

## METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *Hyptis ovalifolia* Benth

MARQUES, M.F.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, C.M.A.<sup>1</sup>; KATO, L.<sup>1</sup>; SILVA, C.C.<sup>2</sup>;

Palavras-chave: *Hyptis ovalifolia*, medicina popular, diterpenos

### INTRODUÇÃO

O gênero *Hyptis*, formado por aproximadamente 400 espécies, com distribuição pantropical pertence à família Lamiaceae que conta com cerca de 250 gêneros e 6970 espécies. É um gênero rico em espécies de grande importância econômica, principalmente pelos seus óleos essenciais, os quais também são conhecidos pela importância etnofarmacológica (FALCÃO *et al.*, 2003). Do ponto de vista químico, o gênero apresenta uma variedade de constituintes micromoleculares tais como lactonas (OLIVEIRA *et al.*, 2004), triterpenos (URONES *et al.*, 1998) e diterpenos labdânicos (FRAGOSO-SERRANO *et al.*, 1999; PEREDA-MIRANDA *et al.*, 2001) reconhecidos pela comprovada atividade biológica.

*Hyptis ovalifolia*, conhecida popularmente como malva-do-cerrado, é utilizada pela população do Cerrado goiano como anti-reumático (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Seu óleo essencial foi previamente estudado em nosso grupo de pesquisa e mostrou-se fortemente ativo frente a quatro tipos de dermatófitos: *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Tricophyton mentagrophytes* e *Tricophyton rubrum* (SOUZA *et al.*, 2003).

O fracionamento do óleo essencial de *H.ovalifolia* levou ao isolamento e caracterização de (R)-6-[(Z)-1-heptenil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona (**1**), o qual foi identificado como sendo responsável pela atividade do óleo frente aos dermatófitos (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Neste trabalho relatamos o isolamento e identificação dos metabólitos secundários presentes nas folhas e caules da espécie *Hyptis ovalifolia*. As estruturas das substâncias isoladas foram identificadas com base na análise de dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e de experimentos de DEPT, COSY, HMQC e HMBC.

### PARTE EXPERIMENTAL

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos no Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá, em espectrômetro Varian, modelo Gemini 2000, operando a 300 MHz para <sup>1</sup>H e 75,5 MHz para <sup>13</sup>C, tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram dados em ppm e os solventes utilizados foram CDCl<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>OD e D<sub>2</sub>O. As cromatografias em coluna foram realizadas em colunas de vidro, utilizando-se sílica gel 60 Merck (0,063 – 0,200 mm). Nas cromatografias em placa utilizaram-se sílica gel 60 GF<sub>254</sub> e sílica gel 60 G da Merck. As revelações das placas foram efetuadas por irradiação no ultravioleta  $\lambda = 254$  e 366 nm, e visualizadas utilizando como revelador o anisaldeído (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/ anisaldeído/ ácido acético, 1:0,5:50), seguido de aquecimento.

As folhas e galhos de *Hyptis ovalifolia* Benth. foram coletadas no setor Itanhangá, cidade de Goiânia/GO e identificadas pelo Professor Heleno Dias Ferreira (ICB/UFG). A exsicata foi depositada no herbário do ICB/UFG sob o número (#20.283).

O material botânico foi seco a 40°C em estufa de ventilação forçada, pulverizado e, em seguida, extraído por maceração em etanol à temperatura ambiente, fornecendo 1,17g do extrato bruto etanólico das folhas e foi fracionado em coluna cromatográfica com sílica gel, utilizando-se como sistema eluente um gradiente de hexano/éter etílico. As frações resultantes foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico, resultando no isolamento de lactona (1) e fitol (2). Os galhos foram moídos e em seguida extraídos com etanol à temperatura ambiente fornecendo 10,0g de extrato bruto etanólico. O extrato obtido dos galhos foi purificado em coluna de florisil utilizando-se como eluente um gradiente de hexano/acetato de etila. As frações resultantes foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico, resultando no isolamento de uma mistura de triterpenos que após análise por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram identificados como ácido ursólico (3), ácido oleanólico (4) e ácido betulínico (5), que possuem conhecidas atividades biológicas (SOMOVA *et al.*, 2003), tais como antiinflamatórios, antitumorais, cardiotônicos e diuréticos. As folhas obtidas em uma nova coleta foram submetidas a uma hidrodestilação em um aparato do tipo Clevenger por 3h, com a finalidade de retirar o máximo possível do óleo essencial presente nas folhas. Em seguida as folhas foram extraídas com acetato de etila e etanol. Os dois extratos obtidos foram unidos e processados com uma solução água/metanol (7:3), e extraídos, em seguida, com clorofórmio. O extrato obtido foi purificado em uma coluna de sílica, tendo como eluentes hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade. As frações obtidas foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico, resultando no isolamento da rutina (6).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato bruto etanólico das folhas foi submetido à partição em solventes resultando nas frações hexânica, acetato de etila e metanólica. A purificação das frações hexânica e acetato de etila por cromatografia em sílica gel utilizando-se como eluente um gradiente de hexano/éter etílico forneceram o argentinlactona como componente majoritário (1; 150mg) e o sesquiterpeno fitol (10mg).

O espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto (1) indicou a presença de uma metila primária ( $\delta$  0,89), quatro hidrogênios olefínicos (uma dupla ligação em  $\delta$  5,56 e 5,66 e outra dupla em 6,05 e 6,90) e um próton sp<sup>3</sup> em  $\delta$  5,22. O espectro de RMN de <sup>13</sup>C apresentou um sinal em  $\delta$  164,3 atribuído à carbonila o qual foi confirmado pela banda no IV em 1723 cm<sup>-1</sup>. O espectro apresentou ainda quatro sinais na região de carbonos olefínicos observados em  $\delta$  145,0; 135,6; 126,3; 121,6 os quais puderam ser atribuídos pelos espectros de RMN bidimensionais às duas duplas ligações. Correlações no espectro de HMQC entre o próton em  $\delta$  5,22 e o carbono em  $\delta$  73,7, e comparação com dados da literatura permitiram a identificação do composto (1) como a argentinlactona (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

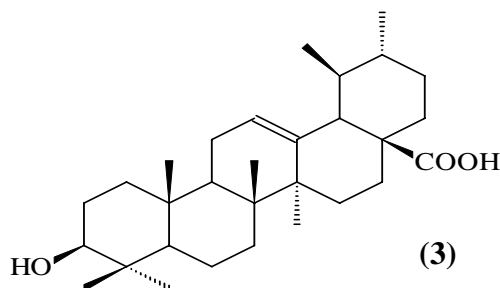
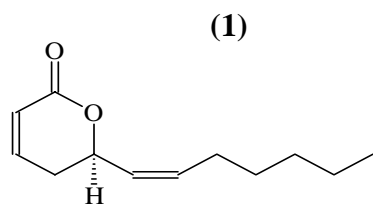
O composto (2), isolado da fração hexânica das folhas como um óleo incolor, utilizando-se como eluente um gradiente de hexano/éter etílico apresentou sinais no espectro de RMN <sup>13</sup>C em  $\delta$  123,1 e 140,4 atribuídos a prótons olefínicos e um sinal em  $\delta$  59,4 atribuído a uma unidade carbinólica. A série de sinais entre 1,99-082 presentes no

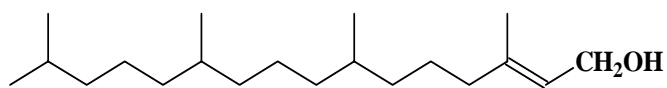
espectro de RMN  $^1\text{H}$ , as respectivas correlações nos espectros bidimensionais de COSY, HMBC e HMQC e a comparação dos mesmos com dados da literatura permitiram a caracterização da estrutura (2) como sendo o sesquiterpeno fitol.

Os compostos (3), (4), (5) e (6) foram isolados do extrato etanólico dos galhos após fracionamento cromatográfico em sílica gel utilizando-se como eluente gradiente de hexano/acetato de etila. Os dois triterpenos (3) e (4) foram isolados como sólidos incolores e apresentaram como padrão comum no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  os carbonos C-3, C-12, C-13 e C-28, este último oxidado como um grupamento de ácido carboxílico. Comparação dos dados espectrais dos mesmos com dados da literatura, mais os respectivos pontos de fusão, permitiram a identificação de (3) e (4) como sendo o ácido ursólico e o ácido oleanólico, respectivamente.

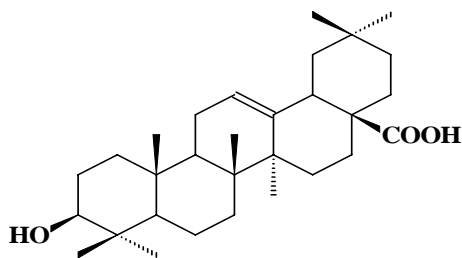
O composto (5) foi identificado numa mistura terciária com (3) e (4). Após identificação dos sinais característicos dos triterpenos (3) e (4) no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da mistura, observaram-se sinais que puderam ser atribuídos a um terceiro triterpeno, o qual foi caracterizado principalmente, pelos sinais em  $\delta$  79,7 (C-3), 179,9 (C-28), 110,2 (C-29), como sendo o ácido betulínico.

O composto (6) foi isolado com um sólido marrom o qual exibiu no espectro de RMN  $^1\text{H}$  sinais para hidrogênios aromáticos em  $\delta$  7,66 (d,  $J=2,1$  Hz); 7,61 (dd,  $J=2,1$  e 8,4 Hz); 6,86 (d,  $J=8,4$  Hz); 6,39 (D,  $J=2,1$  Hz) e 6,18 (d,  $J=2,1$ ), cujos deslocamentos padrão de acoplamento esta de acordo com um flavonol. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  exibiu quinze sinais correspondentes a uma unidade aglicona, os quais foram confirmados pelas correlações observadas no espectro bidimensional HMQC. Além dos sinais da unidade aglicona, foram observados dois sinais em  $\delta$  104,7 e 102,4 correspondentes aos carbonos anoméricos de duas unidades glicosídicas. O sinal para o carbono metílico em  $\delta$  17,9 e um outro em  $\delta$  67,4 confirmam a presença de unidades raminose e glicose na molécula. A análise espectral e a comparação com dados da literatura levaram à caracterização do composto (6) com o flavonol rutina.



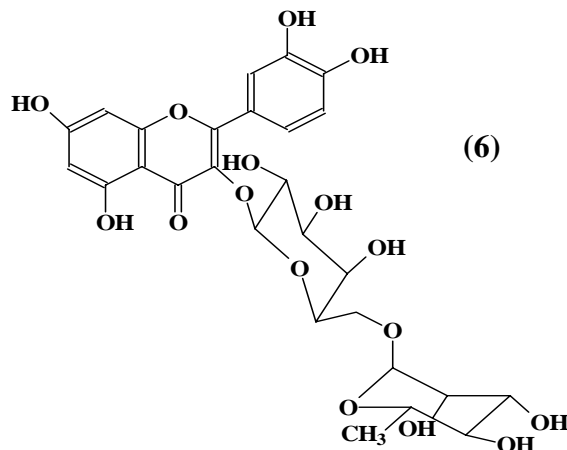
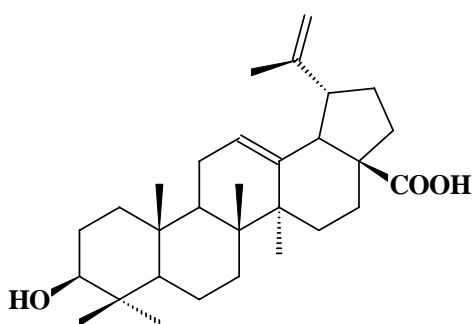


(2)



(4)

(5)



(6)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FALCÃO, D.Q.; MENEZES, F.S; Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. **Revista Brasileira de Farmacologia**, Rio de Janeiro, v.3, n.84, p.69-74, abr.2003.

FRAGOSO-SERRANO, M.; GONZÁLEZ-CHIMEO, E.; PEREDA-MIRANDA, R.; Novel labdane diterpenes from the insecticidal plant *hyptis spicigera*. **Journal of Natural Products**. v.62, n.01, p. 45-50, jan.1999.

OLIVEIRA, C.M.A.; SILVA, M.R.R.; KATO, L.; SILVA, C.C.; FERREIRA, H.D.; SOUZA, L.K.H.; Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. **Journal of Brazilian Chemical Society**. V.15, n.5, p.756-759, set.2004.

PEREDA-MIRANDA, R.; FRAGOSO-SERRANO, M.; CERDA-GARCÍA-ROJAS, C.M.; Application of molecular mechanics in the total stereochemical elucidation of spicigerolide, a cytotoxic 6-tetraacetyl-oxyheptenyl-5,6-dihydro- $\alpha$ -pyrone from *Hyptis spicigera*. **Tetrahedrom**. v.57, p.47-53. 2001.

SOMOVA, L.O.; NADAR, A.; RAMMANAN, P.; SHODE, F.O.; Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. **Phytomedicine**, v.10, p.115-121, 2003.

SOUZA, L.K.H.; OLIVEIRA, C.M.A.; FERRI, P.H.; JÚNIOR, J.G.O.; JÚNIOR, A.H.S.; FERNANDES, O.F.L.; SILVA, M.R.R.; Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.98, n.07, p.963-965, out.2003.

URONES, J.G.; MARCOS, I.S.; DIEZ, D.; CUBILLA, L.R.; Tricyclic Diterpenes From *Hyptis dilatata*. **Phytochemistry**, v. 48, n.6, p.1035-1038, 1998.

---

<sup>1</sup> Instituto de Química – Universidade Federal de Goiás, email: [cecilia@quimica.ufg.br](mailto:cecilia@quimica.ufg.br)

<sup>2</sup> Departamento de Química – Universidade Estadual de Maringá