

DITERPENOS TIPO ABIETANO ISOLADOS DE *Plectranthus barbatus* ANDREWS

Roberto L. de Albuquerque, Marta R. Kentopff, Maria Iracema L. Machado, Maria Goretti V. Silva e Francisco José de A. Matos

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidade Federal do Ceará-Campus do Pici, 60451-970 Fortaleza - CE, Brasil

Selene M. Moraes

Universidade Estadual do Ceará, Campus do Itaperi, 60740-903 Fortaleza - CE, Brasil

Raimundo Braz-Filho*

Setor de Química de Produtos Naturais, Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-600 Campos dos Goytacazes - RJ, Brasil

Recebido em 2/10/06; aceito em 11/5/07; publicado na web em 25/10/07

ABIETANE DITERPENOIDS ISOLATION FROM *Plectranthus barbatus*. *Plectranthus barbatus* is largely used in the Northeast region of Brazil by the local population for treatment of digestive problems as substitute of boldo (*Pneumum boldus*). Phytochemical analysis of the leaf extracts of *Plectranthus barbatus* (Labiatae) cultivated in this region yielded two abietane diterpenoids, cyclobutatusin (1) and barbatusin (2) and a new one named 7 β -acetyl-12-deacetoxy-cyclobutatusin (3). The structures of the isolated compounds were established by spectral analysis, using mainly mass spectra and ^1H and ^{13}C NMR (1D and 2D). These procedures permitted the assignment of all chemical shifts in the diterpenoids.

Keywords: *Plectranthus barbatus*; Labiatae; abietane diterpenoids.

INTRODUÇÃO

O gênero *Plectranthus* (sin. *Coleus*) pertencente à família Labiatae (sin. Lamiaceae) envolve cerca de 300 espécies, com ocorrência natural na África, Ásia e Austrália^{1,2}. *Plectranthus barbatus* é uma erva ou subarbusto com folhas pencioladas, elípticas e aveludadas³, popularmente conhecida como malva santa, boldo nacional ou boldo falso. O interesse pelo estudo fitoquímico da espécie *Plectranthus barbatus* foi estimulado pelo amplo uso popular das folhas para tratamento de problemas digestivos^{4,5} em substituição ao boldo do Chile. Espécies do gênero *Plectranthus* apresentam capacidade biossintética para produzir uma variedade de metabólitos secundários, destacando-se entre estes os diterpenos, inclusive alguns com propriedades biológicas comprovadas relevantes⁶⁻¹⁵. Barbatusina, cyclobutatusina¹⁶, 6 β -Hidroxycarnosol¹⁷, barbatusol¹⁸, plectrina¹⁹, cariocal²⁰, coleonon E, coleonon F, plectrinona A, plectrinona B²¹, e 12,9(10 \rightarrow 20)-abeo-abieta-8,11,13-trien-10 β ,11,12-triol²² são constituintes identificados em *P. barbatus*, que apresentam importância farmacológica ou química. Por sua vez o estudo do óleo essencial da parte aérea e raízes da espécie *P. barbatus* apresentou α -pineno, β -felandreno, (Z)- β -ocimeno, manol e abietatrieno^{23, 24}. Neste trabalho, relata-se o isolamento e elucidação estrutural de três diterpenos do tipo abietano, da espécie *Plectranthus barbatus* (*Coleus barbatus*) Andr, cultivada no Horto de Plantas Medicinais Prof. Francisco José de Abreu Matos, da Universidade Federal do Ceará (HPMFJAM/UFC) - cyclobutatusina (1), barbatusina (2) e 7 β -acetil-12-desacetoxicyclobutatusina (3), este inédito na literatura. As estruturas foram estabelecidas com base na análise de dados espectrais, notadamente os obtidos de espectros de RMN ^1H e ^{13}C (1D e 2D) e de massas. A análise detalhada dos espectros 1D e 2D de RMN ^1H

e ^{13}C foi também utilizada na atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio (^1H) e carbono- ^{13}C de 1, 2 e 3 (Tabelas 1, 2 e 3).

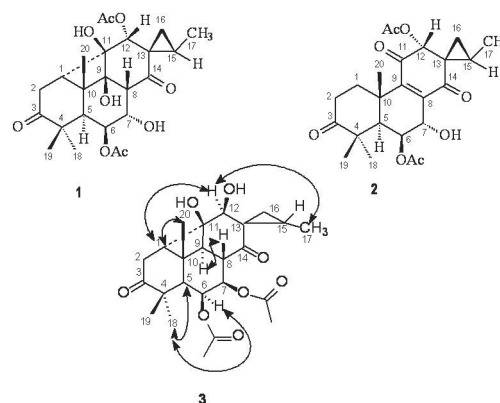


Figura 1. Ciclobutatusina (1); barbatusina (2); 7 β -acetil-12-desacetoxicyclobutatusina (3) e efeito NOE revelados pela subtração de espectros de RMN ^1H

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato clorofórmico proveniente da infusão das folhas de *P. barbatus* foi submetido a fracionamento cromatográfico e forneceu o diterpeno cyclobutatusina (1) e 7 β -acetil-12-desacetoxicyclobutatusina (3). A barbatusina (2) foi isolada do extrato hexânico das folhas de *P. barbatus*, após emprego de sucessivas colunas cromatográficas.

A fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_9$ da cyclobutatusina (1) foi deduzida a partir dos espectros de massas ($[\text{M}]^+$, $m/z= 464$) e de

*e-mail: braz@uenf.br

RMN ^1H e ^{13}C envolvendo experiências 1D e 2D. A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT-135 $^\circ$ permitiu identificar seis sinais de carbonos metílicos, dois metilênicos, sete metínicos incluindo três ligados a átomos de oxigênio: δ_{C} 74,78 (CH-7), 74,90 (CH-6) e 77,16 (CH-12) e nove não hydrogenados. Baseado nestes dados, e dispondo da fórmula molecular estabelecida-se o índice de deficiência de hidrogênio igual a nove, que foi atribuído a quatro carbonilas [duas cetônicas em δ_{C} 212,89 e 211,12 e duas de éster em δ_{C} 171,10 e d 170,76] além de cinco anéis, caracterizando-se um esqueleto diterpênico pentacíclico¹⁶. Todas as informações obtidas através das análises espectrais de RMN de **1** comparadas com os dados de RMN ^1H da literatura²⁵ permitiram caracterizar esta substância como o diterpeno ciclobutatusina (**1**), confirmada pelos dados de RMN bidimensionais de correlação heteronuclear através de uma ligação ($^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) fornecidos pelos espectros HMQC ($^1J_{\text{CH}}$) e HMBC ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$), respectivamente. As experiências 1D (RMN ^1H , RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT) e 2D [^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (n=1, HMQC; n=2 e 3, HMBC) e ^1H - ^1H -NOESY] de RMN (homo e heteronuclear) foram utilizadas também para atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de todos os átomos de hidrogênio e carbono de **1** (Tabela 1). A interação dipolar (proximidade espacial) do H-12 [5,55 (s)] e os 3H-17 [1,17(d; 6,5)] foi revelada pelo efeito NOE observado no espectro 2D ^1H - ^1H -NOESY de **1**.

A fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8$ da barbatusina (**2**) foi determinada com base na análise dos espectros de massas ($[\text{M}]^+$, m/z 446)

e de RMN (^1H : 1D e 2D ^1H - ^1H -COSY; ^{13}C : $\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 $^\circ$). A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT-135 $^\circ$ permitiu identificar dez sinais de carbonos não hydrogenados, cinco metínicos, três metilênicos e seis metílicos. A fórmula molecular resultante permitiu deduzir o índice de deficiência em átomos de hidrogênio ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8 - \text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8 = \text{H}_{20} = 10$), que foi atribuído a três carbonilas cetônicas (δ_{C} 214,61 e duas conjugadas em δ_{C} 195,13 e 193,92); duas carbonilas de éster (δ_{C} 169,81 e 169,32), uma ligação dupla tetra-substituída (δ_{C} 140,59 e δ 152,74) conjugada com grupo carbonila e quatro ciclos, caracterizando-se o esqueleto de um diterpeno tetracíclico. A comparação dos dados de RMN ^1H com valores descritos na literatura para a barbatusina¹⁶ e a análise dos espectros de 1D de RMN ^{13}C ($\{^1\text{H}\}$ e DEPT) e 2D homonuclear ^1H - ^1H -COSY e heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (n=1, HMQC; n=2 e 3, HMBC), (Tabela 2) foram utilizados para confirmação da estrutura do composto **2**, diterpeno tetracíclico conhecido como barbatusina. Análise de raios X e somente dados de RMN ^1H foram usados anteriormente na dedução estrutural da barbatusina (**1**)^{16,25}.

O deslocamento químico do H-6 [5,23 (sl)] e sua interação a longa distância com o carbono C-4 (δ_{C} 46,23) indicaram a presença de um grupo acetoxílico no átomo de carbono C-6. A localização dos grupos carbonílicos nos carbonos C-11 e C-14 e do anel espirociclopropânico foi confirmada pelas interações a longa distância de: a) C-13 (δ_{C} 34,15) com ambos H-12 [4,94 (s)] $^2J_{\text{CH}}$ e 3H-17 [1,08 (d; 6,0)] $^3J_{\text{CH}}$; b) C-11 (δ_{C} 193,92) com H-12 [4,94 (sl)]

Tabela 1. Dados de RMN 1D e 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (HMQC) e ^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (HMBC) de ciclobutatusina (**1**), usando CDCl_3 como solvente. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm) e constantes de acoplamento em Hz*

C	^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (HMQC)		^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (HMBC)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
3	212,89	-		
4	46,57	-	3H-18; 3H-19; H-5	
9	77,04	-	H-8	H-5; 3H-20
10	36,91	-	H-1; H-5; 3H-20	2H-2; H-6
11	76,17	-	H-12	2H-2
13	36,05	-	H-12	3H-17
14	211,12	-		
AcO-6	170,76	-	Me do Ac	H-6
AcO-12	171,10	-	Me do Ac	H-12
CH				
1	51,99	2,39 (dd, $J=9,3$; 4,4)	2H-2	H-5; 3H-20; H-12
5	46,04	2,02 (d, $J=5,0$)	H-6	H-1; 3H-18; 3H-19; 3H-20
6	74,90	5,51 (t, $J=5,4$)	H-7	H-8
7	74,78	3,96 (t, $J=5,4$)	H-6	
8	54,84	2,71 (d, $J=4,6$)	H-7	
12	77,16	5,55 (s)	-	2H-16
15	22,16	1,84 (m)	3H-17	H-12
CH ₂				
2	32,94	2,74 (dd, $J=15,2$; 4,4) 2,43 (dd, $J=15,2$; 9,3)	H-1	-
16	24,72	1,23 (dd, $J=7,7$; 4,2) 0,92 (dd, $J=7,7$; 2,8)		H-12
CH ₃				
17	14,06	1,17 (d, $J=6,5$)		2H-16
18	24,77	1,08 (s)	-	H-5; 3H,19
19	20,05	1,10 (s)	-	H-5; 3H-18
20	17,06	1,31 (s)	-	H-1; H-5
AcO-6	20,73	2,08 (s)	-	-
AcO-12	20,73	2,00 (s)	-	-

* O número de átomos de hidrogênio ligado a cada carbono foi deduzido com base na análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT. Espectro 2D ^1H - ^1H -COSY foi também utilizado na atribuição dos deslocamentos químicos. Os valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram obtidos do espectro 1D de RMN ^1H .

Tabela 2. Dados de RMN 1D e 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (HMQC) e ^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (HMBC) da barbatusina (**2**), usando CDCl_3 como solvente. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm) e constantes de acoplamento em Hz*

C	^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (HMQC)		^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$ (HMBC)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
3	214,61	-	2H-2	3H-18; 3H-19
4	46,23	-	H-5; 3H-18; 3H-19	H-6
8	140,59	-	H-7	H-6
9	152,74	-		H-7; H-12; 3H-20
10	37,61	-	H-5; 3H-20	2H-2; H-6
11	193,92	-	H-12	-
13	34,15	-	H-12	3H-17
14	195,13	-	-	H-12; H-16a
AcO-6	169,81	-	Me do Ac	H-6
AcO-12	169,32	-	Me do Ac	H-12
CH				
5	46,01	2,28 (s)		3H-20
6	70,27	5,23 (sl)		-
7	62,91	4,57 (dd, $J=5,0$; 1,8)		-
12	77,23	4,94 (s)	-	-
15	21,57	2,10 (m)	3H-17	-
CH ₂				
1	34,29	2,20 (m)		-
		1,60 (m)		-
2	33,20	2,60 (m)		-
		2,50 (m)		-
16	25,71	1,31 (dd, $J=8,9$; 4,1)		3H-17
		0,99(m)		-
CH ₃				
17	12,56	1,08 (d, $J=6,0$)		-
18	27,43	1,15 (s)	-	H-5
19	21,63	1,09 (s)	-	H-5
20	20,24	1,58 (s)	H-5	2H-1
AcO-6	21,47	1,95 (s)	-	-
AcO-12	20,01	2,03 (s)	-	-
OH-7		3,67 (d, $J=5,0$)	-	-

* O número de átomos de hidrogênio ligado a cada carbono foi deduzido com base na análise comparativa dos espectros de $\text{RMN}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e RMN^{13}C -DEPT. Espectro 2D ^1H - ^1H -COSY foi também utilizado na atribuição dos deslocamentos químicos. Os valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram obtidos do espectro 1D de RMN^1H .

$^2J_{\text{CH}}$); e c) C-14 (δ_{C} 195,13) com ambos H-12 [4,94 (s) $^2J_{\text{CH}}$ e H-16 [0,99 (m) $^3J_{\text{CH}}$]. Outras interações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) de átomos de carbono e hidrogênio deduzidas do espectro HMBC de **2** encontram-se resumidas na Tabela 2. Resultados obtidos por subtração de espectros de RMN^1H revelaram a presença de efeito NOE entre os átomos de hidrogênio H-12 [4,94 (s) e 3H-17 [1,18 (d; 6,0)], consistente com as configurações relativas 12(S),16(S).

As experiências de RMN (1D e 2D) aplicadas durante o desenvolvimento deste trabalho permitiram a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de todos os átomos de hidrogênio e carbono de **1** e **2** (Tabela 1 e 2).

A fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$ de 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina (**3**) foi deduzida a partir dos espectros de massas ($[\text{M}]^+$, $m/z=448$) e de RMN^1H e ^{13}C envolvendo experiências 1D e 2D. A análise comparativa dos espectros de $\text{RMN}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e RMN^{13}C -DEPT-135 $^\circ$ permitiu identificar oito sinais de carbonos não hidrogenados, oito metínicos, dois metilênicos e seis metílicos. A fórmula molecular resultante, como também os dados de RMN, permitiu deduzir o índice nove de deficiência em átomos de hidrogênio ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_8 - \text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8 = \text{H}_{18} = 9$), que foi atribuído a quatro carbonilas [duas cetônicas em δ_{C} 215,91 e 210,45 e duas de éster em δ_{C} 169,75 e d 170,62] e cinco anéis, análogo a (**1**), caracterizando assim, mais um diterpeno pentacíclico na espécie.

O espectro de RMN^1H revelou sinais correspondentes à presença de quatro grupos metílicos, sendo três terciários 1,11 (s, 3H-18), 1,06

(s, 3H-19) e 1,35 (s, 3H-20) e um secundário em 1,22 (d; 6,4; 3H-17), correlacionados no espectro HMQC com os sinais em δ_{C} 26,37 (CH_3 -18), 19,24 (CH_3 -19), 26,54 (CH_3 -20) e 14,27 (CH_3 -17), respectivamente (Tabela 3). Dois grupos acetoxílicos foram caracterizados pelos sinais simples em 1,99 (s) e 2,03 (s), atribuídos a seus grupos metílicos, que revelaram correlação heteronuclear direta no espectro HMQC com o sinal em δ_{C} 21,77 e 21,04 e envolvendo duas ligações no HMBC com os sinais de carbonos carbonílicos em δ_{C} 170,62 e 169,75 respectivamente (Tabela 3). O espectro 2D ^1H - ^1H -COSY revelou com clareza a interações spin-spin do átomo de hidrogênio H-9 [2,67 (d; 11,3) com o H-8 [3,03 (dd; 7,9; 11,3), confirmando a ausência de um grupo hidroxil no C-9; o hidrogênio metínico 1H-12 [3,93 (sl)] com o hidrogênio da hidroxila OH-12, confirmando a presença de outro grupo hidroxil em C-12, desta forma estes dois acoplamentos evidenciam diferenças entre 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina (**3**) e ciclobutatusina (**1**). Observou-se ainda o deslocamento do hidrogênio H-7 [4,20 (dd, 7,9; 2,6)] diferente do mesmo hidrogênio H-7 [3,93 (t, 5,4)] de ciclobutatusina, por este se apresentar ligado um grupamento acetil, que favorece um cone de desproteção química. Este, por sua vez, acoplava vicinal com o hidrogênio H-6 [5,16 (d, 2,6)] na técnica 2D de COSY. A comparação do deslocamento químico de $\text{RMN}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina (**3**) com ciclobutatusina (**1**), mostrou diferenças significativas entre elas, principalmente nas absorções em C-7 [δ 72,00]; C-9 [δ 47,14] e C-12 [δ 72,65] de 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina em relação às absorções de C-7

Tabela 3. Dados de RMN 1D e 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{\text{CH}}$ (HETCOR) e ^1H - ^{13}C -COSY- nJ_{CH} (COLOC) da 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina (**3**), usando CDCl_3 como solvente. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm) e constantes de acoplamento em Hz*

C	^1H , ^{13}C - COSY (HETCOR)		^1H , ^{13}C - COSY (COLOC)	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
3	215,91	-	-	3H-18; 3H-19
4	46,63	-	3H-18; 3H-19; H-5	-
10	30,81	-	-	-
11	81,12	-	H-5; 3H-20; 1H-12	-
13	38,12	-	-	3H-17
14	210,45	-	-	-
AcO-6	170,62	-	-	-
AcO-7	169,75	-	-	-
CH				
1	54,32	2,48 (dd, $J=10,1$; 6,6)	-	-
5	38,86	3,65 (s)	-	3H-18; 3H-19
6	71,46	5,16 (d, $J=2,6$)	-	-
7	68,72	4,20 (dd, $J=7,9$; 2,6)	-	-
8	42,14	3,03 (dd, $J=7,9$; 11,3)	-	-
9	47,14	2,67 (d, $J=11,3$)	-	3H-20
12	72,65	3,93 (sl)	-	-
15	22,59	1,90 (m)	3H-17	-
CH ₂				
2	34,77	3,90 (dd, $J=13,3$; 6,6) 2,42 (dd, $J=13,3$; 10,1)	-	-
16	32,11	1,39 (dd, $J=8,9$; 3,5) 0,61 (dd, $J=7,1$; 3,5)	-	-
CH ₃				
17	14,27	1,22(d, $J=6,4$)	-	-
18	26,37	1,11 (s)	-	H-5
19	19,24	1,06 (s)	-	H-5
20	26,57	1,35 (s)	-	H-5
AcO-6	21,77	1,99 (s)	-	-
AcO-7	21,04	2,03 (s)	-	-
HO	-	5,60 (sl)	-	-

* O número de átomos de hidrogênio ligado a cada carbono foi deduzido com base na análise comparativa dos espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e RMN ^{13}C -DEPT. Espectro 2D ^1H - ^1H -COSY foi também utilizado na atribuição dos deslocamentos químicos. Os valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram obtidos do espectro 1D de RMN ^1H .

[δ 74,78]; C-9 [δ 77,04] e C-12 [δ 77,16] de ciclobutatusina; revelando desta forma outro composto semelhante à ciclobutatusina, porém com diferenças nas posições dos grupamentos acetil (C-7), hidroxil (C-12) e ausência de hidroxila em C-9. O espectro HMBC permitiu comprovar que o átomo de carbono C-11 (δ_{C} 81,12) acoplava com o átomo de hidrogênio do carbono C-12 [δ_{C} 72,65/3,93 (sl) $^2J_{\text{CH}}$] revelando a presença de duas hidroxilas próximas. Por sua vez, a interação dos átomos de carbono quaternário C-13 (δ_{C} 38,12) e carbono metínico C-15 (δ_{C} 22,59) acoplava com os átomos de hidrogênio 3H-17 [1,22 (dd; 6,4)] a $^3J_{\text{CH}}$, $^2J_{\text{CH}}$, respectivamente (Tabela 3), que foram usadas para localização do anel espirometilciclopropânico no carbono C-13. O espectro 2D $^1\text{Hx}^1\text{H}$ -COSY através dos acoplamentos *geminado* do H-16 α [1,39 (dd; 8,9; 3,5)] com H-16 β [0,61 (dd; 7,1; 3,5)] e *vicinais* dos dois H-16 com H-15 [1,90; (m)] e de H-15 com os 3H-17 [1,22 (d; 6,4)] forneceu informações adicionais que contribuíram para tais deduções (Tabela 3). Outras interações a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) de átomos de carbono e hidrogênio deduzidas do espectro HMBC de **3** encontram-se resumidas na Tabela 3. Todas as informações obtidas através das análises espectrais de RMN de **3** comparadas com os dados de RMN ^1H da literatura²⁵ para ciclobutatusina permitiram caracterizar esta substância como sendo um novo diterpeno denominado 7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina, além dos dados de RMN bidimensionais de correlação heteronuclear através de uma ligação

($^1J_{\text{CH}}$) e a longa distância ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$) fornecidos pelos espectros HETCOR ($^1J_{\text{CH}}$) e COLOC ($^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$), respectivamente. A interação dipolar (proximidade espacial) do H-1 [2,48 (dd; 10,1; 6,6)] em posição β com H-12 [3,93 (sl)] também em β e do H-7 [4,20 (dd, 7,9; 2,6)] em posição α com H-8 [3,03 (dd 7,9; 11,3)] em β este favorecido devido a grande torção da estrutura e não presença da hidroxila em C-9 que favorece estereoquímica diferente da estrutura **1** e **2**, estes efeitos foram revelados pelo efeito NOE observado no espectro 2D ^1H - ^1H -NOESY de **3**.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN foram obtidos nos equipamentos Bruker - Avance 500 (^1H : 500 MHz; ^{13}C : 125 MHz) e Jeol - 400 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz) do CENAUREMN - Programa de Pós-graduação em Química Orgânica - UFC e Laboratório de Ciências Químicas - CCT -UENF, respectivamente, tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS) ou o próprio solvente. Os espectros de massas foram registrados por impacto eletrônico (70 eV) em um aparelho GC/MS Hewlett - Packard 5971 usando coluna capilar (30 m x 0,25 mm) dimetilpolisiloxano BD-1, He como gás de arraste e

as temperaturas de 250 °C no injetor, 200° C no detector e variação de 1°/min entre 35 -180 °C e 10 °C/min entre 180 – 250 °C na coluna. Nas separações cromatográficas em coluna usou-se gel de sílica 60 da Merck (θ mm 0,063-0,200) e gel de sílica 60 da Vetec (θ mm 0,063-0,200), quitina, sephadex LH 20 da Pharmacia Biotech e amberlite - (XAD2). Para as cromatografias em camada delgada utilizaram-se placas de vidro nas dimensões de 10x5 cm, sendo uma das faces revestidas por camada com 0,5 mm de espessura, constituída de gel de sílica 60G da Vertec (5-40 μ m), além de cromatoplaças de gel de sílica 60 (ϕ mm 0,002 – 0,0250) T-6145 sobre poliéster com indicador de fluorescência na faixa de 254 η m da Sigma. As placas cromatográficas foram reveladas com luz UV (λ_{\max} 254 – 365 η m), vapores de iodo e/ou solução alcoólica de vanilina e ácido sulfúrico. Para obtenção dos pontos de fusão foram empregados dois equipamentos: um aparelho de micro determinação Mettler provido de placa aquecedora modelo FP-52 e unidade de controle FP-5 e outro da Microquímica modelo APF-301. A determinação foi realizada em ambos a uma velocidade de aquecimento de 2 °C/min.

Material vegetal

O material vegetal foi coletado no Horto de Plantas Medicinais Francisco José de Abreu Matos da Universidade Federal do Ceará (HPM-FJAM/UFC). A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. R. M. Harley especialista em Labiatae do Royal Botanic Gardens (UK) e a exsiccata da espécie encontra-se depositada no herbário Prisco Bezerra da UFC, Brasil, sob o número 28.601.

Extração e isolamento dos constituintes químicos

O extrato aquoso a quente das folhas frescas (765 g) de *P. barbatus* foi extraído exaustivamente com clorofórmio fornecendo 750 mg de resíduo com aspecto físico pastoso, que analisado em cromatografia em camada delgada (CCD) apresentou três manchas bem distintas quando revelados com vapores de iodo. O extrato clorofórmico foi submetido à cromatografia em coluna (CC) sob Sephadex LH-20 (70 g), utilizando-se como eluentes metanol e água puros ou misturados. Foram obtidas 81 frações de 5 mL cada que posteriormente foram reagrupadas após análise em CCD em sílica gel. A fração F5-13 (751 mg), obtida a partir de frações eluídas com MeOH:água 10%, foi submetida à CC em gel de sílica empregando-se, clorofórmio, acetato de etila e metanol puros ou como misturas binárias em gradiente crescente de polaridade como eluentes. Desta coluna foi possível obter duas frações com maior grau de pureza que quando analisadas por CCD permitiu verificar a existência de dois sólidos amorfos amarelados (**1** e **3**) puros.

As folhas de *P. barbatus* Andr. (13 kg) foram secas, trituradas e submetidas à extração exaustiva com hexano em aparelho Soxhlet. O extrato hexânico após destilação do solvente sob pressão reduzida forneceu 38 g de um resíduo, que foi submetido à análise cromatográfica em gel de sílica (CC), utilizando-se hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol como eluentes. Empregou-se novamente análise cromatográfica em gel de sílica com a fração obtida após evaporação do acetato de etila produzindo a fração F31-37 (hexano/acetato de etila, 20%) que, após ter sido tratada por cromatografia em coluna gravitacional utilizando quitina como fase estacionária e tendo como fase móvel éter de petróleo e metanol forneceu a fração F25-33 (éter de petróleo/metanol, 20%) que posteriormente foi purificada por CC usando amberlite (XAD2) como fase fixa e como fase móvel água e etanol, produziu **2** (29,3 mg), um sólido amorfo de coloração amarela e ponto de fusão 216-218 °C.

Ciclobutatusina (**1**): Sólido amorfo amarelo, p. f. 195-198 °C. Dados de RMN¹H e RMN¹³C: Tabela 1. IV (KBr) ν_{\max} /cm⁻¹: 3480 (OH), 1740 (C=O), 1710 (C=O), 1670 (C=O), 1233 (C-O) cm⁻¹. EMIE (70 eV) *m/z* (int. rel.): 464 (14); 446 (32); 422 (46) 404 (33); 386 (13) 345 (19); 326 (40); 311(28).

Barbatusina (**2**): Sólido amorfo amarelo, p. f. 216,7-218,1 °C. Dados de RMN ¹H e RMN¹³C: Tabela 2. IV (KBr) ν_{\max} /cm⁻¹: 3491 (OH); 1743 (C=O); 1718 (C=O), 1704 (C=O), 1678 (C-O) cm⁻¹. EMIE (70 eV) *m/z* (int. rel.): 446 (19,4); 404 (6,5); 386 (23,1); 344 (37,9); 327 (44,3); 326 (100), 311 (38), 283 (28,5), 298 (24,2).

7 β -acetil-12-desacetoxiciclobutatusina (**3**): Sólido amorfo alaranjado, p. f. 184-187 °C. Dados de RMN ¹H e RMN¹³C: Tabela 3. IV (KBr) ν_{\max} /cm⁻¹: 3396 (OH); 1738 (C=O); 1237 (C-O), cm⁻¹. EMIE (70 eV) *m/z* (int. rel.): 448 (8,0); 388 (29,4); 328 (33,5); 326 (38,9); 311 (24,7); (Esquema 1).

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, BASA, FUNCAP e FAPERJ pelas bolsas e apoios financeiros concedidos, ao PADETEC (Parque de Desenvolvimento Tecnológico do Ceará) pela obtenção dos GC/MS e ao CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear) pelos espectros 1D e 2D de RMN.

REFERÊNCIAS

- Harley, R. M.; Reynolds, T.; *Advances in Labiatae Science*, Royal Botanic Gardens Kew: Great Britain, 1992.
- Lia, A.; Cristina, A. F.; Barroso, J. G.; Pedrol, G.; Schripsema, J.; Dean, S. J.; Scheffer, J. C.; *Int. J. Plant Sci.* **1998**, *159*, 31.
- Matos, F. J. A.; *Farmácias Vivas Sistema de Utilização de Plantas Medicinais*, 2ª ed., Edições UFC: Fortaleza, 1994.
- Lapa, A. J.; Fischman, L. A.; Skoropa, L. A.; Souccar, C.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **1991**, *86* (Suppl. II), 141.
- Schultz, C.; Bossolani, M. P.; Torres, L. M. B.; Laudmane, M. T. R. L.; Lapa, A. J.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *101*, 1.
- Marques, C. G.; Rijo, P.; Simões, M. F.; Duarte, A.; Rodriguez, B.; *Phytomedicine* **2006**, *13*, 267.
- Cerqueira, F.; Silva, A. C.; Marques, C. G.; Simões, M. F.; Pinto, M. M. M.; Nascimento, M. S. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 217.
- Marques, C. G.; Simões, M. F.; Rodry, G. B.; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 614.
- Juch, M.; Ruedi, P.; *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 436.
- Buznego, M. T.; Perez-Saad, H.; *Rev. Neurologia* **1999**, *29*, 388.
- Abdel-Mogib, M.; Albar, H. A.; Batterjee, S. M.; *Molecules* **2002**, *7*, 271.
- Hagiwara, H.; Takeuchi, F.; Hoshi, T.; Suzuki, T.; Hashimoto, T.; Asakawa, Y.; *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2305.
- Rijo, P.; Marques, C. G.; Simões, M. F.; Duarte, A.; Rojas, M. C. A.; Cano, F. H.; Rodriguez, B.; *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1387.
- Costa, M. C.; Nascimento, S. C.; *Acta Farm. Bonaerense* **2003**, *22*, 155.
- Wellsow, J.; Grayer, R. J.; Veitch, N. C.; Kokatan, T.; Lelli, R.; Kite, G. C.; Simmonds, M. S. J.; *Phytochemistry* **2006**, *67*, 1818.
- Zelnik, R.; Lavie, D.; Levy, E. C.; Wang, I. C. P.; *Tetrahedron* **1977**, *33*, 1457.
- Kelecom, A.; *Quim. Nova* **1983**, *6*, 117.
- Kelecom, A.; *Tetrahedron* **1983**, *39*, 3603.
- Kubo, I.; Matsumoto, T.; Tori, M.; Asakawa, Y.; *Chem. Lett.* **1984**, *9*, 1513.
- Kelecom, A.; Santos, T. C.; *Tetrahedron. Lett.* **1985**, *26*, 3659.
- Ruedi, P.; *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 972.
- Kelecom, A.; Santos, T. C.; Medeiros, W. L. B.; *Phytochemistry* **1987**, *26*, 2337.
- Kerntopf, M. R.; Albuquerque, R. A.; Machado, M. I. L.; Matos, F. J. A.; Craveiro, A. A.; *J. Essent. Oil Res.* **2002**, *14*, 101.
- Albuquerque, R. L.; Silva, M. G. V.; Machado, M. I. L.; Matos, F. J. A.; Morais, S. M.; Neto, J. S.; *Flav. & Fragr. J.* **2006**, *22*, 24.
- Andrew, H. J.; Wang, I. C. P.; Zelnik, R.; Lavie, D.; Levy, E. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *23*, 580.