



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E
MEDICAMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS



ANDREZA BARBOSA SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Leptohyptis macrostachys* (BENTH.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE E *Mesosphaerum sidifolium* (L'HÉRIT.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE DA SUBTRIBO HYPTIDINAE (LAMIACEAE)

João Pessoa-PB
2016

ANDREZA BARBOSA SILVA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Leptohyptis macrostachys* (BENTH.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE E *Mesosphaerum sidifolium* (L'HÉRIT.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE DA SUBTRIBO HYPTIDINAE (LAMIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre na área de Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
COORIENTADOR: Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

João Pessoa-PB
2016

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Andreza Barbosa.

Estudo fitoquímico de *Leptohyptis macrostachys* (BENTH.)Harley & J.F.B. Pastore E *Mesosphaerum sidifolium* (L'HÉRIT.)Harley & J.F.B. Pastore da subtribo Hyptidinae (LAMIACEAE) / Andreza Barbosa Silva. - João Pessoa, 2016.
139 f.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.

Coorientação: Vicente Carlos de Oliveira Costa.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Farmacologia. 2. Fitoquímicos. 3. Hyptidinae. 4. Lamiaceae. 5. *Leptohyptis macrostachys*. 6. *Mesosphaerum sidifolium*. I. Silva, Marcelo Sobral da. II. Costa, Vicente Carlos de Oliveira. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615(043)

ANDREZA BARBOSA SILVA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Leptohyptis macrostachys* (BENTH.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE E *Mesosphaerum sidifolium* (L'HÉRIT.) HARLEY &
J.F.B.PASTORE DA SUBTRIBRO HYPTIDINAE (LAMIACEAE)**

Aprovada em 26 / 02 / 2016



ASSINATURA DO ORIENTADOR

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
(Universidade Federal da Paraíba - UFPB)
Orientador

Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa
(Universidade Federal da Paraíba - UFPB)
Coorientador


Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
(Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF)
Examinador externo


Profa. Dra. Bárbara Viviana de Oliveira Santos
(Universidade Federal da Paraíba - UFPB)
Examinadora interna

Dedicatória

*Aos meus pais, Luzinete Barbosa e Reginaldo Silva
pelos ensinamentos, dedicação e amor a mim concedidos.*

*Ao meu esposo, Edilson Cavalcanti pelo amor e
companheirismo.*

*Ao meu irmão, Reginaldo Júnior pela amizade,
compreensão e carinho.*

DEDICO

Agradecimentos

À Deus, pelo dom da vida, por tudo que Ele tem colocado diante de mim, por permitir que eu tenha saúde para vencer cada dia, em busca dos meus sonhos e realizações.

A Nossa Senhora, minha grande intercessora, que me encoraja a seguir adiante, pelo seu exemplo de fé e coragem.

À minha mãe Luzinete, por tanto tempo que dedicou e dedica a mim, por todo apoio, por ser um exemplo de mãe, que esteve sempre do meu lado, por todas as vezes que rezou por mim, que foi paciente, amável e verdadeira.

Ao meu pai Reginaldo, pelo exemplo de força e determinação, pelo encorajamento para estudar e conseguir prosseguir no caminho do bem.

Ao meu esposo Edilson, que é um presente de Deus para mim, por todo apoio, compreensão, carinho, amor e por sonhar os meus sonhos, me ajudando a realizá-los, bem como, pela plenitude da palavra chamada família.

Ao meu irmão Júnior, por toda colaboração, paciência, carinho e respeito a mim concedidos.

À minha sobrinha Maria Luiza, que me faz feliz sempre.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva, pelos ensinamentos e pela oportunidade de desenvolver este trabalho em uma área tão promissora.

Ao meu coorientador Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, pessoa fundamental na realização deste trabalho, por todo apoio, paciência, ensinamentos e por ser meu pai acadêmico.

Ao Prof. Dr. Josean Fachine Tavares, pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho e por todos os ensinamentos.

À Profa Dra. Maria de Fátima Agra pela identificação do material vegetal em estudo.

A todos os companheiros de bancada, alunos de iniciação científica e pós-graduandos que fazem parte do Laboratório de Fitoquímica (Sobral, Fachine e Costa), pela amizade.

Aos técnicos de laboratório Nonato, Sócrates e Alexsandro, pela contribuição imprescindível para a conclusão deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos.

À Ana Rita, Jociano e Pedro pela colaboração, amizade e companheirismo.

À Suzyanne, pela amizade, conselhos e incentivos.

À D. Delma e Sr. Naldo, pelos ensinamentos, carinho e alegria.

Aos compadres Laiane e Augusto, Juliana e Diego, pela amizade, companheirismo, alegrias, diversões, confiança e conselhos.

Às amigas: Aline, Suedja, e Taysa, por todo incentivo e amizade.

À comissão examinadora pela contribuição.

À Universidade Federal da Paraíba.

Ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que colaboraram para a realização de mais um sonho em minha vida.

MUITO OBRIGADA!!!!

Andreza Barbosa Silva

*Se avexe não...
Amanhã pode acontecer tudo
Inclusive nada.*

*Se avexe não...
A lagarta rasteja
Até o dia em que cria asas.*

*Se avexe não...
Que a burrinha da felicidade
Nunca se atrasa.*

*Se avexe não...
Amanhã ela pára
Na porta da tua casa*

*Se avexe não...
Toda caminhada começa
No primeiro passo
A natureza não tem pressa
Segue seu compasso
Inexoravelmente chega lá...*

*Se avexe não...
Observe quem vai
Subindo a ladeira
Seja princesa, ou seja, lavadeira...
Pra ir mais alto
Vai ter que suar.*

A natureza das coisas
Accioly Neto

Resuma

SILVA, A. B.¹ **Estudo fitoquímico de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F. B. Pastore da subtribo Hyptidinae (Lamiaceae).** 2016. 139 p. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

Resumo

Hyptidinae é uma subtribo da tribo Ocimeae (Lamiaceae), distribuída desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina, com ocorrência no Caribe. A família Lamiaceae é composta por 295 gêneros e cerca de 7775 espécies com distribuição cosmopolita. No Brasil, estima-se que essa família esteja representada por 36 gêneros e 490 espécies. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi realizar um estudo fitoquímico de duas espécies da subtribo Hyptidinae (Lamiaceae) encontradas no semiárido paraibano, *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore. As folhas e caules das espécies em estudo foram submetidas a processos de extração, filtração e cromatografia de seus respectivos extratos. Posteriormente, as estruturas químicas das substâncias isoladas foram identificadas por métodos espectroscópicos. A partir do extrato etanólico bruto (EEB) de *L. macrostachys* obteve-se as fases hexânica, diclorometano e acetato de etila. No estudo com a fase acetato de etila de *L. macrostachys* foram isoladas três substâncias através da utilização de métodos cromatográficos convencionais, sendo dois triterpenos: 3- β -hidroxi-olean-12-en-28-oico (ácido oleanólico), que foi codificado como Lm-1 e o 3- β -acetoxi-olean-12-en-28-oico (acetato de ácido oleanólico) codificado como Lm-2, e também um diterpeno caurano: ácido *ent*-3 β -acetoxi-caur-15-eno-17-oico, codificado como Lm-3 que está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Leptohyptis*, bem como foi feito pela primeira vez o assinalamento do RMN de ¹³C. O EEB de *M. sidifolium* foi submetido à cromatografia de média pressão e as frações resultantes foram monitoradas, fornecendo três diterpenos abietanos inéditos no gênero *Mesosphaerum*: o pomiferin E (Ms-1), o 2 α -hidroxisugiol (Ms-2) e um derivado esterificado do Pormiferin D (Ms-3). Foi realizado pela primeira vez o assinalamento de RMN de ¹³C de Ms-1 e Ms-2. Desta espécie *M. sidifolium*, foram isolados também dois compostos fenólicos: o ácido caféico (Ms-4) e o ácido rosmarínico (Ms-5). Esses resultados contribuíram com o estudo fitoquímico das espécies do semiárido paraibano, *L. macrostachys* e *M. sidifolium*, através da identificação estrutural de oito substâncias.

Palavras-chave: Hyptidinae, Lamiaceae, *Leptohyptis macrostachys*; *Mesosphaerum sidifolium*.

Abstract

SILVA, A. B.¹ **Phytochemical study of *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore and *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B. Pastore of the subtribe Hyptidinae (Lamiaceae).** 2016. 139 p. Dissertation (Postgraduate Program in Natural and Bioactive Synthetic Products) - Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2016.

ABSTRACT

Hyptidinae is a subtribe of the Ocimeae tribe (Lamiaceae), distributed from the southern United States to Argentina, occurring in the Caribbean. The Lamiaceae family consists of 295 genera and about 7775 species with a cosmopolitan distribution. In Brazil, it is estimated that this family is represented by 36 genera and 490 species. Thus, the objective of this work was to carry out a phytochemical study of two species of the subtribe Hyptidinae (Lamiaceae) found in the semi-arid region of Paraíba, *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore and *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F. Pastore. The leaves and stems of the species under study were subjected to extraction, filtration, and chromatography processes of their respective extracts. Subsequently, the chemical structures of the isolated substances were identified by spectroscopic methods. From the gross ethanolic extract (BSE) of *L. macrostachys*, the hexane, dichloromethane and ethyl acetate phases were obtained. In the study with the ethyl acetate phase of *L. macrostachys*, three substances were isolated using conventional chromatographic methods, two of which are triterpenes: 3- β -hydroxy-olean-12-en-28-oico (oleanolic acid), which was encoded as Lm-1 and 3- β -acetoxy-olean-12-en-28-oico (oleanolic acid acetate) encoded as Lm-2, and also a caurane diterpene: *ent*-3 β -acetoxy-caur-15-eno-17-oico, encoded as Lm-3 which is being reported for the first time in the genus *Leptohyptis*, as well as the ¹³C NMR signaling was done for the first time. The *M. sidifolium* BSE was subjected to medium pressure chromatography and the resulting fractions were monitored, providing three unique Abietan diterpenes in the *Mesosphaerum* genus: pomiferin E (Ms-1), 2 α -hydroxysugiol (Ms-2) and a derivative esterified pomiferin D (Ms-3). The ¹³C NMR assignment of Ms-1 and Ms-2 was performed for the first time. From this *M. sidifolium* species, two phenolic compounds were also isolated: caffeic acid (Ms-4) and rosmarinic acid (Ms-5). These results contributed to the phytochemical study of the species from the semi-arid region of Paraíba, *L. macrostachys* and *M. sidifolium*, through the structural identification of eight substances.

Keywords: Hyptidinae, Lamiaceae, *Leptohyptis macrostachys*; *Mesosphaerum sidifolium*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de distribuição da família Lamiaceae no mundo, representada em verde .	31
Figura 2 – Substâncias isoladas de espécies da família Lamiaceae.....	32
Figura 3 – <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	34
Figura 4 – Substâncias isoladas de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	35
Figura 5 – Espécie <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	36
Figura 6 – Substâncias isoladas de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	37
Figura 7 – Representação da formação dos terpenoides (Adaptado de DEWICK, 2002). ...	38
Figura 8 – Estrutura química de Lm-1.....	50
Figura 9 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1	52
Figura 10 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 4,92-5,48 ppm.....	52
Figura 11 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 2,72-3,32 ppm.....	53
Figura 12 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 1,50-2,05 ppm.....	53
Figura 13 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 0,66-1,26 ppm.....	54
Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1.....	54
Figura 15 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 55-185 ppm.....	55
Figura 16 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 15-49 ppm.....	55
Figura 17 – Estrutura química de Lm-2.....	56
Figura 18 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Lm-2	56
Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de Lm-2.....	57

Figura 20 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) acetato do ácido oleanólico (COSTA, 2013).....	57
Figura 21 – Estrutura química de Lm-3.....	58
Figura 22 – Espectro de IV de Lm-3 obtido em pastilha de KBr.	62
Figura 23 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.....	62
Figura 24 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 15-55 ppm.....	63
Figura 25 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 75-175 ppm.....	63
Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.	64
Figura 27 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 5,2-7,3 ppm.....	64
Figura 28 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,9-4,5 ppm.....	65
Figura 29 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,20-2,35 ppm.....	65
Figura 30 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,75-1,09 ppm.....	66
Figura 31 – Espectro de HMQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.....	66
Figura 32 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,7-2,4 ppm x 15-55 ppm	67
Figura 33 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,95-1,95 ppm x 35,5-40,0 ppm.....	67
Figura 34 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,75-1,70 ppm x 13-32 ppm.	68
Figura 35 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 5,2-6,7 ppm x 120-155 ppm.....	68
Figura 36 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,8-4,6 ppm x 35-85 ppm.	69
Figura 37 – Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.	69

Figura 38 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,9-3,0 ppm x 130-185 ppm.....	70
Figura 39 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,0-2,9 ppm x 124-148 ppm.....	70
Figura 40 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 4,0-7,4 ppm x 20-90 ppm.....	71
Figura 41 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 4,1-6,9 ppm x 135-175 ppm.....	71
Figura 42 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,0-3,3 ppm x 15-50 ppm.....	72
Figura 43 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,15-1,90 ppm x 36-62 ppm.....	72
Figura 44 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,66-1,14 ppm x 14-34 ppm.....	73
Figura 45 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,15-1,90 ppm x 14-34 ppm.....	73
Figura 46 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,65-1,10 ppm x 36-60 ppm.....	74
Figura 47 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,70-1,10 ppm x 36-44 ppm.....	74
Figura 48 – Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.....	75
Figura 49 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,5-7,0 ppm x 0,5-7,0 ppm.....	75
Figura 50 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,6-3,4 ppm x 0,7-3,3 ppm.....	76
Figura 51 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,6-2,4 ppm x 0,6-2,5 ppm.....	76
Figura 52 – Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.....	77
Figura 53 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0-5-4,5 ppm x 0,4-4,6 ppm.....	77
Figura 54 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0-7-2,5 ppm x 0,8-2,5 ppm.....	78

Figura 55 – Estrutura química de Ms-1.....	79
Figura 56 – Espectro de IV de Ms-1 obtido em pastilha de KBr.	82
Figura 57 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1.....	82
Figura 58 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 65-205 ppm.....	83
Figura 59 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 17-54 ppm.....	83
Figura 60 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1.	84
Figura 61 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 7,25-7,90 ppm.....	84
Figura 62 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 2,5-4,2 ppm.....	85
Figura 63 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 0,6-2,1 ppm.....	85
Figura 64 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 0,94-1,30 ppm.....	86
Figura 65 – Estrutura química de Ms-2.....	87
Figura 66 – Espectro de IV de Ms-2 obtido em pastilhas de KBr.....	92
Figura 67 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.....	92
Figura 68 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 22-66 ppm.....	93
Figura 69 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 110-200 ppm.	93
Figura 70 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.	94
Figura 71 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 6,60-7,90 ppm.....	94
Figura 72 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 3,10-4,20 ppm.....	95
Figura 73 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 1,80-2,70 ppm.....	95

Figura 74 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,75-1,50 ppm.....	96
Figura 75 – Espectro de HMQC de ^1H x ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.	96
Figura 76 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 3,6-8,2 ppm x 65-130 ppm.	97
Figura 77 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,6-3,2 ppm x 10-55 ppm.	97
Figura 78 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,80-1,30 ppm x 20-35 ppm.	98
Figura 79 – Espectro de HMBC de ^1H x ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.....	98
Figura 80 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 1,0-8,0 ppm x 120-200 ppm.	99
Figura 81 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 6,6-8,0 ppm x 22-48 ppm.	99
Figura 82 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,8-3,2 ppm x 20-70 ppm.	100
Figura 83 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,75-1,50 ppm x 22-52 ppm.	100
Figura 84 – Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.	101
Figura 85 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,5-4,5 ppm x 0,6-4,4 ppm.....	101
Figura 86 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,6-2,8 ppm x 0,6-2,9 ppm.....	102
Figura 87 – Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.	102
Figura 88 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0-0,4,5 ppm x 0,6-2,9 ppm.....	103
Figura 89 – Estrutura química de Ms-3.....	104
Figura 90 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.....	108
Figura 91 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 120-180 ppm.	108

Figura 92 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 18-70 ppm.....	109
Figura 93 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.	109
Figura 94 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,87-7,15 ppm.....	110
Figura 95 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,06-5,54 ppm.....	110
Figura 96 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 2,50-3,70 ppm.....	111
Figura 97 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,55-2,35 ppm.....	111
Figura 98 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,17-1,45 ppm.....	112
Figura 99 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,79-1,05 ppm.....	112
Figura 100 – Espectro de HMQC de ^1H x ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.	113
Figura 101 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,8-3,0 ppm x 15-50 ppm.	113
Figura 102 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,96-1,36 ppm x 32-40 ppm..	114
Figura 103 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,74-1,08 ppm x 17-25 ppm.	114
Figura 104 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 4,95-5,65 ppm x 62-74 ppm.	115
Figura 105 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,3-7,2 ppm x 120-134 ppm.	115
Figura 106 – Espectro de HMBC de ^1H x ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.....	116
Figura 107 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,1-7,4 ppm x 10-50 ppm.	116
Figura 108 – Expansão do espectro de correlação de ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,4-7,6 ppm x 120-155 ppm.	117

Figura 109 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,9-3,1 ppm x 110-180 ppm.	117
Figura 110 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,6-3,0 ppm x 10-75 ppm.	118
Figura 111 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,75-1,50 ppm x 18-40 ppm.	118
Figura 112 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,75-1,50 ppm x 44-72 ppm.	119
Figura 113 – Espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.	119
Figura 114 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 2,6-5,6 ppm.....	120
Figura 115 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,8-3,2 ppm x 0,6-3,1 ppm.....	120
Figura 116 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,7-7,5 ppm x 6,75-7,35 ppm.....	121
Figura 117 – Espectro de NOESY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.....	121
Figura 118 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 1,0-5,4 ppm.....	122
Figura 119 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 1,0-5,4 ppm.....	122
Figura 120 – Estrutura química de Ms-4.....	123
Figura 121 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-4... ..	125
Figura 122 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-4 na região de 6,1-7,7 ppm.....	125
Figura 123 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de Ms-4.....	126
Figura 124 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de Ms-4 na região de 114-174 ppm.....	126
Figura 125 – Estrutura química de Ms-5.....	127
Figura 126 – Espectro de IV de Ms-5 obtido em pastilhas de KBr.....	129
Figura 127 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5.....	129

Figura 128 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 6,20-7,60 ppm.....	130
Figura 129 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 3,5-5,2 ppm.....	130
Figura 130 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 2,35-3,15 ppm.....	131
Figura 131 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) de Ms-5.....	131
Figura 132 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 114-174 ppm.....	132

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.	44
Esquema 2 – Isolamento dos constituintes químicos da fase acetato de etila das folhas e dos caules de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	46
Esquema 3 – Isolamento dos constituintes químicos do EEB das folhas e dos caules de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.	45
Tabela 2 – Fracionamento cromatográfico sob média pressão do EEB de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore. (COSTA, 2013).	47
Tabela 3 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Lm-1 com os dados da literatura para o ácido 3 β -hidroxi-oleano-12-en-28-óico (ácido oleanólico).	51
Tabela 4 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Lm-3 em CDCl_3	60
Tabela 5 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Lm-3 com os dados da literatura do ent-3 β -acetoxi-caur-16-eno e com o 2 β .3 α -di-hidróxi-ent-caur-15-eno-17-óico 3-O- β -D-glicopiranosídeo.	61
Tabela 6 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-1 (Pormiferin E) com os dados da literatura do Pormiferin D.	81
Tabela 7 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Ms-2 (2 α -hidroxisugiol) em CDCl_3	90
Tabela 8 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-2 com os dados da literatura do sugiol em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (250 MHz).....	91
Tabela 9 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Ms-3 (Derivado esterificado do Pormiferin D) em CDCl_3	106
Tabela 10 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-3 com os dados da literatura do Pormiferin D em CDCl_3 (125 MHz).	107
Tabela 11 – Comparação dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de Ms-4 em CD_3OD com os dados da literatura do ácido caféico em CD_3OD	124
Tabela 12 – Comparação dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de Ms-5 com os dados da literatura do ácido rosmarínico.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
APT	“Attached Proton Test”
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCEN	Centro de Ciências Exatas e da Natureza
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
COSY	“Correlation Spectroscopy”
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
<i>ddd</i>	Duplo duplo dubleto
<i>dddd</i>	Duplo duplo duplo dubleto
EEB	Extrato etanólico bruto
EtOH	Etanol
g	Grama
h	Hora
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”
HMQC	“Heteronuclear Multiple Quantum Coherence”
LM-EtOH _{PA}	Extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas de <i>L. macrostachys</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de potássio
kg	Quilograma
Lm	<i>Leptohyptis macrostachys</i>
<i>m</i>	Múltiplo
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
Ms	<i>Mesosphaerum sidifolium</i>
NOESY	“Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy”
P.A.	Para análise

p.	Página
PB	Paraíba
PPgPNSB	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	Quadrupletto
R _f s	Fatores de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripletto
tl	Tripletto largo
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	28
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	31
2.1 Considerações sobre a família Lamiaceae.....	31
2.2 Considerações sobre Hyptidinae e gêneros <i>Leptohyptis</i> e <i>Mesosphaerum</i>	32
2.3 Considerações sobre as espécies a serem estudadas	33
2.3.1 <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	33
2.3.2 <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	35
2.4 Considerações sobre os terpenoides.....	37
2.5 Considerações sobre os compostos fenólicos	38
3 OBJETIVOS	40
3.1 Objetivos gerais	40
3.2 Objetivos Específicos	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1 Material e equipamentos utilizados	42
4.2 Material Botânico	43
4.2.1 <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. e <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore... ..	43
4.2.2 Processamento do material vegetal de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore... ..	43
4.2.3 Procedimento para obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	43
4.2.4 Fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	44

4.2.5 Isolamento dos constituintes químicos da fase acetato de etila das folhas e dos caules de <i>Leptohyptis macrostachys</i> (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.....	45
4.2.6 Processamento do material vegetal de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	46
4.2.7 Procedimento para obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	46
4.2.8 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de <i>Mesosphaerum sidifolium</i> (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1. Identificação estrutural de Lm-1	50
5.2 Identificação estrutural de Lm-2	56
5.3 Identificação estrutural de Lm-3	58
5.4 Identificação estrutural de Ms-1.....	79
5.5 Identificação estrutural de Ms-2.....	87
5.6 Identificação estrutural de Ms-3.....	104
5.7 Identificação estrutural de Ms-4.....	123
5.8 Identificação estrutural de Ms-5.....	127
6. CONCLUSÕES.....	134
REFERÊNCIAS	135

Introdução

1 INTRODUÇÃO

No decorrer da história da civilização, as plantas não foram apenas recurso de alimentação, mas também fonte de tratamento, cura e prevenção de doenças, utilizando-se *in natura* ou atualmente como fitoterápicos. Sendo assim, foi a partir da natureza que o ser humano sempre adquiriu meios que acalmasse suas dores e curasse seus males (VEIGA-JUNIOR et al., 2005; SCREMIN et al., 2012). Os valores naturais e ecológicos são de extrema importância na área de conhecimento científico e na vida prática, o que despertou o interesse pelo conhecimento das características das plantas, incluindo sua morfologia, composição química, propriedades farmacológicas, dentre outras (ARGENTA et al., 2011).

A biodiversidade das florestas tropicais é uma fonte para a descoberta de novas plantas medicinais e a interação existente entre plantas e seus predadores naturais pode servir como auxílio para a descoberta de substâncias biologicamente ativas. Assim, é de extrema importância o isolamento e a determinação estrutural de substâncias orgânicas naturais originadas pelo metabolismo secundário de organismos vivos para o desenvolvimento científico da própria química de produtos naturais e contribuem para avanço de outras atividades científicas e tecnológicas no país (BRAZ-FILHO, 2010). Neste contexto, o desenvolvimento de novos produtos a partir de fontes naturais também é incentivado porque, estima-se que das 300.000 espécies de plantas que existem no mundo, só 15% foram estudadas e que foram determinados o seu potencial farmacológico (PALHARES et al., 2015). O Brasil por sua vez, possui a maior cobertura vegetal do planeta, abrangendo seis biomas, com mais de 120.000 espécies de plantas, e compõe uma riqueza de substâncias com grande potencial terapêutico (LIMA-SARAIVA et al., 2015; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

O bioma Caatinga ocorre somente no Brasil, quase que exclusivamente, na região Nordeste. Sendo assim grande parte do seu potencial biológico não pode ser encontrado em outras partes do mundo. É um bioma com um tipo de vegetação única, conhecida como uma verdadeira farmácia viva em que a maioria das espécies é destacada por inúmeras utilizações na medicina caseira (DRUMOND et al., 2012). Apesar do extenso uso das plantas medicinais na região Nordeste existem poucos estudos sobre seus constituintes ativos (SANTOS et al., 2009).

As grandes reservas de substâncias ativas que podem ser utilizadas na

terapêutica estão presentes nos vegetais, pois são eles que produzem metabólitos com uma grande diversidade estrutural (BRANDÃO et al., 2010). O metabolismo secundário tem um papel importante nos processos de polinização na medida em que participa produzindo atraentes de polinizadores em flores ou colaboram para a resistência dos organismos pela defesa contra pestes e outras doenças e estabelecendo a competência para a guerra química dos ajustes necessários à convivência e sobrevivência ambiental. Consequentemente, diversos metabólitos determinam também importantes propriedades na qualidade de alimentos utilizados pelo homem, tais como sabor, cor e odor, bem como conferem a resistência contra pestes e doenças, mantendo a sobrevivência nas condições ambientais favoráveis (BRAZ-FILHO, 2010). Além disso, muitos produtos naturais possuem importantes atividades farmacológicas. Atualmente, a partir de produtos naturais são produzidas aproximadamente 25% das drogas atuais, e até 60% de drogas antitumorais (PALHARES et al., 2015).

Dentre as famílias com interesse etnomedicinal, a família Lamiaceae é conhecida principalmente pela presença de óleos essenciais, presentes nas folhas e inflorescências, como também por serem utilizadas como condimentos na culinária (HARLEY et al., 2004). Além de apresentar uma grande diversidade de metabólitos secundários, entre eles, flavonoides, ácidos fenólicos, terpenos, saponinas, polifenóis, taninos, iridoides e quinonas (OZGEN et al., 2011). Que conferem as propriedades antibacteriana, antifúngica, inseticida, antioxidante, dentre outras (HARLEY et al., 2004).

Entretanto, de acordo com o levantamento bibliográfico, observou-se poucos estudos relacionados das espécies *Leptohyptis macrostachys* e *Mesosphaerum sidifolium* pertencentes a esta família. Sendo assim, reconhecendo a importância da família Lamiaceae e o seu extenso uso popular e poucos estudos fitoquímicos, observou-se a necessidade de um maior conhecimento químico das espécies *Leptohyptis macrostachys* e *Mesosphaerum sidifolium*, e posteriormente, comparar os resultados obtidos, já que anteriormente essas espécies pertenciam ao gênero *Hyptis* e agora, pertencem à mesma subtribo Hyptidinae, de acordo com a nova nomenclatura, tornando-se relevante e promissora a ampliação do estudo das mesmas.

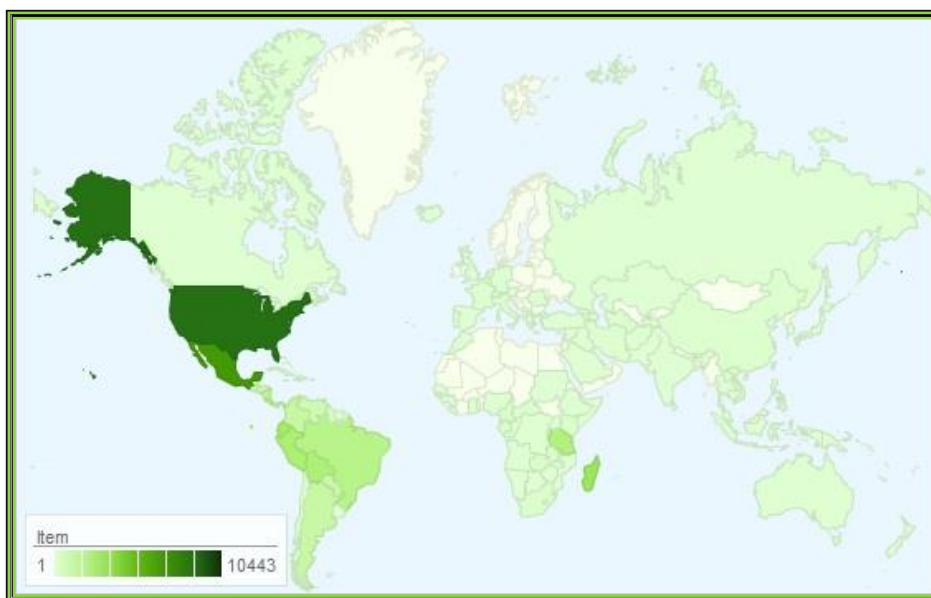
Fundamentação Teórica

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Lamiaceae

A família Lamiaceae é composta por 295 gêneros e 7.775 espécies (BASÍLIO et al., 2006). Suas espécies são representadas em geral por ervas, subarbustos ou arbustos e possuem distribuição cosmopolita (PEDERSEN, 2000), principalmente na região do Mediterrâneo e Ásia Central (LEMES et al., 2011), com ocorrência principal em savanas abertas e regiões montanhosas de clima tropical a subtropical (BASÍLIO et al., 2006). No Brasil, estima-se que a família esteja representada por aproximadamente 36 gêneros e 490 espécies (SILVA et al., 2013). No mapa abaixo (Figura 1, pág. 31) está a sua distribuição em verde.

Figura 1 – Mapa de distribuição da família Lamiaceae no mundo, representada em verde.



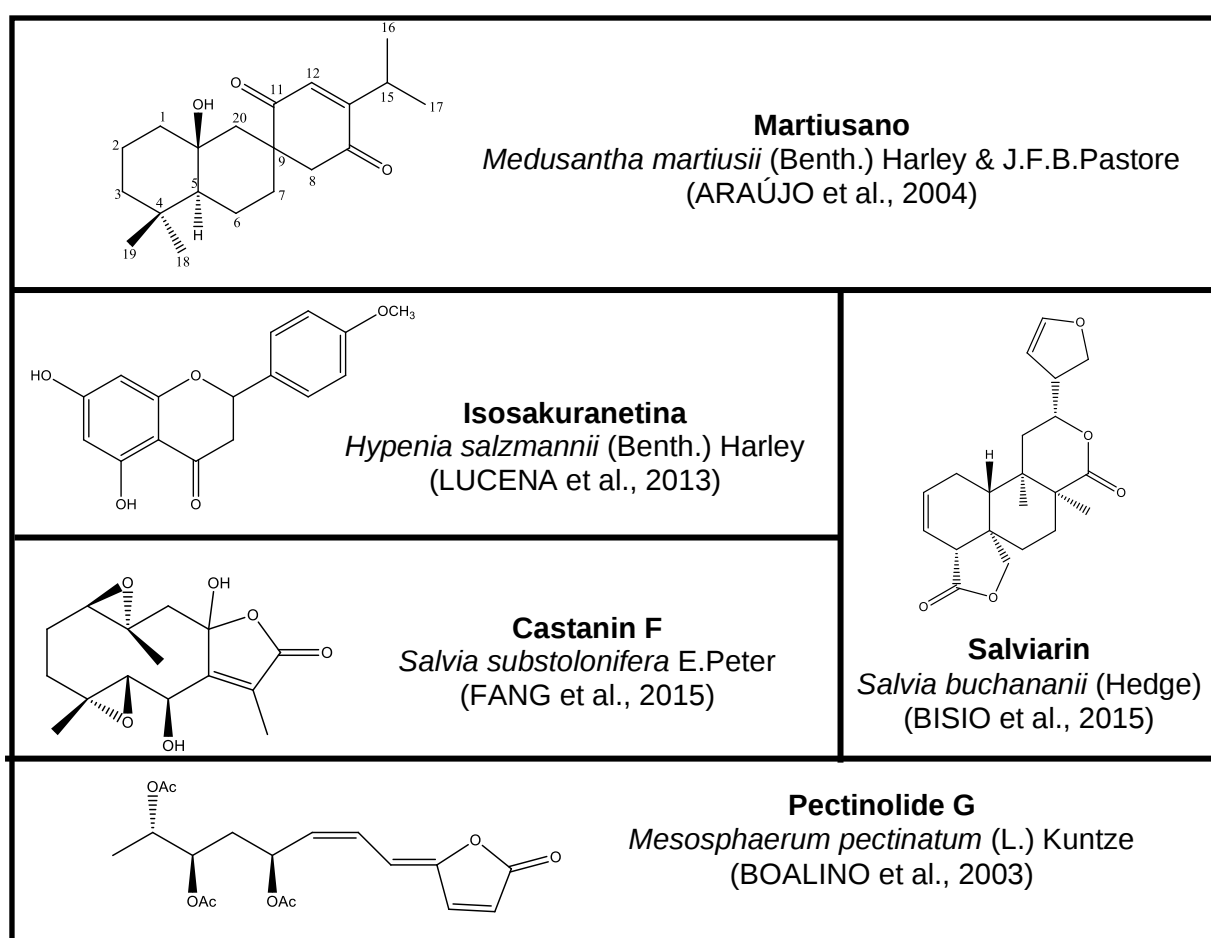
Fonte: www.tropicos.org/Name/42000291?tab=maps. Acessado em 21 de setembro de 2015)

Em relação ao metabolismo secundário, as espécies desta família acumulam substâncias com estruturas bastante diversificadas, dentre elas estão representantes da via do ácido acético, da via do ácido chiquímico e proveniente de vias mistas (Figura 2, p. 32) (FALCÃO et al., 2003; LEMES et al., 2011). Dentre esses principais metabólitos secundários característicos desta família encontram-se os terpenoides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos), compostos fenólicos, sobretudo os ácidos fenólicos, como o ácido rosmarínico, além de flavonoides (WINK, 2003). Essa família tem grande importância econômica por ser

fonte de óleos essenciais aromáticos, voláteis e de plantas ornamentais. As Lamiáceas são utilizadas como condimentos importantes na culinária, sendo apreciadas pelo aroma ou pelo sabor que comunicam aos alimentos (FALCÃO et al., 2003).

Muitas espécies dessa família são utilizadas na medicina popular no combate a dor na forma de chá de suas folhas (MARINKOVIC et al., 2002). Algumas atividades biológicas relatadas dos constituintes químicos isolados de plantas da família Lamiaceae, podemos destacar: antifúngica, antiulcerogênica, antibacteriana, citotóxica, inibitória do crescimento de células leucêmicas, anti-HIV, anti-inflamatória, antinociceptiva e antitumoral (FALCÃO et al., 2003; ARRIGONI-BLANK et al., 2008).

Figura 2 – Substâncias isoladas de espécies da família Lamiaceae.



2.2 Considerações sobre Hyptidinae e gêneros *Leptohyptis* e *Mesosphaerum*

Hyptidinae é uma subtribo da tribo Ocimeae (Lamiaceae), que se encontra

distribuída desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina, com ocorrência no Caribe. O Brasil concentra a maior parte da diversidade dessa subtribo, sendo *Hyptis* Jacq. seu principal gênero. Nos neotrópicos o segundo maior gênero da família Lamiaceae até 2012 era o gênero *Hyptis*, com mais de 280 espécies, agrupadas em 24 seções. Mas, diante de estudos morfológicos e moleculares recentes da subtribo Hyptidinae, ocorreu um desmembramento do gênero *Hyptis* em vários outros gêneros. Sendo assim, a subtribo Hyptidinae, que era constituída por 9 gêneros, tem agora 19, incluindo 11 novas delimitações genéricas, todas desmembradas de *Hyptis* (HARLEY et al., 2012). Estão incluídos nesse desmembramento algumas espécies dos gêneros *Leptohyptis* e *Mesosphaerum*. Diante de pesquisas realizadas na literatura, observou-se pouquíssimos estudos e estes são voltados para morfologia das plantas.

Leptohyptis é um gênero facilmente reconhecido, de arbustos finos e alongados com flores pouco florescidas, que contém apenas cinco espécies, *L. calida*, *L. leptostachys*, *L. macrostachys*, *L. pinheiroi* e *L. siphonantha*, que ocorrem principalmente restritas a áreas montanhosas mais secas do Nordeste do Brasil. Em pesquisas realizadas em dados da literatura, observou-se pouquíssimos estudos relacionados a estas espécies. O gênero *Mesosphaerum* é caracterizado morfológicamente como uma inflorescência com várias flores, este gênero tem aproximadamente 25 espécies, com principal centro de distribuição nos Andes, estendendo-se até regiões montanhosas da América Central e México. Algumas espécies têm uma distribuição mais ampla, estendendo-se também pelo Nordeste do Brasil (HARLEY et al., 2012). Foram realizados poucos estudos químicos e farmacológicos com as espécies desse gênero, e pode-se observar que as espécies mais estudadas são *Mesosphaerum pectinatum* e *Mesosphaerum suaveolens*.

2.3 Considerações sobre as espécies a serem estudadas

2.3.1 *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

A espécie *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. $\equiv$ *Hyptis macrostachys* Benth (HARLEY et al., 2012) é uma espécie arbustiva pertencente à família Lamiaceae, encontrada no semiárido nordestino e popularmente conhecida

como “alfavaca-brava” e “hortelã-do-mato” (Figura 3, p. 34). Suas folhas são utilizadas na medicina popular no tratamento da asma, tosse e bronquite na forma de infuso ou xarope (AGRA et al., 2008).

Figura 3 – *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

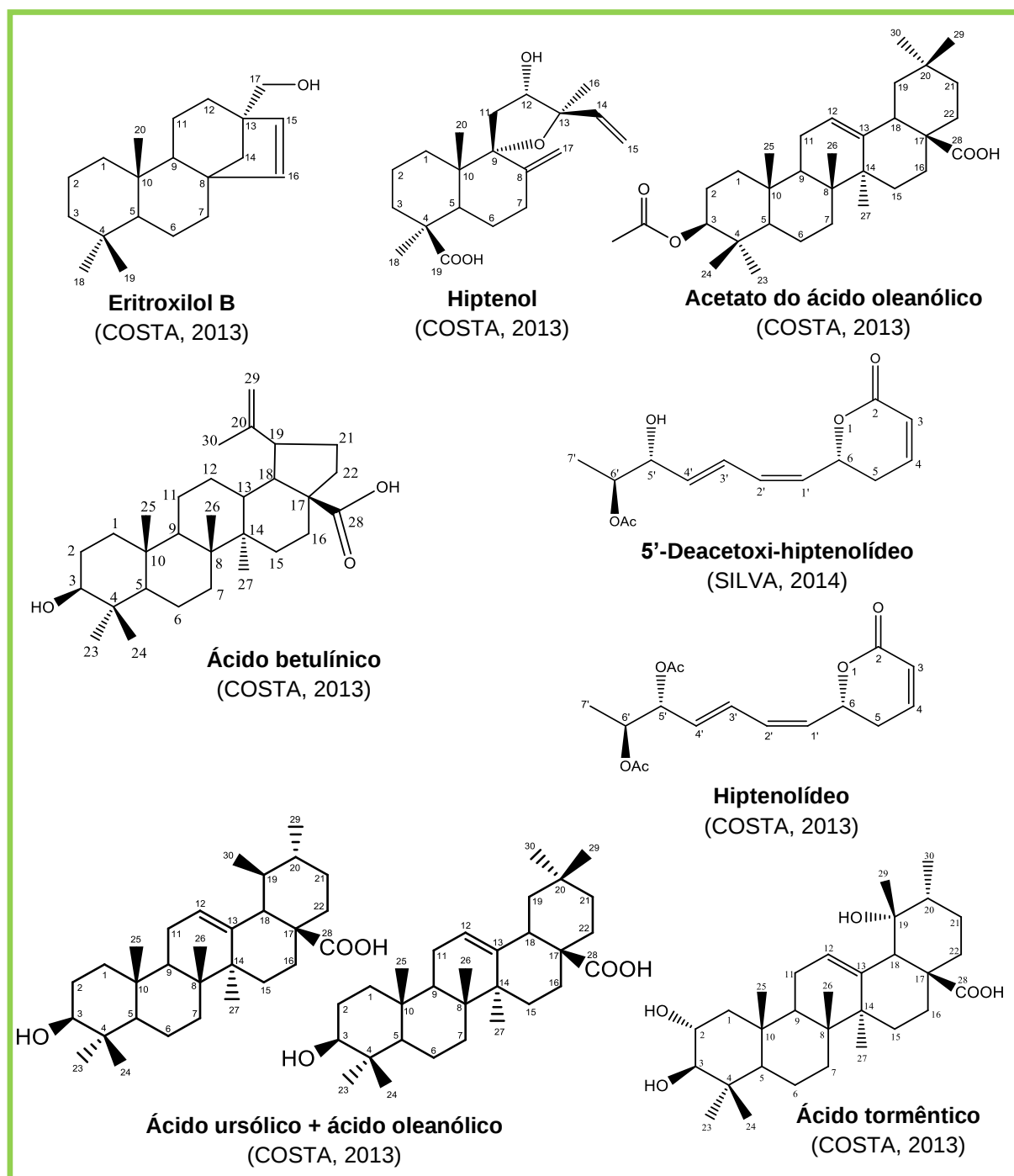


Fonte: Josean F. Tavares, (2009)

Segundo relatos de Vasconcelos (2011) o extrato etanólico bruto oriundo das partes aéreas de *L. macrostachys* (LM-EtOH_{PA}) até as doses de 5000 mg/kg por via oral e 2000 mg/kg intraperitoneal não apresentou toxicidade aguda, e apresentou também atividade antidiarreica em camundongos. Foi relatado também que este mesmo extrato apresentou efeito espasmolítico em aorta de rato, útero de rata, traqueia e íleo de cobaia (SOUZA et al., 2013).

Pesquisas recentes relataram o estudo fitoquímico em que o extrato etanólico bruto (EEB) e a fase diclorometânica obtidos das folhas e dos caules de *L. macrostachys* levou ao isolamento de dois diterpenos, o eritroxilol B e o hiptenol; dois triterpenos, o acetato do ácido oleanólico e o ácido betulínico; e uma pirona, (hiptenolídeo), sendo esta pirona, um produto natural inédito (Figura 4, p. 35) (COSTA, 2013). Foi isolado também a pirona 5'-deacetoxi-hiptenolídeo, a partir da fase diclorometano da espécie *L. macrostachys* (Figura 4, p. 35) (SILVA, 2014). Estudos farmacológicos relataram que a pirona (hiptenolídeo) apresentou efeito espasmolítico apenas em íleo de cobaia (COSTA et al., 2014). Da fase acetato de etila das folhas e dos caules de *L. macrostachys* foram isolados três triterpenos, sendo uma mistura de ácido oleanano e ácido ursano, e o ácido tormêntico (Figura 4, p. 35) (COSTA, 2013).

Figura 4 – Substâncias isoladas de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.



2.3.2 *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.

A espécie *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore = *Hyptis umbrosa* Salzm. ex Benth (HARLEY et al., 2012) também pertence à família Lamiaceae, é conhecida popularmente como “bamburral” (AGRA et al., 2008) e

“Aleluia de serrote” (SILVA et al., 2004) e trata-se de uma planta subarbastiva com hábito perene/anual (Figura 5, p. 36). As partes mais utilizadas desta espécie são as folhas e as flores. Sua indicação na medicina popular é para tratamento das moléstias do estômago, cefaleia, doenças nasais e articulares, apresenta ainda funções expectorante, carminativa, tônica e sudorífera (MATOS, 1999; AGRA et al., 2008).

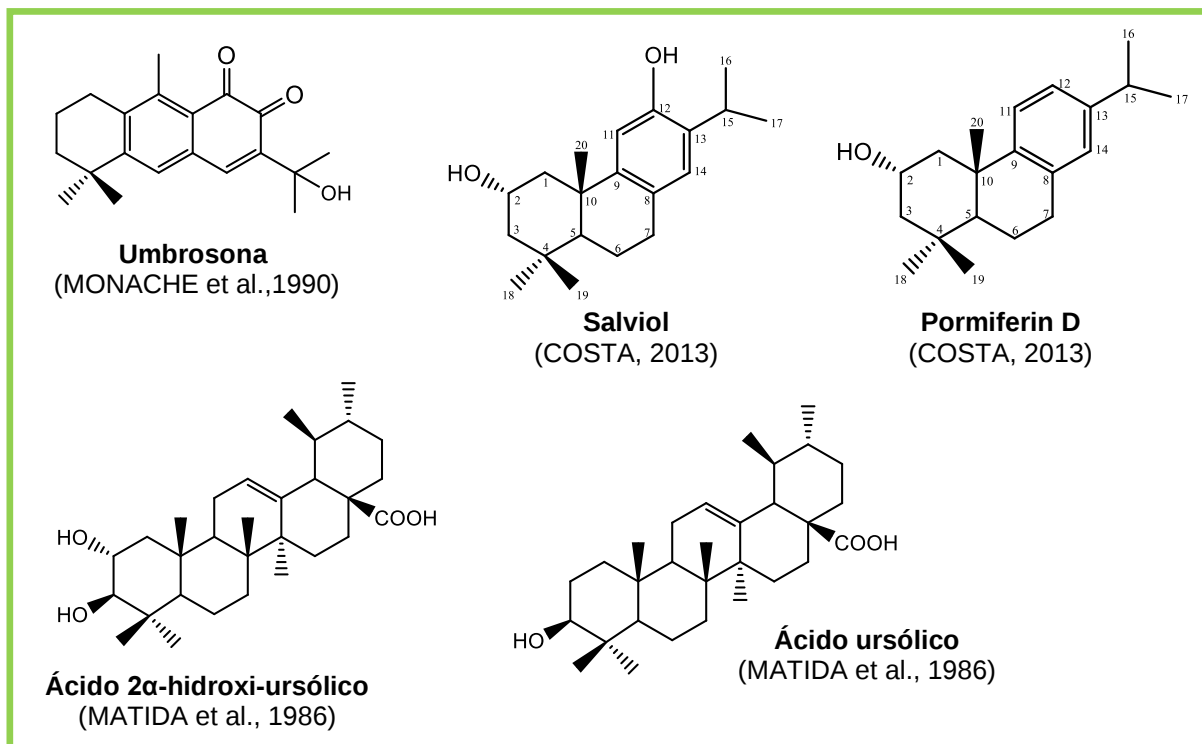
Figura 5 – Espécie *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.



Fonte: Josean F. Tavares, (2009).

Existem poucos estudos referentes a esta espécie na literatura, tanto do ponto de vista químico quanto farmacológico. Foram encontrados poucos constituintes químicos desta espécie (Figura 6, p. 37), dentre eles, o ácido ursólico e 2 α -hidroxi-ursólico (MATIDA et al., 1986) e um diterpeno do tipo *orto*-quinona, denominado de umbrosona. Nesse estudo foi relatado também que o extrato etanólico de *Mesosphaerum sidifolium* apresentou uma significativa atividade antimicrobiana (MONACHE et al., 1990). Também se observou que o óleo essencial de suas folhas apresentou potente atividade antitumoral (ROLIM et al., 2013a) e baixa toxicidade frente aos eritrócitos murinos (CH_{50} = 494,9 μ g/mL) e baixa toxicidade aguda em camundongos por via intraperitoneal (DL_{50} em torno de 500 mg/kg) (ROLIM et al., 2013b). Recentemente, foram isolados dois metabólitos secundários do extrato etanólico de *Mesosphaerum sidifolium*, o salviol e o Pormiferin D (Figura 6, p. 37) (COSTA, 2013).

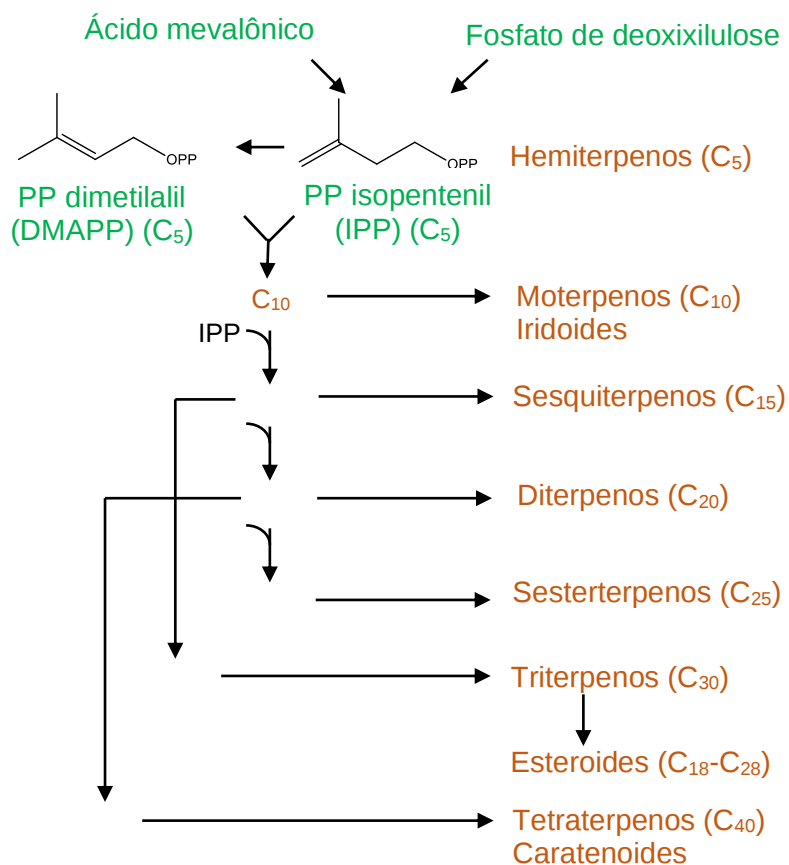
Figura 6 – Substâncias isoladas de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.



2.4 Terpenoides

Os terpenoides representam uma grande classe de metabólitos secundários com uma enorme diversidade estrutural. Possuem estruturas que resultam da união cabeça-cauda de unidades de isopreno C_5 , pirofosfato de isopentenila - IPP e pirofosfato de dimetilalil – DMAPP (Figura 7, p. 38). Estas unidades são estruturalmente semelhantes ao isopreno (2-metilbuta-1,3-dieno), razão pela qual estes metabólitos se denominam genericamente por isoprenoides (também podendo ser designados de terpenoides ou terpenos). As estruturas contêm esqueletos de carbonos representado por $(C_5)_n$, e são classificados como hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), Sesterterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e triterpenos (C_{40}) (Figura 7, p. 38) (DEWICK, 2002).

Figura 7 – Representação da formação dos terpenoides (Adaptado de DEWICK, 2002).



2.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos representam uma classe de metabólitos secundários que estão amplamente distribuídos no reino vegetal, conferem o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo importantes economicamente pela sua utilização como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas. Esses compostos apresentam uma grande diversidade estrutural, com estruturas simples e complexas que possuem no mínimo um anel aromático, no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. Pode ser encontrado na forma de éster, onde se destacam os derivados do ácido cafeico. Mas também tem outros tipos de ésteres como o derivado do ácido láctico, o ácido rosmarínico, que possuem ampla ocorrência na família Lamiaceae (CARVALHO et al., 2007).

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Contribuir com o estudo fitoquímico de plantas existentes no semiárido do Nordeste brasileiro através do isolamento e identificação de constituintes químicos das partes aéreas de *Leptohyptis macrostachys* e de *Mesosphaerum sidifolium* da subtribo Hyptidinae (Lamiaceae).

3.2 Específicos

- Extrair, isolar e purificar os metabólitos secundários, por métodos cromatográficos, das espécies *Leptohyptis macrostachys* e *Mesosphaerum sidifolium*;
- Identificar os constituintes químicos isolados de *Leptohyptis macrostachys* e *Mesosphaerum sidifolium*, através de métodos espectroscópicos;

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material e equipamentos utilizados

Os métodos cromatográficos utilizados para o isolamento dos constituintes químicos foram Cromatografia em Coluna (CC), utilizando como fase estacionária sílica gel ART 7734 da MERCK de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm. O comprimento e as dimensões das colunas de vidro variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada.

O monitoramento das frações obtidas das CC foi realizado por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA). Para isso, foram utilizadas placas flexíveis Whatman AL SIL G/UV.

A visualização das substâncias aplicadas nas cromatoplasmas foi feita por exposição da mesma à lâmpada de irradiação ultravioleta, por meio do aparelho Mineralight, modelo UVGL-58 com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) e pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

Os solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) utilizados para eluição foram solventes da Merck, Vetec, e solventes deuterados (RMN).

Os espectros de absorção na região de infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetros VARIAN e BOMEM 100 MB, na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando pastilhas de KBr (0,5 mg da amostra/100 mg de KBr).

Os pontos de fusão das amostras foram determinados em aparelho digital para ponto de fusão, marca Microquímica, modelo MQAPF-302, com bloco de platina em microscópio óptico tipo "Kopfle", marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que variava de 0 a 350 °C.

O reagente de Liebermann-Burchard foi utilizado para a detecção dos terpenos, e que também serve para a detecção de esteroides.

Os espectros de RMN foram registrados em espectrômetros VARIAN SYSTEM, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN ^1H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C), e MERCURY operando a 200 MHz para hidrogênio (RMN ^1H) e 50 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades da RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (singleto), s/

(singleto largo), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *ddd* (duplo duplo dubleto), *dddd* (duplo duplo duplo dubleto), *t* (tripleto), *tl* (tripleto largo), *q* (quadrupleto) e *m* (multipleteo).

O aparelho de Média Pressão (BÜCHI Pump Manager C-615/605) foi utilizado para a realização da coluna cromatográfica do extrato etanólico bruto de *Mesosphaerum sidifolium*.

4.2 Material Botânico

4.2.1 *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. e *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.

As folhas e os caules de *Leptohyptis macrostachys* foram coletadas em agosto de 2010, no município de Serra Branca - PB, e de *Mesosphaerum sidifolium* em agosto de 2009 em Matureia - PB, no semiárido paraibano. Em seguida, a identificação botânica foi realizada pela Profa. Dra. Maria de Fátima Agra do Setor de Botânica do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e as exsicatas encontram-se depositadas no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier, localizado no Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN) da UFPB sob identificação AGRA et al. 6947 para *Leptohyptis macrostachys* e AGRA et al. 6964 para *Mesosphaerum sidifolium*.

4.2.2 Processamento do material vegetal de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

O material vegetal (folhas e caules) foi desidratado em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas. Quando seco, o material foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 2 kg de pó da planta (Esquema 1, p. 44).

4.2.3 Procedimento para obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

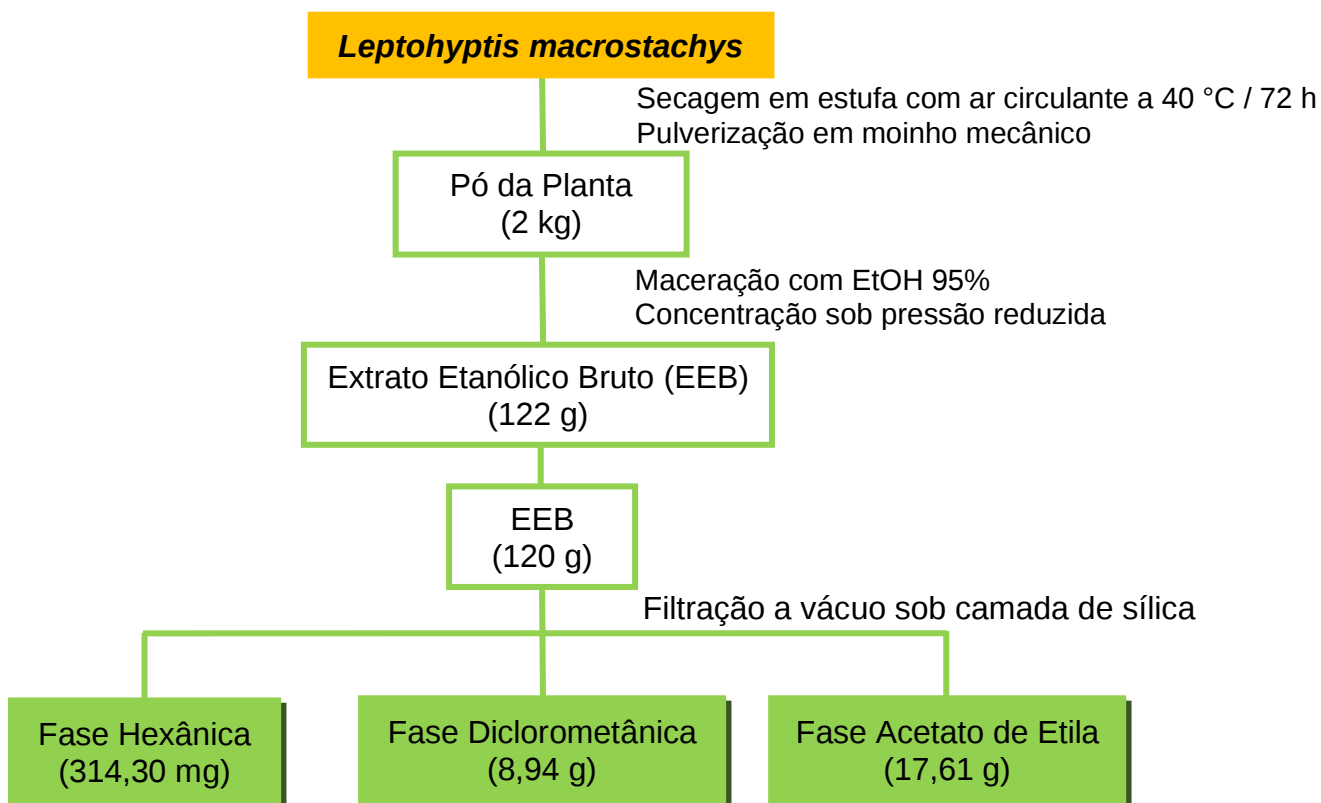
O material vegetal seco e pulverizado (2 kg) foi macerado com etanol (EtOH)

a 95%, em recipiente de aço inoxidável, durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido por três vezes, obtendo-se assim a solução etanólica. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em evaporador rotatório sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C, obtendo-se 122 g de extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 1, p. 44).

4.2.4 Fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

Parte do EEB (120 g) foi submetido à cromatografia líquida a vácuo utilizando um funil de placa porosa, sílica-gel como fase estacionária, e como fase móvel hexano, diclorometano e acetato de etila, puro ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade, fornecendo as fases, hexânica (314,30 mg), diclorometânica (8,94 g) e acetato de etila (17,61 g) (Esquema 1, p. 44).

Esquema 1 – Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.



4.2.5 Isolamento dos constituintes químicos da fase acetato de etila das folhas e dos caules de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

Uma alíquota de 8 g da fase acetato de etila foi submetida a uma cromatografia em coluna, resultando em 97 frações de 125 mL (Tabela 1, p. 45) (Esquema 2, p. 46). Essas frações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_fs). As frações 26-28 foram reunidas e submetidas a uma filtração rápida em uma pequena coluna com sílica gel, utilizando-se hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 13 frações que foram analisadas por CCDA, sendo utilizados como eluentes, hexano:acetato na proporção (90:10). Foi possível observar as frações 11 e 13 como manchas únicas, que então foram submetidas à análise de RMN de ¹H e codificadas como Lm-1 (89,5 mg) e Lm-2 (30,6 mg) (Esquema 2, p. 46).

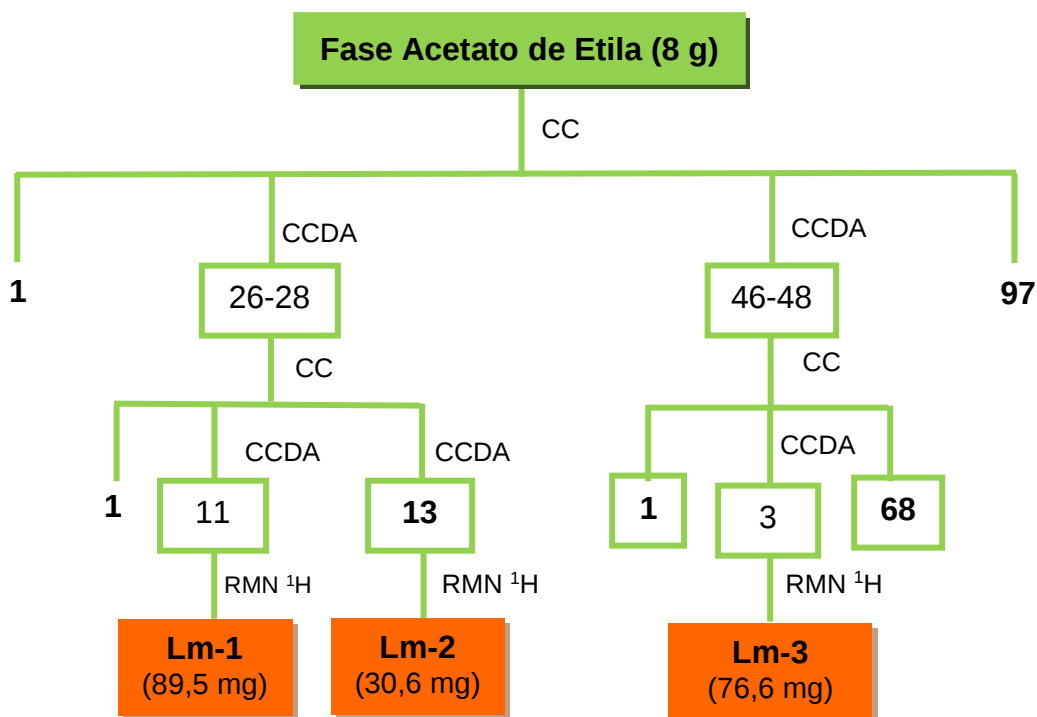
Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.

Frações	Solvente	Proporção (%)
1	DCM	100
2-36	DCM : AcOEt	95:5
37-41	DCM : AcOEt	90:10
42-48	DCM : AcOEt	80:20
49-54	DCM : AcOEt	70:30
55-61	DCM:AcOEt	60:40
62-69	DCM:AcOEt	50:50
70-73	DCM : AcOEt	20:80
74-83	AcOEt	100
84-93	AcOEt : MeOH	95:5
94-95	AcOEt : MeOH	80:10
96-97	AcOEt : MeOH	80:20

As frações 46-48 foram submetidas a uma CC, utilizando-se como fase móvel hexano e acetato de etila puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade, obtendo-se 68 frações que foram analisadas por CCDA e reunidas de

acordo com os seus respectivos Rfs. Na eluição com hexano 100%, observou-se que a fração 3 demonstrou-se promissora e foi submetida à análise de RMN de ^1H , sendo codificada como Lm-3 (76,6 mg) (Esquema 2, p. 46).

Esquema 2 – Isolamento dos constituintes químicos da fase acetato de etila das folhas e dos caules de *Leptohyptis macrostachys* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore.



4.2.6 Processamento do material vegetal de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.

O material vegetal (2 kg), folhas e caules, foi desidratado em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas. Quando seco, o material foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 1 kg de pó da planta (COSTA, 2013).

4.2.7 Procedimento para obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.

O material vegetal seco e pulverizado (1,0 kg) foi macerado com EtOH

(95%) durante 72 horas. Esse processo de maceração foi repetido por três vezes, obtendo-se assim a solução etanólica. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C, obtendo-se 100 g do EEB (COSTA, 2013).

4.2.8 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas e dos caules de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.

Uma alíquota do EEB (10 g) foi submetida a uma cromatografia de média pressão, utilizando aparelho BUCHI Pump Manager C-615/605, utilizando sílica gel como adsorvente e como eluentes, hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 87 frações de 20 mL cada, que após analisadas por CCDA, foram reunidas de acordo com os seus respectivos R_fs (Tabela 2, p. 47) (COSTA, 2013).

Tabela 2 – Fracionamento cromatográfico sob média pressão do EEB de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore. (COSTA, 2013).

Frações	Solvente	Proporção (%)
1-6	Hexano	100
7-19	Hexano : AcOEt	80:20
20-30	Hexano : AcOEt	60:40
31-40	Hexano : AcOEt	20:80
41-46	Acetato	100
47-53	AcOEt : MeOH	97:3
54-59	AcOEt : MeOH	90:10
60-79	AcOEt : MeOH	70:30
80-87	AcOEt : MeOH	50:50

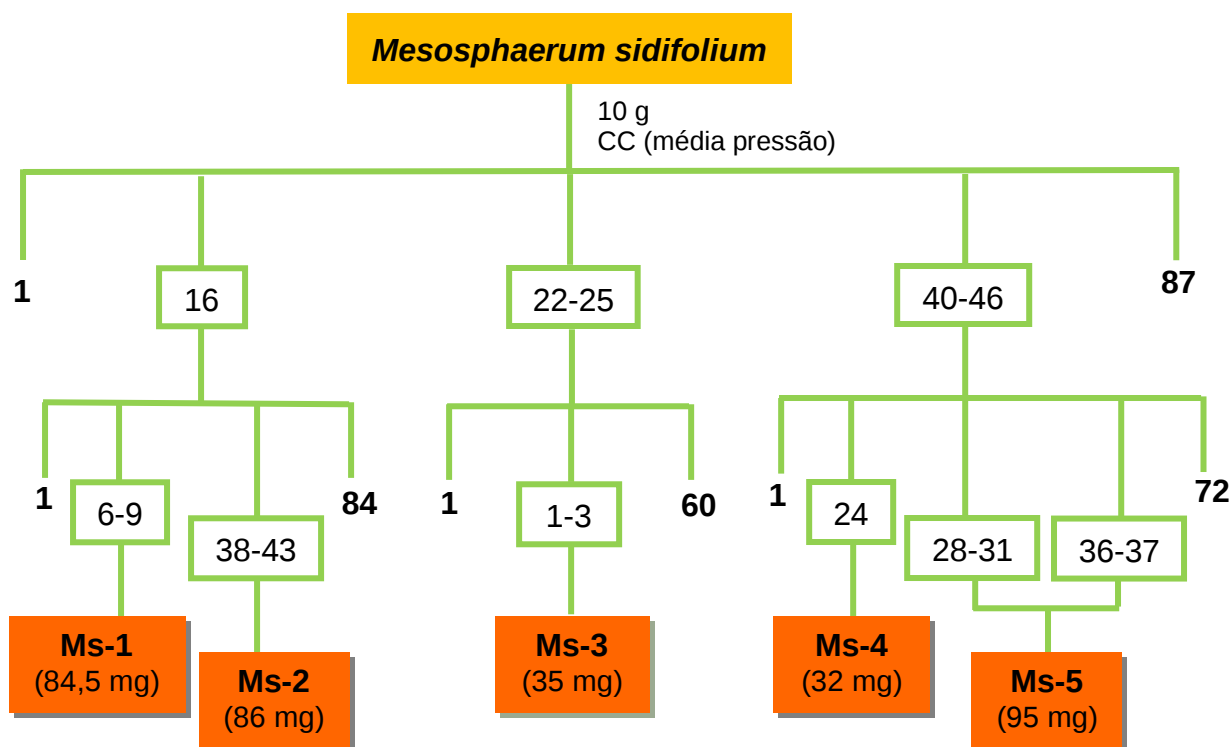
A fração 16 (300 mg) foi submetida a uma CC, utilizando sílica gel como fase estacionária e, hexano, acetato de etila e metanol como fase móvel, em grau crescente de polaridade. Foram obtidas 84 frações, que foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos R_fs, as frações 6-9 foram reunidas e submetidas à análise de RMN de ¹H e codificada como Ms-1 (84,5 mg). As frações 38-43 foram reunidas e submetidas à análise de RMN de ¹H e codificada como Ms-2

(86,6 mg) (Esquema 3, p. 48).

As frações 22-25 (410 mg) foram submetidas a uma CC, utilizando como fase estacionária sílica gel (12 g) e como fase móvel, hexano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 60 frações. Estas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos Rfs, as frações 1-3 foram reunidas e submetidas à análise de RMN de ^1H e codificada como Ms-3 (35 mg) (Esquema 3, p. 48).

As frações 40-46 (882 mg) foram submetidas a uma CC, utilizando como fase estacionária sílica gel (30 g) e como fase móvel, hexano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 72 frações. Estas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com os seus respectivos Rfs, a fração 24 foi submetida à análise de RMN de ^1H e codificada como Ms-4 (32,8 mg). As frações 28-31 e 36-37 foram reunidas e submetidas à análise de RMN de ^1H e codificada como Ms-5 (95,1 Mg) (Esquema 3, p. 48).

Esquema 3 – Isolamento dos constituintes químicos do EEB das folhas e dos caules de *Mesosphaerum sidifolium* (L'Hérit.) Harley & J.F.B.Pastore.



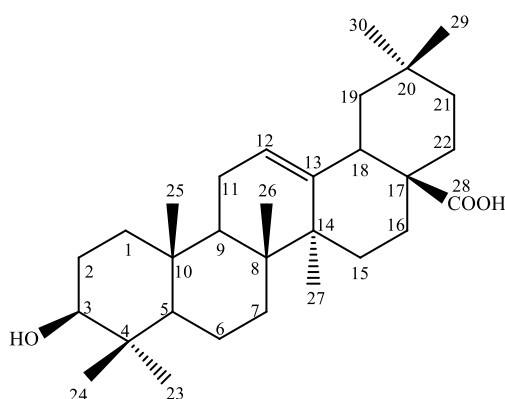
Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural de Lm-1

A substância Lm-1 (Figura 8, p. 50) foi isolada na forma de um sólido amorfo, com 89,5 mg e rendimento de 0,0047% em relação ao pó da planta. No espectro de RMN ^1H (Figuras 9-13, p. 52-54) foi possível observar sinais referentes a sete metilas singlete δ_{H} 0,72; 0,74; 0,87; 0,88; 0,92; 0,96 e 1,10. O sinal em δ 5,25 (tl) indicou a presença de hidrogênio olefínico. O hidrogênio oximetínico verificado em δ 3,18 (dd, J = 10 e 3 Hz) foi compatível com inserção da hidroxila em C-3, na posição equatorial.

Figura 8 – Estrutura química de Lm-1.



3β-hidroxi-oleano-12-en-28-oico
Lm-1

O espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 14-16, p. 54-55) mostrou 30 sinais correspondentes a 30 átomos de carbonos. Destes, oito foram atribuídos a átomos de carbonos não hidrogenados, dez a átomos de carbonos metilênicos, cinco a átomos de carbonos metínicos e sete a átomos de carbonos metílicos. Os sinais em δ_{C} 122,4 e 143,5 foram atribuídos aos carbonos C-12 e C-13, respectivamente de triterpeno do tipo oleanano (SEEBACHER et al., 2003). O sinal em 79,0 foi atribuído ao carbono oximetínico C-3, além do sinal em 183,5 característico de ácido carboxílico em C-28. Os demais sinais estão compilados na Tabela 3 (p. 51).

Após a comparação com dados da literatura (COSTA, 2013), pode-se concluir que Lm-1 trata-se do triterpeno ácido 3β-hidroxi-oleano-12-en-28-oico (ácido oleanólico). Esta substância tem ampla distribuição no reino vegetal, porém, está sendo relatada pela primeira vez no gênero em estudo.

Tabela 3 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Lm-1 com os dados da literatura para o ácido 3 β -hidroxi-oleano-12-en-28-oico (ácido oleanólico).

Nº	C	δ_c Lm-1 em CDCl_3	δ_c (COSTA, 2013) em CDCl_3
1	CH_2	38,7	38,0
2	CH_2	23,5	23,5
3	CH	79,0	80,9
4	C	38,3	37,6
5	CH	55,1	55,2
6	CH_2	18,2	18,1
7	CH_2	32,4	32,4
8	C	39,2	39,2
9	CH	47,6	47,5
10	C	37,0	36,9
11	CH_2	22,9	22,8
12	CH	122,5	122,4
13	C	143,5	143,5
14	C	41,5	41,5
15	CH_2	27,6	27,6
16	CH_2	23,3	23,3
17	C	46,5	46,5
18	CH	40,9	40,8
19	CH_2	45,8	45,8
20	C	30,6	30,6
21	CH_2	33,7	33,7
22	CH_2	32,5	32,4
23	CH_3	28,0	28,0
24	CH_3	15,5	16,6
25	CH_3	15,3	15,3
26	CH_3	17,1	17,1
27	CH_3	25,9	25,8
28	COOH	183,5	184,3
29	CH_3	33,0	33,0
30	CH_3	23,5	23,5
COCH_3		--	171,0
COCH_3		--	25,8

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

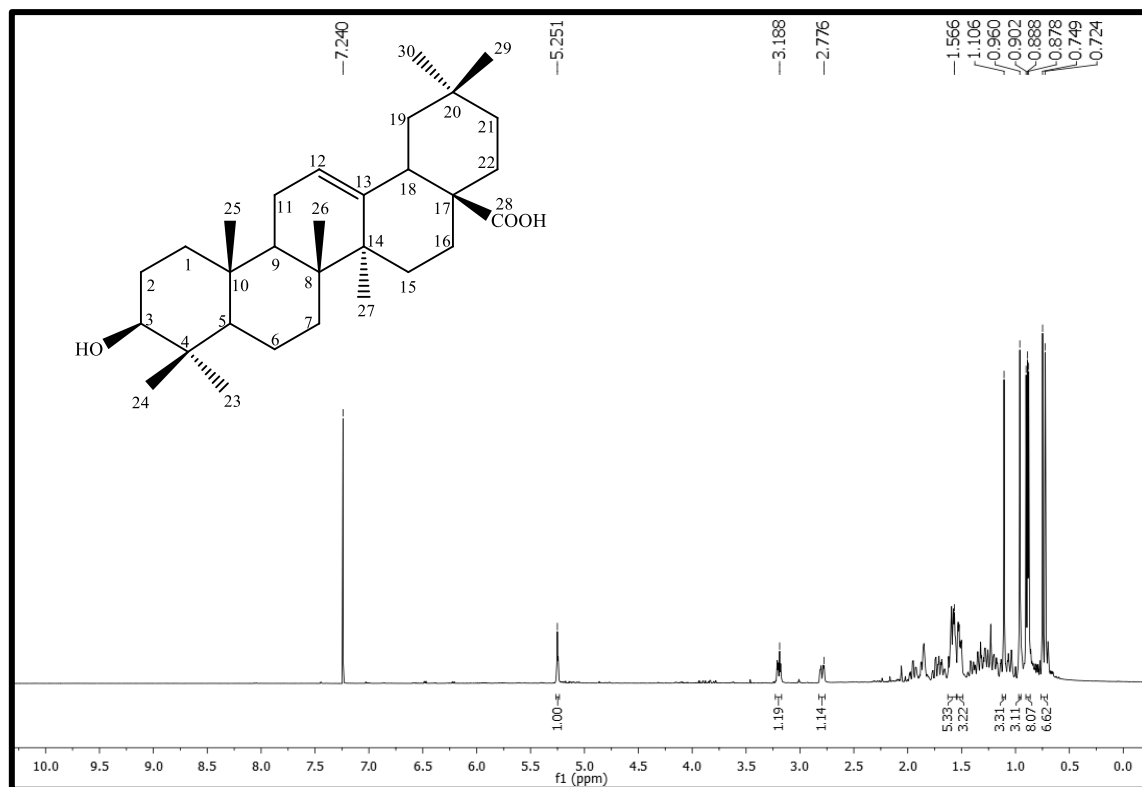


Figura 10 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 4,92-5,48 ppm.

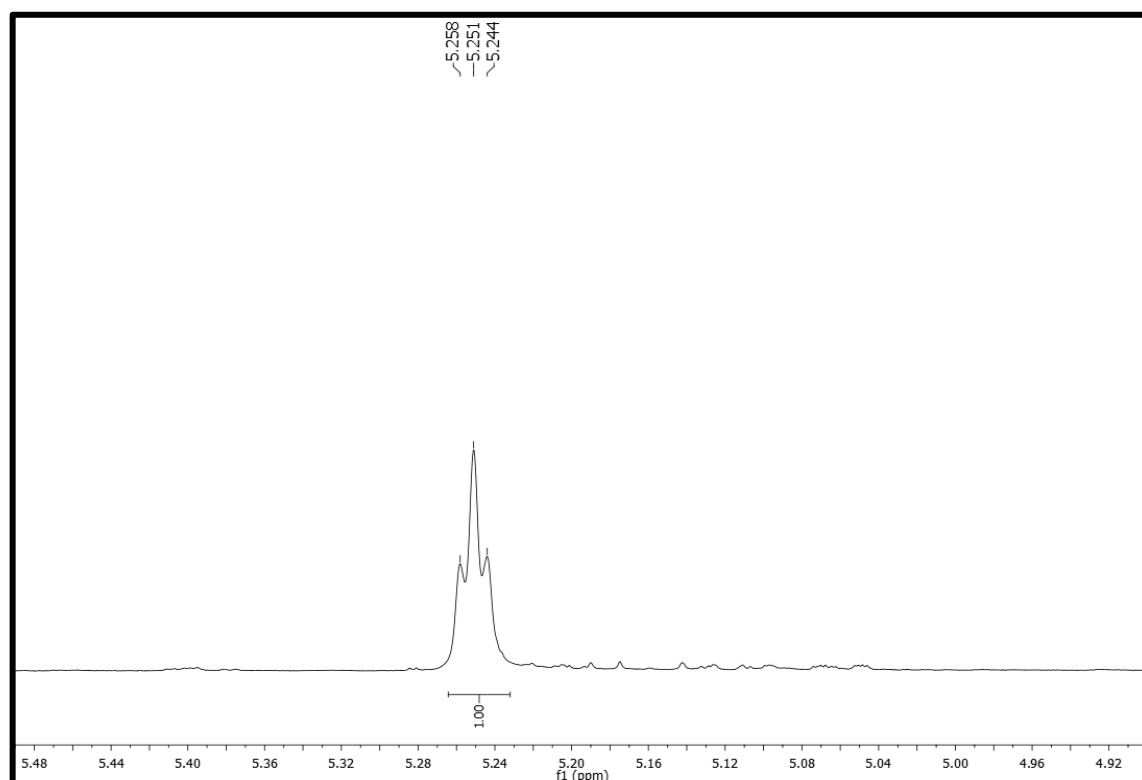


Figura 11 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 2,72-3,32 ppm.

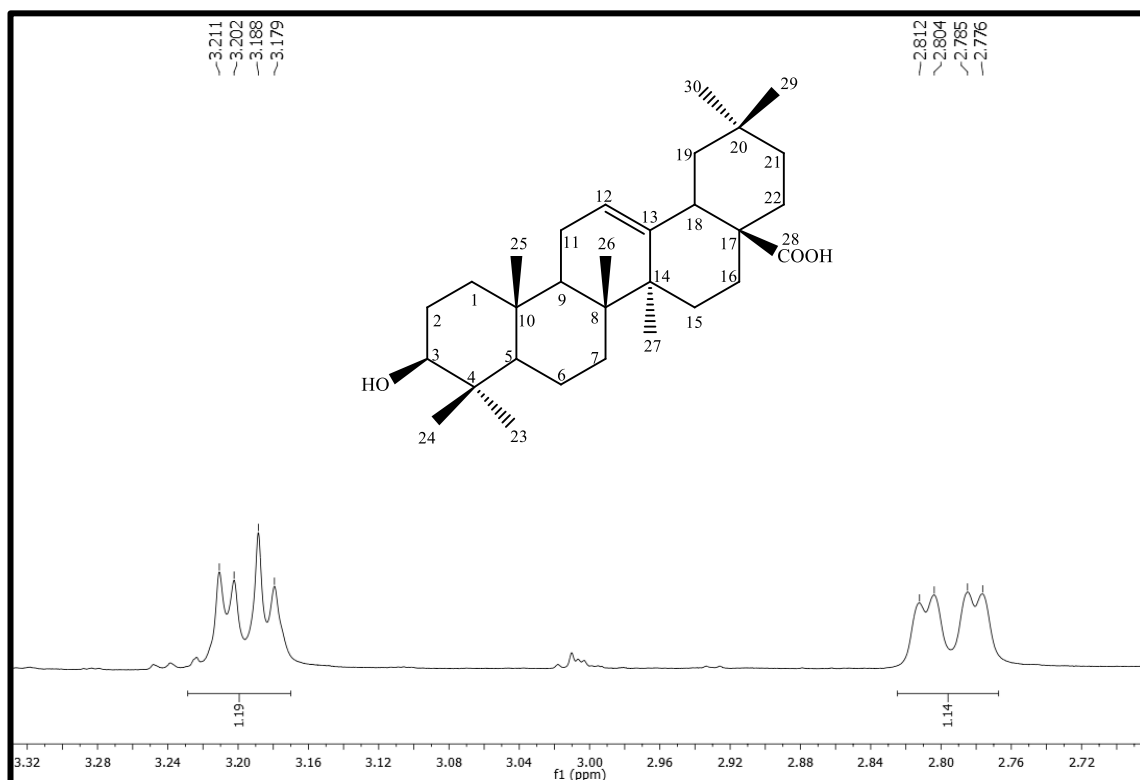


Figura 12 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 1,50-2,05 ppm.

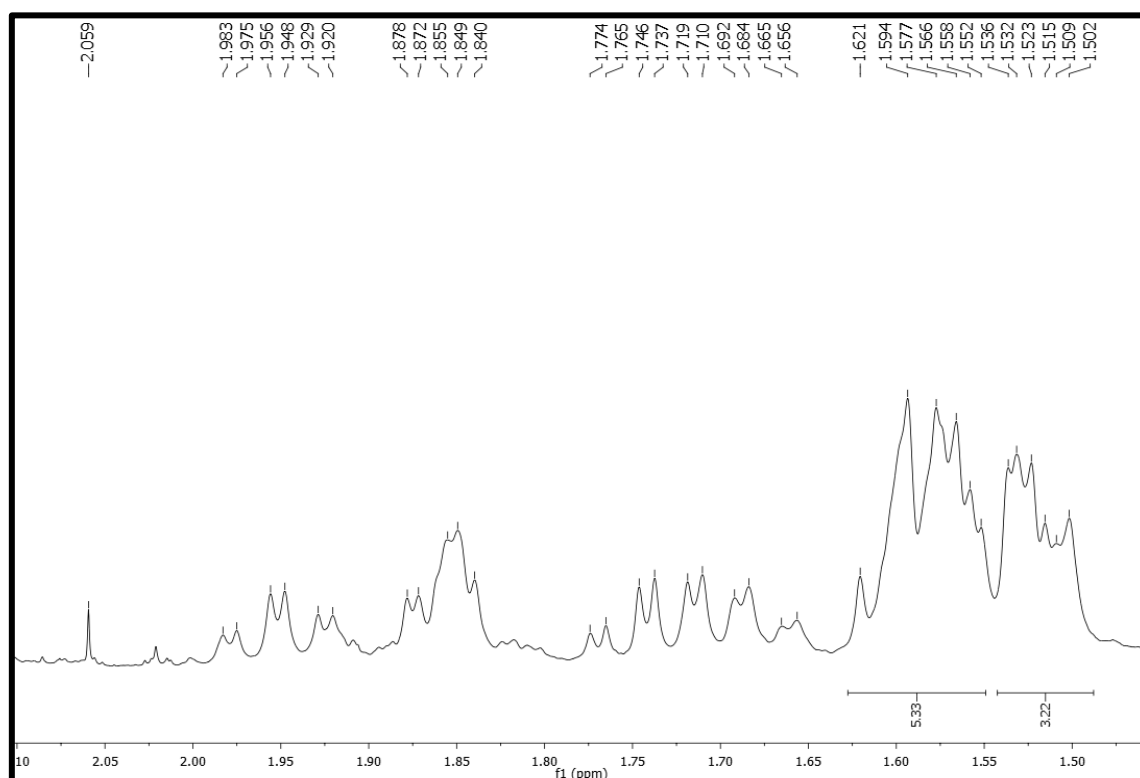


Figura 13 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 0,66-1,26 ppm.

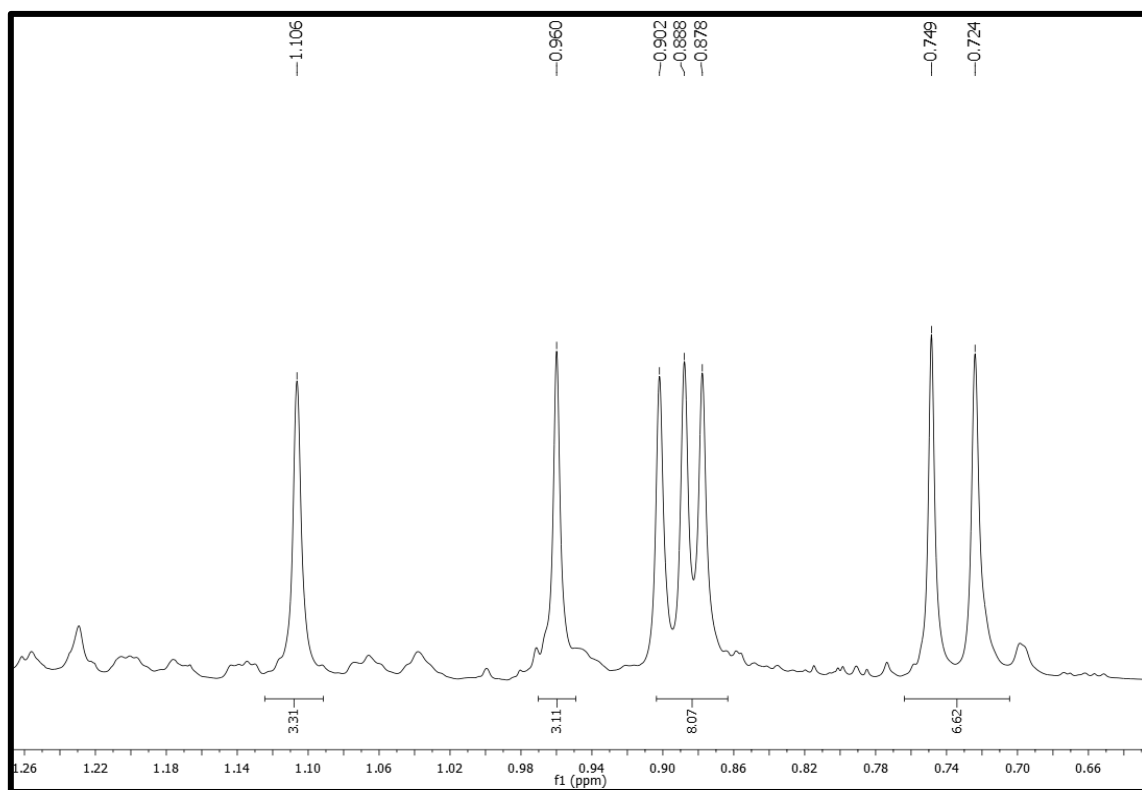


Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1.

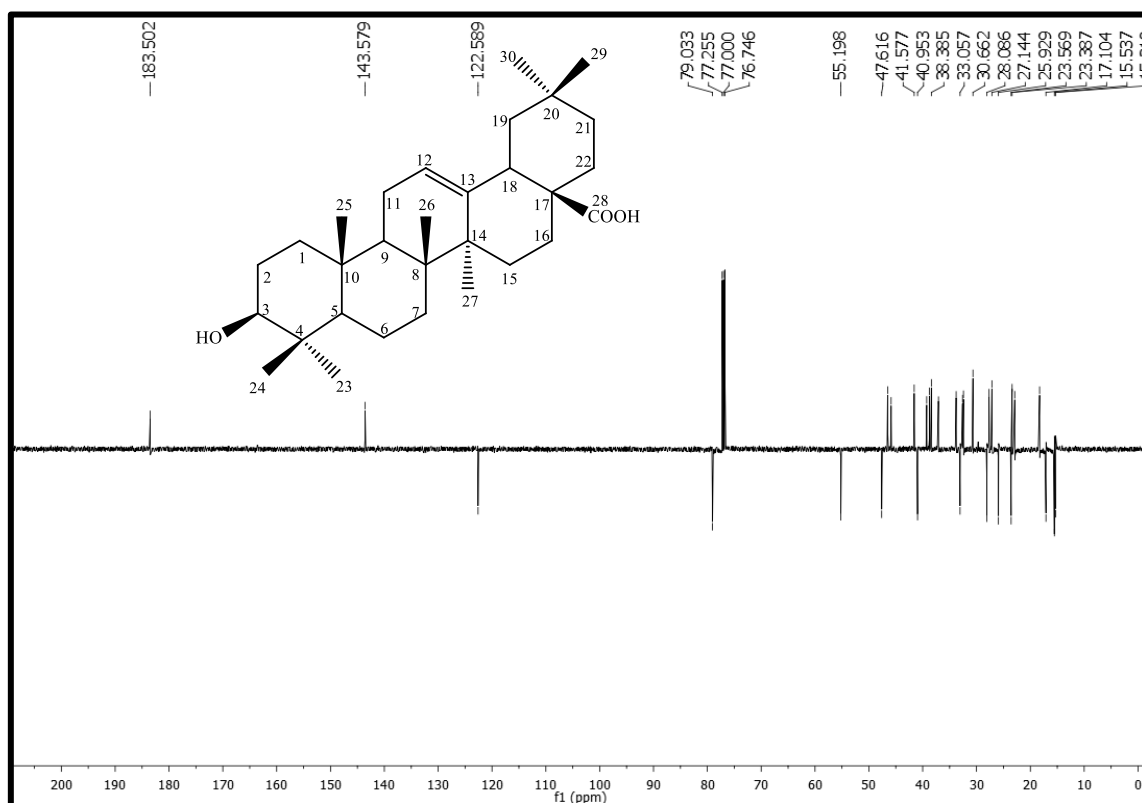


Figura 15 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 55-185 ppm.

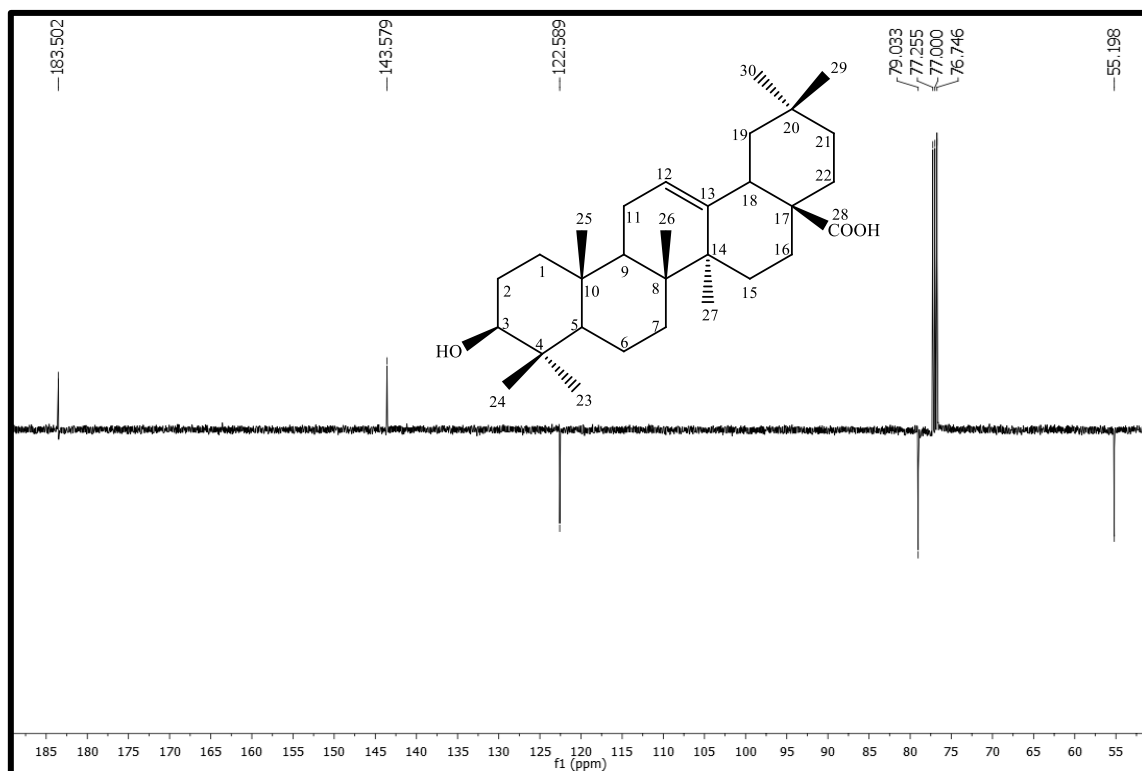
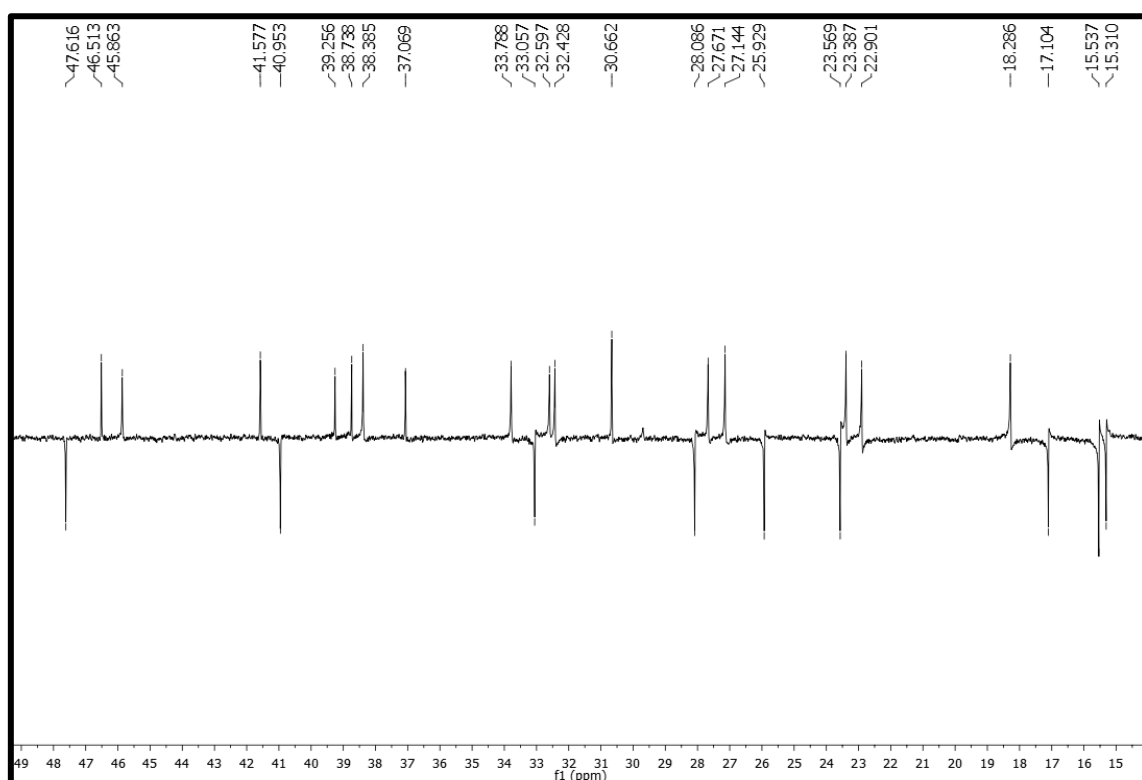


Figura 16 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-1 na região de 15-49 ppm.



5.2 Determinação estrutural de Lm-2

A substância Lm-2 (Figura 17, p. 56) foi isolada na forma de um sólido amorfo, com 30,6 mg e rendimento de 0,0015% em relação ao pó da planta. Após comparação dos dados obtidos nos espectros de ^1H e de ^{13}C (Figura 18-19, p. 56-57) com os dados de (COSTA, 2013) (Figura 20, p. 59), pode-se concluir que Lm-2 trata-se do acetato do ácido oleanólico.

Figura 17 – Estrutura química de Lm-2.

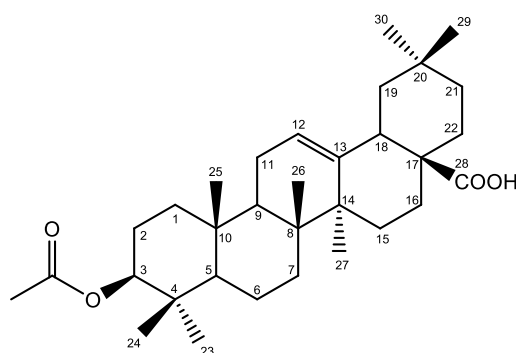


Figura 18 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de Lm-2.

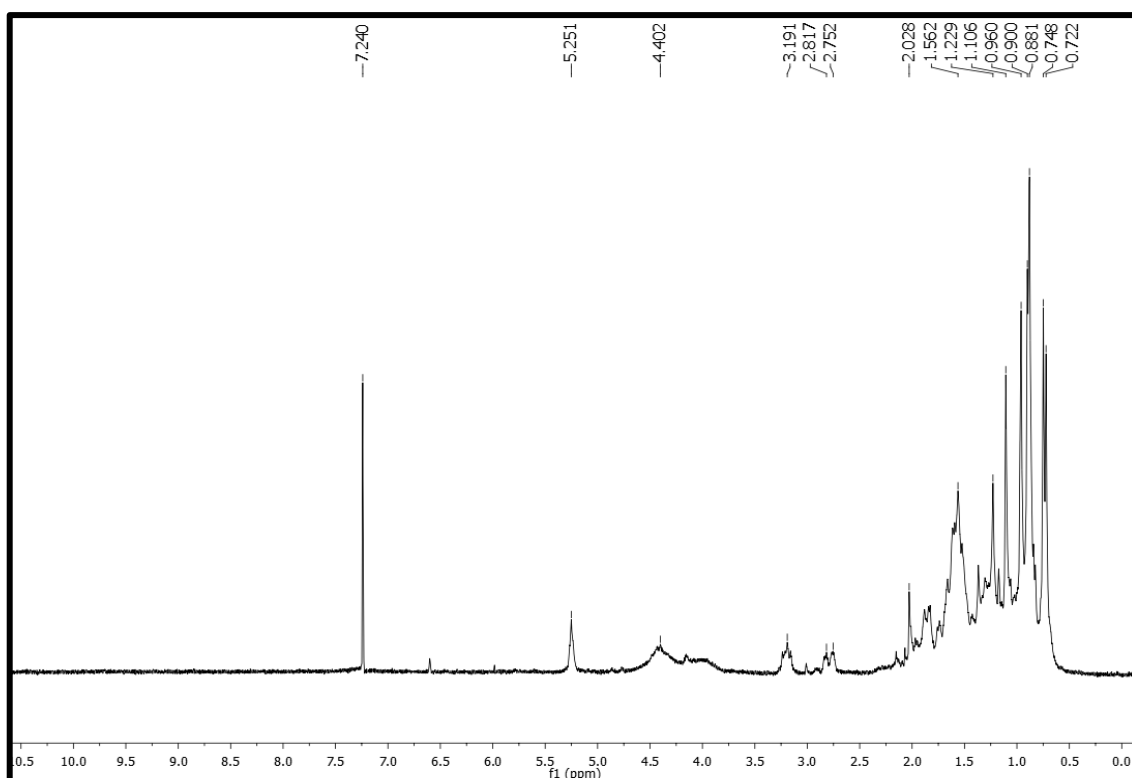


Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de Lm-2.

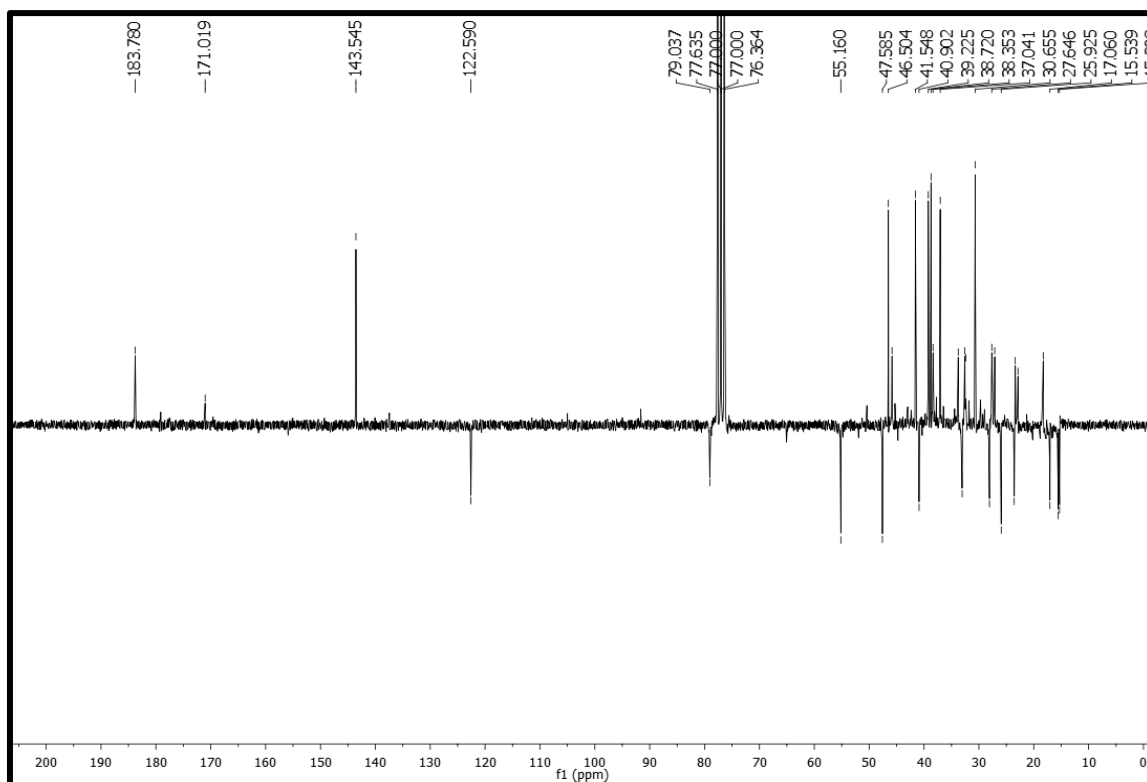
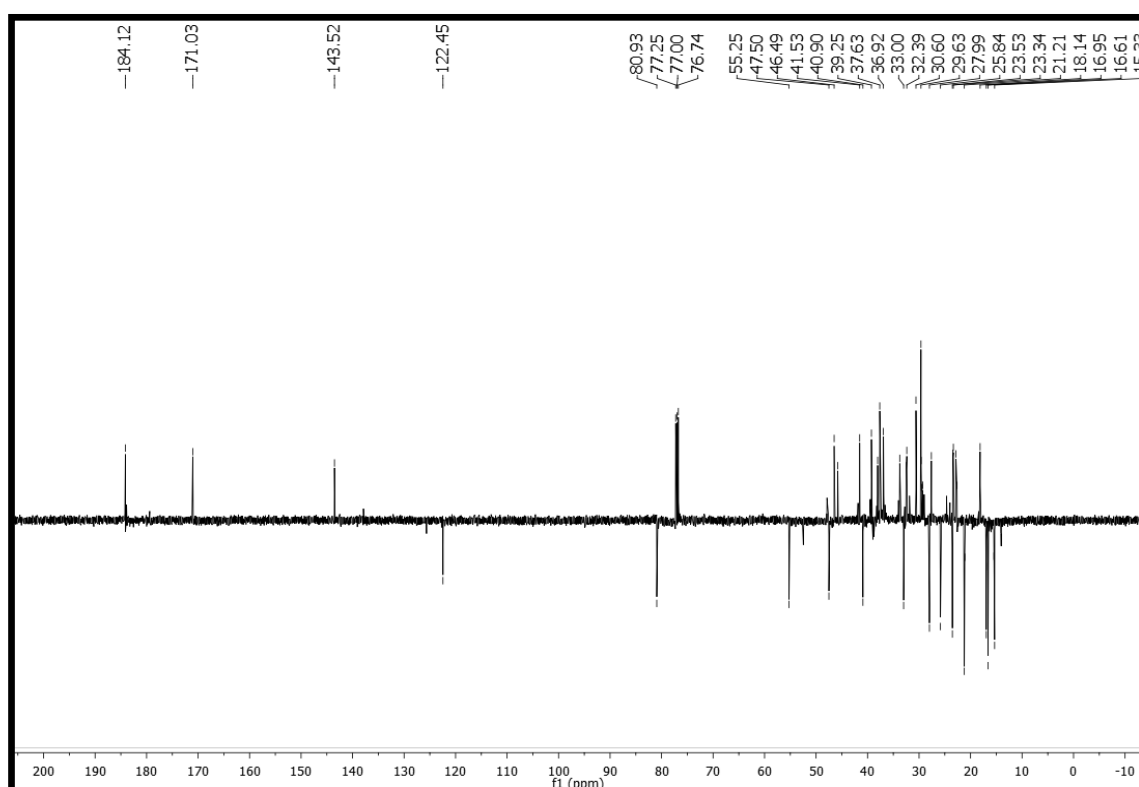


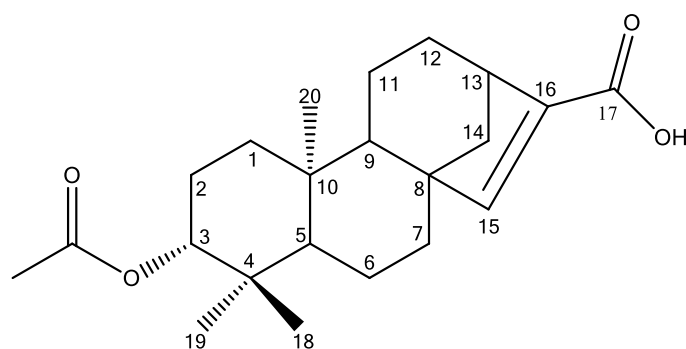
Figura 20 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) acetato do ácido oleanólico (COSTA, 2013).



5.3 Identificação estrutural de Lm-3

A substância Lm-3 (Figura 21, p. 58) foi isolada na forma de um óleo esverdeado, com 76,6 mg e rendimento de 0,0038% em relação ao pó da planta. O espectro de infravermelho (Figura 22, p. 62) mostrou uma absorção larga em 3.448 cm^{-1} e outra absorção em 1.691 cm^{-1} característicos de hidroxila e carboxila de ácido carboxílico, respectivamente.

Figura 21 – Estrutura química de Lm-3.



Ácido *ent*-3β-acetoxi-caur-15-eno-17-óico
Lm-3

No espectro de RMN de ^{13}C APT (Figuras 23-25, p. 62-63) foi possível observar a presença de 22 sinais que foram atribuídos a 1 grupo acetoxil, cinco carbonos não hidrogenados, cinco carbonos metínicos, sete carbonos metilênicos e três carbonos metílicos. Os sinais com deslocamentos químicos de δ_{C} 54,7; 46,4; 40,3 e 137,4 quando comparados com a literatura, sugeriram tratar-se de um esqueleto de diterpeno do tipo caurano, e foram atribuídos à C-5, C-9, C-15 e C-16, respectivamente (CHENG et al., 2010). O sinal em δ_{C} 80,7 foi compatível com grupo acetoxil em C-3 e o sinal em δ_{C} 28,1 foi atribuído a metila C-18 equatorial (DUTRA et al., 2014). Verificou-se ainda os sinais de carbonos metílicos em δ_{C} 16,5 e 17,7 que de acordo com a literatura foram atribuídos a CH_3 -19 e CH_3 -20, respectivamente (DUTRA et al., 2014). A presença do sinal em δ_{C} 169,8 inferiu a presença de um grupo ácido no C-17 (CHENG et al., 2010), os demais dados de carbonos estão na Tabela 5 (p. 61).

No espectro de RMN ^1H (Figuras 26-30, p. 64-66) foram observados os sinais em δ_{H} 2,91 (m) e 6,61 (s), atribuídos a H-13 e H-15 de diterpenos do tipo caurano

(ELLMAUERER et al., 1987). Também foram observados três singletos em δ_H 0,83; 0,82 e 1,05 atribuídos às metilas CH₃-18, CH₃-19 e CH₃-20, além de um dubleto em δ_H 2,13 (d, $J = 10,5$ Hz) atribuído a H-14a e um multipeto em δ_H 1,48 atribuído a H-14b (ELLMAUERER et al., 1987). Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 4 (p. 60).

O espectro HMQC (Figuras 31-36, p. 66-69) mostrou as correlações dos sinais em δ_H 0,84 com δ_C 54,7; δ_H 1,03 com δ_C 55,9, δ_H 2,91 com δ_C 40,3 e δ_H 6,61 com δ_C 156,0; confirmando a atribuição dos carbonos metínicos, CH-5, CH-9, CH-13 e CH-15, respectivamente. Mostrou ainda uma correlação do sinal em δ_H 4,45 com δ_C 80,7 confirmando CH-3. Foi observado também as correlações diretas entre os sinais em δ_H 0,83 com δ_C 28,1, δ_H 0,82 com δ_C 16,5 e δ_H 1,05 com δ_C 17,7 atribuídos aos carbonos das metilas CH₃-18, CH₃-19 e CH₃-20, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 4 (p. 60).

No espectro HMBC (Figuras 37-47, p. 69-74) observou-se correlações de sinais em δ_H 4,45 (H-3) com os deslocamentos em δ_C 23,7; 37,7; 28,1 e 17,7 que foram atribuídos a C-2, C-4, C-18 e C-19, respectivamente. Observou-se ainda correlações de sinais em δ_H 0,84 (CH₃-18) com os carbonos em δ_C 37,7; 54,7; 17,7 e 16,5 que foram atribuídos a C-4, C-5, C-19 e C-20, respectivamente. Verificou-se ainda as correlações de δ_H 0,82 (CH₃-19) com os sinais δ_C 80,7; 37,7; 54,7 e 28,1 que foram atribuídos a C-3; C-4; C-5 e C-18, respectivamente. Ainda foi possível observar as correlações entre δ_H 1,05 (CH₃-20) com os sinais δ_C 38,0; 54,7; 46,4 e 39,2 que foram atribuídos a C-1; C-5; C-9 e C-10, respectivamente. O assinalamento de C-17 ainda foi reforçado através da correlação de δ_H 6,61 (H-15) com δ_C 169,8 (C-17). As demais correlações estão compiladas na Tabela 4 (p. 60).

No espectro COSY (Figuras 48-51, p. 75-76) foram observadas correlações dos sinais em δ_H 6,61 (H-15) com os sinais em δ_H 2,13 (H-14), além da correlação de δ_H 4,45 (H-3) com 1,64 (H-2). No espectro NOESY (Figuras 52-54, p. 77-78) foram observadas correlações dos sinais em δ_H 2,91 (H-13) com 1,48 (H-14).

Após análises desses dados pode-se concluir que a substância codificada como Lm-3, trata-se do ácido *ent*-3 β -acetoxi-caur-15-eno-17-oico, um diterpeno caurano que está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Leptohyptis*. Além disso, essa é a primeira vez que seus dados de RMN de ¹³C-APT estão sendo apresentados.

Tabela 4 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Lm-3 em CDCl_3 .

C	δ_c	HMQC		HMBC
		^1H	^{13}C	
1	38,0	1,85 (m, H-1 eq), 0,92 (m, H-1 ax)		C-2, C-3, C-5, C-10, C-20
2	23,5	1,56 (m, H-2 ax), 1,64 (m, H-2 eq)		
3	80,7	4,45 (dd, $J = 11,5; 5,0$ Hz)		C-2, C-4, C-18, C-19
4	37,7	--		--
5	54,7	0,84 (m)		C-6
6	22,6	1,33 (m, H-6 ax), 0,85 (m, H-6 eq)		C-5, C-7
7	38,3	1,65 (m, H-7)		C-14, C-8, C-5, C-6, C-15
8	50,4	--		--
9	46,4	1,03 (m, H-9)		--
10	39,2	--		--
11	18,4	1,34 (m, H-11 ax), 1,55 (m, H-11 eq)		
12	25,2	1,52 (m)		
13	40,3	2,91 (m)		C-16, C-15, C-8, C-14
14	43,0	1,48 (m, H-14 ax), 2,13 (d, $J = 10,5$ Hz, H-14 eq)		C-7, C-8, C-9, C-12, C-13, C-16, C-15, C-17
15	156,0	6, 61 (s)		C-7, C-8, C-9, C-13, C-16, C-17
16	137,4	--		--
17	169,8	--		--
18	28,1	0,83 (s)		C-19, C-20, C-5, C-4
19	16,5	0,82 (s)		C-3, C-4, C-5, C-18
20	17,7	1,05 (s)		C-1, C-5, C-9, C-10
<u>COCH</u> ₃	171,4	--		--
<u>COCH</u> ₃	21,28	2,02 (s)		--

Tabela 5 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Lm-3 com os dados da literatura do *ent*-3 β -acetoxi-caur-16-eno e com o 2 β .3 α -di-hidróxi-*ent*-caur-15-eno-17-oico-3-O- β -D-glicopiranosídeo.

C	δ_{C} de Lm-3 em CDCl_3 (125 MHz)	δ_{C} (DUTRA et al., 2014) em CDCl_3 (100 MHz)	δ_{C} (CHENG et al., 2010) em CD_3OD (125 MHz)
1	38,0	38,4	47,5
2	23,5	23,7	68,1
3	80,7	81,1	96,1
4	37,7	37,9	41,6
5	54,7	55,4	56,1
6	22,6	19,9	19,6
7	38,3	41,1	39,3
8	50,4	44,1	51,4
9	46,4	55,9	48,0
10	39,2	39,0	41,2
11	18,4	18,3	19,7
12	25,2	39,8	26,5
13	40,3	44,0	41,9
14	43,0	33,0	44,3
15	156,0	49,0	154,7
16	137,4	155,7	139,9
17	169,8	103,1	164,1
18	28,1	28,4	28,9
19	16,5	16,6	17,9
20	17,7	17,7	19,4
<u>COCH₃</u>	171,4	171,0	-
<u>COCH₃</u>	21,2	21,3	-

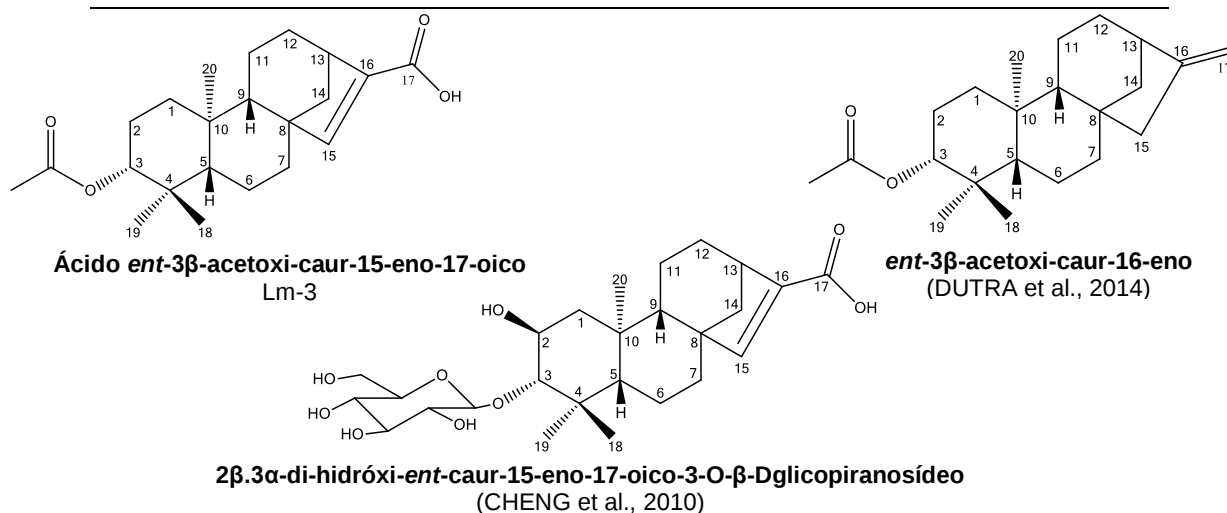


Figura 22 – Espectro de IV de Lm-3 obtido em pastilha de KBr.

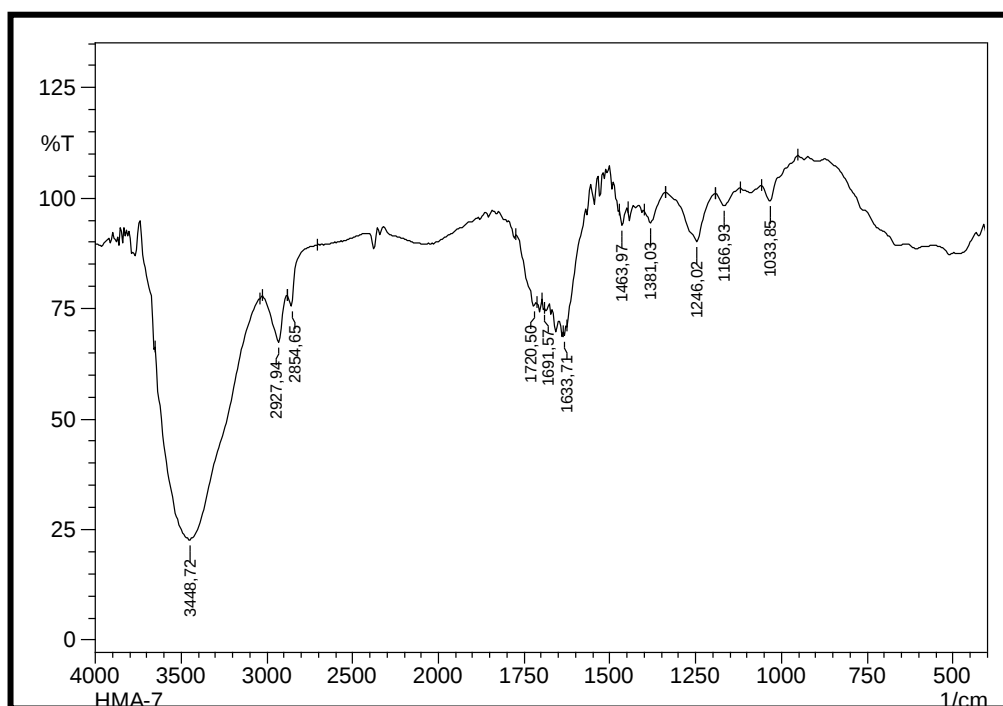


Figura 23 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

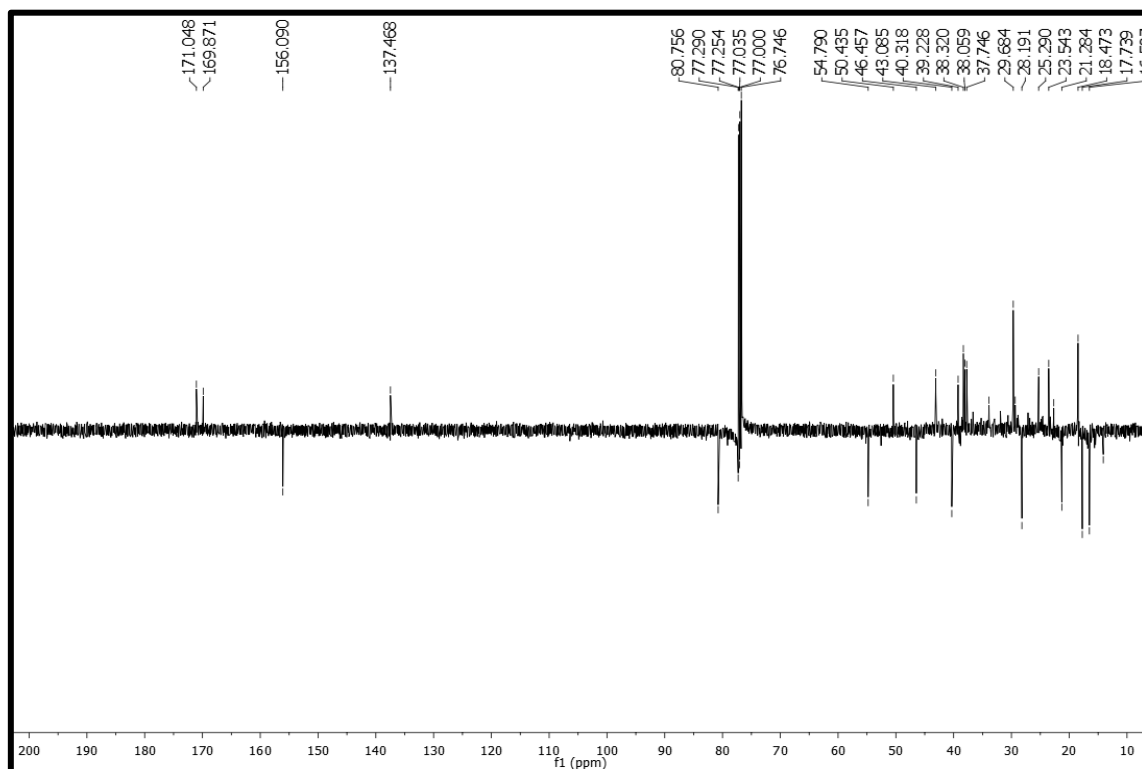


Figura 24 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 15-55 ppm.

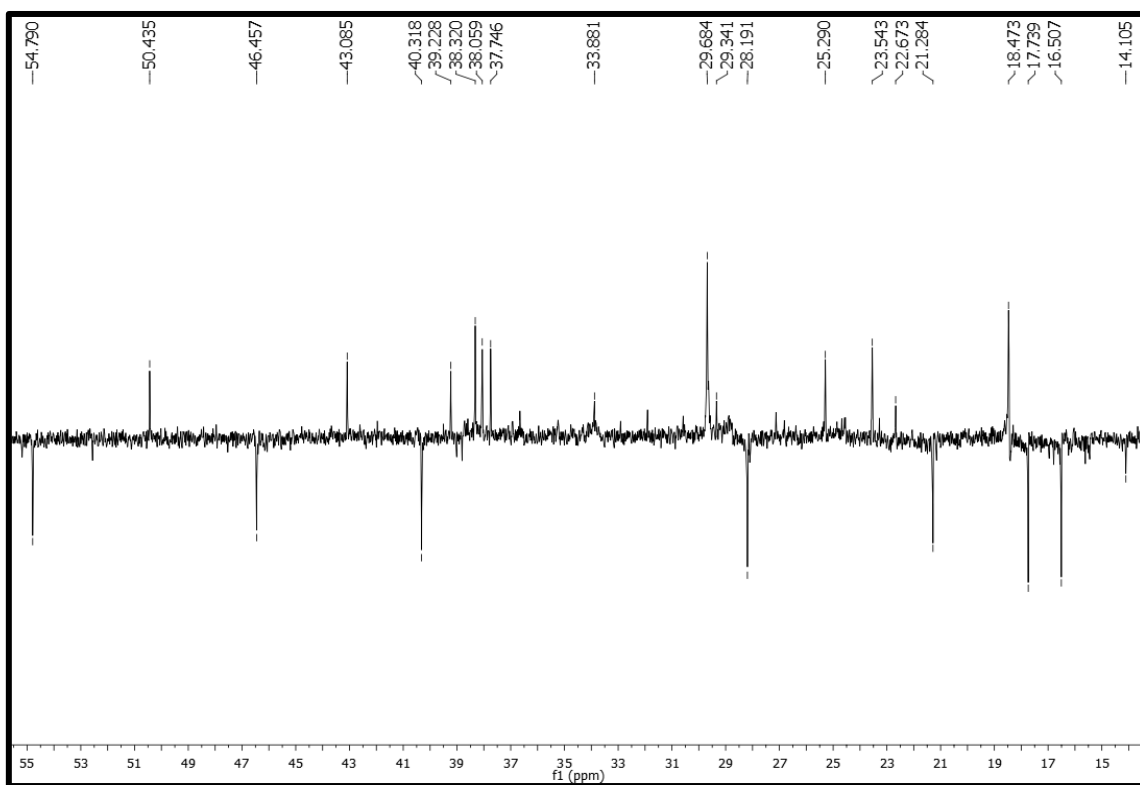


Figura 25 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 75-175 ppm.

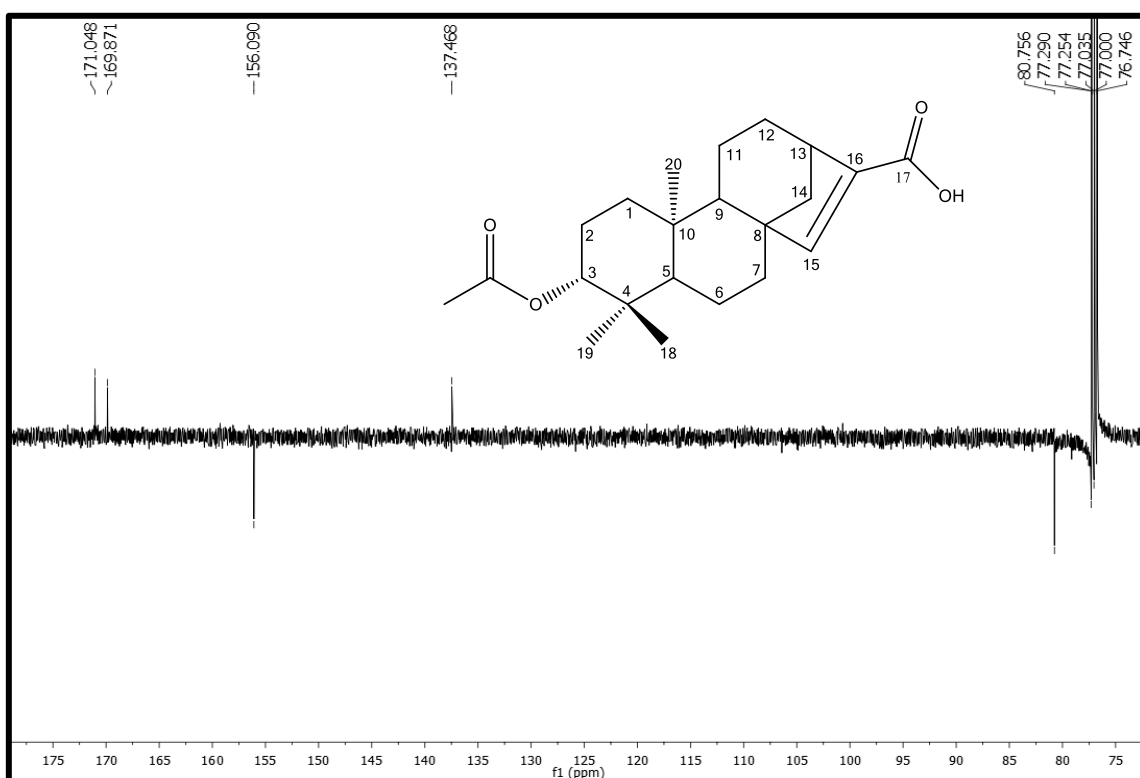


Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

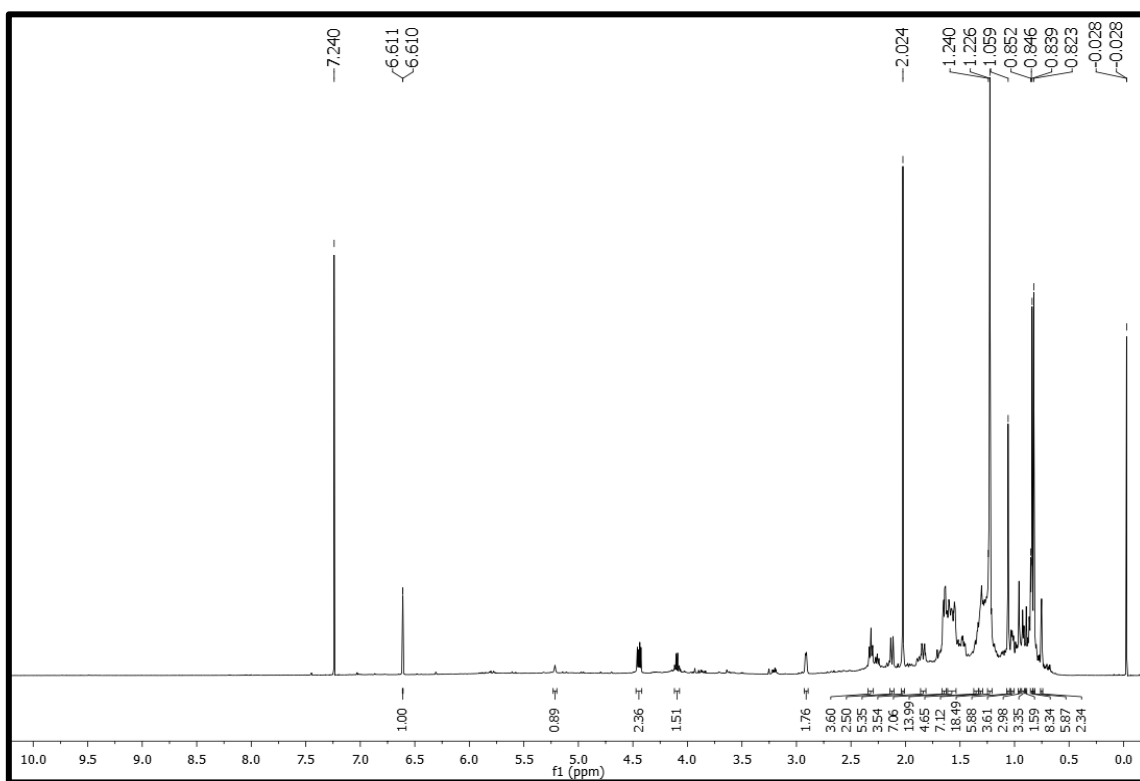


Figura 27 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 5,2-7,3 ppm.

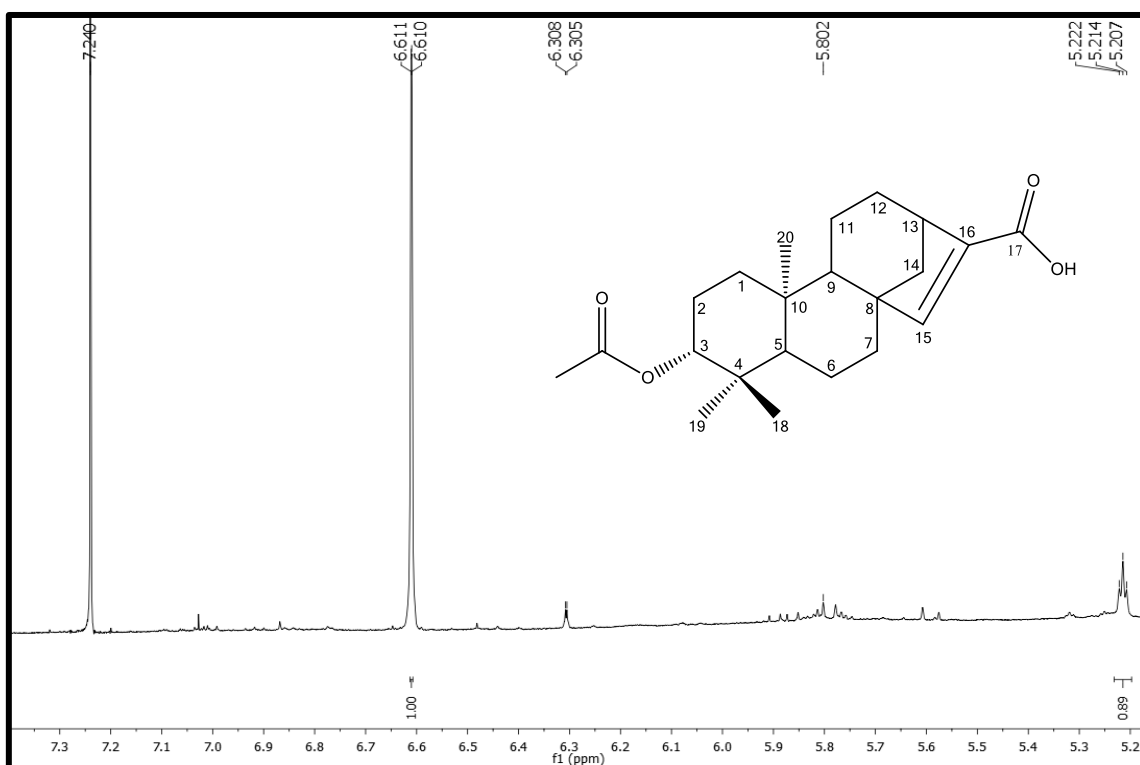


Figura 28 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,9-4,5 ppm.

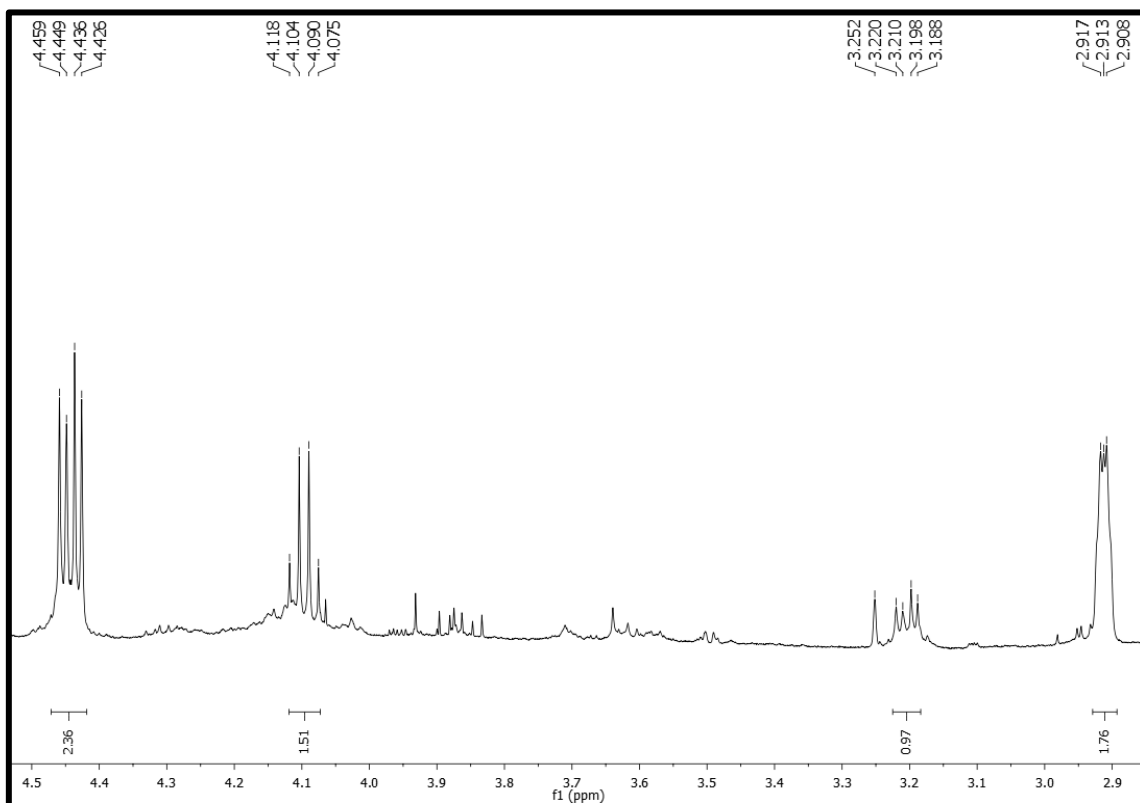


Figura 29 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,20-2,35 ppm.

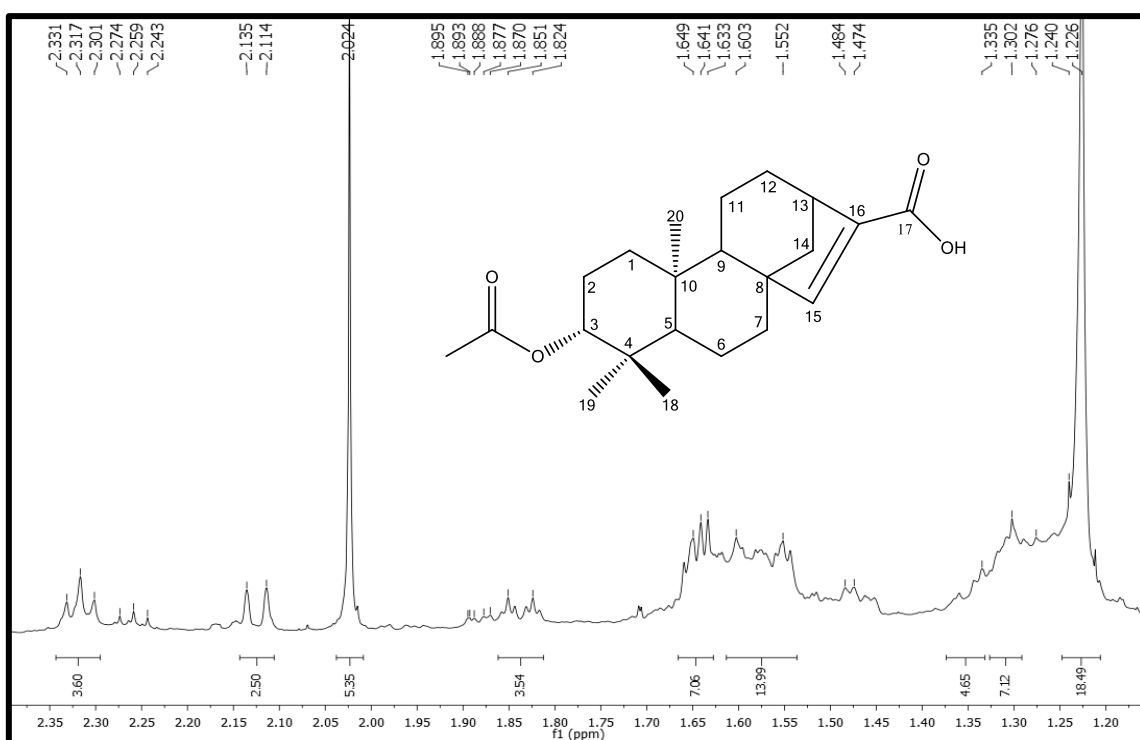


Figura 30 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,75-1,09 ppm.

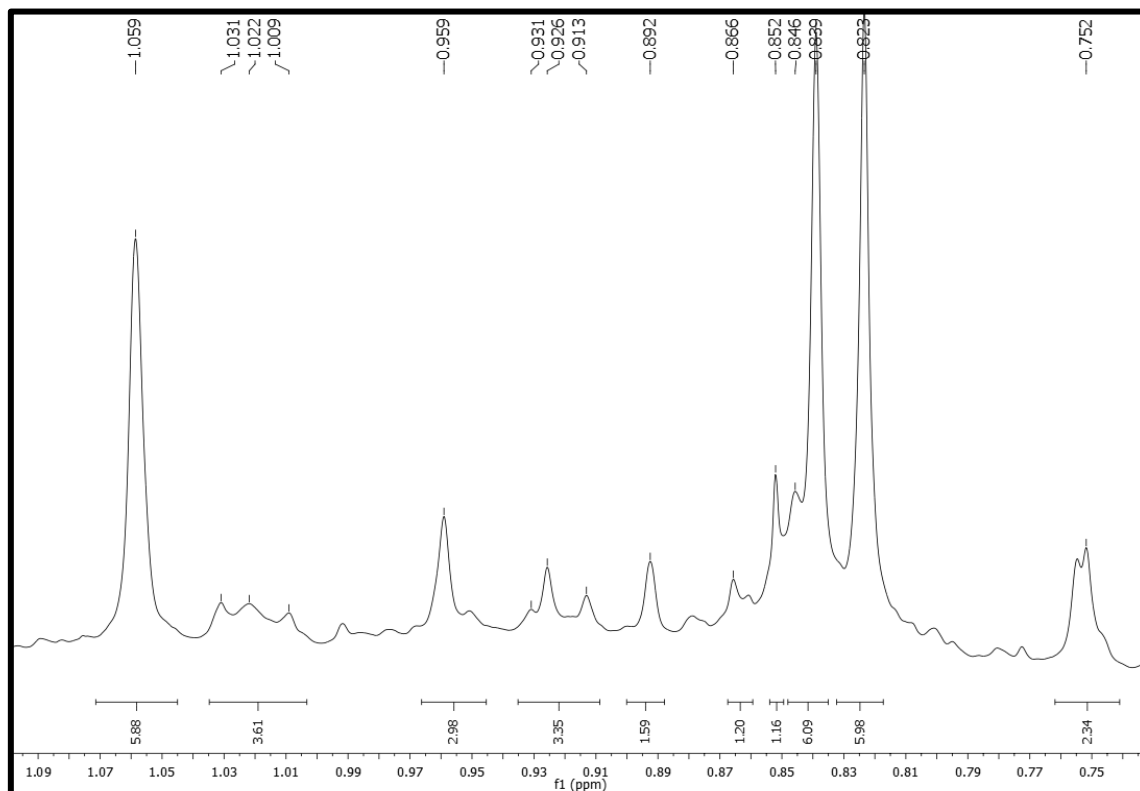


Figura 31 – Espectro de HMQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

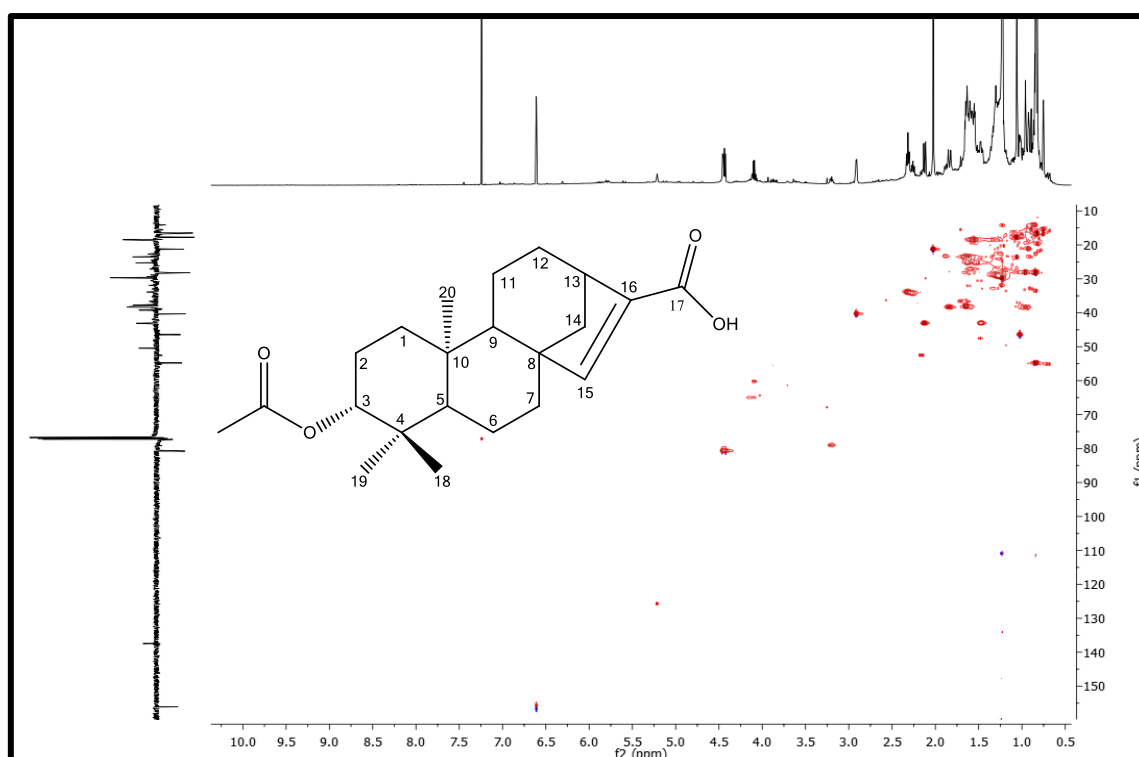


Figura 32 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,7-2,4 ppm x 15-55 ppm.

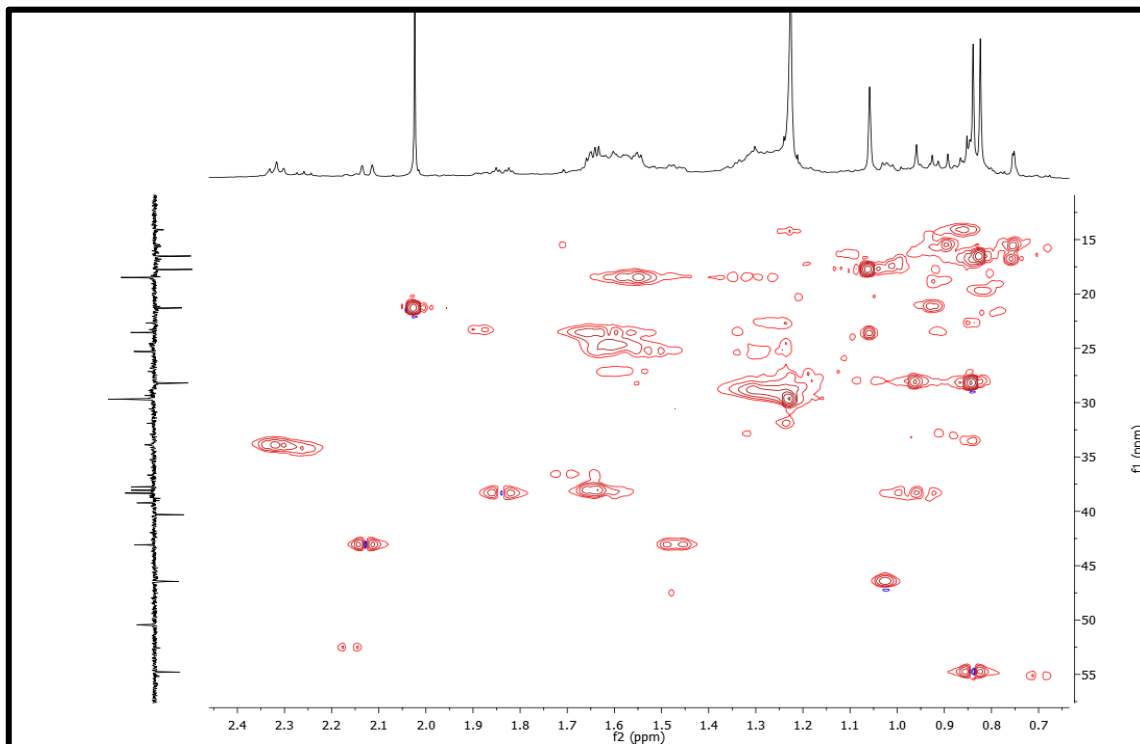


Figura 33 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,95-1,95 ppm x 35,5-40,0 ppm.

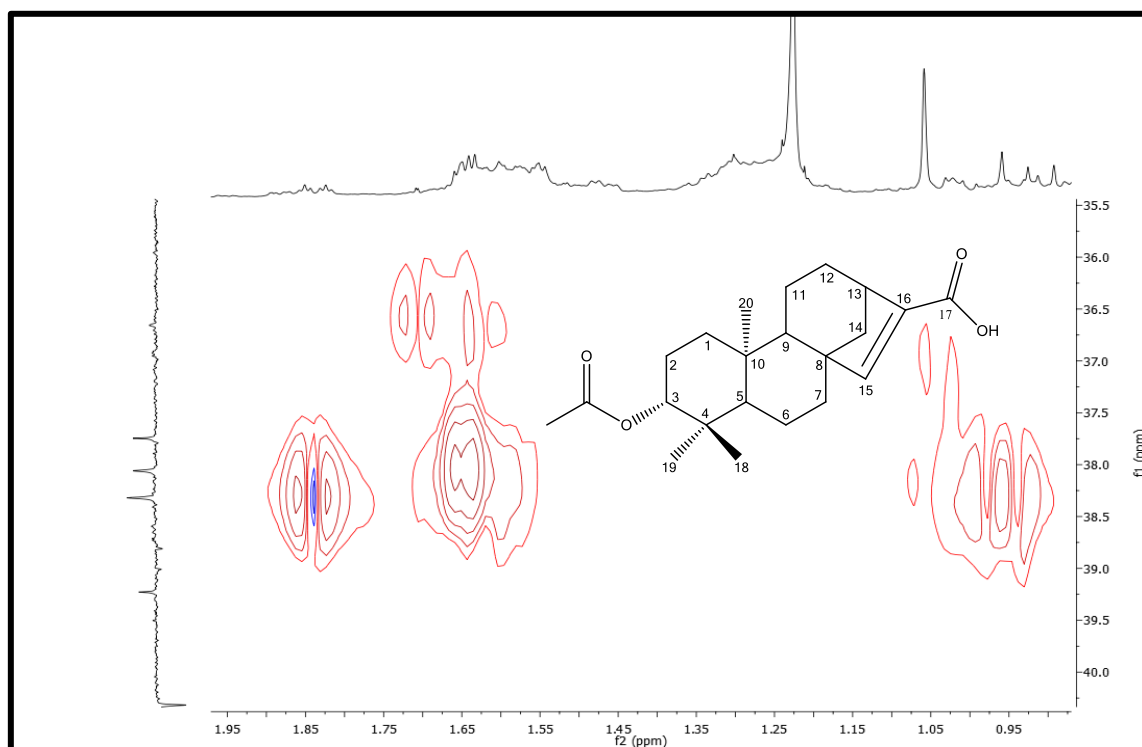


Figura 34 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,75-1,70 ppm x 13-32 ppm.

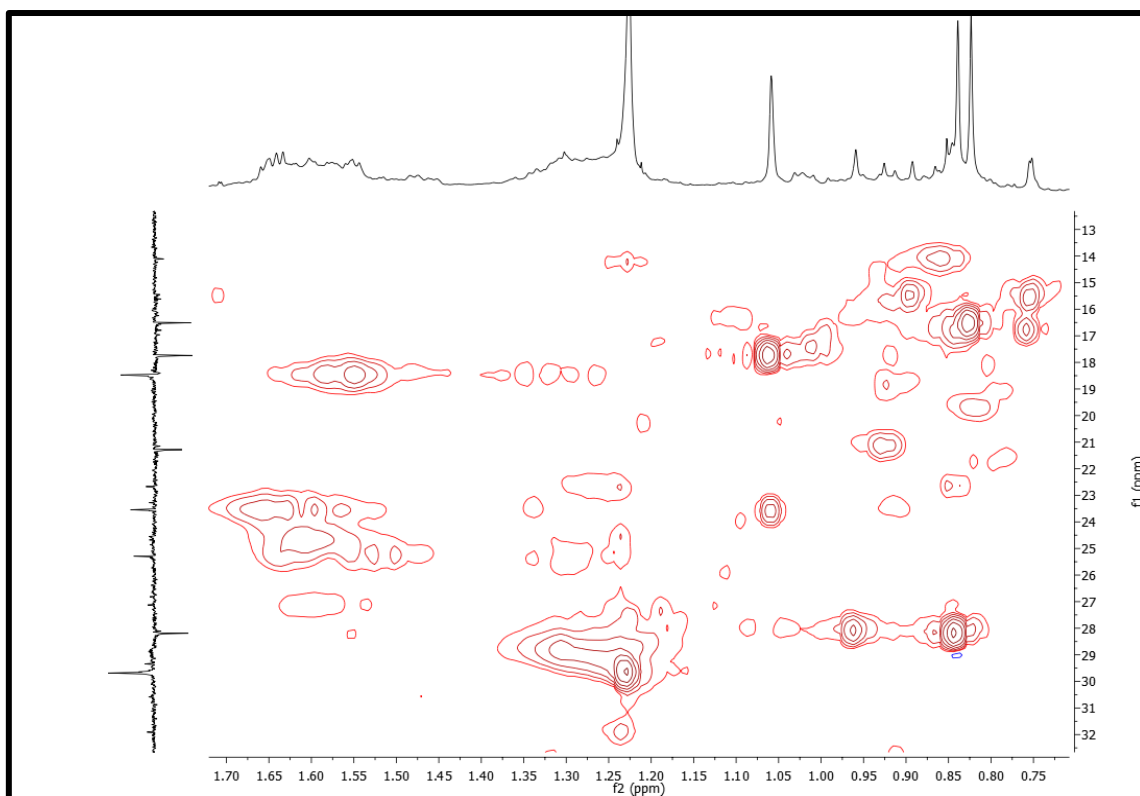


Figura 35 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 5,2-6,7 ppm x 120-155 ppm.

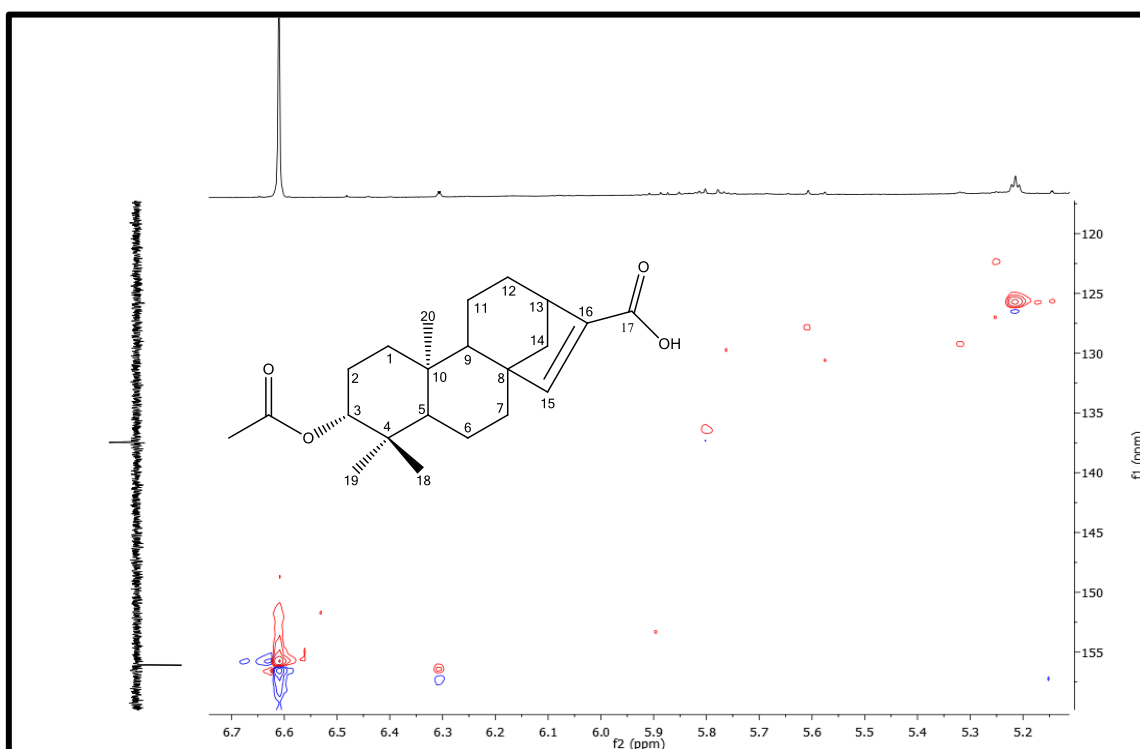


Figura 36 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,8-4,6 ppm x 35-85 ppm.

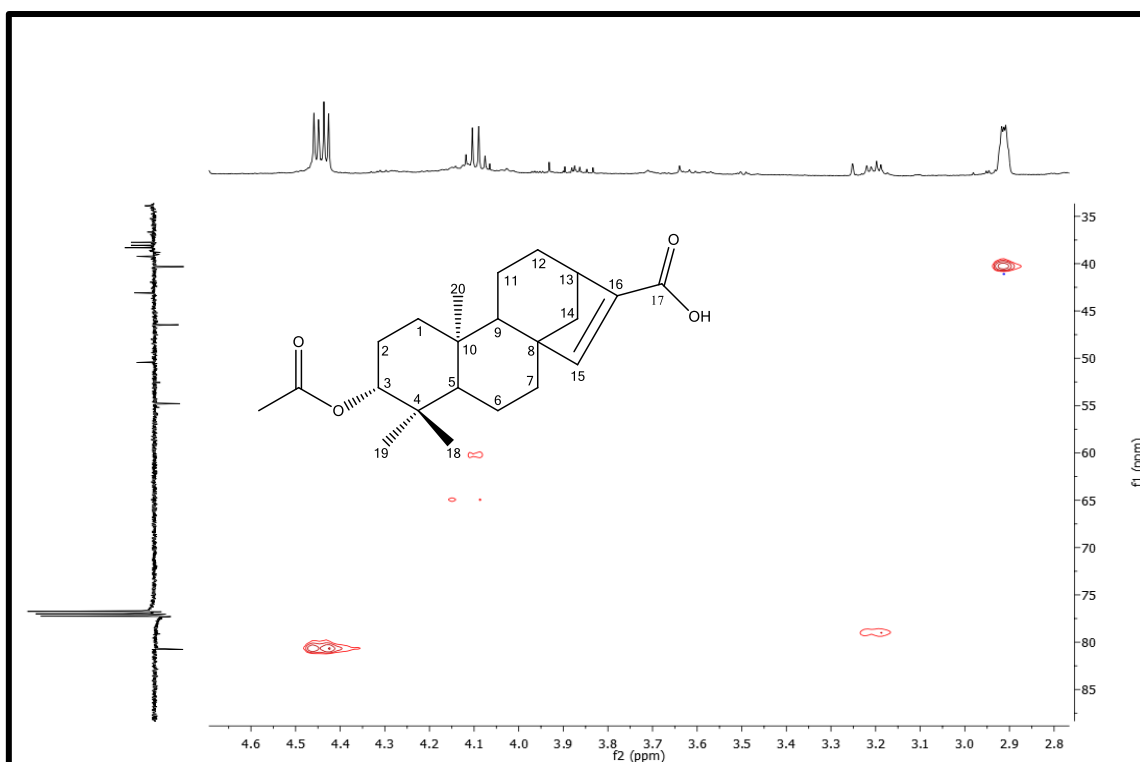


Figura 37 – Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

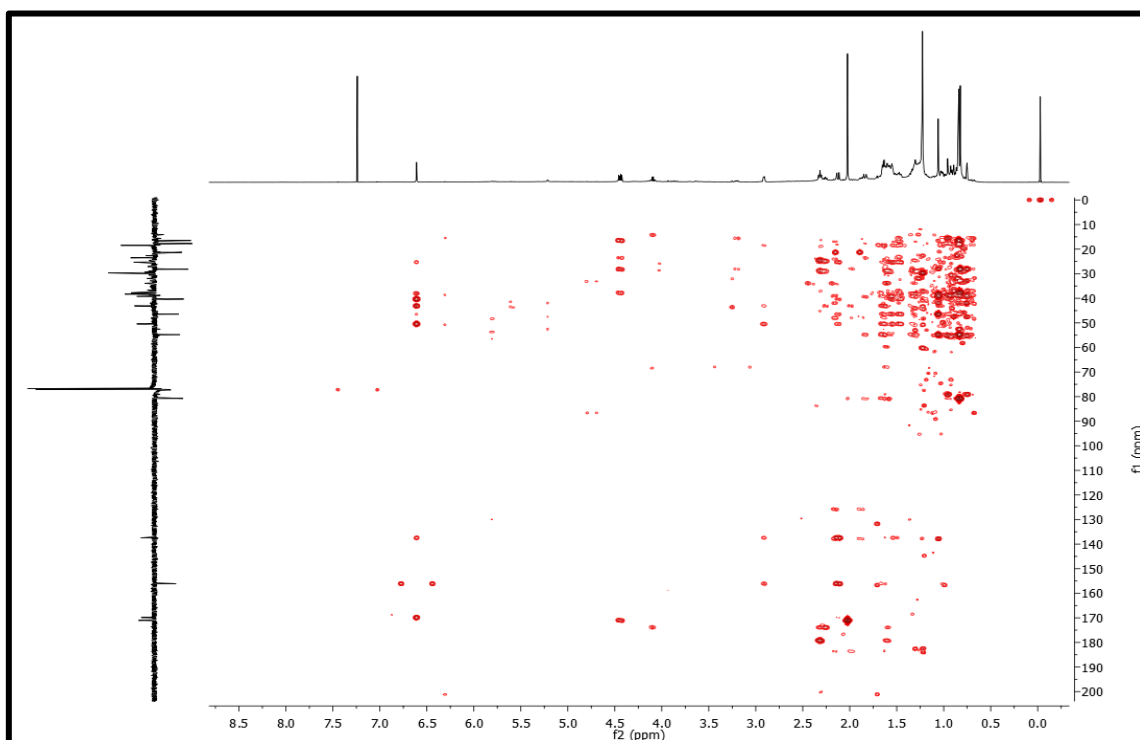


Figura 38 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,9-3,0 ppm x 130-185 ppm.

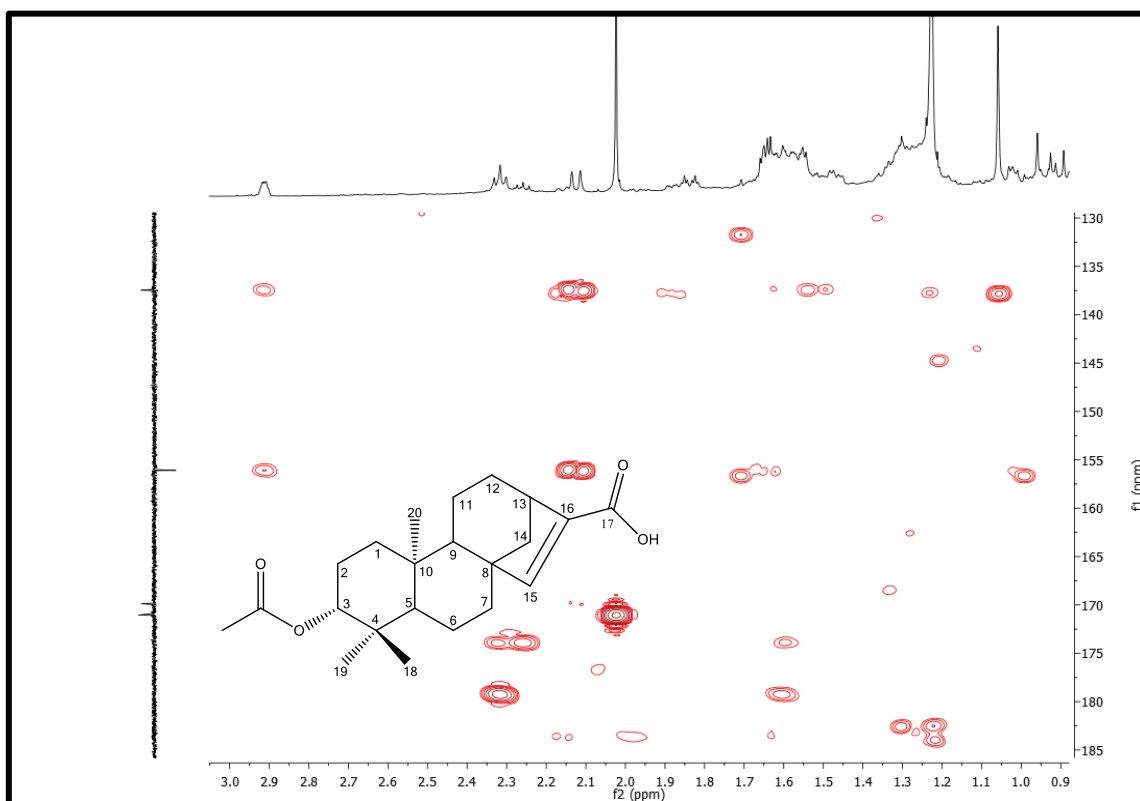


Figura 39 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,0-2,9 ppm x 124-148 ppm.

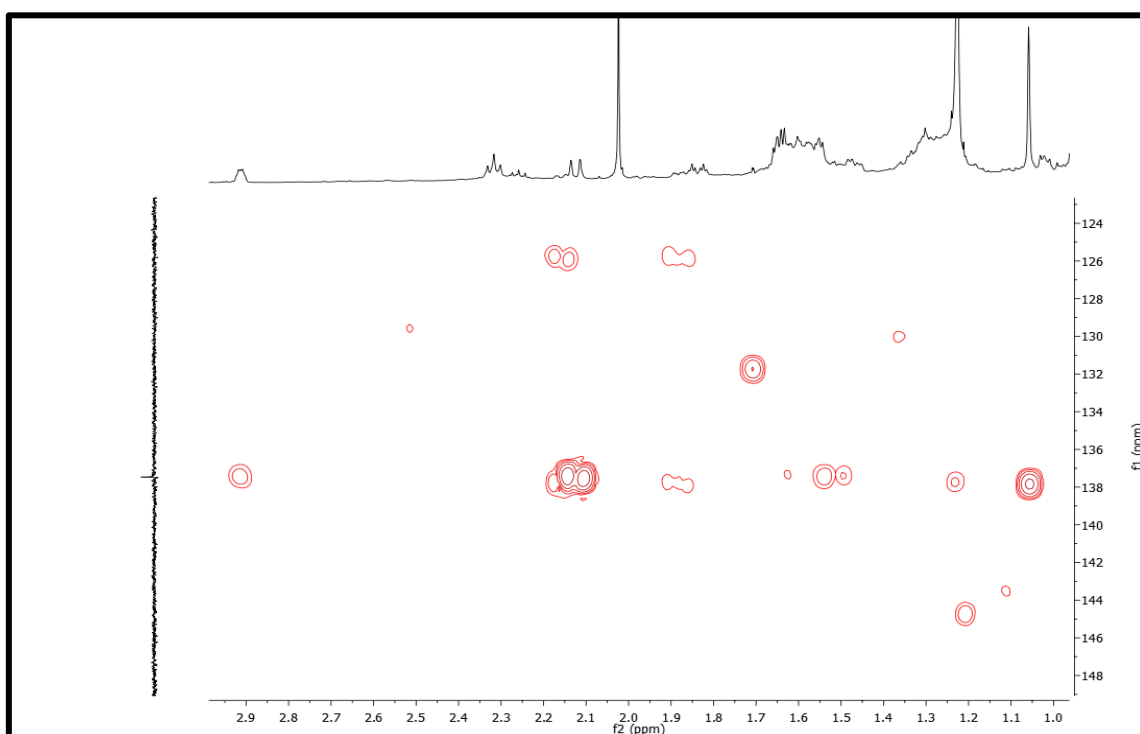


Figura 40 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 4,0-7,4 ppm x 20-90 ppm.

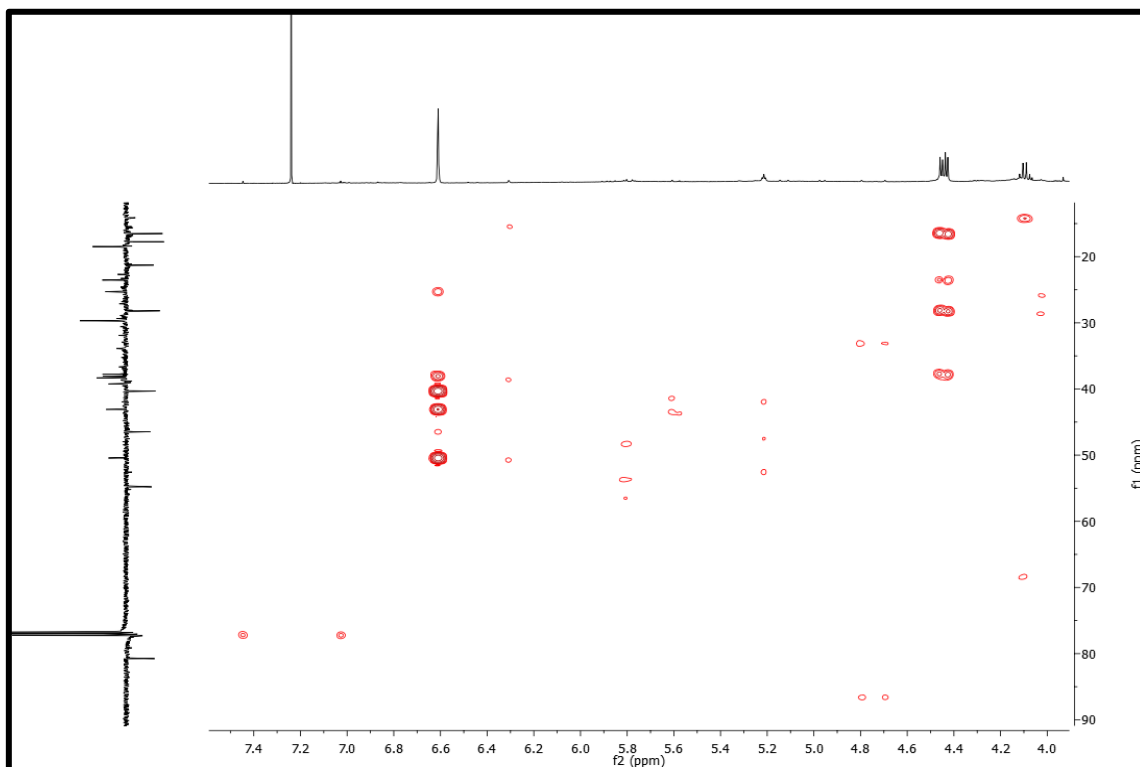


Figura 41 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 4,1-6,9 ppm x 135-175 ppm.

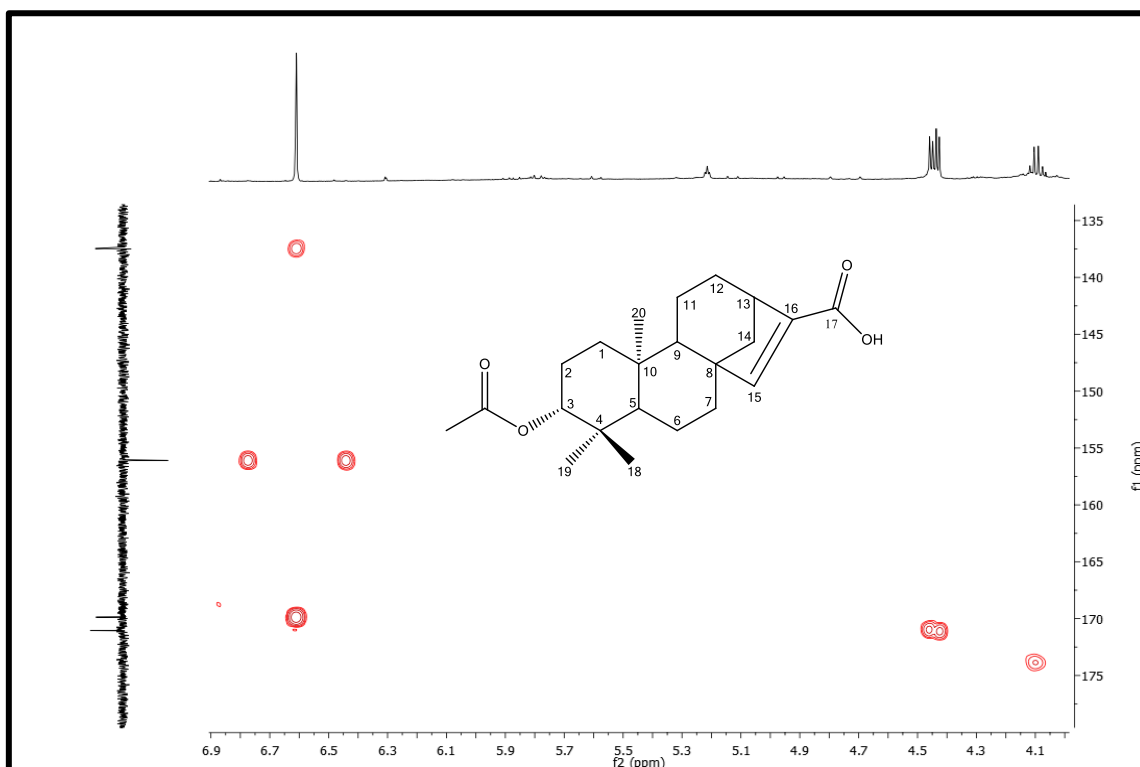


Figura 42 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 2,0-3,3 ppm x 15-50 ppm.

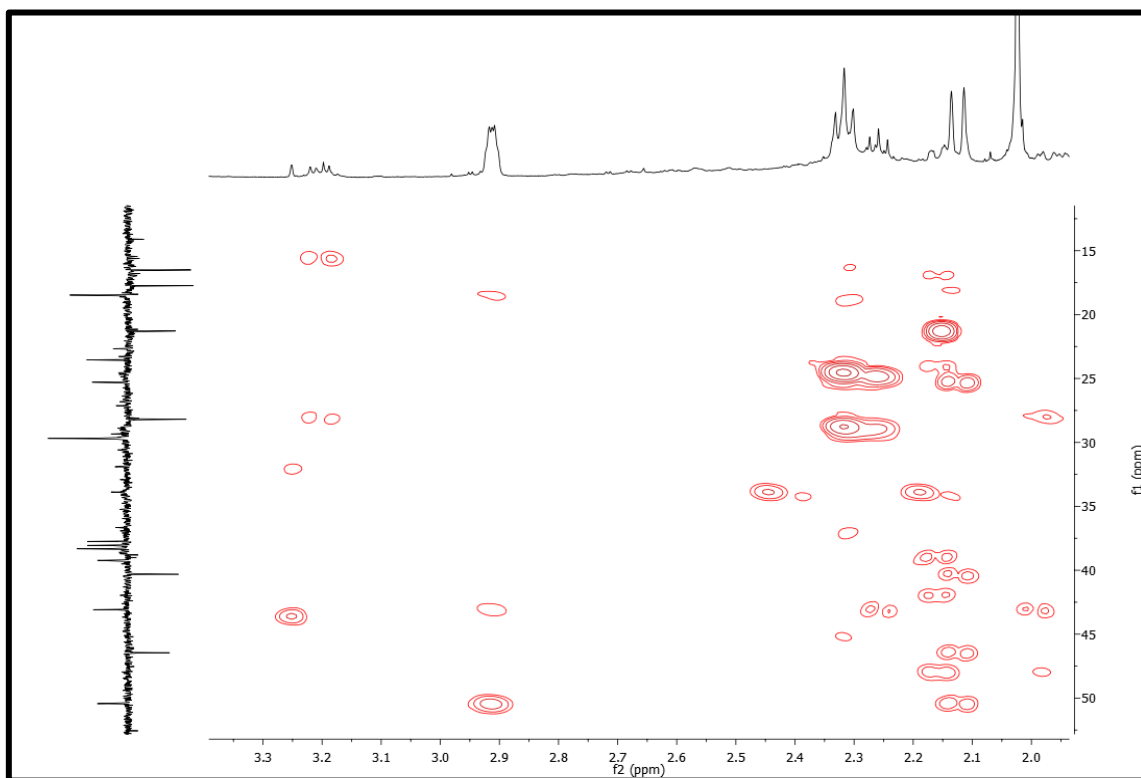


Figura 43 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,15-1,90 ppm x 36-62 ppm.

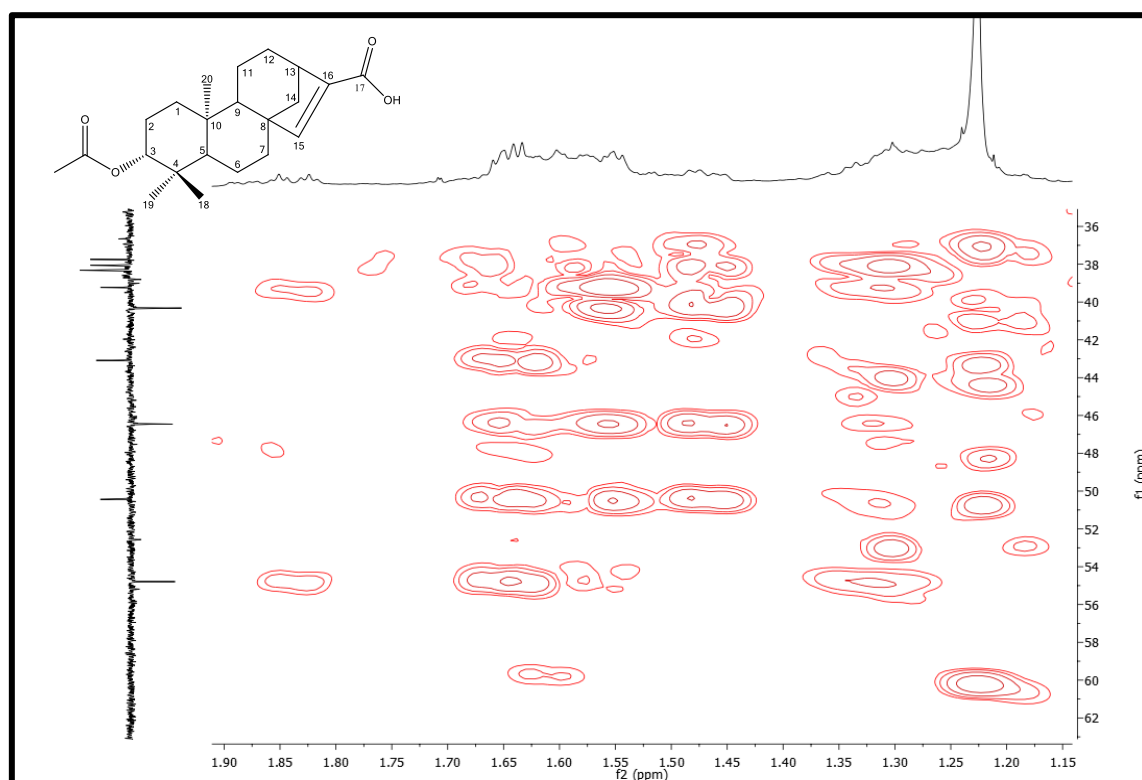


Figura 44 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,66-1,14 ppm x 14-34 ppm.

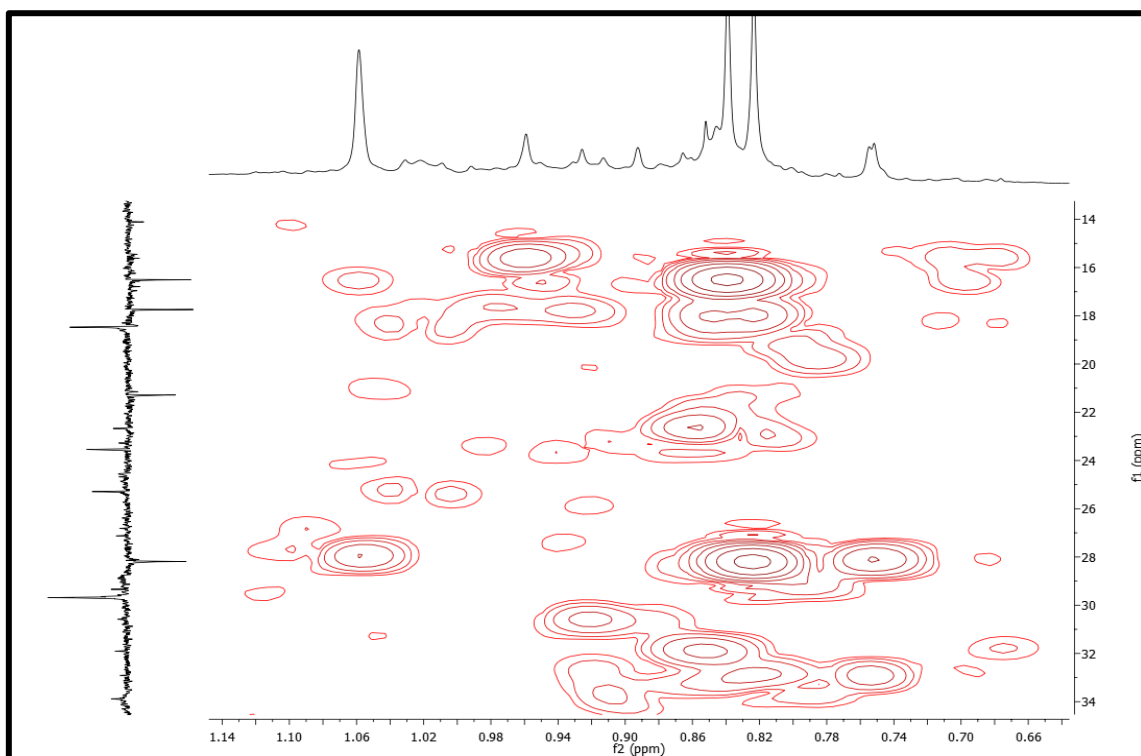


Figura 45 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 1,15-1,90 ppm x 14-34 ppm.

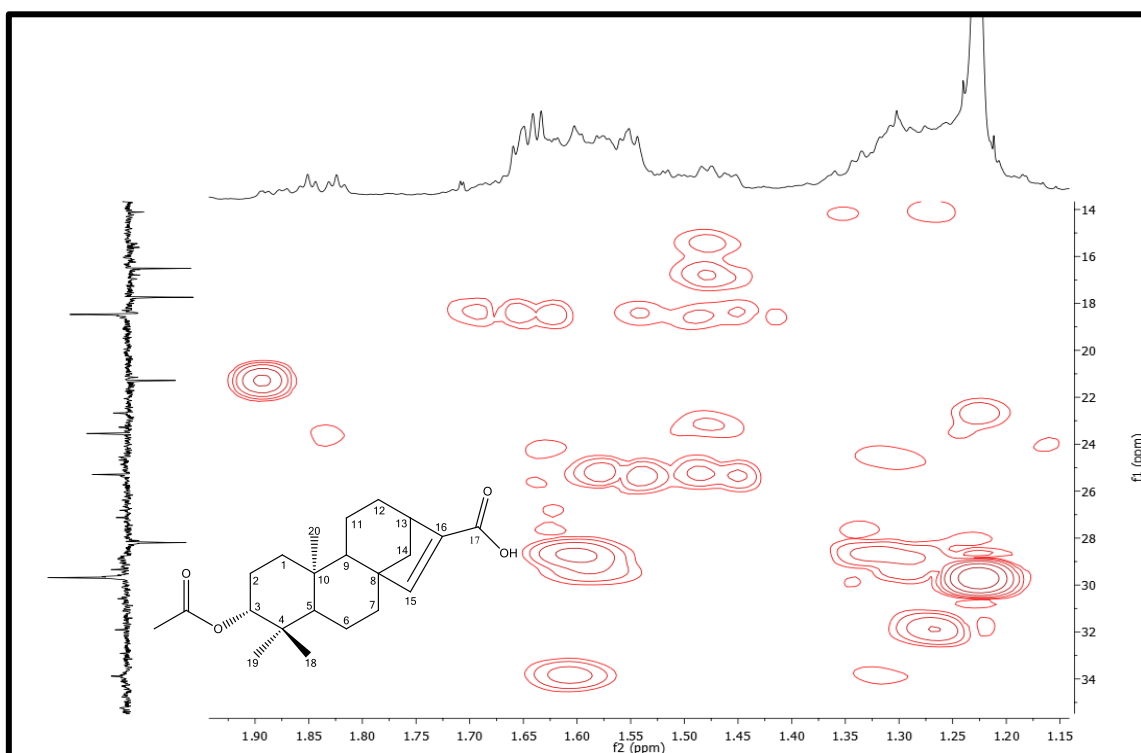


Figura 46 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,65-1,10 ppm x 36-60 ppm.

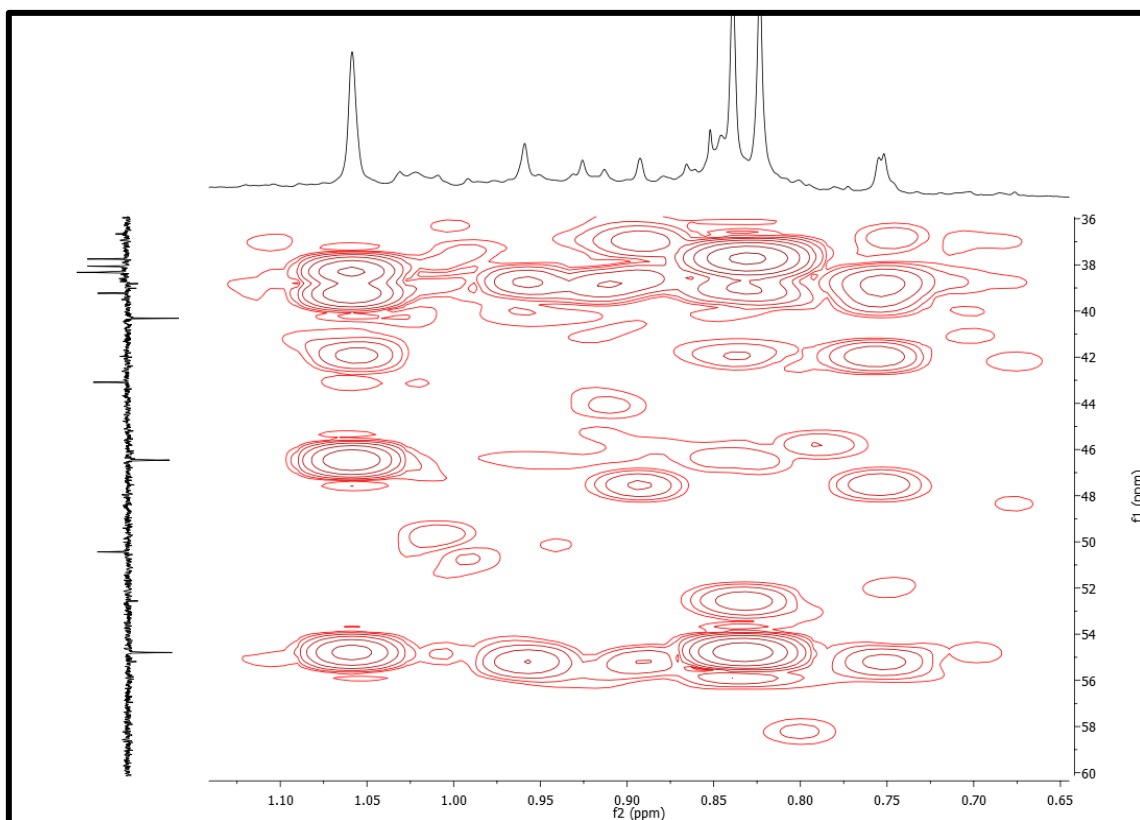


Figura 47 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,70-1,10 ppm x 36-44 ppm.

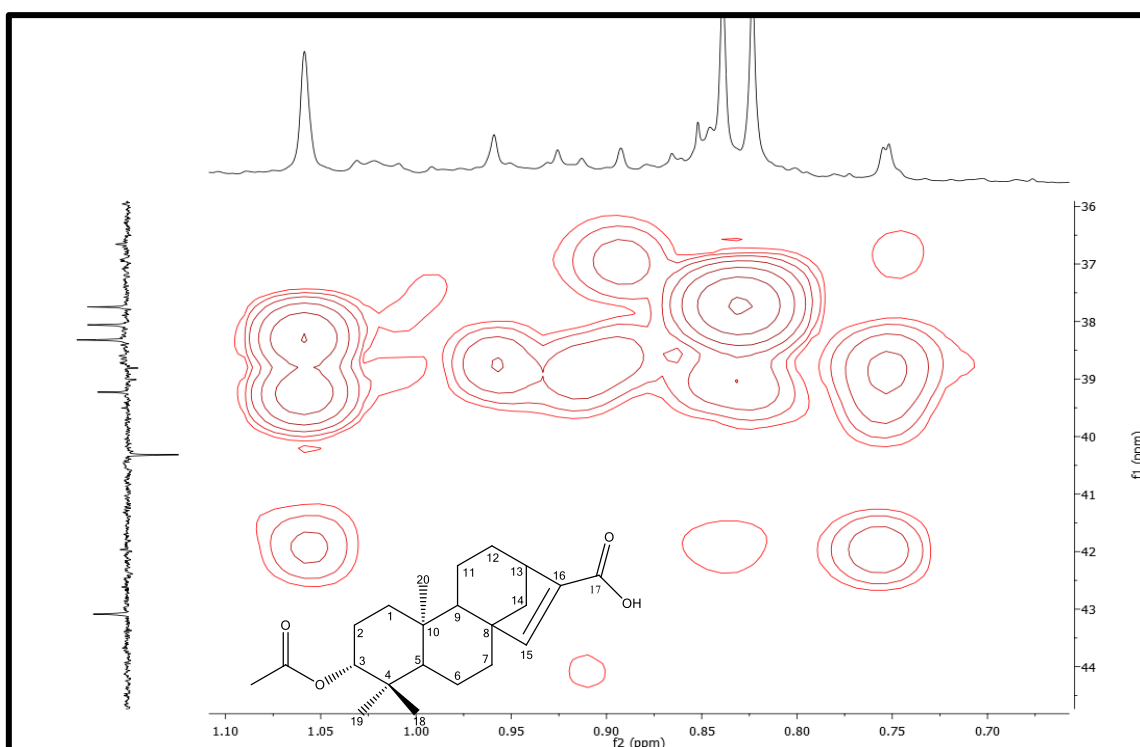


Figura 48 – Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

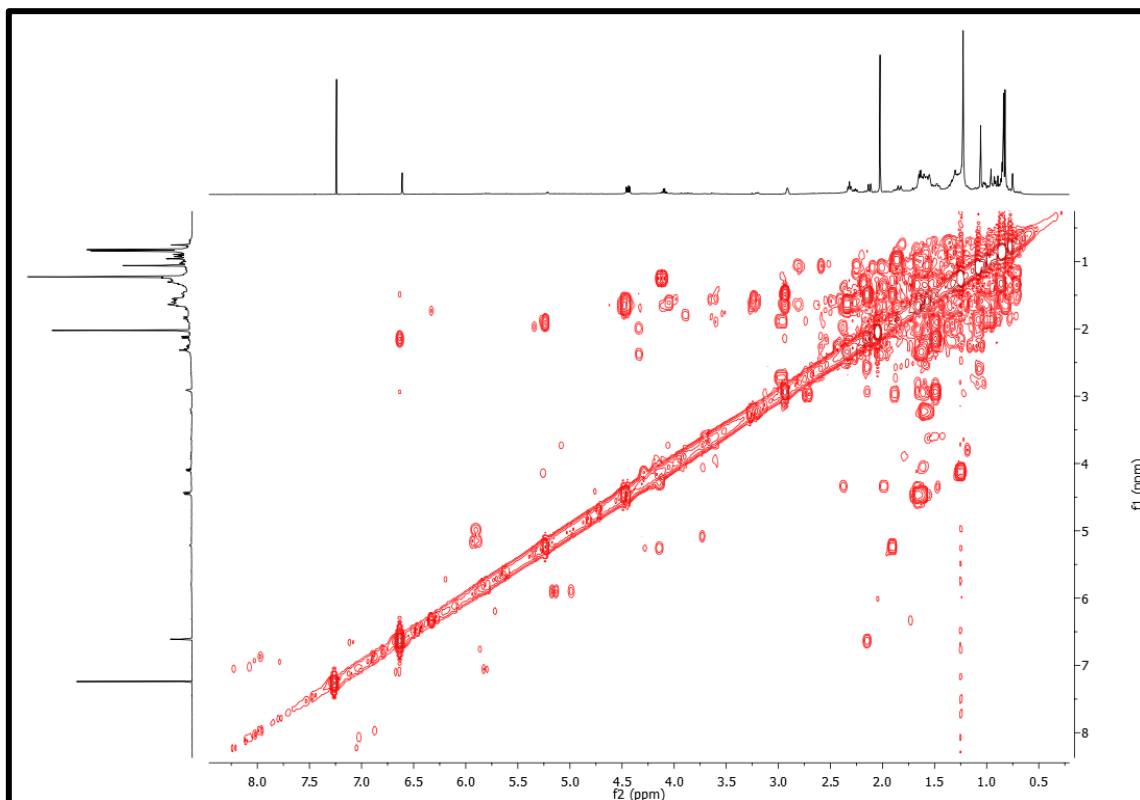


Figura 49 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,5-7,0 ppm x 0,5-7,0 ppm.

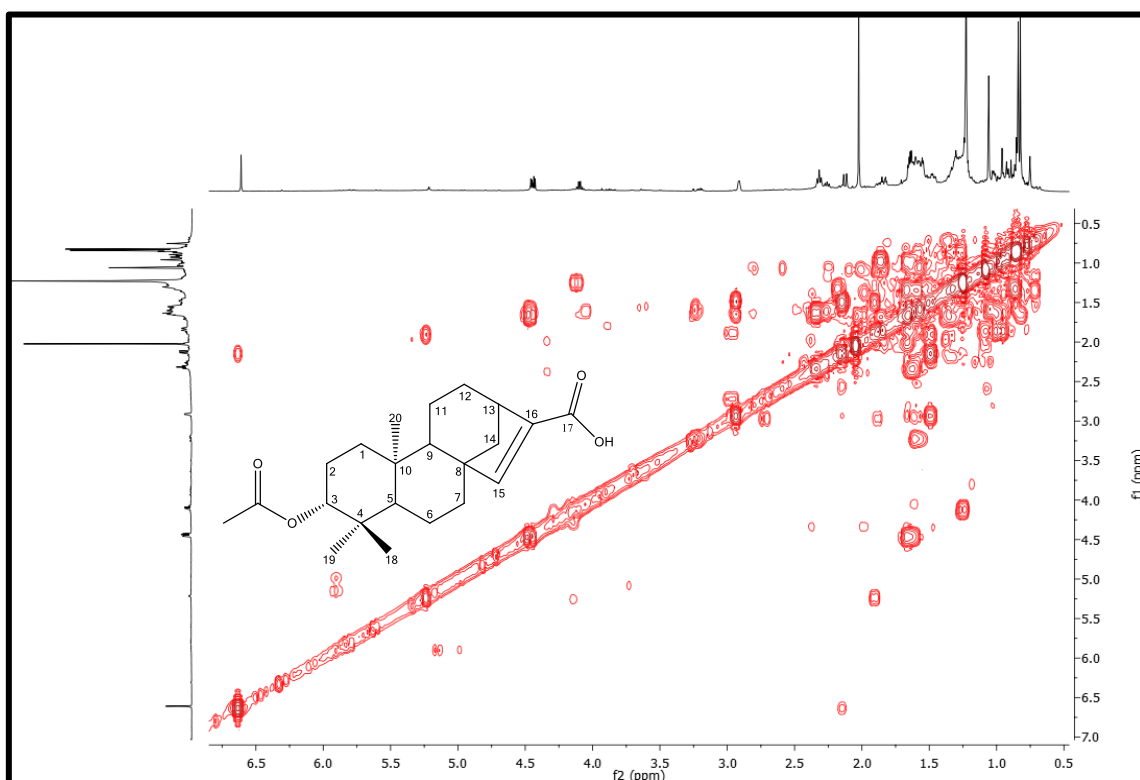


Figura 50 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,6-3,4 ppm x 0,7-3,3 ppm.

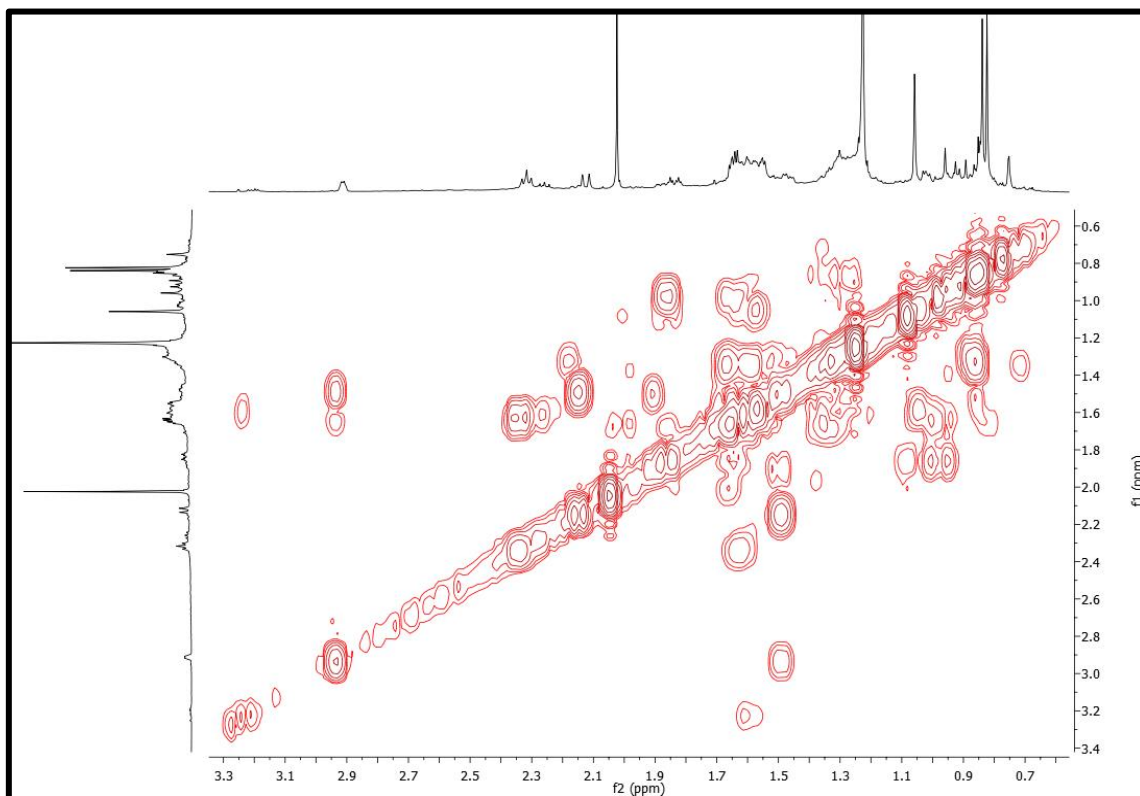


Figura 51 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0,6-2,4 ppm x 0,6-2,5 ppm.

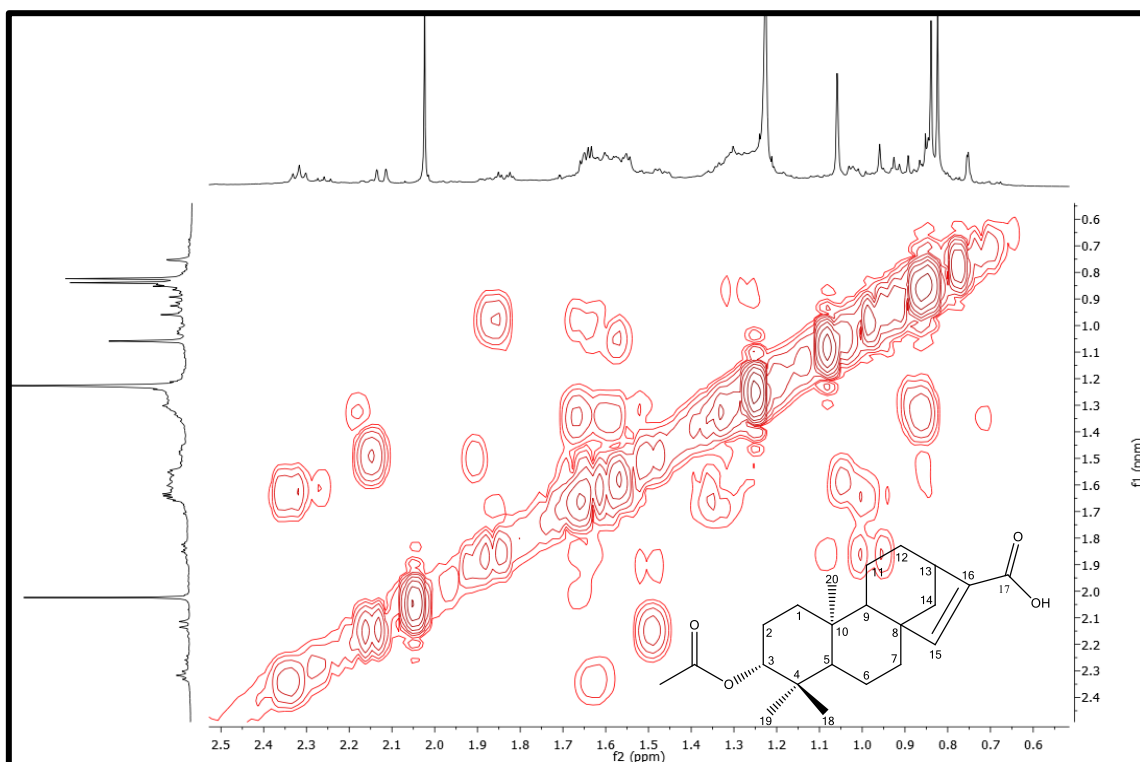


Figura 52 – Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3.

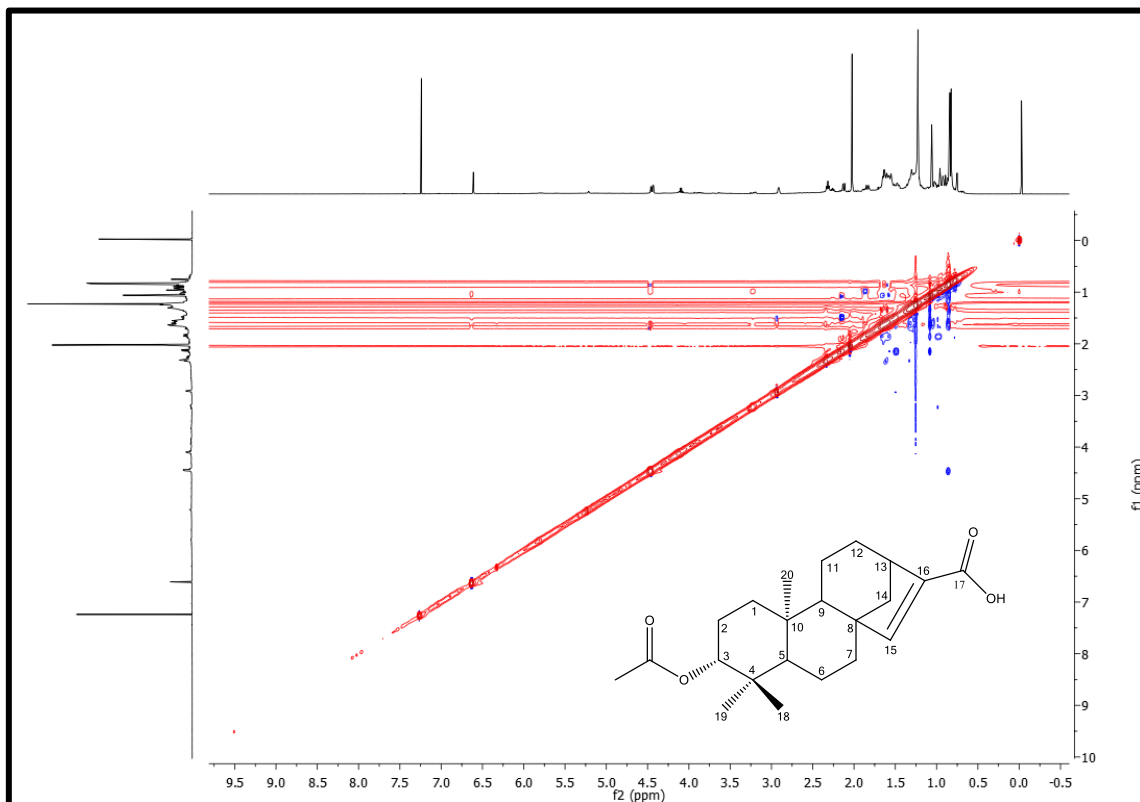


Figura 53 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0-5-4,5 ppm x 0,4-4,6 ppm.

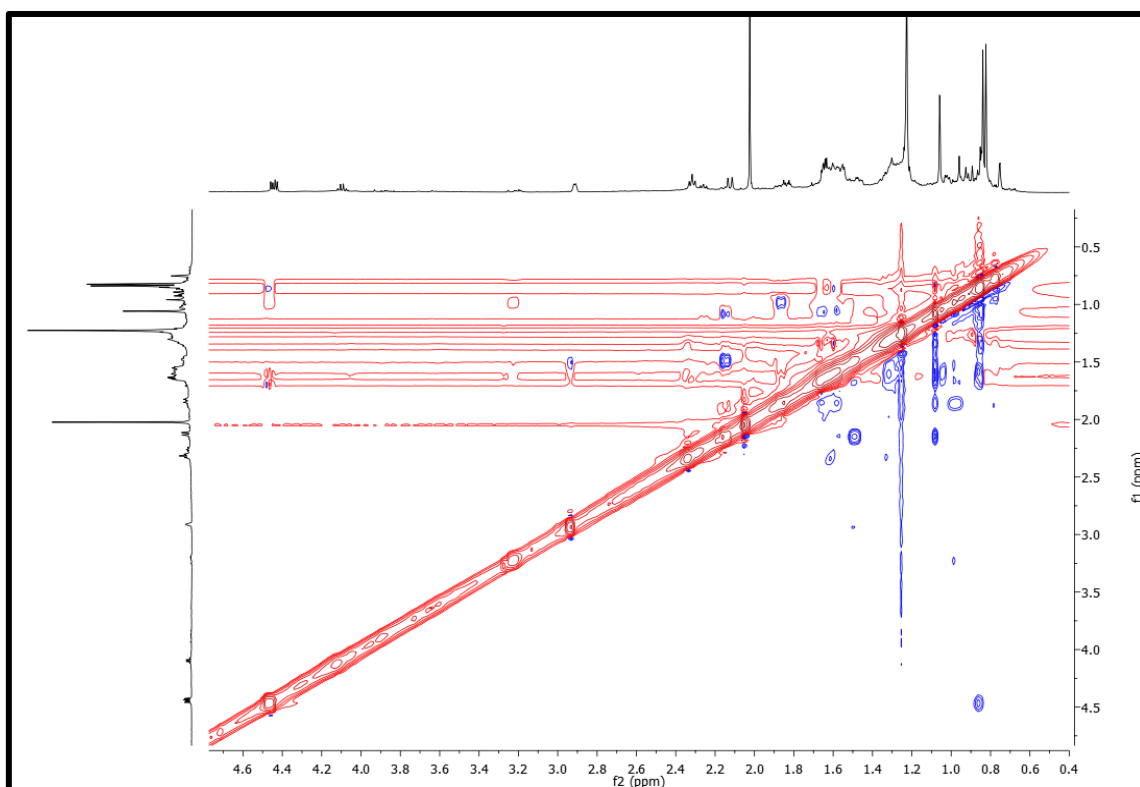
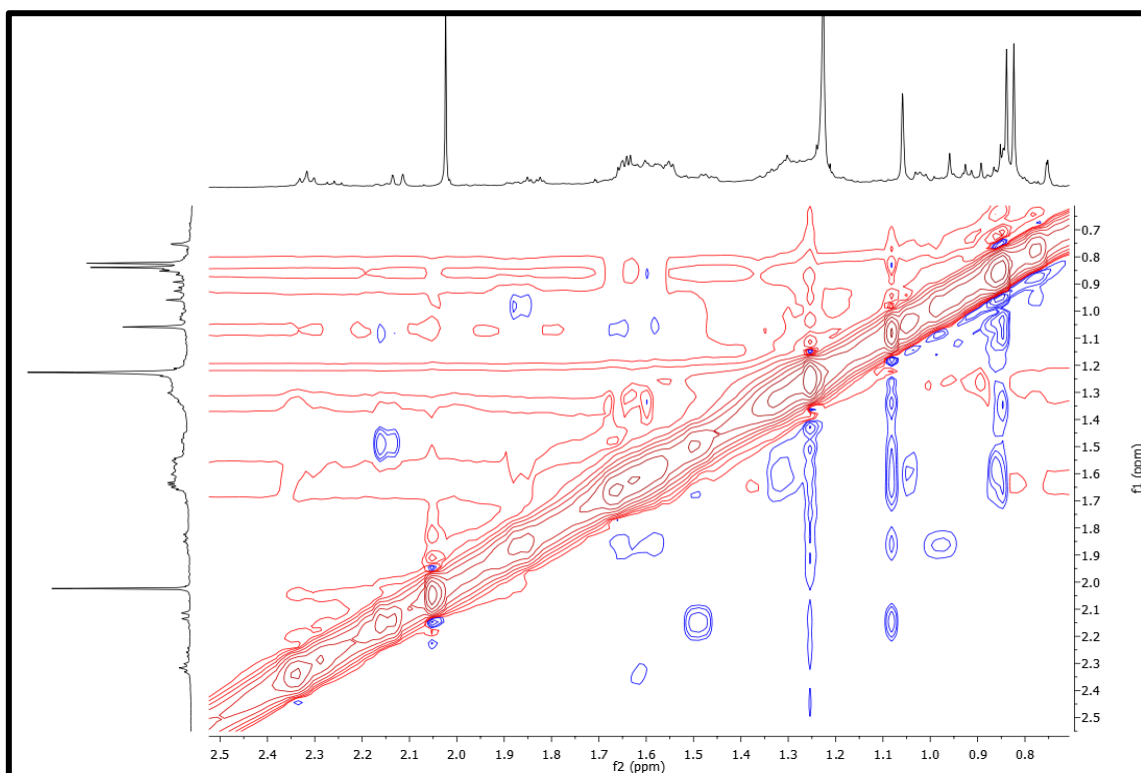


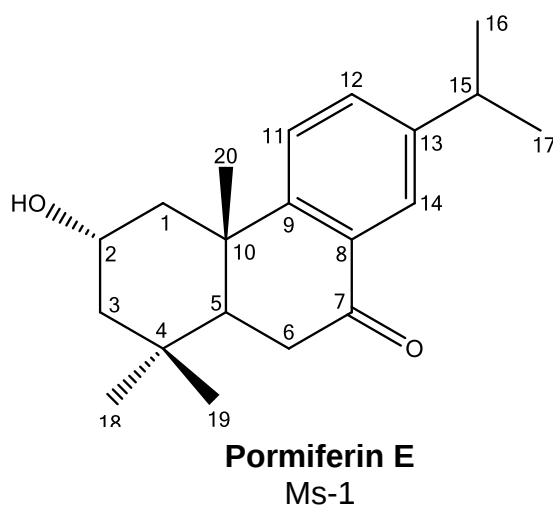
Figura 54 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Lm-3 na região de 0-7-2,5 ppm x 0,8-2,5 ppm.



5.4 Identificação estrutural de Ms-1

A substância Ms-1 (Figura 55, p. 79) foi isolada como um óleo amarelo com 84,5 mg e rendimento de 0,0042% em relação ao pó da planta. O espectro de IV (Figura 56, p. 82) mostrou uma absorção em 3.436 cm^{-1} característico de hidroxila, bem como uma absorção em 1.683 cm^{-1} que corrobora para um estiramento C=O cíclico. No espectro de RMN de ^{13}C -APT (Figuras 57-59, p. 82-83) observou-se a presença de 20 sinais correspondentes a 20 átomos de carbono. Destes, seis foram atribuídos a átomos de carbonos não hidrogenados, seis a átomos de carbonos metínicos, dois a átomos de carbonos metilênicos e cinco a átomos de carbonos metílicos. Verificou-se os sinais dos carbonos sp^2 em δ_{C} 152,6; 147,5 e 130,4 que foram atribuídos a C-9, C-13 e C-8, respectivamente, como também os sinais de carbonos metínicos em δ_{C} 132,6; 125,1 e 123,4 que foram atribuídos a C-14, C-12 e C-11, respectivamente. Quando comparados com a literatura os dados corroboram para a presença de esqueleto do tipo abietano (ULUBELEN; TOPCU, 1992). Essa sugestão foi reforçada pelos deslocamentos químicos em δ_{C} 48,6 e 34,7 atribuídos a C-5 e C-15, nesse tipo de diterpeno.

Figura 55 – Estrutura química de Ms-1.



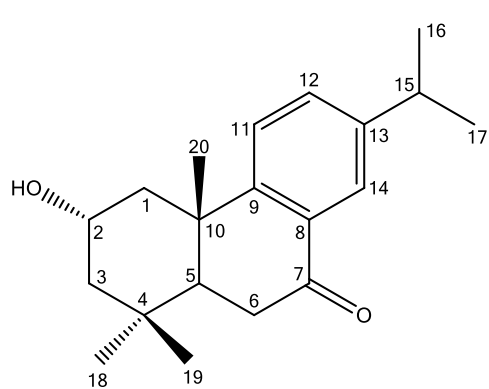
No espectro de RMN ^1H (Figuras 60-64, p. 84-86) foi possível observar três sinais para hidrogênios aromáticos com deslocamentos em δ_{H} 7,86 (d, $J = 2,5$ Hz), 7,40 (dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz) e 7,30 (d, $J = 8,5$ Hz). Observamos ainda um dubleto com integração para seis hidrogênios em δ_{H} 1,22 e constante de acoplamento de 7,0 Hz, além de um septeto em δ_{H} 2,92 atribuídos à unidade isopropila. Esses sinais são compatíveis com esqueleto de diterpeno do tipo abietano e foram atribuídos a H-14, H-12, H-11, H-15 e 3H-16 e 3H-17, respectivamente (ULUBELEN; TOPCU, 1992). Foi possível observar ainda três singletos em δ_{H} 0,91, 0,98 e 1,03 que por comparação com a literatura, foram atribuídos às metilas CH_3 -18, CH_3 -19 e CH_3 -20 (ULUBELEN; TOPCU, 1992). Observou-se também um tripleto de tripleto em δ_{H} 4,09 atribuído a um hidrogênio oximetínico. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 6 (p. 82).

Os diterpenos abietanos são comuns em espécies de *Mesosphaerum* e a comparação desses dados de ^{13}C obtidos com o Pormiferin D que foi isolado desta mesma espécie (COSTA, 2013) mostrou semelhanças, porém com destaque para as seguintes diferenças: em Ms-1 foi observado a presença de apenas três átomos de carbonos metilênicos e foi registrado a presença do sinal em δ_{C} 199,3 que foi atribuído à carbonila de cetona. O deslocamento químico que foi observado em δ_{C} 146,5 (C-9) no Pormiferin D, em Ms-1 sofre desproteção, absorvendo em 152,6. O sinal de (C-14) no Pormiferin D absorveu em δ_{C} 126,9 e em Ms-1 observou-se a presença do sinal em δ_{C} 132,6. Com base nessas evidências foi possível localizar a carbonila no (C-7), causando desproteção em (C-9) um efeito *orto* de grupo retirador e esse mesmo efeito pode ser observado em (C-14). O deslocamento químico em δ_{H} 7,86 (H-14) de Ms-1 quando comparado com o Pormiferin D em δ_{H} 6,88 também reforça a inserção da carbonila em (C-7) uma vez que esse hidrogênio está sofrendo efeito *orto* de grupo retirador. E o deslocamento químico em δ_{H} 4,09 comparado com Pormiferin D insere a hidroxila em (C-2). As demais comparações podem ser observadas na Tabela 6 (p. 81).

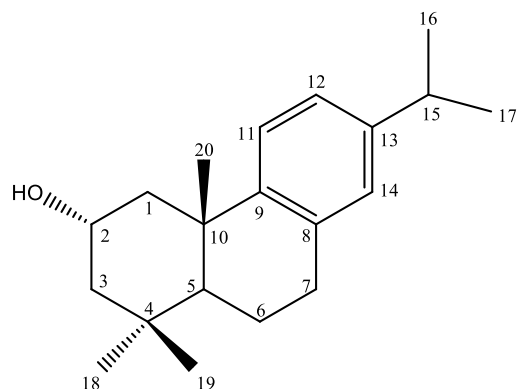
Assim, após comparação dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de Ms-1 com os dados descritos na literatura (COSTA, 2013), pode-se concluir que Ms-2 se trata do Pormiferin E que está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Mesosphaerum* e aqui demonstrado também pela primeira vez seus dados de RMN de ^{13}C .

Tabela 6 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-1 (Pormiferin E) com os dados da literatura do Pormiferin D (COSTA, 2013).

Nº	C	δ_c Ms-1 em CDCl_3	δ_c (COSTA, 2013) em CDCl_3
1	CH_2	46,8	47,9
2	CH	65,0	65,6
3	CH_2	50,5	50,9
4	C	34,7	34,8
5	CH	48,6	49,7
6	CH_2	35,9	18,8
7	C	199,3	30,2
8	C	130,3	134,5
9	C	152,6	146,5
10	C	39,4	39,2
11	CH	123,4	123,9
12	CH	125,1	123,9
13	C	147,0	145,8
14	CH	132,6	126,9
15	CH	33,6	33,4
16	CH_3	23,8	23,9
17	CH_3	23,7	23,9
18	CH_3	22,2	22,5
19	CH_3	32,5	33,3
20	CH_3	24,4	25,6



Pormiferin E
Ms-1



Pormiferin D
(COSTA, 2013)

Figura 56 – Espectro de IV de Ms-1 obtido em pastilha de KBr.

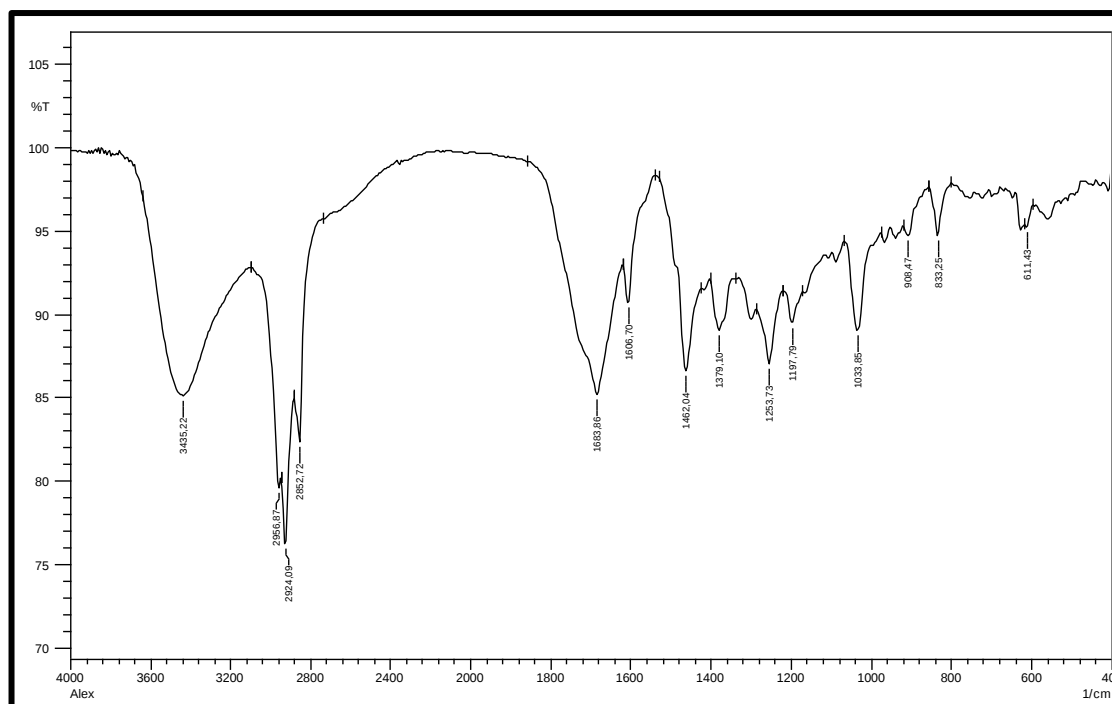


Figura 57– Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1.

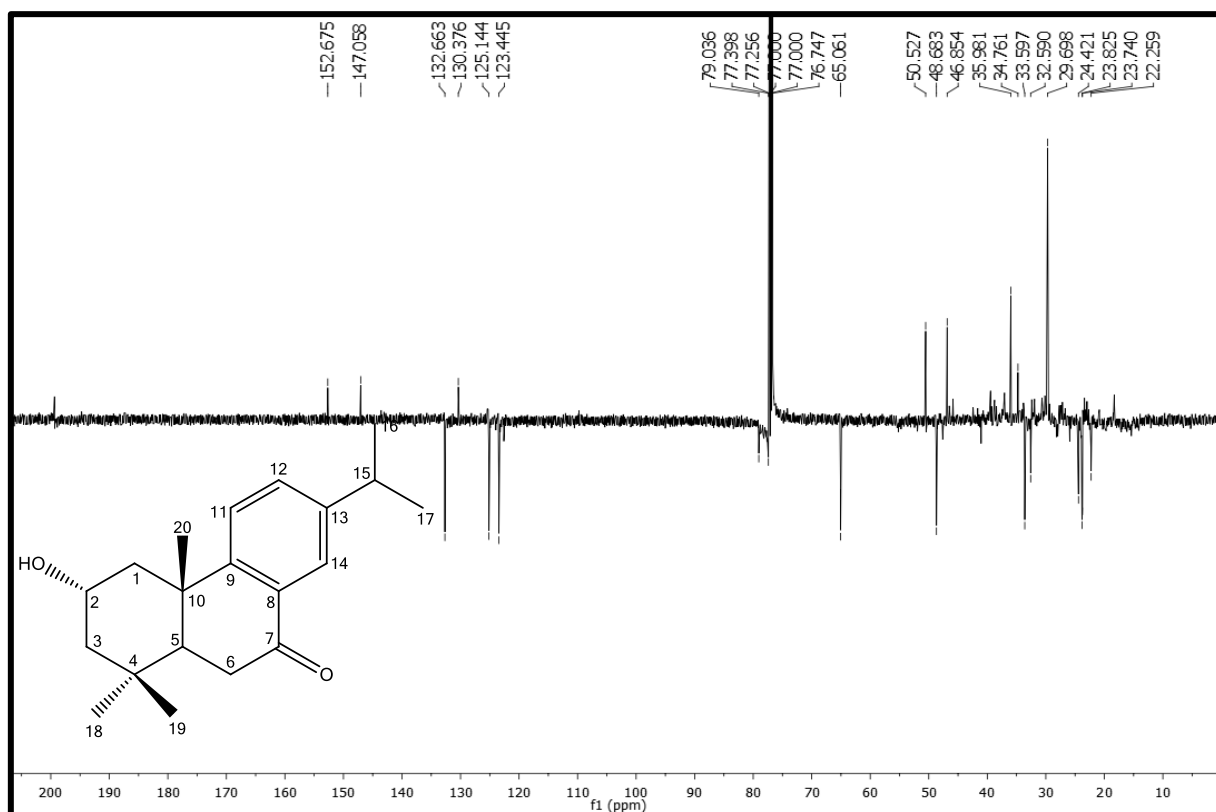


Figura 58 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 65-205 ppm.

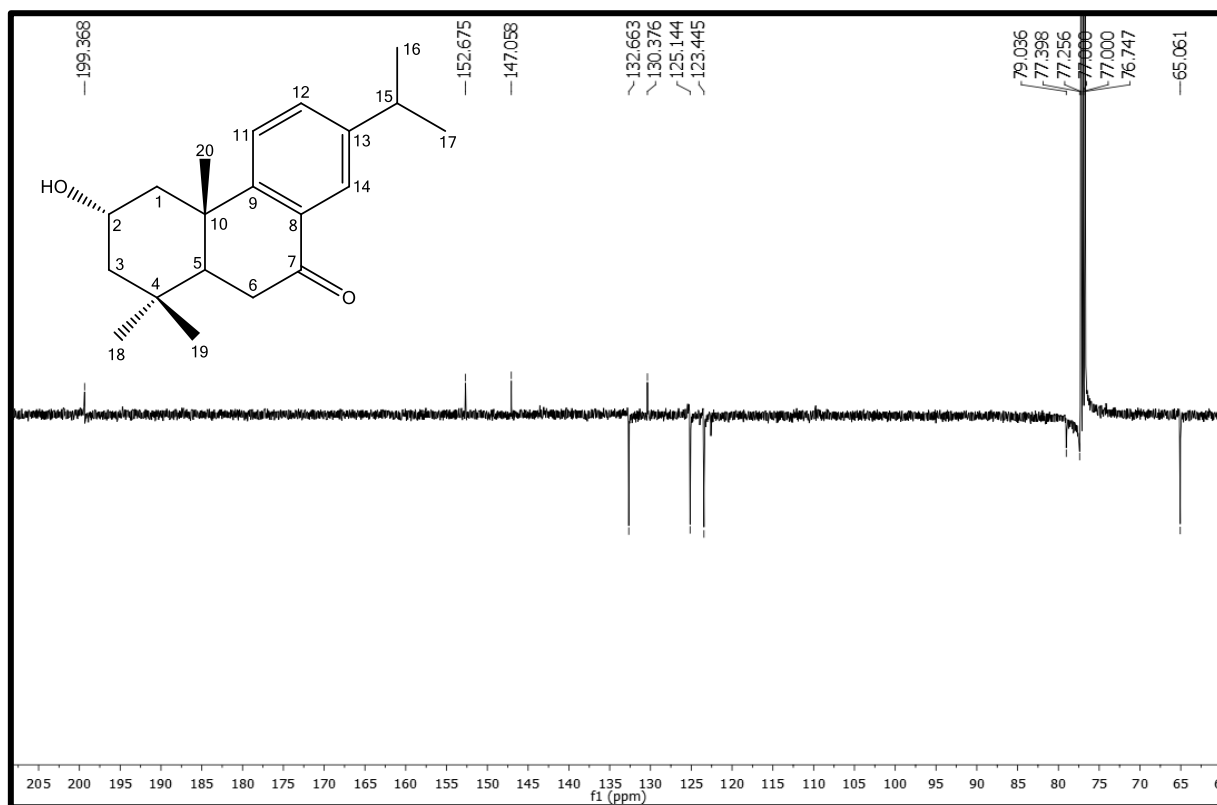


Figura 59 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 17-54 ppm.

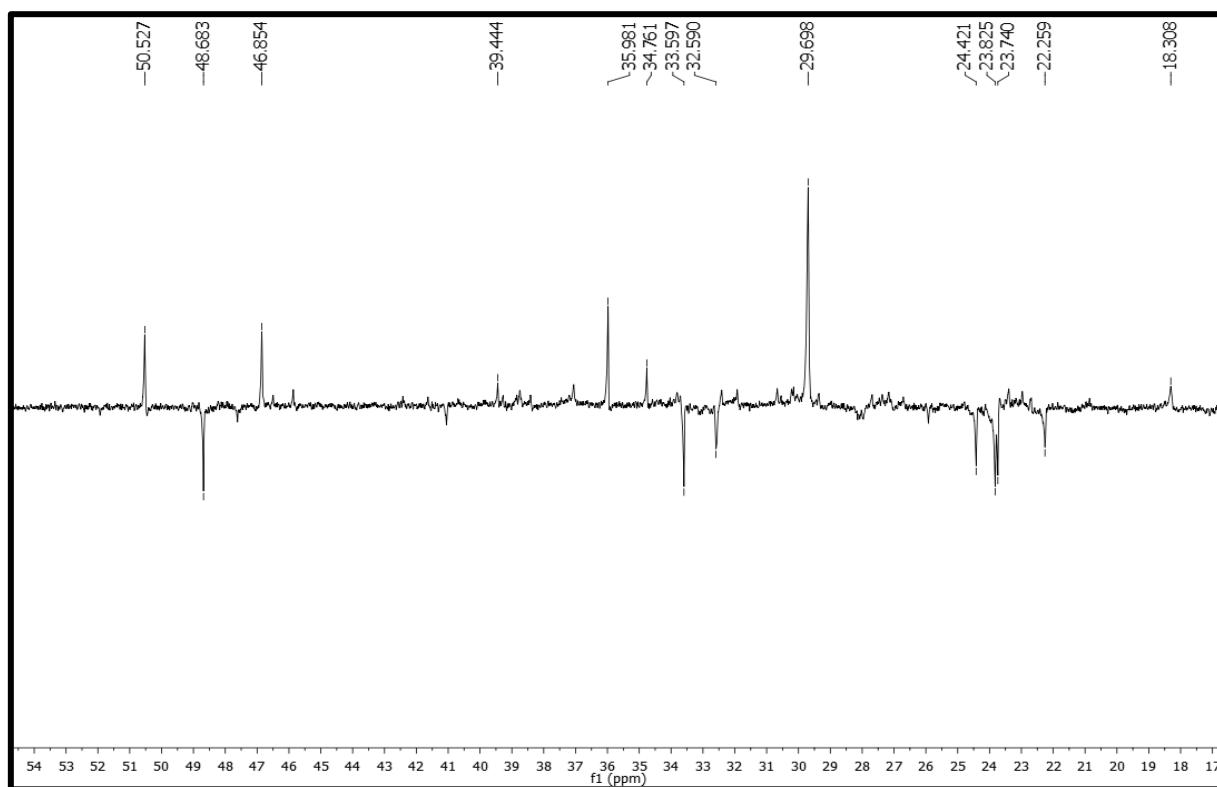


Figura 60 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1.

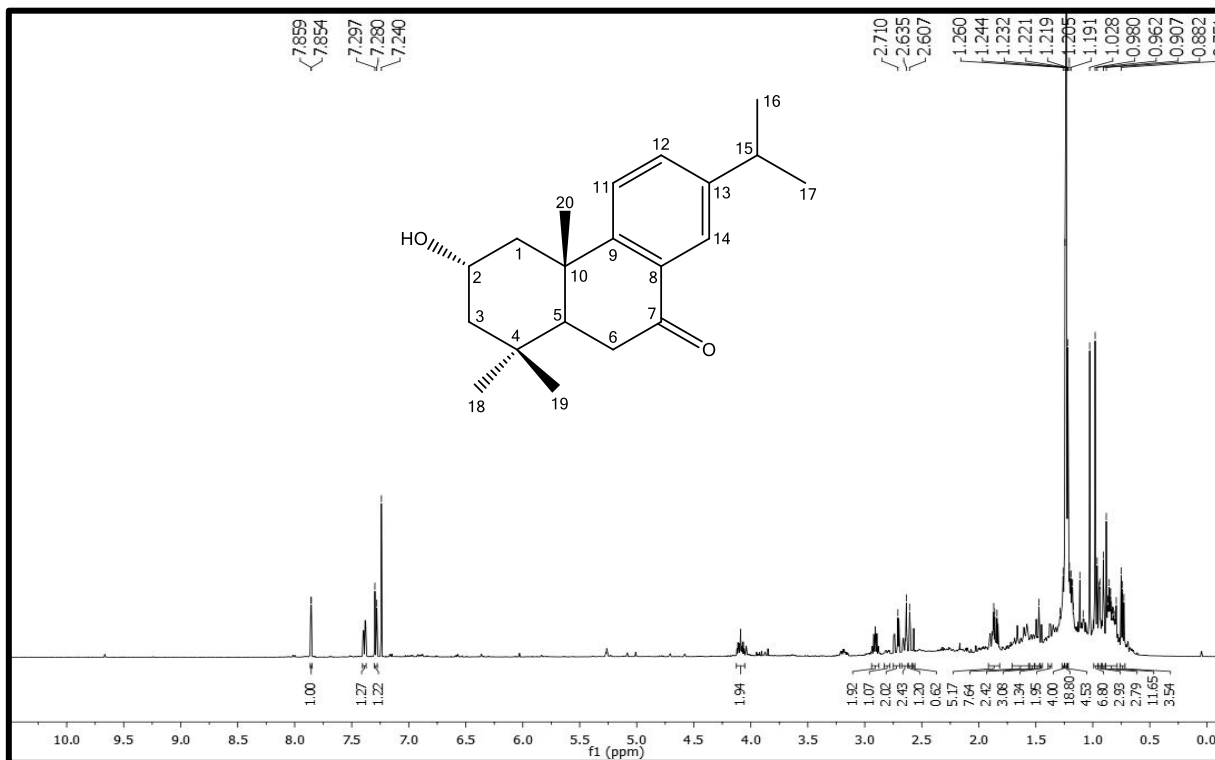


Figura 61 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 7,25-7,90 ppm.

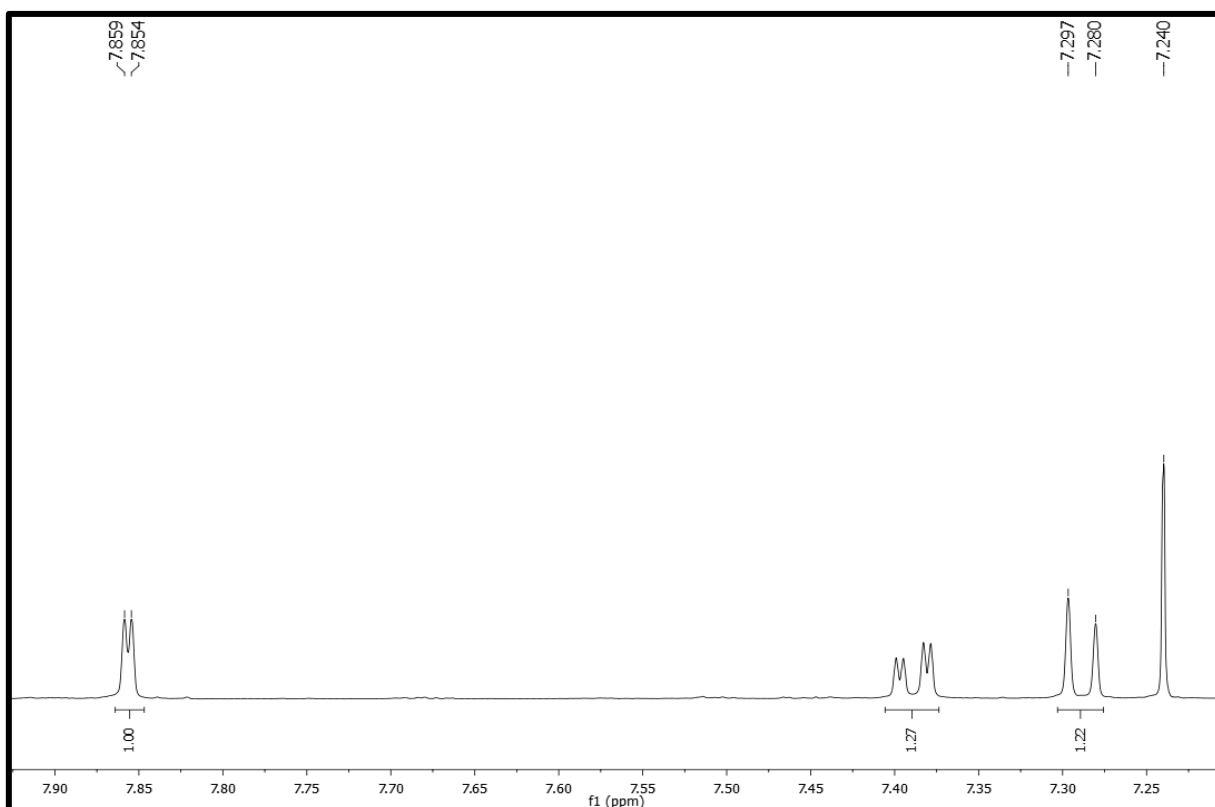


Figura 62 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 2,5-4,2 ppm.

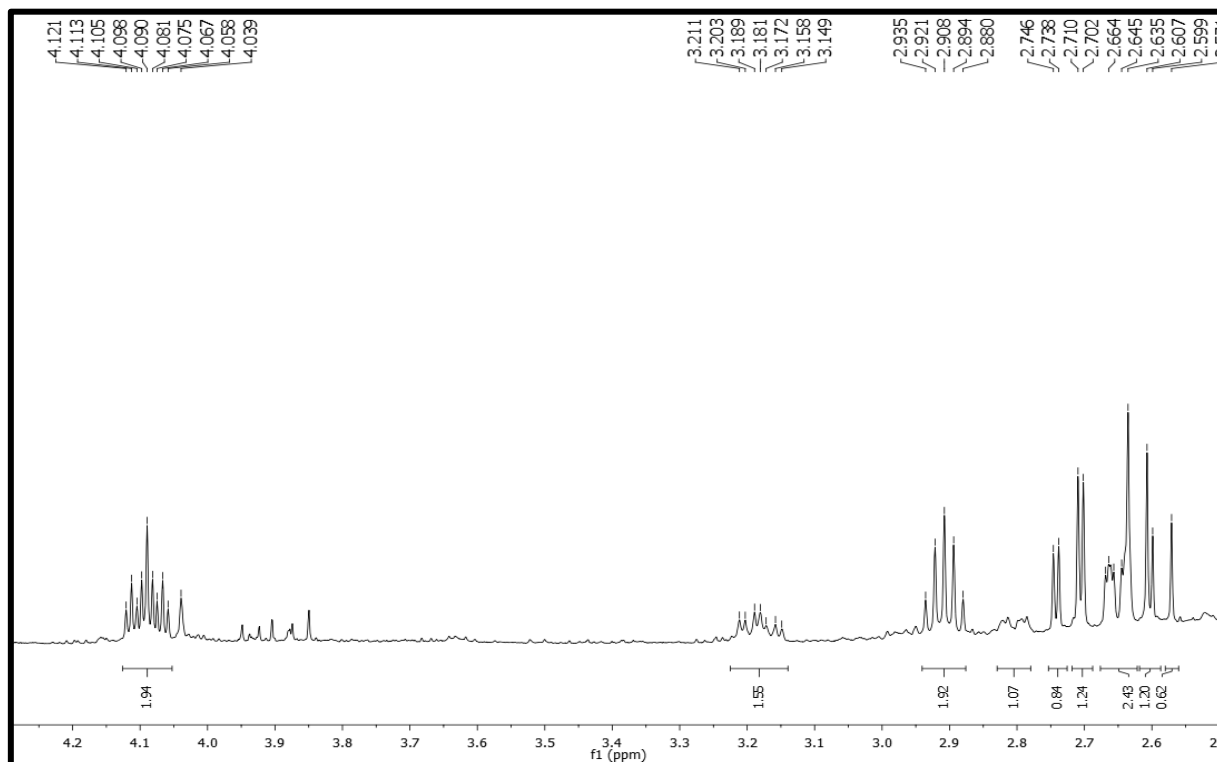


Figura 63 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 0,6-2,1 ppm.

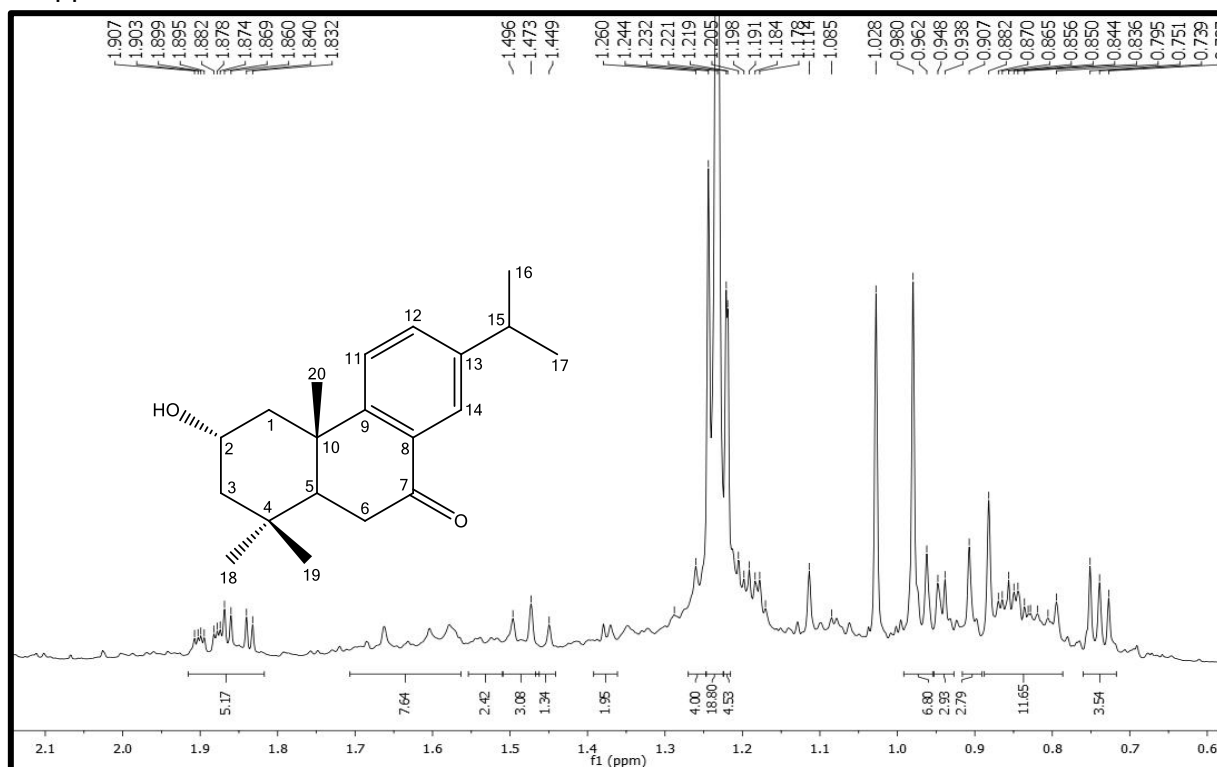
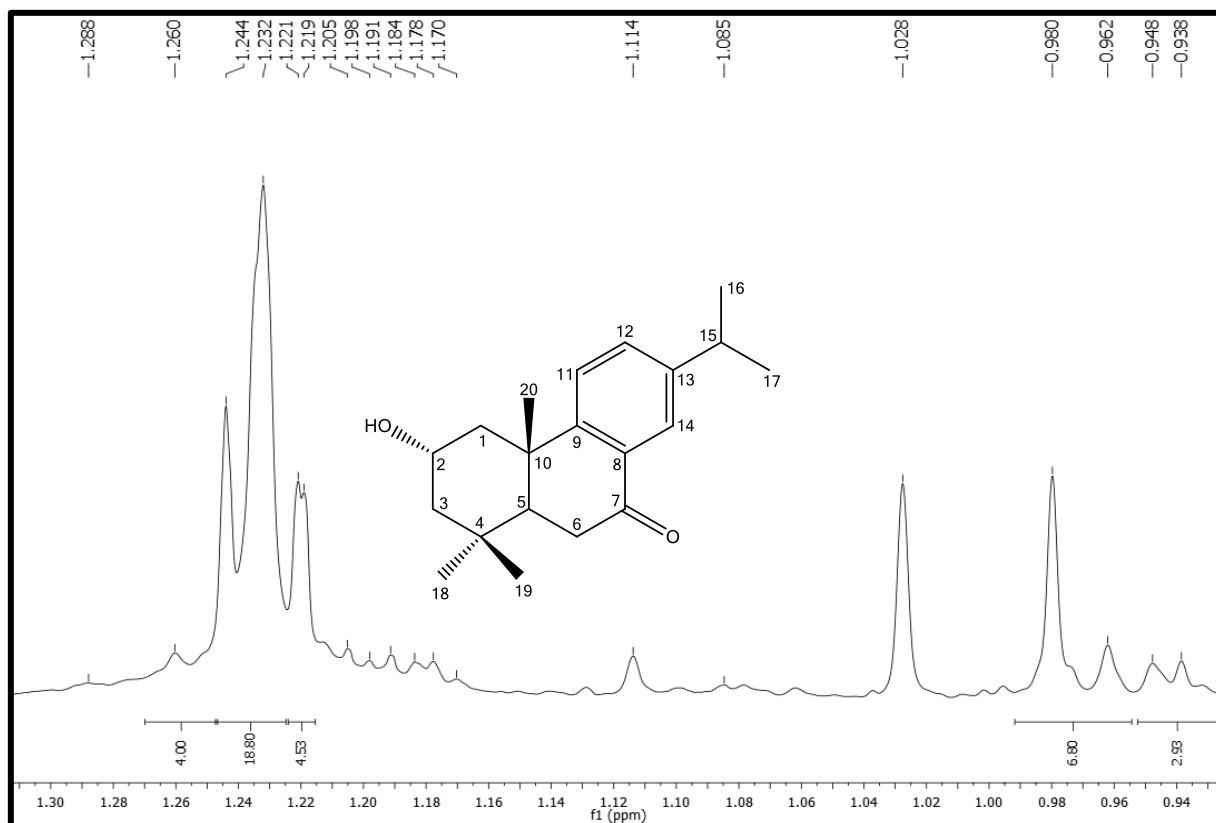


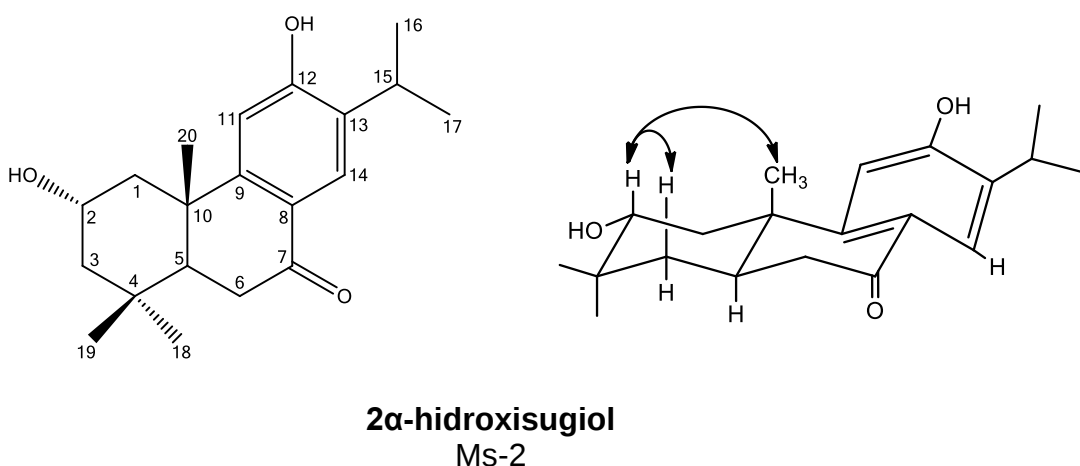
Figura 64 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-1 na região de 0,94-1,30 ppm.



5.5 Identificação estrutural de Ms-2

A substância codificada como Ms-2 (Figura 65, p. 87) foi isolada na forma de pó verde amorfo com 86 mg e rendimento de 0,0043% em relação ao pó da planta. O espectro de infravermelho (Figura 66, p. 92) mostrou uma absorção em 3.408 cm^{-1} característico de hidroxila fenólica, que é corroborada pela absorção em 1.269 cm^{-1} , referente ao estiramento C – O de anel aromático. Observou-se ainda bandas em $2.926 - 2.868\text{ cm}^{-1}$, referentes aos estiramentos C – H sp^3 e sp^2 .

Figura 65 – Estrutura química de Ms-2.



No espectro de RMN de ^{13}C -APT (Figura 67-69, p. 92-93) a 125 MHz em CDCl_3 observou-se a presença de 19 sinais correspondentes a 20 átomos de carbonos. Destes, sete sinais foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, sendo os sinais em δ_{C} 197,87; 158,92; 155,03; 133,34 e 123,85, atribuídos a carbonos sp^2 . Cinco sinais referentes a carbonos metínicos, sendo dois carbonos sp^2 e três carbonos sp^3 , três sinais de carbonos metilênicos e quatro sinais para cinco carbonos metílicos. Os sinais de carbono sp^2 em 123,85; 155,03; 133,34; 158,92 (não hidrogenados) e os sinais em 109,45; 126,82 (metínicos) quando comparados com a literatura corroboram para a presença de esqueleto carbônico do tipo abietano (BAJPAI; KANG, 2011). Essa sugestão é reforçada pelos deslocamentos em δ_{C} 48,75 e 26,75 atribuídos a C-5 e C-15 nesse tipo de diterpeno. A presença de apenas dois carbonos metínicos sp^2 infere uma oxigenação em C-12 e um efeito de proteção justifica o deslocamento químico em δ_{C} 109,45 atribuído ao C-11. Essa proposta ainda é corroborada pelo deslocamento químico em δ_{C} 26,75 que foi

atribuído a C-15, sofrendo proteção γ do grupo OH em C-12. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 7 (p. 90).

No espectro de RMN ^1H (Figuras 70-74, p. 94-96) foi possível observar dois singletos na região de prótons aromáticos com deslocamentos em δ_{H} 7,88 e 6,72 que foram atribuídos a H-14 e H-11, respectivamente. Observamos ainda um dubleto em δ_{H} 1,24 e constante de acoplamento de 7 Hz, além de um septeto em δ_{H} 3,18 atribuídos à unidade isopropila. Esses sinais são compatíveis com esqueleto de diterpeno do tipo abietano e foram atribuídos a H-14, H-11, 3H-16, 3H-17 e H-15, respectivamente (GONZÁLEZ et al., 1989). Observou-se ainda três singletos em δ_{H} 0,97, 1,01 e 1,22 que por comparação com a literatura (GONZÁLEZ et al., 1989), foram atribuídos às metilas CH₃-18, CH₃-19 e CH₃-20. Observou-se também um tripleto de tripleto em δ_{H} 4,09 atribuído a um hidrogênio oximetínico. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 7 (p. 90).

Vários diterpenos abietanos já foram relatados na literatura. Sendo assim realizou-se uma comparação desses dados de ^1H e de ^{13}C obtidos com os dados do Sugiol (BAJPAI; KANG, 2011) (Tabela 8, p. 91) e foi observado algumas semelhanças, mas com algumas diferenças, dentre elas, podemos destacar: a presença de cinco átomos de carbonos metínicos e três átomos de carbonos metilênicos em Ms-2, já no composto sugiol existem quatro átomos de carbonos metínicos e quatro átomos de carbonos metilênicos. O sugiol apresenta os deslocamentos químicos em δ_{H} 1,02-1,04 (H-2 α ; m-3H); 1,52 (H-2 β ; m-1H) e δ_{C} 19,4, comparando com o deslocamento químico de Ms-2, podemos observar que Ms-2 sofreu desproteção, absorvendo em δ_{H} 4,09 (H-2 β ; m-1H) e δ_{C} 65,51, inserindo assim a hidroxila em C-2 α . Observamos ainda que os sinais em δ_{C} 46,70 (C-1) e 50,33 (C-3) também sofreram desproteção em relação ao sugiol que apresenta deslocamento químico em δ_{C} 38,4 (C-1) e 41,7 (C-3) reforçando a substituição em C-2 de Ms-2.

No espectro HMQC (Figuras 75-78, p. 96-98) foi possível observar as correlações diretas entre os sinais em δ_{H} 0,97 com δ_{C} 22,29, δ_{H} 1,01 com δ_{C} 32,56 e δ_{H} 1,22 com δ_{C} 24,22 atribuídos aos carbonos das metilas CH₃-18, CH₃-19 e CH₃-20, respectivamente. Observou-se ainda as correlações dos sinais em δ_{H} 7,88 (H-14) e 6,71 (H-11) com os carbonos 126,82 e 109,45, estes atribuídos a C-14 e 11, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 7 (p. 90).

Para o completo assinalamento de hidrogênios e carbonos foi realizado o experimento HMBC. Nesse espectro (Figuras 80-83, p. 99-100) observou-se as seguintes correlações: δ_H 1,22 (CH₃-20) com os sinais em δ_C 39,43; 46,70 e 48,75 que foram atribuídos a C-10; C-1 e C-5, respectivamente. Observou-se também as correlações de δ_H 1,01 (CH₃-19) com os sinais δ_C 32,56; 34,80; 48,75 e 50,33 que foram atribuídos a C-18; C-4; C-5 e C-3, respectivamente. Ainda foi possível observar as correlações entre δ_H 0,97 (CH₃-18) com os sinais δ_C 32,56; 34,80; 48,75 e 50,33 que foram atribuídos a C-19; C-4; C-5 e C-3, respectivamente. O assinalamento de C-7 ainda foi reforçado através da correlação de δ_H 7,88 (H-14) com δ_C 197,87 (C-7). As demais correlações estão copiladas na Tabela 7 (p. 90).

No espectro COSY (Figuras 84-86, p. 101-102) observou-se a correlação de 4,09 (H-2) com 2,59 (H-1) e 1,87 (H-3), confirmando H-2 e reforçando a inserção da hidroxila nesse carbono. A estereoquímica relativa da hidroxila em C-2 foi determinada através da análise do espectro NOESY (Figuras 87-88, p. 102-103) no qual foi observada a correlação do sinal em δ_H 4,09 com o sinal em 1,01 (CH₃-19) estabeleceu a hidroxila em α -equatorial.

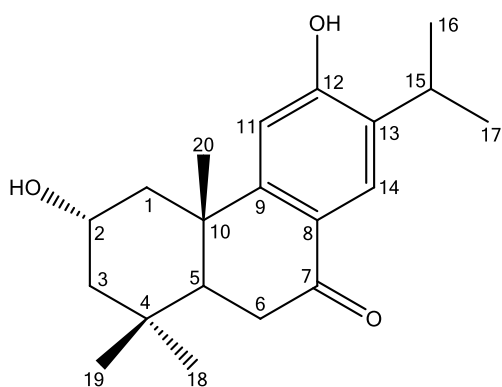
Após análise de todos os dados de RMN uni e bidimensionais e comparação com os dados da literatura foi possível identificar Ms-2 como sendo o 2 α -hidroxisugiol, um diterpeno abietano que está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Mesosphaerum*. Além disso, essa é a primeira vez que seus dados de RMN de ¹³C-APT e bidimensionais são apresentados.

Tabela 7 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Ms-2 (2 α -hidroxisugiol) em CDCl_3 .

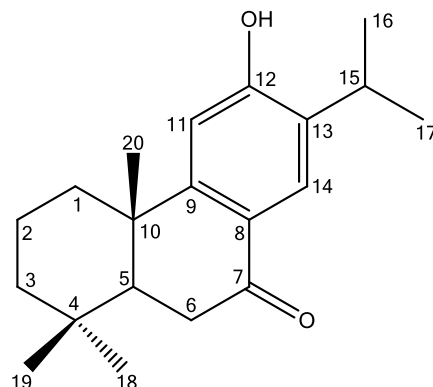
Nº	δ_{C}	HMQC	HMBC
		^1H ^{13}C	
1	46,7	2,59 (m, H-1a); 1,48 (d, $J = 4,0$ Hz, H-1b)	C-20, C-10, C-3, C-2, C-5
2	65,5	4,12 (m, H-2 β)	--
3	50,3	1,87 (m, H-3a); 1,24 (m, H-3b)	C-4, C-2, C-18
4	34,8	--	--
5	48,7	1,83 (dd, $J = 14,0$; 3,5 Hz)	C-19, C-20, C-18, C-6, C-10
6	35,7	2,69 (dd, $J = 4,0$; 18,0 Hz, H-6a);	C-4, C-10, C-5, C-7
		2,50 (s, H-6b)	
7	197,8	--	--
8	123,8	--	--
9	155,0	--	--
10	39,4	--	--
11	109,4	6,72 (s)	C-10, C-8, C-13, C-12
12	158,9	-	-
13	133,3	-	-
14	126,8	7,88 (s)	C-15, C-9, C-12, C-7
15	26,7	3,18 (m)	C-12, C-13, C-14, C-17
16	22,4	1,09 (s)	C-17, C-15
17	22,2	1,24 (s)	C-16, C-15, C-13
18	22,2	0,97 (s)	C-19, C-4, C-5, C-3
19	32,5	1,01 (s)	C-18, C-4, C-5, C-3
20	24,2	1,22 (s)	C-10, C-1, C-5, C-9

Tabela 8 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-2 com os dados da literatura do sugiol em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (250 MHz).

Nº	C	δ_{C} Ms-2 em CDCl_3	δ_{C} (BAJPAI; KANG, 2011) em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$
1	CH_2	46,7	38,4
2	CH	65,5	19,4
3	CH_2	50,3	41,7
4	C	34,8	33,5
5	CH	48,7	50,0
6	CH_2	35,7	36,7
7	C	197,8	197,6
8	C	123,8	123,0
9	C	155,0	156,9
10	C	39,4	38,2
11	CH	109,4	110,4
12	C	158,9	162,0
13	C	133,3	134,3
14	CH	126,8	126,8
15	CH	26,7	27,5
16	CH_3	22,4	23,1
17	CH_3	22,2	22,9
18	CH_3	22,2	32,8
19	CH_3	32,5	21,6
20	CH_3	24,2	23,6



2α-hidroxisugiol
Ms-2



Sugiol
(BAJPAI; KANG, 2011)

Figura 66 – Espectro de IV de Ms-2 obtido em pastilhas de KBr.

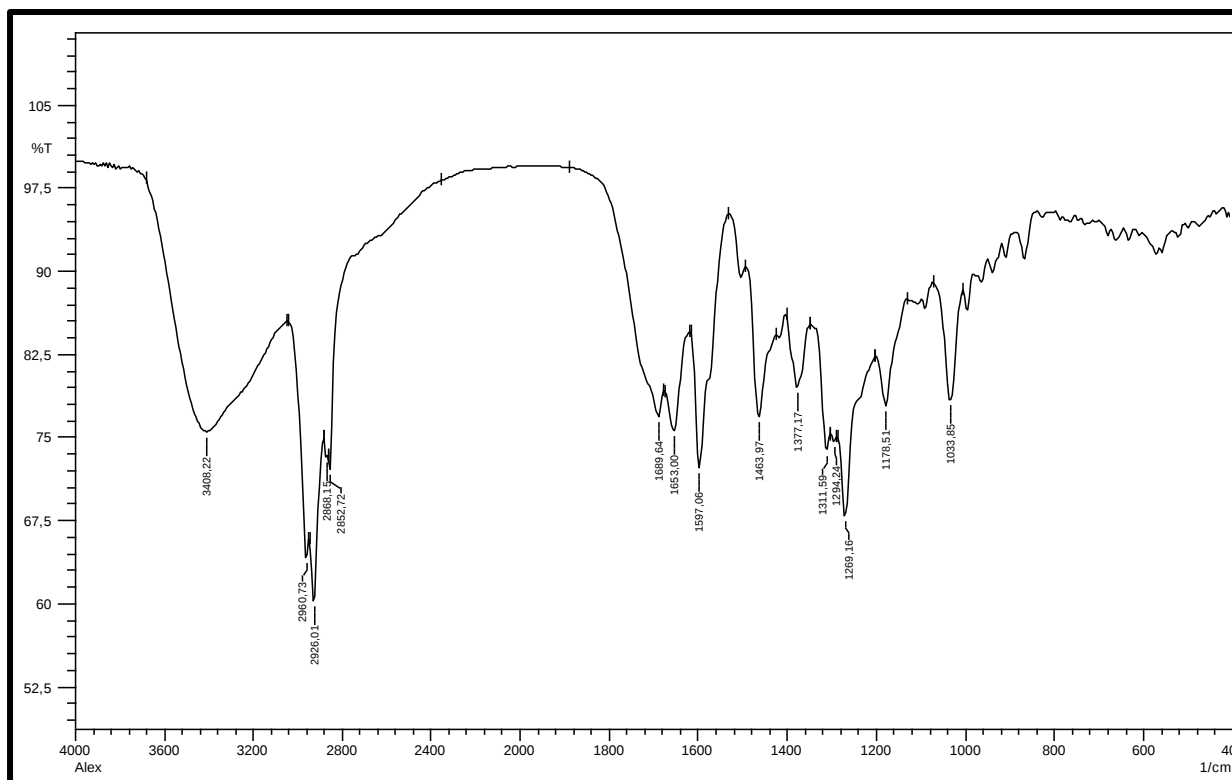


Figura 67 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

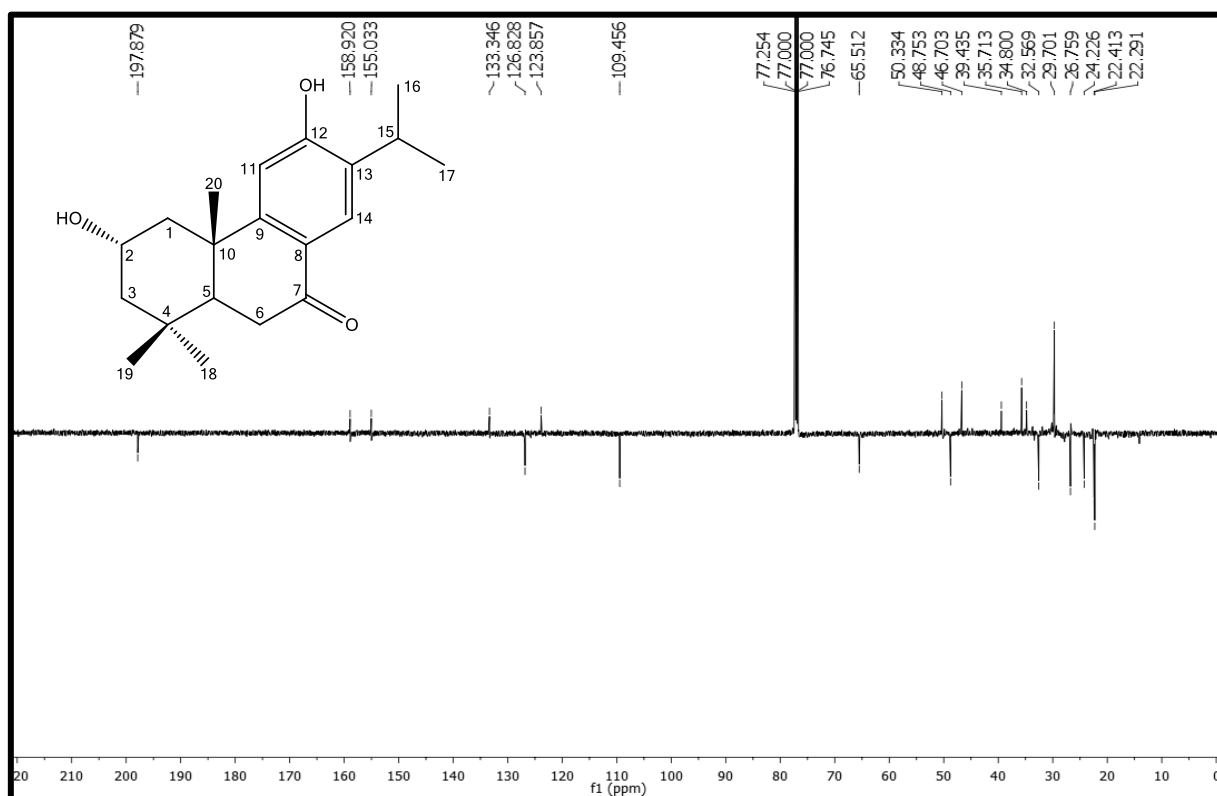


Figura 68 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 22-66 ppm.

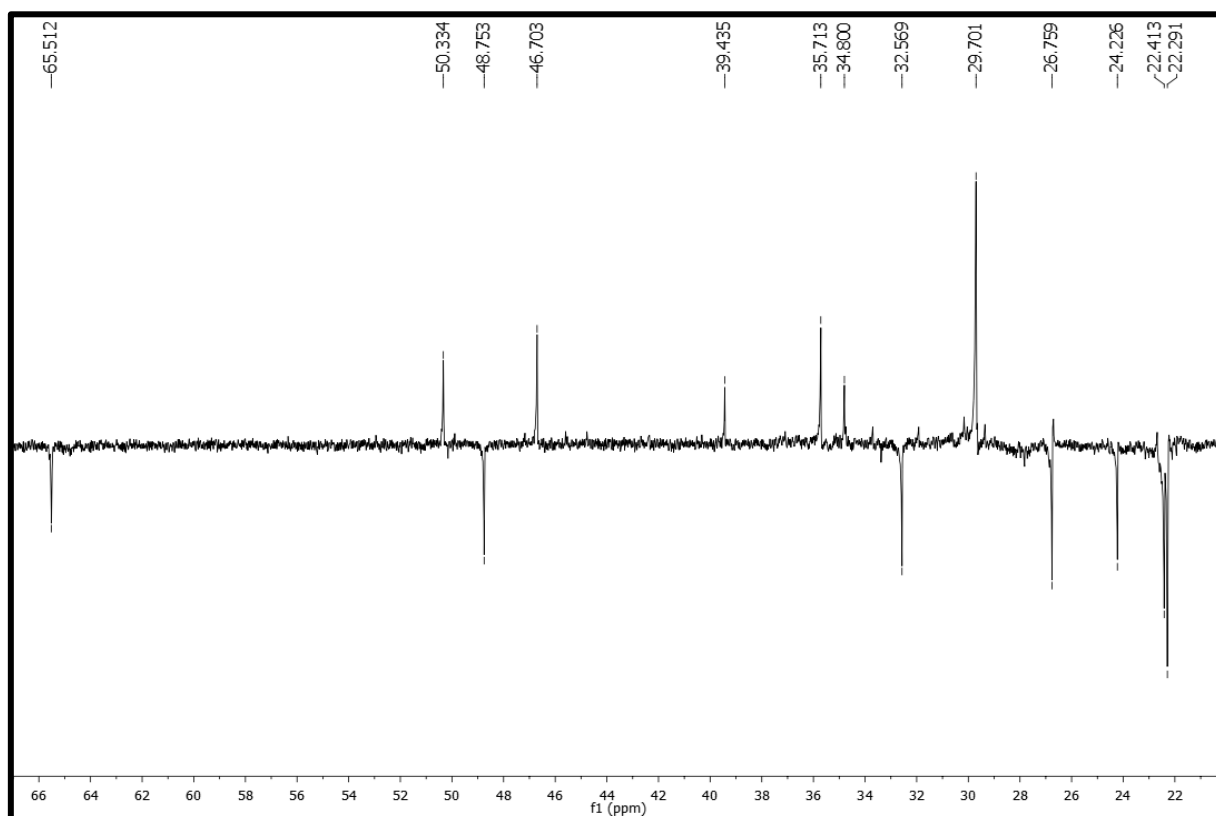


Figura 69 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 110-200 ppm.

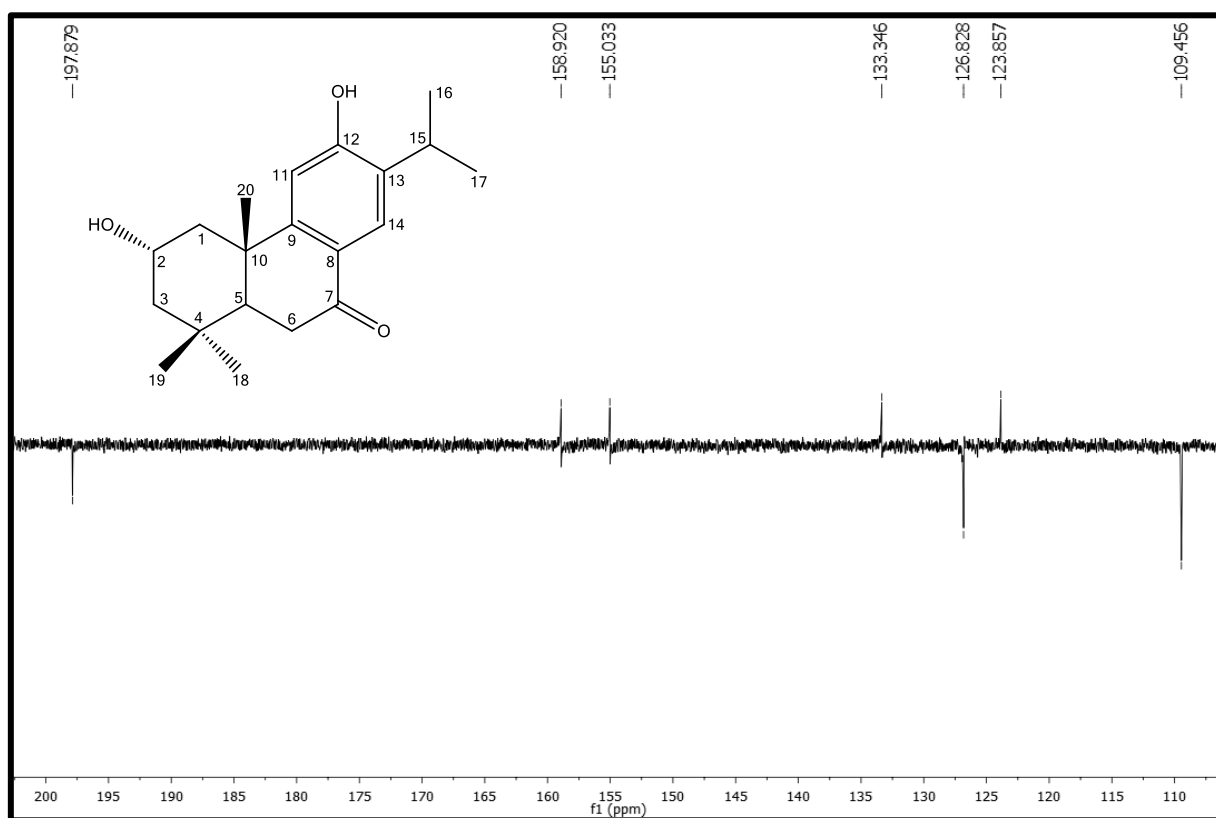


Figura 70 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

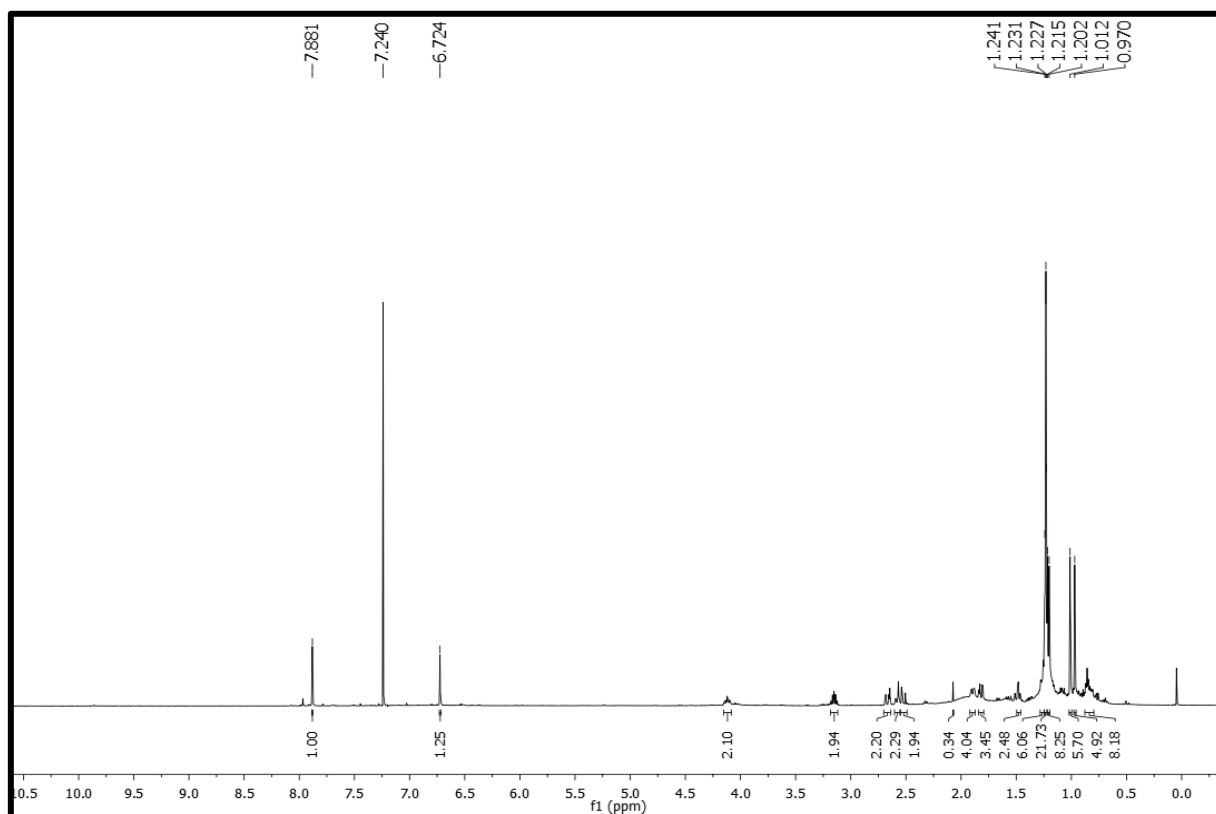


Figura 71 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 6,60-7,90 ppm.

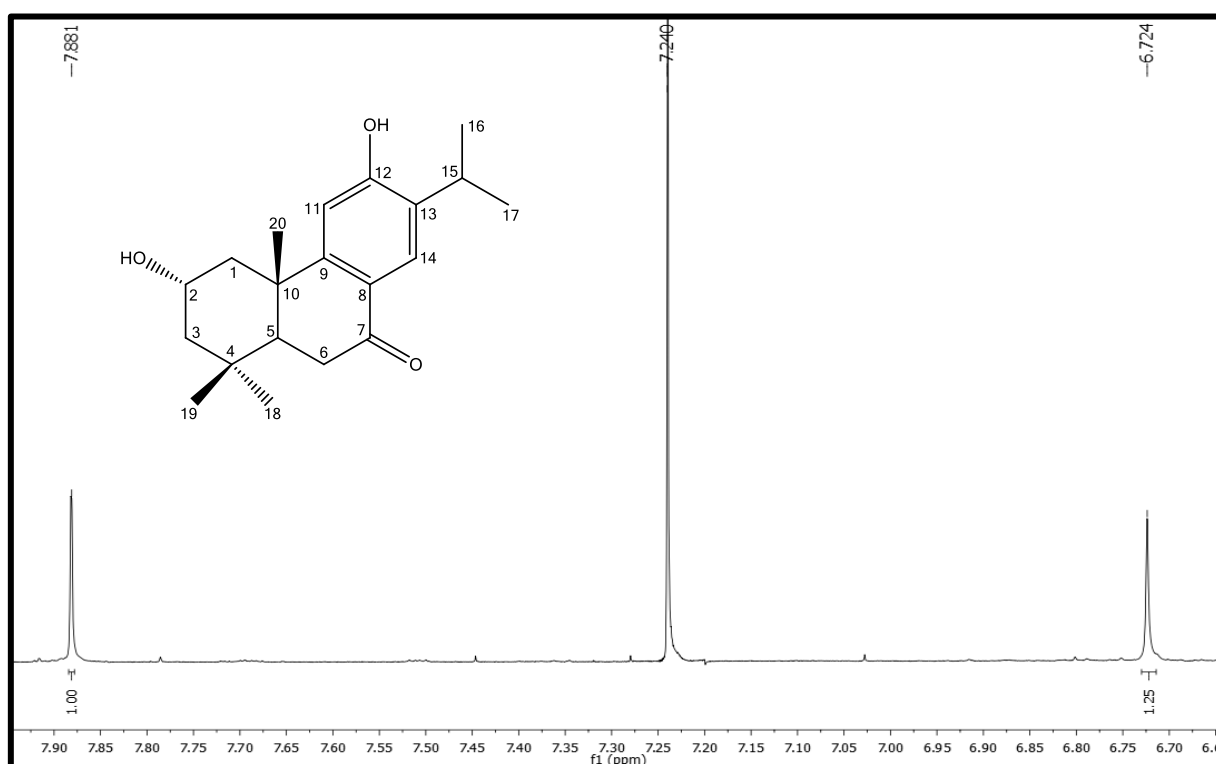


Figura 72 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 3,10-4,20 ppm.

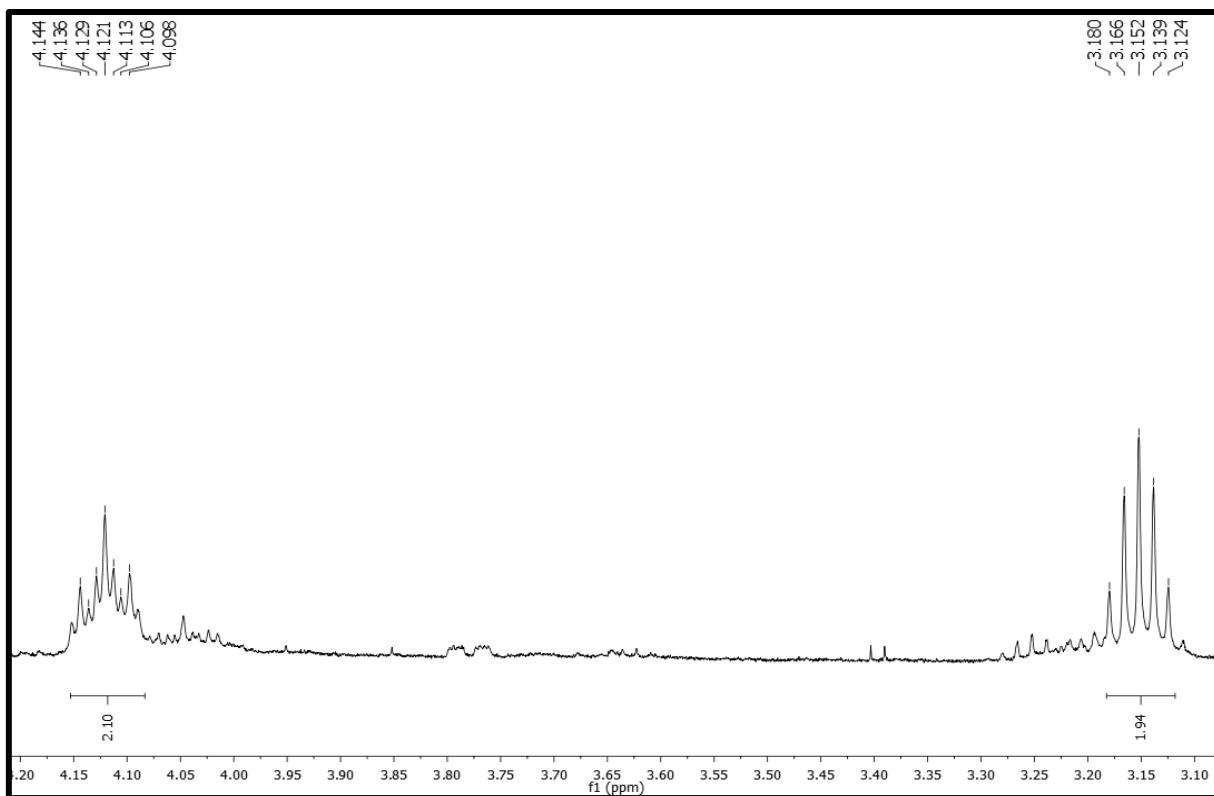


Figura 73 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 1,80-2,70 ppm.

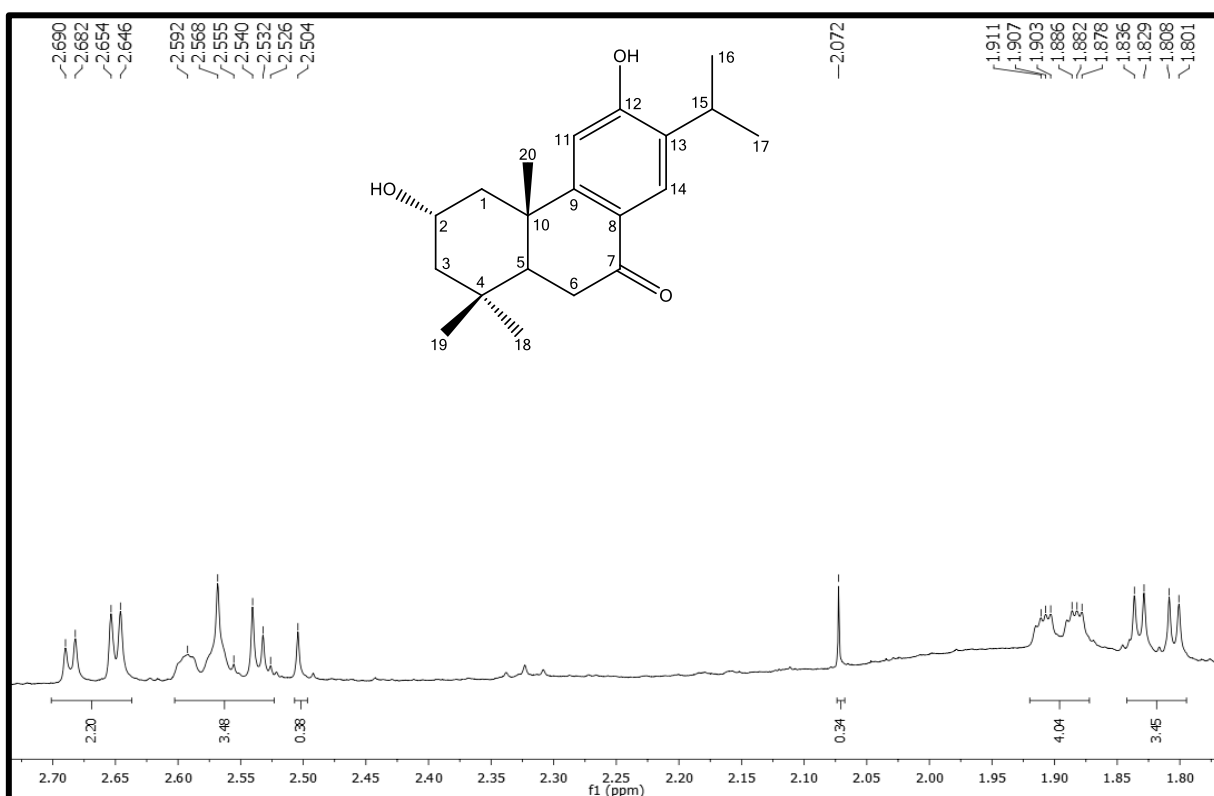


Figura 74 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,75-1,50 ppm.

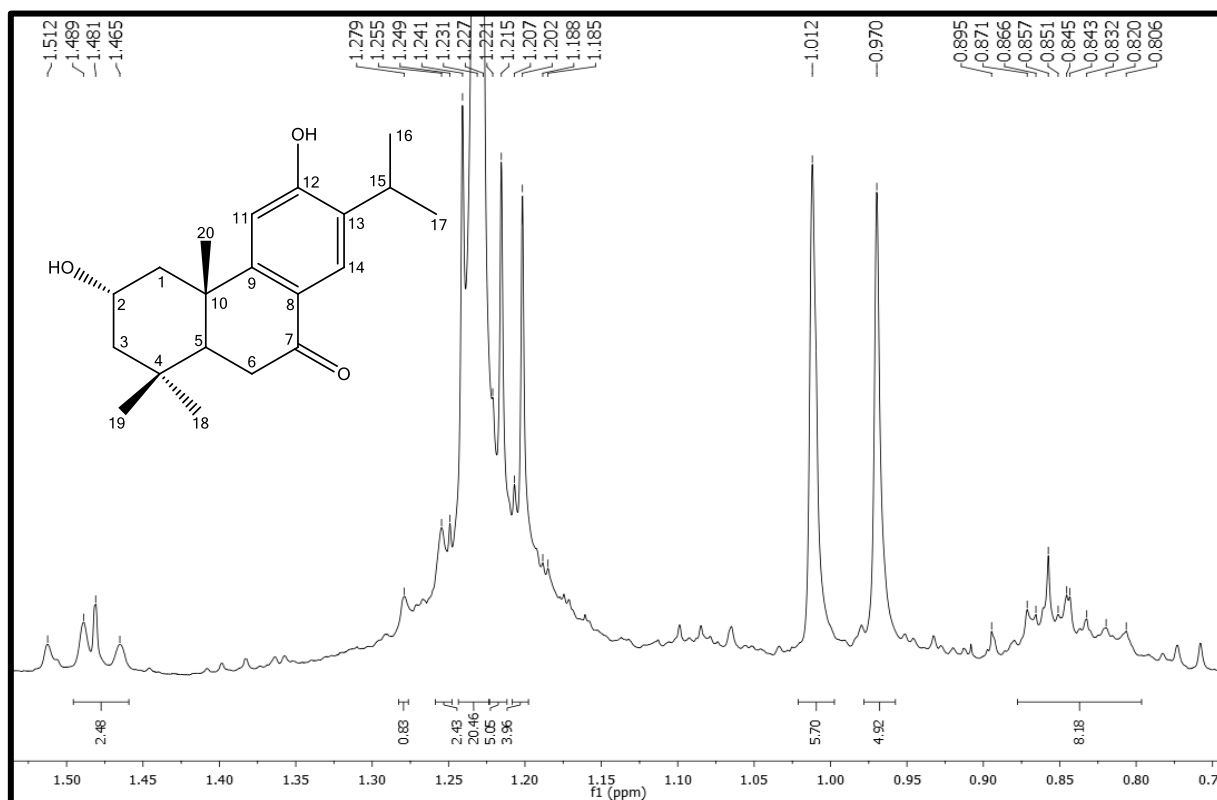


Figura 75 – Espectro de HMQC de ^1H x ^{13}C (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

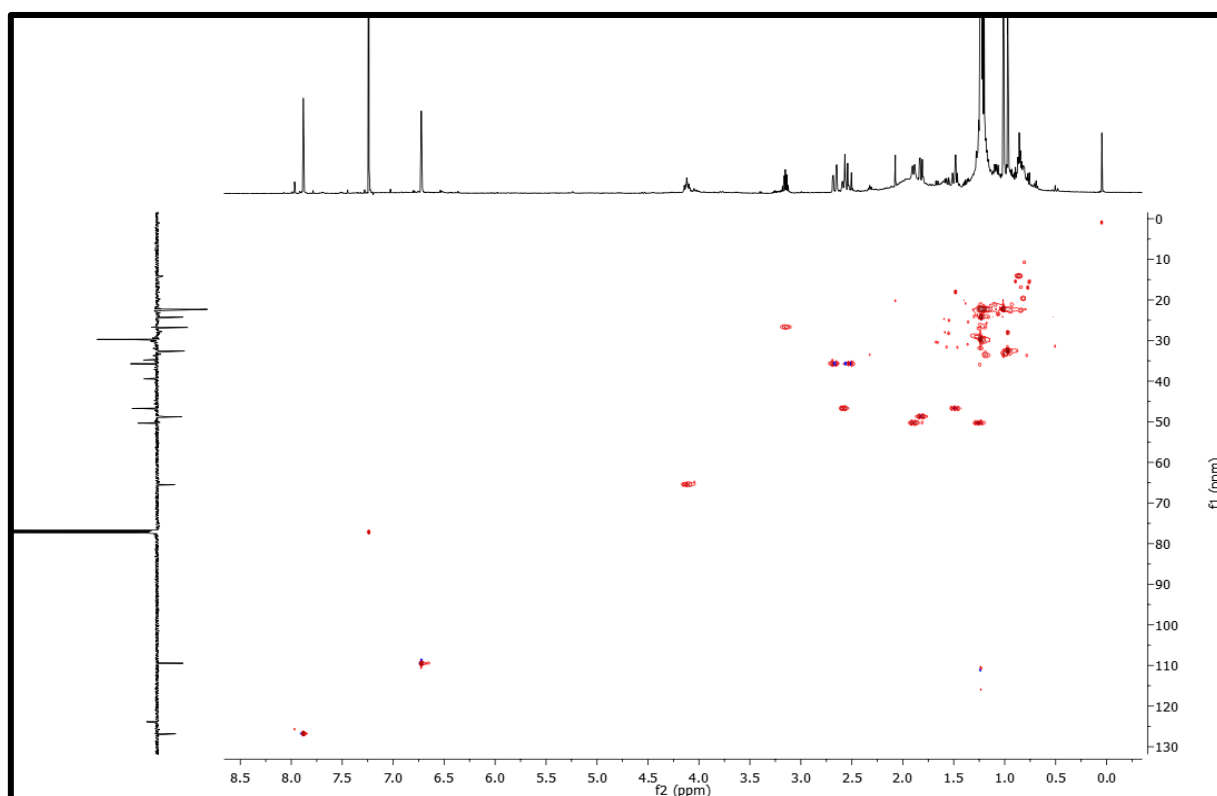


Figura 76 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 3,6-8,2 ppm x 65-130 ppm.

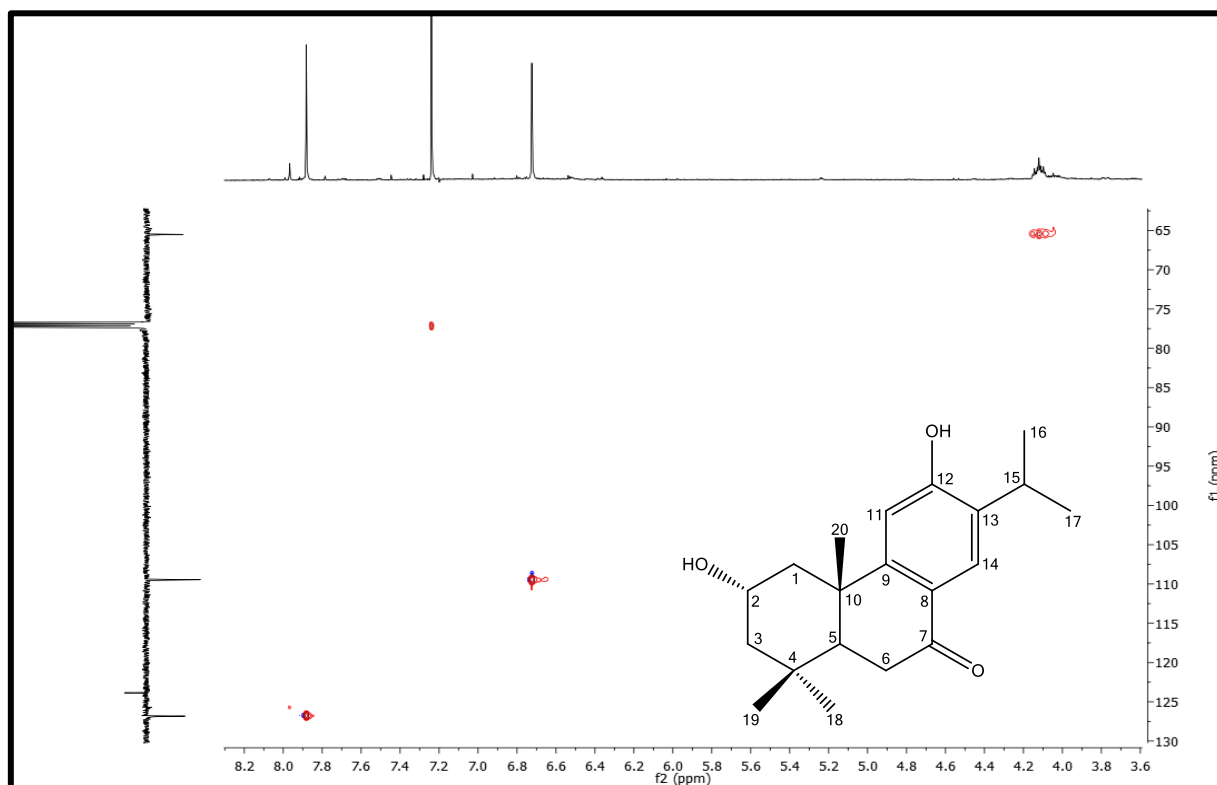


Figura 77 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,6-3,2 ppm x 10-55 ppm.

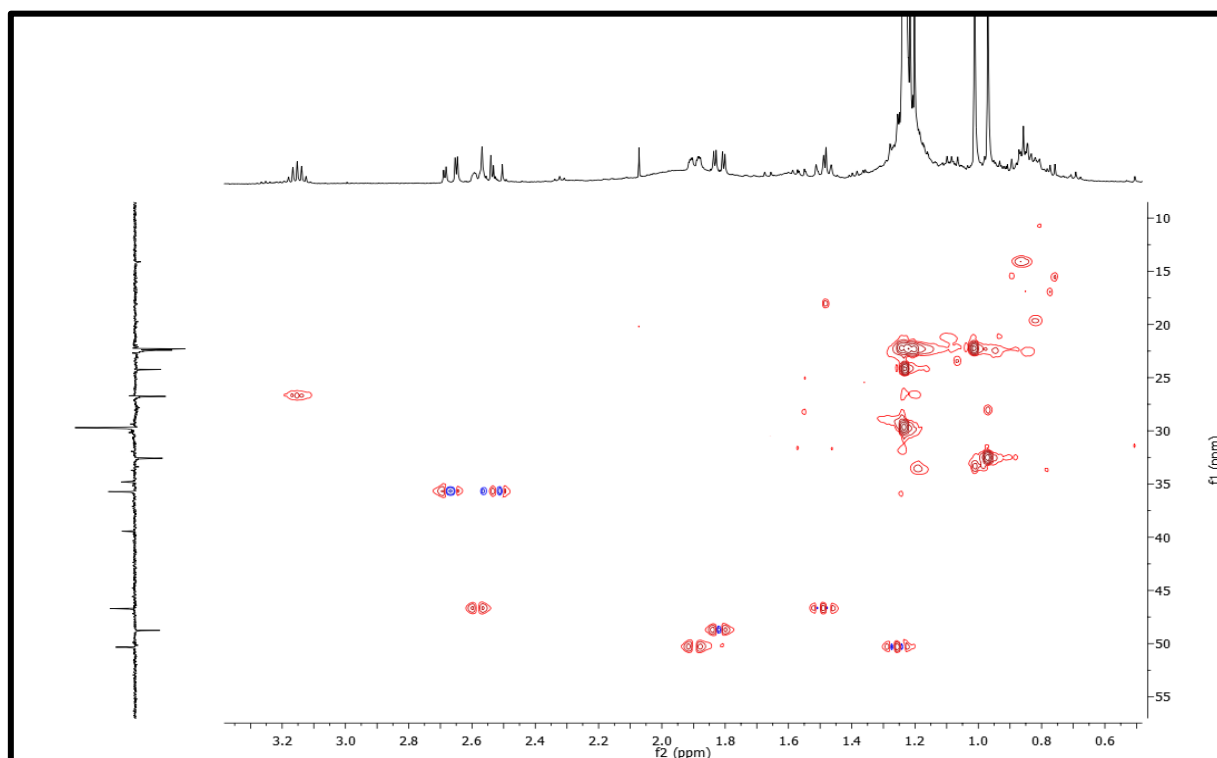


Figura 78 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,80-1,30 ppm x 20-35 ppm.

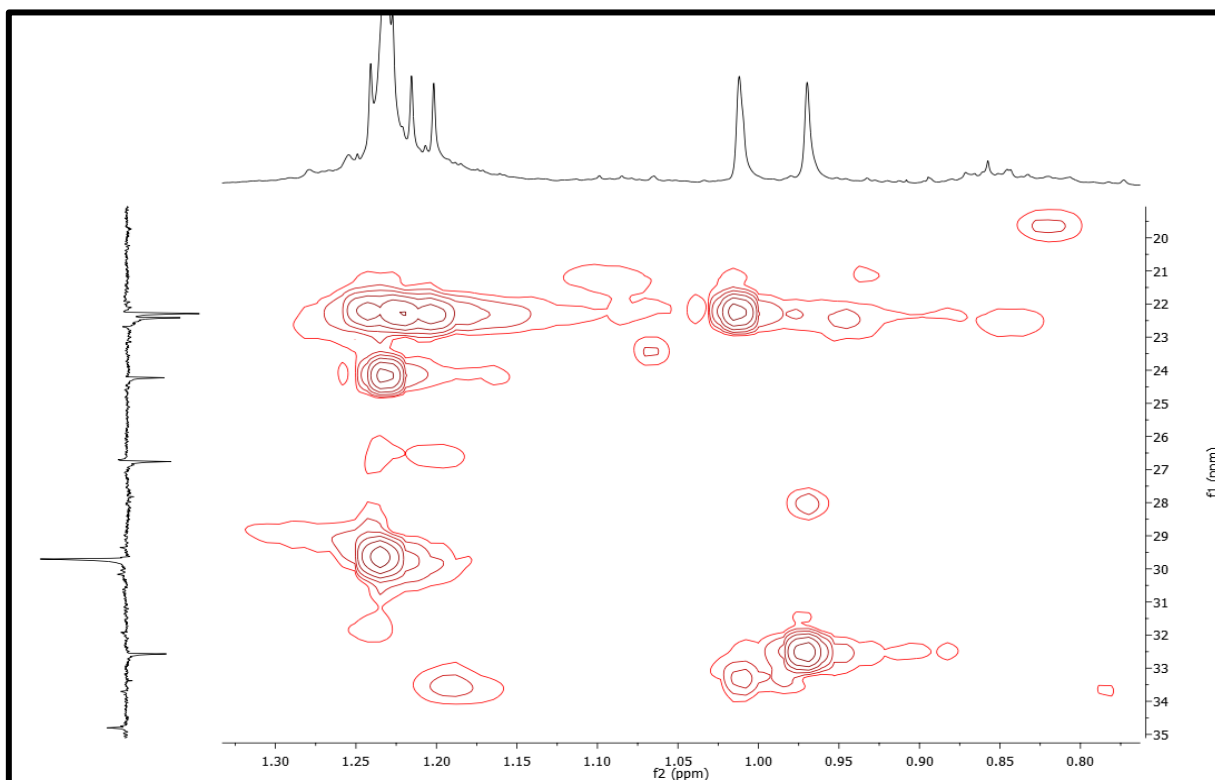


Figura 79 – Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

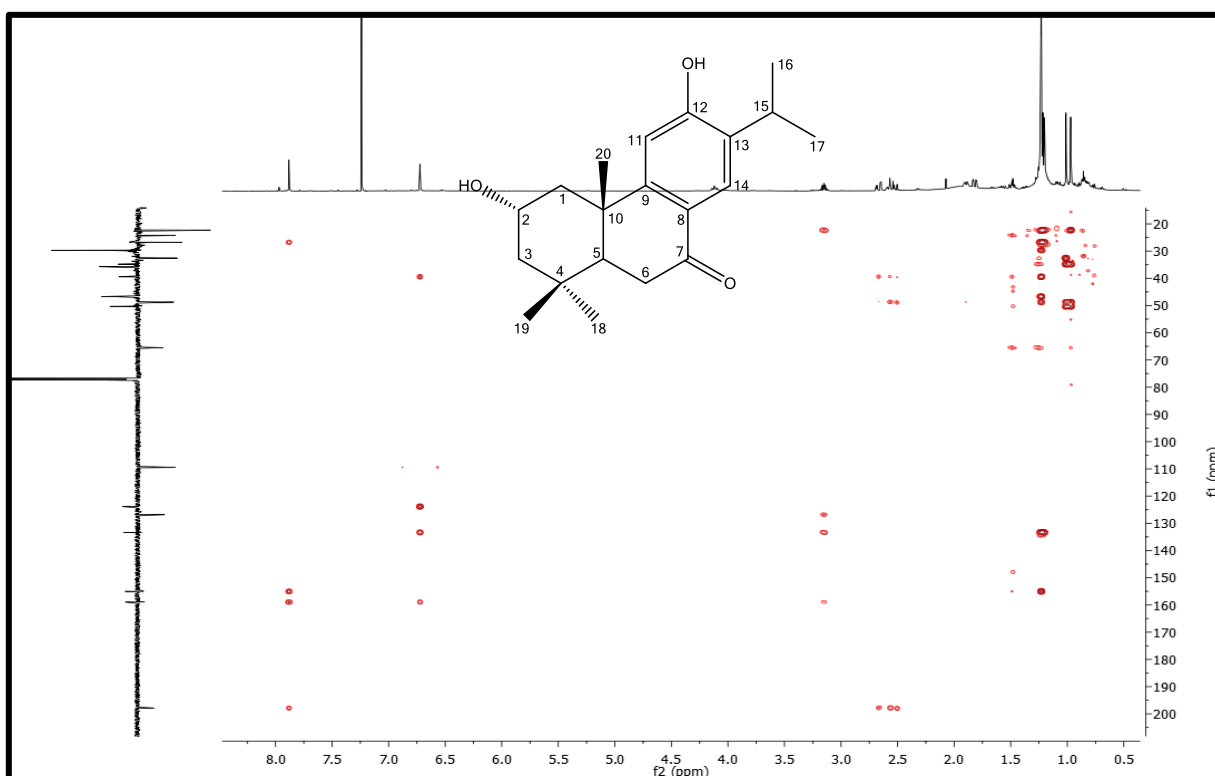


Figura 80 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 1,0-8,0 ppm x 120-200 ppm.

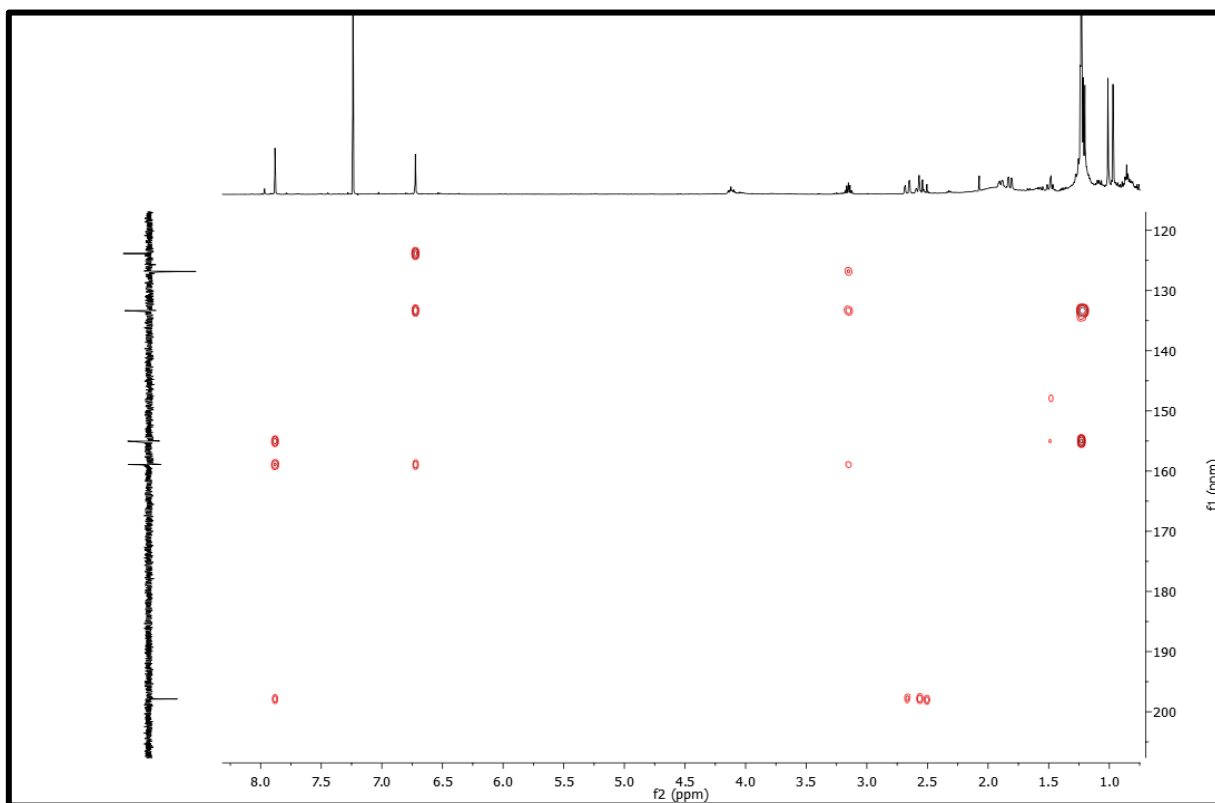


Figura 81 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 6,6-8,0 ppm x 22-48 ppm.



Figura 82 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,8-3,2 ppm x 20-70 ppm.

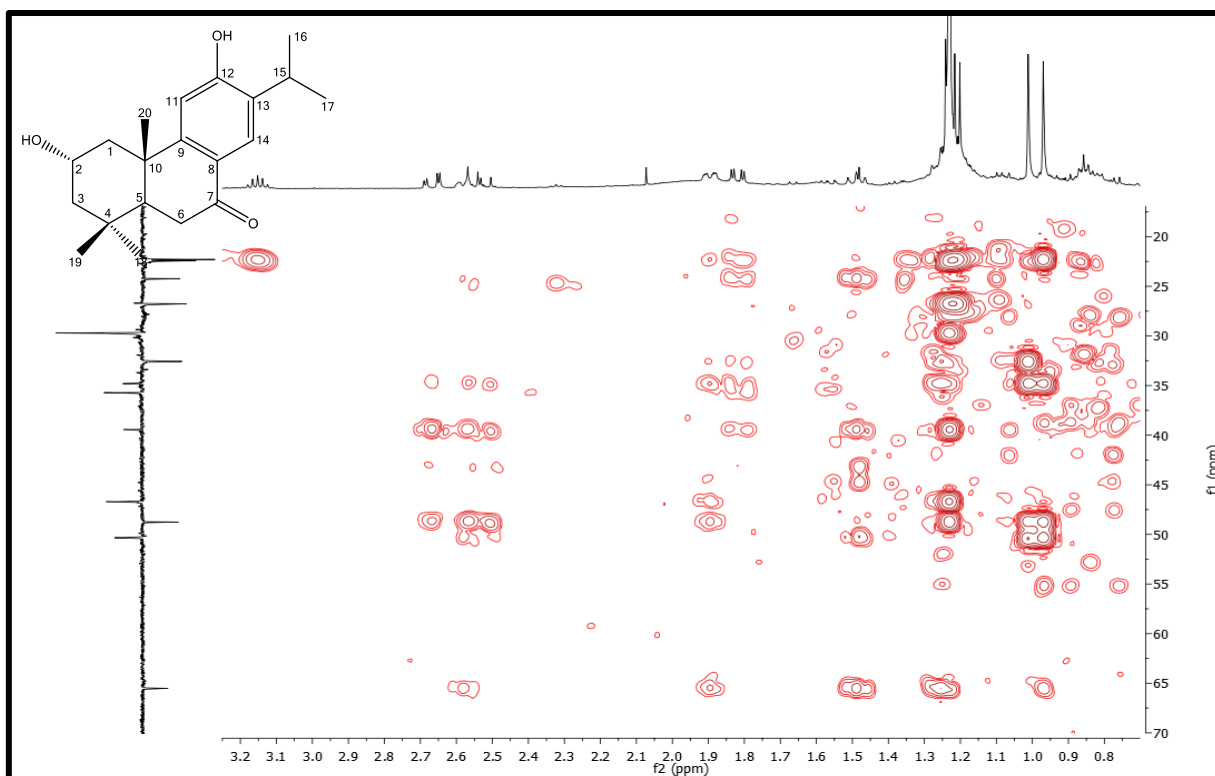


Figura 83 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,75-1,50 ppm x 22-52 ppm.

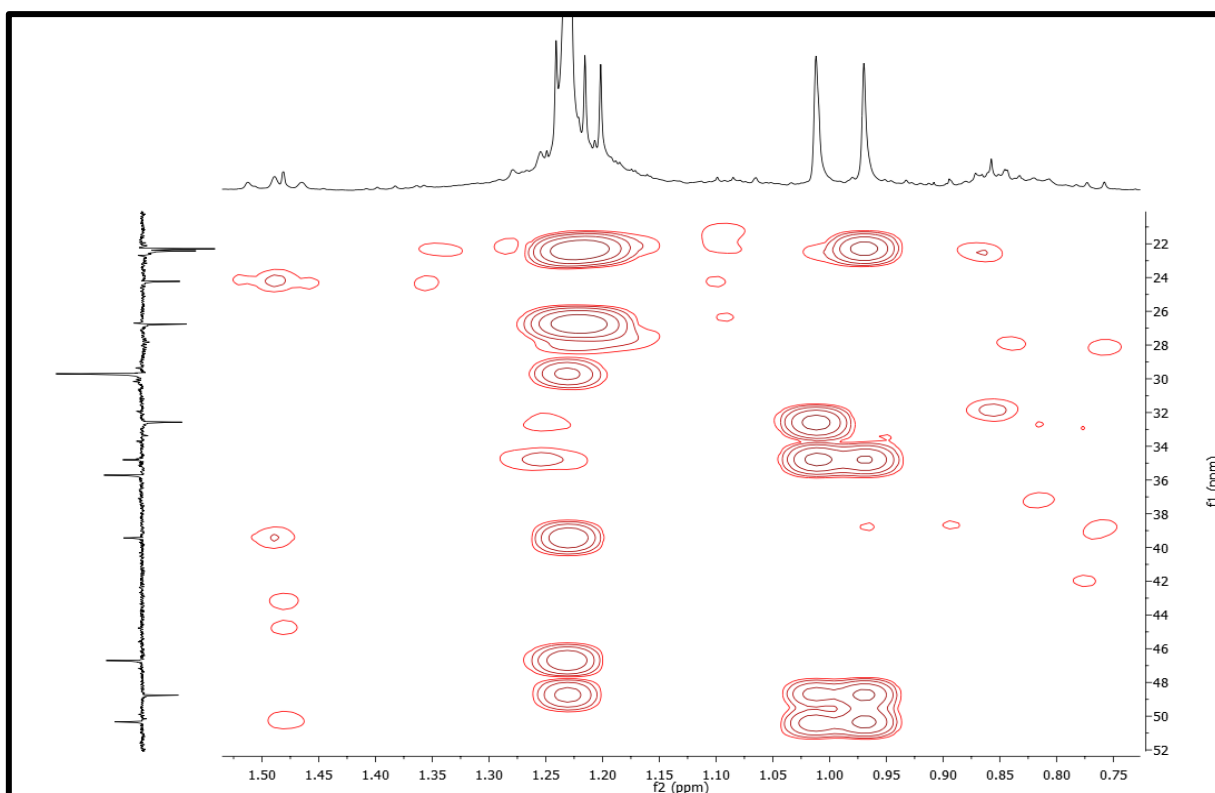


Figura 84 – Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

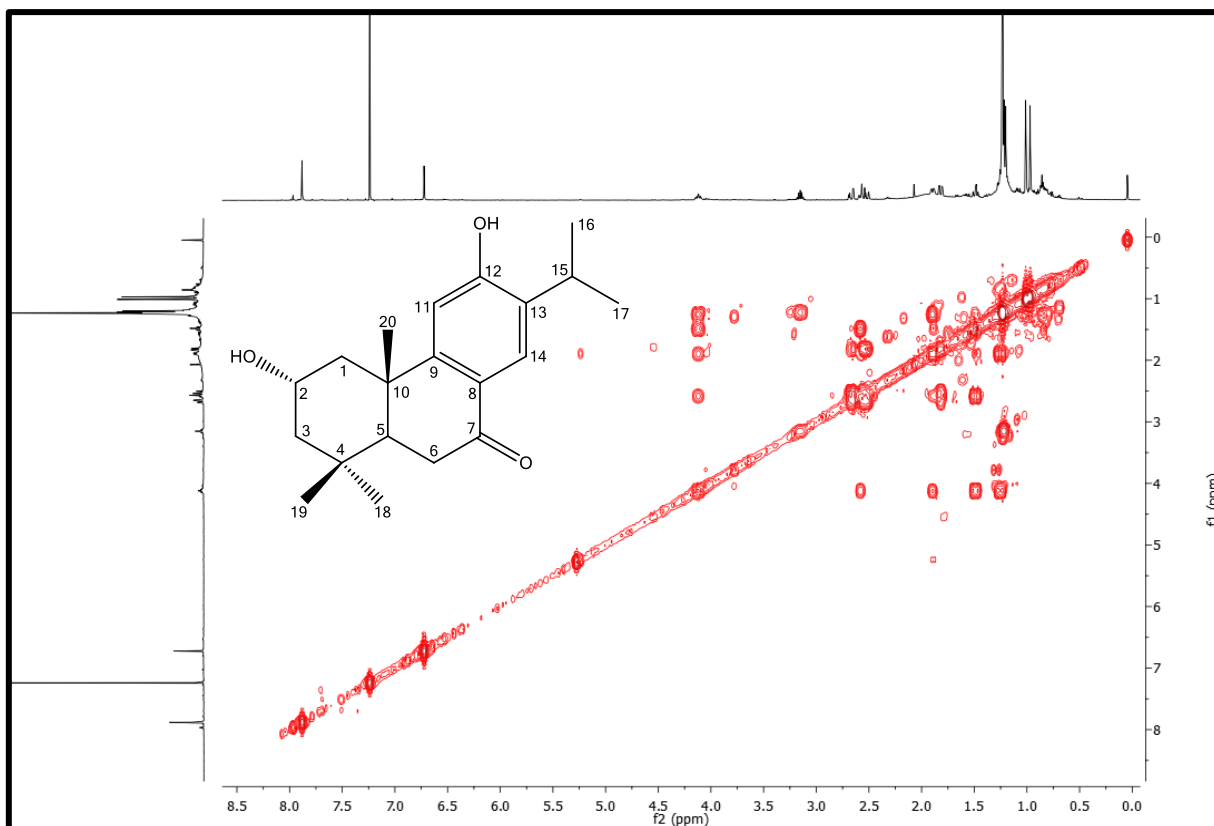


Figura 85 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,5-4,5 ppm x 0,6-4,4 ppm.

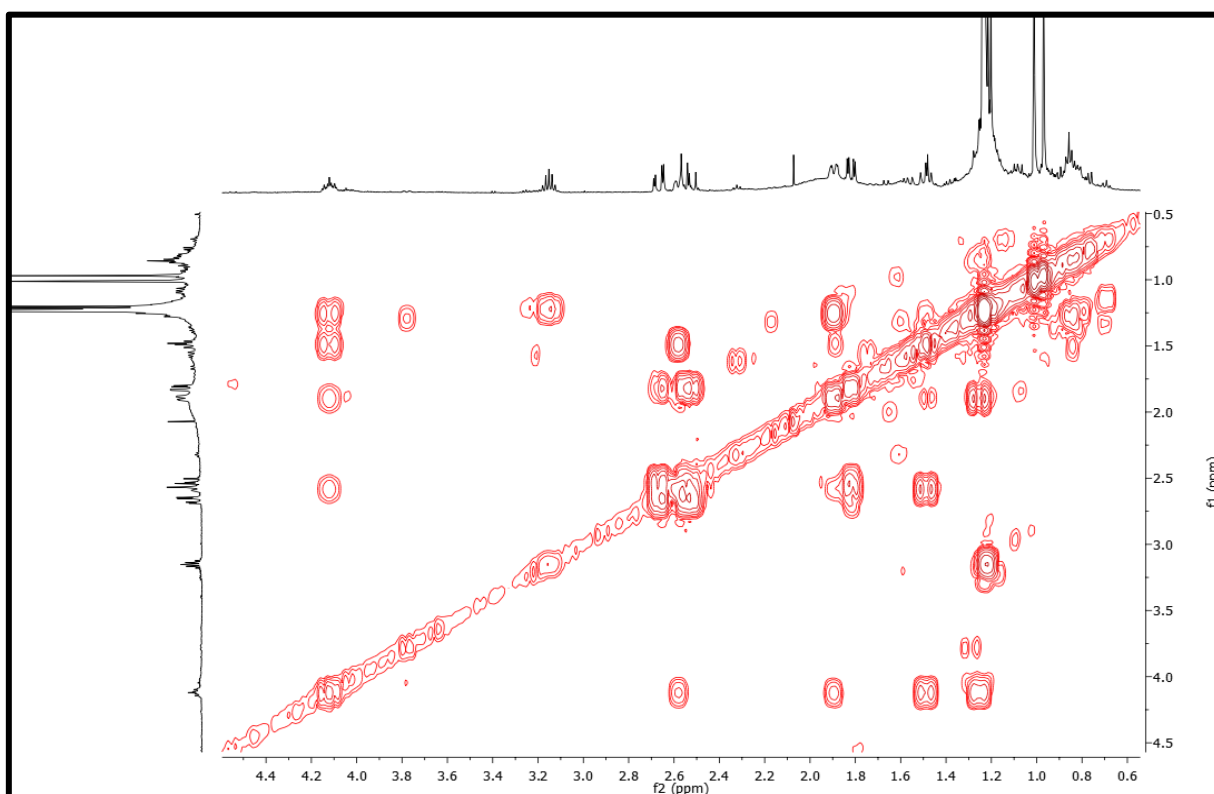


Figura 86 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0,6-2,8 ppm x 0,6-2,9 ppm.

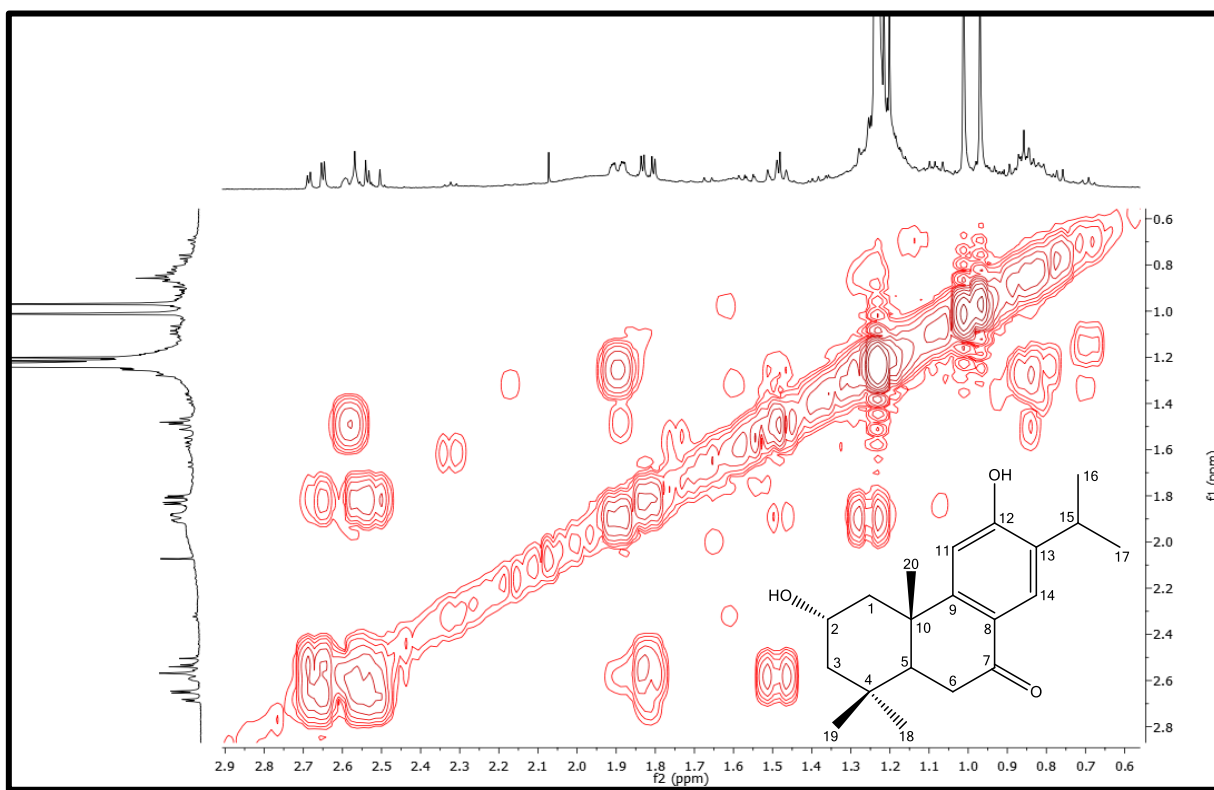


Figura 87 – Espectro de NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2.

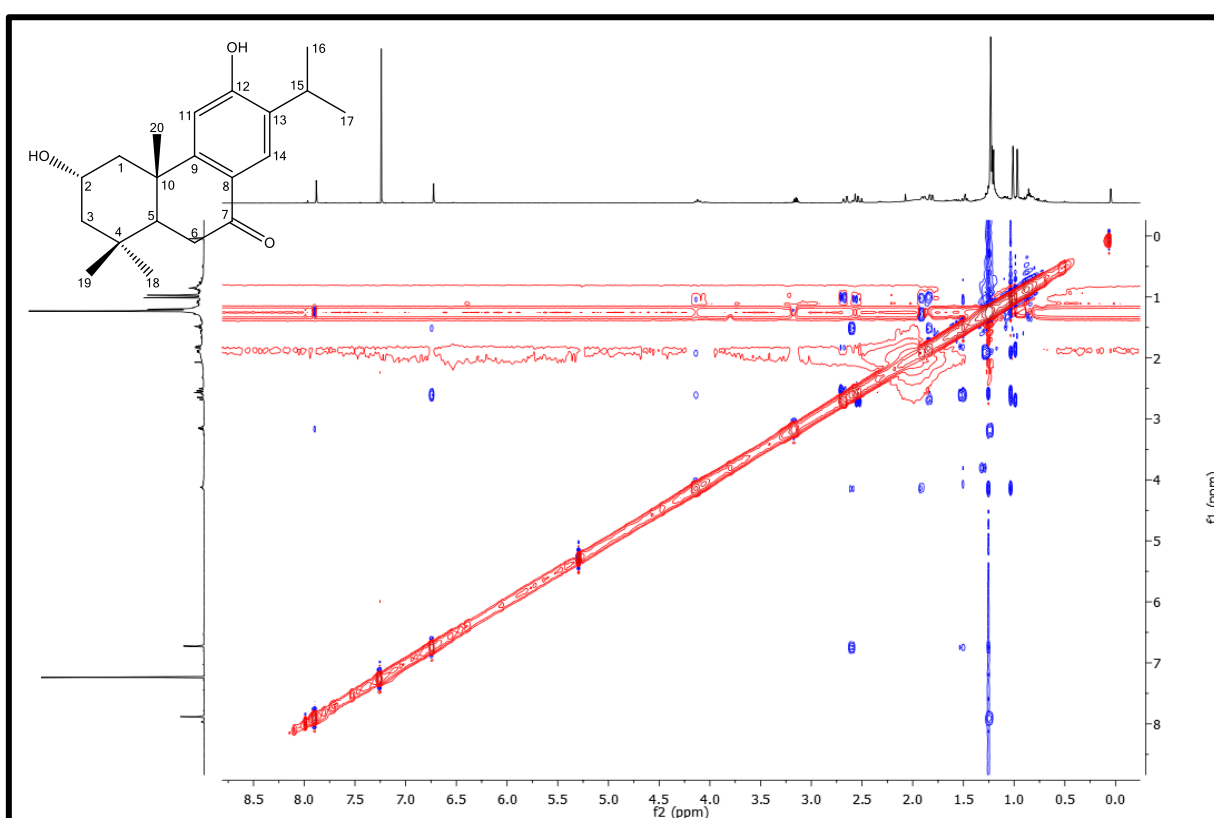
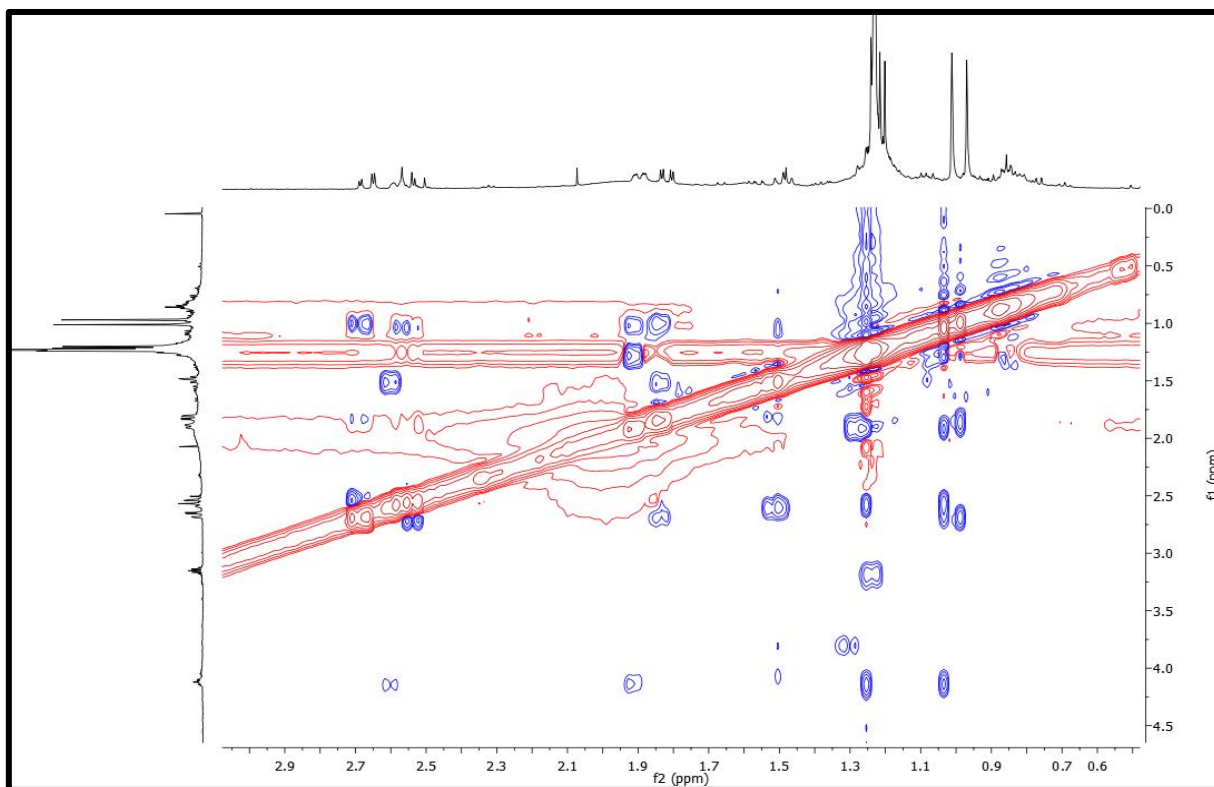


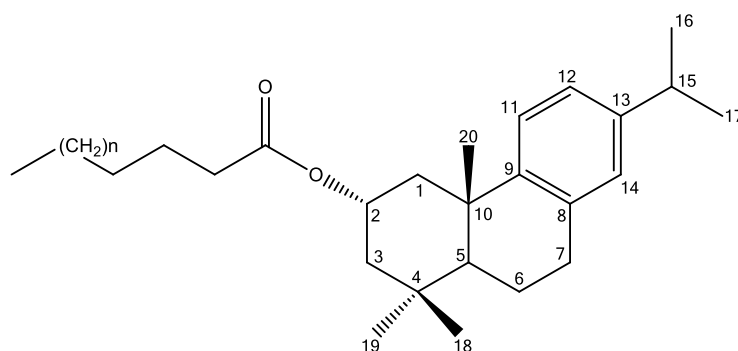
Figura 88 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-2 na região de 0-0,4,5 ppm x 0,6-2,9 ppm.



5.6 Identificação estrutural de Ms-3

A substância codificada como Ms-3 (Figura 89, p. 104) foi isolada na forma de um óleo amarelo com 35 mg rendimento de 0,0017% em relação ao pó da planta. Através do espectro de RMN ^{13}C -APT (Figuras 90-92, p. 108-109) observou-se a presença cinco sinais que foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, seis sinais referentes a carbonos metínicos, e cinco a carbonos metílicos. Sendo a região de carbonos metilênicos mostrou um envelope de sinais entre 29,1-29,7 que foi atribuído à presença de uma cadeia alifática longa. Diante da comparação com os dados da literatura (Tabela 10, p.107) pode-se observar semelhanças com o diterpeno abietano Pormiferin D (COSTA, 2013), mas apresenta alguns deslocamentos químicos diferentes, em Ms-3 a absorção ocorre em δ_{C} 43,8 (C-1); 68,9 (C-2) e 46,5 (C-3), já o Pormiferin D absorve em δ_{C} 47,9 (C-1); 65,6 (C-2) e 50,9 (C-3), indicando que Ms-3 está esterificado na posição C-2. Podemos observar ainda em Ms-3 uma absorção em δ_{C} 173,5 que indica a presença da carbonila de éster.

Figura 89 – Estrutura química de Ms-3.



Derivado esterificado do Pormiferin D
Ms-3

No espectro de RMN ^1H (Figuras 93-99, p. 109-112) observou-se três sinais para hidrogênios aromáticos com deslocamentos em δ_{H} 7,13 (d, $J = 8,0$ Hz), 6,97 (dd, $J = 8,5; 2,0$ Hz) e um singlete largo em δ_{H} 6,88. Observou-se também um tripleto de tripleto em δ_{H} 5,17 atribuído a um hidrogênio oximetínico, estando mais

desprotegido do que no Pormiferin D que absorveu em δ_H 4,03. Essa mudança ocorre porque Ms-3 está sofrendo efeito de grupo retirador. Os demais deslocamentos químicos de 1H estão compilados na Tabela 9 (p. 106).

O espectro HMQC (Figuras 100-105, p. 113-115) mostrou correlações diretas entre os sinais em δ_H 5,17 com δ_C 68,9 atribuído a C-2, como também as correlações entre δ_H 0,99 com δ_C 22,3; δ_H 0,99 com δ_C 33,3 e 1,19 com δ_C 25,5 que foram atribuídas aos carbonos das metilas CH_3 -18, CH_3 -19 e CH_3 -20, respectivamente. Observou-se ainda as correlações dos sinais em δ_H 7,13 (H-11), 6,97 (H-12) e 6,88 (H-14) com os carbonos 123,9; 123,9 e 126,9, estes atribuídos a C-11, C-12 e C-14, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 9 (p. 106).

Nos espectros HMBC (Figuras 106-112, p. 116-119) observou-se as correlações do sinal em δ_H 2,59 (H-1) com δ_C 68,9 (C-2) e de 1,82 (H-3) com esse mesmo carbono. As correlações entre δ_H 1,19 (CH_3 -20) com os sinais em δ_C 39,0; 43,8 e 49,8 foram atribuídos a C-10, C-1 e C-5, respectivamente. As demais correlações estão compiladas na Tabela 9 (p. 106).

No espectro COSY (Figuras 113-116, p. 119-121) observaram-se as correlações dos sinais em δ_H 7,13 (H-11) com δ_H 6,97 (H-12) e de δ_H 2,80 (H-15 com 1,20 (3H-16 e 3H-17), confirmando o sistema aromático e a unidade isopropila. Observou ainda correlação de 5,17 (H-2) com 2,59 (H-1) e 1,26 (H-3), confirmando H-2 e reforçando a esterificação nesse carbono. O espectro NOESY (Figuras 117-119, p. 121-122) mostrou a estereoquímica relativa da esterificação em C-2 através da correlação do sinal em δ_H 5,17 com o sinal em δ_H 0,99 (CH_3 -19) corroborando para a esterificação em α -equatorial.

Sendo assim, após a análise de todos os dados de RMN uni e bidimensionais foi possível concluir que Ms-3 trata-se de um derivado esterificado do pormiferin D.

Tabela 9 – Dados de RMN ^1H e ^{13}C (500 e 125 MHz) uni e bidimensionais de Ms-3 (Derivado esterificado do Pormiferin D) em CDCl_3 .

Nº	δ_{C}	HMQC		HMBC
		^1H	^{13}C	
1	43,8	2,59 (m, H-1a); 1,42 (m, H-1b)		C-2, C-3, C-5, C-10
2	68,9	5,17 (tt, H-2 β)		--
3	46,5	0,94 (s, H-3a); 1,26 (m, H-3b)		C-4, C-2, C-18, C-19, C-20
4	34,7	--		--
5	49,8	1,37 (m)		C-3, C-4, C-6, C-7, C-18, C-19, C-20
6	18,7	1,86 (m)		C-4, C-10, C-5, C-7
7	30,1	2,94 (m, H-7a); 2,85 (m, H-7b)		C-5, C-6
8	134,5	--		--
9	146,3	--		--
10	39,0	--		--
11	123,9	7,13 (d, $J = 8,0$ Hz)		C-10, C-8, C-13, C-12
12	123,9	6,97 (dd, $J = 8,5; 2,0$ Hz)		C-9, C-11, C-14, C-15
13	145,8	-		--
14	126,9	6,88 (sl)		C-7, C-9, C-12, C-15
15	33,4	2,80 (m)		C-12, C-14, C-16, C-17
16	23,9	1,20 (s)		C-13, C-15, C-17
17	23,9	1,20 (s)		C-16, C-15, C-13
18	22,3	0,99 (s)		C-19, C-4, C-5, C-3
19	33,3	0,99 (s)		C-18, C-4, C-5, C-3
20	25,6	1,19 (s)		C-10, C-1, C-5, C-9

Tabela 10 – Comparação dos dados de RMN de ^{13}C de Ms-3 com os dados da literatura do Pormiferin D em CDCl_3 (125 MHz).

Nº	C	δ_{C} Ms-3	δ_{C} Pormiferin D (COSTA, 2013)
1	CH_2	43,8	47,9
2	CH	68,9	65,6
3	CH_2	46,5	50,9
4	C	34,7	34,8
5	CH	49,8	49,7
6	CH_2	18,7	18,8
7	C	30,1	30,2
8	C	134,5	134,5
9	C	146,3	146,5
10	C	39,0	39,2
11	CH	123,9	123,9
12	CH	123,9	123,9
13	C	145,8	145,8
14	CH	126,9	126,9
15	CH	33,4	33,4
16	CH_3	23,9	23,9
17	CH_3	23,9	23,9
18	CH_3	22,3	22,5
19	CH_3	33,3	33,3
20	CH_3	25,6	25,6

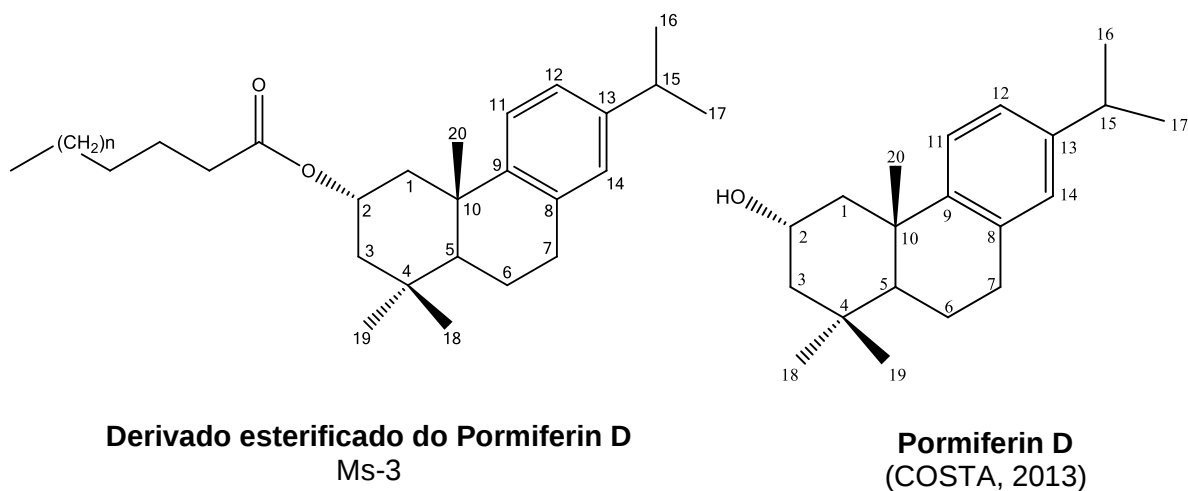


Figura 90 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

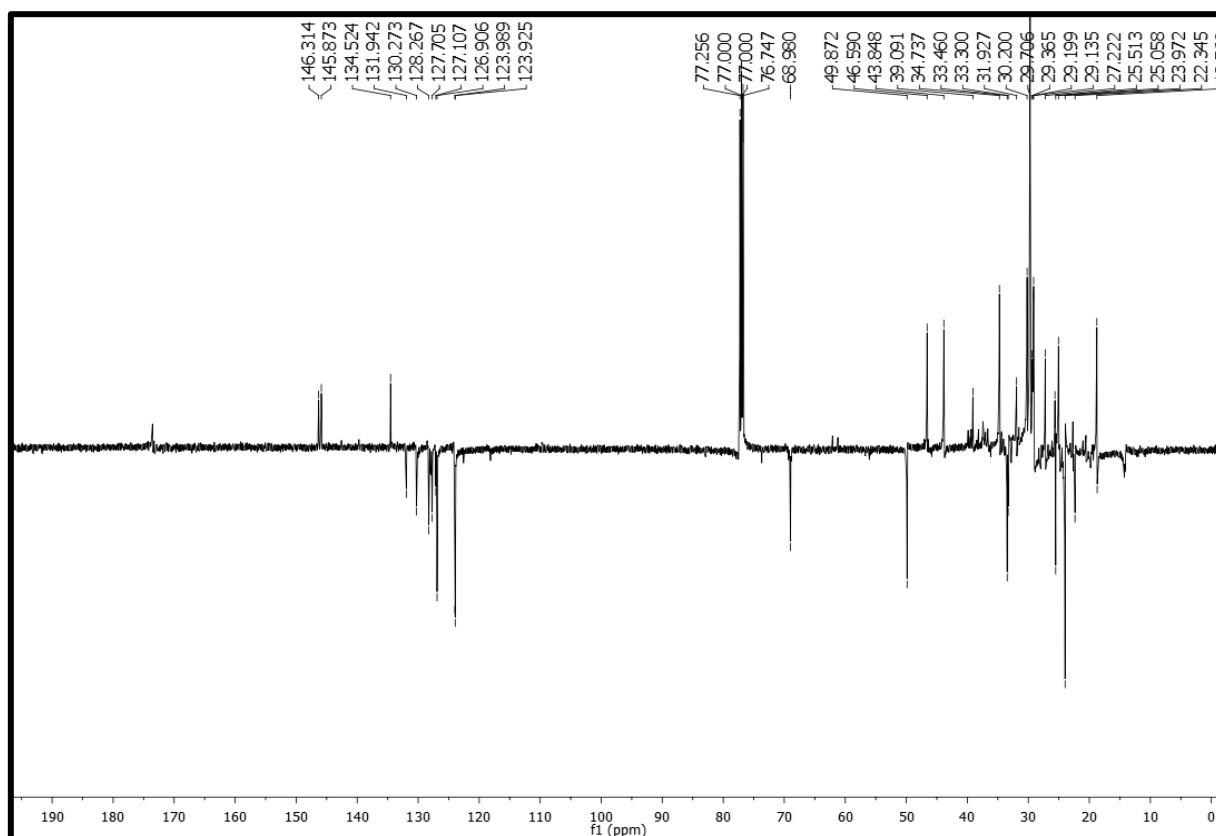


Figura 91 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 120-180 ppm.

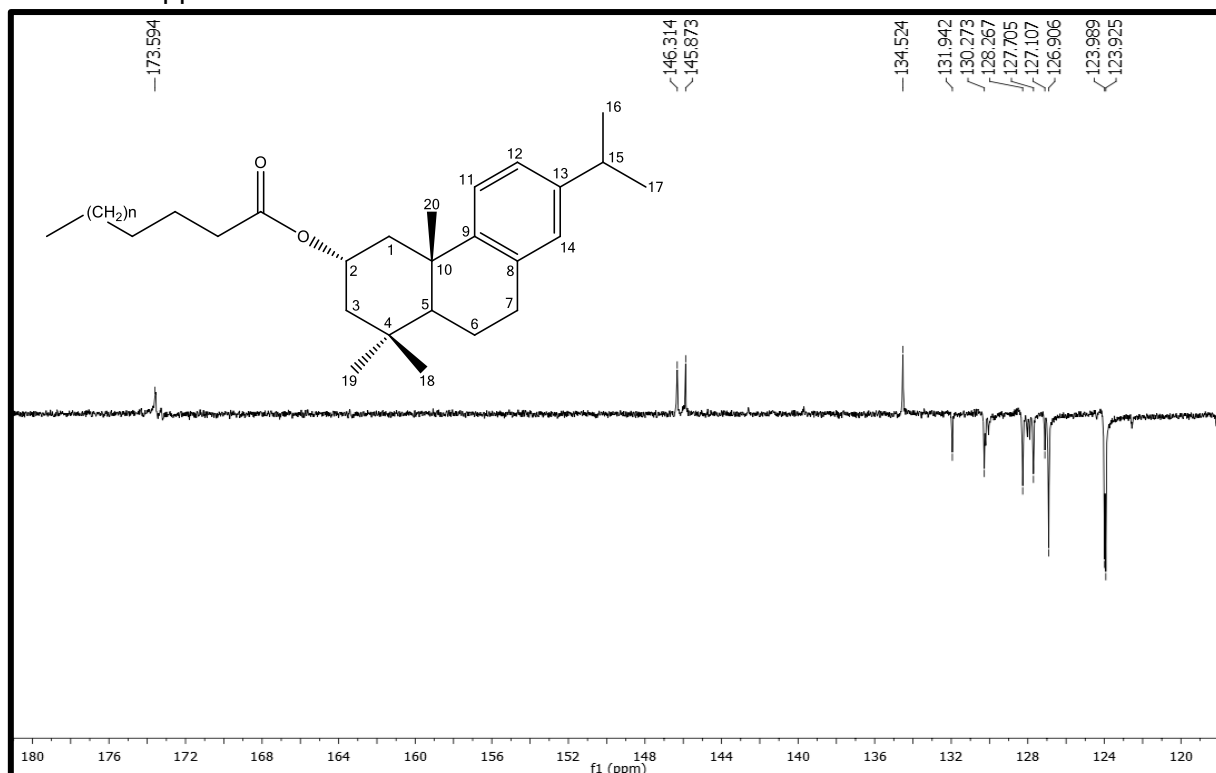


Figura 92 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 18-70 ppm.

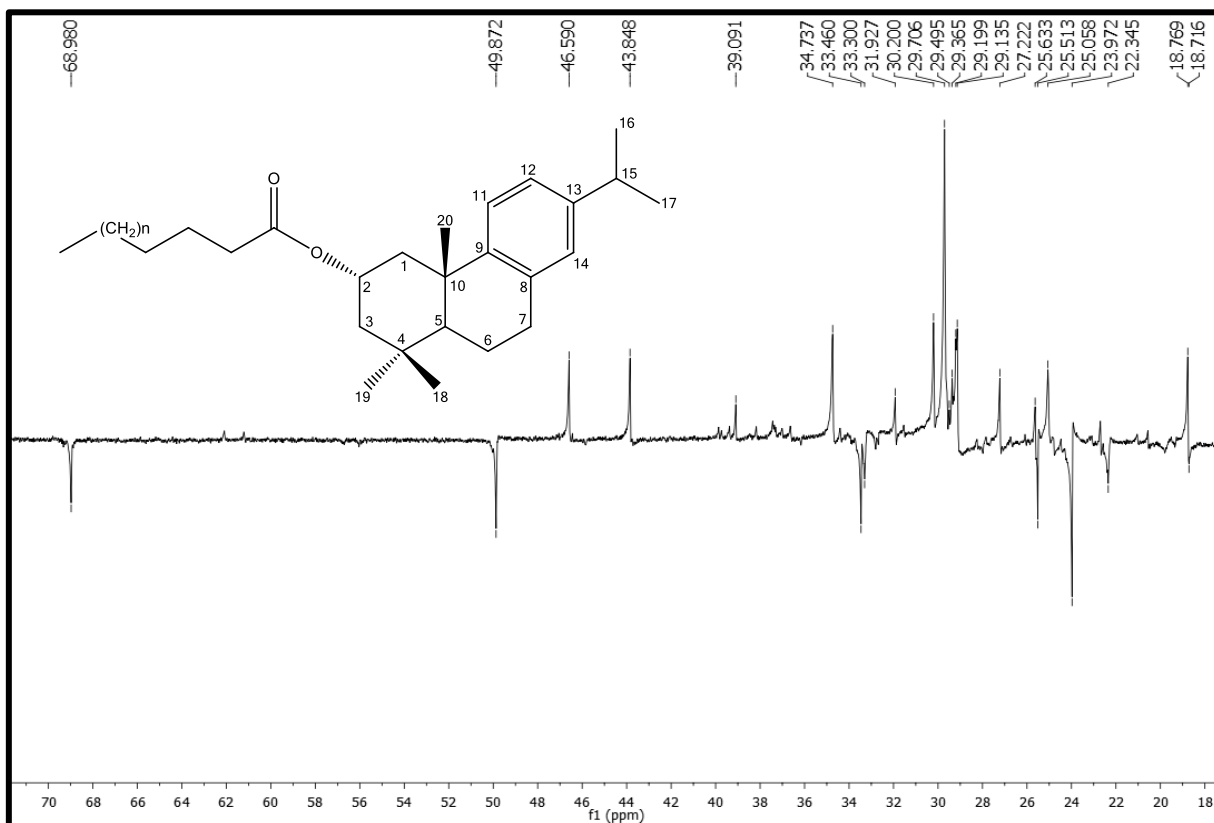


Figura 93 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

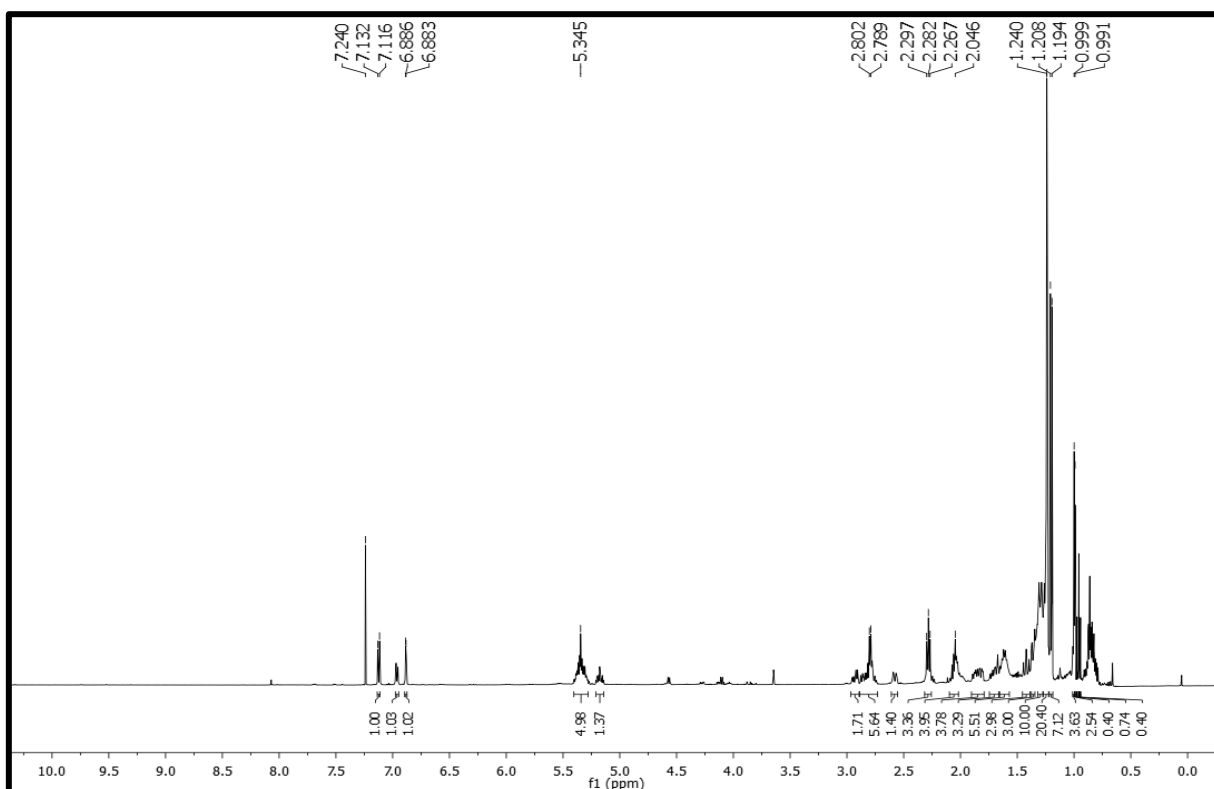


Figura 94 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,87-7,15 ppm.

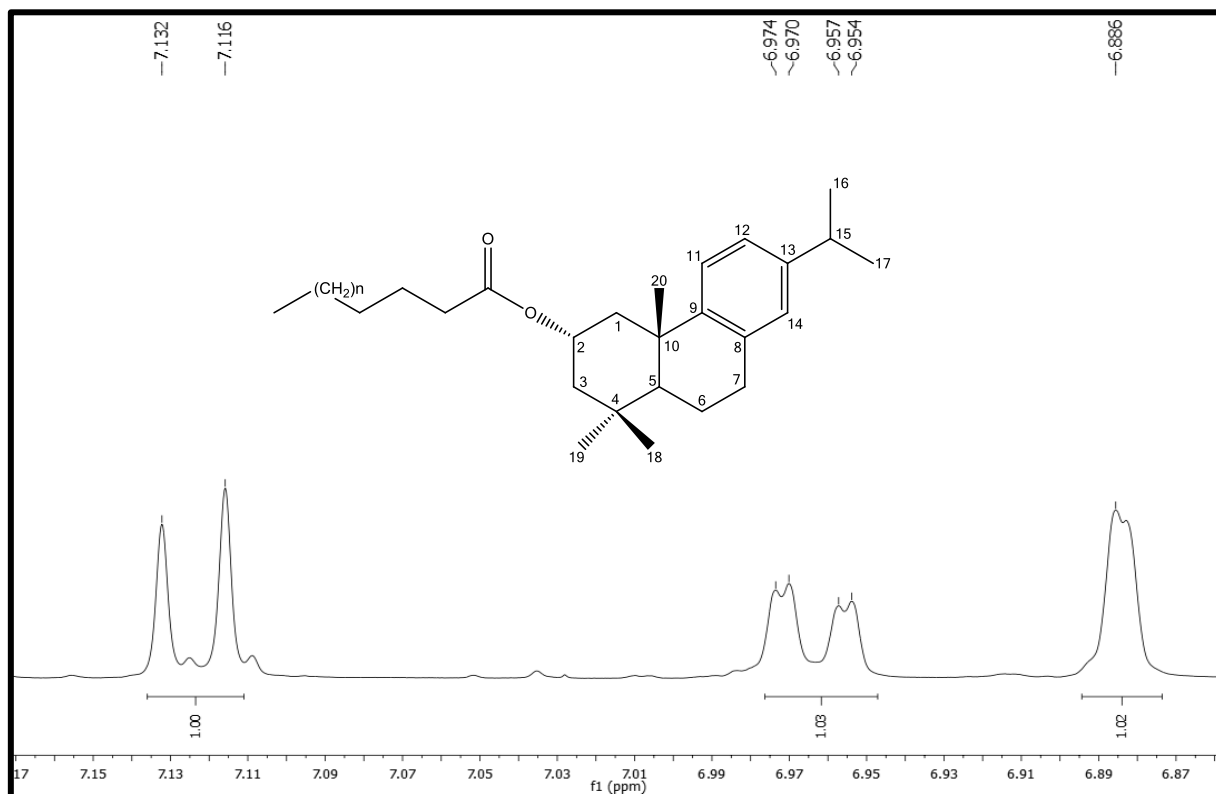


Figura 95 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,06-5,54 ppm.

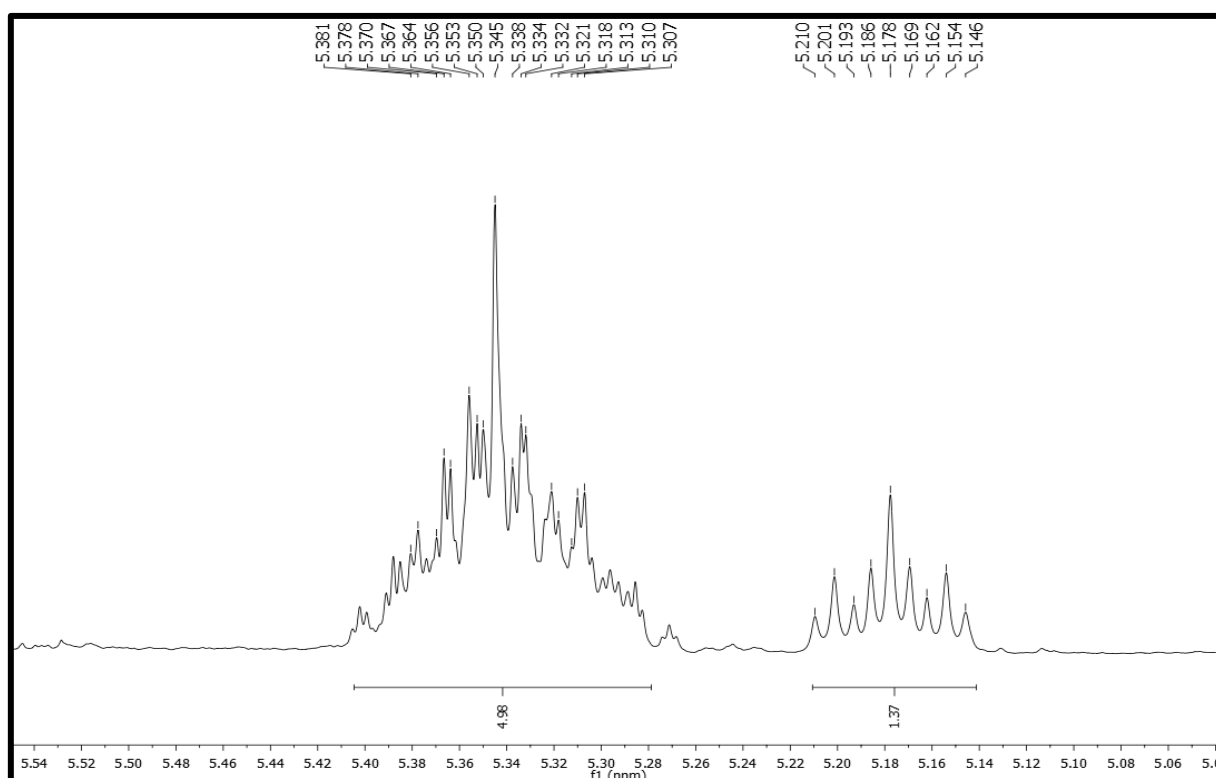


Figura 96 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 2,50-3,70 ppm.

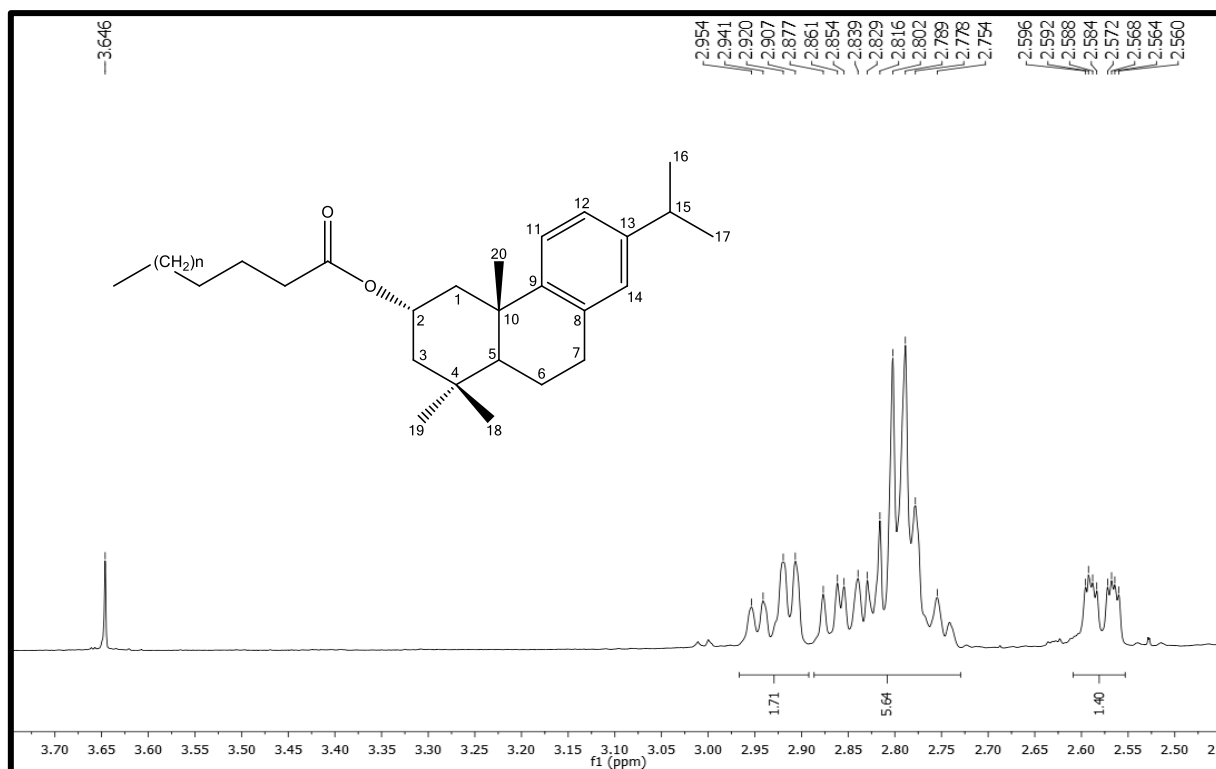


Figura 97 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,55-2,35 ppm.

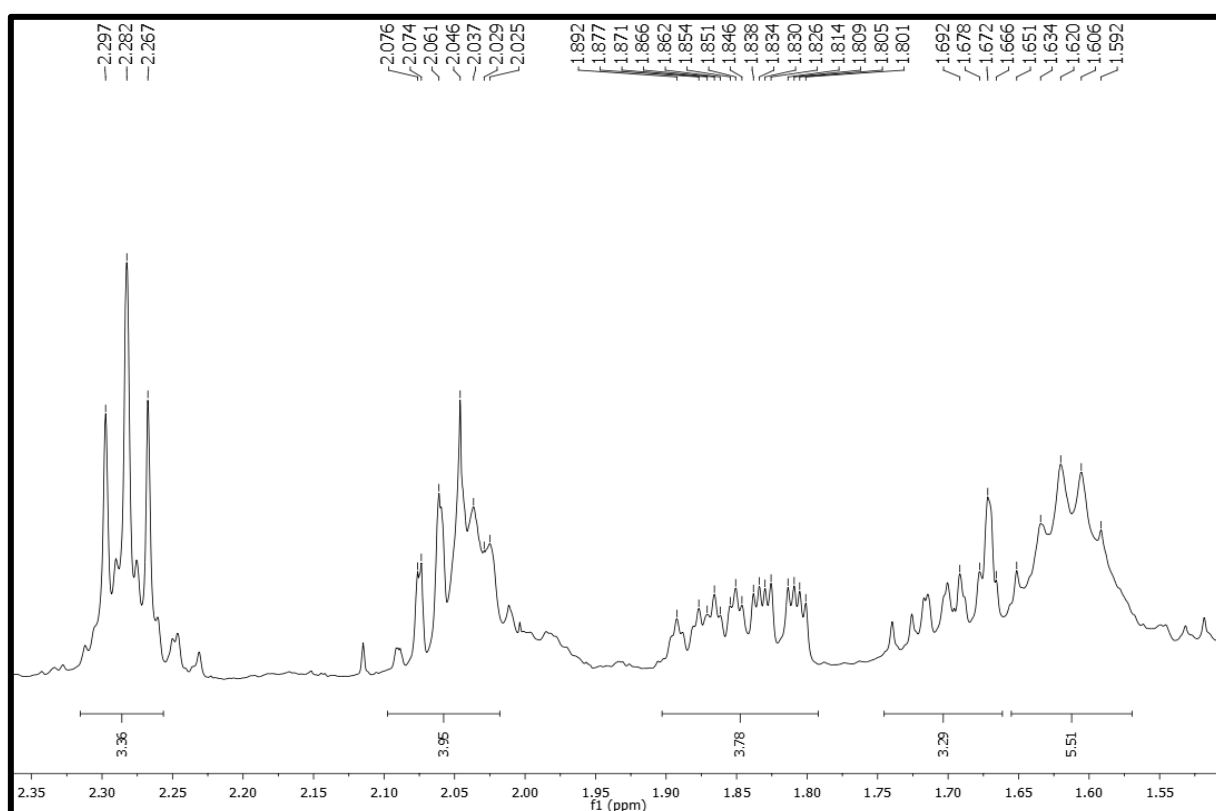


Figura 98 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,17-1,45 ppm.

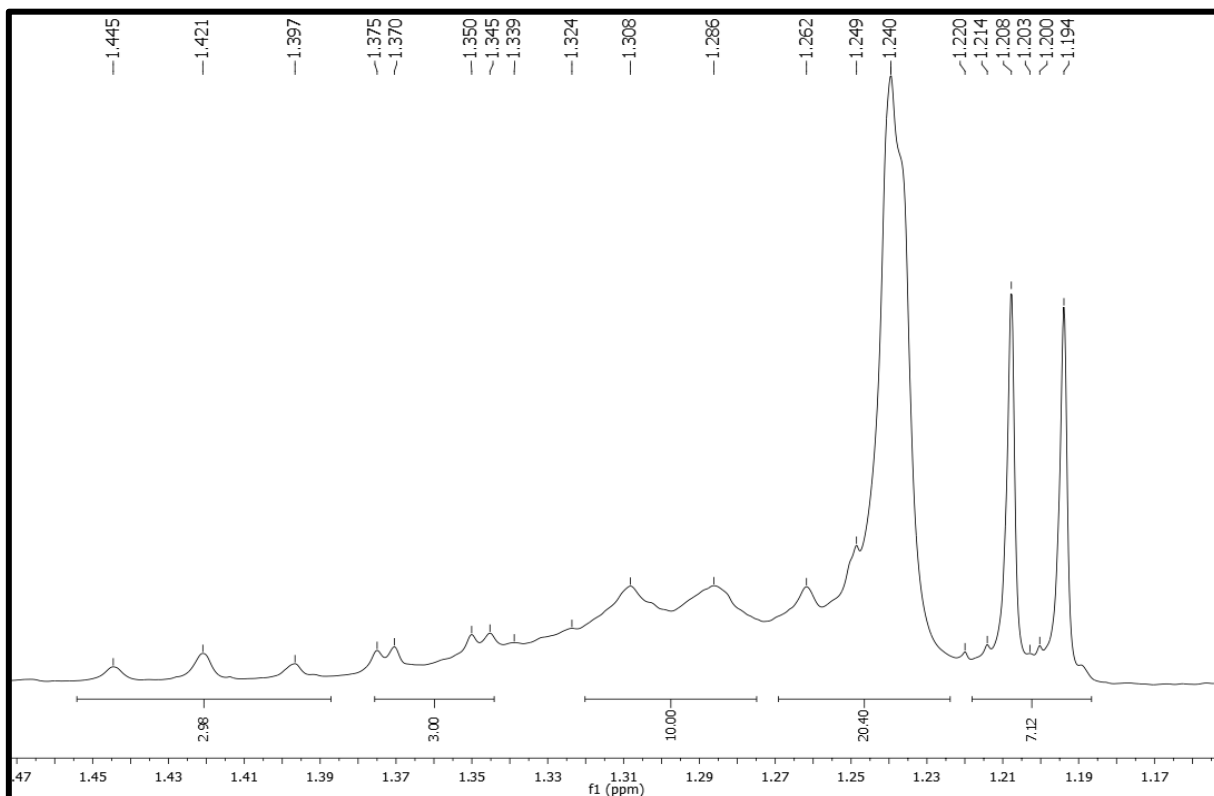


Figura 99 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,79-1,05 ppm.

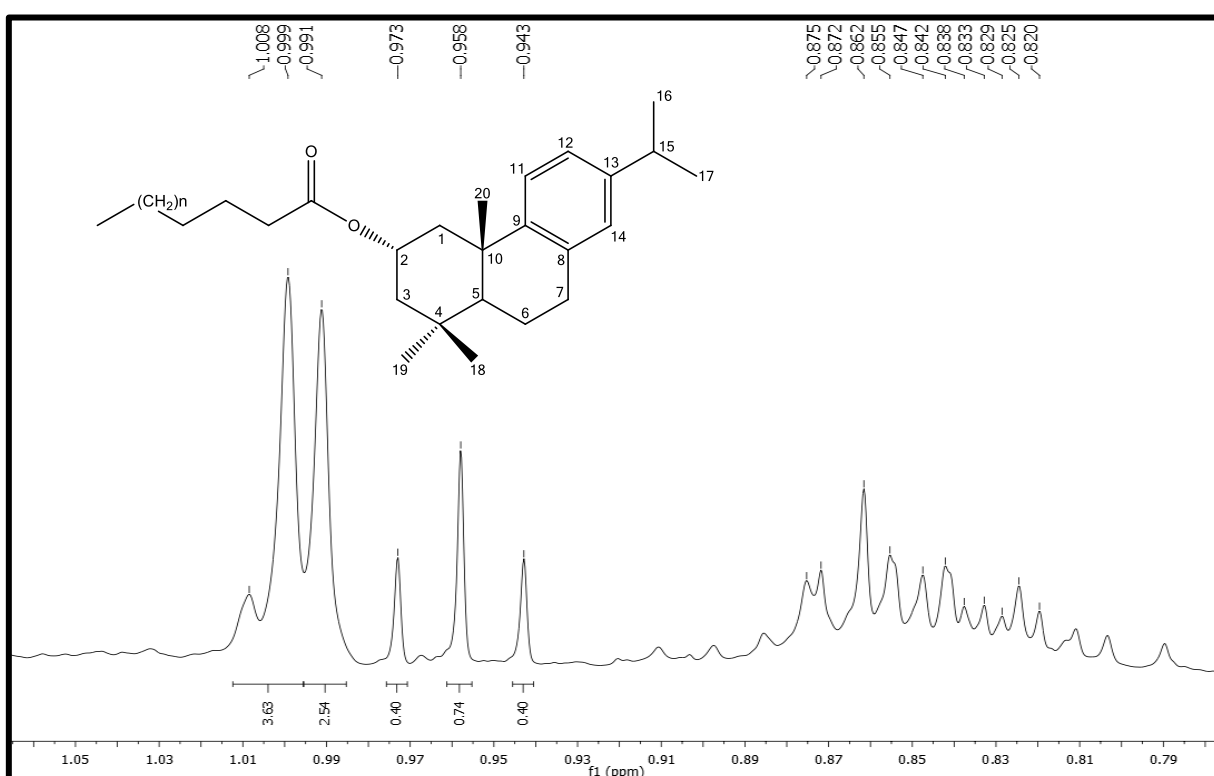


Figura 100 – Espectro de HMQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

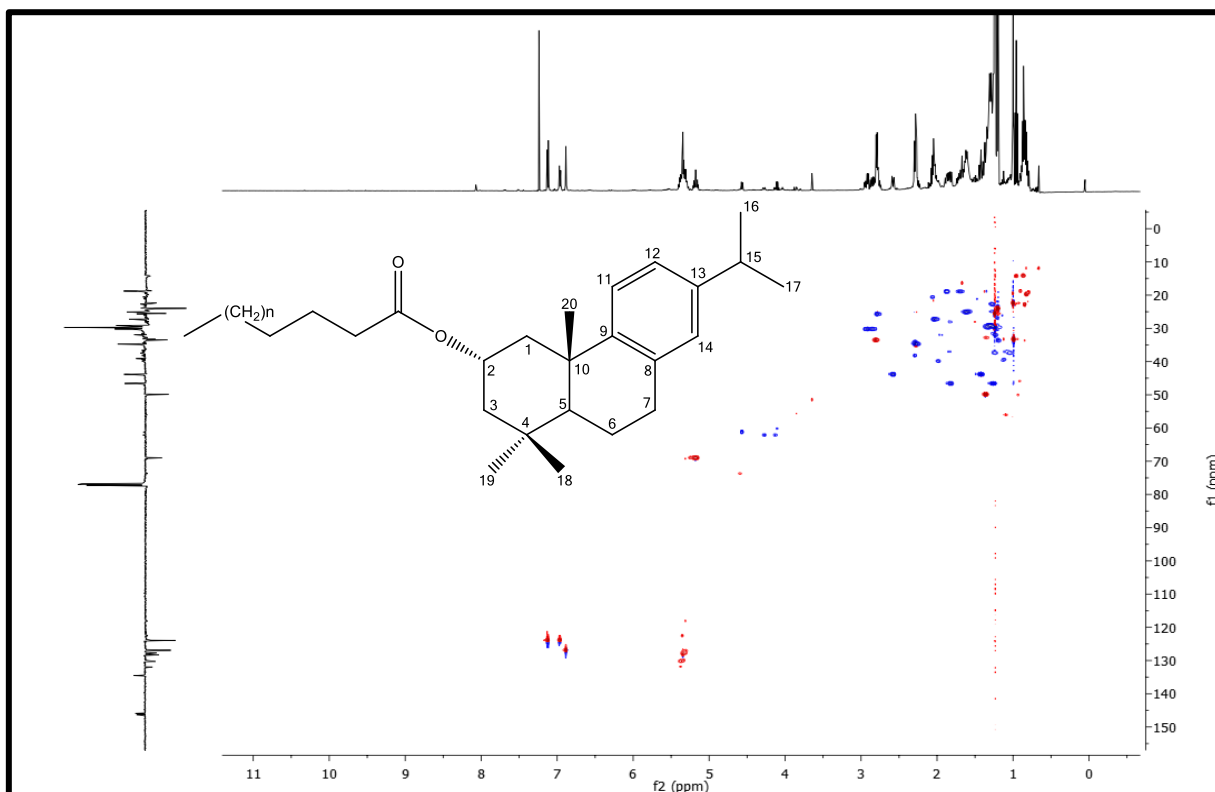


Figura 101 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,8-3,0 ppm x 15-50 ppm.

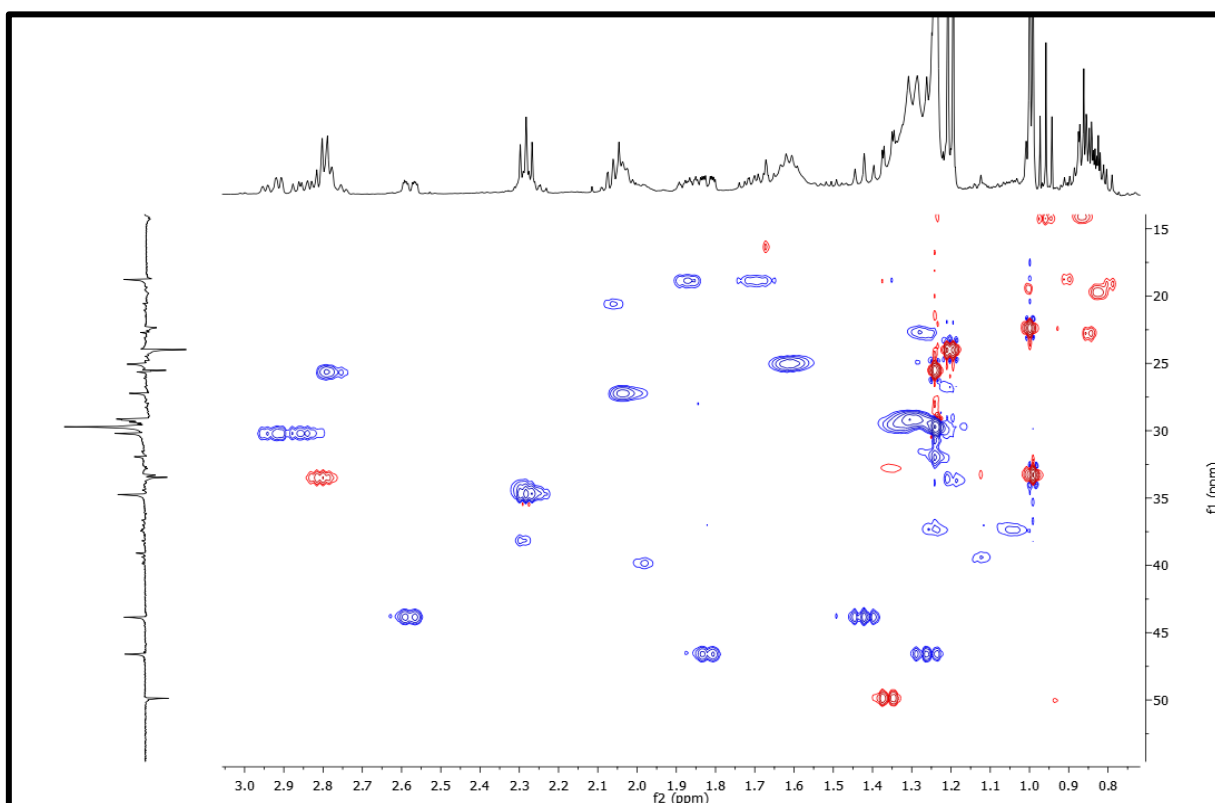


Figura 102 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,96-1,36 ppm x 32-40 ppm.

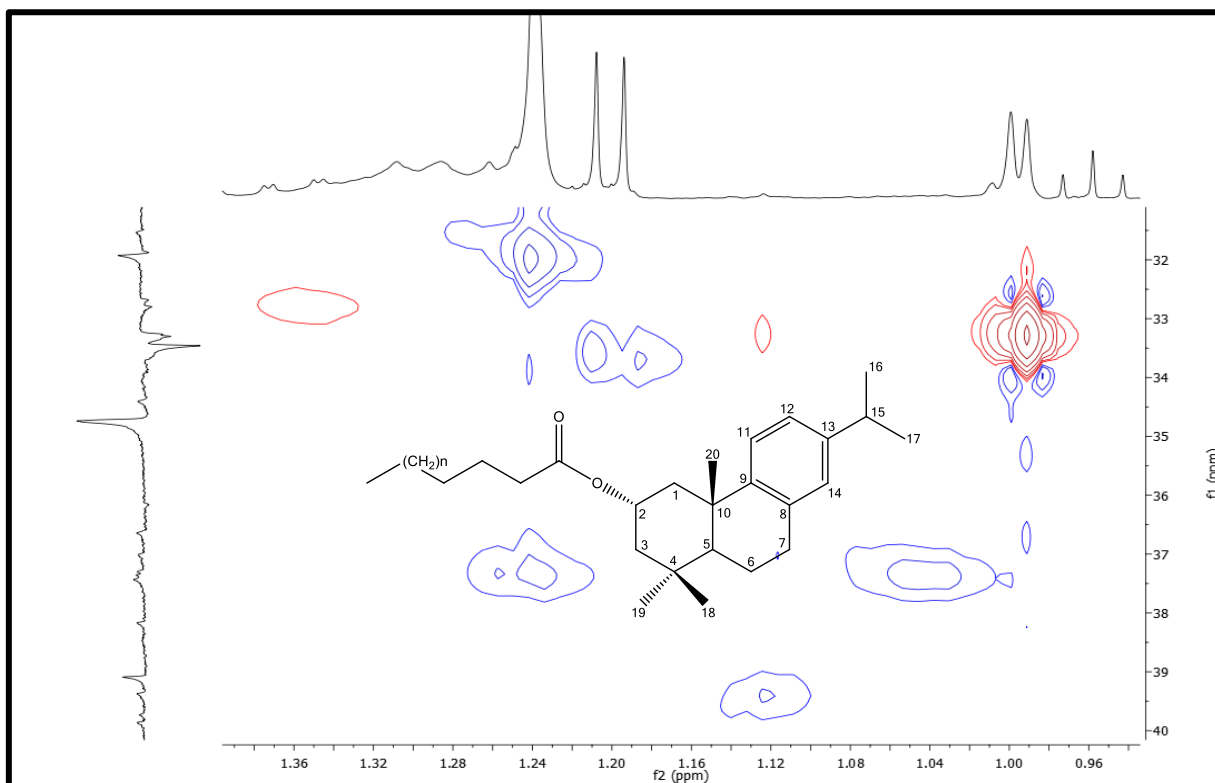


Figura 103 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,74-1,08 ppm x 17-25 ppm.

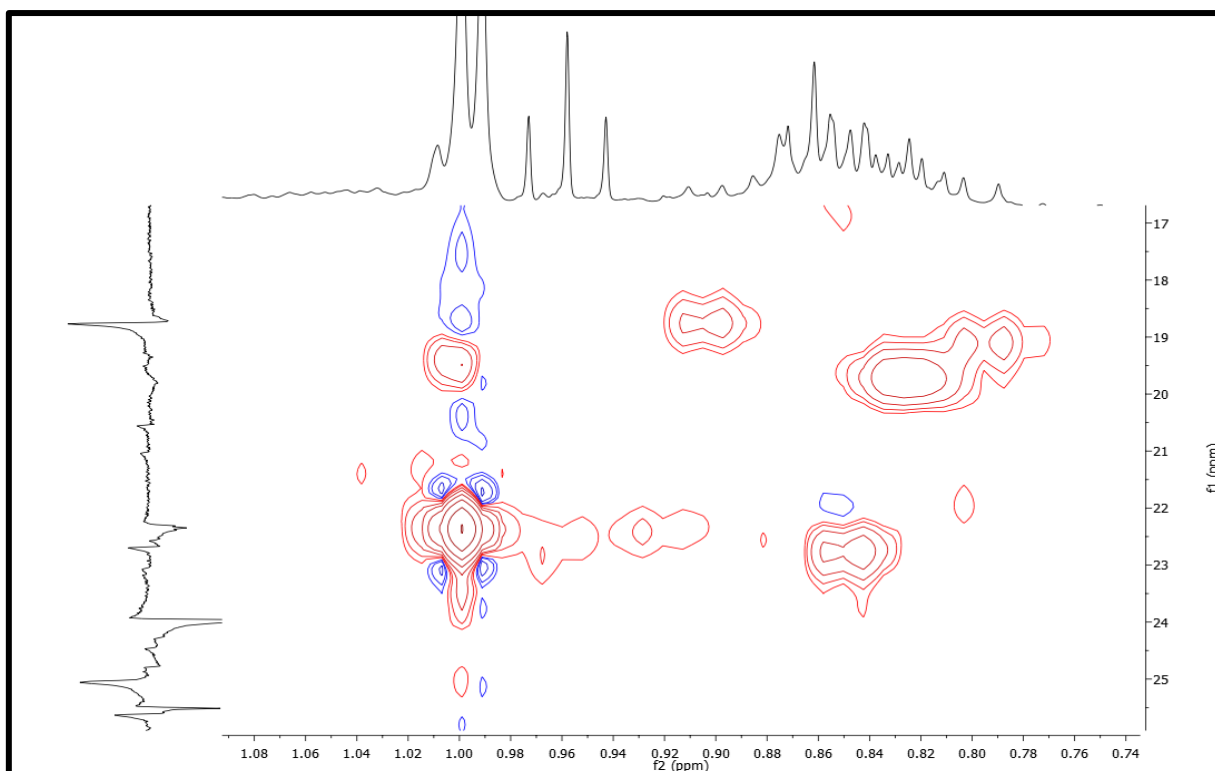


Figura 104 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 4,95-5,65 ppm x 62-74 ppm.

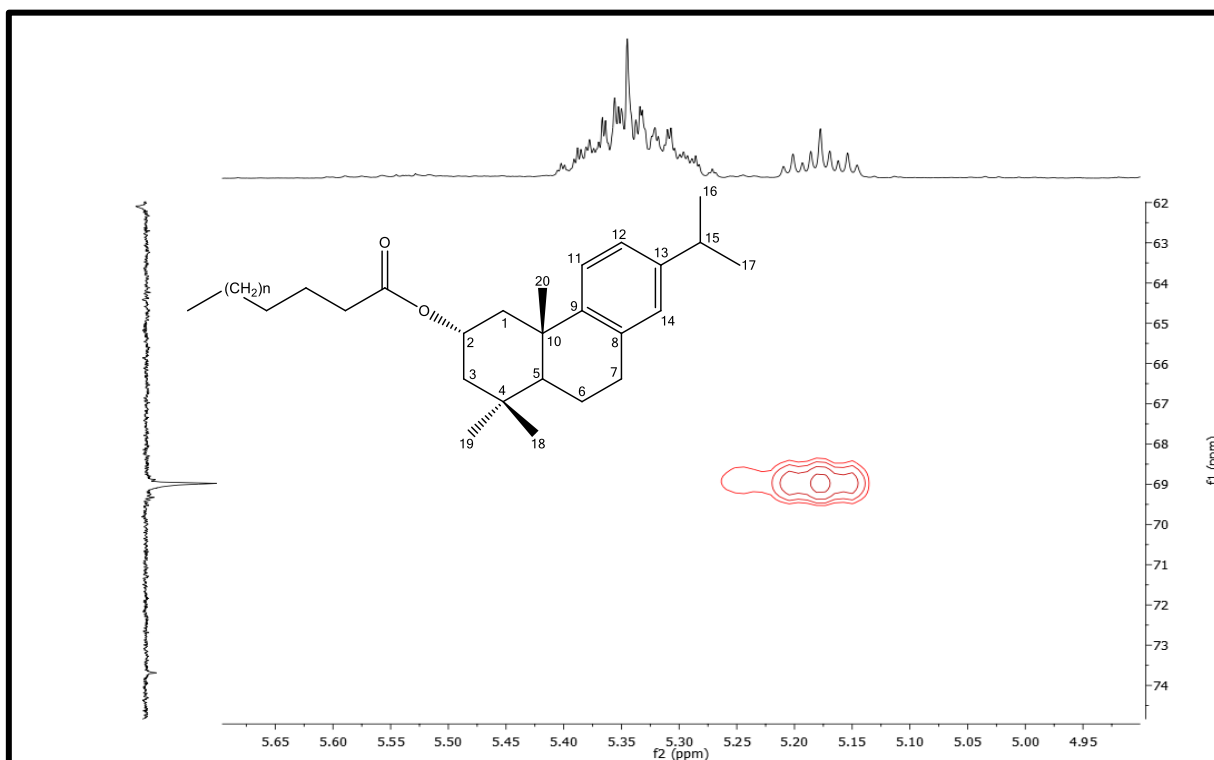


Figura 105 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,3-7,2 ppm x 120-134 ppm.

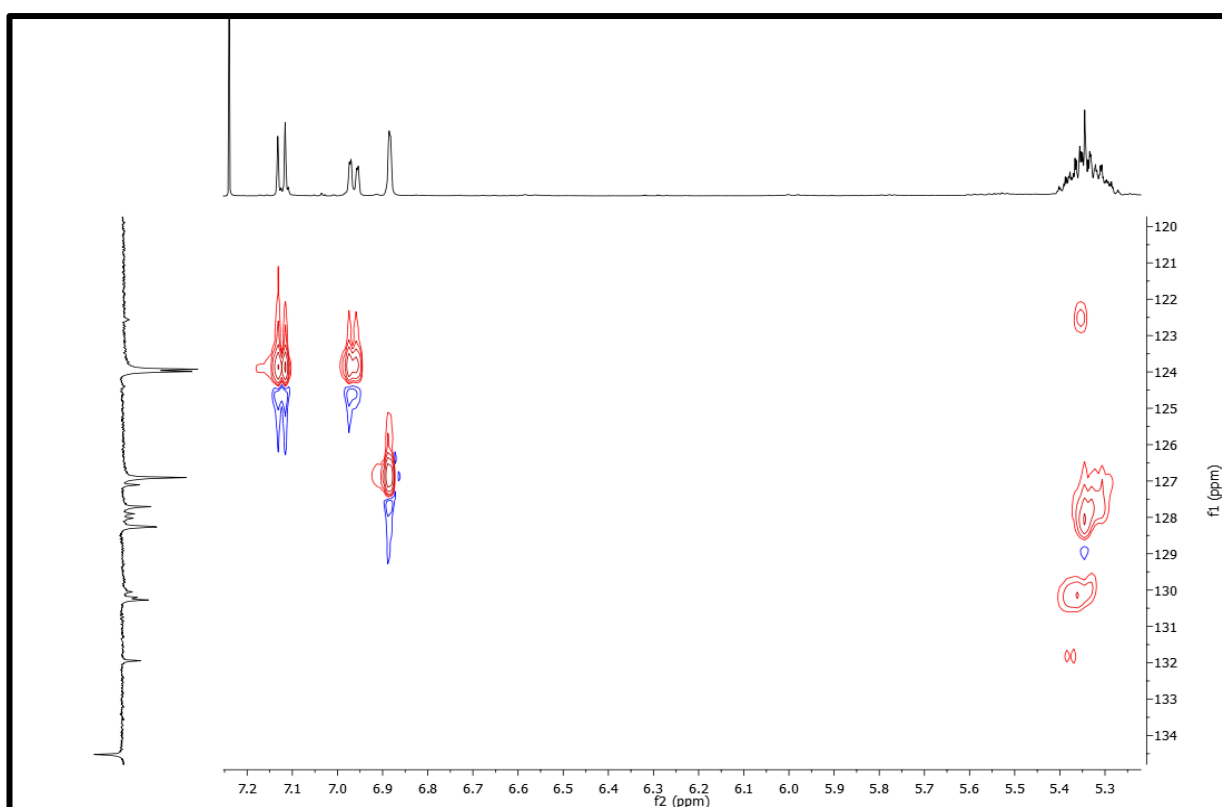


Figura 106 – Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

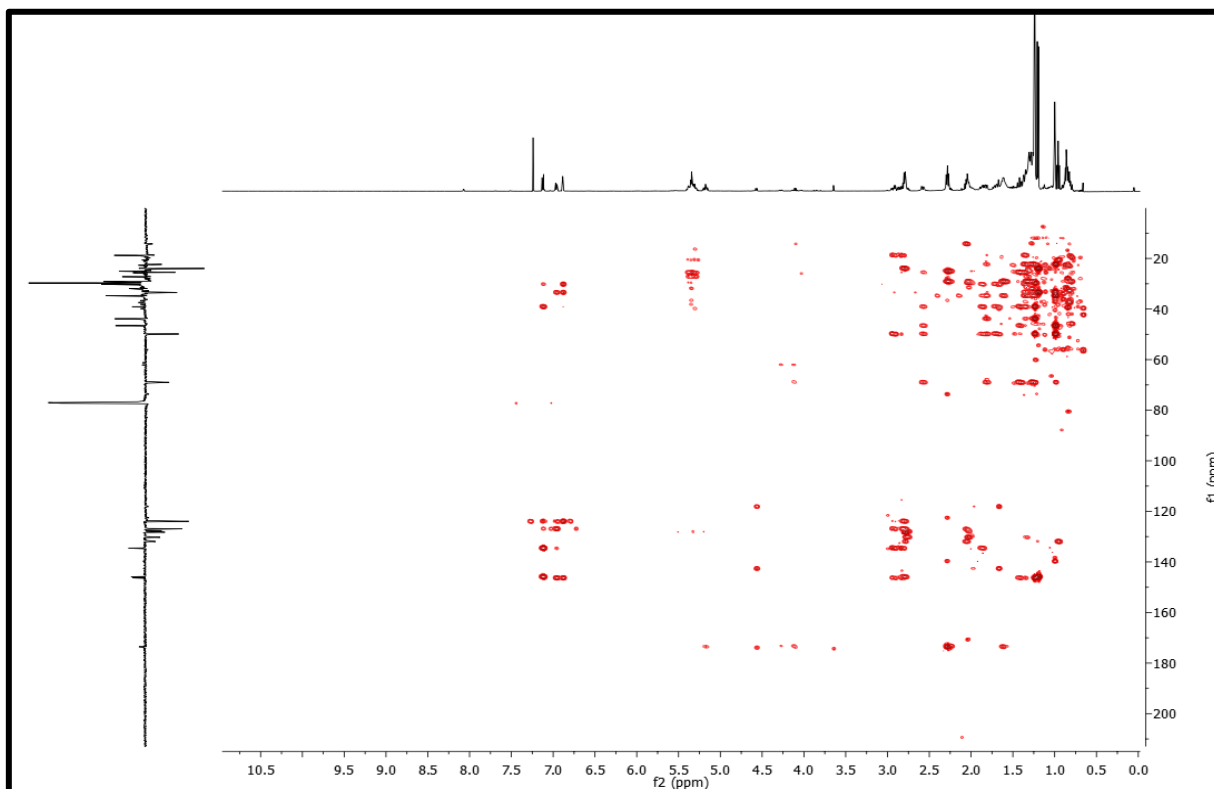


Figura 107 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 5,1-7,4 ppm x 10-50 ppm.



Figura 108 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,4-7,6 ppm x 120-155 ppm.

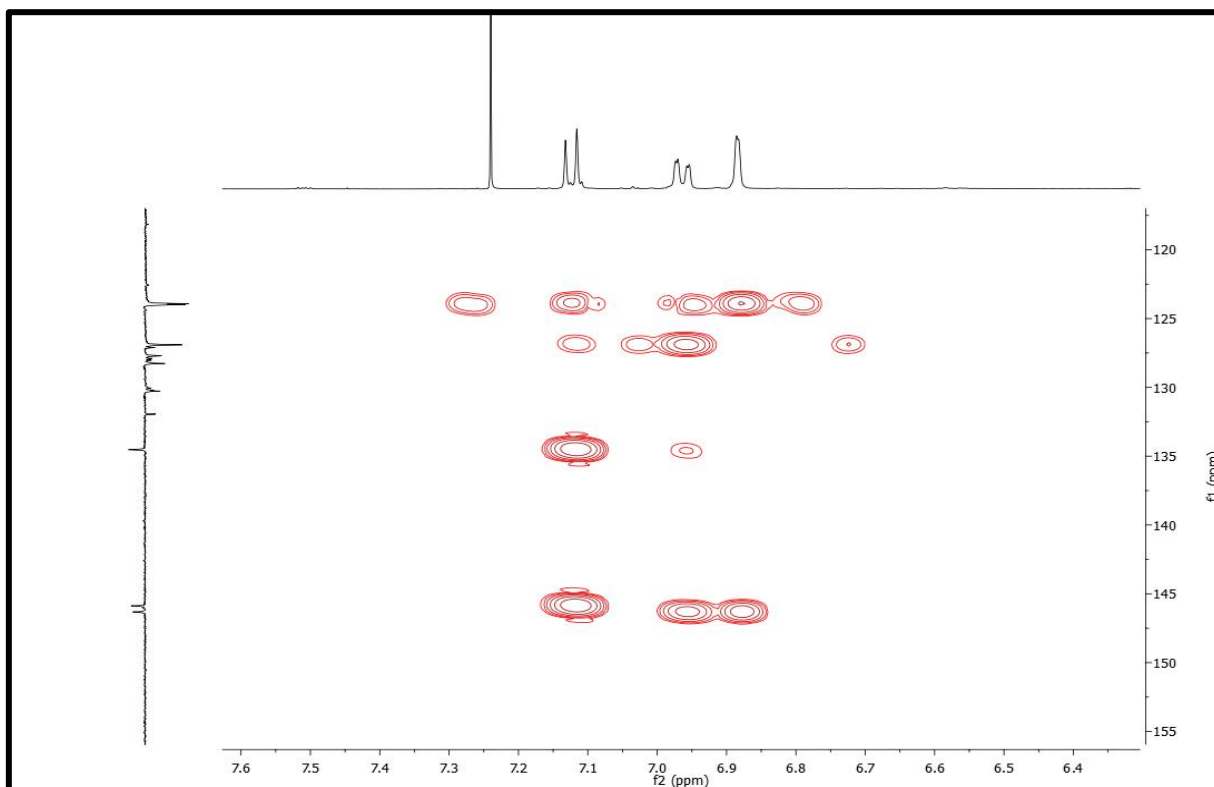


Figura 109 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,9-3,1 ppm x 110-180 ppm.

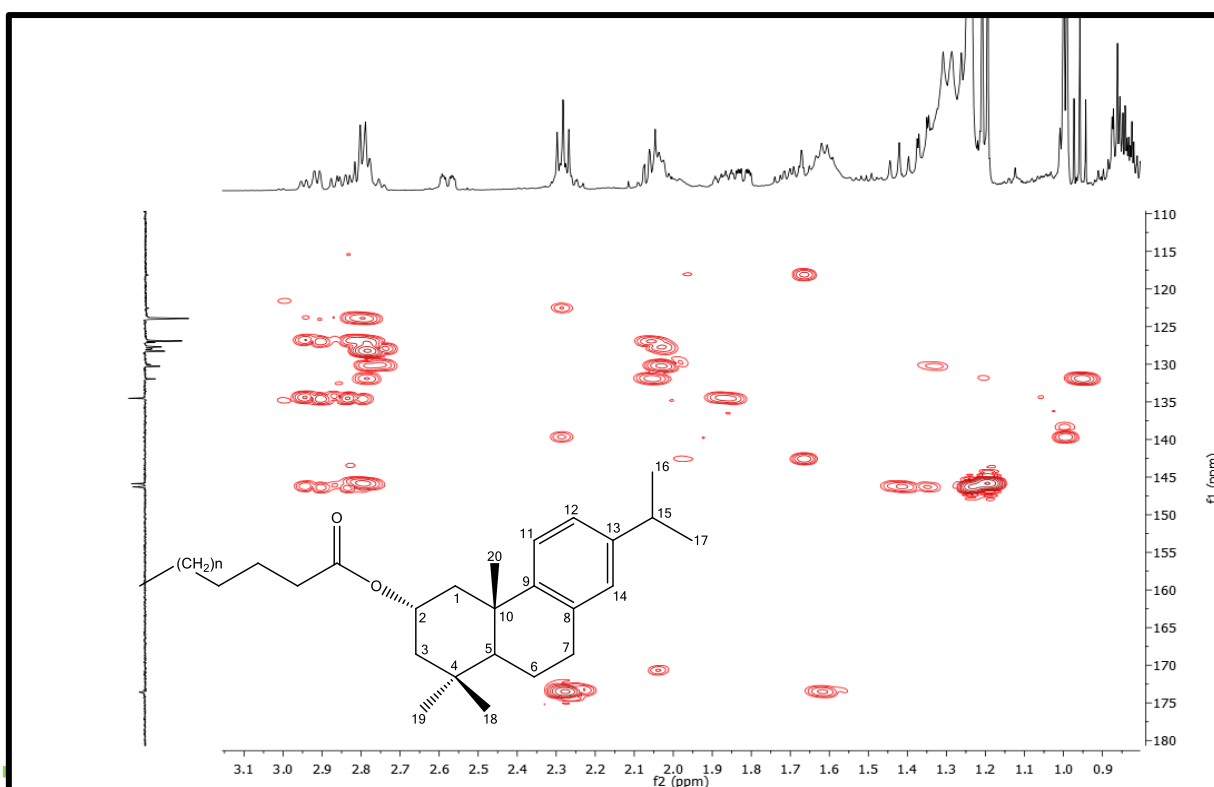


Figura 110 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,6-3,0 ppm x 10-75 ppm.

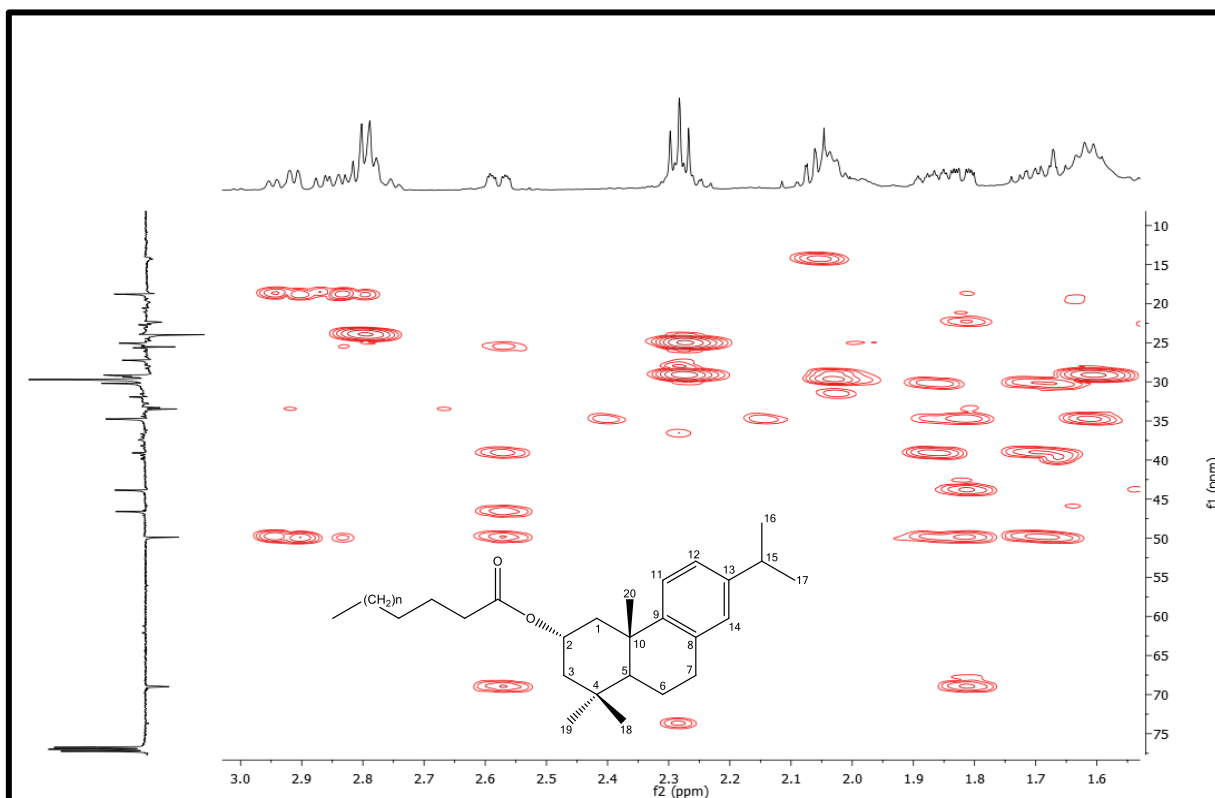


Figura 111 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,75-1,50 ppm x 18-40 ppm.

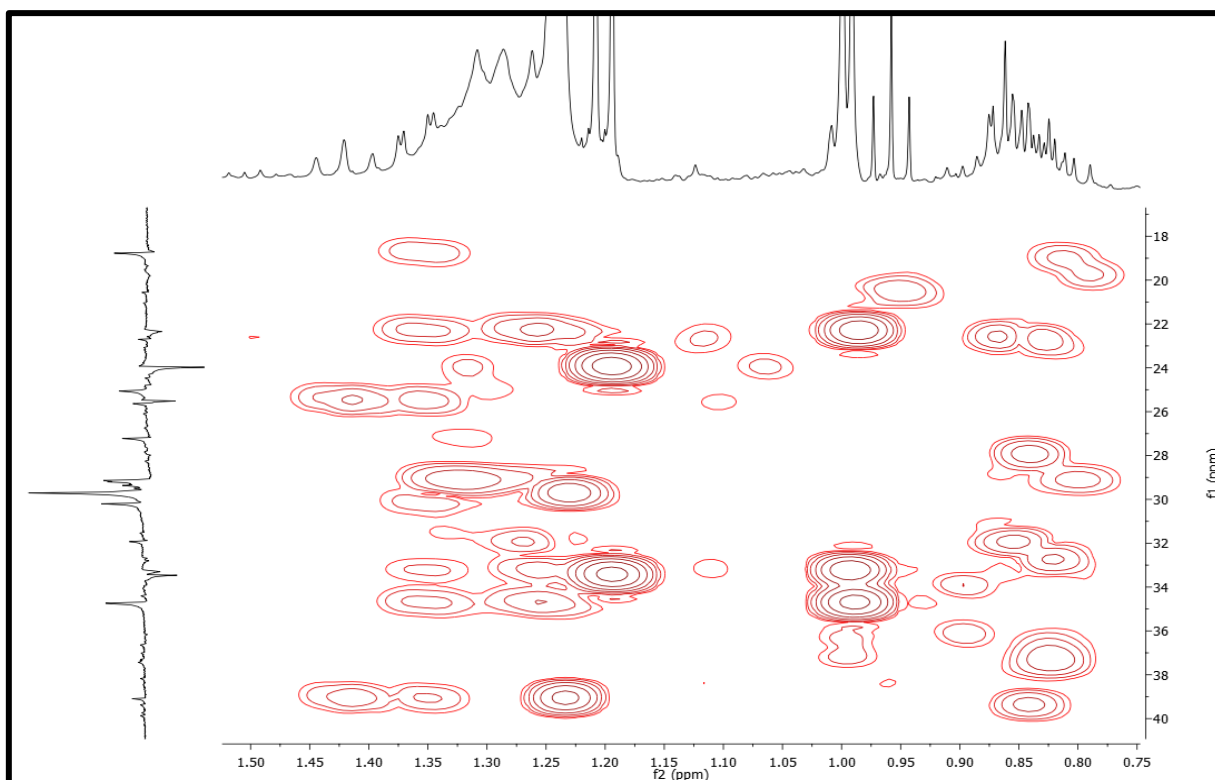


Figura 112 – Expansão do espectro de correlação de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,75-1,50 ppm x 44-72 ppm.

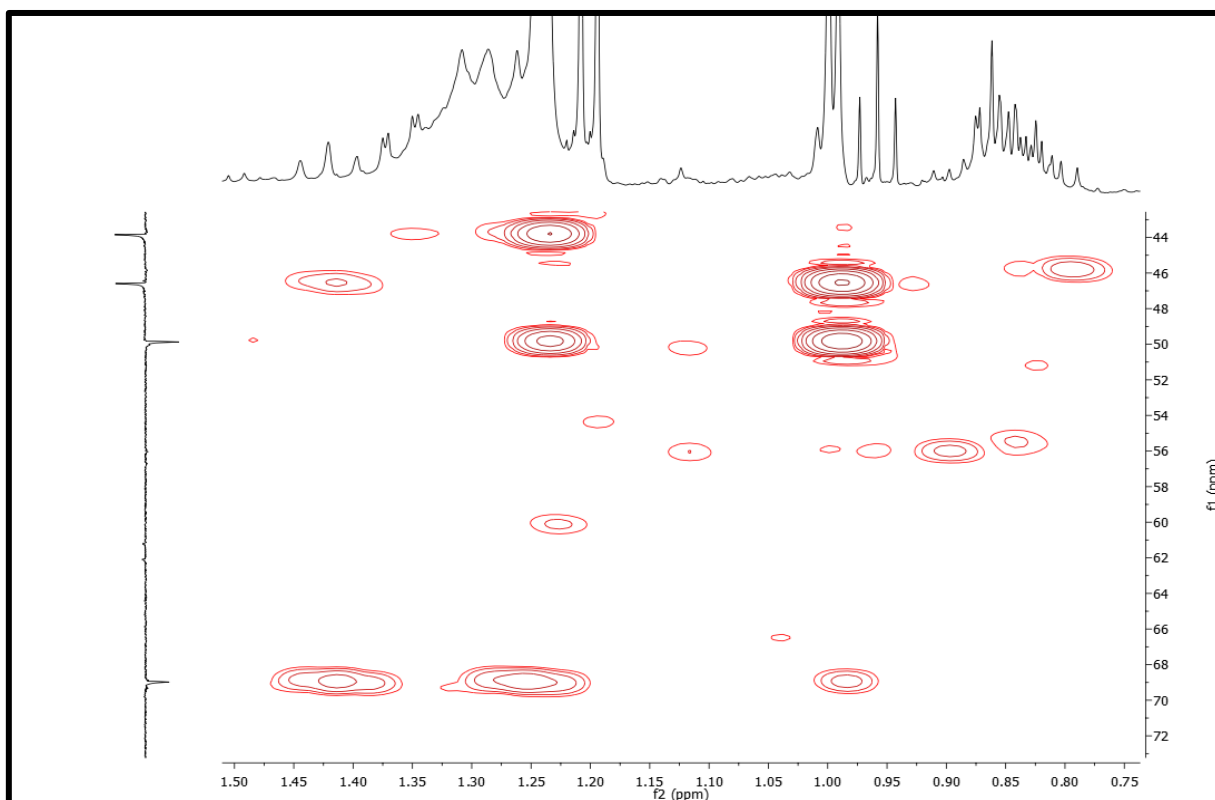


Figura 113 – Espectro de COSY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

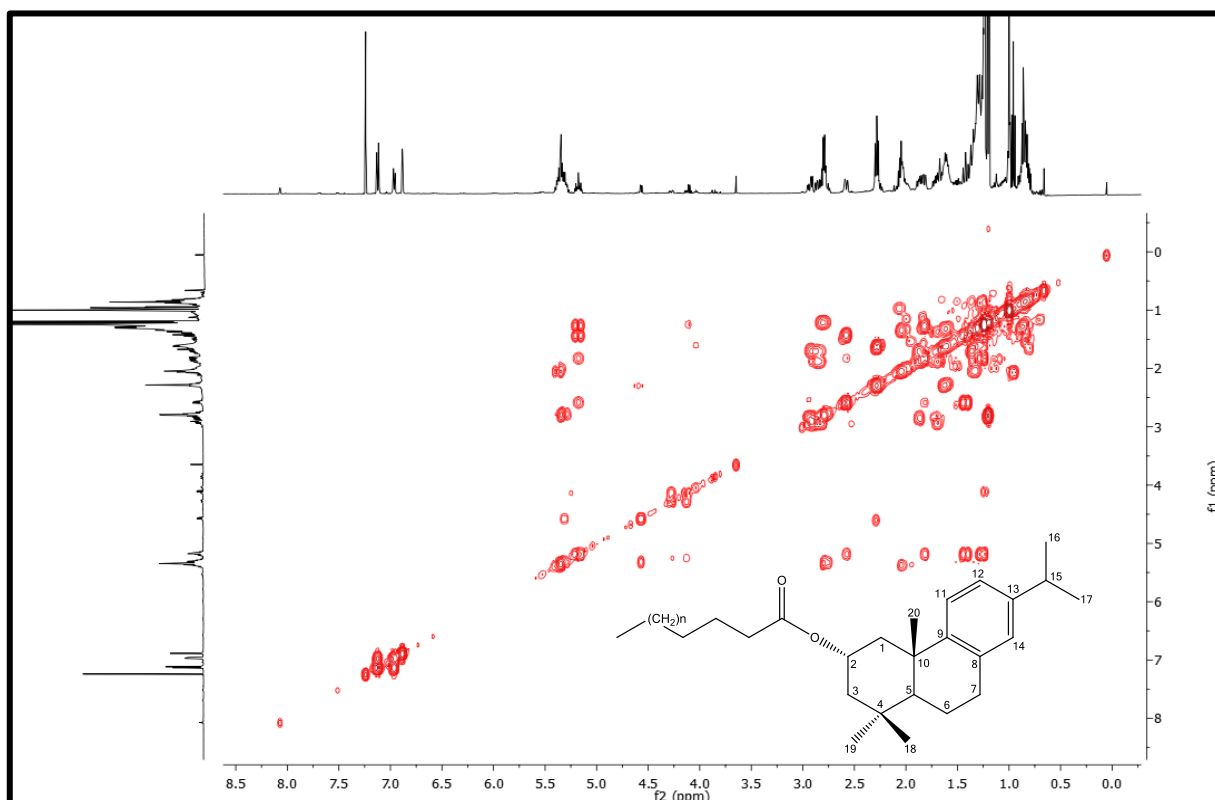


Figura 114 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 2,6-5,6 ppm.

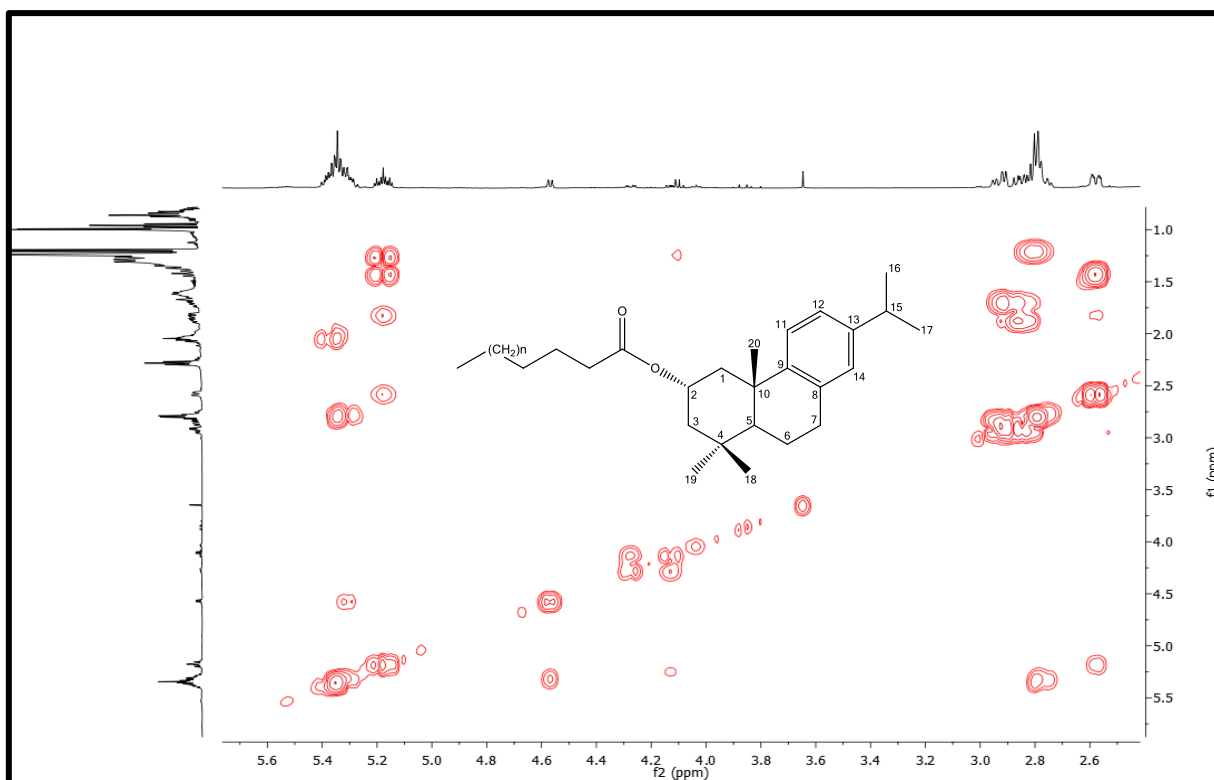


Figura 115 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 0,8-3,2 ppm x 0,6-3,1 ppm.

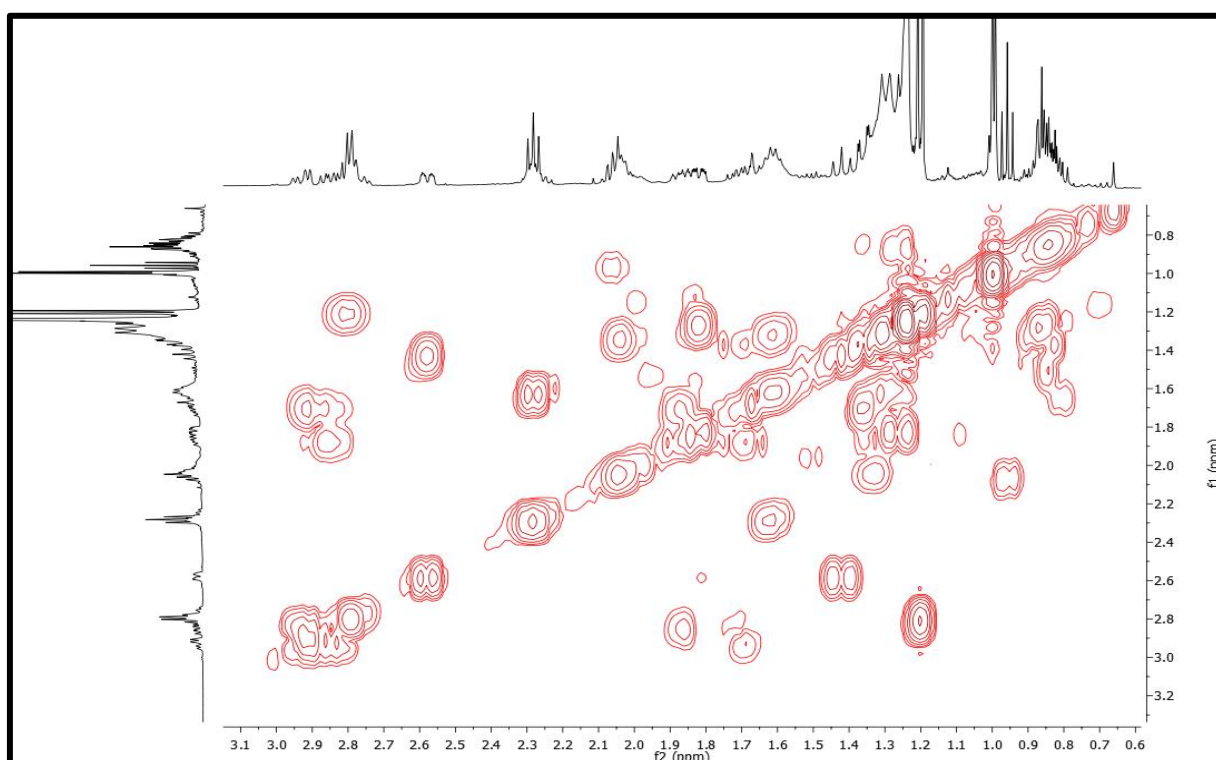


Figura 116 – Expansão do espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 6,7-7,5 ppm x 6,75-7,35 ppm.

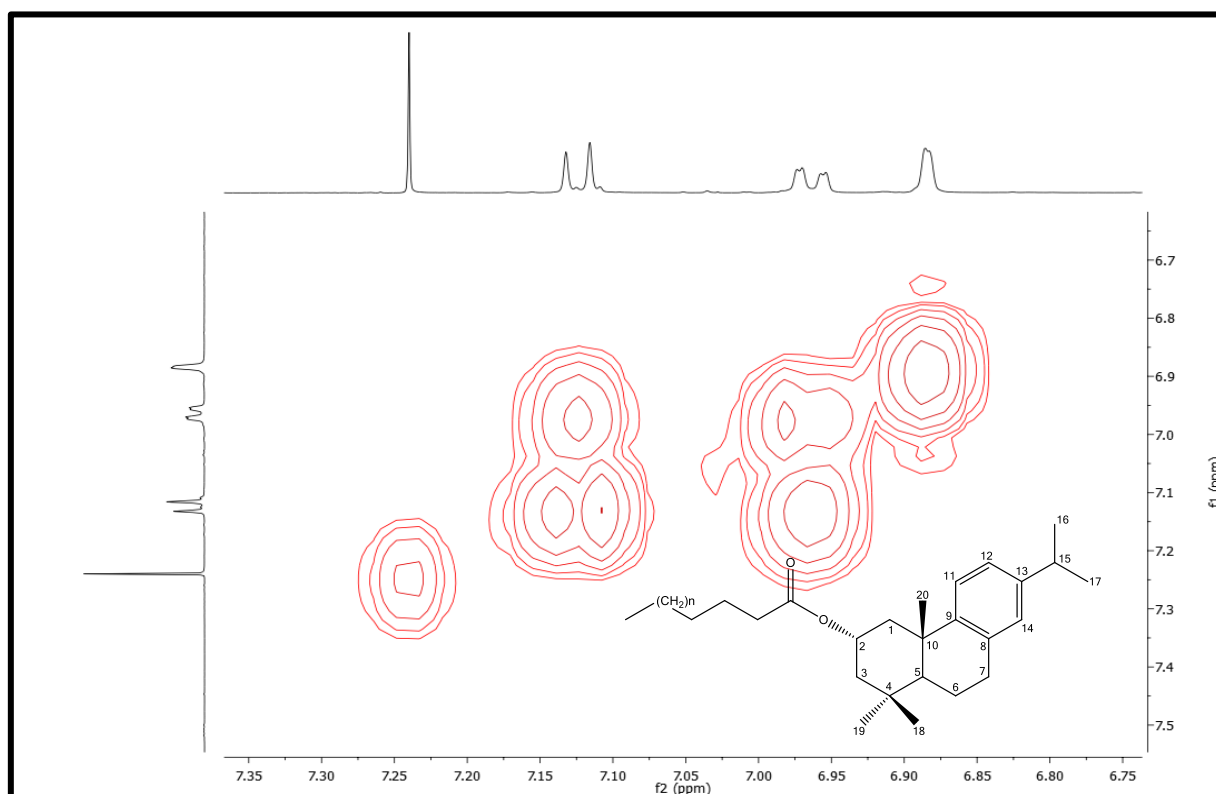


Figura 117 – Espectro de NOESY de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3.

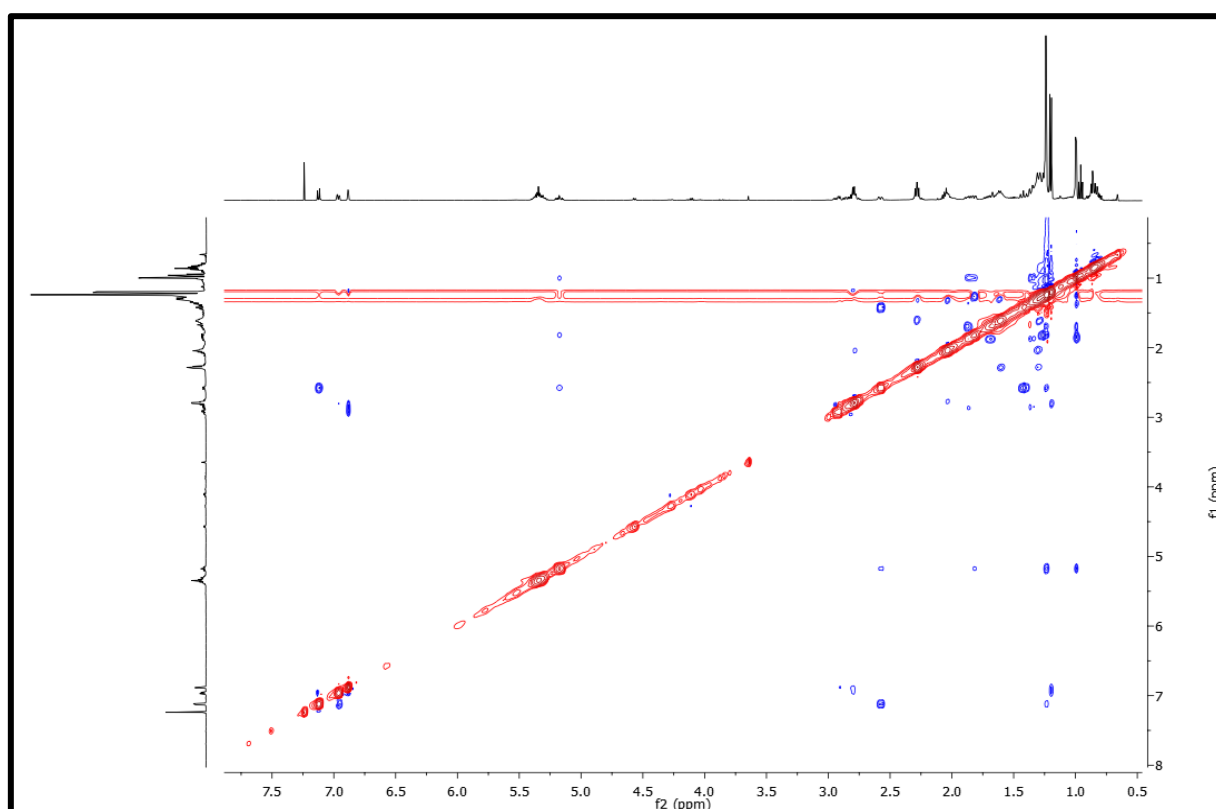


Figura 118 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 1,0-5,4 ppm.

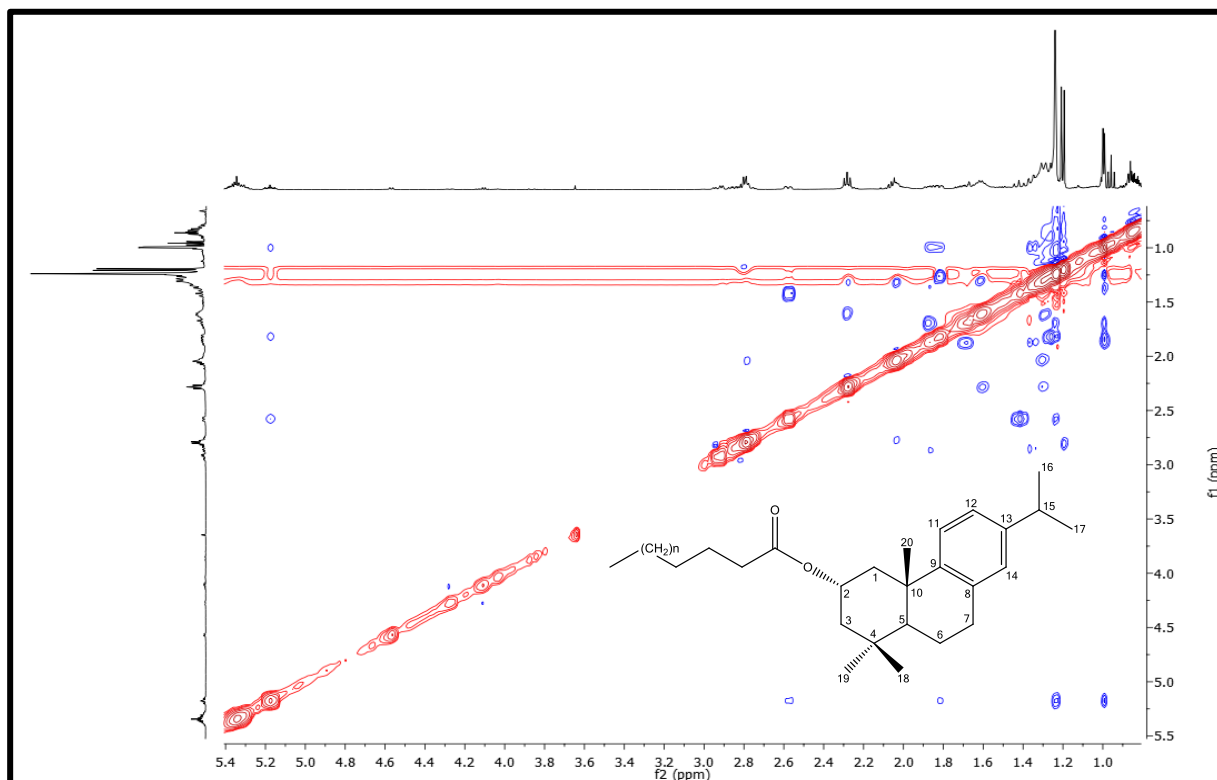
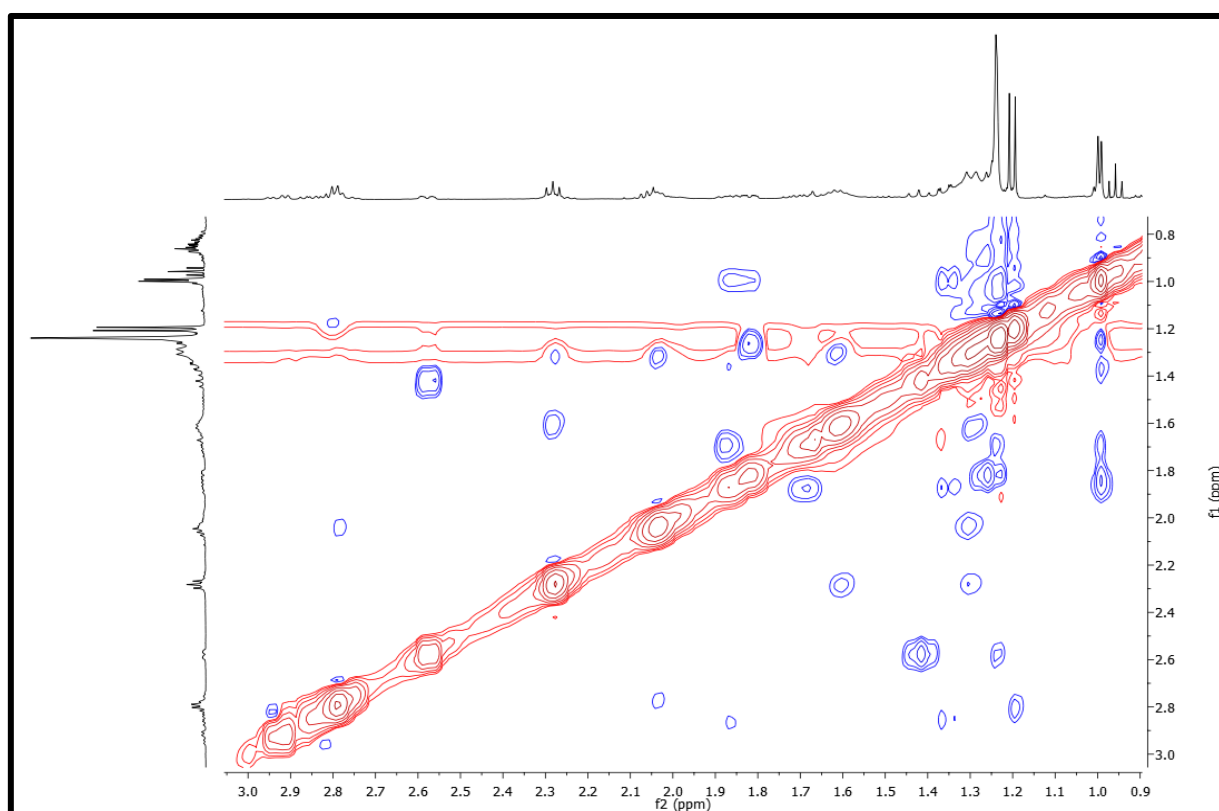


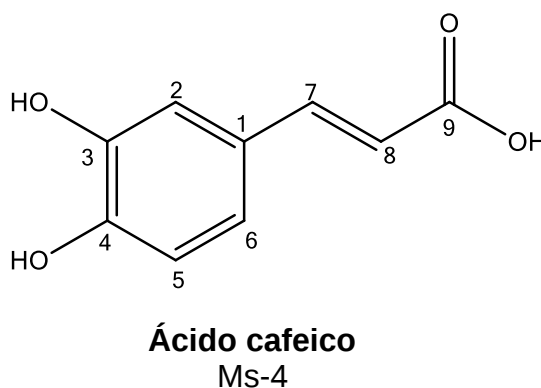
Figura 119 – Expansão do espectro NOESY (500 MHz, CDCl_3) de Ms-3 na região de 1,0-5,5 ppm x 1,0-5,4 ppm.



5.7 Identificação estrutural de Ms-4

A substância codificada como Ms-4 (Figura 120, p. 123) foi isolado na forma de um sólido oleoso amarelo com 32 mg de rendimento 0,0017% em relação ao pó da planta. No espectro de RMN ^1H (Figura 121-123, p. 125-126) foi possível observar dois dubletos em δ_{H} 7,50 e 6,19 com constante de acoplamento (J) de 16,0 e 15,5 Hz, respectivamente, que caracterizam uma ligação *trans* entre prótons olefínicos. Foi observado ainda os deslocamentos químicos em δ_{H} 7,02 (d, J = 2,0 Hz), 6,91 (dd, J = 8,0; 2,0 Hz) e 6,76 (d, J = 8,0 Hz) atribuídos aos hidrogênios aromáticos não substituídos, respectivamente. Esse grupo de prótons corroboram para um sistema 1,3,4-trissubstituído apresentando como característica um padrão do sistema AMX. Os demais dados de hidrogênio estão compilados na Tabela 11 (p. 124). Em comparação com a literatura (HYUN et al., 2015) (Tabela 11, p. 124) sugeriu tratar-se de um composto fenólico, o ácido cafeico.

Figura 120 – Estrutura química de Ms-4.



Foi observado no espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 123-124, p. 126), a presença de 9 sinais correspondentes a 9 átomos de carbonos. Destes, quatro foram atribuídos a átomos de carbonos não hidrogenados e cinco a átomos de carbonos metínicos. Um sinal em δ_{C} 171,03 foi correspondente ao carbono de carboxila, C-9. Os sinais em δ_{C} 147,0 e 115,4 foram atribuídos aos carbonos metínicos C-7 e C-8, respectivamente. Observou-se que os sinais em δ_{C} 146,7 e 149,3 correspondem, respectivamente, aos carbonos aromáticos C-3 e C-4 que estão ligados às hidroxilas fenólicas. Os deslocamentos químicos em δ_{C} 115,0; 116,4 e 122,8 correspondem aos carbonos aromáticos não-substituídos C-2, C-5 e

C-6 respectivamente.

Após análise de todos os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C e comparação com os dados da literatura (HYUN et al., 2015), foi possível confirmar que Ms-4 trata-se do ácido cafeico, que está sendo relatado pela primeira vez na espécie *Mesosphaerum sidifolium*.

Tabela 11 – Comparação dos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de Ms-4 em CD_3OD com os dados da literatura do ácido cafeico em CD_3OD .

Nº	Ms-4		Ácido cafeico (HYUN et al., 2015)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
1	127,7	--	127,7	--
3	146,7	--	147,2	--
4	149,3	--	149,4	--
9	171,0	--	171,1	--
CH				
2	115,0	7,02 (d, $J = 2,0$ Hz)	114,6	6,99 (d, $J = 2,0$ Hz)
5	116,4	6,76 (d, $J = 8,0$ Hz)	116,8	6,73 (d, $J = 8,0$ Hz)
6	122,8	6,91 (dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz)	123,3	6,88 (dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz)
7	147,0	7,50 (d, $J = 16,0$ Hz)	146,8	7,49 (d, $J = 16,0$ Hz)
8	115,4	6,19 (d, $J = 15,5$ Hz)	115,6	6,17 (d, $J = 16,0$ Hz)

Figura 121 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-4.

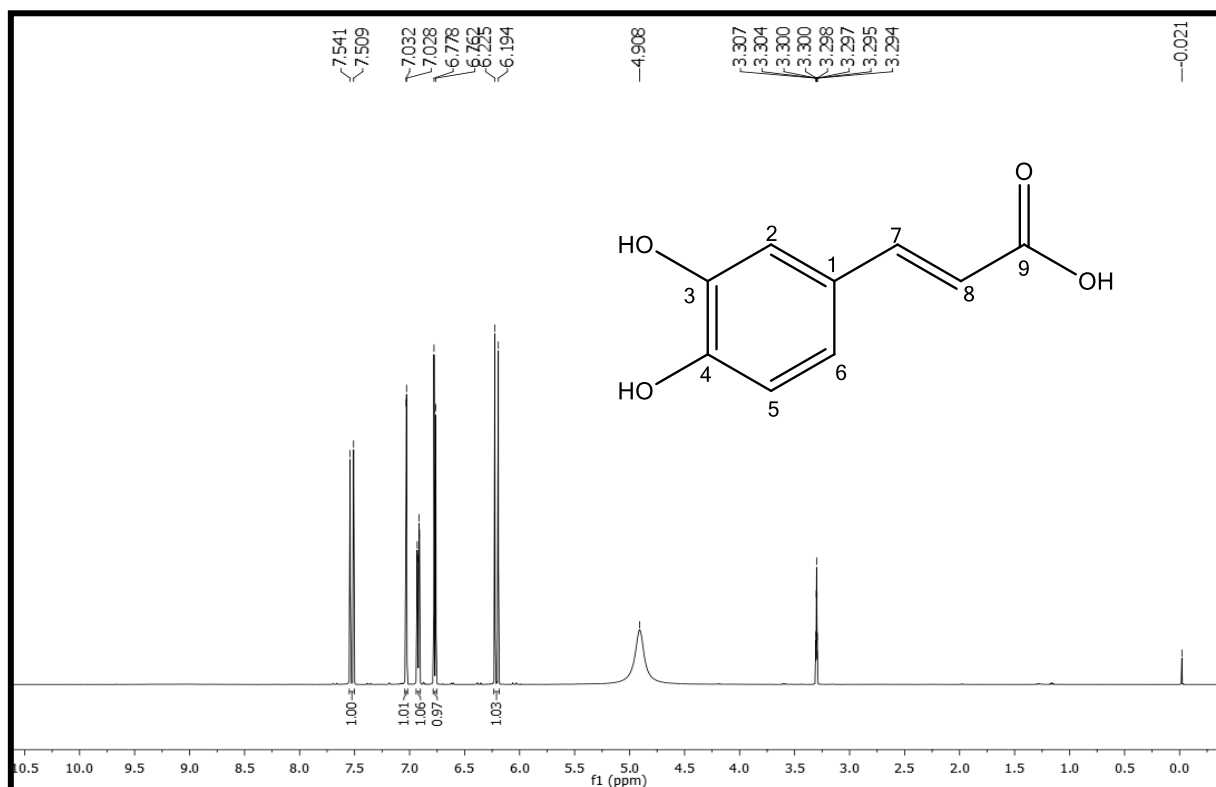


Figura 122 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-4 na região de 6,1-7,7 ppm.

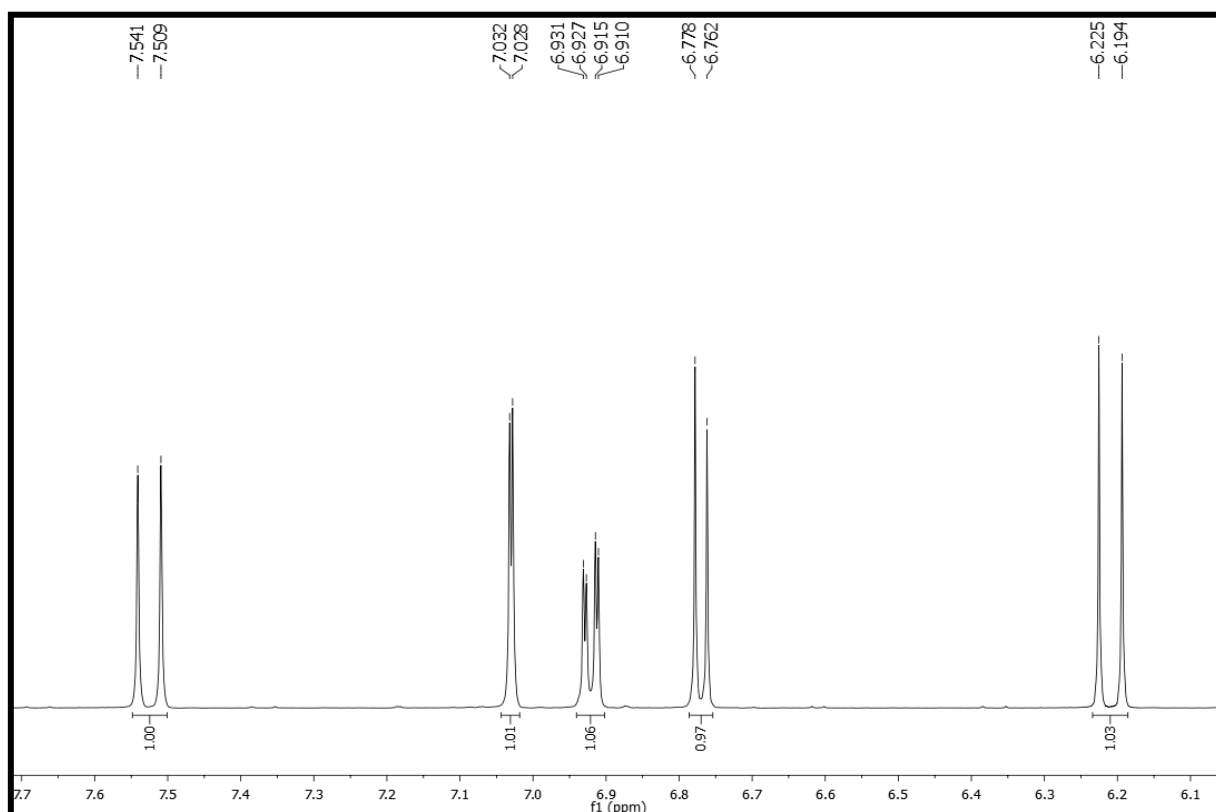


Figura 123 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de Ms-4.

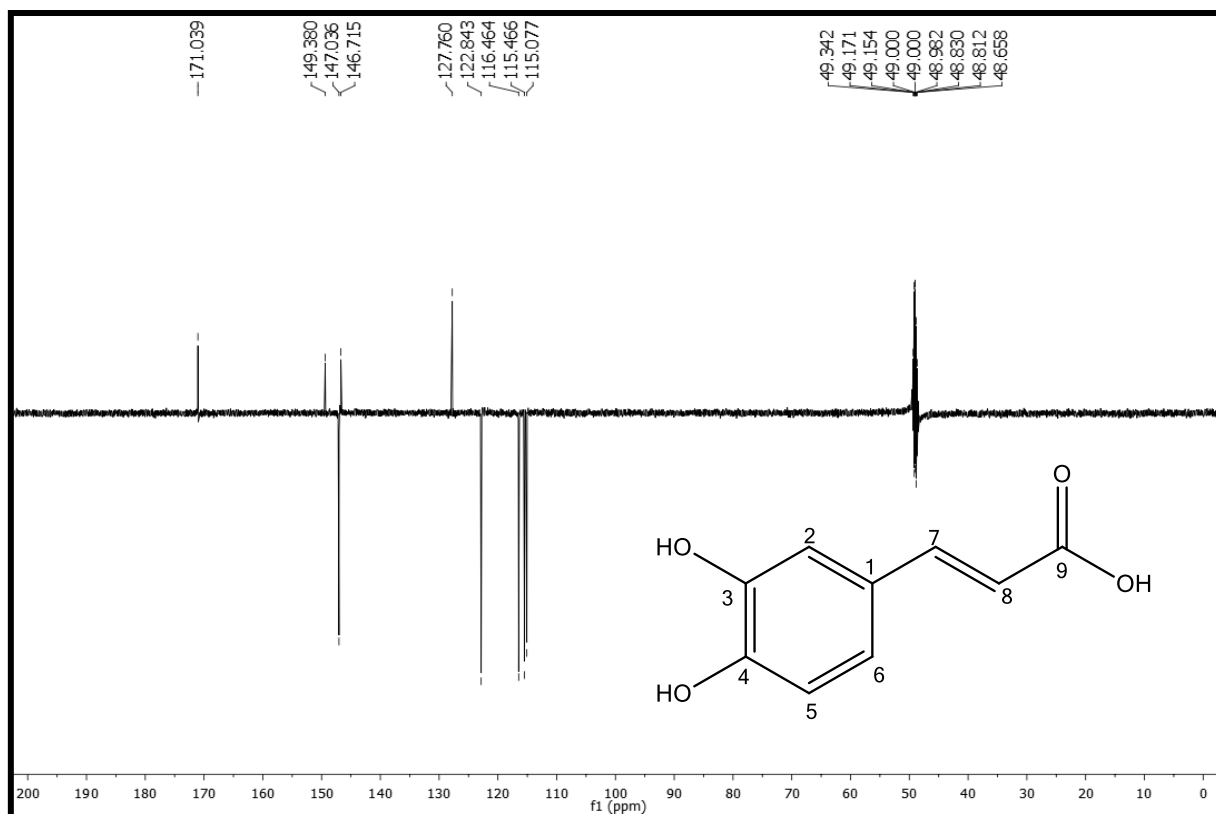
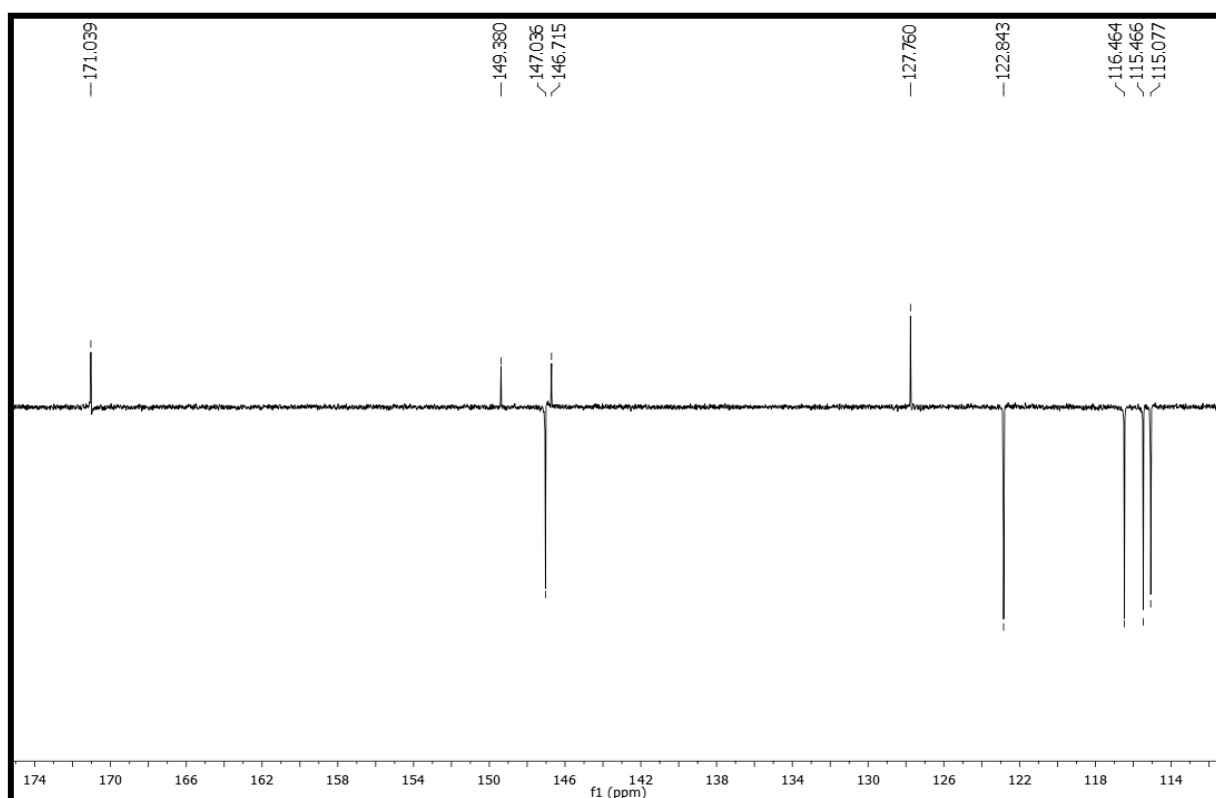


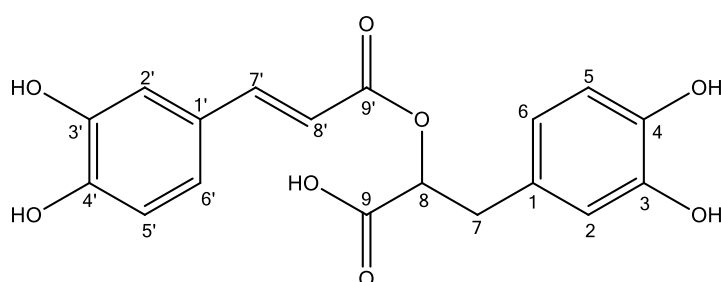
Figura 124 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz, CD_3OD) de Ms-4 na região de 114-174 ppm.



5.8 Identificação estrutural de Ms-5

A substância codificada como Ms-5 (Figura, 127, p. 129) foi isolado na forma de um óleo marrom com 95 mg e rendimento de 0,0047% em relação ao pó da planta. O espectro de infravermelho de Ms-5 (Figura 126, p. 130) mostrou absorções em 1.712 cm^{-1} referente ao estiramento C=O de éster conjugado, em 3.383 cm^{-1} que é caracteriza a presença de hidroxila fenólica.

Figura 125 – Estrutura química de Ms-5.



Ácido Rosmarínico
Ms-5

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura, 131-132, p.132-133), observou-se a presença de 18 sinais correspondentes a 18 carbonos. Destes, oito foram atribuídos a átomos de carbonos não hidrogenados, nove a átomos de carbonos metínicos e um a átomo de carbono metilênico. Foi observado um sinal em δ_{C} 168,4 correspondente ao C-9' de carbono de carboxila e um sinal em δ_{C} 173,6 indicativo de carbono de carbonila de éster, C-9. Os sinais em δ_{C} 145,0; 145,9; 146,5 e 149,5 correspondem, respectivamente, aos carbonos aromáticos 4, 3, 3' e 4' ligados às hidroxilas fenólicas. Os sinais em δ_{C} 121,8; 116,2; 117,5; 123,1; 116,4 e 115,1 correspondem aos carbonos aromáticos não-substituídos 6, 5, 2, 6', 5' e 2', respectivamente. Observou-se ainda os sinais em δ_{C} 37,7 e 74,5, que foram atribuídos aos carbonos metínicos C-7 e C-8, respectivamente. O deslocamento químico em δ_{C} 37,7 foi atribuído ao carbono metilênico C-7. Os demais sinais estão compilados na Tabela 12 (p. 128).

O espectro de RMN ^1H (Figura 127-130, p. 130-132) apresenta dois dubletos em δ_{H} 7,55 e 6,27 com constante de acoplamento (J) de 15,5 e 16,0 Hz, respectivamente, que caracterizam uma ligação *trans* entre prótons olefínicos. Foi

observado ainda os deslocamentos químicos em δ_H 3,10 (dd, $J = 14,5$; 4,5 Hz) e 3,01 (dd, $J = 14,5$; 8,5 Hz) atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-7a e H-7b, respectivamente. Os sinais em δ_H 6,74 (d, $J = 2,0$ Hz); 6,70 (d, $J = 8,0$ Hz); 6,60 (dd, $J = 8,0$; 2,0 Hz); 7,03 (d, $J = 2,0$ Hz); 6,78 (d, $J = 8,0$ Hz) e 6,95 (dd, $J = 8,5$; 2,0 Hz), representam os hidrogênios ligados aos carbonos aromáticos H-2, H-5, H-6, H-2', H-5' e H-6', respectivamente. Esses dois grupos de prótons corroboram para um sistema 1,3,4-trissubstituído caracterizando um padrão do sistema AMX. Os demais dados de hidrogênio estão compilados na Tabela 12 (p. 128).

Sendo assim, após comparação dos dados de RMN de 1H e de ^{13}C de Ms-5 com os dados descritos na literatura (LUCENA, 2012), foi possível definir que Ms-5 se trata do ácido rosmarínico, que está sendo relatado pela primeira vez na espécie *Mesosphaerum sidifolium*.

Tabela 12 – Comparação dos dados de RMN de 1H e de ^{13}C de Ms-5 com os dados da literatura do ácido rosmarínico.

Nº	Ms-5		Ácido Rosmarínico (LUCENA, 2012)	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
C				
1	129,1	--	129,2	--
3	145,9	--	146,0	--
4	145,0	--	145,2	--
9	173,6	--	174,4	--
1'	127,5	--	127,5	--
3'	146,5	--	146,7	--
4'	149,5	--	149,6	--
9'	168,4	--	168,4	--
CH				
2	117,5	6,74 (d, $J = 2,0$ Hz)	117,5	6,75 (d, $J = 2,0$ Hz)
5	116,2	6,70 (d, $J = 8,0$ Hz)	116,2	6,70 (d, $J = 8,0$ Hz)
6	121,8	6,61 (dd, $J = 8,0$; 2,0 Hz)	121,7	6,60 (dd, $J = 8,0$; 2,0 Hz)
8	74,5	5,17 (dd, $J = 8,5$; 4,0 Hz)	74,6	5,18 (dd, $J = 8,0$; 4,0 Hz)
2'	115,1	7,03 (d, $J = 2,0$ Hz)	115,1	7,03 (d, $J = 2,0$ Hz)
5'	116,4	6,78 (d, $J = 8,0$ Hz)	116,4	6,77 (d, $J = 8,0$ Hz)
6'	123,1	6,95 (dd, $J = 8,5$; 2,0 Hz)	123,1	6,94 (dd, $J = 8,0$; 2,0 Hz)
7'	147,6	7,55 (d, $J = 15,5$ Hz)	147,6	7,54 (d, $J = 16,0$ Hz)
8'	114,2	6,27 (d, $J = 16,0$ Hz)	114,3	6,26 (d, $J = 16,0$ Hz)

CH₂

7	37,7	3,10 (dd, $J = 14,5; 4,5$ Hz)	37,8	3,10 (dd, $J = 14,5; 4,5$ Hz)
		3,01 (dd, $J = 14,5; 8,5$ Hz)		3,01 (dd, $J = 14,5; 8,5$ Hz)

Figura 126 – Espectro de IV de Ms-5 obtido em pastilhas de KBr.

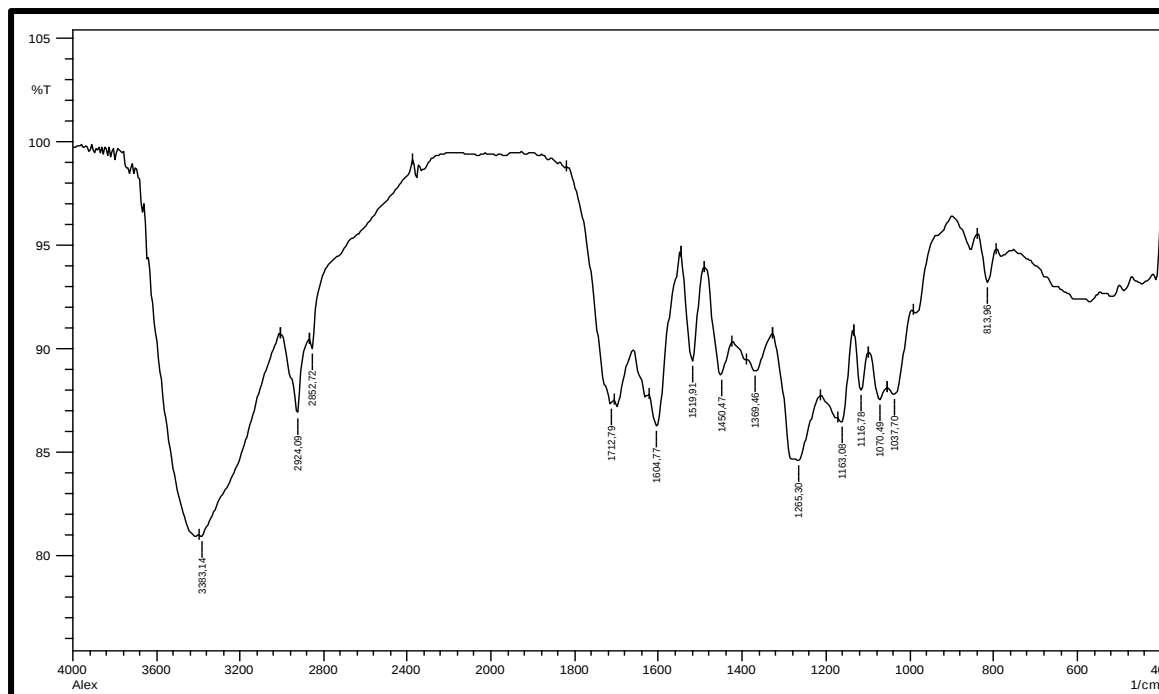


Figura 127 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de Ms-5.

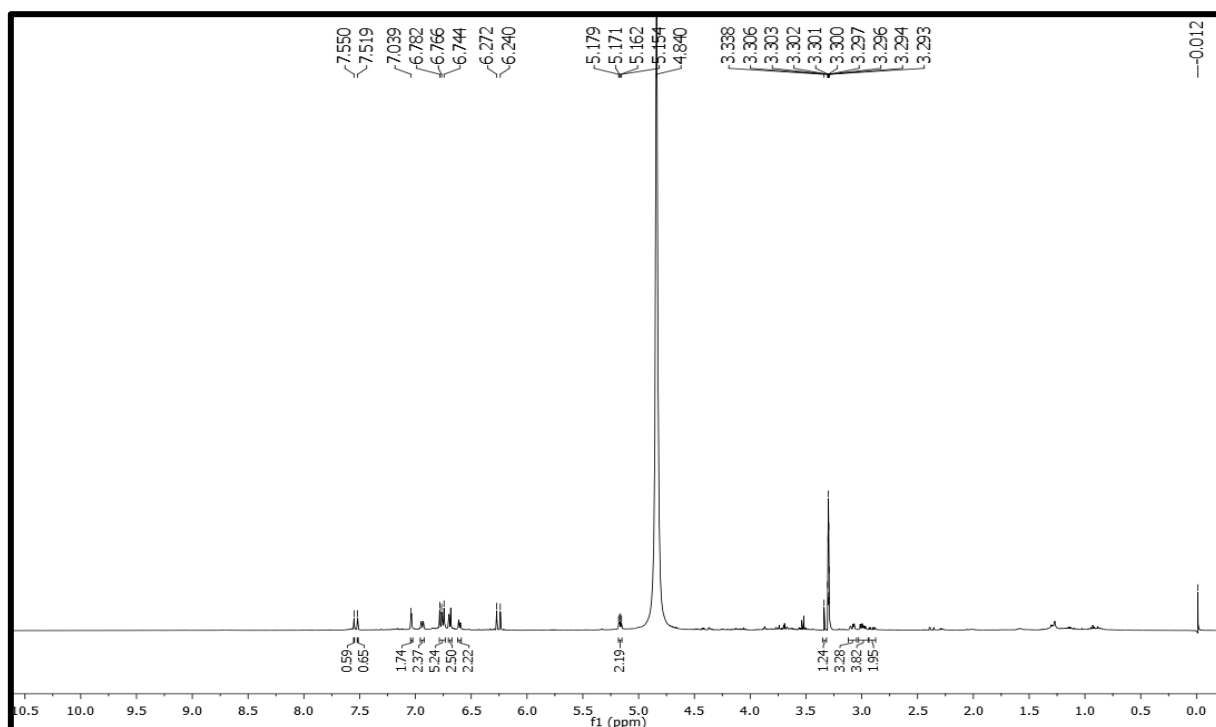


Figura 128 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 6,20-7,60 ppm.

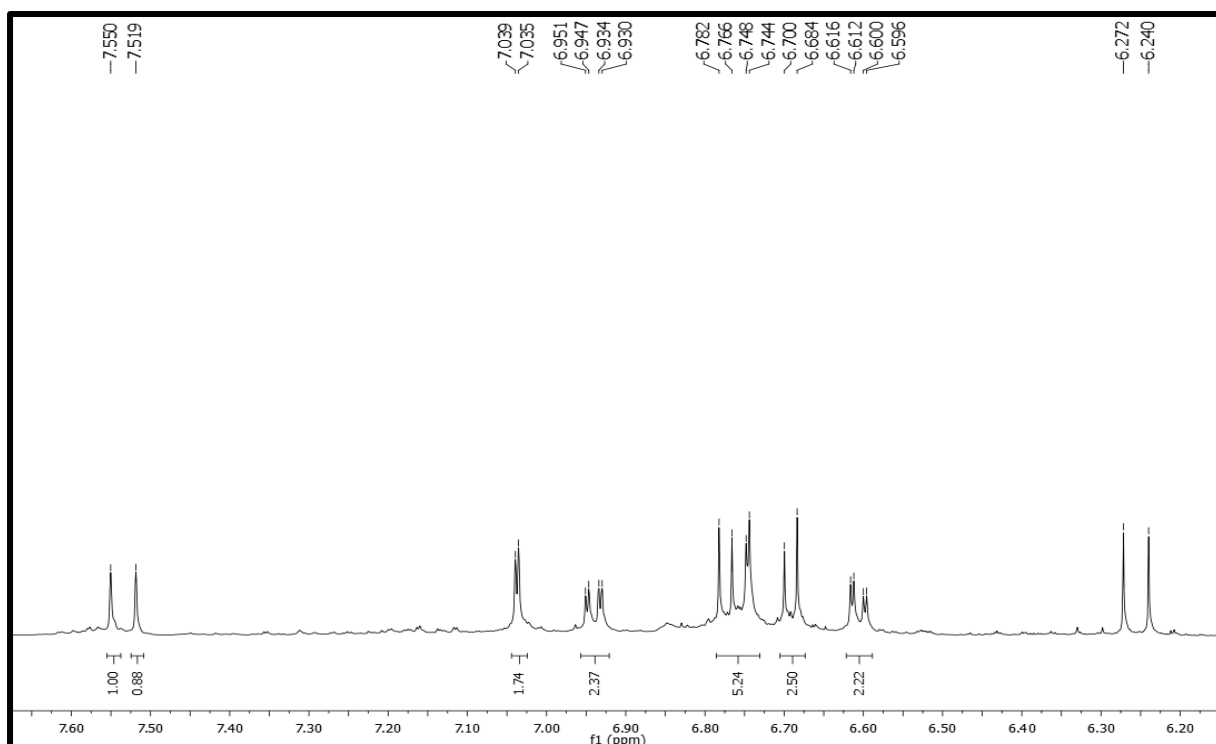


Figura 129 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 3,5-5,2 ppm.

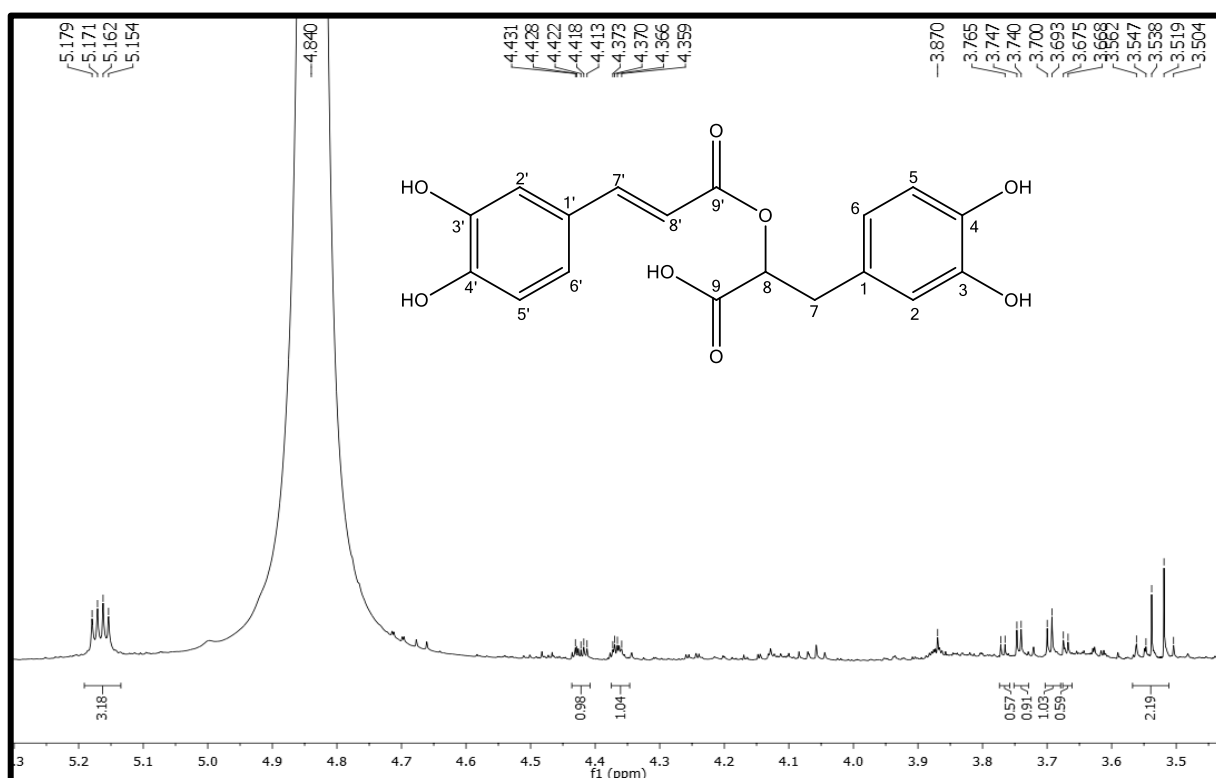


Figura 130 – Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 2,35-3,15 ppm.

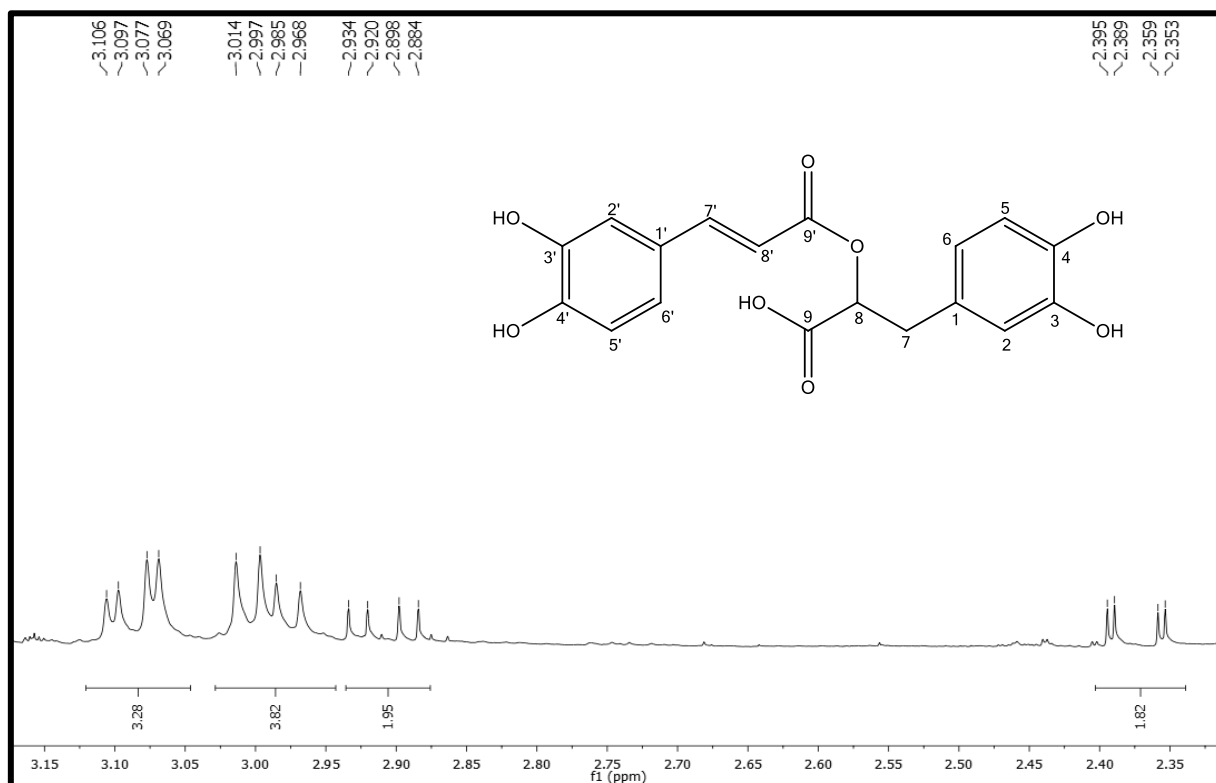


Figura 131 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) de Ms-5.

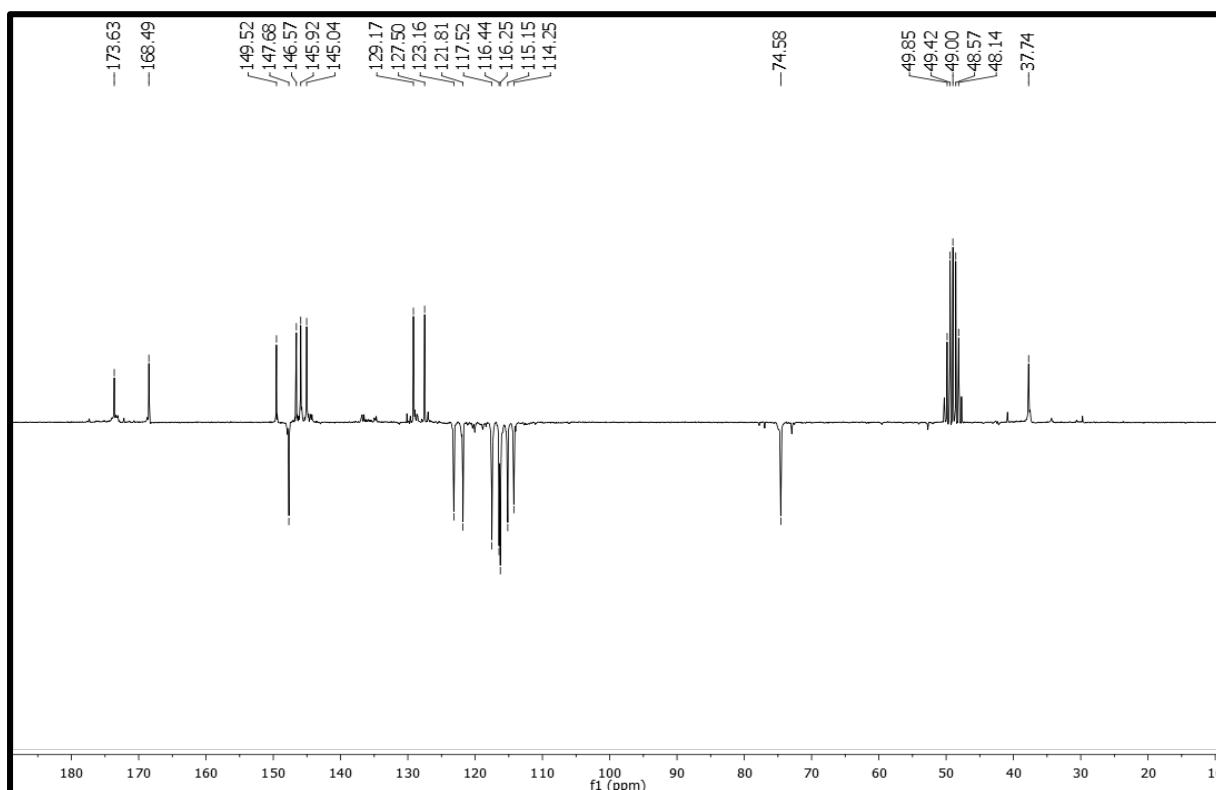
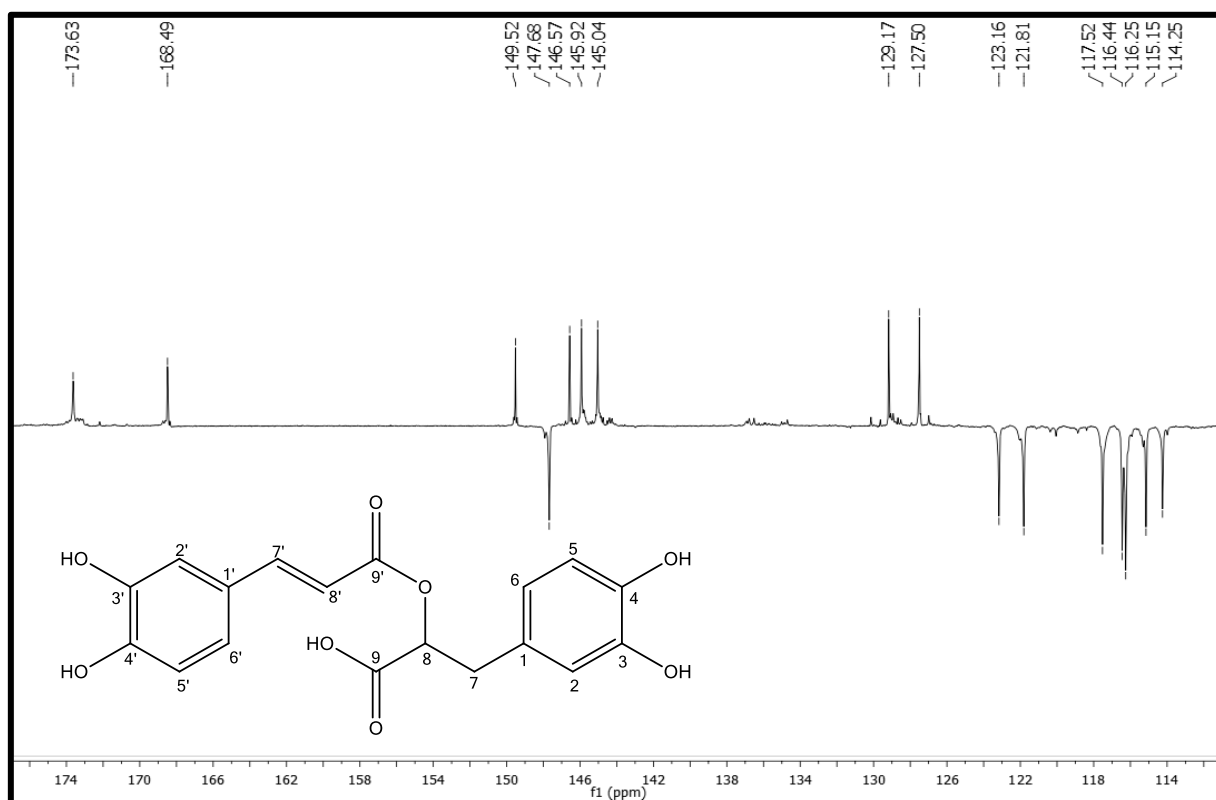


Figura 132 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, CD_3OD) de Ms-5 na região de 114-174 ppm.



Conclusões

6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico das espécies de Hyptidinae, *L. macrostachys* e *M. sidifolium*, resultou no isolamento de oito substâncias químicas, sendo as substâncias pertencentes a duas classes de metabólitos, os terpenoides e compostos fenólicos.

Da fase acetato de etila da espécie *L. macrostachys* foram isolados um diterpeno caurano, o ácido *ent*-3 β -acetoxi-caur-15-eno-17-oico, também foi obtido o triterpeno, ácido oleanólico e o 3- β -acetoxi-oleano-12-en-28-oico (acetato do ácido oleanólico), que havia sido isolado por COSTA, 2013 na fase diclorometânica. Sendo assim, observou-se a presença de duas classes de metabólitos secundários, mesmo diante de uma mudança no local de coleta da planta, pois no estudo feito anteriormente por (COSTA, 2013) a coleta foi realizada numa Serra (altitude), já nesse estudo a coleta se deu em local plano a nível do mar e em épocas diferentes, mesmo assim a constituição química da planta permaneceu semelhante, diferindo apenas no tipo de terpeno isolado.

Do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas e dos caules de *M. sidifolium* foram isolados três diterpenos abietanos, o Pormiferin E, o 2 α -hidroxisugiol e o derivado esterificado do Pormiferin D e dois compostos fenólicos, o ácido cafeico e o ácido rosmarínico, todos relatados pela primeira vez no gênero *Mesosphaerum*. Diante dos constituintes químicos obtidos de *Mesosphaerum sidifolium*, observou-se a predominância dos diterpenos abietanos o que levou a sugerir que possivelmente eles são marcadores químicos desta espécie. Em comparação com a espécie *L. macrostachys* podemos observar que os diterpenos abietanos não são comuns nesta espécie, mas sim, outros tipos de diterpenos, bem como as lactonas.

Portanto, através da identificação estrutural das oito substâncias isoladas, os resultados obtidos contribuem para a ampliação do conhecimento químico das espécies do semiárido paraibano, *L. macrostachys* e *M. sidifolium*.

Referências

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472-508, 2008.

ARAÚJO, E. C. C., LIMA, M. A. S., SILVEIRA, E. R. Spectral assignments of new diterpenes from *Hyptis martiusii* Benth. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 42, p. 1049-1052, 2004.

Argenta, S. C.; Argenta, L. C.; Giacomelle S. R.; Cezarroto V. S., Plantas medicinais: Cultura popular versus Ciência. **Vivências: Revista Eletrônica de Extensão da URI**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.

ARRIGONI-BLANKA, M. F.; ANTONIOLLI, A. R.; CAETANO, L. C.; CAMPOS, D. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B. Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. **Phytomedicine**, v. 15, p. 334-339, 2008.

BAJPAI, V. K.; KANG, S. C. Isolation and characterization of biologically active secondary metabolites from *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. **Journal of Food Safety**, v. 31, p. 276-283, 2011.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. F.; ROCHA, E. A.; LEAL, C. K. A.; ABRANTES, H. F. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 4, p. 518-525, 2006.

BISIO, A.; SCHITOB, A. M.; PARRICCHIA, A.; MELEA, G.; ROMUSSIA, G.; MALAFRONTES, N.; OLIVAD, P.; TOMMASIC, N. Antibacterial activity of constituents from *Salvia buehneri* Hedge (Lamiaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 14, p. 170-177, 2015.

BOALINO, D. M.; CONNOLLY, J. D.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F.; TINTO, W. F. α -Pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 1303-1307, 2003.

BRANDÃO, H. N.; David, J. P.; R. D.; Jorge A. P.; Nascimento, J. A. P.; David, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRAZ FILHO, R. Contribuição fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G. SHENCHEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 6. ed., Editora: UFRGS; Florianópolis, p. 519-535, cap. 20, 2007.

CHENG, Z.; YANG, D.; LIU, D.; HU, J.; JIANG, H.; WANG, P.; LI, N.; ZHOU, J.; ZHAO, Y. Two *ent*-Kaurane Diterpenoids from *Albizia mollis* (Wall.) Boiv. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 9, p. 1766-1769, 2010.

COSTA, V. C. O. Contribuição ao conhecimento químico de espécies de *Hyptis* com ocorrência no semiárido paraibano: *Hyptis macrostachys* Benth. e *Hyptis umbrosa* Salzm. ex Benth. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal da Paraíba, 162 f., 2013.

COSTA, V. C. O., TAVARES, J. F., SILVA, A. B., DUARTE, M. C., AGRA, M. F., BARBOSA-FILHO, J. M., SOUZA, I. L.L., SILVA, B. A., SILVA, M. S. Hyptenolide, a new α -pyrone with spasmolytic activity from *Hyptis macrostachys*. **Phytochemistry Letters**, v. 8, p. 32-37, 2014.

DEWICK, P. M. The mevalone and deoxyxylulose phosphate pathways: Terpenoids and Steroids. In: **Medicinal Natural Products**, John Wiley & Sons Ltda. p. 168, 2002.

DRUMOND, M. A.; SCHISTEK, H.; SEIFFARTH, S. A.; BARTOLOMÉ, C.; ABRAMOVOYY, R.; OVERBECK, G. Caatinga: um bioma exclusivamente brasileiro e o mais frágil. **Revista do Instituto Humanistas Unisinos [online]**, Disponível: <http://fmclimaticas.org.br/sistema/publicacoes/arquivos/Caatinga,%20um%20bioma%20exclusivamente%20brasileiro.pdf> (Acessado em 12 de dezembro de 2014), n. 389, 2012.

DUTRA, L. M.; BONFIM, L. M.; ROCHA, S. L. A.; NEPEL, A.; SOARES M. B. P.; BARISON, A.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. *ent*-Kaurane diterpenes from the stem bark of *Annona vepretorum* (Annonaceae) and cytotoxic evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 3315-3320, 2014.

ELLEMAUERER, E.; JAKUPOVIC, J.; BOHLMANN, F. Kaurane, isokaurane, and beyrane derivatives from *Peteravenia* species. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 2, p. 221-224, 1987.

FALCÃO, D. Q.; FERNANDES, S. B. O.; MENEZES, F. S. Triterpenos de *Hyptis fasciculata* Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13 (supl.), p. 81-83, 2003.

FANG, L.; LIN, W.; QIU, G.; CAI, Y.; YAN, P.; CAI, X.; LI, W.; TU, H.; DONG, J. Substolides A–G, germacrane sesquiterpenoids from *Salvia substolonifera*. **Phytochemistry**, v. 120, p. 28-35, 2015.

GONZÁLEZ, A. G.; AGUIAR, Z. E.; LUIS, J. G.; RAVELO, A. G.; DOMÍNGUEZ, X. A. Minor quinone methide diterpenoids from the roots of *Salvia Texana*. **Journal of Food Safety**, v. 52, n. 6, p. 1231-1236, 1989.

HARLEY, R. M. et al. Labiatae. In: KUBITZKI, K.; KADEREIT, J. W. Flowering Plants, dicotyledones: Lamiales except Acanthaceae including Avicenniaceae. The families and genera of vascular plants. **7. Springer – Verlag Berlin Heidelberg** New York, p. 484, 2004.

HARLEY, R.M., PASTORE, J.F.B. A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. **Phytotaxa**, v. 58, p. 1–55, 2012.

HYUN, H. B.; SHRESTHA, S.; BOO, K. H.; CHO, K. S. Evaluation of antioxidant

potential of ethyl acetate fraction of *Rosmarinus officinalis* L. and its major componentes. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 715-722.

LEMES, G. F.; FERRI, P. H.; LOPES, M. N. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) R. Harley (LAMIACEAE). **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 39-42, 2011.

LIMA-SARAIVA, S. R. G.; SARAIVA, H. C. C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; SILVA, J. C.; DAMASCENO, C. M. D.; ALMEIDA, J. R. G. S.; AMORIM, E. L. C. A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de saúde no Brasil: uma revisão de literatura. **Revista Interdisciplinar de Pesquisa e Inovação - IPI**, v. 1, n. 1, 2015.

LUCENA, H. F. S.; MADEIRO, S. A. L.; SIQUEIRA, C. D.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. A. SILVA, M. S.; TAVARES, J. F. Hypenol, a New Lignan from *Hypenia salzmännii*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 96, p. 1121-1126, 2013.

MARINKOVIC, B.; MARIN, P. D.; KNEZEVIC-VUKCEVIC, J.; SOKOVIC, M. D.; BRKIC, D. Activity of Essential Oils of Three *Micromeria* Species (Lamiaceae) Against Micromycetes and Bacteria. **Phytotherapy Research** 16, p. 336–339, 2002.

MATIDA, A. K.; ZELNIK, R.; PANIZZA, S. Presença dos ácidos ursólicos e 2 α -hidroxi-ursólico *Hyptis umbrosa* Salzmänn e *Eriope crassipes* Benthām (Labiatae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 2, p. 183-187, 1986.

MATOS, F. J. A. **Plantas da Medicina Popular do Nordeste**. Fortaleza: UFC, 1999.

ÖZGEN, U.; MAVI, A.; TERZI, Z.; KAZAZ, C.; ASÇI, A.; KAYA, Y.; SEÇEN, H. Relationship Between Chemical Structure and Antioxidant Activity of Luteolin and Its Glycosides Isolated from *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus*. **Records of Natural Products**, v. 5, n. 1, p. 12-21, 2011.

Palhares, R. M.; Drummond, M. G.; Brasil, B. S. A. F., Cosenza, G. P.; Brandão, M. G. L.; Oliveira, G. Medicinal Plants Recommended by the World Health Organization: DNA Barcode Identification Associated with Chemical Analyses Guarantees Their Quality. **J. PLOS ONE**, v. 10, n. 5, 2015.

PEDERSEN, J. A. Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 229-253, 2000.

ROLIM, T. L.; BRITO, M. T.; PITA, J. C. L. R.; MEIRELES, D. R. P.; COSTA, V. C. O.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; CASTELLO BRANCO, M. V. S. Investigation of antitumor mechanisms of essential oil of *Hyptis umbrosa* Salzm. (Lamiaceae) in *Ehrlich ascites* tumor model. In: **European Cell Death Organisation (ECDO) Meeting**, França, 2013a.

ROLIM, T. L.; GONZAGA, J. C. O.; MEIRELES, D. R. P.; PITA, J. C. L. R.; ABRANTES, R. A.; SOUSA, T. K. G.; COSTA, V. C. O.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; CASTELLO BRANCO, M. V. S. Avaliação da citotoxicidade e toxicidade aguda do

óleo essencial de *Hyptis umbrosa* Salzm. (Lamiaceae). In: **XVIII Congresso Brasileiro de Toxicologia**, Porto Alegre-RS, 2013b.

SANTOS, E. B.; DANTAS, G. S.; SANTOS, H. B.; DINIZ, M. F. F. M.; SAMPAIO, F. C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 321-324, 2009.

SCREMIN, F. M.; FABRO, P. R.; DEBIASI, J. Z. Leonurus sibiricus L.: FARMACOBOTÂNICA E FITOQUÍMICA. **Rev. Pesq. Inov. Farm**, v.4, n.1, p. 31-39, 2012.

SEEBACHER, W.; SIMIC, N.; WEIS, R.; SAF, R.; KUNERT, O. Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18 α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 41, p. 636-638, 2003.

SILVA, A. B. 5'-Deacetoxi-hiptenolídeo, uma α -pirona isolada de *Hyptis macrostachys* Benth. **Trabalho de conclusão de Curso – Farmácia**, Universidade Federal da Paraíba, 54 f., 2014.

SILVA, A. C., OLIVEIRA, A. R. M. F., FERRAZ, M., OLIVEIRA, L. M. Coleção de plantas medicinais e aromáticas nativas do semiárido – UEHF/UEFS. **I-RGVNE**, v. 25, p. 100-101, 2013.

SILVA, V. A., ANDRADE, L. H. C. O significado cultural das espécies botânicas entre indígenas de Pernambuco: o caso Xucuru. **Biotemas**, v. 17, n. 1, p. 79-94, 2004.

SOUZA, I. L. L.; OLIVEIRA, G. A.; TRAVASSOS, R. A.; VASCONCELOS, L. H. C.; CORREIA, A. C. C.; MATINS, I. R. R.; SANTOS-JUNIOR, M. S. M.; COSTA, V. C. O., TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; SILVA, B. A. Spasmolytic activity of *Hyptis macrostachys* Benth. (Lamiaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, p. 2436-2443, 2013.

ULUBELEN, A.; TOPCU, G. Abietane diterpenoids from *Salvia pomifera*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 3949-3951, 1992.

VASCONCELOS, M. A. Investigação das atividades tóxica e antidiarreica de *Hyptis macrostachys* Benth. (Lamiaceae). **Trabalho de Conclusão de Curso – Farmácia**. Universidade Federal de Alagoas, 2011.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, p. 3-19, 2003.