



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies
de *Hyptis* do Estado do Rio Grande do Sul**

DEBORAH QUINTANILHA FALCÃO

Rio de Janeiro, Junho de 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies
de *Hyptis* do Estado do Rio Grande do Sul**

DEBORAH QUINTANILHA FALCÃO

Sob a orientação do Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes

**Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Rio de Janeiro, Junho de 2003

**Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies
de *Hyptis* do Estado do Rio Grande do Sul**

DEBORAH QUINTANILHA FALCÃO

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes

Profa. Dra. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan

Prof. Dr. José Ângelo Silveira Zuanazzi

Profa. Dra. Nancy dos Santos Barbi

Profa. Dra. Suzana Guimarães Leitão

FICHA CATALOGRÁFICA

Falcão, Deborah Quintanilha

Estudo Químico e Farmacológico de Quatro Espécies de *Hyptis* do Estado do Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro. FF/UFRJ, 2003.

XVI, 148 p. il.

Dissertação (MSc. Ciências Farmacêuticas) UFRJ.

1. Lamiaceae; 2. *Hyptis jacquin*; 3. *Hyptis fasciculata* ; 4. *Hyptis tetracephala*; 5. *Hyptis heterodon*; 6. *Hyptis elegans*; 7. Etnofarmacologia; 8. Fitoquímica; 9. Farmacologia.

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro. II. Título.

Agradeço a Deus e a Meishu-Sama a
permissão de realizar e concluir este
trabalho.

Dedico essa Dissertação ao meu tio Lanilson e aos meus avós, Rosalina e Augusto Falcão, que enquanto vivos sempre acreditaram em mim e me apoiaram. Onde quer que estejam no Mundo Espiritual serão sempre merecedores de todo o meu amor, respeito e gratidão.

Prof. Fábio, tudo o que eu possa vir a escrever será, sempre, pouco para exprimir toda a gratidão que sinto. Você me estendeu as mãos quando eu mais precisei, acreditou em mim e me encorajou. Demonstrou um altruísmo difícil de ser encontrado nos dias de hoje. Serei grata para todo o sempre. Do fundo do meu coração, muito obrigada.

“O acaso não existe”. (Alan Kardec)

“O homem depende de seu pensamento; gratidão gera gratidão e lamúria gera lamúria”.
(Meishu-Sama)

“Não julgue o próximo, julgue constantemente a si próprio”. (Meishu-Sama)

“Só a sinceridade é capaz de resolver os problemas dos indivíduos, do país e do mundo”.
(Meishu-Sama)

AGRADECIMENTOS

Acredito na força e energia presentes em atos simples como um abraço, um aperto de mão, um sorriso ou até mesmo um simples olhar de encorajamento e apoio. Acredito ainda na importância de reconhecer e agradecer esses gestos.

Sinto, portanto, enorme necessidade de formalizar e registrar a gratidão que tenho por todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, me apoiando, ainda que da maneira mais discreta e inusitada o possível.

Ao meu marido, Leandro, pelo apoio incondicional em todos os momentos de nossas vidas. Agradeço ainda pelo seu jeito prático de ser, por nunca passar a mão na minha cabeça, sempre me estimulando, jamais me deixando fraquejar ou permitindo que eu desistisse de lutar pelos meus sonhos.

À minha mãe, Luciane, por toda força e incentivo, não só como mãe, mas também como professora.

À “Pequena” Grande Amiga, Andrea Viegas, pelas risadas, viagens, “nights”, lanches, caronas, amizade, companheirismo, por ter posto a “mão na massa” comigo e por considerar as *Hyptis* suas filhas também. Muito obrigada por tudo. Esse trabalho também é seu!

À minha tia Lanucia pelo carinho e apoio, material e espiritual.

Aos parentes da família Laquel:

- À amiga Cinara Couto pelo apoio e amizade.
- Aos amigos: Alessandra, Fábio “Canário” e Sidnei que me receberam de braços abertos, sempre prontos a ajudar; e a Eniana, que sempre trouxe e continuará trazendo luz ao nosso laboratório.
- Aos colegas de mestrado: Andrea Minto, Luciane, Magda, Robert e Verônica, pelo companheirismo no dia-a-dia e à amiga Cristiane pela companhia nos momentos difíceis por que passamos juntas.

- Aos novos estagiários: Ana Carolina, Augusto, Cassio, Débora e Rodrigo.

À “prima Bete” pelo aprimoramento que me proporcionou.

A todos das famílias: Quintanilha, Falcão, Collares e Arantes, incluindo a minha querida cunhada Barbara A. do Nascimento.

Aos “irmãos” da família 93/2, especialmente Eliane e Douglas Camelo pelo incentivo no início dessa jornada e apoio no decorrer do percurso; e Douglas “Mel” pela ajuda com os espectros.

À amiga Mônica Ron-Ren pela revisão da tese.

Ao Prof. Dr. Sérgio Augusto de Loreto Bordignon pela coleta e identificação botânica das espécies estudadas.

Aos professores Davyson Moreira, Helio de Matos, Gilda Leitão, Suzana Leitão pela ajuda no dia-a-dia.

Aos amigos dos cursos de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Eduardo, Heleno, Michele, etc; e do NPPN, Danilo, Flavio e Kelly.

Ao Prof. Dr. Leslie Benchetrit e sua equipe pela realização dos testes de atividade antimicrobiana, em especial à amiga Ivi Cristina de Oliveira.

À Profa. Dra. Patricia Dias Fernandes e sua equipe pela realização dos testes de atividade antinociceptiva e antiinflamatória.

À Profa. Dra. Célia Santos da Silva e sua equipe pela realização dos testes de atividade moluscicida.

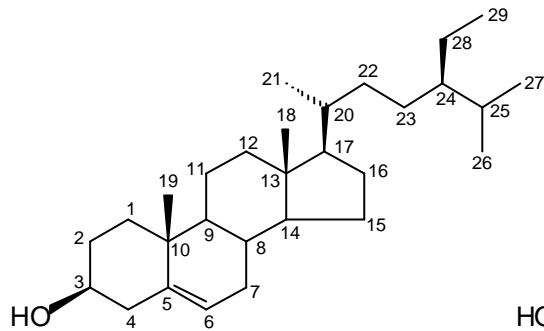
Aos professores da banca de acompanhamento Nancy Barbi e Mauro Sola Penna.

Às Ministras do Johrei Center Botafogo, Máira e Maria da Conceição, e aos amigos Alessandra Ribeiro, Fernando de Mello, Kátia Simone, Robson Bastos e Rosângela Barbosa, pela amizade e apoio espiritual.

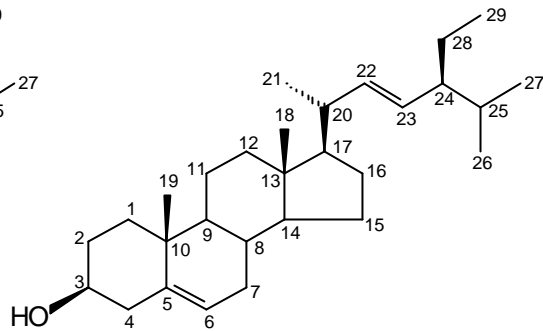
Aos amigos André Rocha, Beatriz Cordeiro, Bruno Mendes, Camila “CLAC”, Cristiane Souza, Edilaine “JC”, Helena Ibiapina, Lígia Cavalcanti, Lucia Siano, Luiz Antônio Cunha, Marcelo “Ramonés” Soares, Marcia Cavalcanti, Marilene “CLAC”, Moacir, Mônica “CLAC”, Tatiana Moraes, entre outros...

Muito obrigada a todos!

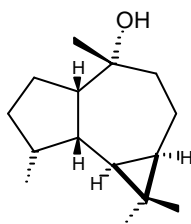
Substâncias Identificadas em *Hyptis fasciculata*.



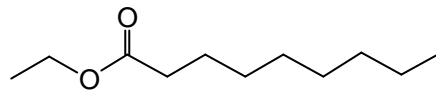
β - Sitosterol (I)



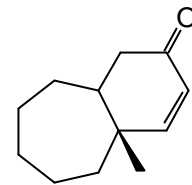
Estigmasterol (II)



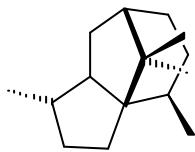
Ledol (III)



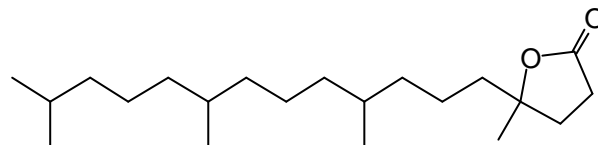
Nanoato de etila (IV)



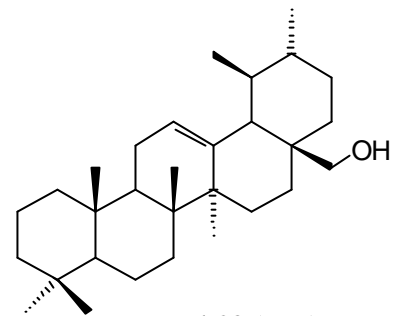
2H-Benzociclohept-2-ona
1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octaidro-4a-metil (V)



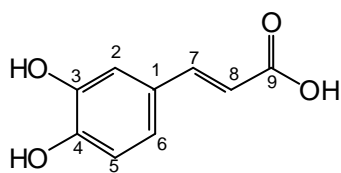
Patchoulano (VI)



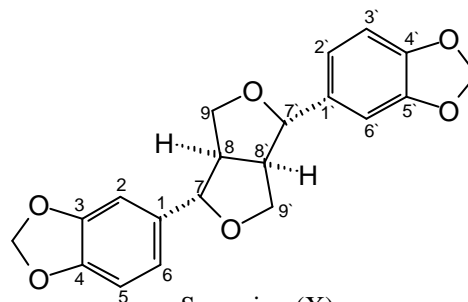
4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido (VII)



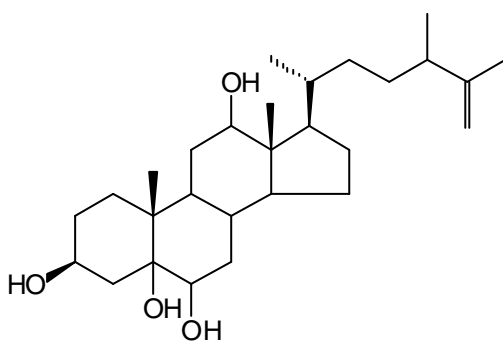
Ursenol-28 (VIII)



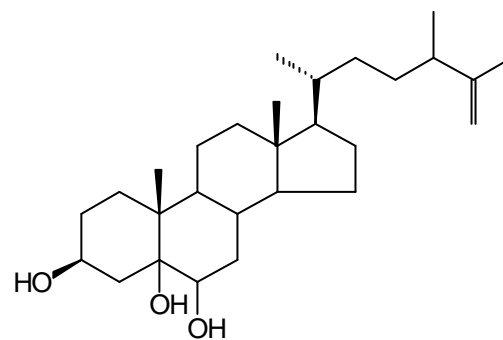
Ácido Caféico (IX)



Sesamina (X)

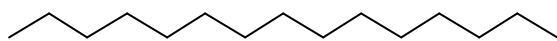


3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 (XI)

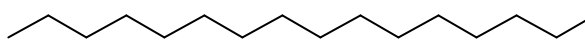


3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25 (XII)

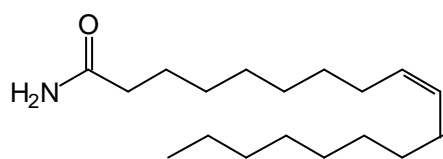
Substâncias Identificadas em *Hyptis fasciculata*.



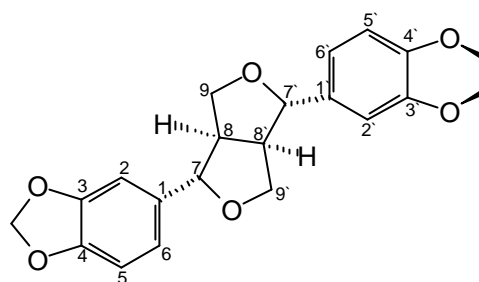
Pentadecano (XIII)



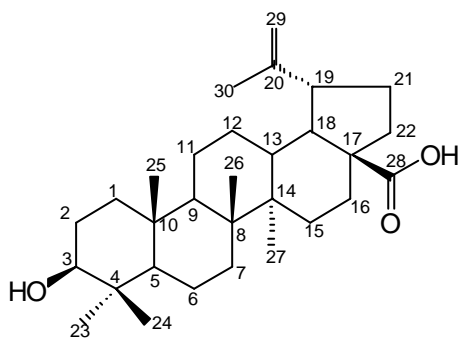
Hexadecano (XIV)



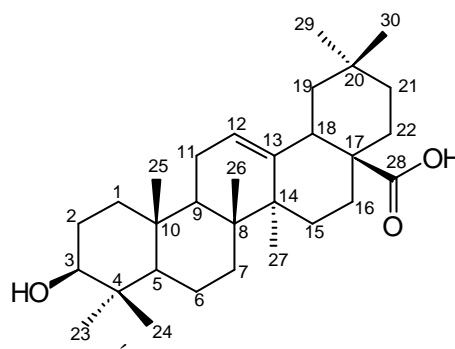
Oleamida (XV)



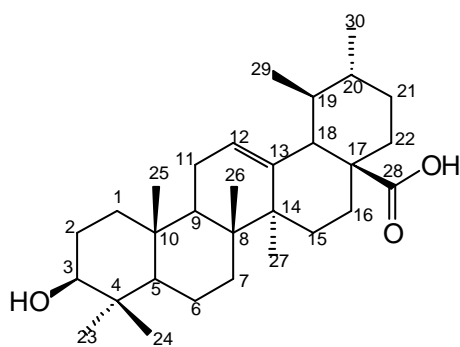
Metilpiperitol (XVI)



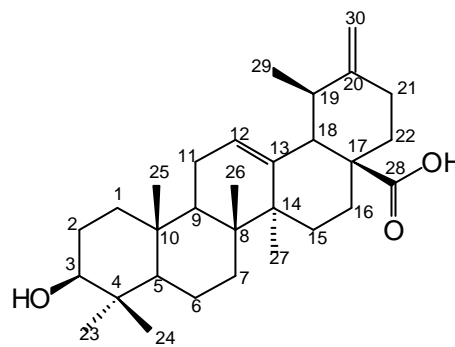
Ácido Betulínico (XVII)



Ácido Oleanólico (XVIII)

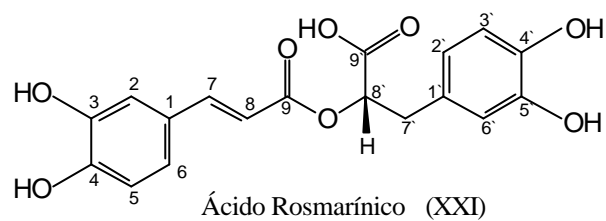


Ácido Ursólico (XIX)

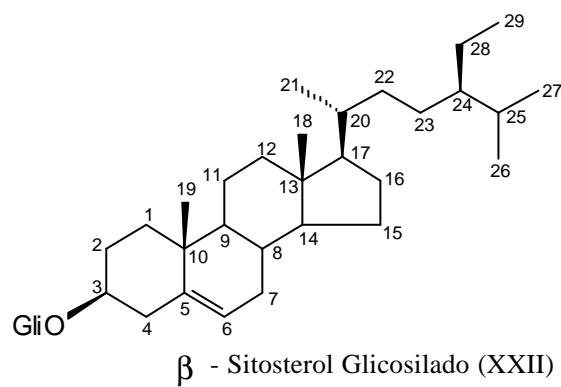


Ácido Micromérico (XX)

Substâncias Identificadas em *Hyptis tetracephala*.



Substâncias Identificadas em *Hyptis heterodon*.



SUMÁRIO

ÍNDICE DE FOTOS	II
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABELAS	IV
ÍNDICE DE ESQUEMAS	VI
INDICE DE CROMATOGRAMAS	VIII
INDICE DE ESPECTROS	IX
INDICE DE GRÁFICOS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XV
INTRODUÇÃO.....	1
PARTE EXPERIMENTAL.....	35
I. FITOQUÍMICA	35
II. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	66
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
I. FITOQUÍMICA	72
II. ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	126
CONCLUSÕES	138
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	140
DOCUMENTOS ICONOGRÁFICOS	148

ÍNDICE DE FOTOS

Foto 1: Vista aérea de Campo Bom.	3
Foto 2: Marcas da colonização alemã em Campo Bom – Clube XV de novembro.	4
Foto 3: <i>Hyptis emory</i>	8

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Hyptis fasciculata</i> ssp. <i>fasciculata</i>	10
Figura 2: <i>Hyptis tetracephala</i>	13
Figura 3: <i>Hyptis heterodon</i>	15
Figura 4: <i>Hyptis elegans</i>	17
Figura 5: Resultados de atividade antimicrobiana	67

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I - Posição taxonômica da família Lamiaceae.....	5
Tabela II - Usos etnofarmacológicos das espécies de <i>Hyptis</i>	19
Tabela III - Atividades farmacológicas das espécies de <i>Hyptis</i>	20
Tabela IV - Atividades farmacológicas dos óleos essenciais das espécies de <i>Hyptis</i>	23
Tabela V - Triterpenos das espécies de <i>Hyptis</i>	25
Tabela VI - Diterpenos das espécies de <i>Hyptis</i>	26
Tabela VII - Monoterpenos do óleo essencial das espécies de <i>Hyptis</i>	26
Tabela VIII - Sesquiterpenos do óleo essencial das espécies de <i>Hyptis</i>	28
Tabela IX - Outros constituintes químicos presentes nos óleos essenciais das espécies de <i>Hyptis</i>	29
Tabela X - Lactonas das espécies de <i>Hyptis</i>	30
Tabela XI - Flavonóides das espécies de <i>Hyptis</i>	31
Tabela XII - Lignanas das espécies de <i>Hyptis</i>	32
Tabela XIII - Ácidos graxos das espécies de <i>Hyptis</i>	33
Tabela XIV - Solventes usados nos extratos ou partições para o teste de atividade antimicrobiana.....	66
Tabela XV – Comparação dos dados de RMN ¹³ C obtidos para o sitosterol (I), para o estigmasterol (II) e para o ácido caféico (IX) em HF 04 com dados colhidos na literatura.	82
Tabela XVI - Comparação dos dados de RMN ¹³ C obtidos para HF 08 com os dados encontrados na literatura para ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX).....	97
Tabela XVII - Comparação dos dados de RMN ¹³ C obtidos para HF 09 com os dados encontrados na literatura para ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX).	101
Tabela XVIII - Comparação dos dados de RMN ¹³ C obtidos para HF 10 com os dados encontrados na literatura para ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX).....	106

Tabela XIX - Comparação dos dados de RMN ¹³ C obtidos para HF 11 com os dados encontrados na literatura para ácido oleanólico (XVIII), ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001) e ácido micromérico (XX).	111
Tabela XX - Comparação dos dados de RMN ¹ H obtidos para HF 12 com os dados encontrados na literatura para ácido rosmarínico (XXI).	114
Tabela XXI - Comparação dos dados de RMN ¹ H (GREGER & HOFER, 1980) e RMN ¹³ C encontrados na literatura para metilpiperitol (XVI) com os obtidos para HF 15 e HF 16.	123
Tabela XXII - Resultados da atividade antimicrobiana de partições e extratos de <i>H. fasciculata</i> , <i>H. tetracephala</i> e <i>H. heterodon</i> frente a cepas de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 (I), <i>S. aureus</i> resistente à meticilina (MRSA) (II), <i>S. pyogenes</i> 75194 CDC #55-91 (III), <i>S. pyogenes</i> isolado de infecção de faringe (IV), <i>E. coli</i> ATCC 25922 (V), <i>E. coli</i> entero-hemorrágica (EHEC) (VI), <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15422 (VII) e <i>P. aeruginosa</i> oriunda de catéter (VIII). 127	
Tabela XXIII - Efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> nas contorções abdominais induzidas por ácido acético.	128
Tabela XXIV - Efeito das partições de <i>Hyptis fasciculata</i> nos índices de antinocicepção da retirada da cauda (IARC) após a administração via oral na dose de 1,0 mg/kg. Grupo controle tratado com Morfina, via oral, 1 mg/kg.	129
Tabela XXV - Efeito das partições de <i>Hyptis fasciculata</i> (na dose de 100 mg/kg), no modelo da formalina.	131
Tabela XXVI - Valores de CE50 para os extratos etanólicos de <i>H. elegans</i> e <i>H. tetracephala</i> testados com DPPH e os controles positivos <i>Ginkgo biloba</i> e rutina.	132
Tabela XVII - Valores de CE50 para as partições do extrato etanólico de <i>H. elegans</i> testadas com DPPH e os controles positivos <i>Ginkgo biloba</i> e rutina.	134
Tabela XVIII - Atividade moluscicida das partições dos extratos etanólicos de <i>Hyptis fasciculata</i> , <i>Hyptis tetracephala</i> , <i>Hyptis heterodon</i> e <i>Hyptis elegans</i> sobre o caramujo <i>Biomphalaria glabrata</i>	136

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema I: Preparação do extrato em etanol e respectivas partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol dos caules de <i>Hyptis fasciculata</i>	37
Esquema II: Preparação do extrato em etanol e respectivas partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas com as inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i>	37
Esquema III: Preparação do extrato em etanol e respectivas partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das partes aéreas de <i>Hyptis tetracephala</i>	38
Esquema IV: Preparação do extrato em diclorometano/metanol (1:1) das partes aéreas de <i>Hyptis heterodon</i>	39
Esquema V: Preparação do extrato em etanol e as respectivas partições em hexano, em diclorometano, em acetato de etila e em <i>n</i> -butanol das partes aéreas de <i>Hyptis elegans</i>	40
Esquema VI: Fracionamento da partição em hexano do extrato etanólico dos caules de <i>Hyptis fasciculata</i>	41
Esquema VII: Isolamento de sitosterol e estigmasterol em mistura.	42
Esquema VIII: Identificação do ledol.	43
Esquema IX: Isolamento de mistura de nanoato de etila, 2H-Benzocicloopten-2-ona, 1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octaidro-4a-metil, ledol, patchoulano, 4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido e ursenol-28.	45
Esquema X: Isolamento de estigmasterol, sitosterol e ácido caféico em mistura.	47
Esquema XI: Isolamento de mistura de sesamina, 3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 e 3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25.	48
Esquema XII: Isolamento de pentadecano, hexadecano e oleamida em mistura.	49
Esquema XIII: Isolamento do metilpiperitol e ácido betulínico.	50
Esquema XIV: Isolamento do ácido betulínico, ácido oleanólico e ácido ursólico em mistura.	52
Esquema XV: Isolamento do ácido ursólico e ácido oleanólico em mistura.	53
Esquema XVI: Fracionamento da partição em diclorometano do extrato etanólico dos caules de <i>Hyptis fasciculata</i>	54

Esquema XVII: Isolamento do ácido betulínico, ácido oleanólico e ácido ursólico em mistura.	55
Esquema XVIII: Isolamento do ácido oleanólico, ácido ursólico e ácido micromérico em mistura.	57
Esquema XIX: Fracionamento da partição em acetato de etila do extrato etanólico dos caules de <i>Hyptis fasciculata</i>	57
Esquema XX: Isolamento do ácido rosmarínico.	58
Esquema XXI: Fracionamento da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i>	59
Esquema XXII: Isolamento de ácido oleanólico.	60
Esquema XXIII: Isolamento de sitosterol e estigmasterol em mistura.....	61
Esquema XXIV: Isolamento de metilpiperitol.	62
Esquema XXV: Isolamento de metilpiperitol.	63
Esquema XXVI: Fracionamento da partição em diclorometano/acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas de <i>H. tetraphala</i>	63
Esquema XXVII: Isolamento do ácido rosmarínico.....	64
Esquema XXVIII: Fracionamento do extrato em diclorometano/metanol (1:1) de partes aéreas de <i>Hyptis heterodon</i>	64
Esquema XXIX: Isolamento do β -sitosterol glicosilado	65

ÍNDICE DE CROMATOGRAMAS

Cromatograma 1 – Cromatograma em coluna DB-1 de HF 02.	74
Cromatograma 2 – Cromatograma em coluna DB-1 de HF 03.	76
Cromatograma 3 - Cromatograma em coluna DB-1 de HF 05.	84
Cromatograma 4 - Cromatograma em coluna DB-1 de HF 06.	88

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF01 em CDCl_3	73
Espectro 2 – Espectro de massas da substância com TR=36,055 min. de HF 02.	75
Espectro 3 (a-f) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 03.....	79
Espectro 4 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 04 em CDCl_3	81
Espectro 5 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 04 em CDCl_3	81
Espectro 6 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 04 em CDCl_3 na técnica APT.	83
Espectro 7 (a-c) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 05.	86
Espectro 8 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 05 em CDCl_3	87
Espectro 9 (a-d) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 06.	89
Espectro 10 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 07 em CDCl_3	90
Espectro 11 – Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz) da mistura de HF 07 em CDCl_3	91
Espectro 12 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do metilpiperitol (XVI) de HF 07A em CDCl_3	92
Espectro 13 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do ácido betulínico (XVII) de HF 07B em CDCl_3	93
Espectro 14 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3	95
Espectro 15 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3	95
Espectro 16 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3	96
Espectro 17 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3 na técnica APT.	98
Espectro 18 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3	99
Espectro 19 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3	99
Espectro 20 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3	100
Espectro 21 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3 na técnica APT.	102

Espectro 22 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6	104
Espectro 23 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6	104
Espectro 24 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6	105
Espectro 25 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6 na técnica APT.	107
Espectro 26 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6	109
Espectro 27 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6	109
Espectro 28 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6	110
Espectro 29 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6 na técnica APT.	112
Espectro 30 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 12 em DMSO- D_6	113
Espectro 31 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 13 em CDCl_3	116
Espectro 32 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 14 em CDCl_3	117
Espectro 33 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 15 em CDCl_3	119
Espectro 34 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 15 em CDCl_3	120
Espectro 35 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 15 em CDCl_3 na técnica de APT.	120
Espectro 36 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 16 em CDCl_3	122
Espectro 37 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 16 em CDCl_3	122
Espectro 38 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HT 01 em DMSO- D_6	124
Espectro 39 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HH 01 em CDCl_3	125

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico I: Resultado do efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> em % de inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético.	129
Gráfico II: Resultado do efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> nos índices de antinocicepção da retirada da cauda (IARC). Controle feito com Morfina.	130
Gráfico III: Resultado do efeito antiinflamatório das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> no modelo da formalina.	131
Gráfico IV: Atividade antioxidante % versus Ln da concentração ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos etanólicos de <i>H. elegans</i> , <i>H. tetrasephala</i> e <i>Ginkgo biloba</i> como padrão.	133
Gráfico V: Atividade antioxidante % versus Ln da concentração ($\mu\text{g/mL}$) de partições do extrato etanólico das partes aéreas de <i>H. elegans</i> e o extrato etanólico de <i>Ginkgo biloba</i> como padrão.	134
Gráfico VI: Resultado da atividade moluscicida das espécies de <i>Hyptis</i> sobre o caramujo <i>Biomphalaria glabrata</i>	137

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

d - Deslocamento químico.

APT – Attached Proton Test.

CG / EM – Cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas.

d – Dubleto.

dd – Duplo dubleto.

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilidrazila.

EM – Espectro de massas.

Gli – Glicose.

IE – Impacto de elétrons.

IT – Índice terapêutico.

J – Constante de acoplamento.

m – Multipleteo.

M⁺ – Íon molecular.

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

m/z – Relação massa/carga.

RMN ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono 13.

RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

s – Singleto.

sl – Singleto largo.

t – Tripleto.

TMS – Tetrametilsilano.

RESUMO

Apesar da família Lamiaceae ter sua química bem estudada, muitas espécies ainda são inéditas sob esse aspecto. Nesse sentido, foram escolhidas as espécies *Hyptis fasciculata*, *Hyptis tetracephala*, *Hyptis heterodon* e *Hyptis elegans*, sem algum estudo químico, para a realização deste trabalho que teve por objetivo o isolamento e a caracterização das substâncias metabolizadas por essas espécies, bem como a avaliação de algumas propriedades biodinâmicas para os extratos brutos e suas partições de diferentes polaridades.

As partições do extrato etanólico dos caules de *H. fasciculata* forneceram, após fracionamento cromatográfico por diferentes técnicas, mistura de sitosterol (I) e estigmasterol (II), mistura contendo ledol (III), mistura de nanoato de etila (IV), 2H-benzocicloopten-2-ona, 1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octaidro-4a-metil (V), patchoulano (VI), 4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido (VII) e ursenol-28 (VIII), ácido caféico (IX) em mistura com esteróides, sesamina (X) misturada com 3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 (XI) e 3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25 (XII), mistura de pentadecano (XIII) com hexadecano (XIV) e oleamida (XV), metilpiperitol (XVI), além dos triterpenos ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII), ácido ursólico (XIX) e ácido micromérico (XX) em diversas misturas, com proporções variadas, e o ácido rosmarínico (XXI).

A partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *H. fasciculata* forneceu, após fracionamento cromatográfico, sitosterol (I) e estigmasterol (II) em mistura, o isolamento do metilpiperitol (XVI) e do ácido oleanólico (XVIII).

A partição em diclorometano/acetato de etila (1:1) do extrato etanólico das partes aéreas de *H. tetracephala* forneceu, após fracionamento cromatográfico, o ácido rosmarínico (XXI).

A partição em diclorometano/metanol (1:1) do extrato etanólico das partes aéreas de *H. heterodon* forneceu, após fracionamento cromatográfico, o β -sitosterol glicosilado (XXII).

Foram realizados estudos sobre atividades antimicrobiana, analgésica (central e periférica), antiinflamatória, antioxidante pelo método do DPPH e moluscicida.

A partição em acetato de etila do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata* apresentou boa resposta nos testes de atividade antimicrobiana frente a todas as cepas Gram-positivas testadas, incluindo a de MRSA, nos de atividade antiinflamatória e nos ensaios de analgesia periférica, não apresentando efeito significativo nos ensaios de analgesia central espinhal. Neste modelo as partições em hexano e em *n*-butanol foram as mais efetivas, chegando a apresentar melhores resultados do que a morfina, substância usada como controle.

A partição em *n*-butanol do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata* apresentou certa atividade moluscicida.

A partição em diclorometano do extrato etanólico das partes aéreas da *Hyptis tetraphala* demonstrou efeito antimicrobiano frente a diferentes cepas de *S. pyogenes* e alguma atividade moluscicida, no entanto, foram as partições em acetato de etila e *n*-butanol que apresentaram maior potencial em matar os caramujos vetores do *Schistosoma mansoni*. O extrato etanólico dessa espécie apresentou boa atividade antioxidante, quando testado pelo método do DPPH.

O extrato em metanol/clorofórmio das partes aéreas de *Hyptis heterodon* foi ativo frente à cepa de MRSA e a diferentes cepas de *S. pyogenes*. As partições em acetato de etila e em *n*-butanol do extrato etanólico das partes aéreas apresentaram também interessante resposta moluscicida.

A partição em acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas da *Hyptis elegans* demonstrou alta atividade antioxidante, apresentando CE50 menor do que a obtida para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (Egb 761[®]), usado como controle positivo. As partições em acetato de etila e em *n*-butanol do extrato etanólico das partes aéreas apresentaram também certa atividade moluscicida.

ABSTRACT

Although the chemistry of Lamiaceae family is well known, many species are still not studied by this point of view. Because of that, the species *Hyptis fasciculata*, *Hyptis tetracephala*, *Hyptis heterodon* and *Hyptis elegans* were chosen for the realization of this study. The aim of this work was to isolate and to identify the main chemical compounds of the four mentioned species as well as the evaluation of some biodynamic properties for the obtained crude extracts and also for the partitions of different polarities.

The different partitions of the ethanolic extract of *H. fasciculata* stem led to a mixture of sitosterol (I) and stigmasterol (II), a mixture containing ledol (III), a mixture of ethyl ester of nonanoic acid (IV), 2H-benzocyclohepten-2-one-1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octahydro-4a-methyl (V), patchoulane (VI), 4, 8, 12, 16-tetramethyl-heptadecan-4-olide (VII) and ursenol-28 (VIII), caffeic acid (IX) in a mixture with steroids, sesamin (X) mixed with 3, 5, 6, 12-tetrahydroxy-ergostene-25 (XI) and 3, 5, 6-trihydroxy-ergostene-25 (XII), a mixture of pentadecane (XIII) together with hexadecane (XIV) and oleamide (XV), methylpiperitol (XVI), besides the triterpenes betulinic acid (XVII), oleanolic acid (XVIII), ursolic acid (XIX) and micromeric acid (XX) in different concentrations and mixtures and the rosmarinic acid (XXI).

The hexane partition of the ethanolic extract of the leaves and flowerings from *H. fasciculata* led to the isolation of sitosterol (I) and stigmasterol (II) in mixture, the methylpiperitol (XVI) and the oleanolic acid (XVIII).

The dichloromethane/ethyl acetate (1:1) partition of the ethanolic extract from the aerial parts of *H. tetracephala* led to the isolation of rosmarinic acid (XXI).

The dichloromethane/methanol (1:1) partition of the ethanolic extract from the aerial parts of *H. heterodon* led to the isolation of β -glucosyl sitosterol (XXII).

The four species were tested against antimicrobials, analgesic (central and peripheral), anti-inflammatory, antioxidant by the DPPH assay and molluscicide properties.

The ethyl acetate partition of the ethanolic extract of the leaves and flowerings from *H. fasciculata* has shown good activity for the antimicrobiana assay against all tested Gram-positive strains, including MRSA. Evaluating the analgesic and antiinflammatory properties, the results were not good. Using the analgesic model for central nervous system, the hexane and *n*-butanol partitions have shown more activity, being more effective compared with morphine, used as a positive control.

The *n*-butanol partition of the ethanolic extract of *H. fasciculata* stem has shown a very good activity in the moluscicidal assay.

The dichloromethane/ethyl acetate partition of the ethanolic extract from *H. tetraphala* aerial parts has shown good effect against different strains of *S. pyogenes* and also some activity in the moluscicidal assay, however, the ethyl acetate and *n*-butanol partitions have shown higher potential to kill the *Schistosoma mansoni*'s snail vector (the intermediate vector). The ethanolic extract from this species has shown an excellent antioxidant activity, when tested by the DPPH assay.

The dichloromethane/methanol partition of the ethanolic extract from the *H. heterodon* aerial parts were active against MRSA and different *S. pyogenes* strains. The ethyl acetate and *n*-butanol partitions have also shown a very interesting activity in the moluscicidal assay.

The ethyl acetate partition of the ethanolic extract of the *H. elegans* aerial parts has shown high antioxidant activity, with EC50 lower than the concentration obtained for the *Ginkgo biloba* standard extract (Egb 761[®]), used as a positive control. The ethyl acetate and *n*-butanol partitions have also shown some activity in the moluscicidal assay.

INTRODUÇÃO

Provavelmente, a Terra começou como uma poeira cósmica que mantinha em movimento correntes de convecção em seu interior quando, por volta dos 3000°C, certas substâncias começaram a se liquefazer (POPP, 1998).

Primeiro, o ferro liquefeito começou a formar o núcleo, depois vieram o silício e os óxidos metálicos, dando origem ao manto. Entre 1500 e 800°C, começou a solidificação da crosta. A atmosfera terrestre foi se formando pouco a pouco, sendo composta de vapor d'água, amônia e óxido de carbono (POPP, 1998).

A crosta sólida e a atmosfera continuaram esfriando progressivamente, até que a temperatura de 374°C, temperatura crítica da água, o vapor atmosférico se condensou em chuva. Após grandes volumes de chuva, a crosta foi desgastada pelo contato com a água, formando assim as primeiras depressões que se transformaram nos primeiros mares (POPP, 1998).

A ação das águas que caíam e corriam sobre as rochas ígneas, fragmentava-as em tamanhos diversos que eram transportadas e depositadas juntamente com lamelas mais finas nas depressões preenchidas pelas águas, formando assim as rochas sedimentares (POPP, 1998).

Embora a crosta já estivesse solidificada, a partir de 70 até 700 Km em direção ao centro da Terra, o manto magmático ainda esfriava, acarretando modificação do volume e conseqüente enrugamento da superfície terrestre. Tal enrugamento produziu fraturas e dobras das rochas da crosta, por onde o magma subiu formando vulcões (POPP, 1998). Essas rupturas na crosta são também conhecidas como geoclases (HOFFMANN *et al.*, 1997).

Durante a era Mesozóica (225 até 65 milhões de anos) ocorreu um enorme derramamento de massas de magma através de geoclases, originando as rochas basálticas, o que hoje é conhecido como “derrame basáltico” (HOFFMANN *et al.*, 1997).

A lava mesozóica cobriu grande parte da Região Sul do Brasil, tendo no entanto se expandido notavelmente pelo Rio Grande do Sul, mais precisamente no nordeste do estado, onde ocorrem as maiores espessuras do basalto (VIEIRA & RANGEL, 1984).

O tipo de solo oriundo da decomposição do basalto criou um solo fértil (S.M.E.C. CAMPO BOM, 1988), onde predomina o feldspato plagioclásio (VIEIRA & RANGEL, 1984; POPP, 1998) e a augita, podendo ou não aparecer a olivina, rico em minerais como a apatita e titanomagnetita (VIEIRA & RANGEL, 1984), variando do vermelho escuro ao preto. Este tipo de solo é, portanto, rico em espécies diferentes de argilominerais (POPP, 1998).

O derrame basáltico eliminou a antiga cobertura vegetal existente no Rio Grande do Sul (VIEIRA & RANGEL, 1984). A idade Cenozóica (65 milhões de anos até hoje) (POPP, 1998) inaugurou nova colonização vegetal (VIEIRA & RANGEL, 1984).

Nas áreas de formação recente e em processo de consolidação, é possível acompanhar o desenvolvimento da colonização vegetal.

Nas áreas das planícies aluviais do rio dos Sinos (onde a paisagem apresenta o desenvolvimento de um sistema fluvial sinuoso, com banhados, pântanos e alagadiços) (S.M.E.C. CAMPO BOM, 1988), entre outras, se instala a vegetação pioneira (datada dos últimos 10.000 anos), primeiro estágio do processo de evolução sedimentar-pedológica-biológica, da qual faz parte (VIEIRA & RANGEL, 1984).

As quatro espécies do gênero *Hyptis* que foram usadas neste estudo são encontradas em locais com as mesmas características das áreas das planícies aluviais do rio dos Sinos, tendo sido coletadas em pântanos e beira de banhados, no município de Campo Bom, RS. São elas: *H. fasciculata* Benth. *ssp. fasciculata*, *H. tetracephala* Bordignon nov. sp., *H. heterodon* Epling e *H. elegans* Briquet ex Micheli.

Campo Bom

O Município de Campo Bom localiza-se no norte da região Metropolitana de Porto Alegre e pertence à Associação dos Municípios do Vale do rio dos Sinos. Campo Bom é um dos vários municípios da Região Sul do Brasil encontrado sobre o “derrame basáltico”, apresentando solo com alto teor de argila e bastante arenoso, principalmente na região da baixada (Foto 1).



Foto 1: Vista aérea de Campo Bom.

(Fonte: www.campobom.famurs.com.br - acesso em 06/02/2003)

O nome da cidade provavelmente foi dado pelos tropeiros que viviam na região dos Altos de Cima da Serra. Ao transportarem suas tropas de gado em direção a Porto Alegre e cidades vizinhas do Vale do rio dos Sinos, aí pousavam, porque havia pasto e água abundantes.

No passado, esteve ligado à história da Colônia de São Leopoldo. A Colônia foi um projeto do Governo imperial que, visando ocupar essa região fronteira e em contínuo conflito com os povos do Prata, decidiu trazer imigrantes europeus – no caso alemães – e fixá-los no solo por meio de uma atividade econômica, concedendo-lhes pequenos lotes de terra (S.M.E.C. CAMPO BOM, 1988) (Foto 2).

Em 25 de julho de 1824, os 38 primeiros imigrantes desembarcaram em São Leopoldo (HOFFMANN *et al.*, 1997); em Campo Bom os primeiros colonos chegaram provavelmente a partir de 1825.

Esses colonos se dedicaram basicamente à agricultura, mas em muitos casos exerciam também atividades artesanais diversas.



Foto 2: Marcas da colonização alemã em Campo Bom – Clube XV de novembro.
(Fonte: www.campobom.famurs.com.br/turismo.htm - acesso em 19/02/2003)

Na segunda metade do século XIX, Campo Bom começa a ter sua economia baseada na indústria oleira (favorecida pela argila apropriada existente às margens do rio dos Sinos), mantendo-se significativa até meados da década de 1960.

No entanto, foi a atividade coureira que marcou a vida econômica da antiga Colônia de São Leopoldo. Até hoje, é essa atividade que pauta a vida econômica da região, em especial do Município de Campo Bom, que possui projeção nacional e internacional no mercado de calçados, principalmente os modelos femininos.

Em Janeiro de 1959, Campo Bom alcança sua emancipação de São Leopoldo (S.M.E.C. CAMPO BOM, 1988).

Família Lamiaceae

Segundo a classificação taxonômica proposta por Dahlgren, a família Lamiaceae pertence à ordem Lamiales, superordem Lamiiflorae, que conta ainda com mais três ordens: Scrophulariales, Hippuridales e Hydrostachyales. Além da Lamiaceae, Lamiales é constituída de duas outras famílias, Verbenaceae e Callitrichaceae.

Segundo a classificação de Bentham & Hooker, a família Lamiaceae é dividida em oito subfamílias e doze tribos, sendo a subfamília Ocimoideae dividida em três subtribos: Hyptidineae, Plectranthinae e Moschosminae (Tabela I) (MENEZES, 1994).

Tabela I – Posição taxonômica da família Lamiaceae (MENEZES, 1997).

SUBFAMÍLIA	TRIBO	SUBTRIBO	GÊNERO
Ajugoideae	Ajugeae		
	Rosmarineae		
Prostantheroideae			
Prasioideae			
Scutellarioideae			
Lavanduloideae			
Stachydoideae	Pogostemoneae		
	Marrubiae		
	Perilomieae		
	Nepeteae		
	Stachydeae		
	Glechoneae		
	Salviae		
	Meriandreae		
	Monardeae		
	Hormineae		
	Lepechineae		
	Saturejeae		
Ocimoideae		Hyptidineae	<i>Hyptis</i>
			<i>Eriope</i>
			<i>Raphiodon</i>
			<i>Marsypianthes</i>
			<i>Peltodon</i>
			<i>Eriopidion</i>
Catopheroideae			

Características Botânicas

A família Lamiaceae é constituída por ervas, arbustos ou árvores; caules geralmente quadrados em corte transversal. Pêlos glandulares, com óleos voláteis, e simples, não glandulares. Estes, quando presentes, são geralmente multicelulares ou uma mistura de multicelulares e unicelulares. As folhas são geralmente opostas espiraladas, simples, algumas vezes lobuladas ou dessecadas, ou pinadas ou palmadas, bordas lisas a serradas; estípulas ausentes. Inflorescências com indeterminado eixo condutor e determinados cortes laterais, freqüentemente congestionado em pseudo-espiraladas, terminais ou axilares. Flores bissexuais, geralmente bilaterais. Sépalas geralmente em 5, forma de cone, cálice radial para bilateral, mais ou menos tubular, em forma de sino ou de roda, persistente, ocasionalmente aumentado em fruto. Pétalas, geralmente em 5, forma de cone, bilabiado, os lóbulos imbricados. Quatro estames, didinamos mais ou menos igual, algumas vezes reduzidos para 2; filamentos adnate para corola; grãos de pólen tricolpato ou hexacolpato. Dois carpelos em forma de cone; ovário superior, unilobular subdividido em 4 lóbulos, bi-ocular, mas aparentando tetra-ocular, devido ao desenvolvimento de um septo falso; estilete freqüentemente dividido apicalmente; dois estigmas, pequenos e iguais no ápice do estilete ramificado. Dois óvulos por carpelo (um em cada aparente lóculo), presos lateralmente, com um integumento e um delgado megasporangio. Disco de néctar sempre presente. Frutos núculas com 1 a 4 caroços, indeiscentes, um sincárpico com 4 nozes ou 4 drupeletas; endosperma escasso ou ausente (JUDD *et al.*, 1999).

***Hyptis* Jacquin**

Etimologia: do grego “hyptios” (retroflexo), em alusão ao lobo mediano do lábio inferior da corola, em forma de saco, articulado na base, que se torna deflexo após a polinização (BORDIGNON, 1990).

O gênero é composto por ervas, subarbustos, arbustos ou raramente árvores pequenas. Os caules geralmente são quadrangulares, as folhas opostas, simples ou mais raramente partidas, pecioladas ou sésseis ou curtamente pedunculadas, contendo substâncias aromáticas (BORDIGNON, 1990).

O gênero *Hyptis* é composto por cerca de 350 espécies exclusivamente neotropicais, distribuídas desde o sul dos Estados Unidos e Caribe até a Argentina, excluindo-se somente o extremo sul. Algumas espécies invasoras são bem estabelecidas na Ásia, África e norte da Austrália. O centro da diversidade do gênero se encontra nos campos cerrados do Brasil Central, mais especificamente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (BORDIGNON, 1990).

Apresenta muita variabilidade na forma vegetativa e no hábito, no entanto, sua estrutura floral é extraordinariamente uniforme. A corola tem apresentado muito pouca modificação durante o decurso da evolução. O cálice é completamente uniforme, salvo o que diz respeito à forma e à distância relativa dos seus dentes, mas se diversifica nos frutos. Quase toda essa diversificação ocorre em função do desenvolvimento do tubo, que normalmente se alarga na parte inferior e resulta em formas modificadas; os dentes conservam quase a mesma forma, e a distância entre eles não varia, apenas aumentam de tamanho (EPLING, 1949).

Esse gênero pertence à família Lamiaceae, uma vasta família com cerca de 250 gêneros e 6970 espécies (JUDD *et al.*, 1999), de distribuição cosmopolita, mas centrada, principalmente, na região mediterrânea, onde constitui parte integrante da vegetação (BORDIGNON, 1990).

A família Lamiaceae é relativamente bem estudada do ponto de vista químico. Com respeito ao metabolismo especial, apresenta uma grande variedade de classes de micromoléculas, existindo representantes da via do ácido acético, da via do ácido chiquímico e provenientes de biossíntese mista (MENEZES, 1994).

Essa família tem grande importância econômica por ser fonte de óleos essenciais aromáticos, voláteis e de plantas ornamentais. Muitas espécies são utilizadas como condimentos importantes em culinária, sendo apreciadas pelo aroma ou pelo sabor que comunicam aos alimentos (MENEZES, 1994).

Um exemplo de espécie desse gênero é a *Hyptis emory*, natural da região desértica do Estados Unidos, onde é conhecida popularmente como lavanda-do-deserto. Na Foto 3 pode-se observar o subarbusto dessa espécie em seu hábitat original (I), o segmento da planta mostrando o caule quadrangular com as inflorescências (II) e o capítulo floral (III).



(I)



(II)



(III)

Foto 3: *Hyptis emory*.

(Fonte: www.swsbm.com/HOMEPAGE/GenusIndex.html- acesso em 10/02/2003)

Hyptis fasciculata* Benth. ssp. *fasciculata

Nome popular: marroio-do-Brasil (BORDIGNON, 1990).

Restrita a uma faixa estreita ao longo da costa atlântica brasileira, de Pernambuco até o Rio Grande do Sul, chegando ao Uruguai (BORDIGNON, 1990). Em geral, pode-se dizer que as formas com ramos de inflorescências moniliformes e mais alargadas estão presentes especialmente no Rio de Janeiro, e as formas mais fastigiadas, com ramos mais curtos, aparecem no Uruguai e Argentina. As formas mais tomentosas também aparecem preferencialmente no Brasil (EPLING, 1949).

Encontrada em lugares densamente vegetados, em beira de banhados, baixadas úmidas, beira de cursos d'água e margens de lagoas e açudes do litoral.

A espécie floresce e frutifica de dezembro a agosto (BORDIGNON, 1990).

Características Botânicas

A espécie *Hyptis fasciculata* se apresenta na forma de erva perene de até 2,0 metros de altura; seus talos são aparentemente ramificados principalmente ou somente nas inflorescências, mais ou menos pubescentes, com pêlos estendidos nas partes superiores, até aterciopelados, raramente glabras, seus internódios quase iguais às folhas; folhas de 3,0 a 7,0 cm de comprimento e 2,0 a 3,0 cm de largura, ápice agudo, mais ou menos arredondadas na base ou até semicordiformes, bordos irregularmente serrados, a face superior com esparsos pêlos ou glabra, verde, a inferior normalmente suavemente pubescente, às vezes quase glabra, às vezes tomentosa; pecíolos com 2,0 cm de comprimento ou menos; espigas finas, mais ou menos folhosas, geralmente pubescentes, numerosas flores, raramente solitárias, presas nas axilas das bractéolas reduzidas com aspecto de folhas, presas sobre os ramos laterais e formando uma espiga fina ou bem separadas, e uma espiga moniliforme interrompida; pedicelos de 1,0 a 2,0 mm de comprimento; tubo do cálice na flor de 1,0 a 1,3 mm de comprimento, pêlos esparsos, os dentes deltóide-ovalados, o tubo maduro campanulado ou cilíndrico, de 2,5

a 4,0 mm de comprimento, os dentes de quase 1,5 mm de comprimento, eretos ou um pouco abertos e estendidos; tubo da corola de 2,0 a 2,5 mm de comprimento; frutos núculas de 1,0 a 1,2 mm de comprimento (EPLING, 1949) (Figura 1).

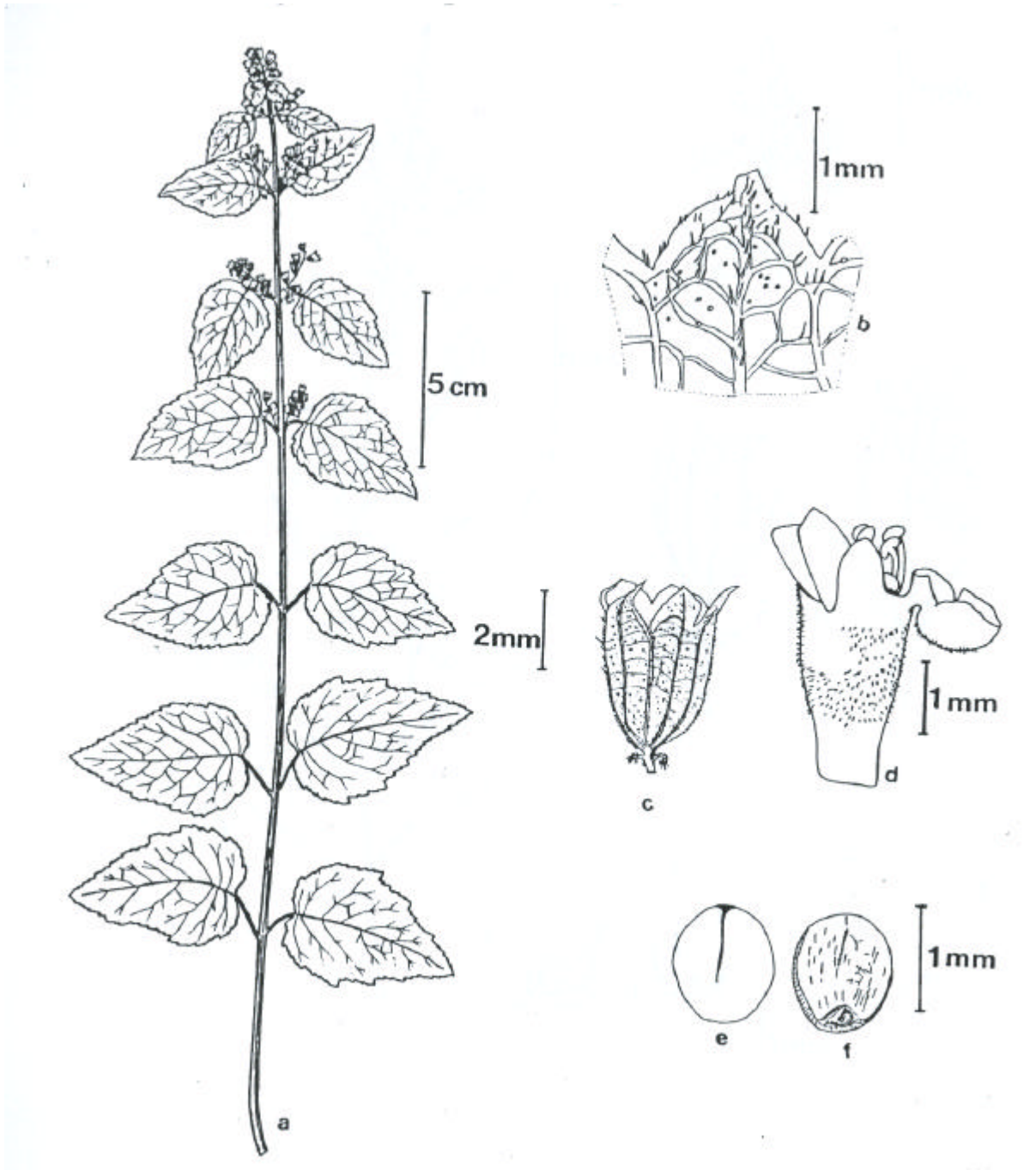


Figura 1: *Hyptis fasciculata* ssp. *fasciculata*.

a) Segmento da planta; b) dente do cálice; c) cálice no fruto; d) corola; e) núcula em vista dorsal; f) núcula em vista ventral (BORDIGNON, 1990).

***Hyptis tetracephala* Bordignon nov. sp.**

Essa espécie foi descoberta e identificada pelo Dr. Sergio Augusto de Loreto Bordignon, levando por isso o seu nome.

É uma planta aquática emergente, encontrada em lugares densamente vegetados, em beiras de lagoas, açudes e margens de cursos d'água. Até o momento, só foi encontrada nos estados do Rio Grande do Sul (litoral norte e Vale do rio dos Sinos) e Santa Catarina (Vale do rio Itajaí).

As flores e os frutos aparecem de fevereiro a maio. O nome da espécie é devido à característica de apresentar quatro capítulos saindo aos pares das axilas das folhas superiores (BORDIGNON, 1992).

Características Botânicas

A espécie *Hyptis tetracephala* é uma erva perene, ereta, de 0,5 a 1,0 metro de altura, ramificada, com a base prostrada, da qual partem ramificações rastejantes, estoloníferas, que apresentam pequenas folhas oval-arredondadas de 1,5 cm de comprimento por 1,2 cm de largura e cujo pecíolo tem cerca de 0,5 cm de comprimento; seu caule é inflado, devido à presença de uma medula bastante desenvolvida, de até 1,0 cm de diâmetro, ficando reduzido a menos de metade de sua espessura em material herborizado; apresenta faces glabras com glândulas sésseis e uma mancha roxo-avermelhada logo abaixo dos nós; ângulos densamente pubescentes com pêlos vilosos, antrorsos, dando um aspecto aveludado às partes jovens. Apresenta folhas ovais de 5,0 a 9,5 cm de comprimento e 4,0 a 6,5 cm de largura, as basais às vezes de 13,0 cm de comprimento (incluindo o pecíolo) por 8,0 cm de largura; lâmina rugosa, principalmente nas folhas mais jovens; ápice agudo; base cuneada e truncada; face inferior com pêlos restritos às nervuras, tornando-as bastante saliente e limbo repleto de glândulas sésseis inconspícuas, afundadas; face superior aparentemente glabra, com pêlos curvos e antrorsos, esparsos, um pouco mais escura no material herborizado; bordos irregularmente serrados; pecíolos de 1,0 a 4,0 cm de comprimento. Apresenta inflorescência formada por

capítulos globosos de 1,0 a 1,5 cm de diâmetro na maturação, verde-claros no material vivo, passando a marrom quando secos, geralmente saindo aos pares nas axilas das folhas superiores, às vezes 1 ou 3 por axila; pedúnculos de 2,0 a 5,0 cm de comprimento, delgados, com pêlos antrorsos nos ângulos e glabros com glândulas sésseis nas faces; bractéolas lanceoladas a liguladas de 4,5 a 10,0 mm de comprimento por 0,5 a 2,0 mm de largura, face superior aparentemente glabra, inferior com pêlos antrorsos curtos sobre as nervuras, bordos da metade para o ápice voltados para a face inferior, ciliados da metade para a base, bractéolas praticamente escondidas no capítulo maduro. Flores numerosas, sésseis; cálice na antese infundibuliforme, de 2,0 a 2,5 mm de comprimento; tubo com cerca de 1,0 mm de comprimento, externamente glabro, com glândulas sésseis inconspícuas mas concentradas na metade inferior, os dentes de 0,7 a 1,2 mm de comprimento, desiguais; cálice acrescente no fruto, de 6,0 a 6,5 mm de comprimento, constricto logo abaixo da fauce, cerca de 1,0 mm largura e bastante alargado para baixo, 2,0 a 2,5 mm de largura, tomando um formato de lagena, internamente com um anel de pêlos cônicos, moniliformes, multicelulares, com as paredes finas, transparentes e lisas, localizado na região do afunilamento no cálice maduro, externamente glabro e repleto de diminutas glândulas sésseis inconspícuas; dentes de tamanhos desiguais, de 0,7 a 1,2 mm de comprimento, três maiores e dois menores, às vezes 1 ou 2 faltando, deltóides a subulados, ciliados, com pêlos curtos no sínus que diminuem de tamanho para o ápice; corola branca com poucas manchas lilases nos lobos do lábio superior, de 2,2 a 2,5 mm de comprimento, tubo com cerca de 2 mm de comprimento e lobo mediano do lábio inferior com cerca de 1,0 mm de comprimento; estilete 3,5 a 4,0 mm de comprimento; estames e estilete com cerca de 1,0 mm exsertos do tubo da corola após a polinização. Frutos núculas oblongo-ovóides a ovóides, com cerca de 1,0 mm de comprimento, castanho-escuros, lisas, brilhantes, microscopicamente reticuladas, com cicatriz de inserção basal sem “arilo” evidente, não mucilaginosas quando úmidas (BORDIGNON, 1992) (Figura 2).

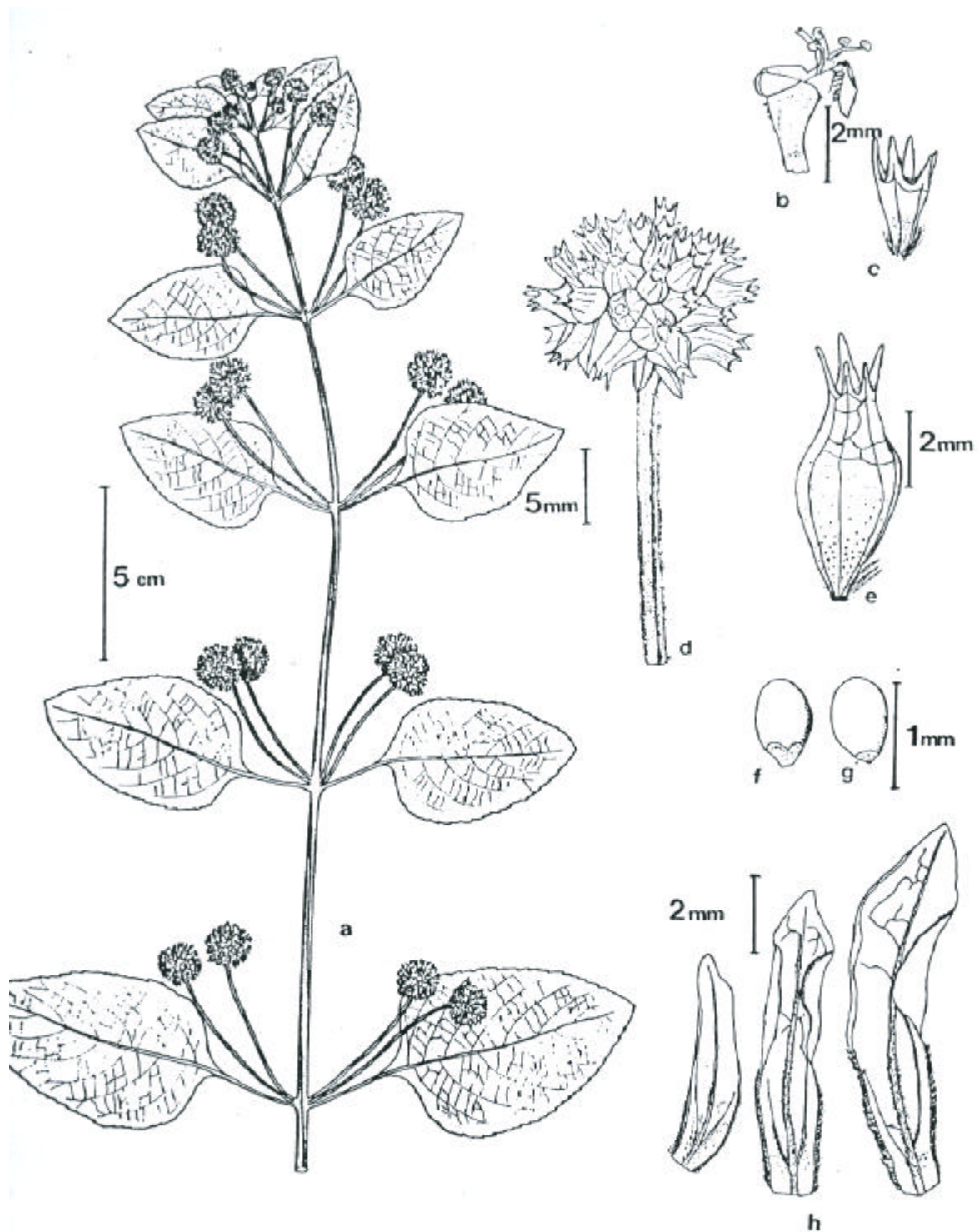


Figura 2: *Hyptis tetracephala*.

a) Segmento da planta; b) corola; c) cálice no fruto; d) capítulo maduro; e) cálice frutífero; f) núcula em vista dorsal; g) núcula em vista ventral; h) bractéolas de diferentes tamanhos (BORDIGNON, 1990).

***Hyptis heterodon* Epling**

Nome popular: alfazema-braba.

Hyptis heterodon Epling é encontrada somente no Brasil, em clareiras no interior do mato, orla de mato e capoeiras, nas regiões mais elevadas e úmidas, está presente em altitudes quase sempre elevadas, que variam de 1000 a 1700 m, localizadas nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

H. heterodon floresce e frutifica de fevereiro a maio (BORDIGNON, 1990).

Características Botânicas

A espécie *Hyptis heterodon* é uma erva perene, com talos finos, com quase 1,0 metro de altura. Apresenta os internódios às vezes alargados e ultrapassando as folhas, às vezes mais curtos, com aspecto pouco aveludado e pêlos estendidos; folhas ovais, membranosas, finas, de 4,0 a 9,0 cm de comprimento e 3,0 a 6,0 cm de largura, ápice acuminado, arredondadas na base e abruptamente acuminadas até os pecíolos, bordos irregularmente crenado-serradas, ambas as faces verdes, quase glabras, com pêlos restritos às nervuras; pecíolos finos, poucos pêlos, quase sempre de 4,0 a 5,0 cm de comprimento; cúlulas ausentes, 1 a 5 flores, com pedúnculos divaricados de 3,0 a 5,0 mm de comprimento, dispostos em espigas bastante difusas, desnudas; brácteas de 2,0 a 3,0 mm de comprimento, membranosas, ciliadas; tubo do cálice na flor de 1,5 a 2,0 mm de comprimento, quase glabro, os dentes um pouco desiguais, o posterior de mais ou menos 0,5 mm de comprimento, quase deltóide, os laterais intermediários, o par anterior de mais ou menos 1,0 mm de comprimento, subulado, todos agudos, quase glabros, eretos, o orifício raro e alguns pêlos, tubo maduro membranoso, de 3,0 a 3,5 mm de comprimento, de 1,7 mm de largura, escasso e alguns pêlos; tubo da corola de 1,5 a 2,0 mm de comprimento; frutos núculas negras, semi-globosas, de 1,0 mm de comprimento (EPLING, 1949) (Figura 3).

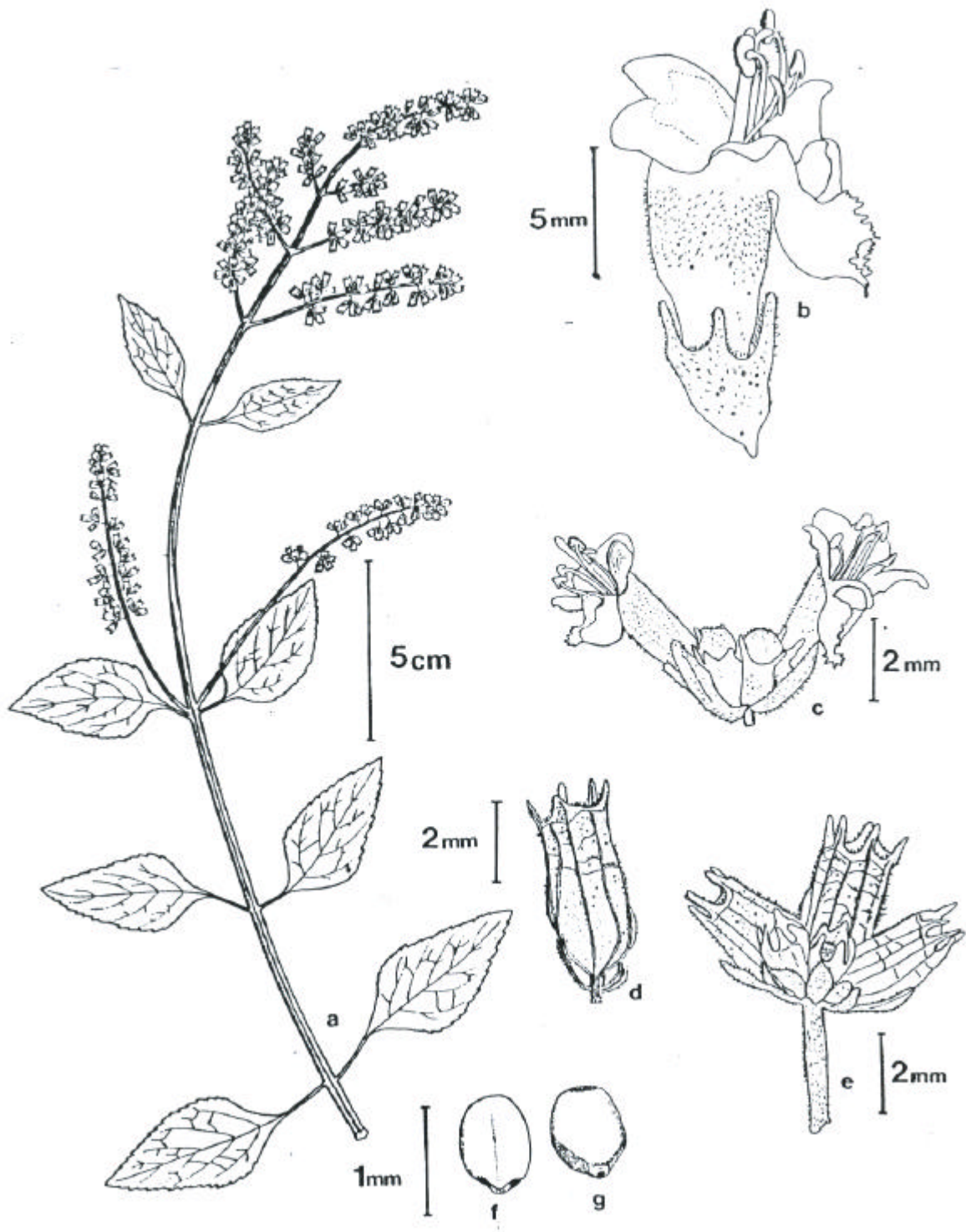


Figura 3: *Hyptis heterodon*.

a) segmento da planta; b) flor; c) inflorescência jovem; d) cálice maduro; e) inflorescência com cálices maduros; f) núcula em vista dorsal; g) núcula em vista ventral (BORDIGNON, 1990).

***Hyptis elegans* (Briquet) Briquet ex Micheli**

Nome popular: alfazema-brava.

Espécie encontrada em campos, beiras de banhados e solos arenosos do litoral, no Brasil (de São Paulo até o Rio Grande do Sul), Argentina, Paraguai e, provavelmente, Uruguai.

A espécie floresce e frutifica de janeiro a junho (BORDIGNON, 1990).

Características Botânicas

A *Hyptis elegans* é um subarbusto de até 2,0 m de altura, com cheiro forte e desagradável. Caule quadrangular esparso e densamente piloso, com pêlos antrorsos e cerdosos de base endurecida, rígida, situados principalmente nos ângulos, entremeados com glândulas sésseis, e pêlos glandulares pedunculados.

Folhas ovais de 3,0 a 9,0 cm de comprimento e 1,5 a 6,0 cm de largura, com ápice agudo, base cuneada a truncada; face inferior esparsamente provida de pêlos longos e cerdosos, localizados principalmente sobre as nervuras, pêlos simples, menores, entremeados com glândulas sésseis, e pêlos glandulares pedunculados ou densamente pilosa com pêlos amarelados, macios, dando-lhes um aspecto aveludado; face superior com pêlos mais curtos, antrorsos, junto com glândulas sésseis espalhadas; bordos grosseiramente biserrados; pecíolos de 1,5 a 6,0 cm de comprimento, com pêlos retos e cerdosos, como na face inferior da folha.

Inflorescência racemosa em panícula terminal, muito ramificada, laxa, flores solitárias ou em grupos verticilados de 2 a 6, nas axilas de brácteas reduzidas ovais, oval-lanceoladas a filiformes. Flores com duas bractéolas inconspícuas na base do cálice sobre pedicelos glabrascentes, com raros pêlos antrorsos, de 2,0 a 6,0 mm de comprimento, passando a ter entre 5,0 e 15,0 mm no cálice frutífero. Cálice na antese campanulado de 2,0 a 2,5 mm de comprimento; tubo com cerca de 1,5 a 2,0 mm, apresentando externamente muitos pêlos antrorsos, junto com glândulas sésseis espalhadas, e internamente denso tufo de pêlos na fauce; dentes subiguais com cerca de 0,5 mm, deltóides, esparsamente pilosos; cálice acrescente no fruto, campanulado, de 3,0 a 5,0 mm de comprimento, com dentes triangulares e retos. Corola

infundibuliforme de 3,5 a 4,5 mm de comprimento, com lobos lilás-claros a lilás e tubo branco, internamente com pêlos nos filetes do par de estames menores e nas linhas das nervuras no interior do tubo, externamente com pêlos no tubo e lobos na corola.

Núculas oval-oblongas de 1,5 a 2,0 mm de comprimento, ligeiramente trigonas, castanho-claras, microscopicamente reticuladas, com dois sacos aéreos na região dorsal e ventre achatado ou quilhado, cicatriz de inserção basal semicircular ou triangular, paredes das núculas maduras mucilaginosas quando úmidas (BORDIGNON, 1990) (Figura 4).

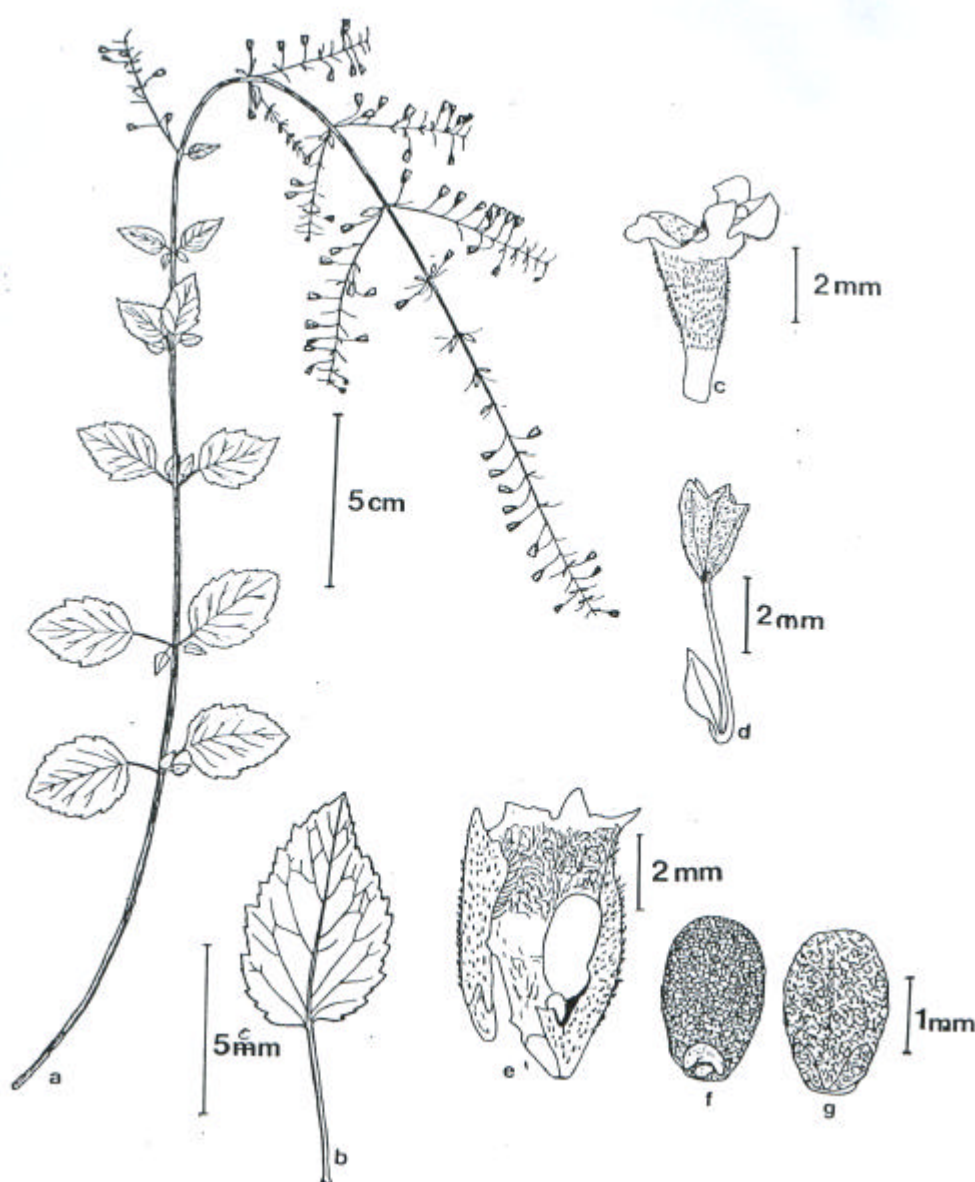


Figura 4: *Hyptis elegans*.

a) segmento da planta; b) folha basal; c) corola; d) cálice na antese; e) cálice no fruto aberto mostrando o tufo de pelos; f) núcula em vista ventral; g) núcula em vista dorsal (BORDIGNON, 1990).

Revisão Etnofarmacológica e Farmacológica de Espécies do Gênero *Hyptis*

A realização de um levantamento bibliográfico de todos os artigos científicos publicados até março de 2002, relacionados às espécies do gênero *Hyptis*, não revelou nenhum trabalho sobre qualquer uma das quatro espécies coletadas para a pesquisa em questão. No entanto, 25 outras espécies foram estudadas sob vários aspectos, incluindo etnofarmacologia, farmacologia e até seu potencial como herbicida.

Hyptis é um gênero rico em espécies de grande importância econômica e etnofarmacológica, cujos conhecimentos são transmitidos de geração a geração até os dias de hoje. As populações as utilizam para fins medicinais, não só no Brasil (BARBOSA & BARBOSA, 1992), mas também no México (PEREDA-MIRANDA & GASCON-FIGUEROA, 1988; PEREDA-MIRANDA & DELGADO, 1990; ROJAS *et al.*, 1992; NOVELO *et al.*, 1993; PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993; KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994; VEGA-CARRILLO, ISKANDER & MANZANARES-ACUNA, 1997), Índia (MISRA *et al.*, 1981; MUKHERJEE, MUKHERJEE & GHOSH, 1984), China (LEE *et al.*, 1988), Equador (ALMTORP, HAZELL & TORSELL, 1991), Tailândia (ALMTORP, HAZELL & TORSELL, 1991), Caribe (PORTER *et al.*, 1995), Panamá (GUPTA *et al.*, 1996), Norte da Nigéria (ONAYADE *et al.*, 1990) e em outras localidades da África (MALAN *et al.*, 1988; AYCARD *et al.*, 1993; PORTER *et al.*, 1995). Os usos etnofarmacológicos evidenciados no levantamento bibliográfico estão descritos na Tabela II, a seguir.

Tabela II - Usos etnofarmacológicos das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Usos Etnofarmacológicos
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Índia: o chá feito com as raízes é usado como aperitivo, por suas propriedades estomáquicas (MISRA <i>et al.</i>, 1981); largamente usada em várias doenças (MUKHERJEE, MUKHERJEE & GHOSH, 1984). ◆ México: propriedades antisépticas comprovadas (ROJAS <i>et al.</i>, 1992); uso das folhas na medicina popular (MENGHINI <i>et al.</i>, 1996).
<i>H. capitata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ China: usada contra resfriados, febre e asma (LEE <i>et al.</i>, 1988). ◆ Equador: doenças fúngicas (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991). ◆ Tailândia: gripes, febre e asma (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991).
<i>H. verticillata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ México: usada popularmente por suas propriedades anti-infecciosas comprovadas (ROJAS <i>et al.</i>, 1992); população rural usa por via oral para dores de cabeça, estômago e distúrbios gastrointestinais. A planta inteira é fervida e friccionada na pele para o tratamento de reumatismos e infecções cutâneas. Usada ainda como banhos em doenças não diagnosticadas. Atribuem-se também propriedades anti-helmíntica e expectorante (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). Usada em distúrbios gastrointestinais e infecções cutâneas pelos Índios Oaxaca (KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994). ◆ África e Caribe: febres e resfriados (PORTER <i>et al.</i>, 1995).
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Norte da Nigéria: uso do óleo essencial em banhos (ONAYADE <i>et al.</i>, 1990). ◆ Em vários países africanos: usada no controle de insetos (AYCARD <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. pectinata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Oeste da África: usada como planta medicinal por suas propriedades antibacteriana, antimicótica e antitussígena (MALAN <i>et al.</i>, 1988). ◆ México: usada popularmente por suas propriedades anti-infecciosas comprovadas (ROJAS <i>et al.</i>, 1992); usada contra febres, doenças de pele, distúrbios gástricos, rinfaringite e congestão pulmonar (PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i>, 1993).
Família ou gênero	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Panamá: usadas popularmente contra diversas doenças (GUPTA <i>et al.</i>, 1996). ◆ México: usadas contra diversas doenças, dentre elas: esterilidade, problemas digestivos, fraqueza, ansiedade, depressão, queda de cabelo e tosse (VEGA-CARRILLO, ISKANDER & MANZANARES-ACUNA, 1997).
<i>H. mutabilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ México: usada contra distúrbios gastrointestinais e malária (PEREDA-MIRANDA & GASCON-FIGUEROA, 1988). ◆ Brasil: uso do chá de folhas frescas no reparo de doenças da mucosa uterina cervical, gastrite, úlcera gástrica, úlceras de pele infectadas e conjuntivite (BARBOSA & BARBOSA, 1992).
<i>H. albida</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ México: usada no tratamento de doenças do trato gastrointestinal e como repelente de insetos (PEREDA-MIRANDA & DELGADO, 1990). Uso pela medicina popular por suas propriedades anti-sépticas (ROJAS <i>et al.</i>, 1992).

Muitos desses usos populares puderam ser comprovados cientificamente. Baseando-se nos artigos publicados na literatura, pode-se perceber que as espécies desse gênero se caracterizam pela presença de substâncias com potencial farmacológico bastante interessante, principalmente atividades antimicrobiana, antifúngica, citotóxica, antiinflamatória, anti-HIV e inseticida. A importância farmacológica desse gênero é tão grande que muitos grupos de pesquisa testaram separadamente as atividades dos extratos e dos óleos essenciais, conforme mostram as Tabelas III e IV.

Tabela III - Atividades farmacológicas das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Atividade Farmacológica
<i>H. umbrosa</i>	◆ Extrato etanólico: Significante atividade antimicrobiana (DELLA-MONACHE <i>et al.</i> , 1990).
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Spicigerolido apresentou efeito citotóxico frente às células KB (PEREDA-MIRANDA, FRAGOSO-SERRANO & CERDA-GARCIA-ROJAS, 2001). ◆ Diterpeno com atividade inseticida frente ao crescimento de larvas de <i>European cornborer</i> (FRAGOSO-SERRANO, GONZALEZ-CHIMEO & PEREDA-MIRANDA, 1999).
<i>H. pectinata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Pectinolídeo A: antimicrobiano contra <i>S. aureus</i> e <i>B. subtilis</i> (concentração entre 6,25 e 12,5 µg/mL) (PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i>, 1993). ◆ Os pectinolídeos A, B e C foram ativos contra bactérias Gram-positivas e apresentaram significante atividade citotóxica (DE₅₀<4 µg/mL) frente a várias linhagens de células cancerígenas (PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i>, 1993). ◆ Extrato metanólico: antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e antifúngico contra <i>C. albicans</i> (ROJAS <i>et al.</i>, 1992). ◆ Extrato aquoso das folhas: efeito antinociceptivo e antiedematogênico <i>in vivo</i> (BISPO <i>et al.</i>, 2001).
Família ou gênero	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extrato da planta (1%) usado em cosméticos como inibidor de hialuronidase (SUMITOMO FORESTRY CO. LTD. & SANSEI PHARMACEUTICAL CO. LTD., 1999). ◆ Uso de extratos de várias plantas do gênero <i>Hyptis</i> em cosméticos clareadores da pele (SEDERMA S.A., 1998). ◆ Plantas da família Lamiaceae apresentam citotoxicidade no ensaio clorogênico (GUPTA <i>et al.</i>, 1996). ◆ Substâncias naturais extraídas de diversas espécies do gênero <i>Hyptis</i> mostraram importante efeito de proteção contra a entrada de cercárias (<i>S. mansoni</i>). Esse efeito ocorre graças ao seu alto teor de terpenóides (GILBERT <i>et al.</i>, 1970). ◆ Atividade citotóxica de cinco espécies de Lamiaceae, usando-se células HeLa e Hep-2; 26,5% mostraram CI₅₀<100 µg/mL contra um dos tipos de culturas; 53% mostraram atividade antimicrobiana significante frente a, pelo menos, dois organismos testados (Total = 15) (GONZALEZ <i>et al.</i>, 1994).

<i>H. emoryi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Vários componentes químicos têm sido examinados por suas propriedades carcinogênica, antifertilidade, micotóxica e fitotóxica (TANOWITZ, JUNAK & SMITH, 1984). ◆ Extrato clorofórmico inibiu no sistema 5WA16 do “Cancer Chemotherapy National Service Center” – USA. O responsável pela ação deve ser o ácido betulínico (SHETH <i>et al.</i>, 1972).
<i>H. crenata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extrato foi ativo no tratamento de doenças de pele e de pele enrugada causadas por detergentes, entre outros, por um mecanismo de inibição de serina protease (SHISEIDO CO. LTD., 2001 B). ◆ Extrato preveniu a degradação de elastina, lamina e membrana basal dérmica, por um mecanismo de inibição da gelatinase (SHISEIDO CO. LTD., 2001 A).
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extraídas das sementes fitoaglutininas correspondentes ao Antígeno A de eritrócitos humanos (POTAPOV, 1968). ◆ Raízes possuem propriedades estomáquicas (MISRA <i>et al.</i>, 1981). ◆ Extrato benzênico das raízes inibiu o crescimento do fungo <i>Helminthosporium orizae</i> (MISRA <i>et al.</i>, 1981). ◆ Agente anti-infeccioso (ROJAS <i>et al.</i>, 1992). ◆ Extrato metanólico: atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e atividade antifúngica contra <i>Candida albicans</i> (ROJAS <i>et al.</i>, 1992). ◆ Atividade antimicrobiana das folhas (MENGHINI <i>et al.</i>, 1996). ◆ Atividades carcinogênica, antifertilidade, micotóxica, fitotóxica e inseticida (PEERZADA, 1997). ◆ Protege o trigo de <i>Cowpea weevil</i> durante o armazenamento (PEERZADA, 1997).
<i>H. capitata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido oleanólico: extrato de toda a planta inibiu a replicação de HIV-1 em células H9 com infecção aguda com CE50=1,7 µg/mL e inibiu o crescimento de células H9 com CI50=21,8 µg/mL (IT=12,8) (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido pomólico: ação anti-HIV com CE50=1,4 µg/mL (IT= 16,6) (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido ursólico: ação anti-HIV com CE50=2 µg/mL mas com certa toxidez CI50=6,50µg/mL (IT=3,3) (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). Citotoxicidade em células de leucemia linfocítica P-388 (também <i>in vivo</i>) e L-1210, bem como em células humanas de carcinoma de pulmão A-549. Certa atividade em células KB, HCT-8 (côlon humano) e tumor mamário (MCF-7), sendo no entanto para estas últimas com DE50 acima do exigido. Quando esterificado nas posições 3 e 17, apresentou atividade semelhante ou maior frente ao crescimento de células leucêmicas L-1210 e P-388 (LEE <i>et al.</i>, 1988). Propriedades antiinflamatória, antiartrítica, antidiabética, antiúlcera, hipolipidêmica e antiarteroesclerótica (LEE <i>et al.</i>, 1988). ◆ Ácido betulínico: ação anti-HIV (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ác. Oleanólico 3-O-(3',3'-dimetil) succinato: ação anti-HIV ainda maior, CE50=0,0005 µg/mL e IT=22,4 (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido hiptático A e ácido 2-a-hidroxiursólico demonstraram citotoxicidade <i>in vitro</i> em células HCT-8 de tumor de côlon (YAMAGISHI <i>et al.</i>, 1988). ◆ Não foi obtida atividade relevante dos extratos em testes contra fungos e insetos (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991).

<i>H. rombóides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido 2α, 3α, 24-trihidroiolean-12 en-28-óico apresentou citotoxicidade <i>in vitro</i> frente a células de hepatoma humano (HS-G2) (LIN <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. albida</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extrato metanólico: antimicrobiano frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e antifúngico frente à <i>C. albicans</i> (ROJAS <i>et al.</i>, 1992).
<i>H. salzmanii</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extrato metanólico: efeito antibacteriano contra <i>S. aureus</i>, <i>B. subtilis</i> e <i>M. smegmatis</i> e antifúngico contra <i>C. albicans</i> (MESSANA <i>et al.</i>, 1990).
<i>H. fruticosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Extrato metanólico de raízes: inibiu germes Gram-positivos e Gram-negativos resistentes a ácido (de ARAUJO <i>et al.</i>, 1974). ◆ Duas substâncias de natureza quinóide isoladas do extrato metanólico: uma delas inibiu 90,3% de células tumorais do carcinoma de Erlich (na forma ascítica) e a outra mostrou resultados positivos contra o sarcoma 180 em camundongos albinos suíços (de ARAUJO <i>et al.</i>, 1974). ◆ Taxodiona (diterpeno quinonóide): atividade contra sarcoma Walker (MARLETTI <i>et al.</i>, 1976).
<i>H. verticillata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Squamulosa isolada e incubada com o fungo <i>Curvularia lunata</i> produziu metabólitos novos que tiveram sua atividade inseticida testada (COLLINS <i>et al.</i>, 2001). ◆ Extrato de glicerina : água (80:20) das partes aéreas inibiu a tirosinase em 99%, usando-se apenas 0,1% do extrato. Usado em cosméticos clareadores da pele (SEDERMA S.A., 1998). ◆ Isolado Cadina-4,10(15)-dien-3-ona demonstrou atividade acaricida frente a <i>Boophilus microplus</i> (PORTER <i>et al.</i>, 1995). ◆ Isolado Cadina-4,10(15)-dien-3-ona demonstrou atividade inseticida tóxico frente a <i>Cylas formicarius</i> (PORTER <i>et al.</i>, 1995). ◆ Ácido rosmarínico: estabilizante capilar sanguíneo (KHUNT <i>et al.</i>, 1995). ◆ Sideritoflavona: inibiu a síntese de prostaglandinas (efeito anti-inflamatório semelhante à indometacina) e efeito anti-secretor (semelhante ao do NPPB) (KHUNT <i>et al.</i>, 1995). ◆ Extrato aquoso apresentou citotoxicidade frente células KB e HT29 (talvez com relevância toxicológica em casos de aplicação interna) (KHUNT <i>et al.</i>, 1995). ◆ 5-metoxidesidropodofilotoxina: atividade frente às células de leucemia linfocítica P-388 (DE50 = 4 $\mu\text{g/mL}$) (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). ◆ Desidro-β-peltatina metil éter: ativo frente às células p-388 (DE50 = 1,8 $\mu\text{g/mL}$) (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). ◆ 5-metoxidesidropodofilotoxina + desidro-β-peltatinametiléter + desidropodofilotoxina + desoxidesidropodofilotoxina: Certa atividade em células de câncer de mama, cólon, pulmão, próstata, fibrosarcoma, KB e KBIV (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). ◆ (-)-yateina, 4'-dimetil-desoxipodofilotoxina, isodesoxipodofilotoxina, desoxipodofilina e β-apopodofilina: atividade geral não específica semelhante à podofilotoxina (DE50 < 10-2 $\mu\text{g/mL}$) (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). ◆ Sideritoflavona: ativa contra células KB (DE50 = 1,6 $\mu\text{g/mL}$) (NOVELO <i>et al.</i>, 1993). ◆ 4'-dimetil-desoxipodofilotoxina e β-peltatina: ação antimetabólica (NOVELO <i>et al.</i>, 1993) e citotóxica (GERMAN, 1971). ◆ Ação antimicrobiana do extrato metanólico frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e efeito antifúngico contra <i>C. albicans</i> (ROJAS <i>et al.</i>, 1992).

Tabela IV - Atividades farmacológicas dos óleos essenciais das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Atividade farmacológica do óleo essencial
<i>H. pectinata</i>	♦ Timol: propriedade antiséptica (PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i> , 1993).
<i>H. mutabilis</i>	♦ Atividade antiulcerogênica (BARBOSA & BARBOSA, 1992).
<i>H. lanceolata</i>	♦ Atividade antifúngica (ZOLLO <i>et al.</i> , 1998).
<i>H. verticillata</i>	♦ Óleo essencial + ácido rosmarínico + desidropodofilotoxina + (R)-5-hidroxi pirrolidina-2-ona = contribuem com o efeito antibiótico contra <i>B. subtilis</i> (KHUNT <i>et al.</i> , 1995).
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ♦ Contra <i>Salmonella typhi</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>S. albus</i> e <i>S. hemolyticus</i> (RAO & ADINARAYANA, 1970). ♦ Potencial antibacteriano, principalmente contra bactérias do trato gastrointestinal. Util em administração oral e em gargarejos (JAIN, JAIN & JAIN, 1974). ♦ Atividade antibacteriana (5mg/mL) contra duas bactérias Gram-positivas e quatro Gram-negativas (ASEKUN, EKUNDAYO & ADENIYI, 1999; IWU <i>et al.</i>, 1990). ♦ Ação frente a vários fungos (IWU <i>et al.</i>, 1990; ZOLLO <i>et al.</i>, 1998). ♦ Atividade larvicida contra <i>Aedes aegypti</i> no 4º estágio (NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997). ♦ Atividade antifúngica ⇒ fungo “sclerotial” do grão de soja, <i>Rhizoctonia solani</i>, <i>sclerotium rolfsii</i>, <i>sclerotinia sclerotiorum</i> (SINGH & HANDIQUE, 1997). ♦ Reduziu a germinação de esporos de <i>sclerotinia sclerotiorum</i> (SINGH & HANDIQUE, 1997). ♦ Óleo essencial em combinação com <i>Trichoderma harzianum</i> controlou doenças causadas por <i>S. sclerotiorum</i> em <i>Brassica caulorapa pasq.</i> (Knol-khol) (SINGH & HANDIQUE, 1997). ♦ Atividade fungitóxica (efeito termoestável) (SINGH, UPADHYAY & RAO, 1992). ♦ Óleo essencial sem fitotoxicidade contra <i>Vigna radiata</i> (SINGH, UPADHYAY & RAO, 1992). ♦ Óleo essencial mais potente que os fungicidas comerciais sintéticos comparados (SINGH, UPADHYAY & RAO, 1992). ♦ Alta atividade nematicida, graças à presença de D-limoneno e mentol (BABU & SUKUL, 1990). ♦ Matou <i>Meloidogyne incognita</i> em 80 minutos (BABU & SUKUL, 1990). ♦ Ativo contra <i>S. aureus</i> (FUN & SVENDSEN, 1990). ♦ Bacteriostático contra <i>Corynebacterium diphtherial</i> e <i>Pseudomonas solanacearum</i> (KAR & JAIN, 1971). ♦ Em misturas 1:1 com outros óleos essenciais (KAR & JAIN, 1971): <ul style="list-style-type: none"> Com <i>Piper cubeba</i>, efeito contra <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Vibron cholerae</i> e <i>S. faecalis</i>. Com <i>Colubrina asiática</i>, efeito contra <i>Vibron cholerae</i>, <i>Salmonella typhi</i> e <i>S. pyogenes</i>. Com <i>Litsea chinensis</i>, efeito contra <i>B. subtilis</i>, <i>C. diphtheriae</i>, <i>Bacillus pumulus</i>, <i>S. pyogenes</i>, e <i>P. solanacearum</i>. Com <i>Acorus calamus</i>, efeito contra <i>S. aureus</i>, <i>S. faecalis</i> e <i>S. pyogenes</i>.

Família ou gênero	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Piperitona: seu vapor promoveu completa inibição de fungos, ação fungitóxica. Essa fração mais ativa foi descrita como tendo potencial superior ao de muitos fungicidas comerciais, podendo ser usada em sementes de cana-de-açúcar, pois não promove efeito tóxico na mesma (SINGH <i>et al.</i>, 1999). ◆ Teste de fungitoxidade contra <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. niger</i> (TIWARI, 1997). ◆ Óleo essencial das plantas dessa família apresentaram significante efeito antibacteriano e antifúngico (BEGUM <i>et al.</i>, 1993).
-------------------	---

Revisão Química de Espécies do Gênero *Hyptis*

A espécie mais estudada do ponto de vista químico é a *H. suaveolens*, que em muitos países é considerada uma erva daninha (BAILAC *et al.*, 1999), como no norte da Austrália (PEERZADA, 1997), por exemplo, pois é capaz de se regenerar após ser destruída pelo fogo (BANERJEE *et al.*, 1996). É a única das 25 espécies de *Hyptis* cuja composição da mucilagem da casca da semente foi estudada, tendo sido identificados como principais constituintes os seguintes glicídeos: L-fuco-4-O-metil-D-glicurono-D-xilano (ASPINALL *et al.*, 1991), L-fucose, D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glicose e ácido 4-O-metil-D-glicurônico (GOWDA, 1984). Além dos açúcares, os ácidos aminados também foram pesquisados, chegando-se à presença de treonina, valina, arginina, serina, metionina, alanina, glutamina, leucina e isoleucina nas folhas e caules (TIWARI, RAJWAR & RAWAT, 1979); e fenilalanina, glicina, triptofano, lisina e prolina nos frutos (TIWARI, RAJWAR & RAWAT, 1979), no entanto, não foram encontrados fenilalanina nem treonina nas sementes (RAO & NIGAM, 1971).

A pesquisa na literatura nos permite conhecer melhor o gênero e prever como devem se comportar as quatro espécies a serem estudadas.

Os principais responsáveis pelas atividades citotóxica e anti-HIV, principalmente, parecem ser os metabólicos terpenoídicos. De acordo com a química característica da família Lamiaceae, a ocorrência dessa classe é realmente muito grande, sendo os triterpenos encontrados majoritariamente (MENEZES, 1994). Na Tabela V, abaixo, encontram-se todos os triterpenos identificados nas espécies de *Hyptis*.

Tabela V - Triterpenos das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Triterpenos
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido urs-12-en-3β-ol-29-óico (MUKHERJEE, MUKHERJEE & GHOSH, 1984). ◆ Ácido ursólico, ácido betulínico e ácido 3β-hidroxilup-12-en-27-óico (MISRA, SINGH & UPADHYAY, 1983 A). ◆ Ácido 3β-hidroxilup-12-en-28-óico (MISRA, SINGH & UPADHYAY, 1983 B). ◆ Ácido hyptadiênico (RAO, RAO & RAO, 1990). ◆ Ácido suaveólico e ácido suaveolol (MANCHAND <i>et al.</i>, 1974). ◆ Ácido oleanólico (MISRA <i>et al.</i>, 1981). ◆ Friedelina e lupeol (UPADHYAY, SINGH & MISRA, 1982; SALUJA & SANTANI, 1984). ◆ Acetato de lupeol (UPADHYAY, SINGH & MISRA, 1982; SALUJA & SANTANI, 1984). ◆ a-amirina (MISRA, SINGH & UPADHYAY, 1983 B). ◆ β-amirina (RAO & NIGAM, 1972; MISRA, SINGH & UPADHYAY, 1983 B).
<i>H. capitata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido oleanólico (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991; KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido pomólico (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido ursólico (LEE <i>et al.</i>, 1988; ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991; KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido betulínico e ácido oleanólico 3-O-(3', 3'-dimetil) succinato (KASHIWADA <i>et al.</i>, 1998). ◆ Ácido 2α-hidroxiursólico, ácido tormêntico, ácido maslínico, ácido hyptático A e ácido hyptático B (YAMAGISHI <i>et al.</i>, 1988).
<i>H. verticillata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido ursólico, ácido maslínico, ácido 2α-hidroxiursólico e ácido oleanólico (NOVELO <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. emoryi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido betulínico (SHETH <i>et al.</i>, 1972).
<i>H. oblongifolia</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido ursólico, ácido maslínico, ácido 2α-hidroxiursólico, ácido pomólico e ácido 2α, 3α-dihidroxioleanólico (PEREDA-MIRANDA, GARCIA & DELGADO, 1990).
<i>H. mutabilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Metil betulinato, acetato do ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido maslínico, ácido 3a-19a-dihidroxiurs-12en-28-óico e 3β-acetóxi-oleanan-13β, 28-olídeo (PEREDA-MIRANDA & GASCON-FIGUEROA, 1988).
<i>H. romboides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido betulínico, ácido ursólico, ácido 2a-hidroxiursólico, ácido 2a, 3a, 24-trihidroxi olean-12en-28-óico e 6-desidroleanona (LIN <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. albida</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido betulínico, ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido 3β-acetil-oleanólico, 3β-hidroxiolean-28, 13β-olido, 3β-hidroxi-11a, 12a-epoxiolean-28, 13β-olido e 3β-hidroxiolean-11-en-28, 13β-olido (PEREDA-MIRANDA & DELGADO, 1990).
<i>H. urticoides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido ursólico (de VIVAR, VIDALES & PEREZ, 1991).

Muito embora a grande predominância dos tipos terpenoídicos seja de triterpenos, um grande número de diterpenos também foi identificado, principalmente com o esqueleto labdânico, como mostra a Tabela VI.

Tabela VI - Diterpenos das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Diterpenos
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 19-acetoxi-2a,7a,15-trihidroxilabda-8(17),(13Z)-dieno. ◆ 15,19-diacetoxi-2a,7a-dihidroxilabda-8(17),(13Z)-dieno. ◆ 7a,15,19-triacetoxi-2a-hidroxilabda-8(17),(13Z)-dieno. ◆ 19-acetoxi-2a,7a-dihidroxilabda-8(17),(13Z)-dien-15- al. ◆ 19-acetoxi-7a,15-dihidroxilabda-8(17),(13Z)-dien-2-ona. ◆ 19-acetoxi-2a,7a-dihidroxilabda-14,15-dinorlabd-8(17)-en-13-ona. ◆ 2a,7a,15,19-tetrahidroxi-<u>ent</u>-labda-8(17),(13Z)-dieno (FRAGOSO-SERRANO, GONZALEZ-CHIMEO & PEREDA-MIRANDA, 1999).
<i>H. dilatata</i>	◆ <u>Epimetil</u> rosmanol, <u>Epietil</u> rosmanol e Esquirolim B (URONES <i>et al.</i> , 1998).
<i>H. salzmanii</i>	◆ (-) - salzol (MESSANA <i>et al.</i> , 1990).
<i>H. fructicosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Horminona e 14-metoxi taxodiona (MARLETTI <i>et al.</i>, 1976; DELLA-MONACHE <i>et al.</i>, 1977). ◆ Hyptol (DELLA-MONACHE <i>et al.</i>, 1977).
<i>H. umbrosa</i>	◆ Umbrosona (DELLA-MONACHE <i>et al.</i> , 1990).

Assim como foi dito anteriormente, as plantas da família Lamiaceae são de grande importância econômica graças ao seu alto teor de óleos essenciais aromáticos. Estes óleos voláteis têm também muito valor junto a diversas sociedades que os usam por suas propriedades terapêuticas já comprovadas (Tabela IV). Baseados neste fato, diversos grupos de pesquisa se interessaram em investigar a composição química desses óleos, identificando assim uma enorme gama de monoterpenos e sesquiterpenos que estão relacionados nas Tabelas VII e VIII, respectivamente.

Tabela VII - Monoterpenos do óleo essencial das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Monoterpenos do Óleo Essencial
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ a-pineno (SIDIBE <i>et al.</i>, 2001; KINI <i>et al.</i>, 1993). ◆ β-pineno (SIDIBE <i>et al.</i>, 2001; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ Sabineno (KINI <i>et al.</i>, 1993; JIROVETZ <i>et al.</i>, 2000; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ 1,8-cineol (CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ Terpinoleno, a-thujeno, limoneno e terpinen-4-ol (JIROVETZ <i>et al.</i>, 2000).

<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Canfeno (FLORES & MEDINA, 1970; PEERZADA, 1997). ◆ p-cimeno (NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999). ◆ Fenchol (PEERZADA, 1997). ◆ Fenchona (FLORES & MEDINA, 1970; MALONIANGA, KOLIE & CAMARA, 1996; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ Mentol (NAYAK & GUHA, 1952; MALONIANGA, KOLIE & CAMARA, 1996; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ β-felandreno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001). ◆ p-menta- 2, 4 (8) – dieno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001). ◆ α – felandreno (IWU <i>et al.</i>, 1990; NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997; PEERZADA, 1997). ◆ Linalol (MALONIANGA, KOLIE & CAMARA, 1996; PEERZADA, 1997). ◆ Acetato de citronelila, óxido de piperitona e acetato de geranila (THOPPIL & JOSE, 1995). ◆ Thujano (IWU <i>et al.</i>, 1990, PEERZADA, 1997). ◆ Felandreno (GOTTLIEB <i>et al.</i>, 1981). ◆ α-pineno (GOTTLIEB <i>et al.</i>, 1981; LUZ <i>et al.</i>, 1984; IWU <i>et al.</i>, 1990; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PEERZADA, 1997). ◆ Mirceno (LUZ <i>et al.</i>, 1984; AHMED, SCORA & TING, 1994; PEERZADA, 1997). ◆ γ-terpineno (FLORES & MEDINA, 1970; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997; PEERZADA, 1997; AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001). ◆ β-pineno (FLORES & MEDINA, 1970; ASEKUN & EKUNDAYO, 2000; NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999; NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PANT <i>et al.</i>, 1992; GOTTLIEB <i>et al.</i>, 1981; PEERZADA, 1997). ◆ Limoneno (FLORES & MEDINA, 1970; AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001; NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999; MALONIANGA, KOLIE & CAMARA, 1996; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PANT <i>et al.</i>, 1992; IWU <i>et al.</i>, 1990). ◆ Sabineno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001; SIDIBE <i>et al.</i>, 2001; ASEKUN & EKUNDAYO, 2000; NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999; PEERZADA, 1997; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997; MENGHINI <i>et al.</i>, 1996; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PANT <i>et al.</i>, 1992; FUN & SVENDSEN, 1990; DIN <i>et al.</i>, 1988; AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002). ◆ 1,8 – cineol (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001; AHMED, SCORA & TING, 1994; MALLAVRAPU <i>et al.</i>, 1993; FUN & SVENDSEN, 1990; DIN <i>et al.</i>, 1988; GOTTLIEB <i>et al.</i>, 1981; AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002; PEERZADA, 1997). ◆ Terpinen-4-ol (ASEKUN & EKUNDAYO, 2000; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; DIN <i>et al.</i>, 1988; PEERZADA, 1997).
----------------------	---

	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Terpinoleno (AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PEERZADA, 1997). ◆ α-terpineol (PEERZADA, 1997). ◆ Cineol (CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ l-sabineno, D-limoneno e Ácido sabeneico (NAYAK & GUHA, 1952). ◆ a-terpineno (SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994).
<i>H. verticillata</i>	◆ a-pineno, β -pineno e timol (KHUNT <i>et al.</i> , 1995).
<i>H. polyantha</i>	◆ Sabineno e l-mentol (PAREDES, 1973).
<i>H. recurvata</i>	◆ 1,8-cineol (LECLERCQ <i>et al.</i> , 2000).
<i>H. capitata</i>	◆ Acetato de citronelila, óxido de piperitona e acetato de geranila (THOPPIL & JOSE, 1995).
<i>H. mutabilis</i>	◆ Cânfora, mircenona, <u>cis</u> -diidrocarvona e <u>trans</u> -diidrocarvona (VELASCO-NEGUERUELA <i>et al.</i> , 1995).
<i>H. goyazensis</i>	◆ β -pineno, cânfora, a-pineno e 1,8-cineol (GOTTLIEB <i>et al.</i> , 1981).
<i>H. pectinata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ a-thujeno, γ-terpineno e p-cimeno (MALAN <i>et al.</i>, 1989; MALAN <i>et al.</i>, 1988). ◆ a-pineno (MALAN <i>et al.</i>, 1989). ◆ Mirceno e timol (MALAN <i>et al.</i>, 1988).
<i>H. crenata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ a-pineno, β-pineno e 1,8-cineol (SCRAMIN <i>et al.</i>, 2000; ZOGHBI <i>et al.</i>, 2002). ◆ Limoneno, terpinoleno e borneol (ZOGHBI <i>et al.</i>, 2002). ◆ Cânfora (SCRAMIN <i>et al.</i>, 2000).
<i>H. emoryi</i>	◆ Neral, citronelal, borneol, geraniol, carveol, piperitenol, acetato de bornila, geranial, l-carvona, β -felandreno, piperitenona, canfeno, piperitona, cânfora, linalol, a-felandreno, γ -terpineno, mirceno, terpinen-4-ol, β -pineno, limoneno, a-pineno, 1,8-cineol, a-thujeno, sabineno e terpinoleno (TANOWITZ, JUNAK & SMITH, 1984).

Tabela VIII - Sesquiterpenos do óleo essencial das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Sesquiterpenos do Óleo Essencial
<i>H. capitata</i>	◆ β -cariofileno (THOPPIL & JOSE, 1995).
<i>H. crenata</i>	◆ β -cariofileno (SCRAMIN <i>et al.</i> , 2000; ZOGHBI <i>et al.</i> , 2002).
<i>H. glomerata</i>	◆ β -cariofileno, γ -cadineno, guaiol e <u>cis</u> -calameneno (SILVA <i>et al.</i> , 2000).
<i>H. floribunda</i>	◆ a-copaeno (DELLACASSA <i>et al.</i> , 1997).
<i>H. emoryi</i>	◆ β -cariofileno, a-humuleno, <u>trans</u> - β -farneseno, d-cadineno, γ -cadineno, elemol e acetato de linacila (TANOWITZ, JUNAK & SMITH, 1984).
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ β-cariofileno (CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997; KINI <i>et al.</i>, 1993; ONAYADE <i>et al.</i>, 1990; SIDIBE <i>et al.</i>, 2001). ◆ Óxido de cariofileno (CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997).
<i>H. pectinata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ β-cariofileno (MALAN <i>et al.</i>, 1989; JIROVETZ & NGASSOUM, 1999; BROPHY & LASSAK, 1987). ◆ Óxido de cariofileno (JIROVETZ & NGASSOUM, 1999). ◆ Germacreno D, biciclogermacreno e β-elemeno (BROPHY & LASSAK, 1987).

<i>H. mutabilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ β-cariofileno (BARBOSA & BARBOSA, 1992; BAILAC <i>et al.</i>, 1999). ◆ Germacreno D e biciclogermacreno (BAILAC <i>et al.</i>, 1999). ◆ β-humuleno, α-cubebeno, α-copaeno, β-burbureno, β-elemeno, β-cubebeno e calameneno (BARBOSA & BARBOSA, 1992).
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ α-humuleno (SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PEERZADA, 1997). ◆ β-cariofileno (LUZ <i>et al.</i>, 1984; SIDIBE <i>et al.</i>, 2001; ASEKUN & EKUNDAYO, 2000; NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999; NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997; MENGHINI <i>et al.</i>, 1996; THOPPIL & JOSE, 1995; AHMED, SCORA & TING, 1994; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PANT <i>et al.</i>, 1992; DIN <i>et al.</i>, 1988; PEERZADA, 1997). ◆ Óxido de cariofileno (SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994; PANT <i>et al.</i>, 1992). ◆ Biciclogermacreno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001). ◆ Germacreno D (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2001; HAC <i>et al.</i>, 1996). ◆ α-cariofileno (NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997). ◆ Germacreno B (AHMED, SCORA & TING, 1994). ◆ Elemeno (IWU <i>et al.</i>, 1990). ◆ β-elemeno (PEERZADA, 1997). ◆ Guaia-1(5)-en-11-ol (SINGH & UPADHYAY, 1994). ◆ (E)-cariofileno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002). ◆ <u>Trans</u>-α-bergamoteno (SIDIBE <i>et al.</i>, 2001; ASEKUN & EKUNDAYO, 2000; SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994). ◆ <u>Cis</u>-α-bergamoteno (NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999). ◆ α-copaeno (DIN <i>et al.</i>, 1988; PEERZADA, 1997). ◆ α-bergamoteno (DIN <i>et al.</i>, 1988; PEERZADA, 1997). ◆ Spathulenol (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002). ◆ β-bourboneno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002). ◆ α-bulneseno (AZEVEDO <i>et al.</i>, 2002). ◆ δ-cadineno (PEERZADA, 1997). ◆ γ-cadineno (PEERZADA, 1997).

Embora os monoterpenos e sesquiterpenos sejam os componentes principais dos óleos essenciais, várias substâncias foram identificadas, tais como hidrocarbonetos, ácidos graxos, esteróides, entre outras e estão descritas na Tabela IX.

Tabela IX - Outros constituintes químicos presentes nos óleos essenciais das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Composição Química do Óleo Essencial
<i>H. pectinata</i>	◆ Fenol (MALAN <i>et al.</i> , 1989).
<i>H. emoryi</i>	◆ Acetato de decila (TANOWITZ, JUNAK & SMITH, 1984).
<i>H. glomerata</i>	◆ Globulol (SILVA <i>et al.</i> , 2000).
<i>H. recurvata</i>	◆ Eugenol (LECLERCQ <i>et al.</i> , 2000).
<i>H. mutabilis</i>	◆ Curzereno (BAILAC <i>et al.</i> , 1999).

<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Metil palmitato (KINI <i>et al.</i>, 1993). ◆ Ácidos graxos C₁₆ e C₁₈ esterificados (ONAYADE <i>et al.</i>, 1990).
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ a-nitrosocloreto (NAYAK & GUHA, 1952). ◆ <u>Ar</u>-abietatrieno (NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999; PANT <i>et al.</i>, 1992). ◆ <u>Ar</u>-abietatrien-19-ol (NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999). ◆ Abietinol (NGASSOUM, JIROVETZ & BUCHBAUER, 1999). ◆ Rico em hidrocarbonetos (ZOLLO <i>et al.</i>, 1998). ◆ Biciclo-3, 1, 1-hexano (NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997). ◆ 3-ciclohexen-1-ol (IWU <i>et al.</i>, 1990; NOEGROHO, SRIMULYANI & MULYANINGSIH, 1997). ◆ Aromadendreno (PEERZADA, 1997; CHALCHAT <i>et al.</i>, 1997). ◆ Eugenol (HAC <i>et al.</i>, 1996; MALONIANGA, KOLIE & CAMARA, 1996; PEERZADA, 1997). ◆ a-salineno (SINGH, MALLAVRAPU & RAMESH, 1994). ◆ <u>Ar</u>-abietatrienol (PANT <i>et al.</i>, 1992). ◆ (Z)-a-<u>trans</u> bergamotol (PANT <i>et al.</i>, 1992). ◆ 4-metil-1-(1-metil etil)-3-ciclohexen-1-ol (IWU <i>et al.</i>, 1990). ◆ 3-ciclohexen-1-carboxialdeído (IWU <i>et al.</i>, 1990). ◆ metil chavicol (SRIVASTAVA, ASAI & KUMAR, 1996). ◆ 4, 11, 11-trimetil-8-metilenobiciclo [7, 2, 0] undec-4-eno, octahidro-1, 4-dimetil azuleno, 5a, 8β, H-9β, H-10a-cabd-14-eno, 5a-androst-9 (11)-en-12-ona e 5a-androstan-2, 11-diona (IWU <i>et al.</i>, 1990).

Ainda sobre as micromoléculas originadas pela via do ácido acético, foram isoladas lactonas α -pirônicas, algumas inéditas no gênero, como, por exemplo, o hyptolido e a hypurticina, que estão relacionadas na Tabela X.

Tabela X - Lactonas das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Lactonas
<i>H. urticoides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Hypurticina (de VIVAR, VIDALES & PEREZ, 1991).
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Spicigera-d-lactona (AYCARD <i>et al.</i>, 1993). ◆ Spicigerolido (PEREDA-MIRANDA, FRAGOSO-SERRANO & CERDA-GARCIA-ROJAS, 2001).
<i>H. oblongifolia</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 4-desacetoxi-10-<u>epi</u>-olguina (DELGADO, PEREDA -MIRANDA & de VIVAR, 1985; PEREDA-MIRANDA, GARCIA & DELGADO, 1990). ◆ Derivado da 4-desacetoxi-10-<u>epi</u>-olguina com R1 = OH, R2 = OMe e derivado da 4-desacetoxi-10-<u>epi</u>-olguina com R1=R2=OH (PEREDA-MIRANDA, GARCIA & DELGADO, 1990).

Família ou gênero	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Anamarina (ALEMANY <i>et al.</i>, 1979 A). ◆ Olguina (ALEMANY <i>et al.</i>, 1979 B).
<i>H. pectinata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Hyptolido (ACHMAD <i>et al.</i>, 1987; PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i>, 1993). ◆ Pectinolído A, pectinolído B e pectinolído C (PEREDA-MIRANDA <i>et al.</i>, 1993).

Da mesma origem biossintética foram identificados representantes da química esteroídica: β -sitosterol (MISRA *et al.*, 1981; RAO & NIGAM, 1972), sitosterol- β , β -glicosilado (MISRA, SINGH & UPADHYAY, 1983 A) e campesterol (UPADHYAY, SINGH & MISRA, 1982) da *H. suaveolens*; estigmasterol da *H. capitata* (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991) e da *H. rhomboides* (LIN *et al.*, 1993); β -sitosterol glicosilado, estigmasterol glicosilado e β -sitosterol da *H. rhomboides* (LIN *et al.*, 1993).

Estão presentes ainda nas plantas do gênero *Hyptis* substâncias de origem biossintética mista, os flavonóides, mesmo que em menor ocorrência, conforme mostra a Tabela XI.

Tabela XI - Flavonóides das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Flavonóides
<i>H. capitata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Apigenina-4', 7-dimetil éter (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991). ◆ Kaempferol-3-rhamnoglucosídeo, 5, 7, 4'-trimetilkaempferol, 4'-hidroxi-3, 5, 7-trimetoxiflavona, 4'-benziloxi-3-metoxi-5, 7-diidroxiflavona e 3, 5, 7-trimetoxi derivado do 4'-benziloxi-3-metoxi-5, 7-diidroxiflavona (KOBAYASHI, 1952).
<i>H. verticillata</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Sideritoflavona (KHUNT <i>et al.</i>, 1995; KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994; NOVELO <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. tomentosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 5-hidroxi-4', 6, 7, 8-tetrametoxiflavona, 5-hidroxi-3', 4', 6, 7-tetrametoxiflavona e eupatorina (KINGSTON, RAO & ZUCKER, 1979).
<i>H. rhomboides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Kaempferol e kaempferol-3-O-rutinosídeo (LIN <i>et al.</i>, 1993).
<i>H. albida</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Apigenina-7, 4'- dimetil éter, kaempferol 3, 7, 4'- trimetil éter, ermanina, nevadensina A e gardeningina B (PEREDA-MIRANDA & DELGADO, 1990).
<i>H. urticoides</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Salvigenina (de VIVAR, VIDALES & PEREZ, 1991).
<i>H. salzmanii</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 4, 2', 6', trihidroxi- 4'- metoxichalcona e (+)-naringenina-7, 4'- dimetil éter (MESSANA <i>et al.</i>, 1990).

Assim como o descrito em relação à química da família Lamiaceae, o metabolismo especial das plantas do gênero *Hyptis* é de notável variabilidade, apresentando predominância

da química herbácea (via do acetato) sobre a lenhosa (via do chiquimato) (MENEZES, 1994). No entanto, mesmo havendo tal discrepância, foram evidenciados diversos metabólicos da via do ácido chiquímico.

Da classe dos alcalóides, apenas o (R)-5-hidroxi-pirrolidina-2-ona foi isolado da *H. verticillata* (KHUNT *et al.*, 1995).

Alguns derivados fenólicos, como o ácido p-metoxicinâmico (da *H. salzmanii*) (MESSANA *et al.*, 1990), fenilpropanóides glicosilados, ácido clorogênico, ácido protocatequínico, hidroquinona e timohidroquinona (PEDERSEN, 2000), foram encontrados em plantas dessa espécie.

Um derivado do ácido caféico, o ácido rosmarínico, foi encontrado nas espécies *H. capitata* (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991) e *H. verticillata* (KHUNT *et al.*, 1995; KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994).

Outra classe de micromoléculas da via do chiquimato presente no gênero *Hyptis* é a das lignanas, responsáveis por boa parte das atividades citotóxicas apresentadas por algumas dessas plantas. Na Tabela XII estão relacionadas as lignanas presentes nas espécies estudadas.

Tabela XII - Lignanas das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Lignanas
<i>H. capitata</i>	♦ 2, 3-di-(3', 4'- metilenedioxibenzil) 2-buten-4-olido e 10-epi-olguina (ALMTORP, HAZELL & TORSSELL, 1991).
<i>H. verticillata</i>	♦ Dehidropodofilotoxina (KHUNT <i>et al.</i> , 1995; KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994; NOVELO <i>et al.</i> , 1993). ♦ Hyptinina (KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994). ♦ Desidrodesoxipodofilotoxina (KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994; NOVELO <i>et al.</i> , 1993). ♦ 4'- demetil desoxi podofilotoxina (KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994; NOVELO <i>et al.</i> , 1993; GERMAN, 1971). ♦ Podofilotoxina, podorhizol e <u>epi</u> podorhizol (KHUNT, RIMPLER & HEINRICH, 1994). ♦ 5-metoxi desidropodofilotoxina, desidro-β-peltatin metil éter, <u>iso</u> desoxipodofilotoxina, (-)-yateina, desoxipicropodofilina e β-apopicropodofilina (NOVELO <i>et al.</i> , 1993). ♦ β-peltatina (GERMAN, 1971; NOVELO <i>et al.</i> , 1993).
<i>H. tomentosa</i>	♦ Sesamina e desoxipodofilotoxina (KINGSTON, RAO & ZUCKER, 1979).
<i>H. salzmanii</i>	♦ (+) – sesamina, (-) – cubebina, (-) – hinokinina, (-) – isosakuranetin e (±) – sakuranetin (MESSANA <i>et al.</i> , 1990).

Na Tabela XIII são mostrados os diversos ácidos graxos de *Hyptis*.

Tabela XIII - Ácidos graxos das espécies de *Hyptis*.

Espécie	Ácidos graxos
<i>H. suaveolens</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido linoléico (MIRALLES & PARES, 1980; RAO & NIGAM, 1972; MIRALLES, 1983). ◆ Ácido palmitoléico, ácido oléico, ácido palmítico e ácido esteárico (RAO & NIGAM, 1972). ◆ Ácido octadeca – 9, 12 – dienóico (linoléico) (UZZAN, 1961).
<i>H. spicigera</i>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ácido linolênico, ácido linoléico, ácido oléico e ácido palmítico (GRINDLEY, 1950; BARKER, DUNN & HILDITCH, 1950). ◆ Ácido esteárico (GRINDLEY, 1950). ◆ Ácido araquidônico (BARKER, DUNN & HILDITCH, 1950).

Baseando-se nas classes químicas encontradas nas espécies de *Hyptis* estudadas, podemos prever que a química das *H. fasciculata*, *H. tetracephala*, *H. heterodon* e *H. elegans* seguirá o mesmo padrão da família Lamiaceae, ou seja, predominância de metabólitos da via do acetato-mevalonato, mas com algumas substâncias de origem biossintética mista e da via do ácido chiquímico.

A importância deste estudo se dá pelo fato das espécies a serem estudadas serem completamente inéditas do ponto de vista científico, mas com grande gama de usos populares, trazendo assim imensa contribuição para a ciência, principalmente para a área de produtos naturais. Alia-se a esse fato o ineditismo químico e farmacológico dessas espécies, fazendo com que estas possam servir de protótipos produtores de moléculas – alvo para aplicações farmacológicas.

Objetivos

Realizar o estudo químico e farmacológico das partes aéreas das quatro espécies do gênero *Hyptis*, até então inéditas sob esses aspectos.

Objetivos específicos

◆ Isolar, identificar e purificar o maior número de substâncias presentes nas partições em hexano, diclorometano e acetato de etila do extrato etanólico dos caules da *Hyptis fasciculata*; na partição hexânica do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*; na partição em diclorometano/acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas da *Hyptis tetracephala*; e no extrato em diclorometano/metanol das partes aéreas da *Hyptis heterodon*.

◆ Realizar a triagem das atividades farmacológicas dos extratos e partições de diferentes polaridades das quatro espécies:

- *Hyptis fasciculata*: atividades antimicrobiana, antinociceptiva central e periférica, antiinflamatória e moluscicida.
- *Hyptis tetracephala*: atividades antimicrobiana, antioxidante pelo método do DPPH e moluscicida.
- *Hyptis heterodon*: atividades antimicrobiana e moluscicida.
- *Hyptis elegans*: atividades antimicrobiana, antioxidante pelo método do DPPH e moluscicida.

PARTE EXPERIMENTAL

I. Fitoquímica

Material e Métodos

As cromatografias com fase gasosa foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo Varian Star 3400 e as análises por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo HP5890 SII acoplado a um espectrômetro de massas VG Autospect (IE 70 eV). Os resultados obtidos foram todos comparados com o catálogo de espectro de massas de McLafferty, sendo consideradas apenas aquelas acerca das quais o banco de dados do computador forneceu índice de certeza superior ou igual a 90%, podendo-se dessa forma sugerir a identidade das substâncias (McLafferty & Stauffer, 1989).

Os espectros de RMN ^1H (200 MHz) e de RMN ^{13}C (50 MHz) foram registrados em aparelho Varian Star-200, utilizando-se solventes deuterados e TMS como padrão interno.

As separações cromatográficas foram efetuadas em colunas de gel de sílica Merck 60 (70-230 mesh) e em camada fina com cromatoplasmas de gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre placa de alumínio Merck, de 0,2 mm de espessura. Para as cromatografias preparativas foram usadas cromatoplasmas com gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre placa de vidro de 20 x 20 cm. A visualização das substâncias em camada fina foi feita, quando possível, sob luz U.V. a 254 e 365 nm e, principalmente, com solução de ácido sulfúrico a 5% em etanol, seguida de aquecimento. Os reagentes usados foram sempre de grau P.A., assim como os solventes utilizados para as purificações.

Coleta e Preparo do Material

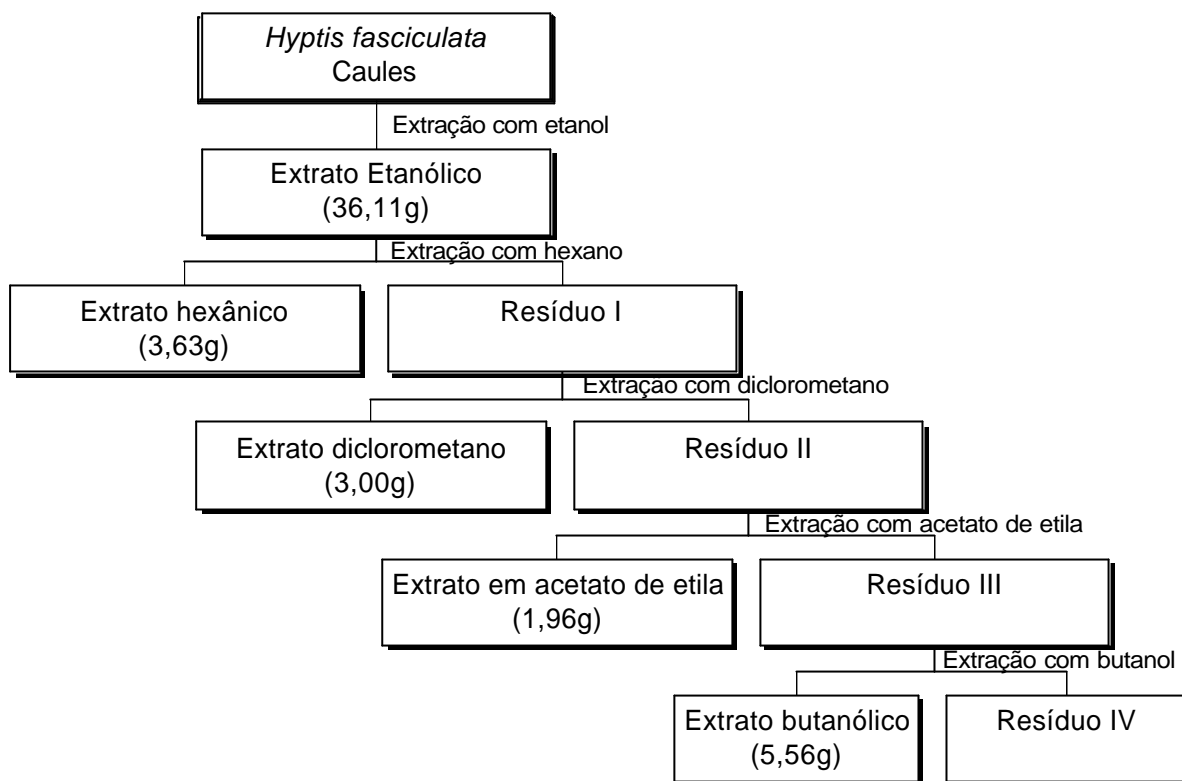
Partes aéreas de *Hyptis fasciculata*, *Hyptis tetracephala*, *Hyptis heterodon* e *Hyptis elegans* foram coletadas pelo Prof. Dr. Sérgio Augusto de Loreto Bordignon, da Universidade Luterana do Brasil (RS), e pelo Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (RJ), em abril de 1998, em Campo Bom, nas cercanias de Porto Alegre, RS.

A identificação botânica do material foi realizada pelo Prof. Dr. Sérgio Augusto de Loreto Bordignon, tendo sido depositada uma amostra de cada espécie no Herbário do Departamento de Botânica – Instituto de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, sob os números de *vouchers* 537 (*H. fasciculata*), 657 (*H. tetracephala*), 86816 (*H. heterodon*) e 517 (*H. elegans*)

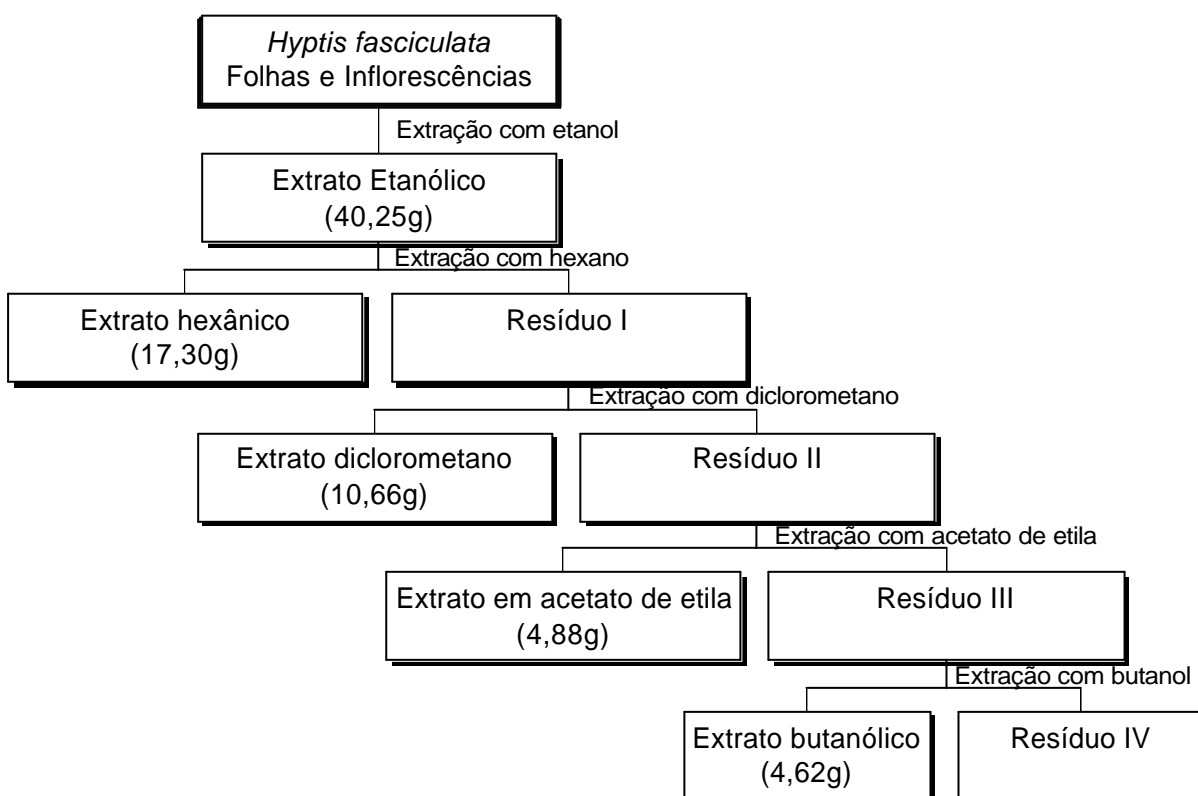
Todas as espécies foram tratadas de forma igual. O material vegetal foi seco em temperatura ambiente e moído em moinho de facas.

Preparação dos Extratos

Hyptis fasciculata - As partes aéreas (1010,00g) coletadas foram separadas em dois grupos: caules e folhas com inflorescências. Estes foram secos, moídos e submetidos à extração com etanol 96° GL por maceração estática. O extrato etanólico total foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um total de 36,11g do extrato dos caules e 40,25g do extrato das folhas e inflorescências. Ambos os extratos etanólicos foram suspensos em 500 mL de água destilada e, em seguida, submetidos à partição por solventes de polaridades crescentes, rendendo as partições em hexano (3,63g dos caules e 17,30g das folhas e inflorescências), diclorometano (3,00g dos caules e 10,66g das folhas e inflorescências), acetato de etila (1,96g dos caules e 4,88g das folhas e inflorescências) e butanol (5,56g dos caules e 4,62g das folhas e inflorescências) (Esquemas I e II).

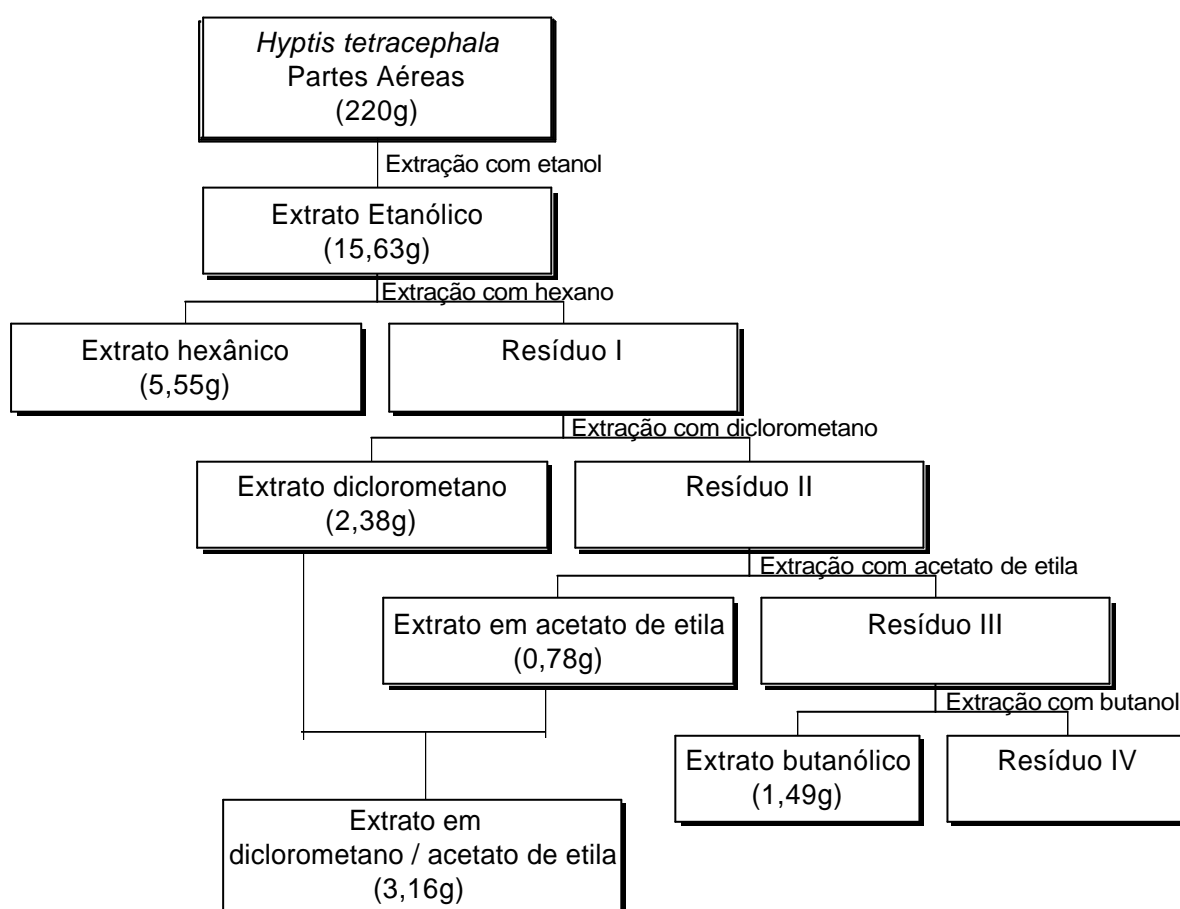


Esquema I: Preparação do Extrato em Etanol e Respectivas Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e *n*-butanol dos Caules de *Hyptis fasciculata*.



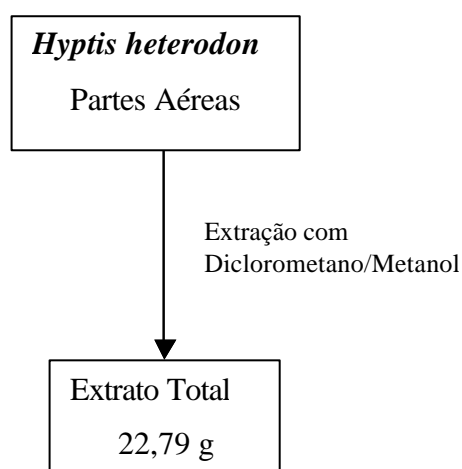
Esquema II: Preparação do Extrato em Etanol e Respectivas Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e *n*-butanol das Folhas com as Inflorescências de *Hyptis fasciculata*.

Hyptis teracephala - As partes aéreas (220,00 g) foram secas, moídas e submetidas à extração com etanol 96° GL por maceração estática. O extrato etanólico total foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um total de 15,63g. Esse extrato foi então suspenso em 500 mL de água destilada e, em seguida, submetido à partição por solventes de polaridades crescentes, rendendo as partições em hexano (5,55g), em diclorometano (2,38g), em acetato de etila (0,78g) e em butanol (1,49g) (Esquema III).



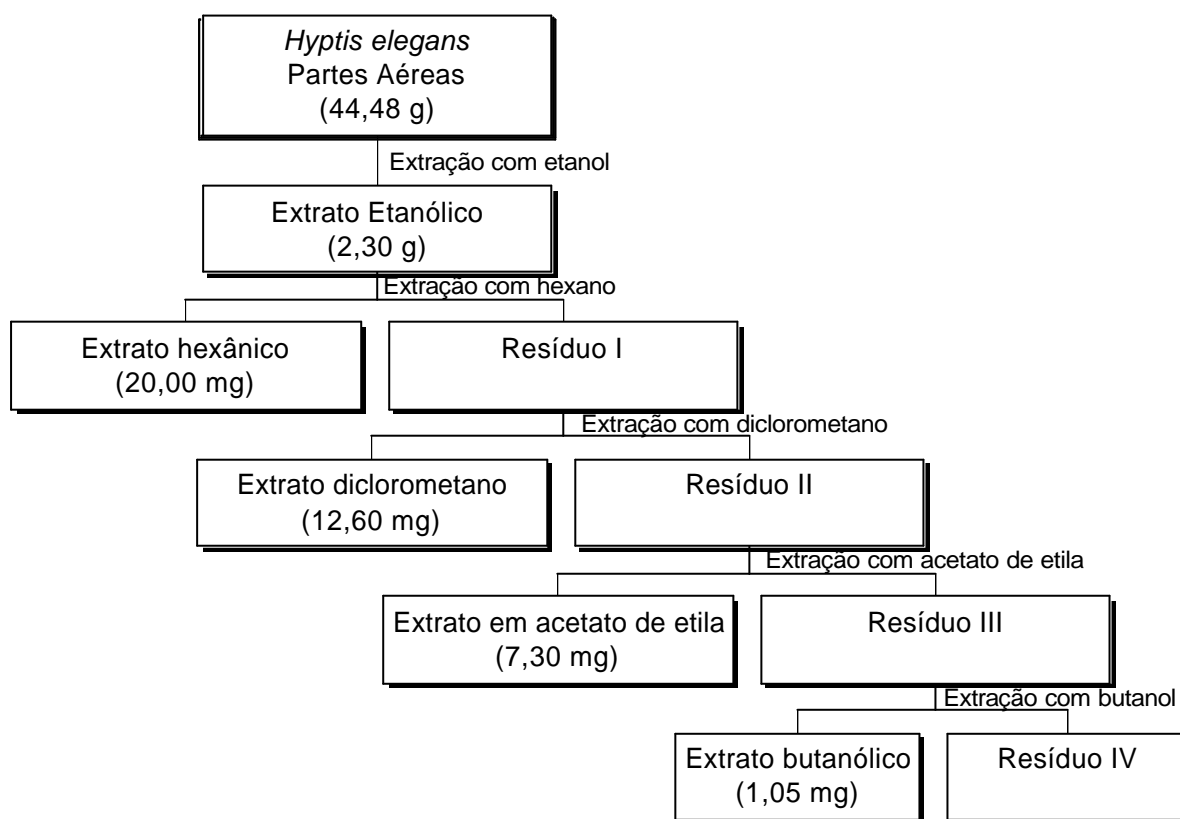
Esquema III: Preparação do Extrato em Etanol e Respectivas Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e *n*-butanol das Partes Aéreas de *Hyptis teracephala*.

Hyptis heterodon - As partes aéreas foram secas (168,00 g), moídas e submetidas à extração com uma mistura de diclorometano e metanol (1:1) por maceração estática. O extrato total foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um total de 22,79g (Esquema IV).



Esquema IV: Preparação do Extrato em Diclorometano/Metanol (1:1) das Partes Aéreas de *Hyptis heterodon*.

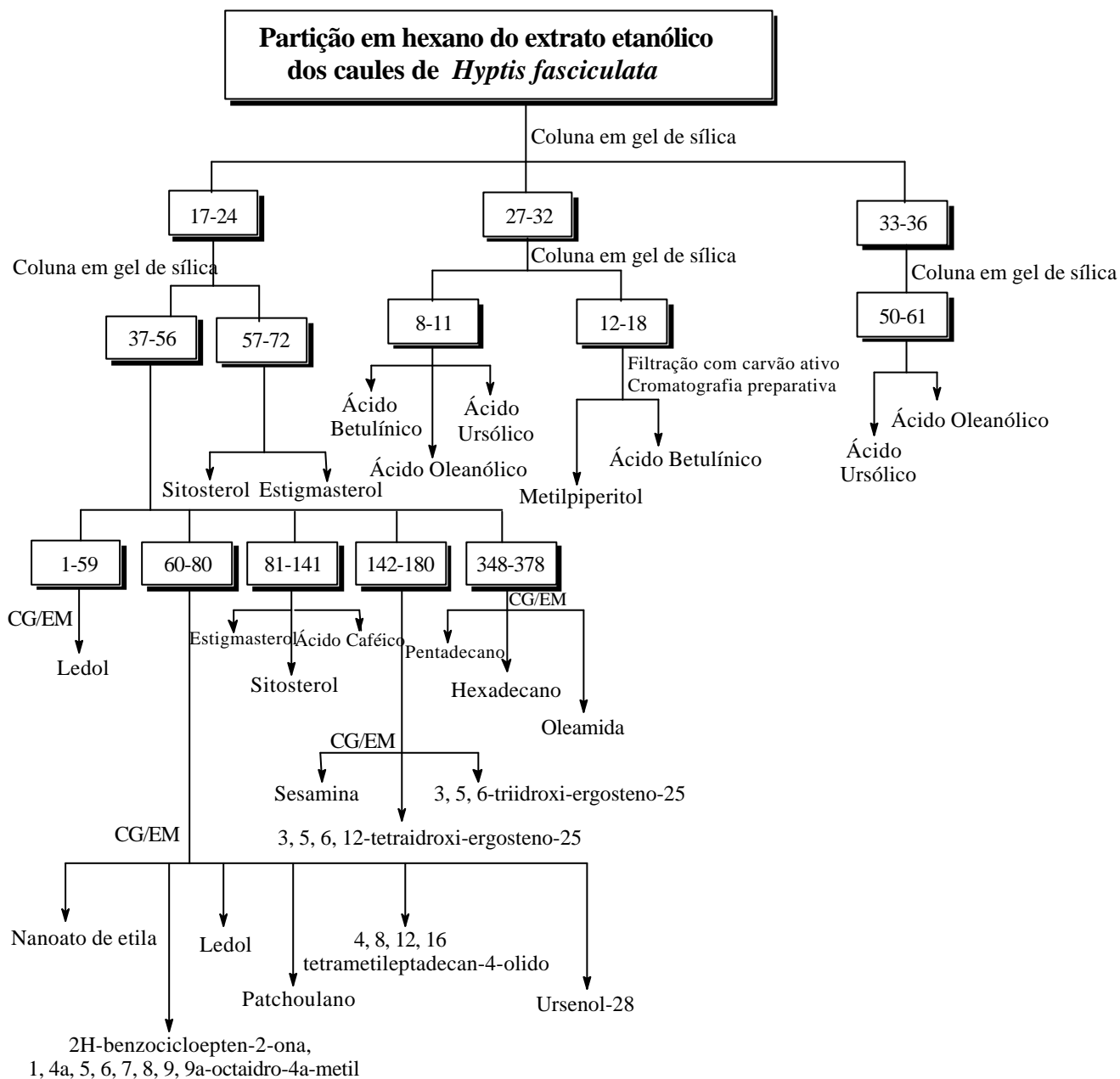
Hyptis elegans - As partes aéreas (44,48 g) foram secas, moídas e submetidas à extração com etanol 96° GL por maceração estática. O extrato etanólico total foi concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um total de 2,30 g. Esse extrato foi então suspenso em 500 mL de água destilada e, em seguida, submetido à partição por solventes de polaridades crescentes, rendendo as partições em hexano (20,00 mg), em diclorometano (12,60 mg), em acetato de etila (7,30 mg) e em butanol (1,05 mg) (Esquema V).



Esquema V: Preparação do Extrato em Etanol e as Respectivas Partições em Hexano, em Diclorometano, em Acetato de Etila e em *n*-butanol das Partes Aéreas de *Hyptis elegans*.

Estudo da Partição em Hexano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

A partição hexânica (3,00g) do extrato etanólico dos caules de *H. fasciculata* foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em hexano, gradientes crescentes de hexano/acetato de etila, acetato de etila, gradientes crescentes de acetato de etila/metanol até metanol puro, rendendo um total de 103 frações (Esquema VI).



Esquema VI: Fracionamento da Partição em Hexano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

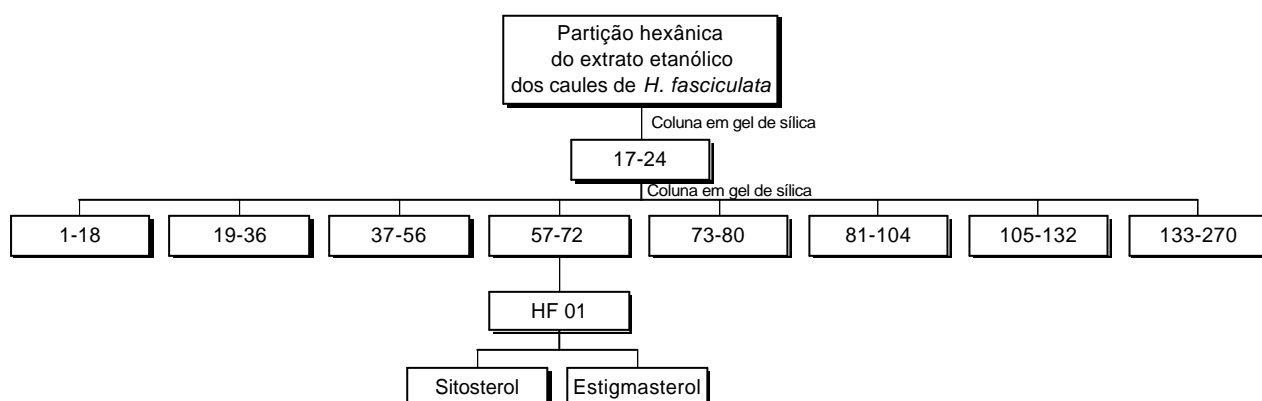
Isolamento da mistura de Esteróides - A junção das frações 17-24 da coluna da partição hexânica do extrato etanólico dos caules de *H. fasciculata*, eluída em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 270 frações. A junção das frações 57-72 (HF 01) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 10%, foi analisada por RMN ^1H e mostrou ser uma mistura dos esteróides sitosterol e estigmasterol (Esquema VII).

Sitosterol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,64-1,01 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,45 (*m*, H_3), 5,30 (*d*, J 4,8 Hz; H_6).

Estigmasterol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,64-1,01 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,45 (*m*, H_3), 5,00 (*m*, H_{23}), 5,20 (*m*, H_{22}), 5,30 (*d*, J 4,8 Hz; H_6).

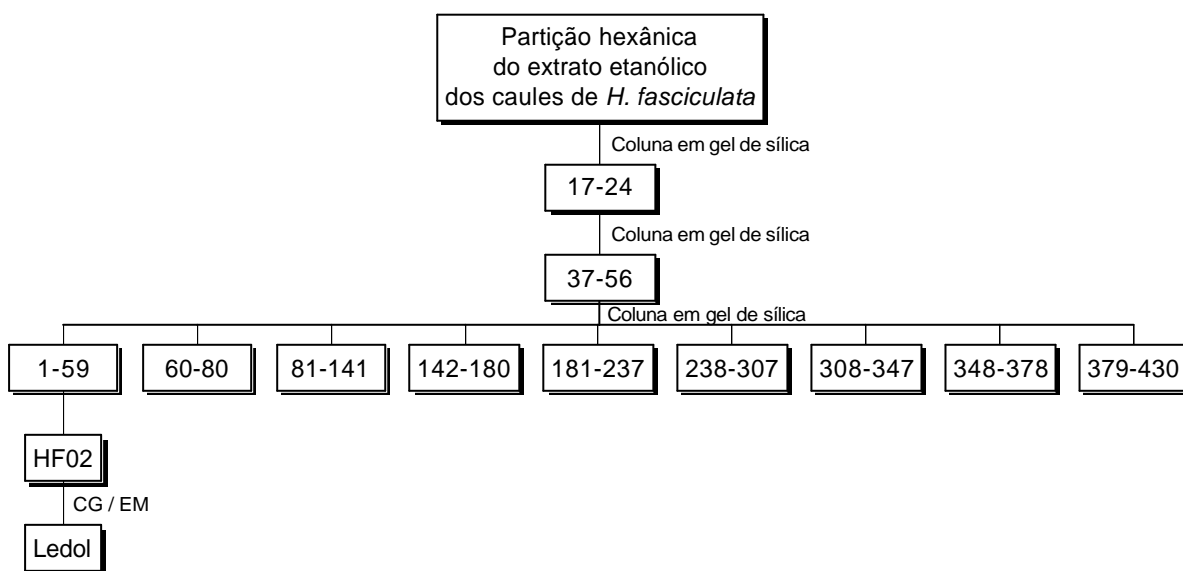


Esquema VII: Isolamento de Sitosterol e Estigmasterol em Mistura.

Identificação de Sesquiterpeno - A junção das frações 37-56 da coluna da junção das frações 17-24, provenientes da coluna da partição em hexano do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 7,5%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 430 frações. A junção das frações 1-59 (HF 02) dessa coluna, eluída em hexano puro, foi analisada por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. O sesquiterpeno ledol apresentou um sinal no cromatograma com tempo de retenção de 36,055 minutos (Esquema VIII).

Ledol:

EM-IE m/z (%): 222 [M]⁺ (2,5); 205 (3,8); 204 (25); 189 (18,1); 164 (6,2); 161 (20); 135 (38,1); 121 (21,9); 109 (37,5); 95 (43,8); 81 (100); 71 (95,6); 55 (80).



Esquema VIII: Identificação do ledol.

Identificação de Um Éster, Uma Lactona, Dois Sesquiterpenos, Um Triterpeno e 2H-Benzociclopten-2-ona, 1,4a,5,6,7,8,9,9a-octaidro-4a-metil - A junção das frações 37-56 da coluna da junção das frações 17-24, provenientes da coluna da partição em hexano do extrato etanólico dos caules da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 7,5%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 430 frações. A junção das frações 60-80 (HF 03) dessa coluna, eluída em hexano puro, foi analisada por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. Da junção HF03, foram identificadas as seguintes substâncias com seus respectivos tempos de retenção na cromatografia com fase gasosa: Nanoato de etila (30,742 min.), 2H-Benzociclopten-2-ona,1,4a,5,6,7,8,9,9a-octaidro-4a-metil (35,2 min.), Ledol (35,867 min.), Patchoulano (36,179 min.), 4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido (53,057 min.) e Ursenol-28 (92,953 min.) (Esquema IX).

Nanoato de etila:

EM-IE m/z (%): 200 [M]⁺; 172 (3,7); 157 (15,6); 129 (6,2); 111 (25); 101 (30,6); 88 (50,6); 67 (37,5); 55 (100).

2H - Benzociclopten - 2 - ona, 1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a- octaidro - 4a- metil:

EM-IE m/z (%): 178 [M]⁺; 177 (3,1); 163 (3,8); 149 (8,1); 136 (84,4); 121 (15); 109 (28,1); 93 (37,5); 79 (61,9); 69 (100); 55 (76,9).

Ledol:

EM-IE m/z (%): 222 [M]⁺; (2,5); 205 (3,8); 204 (25); 189 (18,1); 164 (6,2); 161 (20); 135 (38,1); 121 (21,9); 109 (37,5); 95 (43,8); 81 (100); 71 (95,6); 55 (80).

Patchoulano:

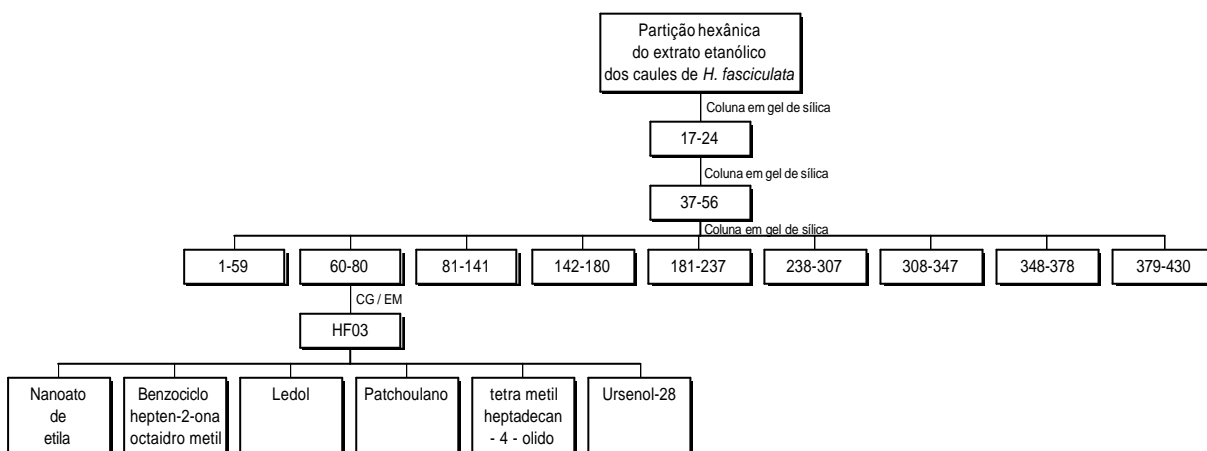
EM-IE m/z (%): 206 [M]⁺ (3,1); 202 (2,5); 187 (7,5); 164 (7,5); 149 (15); 135 (16,2); 121 (25); 107 (44,4); 93 (62,5); 79 (72,5); 69 (65,6); 55 (100).

4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido:

EM-IE m/z (%): 324 [M]⁺; 151 (1,9); 140 (1,2); 126 (7,5); 114 (11,2); 99 (100); 83 (20); 69 (48,1); 55 (76,9).

Ursenol-28:

EM-IE m/z (%): 426 [M]⁺; 219 (11,9); 218 (63,1); 203 (30,6); 189 (12,5); 175 (6,2); 149 (6,2); 135 (13,1); 121 (15,6); 109 (21,9); 95 (40,6); 81 (44,4); 69 (77,5); 55 (100).



Esquema IX: Isolamento de Mistura de Nanoato de etila, 2H-Benzocicloepten-2-ona, 1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octaidro-4a-metil, Ledol, Patchoulano, 4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido e Ursenol-28.

Isolamento da Mistura de Estigmasterol, Sitosterol e Ácido Caféico - A junção das frações 37-56 da coluna da junção das frações 17-24, provenientes da coluna da partição em hexano do extrato etanólico dos caules da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 7,5%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 430 frações. A junção das frações 81-141 (HF 04) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 10%, foi analisada por RMN ^1H e RMN ^{13}C , mostrando ser uma mistura de Estigmasterol, Sitosterol e Ácido Caféico (Esquema X).

Estigmasterol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,66-1,00 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,44 (*m*, H_3), 4,95 (*m*, H_{23}), 5,10 (*m*, H_{22}), 5,30 (*d*, *J* 5,1 Hz; H_6).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 11,9 (C_{18}), 12,1 (C_{29}), 18,9 (C_{27}), 19,3 (C_{19}), 21,0 (C_{26}), 21,1 (C_{11} e C_{21}), 24,2 (C_{15}), 25,3 (C_{28}), 28,8 (C_{16}), 31,5 (C_2), 31,8 (C_7 , C_8 e C_{25}), 36,4 (C_{10}), 37,1 (C_1), 39,7 (C_{12}), 40,4 (C_{20}), 42,1 (C_4 e C_{13}), 50,0 (C_9), 51,1 (C_{24}), 55,9 (C_{17}), 56,7 (C_{14}), 71,7 (C_3), 121,6 (C_6), 129,1 (C_{23}), 138,2 (C_{22}), 140,6 (C_5).

Sitosterol:

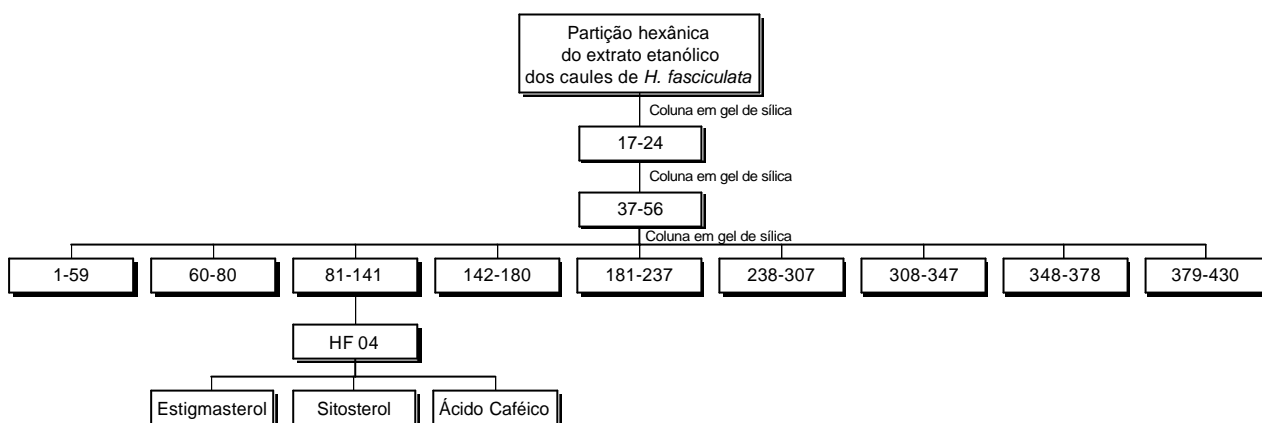
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,66-1,00 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,44 (*m*, H_3), 5,30 (*d*, *J* 5,1 Hz; H_6).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 11,9 (C_{18}), 12,1 (C_{29}), 18,7 (C_{21}), 18,9 (C_{27}), 19,3 (C_{19}), 19,7 (C_{26}), 21,1 (C_{11}), 22,9 (C_{28}), 24,2 (C_{15}), 26,0 (C_{23}), 28,8 (C_{16}), 29,2 (C_{25}) 31,5 (C_2), 31,8 (C_7 e C_8), 33,8 (C_{22}), 36,0 (C_{20}), 36,4 (C_{10}), 37,1 (C_1), 39,7 (C_{12}), 42,1 (C_4 e C_{13}), 45,7 (C_{24}), 50,0 (C_9), 55,9 (C_{17}), 56,7 (C_{14}), 71,7 (C_3), 121,6 (C_6), 140,6 (C_5).

Ácido Caféico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 6,25 (*d*, *J* 15,9 Hz, H_7), 6,89 (*d*, *J* 8,0 Hz, H_5), 7,04 (*d*, H_2), 7,04 (*dd*, *J* 2,0; 8,0 Hz, H_6), 7,56 (*d*, *J* 15,9 Hz, H_8).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 114,6 (C_2 e C_8), 115,5 (C_5), 122,9 (C_6), 144,5 (C_7), 147,8 (C_3 e C_4).



Esquema X: Isolamento de Estigmasterol, Sitosterol e Ácido Caféico em Mistura.

Isolamento da Mistura de Esteróides com Lignana: A junção das frações 37-56 da coluna da junção das frações 17-24 da coluna da partição em hexano do extrato etanólico dos caules da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 7,5%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 430 frações. A junção das frações 142-180 (HF 05) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 10%, foi analisada por RMN ^1H e cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas e mostrou ser uma mistura de Sesamina, 3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 e 3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25. Os sinais apareceram no cromatograma com tempos de retenção em minutos de 78,51, 85,62 e 90,31 respectivamente. (Esquema XI).

Sesamina:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 3,06 (*m*, H_8 e H_8'), 3,88 (*dd*, H_9 e H_9'), 4,25 (*dd*, H_9 e H_9'), 4,73 (*d*, H_7 e H_7'), 5,95 (*s*, 4H, OMeO), 6,75 (*m*, 6H, H_2 , H_2' , H_5 , H_5' , H_6 e H_6').

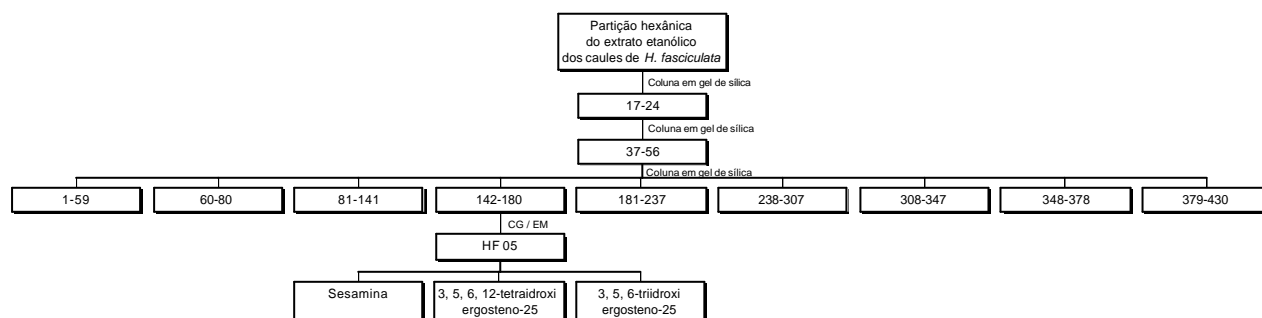
EM-IE m/z (%): 354 $[\text{M}]^+$ (12,5); 204 (1,2); 203 (9,4); 178 (5,6); 162 (4,3); 149 (100); 135 (40,3); 131 (26,7); 115 (17,4); 103 (18,6); 91 (13); 65 (40,3); 63 (30,4).

3, 5, 6, 12-tetraidroxi- ergosteno-25:

EM – IE m/z (%): 448 $[\text{M}]^+$; 412 (2,5); 300 (1,9); 271 (3,8); 255 (3,8); 213 (0,6); 199 (0,6); 185 (0,6); 173 (1,3); 159 (5,6); 145 (6,9); 133 (7,5); 109 (6,2); 95 (14,4); 81 (33,8); 69 (43,1); 55 (100).

3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25:

EM – IE m/z (%): 432 $[\text{M}]^+$; 414 (6,2); 396 (1,2); 382 (1,2); 329 (3,1); 303 (3,1); 255 (2,5); 231 (1,9); 213 (6,2); 199 (1,9); 187 (1,9); 173 (3,1); 159 (9,4); 145 (12,5); 133 (10); 119 (13,8); 105 (26,9); 81 (33,1); 69 (40); 57 (100).



Esquema XI: Isolamento de Mistura de Sesamina, 3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 e 3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25.

Isolamento de Mistura de Dois Ácidos Graxos e Uma Amida - A junção das frações 37-56 da coluna da junção das frações 17-24 provenientes da coluna da partição em hexano do extrato etanólico dos caules da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 7,5%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato etila e metanol, rendendo um total de 430 frações. A junção das frações 348-378 (HF 06) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 50% e acetato puro, foi analisada por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas e mostrou ser uma mistura de Pentadecano, Hexadecano e Oleamida. Os sinais apareceram no cromatograma com tempos de retenção em minutos de 36,56; 39,36 e 62,37 respectivamente (Esquema XII).

Pentadecano:

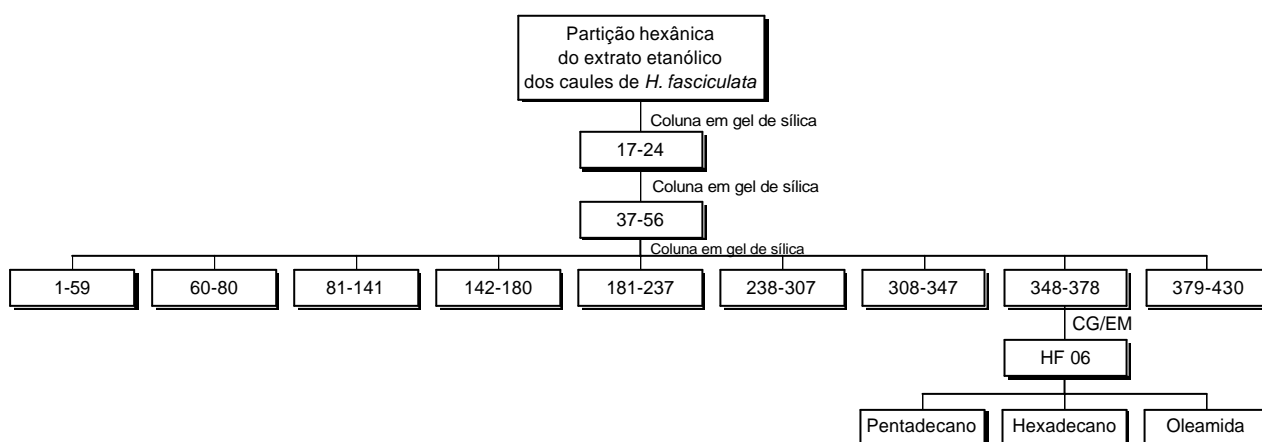
EM – IE m/z (%): 212 [M]⁺; 141 (1,2); 127 (1,9); 113 (3,8); 99 (9,4); 85 (26,9); 71 (60,6); 57 (100).

Hexadecano:

EM – IE m/z (%): 226 [M]⁺; 127 (1,9); 113 (3,1); 99 (6,2); 85 (23,1); 71 (50,6); 57 (100).

Oleamida:

EM – IE m/z (%): 281 [M]⁺ (2,4); 126 (3,8); 112 (3,1); 97 (6,9); 83 (11,9); 72 (53,1); 59 (100).



Esquema XII: Isolamento de Pentadecano, Hexadecano e Oleamida em Mistura.

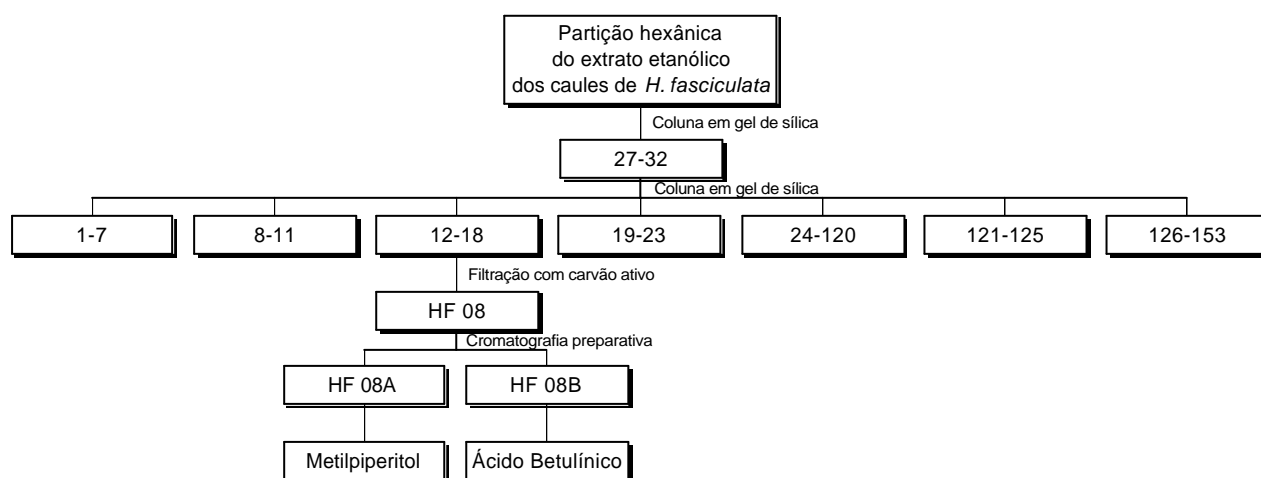
Isolamento de Lignana e Triterpeno Ácido - A junção das frações 27-32 da coluna da partição hexânica do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 20%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 153 frações. A junção das frações 12-18 (HF 08) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 50%, foi filtrada com clorofórmio/acetona em presença de carvão ativo e analisada por RMN ^1H e RMN ^{13}C , mostrando ser uma mistura de lignana, triterpeno e ácidos graxos. Foi então realizada uma cromatografia preparativa com HF 08, rendendo um total de 5 frações, sendo possível isolar o Metilpiperitol (HF 08A) e o Ácido Betulínico (HF 08B). Ambas as estruturas foram confirmadas através de análise por RMN ^1H (Esquema XIII).

Metilpiperitol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 3,04 (*m*, H_8 e $\text{H}_{8'}$), 3,84 (*s*, H_{Me}), 3,84 (*d*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 3,88 (*s*, H_{Me}), 4,21 (*m*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 4,70 (*d*, H_7 e $\text{H}_{7'}$), 5,96 (*s*, H_{OMeO}), 6,78 (*dd*, H_6 e $\text{H}_{6'}$), 6,82 (*d*, H_2 , $\text{H}_{2'}$) e 6,90 (*dd*, H_5 e $\text{H}_{5'}$).

Ácido Betulínico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,77 – 1,00 (*s*, 5X 3H; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} e H_{27}), 1,68 (*s*, 3H, H_{30}), 2,25 (*m*, H_{18}), 3,20 (*m*, H_3), 4,60 (*sl*, H_{29b}), 4,70 (*sl*, H_{29a}).



Esquema XIII: Isolamento do Metilpiperitol e Ácido Betulínico.

Isolamento de Mistura de Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico - A junção das frações 27-32 da coluna da partição hexânica do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 20%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 153 frações. A junção das frações 8-11 (HF 09) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 50%, foi analisada por métodos físicos e mostrou ser uma mistura de triterpenos ácidos, Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico (Esquema XIV).

Ácido Betulínico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,74 – 1,00 (envelope de sinais de metila; H_3 , H_{24} , H_{25} , H_{26} e H_{27}), 1,68 (*s*, 3H, H_{30}), 2,24 (*m*, H_{18}), 3,16 (*dd*, *J* 5,9; 15,7 Hz, H_3), 4,56 (*sl*, H_{29b}), 4,70 (*sl*, H_{29a}).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 14,5 (C_{27}), 15,2 (C_{24}), 16,0 (C_{25} e C_{26}), 18,2 (C_6), 19,2 (C_{30}), 20,8 (C_{11}), 25,8 (C_{12}), 27,5 (C_2), 27,8 (C_{23}), 29,6 (C_{21}), 30,5 (C_{15}), 32,0 (C_{16}), 34,2 (C_7), 37,1 (C_{10} e C_{22}), 38,6 (C_1 e C_{13}), 38,7 (C_4), 40,5 (C_8), 42,3 (C_{14}), 46,8 (C_{18}), 50,4 (C_9 e C_{19}), 55,1 (C_5), 56,3 (C_{17}), 79,0 (C_3), 109,5 (C_{29}), 150,3 (C_{20}), 182,2 (C_{28}).

Ácido Oleanólico:

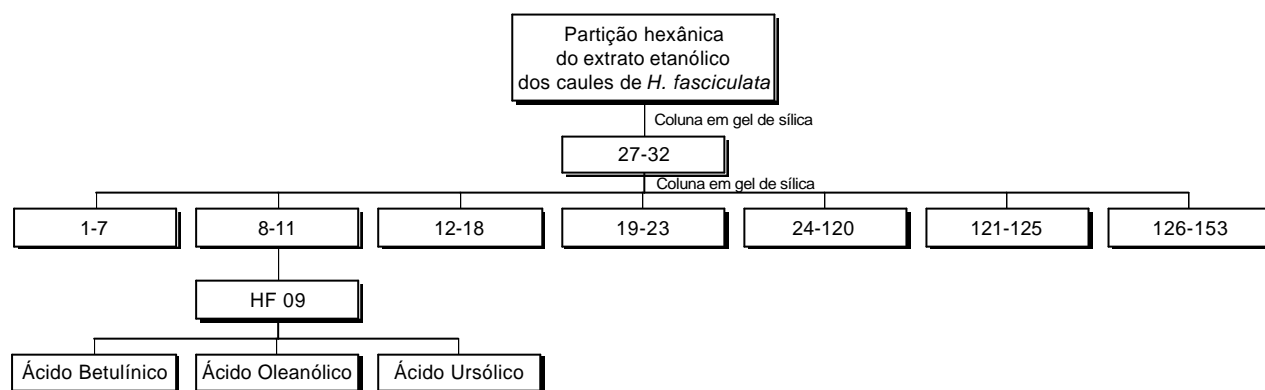
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,74 – 1,00 (envelope de sinais de metila; H_3 , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,76 (*dd*, *J* 4,5; 14 Hz, H_{18}), 3,16 (*dd*, *J* 5,9; 15,7 Hz, H_3), 5,24 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 15,4 (C_{24} e C_{25}), 16,7 (C_{26}), 18,2 (C_6), 23,3 (C_{11} e C_{16}), 23,5 (C_{30}), 25,8 (C_{27}), 27,5 (C_2 e C_{15}), 28,0 (C_{23}), 30,6 (C_{20}), 32,3 (C_{22}), 32,5 (C_7), 33,0 (C_{29}), 33,9 (C_{21}), 37,0 (C_{10}), 38,6 (C_1), 38,7 (C_4), 39,2 (C_8), 40,8 (C_{18}), 41,8 (C_{14}), 45,7 (C_{19}), 46,4 (C_{17}), 47,5 (C_9), 55,2 (C_5), 79,0 (C_3), 122,5 (C_{12}), 143,4 (C_{13}), 183,9 (C_{28}).

Ácido Ursólico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,74 – 1,00 (envelope de sinais de metila; H_3 , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 1,84 (*m*, H_{18}), 3,16 (*dd*, J 5,9; 15,7 Hz, H_3), 5,24 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 15,4 (C_{24} e C_{25}), 16,7 (C_{26}), 18,2 (C_6), 21,2 (C_{30}), 23,3 (C_{11}), 23,5 (C_{27} e C_{29}), 24,6 (C_{16}), 27,5 (C_2), 28,0 (C_{15} e C_{23}), 29,6 (C_{20}), 30,5 (C_{21}), 32,5 (C_7), 37,0 (C_{10} e C_{22}), 38,7 (C_1 e C_4), 39,2 (C_{19}), 39,4 (C_8), 41,5 (C_{14}), 47,5 (C_9), 47,8 (C_{17}), 52,4 (C_{18}), 55,2 (C_5), 79,0 (C_3), 125,7 (C_{12}), 138,0 (C_{13}), 179,4 (C_{28}).



Esquema XIV: Isolamento do Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico em Mistura.

Isolamento de Mistura de Ácido Ursólico e Ácido Oleanólico - A junção das frações 33-36 da coluna da partição hexânica do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 30%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 142 frações. A junção das frações 50-61 (HF 10) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 30%, foi analisada por RMN ^1H e RMN ^{13}C e mostrou ser uma mistura de Ácido Ursólico com Ácido Oleanólico (Esquema XV).

Ácido Ursólico:

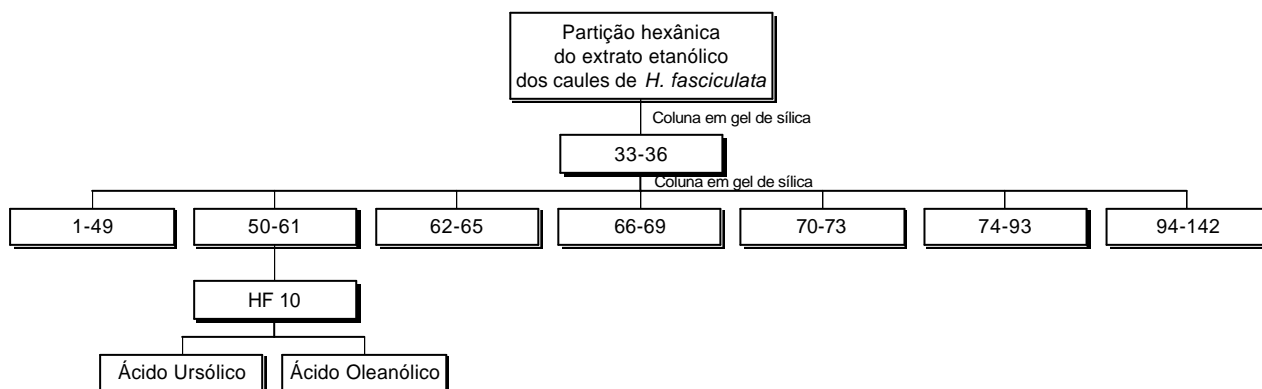
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,74 – 1,00 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,18 (*sl*, H_{18}), 3,18 (*dd*, J 5,6; 15,6 Hz, H_3), 5,22 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 14,7 (C_{27}), 15,4 (C_{24} e C_{25}), 16,7 (C_{26}), 18,2 (C_6), 21,1 (C_{30}), 23,2 (C_{11}), 23,5 (C_{27} e C_{29}), 24,8 (C_{16}), 27,1 (C_2), 28,0 (C_{23}), 30,5 (C_{21}), 32,3 (C_7), 36,6 (C_{22}), 37,0 (C_{10}), 38,6 (C_1 e C_4), 38,9 (C_8 e C_{19}), 41,8 (C_{14}), 47,5 (C_9), 47,8 (C_{17}), 52,5 (C_{18}), 55,1 (C_5), 78,9 (C_3), 125,7 (C_{12}), 140,9 (C_{13}).

Ácido Oleanólico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,74 – 1,00 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,74 (*dd*, J 4,9; 13,9 Hz, H_{18}), 3,18 (*dd*, J 5,6; 15,6 Hz, H_3), 5,22 (*m*, H_{12}).

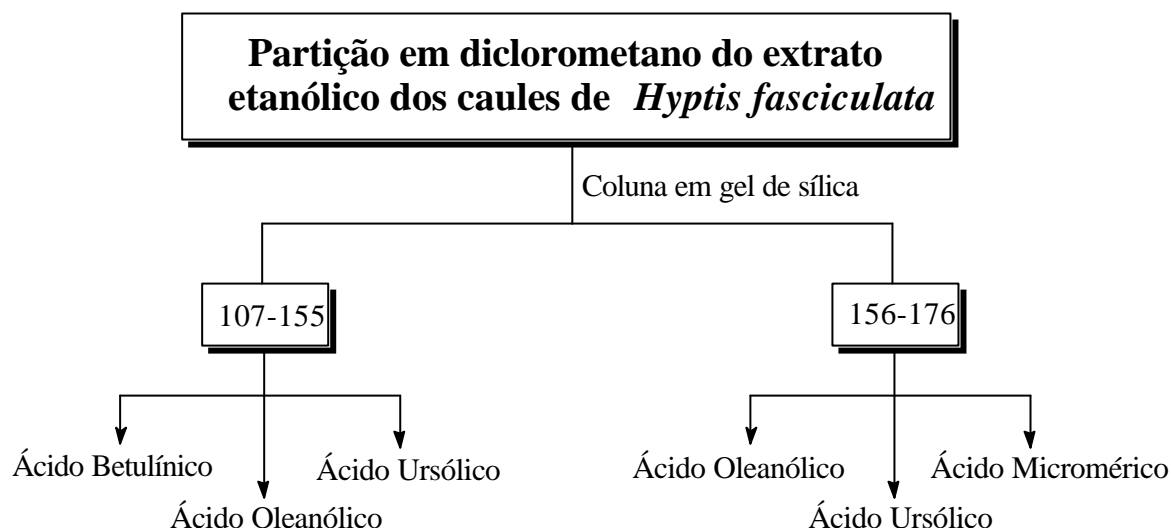
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 15,4 (C_{24} e C_{25}), 16,9 (C_{26}), 18,2 (C_6), 23,2 (C_{11} e C_{16}), 23,5 (C_{30}), 27,1 (C_2), 27,7 (C_{15}), 28,0 (C_{23}), 30,6 (C_{20}), 32,3 (C_7 e C_{22}), 33,6 (C_{21}), 37,0 (C_{10}), 38,6 (C_1 e C_4), 38,9 (C_8), 40,9 (C_{18}), 41,8 (C_{14}), 45,8 (C_{17} e C_{19}), 47,5 (C_9), 55,1 (C_5), 78,9 (C_3), 122,5 (C_{12}), 143,5 (C_{13}), 182,7 (C_{28}).



Esquema XV: Isolamento do Ácido Ursólico e Ácido Oleanólico em Mistura.

Estudo da Partição em Diclorometano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

A partição em diclorometano (2,60 g) do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata* foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 429 frações (Esquema XVI).



Esquema XVI: Fracionamento da Partição em Diclorometano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

Isolamento de Mistura de Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico - A junção das frações 107-155 (HF 11) da coluna da partição em diclorometano do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em acetato puro, foi analisada por RMN ^1H e ^{13}C e mostrou ser uma mistura de Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico (Esquema XVII).

Ácido Betulínico:

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,64 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} e H_{27}), 1,62 (s, 3H, H_{30}), 2,12 (m, H_{18}), 2,92 (m, H_3), 4,52 (sl, H_{29b}), 4,66 (sl, H_{29a}).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 15,1 (C_{24}), 15,9 (C_{25}), 16,8 (C_{26}), 17,9 (C_6), 19,2 (C_{30}), 25,5 (C_{12}), 27,4 (C_2), 28,1 (C_{23}), 28,9 (C_{21}), 30,2 (C_{15}), 32,0 (C_{16}), 33,3 (C_7), 36,4 (C_{10} e C_{22}), 38,2 (C_{13}), 38,7 (C_1 e C_4), 40,4 (C_8), 47,0 (C_{18}), 52,3 (C_9), 54,7 (C_5), 76,8 (C_3), 109,5 (C_{29}), 178,3 (C_{28}).

Ácido Oleanólico:

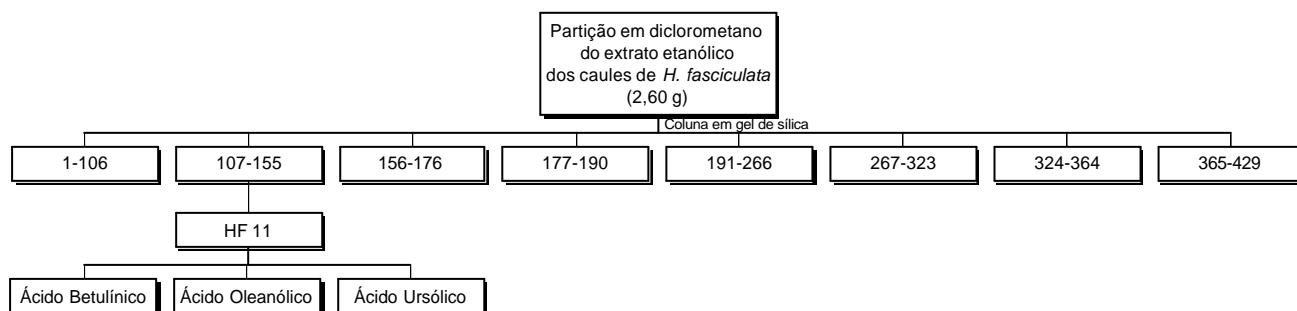
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,64 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,70 (*dd*, J 9,4 Hz, H_{18}), 2,92 (*m*, H_3), 5,10 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 15,1 (C_{25}), 15,9 (C_{24}), 16,9 (C_{26}), 17,9 (C_6), 22,8 (C_{11} e C_{16}), 23,2 (C_{30}), 25,5 (C_{27}), 27,4 (C_2 e C_{15}), 28,1 (C_{23}), 30,2 (C_{20}), 32,0 (C_7 e C_{22}), 33,3 (C_{21}), 36,4 (C_{10}), 38,7 (C_1 e C_4), 39,5 (C_8), 41,6 (C_{14}), 45,6 (C_{19}), 46,7 (C_{17}), 47,0 (C_9), 54,7 (C_5), 76,8 (C_3), 121,4 (C_{12}), 143,7 (C_{13}), 178,3 (C_{28}).

Ácido Ursólico:

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,64 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,06 (*sl*, H_{18}), 2,92 (*m*, H_3), 5,10 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 15,1 (C_{24}), 15,9 (C_{25}), 16,8 (C_{26}), 17,9 (C_6), 20,9 (C_{30}), 22,8 (C_{11}), 23,2 (C_{27} e C_{29}), 23,7 (C_{16}), 27,4 (C_2 e C_{15}), 28,1 (C_{23}), 30,2 (C_{21}), 32,0 (C_7), 36,4 (C_{10} e C_{22}), 38,4 (C_{19}), 38,7 (C_1 e C_4), 39,5 (C_8), 41,6 (C_{14}), 47,0 (C_9), 52,3 (C_{18}), 54,7 (C_5), 76,8 (C_3), 124,5 (C_{12}), 138,1 (C_{13}), 178,0 (C_{28}).



Esquema XVII: Isolamento do Ácido Betulínico, Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico em Mistura.

Isolamento de Mistura de Ácido Oleanólico, Ácido Ursólico e Ácido Micromérico - A junção das frações 156-176 (HF 12) da coluna da partição em diclorometano do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em acetato de etila/metanol 5%, foi analisada por RMN ^1H e RMN ^{13}C e mostrou ser uma mistura de Ácido Oleanólico e Ácido Ursólico (Esquema XVIII).

Ácido Oleanólico:

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,66 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,70 (*dd*, J 9,6 Hz, H_{18}), 2,94 (*m*, H_3), 5,10 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 15,1 (C_{25}), 15,9 (C_{24}), 16,8 (C_{26}), 17,9 (C_6), 22,7 (C_{11} e C_{16}), 23,2 (C_{30}), 26,0 (C_{27}), 26,9 (C_{15}), 27,4 (C_2), 28,1 (C_{23}), 30,0 (C_{20}), 32,6 (C_7 e C_{22}), 33,0 (C_{29}), 33,3 (C_{21}), 36,4 (C_{10}), 38,7 (C_1 e C_4), 39,5 (C_8), 40,8 (C_{14}), 46,7 (C_{17} e C_{19}), 46,9 (C_9), 54,7 (C_5), 77,8 (C_3), 121,4 (C_{12}), 143,7 (C_{13}), 178,3 (C_{28}).

Ácido Ursólico:

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,66 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,12 (*sl*, H_{18}), 2,94 (*m*, H_3), 5,10 (*m*, H_{12}).

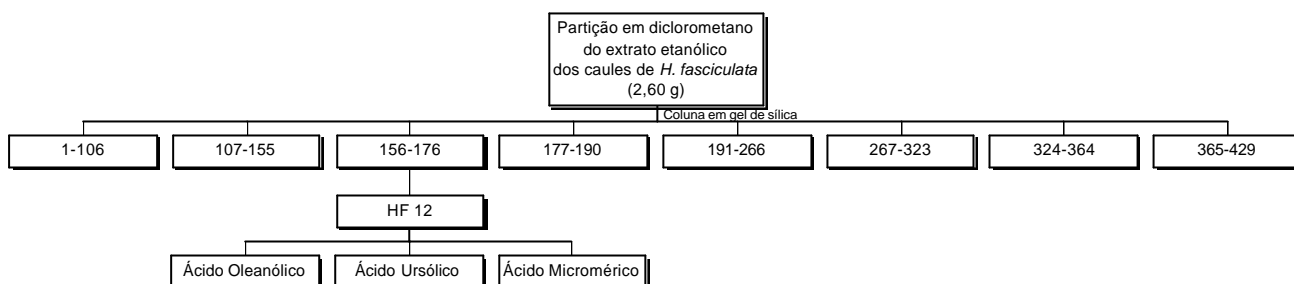
RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 15,1 (C_{24}), 15,9 (C_{25}), 16,8 (C_{26}), 17,9 (C_6), 20,9 (C_{30}), 22,7 (C_{11}), 23,1 (C_{27}), 23,7 (C_{16}), 27,4 (C_2 e C_{15}), 28,1 (C_{23}), 29,4 (C_{20}), 30,7 (C_{21}), 32,6 (C_7), 36,4 (C_{10} e C_{22}), 38,4 (C_{19}), 38,7 (C_1 e C_4), 39,5 (C_8), 41,6 (C_{14}), 46,7 (C_{17}), 47,0 (C_9), 52,3 (C_{18}), 54,7 (C_5), 77,8 (C_3), 124,4 (C_{12}), 138,0 (C_{13}), 178,0 (C_{28}).

Ácido Micromérico:

RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 0,66 – 0,90 (envelope de sinais de metila; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,12 (*sl*, H_{18}), 2,94 (*m*, H_3), 3,98 (*m*, H_{30}), 4,14 (*m*, H_{30}), 5,10 (*m*, H_{12}).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 16,1 (C_{25} e C_{29}), 16,8 (C_{26}), 17,9 (C_6), 20,9 (C_{24}), 22,7 (C_{11}), 23,1 (C_{27}), 23,7 (C_{16}), 27,4 (C_2 e C_{15}), 28,1 (C_{23}), 32,6 (C_7 e C_{21}), 37,1 (C_{19}),

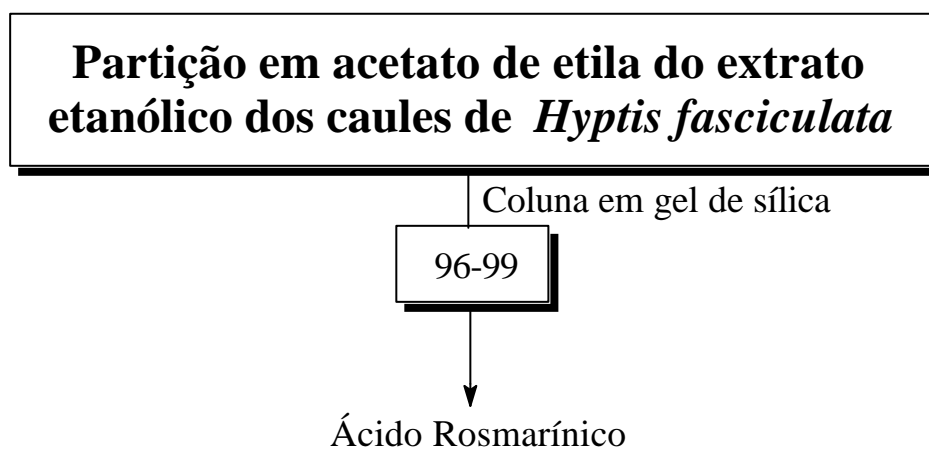
38,2 (C₄ e C₁₀), 38,7 (C₂₂), 39,1 (C₈), 41,6 (C₁ e C₁₄), 47,0 (C₅ e C₉), 54,7 (C₁₈), 76,7 (C₃), 104,8 (C₃₀), 124,4 (C₁₂), 138,0 (C₁₃), 153,0 (C₂₀), 178,0 (C₂₈).



Esquema XVIII: Isolamento do Ácido Oleanólico, Ácido Ursólico e Ácido Micromérico em Mistura.

Estudo da Partição em Acetato de Etila do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

A partição em acetato de etila (1,50 g) do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata* foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol e metanol/ácido sulfúrico 0,5%, rendendo um total de 245 frações (Esquema XIX).

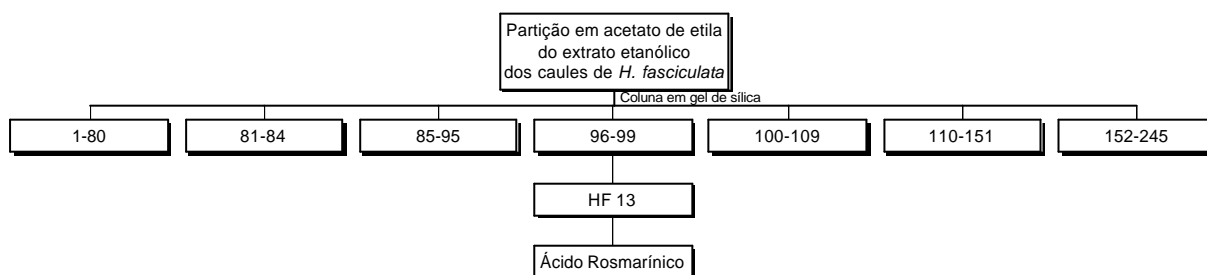


Esquema XIX: Fracionamento da Partição em Acetato de Etila do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

Isolamento do Ácido Rosmarínico - A junção das frações 96-99 (HF 13) de coluna da partição em acetato de etila do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, eluída em acetato de etila/metanol 10%, foi analisada por métodos físicos e mostrou ser o Ácido Rosmarínico (Esquema XX).

Ácido Rosmarínico:

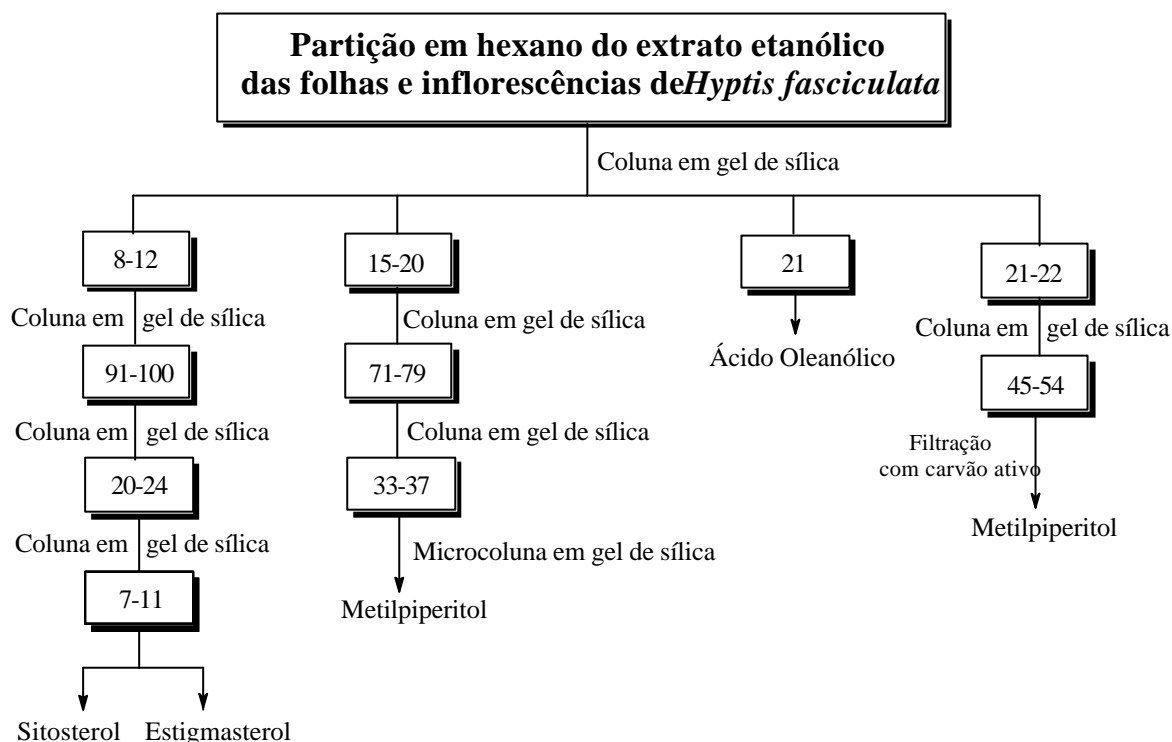
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 2,92 (*dd*, J 7,8; 14,2 Hz, $\text{H}_{7,\beta}$), 5,00 (*m*, $\text{H}_{8'}$), 6,20 (*d*, J 15,8 Hz, H_7), 6,62 (*s*, $\text{H}_{6'}$), 6,64 (*d*, J 2,2, $\text{H}_{5'}$), 6,71 (*s*, $\text{H}_{2'}$), 6,74 (*d*, J 8,0 Hz, H_5), 6,86 (*d*, J 6,7, H_6), 7,04 (*sl*, H_2), 7,42 (*d*, J 15,8 Hz, H_8).



Esquema XX: Isolamento do Ácido Rosmarínico.

Estudo da Partição em Hexano do Extrato Etanólico das Folhas e Inflorescências de *Hyptis fasciculata*.

A partição hexânica (15,00g) do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *H. fasciculata* foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 38 frações (Esquema XXI).

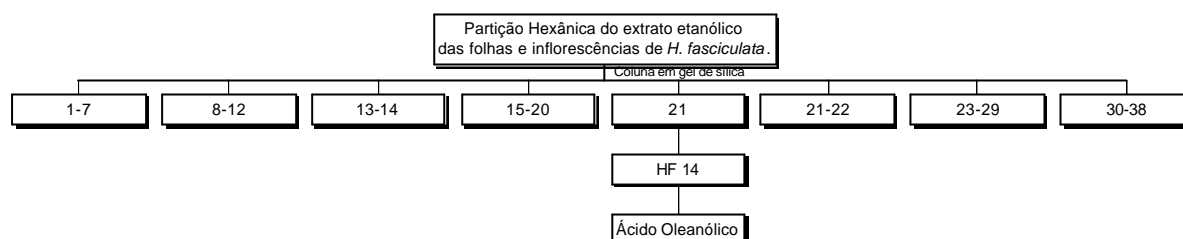


Esquema XXI: Fracionamento da Partição em Hexano do Extrato Etanólico das Folhas e Inflorescências de *Hyptis fasciculata*.

Isolamento de Triterpeno Ácido - Uma parte da fração 21, eluída em hexano/acetato de etila 20%, foi separada e filtrada, usando acetato de etila como solvente, o que originou um pó branco. Esse pó foi analisado por métodos físicos e mostrou ser o Ácido Oleanólico (HF 14) (Esquema XXII).

Ácido Oleanólico:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,72-0,98 (s, 7X 3H; H_{23} , H_{24} , H_{25} , H_{26} , H_{27} , H_{29} e H_{30}), 2,72 (dd, J 10 Hz, H_{18}), 3,14 (dd, J 5,7; 9,9 Hz, H_3), 5,21 (m, H_{12}).



Esquema XXII: Isolamento de Ácido Oleanólico.

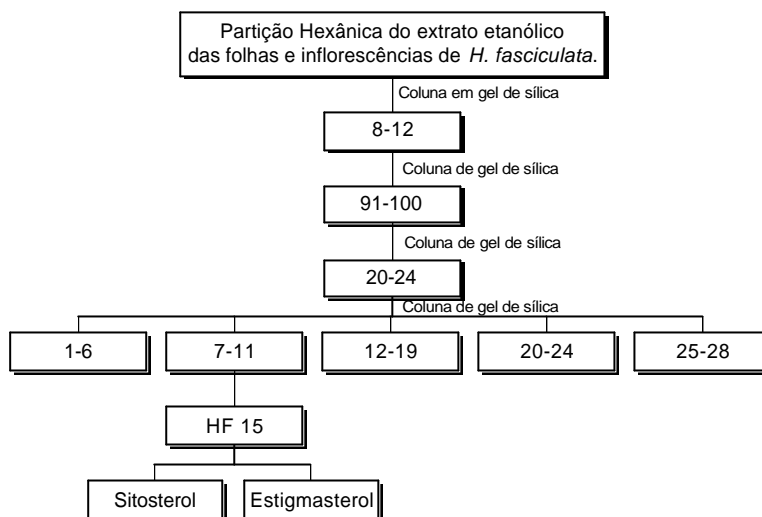
Isolamento de Esteróides em Mistura - A junção das frações 20-24 da coluna da junção das frações 91-100, originada da coluna da junção das frações 8-12 da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 30%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 28 frações. A junção das frações 7-11 (HF 15) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 30%, foi analisada por RMN ^1H e mostrou ser uma mistura de Sitosterol e Estigmasterol (Esquema XXIII).

Sitosterol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,66-1,00 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,40 (m, H_3), 5,30 (d, J 5,1 Hz; H_6).

Estigmasterol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,66-1,00 (envelope de sinais de metilas; H_8 , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,40 (m, H_3), 4,97 (m, H_{23}), 5,10 (m, H_{22}), 5,30 (d, J 5,1 Hz; H_6).



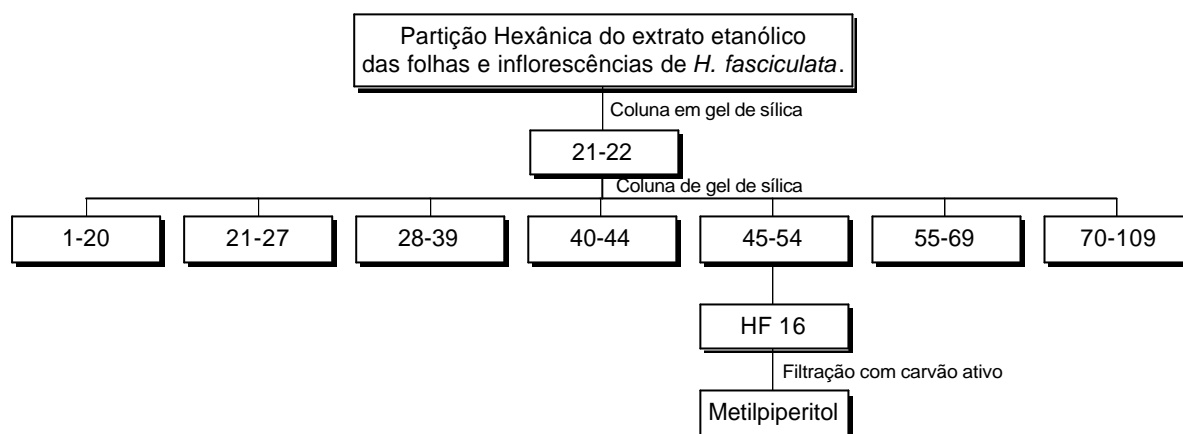
Esquema XXIII: Isolamento de Sitosterol e Estigmasterol em Mistura.

Isolamento de Lignana - A junção das frações 21-22 da coluna da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 30%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 109 frações. A junção das frações 45-54 (HF 16) dessa coluna foi eluída em hexano/acetato de etila 50%. HF 16 foi então filtrada com clorofórmio, na presença de carvão ativo para extração da clorofila. A amostra livre da clorofila foi analisada por métodos físicos e mostrou ser o Metilpiperitol (Esquema XXIV).

Metilpiperitol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 3,04 (*m*, H_8 e $\text{H}_{8'}$), 3,82 (*dd*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 3,84 (*s*, H_{Me}), 3,86 (*s*, H_{Me}), 4,20 (*m*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 4,70 (*d*, J 2,2 Hz, H_7 e $\text{H}_{7'}$), 5,95 (*s*, H_{OMeO}), 6,78 (*dd*, J 1,8; 8,0 Hz, H_6 e $\text{H}_{6'}$), 6,85 (*d*, J 1,8 Hz, H_2 e $\text{H}_{2'}$) e 6,90 (*d*, J 8,0 Hz, H_5 e $\text{H}_{5'}$).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 54,0 ($\text{C}_{8'}$), 54,1 (C_8), 55,8 ($\text{OMe}_{3'}$ e $4'$), 71,5 ($\text{C}_{9'}$), 71,6 (C_9), 85,6 (C_7), 85,7 ($\text{C}_{7'}$), 100,9 (OMeO), 106,3 (C_2), 108,0 (C_5), 109,0 ($\text{C}_{2'}$), 110,8 ($\text{C}_{5'}$), 118,1 ($\text{C}_{6'}$), 119,2 (C_6), 133,3 ($\text{C}_{1'}$), 134,9 (C_1), 146,9 (C_3), 147,8 (C_4), 148,5 ($\text{C}_{3'}$), 149,0 ($\text{C}_{4'}$).



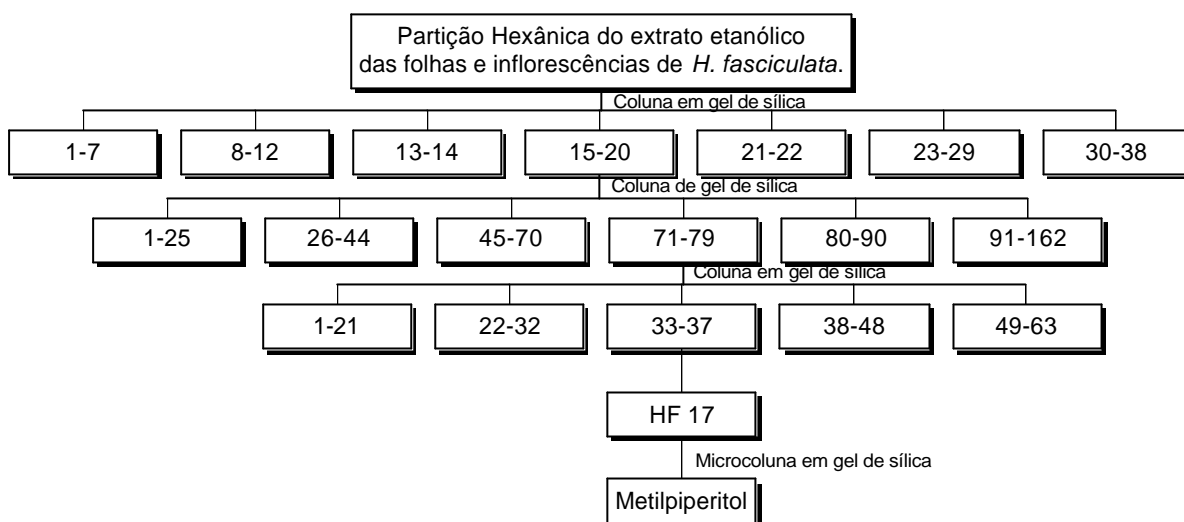
Esquema XXIV: Isolamento de Metilpiperitol.

Isolamento de Lignana - A junção das frações 71-79 da coluna da junção das frações 15-20 da coluna da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*, eluída em hexano/acetato de etila 40%, foi cromatografada em coluna de gel de sílica, eluída em gradientes de hexano, acetato de etila e metanol, rendendo um total de 63 frações. A junção das frações 33-37 (HF 17) dessa coluna, eluída em hexano/acetato de etila 40%, foi analisada por métodos físicos e mostrou ser uma mistura de Metilpiperitol com ácidos graxos. HF 17 foi novamente cromatografada em microcoluna de gel de sílica, eluída em hexano e metanol. A lignana isolada foi recolhida na fração eluída em metanol (Esquema XXV).

Metilpiperitol:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 3,04 (*m*, H_8 e $\text{H}_{8'}$), 3,85 (*dd*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 3,87 (*s*, H_{Me}), 3,89 (*s*, H_{Me}), 4,20 (*m*, H_9 e $\text{H}_{9'}$), 4,72 (*dd*, J 2,3; 4,4 Hz, H_7 e $\text{H}_{7'}$), 5,95 (*s*, H_{OMeO}), 6,78 (*dd*, J 1,8; 8,0 Hz, H_6 e $\text{H}_{6'}$), 6,85 (*d*, J 1,8 Hz, H_2 e $\text{H}_{2'}$) e 6,90 (*d*, J 8,0 Hz, H_5 e $\text{H}_{5'}$).

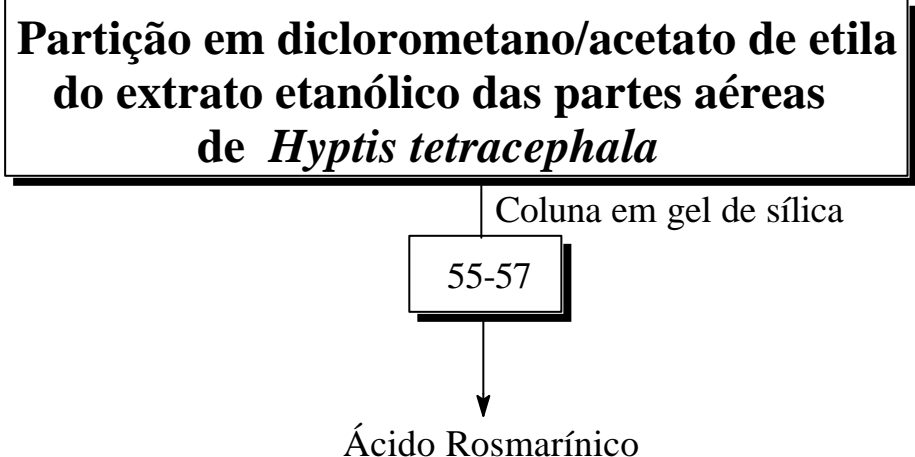
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 54,0 ($\text{C}_{8'}$), 54,2 (C_8), 55,8 ($\text{OMe}_{3'}$ e $4'$), 71,5 ($\text{C}_{9'}$), 71,6 (C_9), 85,6 (C_7), 85,7 ($\text{C}_{7'}$), 100,9 (OMeO), 106,3 (C_2), 108,0 (C_5), 109,1 ($\text{C}_{2'}$), 110,9 ($\text{C}_{5'}$), 118,1 ($\text{C}_{6'}$), 119,2 (C_6), 133,3 ($\text{C}_{1'}$), 134,9 (C_1), 146,9 (C_3), 147,8 (C_4), 148,5 ($\text{C}_{3'}$), 149,1 (C_4').



Esquema XXV: Isolamento de Metilpiperitol.

Estudo da Partição em Diclorometano/Acetato de Etila (1:1) do Extrato Etanólico de Partes Aéreas de *Hyptis tetracephala*.

A partição em diclorometano/acetato de etila (2,50 g) do extrato etanólico de partes aéreas de *Hyptis tetracephala* foi cromatografada em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, clorofórmio e metanol, rendendo um total de 60 frações (Esquema XXVI).

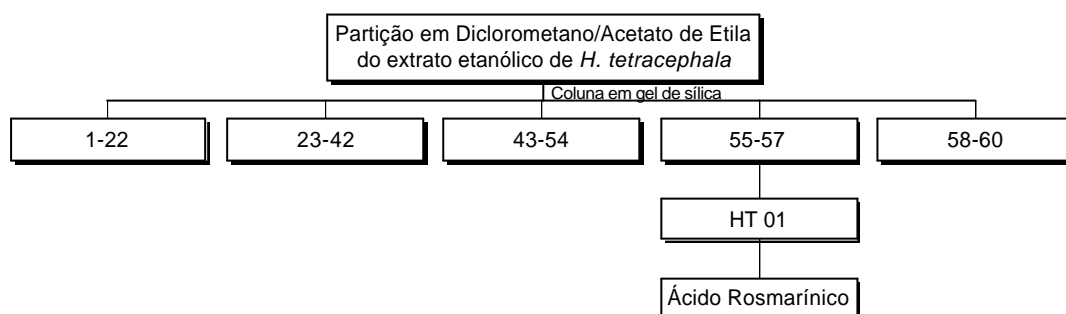


Esquema XXVI: Fracionamento da Partição em Diclorometano/Acetato de Etila do Extrato Etanólico das Partes Aéreas de *H. tetracephala*.

Isolamento do Ácido Rosmarínico - A junção das frações 55-57 (HT 01) da coluna da partição em diclorometano/acetato de etila (1:1) do extrato etanólico de partes aéreas de *Hyptis tetracephala*, eluída em clorofórmio/metanol (50%), foi analisada por RMN ^1H e mostrou-se tratar do ácido rosmarínico (Esquema XXVII).

Ácido Rosmarínico:

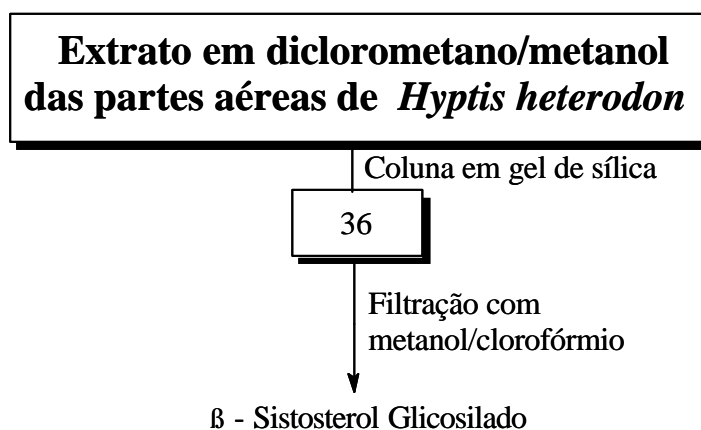
RMN ^1H (200 MHz, DMSO- D_6 , TMS): δ (ppm) 3,0 (*d*, *J* 15,0 Hz, $\text{H}_{7,\alpha}$), 5,04 (*dd*, *J* 3,0; 6,4 Hz, H_8), 6,25 (*d*, *J* 15,8 Hz, H_7), 6,45 (*d*, *J* 8,0 Hz, H_6), 6,60 (*d*, *J* 8,0 Hz, H_5), 6,65 (*sl*, H_2), 6,75 (*d*, *J* 8,1 Hz, H_5), 6,90 (*d*, *J* 8,5 Hz, H_6), 7,05 (*sl*, H_2), 7,30 (*d*, *J* 15,8 Hz, H_8).



Esquema XXVII: Isolamento do Ácido Rosmarínico.

Estudo do Extrato em Diclorometano/Metanol (1:1) de Partes Aéreas de *Hyptis heterodon*.

O extrato em diclorometano/metanol (22,79g) de partes aéreas de *H. heterodon* foi cromatografado em coluna de gel de sílica eluída em gradientes de hexano, clorofórmio, acetona e metanol, rendendo um total de 54 frações (Esquema XXVIII).

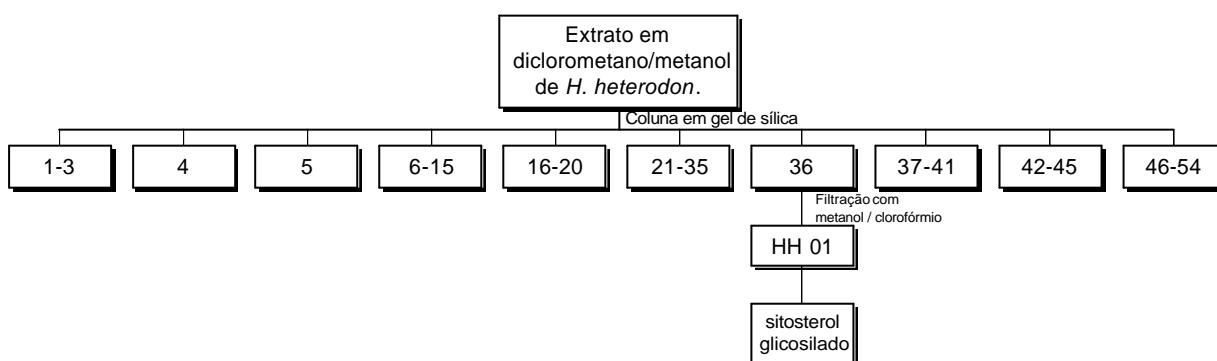


Esquema XXVIII: Fracionamento do Extrato em Diclorometano/Metanol (1:1) de Partes Aéreas de *Hyptis heterodon*.

Isolamento do β -sitosterol Glicosilado - A fração 36 da coluna do extrato em diclorometano/metanol, eluída em hexano (37,5 %)/clorofórmio (37,5 %)/acetona (25 %), foram filtradas, utilizando-se metanol/clorofórmio (1:1) para limpar o sólido branco precipitado. Esse processo rendeu 12,3 mg de HH 01 puro, identificado como β -sitosterol glicosilado (Esquema XXIX).

β -sitosterol glicosilado:

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 0,68 – 1,10 (envelope de sinais de metilas; H_{18} , H_{19} , H_{21} , H_{26} , H_{27} e H_{29}), 3,00 – 4,00 (envelope de sinais de hidrogênios da glicose + hidrogênio carbinólico H_3), 4,20 (*d*, J 7,7 Hz, H_1 Gli), 5,30 (*sl*, H_6).



Esquema XXIX: Isolamento do β -Sitosterol Glicosilado

II. Ensaios Farmacológicos

Atividade Antimicrobiana - Esses testes foram realizados no Laboratório de Cocos Patogênicos do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes da UFRJ, supervisionado pela doutoranda Ivi Cristina Menezes de Oliveira e pelo Prof. Dr. Leslie Benchetrit.

Após a obtenção dos extratos etanólicos totais, estes foram evaporados, suspensos em água e submetidos à partição com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol). Amostras contendo 1,0 mg de cada extrato ou partição foram testadas em duplicata frente a cada um dos seguintes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Streptococcus pyogenes* 75194 CDC (Centers for Disease Control and Prevention) #55-91, *Streptococcus pyogenes* isolado de infecção de faringe, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* entero-hemorrágica (EHEC), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15422 e *Pseudomonas aeruginosa* oriunda de catéter, cujas cepas foram provenientes da coleção de cultura do Laboratório de Cocos Patogênicos do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes da UFRJ. As amostras na concentração de 20mg foram dissolvidas em 400µL de solvente apropriado, conforme descrito na Tabela XIV a seguir:

Tabela XIV - Solventes usados nos extratos ou partições para o teste de atividade antimicrobiana.

Extrato ou Partição	Solvente
Partição em acetato de etila do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> .	Acetato de etila
Partição em diclorometano do extrato etanólico das folhas e inflorescências de <i>Hyptis fasciculata</i> .	Metanol
Partição em butanol do extrato etanólico dos caules de <i>Hyptis fasciculata</i> .	Metanol
Partição em butanol do extrato etanólico das folhas de <i>Hyptis fasciculata</i> .	Metanol
Partição em metanol/clorofórmio do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Hyptis heterodon</i> .	Metanol
Partição em diclorometano do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Hyptis tetracephala</i> .	Metanol
Partição em acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Hyptis tetracephala</i> .	Metanol
Extrato etanólico das partes aéreas de <i>Hyptis elegans</i> .	Metanol

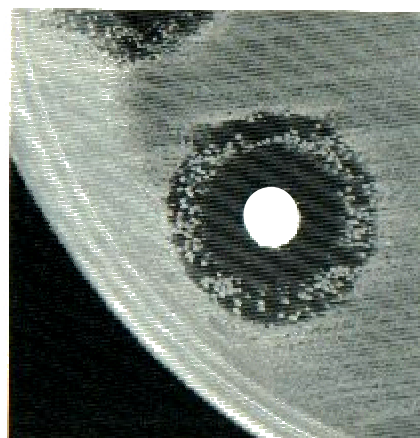
Após solubilizadas as amostras, 20µL de cada uma delas foram impregnadas em discos estéreis “Sensibiodisc” (Cecon) e estes foram deixados em ambiente estéril durante 24 horas para total evaporação do solvente. Os discos foram colocados sobre placas de Petri, contendo agar Muller Hinton, semeadas com um inóculo (0,5 Mc Farland) de cada cepa de bactéria com auxílio de swab estéril e, então, incubadas em estufa a 37°C, em aerobiose por 18 horas. Após o período de incubação, mediu-se o tamanho do halo formado em volta de cada disco, para determinar a sensibilidade relativa aos extratos. Com esse sistema um microorganismo pode ser dito sensível ou resistente. Um microorganismo sensível apresenta um halo claro em volta do disco, o que representa ausência de crescimento bacteriano. Por outro lado, o resistente não apresenta inibição do crescimento, por isso não há formação de halo em volta do disco. Existem ainda resultados atípicos que são frequentes em testes com cepas mutantes ou resistentes, sendo portanto um resultado passível de ocorrer com as cepas de *Staphylococcus aureus*, resistentes à meticilina (MRSA). Neste caso atípico, é observado um halo de inibição em torno do disco, mas com a presença de algumas colônias bacterianas nesta região; a isso dá-se o nome de pseudo-halo (KONEMAN *et al.*, 1983) (Figura 5).

Os testes foram realizados em duplicata.

Figura 5: Resultados de atividade antimicrobiana;
I) Medição do halo de inibição; II) Resultado atípico, formação de pseudo-halo (KONEMAN *et al.*, 1983).



I



II

Atividades Antinociceptiva e Antiinflamatória - As partições de diferentes polaridades do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* foram testadas no que se refere à atividade analgésica periférica e central espinhal e à atividade antiinflamatória. Os três ensaios foram realizados em colaboração com a equipe da Dra. Patrícia Dias Fernandes, pesquisadora do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica da UFRJ.

Em todos os testes foram utilizados camundongos Swiss 44, machos, pesando entre 17 e 20 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e mantidos no biotério do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica da UFRJ, com livre acesso à ração e água e ciclo claro/escuro de 12 horas. Em torno de 12 horas antes de cada experimento, os animais eram deixados em jejum, tendo livre acesso somente à água. As partições de diferentes polaridades foram diluídas em DMSO até uma concentração final de 100 mg/mL e armazenadas à temperatura de 8°C até o experimento. No dia de cada ensaio, os extratos foram diluídos com PBS (tampão fosfato-salina) estéril. As doses de 50 e 100 mg/kg foram administradas por via oral, com um volume final de 0,1 mL. Cada grupo experimental foi constituído de, pelo menos, 10 animais. Os grupos tratados com os extratos foram comparados com grupos controle compostos por animais que receberam somente o veículo utilizado para solubilizar os extratos. Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão, para cada grupo. Aos grupos foi aplicado teste T de Student. Um valor $p < 0,05$ foi considerado significativo (SNEDECOR, 1953).

A atividade antinociceptiva foi testada pelas metodologias descritas a seguir:

- Contorção induzida por ácido acético: para avaliar uma possível atividade analgésica periférica das partições de *Hyptis fasciculata*, realizou-se esse teste, que consiste na administração, intraperitoneal, de 0,1 mL de ácido acético a 2%. Após 5 minutos e pelos 20 minutos subseqüentes, conta-se o número de contorções realizadas pelo animal. Os valores são expressos como média \pm desvio padrão do número total de contorções. Para a realização do teste, os camundongos receberam as partições em duas doses de 50 e 100 mg/kg, e a diminuição do número de contorções foi comparada com o controle positivo.

- “Retirada da cauda”: a propriedade antinociceptiva central espinhal foi analisada pelo teste de retirada da cauda. Esse teste consiste de um banho-maria cuja temperatura da água deve atingir $50 \pm 1^\circ\text{C}$. Os animais foram colocados no interior de um pequeno cilindro, na intenção de que apenas a cauda do animal permanecesse do lado de fora. A cauda do animal foi imersa no banho-maria e, concomitantemente, um cronômetro foi acionado, sendo travado apenas no momento em que o animal retirava a cauda do banho, determinando-se assim o tempo de latência (em segundos). São feitas marcações nos tempos de 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos após a administração da amostra.

Os limiares de resposta ao teste foram normalizados através do índice de antinocicepção da retirada da cauda (IARC) (KURAISHI et al., 1983), calculado de acordo com a fórmula: $\text{IARC} = (\text{valor medido} - \text{linha de base}) / (\text{cut-off} - \text{linha de base})$, sendo a linha de base a média dos grupos controle e o cut-off 3 vezes o valor da linha de base. Nesse ensaio também se avalia aumento do tempo de resposta dos animais.

Nesse modelo foi feito um grupo controle com morfina, via oral, na dose de 1 mg/kg. Foram realizadas oito marcações com esse grupo, sendo duas antes da administração da droga - que serão usadas para calcular a média do grupo controle no cálculo do IARC - e as demais nos mesmos tempos que os grupos tratados com as amostras, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos.

A atividade antiinflamatória foi testada pela metodologia descrita a seguir:

- Teste da formalina: esse teste consiste na administração de uma injeção subplantar de 0,05 mL de formalina (0,2%) em uma das patas traseiras do animal. O processo algésico se desenvolve em duas fase distintas. A primeira em um intervalo de tempo de 5 minutos após a aplicação da injeção, sendo esta fase caracterizada pela ativação direta das terminações nervosas. A segunda fase se desenvolve 30 minutos após a administração da injeção subplantar, como resposta à liberação de mediadores endógenos (substância P, bradicinina,

prostaglandina). Quantificou-se o tempo no qual o animal permaneceu lambendo a pata traseira em cada fase, ou seja, nos 5 primeiros minutos e 30 minutos após a injeção.

Atividade Antioxidante – Essa atividade foi realizada no Laquel, laboratório do Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes, com o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) na concentração de 0,3 mM em etanol. Tal procedimento é realizado rotineiramente nesse laboratório.

Foram utilizados para avaliar uma possível atividade antioxidante os extratos etanólicos das partes aéreas de *Hyptis tetracephala* e *Hyptis elegans* e as partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol do extrato etanólico das partes aéreas de *Hyptis elegans*.

Nesse modelo 1 mL da solução de DPPH foi adicionado a 2,5 mL de uma solução do extrato suspenso em etanol nas concentrações de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL. Essa reação transcorreu em temperatura ambiente, por 30 min, e em seguida a absorbância foi lida em 518 nm. Foi usado como branco 1 mL de etanol + 2,5 mL de amostra. A solução de DPPH (1 mL a 0,3 mM) + 2,5 mL de etanol foi usada como controle. Dessa forma, pôde-se obter a atividade antioxidante percentual para os extratos testados e a concentração efetiva 50% para obter um efeito máximo estimado em 100% (CE₅₀). Como controles positivos foram utilizados o extrato padronizado comercial de *Ginkgo biloba* (Egb 761[®]) e rutina (um flavonóide com reconhecida atividade antioxidante). Os testes foram feitos em duplicata.

Atividade Moluscicida - Os teste moluscicidas foram realizados no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ, supervisionado pela Prof^a. Dr^a. Célia Santos da Silva.

Foram utilizadas para avaliar uma possível atividade moluscicida as partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol dos extratos etanólicos dos caules de *Hyptis fasciculata*, das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* e das partes aéreas de *Hyptis tetracephala*, *Hyptis heterodon* e *Hyptis elegans*.

Esse modelo foi realizado utilizando-se caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, obtidos do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ. Os ensaios foram realizados em água, em triplicata, usando-se nove caramujos para cada teste. As partições dos extratos etanólicos foram inicialmente dissolvidas em quantidades mínimas de etanol e diluídas em água, a fim de se obter uma concentração final de cerca de 10 ppm. Os caramujos foram expostos a essa solução por imersão durante um período de 3 horas (3 caramujos), 6 horas (3 caramujos) e 24 horas (3 caramujos). Depois de retirados da solução teste, foram lavados e colocados em outro recipiente, para um período de recuperação de 24 horas. O controle positivo para esse teste foi feito com extrato etanólico de *Phytollaca dodecandra* que garante 100% de morte, e o controle negativo foi feito com água e etanol 10 ppm, o que garante 100% de sobrevivência.

Análise estatística: os testes farmacológicos foram realizados em triplicata, e os dados obtidos foram avaliados por método ANOVA, seguido pelo teste de Tukey.

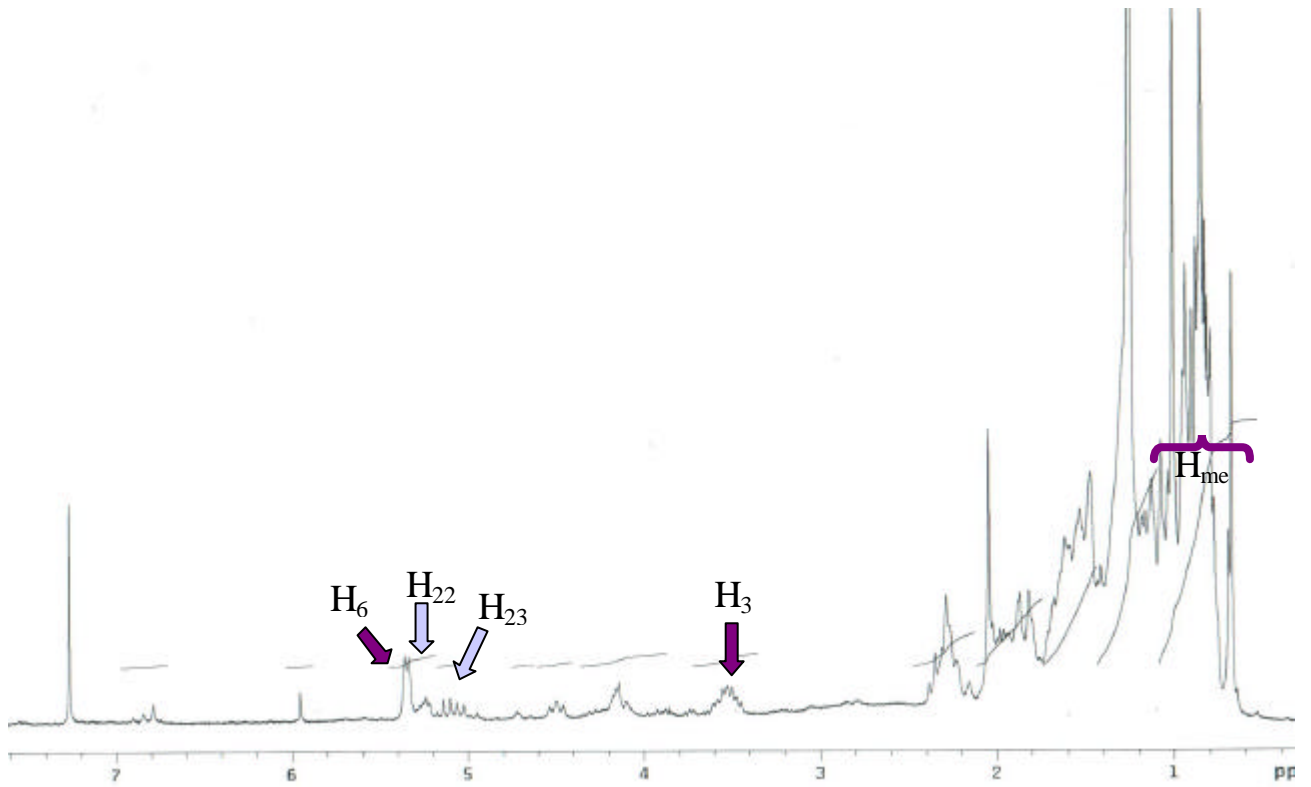
RESULTADOS E DISCUSSÃO

I. Fitoquímica

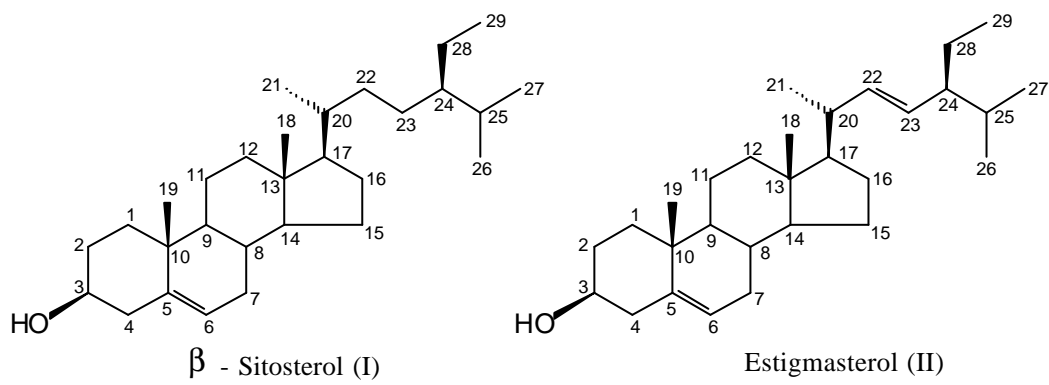
Parte I – Caules de *Hyptis fasciculata*.

Partição em Hexano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

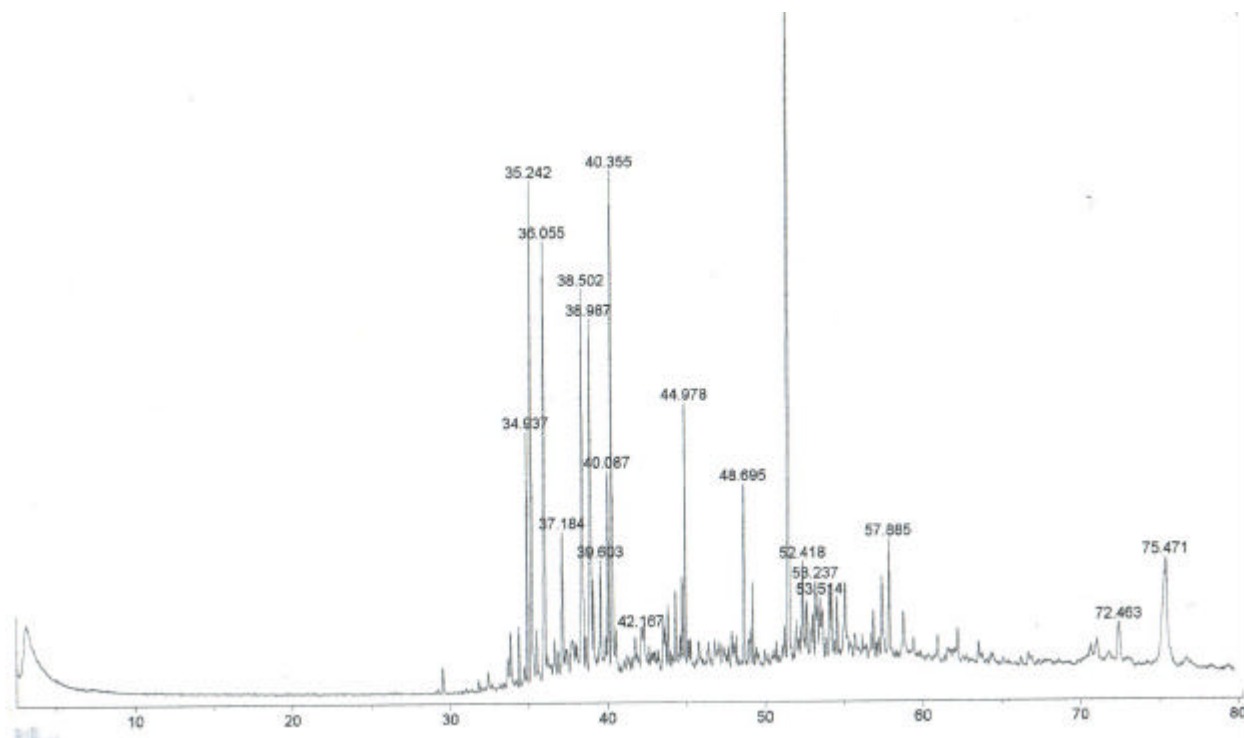
HF 01 Sitosterol (I) e Estigmasterol (II) – O extrato bruto dos caules em hexano foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, acetato de etila e metanol. As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 57-72 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um material sólido esverdeado, que foi enviado para análise por RMN ¹H. A cromatografia em camada fina de HF 01 apresentou uma mancha que sugeriu a identidade da substância isolada. A confirmação foi feita pela comparação dos sinais específicos das duas substâncias encontrados no espectro de RMN ¹H (Espectro 1) obtidos para HF 01 e por dados colhidos da literatura referente ao sitosterol (I) e ao estigmasterol (II) (HUNG & YEN, 2001). O espectro da mistura dessas duas substâncias apresenta sinais peculiares: δ (ppm) 3,45 (multiplete) referente ao hidrogênio da posição 3 e 5,30 (dubleto) relativo ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 6, ambos os sinais do sitosterol (I) e estigmasterol (II); 5,00 (multiplete) relativo ao hidrogênio da posição 23 e 5,20 (multiplete) pertencente ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 22, ambos os sinais característicos da ligação dupla do estigmasterol (II), além de outros sinais de metila dos dois esteróides.



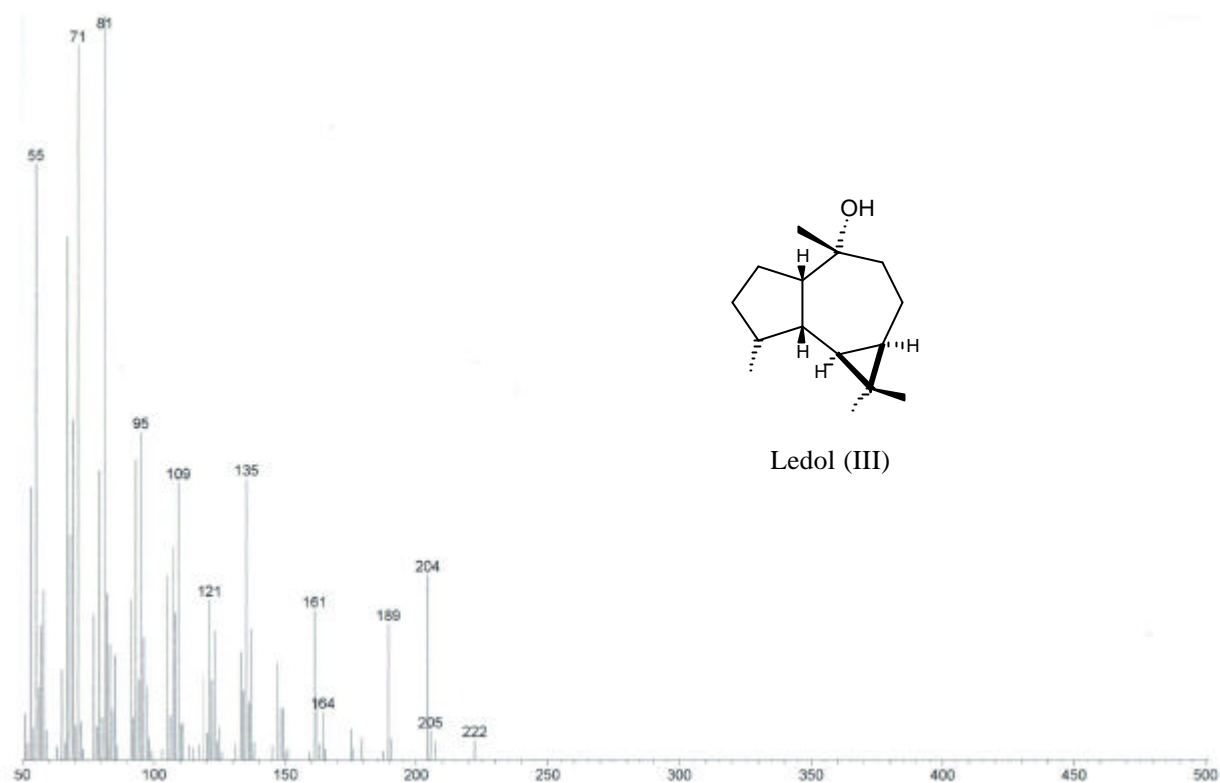
Espectro 1 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF01 em CDCl_3 .



HF 02 Ledol (III) – As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 37-56 dessa coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 7,5%, foram reunidas e novamente recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 1-59 dessa terceira coluna, eluída em hexano puro, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um sólido amorfo que foi enviado para análise por cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 1) acoplado à espectrometria de massas (Espectro 2). O cromatograma evidenciou uma mistura de substâncias, sendo possível identificar a substância de TR=36,055 min. através do espectro de massas como sendo o sesquiterpeno Ledol, que possui massa molecular 222.

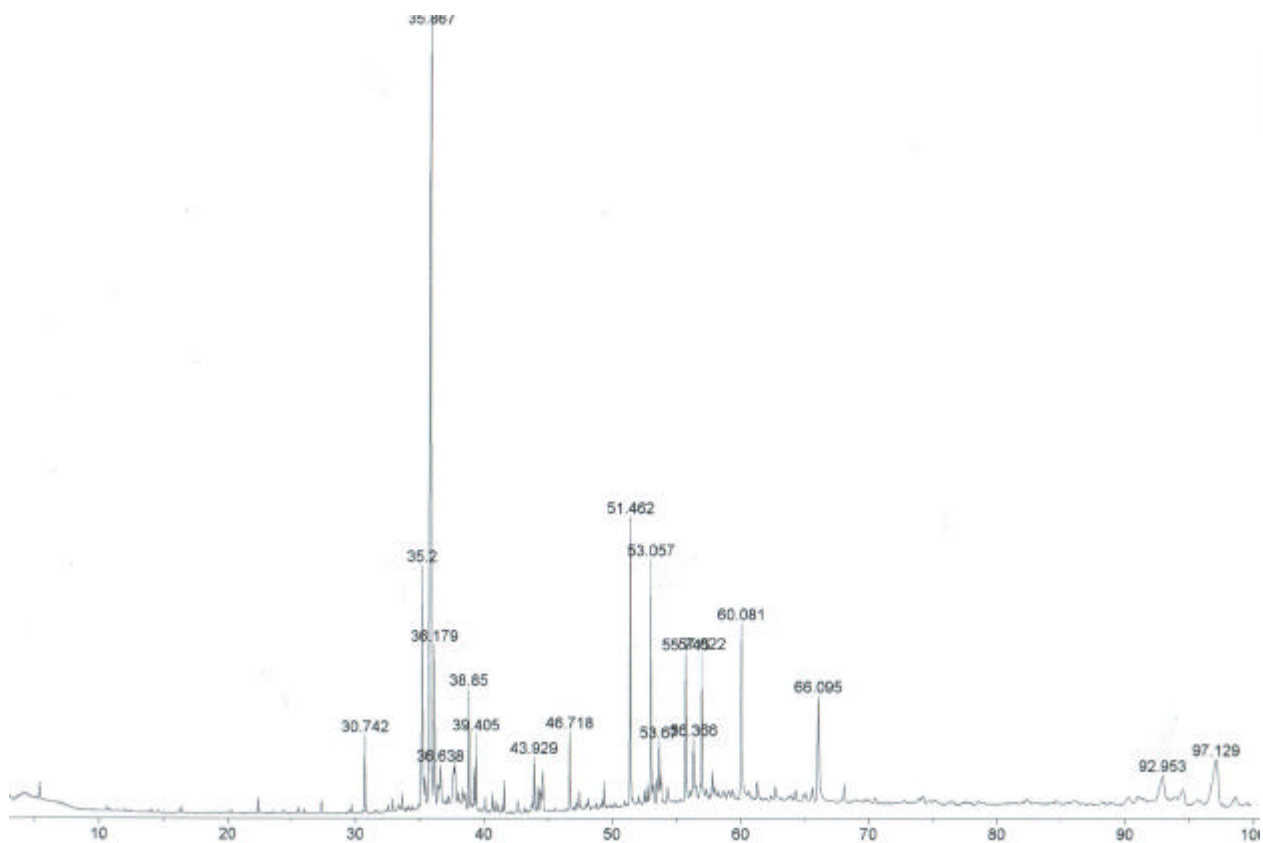


Cromatograma 1 – Cromatograma em coluna DB-1 de HF 02.

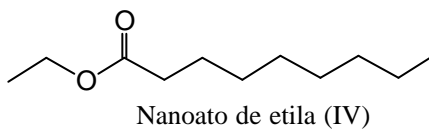
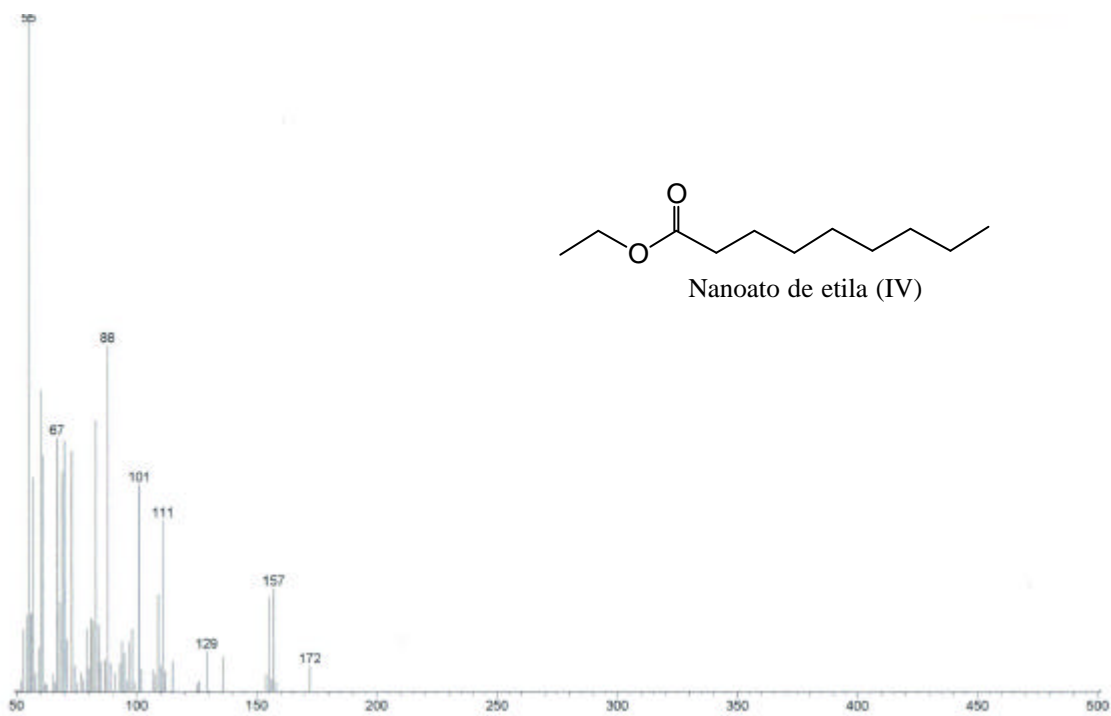


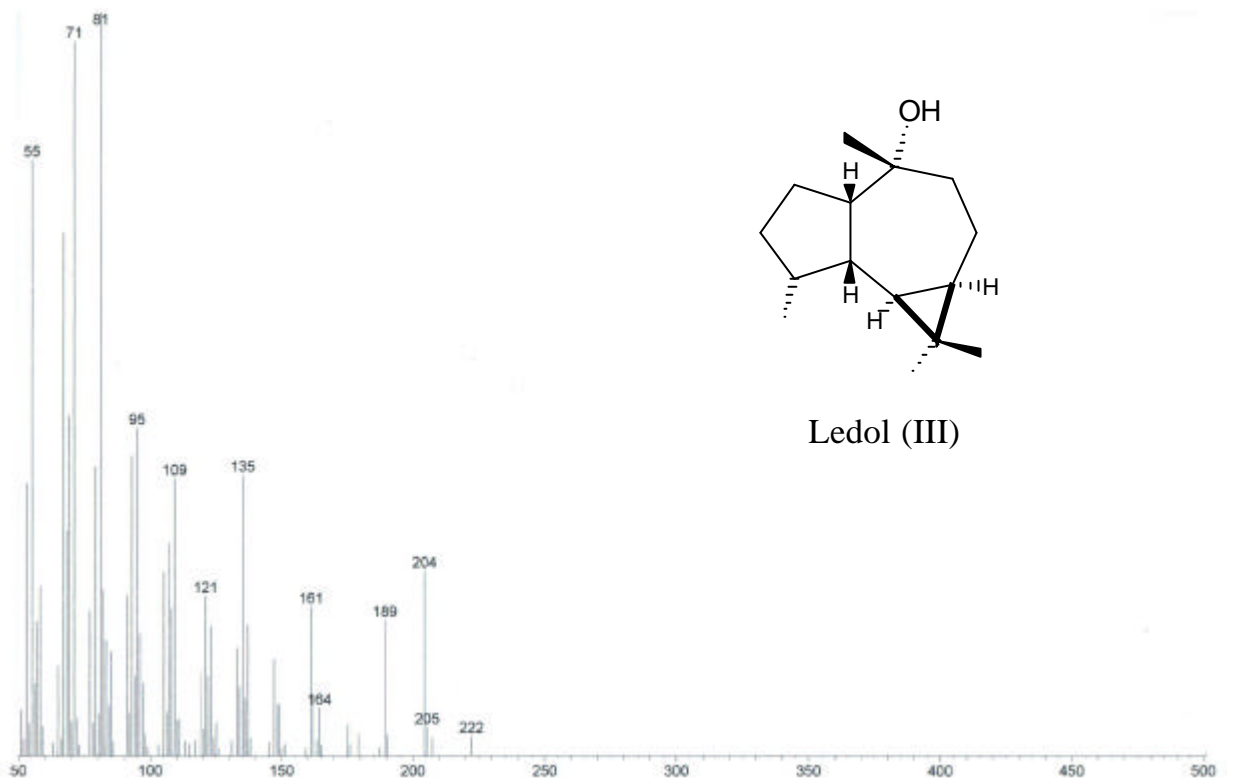
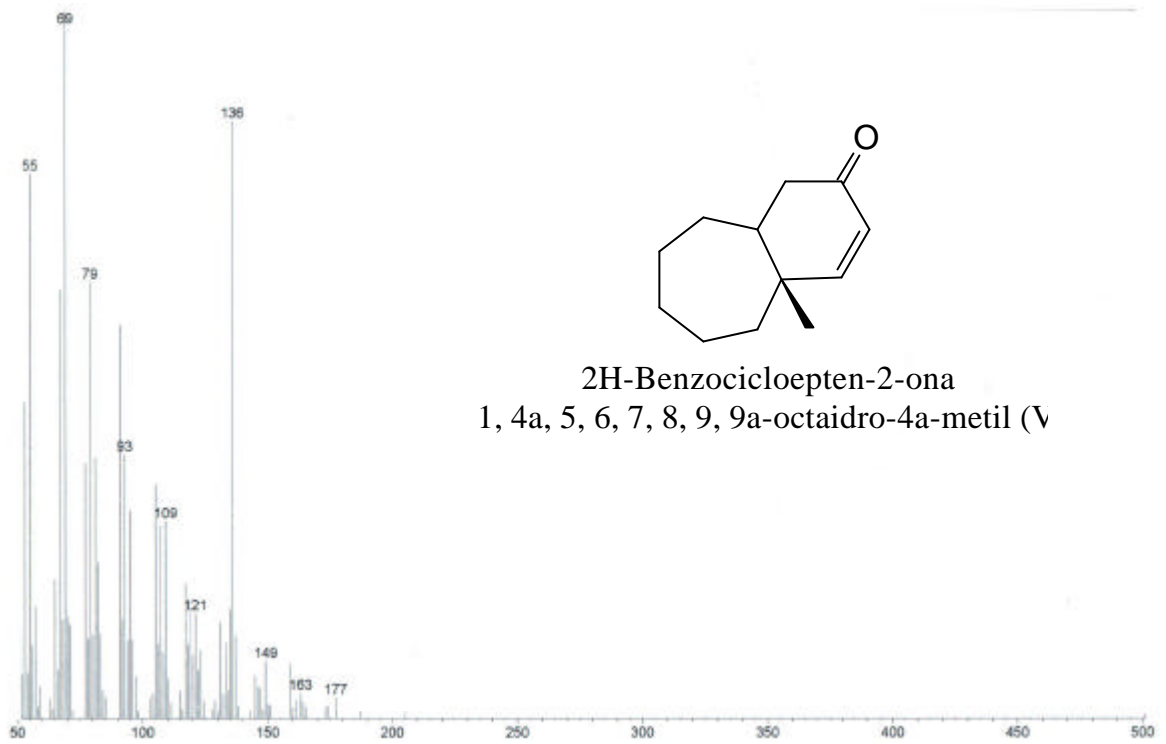
Espectro 2 – Espectro de massas da substância com TR=36,055 min. de HF 02.

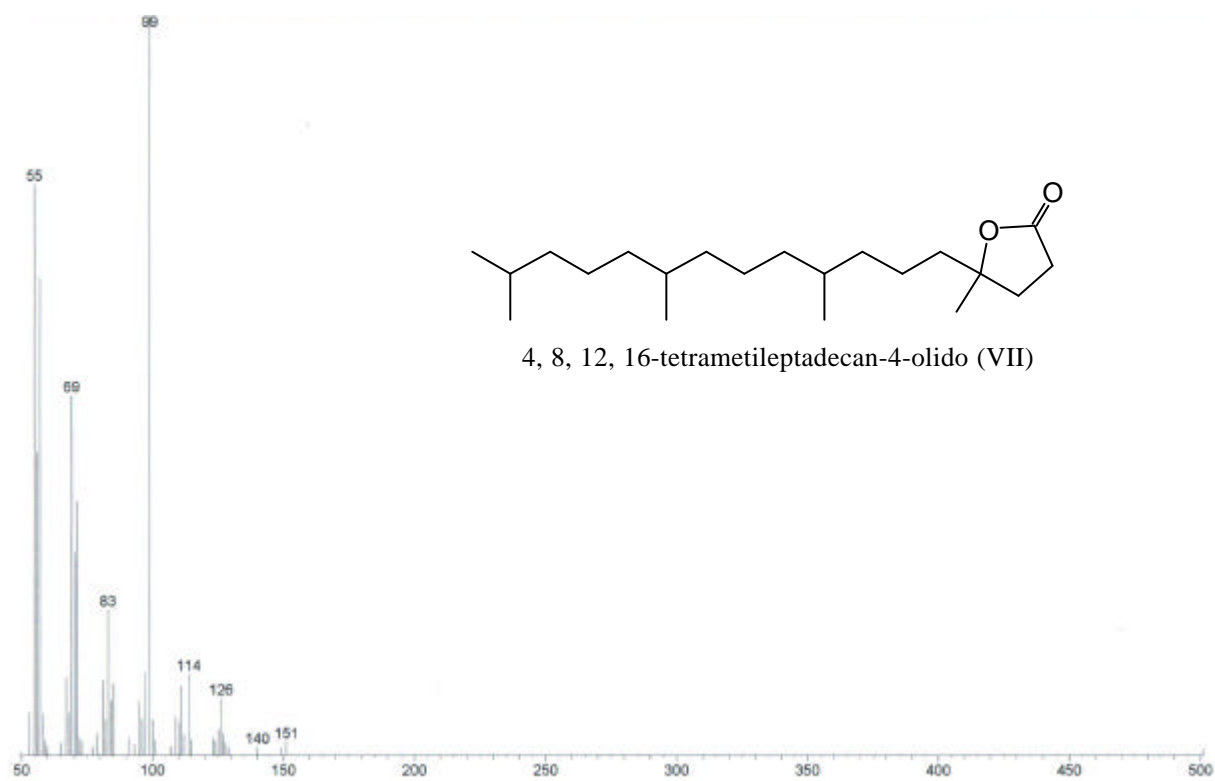
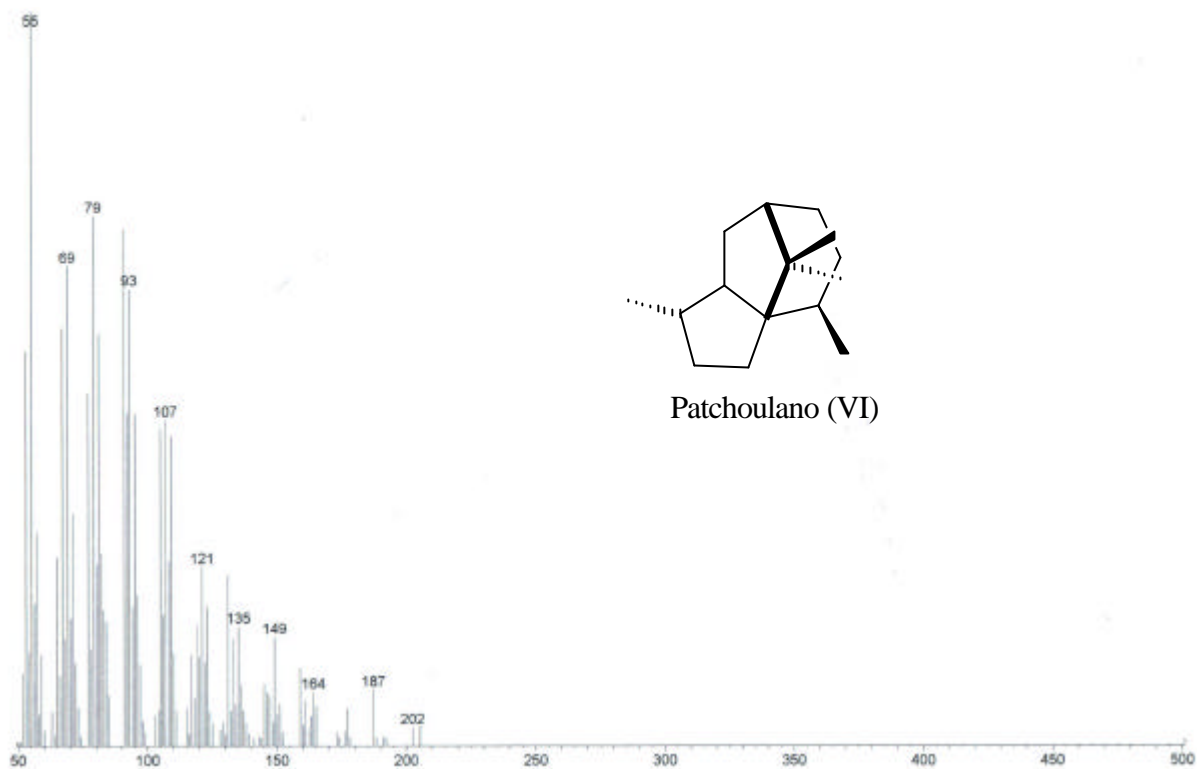
HF 03 Nanoato de Etila (IV), 2H-Benzocicloepten-2-ona, 1, 4a, 5, 6, 7, 8, 9, 9a-octaidro-4a-metil (V), Ledol (III), Patchoulano (VI), 4, 8, 12, 16-tetrametileptadecan-4-olido (VII) e Ursenol-28 (VIII) - As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 37-56 dessa coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 7,5%, foram reunidas e novamente recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 60-80 dessa terceira coluna, eluídas em hexano puro, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um sólido que foi enviado para análise por cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 2) acoplada à espectrometria de massas. O cromatograma evidenciou uma mistura sendo possível identificar seis dessas substâncias, inclusive a que se apresenta em maior quantidade (TR=35,867 min.). Os espectros de massas obtidos para essas substâncias evidenciaram-nas com os seguintes pesos moleculares: 200 (TR=30,742 min.); 178 (TR=35,200 min.); 222 (TR=35,867 min.); 206 (TR=36,179 min.); 324 (TR=53,057 min.); 426 (TR=92,953 min.).

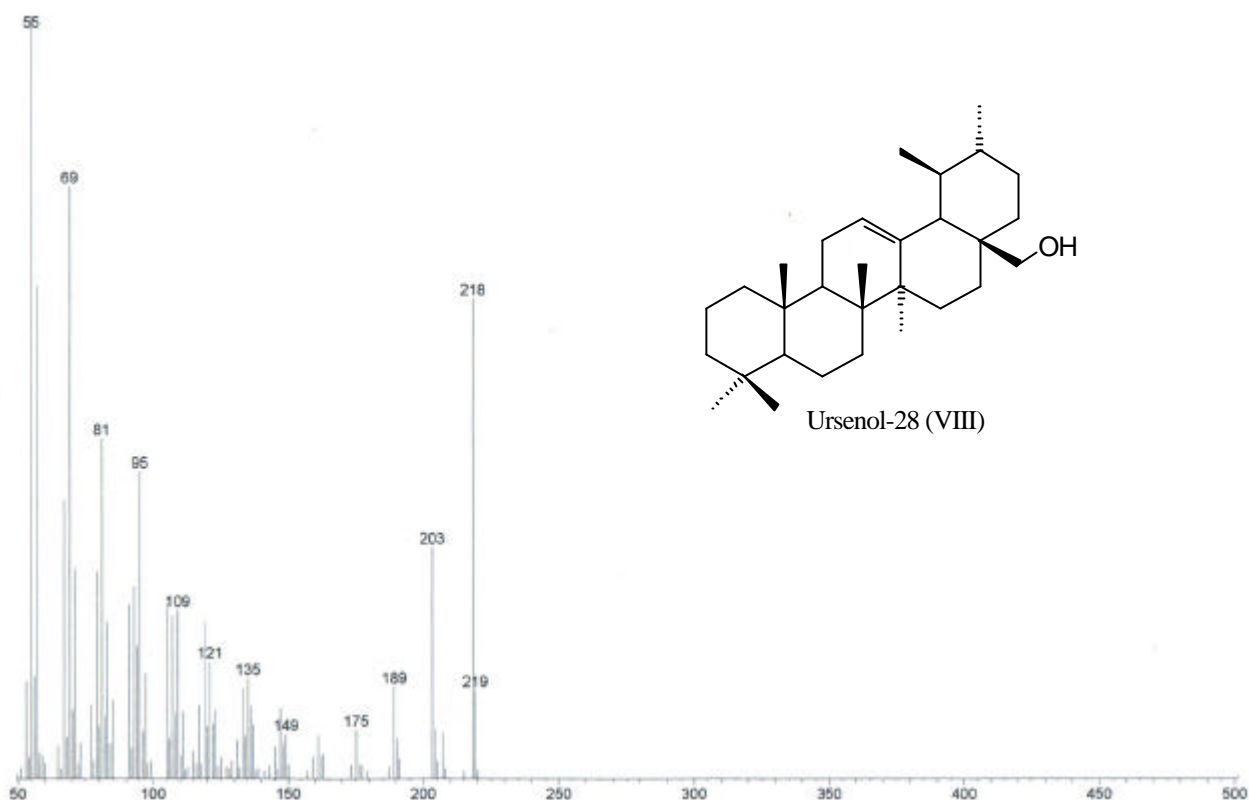


Cromatograma 2 – Cromatograma em coluna DB-1 de HF 03.



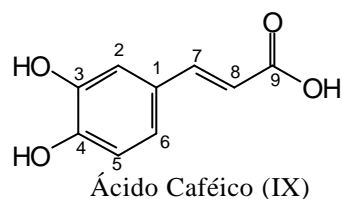
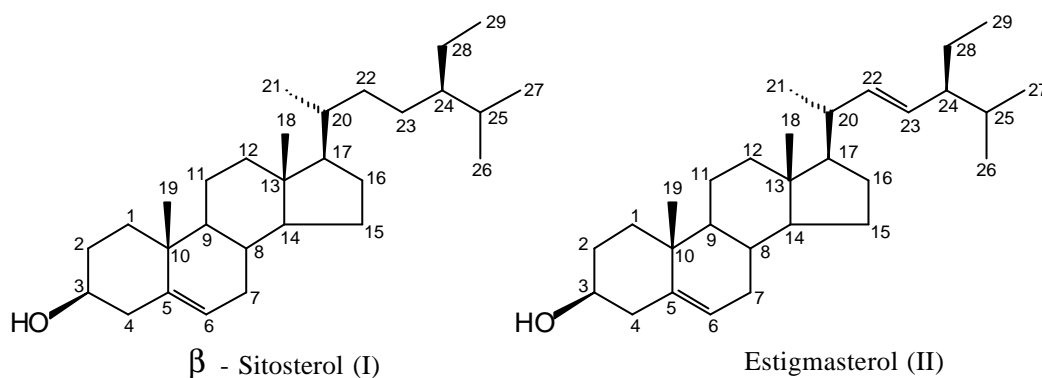




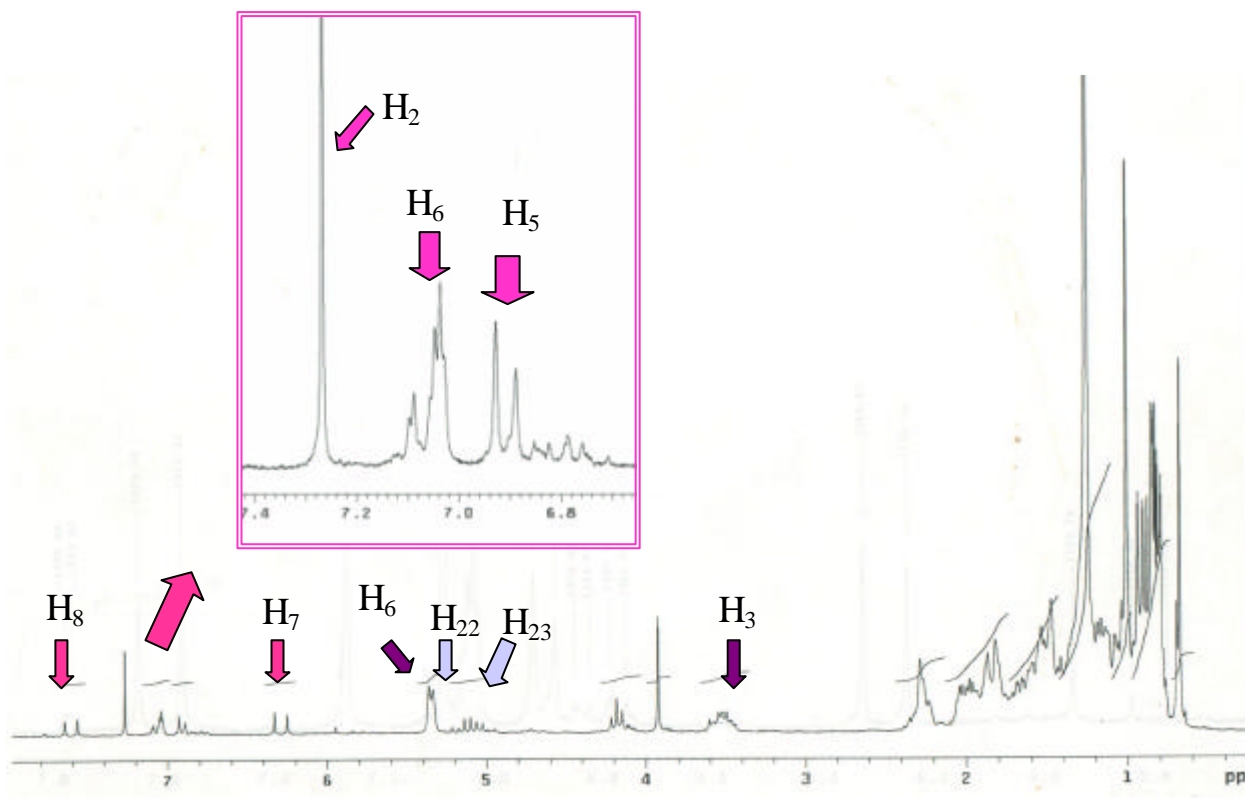


Espectro 3 (a-f) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 03.

HF 04 Sitosterol (I), Estigmasterol (II) e Ácido Caféico (IX) - As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 37-56 dessa coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 7,5%, foram reunidas e novamente recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 81-141 dessa terceira coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido verde. A cromatografia em camada fina realizada para esse sólido demonstrava a presença de uma mistura com cor característica de esteróides após a revelação por ácido sulfúrico 5% em etanol. Com base nos dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C , foi possível identificar os três componentes da mistura: Sitosterol (I), Estigmasterol (II) e Ácido Caféico (IX).

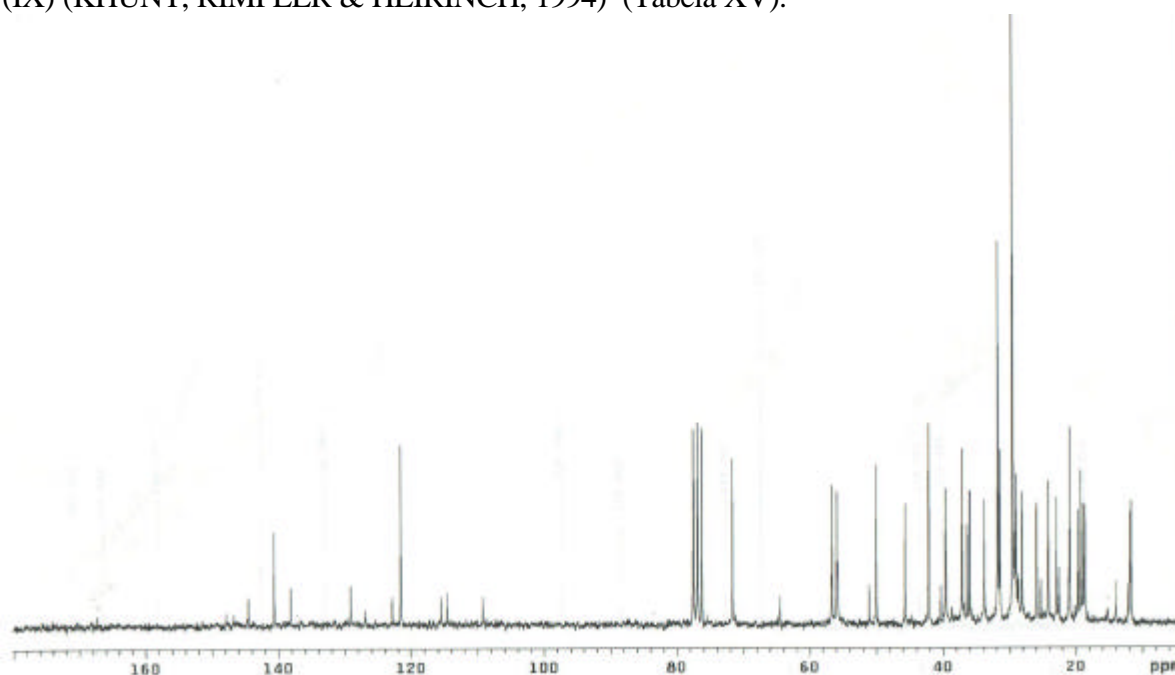


O espectro de RMN ^1H (Espectro 4) mostrou sinais característicos das ligações duplas dos dois esteróides: δ (ppm) 3,44 (multiplete) referente ao hidrogênio da posição 3 e 5,30 (dubleto) relativo ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 6, ambos os sinais do sitosterol (I) e estigmasterol (II); 4,95 (multiplete) referente ao hidrogênio da posição 23 e 5,10 (multiplete) referente ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 22, além de outros sinais de metila dos dois esteróides; Ácido Caféico (IX) = δ (ppm) 6,25 (dubleto) referente ao hidrogênio ligado ao carbono 7 da ligação dupla, 7,56 (dubleto) pertencente ao hidrogênio ligado ao carbono da posição 8 também da ligação dupla e os sinais entre 6,89-7,04 referentes aos hidrogênios aromáticos (H_2 , H_5 e H_6).



Espectro 4 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 04 em CDCl_3 .

O Espectro de RMN ^{13}C de HF 04 (Espectro 5) confirma a presença das três substâncias na mistura após comparação dos dados obtidos com os colhidos na literatura referentes ao sitosterol (I), ao estigmasterol (II) (HUNG & YEN, 2001) e ao ácido cafêico (IX) (KHUNT, RIMPLER & HEIRINCH, 1994) (Tabela XV).



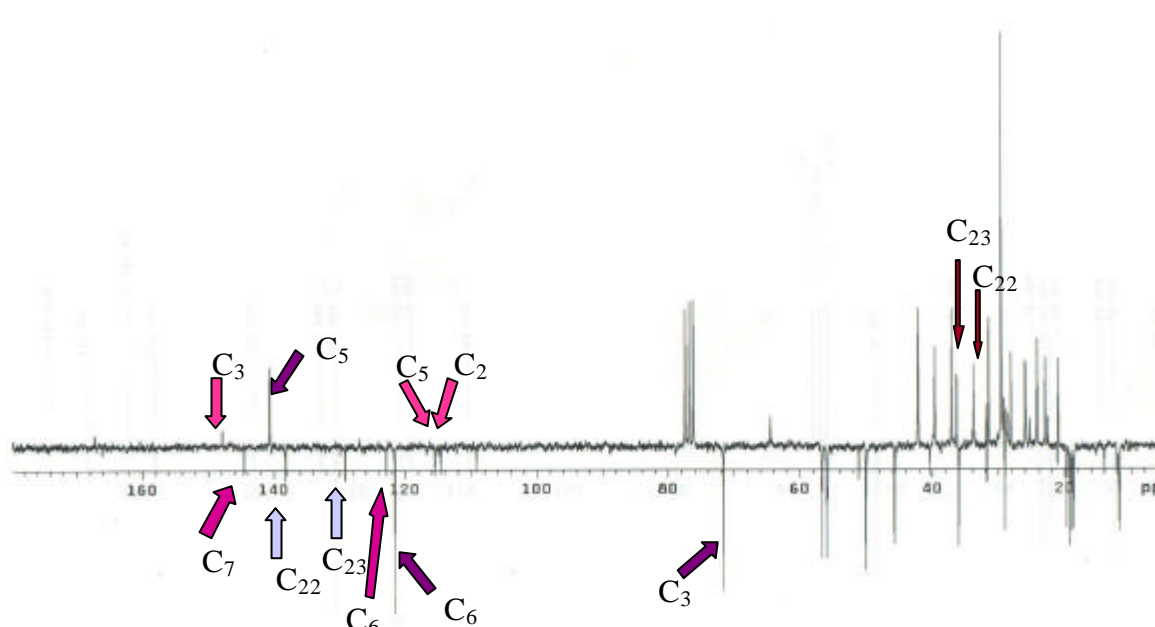
Espectro 5 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 04 em CDCl_3 .

A multiplicidade dos sinais referentes aos átomos de carbono foi obtida pela técnica APT (Espectro 6) e serviu como parâmetro para comparação entre sinais de mesma multiplicidade, a fim de se sugerir a proporção das substâncias na mistura, sendo portanto: Sitosterol (64,7%), Estigmasterol (20,6%) e Ácido Caféico (14,7%).

Tabela XV – Comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos para o sitosterol (I), para o estigmasterol (II) e para o ácido caféico (IX) em HF 04 com dados colhidos na literatura (HUNG & YEN, 2001; KHUNT, RIMPLER & HEIRINCH, 1994).

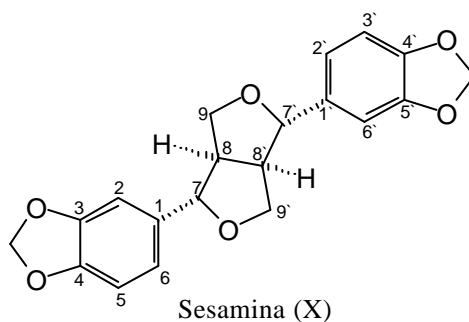
C	DADOS DA LITERATURA*			HF 04*		
	I	II	IX	I	II	IX
1	37,2	37,2	127,9	37,1	37,1	-
2	31,6	31,6	115,6	31,5	31,5	114,6
3	71,8	71,8	149,4	71,7	71,7	147,8
4	42,3	42,3	146,7	42,1	42,1	147,8
5	140,8	140,7	116,5	140,6	140,6	115,5
6	121,7	121,7	122,9	121,6	121,6	122,9
7	31,8	31,9	146,7	31,8	31,8	144,5
8	31,9	31,9	115,6	31,8	31,8	114,6
9	50,1	50,1	169,1	50,0	50,0	-
10	36,5	36,5	-	36,4	36,4	-
11	21,1	21,2	-	21,1	21,1	-
12	39,7	39,6	-	39,7	39,7	-
13	42,3	42,3	-	42,1	42,1	-
14	56,8	56,8	-	56,7	56,7	-
15	24,3	24,3	-	24,2	24,2	-
16	28,2	28,9	-	28,8	28,8	-
17	56,1	55,9	-	55,9	55,9	-
18	11,9	12,0	-	11,9	11,9	-
19	19,4	19,4	-	19,3	19,3	-
20	36,1	40,5	-	36,0	40,4	-
21	18,9	21,2	-	18,7	21,1	-
22	33,9	138,3	-	33,8	138,2	-
23	26,0	129,2	-	26,0	129,1	-
24	45,8	51,2	-	45,7	51,1	-
25	29,1	31,9	-	29,2	31,8	-
26	19,8	21,0	-	19,7	21,0	-
27	19,0	19,0	-	18,9	18,9	-
28	23,0	25,4	-	22,9	25,3	-
29	12,0	12,2	-	12,1	12,1	-

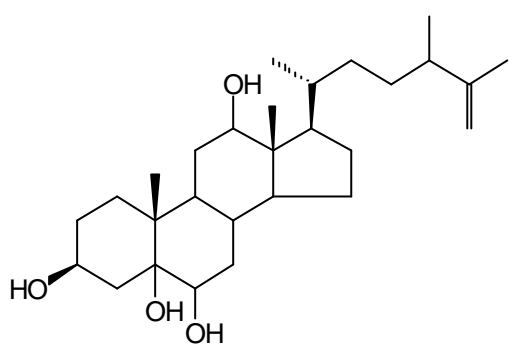
* CDCl_3



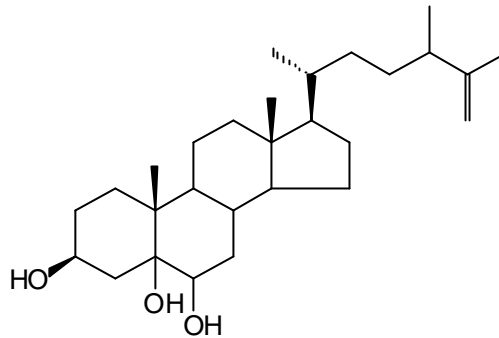
Espectro 6 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 04 em CDCl_3 na técnica APT.

HF 05 Sesamina (X), 3, 5, 6, 12-tetraidroxi-ergosteno-25 (XI) e 3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25 (XII) - As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 37-56 dessa coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 7,5%, foram reunidas e novamente recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 142-180 dessa terceira coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido que foi analisado por cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 3), demonstrando ser uma mistura de substâncias das quais, com o auxílio do espectro de massas (Espectro 7), pôde-se identificar os íons moleculares de três componentes, 354 (TR=78,510 min.), 448 (TR=85,620 min.), 432 (TR=90,310 min.).

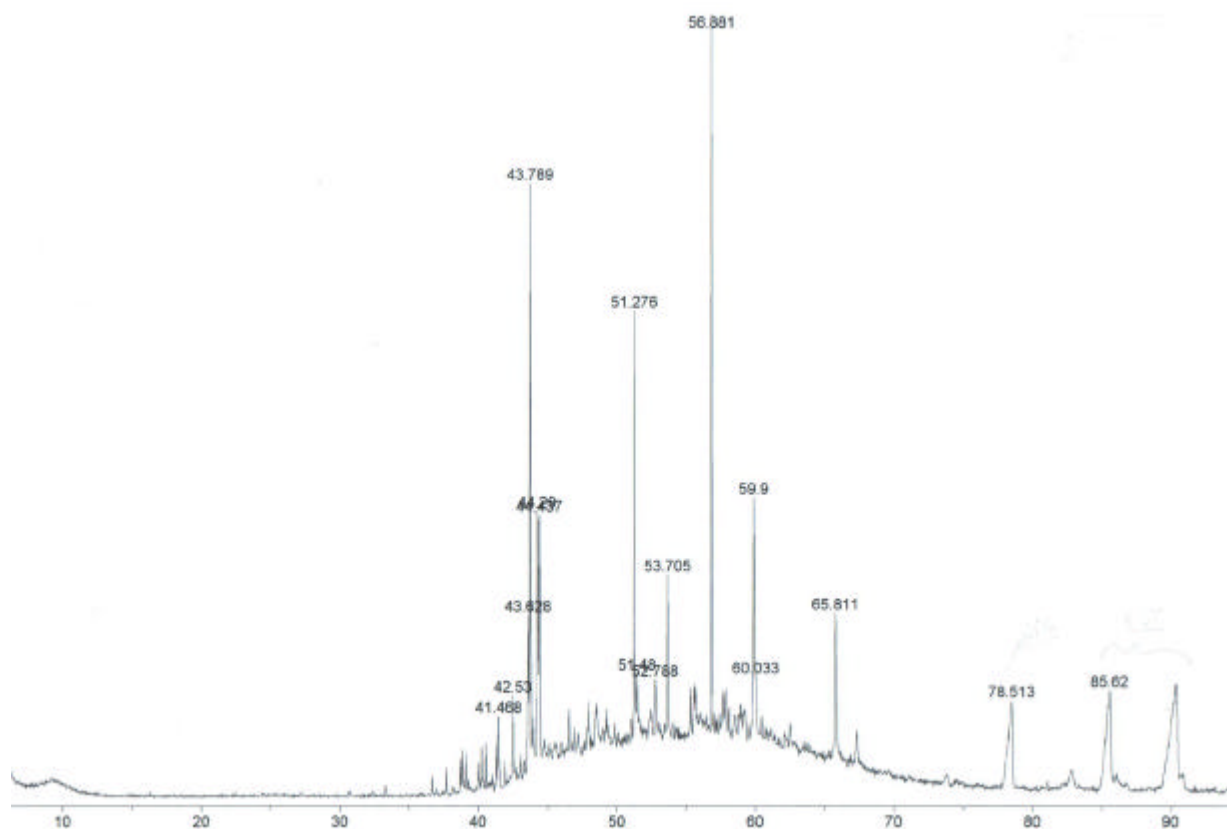




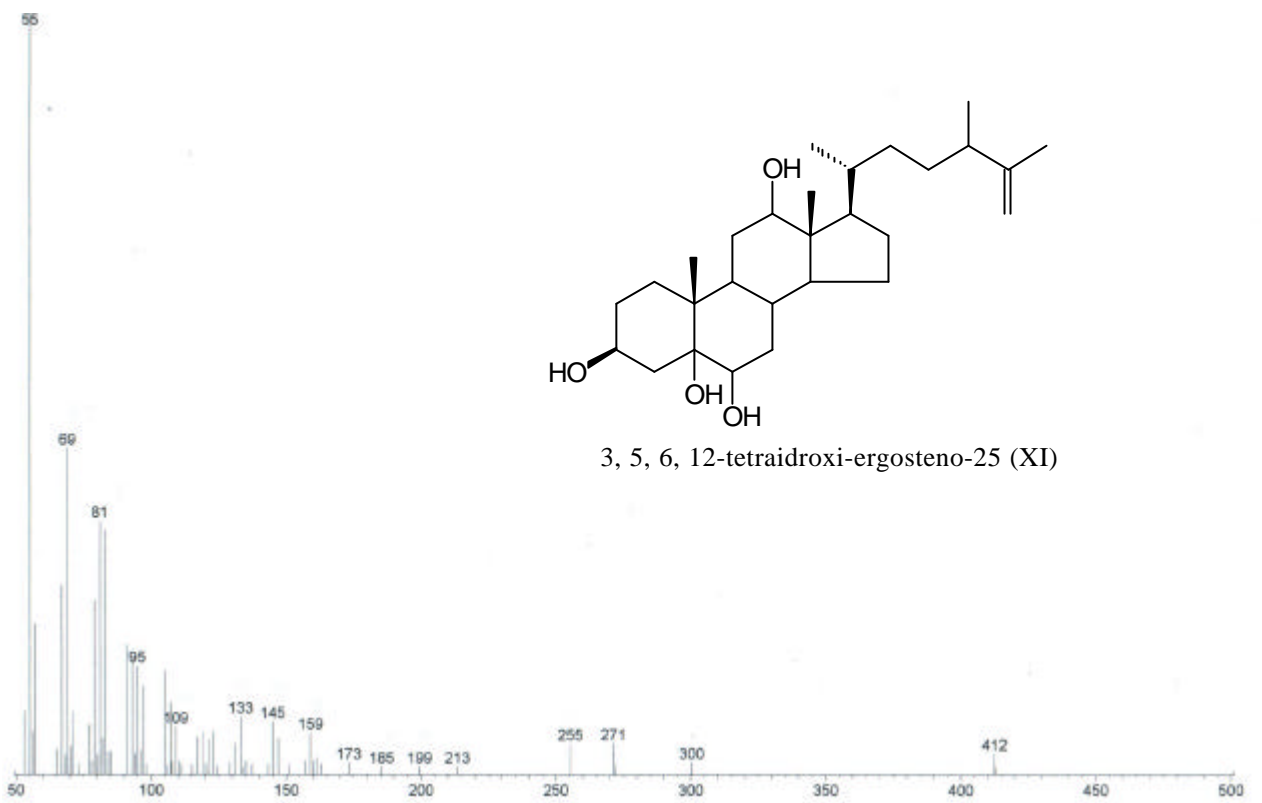
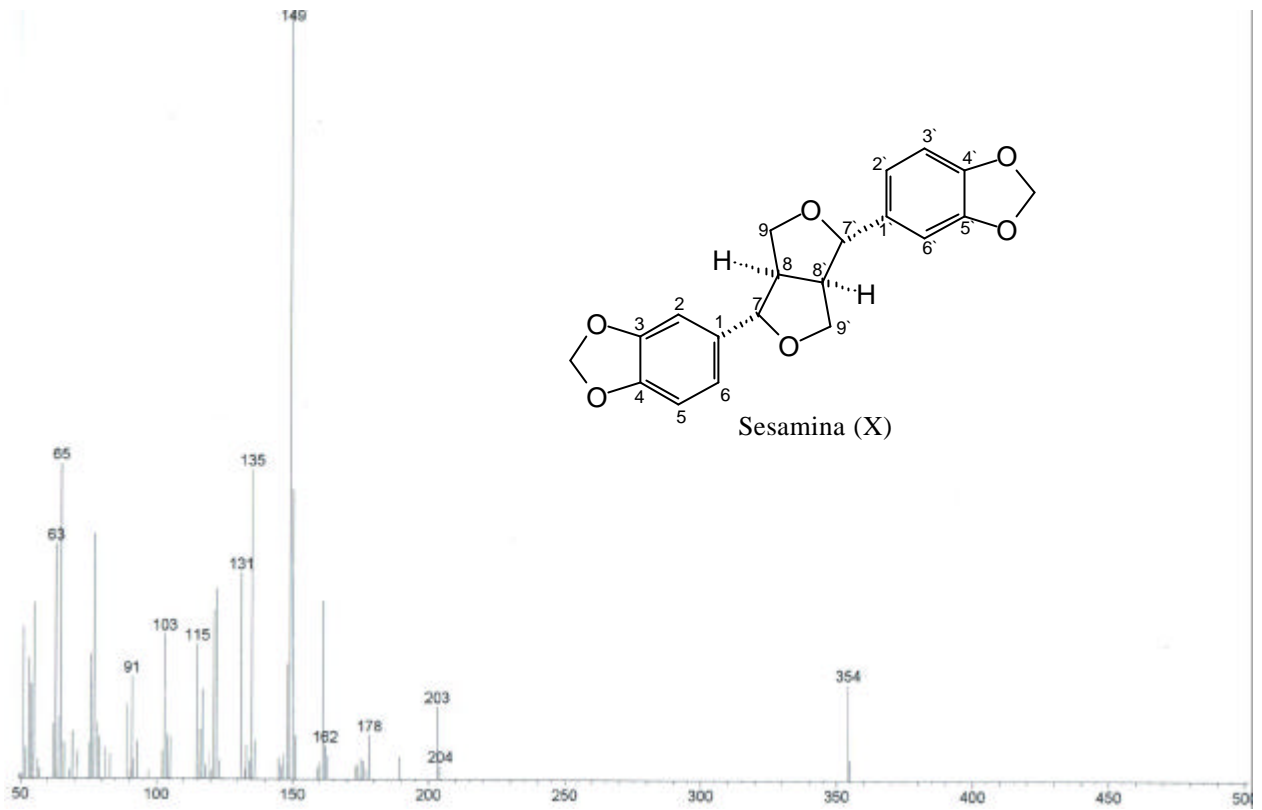
3, 5, 6, 12-tetrahydroxi-ergosteno-25 (XI)

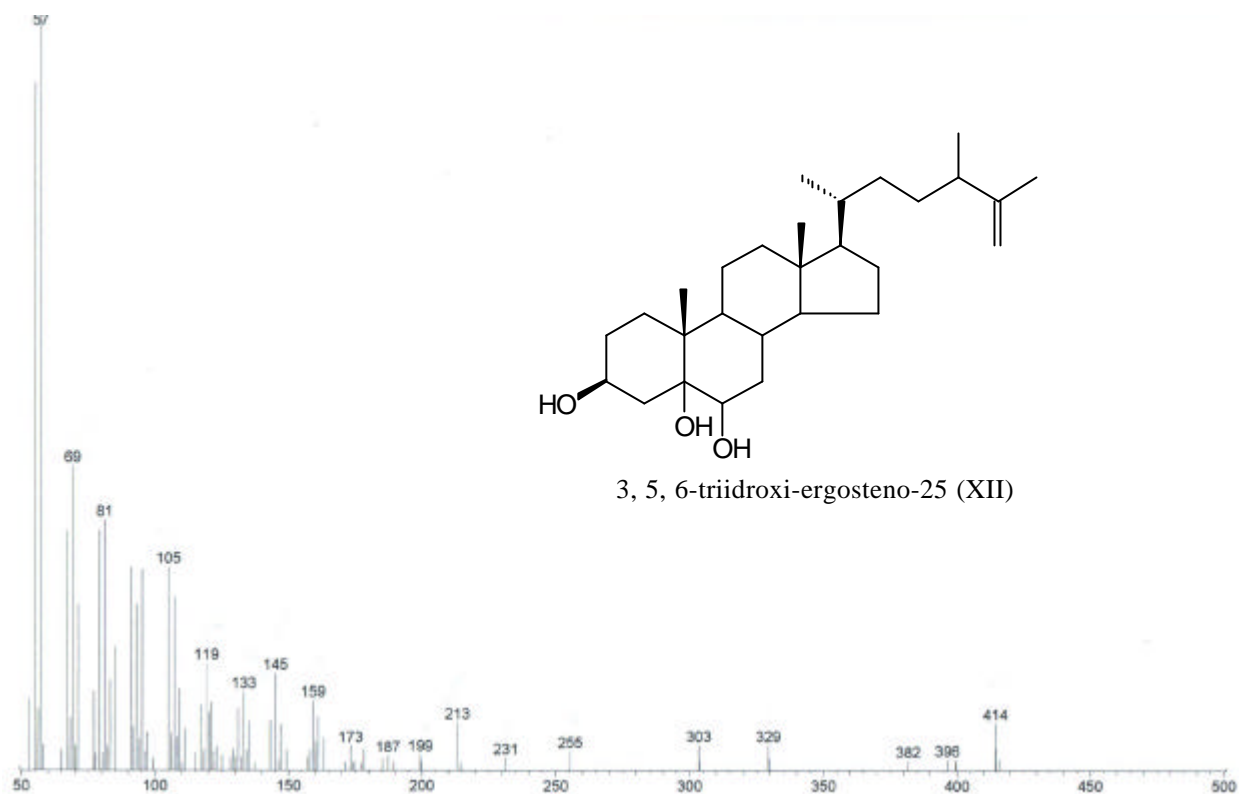


3, 5, 6-triidroxi-ergosteno-25 (XII)



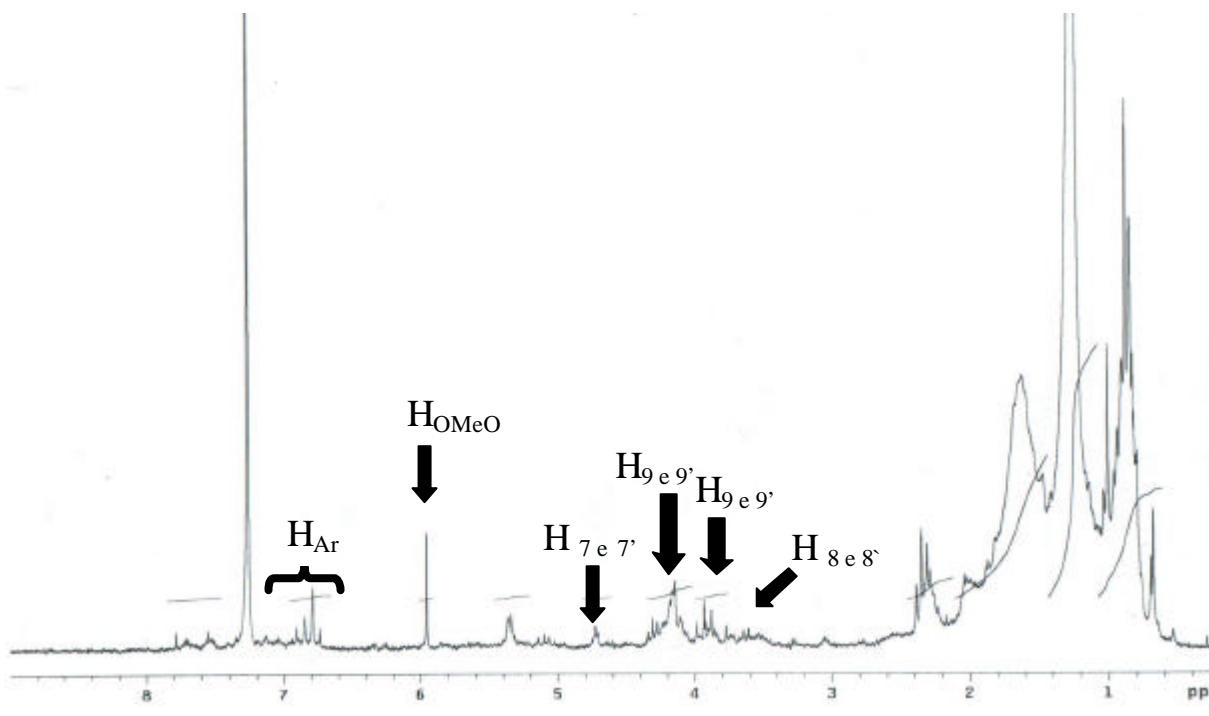
Cromatograma 3 - Cromatograma em coluna DB-1 de HF 05.





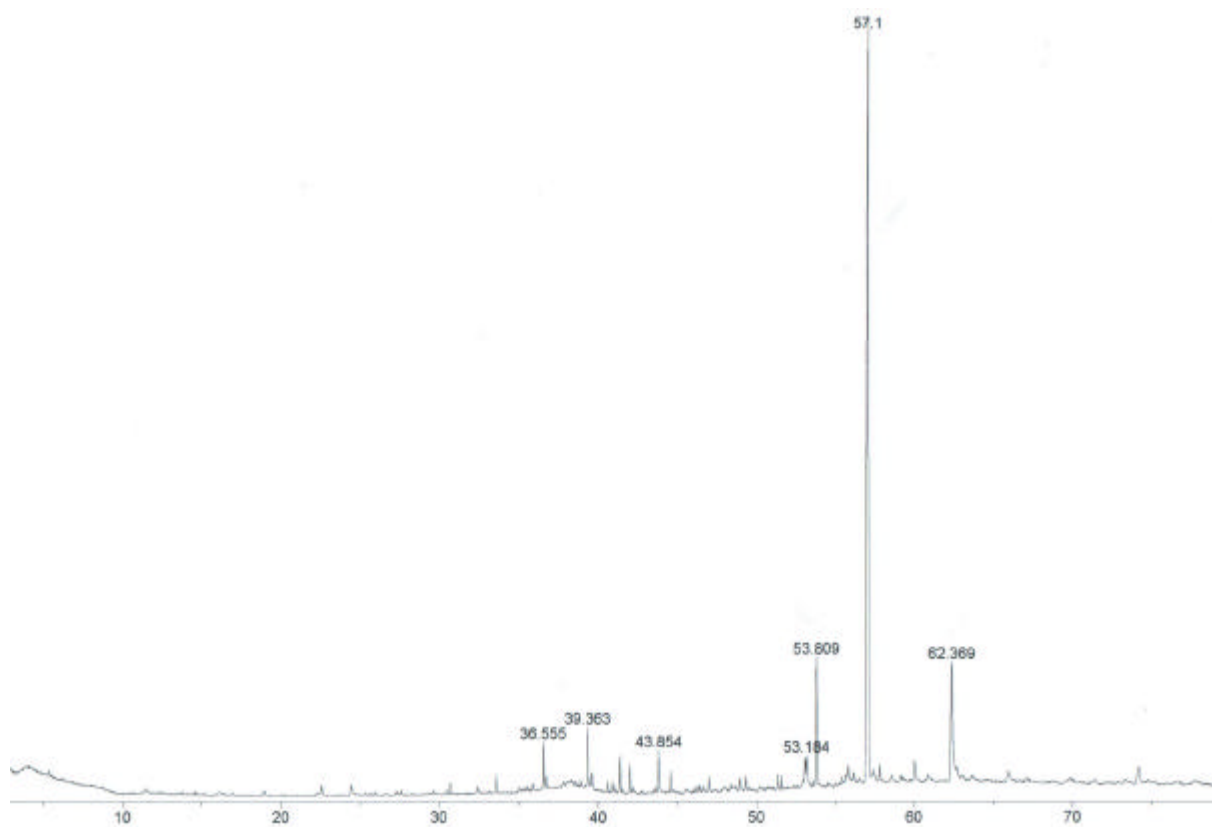
Espectro 7 (a-c) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 05.

Após a identificação da lignana sesamina (X) através do espectro de massas, tornou-se fácil confirmá-la com o auxílio do espectro de RMN ^1H (Espectro 8), sendo possível confrontar os resultados obtidos com os da literatura (GREGER & HOFER, 1980). Sesamina: δ (ppm) 3,06 (multiplete) referente aos sinais dos hidrogênios da posição 8 e 8'; 3,88 (duplo sinal duplo) pertencente a um dos hidrogênios ligados ao carbono na posição 9 e a um dos hidrogênios ligados ao carbono na posição 9', os outros 2 hidrogênios ligados a esses carbonos (9 e 9') aparecem no espectro em 4,25 (duplo sinal duplo); 4,73 (dubleto) relativo aos hidrogênios das posições 7 e 7'; 5,95 (singlete) referente aos 4 hidrogênios dos dois metilenos dos anéis dioxano; 6,75 (multiplete) relativo aos sinais dos hidrogênios aromáticos dos dois anéis (H_2 , H_2' , H_5 , H_5' , H_6 e H_6').

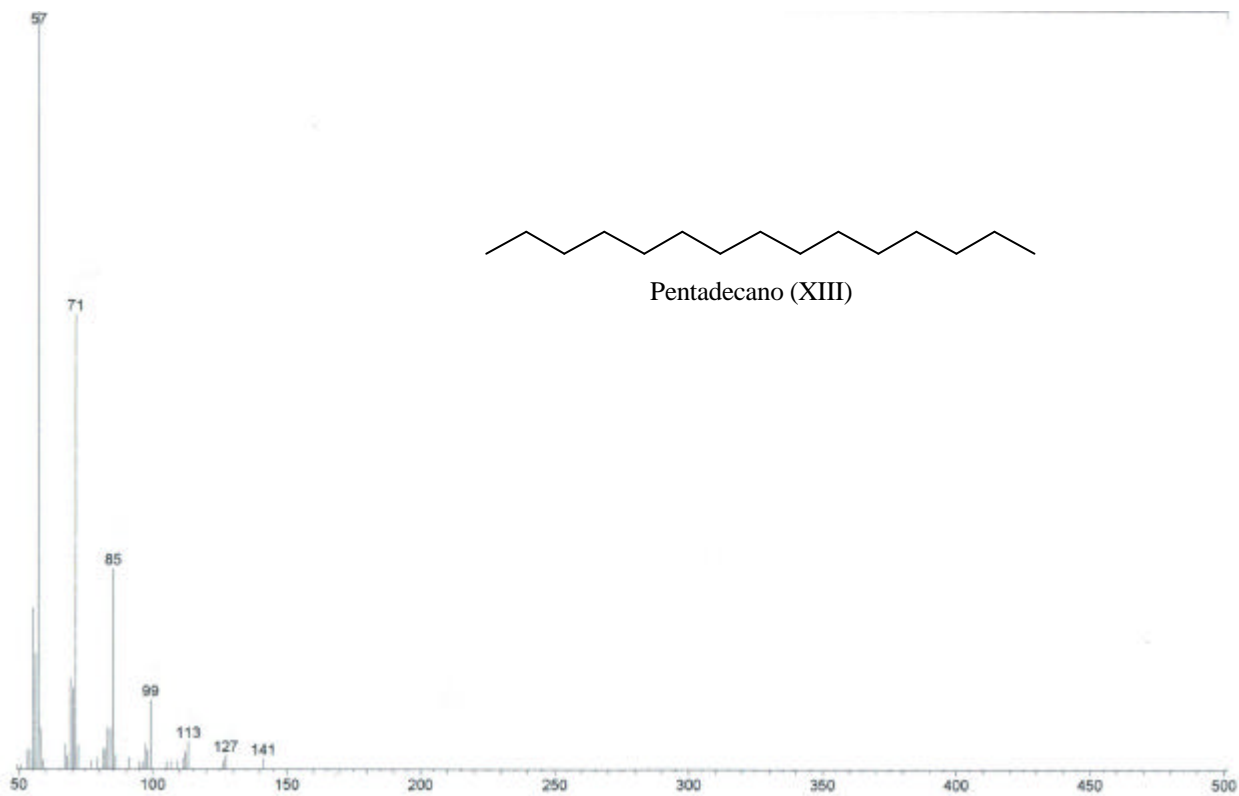


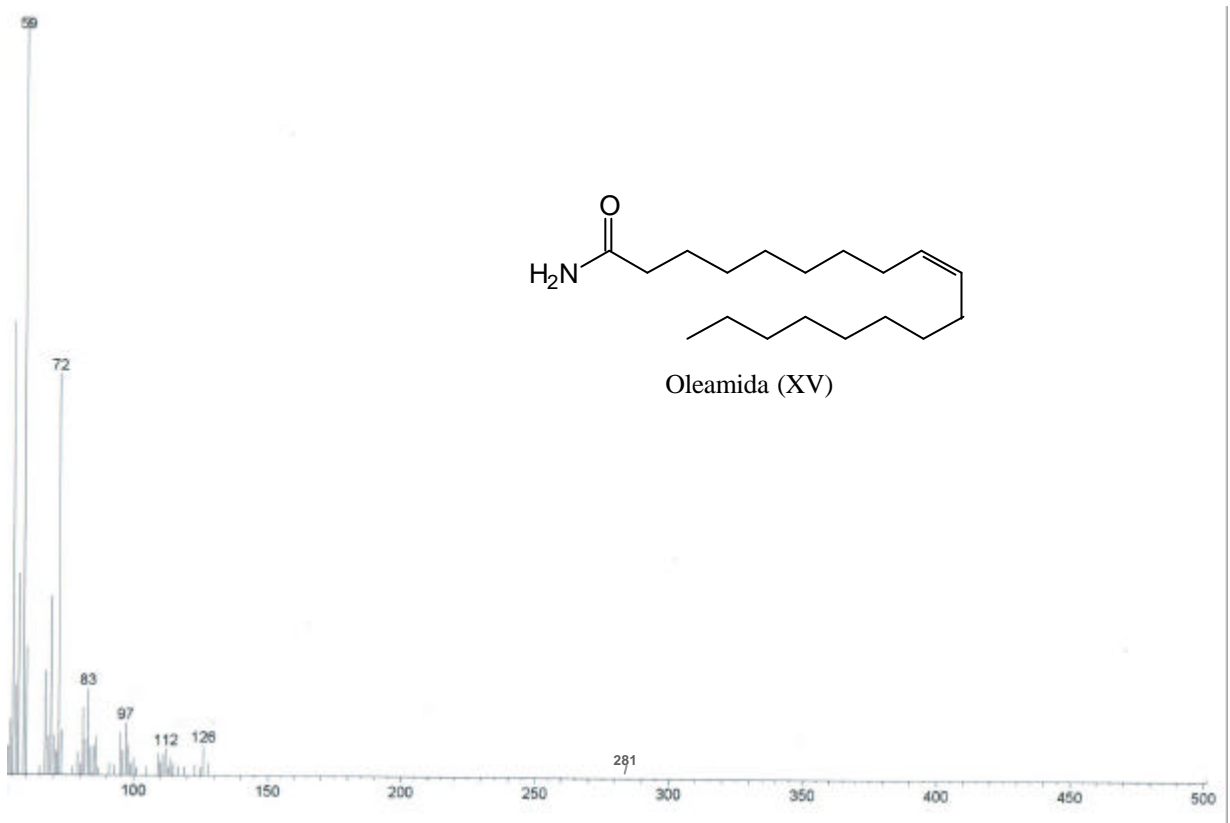
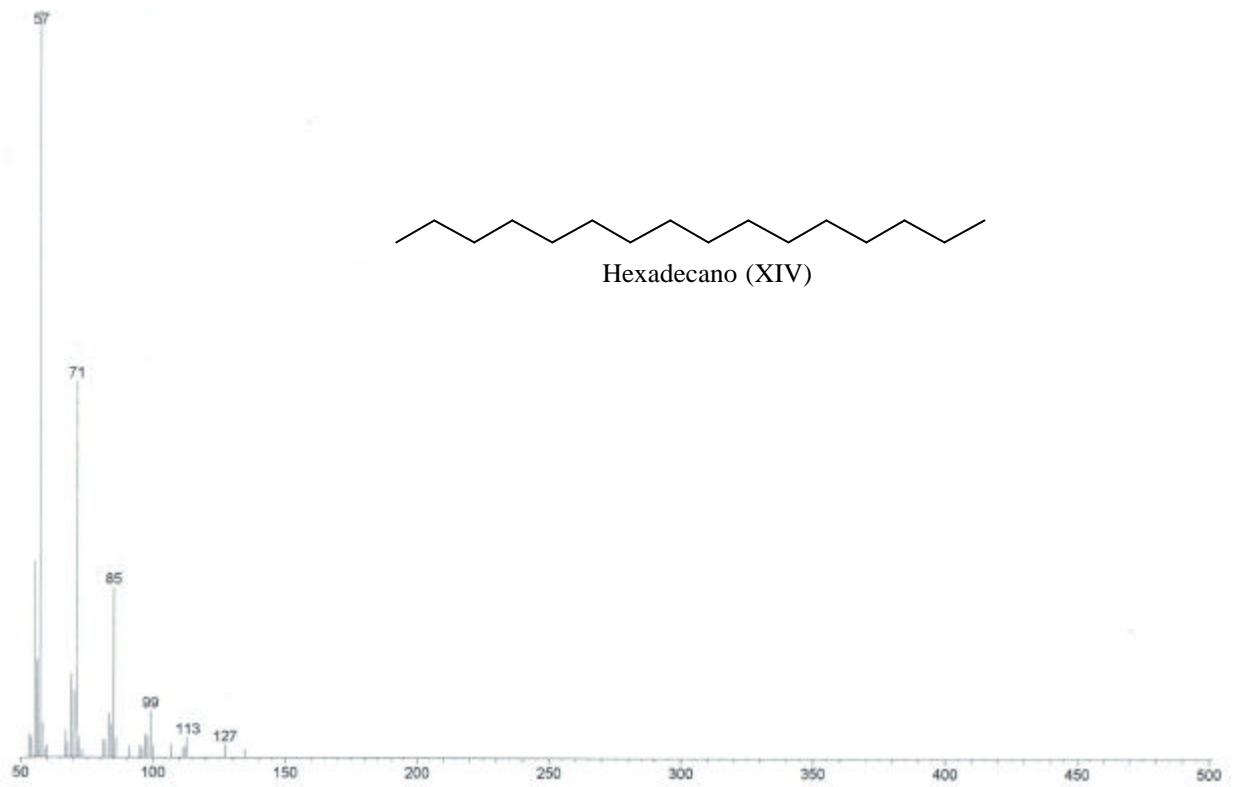
Espectro 8 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 05 em CDCl_3 .

HF 06 Pentadecano (XIII), Hexadecano (XIV) e Oleamida (XV) - As frações 17-24 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em gradiente crescente de hexano/acetato de etila 5% até hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 37-56 dessa coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 7,5%, foram reunidas e novamente recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 348-378 dessa terceira coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 50% e acetato de etila puro, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido que foi analisado por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. O cromatograma (Cromatograma 4) evidenciou a presença de uma mistura de substâncias das quais quatro puderam ser identificadas com o auxílio dos espectros de massas (Espectro 9) e seus pesos moleculares: 212 (TR=36,560 min.); 226 (TR=39,360 min.); 281 (TR=62,370 min.).



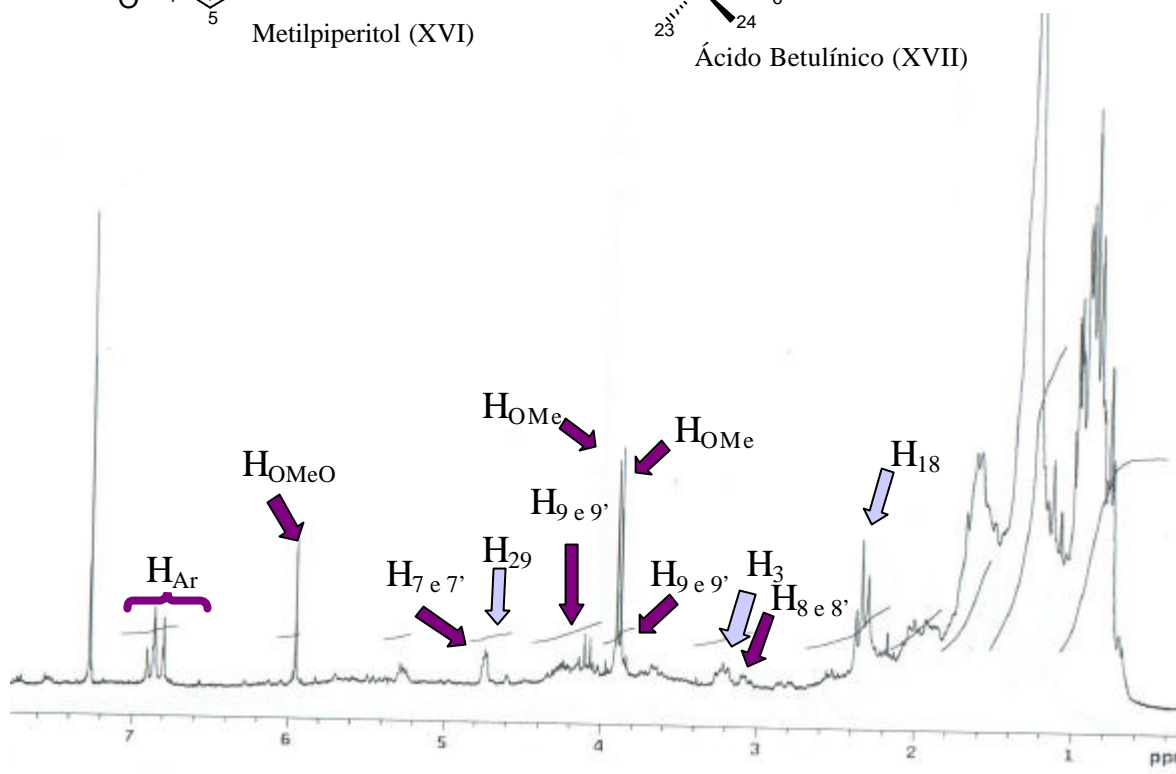
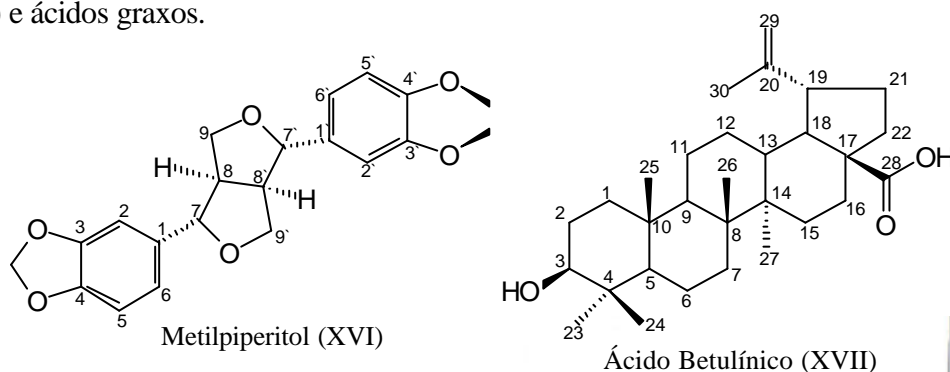
Cromatograma 4 - Cromatograma em coluna DB-1 de HF 06.



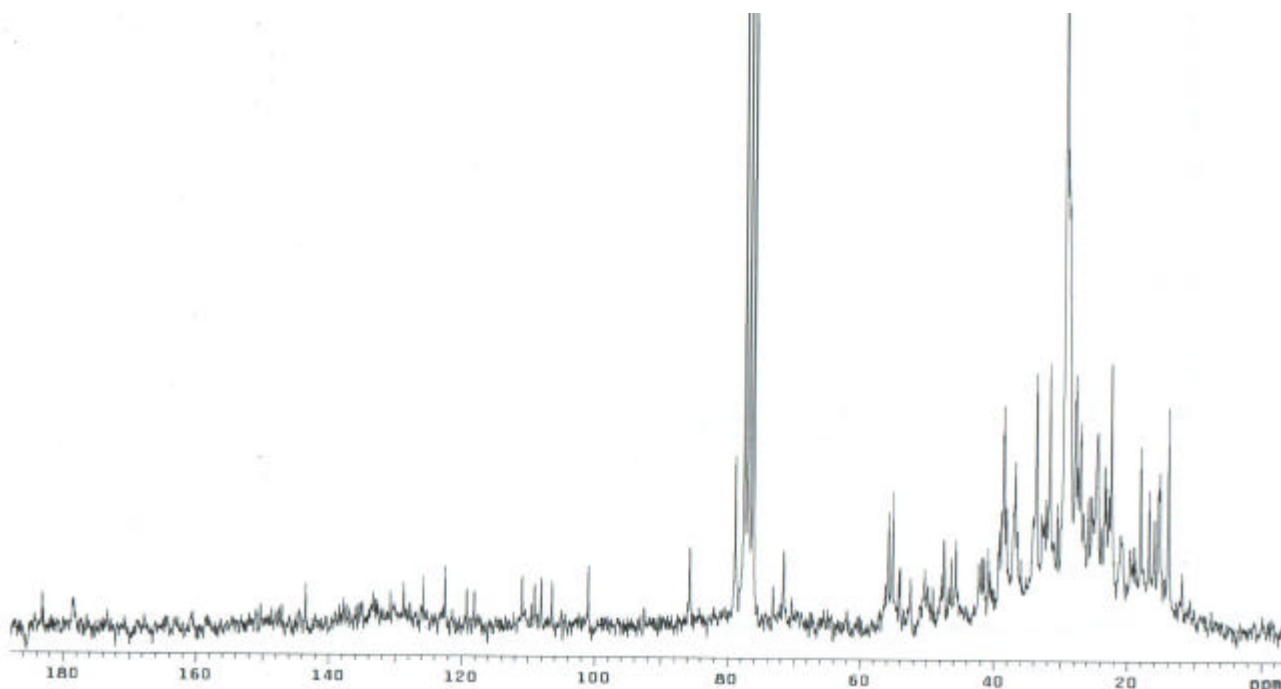


Espectro 9 (a-d) – Espectros de massas das substâncias identificadas na mistura HF 06.

HF 07 Metilpiperitol (XVI) e Ácido Betulínico (XVII) – As frações 27-32 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em hexano/acetato de etila 20%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 12-18 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 50%, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um material verde. Esse sólido foi então solubilizado em clorofórmio/acetona, e a solução restante foi aquecida em presença de carvão ativado e filtrada. Dessa forma foi possível a obtenção de um pó branco. A cromatografia em camada fina realizada para esse material evidenciava a presença de uma mistura de quatro manchas. Com base nos dados de RMN ^1H (Espectro 10) e RMN ^{13}C (Espectro 11), foi possível propor a identidade dos componentes da mistura como sendo metilpiperitol (XVI), ácido betulínico (XVII) e ácidos graxos.



Espectro 10 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 07 em CDCl_3 .

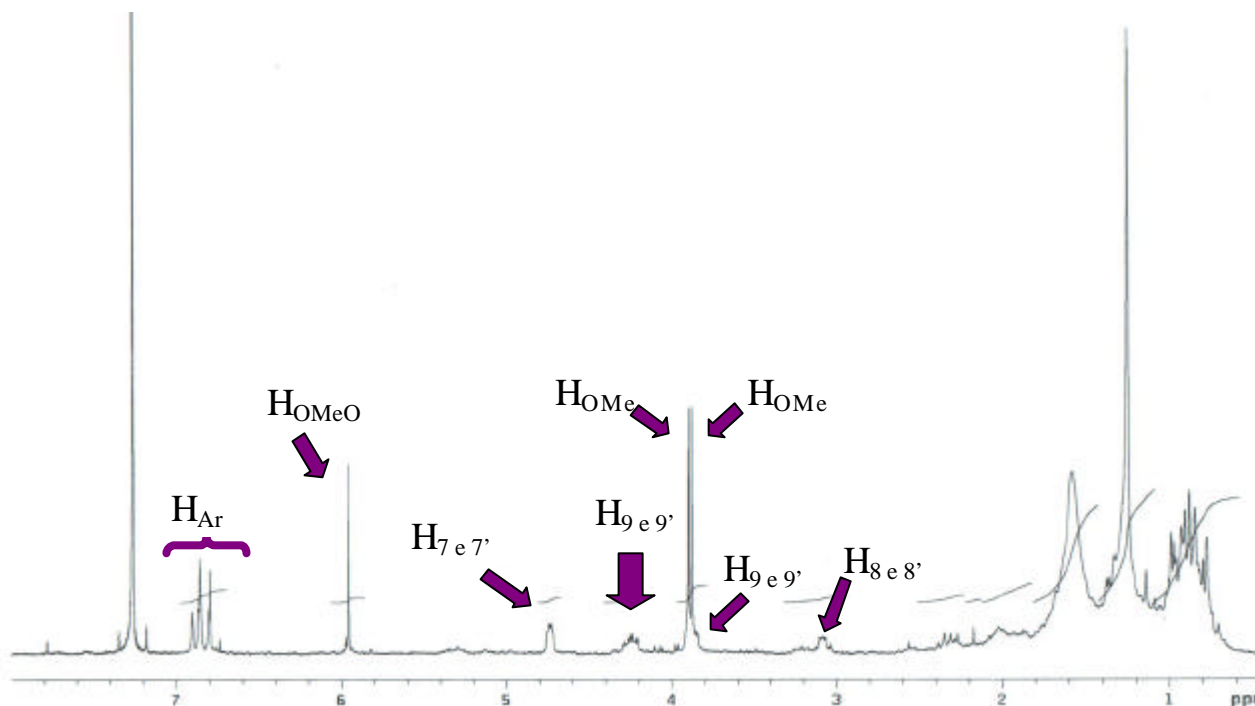


Espectro 11 – Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz) da mistura de HF 07 em CDCl_3 .

Para separar as substâncias e confirmar suas identidades, foi realizada uma cromatografia preparativa, rendendo um total de cinco frações. As frações foram novamente cromatografadas e pôde-se observar o isolamento das substâncias, ficando uma das placas com uma mancha de cor rosa, característica de triterpeno, e outra placa com mancha marrom, característica de lignana, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol. Suas identidades foram então confirmadas comparando-se os dados obtidos por RMN ^1H com os dados obtidos na literatura referentes às duas substâncias, metilpiperitol (XVI) (GREGER & HOFER, 1980) e ácido betulínico (XVII) (SIDDIQUI *et al.*, 1988).

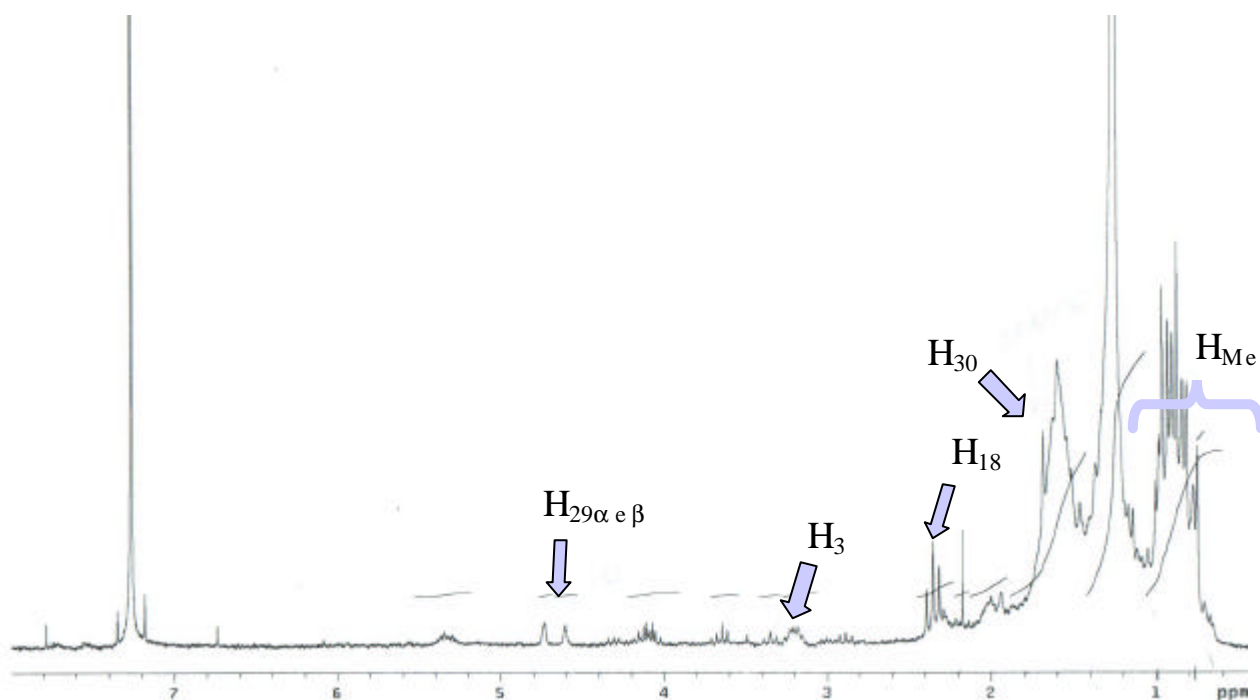
O espectro do metilpiperitol (XVI) (Espectro 12) apresenta todos os sinais dessa lignana, δ (ppm) 3,04 (multipeto) relativo aos hidrogênios das posições 8 e 8'; 3,84 e 3,88 dois singletos referentes aos hidrogênios das metilas ligados ao átomo de oxigênio; 3,84 (dubleto) sinal dos hidrogênios das posições 9 e 9' coberto pelo sinal das metilas ligadas ao oxigênio; 4,21 (multipeto) referente aos outros dois hidrogênios das posições 9 e 9'; 4,70 (dubleto) relativo aos hidrogênios ligados aos átomos de carbono 7 e 7'; 5,96 (singeto) hidrogênio do metileno do anel dioxano; 6,78 (duplo sinal duplo) referente aos hidrogênios

aromáticos nas posições 6 e 6'; 6,82 (dubleto) relativo aos hidrogênios aromáticos das posições 2 e 2'; 6,90 (duplo sinal duplo) pertencente aos hidrogênios aromáticos nas posições 5 e 5'.



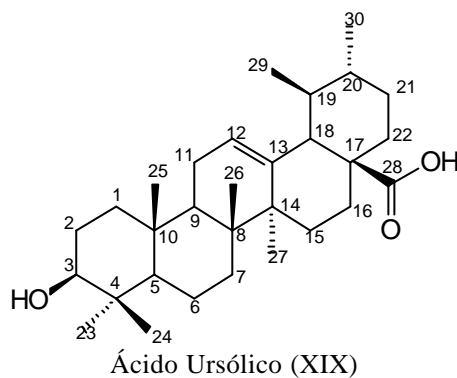
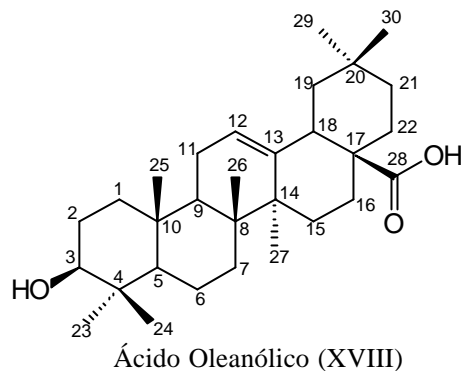
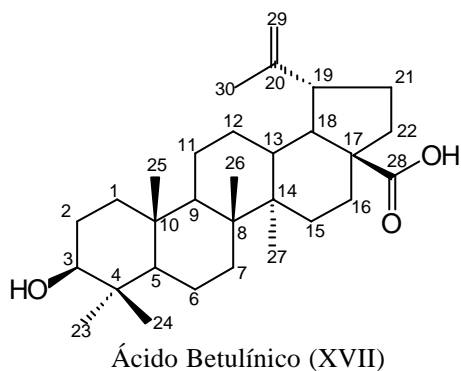
Espectro 12 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do metilpiperitol (XVI) de HF 07A em CDCl_3 .

O espectro do ácido betulínico (XVII) (Espectro 13) apresenta os sinais característicos desse triterpeno: sinais simples muito intensos entre δ (ppm) 0,77-1,00, provenientes dos grupos metila ligados a átomos de carbono sp^3 , com integração para cinco metilas; δ (ppm) 1,68 (singleto) referente aos três hidrogênios da metila da posição 30 ligados ao carbono sp^2 ; 2,25 (multipeto) relativo ao hidrogênio da posição 18; 3,20 (multipeto) pertencente ao hidrogênio carbinólico; 4,60 e 4,70, dois sinais largos característicos dessa substância referentes aos hidrogênios vinilidênicos.

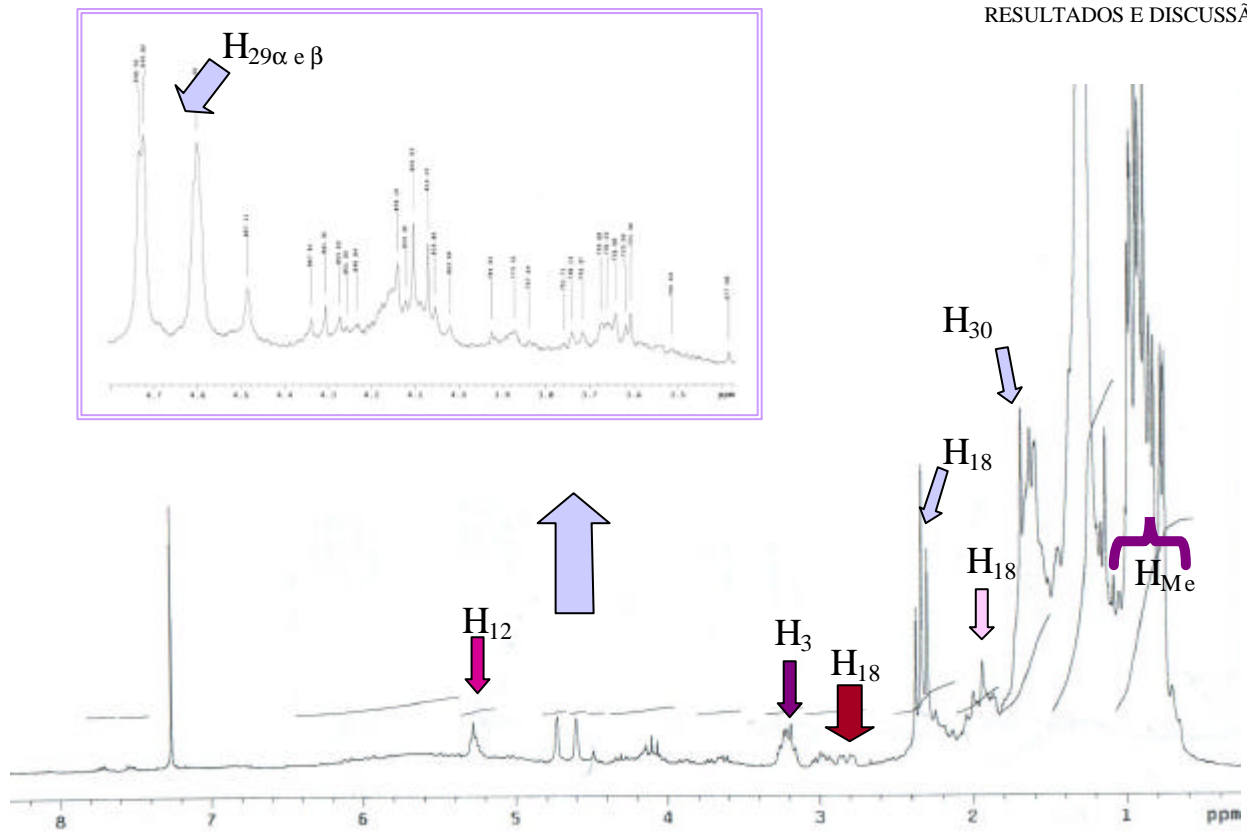


Espectro 13 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do ácido betulínico (XVII) de HF 07B em CDCl_3 .

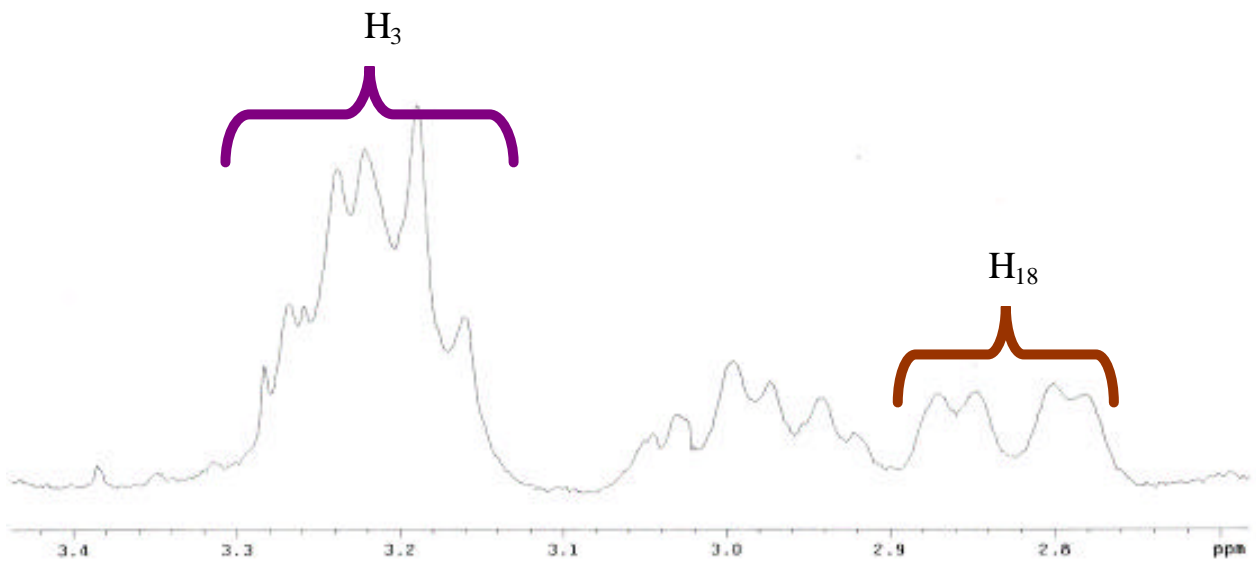
HF 08 Ácido Betulínico (XVII), Ácido Oleanólico (XVIII) e Ácido Ursólico (XIX) - As frações 27-32 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em hexano/acetato de etila 20%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 8-11 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 50%, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um sólido escuro. A cromatografia em camada fina evidenciou uma mancha grande rosa característica de triterpeno após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol. O material foi enviado para análise por RMN ^1H e RMN ^{13}C e confirmou tratar-se de uma mistura de triterpenos ácidos.



O espectro de RMN ^1H da mistura (Espectro 14) e sua expansão (Espectro 15) apresentam sinais característicos dos três triterpenos: δ (ppm) 5,24 (multipeto) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 12 dos ácidos oleanólico (XVIII) e ursólico (XIX); 4,56 e 4,70, dois sinais largos relativos aos hidrogênios da posição 29 do ácido betulínico (XVII); 3,16 (duplo sinal duplo) pertencente aos hidrogênios carbinólicos da posição 3 dos três triterpenos da mistura; 2,76 (duplo sinal duplo) referente ao hidrogênio da posição 18 do ácido oleanólico (XVIII); 2,24 (multipeto) relativo ao hidrogênio da posição 18 do ácido betulínico (XVII); 1,84 (multipeto) pertencente ao hidrogênio da posição 18 do ácido ursólico (XIX); 1,68 (singleto) referente a um grupo metila ligado a carbono sp^2 do ácido betulínico (XVII), além de outros sinais de metila dos três triterpenos.

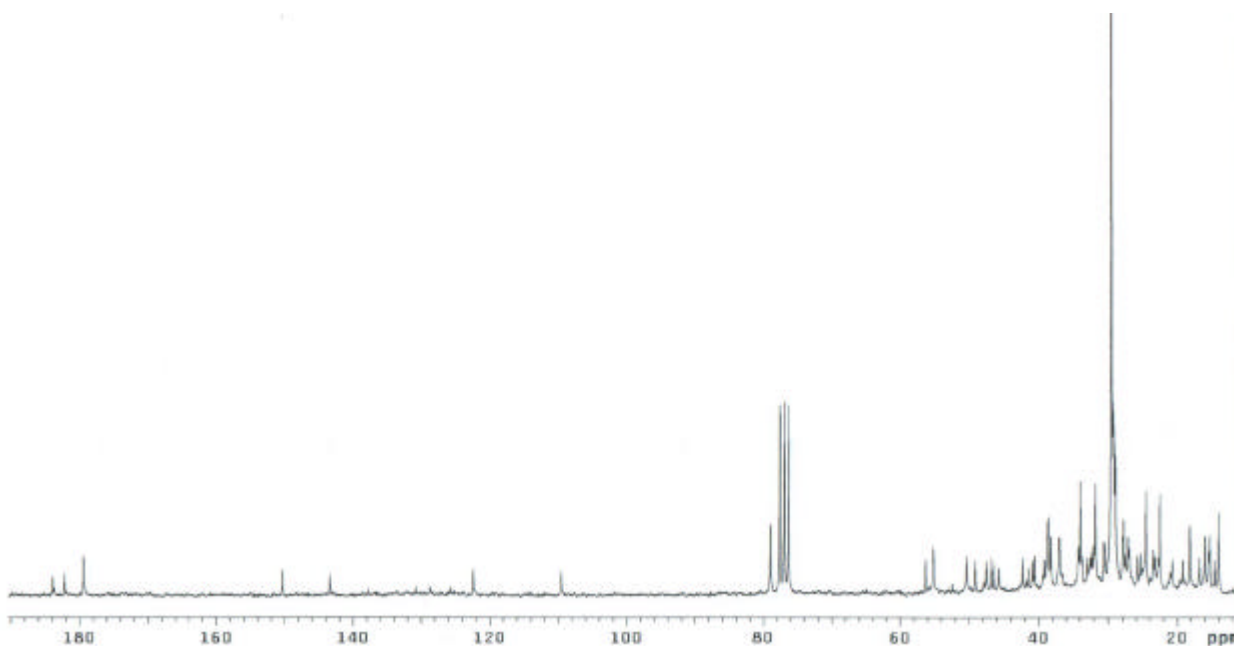


Espectro 14 – Espectro de RMN ¹H (200 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl₃.



Espectro 15 – Expansão de parte do espectro de RMN ¹H (200 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl₃.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Espectro 16) confirma a presença dos três triterpenos devido aos sinais característicos dessas substâncias, tais como: Ácido Betulínico (XVII) = δ (ppm) 182,2 (C_{28}); 150,3 (C_{20}); 109,5 (C_{29}) e 79,0 (C_3); Ácido Oleanólico (XVIII) = δ (ppm) 183,9 (C_{28}); 143,4 (C_{13}); 122,5 (C_{12}); 79,0 (C_3); Ácido Ursólico (XIX) = δ (ppm) 179,4 (C_{28}); 138,0 (C_{13}); 125,7 (C_{12}); 79,0 (C_3).



Espectro 16 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3 .

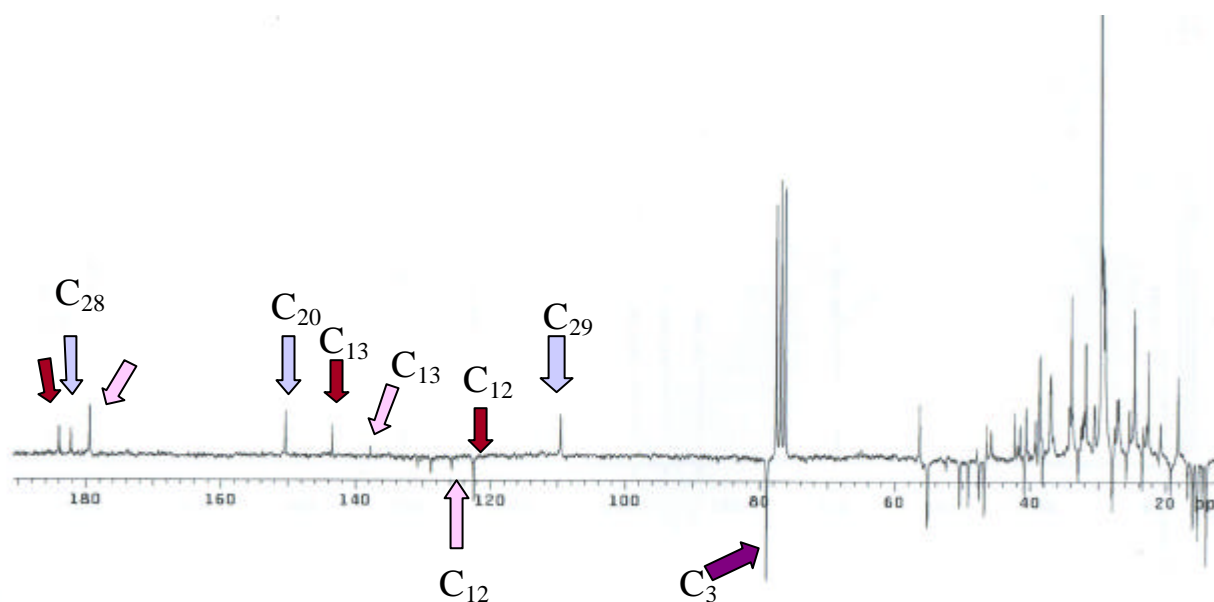
A comparação dos dados observados no espectro de RMN ^{13}C de HF 08 com sinais dos espectros de RMN ^{13}C dos três triterpenos ácidos retirados da literatura confirma que a mistura é composta por ácido betulínico (XVII) (SIDDQUI *et al.*, 1988), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001), conforme sugerido anteriormente (Tabela XVI).

Tabela XVI - Comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos para HF 08 com os dados encontrados na literatura para ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX) (SIDDIQUI *et al.*, 1988; HUNG & YEN, 2001).

C	DADOS DA LITERATURA*			HF 08*		
	XVII	XVIII	XIX	XVII	XVIII	XIX
1	38,7	38,7	38,7	38,6	38,6	38,7
2	27,4	27,2	27,2	27,5	27,5	27,5
3	78,9	79,0	79,0	79,0	79,0	79,0
4	38,8	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
5	55,3	55,2	55,2	55,1	55,2	55,2
6	18,3	18,3	18,3	18,2	18,2	18,2
7	34,3	32,6	32,9	34,2	32,5	32,5
8	40,7	39,2	39,4	40,5	39,2	39,4
9	50,5	47,6	47,5	50,4	47,5	47,5
10	37,2	37,1	37,0	37,1	37,0	37,0
11	20,8	23,4	23,3	20,8	23,3	23,3
12	25,5	122,6	125,8	25,8	122,5	125,7
13	38,4	143,6	137,9	38,6	143,4	138,0
14	42,4	41,6	42,0	42,3	41,8	41,5
15	30,5	27,7	28,0	30,5	27,5	28,0
16	32,1	23,4	24,1	32,0	23,3	24,6
17	56,3	46,5	47,9	56,3	46,4	47,8
18	46,8	41,0	52,6	46,8	40,8	52,4
19	49,2	45,8	39,0	50,4	45,7	39,2
20	150,3	30,7	29,7	150,3	30,6	29,6
21	29,7	33,8	30,6	29,6	33,9	30,5
22	37,0	32,4	36,7	37,1	32,3	37,0
23	27,9	28,1	28,1	27,8	28,0	28,0
24	15,3	15,5	15,5	15,2	15,4	15,4
25	16,0	15,3	15,6	16,0	15,4	15,4
26	16,1	17,1	17,0	16,0	16,7	16,7
27	14,7	25,9	23,6	14,5	25,8	23,5
28	180,5	183,5	181,2	182,2	183,9	179,4
29	109,6	33,1	24,1	109,5	33,0	23,5
30	19,4	23,6	21,2	19,2	23,5	21,2

* CDCl_3

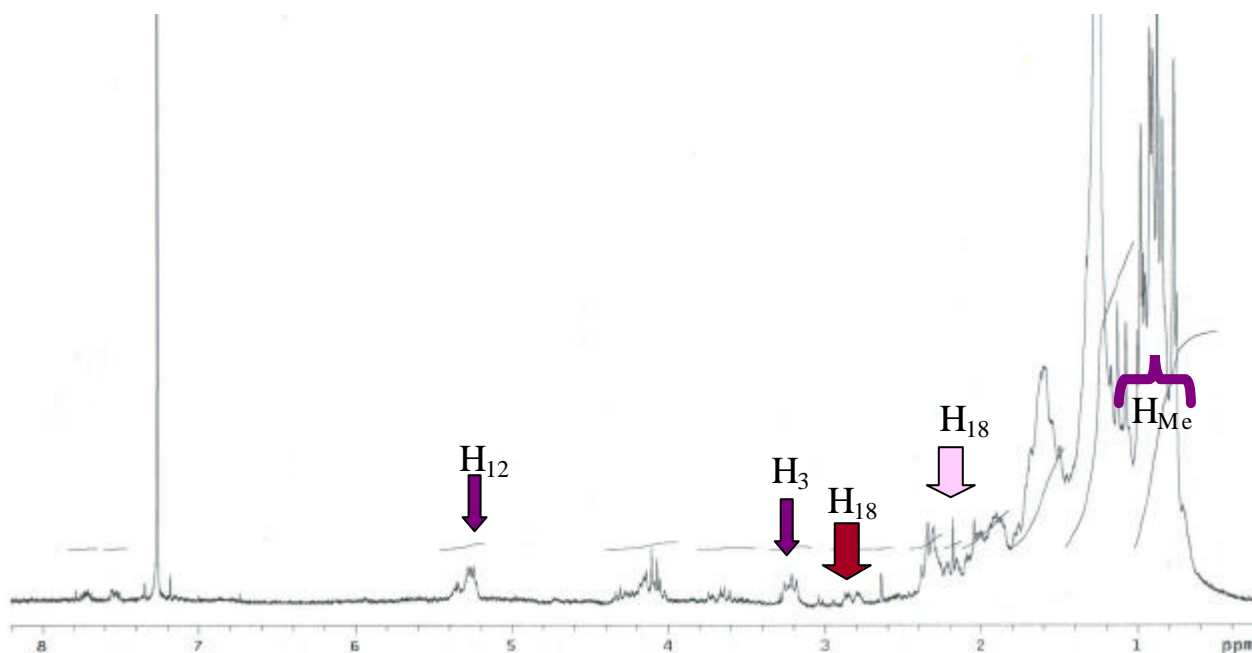
A multiplicidade dos sinais referentes aos átomos de carbono foi obtida por RMN ^{13}C pela técnica APT (Espectro 17) e serviu como parâmetro para comparação entre sinais de mesma multiplicidade, podendo-se desta forma sugerir a proporção das substâncias na mistura HF 08: Ácido Betulínico (52,9%), Ácido Oleanólico (35,3%) e Ácido Ursólico (11,8%).



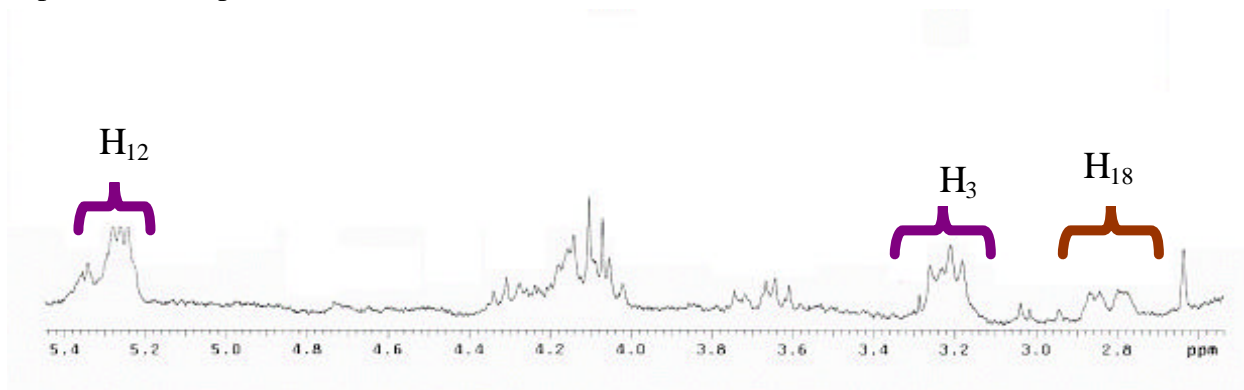
Espectro 17 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 08 em CDCl_3 na técnica APT.

HF 09 Ácido Oleanólico (XVIII) e Ácido Ursólico (XIX) - As frações 33-36 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluídas em hexano/acetato de etila 30%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 50-61 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 30%, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um sólido escuro. O material foi solubilizado em clorofórmio/acetona a quente e filtrado com carvão ativo. A cromatografia em camada fina evidenciou uma mancha grande indicativa da presença de triterpeno. A amostra foi enviada para análise por RMN ^1H e RMN ^{13}C e confirmou tratar-se de uma mistura de triterpenos.

O espectro de RMN ^1H da mistura (Espectro 18) e sua expansão (Espectro 19) apresentam sinais característicos dos dois triterpenos: δ (ppm) 5,22 (multiplete) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 12 dos ácidos oleanólico (XVIII) e ursólico (XIX); 3,18 (duplo sinal duplo) pertencente aos hidrogênios carbinólicos da posição 3 dos dois triterpenos da mistura; 2,74 (duplo sinal duplo) referente ao hidrogênio da posição 18 do ácido oleanólico (XVIII); 2,18 (singlete largo) pertencente ao hidrogênio da posição 18 do ácido ursólico (XIX); além de outros sinais de metila dos dois triterpenos.

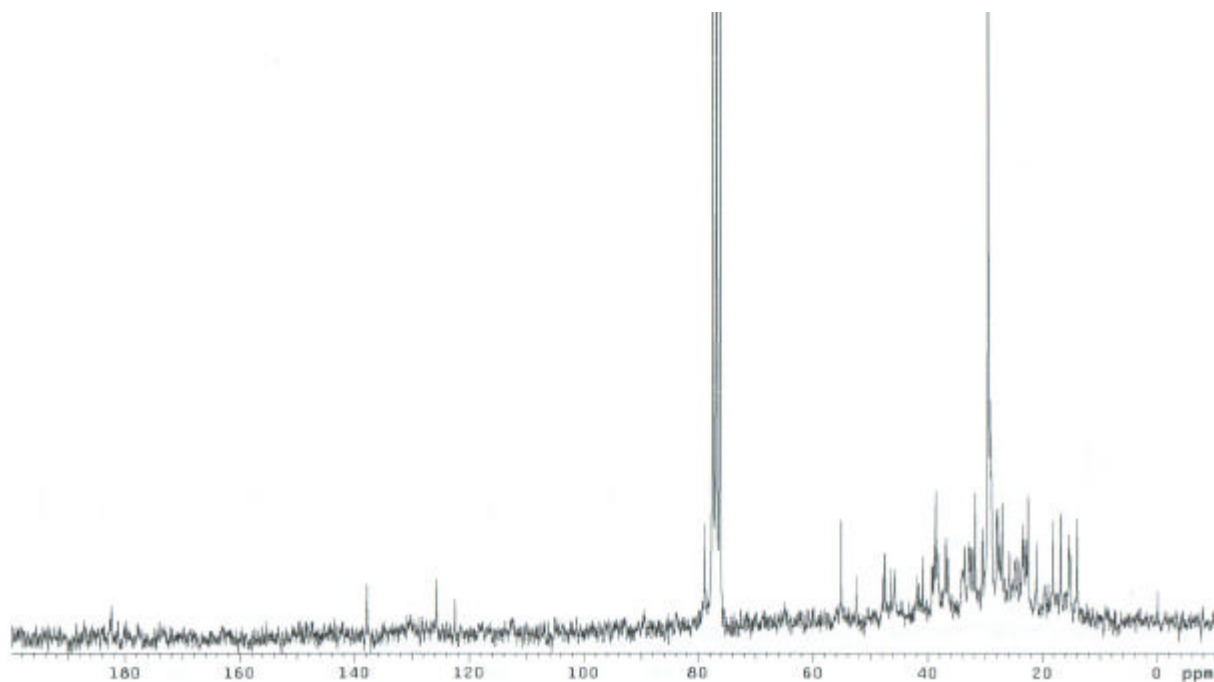


Espectro 18 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3 .



Espectro 19 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3 .

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Espectro 20) confirma a presença dos dois triterpenos devido aos sinais característicos dessas substâncias, tais como: Ácido Oleanólico (XVIII) = δ (ppm) 182,7 (C_{28}); 143,5 (C_{13}); 122,5 (C_{12}); 78,9 (C_3) e Ácido Ursólico (XIX) = δ (ppm) 140,9 (C_{13}); 125,7 (C_{12}); 78,9 (C_3).



Espectro 20 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3 .

A comparação dos dados observados no espectro de RMN ^{13}C de HF 09 com sinais dos espectros de RMN ^{13}C , dos dois triterpenos ácidos retirados da literatura confirma que a mistura é composta por Ácido Oleanólico (XVIII) e Ácido Ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001), conforme sugerido anteriormente (Tabela XVII).

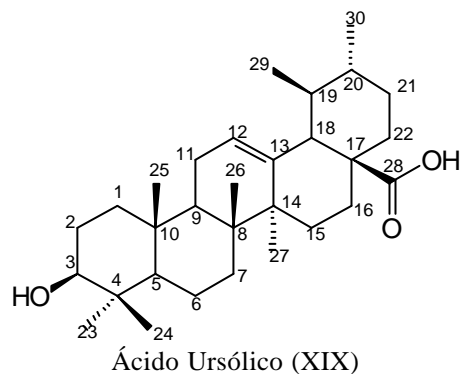
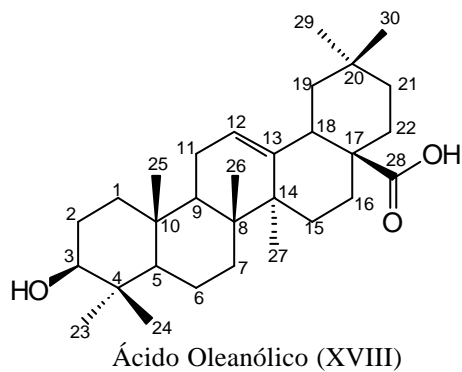
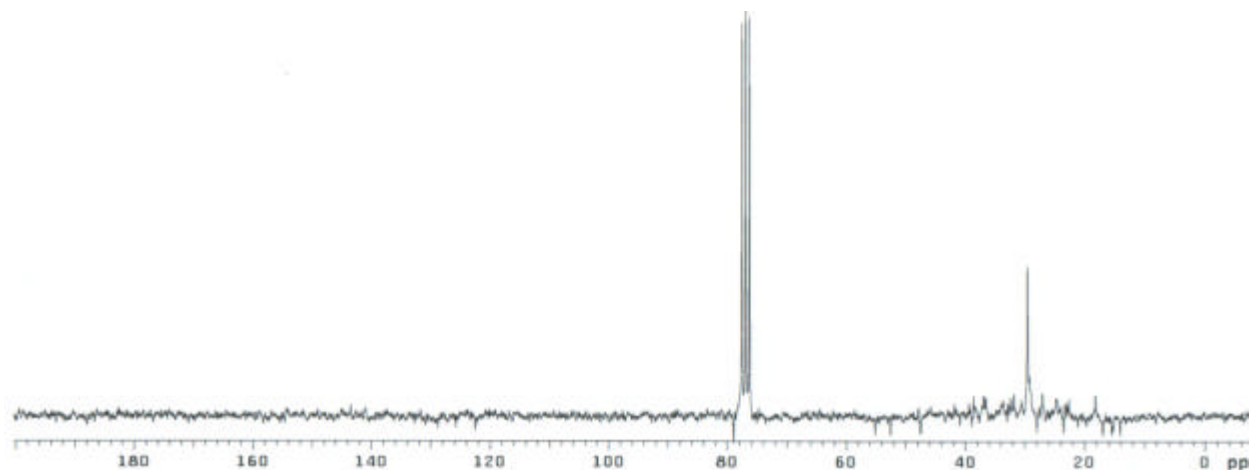


Tabela XVII - Comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos para HF 09 com os dados encontrados na literatura para ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001).

C	DADOS DA LITERATURA*		HF 09*	
	XVIII	XIX	XVIII	XIX
1	38,7	38,7	38,6	38,6
2	27,2	27,2	27,1	27,1
3	79,0	79,0	78,9	78,9
4	38,7	38,7	38,6	38,6
5	55,2	55,2	55,1	55,1
6	18,3	18,3	18,2	18,2
7	32,6	32,9	32,3	32,3
8	39,2	39,4	38,9	38,9
9	47,6	47,5	47,5	47,5
10	37,1	37,0	37,0	37,0
11	23,4	23,3	23,2	23,2
12	122,6	125,8	122,5	125,7
13	143,6	137,9	143,5	140,9
14	41,6	42,0	41,8	41,8
15	27,7	28,0	27,7	-
16	23,4	24,1	23,2	24,8
17	46,5	47,9	45,8	47,8
18	41,0	52,6	40,9	52,5
19	45,8	39,0	45,8	38,9
20	30,7	29,7	30,6	-
21	33,8	30,6	33,6	30,5
22	32,4	36,7	32,3	36,6
23	28,1	28,1	28,0	28,0
24	15,5	15,5	15,4	15,4
25	15,3	15,6	15,4	15,4
26	17,1	17,0	16,9	16,7
27	25,9	23,6	-	23,5
28	183,5	181,2	182,7	-
29	33,1	24,1	-	23,5
30	23,6	21,2	23,5	21,1

* CDCl_3

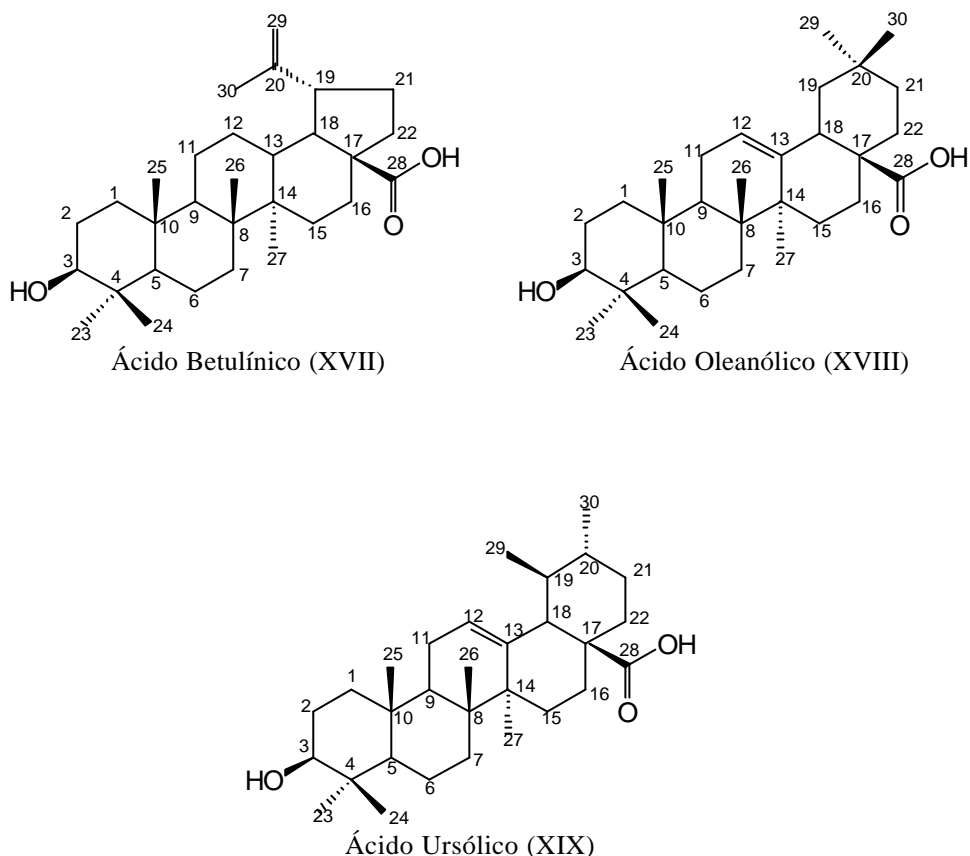
A multiplicidade dos sinais referentes aos átomos de carbono foi obtida por RMN ^{13}C pela técnica APT (Espectro 21) e serviu como parâmetro para comparação entre sinais de mesma multiplicidade, podendo-se sugerir a proporção das substâncias em HF 09: Ácido Oleanólico (55,6 %) e Ácido Ursólico (44,4 %).



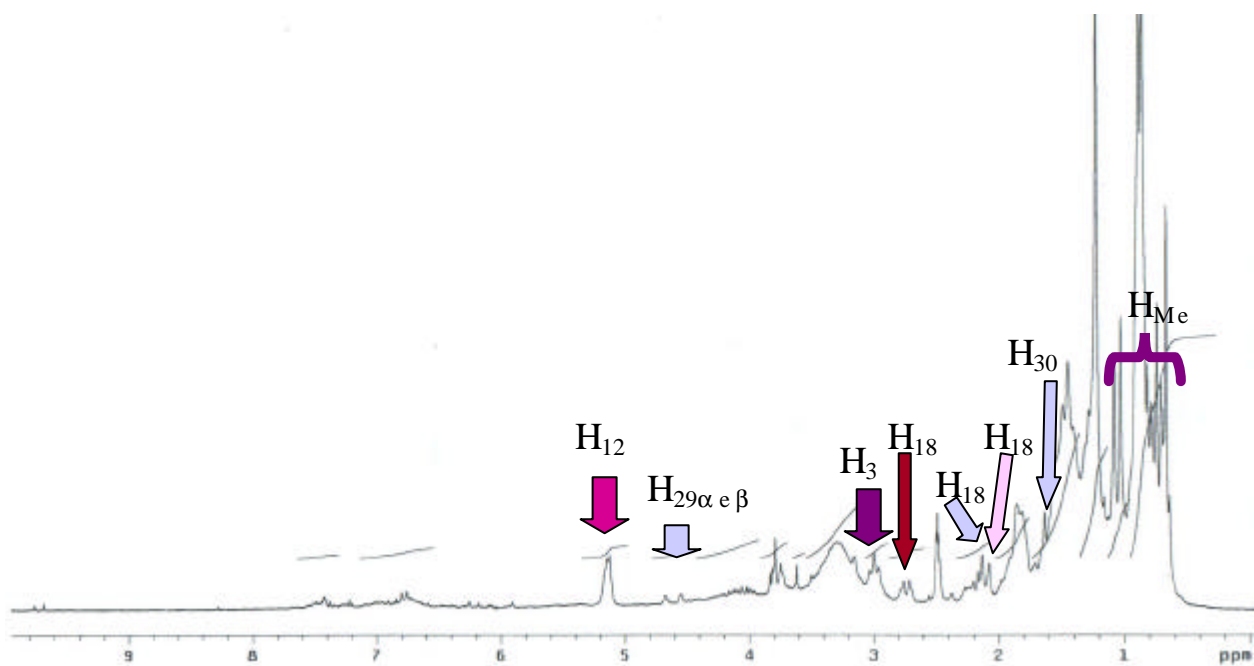
Espectro 21 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 09 em CDCl_3 na técnica APT.

Partição em Diclorometano do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

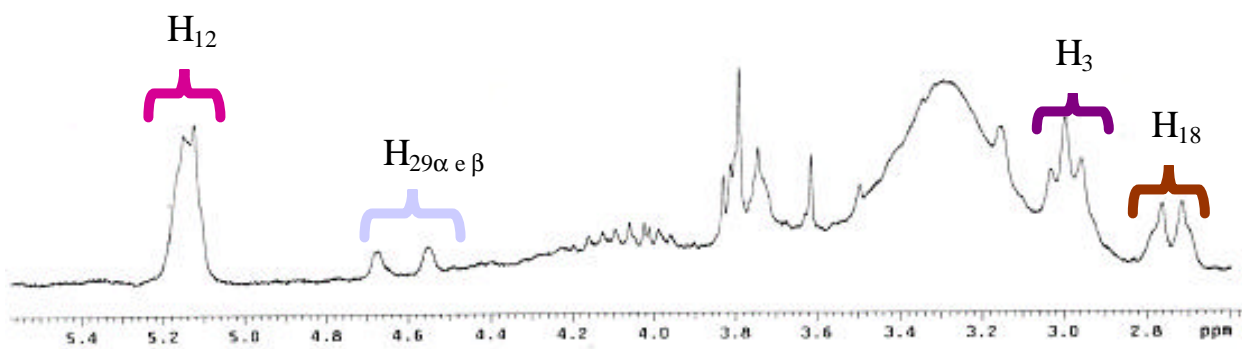
HF 10 Ácido Betulínico (XVII), Ácido Oleanólico (XVIII) e Ácido Ursólico (XIX) - O extrato bruto dos caules em diclorometano foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, acetato de etila e metanol. As frações 107-155 da coluna cromatográfica da partição em diclorometano, eluídas em acetato de etila puro, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceu um material amarelado. Esse material foi solubilizado em clorofórmio/acetona/metanol a quente e filtrado em presença de carvão ativo. A cromatografia em camada fina evidenciou três manchas de cores características de triterpeno após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol. Os espectros de RMN ^1H e de RMN ^{13}C evidenciaram tratar-se de uma mistura de triterpenos igual a HF 08.



O espectro de RMN ^1H da mistura (Espectro 22) e sua expansão (Espectro 23) apresentam sinais característicos dos três triterpenos: δ (ppm) 5,10 (multipeto) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 12 dos ácidos oleanólico (XVIII) e ursólico (XIX); 4,52 e 4,66, dois sinais largos relativos aos hidrogênios da posição 29 do ácido betulínico (XVII); 2,92 (multipeto) pertencente aos hidrogênios carbinólicos da posição 3 dos três triterpenos da mistura; 2,70 (duplo sinal duplo) referente ao hidrogênio da posição 18 do ácido oleanólico (XVIII); 2,12 (multipeto) relativo ao hidrogênio da posição 18 do ácido betulínico (XVII); 2,06 (sinal largo) pertencente ao hidrogênio da posição 18 do ácido ursólico (XIX); 1,62 (singlete) referente a um grupo metila ligado a carbono sp^2 do ácido betulínico (XVII), além de outros sinais de metila dos três triterpenos ácidos.

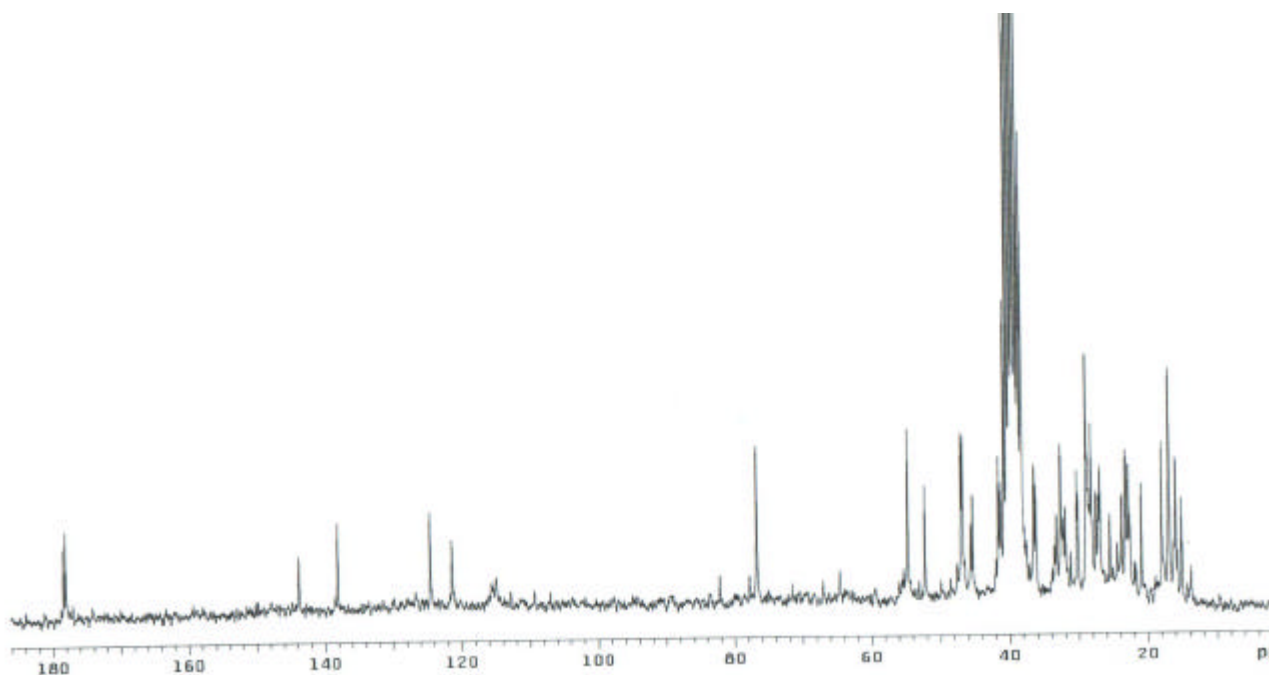


Espectro 22 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6 .



Espectro 23 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6 .

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Espectro 24) confirma a presença dos três triterpenos devido aos sinais característicos dessas substâncias, tais como: Ácido Betulínico (XVII) = δ (ppm) 178,3 (C_{28}), 109,5 (C_{29}) e 76,8 (C_3); Ácido Oleanólico (XVIII) = δ (ppm) 178,3 (C_{28}); 143,7 (C_{13}); 121,4 (C_{12}); 76,8 (C_3); Ácido Ursólico (XIX) = δ (ppm) 178,0 (C_{28}); 138,1 (C_{13}); 124,5 (C_{12}); 76,8 (C_3).



Espectro 24 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6 .

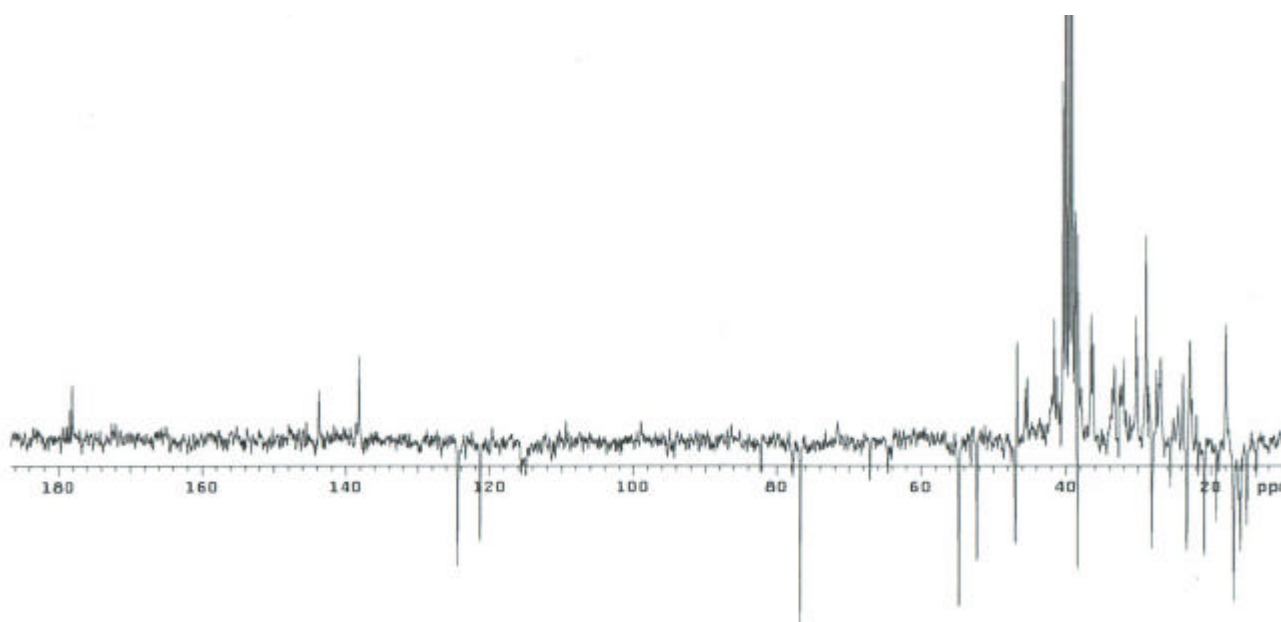
A comparação dos dados observados no espectro de RMN ^{13}C de HF 10 com sinais dos espectros de RMN ^{13}C , dos três triterpenos ácidos retirados da literatura confirma que a mistura é composta por ácido betulínico (XVII) (SIDDIQUI *et al.*, 1988), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001), conforme sugerido anteriormente (Tabela XVIII).

Tabela XVIII - Comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos para HF 10 com os dados encontrados na literatura para ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX) (SIDDIQUI *et al.*, 1988; HUNG & YEN, 2001).

C	DADOS DA LITERATURA *			HF 10**		
	XVII	XVIII	XIX	XVII	XVIII	XIX
1	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
2	27,4	27,2	27,2	27,4	27,4	27,4
3	78,9	79,0	79,0	76,8	76,8	76,8
4	38,8	38,7	38,7	38,7	38,7	38,7
5	55,3	55,2	55,2	54,7	54,7	54,7
6	18,3	18,3	18,3	17,9	17,9	17,9
7	34,3	32,6	32,9	33,3	32,0	32,0
8	40,7	39,2	39,4	40,4	39,5	39,5
9	50,5	47,6	47,5	52,3	47,0	47,0
10	37,2	37,1	37,0	36,4	36,4	36,4
11	20,8	23,4	23,3	-	22,8	22,8
12	25,5	122,6	125,8	25,5	121,4	124,5
13	38,4	143,6	137,9	38,2	143,7	138,1
14	42,4	41,6	42,0	-	41,6	41,6
15	30,5	27,7	28,0	30,2	27,4	27,4
16	32,1	23,4	24,1	32,0	22,8	23,7
17	56,3	46,5	47,9	-	46,7	-
18	46,8	41,0	52,6	47,0	-	52,3
19	49,2	45,8	39,0	-	45,6	38,4
20	150,3	30,7	29,7	-	30,2	-
21	29,7	33,8	30,6	28,9	33,3	30,2
22	37,0	32,4	36,7	36,4	32,0	36,4
23	27,9	28,1	28,1	28,1	28,1	28,1
24	15,3	15,5	15,5	15,1	15,9	15,1
25	16,0	15,3	15,6	15,9	15,1	15,9
26	16,1	17,1	17,0	16,8	16,9	16,8
27	14,7	25,9	23,6	14,7	25,5	23,2
28	180,5	183,5	181,2	178,3	178,3	178,0
29	109,6	33,1	24,1	109,5	-	23,2
30	19,4	23,6	21,2	19,2	23,2	20,9

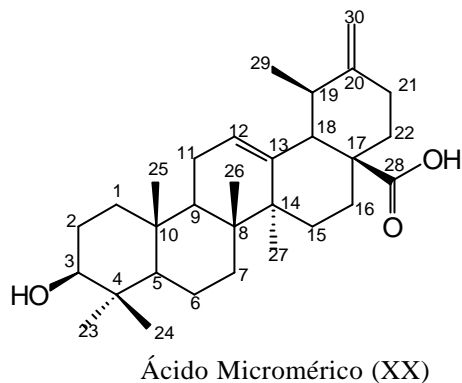
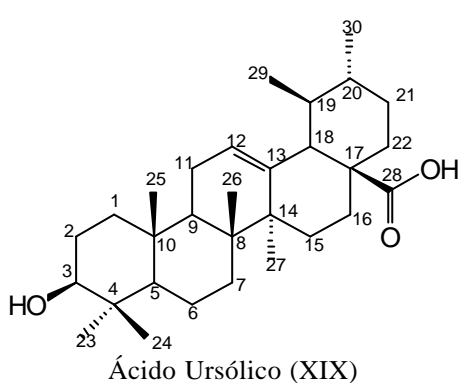
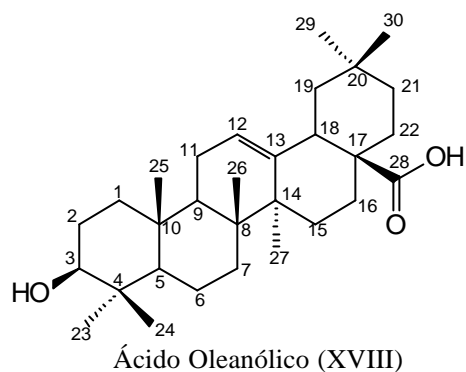
* CDCl_3 ** DMSO-D_6

O espectro de RMN ^{13}C , pela técnica APT (Espectro 25), forneceu a multiplicidade dos sinais referentes aos átomos de carbono que serviu como parâmetro para compará-los, podendo-se dessa forma sugerir a proporção das substâncias na mistura HF 10: Ácido Betulínico (15,2 %), Ácido Oleanólico (33,3 %) e Ácido Ursólico (51,5 %).

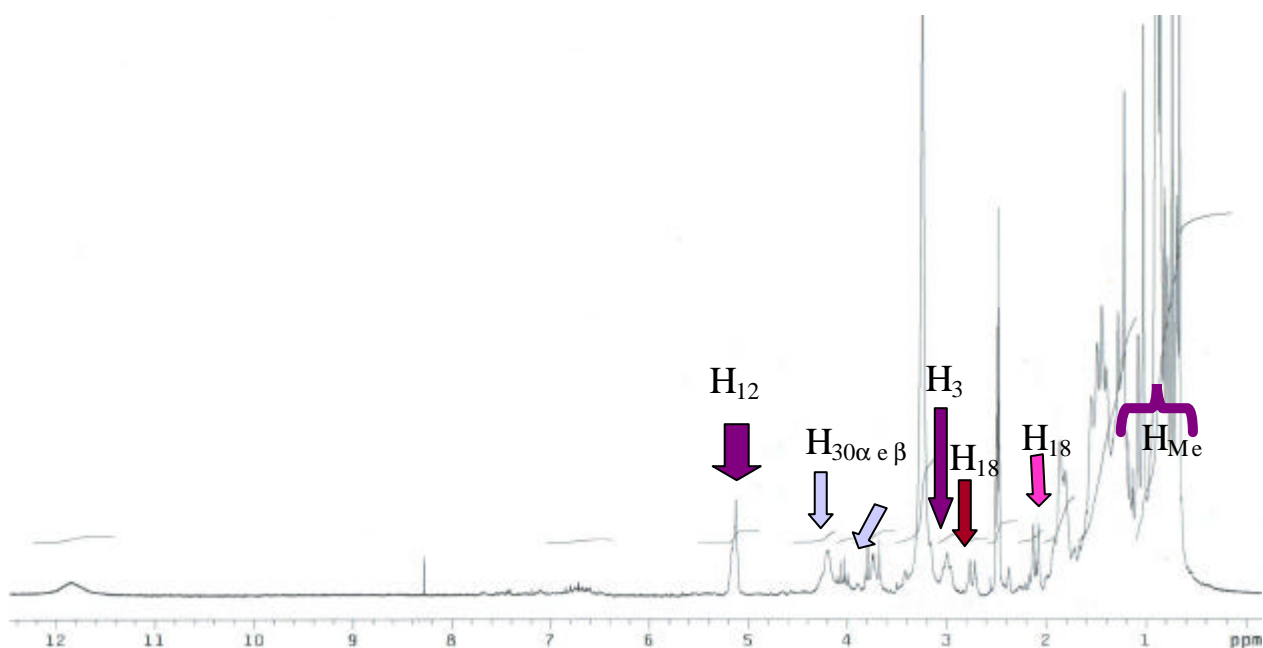


Espectro 25 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 10 em DMSO- D_6 na técnica APT.

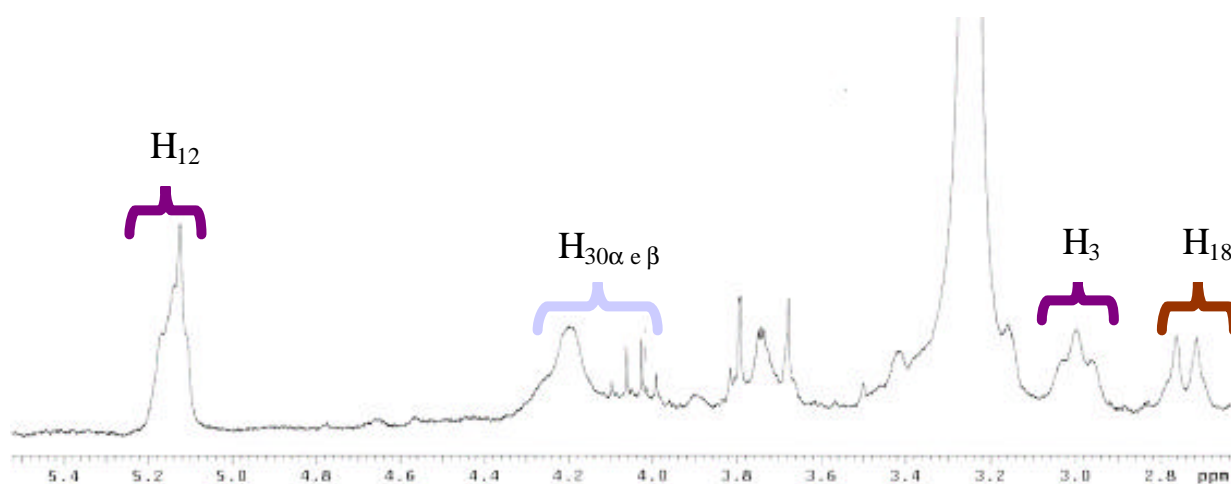
HF 11 Ácido Oleanólico (XVIII), Ácido Ursólico (XIX) e Ácido Micromérico (XX) - As frações 156-176 da coluna cromatográfica da partição em diclorometano, eluídas em acetato de etila puro, foram reunidas e, após a evaporação do solvente, forneceram um material esverdeado, que foi solubilizado em clorofórmio/acetona/metanol a quente e filtrado em presença de carvão ativo. Após o solvente ser totalmente evaporado, foi possível a obtenção de um sólido branco, que foi cromatografado em camada fina, evidenciando, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol, manchas fortes de cor rosa, características de triterpenos. A amostra foi enviada para análise por RMN ^1H e RMN ^{13}C , e os espectros demonstraram tratar-se de uma mistura de triterpenos que guardava muita semelhança com HF 08 e HF 10, sendo neste caso uma mistura de ácido oleanólico (XVIII), ácido ursólico (XIX) e ácido micromérico (XX).



O espectro de RMN ^1H da mistura (Espectro 26) e sua expansão (Espectro 27) apresentam sinais característicos dos três triterpenos: δ (ppm) 5,10 (multipeto) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 12 dos ácidos oleanólico (XVIII), ursólico (XIX) e ácido micromérico (XX); 2,94 (multipeto) pertencente aos hidrogênios carbinólicos da posição 3 dos três triterpenos da mistura; 2,70 (duplo sinal duplo) referente ao hidrogênio da posição 18 do ácido oleanólico (XVIII); 2,10 (sinal largo) pertencente ao hidrogênio da posição 18 do ácido ursólico (XIX); 2,12 (sinal largo) relativo ao hidrogênio da posição 18 do ácido micromérico (XX); 3,98 e 4,14 (dois multipletos) sinais relacionados aos dois hidrogênios da posição 30 do ácido micromérico (XX); além de outros sinais de metila dos três triterpenos.

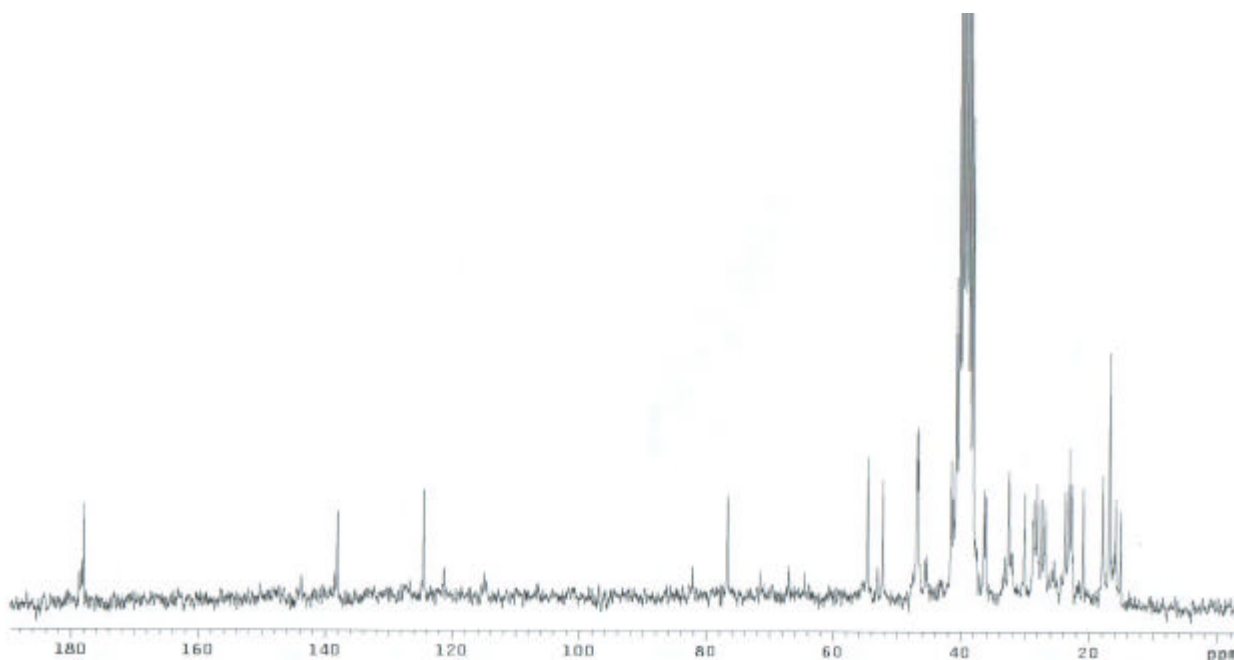


Espectro 26 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6 .



Espectro 27 – Expansão de parte do espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO- D_6 .

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Espectro 28) confirma a presença dos três triterpenos devido aos sinais característicos dessas substâncias, tais como: Ácido Oleanólico (XVIII) = δ (ppm) 178,3 (C_{28}); 143,7 (C_{13}); 121,4 (C_{12}); 77,8 (C_3); Ácido Ursólico (XIX) = δ (ppm) 178,0 (C_{28}); 138,0 (C_{13}); 124,4 (C_{12}); 77,8 (C_3); Ácido Micromérico (XX) = δ (ppm) 178,0 (C_{28}); 153,0 (C_{20}); 138,0 (C_{13}); 124,4 (C_{12}); 104,8 (C_{30}); 76,7 (C_3).



Espectro 28 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO-D_6 .

A comparação dos dados observados no espectro de RMN ^{13}C de HF 11 com sinais dos espectros de RMN ^{13}C , dos três triterpenos ácidos retirados da literatura confirma que a mistura é composta por ácido oleanólico (XVIII), ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001) e ácido micromérico (XX) (MENEZES, 1997), conforme sugerido anteriormente (Tabela XIX).

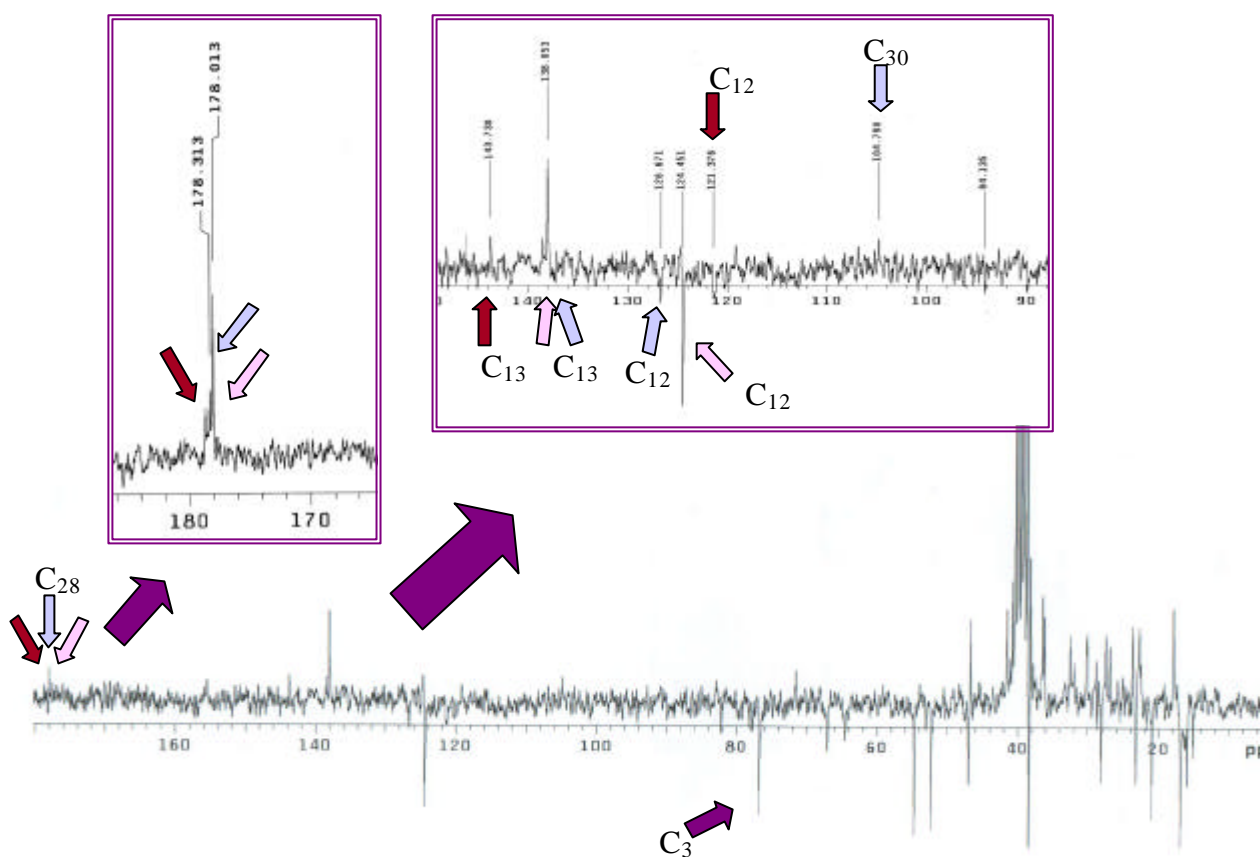
Tabela XIX - Comparação dos dados de RMN ^{13}C obtidos para HF 11 com os dados encontrados na literatura para ácido oleanólico (XVIII), ácido ursólico (XIX) (HUNG & YEN, 2001) e ácido micromérico (XX) (MENEZES, 1997).

C	DADOS DA LITERATURA			HF 11**		
	XVIII *	XIX*	XX**	XVIII	XIX	XX
1	38,7	38,7	42,0	38,7	38,7	41,6
2	27,2	27,2	27,4	27,4	27,4	27,4
3	79,0	79,0	76,8	77,8	77,8	76,7
4	38,7	38,7	38,2	38,7	38,7	38,2
5	55,2	55,2	47,6	54,7	54,7	47,0
6	18,3	18,3	18,0	17,9	17,9	17,9
7	32,6	32,9	32,5	32,6	32,6	32,6
8	39,2	39,4	38,9	39,5	39,5	39,1
9	47,6	47,5	47,4	46,9	47,0	47,0
10	37,1	37,0	38,1	36,4	36,4	38,2
11	23,4	23,3	23,3	22,7	22,7	22,7
12	122,6	125,8	125,1	121,4	124,4	124,4
13	143,6	137,9	137,8	143,7	138,0	138,0
14	41,6	42,0	41,6	40,8	41,6	41,6
15	27,7	28,0	27,9	26,9	27,4	27,4
16	23,4	24,1	24,2	22,7	23,7	23,7
17	46,5	47,9	48,1	46,7	46,7	-
18	41,0	52,6	54,8	-	52,3	54,7
19	45,8	39,0	37,1	46,7	38,4	37,1
20	30,7	29,7	152,8	30,0	29,4	153,0
21	33,8	30,6	32,1	33,3	30,7	32,6
22	32,4	36,7	38,6	32,6	36,4	38,7
23	28,1	28,1	28,4	28,1	28,1	28,1
24	15,5	15,5	21,4	15,9	15,1	20,9
25	15,3	15,6	16,3	15,1	15,9	16,1
26	17,1	17,0	16,6	16,8	16,8	16,8
27	25,9	23,6	23,6	26,0	23,1	23,1
28	183,5	181,2	177,6	178,3	178,0	178,0
29	33,1	24,1	16,0	33,0	-	16,1
30	23,6	21,2	105,0	23,2	20,9	104,8

*CDCl₃** DMSO-D₆

O espectro de RMN ^{13}C , pela técnica APT (Espectro 29), forneceu a multiplicidade dos sinais referentes aos átomos de carbono e, com isso, foi possível sugerir a proporção das substâncias na mistura HF 11: Ácido Ursólico (67,3 %), Ácido Oleanólico (23,1 %) e Ácido Micromérico (9,6 %).

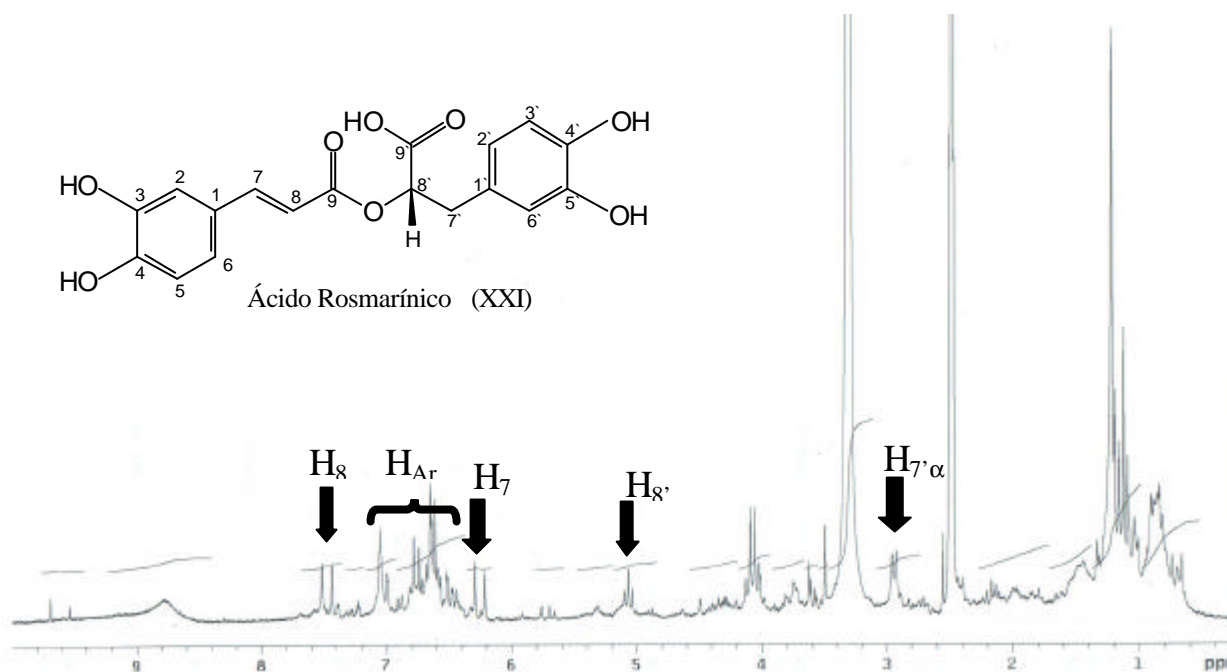
Ao se comparar as porcentagens dos mesmos triterpenos, ácido betulínico (XVII), ácido oleanólico (XVIII) e ácido ursólico (XIX), isolados nas diferentes misturas HF 08, HF 09, HF 10 e HF 11, pode-se verificar a relação entre polaridade e quantidade dos triterpenos ácidos, conforme descrita por MENEZES (1997), ou seja, à medida que aumenta a polaridade do extrato, a concentração de ácido betulínico (XVII) vai diminuindo, enquanto que a de ácido ursólico (XIX) vai aumentando, sendo o ácido oleanólico (XVIII) um intermediário.



Espectro 29 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura de HF 11 em DMSO-D_6 na técnica APT.

Partição em Acetato de Etila do Extrato Etanólico dos Caules de *Hyptis fasciculata*.

HF 12 Ácido Rosmarínico (XXI) - O extrato bruto dos caules em acetato de etila foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, acetato de etila e metanol. As frações 96-99 da coluna cromatográfica da partição em acetato de etila, eluídas em acetato de etila/metanol 10%, foram reunidas, de acordo com a semelhança cromatográfica, em camada fina. Essa junção foi codificada como HF 12 e analisada por RMN ^1H . O espectro de RMN ^1H (Espectro 30) evidencia a presença de sinais em δ (ppm) 2,92 (*dd*, J 7,8; 14,2 Hz) relativo a um dos hidrogênios da posição 7'; 5,00 (multiplete) referente ao hidrogênio da posição 8'; chama atenção a presença de dois sinais com constante de acoplamento de 15,8 Hz em δ (ppm) 6,20 e 7,42 característicos de hidrogênios *trans* ligados a carbonos de ligação dupla. Pode-se observar ainda a presença de dois conjuntos de sinais referentes a hidrogênios de sistemas aromáticos.



Espectro 30 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 12 em DMSO-D_6 .

A presença de sinais de hidrogênios de ligação dupla *trans* juntamente com dois conjuntos de sinais característicos de sistemas aromáticos sugere que a substância em questão possui dois grupos aromáticos semelhantes separados por uma ligação dupla. Voltando à literatura pesquisada para espécies do gênero *Hyptis*, pode-se observar o isolamento e caracterização de um derivado do ácido caféico (IX) em algumas dessas espécies, o ácido rosmarínico (XXI). Os dados obtidos no espectro de RMN ^1H foram então comparados com dados da literatura referentes a este derivado (KHUNT, RIMPLER & HEIRINCH, 1994) e pode-se propor a identidade da amostra HF 12 como sendo o Ácido Rosmarínico (XXI) (Tabela XX).

Tabela XX - Comparação dos dados de RMN ^1H obtidos para HF 12 com os dados encontrados na literatura para ácido rosmarínico (XXI) (KHUNT, RIMPLER & HEIRINCH, 1994).

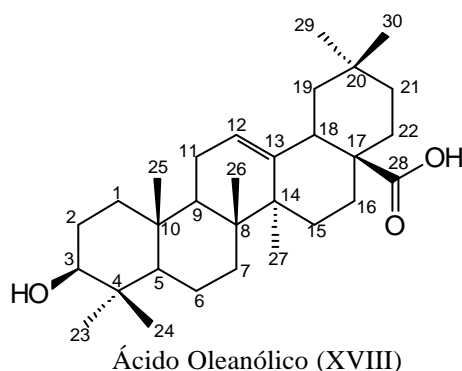
H	DADOS DA LITERATURA*	HF 12**
1	-	-
2	7,03	7,04
3	-	-
4	-	-
5	6,76	6,74
6	6,92	6,86
7	6,25	6,20
8	7,50	7,42
9	-	-
1'	-	-
2'	6,77	6,71
3'	-	-
4'	-	-
5'	6,67	6,64
6'	6,62	6,62
7' a	3,10	-
7'b	2,93	2,92
8'	5,09	5,00
9'	-	-

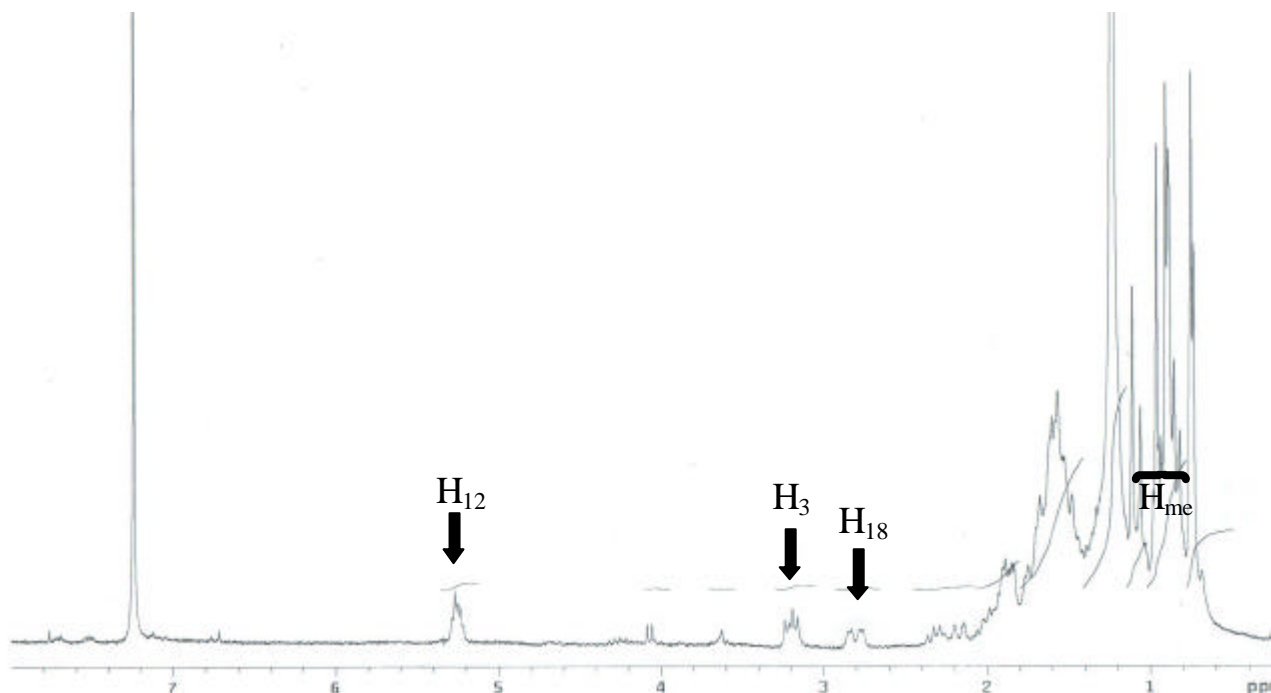
*CD₃OD**DMSO-D₆

Parte II – Folhas e Inflorescências de *Hyptis fasciculata*.

Partição em Hexano do Extrato Etanólico das Folhas e Inflorescências de *Hyptis fasciculata*.

HF 13 Ácido Oleanólico (XVIII) - O extrato bruto das folhas e inflorescências em hexano foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, acetato de etila e metanol. Uma pequena parte da fração 21 da coluna cromatográfica da partição em hexano, eluída em hexano/acetato de etila 20%, foi separada e filtrada usando-se acetato de etila como solvente. Após a evaporação do solvente, obteve-se 7 mg de um pó branco que, ao ser cromatografado em camada fina, evidenciou uma única mancha grande, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol, de cor forte, característica de triterpeno, indicando tratar-se de uma substância isolada. A amostra foi então chamada de HF 13 e analisada por RMN ^1H . O espectro de RMN ^1H (Espectro 31) evidenciou sinais semelhantes aos já encontrados em HF 08, HF 09, HF 10 e HF 11, indicando ser um triterpeno já identificado nas partições do extrato etanólico dos caules de *Hyptis fasciculata*, tais como: δ (ppm) 5,21 (multiplete) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 12; 3,14 (duplo sinal duplo) pertencente ao hidrogênio carbinólico da posição 3; além de outros 7 sinais de metila entre δ (ppm) 0,72-0,98. No entanto, a identidade da substância pode ser sugerida graças ao duplo sinal duplo em δ (ppm) 2,72, característico do hidrogênio da posição 18 do ácido oleanólico (XVIII).

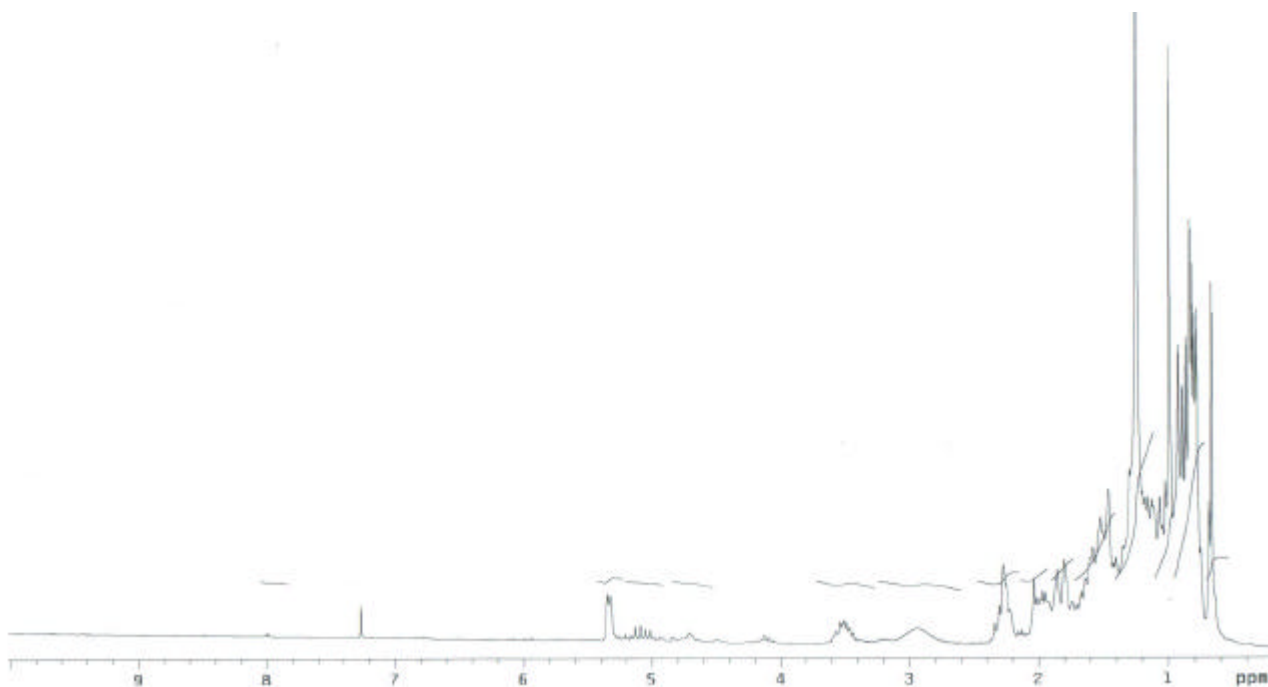
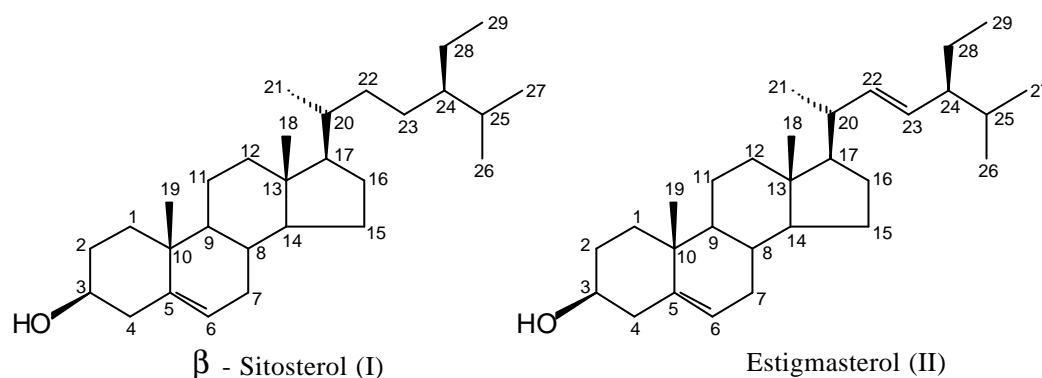




Espectro 31 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 13 em CDCl_3 .

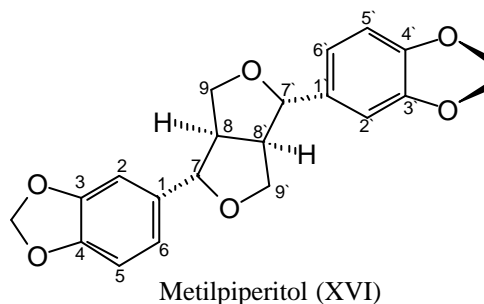
HF 14 Sitosterol (I) e Estigmasterol (II) – As frações 8-12 da coluna cromatográfica da partição hexânica das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata*, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas por semelhança cromatográfica e recromatografadas. As frações 91-100 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 20% na forma de uma mancha preta, foram também reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. Dessa terceira coluna cromatográfica, reuniram-se as frações 20-24, eluídas em hexano/acetato de etila 30%, que foram mais uma vez cromatografadas em coluna de gel de sílica, de onde foi finalmente retirada a junção das frações 7-11, eluídas em hexano/acetato de etila 30%. Essa junção, codificada como HF 14, foi cromatografada em camada fina e, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol, apresentou uma mancha grande vermelho-amarronzada, possivelmente indicativa da presença de uma ou mais substâncias esteroídicas, devido à grande semelhança com a mancha obtida na cromatografia em camada fina de HF 01. A amostra HF 14 foi então analisada por RMN ^1H e confirmou a semelhança com HF 01 pela presença de sinais idênticos, sendo identificada como uma mistura de sitosterol (I) e estigmasterol (II).

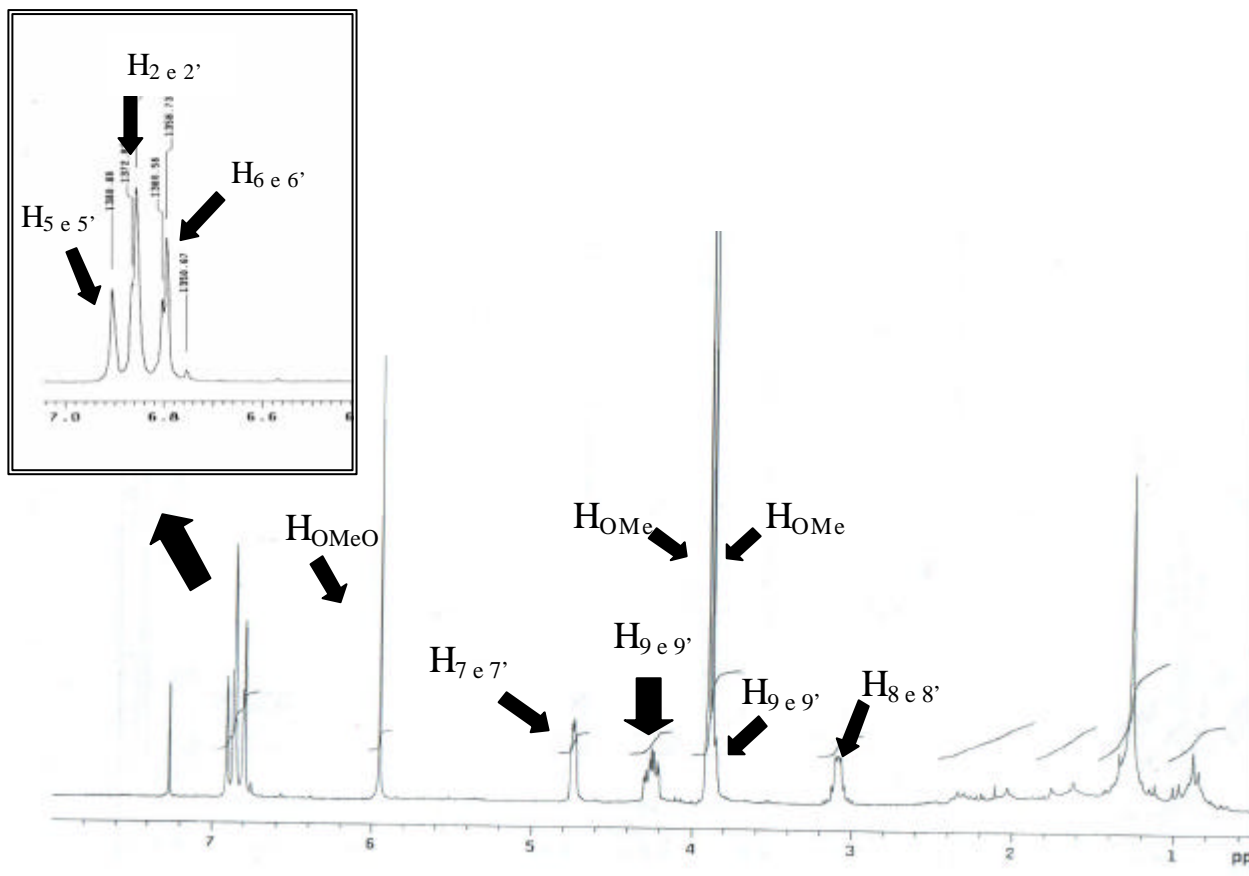
O espectro em RMN ^1H (Espectro 32) da mistura dessas duas substâncias apresenta sinais peculiares: δ (ppm) 3,40 (multiplete) referente aos hidrogênios da posição 3 e 5,30 (dubleto) referente aos hidrogênios ligados ao átomo de carbono 6, ambos os sinais do sitosterol (I) e estigmasterol (II); 4,97 (multiplete) relativo ao hidrogênio da posição 23 e 5,10 (multiplete) referente ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 22, ambos os sinais característicos da ligação dupla do estigmasterol (II), além de outros sinais de metila dos dois esteróides apresentados na forma de um envelope de sinais entre δ (ppm) 0,66-1,00.



Espectro 32 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) da mistura de HF 14 em CDCl_3 .

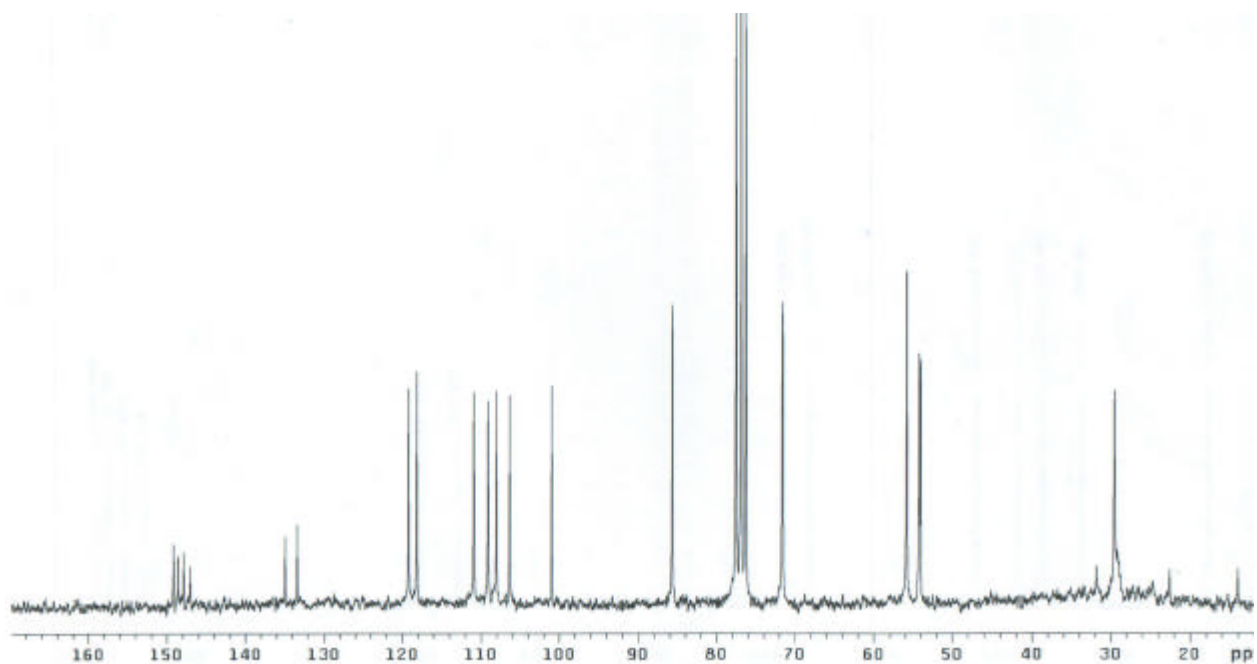
HF 15 Metilpiperitol (XVI) - As frações 21-22 da coluna da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*, eluídas em hexano/acetato de etila 30%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. As frações 45-54 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 50%, foram reunidas por semelhança cromatográfica. Após a evaporação total do solvente, a junção, codificada como HF 15, se apresentou na forma de cristais esverdeados e foi solubilizada em clorofórmio, aquecida e filtrada na presença de carvão ativo. A cromatografia em camada fina de HF 15 evidenciou uma única mancha marrom forte, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol, semelhante à obtida no caso do metilpiperitol (XVI) em HF 07. O espectro de RMN ^1H (Espectro 33) corroborou a hipótese de que HF 15 seja a mesma lignana isolada em HF 07, pela presença de conjunto de sinais na região de aromático com acoplamentos do tipo *m*, *o-m* e *o*, sendo δ (ppm) 6,85 (*d*, *J* 1,8 Hz), 6,78 (*dd*, *J* 1,8; 8,0 Hz), e 6,90 (*d*, *J* 8,0 Hz) respectivamente. Nos três casos, a integração dos sinais indica a presença de dois hidrogênios para cada grupo de sinais, evidenciando a presença de dois anéis aromáticos substituídos nas mesmas posições. No entanto, os sinais em δ (ppm) 5,95 (singleto), referente aos hidrogênios metilênicos do anel dioxano, e 3,84 e 3,86 (dois singletos), relativos aos hidrogênios das metilas ligadas a átomos de oxigênio, indicam que os substituintes dos anéis aromáticos são diferentes. Outro sinal característico dessa substância aparece em δ (ppm) 3,82 (duplo sinal duplo) dos hidrogênios nas posições 9 e 9', que é praticamente coberto pelos sinais das metilas ligadas ao anel.



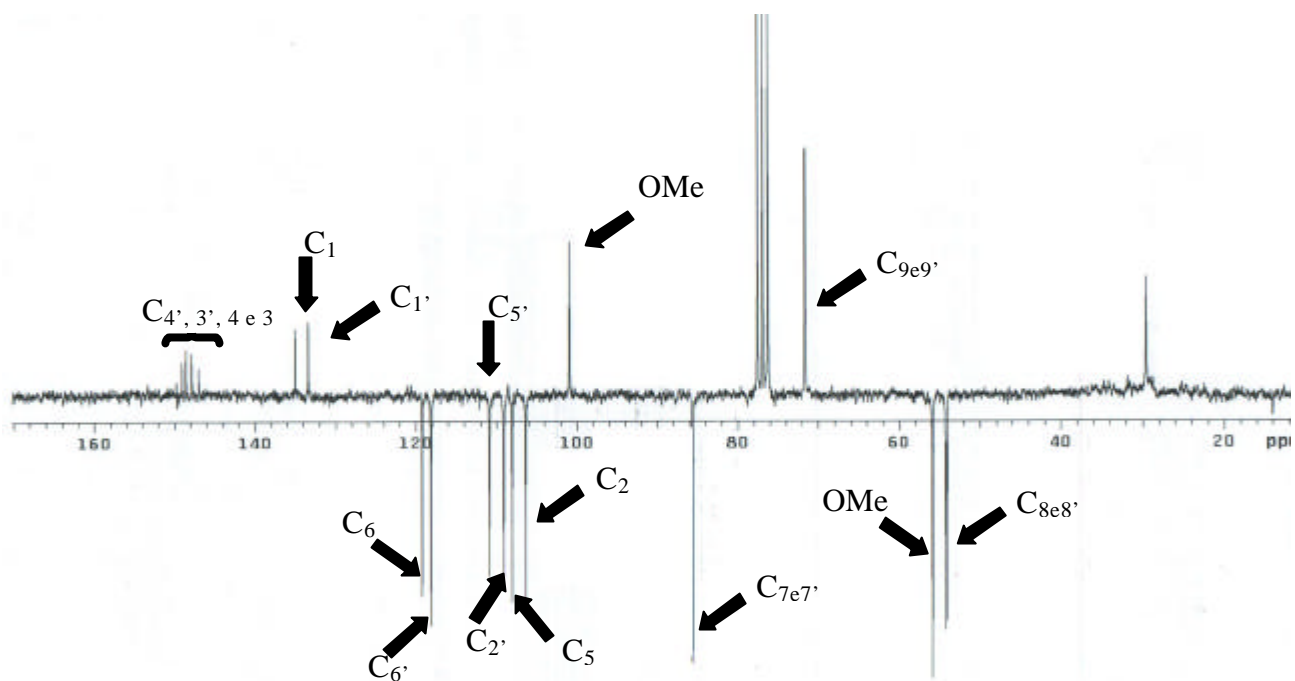


Espectro 33 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HF 15 em CDCl_3 .

A identidade da substância isolada em HF 15 pode ser confirmada pelos sinais obtidos nos espectros de RMN ^{13}C (Espectro 34) e RMN ^{13}C na técnica de APT (Espectro 35), após serem comparados com os dados da literatura para o metilpiperitol (XVI) (GREGER & HOFER, 1980; LEITÃO, 1992), conforme descrito na Tabela XXI, na qual se pode encontrar também a comparação entre os dados de RMN ^1H .

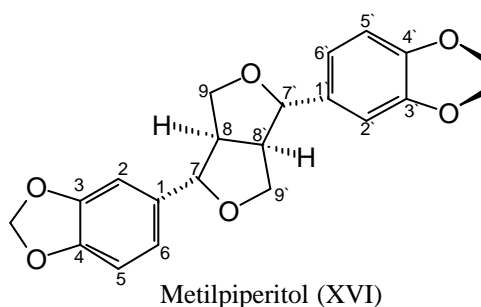


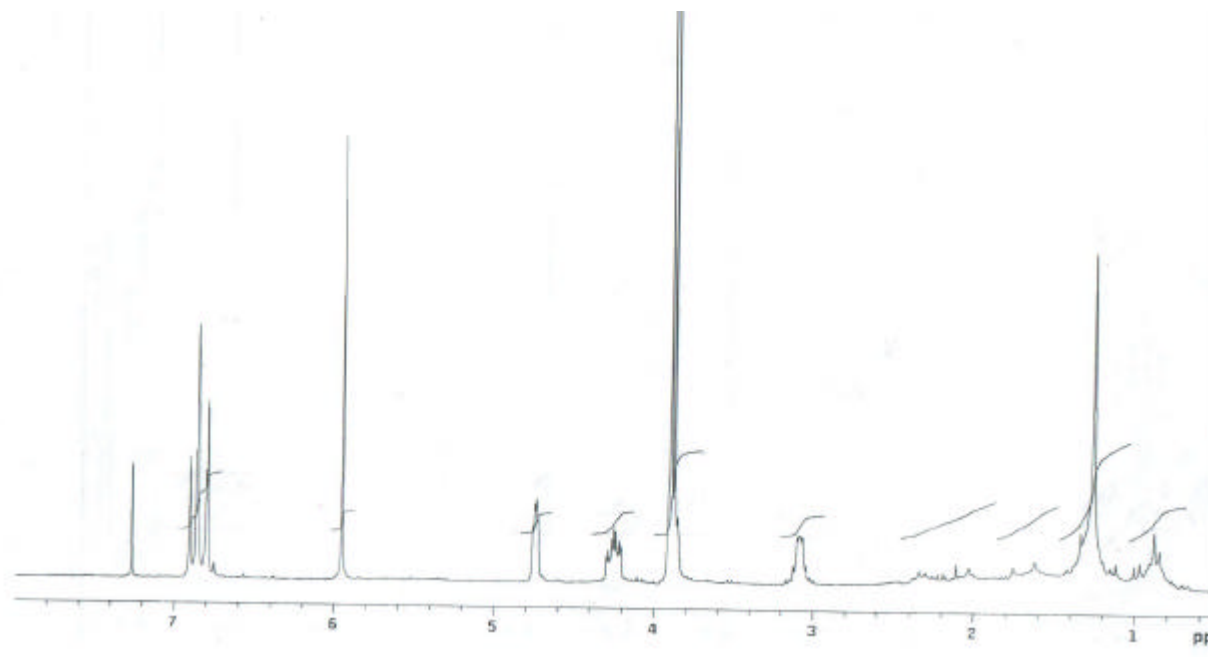
Espectro 34 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 15 em CDCl_3 .



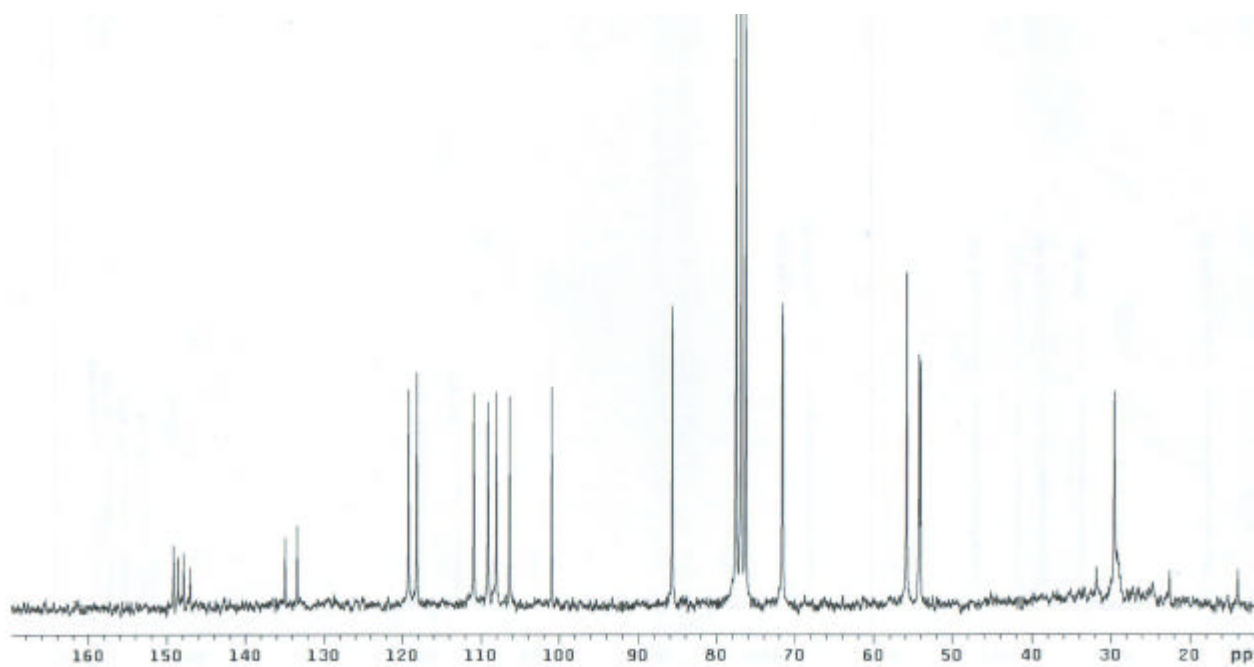
Espectro 35 – Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) de HF 15 em CDCl_3 na técnica de APT.

HF 16 Metilpiperitol (XVI) - As frações 15-20 da coluna da partição em hexano do extrato etanólico das folhas e inflorescências da *Hyptis fasciculata*, eluídas em hexano/acetato de etila 10%, foram reunidas e recromatografadas em coluna de gel de sílica. A junção das frações 71-79 dessa segunda coluna, eluídas em hexano/acetato de etila 40%, foram recromatografadas. As frações 33-37, eluídas em hexano/acetato de etila 50%, foram reunidas por semelhança cromatográfica. Após a evaporação total do solvente, a junção se apresentou na forma de cristais amarelados e foi denominada de HF 16. A cromatografia em camada fina de HF 16 evidenciou uma mancha marrom semelhante à obtida no caso do metilpiperitol (XVI) em HF 07 e em HF 15, após revelação com ácido sulfúrico 5% em etanol. Nesse caso, no entanto, a substância de interesse se apresentava impura. O espectro de RMN ^1H realizado para HF 16 confirmou tratar-se de uma mistura de lignana com ácidos graxos. HF 16 foi então novamente cromatografada em microcoluna de gel de sílica eluída em hexano e metanol. Ambas as frações foram cromatografadas em camada fina, e pôde-se observar que a lignana havia sido eluída em metanol. Essa fração, ainda chamada HF 16, foi novamente analisada por RMN ^1H (Espectro 36) e RMN ^{13}C (Espectro 37), quando foi possível verificar sinais semelhantes aos de HF 15, comprovando que se tratava novamente do metilpiperitol (XVI). A Tabela XXI mostra a comparação entre os dados obtidos em ambos os espectros para HF 16 com os encontrados na literatura (GREGER & HOFER, 1980; LEITÃO, 1992) e evidencia a semelhança com a substância isolada em HF 15, comprovando assim tratar-se da mesma substância.





Espectro 36 - Espectro de RMN ¹H (200 MHz) de HF 16 em CDCl₃.



Espectro 37 – Espectro de RMN ¹³C (50 MHz) de HF 16 em CDCl₃.

Tabela XXI - Comparação dos dados de RMN ^1H (GREGER & HOFER, 1980) e RMN ^{13}C (LEITÃO, 1992) encontrados na literatura para metilpiperitol (XVI) com os obtidos para HF 15 e HF 16.

DADOS DA LITERATURA*			HF 15*		HF 16*	
C	RMN ^1H	RMN ^{13}C	RMN ^1H	RMN ^{13}C	RMN ^1H	RMN ^{13}C
1	-	135,1	-	134,9	-	134,9
2	6,80-6,94	106,5	6,85	106,3	6,85	106,3
3	-	147,1	-	146,9	-	146,9
4	-	147,9	-	147,8	-	147,8
5	6,80-6,94	108,1	6,90	108,0	6,90	108,0
6	6,80-6,94	119,3	6,78	119,2	6,78	119,2
7	4,75	85,7	4,70	85,6	4,72	85,6
8	3,08	54,3	3,04	54,1	3,04	54,2
9	3,90 e 4,26	71,7	3,82 e 4,20	71,6	3,85 e 4,20	71,6
1'	-	133,6	-	133,3	-	133,3
2'	6,80-6,94	109,4	6,85	109,0	6,85	109,1
3'	-	148,7	-	148,5	-	148,5
4'	-	149,2	-	149,0	-	149,1
5'	6,80-6,94	111,2	6,90	110,8	6,90	110,9
6'	6,80-6,94	118,3	6,78	118,1	6,78	118,1
7'	4,75	85,8	4,70	85,7	4,72	85,7
8'	3,08	54,1	3,04	54,0	3,04	54,0
9'	3,90 e 4,26	71,7	3,82 e 4,20	71,5	3,85 e 4,20	71,5
OMeO	5,95	101,0	5,95	100,9	5,95	100,9
OMe	3,90	55,9	3,84	55,8	3,87	55,8
OMe	3,92	55,9	3,86	55,8	3,89	55,8

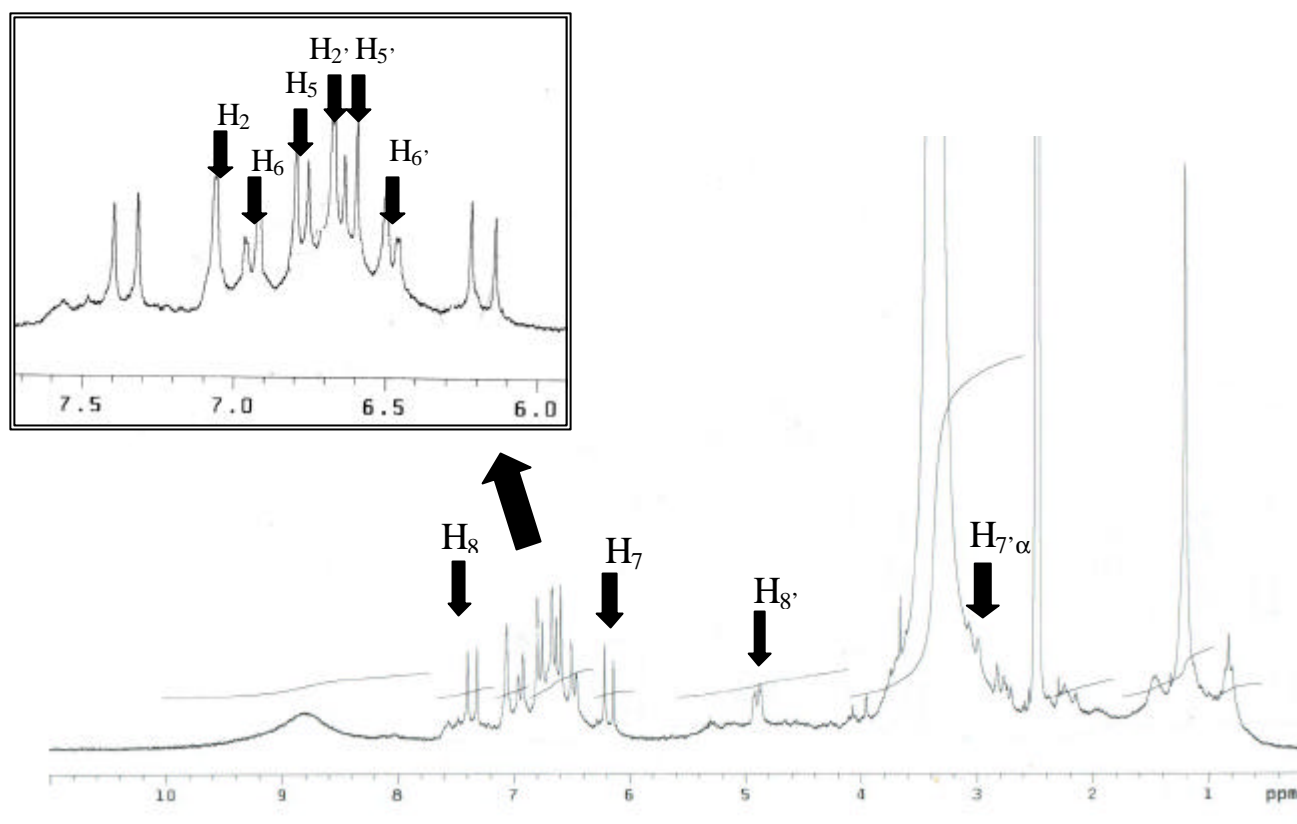
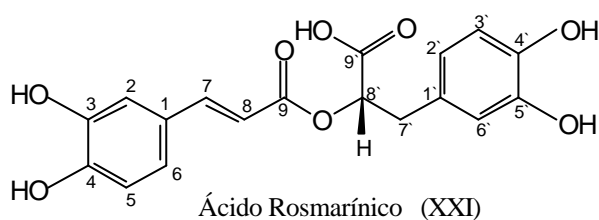
*CDCl₃

Parte III – Partes Aéreas de *Hyptis tetracephala*.

Partição em Diclorometano/Acetato de Etila (1:1) do Extrato Etanólico das Partes Aéreas de *Hyptis tetracephala*.

HT 01 Ácido Rosmarínico (XXI) – As partições em diclorometano e em acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas de *Hyptis tetracephala* foram reunidas e fracionadas por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, clorofórmio, acetona e metanol. As frações 55-57 da coluna cromatográfica da partição em diclorometano/acetato de etila, eluídas em clorofórmio/metanol 50%, foram reunidas e cromatografadas em camada fina, evidenciando uma mancha semelhante à encontrada no caso do HF 12. A amostra, codificada como HT 01, foi então analisada por RMN ^1H

(Espectro 38) e, mais uma vez, apresentou semelhança com os sinais obtidos para HF 12, tais como: δ (ppm) 3,0 (duplo sinal) referente ao hidrogênio da posição 7' α ; 5,04 (duplo sinal duplo) relativo ao hidrogênio 8'; 6,25 e 7,30 (dois sinais duplos) pertencentes aos hidrogênios ligados aos átomos de carbonos da ligação dupla (7 e 8), apresentando constante de acoplamento igual a 15,8 Hz, característico de ligação *trans*; além dos sinais em δ (ppm) 6,45, 6,60, 6,65, 6,75, 6,90 e 7,05, dos dois conjuntos de sinais referentes a hidrogênios de sistemas aromáticos. Com base nos dados analisados, pode-se sugerir a identidade de HT 01 como sendo o ácido rosmarínico (XXI).

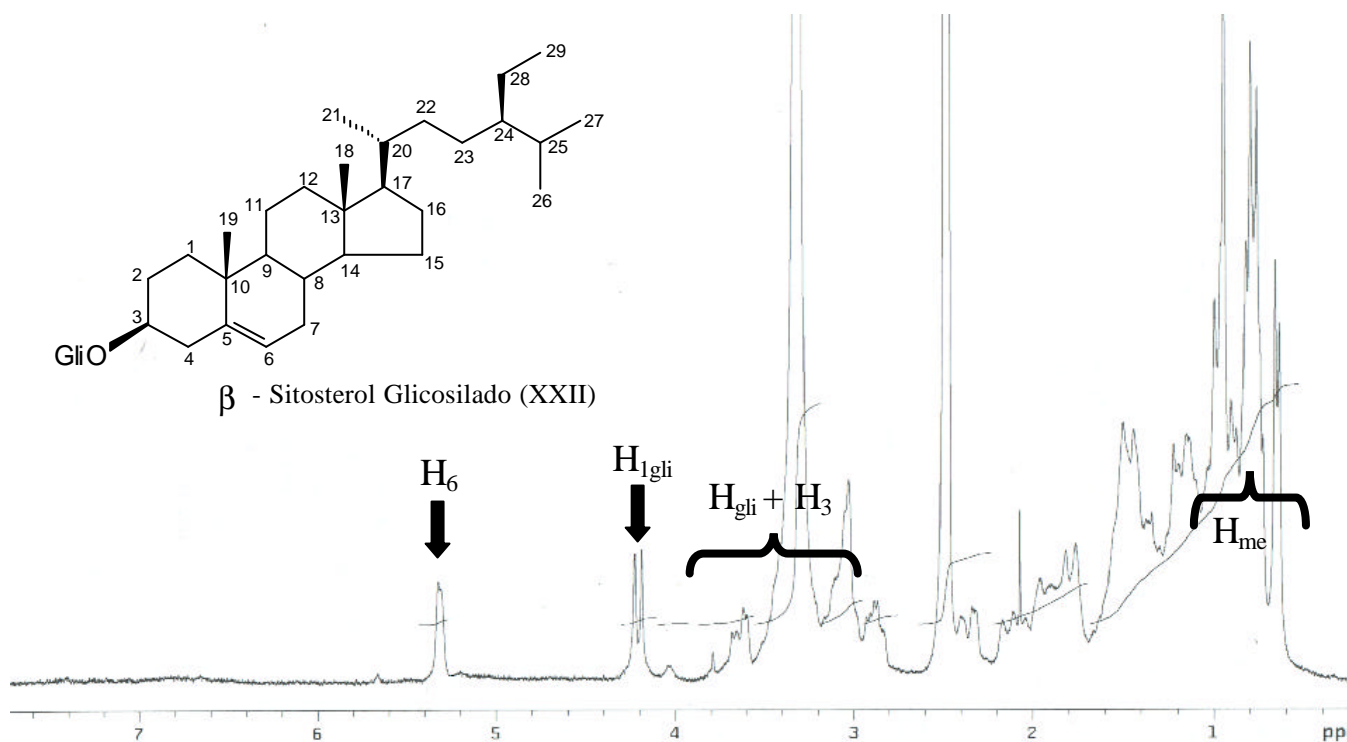


Espectro 38 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HT 01 em DMSO- D_6 .

Parte IV – Partes Aéreas de *Hyptis heterodon*.

Partição em Diclorometano/Metanol (1:1) do Extrato Etanólico das Partes Aéreas de *Hyptis heterodon*.

HH 01 β -sitosterol glicosilado (XXII) - O extrato bruto em diclorometano/metanol das partes aéreas de *Hyptis heterodon* foi fracionado por cromatografia de adsorção em coluna, utilizando-se gel de sílica Merck 60. A eluição constou de misturas de polaridades crescentes de hexano, clorofórmio, acetona e metanol. A fração 36 da coluna cromatográfica, eluída em hexano (37,5%)/clorofórmio (37,5%)/acetona (25%), deu origem a um sólido impuro, codificado como HH 01. HH 01 foi filtrado com metanol/clorofórmio (1:1) para limpar a amostra. Esse processo rendeu 12,3 mg de um material branco puro, identificado segundo análise por RMN ^1H como sendo um esteróide glicosilado, o β -sitosterol glicosilado (XXII). O espectro de RMN ^1H (Espectro 39) apresenta sinais característicos como: δ (ppm) 5,30 referente ao hidrogênio da posição 6; 3,00 – 4,00 envelope de sinais de hidrogênios da glicose + hidrogênio carbinólico do sitosterol; 4,20 relativo ao hidrogênio anomérico da glicose (H_1); além do envelope de sinais das 6 metilas entre δ (ppm) 0,68 – 1,10.



Espectro 39 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz) de HH 01 em CDCl_3 .

II. Ensaios Farmacológicos

As espécies do gênero *Hyptis* são conhecidas por seu uso popular em diversos países no tratamento de uma gama enorme de patologias, além de suas propriedades farmacológicas comprovadas cientificamente, principalmente quanto à atividade antimicrobiana, antimicótica, antiinflamatória e citotóxica.

No intuito de avaliar as possíveis atividades farmacológicas das quatro espécies de *Hyptis*, até então inéditas sob o ponto de vista farmacológico e químico, foram realizados ensaios de atividade antimicrobiana, antiinflamatória, antinociceptiva, antioxidante pelo método do DPPH (2,2-difenil-picrilidrazina) e moluscicida com as partições de polaridades diferentes dos extratos etanólicos das espécies.

Atividade Antimicrobiana:

Estudos prévios realizados utilizando as espécies de *Hyptis*, relacionados ao seu potencial antimicrobiano, incentivaram investigações semelhantes com as espécies *H. fasciculata*, *H. tetracephala*, *H. heterodon* e *H. elegans*.

Todas as partições foram preparadas conforme descrito anteriormente (parte experimental, p. 66) e testadas na concentração de 1mg, em duplicata, frente a cada um dos seguintes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (I), *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (II), *Streptococcus pyogenes* 75194 CDC (Centers for Disease Control and Prevention) #55-91 (III), *Streptococcus pyogenes* isolado de infecção de faringe (IV), *Escherichia coli* ATCC 25922 (V), *Escherichia coli* entero-hemorrágica (EHEC) (VI), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15422 (VII) e *Pseudomonas aeruginosa* oriunda de catéter (VIII).

Algumas espécies apresentaram efeito microbicida frente a cepas Gram-positivas, no entanto, nenhuma das espécies de *Hyptis* testadas apresentaram atividade frente a cepas Gram-negativas. Vale a pena ressaltar as atividades frente à cepa de *S. aureus* resistente à

meticilina (MRSA) da partição em acetato de etila das folhas e inflorescências de *H. fasciculata* e do extrato bruto em metanol/clorofórmio de *H. heterodon*, devido ao alto grau de patogenicidade e resistência dessa cepa. MRSA é comumente encontrado em hospitais, sendo o principal reponsável em casos de infecção hospitalar (KANTZANO *et al.*, 1999). Dessa forma, ainda que tenham apresentado um pequeno halo de inibição, esses resultados indicam o possível desenvolvimento de um agente terapêutico contra MRSA com base em uma dessas plantas. No intuito de se ter uma melhor resposta para a atividade do extrato bruto em metanol/clorofórmio frente à cepa de MRSA, o ensaio foi repetido, usando-se a mesma metodologia, mas com o dobro de concentração do extrato (2,0 mg). Nesse caso, obteve-se resultado semelhante ao anterior, comprovando a eficácia do extrato, embora seja clara a necessidade de estudos mais aprofundados. Os resultados para as partições e extratos testados, que apresentaram alguma atividade, estão descritos na tabela abaixo (Tabela XXII).

Tabela XXII - Resultados da atividade antimicrobiana de partições e extratos de *H. fasciculata*, *H. tetraphala* e *H. heterodon* frente a cepas de *S. aureus* ATCC 25923 (I), *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (II), *S. pyogenes* 75194 CDC #55-91 (III), *S. pyogenes* isolado de infecção de faringe (IV), *E. coli* ATCC 25922 (V), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) (VI), *P. aeruginosa* ATCC 15422 (VII) e *P. aeruginosa* oriunda de catéter (VIII).

		Halo de inibição (mm) em duplicata							
Planta	Extrato ou Partição	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
<i>H. fasciculata</i> (Folhas e inflor.).	Acetato de etila	12 / 12	9 / 11	14 / 18	10 / 16	-	-	-	-
<i>H. tetraphala</i> (Partes aéreas).	Diclorometano	-		11 / 11	15 / 15	-	-	-	-
<i>H. tetraphala</i> (Partes aéreas).	Acetato de etila	-	-	11 / 12	10 / 12	-	-	-	-
<i>H. heterodon</i> (Partes aéreas) (1,0 mg)	Metanol/ Clorofórmio	-	PH*/11	10 / 10	11 / 11	-	-	-	-
<i>H. heterodon</i> (Partes aéreas) (2,0 mg)	Metanol/ Clorofórmio	-	10 / 11	-	-	-	-	-	-

*PH = Pseudo-halo.

Atividade Antinociceptiva:

No intuito de avaliar possíveis efeitos antinociceptivos do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *H. fasciculata*, foram realizados dois ensaios diferentes. Em ambos os casos, administrou-se via oral doses equivalentes a 50 e 100 mg/Kg de cada uma das partições em hexano (HFFH), diclorometano (HFFD), acetato de etila (HFFA) e *n*-butanol (HFFB).

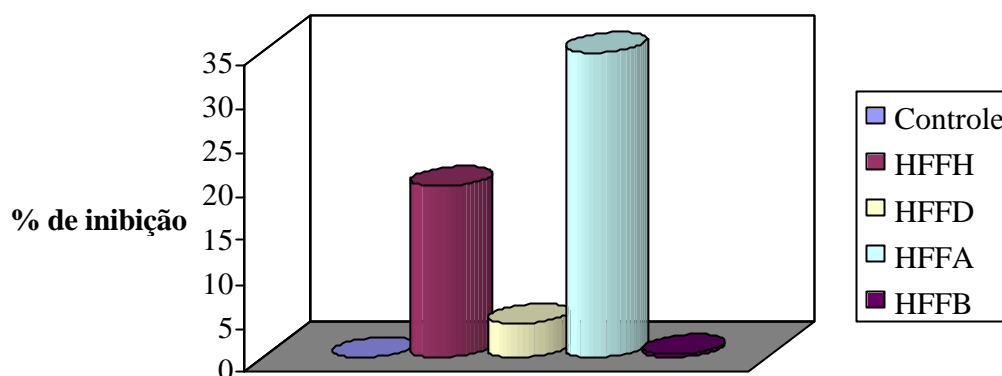
A atividade analgésica periférica das partições de *H. fasciculata* foi testada pela metodologia das contorções dolorosas induzidas pelo ácido acético, obtendo-se o percentual de inibição em torno de 20% para quase todas as partições, quando comparadas com o grupo controle. A partição em acetato de etila (HFFA) mostrou um percentual de redução maior com a dose de 50 mg/kg, 45%, e foi a partição que apresentou maior atividade com a dose de 100 mg/kg, 34,8%. Esse dado poderia ser explicado pelo fato de que em uma concentração maior a solução preparada ficou mais viscosa, o que pode ter prejudicado a absorção completa no aparelho gastrointestinal. A partição em *n*-butanol (HFFB) foi a que obteve a menor redução, com a dose de 100 mg/kg, apresentando um percentual de inibição próximo ao do grupo controle (Tabela XXIII e Gráfico I).

Tabela XXIII - Efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* nas contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Partição	Dose (mg/kg)	Número de contorções	% de inibição
Controle	---	76.7±3.9	---
HFFH	100	61.7±5.1*	19,5
HFFD	100	73.8±4.6	3,8
HFFA	100	50±10.7*	34,8
HFFB	100	76.5±8.2	0,3

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão (n=10). *p<0.05 (teste T de Student).

Gráfico I: Resultado do efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* em % de inibição das contorções abdominais induzidas por ácido acético.



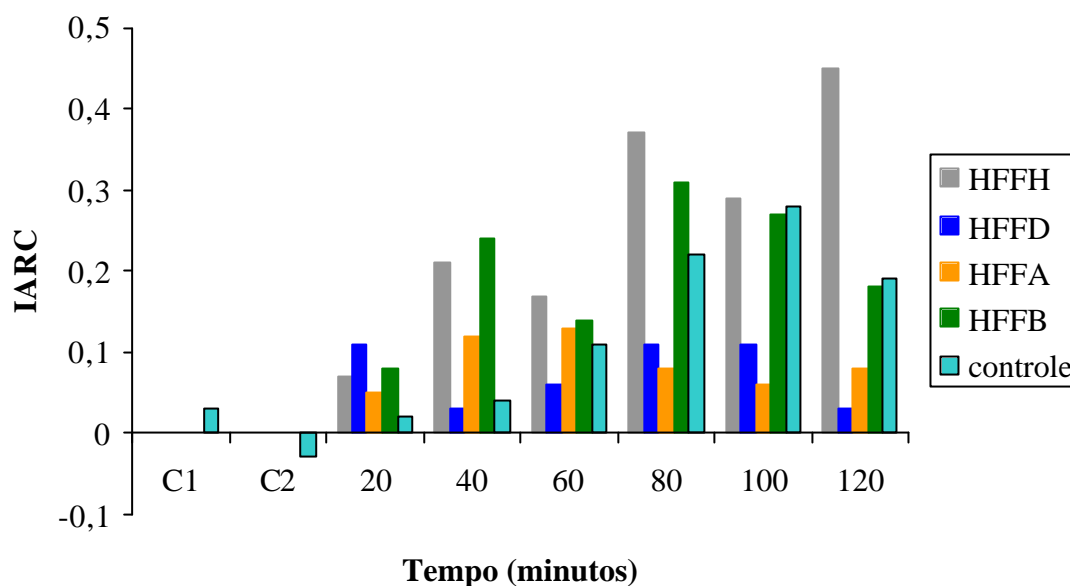
Para avaliar se o efeito antinociceptivo periférico observado ocorre também em um modelo de analgesia central espinhal, foram testadas as partições, na dose de 100 mg/kg, no modelo de retirada da cauda. Como pode ser observado na tabela XXIV, as partições HFFB e HFFH foram as que registraram os maiores índices de antinocicepção da retirada da cauda (IARC), com níveis máximos nos tempos entre 80 e 120 minutos após a administração oral (Gráfico II). Já as partições HFFA e HFFD mostraram valores de IARC bem menores e, quando comparados com a curva do grupo controle, não revelaram diferença significativa.

Tabela XXIV - Efeito das partições de *Hyptis fasciculata* nos índices de antinocicepção da retirada da cauda (IARC) após a administração via oral na dose de 1,0 mg/kg. Grupo controle tratado com Morfina, via oral, 1 mg/kg.

Tempo após a administração dos extratos (minutos)	IARC				
	Controle	HFFH	HFFD	HFFA	HFFB
C1	0,03	-	-	-	-
C2	-0,03	-	-	-	-
20	0,02	0,07	0,11	0,05	0,08
40	0,04	0,21	0,03	0,12	0,24 *
60	0,11	0,17	0,06	0,13	0,14
80	0,22	0,37 *	0,11	0,08	0,31 *
100	0,28	0,29 *	0,11	0,06	0,27 *
120	0,19	0,45 *	0,03	0,08	0,18

Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão (n=10). *p<0.05 (teste T de Student).

Gráfico II: Resultado do efeito das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* nos índices de antinocicepção da retirada da cauda (IARC). Controle feito com Morfina.



Atividade Antiinflamatória:

Para análise da possível atividade antiinflamatória das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *H. fasciculata*, foi usado o modelo da formalina, nas mesmas condições descritas nos testes de atividade antinociceptiva. Esse modelo é caracterizado por possuir duas fases distintas. Uma primeira decorrente de estímulo direto dos nociceptores localizados na pata do animal, com duração aproximada de 5 minutos. Uma segunda fase devida à liberação de mediadores algésicos e inflamatórios endógenos, com duração aproximada de 15 minutos.

Observou-se que nenhuma das partições foi capaz de reduzir significativamente a primeira fase da resposta, indicando que provavelmente não estão agindo diretamente nos nociceptores localizados na pata do animal. Quando os efeitos das partições na segunda fase da reação à formalina foram avaliados, observou-se que a partição HFFA foi capaz de reduzir significativamente, alcançando níveis de inibição superiores a 50%. HFFH reduziu em torno de 50% a segunda fase, enquanto as partições em diclorometano e em *n*-butanol (HFFD e HFFB, respectivamente) não mostraram atividade significativa (Tabela XXV e Gráfico III).

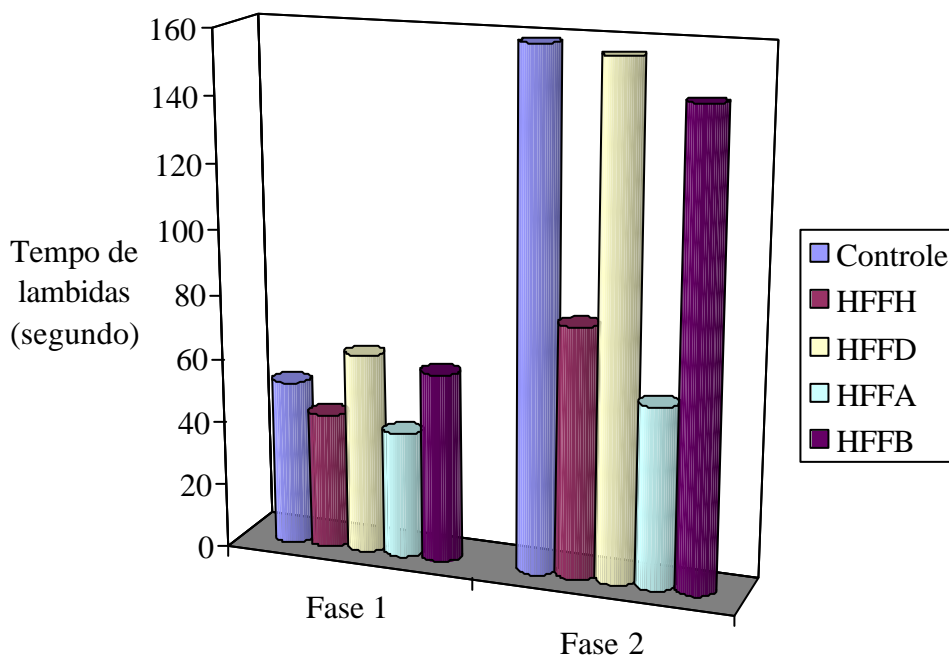
Tabela XXV - Efeito das partições de *Hyptis fasciculata* (na dose de 100 mg/kg), no modelo da formalina.

	Tempo de Lambida (segundos)/Extratos				
Fase	Controle	HFFH	HFFD	HFFA	HFFB
1a	51,3 ± 8,1	42,3 ± 12,3	62,3 ± 9,4	39,1 ± 4,8	58,9 ± 6,9
2a	158,9 ± 12,4	77,6 ± 15,2 *	156,4 ± 13,8	56,2 ± 9,3 *	144,7 ± 13,1

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão (n=10). *p<0.05 (teste T de Student).

O modelo da formalina é muito utilizado quando se pretende estudar possíveis efeitos antiinflamatórios de substâncias devido à ocorrência de liberação dos mediadores inflamatórios, tais como prostaglandinas, na segunda fase da resposta (HUNSKAAR *et al.*, 1986). O fato de que alguns extratos inibiram somente a segunda fase pode ser indicativo de que sua ação seja decorrente de inibição da via de síntese das prostaglandinas, via ciclooxigenase 1 e/ou 2 (DIRIG *et al.*, 1997).

Gráfico III: Resultado do efeito antiinflamatório das partições do extrato etanólico das folhas e inflorescências de *Hyptis fasciculata* no modelo da formalina.



Atividade Antioxidante:

O ensaio de atividade antioxidante é um procedimento de rotina no laboratório Laquel, onde o DPPH é usado como agente oxidante. Para o primeiro ensaio foram testados extratos etanólicos das partes aéreas de *H. tetrasephala* e *H. elegans* como uma triagem prévia de atividade. Como controle positivo foram feitos dois extratos, o etanólico comercial de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) a 1,0 mg/mL e o extrato metanólico de rutina a 0,5 mg/mL. Ambos foram tratados da mesma forma que as amostras. Os testes foram realizados em triplicata.

Na Tabela XXVI encontram-se os valores de CE50, a concentração necessária para se obter metade do efeito antioxidante máximo estimado em 100%, para os extratos etanólicos testados. Os valores de CE50 foram obtidos por regressão linear, com coeficiente de determinação $r^2 \geq 0,80$. O tratamento estatístico dos dados de três testes separados (ANOVA) evidenciou que estes são estatisticamente equivalentes ($p = 0,05$). Ambos os extratos testados apresentaram boa atividade antioxidante, sendo seus valores de CE50 menores que 100 $\mu\text{g/mL}$, tendo como base o valor de CE50 obtido para o EGb 761[®] ($41,53 \pm 0,11 \mu\text{g/mL}$). No entanto, o resultado do extrato etanólico de *H. tetrasephala* ($35,04 \pm 2,35 \mu\text{g/mL}$) foi melhor do que o obtido com o extrato de *H. elegans* ($87,88 \pm 3,45 \mu\text{g/mL}$), valendo a pena ressaltar a diferença de atividade entre as duas amostras.

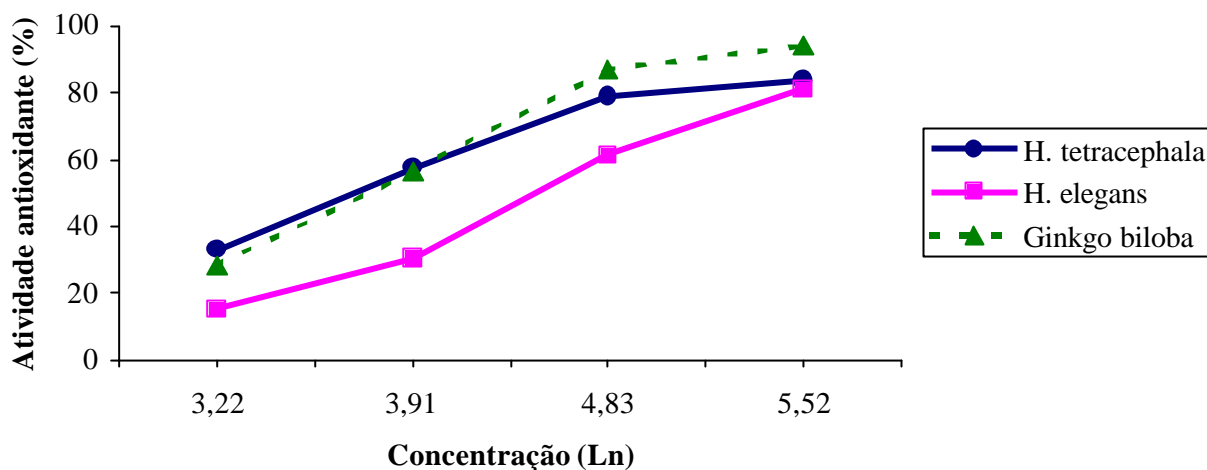
Tabela XXVI - Valores de CE50 para os extratos etanólicos de *H. elegans* e *H. tetrasephala* testados com DPPH e os controles positivos *Ginkgo biloba* e rutina.

ESPÉCIE / SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA	*CE50 \pm DP
<i>Hyptis elegans</i>	Partes aéreas	87,88 \pm 3,45
<i>Hyptis tetrasephala</i>	Partes aéreas	35,04 \pm 2,35
<i>Ginkgo biloba</i> (Egb 761 [®])	Folhas	41,53 \pm 0,11
Rutina		11,95 \pm 0,43

*CE50 = concentração suficiente para se obter metade do efeito máximo estimado em 100%;
DP = desvio padrão para $n = 3$; valores obtidos por regressão linear com 95% de confiança.

No Gráfico IV podem-se comparar as atividades antioxidantes obtidas para os três extratos etanólicos testados.

Gráfico IV: Atividade antioxidante % versus Ln da concentração ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos etanólicos de *H. elegans*, *H. tetracephala* e *Ginkgo biloba* como padrão.



Após a realização dos ensaios com os extratos etanólicos, quando se pôde observar tamanha discrepância entre os resultados de duas espécies do mesmo gênero, foi feito novo ensaio, usando-se dessa vez as partições de diferentes polaridades do extrato etanólico das partes aéreas de *H. elegans*, uma vez que foi esta a planta que apresentou menor atividade antioxidante. O novo ensaio visa verificar se tal atividade poderia estar concentrada em alguma partição de diferente polaridade. Para essa segunda fase do ensaio, foram utilizadas partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol.

Conforme o sugerido por MENSOR (1999), geralmente as partições mais polares são as que têm atividade antioxidante (AA) mais alta, sendo o mesmo encontrado para as partições de *H. elegans*. A maior atividade foi obtida, no entanto, para a partição em acetato de etila ($13,62 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$), enquanto que a partição mais polar (butanólica) apresentou menor atividade ($\text{CE50} = 57,82 \pm 3,57 \mu\text{g/mL}$). Vale ressaltar que o potencial antioxidante evidenciado pela partição em acetato de etila foi maior do que a atividade do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (Egb 761[®]), amplamente utilizado na medicina atual, por suas propriedades antioxidantes. A partição mais apolar (hexânica) não apresentou atividade significativa, reforçando a relação entre AA e polaridade (Tabela XVII). Baseando-se na verificação da

estrutura molécula do DPPH, pode-se sugerir que a elevada atividade das partições polares seja, provavelmente, devida à presença de substâncias com grupamentos hidroxila, disponíveis para doar um radical hidrogênio à molécula oxidante (MENSOR, 1999).

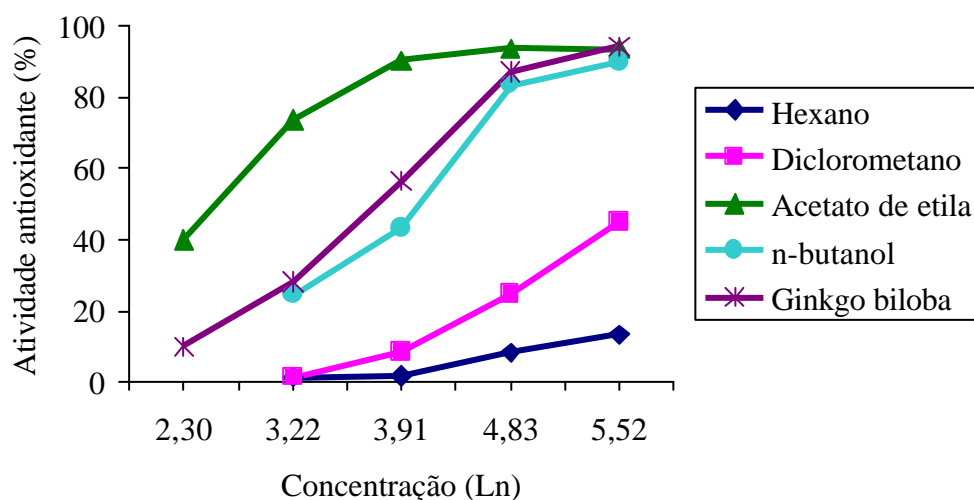
Tabela XVII - Valores de CE50 para as partições do extrato etanólico de *H. elegans* testadas com DPPH e os controles positivos *Ginkgo biloba* e rutina.

ESPÉCIE / SUBSTÂNCIA	PARTE DA PLANTA	SOLVENTE	*CE50 ± DP
<i>Hyptis elegans</i>	Partes aéreas	Hexano	---
<i>Hyptis elegans</i>	Partes aéreas	Diclorometano	233,37 ± 0,95
<i>Hyptis elegans</i>	Partes aéreas	Acetato de etila	13,62 ± 1,65
<i>Hyptis elegans</i>	Partes aéreas	<i>n</i> -butanol	57,82 ± 3,57
<i>Ginkgo biloba</i> (Egb 761)	Folhas	Etanol	41,53 ± 0,11
Rutina		Metanol	11,95 ± 0,43

*CE50 = concentração suficiente para se obter metade do efeito máximo estimado em 100%;
DP = desvio padrão para n = 3; valores obtidos por regressão linear com 95% de confiança.

O Gráfico V mostra a comparação entre as atividades antioxidantes encontradas para as partições do extrato etanólico de *H. elegans*, evidenciando a superioridade do efeito da partição em acetato de etila frente ao extrato de *Ginkgo biloba* usado como controle.

Gráfico V: Atividade antioxidante % versus Ln da concentração (µg/mL) de partições do extrato etanólico das partes aéreas de *H. elegans* e o extrato etanólico de *Ginkgo biloba* como padrão.



Atividade Moluscicida:

A esquistossomose é um problema de saúde pública que afeta mais de 200 milhões de pessoas principalmente em áreas irrigadas da África tropical e subtropical, da América do Sul e do sudeste Asiático. No Brasil, essa doença se apresenta endêmicamente até hoje. Caramujos do gênero *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelania* são importantes vetores do *Schistosoma mansoni*, o parasita causador da doença. Um programa de controle efetivo para o seu combate requer medidas que combinem o tratamento das pessoas infectadas com a eliminação do hospedeiro intermediário do parasita. A aplicação de drogas moluscicidas é o método mais importante de eliminação aquática de caramujos, especialmente os do gênero *Biomphalaria*. Devido ao grande interesse na busca de novos produtos derivados de plantas com atividade moluscicida, muitas substâncias de origem vegetal e extratos têm sido apontados como promissores para o controle desses caramujos (MENEZES, 1997).

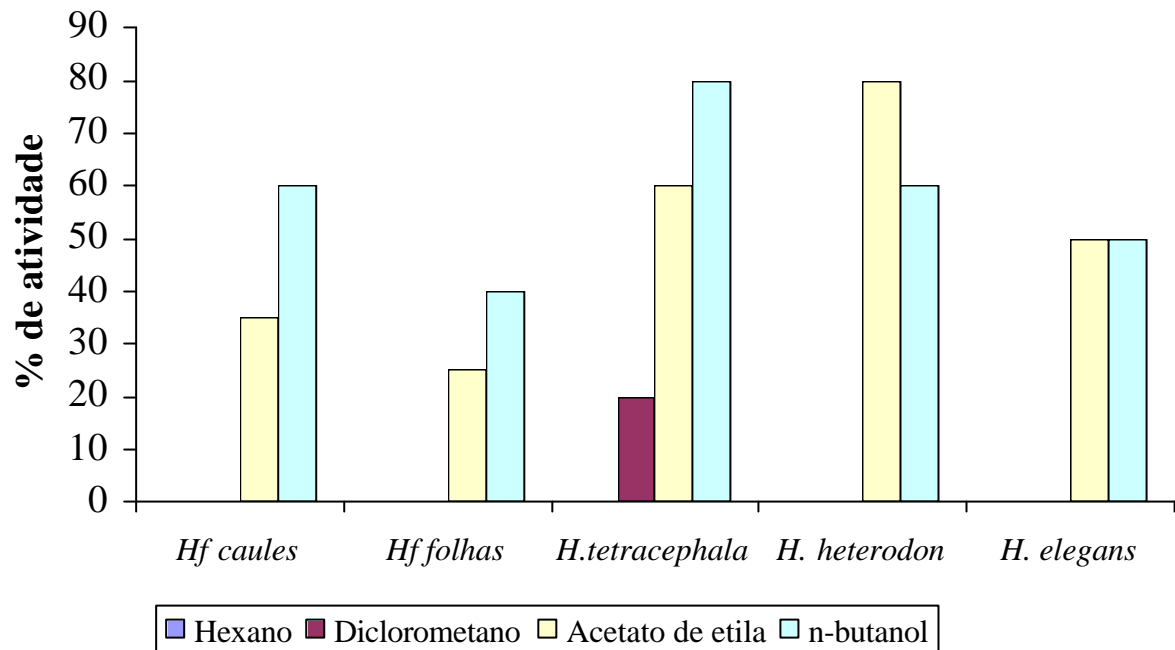
As quatro espécies de *Hyptis* foram avaliadas quanto a suas atividades frente a moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata*, seguindo a técnica descrita anteriormente (parte experimental, p. 70). A importância desse ensaio se dá pelo fato de as plantas estudadas terem características aquáticas, sendo encontradas em lugares úmidos, em beiras de açudes e banhados, locais onde são encontrados também os caramujos hospedeiros do parasita, sendo, assim, de interesse para as populações dessas regiões. As partições mais polares das quatro espécies apresentaram atividades maiores, enquanto que nenhuma das cinco partições hexânicas testadas apresentou atividade. A espécie *Hyptis tetracephala* foi a que obteve melhores resultados, apresentando efeito moluscicida nas partições em diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol do extrato etanólico. O controle positivo foi feito com extrato etanólico de *Phytollaca dodecandra*, que apresentou 100% de atividade (Tabela XVIII e Gráfico VI).

Tabela XVIII - Atividade moluscicida das partições dos extratos etanólicos de *Hyptis fasciculata*, *Hyptis tetracephala*, *Hyptis heterodon* e *Hyptis elegans* sobre o caramujo *Biomphalaria glabrata*.

ESPÉCIE	PARTE USADA	PARTIÇÃO	MORTALIDADE em 10 ppm (%)
<i>Hyptis fasciculata</i>	Caules	Hexano	n.a.
<i>Hyptis fasciculata</i>	Caules	Diclorometano	n.a.
<i>Hyptis fasciculata</i>	Caules	Acetato de etila	35
<i>Hyptis fasciculata</i>	Caules	<i>n</i> -butanol	60
<i>Hyptis fasciculata</i>	Flores e Inflorescências	Hexano	n.a.
<i>Hyptis fasciculata</i>	Flores e Inflorescências	Diclorometano	n.a.
<i>Hyptis fasciculata</i>	Flores e Inflorescências	Acetato de etila	25
<i>Hyptis fasciculata</i>	Flores e Inflorescências	<i>n</i> -butanol	40
<i>Hyptis tetracephala</i>	Partes Aéreas	Hexano	n.a.
<i>Hyptis tetracephala</i>	Partes Aéreas	Diclorometano	20
<i>Hyptis tetracephala</i>	Partes Aéreas	Acetato de etila	60
<i>Hyptis tetracephala</i>	Partes Aéreas	<i>n</i> -butanol	80
<i>Hyptis heterodon</i>	Partes Aéreas	Hexano	n.a.
<i>Hyptis heterodon</i>	Partes Aéreas	Diclorometano	n.a.
<i>Hyptis heterodon</i>	Partes Aéreas	Acetato de etila	80
<i>Hyptis heterodon</i>	Partes Aéreas	<i>n</i> -butanol	60
<i>Hyptis elegans</i>	Partes Aéreas	Hexano	n.a.
<i>Hyptis elegans</i>	Partes Aéreas	Diclorometano	n.a.
<i>Hyptis elegans</i>	Partes Aéreas	Acetato de etila	50
<i>Hyptis elegans</i>	Partes Aéreas	<i>n</i> -butanol	50

n.a. = nenhuma atividade detectável.

Gráfico VI: Resultado da atividade moluscicida das espécies de *Hyptis* sobre o caramujo *Biomphalaria glabrata*.



CONCLUSÕES

1. O estudo químico das espécies de *Hyptis*, até então inéditas sob esse aspecto, evidenciou a riqueza dessas plantas na síntese de triterpenos ácidos.
2. Além dos triterpenos, presentes majoritariamente nos extratos estudados, foram identificados lignanas, a sesamina e um derivado (metilpiperitol), dois derivados fenilpropanoídicos, o ácido caféico e o ácido rosmarínico entre outras micromoléculas.
3. Pode-se concluir, assim como o esperado para as espécies do gênero *Hyptis*, que essas plantas canalizaram evolutivamente a síntese dos metabólicos especiais em direção à produção de triterpenos, dada a apreciável quantidade isolada desses derivados. No entanto, é notória a presença de substâncias oriundas da via do chiquimato, representantes da química lenhosa.
4. Nota-se uma relação direta entre aumento de polaridade e concentração de ácido ursólico nas misturas de triterpenos analisadas.
5. A análise de misturas constituiu um método essencial para a realização deste trabalho, principalmente em relação às misturas de triterpenos obtidas, considerando-se a dificuldade de separação apresentada por essa classe de substâncias.
6. Vale ressaltar que nenhum diterpenóide foi encontrado nas espécies estudadas provavelmente devido à dicotomia química entre a produção de triterpenos e diterpenos. Se os diterpenos estiverem presentes nessas duas espécies, estarão em quantidades ínfimas comparadas com a de triterpenos, de forma que as técnicas utilizadas não seriam capazes de evidenciá-los.
7. Os testes farmacológicos realizados indicam o potencial que essas espécies têm em sintetizar substâncias com propriedades biodinâmicas, podendo-se sugerir uma grande relação entre a alta concentração de triterpenos isolados e as atividades evidenciadas.

8. Da *Hyptis fasciculata*, a partição em acetato de etila do extrato etanólico das folhas e inflorescências apresentou boa resposta nos testes de atividade antimicrobiana frente a todas as cepas Gram-positivas testadas, incluindo a de MRSA, nos de atividade antiinflamatória e nos ensaios de analgesia periférica. No modelo de analgesia central espinhal testado, as partições em hexano e em *n*-butanol foram as mais efetivas, chegando a apresentar melhores resultados do que a morfina, substância usada como controle. Dos caules, a partição em *n*-butanol do extrato etanólico apresentou certa atividade moluscicida.
9. Da *Hyptis tetracephala*, a partição em diclorometano do extrato etanólico das partes aéreas demonstrou efeito antimicrobiano frente a diferentes cepas de *S. pyogenes* e alguma atividade moluscicida, no entanto, foram as partições em acetato de etila e *n*-butanol que apresentaram maior potencial em matar os caramujos vetores do *Schistosoma mansoni*. O extrato etanólico dessa espécie apresentou boa atividade antioxidante, quando testado pelo método do DPPH.
10. Da *Hyptis heterodon*, o extrato em metanol/clorofórmio das partes aéreas foi ativo frente à cepa de MRSA e a diferentes cepas de *S. pyogenes*. As partições em acetato de etila e em *n*-butanol do extrato etanólico das partes aéreas apresentaram também interessante resposta moluscicida.
11. Da *Hyptis elegans*, a partição em acetato de etila do extrato etanólico das partes aéreas demonstrou alta atividade antioxidante, apresentando CE50 menor do que a obtida para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (Egb 761[®]), usado como controle positivo. As partições em acetato de etila e em *n*-butanol do extrato etanólico das partes aéreas apresentaram também certa atividade moluscicida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHMAD, S.; HOYER, T.; KJAER, A.; MAKMUR, L.; NORRESTAM, R. Molecular and crystal structure of hyptolide, a naturally occurring α , β unsaturated δ -lactone. *Acta Chem. Scand., Ser. B*, **B41**(8), 599-609. 1987.
- AHMED, M.; SCORA, R. W.; TING, I. P. Composition of leaf oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *J. Essent. Oil Res.*, **6**(6), 571-5. 1994.
- ALEMANY, A.; MARQUEZ, C.; PASCUAL, C.; VALVERDE, S.; MARTINEZ-RIPOLL, M.; FAYOS, J.; PERALES, A. New compounds from *Hyptis*. X-ray crystal and molecular structures of anamarine. *Tetrahedron Lett.*, (37), 3583-6. 1979 A.
- ALEMANY, A.; MARQUEZ, C.; PASCUAL, C.; VALVERDE, S.; PERALES, A.; FAYOS, J.; MARTINEZ-RIPOLL, M. New compounds from *Hyptis*. X-ray crystal and molecular structures of olguine. *Tetrahedron Lett.*, (37), 3579-82. 1979 B.
- ALMTORP, G. T.; HAZELL, A. C.; TORSSELL, K. B. G. A lignan and pyrone and other constituents from *Hyptis capitata*. *Phytochemistry*, **30**(8), 2753-6. 1991
- ASEKUN, O. T.; EKUNDAYO, O.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* leaves. *Fitoterapia*, **70**(4), 440-442. 1999.
- ASEKUN, O. T.; EKUNDAYO, O. Essential oil constituents of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Bush tea) leaves from Nigeria. *J. Essent. Oil Res.*, **12**(2), 227-230. 2000.
- ASPINALL, G. O.; CAPEK, P.; CARPENTER, R. C.; GOWDA, D. C.; SZAFRANEK, J. A novel L-fuco-4-O-methyl-D-glucurono-D-xylan from *Hyptis suaveolens*. *Carbohydr. Res.*, **214**(1), 107-13. 1991.
- AYCARD, J. P.; KINI, F.; KAM, B.; GAYDOU, E. M.; FAURE, R. Isolation and identification of spicigera lactone: complete proton and carbon-13 assignments using two-dimensional NMR experiments. *Journal of Natural Products*, **56**(7), 1171-3. 1993.
- AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **57**(5), 733-736. 2001.
- AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; de PAULA, J. R.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. *Biochemical systematics and ecology*, **30**(3), 205-216. 2002.
- BABU, S. P. S.; SUKUL, N. C. Essential oils as nematicidal principles. *Environ. Ecol.*, **8**(4), 1118-20. 1990.
- BAILAC, P.; DUSCHATZKY, C.; PONZI, M.; HRPO, N. Essential oil of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. grown in San Luis, Argentina. *J. Essent. Oil Res.*, **11**(2), 217-219. 1999.
- BANERJEE, S. K.; WILLIAMS, A. J.; BISWAS, S. C.; MANJHI, R. B.; MISHRA, T. K. Dynamics of natural ecorestoration in coal mine overburden of dry deciduous zone of M.P., India. *Ecol., Environ. Conserv.*, **2**(3-4), 97-104. 1996.
- BARBOSA P. P. P.; BARBOSA, C. P. Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis mutabilis* Briq. in rats. *Phytotherapy Research*, **6**(2), 114-15. 1992.
- BARKER, C.; DUNN, H. C.; HILDITCH, T. P. African drying oils. V. Some Nigerian and Sudanese drying oils. *J. Soc. Chem. Ind.*, **69**, 71-5. 1950.

- BEGUM, J.; YUSUF, M.; CHOWDHURY, J. U.; WAHAB, M. A. Studies on essential oils for their antibacterial and antifungal properties. Part-I. Preliminary screening of 35 essential oils. *J. Sci. Ind. Res.*, **28**(4), 25-34. 1993.
- BISPO, M. D.; MOURAO, R. H. V.; FRANZOTTI, E. M.; BOMFIM, K. B. R.; ARRIGONI-BLANK, M. D.; MORENO, M. P. N.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals. *Journal of ethnopharmacology*, **76**(1), 81-86. 2001.
- BORDIGNON, S. A. L. O Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) no Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul. 1990. 123 p.
- BORDIGNON, S.A.L. *Hyptis tetracephala* (Labiatae), nova espécie do sul do Brasil. *Napaea*, **8**, 1-3. 1992.
- BROPHY, J. J.; LASSAK, E. V. The volatile leaf oils of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. and *Vitex trifolia* L. var. *bicolor* (Willd.) Moldenke from Fiji. *Flavour Fragrance J.*, **2**(1), 41-3. 1987.
- CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P. H.; HARAMA, M.; SIDIBE, L. Chemical composition of essential oils of two species endemic in Mali: *Hyptis spicigera* and *Hyptis suaveolens*. *Riv. Ital. EPPOS*, (Spec. Num., 15th Journées Internationales Huiles Essentielles, 1996), 682-696. 1997.
- COLLINS, D. O.; BUCHANAN, G. O.; REYNOLDS, W. F.; REESE, P. B. Biotransformation of squamulose by *Curvularia lunata* ATCC 12017. *Phytochemistry*, **57**(3), 377-383. 2001.
- de ARAUJO, M. C. M.; CAVALCANTI, M. S. B.; de MELLO, J. F.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; de LIMA, O. G.; DELLA-MONACHE, F.; MACIEL, G. M.; LACERDA, A. L. Antimicrobial substances of higher plants. Communication XLV. Primary observations on two new quinonoids isolated from *Hyptis fructicosa* Salzm ex Benth. (Labiatae). *Rev. Inst. Antibiot.*, **14**(1-2), 101-4. 1974.
- de VIVAR, A. R.; VIDALES, P.; PEREZ, A. L. An aliphatic γ -lactone from *Hyptis urticoides*. *Phytochemistry*, **30**(7), 2417-18. 1991.
- DELGADO, G.; PEREDA-MIRANDA, R.; de VIVAR, A. R. Structure and stereochemistry of 4-deacetoxy-10-epi-olguine, a new δ -lactone from *Hyptis oblongifolia* Benth. (Labiatae). *Heterocycles*, **23**(8), 1869-72. 1985.
- DELLACASSA, E.; LORENZO, D.; MONDELLO, L.; STAGNO D'ALCONTRES, I. Uruguayan essential oils. Part VIII. Composition of leaf oil of *Hyptis floribunda* Briq. ex Micheli (Labiatae). *J. Essent. Oil Res.*, **9**(5), 523-525. 1997.
- DELLA-MONACHE, F.; MARLETTI, F.; MARINI-BETTOLO, G.; de MELLO, J. F.; D'ALBUQUERQUE, I. L. Diterpenoids of *Hyptis fructicosa* (Labiatae). II. Hyptol. *Gazz. Chim. Ital.*, **107**(5-6), 319-21. 1977.
- DELLA-MONACHE, F.; DELLA-MONACHE, G.; GACS-BAITZ, E.; COELHO, J. S. de B.; de ALBUQUERQUE, I. L.; CHIAPPETA, A. de A.; de MELLO, J. F. Umbrosone, an ortho-quinone from *Hyptis umbrosa*. *Phytochemistry*, **29**(12), 3971-2. 1990.
- DIN, L. B.; ZAKARIA, Z.; SAMSUDIN, M. W.; BROPHY, J.; TOIA, R. F. Composition of the steam volatile oil from *Hyptis suaveolens* Poit. *Pertanika*, **11**(2), 239-47. 1988.

- DIRIG, D. M.; KONIN, G. P.; ISAKSON, P. C.; YAKSH, T. L. Effect of spinal cyclooxygenase in rat using the formalin test and in vitro prostaglandin E₂ release. *Eur. J. Pharmacol.*, 331, 155-60. 1997.
- EPLING, C. Revisión del género *Hyptis* (Labiatae). *Revista del museo de la plata*, **Tomo VII, Botânica** (30),153-497. 1949.
- FLORES, S. E.; MEDINA, J. D. Preliminary study of the composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Acta Cient. Venez.*, **21**(4), 161-2. 1970.
- FRAGOSO-SERRANO, M.; GONZALEZ-CHIMEO, E.; PEREDA-MIRANDA, R. Novel Labdane Diterpenes from the Insecticidal Plant *Hyptis spicigera*. *Journal of Natural Products*, **62**(1), 45-50. 1999.
- FUN, C. E.; SVENDSEN, A. The essential oil of *Hyptis suaveolens* Poit. grown in Aruba. *Flavour Fragrance J.*, **5**(3), 161-3. 1990.
- GERMAN, V. F. A. H. Isolation and characterization of cytotoxic principles from *Hyptis verticillata* Jacq. *Journal of pharmaceutical Sciences*, **60**(4), 649-650. 1971.
- GILBERT, B.; de SOUZA, J.; FASCIO, M.; KITAGAWA, M.; NASCIMENTO, S.; FORTES, C.; SEABRA, A.; PELLEGRINO, J. Schistosomiasis. Protection against infection by terpenoids. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **42**(Supl.), 397-400. 1970.
- GONZALEZ, A.; MOUJIR, L.; BAZZOCCHI, I.; CORREA, M.; GUPTA, M. Screening of antimicrobial and cytotoxic activities of Panamanian plants. *Phytomedicine*, **1**(2), 149-53. 1994.
- GOTTLIEB, O. R.; KOKETSU, M.; MAGALHAES, M. T.; MAIA, J. G. S.; MENDES, P. H.; da ROCHA, A. I.; da SILVA, M. L.; WILBERG, V. C. Essential oils from the Amazon. VII. *Acta Amazonica*, **11**(1), 143-8. 1981.
- GOWDA, D. C. Polysaccharide components of the seed-coat mucilage from *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **23**(2), 337-8. 1984.
- GREGER, H.; HOFER, O. New unsymmetrically substituted tetrahydrofurofuran lignans from *Artemisia absinthium*. *Tetrahedron*, **36**, 3551-8. 1980.
- GRINDLEY, D. N. The component fatty acids of various Sudan vegetable oils. *J. Sci. Food Agr.*, **1**, 152-5. 1950.
- GUPTA, M.P.; MONGE, A.; KARIKAS, G.A.; LOPEZ DE CERAIN, A.; SOLIS, P.N.; de LEON, E.; TRUJILLO, M.; SUAREZ, O.; WILSON, F. *et al.* Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. *Int. J. Pharmacogn.*, **34**(1), 19-27. 1996.
- HAC, L. V.; KHOI, T. T.; DUNG, N. X.; MARDAROWICZ, M.; LECLERCQ, P. A. A new chemotype of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from the Nghe An Province, Vietnam. *J. Essent. Oil Res.*, **8**(3), 315-318. 1996.
- HOFFMANN, G. R.; AREND, L.M.; SILVEIRA, J. C. B.; BELLOMO, H. R.; NUNES, J. L. M. Rio Grande do Sul: Aspectos da geografia. 4 ed. Porto Alegre, editora Martins Livreiro, 1997. 104 p.
- HUNG, C.Y.; YEN, G.C. Extraction and identification of antioxidative components of Hsiantso (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Lebensm.- Wiss. u.- Technol.*, (34), 306-11. 2001.

- HUNSKAAR, S.; BERGE, O.; HOLE, K. Dissociation between antinociceptive and antiinflammatory of acetylsalicylic acid and indomethacin in formalin test. *Pain*, **25**, 125-32. 1986.
- IWU, M. M.; EZEUGWU, C. O.; OKUNJI, C. O.; SANSON, D. R.; TEMPESTA, M. S. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *Hyptis suaveolens* *Int. J Crude Drug Res.*, **28**(1), 73-6. 1990.
- JAIN, S. R.; JAIN, P. R.; JAIN, M. R. Antibacterial evaluation of some indigenous volatile oils. *Planta Med.*, **26**(2), 196-9. 1974.
- JIROVETZ, L.; NGASSOUM, M. B. Olfactory evaluation and GC/MS analysis of the essential oils of leaves and flowers of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. from Cameroon. *SOFW J.*, **125**, 35-37. 1999.
- JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; PUSCHMANN, CH.; NGASSOUM, M. B. Investigations of aromatic plants from Cameroon: analysis of the essentials oils of flowers of *Hyptis spicigera* (Linn.) Poit. by GC, GC/MS and olfactometry. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, **3**(2), 71-77. 2000.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. Plant Systematics. A phylogenetic approach. Inglaterra, Sinauer Associates Inc., 1999. p. 383-5.
- KANTZANO, M.; PANAYOTIS, T. T.; TSELENI-KOTSOVILI, A.; MANIATIS, A N.; VATOPOULOS, A C.; LEGAKIS, N. J. A multi-centre study of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Greece. *Int. Jour. of Antimicrobial Agents*, **12**, 115-9. 1999.
- KAR, A.; JAIN, S. R. Antibacterial evaluation of some indigenous medicinal volatile oils. *Qual. Plant. Mater. Veg.*, **20**(3), 231-7. 1971.
- KASHIWADA, Y.; WANG, H.; NAGAO, T.; KITANAKA, S.; YASUDA, I.; FUJIOKA, T.; YAMAGISHI, T.; COSENTINO, L. M.; KOZUKA, M.; OKABE, H.; IKESHIRO, Y.; HU, C.; YEH, E.; LEE, K. Anti-AIDS agents. 30. Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. *Journal of Natural Products*, **61**(9), 1090-1095. 1998.
- KHUNT, M.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Lignans and other compounds from the Mixe Indian medicinal plant *Hyptis verticillata*. *Phytochemistry*, **36**(2), 485-9. 1994.
- KHUNT, M.; PROEBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. *Planta Med.*, **61**(3), 227-32. 1995.
- KINGSTON, D. G. I.; RAO, M. M.; ZUCKER, W. V. Plant anticancer agents. IX. Constituents of *Hyptis tomentosa*. *J. Nat. Prod.*, **42**(5), 496-9. 1979.
- KINI, F.; KAM, B.; AYCARD, J. P.; GAYDOU, E. M.; BOMBARDA, I. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. from Burkina Faso. *J. Essent. Oil Res.*, **5**(2), 219-21. 1993.
- KOBAYASHI, K. Components of the leaves of *Hyptis capitata*. *J. Pharm. Soc. Japan*, **72**, 1-3. 1952.

- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL Jr, V. R.; SOMMERS, H. M. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 2 ed. Philadelphia, J. B. Lippincott company, 1983. p. 437-45.
- KURASHI, Y.; HARADA, Y.; ARATANI, S. Involvement of the Spinal Noradrenergic and Serotonergic Systems in Morphine Analgesia: The Differences in Mechanical and Thermal Algesic Tests. *Brain Research*, 273, 245-52. 1983.
- LECLERCQ, P. A.; DELGADO, H. S.; GARCIA, J.; HIDALGO, J. E.; CERRUTTI, T.; MESTANZA, M.; RIOS, F.; NINA, E.; NONATO, L.; ALVARADO, R.; MENENDEZ, R. Aromatic plant oils of the Peruvian Amazon. Part 2. *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Renealmia* sp., *Hyptis recurvata* Poit. and *Tynanthus panurensis* (Bur.) Sandw. *J. Essent. Oil Res.*, 12(1), 14-18. 2000.
- LEE, K. H.; LIN, Y. M.; WU, T. S.; ZHANG, DE C.; YAMAGISHI, T.; HAYASHI, T.; HALL, I. H.; CHANG, J. J.; WU, R. Y.; YANG, T. H. Antitumor agents. LXXXVIII. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. *Planta Med.*, 54(4), 308-11. 1988.
- LEITÃO, G. G. Estudo químico de *Aristolochia cymbifera* Mart. e Zucc. e de *Aristolochia gigantea* Mart. Zucc. Tese de Doutorado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1992. p. 35.
- LIN, Y. L.; LEE, H. P.; HUANG, R. L.; OU, J. C.; KUO, Y. H. Studies on the constituents of *Hyptis rhomboides*. *Zhonghua Yaoxue Zazhi*, 45(1), 61-8. 1993.
- LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S.; MAIA, J. G. S.; da SILVA, M. L. Essential oils of some Amazonian Labiatae. 1. Genus *Hyptis*. *J. Nat. Prod.*, 47(4), 745-7. 1984.
- MALAN, K. A.; PELISSIER, Y.; MARION, C.; BLAISE, A.; BESSIERE, J. M. The essential oil of *Hyptis pectinata*. *Planta Med.*, 54(6), 531-2. 1988.
- MALAN, K. A.; PELISSIER, Y.; BESSIERE, J. M.; PELLERIN, F. Variation in the chemical composition of the essential oil of *Hyptis pectinata*, L. Poit. *Plant. Med. Phytother.*, 23(2), 86-9. 1989.
- MALLAVARAPU, G. R.; RAMESH, S.; KAUL, P. N.; BHATTACHARYA, A. K.; RAO, B. R. The essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *J. Essent. Oil Res.*, 5(3), 321-3. 1993.
- MALONIANGA, N.; KOLIE, C.; CAMARA, B. Analysis of the *Hyptis suaveolens* Poit essential oils. *Riv. Ital. EPPOS*, 7(Spec. Num.), 708-709. 1996.
- MANCHAND, P. S.; WHITE, J. D.; FAYOS, J.; CLARDY, J. Chemical constituents of tropical plants. V. Structures of suaveolic acid and suaveolol. *J. Org. Chem.*, 39(15), 2306-8. 1974.
- MARLETTI, F.; DELLA-MONACHE, F.; MARINI-BETTOLO, G. B.; de ARAUJO, M. C. M.; CAVALCANTI, M. S. B.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; de LIMA, O. G. Diterpenoid quinones of *Hyptis fructicosa* (Labiatae). *Gazz. Chim. Ital.*, 106(1-2), 119-26. 1976.
- McLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D. B. The wiley / NBS registry of mass spectral data. New York, ed. Wiley Interscience Pub., 1989. v. I-V, p. 704-5108.
- MENEZES, F. S. Base química de tendências filogenéticas em Lamiiflorae. Tese de Mestrado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1994. 94 p.

- MENEZES, F. S. *Raphiodon echinus* e *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae): Aspectos químicos e farmacológicos. Tese de Doutorado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1997. 171 p.
- MENGHINI, A.; MANTILACCI, G.; POCCESCHI, N.; TATANI, N. C. Composition and *in vitro* antifungal activity of the essential oil of *Hyptis Suaveolens* Poit. from Cameroun. *EPPOS*, **7**, 435-440. 1996.
- MENSOR, L. L. Avaliação da atividade antioxidante em plantas brasileiras. Tese de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1999. p. 47-48.
- MESSANA, I.; FERRARI, F.; SOUZA, M. A. de M.; GACS-BAITZ, E. (-)-Salzol, an isopimarane diterpene, and a chalcone from *Hyptis salzmanii*. *Phytochemistry*, **29**(1), 329-32. 1990.
- MIRALLES, J.; PARES, Y. Fatty acid composition of some oils from Senegalese seeds. *Rev. Fr. Corps Gras*, **27**(8-9), 393-6. 1980.
- MIRALLES, J. Study of new vegetable oil sources. *Oleagineux*, **38**(12), 665-7. 1983.
- MISRA, T. N.; SINGH, R. S.; OJHA, T. N.; UPADHYAY, J. Chemical constituents of *Hyptis suaveolens*. Part I. Spectral and biological studies on a triterpene acid. *Journal of Natural Products*, **44**(6), 735-38. 1981.
- MISRA, T. N.; SINGH, R. S.; UPADHYAY, J. A natural triterpene acid from *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **22**(11), 2557-8. 1983 A.
- MISRA, T. N.; SINGH, R. S.; UPADHYAY, J. Triterpenoids from *Hyptis suaveolens* roots. *Phytochemistry*, **22**(2), 603-5. 1983 B.
- MUKHERJEE, K. S.; MUKHERJEE, R. K.; GHOSH, P. K. Chemistry of *Hyptis suaveolens*: a pentacyclic triterpene. *Journal of Natural Products*, **47**(2), 377-8. 1984.
- NAYAK, U. G.; GUHA, P. C. Essential oil from *Hyptis suaveolens*. *J. Indian Chem. Soc.*, **29**, 183-6. 1952.
- NGASSOUM, M. B.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G. Essential oil and headspace from *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. leaves and flowers from Cameroon. *J. Essent. Oil Res.*, **11**(3), 283-288. 1999.
- NOEGROHO, S. P.; SRIMULYANI; MULYANINGSIH, B. Larvicidal activity of *Hyptis suaveolens* essential oil toward 4th instar *Aedes aegypti* larvae and gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the oil. *Maj. Farm. Indones.*, **8**(4), 160-170. 1997.
- NOVELO, M.; CRUZ, J. G.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; CHAI, H.; MAR, W.; PEZZUTO, J. M. Chemical studies on Mexican *Hyptis* species. VI. Biologically active natural products from Mexican medicinal plants. II. Cytotoxic constituents from *Hyptis verticillata*. *Journal of Natural Products*, **56**(10), 1728-36. 1993.
- ONAYADE, O. A.; LOOMAN, A.; SCHEFFER, J. J. C.; SVENDSEN, A. B. Composition of the herb essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. *Flavour Fragrance Journal*, **5**(2), 101-5. 1990.
- PANT, A. K.; SINGH, A. K.; MATHELA, C. S.; PARIHAR, R.; DEV, V.; NERIO, A. T.; BOTTINI, A. T. Essential oil from *Hyptis suaveolens* Poit. *J. Essent. Oil Res.*, **4**(1), 9-13. 1992.

- PAREDES, A. C. Aromatic plant species of Ecuador. *Politecnica*, **3**(1), 163-70. 1973.
- PEDERSEN, J. A. Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochem. Syst. Ecol.*, **28**(3), 229-253. 2000.
- PEERZADA, N. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Molecules*, **2**(11), 165-168. 1997.
- PEREDA-MIRANDA, R.; GASCON-FIGUEROA, M. Chemistry of *Hyptis mutabilis*: New pentacyclic triterpenoids. *Journal of Natural Products*, **51**(5), 996-8. 1988.
- PEREDA-MIRANDA, R.; DELGADO, G. Chemical studies on Mexican *Hyptis* species. Part 2. Triterpenoids and flavonoids from *Hyptis albida*. *Journal of Natural Products*, **53**(1), 182-5. 1990.
- PEREDA-MIRANDA, R.; GARCIA, M.; DELGADO, G. Chemical studies on Mexican *Hyptis* species. Part 3. Structure and stereochemistry of four α -pyrones from *Hyptis oblongifolia*. *Phytochemistry*, **29**(9), 2971-4. 1990.
- PEREDA-MIRANDA, R.; HERNANDEZ, L.; VILLAVICENCIO, M. J.; NOVELO, M.; IBARRA, P.; CHAI, H.; PEZZUTO, J. M. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro- α -pyrones from *Hyptis pectinata*. *Journal of Natural Products*, **56**(4), 583-93. 1993.
- PEREDA-MIRANDA, R.; FRAGOSO-SERRANO, M.; CERDA-GARCIA-ROJAS, C. Application of molecular mechanics in the total stereochemical elucidation of spicigerolide, a cytotoxic 6-tetraacetyl-oxyheptenyl-5, 6-dihydro- α -pyrone from *Hyptis spicigera*. *Tetrahedron*, **57**(1), 47-53. 2001.
- POPP, J. H. Geologia geral. 5 ed. Rio de Janeiro, editora LTC, 1998. p. 22-26, 37-38, 355-361.
- PORTER, R. B. R.; REESE, P. B.; WILLIAMS, L. A. D.; WILLIAMS, D. J. Acaricidal and insecticidal activities of cadina-4,10(15)-dien-3-one. *Phytochemistry*, **40**(3), 735-8. 1995.
- POTAPOV, M. Plant agglutinins to human antigen A. *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Biol.*(1), 59-66. 1968.
- RAO, B. G. V. N.; ADINARAYANA, S. Antimicrobial action of some essential oils. *Riechst., Aromen, Koerperpflagem.*, **20**(6), 215-16, 218, 220, 222. 1970.
- RAO, B. V. G. N.; NIGAM, S. S. Amino acid composition of proteins of the seeds of the *Hyptis suaveolens* and *Benincasa hispida*. *Indian J. Appl. Chem.*, **34**(2), 67-70. 1971.
- RAO, B. G. V. N.; NIGAM, S. S. Chemical examination of the fixed oil from the seeds of *Hyptis suaveolens*. *Indian Oil Soap J.*, **37**(12), 295-300. 1972.
- RAO, K. V. R.; RAO, L. J. M.; RAO, N. S. P. An A-ring contracted triterpenoid from *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **29**(4), 1326-9. 1990.
- ROJAS, A.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; MATA, R. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, **35**(3), 275-83. 1992.
- SALUJA, A. K.; SANTANI, D. D. Chemical studies of *Hyptis suaveolens* Poit. *Indian Drugs*, **21**(10), 423-4. 1984.

- SCRAMIN, S.; SAITO, M. L.; POTT, A.; MARQUES, M. O. M. Volatile constituents of *Hyptis crenata* Pohl (Labiatae) native in Brazilian pantanal. *J. Essent. Oil Res.*, **12**(1), 99-101. 2000.
- SECRETARIA MUNICIPAL DE EDUCAÇÃO E CULTURA, PREFEITURA DE CAMPO BOM. Campo Bom. Escola e comunidade contando sua história. São Paulo, editora Caeté, 1988. p. 19-27.
- SEDERMA S.A. França. Greff, Daniel, **Cosmetic compositions comprising at least one *Hyptis* extract**. FR 97-4119 19970402, 1998.
- SHETH, K.; JOLAD, S.; WIEDHOPF, R.; COLE, J. R. Tumor-inhibitory agent from *Hyptis emoryi* (Labiatae). *J. Pharm. Sci.*, **61**(11), 1819. 1972.
- SHISEIDO CO. LTD. Japão. Kobayashi, K.; Umishio, K.; Ota, M.; Inomata, S.; Satake, G.; Sekita, S. **Antiaging cosmetics comprising gelatinase inhibitors**. JP 99-358344 19991217, 2001 A.
- SHISEIDO CO. LTD. Japão. Kobayashi, K.; Umishio, K.; Ota, M.; Yoshida, Y.; Satake, M.; Sekita, S., **Serine protease inhibitors and skin preparations containing the inhibitors for treatment of rough skin**. JP 2000-200052821 20000229, 2001 B.
- SIDDIQUI, S.; HAFEEZ, F.; BEGUM, S.; SIDDIQUI, B. S. Oleanderol, a new pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander*. *J. Nat. Prod.*, **51**(2), 229-33. 1988.
- SIDIBE, L.; CHALCHAT, J.C.; GARRY, R. P.; HARAMA, M. Aromatic plants of Mali (III): Chemical composition of essential oils of two *Hyptis* species: *H. suaveolens* (L.) Poit. and *H. spicigera* Lam. *Fr. J. Essent. Oil Research*, **13**(1), 55-57. 2001.
- SILVA, A. F.; BARBOSA, L. C. A.; NASCIMENTO, E.; CASALI, V. W. D. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis glomerata* Mart. ex Schrank (Lamiaceae). *J. Essent. Oil Research*, **12**(6), 725-727. 2000.
- SINGH, G.; UPADHYAY, R. K.; RAO, G. P. Fungitoxic activity of the volatile oil of *Hyptis suaveolens*. *Fitoterapia*, **63**(5), 462-5. 1992.
- SINGH, G.; MALLAVRAPU, G. R.; RAMESH, S. Chemical investigations on the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Parfuem. Kosmet.*, **75**(3), 164-5. 1994.
- SINGH, G.; UPADHYAY, R. K. Sesquiterpene alcohols from the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Fitoterapia*, **65**(2), 186-7. 1994.
- SINGH, H. B.; HANDIQUE, A. K. Antifungal activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* and its efficacy in biocontrol measures in combination with *Trichoderma harzianum*. *J. Essent. Oil Res.*, **9**(6), 683-687. 1997.
- SINGH, S. P.; SINGH, M.; RAO, G. P.; UPADHYAYA, P. P. Fungitoxic efficacy of some volatile plant products against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease of sugarcane. *Science Publishers Inc.*, **1**, 263-277. 1999.
- SNEDECOR, G.W. Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology. Iowa, The Iowa University Press, 1953. p 482.
- SRIVASTAVA, M.; ASAI, P.; KUMAR, A. Spectrophotometric estimation of methyl chavicol: the potential bio-active agent. *Asian J. Phys.*, **5**(2), 169-171. 1996.
- SUMITOMO FORESTRY CO. LTD. SANSEI PHARMACEUTICAL CO. LTD. Japão. Mitani, H.; Soda, M.; Oshima, K., **Hyaluronidase inhibitors for cosmetic and other manufacturing**. JP 97-205762 19970731, 1999.

- TANOWITZ, B. D.; JUNAK, S. A.; SMITH, D. M. Terpenoids of *Hyptis emoryi*. *J. Nat. Prod.*, **47**(4), 739-40. 1984.
- THOPPIL, J. E.; JOSE, J. Chemical composition of essential oil in two ethnomedicinal species of *Hyptis*. *Acta Pharm. (Zagreb)*, **45**(4), 551-3. 1995.
- TIWARI, V. K.; RAJWAR, G. S.; RAWAT, G. S. Protein and amino acid contents of *Hyptis suaveolens* Poit. *J. Sci. Res. Plants Med.*, **1**(1), 48-51. 1979.
- TIWARI, R. Fungitoxicity of volatile constituents of some higher plants against predominant storage fungi. *Phytopathol.*, **50**(4), 548-551. 1997.
- UPADHYAY, J.; SINGH, R. S.; MISRA, T. N. Chemical constituents of *Hyptis suaveolens* Poit. *Indian J. Pharm. Sci.*, **44**(2), 19-20. 1982.
- URONES, J. G.; MARCOS, S. S.; DIEZ, D.; CUBILLA, L. R. Tricyclic diterpenes from *Hyptis dilatata*. *Phytochemistry*, **48**(6), 1035-1038. 1998.
- UZZAN, A. Natural fatty acids of uncommon structure. *J. Inform. Acides Gras Derives*, 47-54. 1961.
- VEGA-CARRILLO, H. R.; ISKANDER, F. Y.; MANZANARES-ACUNA, E. Elemental distribution in medicinal plants commonly used in folklore medicine in Mexico. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **66**(2), 95-105. 1997.
- VELASCO-NEGUERUELA, A.; PEREZ-ALONSO, M. J.; ESTEBAN, J. L.; GUZMAN, C. A.; ZYGADLO, J. A.; ESPINAR, L. A. Volatile constituents of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. *J. Essent. Oil Res.*, **7**(1), 81-2. 1995.
- VIEIRA, E. F.; RANGEL, S. R. S. Rio Grande do Sul: Geografia física e vegetação. Porto Alegre, ed. Sagra, 1984. 184 p.
- YAMAGISHI, T.; ZHANG, de C.; CHANG, J. J.; MCPHAIL, D. R.; MCPHAIL, A T.; LEE, K. H. Antitumor agents. Part 94. The cytotoxic principles of *Hyptis capitata* and the structures of the new triterpenes hyptatic acid A and B. *Phytochemistry*, **27**(10), 3213-16. 1988.
- ZOGHBI, M. D. B.; ANDRADE, E. H. A.; da SILVA, M. H. L.; MAIA, J. G. S.; LUZ, A. I. R.; da SILVA, J. D. Chemical variation in the essential oils of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. *Flavour and fragrance journal*, **17**(1), 5-8. 2002.
- ZOLLO, P. H. A.; BIYITI, L.; TCHOUMBOUNANG, F.; MENUT, C.; LAMATY, G.; BOUCHET, P. H. Aromatic plants of Tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Flavour Fragrance J.*, **13**(2), 107-114. 1998.

Documentos iconográficos

www.campobom.famurs.com.br

www.campobom.famurs.com.br/turismo.htm

www.swsbm.com/HOME/PAGE/GenusIndex.html