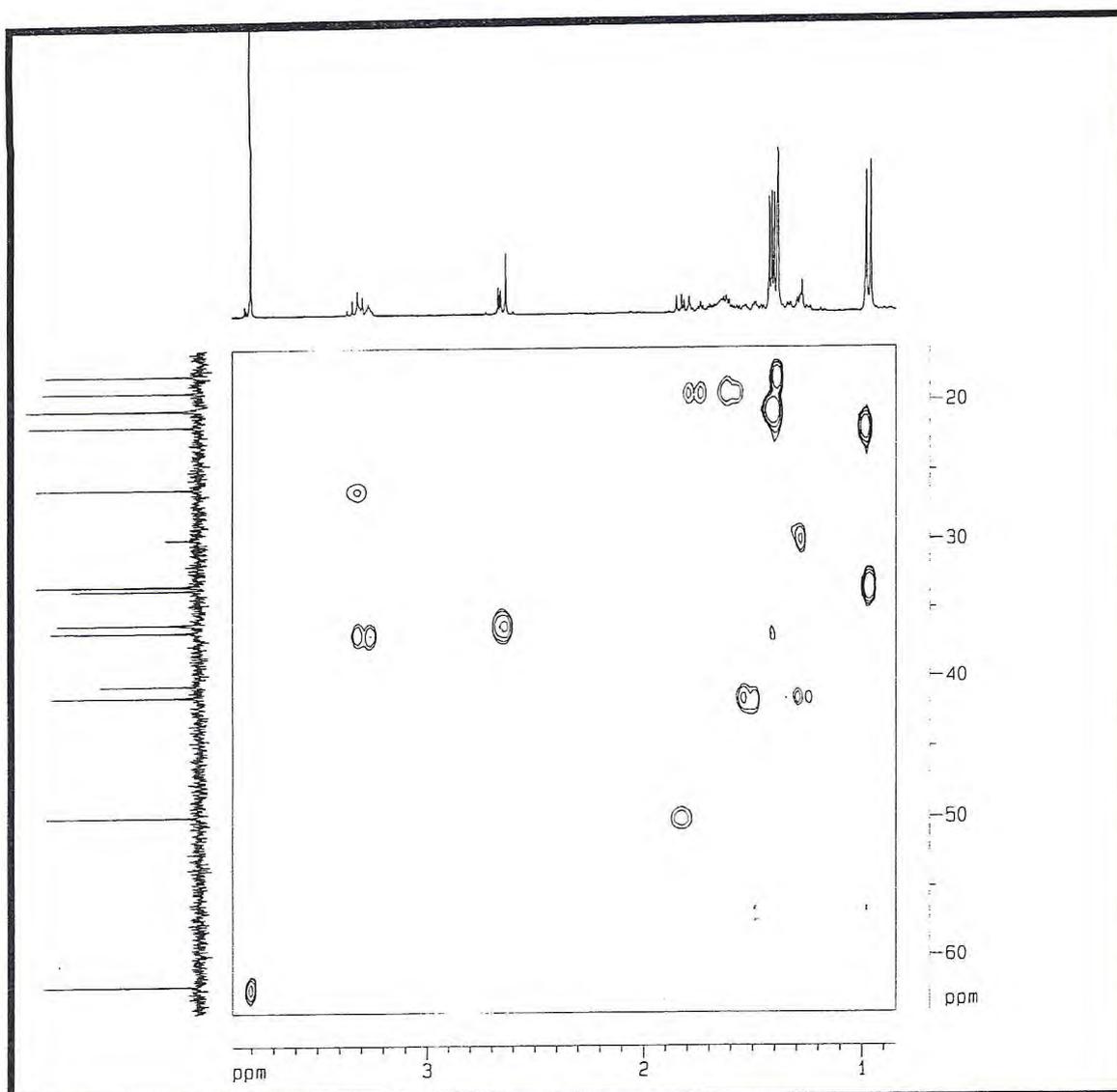
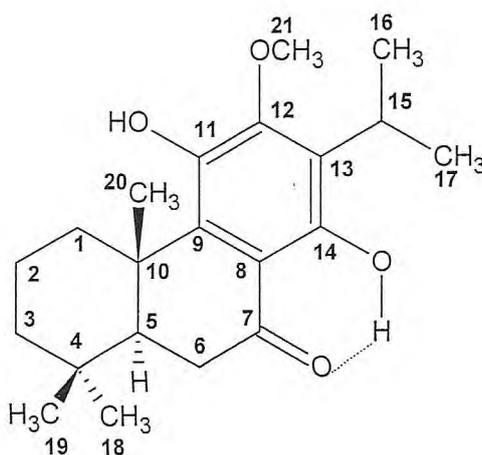


Figura 145 – Espectro de HMBC (300, 75 MHz, CDCl₃) de HP3



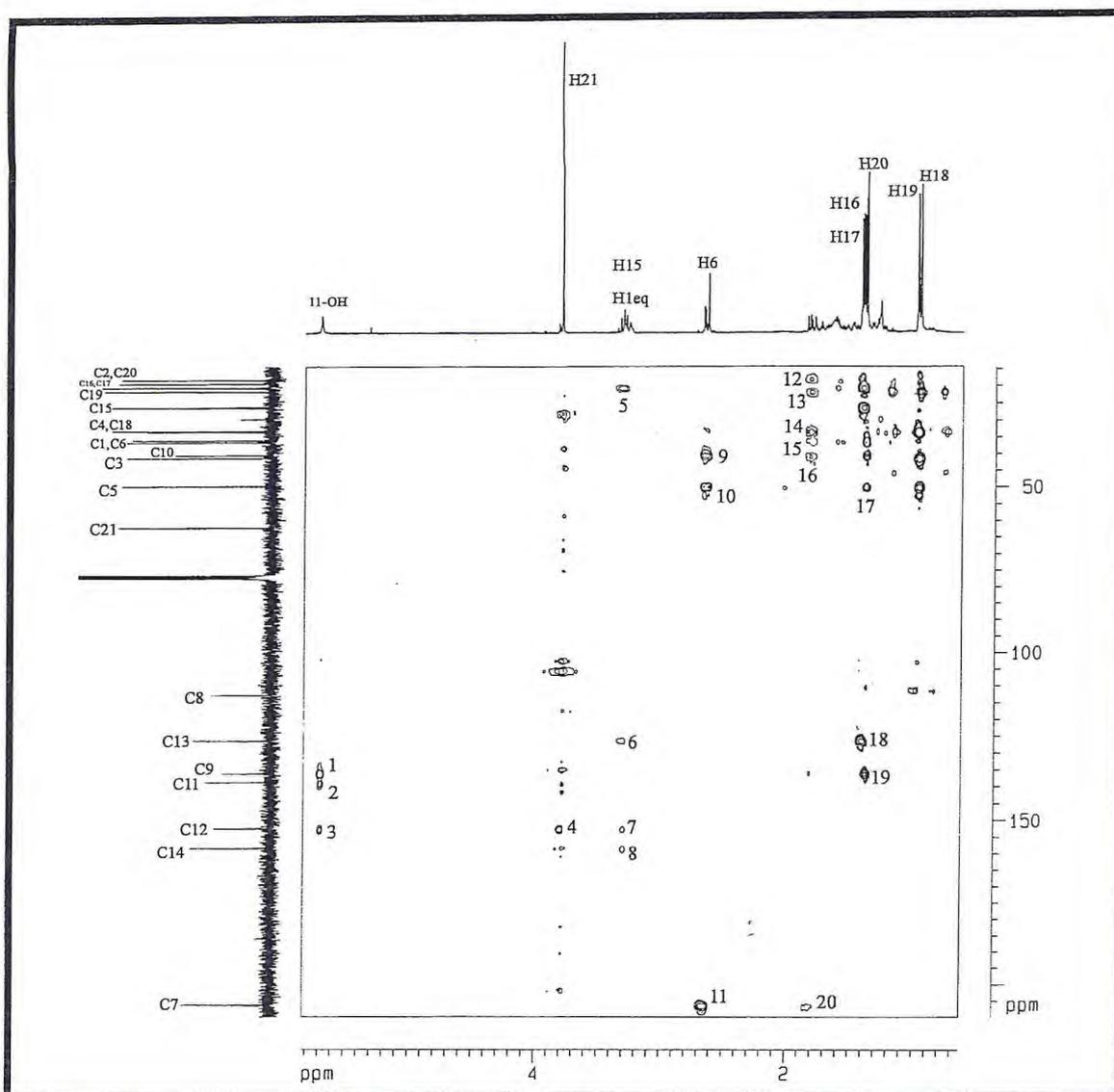
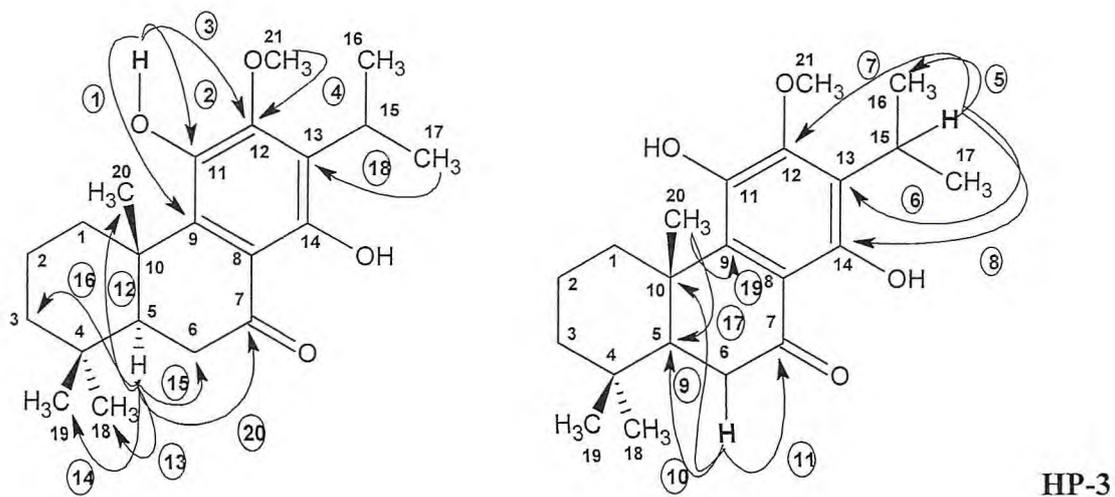


Figura 146 – Espectro de HMBC (300, 75 MHz, CDCl₃) de HP-3



4.2.10. Determinação Estrutural de HP-4

O tratamento cromatográfico preliminar do extrato hexânico das raízes de *Hyptis platanifolia*, resultou na obtenção da fração clorofórmica denominada HPHR-C. Sucessivas colunas cromatográficas desta fração levaram ao isolamento de um sólido cristalino amarelo, pf. 247,6-250,3 °C, $[\alpha]_D^{20} = +79$ (c. 0,1, CHCl₃), denominado HP-4.

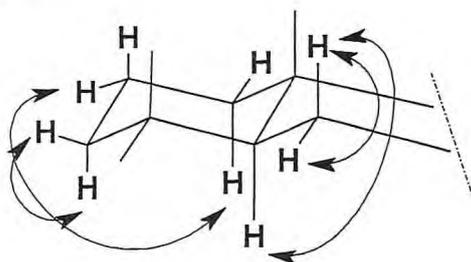
O espectro de RMN ¹³C BB (125 MHz, CDCl₃) de HP-4 (**Fig. 149, p. 170**) exhibe 20 linhas espectrais das quais, por comparação com o espectro de RMN ¹³C DEPT 135° (**Fig. 150, p. 170**), duas correspondem a carbonos metínicos, cinco a carbonos metilênicos. Três outras pertencem a carbonos metílicos, uma destas bastante intensa em 20,6 ppm podendo estar relacionada a dois carbonos, e em consequência dez a carbonos não hidrogenados.

De acordo com os deslocamentos químicos observados pode-se facilmente ressaltar que seis carbonos caem na região de carbonos sp² (112 a 159 ppm), provavelmente de um anel benzênico, dois carbonos em 175,6 e 202,4 ppm estão na região de carbonilas, dois na região de carbonos sp³ oxigenados, 72,8 ppm, metilênico, e 62,7 ppm, metílico. Os outros dez na região de carbonos sp³, possivelmente não funcionalizados. Pode-se ainda afirmar que os três carbonos desblindados em 158,9; 153,0 e provavelmente, 140,4 ppm são oxigenados.

O espectro na região do IV de HP-4 (**Fig. 147, p. 169**) exhibe bandas de deformação axial de C=O (1715 e 1618 cm⁻¹) e C-O (1247 cm⁻¹), que confirmam a existência de duas carbonilas, provavelmente de éster e cetona conjugada, além de bandas correspondentes a estiramento O-H (3351 cm⁻¹) e estiramento C-H de alifáticos (2947 cm⁻¹). Podem ser observadas ainda bandas esqueléticas de deformação angular fora do plano e no plano de C-H de aromáticos (624; 733; 818; 874 cm⁻¹ e 1036; 1131; 1213 cm⁻¹, respectivamente), ratificando assim a presença do anel benzênico.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de HP-4 (**Fig. 151, p. 171**) mostra sinais com deslocamentos químicos compatíveis com a presença de um grupo isopropílico (3,33 ppm, hepteto para 1H, 1,39 e 1,41 ppm, dupletos para 3H cada, $J=7,0$ Hz), uma metila (1,27 ppm, singlete), além do singlete intenso em 3,82 ppm atribuído a metoxila. O singlete em 12,96 ppm, foi atribuído a uma hidroxila quelada, enquanto o sinal em 5,81 ppm, corresponde a uma hidroxila fenólica. Os sinais em 4,59 ppm (dd, $J=12,5$ e 2,1 Hz) e 5,03 ppm (d, $J=2,5$ Hz) são referentes a hidrogênios conectados a carbono oxigenado. Ainda neste espectro são observados sinais múltiplos bem definidos entre

1,4 e 3,7 ppm, que pela correlação entre eles, além de suas multiplicidades, sugerem a presença de anéis ciclohexânicos. As correlações entre os hidrogênios são confirmadas pelo espectro de RMN de correlação homonuclear ^1H , ^1H -COSY de HP-4 (Fig. 153, p. 172).



Setas duplas em estrutura parcial representativa dos acoplamentos hidrogênio-hidrogênio observados para HP-4 através da técnica COSY.

Os dados discutidos até o presente momento sugerem uma estrutura compatível com um diterpeno de esqueleto abietano aromático, com um carbono metoxílico adicional, semelhante ao relatado anteriormente, portanto o sinal de carbono-13 em 20,6 ppm deve ser relativo a dois carbonos, provavelmente do grupo isopropila, e com isso a estrutura passa a conter vinte e um átomos de carbono como está descrito na Tabela 37.

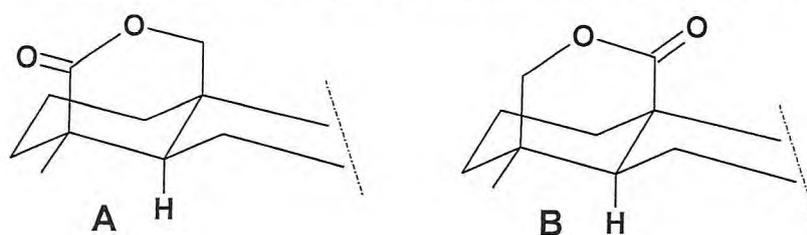
TABELA 37 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP-4 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
202,4	46,7	72,8	62,7
175,6	26,6	40,6	23,4
158,9		37,1	20,6
153,0		35,1	20,6
140,4		21,4	
128,6			
126,5			
112,4			
43,1			
38,8			
10 C	2 CH	5 CH ₂	4 CH ₃
			C ₂₁ H ₂₄
3x(O-C=)		CH ₂ -O	OCH ₃
2x (C=O)			
			C ₂₁ H ₂₆ O ₆

O espectro de massa (Fig. 148, p. 169) de HP-4 mostra o pico do íon molecular com razão massa/carga (m/z) 374 u.m.a., que também é o pico base, compatível com a

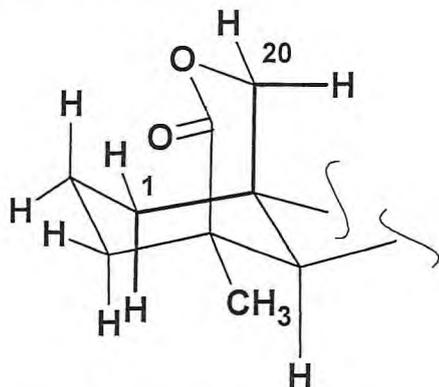
fórmula molecular proposta anteriormente $C_{21}H_{26}O_6$, e portanto com índice de deficiência de hidrogênios igual a nove. As insaturações observadas foram atribuídas a duas carbonilas, um anel benzênico (quatro insaturações) e as três restantes à presença de três anéis.

A ausência de duas metilas, que poderiam localizar-se nos carbonos 18, 19 ou 20, associada à presença de um carbono metilênico oxigenado, uma carbonila e um anel cuja a localização é ainda indefinida, sugere a possibilidade de uma lactona provavelmente sobre o anel ciclohexânico A, já que é comprovada a ausência de dois carbonos metílicos da estrutura normal. A carência de dados de diterpenos *ent*-abietanos, juntamente com a comparação dos dados com abietanos isolados e encontrados na literatura, permite supor que a ponte lactônica esteja entre os carbonos 19 e 20. As metilas 18 e 19 são angulares e encontram-se conectadas a C-4, sendo que C-18 está em posição *alfa* e C-19 em *beta*, posição mais propícia para a formação da ponte. O deslocamento químico observado para a metila em 23,4 ppm também é um dado importante, pois quando comparado a outros diterpenos da classe, não funcionalizados nesta posição, este valor é atribuído a C-18. Estruturas com pontes sobre o anel A já são registradas na literatura para diterpenos com esqueleto abietano (CÁRDENAS E RODRÍGUEZ-HAHN, 1995), apesar de serem mais comuns pontes sobre o anel B como é o caso do carnasol e do isorosmanol, descritos neste trabalho. As estruturas parciais abaixo mostram as duas possibilidades para esta questão.



O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação com detecção inversa HMQC de HP-4 (Fig. 154, p. 172), permitiu associar inequivocamente as absorções dos carbonos a seus respectivos hidrogênios (Tabela 38). As correlações observadas mais importantes além daquelas comprobatórias do anel A não funcionalizado foram: a correlação dos dubletos para seis hidrogênios como sinal em 20,6 ppm e do hidrogênio em 3,33 ppm com o carbono em 26,6 ppm, todos para o grupo isopropila; a metila em 1,27 ppm com o carbono em 23,4 ppm; a ausência de correlação com o hidrogênio em 5,81 ppm comprovando a hidroxila fenólica mencionada anteriormente; e a correlação

dos hidrogênios 4,59 e 5,03 ppm com o carbono 72,8 ppm provavelmente isolado, já que só é notado um acoplamento geminal entre eles e possível acoplamento em “w” para o sinal em 4,59 ppm (H-20 axial) com o sinal em 1,48 ppm (H-1 axial), observados devido à multiplicidade dos sinais e constantes de acoplamento no espectro de RMN ^1H .



Estrutura parcial de HP-4 evidenciando o provável acoplamento em “w” entre os hidrogênios em posição axial dos carbonos 1 e 20.

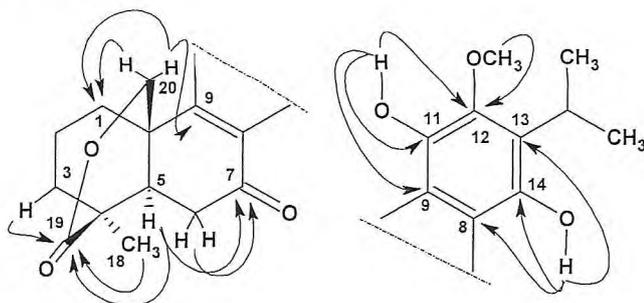
A dúvida na localização do grupo metileno oxigenado, só foi sanada após análise do espectro de correlação bidimensional heteronuclear a longa distância, com detecção inversa HMBC de HP-4 (Fig. 155, p. 173). Dentre as correlações observadas, pode-se destacar a correlação, a três ligações, de um dos hidrogênios em questão, em 4,59 ppm (H-20ax), com o carbono aromático em 126,5 ppm, atribuído a C-9, aliada a correlação dos dois hidrogênios, em 5,03 (H-20eq) e 4,59 (H-20ax) ppm, com o carbono em 35,1 ppm atribuído a C-1, também a três ligações, determinando a posição do metileno oxigenado em C-20. O acoplamento dos hidrogênios em 2,22 (H-5), 1,63 (H-3) ppm e da metila em 1,27 (H-18) ppm com o carbono carbonílico em 175,6 ppm, atribuído a C-19, todos a três ligações, corroboram com a afirmação anterior e são dados decisivos na escolha pela opção da estrutura parcial A, mostrada anteriormente.

A hidroxila fenólica, que se encontra quelada a uma carbonila conjugada, não poderia estar senão em C-14, única posição possível na molécula em questão que permite esta situação, que é comprovada pelo acoplamento a longa distância dos hidrogênios em 2,22 (H-5); 2,84 (H-6eq) e 2,54 (H-6ax) ppm com C-7.

Os hidrogênios de C-6 são reconhecidos facilmente, devido à proximidade com a carbonila e a multiplicidade dos sinais.

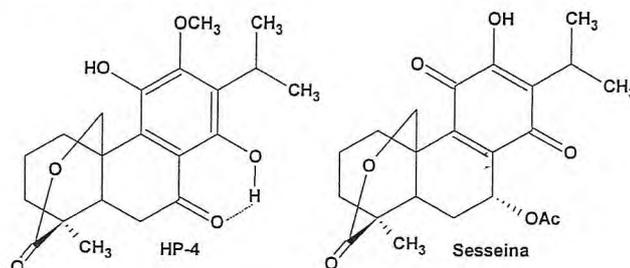
Uma última correlação que chama a atenção é a correlação dos hidrogênios da metoxila, 3,82 (H-21) ppm, com o carbono em 153,0 (C-12) ppm, a três ligações, definindo sua conexão. A correlação do hidrogênio hidroxílico em 5,81 ppm com 126,5 (C-9) e 153,0 (C-12) ppm, a três ligações, e com 140,4 (C-11) ppm, a duas

ligações, comprova que esta hidroxila deve estar na posição 11 e *orto* a metoxila que se encontra em C-12.

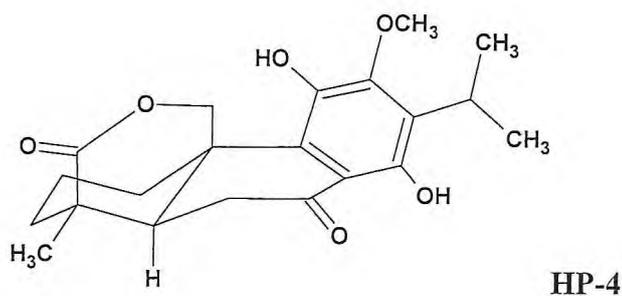


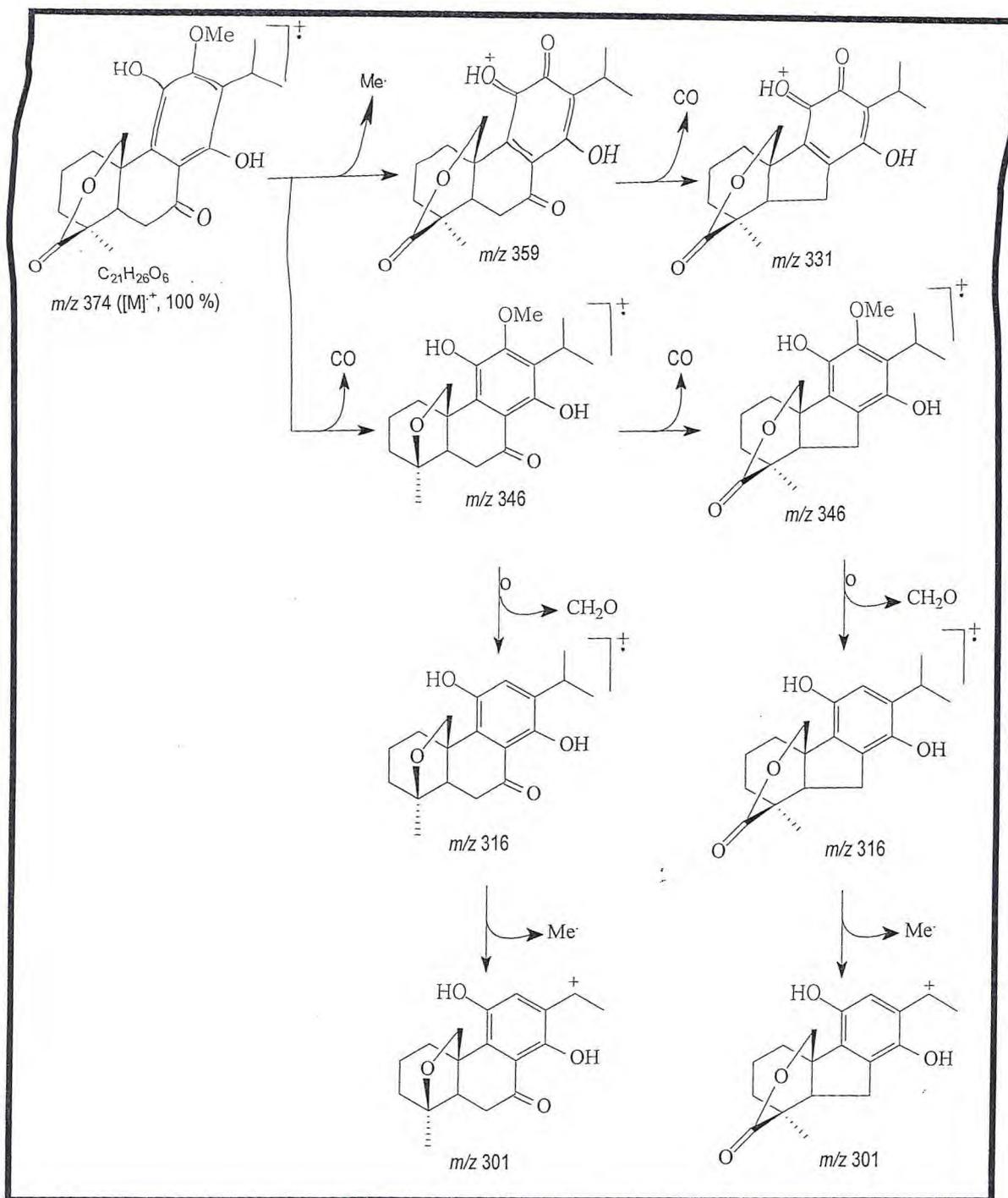
Correlações importantes hidrogênio-carbono, a mais de uma ligação, observadas para HP-4 através do experimento HMBC.

Desta forma sugere-se a estrutura do 11,14-diidroxi-12-metoxi-7-oxo-8,11,13-abietatrien-19,20-olídeo para HP-4. Levantamento bibliográfico revelou a existência de diterpenos abietanos quinônicos contendo a função lactona entre os carbonos 19 e 20 como na estrutura da sesseina (ver dados de RMN ^1H e ^{13}C no Capítulo 3) (CÁRDENAS E RODRÍGUEZ-HAHN, 1995). Nenhum relato foi encontrado na literatura da estrutura proposta para HP-4, portanto no melhor do nosso conhecimento, a estrutura apresentada é inédita.



A figura abaixo mostra a estrutura proposta para HP-4, em sua provável conformação. Esta estereofórmula foi sugerida devido a presença do heterociclo formado sobre o anel A e devido a planaridade necessária entre a carbonila e o anel aromático para que a conjugação e a quelatação observadas nos dados experimentais sejam efetivas.





Quadro 10 – Possíveis caminhos de fragmentação para HP-4 no espectrômetro de massa

TABELA 38 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-4
(HMQC)

δ_C	DEPT	$^1H/HMQC$	
202,4	C=O		
175,6	C=O		
158,9	C=C-O		
153,0	C=C-O		
140,4	C=C-O		
128,6	C=C		s
126,5	C=C		
112,4	C=C		s
72,8	CH ₂	5,03	d ($J=12,5$ Hz)
		4,59	dd ($J=12,5$ e $2,0$ Hz)
62,7	CH ₃ O	3,82	s
46,7	CH	2,22	dd ($J=16$ e $3,4$ Hz)
43,1	C		
40,6	CH ₂	2,02	m
		1,63	ddd ($J=21$; $13,7$ e $4,3$ Hz)
38,8	C		
37,1	CH ₂	2,84	dd ($J=16$ e $3,4$ Hz)
		2,54	t ($J=16$ Hz)
35,1	CH ₂	3,61	dt ($J=13,6$ Hz)
		1,48	ddd ($J=13,6$; $4,7$ e $2,0$ Hz)
26,6	CH		hepteto ($J=7,0$ Hz)
23,4	CH ₃		s
21,4	CH ₂	1,95	m
		1,86	m
20,6	CH ₃	1,41	d ($J=7,0$ Hz)
20,6	CH ₃	1,39	d ($J=7,0$ Hz)
OH		5,81	s
OH		12,96	s

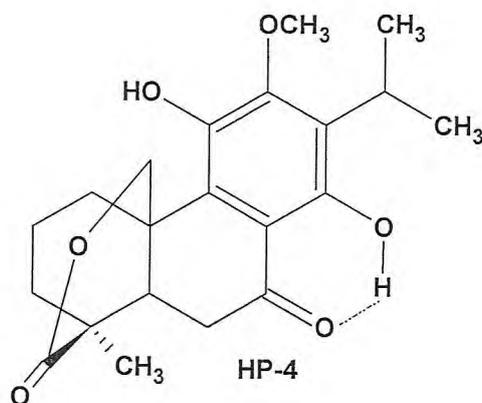
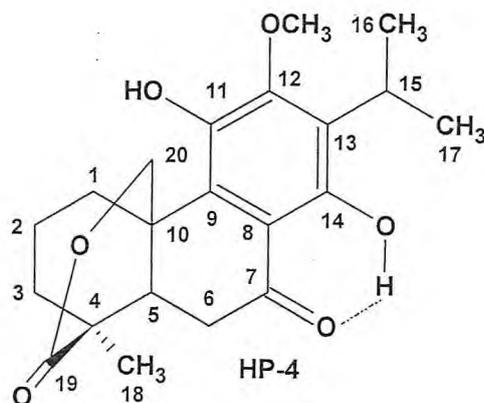


TABELA 39 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-4 (HMBC)

#C	¹³ C BB		HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	35,1	3,61 1,48		H-3, H-20
2	21,4	1,95 1,86	H-1, H-3	H-1
3	40,6	2,02 1,63		H-18
4	43,1		H-3, H-5, H-18	H-2, H-6
5	46,7	2,22	H-6	H-1, H-3, H-18, H-20
6	37,1	2,84 2,54		
7	202,4		H-6	
8	112,4			H-6, OH (12,96)
9	126,5			H-20, OH (5,81)
10	33,8		H-1, H-5, H-20	H-2, H-6
11	140,4		OH (5,81)	
12	153,0			H-15, H-21, OH (5,81)
13	128,6		H-15	H-16, H-17, OH (12,96)
14	158,9		OH (12,96)	H-15
15	26,6	3,33	H-16, H-17	
16	20,6	1,41	H-15	H-17
17	20,6	1,39	H-15	H-16
18	23,4	1,27		H-3, H-5, H-20
19	175,6			
20	72,8	5,03 4,59		H-5
21	62,7	3,82		
OH		5,81		
OH		12,96		



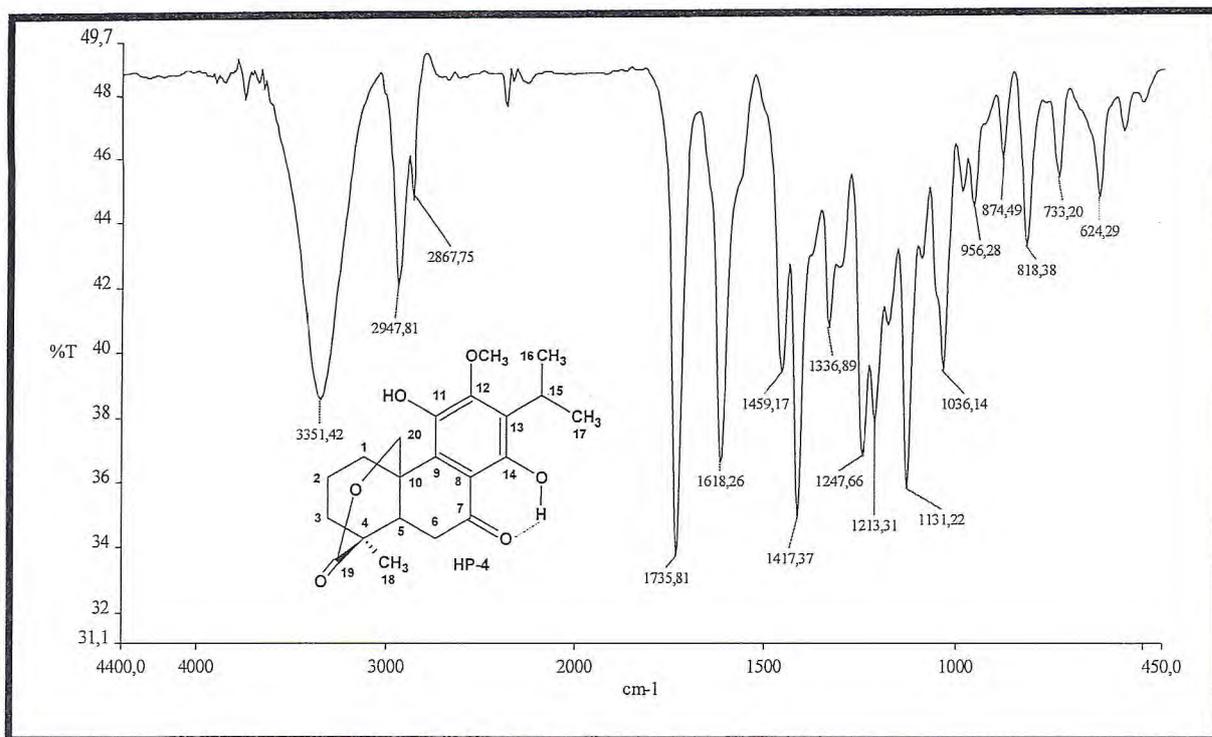


Figura 147 – Espectro de IV (KBr) de HP-4

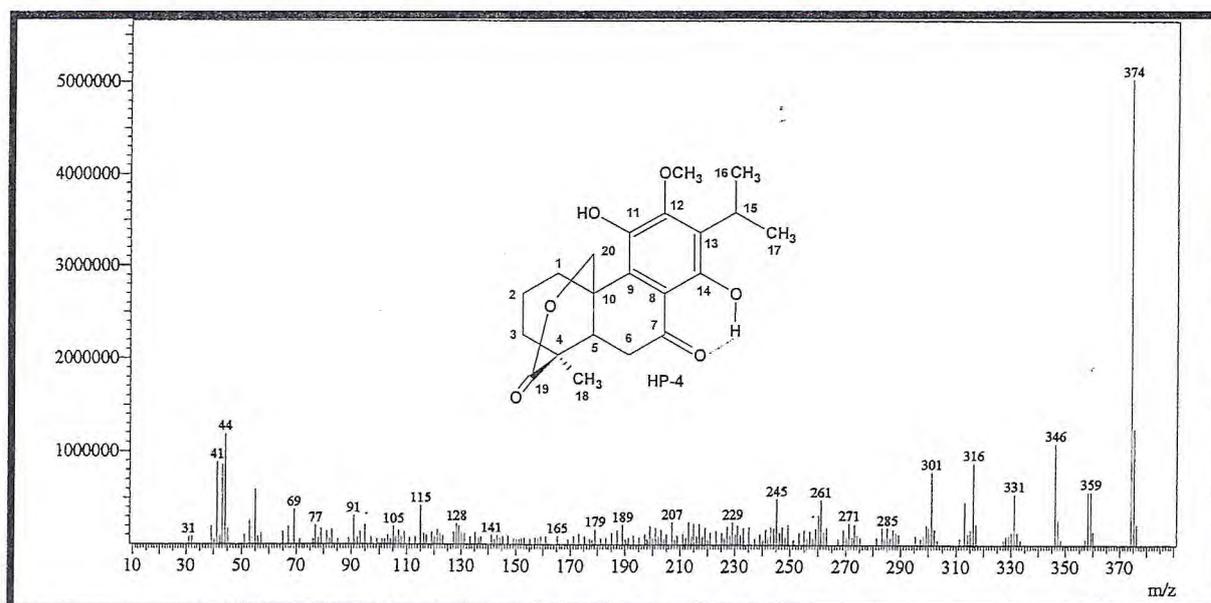


Figura 148 – Espectro de massa de HP-4

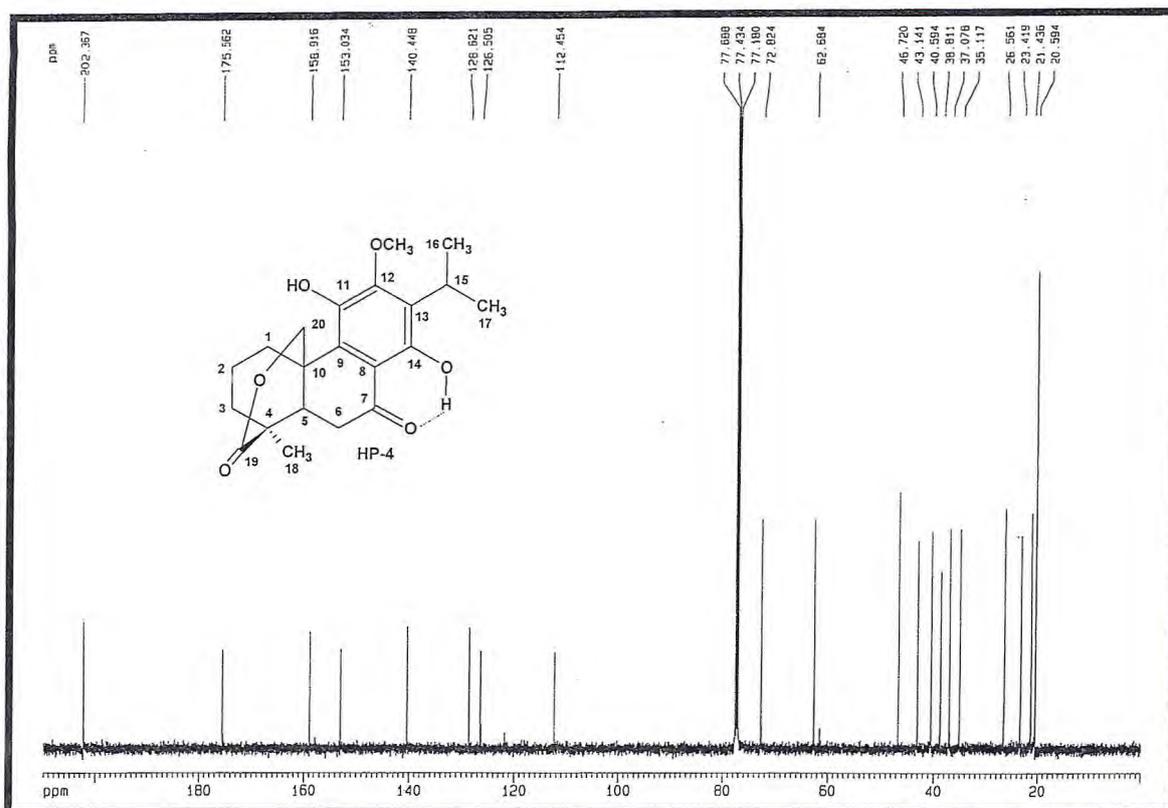


Figura 149 – Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, CDCl_3) de HP-4

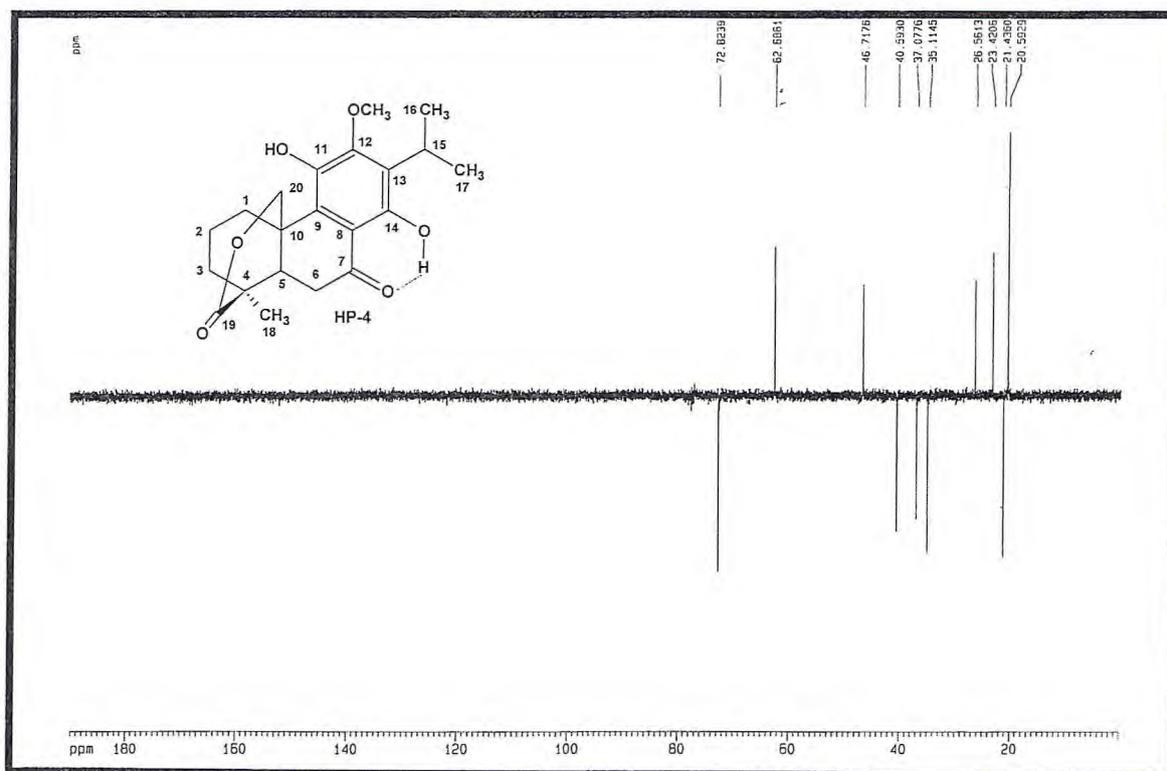


Figura 150 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) de HP-4

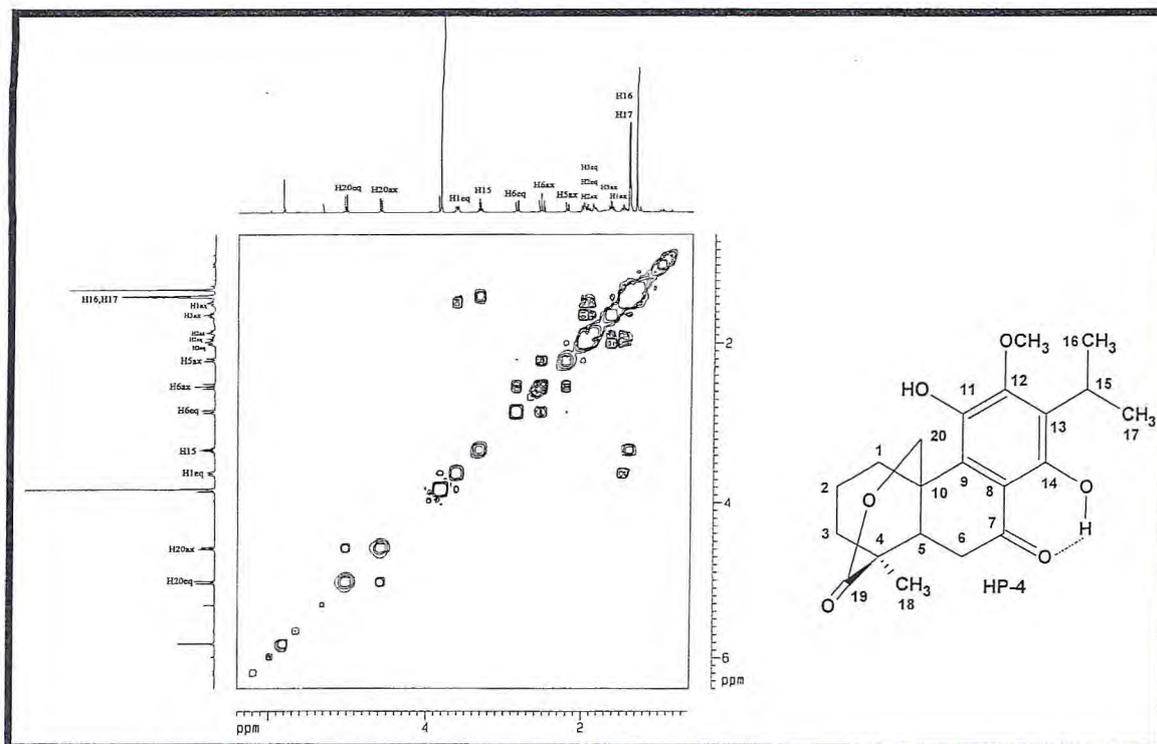


Figura 153 – Espectro de COSY (500 MHz, CDCl₃) de HP-4

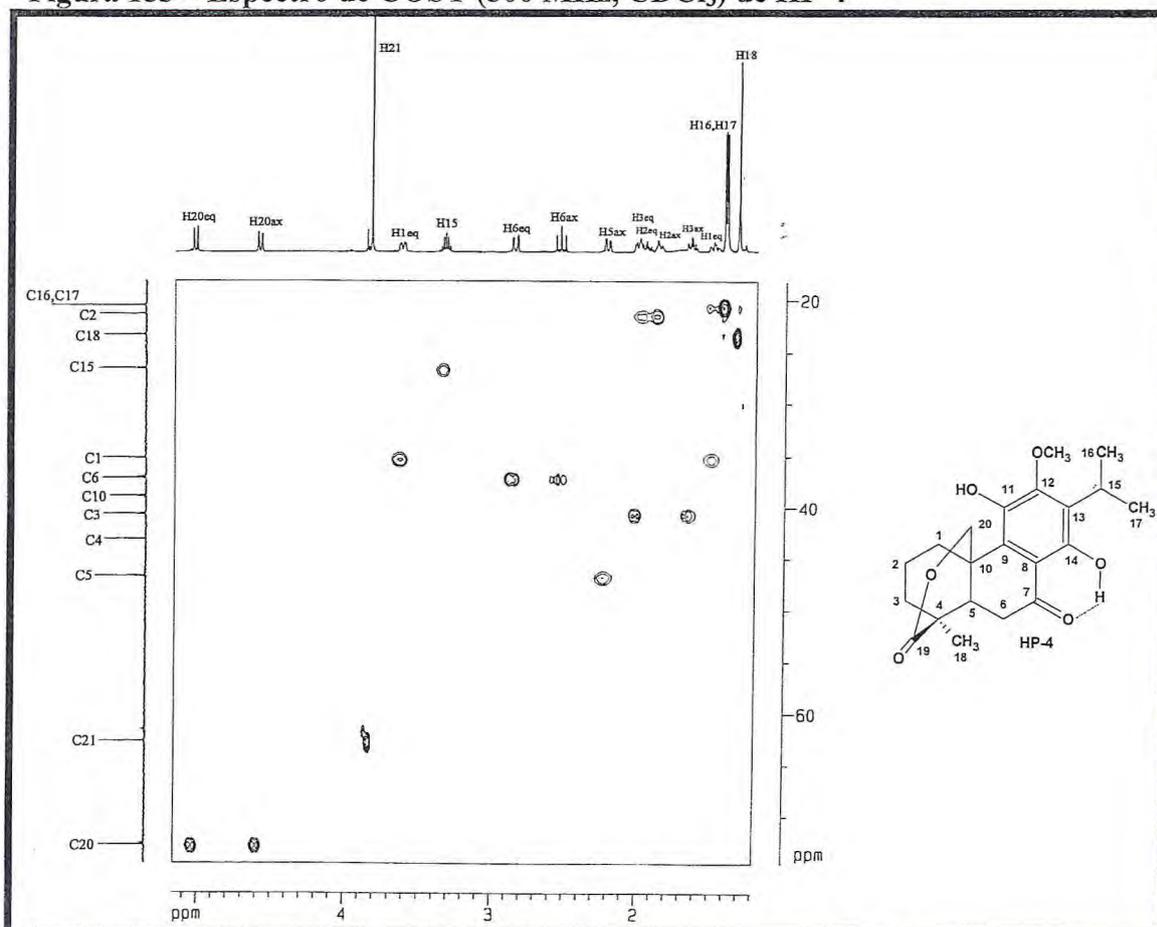


Figura 154 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HP-4

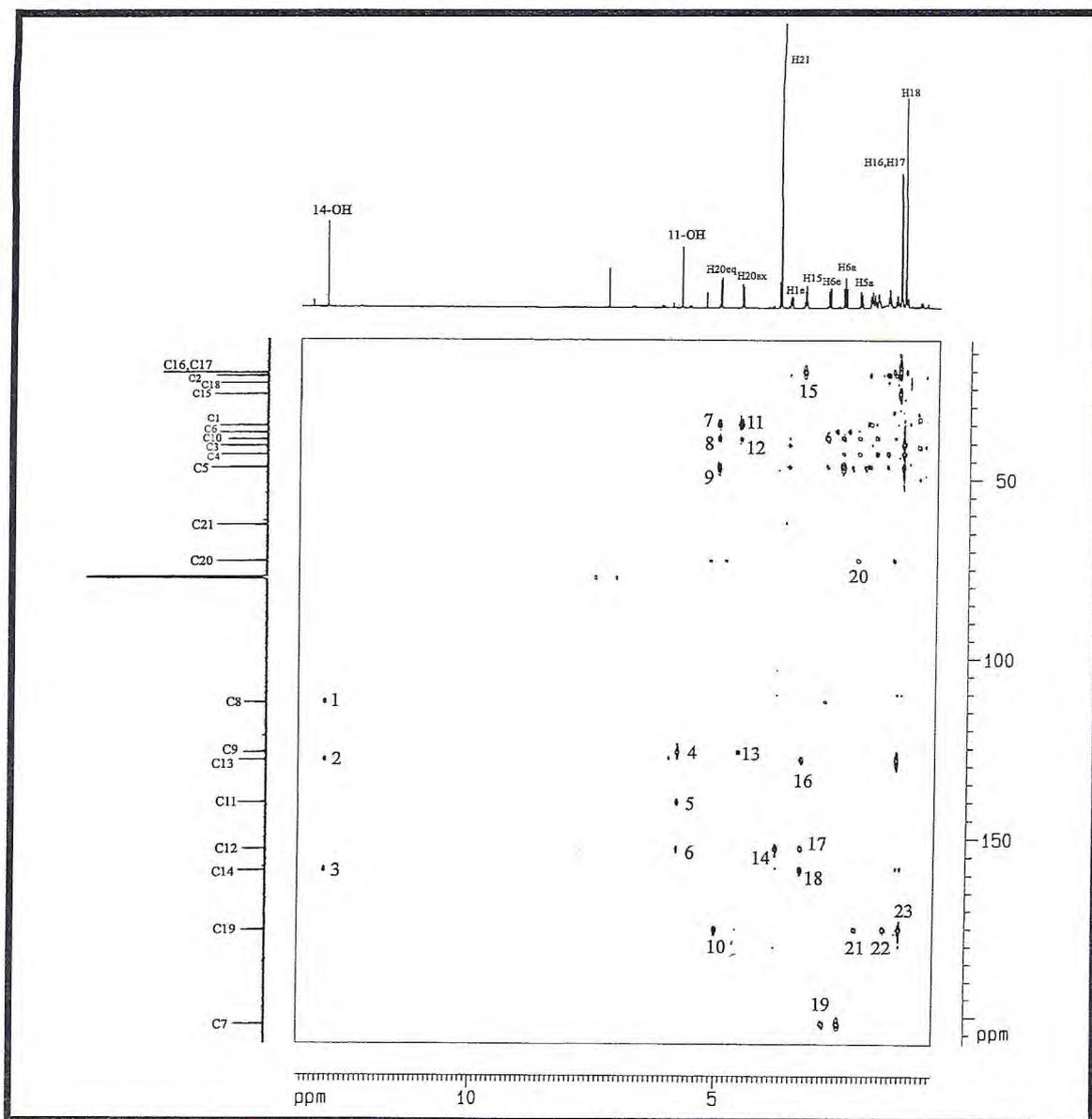
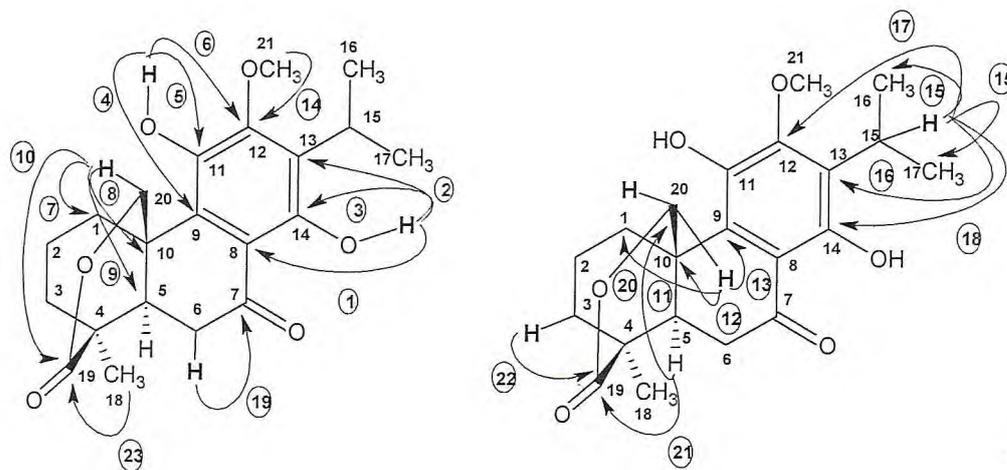


Figura 155 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HP-4



HP-4

4.2.11. Determinação Estrutural de HP-5

O fracionamento cromatográfico exaustivo da fração denominada HPER-D, obtida da partição líquido-líquido do extrato etanólico com o solvente diclorometano, das raízes de *Hyptis platanifolia*, permitiu o isolamento de um material cristalino amarelo de ponto de fusão 147,0-150,8 °C, $[\alpha]_D^{20} = + 112$ (c. 0,09, CHCl₃), homogêneo em CCD, denominado HP-5.

O espectro de RMN ¹³C BB de HP-5 (125 MHz, CDCl₃) (Fig. 158, p. 182), mostra 21 linhas espectrais que após serem comparadas com o espectro de RMN ¹³C DEPT 135° de HP-5 (Fig. 159, p. 182) permitiu a identificação de treze sinais referentes a carbonos saturados, na faixa de 14,5 a 62,5 ppm, sendo o sinal mais desprotegido, em 62,5 ppm referente a carbono sp³ oxigenado. Oito sinais referentes a carbonos insaturados, na faixa de 112,6 a 205,0 ppm, também foram observados, dois dos quais 205,0 e 204,5 ppm atribuídos a carbonilas, uma delas de aldeído. Os outros seis sinais foram atribuídos à presença de um anel aromático. Foram identificados três carbonos monohidrogenados, quatro carbonos metilênicos, cinco carbonos metílicos e conseqüentemente nove carbonos não hidrogenados.

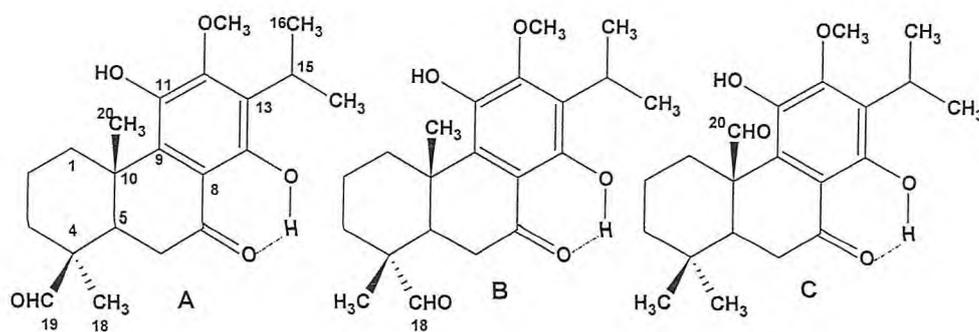
TABELA 40 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) de HP-5 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
204,5	205,0	37,8	62,5
159,0	42,3	35,9	20,7
152,7	26,3	32,2	20,6
139,1		17,9	18,7
134,1			14,6
127,1			
112,7			
49,8			
39,4			
9 C	3 CH	4 CH ₂	5 CH ₃
			C ₂₁ H ₂₆
3x(O-C=)	-HC=O		OCH ₃
-C=O			C ₂₁ H ₂₈ O ₅

A análise do espectro de absorção na região do IV de HP-5 (**Fig. 156, p. 181**) permitiu observar bandas de estiramento O-H em 3341 cm^{-1} e de estiramento C-H de alifáticos em 2936 cm^{-1} , bem como bandas de estiramento de C=O em 1727 cm^{-1} , absorção característica de carbonila de aldeído, ratificando o observado nos dados anteriores, e em 1619 cm^{-1} de cetona conjugada e quelada. O estiramento C-O em 1243 cm^{-1} e bandas esqueléticas de deformação angular de anel benzênico em 613, 800, 882 cm^{-1} , fora do plano, e 1060, 1100 e 1182, no plano.

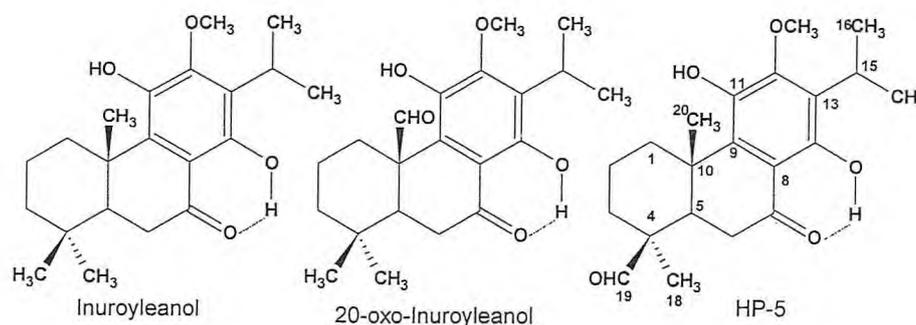
Análise do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (**Fig. 160, p. 183**) de HP-5 mostrou sinais referentes a hidrogênio aldeídico em 9,26 ppm, a hidrogênio de hidroxila quelada em 13,30 ppm, sinais em 1,43 (s, 3H) e 1,22 ppm (s, 3H) referentes a grupos metílicos e o sinal em 3,80 ppm (s, 3H) referente a metoxila. A presença de um hepteto em 3,31 ppm (1H) e dubletos em 1,39 e 1,41 ppm (3H cada) comprova a existência de um grupo isopropílico. Análise do espectro COSY (**Fig. 162, p. 184**) de HP-5 revela acoplamentos geminais dos hidrogênios 3,38 com 1,31 ppm e 2,73 com 2,14 ppm. Mostra ainda, os acoplamentos entre os hidrogênios em 2,73 e 2,14 ppm com o hidrogênio em 2,40 ppm e dos hidrogênios em 1,51 e 1,42 ppm com os hidrogênios em 1,83 e 1,77 ppm, conectados ao mesmo carbono, observação retirada do espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC de HP-5 (**Fig. 163, p. 184**).

A partir dos dados obtidos, foi possível sugerir a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$ para HP-5 que concorda com o peso molecular 360 u.m.a. observado no espectro de massa (**Fig. 157, p. 181**) como sendo o pico base. Esta fórmula molecular indica um índice de deficiência de hidrogênios igual a oito, neste caso temos duas carbonilas que totalizam duas deficiências, um anel benzênico que totaliza quatro deficiências, restando apenas duas deficiências que foram atribuídas a dois anéis. Estes dados são alusivos à estrutura de um diterpeno tricíclico de esqueleto abietano, com um anel benzênico, uma carbonila conjugada e quelada, uma metoxila e uma função aldeídica. Os dados obtidos permitem propor três posições possíveis para o carbono do aldeído C-18, C-19 e C-20.



A localização do grupo aldeído na posição 19 foi obtida, resultando da análise do espectro HMBC de HP-5 (Fig. 164, p. 185) que apresenta um contorno bastante intenso referente ao acoplamento do hidrogênio aldeídico em 9,26 ppm com o carbono em 49,8 ppm (C-4) que também exibe correlações com o hidrogênio em 2,10 ppm atribuído a H-5 e com a metila em 1,23 ppm atribuída à H-18. O hidrogênio 5 ainda exibe acoplamento, à três ligações, com os carbonos 18,7 (C-20), 14,6 (C-18) e 205,0 ppm (C-19). Outros acoplamentos importantes são dos hidrogênios metílicos em 1,43 ppm (H-20), à duas ligações, com 39,4 ppm (C-10), e à três ligações com 35,9 (C-1), 42,3 (C-5) e 134,1 ppm (C-9). A partir destes dados foi proposta a fórmula estrutural A para HP-5. A posição da metoxila no anel aromático foi confirmada pela correlação entre os hidrogênios metoxílicos (3,82 ppm) com o carbono em 152,7 ppm (C-12), juntamente com as correlações do hidrogênio hidroxílico (5,76 ppm) com os carbonos 139,1 ppm (C-11), à duas ligações e 134,1 (C-9) e 152,7 ppm (C-12), à três ligações. As outras correlações observadas encontram-se descritas na Tabela 43 (p. 180).

Além das informações fornecidas até o presente momento, foi imprescindível na determinação estrutural de HP-5 a comparação dos dados obtidos com os dados da literatura para o Inuroyleanol (HP-3), diterpeno não funcionalizado nas três posições e com os dados do 20-oxo-Inuroyleanol (FRONTANA, 1994) para concluirmos que HP-5 trata-se do 11,14-diidroxí-12-metoxi-18-oxo-8,11,13-abietatrien-7-ona (Tabela 41, p. 177).



Terpenos com funções aldeídicas são comuns na literatura, o 20-oxo-Inuroyleanol foi isolado de *Salvia coulteri*, uma espécie da família Labiatae encontrada no México (FRONTANA, 1994), no entanto, em espécies de *Hyptis* não existem relatos de diterpenos deste tipo e, no melhor do nosso conhecimento, a estrutura proposta para HP-5 é inédita na literatura. Uma estereofórmula para HP-5 é mostrada na estrutura abaixo.

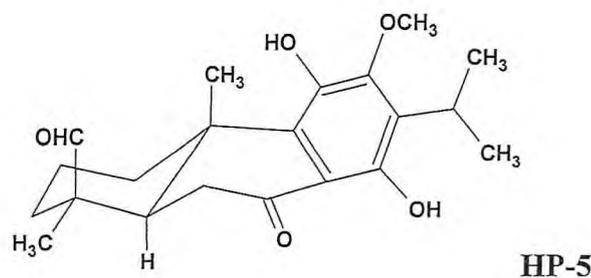
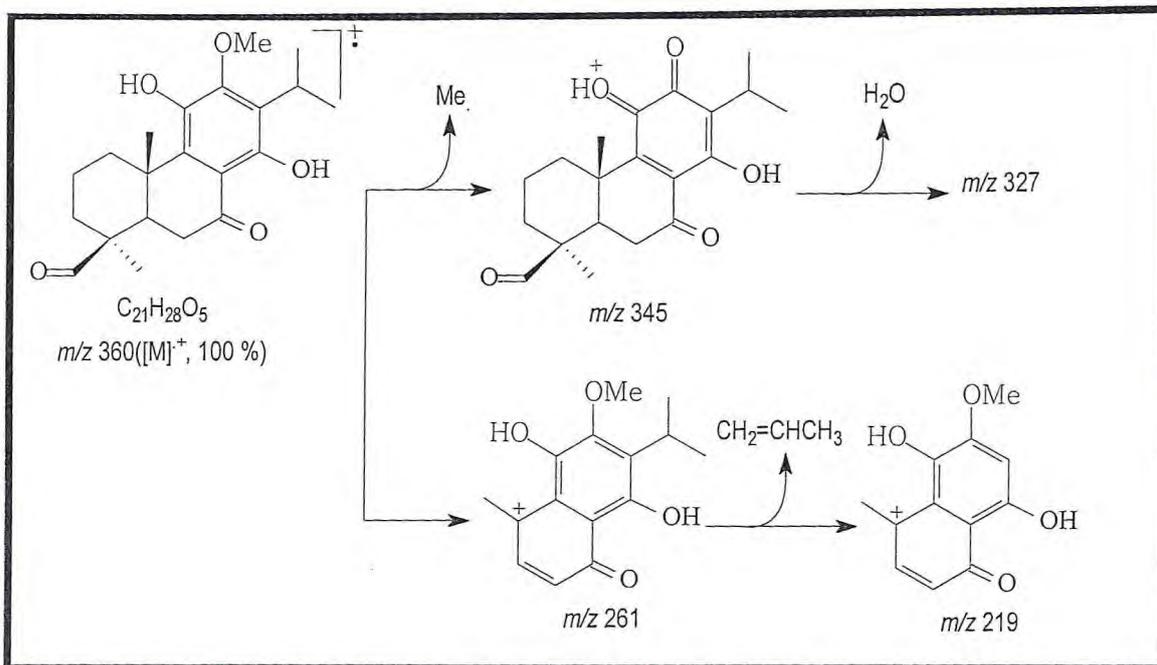


TABELA 41 - Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP-5 comparados com os valores de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Inuroyleanol e do 20-oxo-Inuroyleanol (75 MHz, CDCl_3) (FRONTANA, 1994)

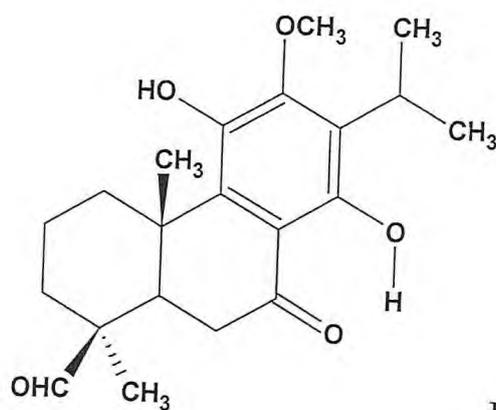
C	Inuroyleanol	20-oxo-Inuroyleanol	HP-5
1	36,4	30,9	35,9
2	19,0	19,4	17,9
3	41,1	40,7	32,2
4	33,4	33,7	49,8
5	49,6	50,8	42,3
6	35,8	34,8	37,8
7	206,1	204,7	204,5
8	118,3	112,8	112,7
9	135,8	124,0	134,1
10	40,3	53,6	39,4
11	138,5	140,1	139,1
12	152,1	152,8	152,7
13	126,1	128,9	127,1
14	158,2	158,8	159,0
15	26,0	25,9	26,5
16	20,3	20,2	20,7
17	20,3	20,2	20,6
18	33,1	31,4	14,6
19	21,5	21,6	205,0
20	17,9	200,5	18,7
OCH ₃	62,0	60,0	62,5



Quadro 11 – Possíveis caminhos para fragmentação de HP-5 no espectrômetro de massa

TABELA 42 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-5 (HMQC)

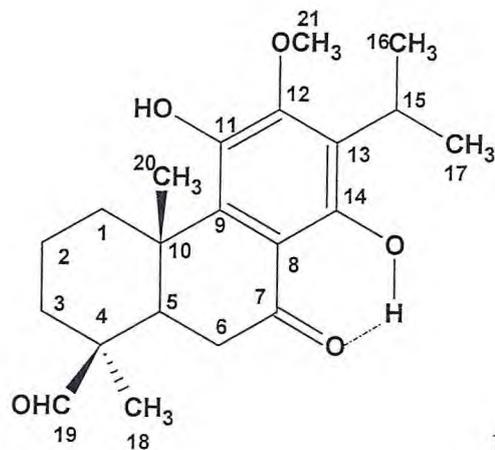
δ_C	DEPT	$^1H/HMQC$	
205,0	HC=O	9,26	s
204,5	C=O		
159,0	C=C-O		
152,7	C=C-O		
139,1	C=C-O		
134,1	C=C		
127,1	C=C		
112,7	C=C		
62,5	CH ₃ O	3,82	s
49,8	C		
42,3	CH	2,40	dd ($J=14,7$ e $2,5$ Hz)
39,4	C		
37,8	CH ₂	2,73	dd ($J=14,7$ e $17,1$ Hz)
		2,14	dd ($J=2,5$ e $17,1$ Hz)
35,9	CH ₂	3,38	dt ($J=2,8$ e $10,9$ Hz)
		1,51	m
32,2	CH ₂	1,53	m
		1,42	m
26,5	CH	3,32	hepteto ($J=7,1$ Hz)
20,7	CH ₃	1,41	d ($J=7,1$ Hz)
20,6	CH ₃	1,40	d ($J=7,1$ Hz)
18,7	CH ₃	1,43	s
17,9	CH ₂	1,83	m
		1,77	m
14,6	CH ₃	1,23	s
OH		5,76	sl
OH		13,30	s



HP-5

TABELA 43 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-5 (HMBC)

#C	^{13}C BB		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	35,9	3,38 1,51		H-20
2	17,9	1,83 1,77		
3	32,2	1,53 1,42		H-18
4	49,8		H-5, H-18, H-19	
5	42,3	2,40	H-6	H-18, H-20
6	37,8	2,73 2,14		
7	204,5		H-6	
8	112,7			OH (13,30)
9	134,1			H-20, OH (5,76)
10	39,4		H-5, H-20	H-6
11	139,1		OH (5,76)	
12	152,7			H-15, H-21, OH (5,76)
13	127,1		H-15	OH (13,30)
14	159,0		OH (13,30)	H-15
15	26,5	3,32	H-16, H-17	
16	20,7	1,41	H-15	H-17,
17	20,6	1,40	H-15	H-16
18	14,6	1,23		H-5
19	205,0	9,26		H-5, H-18
20	18,7	1,43		H-5
21	62,5	3,82		
OH		5,76		
OH		13,30		



HP-5

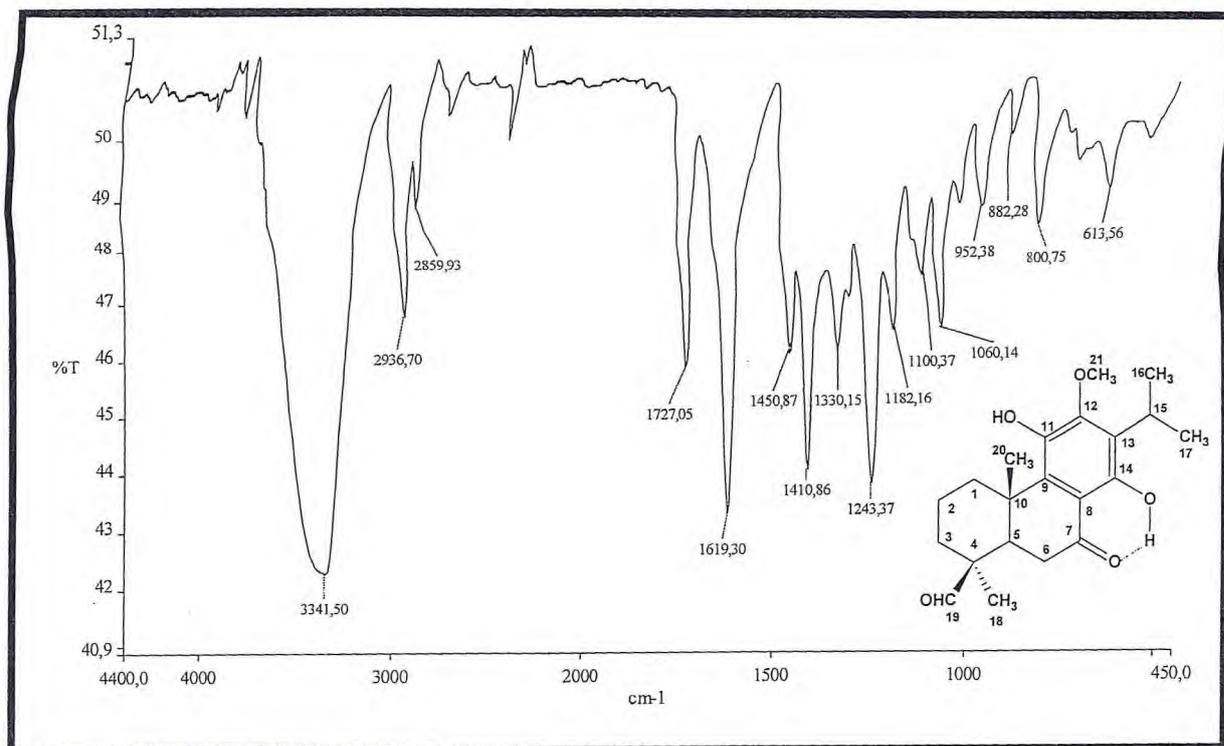


Figura 156 – Espectro de IV (KBr) de HP-5

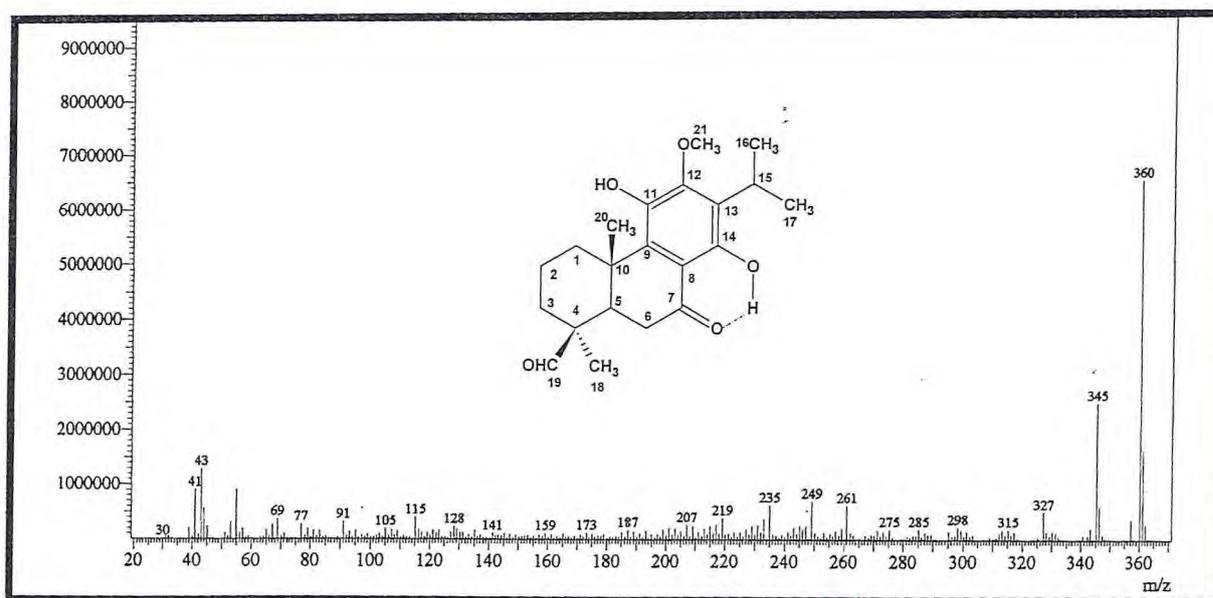


Figura 157 – Espectro de massa de HP-5

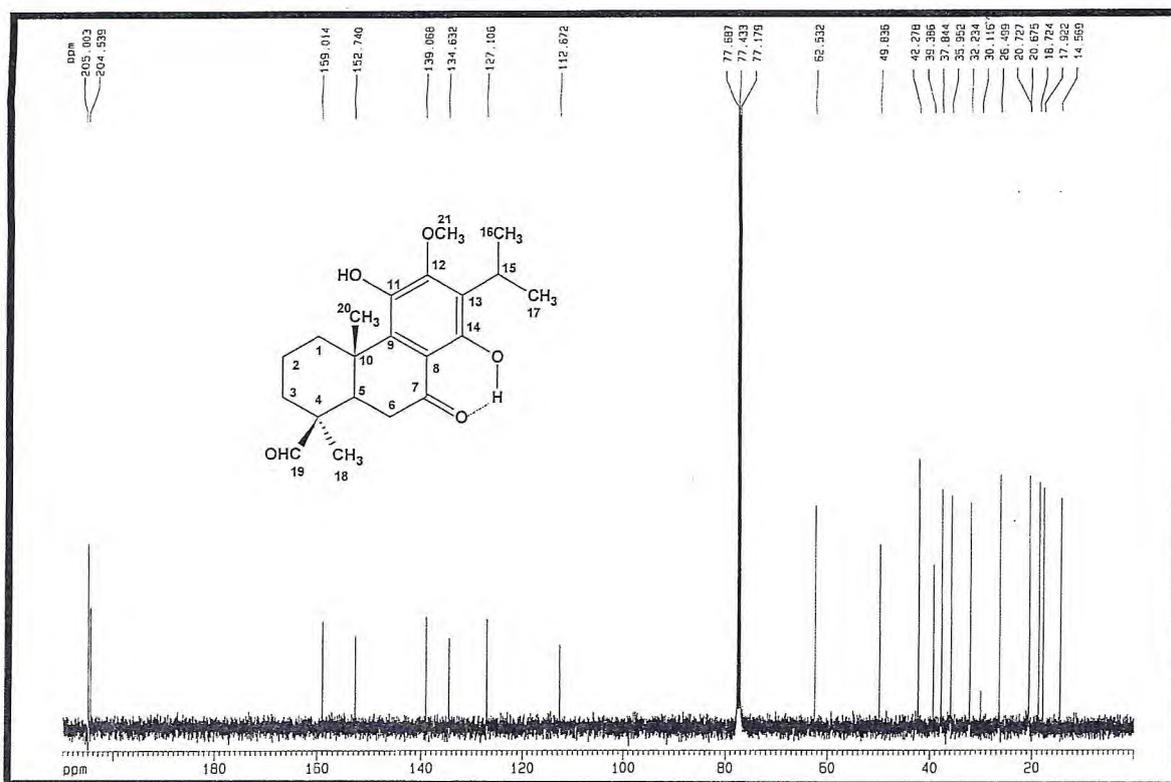


Figura 158 – Espectro de RMN ¹³C BB (125 MHz, CDCl₃) de HP-5

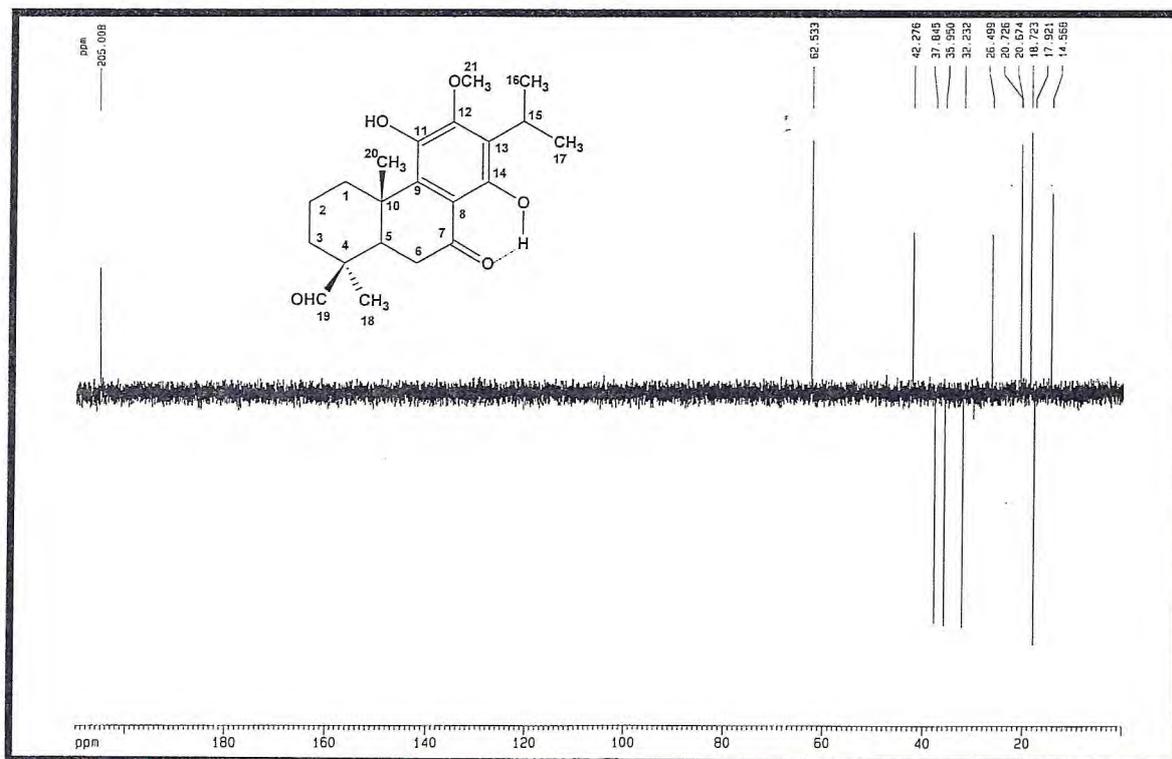


Figura 159 – Espectro de RMN ¹³C DEPT 135 (125 MHz, CDCl₃) de HP-5

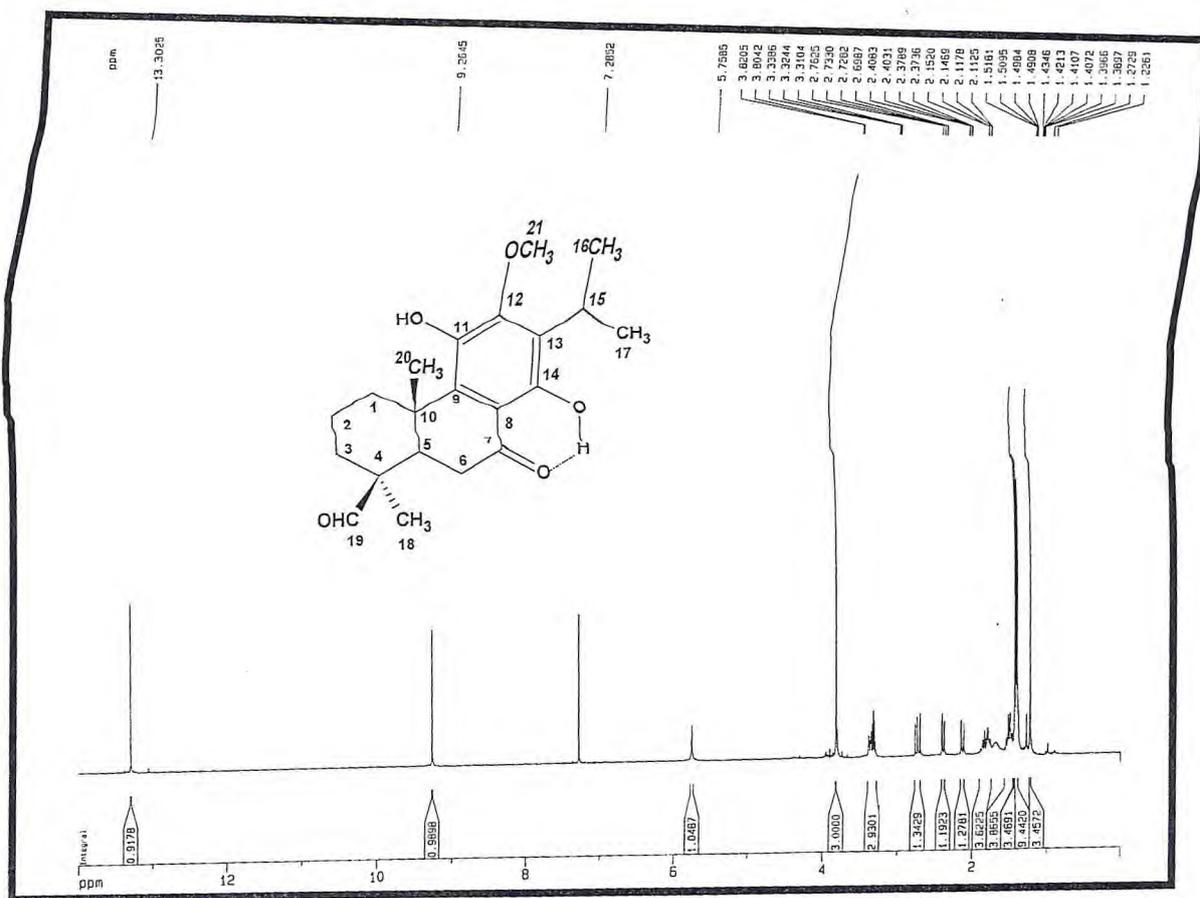


Figura 160 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HP-5

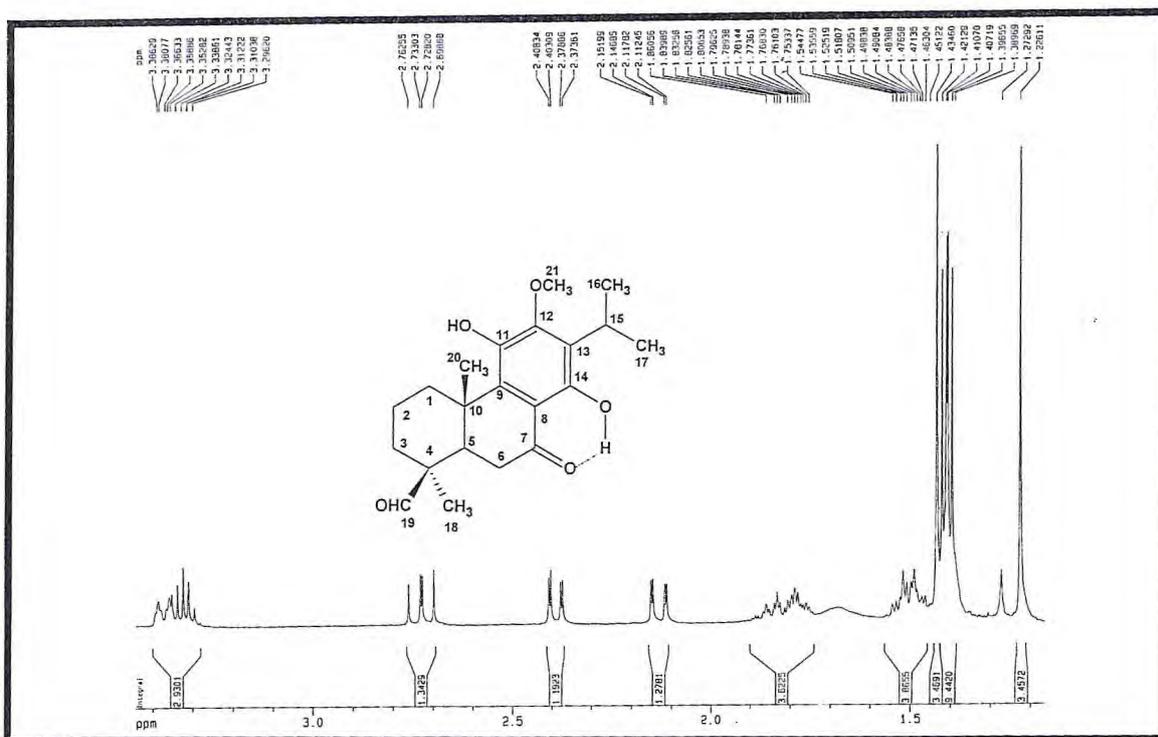


Figura 161 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expansão de HP-5

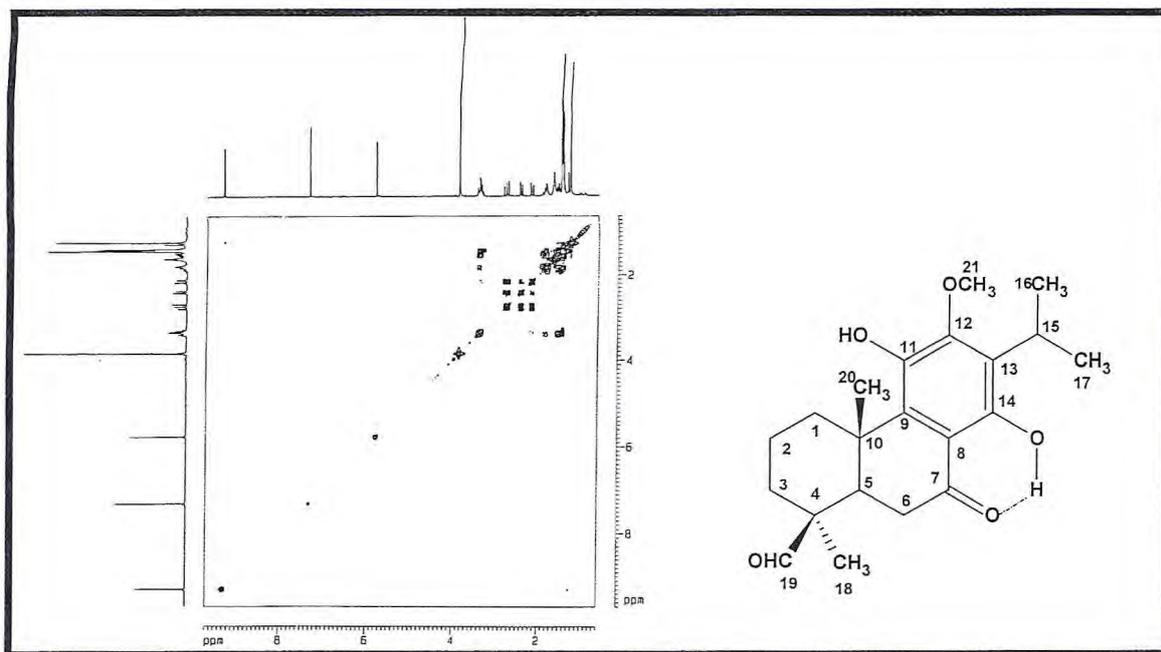


Figura 162 – Espectro de COSY (500 MHz, CDCl₃) de HP-5

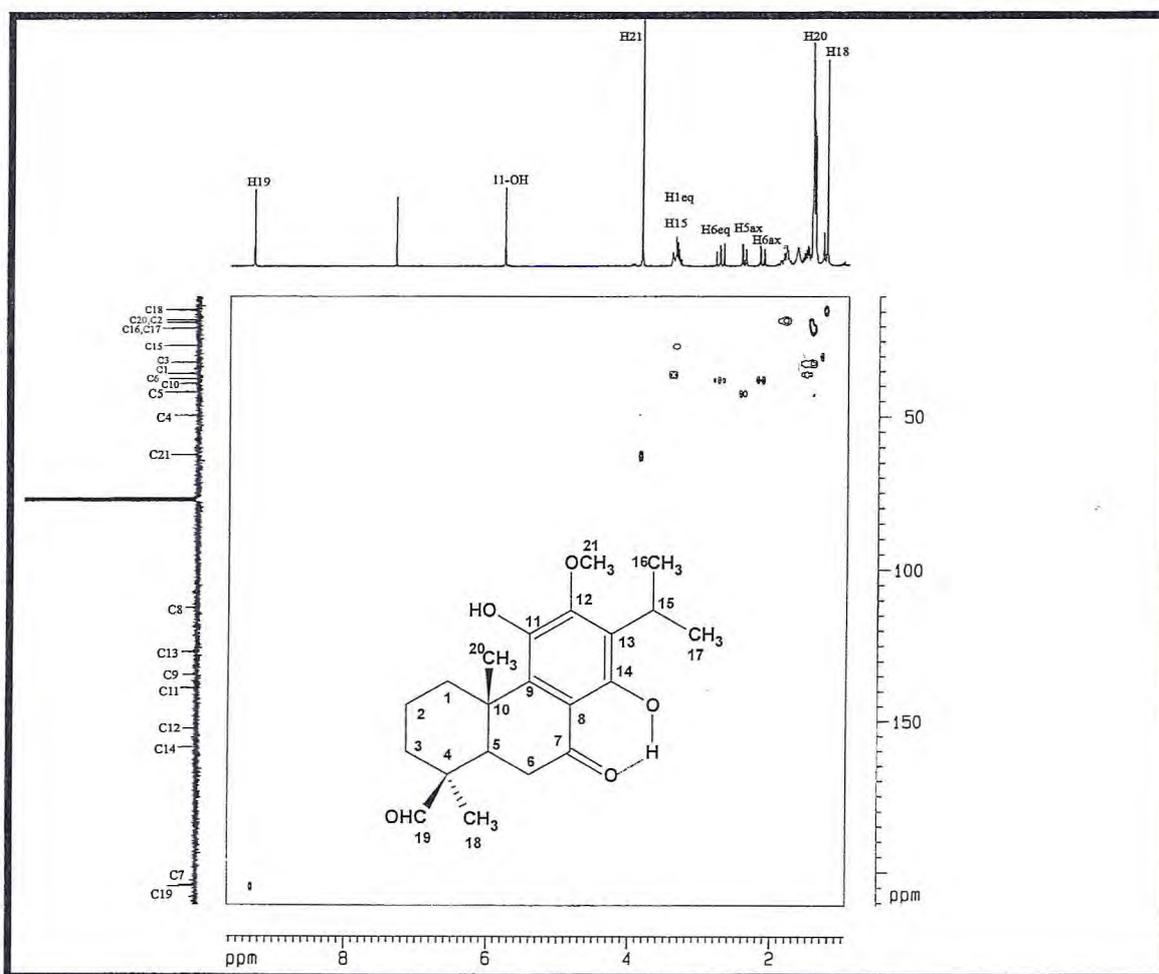


Figura 163 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HP-5

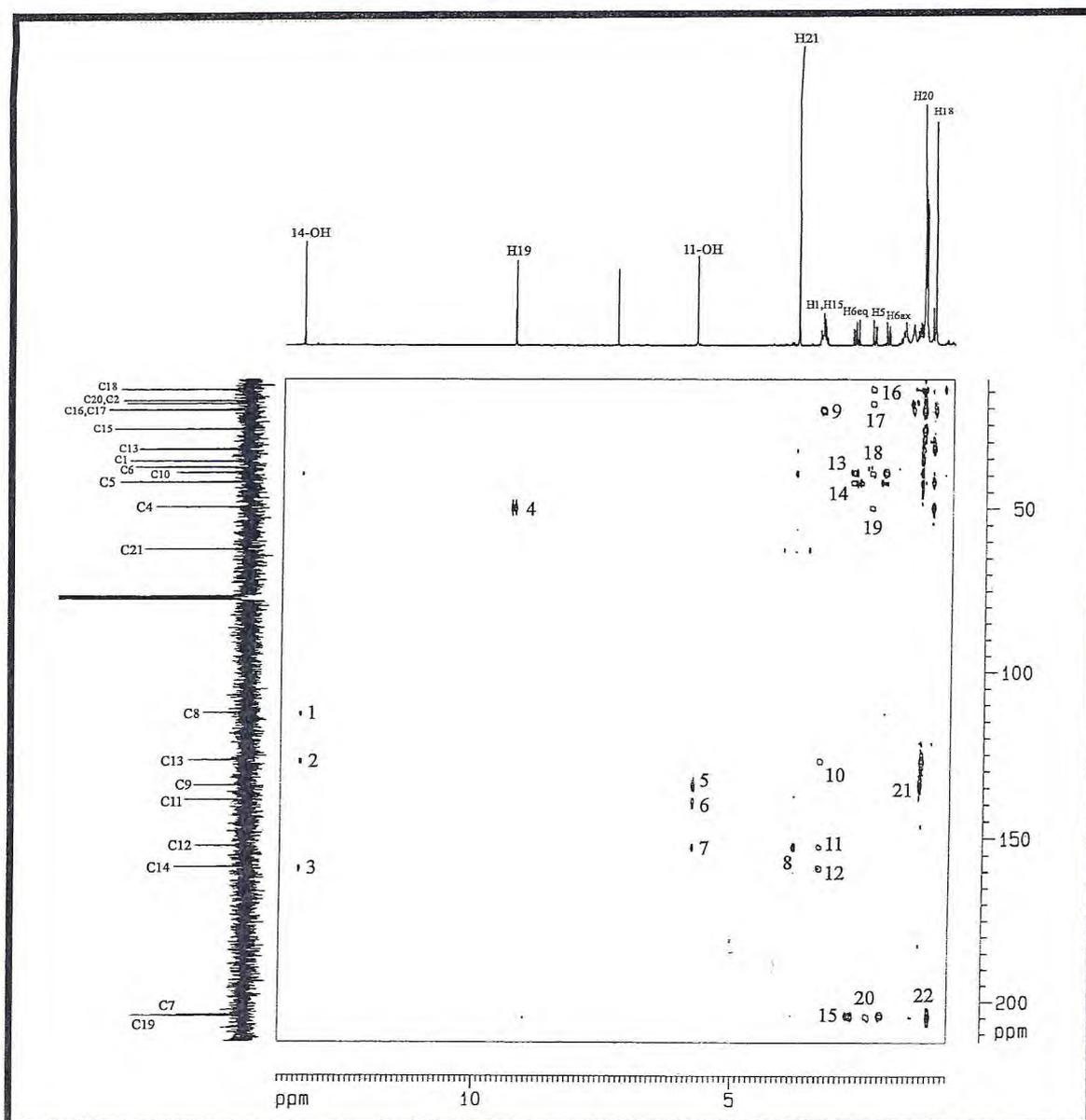
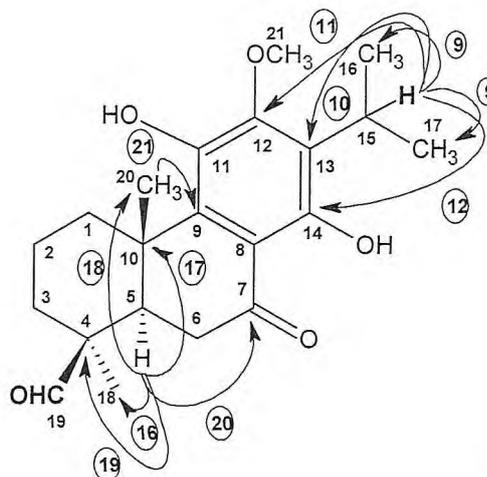
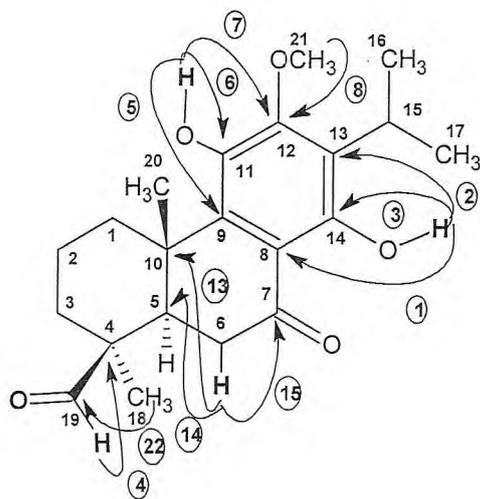


Figura 164 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de HP-5



HP-5

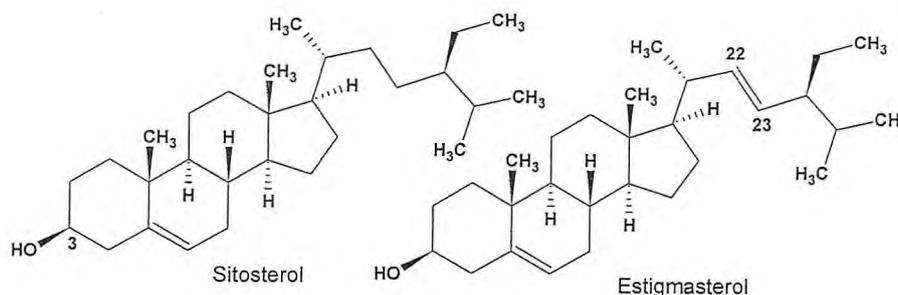
4.2.12. Determinação Estrutural de HP-6

Durante o fracionamento cromatográfico da fração clorofórmica do extrato hexânico dos talos de *Hyptis platanifolia*, obteve-se a substância denominada HP-6 na forma de cristais aciculares incolores, homogênea em CCD.

Em seu espectro de absorção na região do IV (Fig. 165, p. 187) HP-6 apresentou bandas em 3432 cm^{-1} , 2936 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} e em 1372 cm^{-1} , absorções semelhantes as observadas para HM-11, sugerindo que se tratava do mesmo composto.

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) (Fig. 166, p. 187) de HP-6 foi obtido e assim foram observados os sinais em 5,40 e 5,05 e 5,20 ppm, na região de hidrogênios olefínicos, um multiplete em 3,58 ppm, de hidrogênio ligado a carbono oxigenado e sinais característicos de hidrogênios de esteróides entre 0,70 e 2,40 ppm. Apenas com esses dados e comparação com amostra em CCD, foi possível identificar que HP-6 se tratava da mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol também nas mesmas proporções (2:1) como já foi discutido no Ítem 4.2.5 para HM-11.

Estes esteróides fazem parte do metabolismo secundário de diversas plantas superiores, e o isolamento a partir de *H. platanifolia* é descrito pela primeira vez neste trabalho.



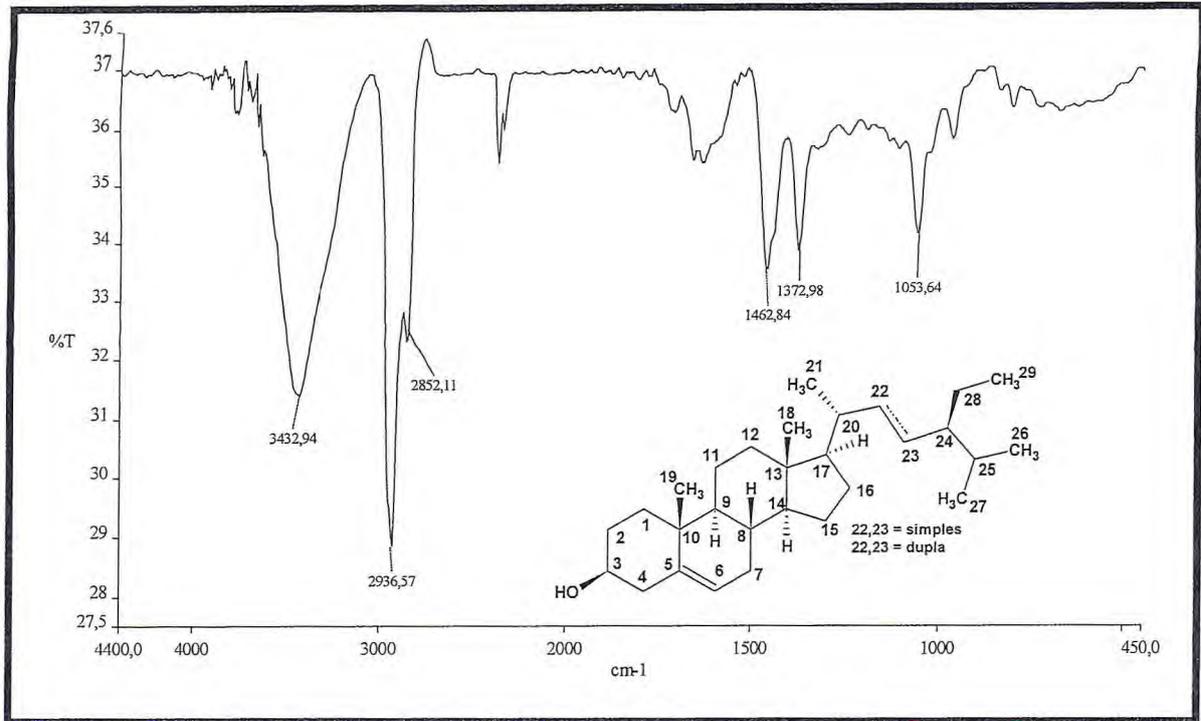


Figura 165 – Espectro de IV (KBr) de HP-6

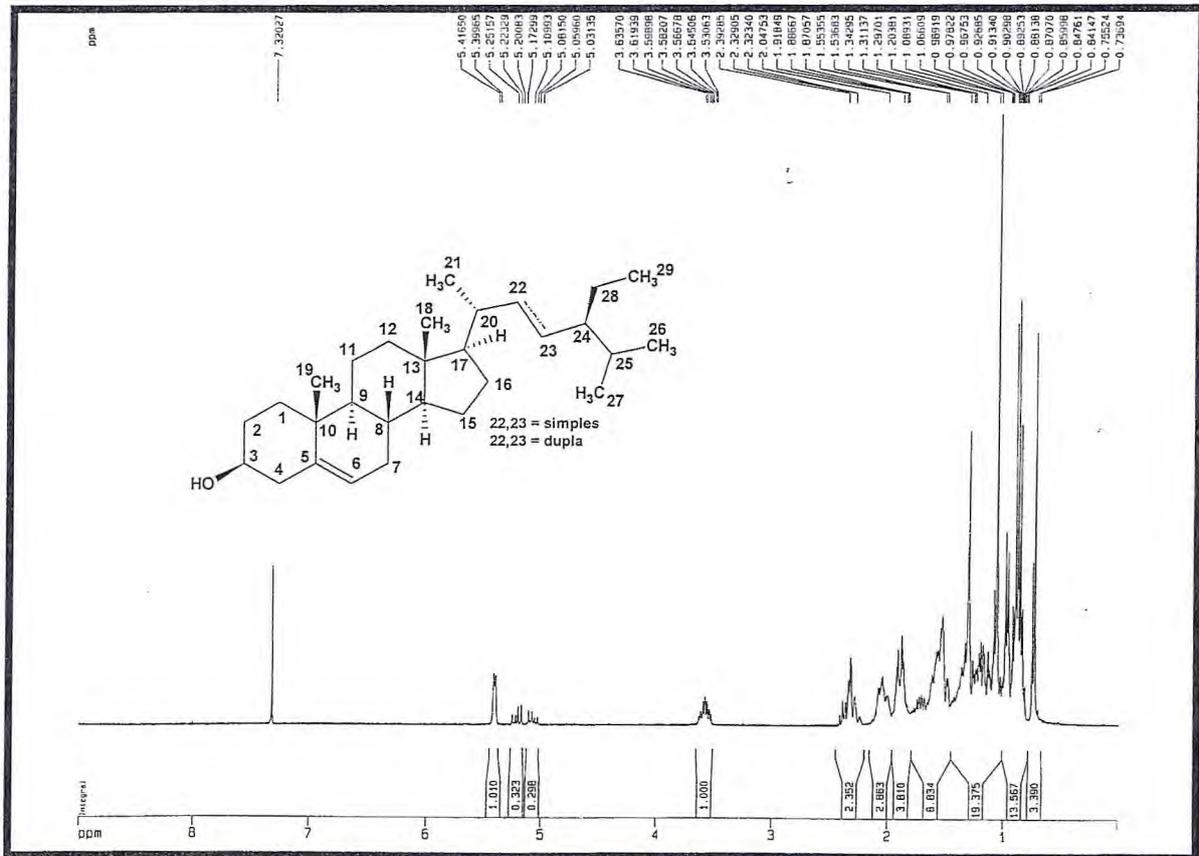


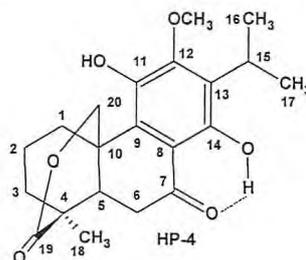
Figura 166 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de HP-6

4.2.13. Determinação Estrutural de HP-7

A fração clorofórmica, obtida do extrato hexânico das raízes, foi submetida a sucessivas cromatografias em gel de sílica, inclusive flash, e resultou no isolamento da substância denominada HP-7, que se mostrou na forma de cristais aciculares de coloração amarela intensa.

O espectro de absorção na região do IV de HP-7 (**Fig. 167, p. 195**) exibe bandas de deformação axial de ligação O-H em 3411 cm^{-1} e absorções de deformação axial de ligações C-O em 1254 cm^{-1} e C=O em 1621 cm^{-1} , esta última de carbonila conjugada e quelada, bem como estiramento da ligação C-H de alifáticos em 2929 cm^{-1} . São observadas ainda bandas esqueléticas de deformação angular fora do plano em 880, 814 e 613 cm^{-1} e no plano em 1178, 1097 e 1045 cm^{-1} e absorções referentes a estiramento da ligação C-H em 1459 e 1418 cm^{-1} , indicando a presença de anel aromático.

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (**Fig. 168, p. 195**) apesar de aparentemente complexo é possível observar sinais duplicados para todos os hidrogênios, sendo que um deles encontra-se em proporções majoritárias, pois cada sinal possui um outro semelhante com integração 0,37, denotando uma razão molar de 3:1. O sinal utilizado para o cálculo foi o singlete em 4,88 ppm (1H) que possui um sinal correspondente em 4,91 (0,37H) (o cálculo foi baseado na integração dos sinais). Neste espectro são observados singletos em 3,79 ppm, de metoxila e em 1,03 ppm de metila. Os sinais correspondentes a um grupo isopropila encontram-se em 3,31 ppm (1H) e 1,38 e 1,37 ppm (3H, cada). Os sinais em 4,37 (d, $J=11,6\text{ Hz}$) e 4,17 ppm (dd, $J=2,4$ e $11,6\text{ Hz}$), são para hidrogênios ligados a carbono oxigenado, os sinais em 3,36 (t, $J=16,3\text{ Hz}$) e 2,75 ppm (dd, $J=3,0$ e $16,3\text{ Hz}$), são referentes a um grupo metileno vizinho a carbonila, os demais sinais são referentes aos hidrogênios do anel ciclohexânico. Durante a tentativa de elucidação estrutural foi importante a comparação dos dados de HP-7 com os dados já analisados de HP-4 (**Ítem 4.2.10, p. 161**), pois possuíam sinais semelhantes, com exceção do hidrogênio em 4,88 (s, 1H), conectado a carbono oxigenado, do tipo lactol.



O espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, CDCl_3) (Fig. 169, p. 196) de HP-7, exibe um total de 39 linhas espectrais, sendo que 20 linhas são mais intensas com pequenas diferenças de deslocamentos químicos das menos intensas que aparecem no espectro como se fossem “sombras”. Comparação desses dados com aqueles do experimento de RMN ^{13}C DEPT 135° (Fig. 170, p. 196) permite inferir a presença de três carbonos metínicos, um deles provavelmente duplamente oxigenado, em 99,2 ppm. Cinco carbonos metilênicos, sendo que o sinal em 60,1 ppm concorda com a presença de um grupo metileno oxigenado como observado nos dados anteriores. Além de três carbonos metílicos, uma metoxila (62,5 ppm) e o sinal em 20,7 ppm dobrado, correspondendo as duas metilas do grupo isopropila. Por subtração dos espectros citados temos nove carbonos não hidrogenados, um deles carbonílico (205,7 ppm) e seis deles na região de carbonos aromáticos, concordando com as absorções observadas no espectro de Infravermelho.

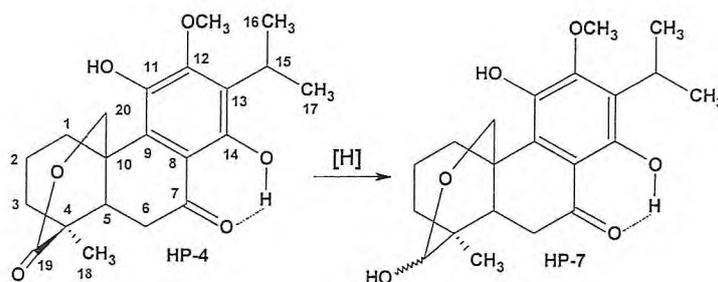
TABELA 44 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP-7 majoritário por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
205,7	99,2	60,1	62,5
158,2	44,4	39,8	23,9
152,4	26,5	37,8	20,7
140,3		35,1	20,7
128,6		22,0	
127,5			
113,5			
39,3			
36,6			
9 C	3 CH	5 CH ₂	4 CH ₃
			C ₂₁ H ₂₅
3x(O-C=) (C=O)	O-CH-O	CH ₂ -O	OCH ₃
			C ₂₁ H ₂₈ O ₆

No espectro de RMN bidimensional COSY de HP-7 (Fig. 171, p. 197) observam-se as intensas correlações de H-15 (3,31 ppm) com H-16 (1,38 ppm) e H-17 (1,37 ppm), de H-5 (1,90 ppm) com os dois hidrogênios do carbono-6 (3,36 e 2,75 ppm), e dos hidrogênios geminados pertencentes aos carbonos C-6 e C-20. As correlações entre

carbonos e hidrogênios de HP-7 a uma ligação foram retiradas do espectro bidimensional HMQC (Fig. 172, p. 197) e os dados são descritos na Tabela 46 (p. 193).

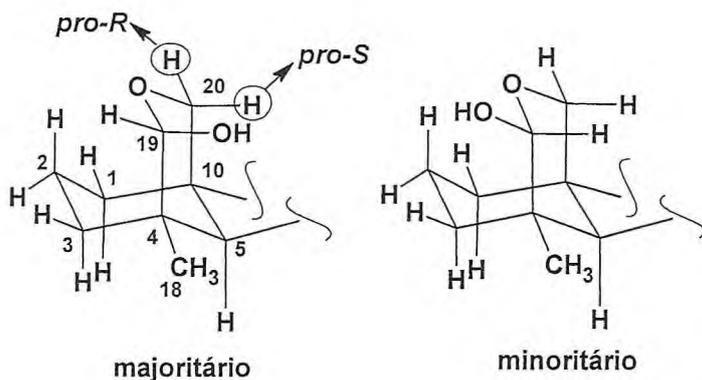
A ausência da carbonila lactônica presente em HP-4 e a presença de um carbono sp^3 dioxigenado em 99,1 ppm, característico de hemiacetal cíclico, permitem propor para HP-7 a estrutura obtida pela redução da carbonila lactônica em C-19 de HP-4, o que justifica a ocorrência de sinais múltiplos nos espectros analisados relacionados a mistura de epímeros.



A análise do espectro de RMN bidimensional de HP-7 HMBC (Fig. 173, p. 198) confirma a estrutura proposta através do acoplamento do hidrogênio em 4,88 ppm (H-19) com os carbonos em 60,10 ppm (C-20) e 44,4 ppm (C-5) e com a correlação dos hidrogênios em 4,37 ppm (H-20) com os carbonos em 44,4 (C-5), 39,3 (C-10) e 99,2 ppm (C-19). As demais correlações observadas encontram-se descritas na Tabela 47 (p. 194).

Especulações à cerca dos dados obtidos e pesquisa de um modelo da literatura para comparação, foram essenciais para determinação da estereoquímica relativa do carbono-19 nos componentes da mistura. A semelhança do anel A em HP-7 com o anel A da mistura diastereoisomérica obtida da parte aérea de *Salvia candicans* por Cárdenas e colaboradores (CÁRDENAS, 1995), do composto denominado 19-dihidro-desacetil sesseina, tornou possível considerar que: a) o deslocamento químico dos hidrogênios do sistema AB que compõem o sistema ABX e o acoplamento a longa distância observado apenas para os hidrogênios *pro-S* sugere que a conformação do anel A para ambos componentes da mistura é a mesma; b) a configuração relativa para C-19 pode ser proposta com base nos deslocamentos químicos dos hidrogênios em 4,17 e 4,02 ppm, dois duplo dubletos, um para cada um dos hidrogênios H-20 *pro-S* dos componentes da mistura, sendo que o sinal mais desblindado é atribuído ao isômero mais abundante com o grupo hidroxílico em C-19 mantendo uma relação 1-3 diaxial com H-20 *pro-S*; c) o

acoplamento a longa distância de H-20 *pro-S* provavelmente com H-1 α , observado para ambos diastereoisômeros ($J=2,4$ Hz), somente é possível se o heteroátomo (no caso o oxigênio) entre C-19 e C-20 encontrar-se orientado para C-2. Com essas proposições baseadas nas diferenças de deslocamento químico retiradas do espectro de RMN ^1H para os hidrogênios do carbono-20, temos a estereoquímica relativa como mostrada abaixo, este efeito é bastante comuns nos açúcares e é denominado efeito do carbono anomérico. Uma breve proposição a cerca da Teoria do Orbital Molecular, justifica a estereoquímica do majoritário pela efetiva interação dos orbitais não ligantes do heteroátomo com o HOMO da ligação HC-OH, quando este grupo encontra-se em posição axial.



Estruturas parciais dos componentes da mistura HP-7, denotando as conformações requeridas para o anel A e para o heterociclo, baseando-se nas observações discutidas no texto.

Na Tabela 45 (p. 192) foram comparados os dados de RMN ^{13}C obtidos para os compostos majoritário e minoritário da mistura HP-7 com os dados obtidos para HP-4. Embora seja uma mistura de epímeros, foi possível a elucidação estrutural identificando-se a correlação de todos os dados.

Como foi observado durante a discussão, a literatura já relata diterpenos abietanos com pontes sobre o anel A, porém no melhor do nosso conhecimento os compostos diastereoisoméricos descritos aqui ainda não foram relatados.

TABELA 45 - Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP-7, principal e minoritário, comparados com os valores RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de HP-4

C	HP-4	HP-7principal	HP-7minor
1	35,1	35,1	33,8
2	21,4	22,0	21,9
3	40,6	39,6	37,8
4	43,1	36,6	36,8
5	46,7	44,4	47,7
6	37,1	37,8	35,2
7	202,4	205,7	204,4
8	112,4	113,5	113,4
9	126,5	128,6	127,7
10	33,8	39,3	39,4
11	140,4	140,3	140,4
12	153,0	152,4	152,8
13	128,6	127,5	127,7
14	158,9	158,2	158,3
15	26,6	26,5	26,5
16	20,6	20,7	20,6
17	20,6	20,7	20,6
18	23,4	23,9	23,7
19	175,6	99,2	98,4
20	72,8	60,1	66,4
OCH ₃	62,7	62,5	62,5

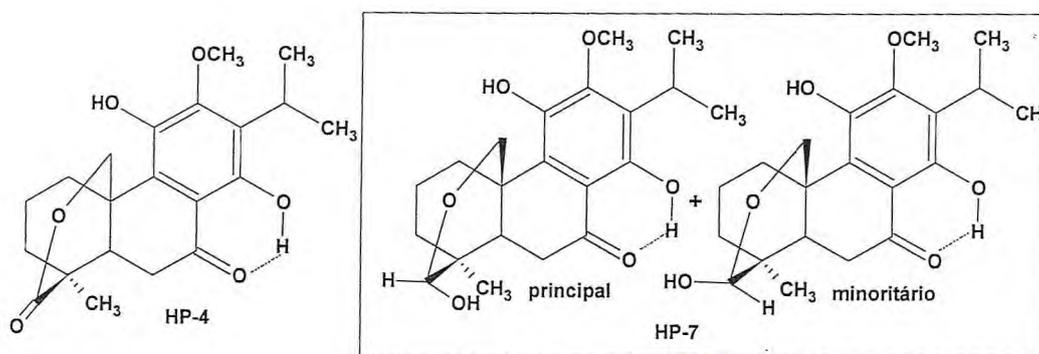


TABELA 46 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-7 principal (HMQC)

δ_C	DEPT	$^1H/HMQC$	
205,7	C=O		
158,2	C=C-O		
152,4	C=C-O		
140,3	C=C-O		
128,6	C=C		
127,5	C=C		
113,5	C=C		
99,2	-OCH-O	4,88	s
62,5	CH ₃ O	3,79	s
60,1	-OCH ₂	4,37	d ($J=11,6$ Hz)
		4,17	dd ($J=2,4$ e $11,6$ Hz)
44,4	CH	1,90	dd ($J=3,0$ e $15,3$ Hz)
39,6	CH ₂	1,63	m
		1,41	m
39,3	C		
37,8	CH ₂	3,36	m
		2,75	dd ($J=3,0$ e $16,3$ Hz)
36,6	C		
35,1	CH ₂	3,43	m
		1,29	m
26,5	CH	3,31	hepteto ($J=7,1$ Hz)
23,9	CH ₃	1,03	s
22,0	CH ₂	2,45	m
		1,60	m
20,7	CH ₃	1,38	d ($J=7,1$ Hz)
20,7	CH ₃	1,37	d ($J=7,1$ Hz)
OH		5,74	sl
OH		13,03	s

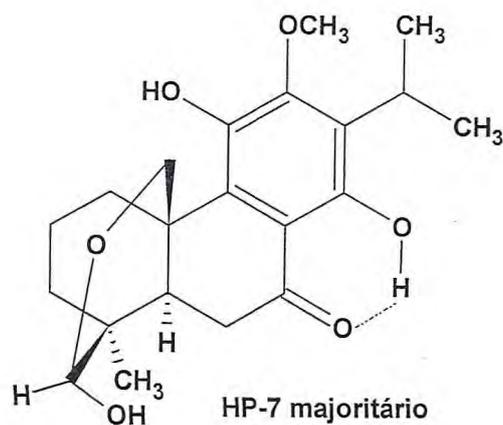
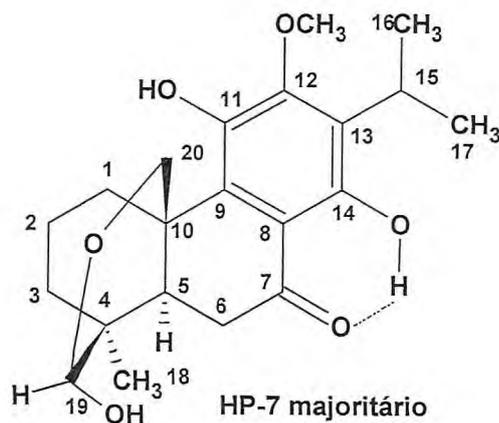


TABELA 47 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-7major (HMBC)

#C	¹³ C BB	HMQC	HMBC	
	δ _C	δ _H	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	35,1	3,43 1,29		H-20
2	22,0	2,45 1,60		
3	39,60	1,63 1,41		H-18
4	36,6		H-18	
5	44,4	1,90	H-6	H-18, H-20
6	37,8	3,36 2,75		
7	205,7		H-6	
8	113,5			
9	128,6			OH (5,74)
10	39,3		H-20	H-6
11	140,3		OH (5,74)	
12	152,4			H-21, OH (5,74)
13	127,5		H-15	
14	158,2			H-15
15	26,5	3,31	H-16, H-17	
16	20,7	1,38	H-16	H-17
17	20,7	1,37	H-17	H-16
18	23,9	1,03		H-20
19	99,2	4,88		H-18
20	60,1	4,37 4,17		H-19
21	62,5	3,79		
OH		5,74		
OH		13,03		



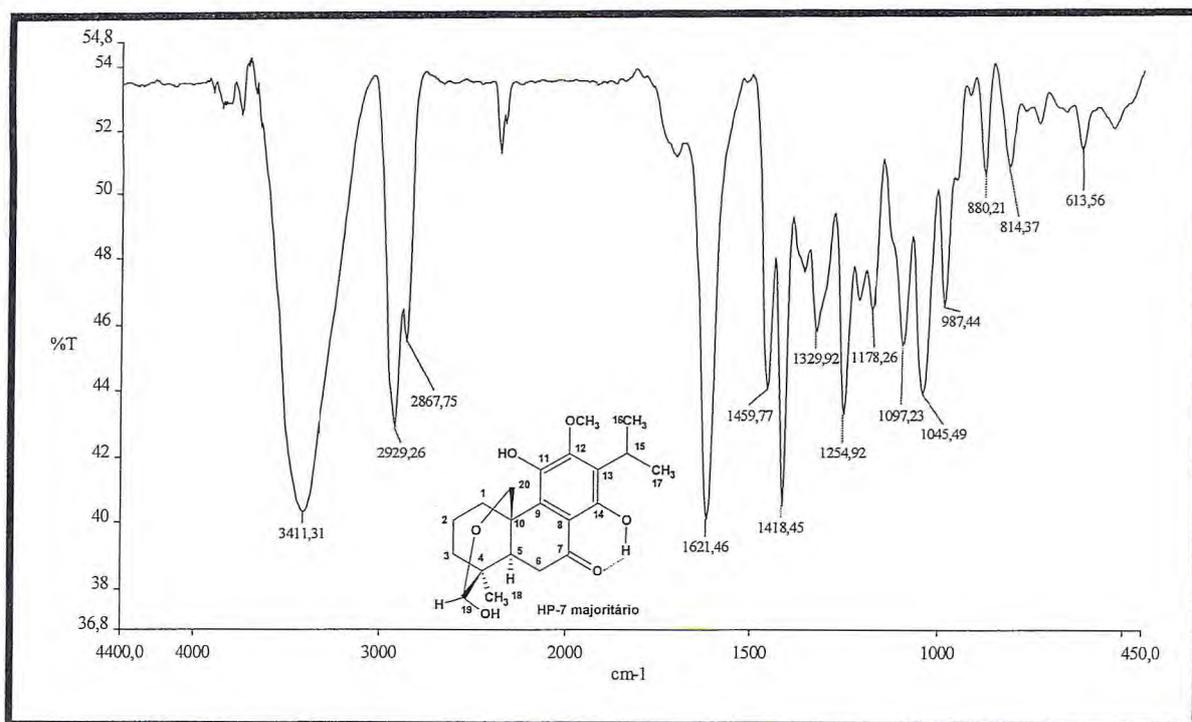


Figura 167 – Espectro de IV (KBr) de HP-7

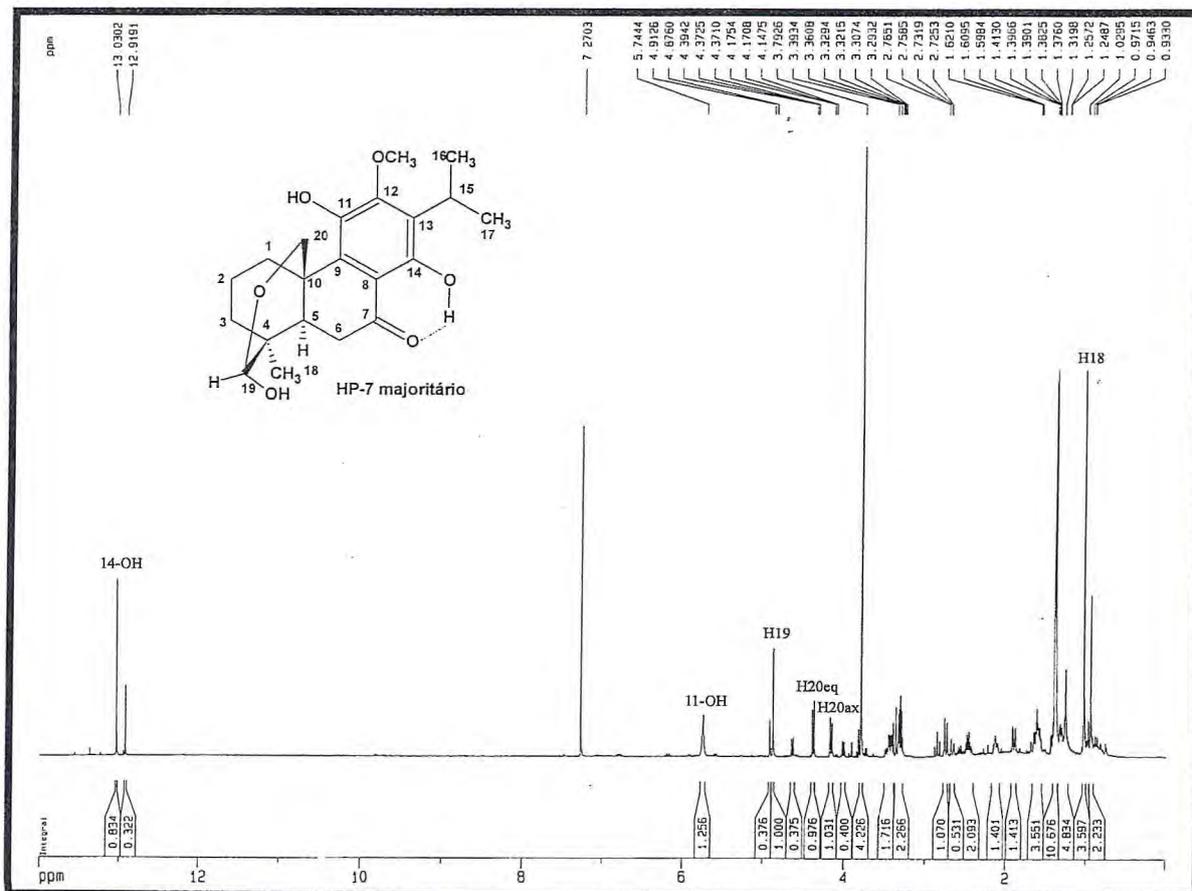


Figura 168 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de HP-7

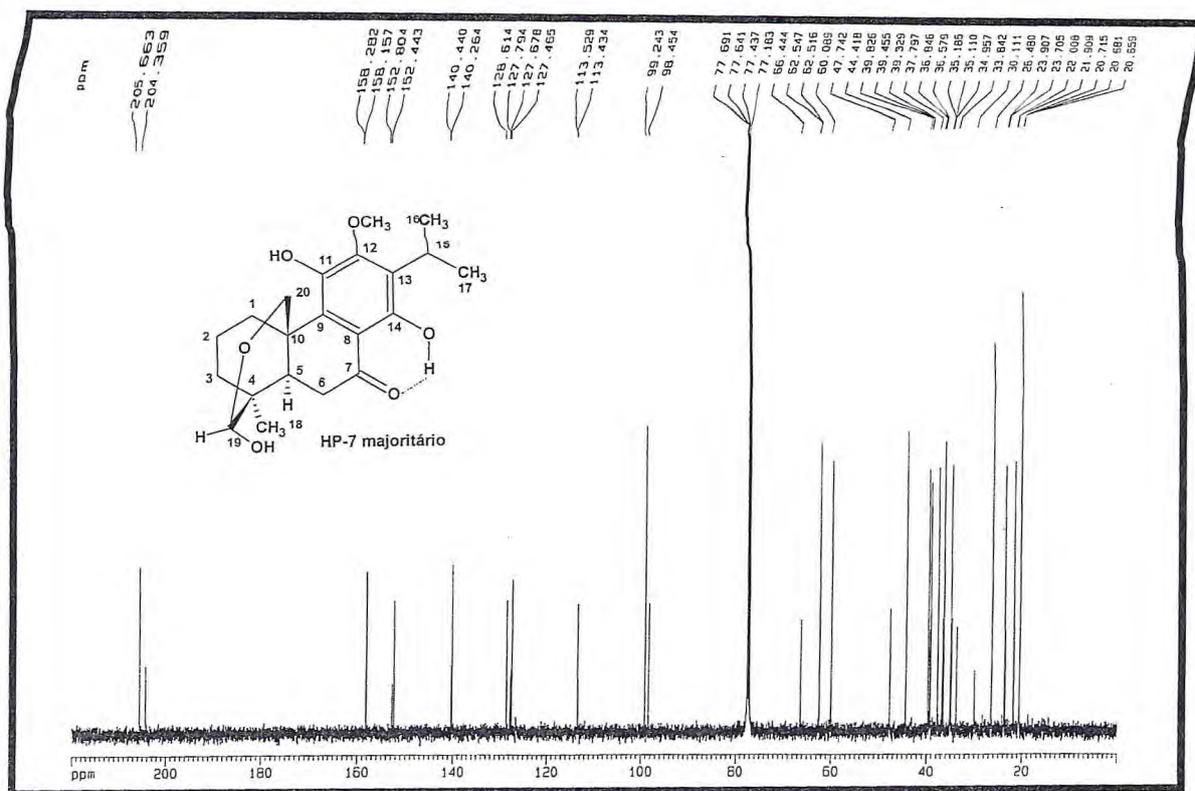


Figura 169 – Espectro de RMN ^{13}C BB (125 MHz, CDCl_3) de HP-7

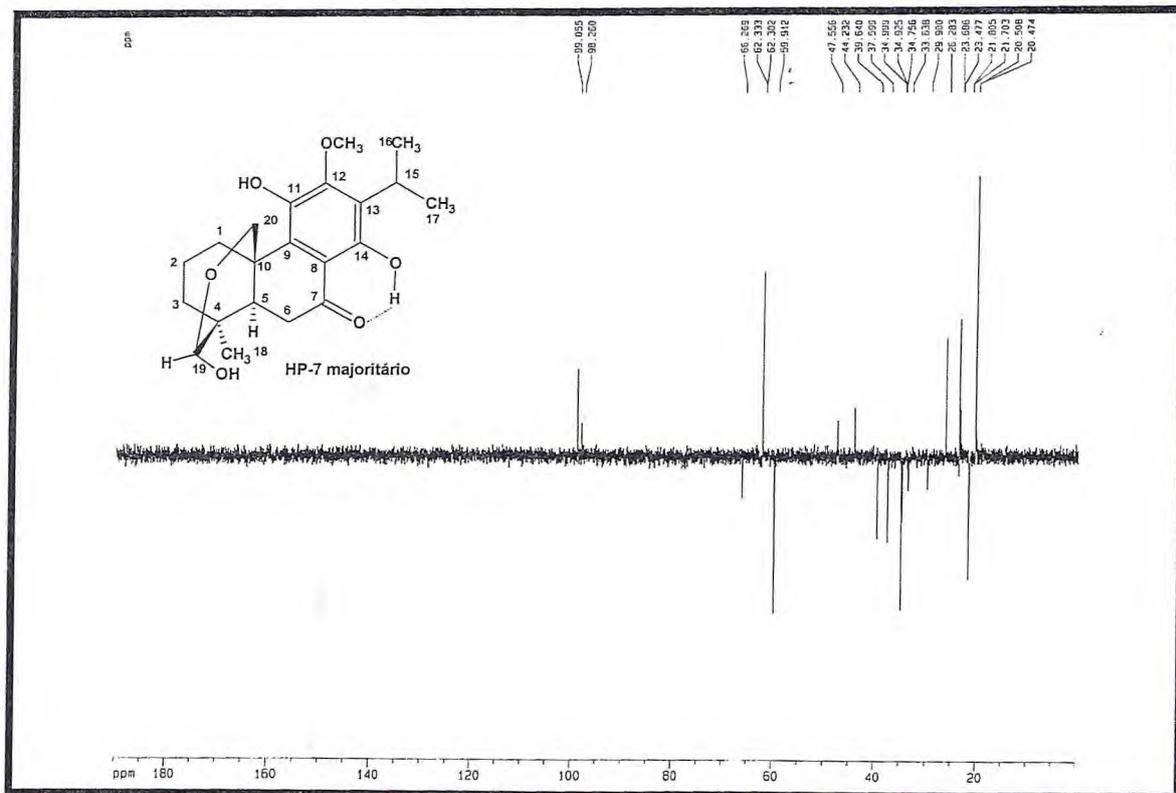


Figura 170 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) de HP-7

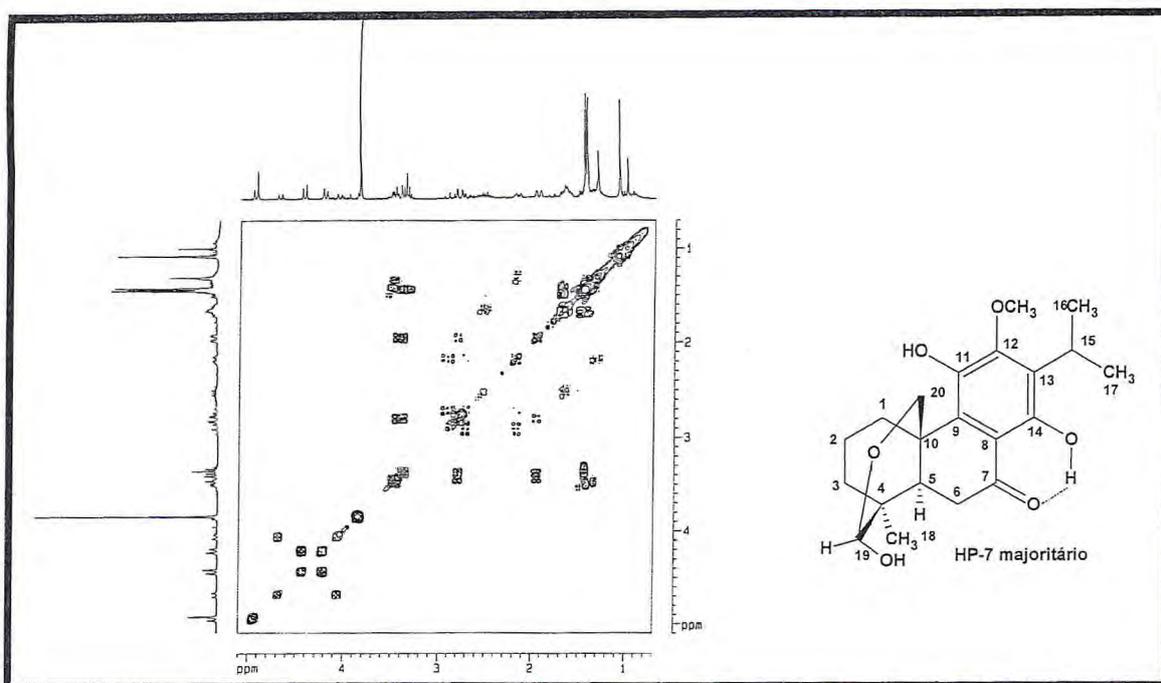


Figura 171 – Espectro de COSY (300 MHz, CDCl₃) de HP-7

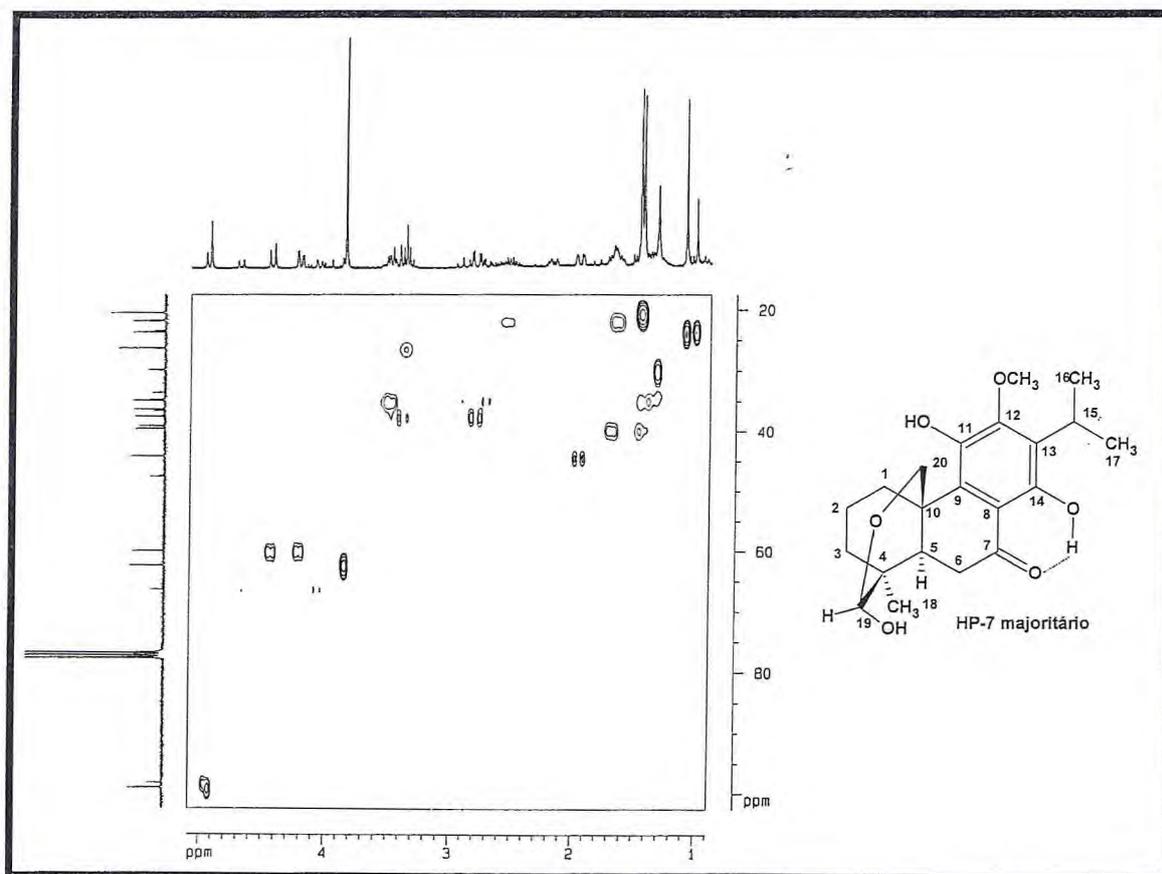


Figura 172 – Espectro de HMBC (300, 75 MHz, CDCl₃) de HP-7

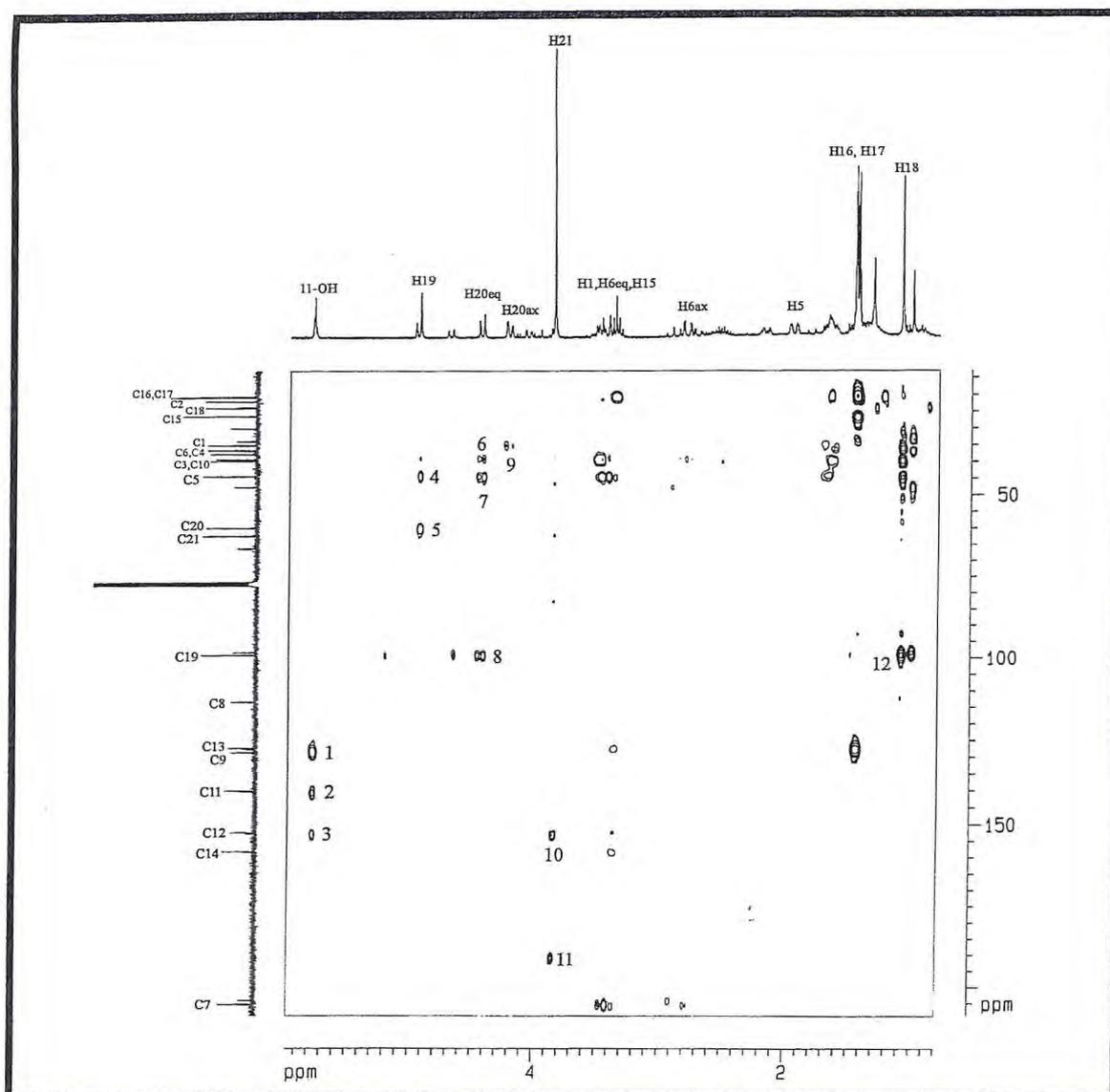
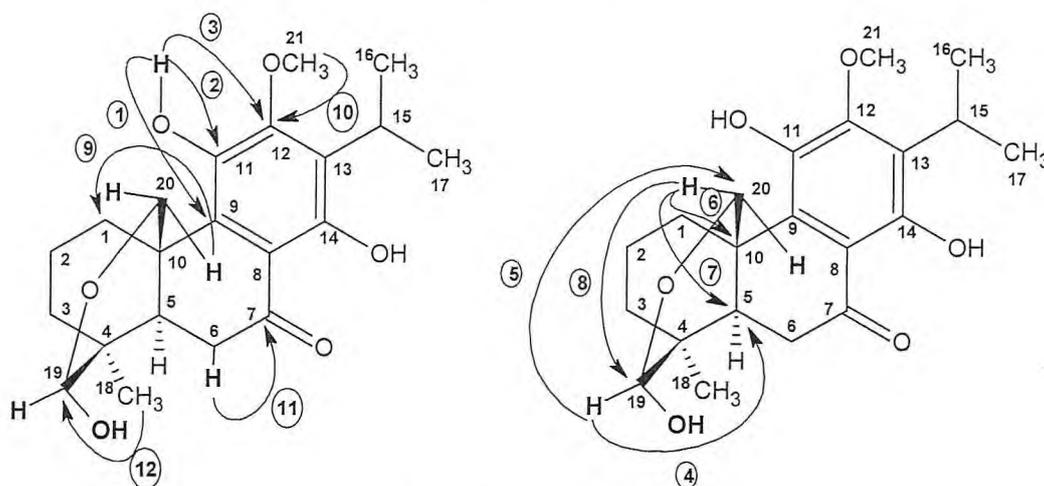


Figura 173 – Espectro de HMBC(300, 75 MHz, CDCl₃) de HP-7



HP-7 majoritário

4.2.14. Determinação Estrutural de HP-8

Durante o tratamento cromatográfico da fração HPER-D, oriunda da partição líquido-líquido do extrato etanólico de *Hyptis platanifolia* com diclorometano, obteve-se um composto, homogêneo em CCD, que se apresentou como um material cristalino amarelo, pf. 170,3-175,1 °C, $[\alpha]_D^{20} = -158$ (c. 0,1, CHCl₃), denominado HP-8.

Em seu espectro de absorção na região do IV (**Fig. 174, p. 207**) foram observadas bandas de deformação axial de ligação O-H em 3454 cm⁻¹ e de ligação C-O em 1252 cm⁻¹, bandas de deformação axial de ligação C-H de alifáticos em 2938 cm⁻¹, absorção característica de estiramento de carbonila conjugada e quelada C=O em 1608 cm⁻¹, além de bandas esqueléticas de deformação angular em anel benzênico em 736 e 867 cm⁻¹, fora do plano, e 1050, 1123 e 1164 cm⁻¹, no plano.

O espectro de RMN ¹³C de HP-8 (75 MHz, CDCl₃) (**Fig. 176, p. 208**) exibe 21 linhas espectrais das quais sete encontram-se na região de carbono sp², sendo o sinal em 210,8 ppm atribuído a uma carbonila de cetona e os outros seis sinais (116 a 157 ppm) a presença de um anel benzênico com pelo menos três carbonos oxigenados. Os outros quatorze sinais encontram-se na região de carbonos sp³, sendo que as absorções em 73,9 e 62,2 foram relacionadas a carbonos oxigenados e as demais a carbonos alifáticos não funcionalizados. A identificação do padrão de hidrogenação dos carbonos, obtida pela análise do espectro RMN ¹³C DEPT 135° (**Fig. 177, p. 208**) mostrou que os dois carbonos em 49,1 e 26,3 ppm são metínicos, que os cinco carbonos em 40,9; 40,7; 40,6; 38,7 e 18,9 ppm são metilênicos e que os cinco carbonos em 62,2; 32,3; 21,7; 20,8; 20,6 ppm são metílicos, sendo o sinal em 62,2 ppm atribuído a uma metoxila. Por diferença entre os espectros, os nove carbonos restantes foram relacionados a carbonos não hidrogenados.

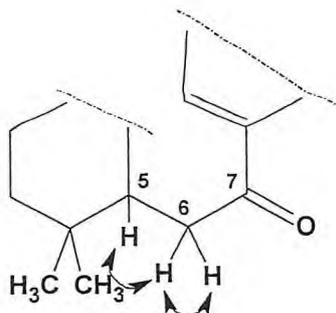
TABELA 48 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HP-8 por padrão de hidrogenação

C	CH	CH ₂	CH ₃
210,8	49,1	40,9	62,2
157,3	26,3	40,7	32,3
150,8		40,6	21,7
139,7		38,7	20,8
127,7		18,9	20,6
121,3			
116,9			
73,9			
34,1			
9 C	2 CH	5CH ₂	5 CH ₃
			C ₂₁ H ₂₆
3x(O-C=)			OCH ₃
-C=O			C ₂₁ H ₃₀ O ₅

HP-8 apresentou em seu espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) (Fig. 178, p. 209) dois singletos, para um hidrogênio cada, em 12,35 e 5,39 ppm, o primeiro foi relacionado a uma hidroxila quelada e o segundo provavelmente é de uma hidroxila fenólica. Também foram observados: singletos em 3,88 ppm, atribuído a uma metoxila, e dois em 1,06 e 0,91 ppm, referentes a metilas, além de um sinal com multiplicidade semelhante a um triplo em 1,43 ppm, atribuído a dois grupamentos metílicos.

Os espectros de RMN bidimensional COSY (Fig. 180, p. 210) e HMQC (Fig. 181, p. 210) foram extremamente importantes na identificação de sinais sobrepostos no espectro de RMN ^1H . Por exemplo, o acoplamento entre os hidrogênios em 3,38 ppm (hepteto, $J=7,0$ Hz) com as metilas dando um triplo em 1,43 ppm (t, $J=7,0$ Hz), evidenciando a presença de um grupo isopropílico; os dubletos em 2,40 e 2,72 ppm ($J=13,4$ Hz), conectados ao mesmo carbono metilênico, caracterizando um acoplamento em sistema AB para hidrogênios geminados. Observou-se ainda o acoplamento do hidrogênio 2,74 ppm (d, $J=18,4$ Hz), com o hidrogênio em 3,10 ppm (dd, $J=9,8$ e 18,4 Hz), também conectados ao mesmo carbono, e do hidrogênio em 3,10 ppm com um hidrogênio em 1,45 ppm (Tabela 50, p. 205), evidenciando uma estrutura parcial já bastante observada nos compostos identificados anteriormente, assim como, o

acoplamento entre um dos hidrogênios de C-6 com o hidrogênio de C-5, como mostrado abaixo:



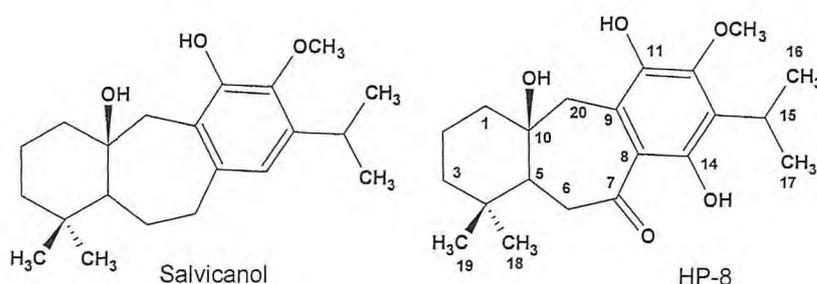
Estrutura parcial de HP-8 denotando correlações entre hidrogênios observadas no espectro de COSY.

A análise dos dados feita até este momento permite propor a estrutura de um diterpeno abietano, como os anteriores, com fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_5$, concordando com o pico do íon molecular com 362 u.m.a., observado no espectro de massa (**Fig. 175, p. 207**). Estas informações indicam um índice de deficiência de hidrogênios igual a sete, onde quatro deficiências foram atribuídas a presença de um anel benzênico; uma carbonila e as duas restantes a dois anéis.

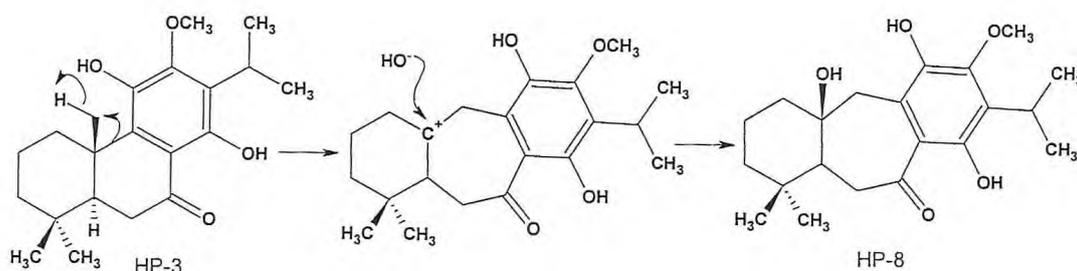
No espectro bidimensional HMBC de HP-8 (**Fig. 182, p. 211**) foi possível observar contornos referentes ao acoplamento dos hidrogênios em 3,40 e 2,72 ppm, conectados ao carbono 40,6 ppm (C-20), com o carbono metilênico em 38,7 ppm (C-1), com o carbono monohidrogenado em 49,1 ppm (C-5), com o carbono sp^3 oxigenado em 73,9 ppm (C-10) e com os carbonos aromáticos em 116,9 (C-8), 121,3 (C-9) e 139,7 ppm (C-11) este último oxigenado. As correlações dos hidrogênios em 3,10 e 2,74 ppm, conectados ao carbono em 40,7 ppm (C-6), com os sinais em 49,10 (C-5), 210,8 (C-7) e 73,9 ppm (C-10), ratificam a conexão entre estes carbonos, observada pelo acoplamento entre os hidrogênios no experimento COSY. A correlação dos hidrogênios das hidroxilas fenólicas com os carbonos vizinhos já mencionada em determinações realizadas anteriormente para diterpenos semelhantes também pode ser observada neste caso (ver **Tabela 51**, com estrutura, **p. 206**).

A ausência de uma metila, a presença de um grupo metileno isolado e um carbono não hidrogenado oxigenado, juntamente com os dados já analisados foram importantes na caracterização estrutural, que após levantamento bibliográfico, mostrou se tratar de um diterpeno abietano com esqueleto rearranjado do tipo icetexano (9[10→20]-abeo-abietano). Diterpenos icetexanos já foram isolados de espécies da família Labiatae, como exemplo o salvicanol, componente isolado das raízes de *Salvia canariensis* e *S.*

apiana. O diterpeno HP-8 caracterizado neste trabalho como sendo o 10,11,14-triidroxi-12-metoxi-9[10→20]-abeo-8,11,13-abietatrien-7-ona, corresponde ao diterpeno isolado das raízes de *Salvia coulteri*, denominado coulterona (FRONTANA, 1994). Este tipo de diterpeno encontra-se bastante presente nas raízes de espécies de *Salvia*, endêmicas da América e do Arquipélago das Canárias.



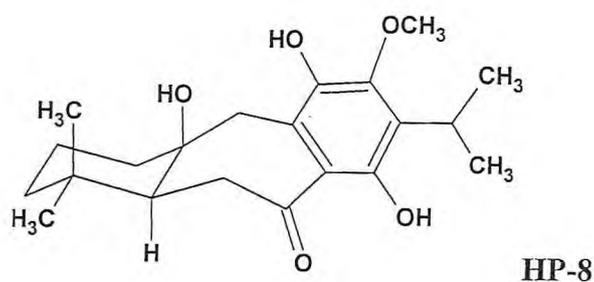
Uma análise biogenética para a formação do anel de sete membros é a abstração enzimática de um dos hidrogênios da metila C-20 em compostos como HP-3. Com isso a migração da ligação que era entre os C-9 e C-10 passa a ser agora entre os carbonos C-9 e C-20 e o ataque de HO^- pode ocorrer em C-10 (FRAGA, 1986 e LUIS, 1994). A estereoquímica relativa em C-5 deve continuar a mesma do precursor, $\text{H-5}\alpha$, em se tratando de diterpenos derivados do esqueleto desidroabietano e a estereoquímica em C-10 permaneceria indeterminada se não fosse a comparação dos dados obtidos para HP-8 (Tabela 49) com os dados da literatura para a coulterona (FRONTANA, 1994). No artigo os autores afirmam a orientação da hidroxila em C-10 como β -axial, assim como observado para o Salvicanol.

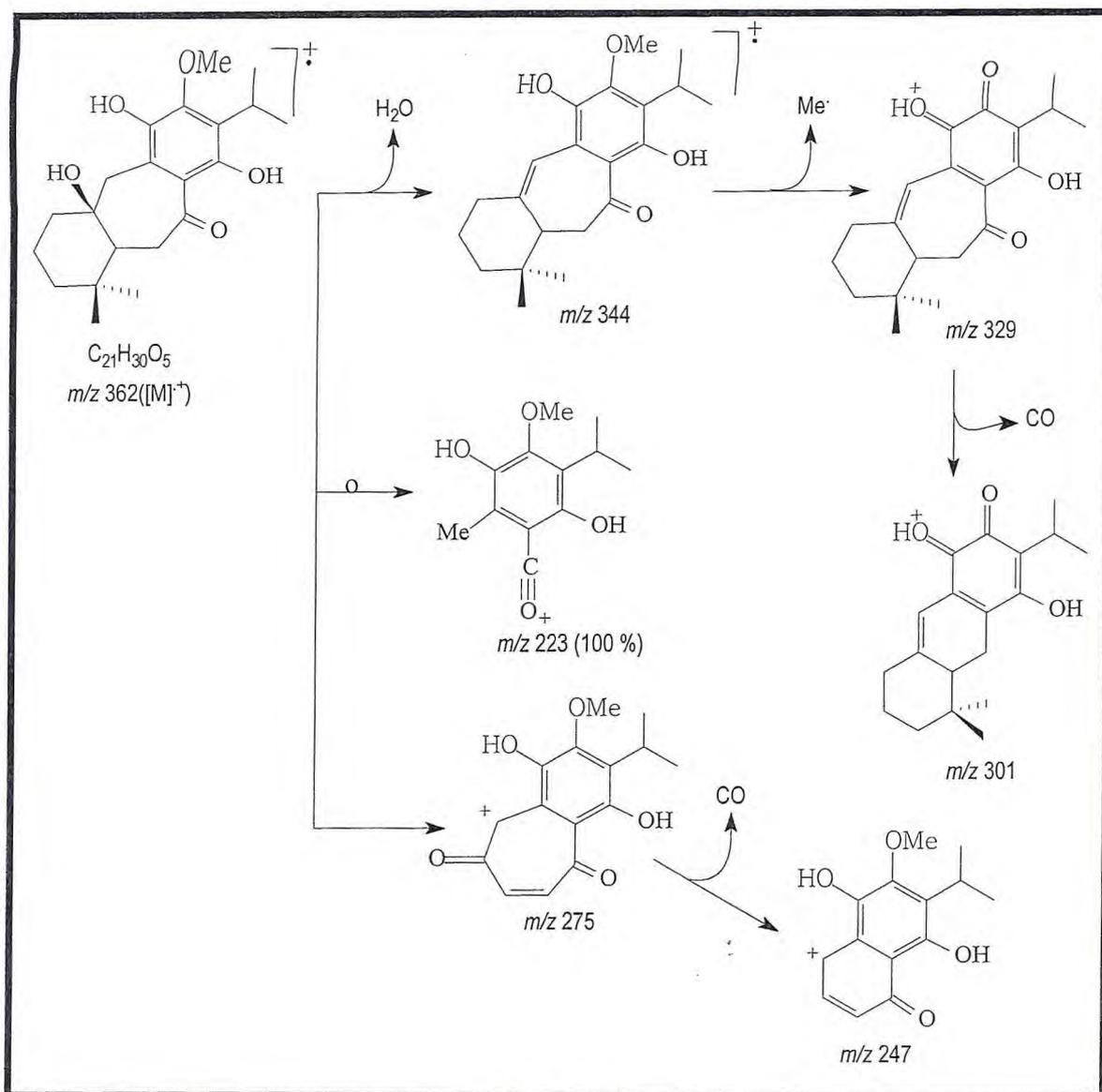


Apesar deste diterpeno já possuir registro na literatura é o primeiro relato de um diterpeno icetexano em espécies de *Hyptis*.

TABELA 49 - Dados de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de HP-8 comparados com os valores RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da coulterona (FRONTANA, 1994)

C	Coulterona (Frontana, 1994)	
	1994)	HP-8
1	38,4	38,7
2	18,6	18,9
3	40,6	40,9
4	33,4	34,1
5	48,8	49,1
6	40,5	40,7
7	210,6	210,8
8	116,7	116,9
9	121,1	121,3
10	73,7	73,9
11	139,5	139,7
12	150,1	150,8
13	127,4	127,7
14	157,1	157,3
15	26,0	26,3
16	20,5	20,8
17	20,3	20,6
18	32,0	32,3
19	21,4	21,7
20	40,4	40,6
OCH_3	61,9	62,2





Quadro 12 – Possíveis caminhos para fragmentação no espectrômetro de massa para HP-8

TABELA 50 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-8
(HMQC)

δ_C	DEPT	$^1H/HMQC$	
210,8	C=O		
157,3	C=C-O		
150,8	C=C-O		
139,7	C=C-O		
127,7	C=C		
121,3	C=C		
116,9	C=C		
73,9	C-O		
62,2	CH ₃ O	3,82	s
49,1	CH	1,45	m
40,9	CH ₂	1,52	m
		1,23	m
40,7	CH ₂	2,74	d ($J=18,4$ Hz)
		3,10	dd ($J=9,8$ e $18,4$ Hz)
40,6	CH ₂	3,40	d ($J=13,4$ Hz)
		2,72	d ($J=13,4$ Hz)
38,7	CH ₂	1,85	m
		1,63	m
34,1	C		
32,3	CH ₃	0,91	s
26,3	CH	3,32	hepteto ($J=7,1$ Hz)
21,7	CH ₃	1,06	s
20,8	CH ₃	1,43	d ($J=7,0$ Hz)
20,6	CH ₃	1,45	d ($J=7,0$ Hz)
18,9	CH ₂	1,91	m
		1,65	m
OH		5,39	s
OH		12,35	s

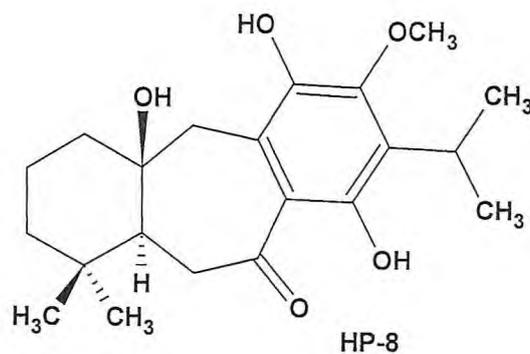
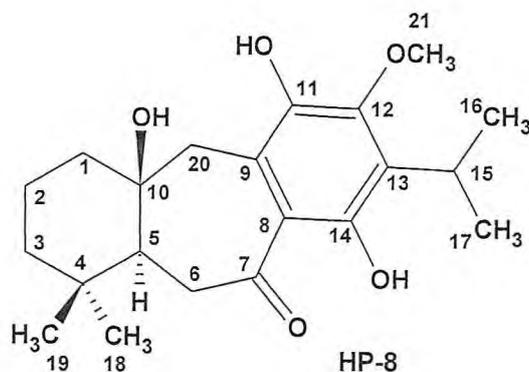


TABELA 51 - Correlação entre os dados de RMN e a estrutura de HP-8 (HMBC)

#C	¹³ C BB	HMQC	² J _{CH}	³ J _{CH}
1	38,7	1,85 1,63		H-20
2	18,9	1,91 1,65		
3	40,9	1,52 1,23		H-18, H-19
4	34,1		H-18, H-19	H-6
5	49,1	1,45	H-6	H-20
6	40,7	3,10 2,74	H-5	
7	210,8		H-6	H-5
8	116,9			H-20, OH (12,35)
9	121,3		H-20	OH (5,39)
10	73,9		H-20	H-6
11	139,7		OH (5,39)	H-20
12	150,8			H-15, H-21, OH (5,39)
13	127,7		H-15	OH (12,35)
14	157,3			H-15
15	26,3	3,38	H-16, H-17	
16	20,8	1,43	H-15	H-17
17	20,6	1,45	H-15	H-16
18	32,3	0,91		H-19
19	21,7	1,06		H-18
20	40,6	3,40 2,72		
21	62,2	3,88		
OH		5,39	C-11	
OH		12,35		



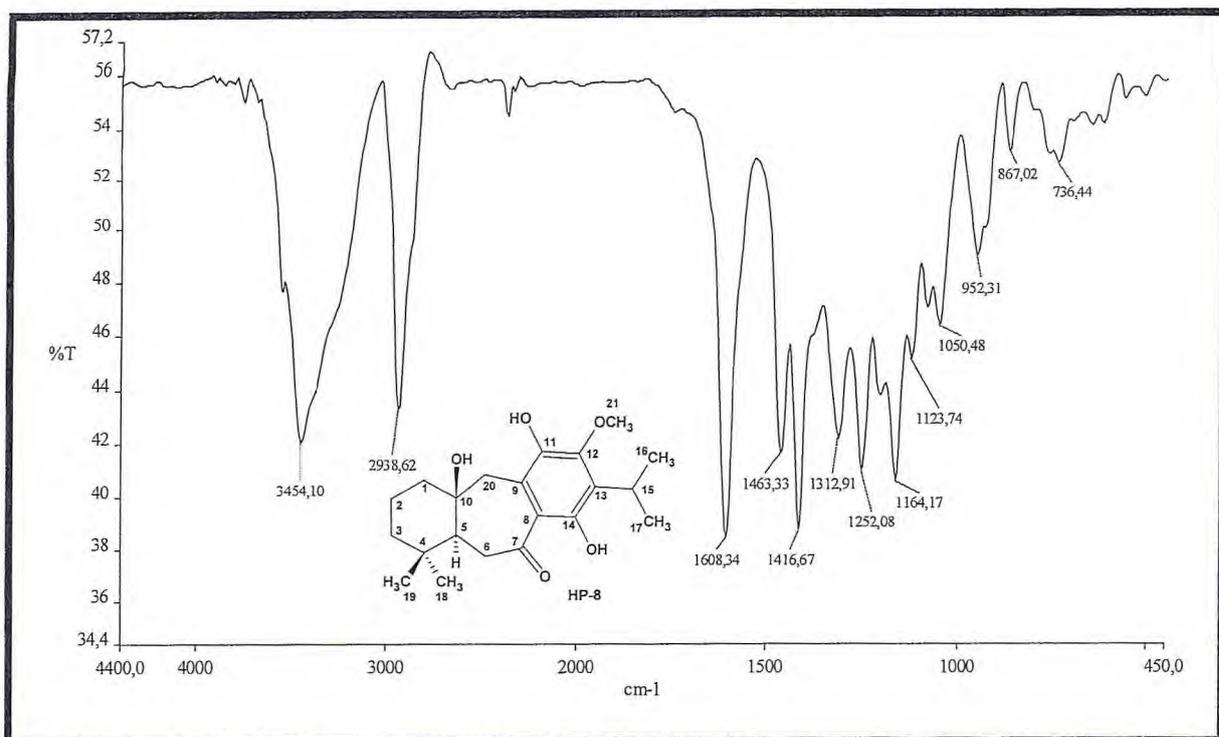


Figura 174 – Espectro de IV (KBr) de HP-8

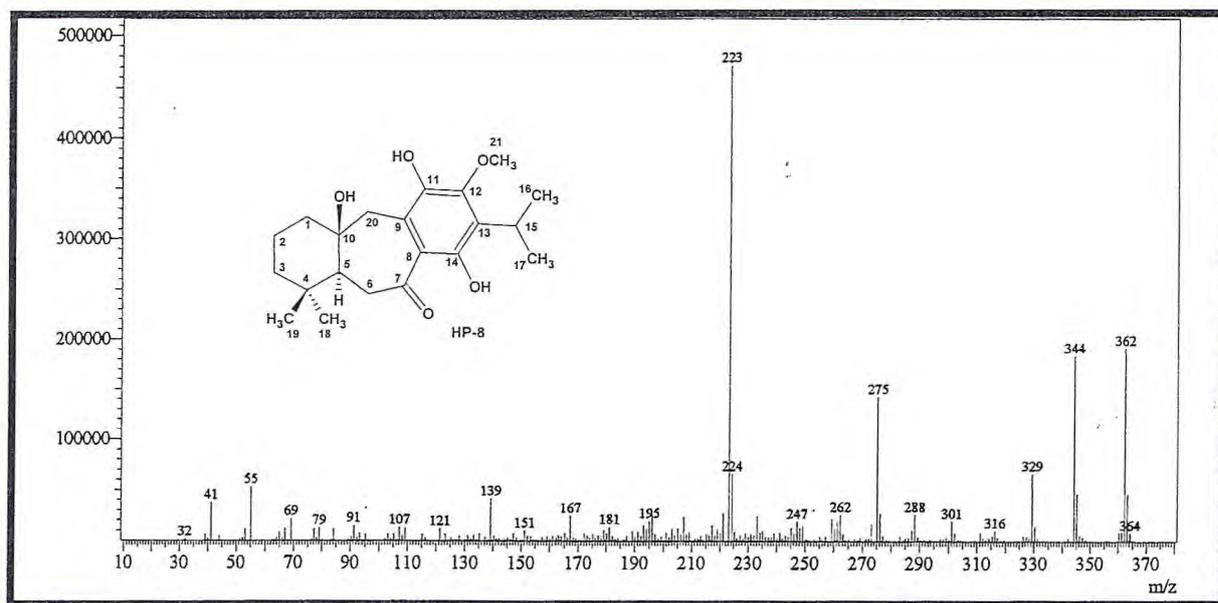


Figura 175 – Espectro de massa de HP-8

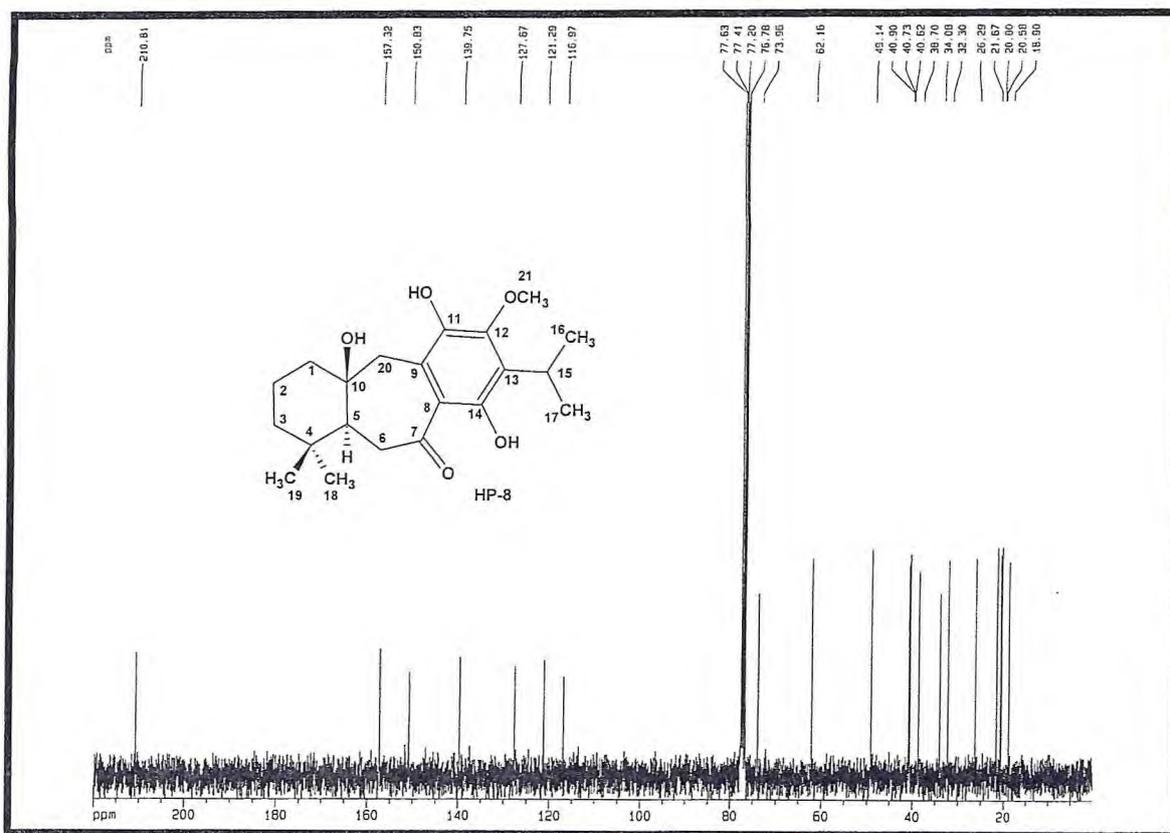


Figura 176 – Espectro de RMN ^{13}C BB (75 MHz, CDCl_3) de HP-8

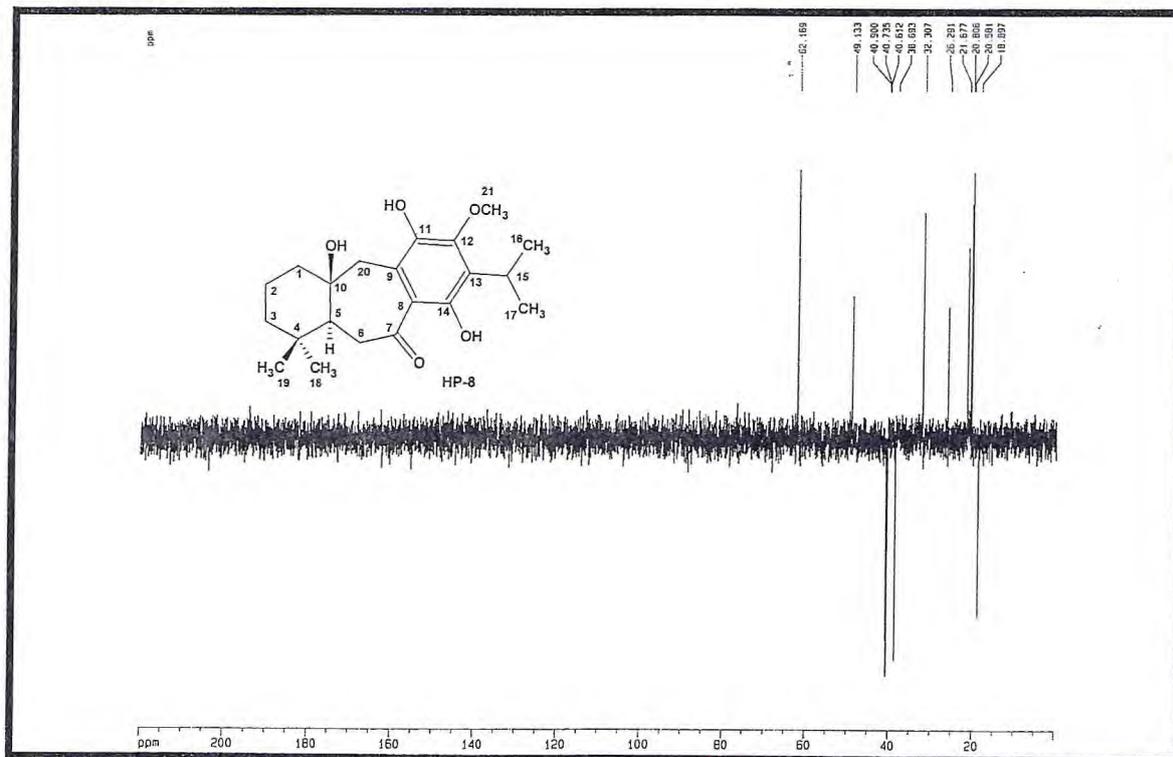


Figura 177 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135 (75 MHz, CDCl_3) de HP-8

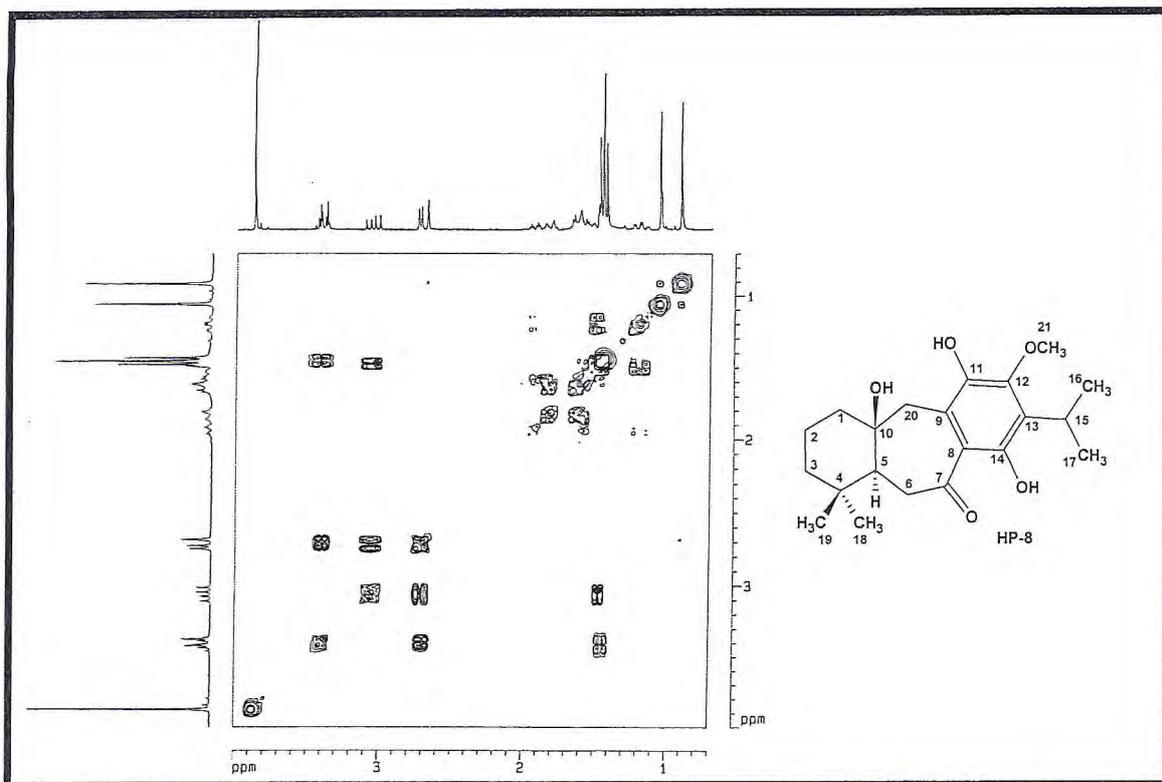


Figura 180 – Espectro de COSY (300 MHz, CDCl₃) de HP-8

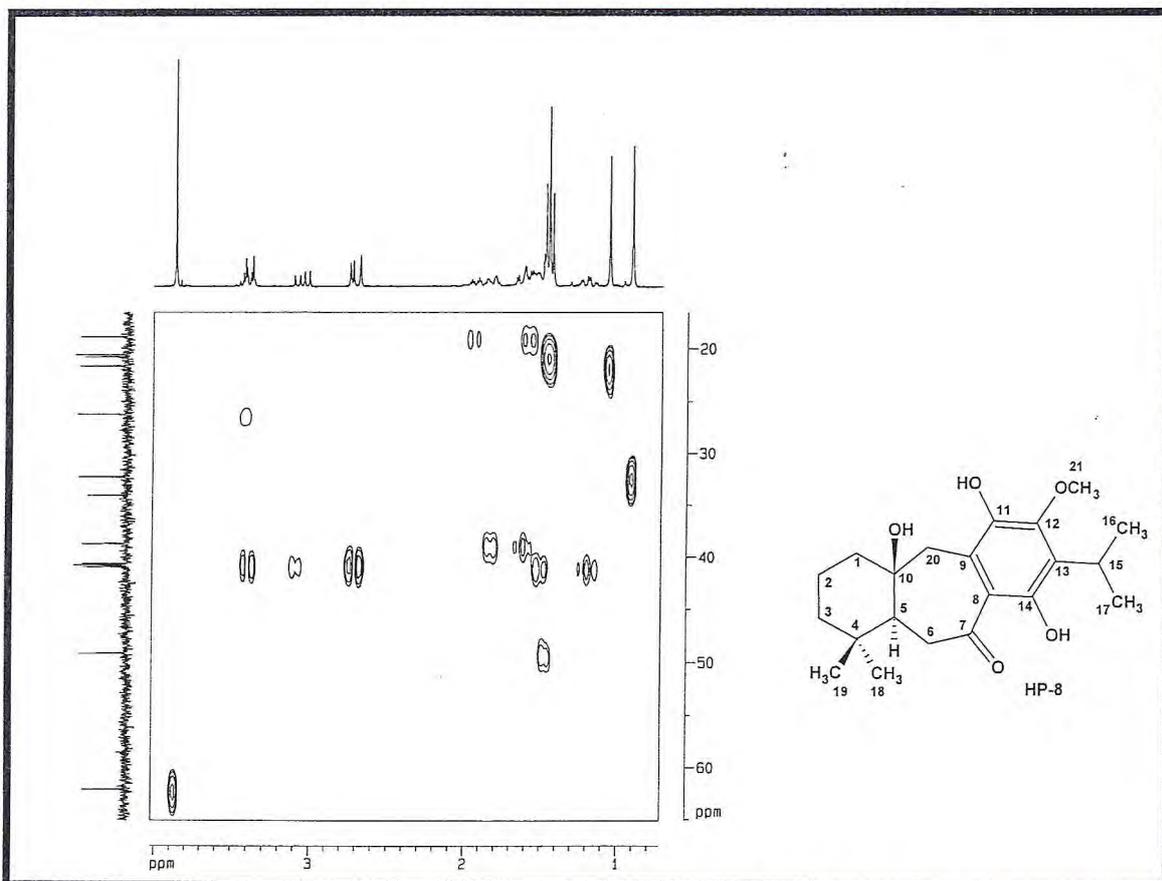


Figura 181 – Espectro de HMQC(300, 75 MHz, CDCl₃) de HP-8

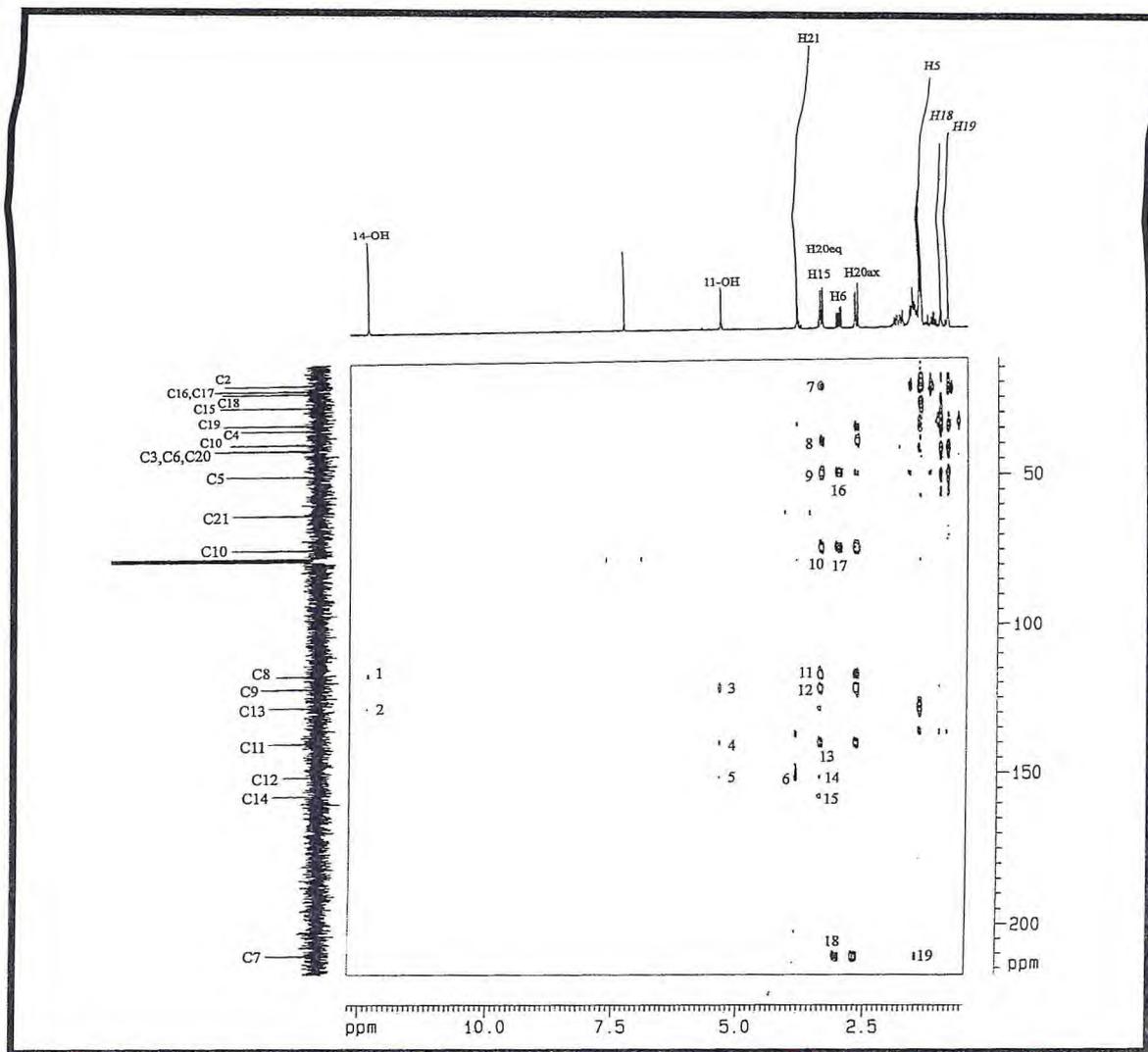
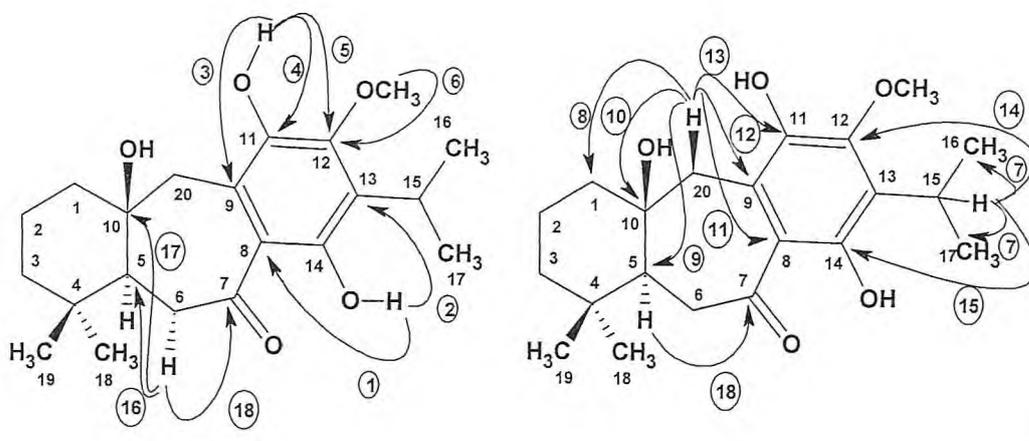
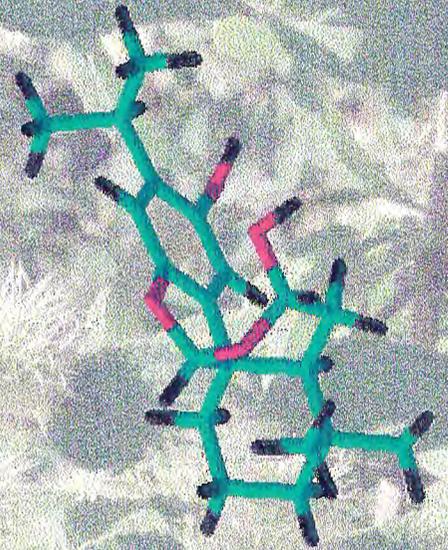
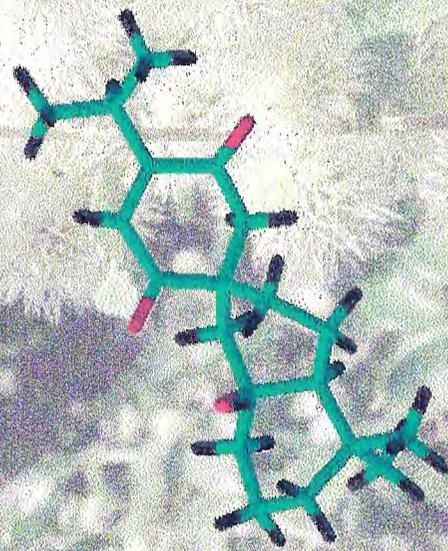
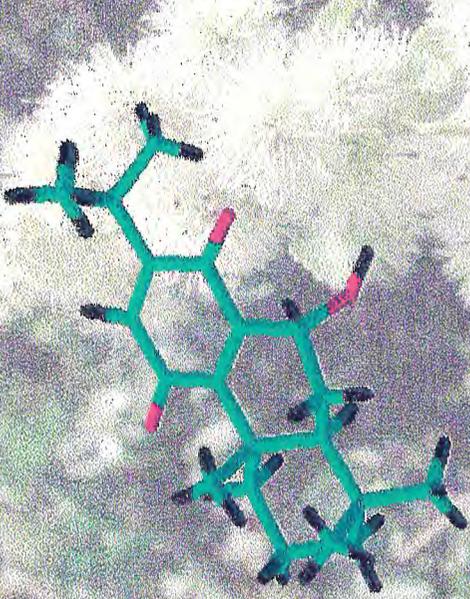


Figura 182 – Espectro de HMBC (300, 75 MHz, CDCl₃) de HP-8



HP-8



ENSAYOS BIOLÓGICOS

5.0. ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.1. Importância Econômica de Espécies do Gênero *Hyptis*

O gênero *Hyptis* compreende cerca de 400 espécies, em sua grande maioria bastante aromáticas e as poucas espécies já estudadas são conhecidas popularmente por possuírem algum uso medicinal principalmente como drogas utilizadas pelos índios.

As espécies de *Hyptis* encontram-se bastante difundidas na América tropical através de usos populares, uma espécie bastante estudada e que possui atribuições como: agente antifúngico, antibacteriano, anticonvulsivante (AZEVEDO, 2002), é *Hyptis suaveolens*, muito utilizada também como droga indígena na cura de várias doenças (MUKHERJEE, 1984). Na África, esta planta é tradicionalmente usada para reduzir o número de mosquitos, sobretudo à noite. Dentro das casas, quando esta planta é utilizada como incenso a redução chega a ser maior que 74% (PALSSON E JAENSON, 1999). Na Nigéria, principalmente, suas folhas são usadas como agentes antitumorais, contraceptivos (em fêmeas) e para o tratamento de cólicas, dores de estômago e febres (ASEKUN, 1999).

Formulações da parte aérea de *H. pectinata* são utilizadas na medicina popular, na costa do Marfim (África), como um remédio multifuncional, no tratamento de febres, infalível em doenças da pele, distúrbios gástricos, rinofaringites e congestionamento do pulmão. O sumo, obtido da prensagem das folhas frescas, primeiramente aquecidas, é aplicado sobre a pele, enquanto as folhas frescas são também usadas para inalação. Uma avaliação biológica do óleo essencial desta espécie revelou uma forte atividade antimicótica (MALAN, 1988).

H. mutabilis é utilizada no México para distúrbios gastrointestinais e contra malária (PEREDA-MIRANDA E FIGUEROA-GASCON, 1988).

H. verticillata é utilizada por índios de Oaxaca (México) para desordens gastrointestinais e infecções da pele (KUHNT, 1994).

H. capitata é uma erva encontrada no Equador, utilizada como medicinal pelos índios Cayapa, além de ter propriedade fungicida e é também conhecida como planta medicinal em Taiwan, onde é usada contra resfriado, febre e asma (ALMTORP, 1991).

H. albida é uma espécie tropical do México e é comumente utilizada na medicina popular para perturbações no trato gastrointestinal e como condimento na cozinha regional (PEREDO-MIRANDA E DELGADO, 1990).

H. spicigera, encontrada na África, é usada por agricultores no controle de insetos que infestam grãos estocados. Todas as partes da planta são bastante aromáticas por isso é também utilizada como incenso em cômodos para reduzir o número de mosquitos (AYCARD, 1993).

H. oblongifolia uma espécie encontrada ao sudeste do México mostrou moderada atividade em ensaio larvicida frente a *artemia salina* e é avaliada comercialmente como um repelente de insetos (PEREDA-MIRANDA, 1990).

Apesar dos dados encontrados, existem poucos relatos na literatura sobre estudos fitoquímicos com espécies deste gênero e quase nenhum sobre a relação entre composição química e atividade biológica. Por se tratarem de ervas bastante aromáticas, sua composição química volátil é bastante estudada. Espécies como *H. mutabilis*, *H. goyazensis* e *H. suaveolens* são encontradas na Amazônia e sua composição química volátil é relatada na literatura (LUZ, 1984). O óleo essencial das folhas de *H. suaveolens*, a espécie mais estudada do gênero, numa composição em que sabineno e *trans- α -bergamoteno* são os constituintes majoritários, mostrou atividade antimicrobiana, contra bactérias gram-negativas e gram-positivas e antifúngica contra *Candida albicans* (ASEKUN, 1999).

O ensaio da atividade inseticida da composição química volátil de *H. martiusii* Benth foi estimulado pela abundância da espécie na região sul do estado do Ceará, aliada a relatos da literatura que mencionam a utilização das folhas de espécies de *Hyptis*, como inseticida natural, por populações nativas de muitos países do mundo.

Foi realizado ainda um estudo da atividade antiproliferativa dos compostos não voláteis isolados de *Hyptis martiusii*: HM-1 (carnasol), o componente majoritário da parte aérea e inflorescências globulosas, e HM-2 (11,14-diidroxi-8,11,13-abietatrien-7-ona) um dos componentes isolados das raízes. Esta análise foi iniciada devido a relatos de componentes com várias atividades, inclusive citotóxica, isolados de espécies do gênero *Hyptis*.

5.2. Estudo da atividade inseticida do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth e do componente majoritário isolado 1,8-cineol

A composição química do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth (0,4%) foi determinada em trabalho anterior (ARAÚJO, 2000), onde foram identificados 26 constituintes totalizando 93,16% da composição do óleo (Tabela 52, p.

216). Os constituintes majoritários foram Δ -3-careno (22,51%), 1,8-cineol (24,27%), β -cariofileno (6,15%) e biciclogermacreno (6,32%). Foram realizados ensaios de atividade inseticida do óleo essencial das folhas e do composto majoritário isolado, 1,8-cineol, isolado segundo procedimento experimental descrito no Item 6.5.1.2 (p. 232), contra *Bemisia argentifolii*, conhecida popularmente por mosca branca, uma peste que infesta lavouras de frutas com valor comercial como melão e melancia e contra larvas de *Aedes aegypti*, o vetor na transmissão de males como dengue e febre amarela que são responsáveis por sérios riscos de calamidade pública no Brasil, África e Ásia.

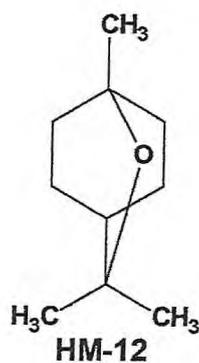


Tabela 52 – Componentes identificados no óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth

Componentes	IK*	HMF-OE (%)
α -pineno	934	3,91
β -pineno	975	1,93
β -mirceno	991	1,39
α -felandreno	1003	1,03
Δ -3-careno	1011	22,51
<i>o</i> -cimeno	1020	0,59
<i>p</i> -cimeno	1023	2,34
1,8-cineol	1031	24,27
γ -terpineno	1059	1,40
terpinoleno	1088	1,42
cânfora	1145	2,16
4-terpineol	1180	0,53
α -cubebeno	1351	0,54
α -copaeno	1376	0,91
β -cariofileno	1417	6,15
aromadendreno	1436	2,79
α -humuleno	1449	1,72
γ -muuruleno	1472	1,51
biciclogermacreno	1486	6,32
γ -cadineno	1502	0,78
δ -cadineno	1510	1,92
selina-3,7(11)-diene	1527	1,33
ledol	1549	0,53
espatulenol	1554	0,73
óxido de cariofileno	1561	3,68
globulol	1568	0,83
Total		93,16

* Índice de Kovat corrigido.

5.2.1. Ensaio contra *Bemisia argentifolii*

Os insetos que originaram a criação são obtidos de um plantio de melão localizado na Estação Experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Paraipaba – Ceará. A colônia é mantida em telados da Embrapa, no Campus Universitário do Pici – UFC, em Fortaleza, criada sobre plantas de melão. O melão foi plantado em recipientes de plástico ligeiramente cônicos, com 10 cm de altura e 10 e 13 cm de diâmetro inferior e superior, respectivamente. Estes recipientes foram cheios, até 3 cm do bordo superior, de um substrato proveniente do viveiro de produção de mudas da Embrapa do Campo Experimental de Pacajus, Ceará. Cada vaso recebeu três sementes de melão da variedade *Halle's Best Jumbo* e foi mantido isolado do meio externo por uma camada de tecido de algodão do tipo “tule” (de malha bem fina) sustentado por uma armação de arame colocado no interior do recipiente. A parte superior da manga foi fechada por uma costura e a parte inferior foi mantida presa por uma liga de borracha. As plantas foram mantidas nestas condições por um período de 15 dias, quando apresentavam 4-5 folhas definidas. O bioensaio foi realizado por bolsistas do CNPq orientados pelos professores Manoel Andrade Neto – DQOI – UFC e Antonio Lindemberg M. Mesquita – Embrapa-Fortaleza-Ceará.

Os recipientes contendo as plantas foram em seguida colocados em gaiolas de plástico com dimensões de 35 cm de altura, 48 cm de comprimento e 32 cm de profundidade. As paredes laterais e a parte superior da gaiola eram do mesmo tecido de algodão descrito acima. Numa mesma gaiola foram mantidos vários recipientes com plantas de idades diferentes, a fim de manter a colônia com insetos em diferentes estágios de desenvolvimento. As plantas em início de senescência foram substituídas por novas plantas.

O bioensaio foi iniciado destacando-se as folhas com aproximadamente uma semana de idade isentas de insetos. Em seguida os produtos testados foram aplicados na face abaxial destas folhas, com o auxílio de um pulverizador portátil, e imediatamente seus pecíolos foram introduzidos individualmente em pequenos frascos com água destilada. Cada frasco contendo uma folha foi colocado no interior de um copo de acrílico transparente de 9,5 cm de altura e de 5 e 7 cm de diâmetro inferior e superior, respectivamente e parcialmente cobertos com uma película de polietileno também transparente deixando uma abertura, por onde eram introduzidos os insetos adultos (10 em cada folha), a qual era fechada logo após. Em seguida, foram acomodados em uma

incubadora tipo BOD mantida a uma temperatura de 24 °C e fotoperíodo de 14 horas. Os resultados foram analisados após 72 horas, considerando-se o número de insetos e o número de ovos postos por folha. Os experimentos tiveram delineamento inteiramente ao acaso sendo a folha a parcela experimental. Cada tratamento teve oito repetições.

No ensaio com o óleo essencial das folhas de *H. martiusii* a maior taxa de mortalidade de *Bemisia argentifolii* foi observada após três dias de experimento, a uma concentração de 2000 mg/L (Tabela 53).

Tabela 53 – Efeito do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* contra *Bemisia argentifolii*.

Concentração (mg/L)	Média (%) de insetos mortos após 72 h	Média (%) de ovos depositados após 72 h
2000	93,7	0,1
1000	63,7	23,9
500	56,2	20,9
250	61,2	21,7
testemunha	25,0	32,2

Quando o monoterpeneo 1,8-cineol foi testado contra *B. argentifolii*, mostrou a maior taxa de mortalidade sob concentração de 1000 mg/L (Tabela 54).

Tabela 54 - Efeito do 1,8-cineol contra *Bemisia argentifolii*.

Tratamento	Média (%) de insetos mortos após 72 h	Média (%) de ovos depositados após 72 h
1,8-cineol (1000 mg/L)	91,2	9,2
testemunha	22,5	26,4

5.2.2. Ensaio contra larvas do *Aedes aegypti*

Os ovos de *A. aegypti* utilizados no bioensaio foram provenientes do Laboratório de Entomologia da Fundação Nacional de Saúde (FNS), e os testes foram realizados pela professora Gilvandete M. P. Santiago – Departamento de Farmácia - UFC. Os ovos foram imersos em água de torneira livre de cloro e as larvas eclodiram aos poucos minutos. Somente as larvas no estágio 3 foram selecionadas para o estudo.

O material a ser testado foi colocado em um béquer e dissolvido em DMSO (0,3 mL) e água (19,7 mL) a concentrações que foram de 1 a 500 ppm, em seguida foram adicionadas 50 larvas em estágio 3. A contagem de larvas mortas foi realizada após 24 h de tratamento. Uma solução controle usando DMSO e água não apresentou atividade larvicida. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 55.

Tabela 55 – Efeito do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth e 1,8-cineol contra larvas de *Aedes aegypti*

Concentração (mg/L)	Média (%) de larvas mortas após 24 h	
	Óleo essencial de <i>H. martiusii</i>	1,8-cineol
500	100	100
250	99	100
100	22	100
50	0	53
25	0	10

O ensaio realizado com as larvas do *Aedes aegypti* revelou que o óleo essencial das folhas induziu uma mortalidade de 100% nas larvas, numa dosagem de 250 mg/L, enquanto o ensaio com 1,8-cineol mostrou uma alta taxa de mortalidade de *A. aegypti* sob dosagens mais baixas que 100 mg/mL.

Os resultados mostram que as larvas de *A. aegypti* foram susceptíveis à composição do óleo, e o 1,8-cineol apresentou sempre um maior nível de mortalidade, indicando que a atividade inseticida do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth pode ser atribuída à presença do componente majoritário 1,8-cineol, no entanto, a ação sinérgica dos outros constituintes do óleo não deve ser descartada.

Já existem relatos na literatura da atividade inseticida de monoterpenos encontrados em óleos essenciais. Estas substâncias apresentam ação sobre mosca doméstica (*Musca domestica* L.), barata alemã (*Blatella germanica* L.), gorgulho do arroz (*Sitophilus oryzae* L.), besouro da farinha de trigo (*Tribolium castaneum* Herbst), gorgulho do grão (*Rhyzopertha dominica* F.), entre outros. Recentes trabalhos mostram 1,8-cineol (eucaliptol), um constituinte que ocorre em várias concentrações no óleo essencial das folhas de *Eucalyptus* sp., como o componente ativo contra carrapatos, ele possui um papel importante na resistência da planta a insetos e é de baixa toxicidade para mamíferos. De acordo com os dados experimentais e literários obtidos podemos sugerir

o uso deste componente como uma alternativa ecologicamente segura de inseticida (PRATES, 1998).

5.3. Estudos do efeito antiproliferativo dos diterpenos abietanos isolados de *Hyptis martiusii* Benth, denominados carnasol (HM-1) e 11,14-dihidroxi-8,11,13-abietatrien-7-ona (HM-2)

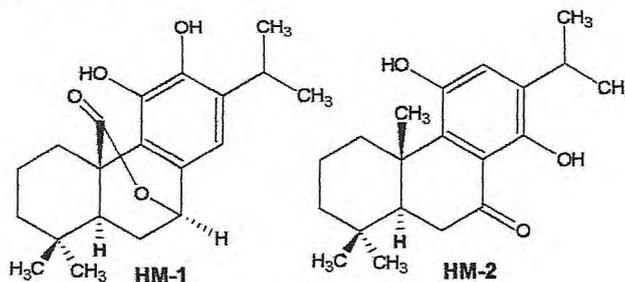
A citotoxicidade dos diterpenos foi avaliada através da capacidade de inibir a proliferação de células tumorais das linhagens CEM, HL-60 (leucemias-humanas), MCF-7 (mama-humana), HCT-8 (côlon-humano) e B16 (melanoma-murino) através do método MTT e de inibir o desenvolvimento embrionário de ovos de *Lytechinus variegatus* (ouriço do mar). Os testes foram realizados pela professora Leticia V. Costa-Lotufo – Departamento de Fisiologia e Farmacologia – Faculdade de Medicina – UFC.

Poucos estudos fitoquímicos tem sido realizados com espécies do gênero *Hyptis*, levando ao isolamento de variados compostos com atividades biológicas tais como: lignanas com atividade citotóxica (NOVELO, 1993), flavonas citotóxicas (KINGSTON, 1979), dihidro- α -pironas com atividades citotóxica e antimicrobiana (PEREDA-MIRANDA, 1993), triterpenos com atividade citotóxica e contra o vírus da AIDS (YAMAGISHI, 1988; KASHIWADA, 1998), diterpenos labdanos com atividade inseticida (FRAGOSO-SERRANO, 1999). Porém a avaliação da atividade citotóxica de diterpenos abietanos isolados de espécies deste gênero ainda é incomum.

Os diterpenos utilizados neste estudo foram o carnasol (HM-1), que foi isolado pela primeira vez de *Salvia carnosae* no início de 1940 e teve sua estrutura elucidada somente vinte anos depois (BRIESKORN, 1964). Seus dados de RMN ^{13}C foram relatados recentemente por Urones e colaboradores quando este foi isolado de *Hyptis dilatata* (URONES, 1998). O outro diterpeno foi a 11,14-diidroxi-8,11,13-abietatrien-7-ona (HM-2), que foi recentemente isolado, pela primeira vez, de *Chamaecyparis obtusa* var. *formosana* (Cupressaceae) (KUO, 1998). Apesar dos diterpenos já terem sido caracterizados, não existe na literatura nenhum dado de atividade citotóxica destes compostos.

Os compostos foram obtidos como descrito no procedimento experimental (Itens 6.6.1.3 e 6.6.1.5, p. 239 e 241, respectivamente). HM-1 é o composto obtido em maior quantidade da parte aérea da planta e inflorescências globulosas, neste trabalho é mencionado o isolamento de HM-1 após sucessivas cromatografias em gel de sílica da

fração acetato de etila do extrato hexânico das inflorescências globulosas. HM-2 já isolado durante o trabalho de mestrado, foi novamente isolado da fração clorofórmica do extrato hexânico das raízes.



Considerando a existência de alguns diterpenos tóxicos à fertilização de ovos de ouriço do mar, os diterpenos em questão foram estudados para avaliação da influência no desenvolvimento embrionário.

Este ensaio é um modelo satisfatório para identificar compostos com atividades citotóxica, teratogênica e antineoplásica. Os ouriços do mar (*Lytechinus variegatus*) foram coletados na praia do Pecém, na localidade de São Gonçalo do Amarante - Ceará. Os ensaios foram realizados como descrito por Costa-Lotufo e colaboradores (COSTA-LOTUFO, 2002) utilizando multiplacas com 24 cavidades. As drogas testadas foram adicionadas imediatamente após a fecundação (cerca de 2 min) em concentrações de 10 e 100 µg/ml. As placas foram mantidas sob agitação em temperatura ambiente ($26 \pm 2^\circ\text{C}$). Em intervalos apropriados, alíquotas de 200 µl foram colocadas em um mesmo volume de formalina 10% onde foram observados os estágios de primeira e terceira divisões, e blástula.

A atividade citotóxica dos compostos foi avaliada utilizando as linhagens de células: MCF-7 (câncer de mama), HCT-8 (câncer de cólon), B16 (câncer de pele), CEM e HL-60 (Leucemias) (Children's Mercy Hospital, Kansas City, MO, USA) através do ensaio do MTT (MOSMANN, 1983). O ensaio baseia-se na redução do sal de coloração amarela, o brometo de 3-(4',5'-dimetiltiazol-2'-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolium (MTT) em azul de formazan pela desidrogenase mitocondrial de células metabolicamente ativas. Este ensaio permite analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula, sendo útil para avaliar a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação envolvido. Os compostos (0,4 a 25 µg/ml) foram incubados durante 72 horas, após esse período o conteúdo das placas foi centrifugado, e o meio substituído por um meio contendo MTT. Após três

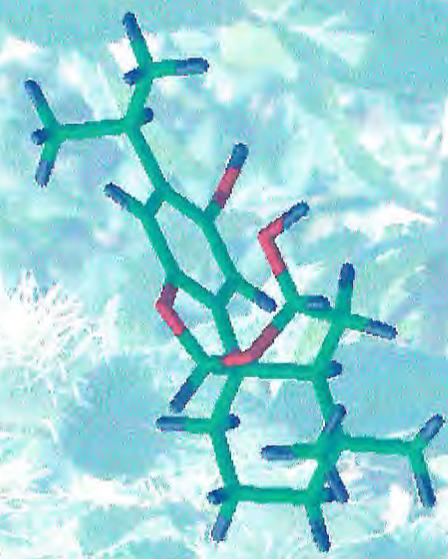
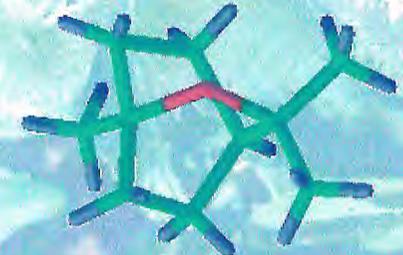
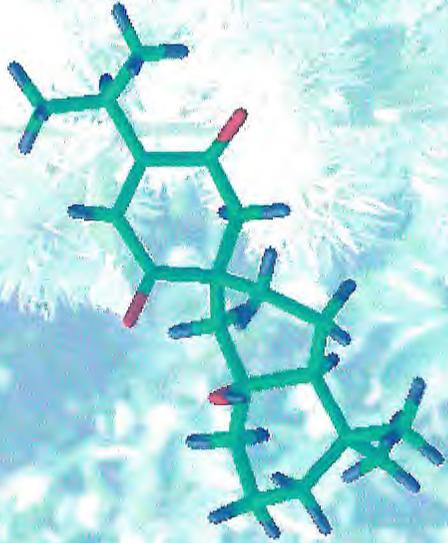
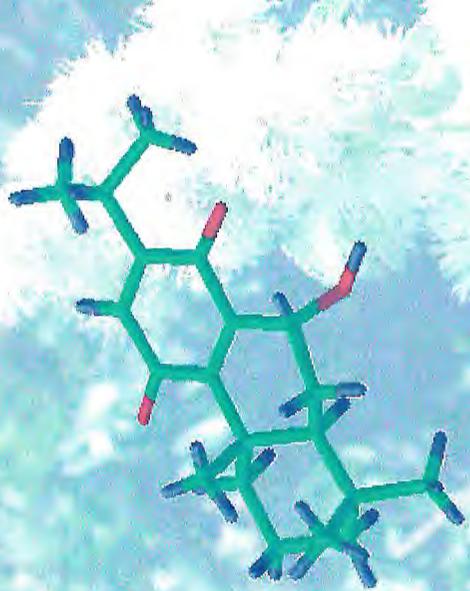
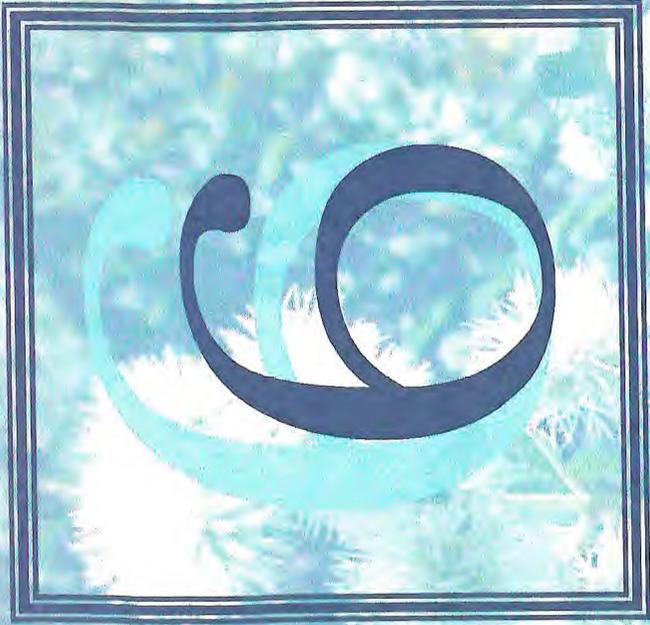
horas de incubação, o MTT foi removido por centrifugação e o precipitado ressuspendido em DMSO.

Ambos os compostos apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de células tumorais. Os valores de IC₅₀ são apresentados na Tabela 56. Compostos puros para serem considerados promissores devem apresentar valores de IC₅₀ abaixo de 1 µg/ml ou 1 µM (PESSOA, 2000). Os diterpenos isolados de *H. martiusii* possuem baixa atividade citotóxica, uma vez que apresentaram valores de IC₅₀ maiores que 1 µg/ml em todas as linhagens de células tumorais testadas.

Tabela 56 – Atividade citotóxica de HM-1 e HM-2, isolados de *Hyptis martiusii* em células tumorais. Os dados representam os valores de IC₅₀ e 95% de intervalo de confiança, obtidos por regressão não linear de três experimentos independentes.

Substâncias	CEM	HL-60	HCT-8	MCF-7	B-16
	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
HM-1	6,4	7,3	11,3	15,0	12,0
	(5,4 – 7,4)	(6,0 – 8,9)	(1,9 – 67,0)	(13,4 – 16,8)	(10,8 – 13,3)
HM-2	14,6	11,7	14,7	22,3	13,0
	(nd)	(10,1 – 13,6)	(13,6 – 16,0)	(18,6 – 26,9)	(12,4 – 13,7)

A Tabela 57 mostra a atividade dos diterpenos abietanos no desenvolvimento dos ovos de ouriço do mar. O carnosol inibiu parcialmente as divisões, na menor concentração testada (10 µg/ml), e a concentração mais alta inibiu completamente as clivagens. Por outro lado, o outro diterpeno testado, 11,14-diidroxi-8,11,13-abietatrien-7-ona, não induziu nenhuma alteração neste ensaio. Estes dados sugerem que o carnosol possui uma leve atividade em ouriço do mar, uma vez que de acordo com Jacobs e seus colaboradores (JACOBS, 1981), somente substâncias que promovem 100% de inibição a uma concentração de 16 µg/ml ou menor, podem ser considerados muito ativos.



PARTIE EXPERIMENTAL

6.0. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Obtenção do Material Botânico

6.1.1. *Hyptis martiusii* Benth

As raízes e inflorescências globulosas de *Hyptis martiusii* Benth (cidreira-do-mato), selecionadas para o estudo dos constituintes voláteis e não-voláteis, foram coletadas em agosto/1999 e dezembro/1999, respectivamente, na localidade de Barreiro Grande – Ceará, situada na Chapada do Araripe, nas proximidades do estado de Pernambuco, pelo professor Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

Uma nova coleta de folhas e inflorescências globulosas em maio/2002 foi realizada para que fosse possível uma análise circadiana de sua constituição volátil.

A identificação botânica de todo o material coletado foi realizada pelo professor Edson Paula Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. As exsicatas representando as coletas se encontram depositadas no Herbário Prisco Bezerra, pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 25.046.

6.1.2. *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth

O material vegetal (parte aérea e raízes) de *H. platanifolia* foi coletado em maio/2002 e setembro/2002 na localidade de Barreiro Grande, município de Crato-Ceará, pelo professor Edilberto Rocha Silveira. As inflorescências e folhas foram, separadas dos talos e selecionadas para estudo dos constituintes voláteis, enquanto os talos e raízes foram secos e triturados para estudo dos constituintes não-voláteis.

A identificação botânica foi feita pelo professor Edson Paula Nunes do Departamento de Biologia-UFC, a exsicata correspondente à coleta destes espécimens foi depositada no Herbário Prisco Bezerra sob o número de registro 31.674.

6.1.3. *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

As folhas de *Hyptis suaveolens* utilizadas para estudo dos constituintes voláteis foram obtidas de espécimens coletados em junho/2003 na localidade de Garapa, Acarape-Ce e de espécimens encontrados em junho/2003 no Campus Universitário do Pici/UFC Fortaleza-Ce, ambos coletados pelo Professor Edilberto R. Silveira. As exsiccatas de identificação encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC sob o número de registro 23.934.

6.1.4. *Hyptis pectinata* (L.) Poit.

As folhas de espécimens de *H. pectinata*, coletadas em junho/2003 na cidade de Barbalha-Ce, foram selecionadas para estudo dos constituintes voláteis, a identificação botânica foi realizada no Herbário Prisco Bezerra, Departamento de Biologia-UFC, pelo professor Edson de Paula Nunes. A exsicata foi armazenada no Herbário Prisco Bezerra-UFC sob o número de registro 32.524.

6.2. Métodos cromatográficos

6.2.1. Cromatografia Líquida Gravitacional em Coluna Aberta (CC)

As cromatografias de adsorção em coluna aberta foram desenvolvidas utilizando-se gel de sílica 60 da VETEC (ϕ mm 0,063 – 0,200 – 70-230 mesh). O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas e quantidades de adsorvente utilizados.

Durante a eluição foram utilizados solventes como éter de petróleo, hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias obedecendo sempre uma ordem crescente de polaridade.

6.2.2. Cromatografia Líquida em Coluna sob Pressão (Flash)

Para cromatografias de adsorção em coluna flash foi utilizada sílica gel 60 (0,040-0,063 mm; 230-400 mesh) da Merck. O comprimento e o diâmetro das colunas variaram conforme as alíquotas das amostras e quantidade de sílica utilizados. Na eluição foram utilizados os solventes hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, obedecendo sempre uma ordem crescente de polaridade.

6.2.3. Cromatografia de Exclusão Molecular

A cromatografia de exclusão molecular foi sucedida utilizando o polímero de dextrana comercial Sephadex LH-20, da PHARMACIA. A quantidade de amostra a ser cromatografada bem como a quantidade de enchimento foram fatores delimitantes para escolha das colunas utilizadas (comprimentos e diâmetros). O solvente metanol foi utilizado como eluente.

6.2.4. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCD)

Utilizou-se cromatoplasmas preparadas, no laboratório, com gel de sílica 60G F254 VETEC, sobre lâminas de vidro, bem como cromatoplasmas da SIGMA ou da MERCK de gel de sílica, com indicador de fluorescência a 254 nm, aderida à folha de poliéster (2-25 µm, camada de 250 µm) ou folha de alumínio (camada de 0,2 mm), respectivamente.

Durante o procedimento de revelação as cromatoplasmas eram inicialmente expostas à radiação UV-Visível em câmara de UV da Vilber Lourmat, modelo CN-15LM (312 e 365 nm) ou lâmpada UV da Spectroline, modelo ENF-240C/F (254 e 365 nm) e finalmente pulverizadas com uma solução de Vanilina (C₈H₈O₃) e ácido perclórico (HClO₄) em etanol P.A. ou imersão destas em uma solução de Vanilina (C₈H₈O₃) e ácido acético (CH₃COOH), seguido de aquecimento em estufa ou chapa de aquecimento a 100 °C, por aproximadamente 5 minutos.

6.3. Métodos espectrométricos

6.3.1. Espectrometria na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000, da central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Foram utilizadas pastilhas de Brometo de Potássio (KBr) para análise das amostras sólidas e filme sobre disco de KBr para as amostras líquidas ou oleosas.

6.3.2. Espectrometria de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C)

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros Bruker, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear CENAUREMN da Universidade Federal do Ceará. Os modelos e parâmetros utilizados foram: Avance DPX-300 operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e na frequência do Carbono-13 a 75,47 MHz, em um campo de 7.0463 Tesla, equipado com sonda inversa multinuclear de 5 mm. Nos experimentos unidimensionais, ^1H e ^{13}C , foram utilizadas para aquisições: larguras espectrais $\text{SW}_\text{H} = 24$ ppm e $\text{SW}_\text{C} = 230$ ppm, período de relaxação de 1.0 s (D_1), pulso de 90° para o ^1H de 9.0 μs com potência de 6.40 dB e para ^{13}C de 12 μs com potência de 0,0 dB; Avance DRX-500 operando na frequência de hidrogênio a 500,13 MHz e na frequência de Carbono-13 a 125,75 MHz em um campo de 11.7440 Tesla, utilizando sonda dual de 5 mm, para experimentos unidimensionais (^1H e ^{13}C), bidimensionais de correlação homonuclear (^1H , ^1H -COSY e NOESY) e correlação heteronuclear (HETCOR e COLOC). Para experimentos bidimensionais de correlação homonuclear (^1H , ^1H -COSY e NOESY), de correlação heteronuclear com detecção inversa (HMQC e HMBC) e com gradiente de campo (GS-COSY, GS-HMQC e GS-HMBC), utilizou-se sonda inversa multinuclear de 5 mm com seleção de gradiente no eixo Z e unidade de gradiente de 10 A. Nos experimentos unidimensionais ^1H , ^{13}C foram utilizadas para as aquisições:

larguras espectrais $SW_H = 24$ ppm e $SW_C = 230$ ppm, período de relaxação de 1.0 s (D_1), pulso de 90° para o 1H de 10,0 μs com potência de -3,0; 2,0 ou 6,4 dB, dependendo do experimento, e para ^{13}C de 6,5 μs com potência de 3,0 dB.

Os solventes utilizados na dissolução das amostras para obtenção dos espectros foram: clorofórmio deuterado ($CDCl_3$), acetona deuterada (C_3D_6O), metanol deuterado (CD_3OD) e piridina deuterada (C_5D_5N), da Aldrich, Merck ou Norell. As soluções de aproximadamente 0,6 mL, de variadas amostras, foram colocadas em tubos de ressonância de 5 mm, à temperatura ambiente, e alocados em sonda dual de 5 mm ou sonda inversa multinuclear de 5 mm com gradiente no eixo z, utilizada especialmente para experimentos bidimensionais (COSY, NOESY, HMQC e HMBC).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de prótio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,24), acetona (δ 2,04), metanol (δ 3,31) e piridina (δ 7,19, 7,55 ou 8,71). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,0), acetona (δ 29,8 e/ou 206), metanol (δ 48,0) e piridina (δ 123,5; 135,5 ou 149,9).

As multiplicidades das bandas de absorção dos hidrogênios nos espectros de RMN 1H foram indicadas segundo a convenção: s (singlete), sl (singlete largo), d (duplete), dl (duplete largo), dd (duplo duplete), dddd (quádruplo duplete), dq (duplo quarteto), t (triplete), td (triplo duplete), q (quarteto), qt (quarteto de triplete), dqint. (duplo quinteto), hept. (hepteto) e m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de 135° (CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos no RMN ^{13}C -BB, descritos segundo a convenção: CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados (C) foram caracterizados pela subtração do espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° do espectro de RMN ^{13}C BB.

6.3.3. Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa dos óleos essenciais extraídos de *Hyptis martiusii*, *Hyptis suaveolens* e *Hyptis platanifolia* e *Hyptis pectinata* foram obtidos (Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará) em Espectrômetro de Massa Hewlett-Packard modelo HP - 5971 A, acoplado ao Cromatógrafo Gás-Líquido modelo HP - 5890 A série II (CGL/EM), usando uma coluna capilar DB-5 - dimetilpolisiloxano - com 30,0 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,30 mm de diâmetro externo e um filme de 0,1 μm , com gradiente de temperatura de 4,0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de 35 a 180 $^{\circ}\text{C}$ e 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de 180 a 280 $^{\circ}\text{C}$, e temperatura do injetor de 250 $^{\circ}\text{C}$. O referido instrumento encontra-se no anexo LPN - UFC situado no PADETEC - UFC.

Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos em aparelho Shimadzu DI-50 QP-5000, localizado na Central Analítica do DQOI - UFC, por injeção direta das amostras.

6.4. Métodos para Obtenção de Dados Físicos

6.4.1. Pontos de fusão (pf)

Os pontos de fusão foram obtidos utilizando um equipamento de microdeterminação digital da Mettler Toledo, provido de placa aquecedora, modelo FP82HT e uma unidade de processamento FP90, localizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

6.4.2. Rotações óptica (α) e específica

As rotações ópticas foram determinadas em Polarímetro digital da Perkin Elmer modelo 341 do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As medidas foram feitas em um comprimento de onda de 589 nm e a 25,0 $^{\circ}\text{C}$.

6.5. Constituição Química Volátil

6.5.1. *Hyptis martiusii* Benth

A análise e identificação dos componentes voláteis das folhas de *H. martiusii*, já havia sido realizado anteriormente e o procedimento descrito em trabalho anterior (ARAÚJO, 2000) e inclusive publicado (ARAÚJO, 2003). A continuidade do estudo resultou no isolamento do componente majoritário do óleo e posterior estudo da atividade biológica, dos mesmos em testes contra insetos como *Aedes aegypti* e *Bemisia argentifolii* (Item 5.2. p. 214).

Ainda foram realizadas coletas de folhas e inflorescências globulosas, para análise circadiana e verificação da composição química, em intervalos de três horas, iniciando as 6:00 horas e finalizando as 21:00 horas.

6.5.1.1. Obtenção do óleo essencial das folhas de *H. martiusii* Benth (Fluxograma 1)

As folhas frescas foram acomodadas em balão de 5 L, juntamente com 2 litros de água destilada, e extraídas por hidrodestilação durante um período de 3 horas. O óleo (camada superior) foi separado do hidrolato (camada inferior), em seguida o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e pesado. O óleo essencial obtido foi enviado para análise dos constituintes por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG/EM).

TABELA 58 – Dados da extração do óleo essencial das folhas de *H. martiusii*

Data da coleta	Peso (g)	Peso do óleo (g)	Teor (%)	Sigla
05/08/1999	560	2,51	0,4	OEHM-F/99

6.5.1.2. Tratamento cromatográfico de OEHM-F/99: Isolamento de HM-12 (Fluxograma 2)

2 g do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* coletadas em agosto/99 foram submetidos a cromatografia em gel de sílica como adsorvente e os eluentes éter de petróleo, éter de petróleo:clorofórmio 1:1 e clorofórmio para obtenção de frações ricas em monoterpenos e sesquiterpenos.

TABELA 59 – Frações obtidas da CC de OEHM-F/99

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Éter de petróleo	OEHM-F/99 (1-2)	1,0361
Éter de petróleo:CHCl ₃ 1:1	OEHM-F/99 (3-5)	0,4157
CHCl ₃	OEHM-F/99 (6-7)	0,2724
Total		1,7242
Rendimento		86,20%

A fração denominada OEHM-F/99 (3-5) apresentou-se como um óleo amarelo claro de odor forte e característico que após submissão à análise espectroscópica por RMN ¹H e ¹³C revelou ser um monoterpeno oxigenado denominado HM-12, constituinte anteriormente identificado no óleo como majoritário.

6.5.1.3. Obtenção dos óleos essenciais das folhas e inflorescências globulosas de *H. martiusii* Benth para estudo circadiano (Fluxograma 1)

Seis coletas, com intervalos de três horas, de uma média de 670 g de folhas e 390 g de inflorescências globulosas frescas de espécimens de *H. martiusii*, foram realizadas no dia 22 de maio de 2002 (Tabela 60). Extrações por hidrodestilação do material vegetal, de cada coleta, foram utilizadas para a obtenção dos óleos essenciais (Fluxograma 1). As coletas em horários diferentes não revelaram nenhuma variação nos rendimentos ou nos aspectos dos óleos obtidos.

TABELA 60 – Dados da extração para análise circadiana dos óleos essenciais das folhas e inflorescências de *H. martiusii* em intervalos de três horas

Horário	Material Botânico	Peso (g)	Vóleo (mL)	Sigla
6:00	Folhas	610	2,0	OEHM-F6
	Inflorescências	370	1,5	OEHM-I6
9:00	Folhas	740	3,0	OEHM-F9
	Inflorescências	550	1,7	OEHM-I9
12:00	Folhas	580	3,0	OEHM-F12
	Inflorescências	600	3,5	OEHM-I12
15:00	Folhas	1050	2,5	OEHM-F15
	Inflorescências	345	1,0	OEHM-I15
18:00	Folhas	605	4,0	OEHM-F18
	Inflorescências	225	1,3	OEHM-I18
21:00	Folhas	485	1,5	OEHM-F21
	Inflorescências	275	1,2	OEHM-I21

6.5.2. *Hyptis platanifolia* Mart ex. Benth

6.5.2.1. Obtenção do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas de *H. platanifolia* Mart ex. Benth (Fluxograma 1)

O material botânico coletado para estudo de constituição química volátil foram folhas e inflorescências globulosas frescas. As mesmas foram submetidas à extração por hidrodestilação, após serem acomodadas em balão de 5 L contendo 2 L de água destilada. A extração durou aproximadamente 2 horas. A mistura, água e óleo, contida no doseador foi separada, e então o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e pesado. O óleo essencial obtido foi enviado para análise dos constituintes químicos por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG/EM).

TABELA 61 – Dados da extração do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas de *H. platanifolia*

Local e data da coleta	Parte da planta	Peso (g)	Vóleo (mL)	Teor (%)	Sigla
Barreiro grande, junho/2003	Folhas	800	0,3	0,04	OEHPL-F
Barreiro grande, junho/2003	Inflorescências	140	0,6	0,43	OEHPL-I

6.5.3. *Hyptis suaveolens* (L.) Poit.

6.5.3.1. Obtenção dos óleos essenciais das folhas de *H. suaveolens* (L.) Poit. (Fluxograma 1)

As folhas frescas foram separadas dos talos e acondicionadas em balão de 5 L, juntamente com 2 L de água destilada, e extraídas por hidrodestilação por um período de 2 horas. A mistura heterogênea contida no doseador foi separada, e então o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e pesado. O óleo essencial obtido foi enviado para análise dos constituintes químicos por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG/EM).

TABELA 62 – Dados da extração do óleo essencial das folhas de *H. suaveolens*

Local e data da coleta	Peso (g)	Vóleo (mL)	Teor (%)	Sigla
Garapa, junho/2003	210	0,8	0,38	OEHSF-G
Campus do Pici, junho/2003	200	0,8	0,40	OEHSF-P

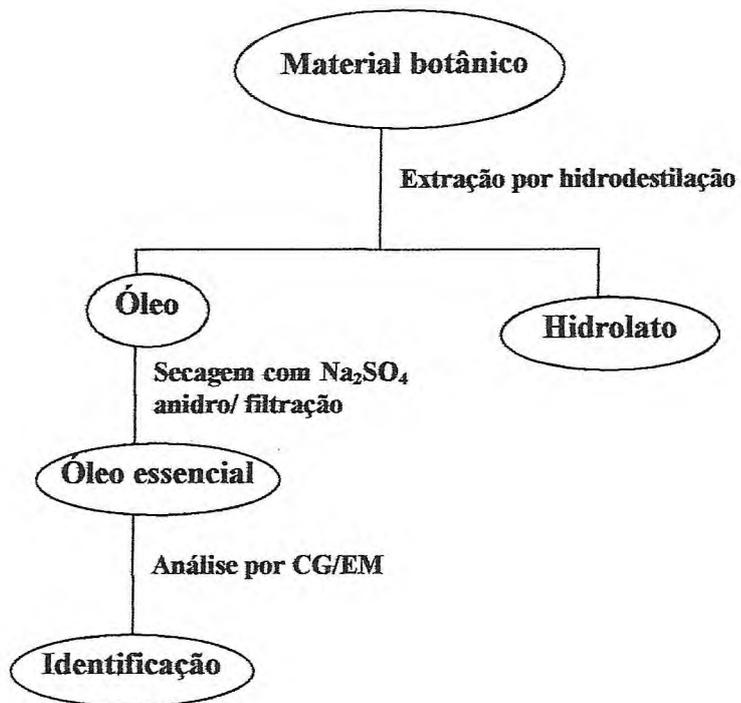
6.5.4. *Hyptis pectinata* (L.) Poit.

6.5.4.1. Obtenção do óleo essencial das folhas de *H. pectinata* (L.) Poit (Fluxograma 1)

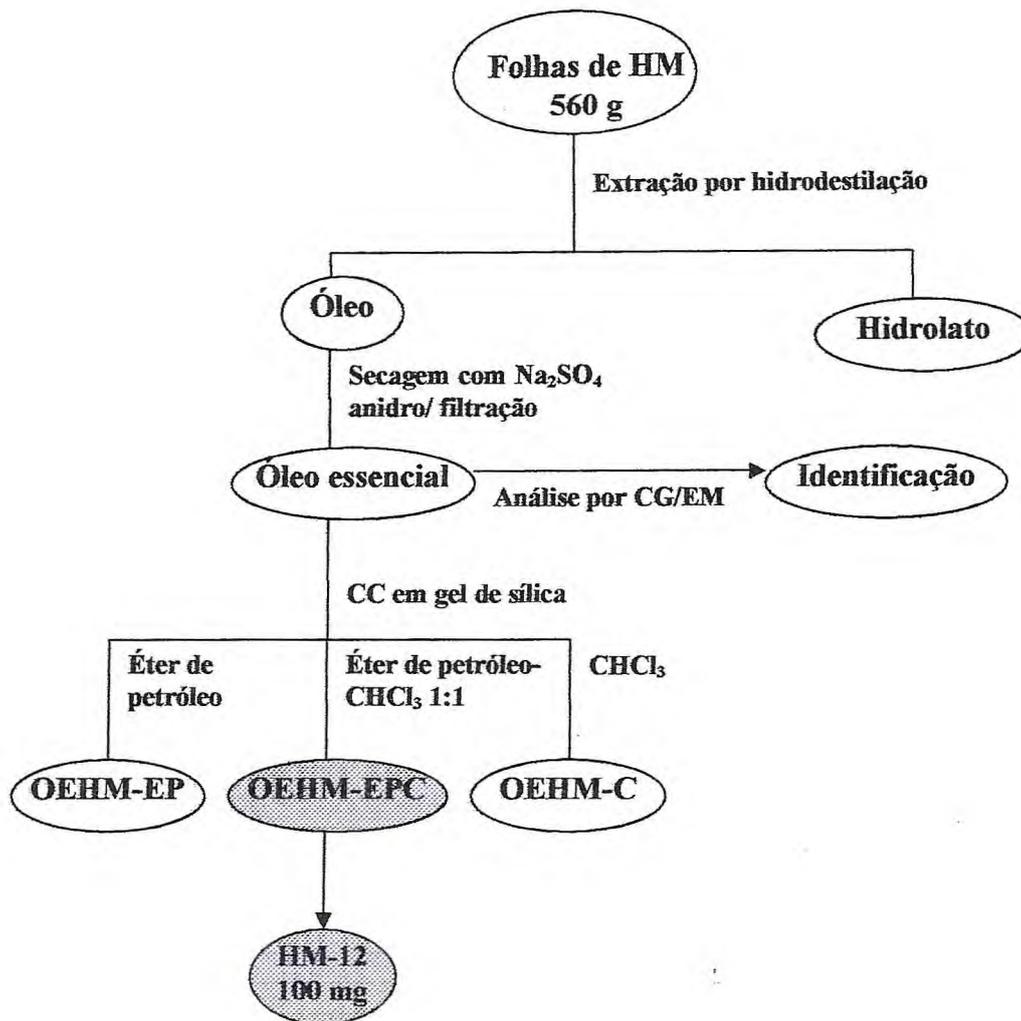
As folhas secas de *H. pectinata* foram separadas dos talos e acomodadas em balão de 5 L contendo um volume de 2 L de água destilada e em seguida foram submetidas a hidrodestilação por um período de 2 horas. A mistura contida no doseador foi retirada e tratada com sulfato de sódio anidro, em seguida o óleo foi filtrado, pesado e enviado para análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG/EM).

TABELA 63 – Dados da extração do óleo essencial das folhas de *H. pectinata*

Local e data da coleta	Peso (g)	Vóleo (mL)	Teor (%)	Sigla
Macaúbas, junho/2003	300	1,2	0,4	OEHPE-F



Fluxograma 1 – Metodologia geral de obtenção dos óleos essenciais



Fluxograma 2 – Isolamento de HM-12

6.6. Constituição Química não volátil

6.6.1. *Hyptis martiusii* Benth

6.6.1.1. Obtenção dos extratos hexânico (HMHI e HMHR) e etanólico (HMEI e HMER) das inflorescências globulosas e raízes de *H. martiusii* Benth

O material vegetal, inflorescências globulosas (secas) e raízes (previamente secas e moídas), foi submetido à extração exaustiva (3 repetições) com hexano e em seguida etanol. Após filtração e destilação do solvente sob pressão reduzida obteve-se os seguintes extratos: 39,75 g de HMHI, 13,02 g de HMHR, 80,41 g de HMEI e 87,82 g de HMER (Fluxograma 3).

6.6.1.2. Tratamento Cromatográfico de HMHI

19,81 g de HMHI foram submetidos à cromatografia, adsorvidos a 40 g de gel de sílica, pulverizados em gral de porcelana e posteriormente acondicionados sobre uma camada de 20 g de gel de sílica em coluna aberta. Após eluição exaustiva com os solventes hexano seguido de clorofórmio, acetato de etila e metanol, as frações de 125 mL obtidas, foram analisadas em CCD, reunidas segundo semelhança, e denominadas conforme indicado na Tabela 64.

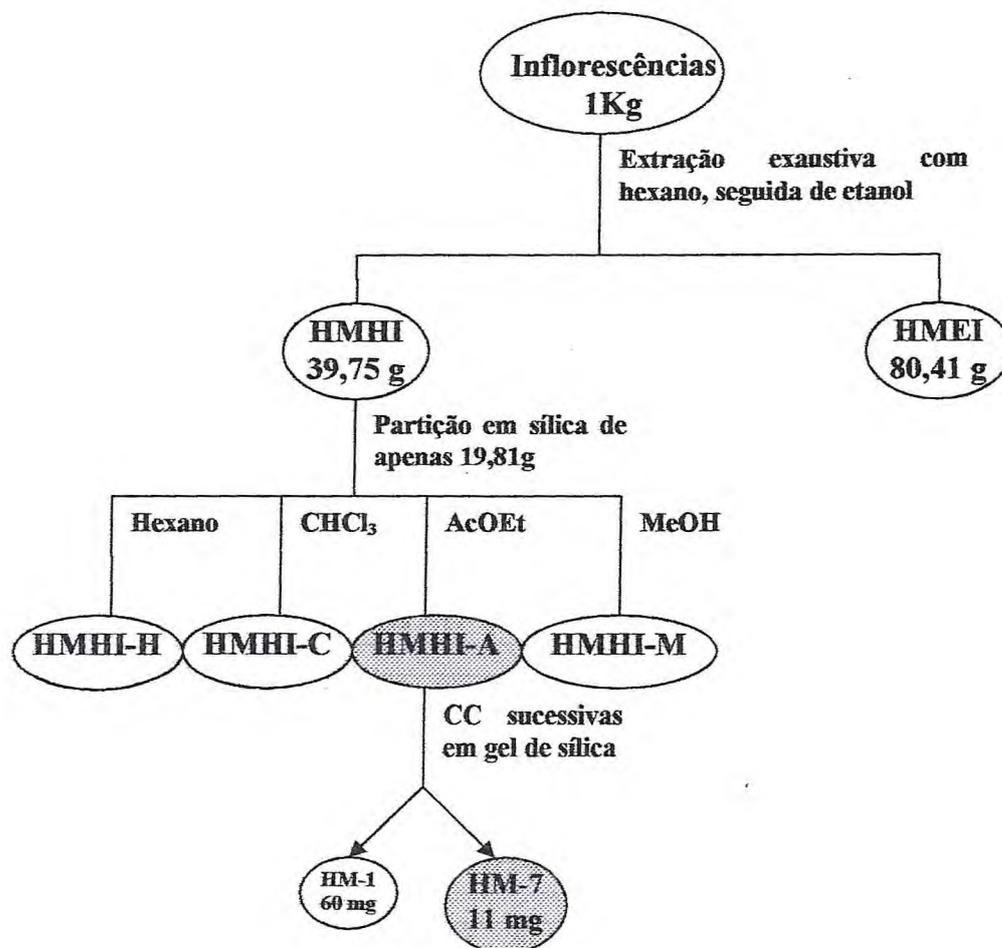
Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo da fração HMHI-A forneceu resultados.

TABELA 64 – CC de HMHI

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HMHI-H	5,2063
Clorofórmio	HMHI-C	6,3477
Acetato de etila	HMHI-A	5,1115
Metanol	HMHI-M	0,1507
	Total	16,8162
	Rendimento	84,89%

6.6.1.3. Fracionamento Cromatográfico de HMHI-A: Isolamento de HM-1 e HM-7 (Fluxograma 3)

Após cromatografias sucessivas da fração HMHI-A, utilizando gel de sílica como adsorvente e a mistura binária dos eluentes hexano e acetato de etila na proporção de 9:1 (eluição isocrática), observou-se a cristalização de sólidos em algumas frações. Comparação em CCD revelou que apesar de cristais semelhantes se tratavam de compostos com *rf* diferentes, as frações foram reunidas conforme esta análise e submetidas a recristalização. O resultado da recristalização em metanol foi a obtenção de cristais incolores denominados HM-1 e HM-7. O primeiro composto, HM-1, foi assim denominado após comparação em CCD com uma amostra autêntica de carnosol, anteriormente isolada. A ratificação de que HM-1 tratava-se do carnosol veio após análise da substância por RMN ^1H e comparação com dados obtidos anteriormente. A fração denominada HM-7 foi também enviada para análise de RMN ^1H e ^{13}C onde foi solubilizada em acetona deuterada, e caracterizada como um diterpeno do tipo abietano, bastante parecido com HM-1.



Fluxograma 3 – Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das inflorescências globulosas de *H. martiusii* e isolamento de HM-1 e HM-7.

6.6.1.4. Tratamento cromatográfico de HMHR (Fluxograma 4)

O extrato hexânico das raízes (13,02 g de HMHR), foi adsorvido a 20 g de gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e devidamente acondicionado sobre uma camada de 30 g do adsorvente em coluna aberta. Após eluição exaustiva com os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol (frações de 100 mL foram obtidas) e após comparação em CCD foram reunidas de acordo com características do material e solvente de eluição, conforme indicado na Tabela 65.

Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo das frações HMHR-C1 e HMHR-C2 forneceram resultados.

TABELA 65 – CC de HMHR

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HMHR-H	1,6876
Clorofórmio	HMHR-C1	5,6033
Clorofórmio	HMHR-C2	5,0431
Acetato de etila	HMHR-A	0,6658
Metanol	HMHR-M	-
Total		12,9998
Rendimento		99%

6.6.1.5. Fracionamento Cromatográfico de HMHR-C1: Isolamento de HM-2, HM-3, HM-8 e HM-11 (Fluxograma 4)

5,60 g de HMHR-C1 foram submetidos a sucessivas cromatografias em gel de sílica como adsorvente, e os eluentes hexano e acetato de etila, principalmente nas proporções 9:1 e 8:2, sempre utilizando eluição isocrática, de acordo com análise preliminar em CCD, e finalizando a cromatografia com metanol. Deste procedimento foram isoladas as substâncias HM-2 e HM-3, anteriormente isoladas, e determinadas por comparação com amostras autênticas em CCD e pela técnica RMN ^1H , como sendo os diterpenos

11,14-dihidroxi-7-oxoabieta-8,11,13-trieno, 7-hidroxi-11,14-dioxiabieta-8,12-dieno, respectivamente. Foram isoladas também as substâncias denominadas HM-8 e HM-11, a primeira um material na forma de cristais amarelos, que após análise em RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, foi identificado como um diterpeno abietano. A segunda um material na forma de cristais aciculares incolores, que após comparação em CCD com amostra autêntica e análise por RMN ^1H e ^{13}C unidimensionais, foi identificado como sendo uma mistura binária de esteróides, bastante encontrada na composição química de plantas superiores e de importante função vital para os vegetais.

6.6.1.6. Fracionamento Cromatográfico de HMHR-C2: Isolamento de HM-6 (Fluxograma 4)

Após cromatografias sucessivas da fração HMHR-C2 (5,04 g), no adsorvente gel de sílica e com os solventes hexano e acetato de etila, em mistura binária de 9:1 e eluição isocrática, foi possível o isolamento de uma substância sólida amarela de aspecto resinoso. Após comparação em CCD com amostra autêntica e análise em RMN ^1H , foi possível a identificação deste como HM-6. Um diterpeno abietano anteriormente isolado desta espécie e denominado *7-seco-7(20),11(20)-diepoxi-7,14-dihidroxiabieta-8,11,13-trieno*.

6.6.1.7. Tratamento Cromatográfico de HMER (Fluxograma 4)

Foi realizada uma cromatografia utilizando 40 g do HMER, gel de sílica como adsorvente e os eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. As frações de 250 mL obtidas foram separadas de acordo com o solvente de eluição e reunidas. Os resultados encontram-se na Tabela 66.

Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo das frações HMER-C e HMER-A forneceram resultados.

TABELA 66 – CC de HMER

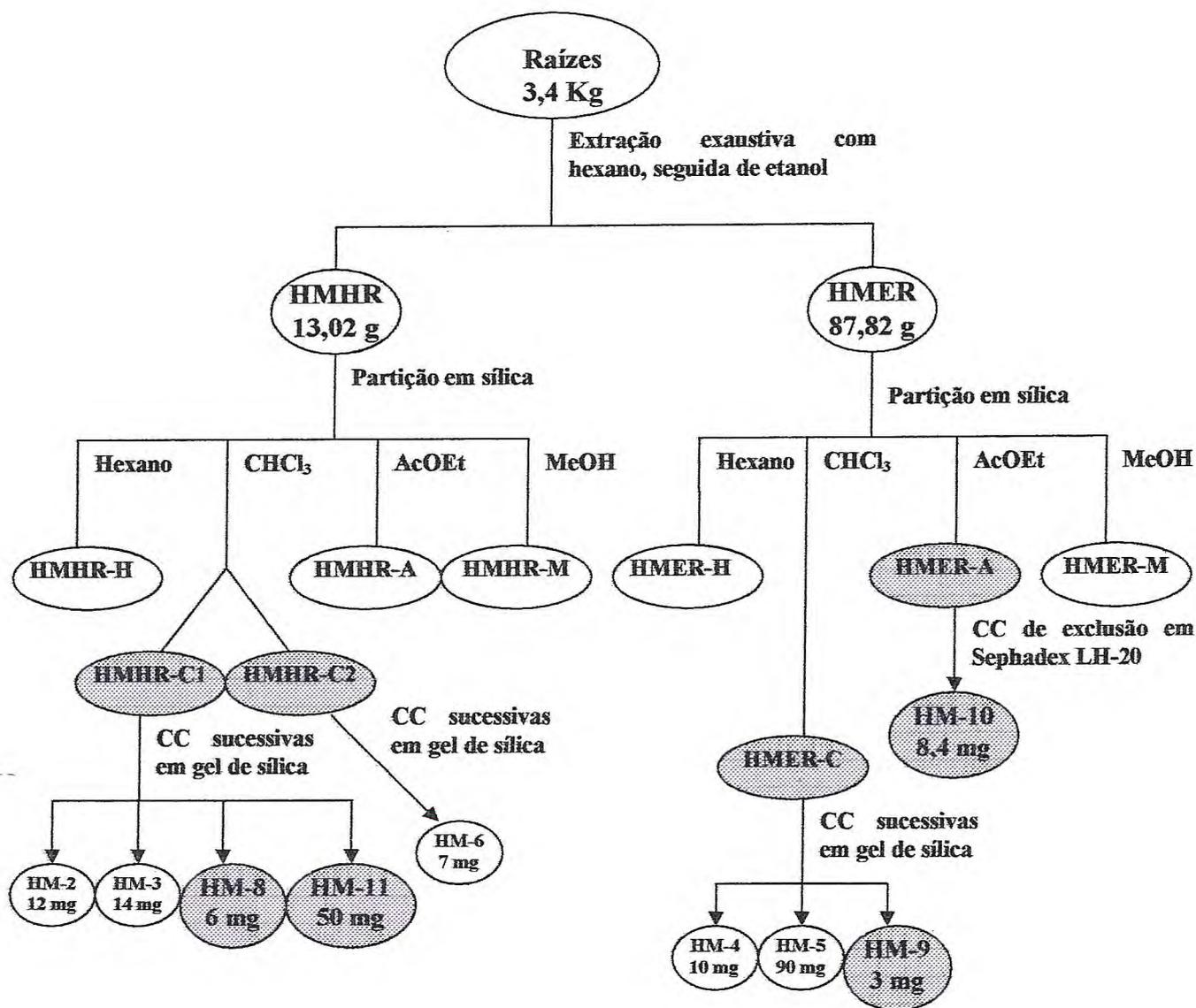
ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HMER-H	0,0231
Clorofórmio	HMER-C	5,1506
Acetato de etila	HMER-A	6,3545
Metanol	HMER-M	20,1182
	Total	31,6464
	Rendimento	79,12%

6.6.1.8. Fracionamento Cromatográfico de HMER-C: Isolamento de HM-4, HM-5 e HM-9 (Fluxograma 4)

Sucessivas cromatografias em gel de sílica, de 5,15 g de HMER-C, com eluição da mistura binária hexano:acetato de etila 9:1, permitiram o isolamento de três substâncias. As duas primeiras após comparação por CCD com amostras autênticas, revelaram-se idênticas a HM-4 (ácido betulínico) e HM-5 (ácido 12-metoxicarnósico). A terceira substância isolada, denominada HM-9 foi obtida como cristais incolores e sua identificação em CCD somente foi possível através de revelação sob radiação na região do UV-visível ($\lambda=254$ nm). Após análise em RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais foi identificada como um provável diterpeno de esqueleto não identificado.

6.6.1.9. Fracionamento Cromatográfico de HMER-A: Isolamento de HM-10 (Fluxograma 4)

Após sucessivas cromatografias em gel de sílica sem sucesso uma alíquota de 222,9 mg da fração HMER-A, foi solubilizada em metanol e fracionada por exclusão molecular em Sephadex LH-20 (20 cm x 3 cm). O solvente utilizado foi metanol, isocraticamente. Foram obtidas 26 frações, dentre as frações reunidas, mediante monitoramento por CCD, a fração (6-8) mostrou halos bem definidos e foi então recromatografada em gel de sílica utilizando os eluentes clorofórmio e acetato de etila puros ou em misturas binárias. A substância isolada possui um aspecto de sólido amorfo marron e foi denominada HM-10.



Fluxograma 4 – Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das raízes de *H. martiusii* e isolamento dos compostos HM-2, HM-3, HM-4, HM-5, HM-6, HM-8, HM-9, HM-10 e HM-11.

6.6.2. *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth

6.6.2.1. Obtenção dos extratos hexânico (HPHT e HPHR) e etanólico (HPET e HPER) dos talos e raízes de *H. platanifolia* Mart. ex Benth

Os talos (330 g) e raízes (2470 g), previamente secos e triturados, foram submetidos à extração exaustiva (três repetições) com hexano seguida de etanol. Após filtração e evaporação do solvente sob pressão reduzida em evaporador rotativo obteve-se 3,20 g de HPHT e 13,51 g de HPET, para os talos (**Fluxograma 5**), e 11,55 g de HPHR e 120,48 g de HPER, para as raízes (**Fluxograma 6**).

6.6.2.2. Isolamento de HP-1

Durante a preparação do extrato hexânico dos talos de *H. platanifolia* foi observada uma razoável quantidade de sólido, que durante a evaporação do solvente ficava aderido ao balão de fundo redondo, o sólido amorfo branco foi solubilizado em metanol, e após retirada do solvente, 48 mg foram enviados para análise por RMN ^1H e ^{13}C , a fração foi denominada HP-1.

6.6.2.3. Análise Cromatográfica de HPHT

Uma alíquota do extrato HPHT (1,99 g) foi adsorvido em 3,5 g de gel de sílica e devidamente acondicionado, em funil cilíndrico de 125 mL, sobre 20 g de gel de sílica, suporte utilizado para a cromatografia. Os solventes utilizados foram hexano, clorofórmio e acetato de etila puros. As frações foram coletadas em erlenmeyers de 50 mL, concentradas em evaporador rotativo e reunidas após comparação por CCD, os dados obtidos encontram-se na Tabela 67.

Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo da fração HPHT-C forneceu resultados.

TABELA 67 – CC de HPHT

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HPHT-H	0,4212
Clorofórmio	HPHT-C	1,4375
Acetato de etila	HPET-A	0,1222
	Total	1,9809
	Rendimento	99,53%

6.6.2.4. Fracionamento Cromatográfico de HPHT-C: Isolamento de HP-1 e HP-6 (Fluxograma 5)

Cromatografias sucessivas em gel de sílica e os solventes hexano, clorofórmio e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, da fração HPHT-C permitiu o isolamento de duas substâncias. A primeira após comparação em CCD foi identificada como HP-1 já mencionada no Ítem 6.6.2.2, enquanto que a outra, denominada HP-6, após comparação com amostra autêntica em CCD e análise por RMN ^1H , foi identificada como a mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol.

6.6.2.5. Particionamento Líquido-Líquido de HPET

1,2 g do extrato HPET foi solubilizado em 100 mL de etanol acondicionado em funil de separação de 1000 mL juntamente com 50 mL de hexano e após adição de 50 mL de água destilada observou-se a formação de duas fases. Foram realizadas 6 extrações com 50 mL de hexano cada, duas extrações com 100 mL de diclorometano cada, e a última extração foi duas vezes de 50 mL de acetato de etila. Os resultados obtidos da partição encontram-se na Tabela 68. As frações obtidas foram reunidas e concentradas de acordo com o solvente utilizado na partição.

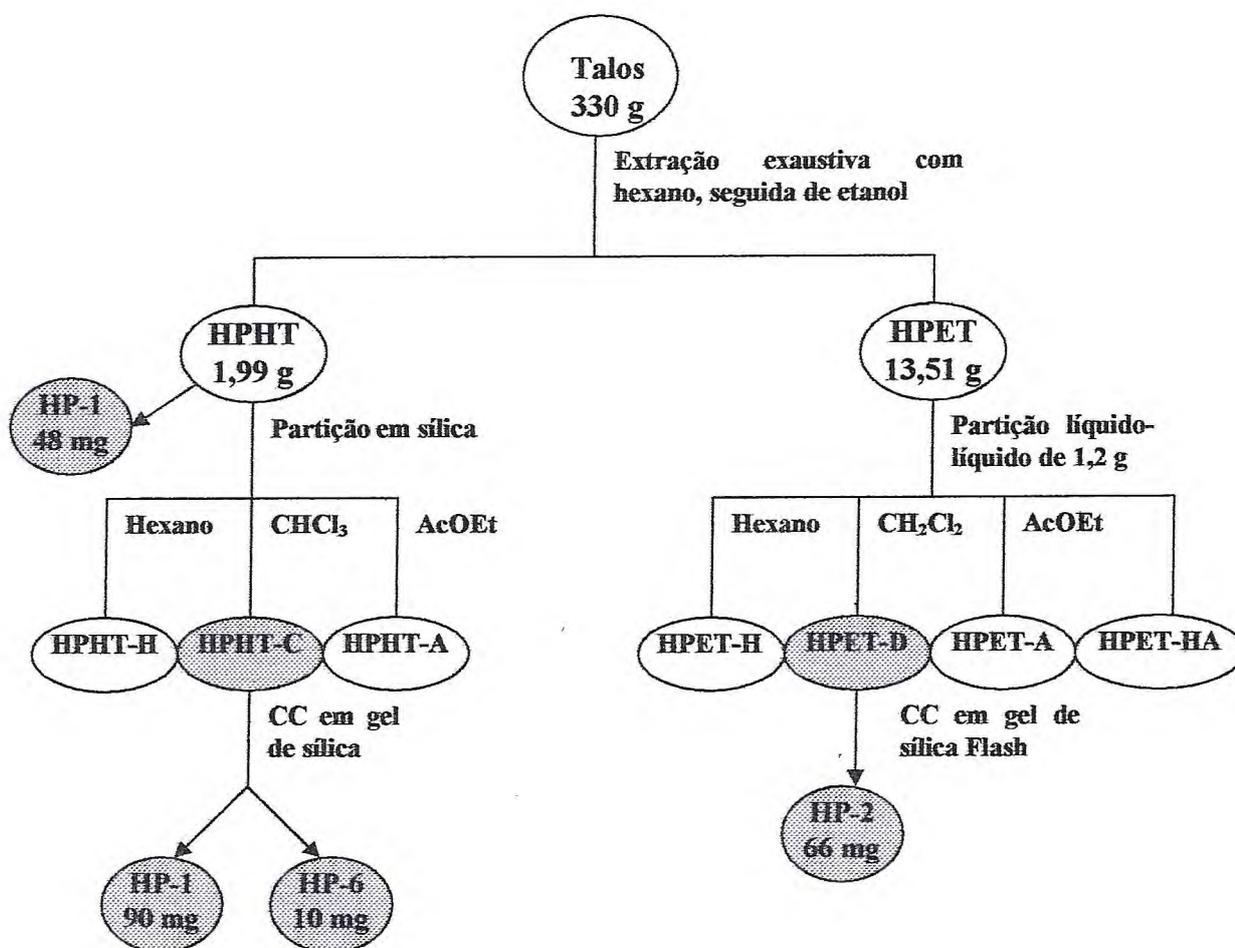
Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo da fração HPET-D forneceu resultados.

TABELA 68 – Partição L/L de HPET

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HPET-H	0,2557
Diclorometano	HPET-D	0,4833
Acetato de etila	HPET-A	0,0357
Etanol-Água	HPET-HÁ	0,3600
	Total	1,1347
	Rendimento	94,50%

6.6.2.6. Fracionamento Cromatográfico de HPET-D: Isolamento de HP-2 (Fluxograma 5)

Colunas cromatográficas sucessivas, incluindo cromatografia flash, da fração HPET-PD em gel de sílica e os solventes hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, possibilitou o isolamento do composto denominado HP-2, um sólido amorfo branco bastante abundante na fração, que foi posteriormente submetido a análise por RMN ^1H e ^{13}C .



Fluxograma 5 – Obtenção dos extratos hexânico e etanólico dos talos de *H. platanifolia* e isolamento dos compostos HP-1, HP-2 e HP-6.

6.6.2.7. Análise Cromatográfica de HPHR

O extrato hexânico obtido das raízes de *H. platanifolia* denominado HPHR (11,55 g) foi adsorvido em 22 g de gel de sílica e posteriormente acomodados sobre uma camada de 50 g de gel de sílica. Na eluição utilizou-se os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol e foram coletadas frações de 100 mL. Os resultados obtidos desta cromatografia, após reunião das frações, encontram-se descritos na Tabela 69.

Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo das frações HPHR-H e HPHR-C forneceram resultados.

TABELA 69 – CC de HPHR

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HPHR-H	2,2585
Clorofórmio	HPHR-C	6,2986
Acetato de etila	HPER-A	0,5084
Metanol	HPER-M	0,0762
	Total	9,1417
	Rendimento	79,15%

6.6.2.8. Estudo da fração HPHR-H: Isolamento de HP-3 (Fluxograma 6)

Foi realizada uma partição líquido-líquido com os solventes metanol e hexano de 639,1 mg da fração HPHR-H (fração apolar do extrato de coloração vermelha). O material foi solubilizado em 10 mL de metanol com algumas gotas de água destilada, em seguida acondicionados em funil de separação onde posteriormente foram colocados mais 10 mL de hexano. A mistura foi agitada vigorosamente e observou-se a separação nítida de duas fases. A fração hexânica recolhida foi separada e possuía uma coloração vermelha bem intensa. Mais duas alíquotas de 10 mL de hexano foram adicionadas ao funil de separação e uma segunda fração hexânica de 20 mL foi separada. As três frações foram secas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, comparadas por análise em CCD e denominadas: PH1, PH2 e PM. Na fração PH2 foi observada a presença de cristais, então esta foi submetida à recristalização em metanol o que

resultou na obtenção de cristais de coloração amarela intensa, que após análise em CCD mostrou-se como um único halo uniforme e foi denominado HP-3.

6.6.2.9. Fracionamento Cromatográfico de HPHR-C: Isolamentos de HP-4 e HP-7 (Fluxograma 6)

Após cromatografias em gel de sílica com os solventes diclorometano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, obedecendo a ordem de polaridade, da fração HPHR-C, foi possível o isolamento de uma substância na forma de cristais amarelos denominada HP-4 que foi enviada para análise espectroscópica e posterior determinação estrutural.

A identificação da substância denominada HP-7, ocorreu após o insistente fracionamento cromatográfico de HPHR-C com os solventes hexano e acetato de etila, em eluição isocrática, inclusive cromatografia flash. Após análise por RMN ^1H e ^{13}C observou-se tratar de uma mistura de diterpenos, que mesmo após todo o tratamento cromatográfico a que foi submetido não foi possível sua separação, no entanto os dados foram obtidos e a estrutura dos diterpenos epímeros foi determinada.

6.6.2.10. Particionamento Líquido-Líquido de HPER

19 g de HPER foram dissolvidos em 90 mL de metanol e adicionados a um funil de separação 1000 mL. Em seguida 50 mL hexano foram adicionados e água destilada até que fosse observada a completa separação das fases. A extração com hexano foi realizada até a completa saída de substâncias solúveis neste solvente. Ainda foram feitas extrações com os solventes diclorometano e acetato de etila, os dados obtidos encontram-se descritos na Tabela 70.

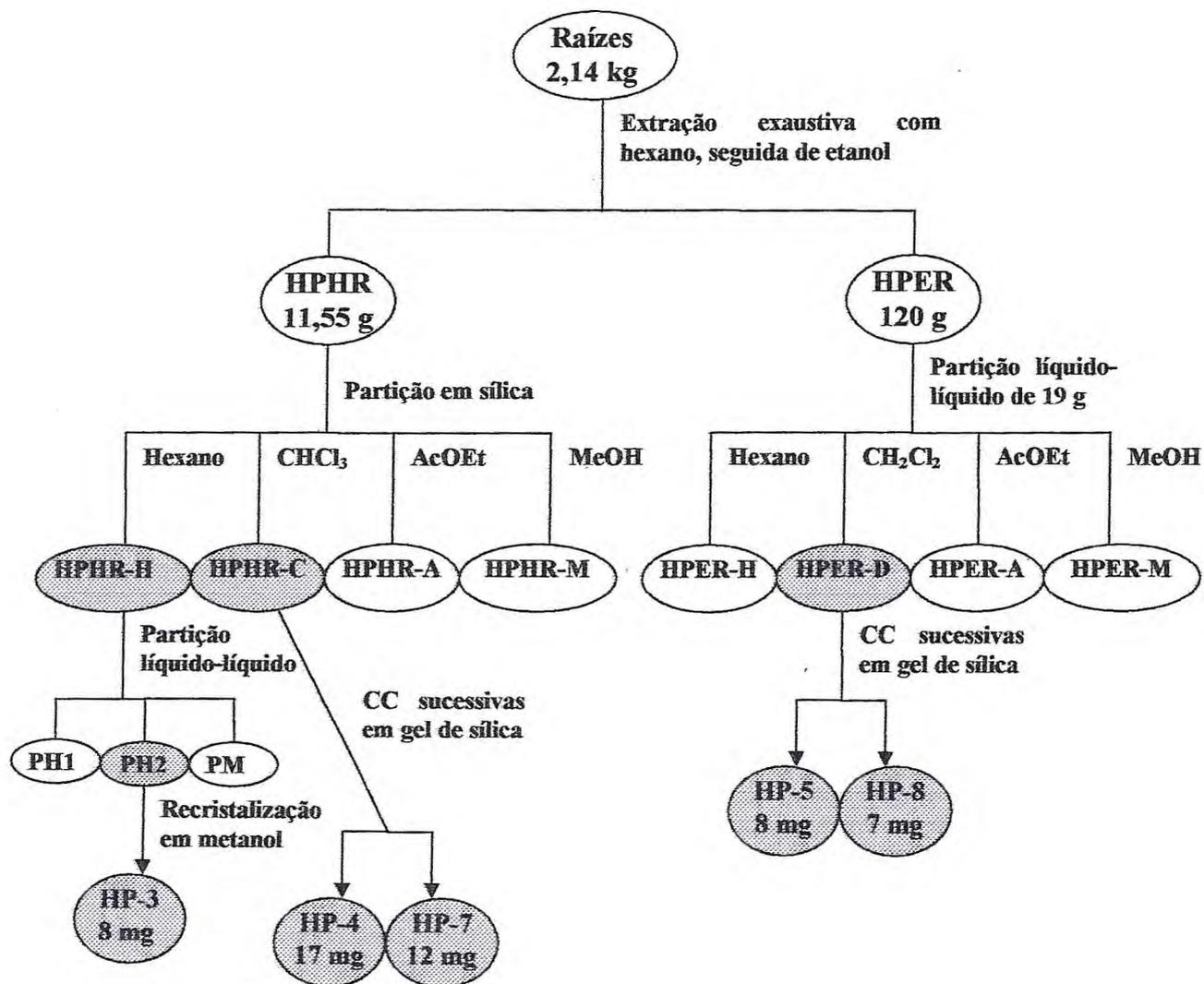
Todas as frações obtidas foram estudadas, no entanto apenas o estudo da fração HPER-D forneceu resultados.

TABELA 70 – Partição L/L de HPER

ELUENTE	FRAÇÃO	PESO (g)
Hexano	HPER-H	1,81
Diclorometano	HPER-D	4,58
Acetato de etila	HPER-A	3,57
Metanol-Água	HPER-M	5,18
	Total	15,14
	Rendimento	79,68%

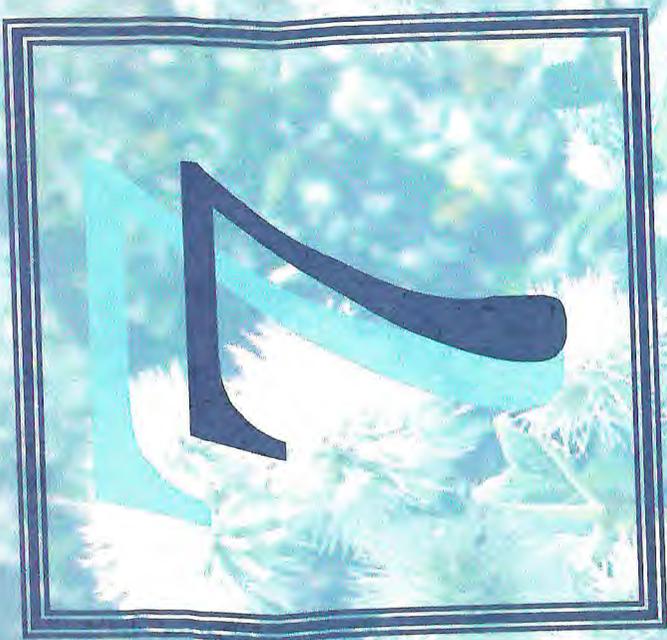
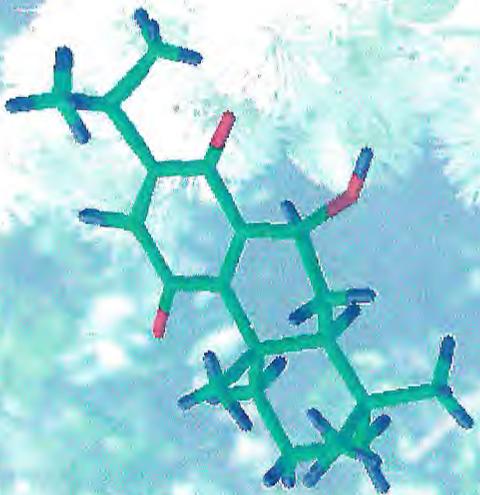
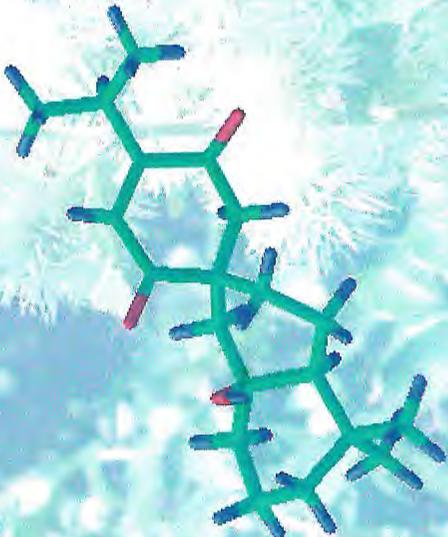
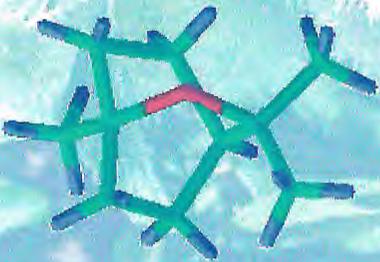
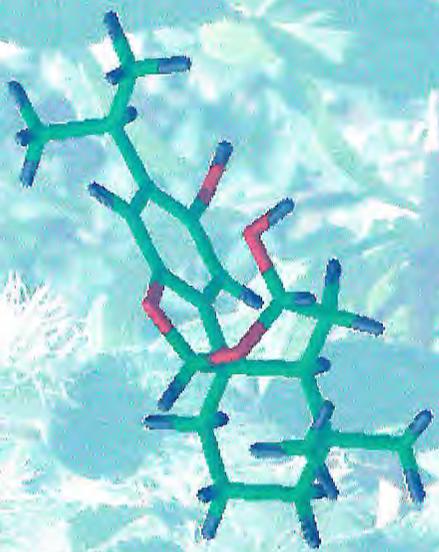
6.6.2.11. Fracionamento Cromatográfico de HPER-D: Isolamento de HP-5 e HP-8 (Fluxograma 6)

Colunas cromatográficas sucessivas da fração HPER-D em gel de sílica como adsorvente e eluição isocrática com hexano e acetato de etila (9:1), permitiram o isolamento de dois compostos na forma de cristais amarelos denominados HP-5 e HP-8, que após análise em RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais foram caracterizados como diterpenos da série abietano.



Fluxograma 6 – Obtenção dos extratos hexânico e etanólico das raízes de *H. platanifolia* e isolamento dos compostos HP-3, HP-4, HP-5, HP-7 e HP-8.

CONCLUSÕES

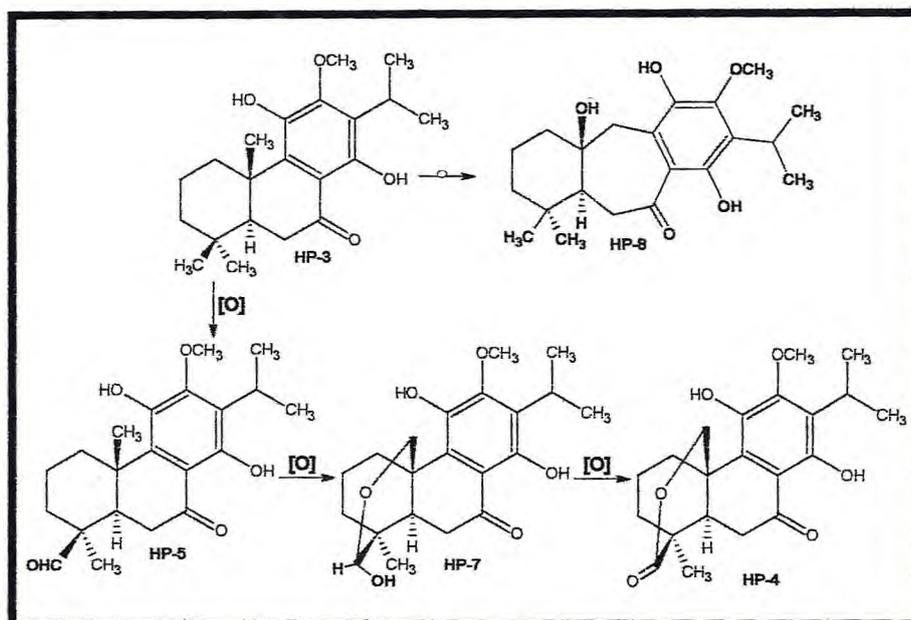


7.0. CONCLUSÕES

Conforme estava previsto no projeto de tese, foram realizados estudos fitoquímicos com as espécies do gênero *Hyptis*: *H. martiusii* Benth, *H. platanifolia* Mart ex. Benth (estudo inédito), *H. suaveolens* (L.) Poit. e *H. pectinata* (L.) Poit.

O estudo circadiano do óleo essencial das folhas e inflorescências globulosas de *H. martiusii* revelou que a constituição química majoritária identificada varia muito pouco e pode ser, portanto considerada constante. O estudo biológico do óleo essencial das folhas e 1,8-cineol (constituente majoritário isolado do óleo) com relação à atividade inseticida mostrou que o constituinte 1,8-cineol pode ser considerado um promissor inseticida natural. A continuidade do estudo da composição não volátil das raízes e inflorescências globulosas de *H. martiusii* permitiu o isolamento de mais seis constituintes (um triterpeno, três diterpenos, um monoterpene e uma mistura binária esteroidal). Dentre os diterpenos, um com esqueleto abietano do tipo espiro inédito na literatura, e os demais inéditos para o gênero. Com dois dos diterpenos já caracterizados em trabalho anterior, carnasol (HM-1) e 11,14-diidroxi-8,11,13-abietatrien-7-ona (HM-2), foram realizados testes para identificar o efeito antiproliferativo, e constatou-se que ambos os diterpenos possuem apenas fraca atividade, todavia podem ser considerados precursores de compostos mais potentes, já no levantamento bibliográfico foi apresentado o potencial antibacteriano e antioxidante destes compostos. O estudo com *H. martiusii* já rendeu seis apresentações em congressos nacionais e internacionais e duas publicações em revistas internacionais (ARAÚJO, 2003; COSTA-LOTUFO, 2003).

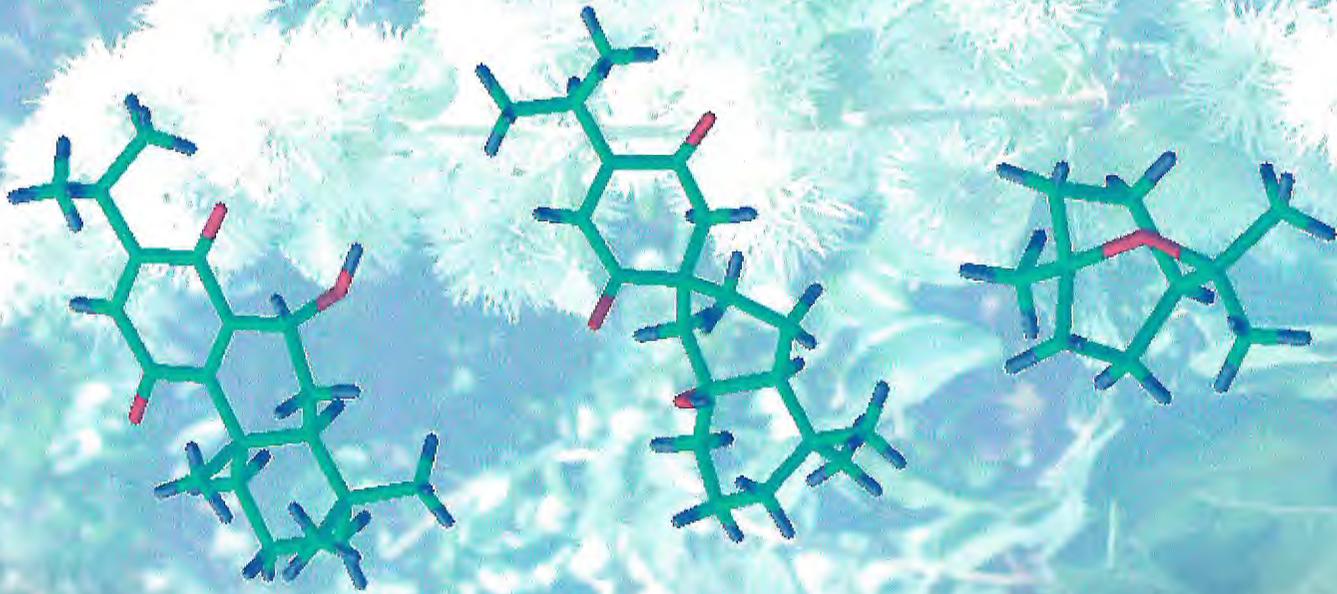
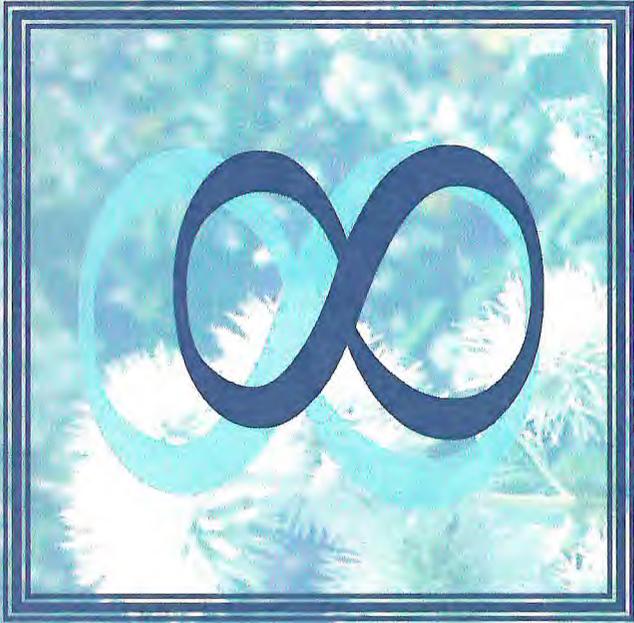
A análise da constituição volátil das folhas e inflorescências globulosas de *H. platanifolia* permitiu a identificação de dezesseis constituintes do óleo essencial das folhas e treze componentes do óleo essencial das inflorescências globulosas. O estudo da composição química não volátil dos talos e raízes de *H. platanifolia* possibilitou o isolamento de oito substâncias dentre elas, dois triterpenos, uma mistura binária esteroidal (isolados dos talos) e cinco diterpenos (isolados das raízes), sendo três deles inéditos na literatura. Os outros diterpenos são inéditos para o gênero enquanto os triterpenos são inéditos para a espécie. A caracterização estrutural dos diterpenos isolados das raízes mostrou que existe uma relação bem próxima na biogênese destes compostos, como pode ser observado no Quadro 13, a presença de agentes oxidantes enzimáticos específicos favorecem a rota proposta.



Quadro 13 – Proposta biogenética para a formação dos metabólitos secundários isolados de *H. platanifolia*

A avaliação da composição química volátil das folhas da espécie *H. suaveolens* (coletas em localidades diferentes), revelou a identificação de vinte e dois componentes nos óleos essenciais analisados, tendo o 1,8-cineol sempre como o componente em maior teor, e permitiu ressaltar que espécimens de *H. suaveolens* estudados de outras regiões possuem composição majoritária diferente. Enquanto para *H. pectinata* foram identificados dezenove constituintes, sendo os majoritários β -pineno, *para*-cimeno, β -cariofileno e espatulenol, também diferente da constituição majoritária publicada na literatura.

Os resultados apresentados neste trabalho permitem vislumbrar a continuidade do estudo fitoquímico destas espécies, principalmente de *H. platanifolia*, até então não estudada, e que suma importância tem o estudo fitoquímico de espécies ainda desconhecidas na incessante busca por novos compostos que um dia servirão a sociedade, na solução para doenças incuráveis e epidemias que assolam a humanidade. É com este pensamento que me sinto à vontade para assegurar que os resultados apresentados aqui foram obtidos com todo apreço e dedicação e são de fundamental importância para a continuidade desta busca, que não deve jamais cessar, apesar dos obstáculos.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. San Diego: Academic Press Inc., 2001.
- AHMAD, V. U.; RAHMAN, A. Handbook of Natural Products Data – Pentacyclic Triterpenoids. Elsevier, v. 2, 1994.
- ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. Kovats Indices Simulation Essencial Oils Analysis. **Quím. Nova**, v. 13, n. 4, p. 282, 1990.
- ALMTORP, G. T.; HAZELL, A. C.; TORSELL, K. G. A lignan and pyrone and other constituents from *Hyptis capitata*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2753-2756, 1991.
- ARAGÃO, P. C.; TOLEDO, J. B.; MORAIS, A. A.; BRAZ-FILHO, R. Substâncias naturais isoladas de *Stigmaphyllon tomentosum* e *Byrsonima variabilis*. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 254-259, 1990.
- ARAÚJO, E. C. C. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste: *Hyptis martiusii* Benth (Labiatae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2000.
- ARAÚJO, E. C. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ANDRADE NETO, M.; ANDRADE, I. L.; LIMA, M. A. A.; SANTIAGO, G. M. P.; MESQUITA, A. L. M. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 3760-3762, 2003.
- ASEKUN, O. T.; EKUNDAYO, O.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* leaves. **Fitoterapia**, v. 70, p. 440-442, 1999.
- AYCARD, J.; KINI, F.; KAM, B.; GAYDOU, E. M.; FAURE, R. Isolation and identification of spicigera lactone: complete ^1H and ^{13}C assignments using two-dimensional NMR experiments. **J. Nat. Prod.**, v. 56 (7), 1171-1173, 1993.
- AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; PAULA, J. R.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essencial oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Bioch. Syst. Ecol.**, v. 30, p. 205-216, 2002.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. Sistemática de Angiospermas do Brasil, Viçosa, UFV, Impr. Univ., v. 3, p. 98-118, 1986.
- BATISTA, O.; DUARTE, A.; NASCIMENTO, J.; SIMÕES, M. F. Structure and antimicrobial activity of diterpenes from roots of *Plectranthus hereroensis*. **J. Nat. Prod.**, v. 57, n. 6, p. 858-861, 1994.

- BATISTA, O.; SIMÕES, M. F.; DUARTE, A.; VALDEIRA, M. C. T.; RODRIGUEZ, B. Antimicrobial abietane from the root of *Plectranthus hereroensis*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 167-169, 1995.
- BRIESKORN, C. H.; FUCHS, A.; BRENDENDERG, J. B.; MCCHESENEY, J. D.; WENKERT, E. The structure of Carnasol. **J. Org. Chem.**, v. 29, p. 1035-1038, 1964.
- CÁRDENAS, J.; RODRÍGUEZ-HAHN, L. Abietane and icetexane diterpenoids from *Salvia candicans*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 199-204, 1995.
- CHANG, H. M.; CHENG, K. P.; CHOANG, T. F.; CHOW, H. F.; CHUI, K. Y.; HON, P. M.; TAN, F. W. L.; YANG, Y.; ZHONG, Z. P.; LEE, C. M.; SHAM, H. L.; CHAN, C. F.; CUI, Y. X.; WONG, H. N. C.; Structure elucidation and total synthesis of new tanshinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen). **J. Org. Chem.**, v. 55, p. 3537-3543, 1990.
- CHEN, X.; DING, J.; YE, Y.; ZHANG, J. Bioactive abietane and *seco*-abietane diterpenoids from *Salvia prionitis*. **J. Nat. Prod.**, v. 65, p. 1016-1020, 2002.
- COSTA-LOTUFO, L. V.; ARAÚJO, E. C. C.; LIMA, M. A. S.; MORAES, M. E. A.; PESSOA, C.; SILVEIRA, E. R.; MORAES, M. O. Antiproliferative effects of abietane diterpenoids isolated from *Hyptis martiusii* Benth (Labiatae). **Pharmazie**, v. 58, p. 78-79, 2003.
- COSTA-LOTUFO, L. V.; CUNHA, G. M. A.; FARIAS, P. A. M.; VIANA, G. S. B.; CUNHA, K. M. A.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V.; RAO, V. S. N. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. **Toxicon**, v. 40, p. 1231-1234, 2002.
- CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste, Fortaleza-Ceará: Edições UFC, p. 67, 1981.
- CRONQUIST, A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants, NY Oxford: Columbia University Press, p. 924-927, 1981.
- FRAGA, B. M.; GONZÁLEZ, A. G.; HERRERA, J. R.; LUIS, J. G.; RAVELO, A. G. Diterpenes from the roots of *Salvia canariensis*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 1, p. 269-271, 1986.

- FRAGOSO-SERRANO M.; GONZALEZ-CHIMEO E.; PEREDA-MIRANDA R.
Novel labdane diterpenes from the insecticidal plant *Hyptis spicigera*. **J. Nat. Prod.**, v. 62, p. 45-50, 1999.
- FRONTANA, B.; CÁRDENAS, J.; RODRÍGUEZ-HAHN, L. Diterpenoids from *Salvia coulteri*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p. 739-741, 1994.
- GONZÁLEZ, A. G.; AGUIAR, Z. E.; GRILLO, T. A.; LUIS, J. G. Diterpenes and diterpene quinones from the roots of *Salvia apiana*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 5, p. 1691-1695, 1992.
- GONZÁLEZ, A. G.; ANDRÉS, L. S.; HERRERA, J. R.; LUIS, J. G.; RAVELO, A. G. Abietane diterpenes with antibiotic from the flowers of *Salvia canariensis*. Reaction of galdosol with diazomethane. **Canadian J. Chem.**, v. 67, p. 208-212, 1989.
- GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified Distillation Trap. **Chemist Analyst**, v. 49, p. 114, 1960.
- HANNEDOUCHE, S.; SOUCHARD, J. P.; JACQUEMOND-COLLET, I.; MOULIS, C. Molluscicidal and radical scavenging activity of quinones from root bark of *Caryopteris x clandonensis*. **Fitoterapia**, v. 73, p. 520-522, 2002.
- HARLEY, R. M.; REYNOLDS T. *Advanced in Labiatae*, Royal Botanic Gardens Kew, 1992.
- HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; BANDOME, T.; NAMOSE, Y.; SHIMIZU, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; KAWASAKI, M.; FUJITA, A.; UENO, H.; HORIE, T.; WADA, S.; SHOGAWA, H.; MORITA, N.; BERGANZA, L. H.; FERRO, E.; BASUALDO, I. Studies on medicinal plants in Paraguay; Studies on "Romero"; part 1. **Planta Med.**, v. 53, p. 394, 1987
- HAYASHI, T.; KAKISAWA, H.; HSÜ, H.; CHEN, Y. P. The structure of miltirone, a new diterpenoid quinone. **J. Chem. Soc. Chem. Comm.**, v. 5, 299, 1970.
- HENSCH, M.; RÜEDI, P.; EUGSTER, C. H. Horminone, taxoquinone and other royleanones, obtained from two Abyssinian *Plectranthus* species (Labiatae). **Helv. Chim. Acta**, v. 58, n. 7, p. 1921-1934, 1975.
- HERNÁNDEZ, M.; ESQUIVEL, B.; CÁRDENAS, J.; RODRÍGUEZ-HAHN, L.; RAMAMOORTHY, T. P. Diterpenoid abietane quinones isolated from *Salvia regia*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 12, p. 3297-3299, 1987.
- IKESHIRO, Y.; MASE, I.; TOMITA, Y. Abietane type diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3139-3141, 1989.

- JACOBS, R. S.; WHITE, S.; WILSON, L. Selective compounds derived from marine organisms: effects on cell division in fertilized sea urchin eggs. **Fed. Proc.**, v. 40, p. 26-29, 1981.
- JIMENEZ, M. E.; PORTUGAL, E. M.; LIRA-ROCHA, A.; SORIANO-GARCIA, M.; TOSCANO, R. A. A new royleanone-type diterpene from *Salvia sessei*. **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 2, p. 243-248, 1988.
- JONATHAN, L. T.; CHE, C.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S.; FARNSWORTH, N. R. 7-O-methylhorminone and other cytotoxic diterpeno quinones from *Lepechinia bullata*. **J. Nat. Prod.**, v. 52, n. 3, p. 571-575, 1989.
- KAKISAWA, H.; HAYASHI, T.; OKAZAKI, I.; OHASHI, M. Isolation and structures of new tanshinones. **Tetrahedron Lett.**, v. 28, p. 3231-3234, 1968.
- KAKISAWA, H.; HAYASHI, T.; YAMAZAKI, T. Structures of isotanshinones. **Tetrahedron Lett.**, v. 5, p. 301-304, 1969.
- KINGSTON D.; RAO M.; ZUCKER W. Plant anticancer agents. IX. Constituents of *Hyptis tomentosa*. **J. Nat. Prod.**, v. 42, n. 5, p. 496-499, 1979.
- KUHNT, M.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Lignans and other compounds from the mixe Indian medicinal plant *Hyptis verticillata*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 2, p. 485-489, 1994.
- KUO, Y. H.; CHEN, C. H.; HUANG, S. L. New diterpenes from the heartwood of *Chamaecyparis obtusa* var. *formosana*. **J. Nat. Prod.**, v. 61, p. 829-831, 1998.
- KUPCHAN, S. M.; KARIM, A.; MARCKS, C. Tumor inhibitors. XLVIII. Taxodine and taxodone, two novel diterpenoid quinone methide tumor inhibitors from *Taxodium distichum*. **J. Org. Chem.**, v. 34, n. 12, p. 3912-3918, 1969.
- LEE, C.; FANG, J.; CHENG, Y. Abietanes from leaves of *Juniperus chinensis*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 4, p. 983, 1994.
- LEE, A.; WU, W.; CHANG, W.; LIN, H.; KING, M. Isolation and bioactivity of new tanshinones. **J. Nat. Prod.**, v. 50, n. 2, 157-160, 1987.
- LI, B.; NIU, F.; LIN, Z.; ZHANG, H.; WANG, D. SUN, H. Diterpenoids from the roots of *Salvia przewalskii*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 11, p. 3815-3817, 1991.
- LIN, H.; DING, H.; CHANG, W. Two new fatty diterpenoids from *Salvia miltiorrhiza*. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 648-650, 2001.
- LORENZI, H. Plantas Daninhas do Brasil: Terrestres, Aquáticas, Parasitas e Tóxicas, Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 3ª edição, p. 375-380, 2000.

- LORENZI, H.; MATOS, J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas cultivadas, Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 1ª edição, p. 235-244, 2002.
- LUIS, J. G.; QUIÑONES, W.; ECHEVERRI, F. Tifilidione, a cycloheptanenaphthoquinone-type diterpenoid of abietanic origin from the roots of *Salvia tiliaefolia*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 1, p. 115-117, 1994.
- LUIS, J. G.; GRILLO, T. A.; QUIÑONES, W.; KISHI, M. P. Columbaridione, a diterpenequinone from *Salvia columbarie*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 1, p. 251-252, 1994.
- LUO, H.; WU, B.; WU, M.; YONG, Z.; NIWA, M.; HIRATA, Y. Pigments from *Salvia miltiorrhiza*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 4, p. 815-817, 1985.
- LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S.; MAIA, J. G. S.; SILVA, M. L. Essential oils some Amazonian Labiatae, I. genus *Hyptis*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, p. 745-746, 1984.
- MAFEZOLI, J. Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste do Brasil: *Trigonía fasciculata* Griseb. *Psidium spp.* Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 1996.
- MALAN, K.; PELISSIER, Y.; MARION, C.; BLAISE, A.; BESSIERE, J. The essential oil of *Hyptis pectinata*. **Planta Med.**, v. 54, p. 531-532, 1988.
- MANCHAND, P. S.; WHITE J. D.; FAYOS, J.; CLARDY, J. Structures of Suaveolic Acid and Suaveolol. **J. Org. Chem.**, v. 39, n. 15, p. 2306, 1974.
- MARTIUS – FLORA BRASILIENSIS, Volume VIII – Parte I – LABIATAE, 1864.
- MEHROTRA, R.; VISHWAKARMA, R. A.; THAKUR, R. S. Abietane diterpenoids from *Coleus zeylanicus*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 11, p. 3135-3137, 1989.
- MEI, S.; JIANG, B.; NIU, X.; LI, M.; YANG, H.; NA, Z.; LIN, Z.; LI, C.; SUN, H. Abietane diterpenoids from *Coleus xanthanthus*. **J. Nat. Prod.**, v. 65, n. 5, p. 633-637, 2002.
- MICHAVILA, A.; FERNANDEZ-GADEA, F.; RODRIGUEZ, B. Abietane diterpenoids from the root of *Salvia lavandulaefolia*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 1, p. 266-268, 1986.
- MICHAVILA, A.; TORRE, M. C.; RODRIGUEZ, B. 20-nor-abietane and rearranged abietane diterpenoids from the root of *Salvia argentea*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 8, p. 1935-1937, 1986.
- MIRANDA, R. P.; DELGADO, G. Triterpenoids and Flavonoids from *hyptis albida*. **J. Nat. Prod.**, v. 53, n. 1, p. 182, 1990.

- MIRANDA, R. P.; HERNANDEZ, L.; VILLAVICENCIO, M. J.; NOVELO, M.; IBARRA, P. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C novel Antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro- α -pyrones from *Hyptis pectinata*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, n. 4, p. 583-593, 1993.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Meth.** v. 16, p. 55-63, 1983.
- MOUJIR, L.; GUTIÉRREZ-NAVARRO, A. M.; ANDRÉS, L. S.; LUIS, J. G. Structure-antimicrobial activity relationships of abietane diterpenes from *Salvia* species. **Phytochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1493-1495, 1993.
- MUKHERJEE, K. S.; MUKHERJEE, R. K.; GHOSH, P. K. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n. 2, p. 377-378, 1984.
- NAKATANI, N. e INATANI R. **Agric. Biol. Chem.**, v. 48, n. 8, p. 2081-2085, 1984.
- NOVELO M.; CRUZ J.; HERNANDEZ L.; PEREDA-MIRANDA R.; CHAI H.; MAR W.; PEZZUTO J. Cytotoxic constituents from *Hyptis verticillata*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, p. 1728-1736, 1993.
- PALSSON, K.; JAENSON T. G. T. Plant products used as mosquito repellents in Guinea Bissau, West Africa. **Acta Tropica**, v. 72, p. 39-52, 1999.
- PEREDA-MIRANDA, R.; DELGADO, G. Triterpenoids and flavonoids from *Hyptis albida*. **J. Nat. Prod.**, v. 53, n. 1, 182-185, 1990.
- PEREDA-MIRANDA, R.; GARCIA, M.; DELGADO, G. Structure and stereochemistry of four α -pyrones from *Hyptis oblongifolia*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 9, p. 2971-2974, 1990.
- PEREDA-MIRANDA, R.; GASCON-FIGUEROA, M. Chemistry of *Hyptis mutabilis*: new pentacyclic triterpenoids. **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 5, p. 996-998, 1988.
- PEREDA-MIRANDA R.; HERNANDEZ L.; VILLAVICENCIO M.; NOVELO M.; IBARRA P.; CHAI H.; PEZZUTO J. M. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro- α -pyrones from *Hyptis pectinata*. **J. Nat. Prod.**, v. 56, n. 4, p. 583-593, 1993.
- PESSOA, C.; SILVEIRA, E. R.; LEMOS, T. G. L.; WETMORE, L. A.; MORAES, M. O.; LEYVA, A. Antiproliferative effects of compounds derived from plants of northeast Brazil. **Phytother. Res.**, v. 14, p. 187-191, 2000.
- PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S. S; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-60, 2002.

- PRATES, H. T.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; FABRIS, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; FOSTER, J. E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **J. Stored Prod. Res.**, v. 34, n. 4, p. 243-249, 1998.
- RAHMAN, A. U.; AHMAD, V. U. ¹³C-NMR of Natural Products – Diterpenes. New York and London: Plenum Press, v. 2, p. 286-317, 1992.
- RAHMAN, ATTA-UR-; AHMAD, V. U. ¹³C-NMR of Natural Products – Monoterpenes. New York and London: Plenum Press, v. 1, 1992.
- RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VINCENTINI, A.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMAN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. Flora da Reserva Ducke – Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central. Manaus: INPA, p. 600, 1999.
- RODRÍGUEZ, B. ¹H and ¹³C spectral assignments of some natural abietane diterpenoids. **Mag. Res. Chem.**, v. 41, p. 741-746, 2003.
- SANTOS-GOMES, P. C.; SEABRA, R. M.; ANDRADE, P. B.; FERNANDES-FERREIRA, M. Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). **Plant Science**, v. 162, p. 981-987, 2002.
- SHUN-HUA, W.; HONG-JIE, Z.; ZHONG-WEN, L.; HAN-DONG, S. Terpenoids from *Isodon grandifolia* var. *atuntzensis*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 4, p. 1176-1178, 1993.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia da Planta ao Medicamento. 1ª edição, Porto Alegre, Editora da Universidade do Rio Grande de Sul, 1999.
- STANNARD, B. L. Flora of the Pico das Almas Chapada Diamantina-Ba-Brazil, Royal Botanic Gardens, kew, p. 345-358, 1995.
- TADA, M.; OKUNO, K.; CHIBA, K.; OHNISHI, E.; YOSHU, T. Antiviral diterpenes from *Salvia officinalis*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 2, p. 539-541, 1994.
- TAKAISHI, Y.; SHISHIDO, K.; WARIISHI, N.; SHIBUYA, M.; GOTO, K.; KIDO, M.; TAKAI, M.; ONO, Y. Triptoquinone A and B, novel interleukin-1 inhibitors from *Tripterygium wilfordii* var. *regelii*. **Tetrahedron Lett.**, v. 33, n. 47, p. 7177-7180, 1992.
- TAN, N.; KALOGA, M.; RADTKE, O. A.; KIDERLEN, A. F.; ÖKSÜZ, S.; ULUBELEN, A.; KOLODZIEJ, H. Abietane diterpenoids and triterpenoic acids

- from *Salvia cilicica* and their antileishmanial activities. **Phytochemistry**, v. 61, p. 881-884, 2002.
- TANOWTIZ, B. D.; JUNAK, S. A.; SMITH, D. M. Terpenoids of *hyptis emoryi*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n. 4, p. 739, 1984.
- TEIXEIRA, A. P.; BATISTA, O.; SIMÕES, M. F.; NASCIMENTO, J.; DUARTE, A.; TORRE, M. C.; RODRIGUÉZ, B. Abietane diterpenoids from *Plectranthus grandidentatus*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 2, p. 325-327, 1997.
- TORRE, M. C.; BRUNO, M.; RODRÍGUEZ, B.; SAVONA, G. Abietane and 20-nor-abietane diterpenoids from the root of *Meriandra benghalensis*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 3953-3955, 1992.
- ULUBELEN, A.; EVREN, N.; TUZLACI, E.; JOHANSSON, C. Diterpenoids from the roots of *Salvia hypargeia*. **J. Nat. Prod.**, v. 51, n. 6, p. 1178-1183, 1988.
- ULUBELEN, A.; ÖKSUZ, S.; TOPCU, G.; GÖREN, A. C.; VOELTER, W. Antibacterial diterpenos from roots of *Salvia blepharochlaena*. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 549-551, 2001.
- ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; JOHANSSON, B. Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. **J. Nat. Prod.**, v. 60, p. 1275-1280, 1997.
- ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; TEREM, B. Abietane diterpenoids from roots of *Salvia cryptantha*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1534-1535, 1987.
- ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; SONMEZ, U.; CHOUDHARY, M. I.; RAHMAN, A. U. Abietane diterpenos from *Salvia napifolia*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 3, p. 861-864, 1995.
- ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; TAN, N. Rearranged abietane diterpenos from *Salvia candidissima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 10, p. 3637-3638, 1992.
- URONES, J. G.; MARCOS, I. S.; DIEZ, D.; CUBILLA, L. R. Tricyclic diterpenes from *Hyptis dilatata*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 1035-1038, 1998.
- VIVAR, A. R.; VIDALES, P.; PÉREZ, A. L. An Aliphatic δ -lactone from *hyptis urticoides*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2417, 1991.
- YAMAGISHI, T.; ZHANG, C.; CHANG, J.; MCPHAIL, D. R.; MCPHAIL, A. T.; LEE, K. The cytotoxic principles of *Hyptis Capitata* and the structures of the new triterpenes hyptatic acid-A and -B. **Phytochemistry**, v. 27, p. 3213-3216, 1988.

- YOSHIZAKI, F.; RÜEDI, P.; EUGSTER, C. H. Diterpenoid leaf-gland pigments: 11 coleons and royleanones from *Coleus carnosus* HASSK. **Helv. Chim. Acta**, v. 62, n. 8, p. 2754-2762, 1979.
- YUNLONG, X.; DAN, W.; XIAOJIE, L.; JIAN, F. Abietane quinones from *Rabdosia lophanthoides*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 1, p. 189-191, 1989.
- ZHANG, K.; BAO, Y.; WU, P.; ROSEN, R. T.; HO, C. Antioxidative components of Tanshen (*Salvia miltiorrhiza* Bung). **J. Agric. Food Chem.**, v. 38, p. 1194-1197, 1990.