



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**JOÃO VITO BARROSO DE FREITAS**

**ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON MUSCICARPA* MÜLL. ARG.**  
**(EUPHORBIACEAE)**

**FORTALEZA-CEARÁ**

**2012**

JOÃO VITO BARROSO DE FREITAS

ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON MUSCICARPA* MÜLL. ARG.  
(EUPHORBIACEAE)

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil.

FORTALEZA – CEARÁ

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- F936e Freitas, João Vito Barroso de.  
Estudo químico de *Croton muscicarpa* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) / João Vito Barroso de Freitas.  
– 2012.  
115 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2012.  
Área de Concentração: Química Orgânica.  
Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil
1. Cróton (Botânica). 2. Euphorbiaceae. 3. Terpenos. 4. *Croton* – Química. I. Título.
- 

CDD 547

JOÃO VITO BARROSO DE FREITAS

ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON MUSCICARPA* MÜLL. ARG.  
(EUPHORBIACEAE)

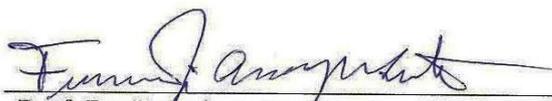
Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química Área de concentração Química Orgânica.

Aprovada em: 26 / 01 / 2012

EXAMINADORES:



Prof. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Francisco José Queiroz Monte  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Dr. Kirley Marques Canuto  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA

*“Melhor é serem dois do que um, por que têm melhor paga do seu trabalho. Porque se um cair, o outro levanta o seu companheiro; mas ai do que estiver só; pois, caindo, não haverá outro que o levante.”*

*Eclesiastes 4: 9-10.*

Agradeço a Deus por todas as oportunidades e por guiar meus caminhos. Dedico este trabalho à minha mãe Aldenise, aos meus avós D’deusa e Pedro Batista (*in memoriam*); à minha irmã Aldejane. À minha namorada, Neily, pelo incentivo, amor e paciência.

## AGRADECIMENTOS

Neste momento especial da minha vida, quero em primeiro lugar agradecer a Deus, por iluminar e guiar meus caminhos.

À minha mãe, Maria Aldenise por sempre ter primado pela minha educação, por seu amor, e pela referência de grande ser humano que é.

À minha avó, Francisca Barroso (D' deusa), que sempre me coloca em suas orações, e é para mim uma segunda mãe.

Ao meu avô, Pedro Batista - o meu velho e indivisível "*avohai*" - que me deixou grandes lições e exemplos que nortearão minha vida para sempre.

À minha namorada, Neily Tavares, pelo seu amor, companheirismo, dedicação e carinho. Você me completa.

À minha irmã, Aldejane que sempre comemorou comigo as minhas conquistas e me apoiou nos momentos difíceis.

Aos meus amigos, Batista Filho, Angélica, Ney, Liana, Éder e Athus que sempre me estimulam e incentivam.

À Professora, Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil, que há seis anos me deu a oportunidade de trabalhar ao seu lado, me ensinando os caminhos da vida acadêmica. Também por sua compreensão, atenção e amizade, que a tornam uma orientadora singular.

Ao professor Francisco José Queiroz Monte, pelas aulas e explicações que ajudaram muito durante a realização deste trabalho; e por aceitar prontamente o convite para participar da banca examinadora.

Ao pesquisador Dr. Kirley Marques Canuto, por aceitar o convite para contribuir com este trabalho. Estou certo de suas valiosas contribuições.

Ao professor Edilberto Rocha Silveira, que fez a coleta do material botânico e forneceu as fotos da espécie em estudo.

Aos professores Mary Anne Souza Lima, Otília Deusdênia Loiola Pessoa, Daniel Esdras de A. Uchoa, Marcos Carlos de Matos, Telma Leda G. Lemos por terem alicerçado os fundamentos teóricos essenciais para um bom rendimento acadêmico, colaborando com meu desenvolvimento intelectual.

Aos amigos antigos do LAFIPLAM, Artur, Henrique, Rudi e Flávio que me ensinaram bastante, com dicas preciosas sobre prática no laboratório, no período em que comecei na pesquisa de produtos naturais.

Aos amigos dos LAFIPLAMs 1, 2 e 3: Patrícia, Karísia, Naiara, Karine, Isabel, Ceiza, Ticiane, Paulo, Paula, Honório, Regivaldo, Daniel, Milton, Antônia e Chaguinha. Espero ter lembrado de todos.

Aos meus amigos de grupo: Duvilardo, Mariano, Antônio Neto e Paulo Vitor pela ótima convivência sempre divertida. Em especial, ao Mariano e ao Duvilardo, pelas sugestões, auxílio nos experimentos, e pela grande ajuda nos momentos finais do desenvolvimento deste trabalho. A vocês muito obrigado!

Aos meus amigos da turma antigos e novos: Max, grande amigo e companheiro, Felipe, Juliana, Carlos, Elaine, Irvila e Jeison, pela atenção, apoio e momentos divertidos que passamos juntos.

A todos os demais colegas do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica.

Aos funcionários da UFC, Raimunda, Aurilana, Sr. Paulo e Célia que forneceram condições adequadas para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos órgãos financiadores CAPES, FUNCAP e CNPq.

A todos que por ventura não foram citados, mas que contribuíram de uma forma ou de outra para a execução deste trabalho.

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois inquieta. O que ela quer da gente é coragem.”

Guimarães Rosa

## RESUMO

Este trabalho descreve o estudo químico de *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae), planta nativa do Nordeste do Brasil, popularmente conhecida como “velame-de-cheiro”. A espécie foi coletada na Chapada Diamantina no estado da Bahia, e sua investigação química foi realizada através do isolamento e caracterização de metabólitos secundários presentes nos extratos etanólico dos talos e hexânico das raízes. Foram isolados dos talos os sesquiterpenos, espatulenol e 6 $\alpha$ -metóxi-cipereno, este último de descrição inédita na literatura. Das raízes foram isolados o triterpeno, ácido acetil aleuritólico (AAA) e uma polimetoxiflavona, a 5-hidroxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona (artemetina). O isolamento dos constituintes químicos foi realizado por métodos cromatográficos convencionais e a determinação estrutural das substâncias isoladas realizada através do uso de técnicas espectrométricas como: Infravermelho (IV), Espectrometria de Massa (EM) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e Carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C), incluindo técnicas bidimensionais (COSY, HSQC, HMBC e NOESY) e comparação com os dados descritos na literatura.

**Palavras-chave:** *Croton muscicarpa*. Sesquiterpeno. Flavonóide. Triterpeno.

## ABSTRACT

This work describes the chemical composition of *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae), a native plant to Northeastern Brazil, popularly known as “velame-de-cheiro”. The species was collected in the Chapada Diamantina, Bahia, and its phytochemical investigation was carried out through the isolation and characterization of secondary metabolites present in the ethanol extract from stems and hexane extract from roots. The sesquiterpenes, spathulenol and 6 $\alpha$ -methoxy-cyperene, this latter is reported for the first time in the literature, were isolated from the stems. From roots, the triterpene, acetyl aleuritic acid (AAA) and the polymethoxyflavone, 5-hydroxy-3,6,7,3',4'-pentamethoxyflavone (artemetin) were isolated. The isolation of chemical constituents was performed by conventional chromatographic methods and structural determination of the isolated substances accomplished through the use of spectrometric techniques such as Infrared (IR), Mass Spectrometry (MS) and Nuclear Magnetic Resonance Hydrogen ( $^1\text{H}$  NMR) and Carbon-13 ( $^{13}\text{C}$  NMR), including two-dimensional techniques (COSY, HSQC, HMBC and NOESY) and comparison with the data described in the literature.

**Keywords:** *Croton muscicarpa*. Sesquiterpene. Flavonoid. Triterpene.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esqueletos dos principais diterpenos isolados do gênero <i>Croton</i> .....	21
Figura 2 – Fotos de <i>Croton muscicarpa</i> Müll. Arg.....	26
Figura 3 – Formação cabeça-cauda dos esqueletos carbonados dos compostos mono- e sesquiterpenóides.....	28
Figura 4 – Estrutura de CM-1.....	48
Figura 5 – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-1 em filme de KBr.....	50
Figura 6 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 .....	50
Figura 7 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1.....	51
Figura 8 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-1.....	51
Figura 9 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-1 (Expansão).....	52
Figura 10 – Espectro de Massas de CM-1 (IE, 70 eV).....	52
Figura 11 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1.....	53
Figura 12 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (Expansão).....	53
Figura 13 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1.....	54
Figura 14 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1...	54
Figura 15 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (Expansão).....	55
Figura 16 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY de CM-1.....	55
Figura 17 – Estrutura do Espatuleno.....	59

Figura 18 – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-2 em filme de KBr.....	61
Figura 19 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2.....	61
Figura 20 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2.....	62
Figura 21 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-2.....	62
Figura 22 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-2 (Expansão).....	63
Figura 23 – Espectro de Massas de CM-2 (IE, 70 eV).....	63
Figura 24 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2....	64
Figura 25 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão).....	64
Figura 26 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2.....	65
Figura 27 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão).....	65
Figura 28 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2...	66
Figura 29 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão).....	66
Figura 30 – Estrutura básica de um esqueleto triterpênico do tipo oleanano.....	69
Figura 31 – Estrutura do Ácido Acetil-Aleuritólico (AAA).....	70
Figura 32 – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-3 em filme de KBr.....	72
Figura 33 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-3.....	72
Figura 34 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-3 (Expansão).....	73
Figura 35 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3.....	73

Figura 36 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão).....	74
Figura 37 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3.....	74
Figura 38 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3.....	75
Figura 39 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão).....	75
Figura 40 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3...	76
Figura 41 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão).....	76
Figura 42 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão).....	77
Figura 43 – Esqueleto base de uma flavona.....	80
Figura 44 – Estrutura da Artemetina.....	82
Figura 45 – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-4 em filme de KBr.....	83
Figura 46 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4.....	83
Figura 47 – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4.....	84
Figura 48 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-4.....	84
Figura 49 – Espectro de Massas de CM-4 (IE, 70 eV).....	85
Figura 50 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4.....	85
Figura 51 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão).....	86
Figura 52 – Espectro de RMN 2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4.....	86
Figura 53 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4...	87

Figura 54 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão).....	87
Figura 55 – Espectro RMN 2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão).....	88

## **LISTA DE FLUXOGRAMAS**

Fluxograma 1 – Isolamento de CM-1.....	94
Fluxograma 2 – Isolamento de CM-2.....	96
Fluxograma 3 – Isolamento de CM-3.....	100
Fluxograma 4 – Isolamento de CM-4.....	104

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Substâncias isoladas de <i>Croton muscicarpa</i> em trabalhos anteriores.....	22
Quadro 2 – Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero <i>Croton</i> .....	29
Quadro 3 – Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero <i>Croton</i> .....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sesquiterpenos encontrados nos óleos essenciais de <i>Croton</i> .....	31
Tabela 2 – Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C-CPD de CM-1 com padrão de hidrogenação [(RMN <sup>13</sup> C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz)].....	44
Tabela 3 – Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de HSQC e HMBC ( <sup>2</sup> J, <sup>3</sup> J e <sup>4</sup> J) (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de CM-1, comparado com os valores da literatura de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) para o sesquiterpeno cipereno .....	49
Tabela 4 – Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C-CPD de CM-2 com padrão de hidrogenação [(RMN <sup>13</sup> C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz)].....	56
Tabela 5 – Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de HSQC e HMBC ( <sup>2</sup> J, <sup>3</sup> J) (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de CM-2, comparado com os valores da literatura de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (400 x 100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) para o sesquiterpeno espatulenol.....	60
Tabela 6 – Deslocamentos químicos de RMN <sup>13</sup> C-CPD de CM-3 com padrão de hidrogenação [(RMN <sup>13</sup> C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz)].....	68
Tabela 7 – Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de HSQC (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de CM-3 ( <b>1</b> ), comparado com os valores de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C da literatura (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) para o ácido acetil-aleuritólico (AAA).....	71
Tabela 8 – Deslocamento químico de RMN <sup>13</sup> C-CPD de CM-4 com padrão de hidrogenação [(RMN <sup>13</sup> C-CPD e DEPT (θ = 135), δ, CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz)].....	79
Tabela 9 – Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de HSQC e HMBC ( <sup>2</sup> J, <sup>3</sup> J e <sup>4</sup> J) (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de CM-4, comparado com os valores da literatura de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (200 x 50 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) para a 3-metoxiflavona flavona Artemetina.....	82
Tabela 10 – Particionamento do extrato etanólico CMET.....	92
Tabela 11 – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H.....	93

Tabela 12 – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H-[72-74].....	95
Tabela 13 – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H-[72-74]-[13-23].....	95
Tabela 14 – Frações da coluna filtrante de CMHR.....	97
Tabela 15 – Frações da coluna cromatográfica de CMHR-[2].....	98
Tabela 16 – Frações da coluna flash de CMHR-[2]-[87-97].....	99
Tabela 17 – Frações da coluna cromatográfica de CMHR-[4-5].....	101
Tabela 18 – Frações da coluna flash de CMHR-[3].....	102
Tabela 19 – Frações da coluna flash de CMHR-[4-5]-[52-53] + CMHR-[3]-[48].....	103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>BB</b>	Broad band
<b>CC</b>	Cromatografia Líquida em Coluna
<b>CCD</b>	Cromatografia de Camada Delgada
<b>COSY</b>	Correlation Spectroscopy
<b>CPD</b>	Composite Pulse Decoupling
<b><math>\delta</math></b>	Deslocamento químico
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>EM</b>	Espectrometria de Massas
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Coherence
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IDH</b>	Índice de Deficiência de Hidrogênio
<b>IE</b>	Ionização por Elétrons
<b>IV</b>	Infravermelho
<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamento
<b>NOESY</b>	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
<b>ppm</b>	partes por milhão
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
<b>UV</b>	Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS</b> .....	24
1.1 Considerações botânicas sobre a família Euphorbiaceae.....	24
1.2 Considerações botânicas sobre o gênero <i>Croton</i> .....	25
1.3 Considerações botânicas sobre as espécies <i>Croton muscicarpa</i> .....	26
<b>CAPÍTULO 2 – LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO</b> .....	27
2.1 Terpenóides e Sesquiterpenos – Definição .....	27
2.2 Relato de Sesquiterpenóides no gênero <i>Croton</i> .....	28
<b>CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL</b> .....	44
3.1 Determinação estrutural de CM-1.....	44
3.2 Determinação estrutural de CM-2.....	56
3.3 Determinação estrutural de CM-3.....	67
3.4 Determinação estrutural de CM-4.....	78
<b>CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	89
4.1 Coleta do Material.....	89
4.2 Métodos Cromatográficos.....	89
4.2.1 Cromatografia Líquida em Coluna (CC).....	89
4.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	89
4.3 Métodos Espectroscópicos .....	90
4.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV).....	90
4.3.2 Espectrometria de Massas (EM).....	90
4.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	90
4.4 Métodos Físicos.....	91
4.4.1 Ponto de Fusão.....	91
4.5 Obtenção do extrato etanólico dos talos de <i>C. muscicarpa</i> – CMET.....	91
4.5.1 Tratamento cromatográfico de CMET.....	92

4.5.2	Fracionamento cromatográfico de CMET-H e isolamento de CM-1.....	92
4.5.3	Isolamento de CM-2.....	94
4.6	Obtenção do extrato hexânico das raízes de <i>C. muscicarpa</i> – CMHR.....	96
4.6.1	Fracionamento cromatográfico de CMHR.....	97
4.6.2	Isolamento de CM-3.....	97
4.6.3	Isolamento de CM-4.....	100
<b>CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO.....</b>		<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>		<b>106</b>

## INTRODUÇÃO

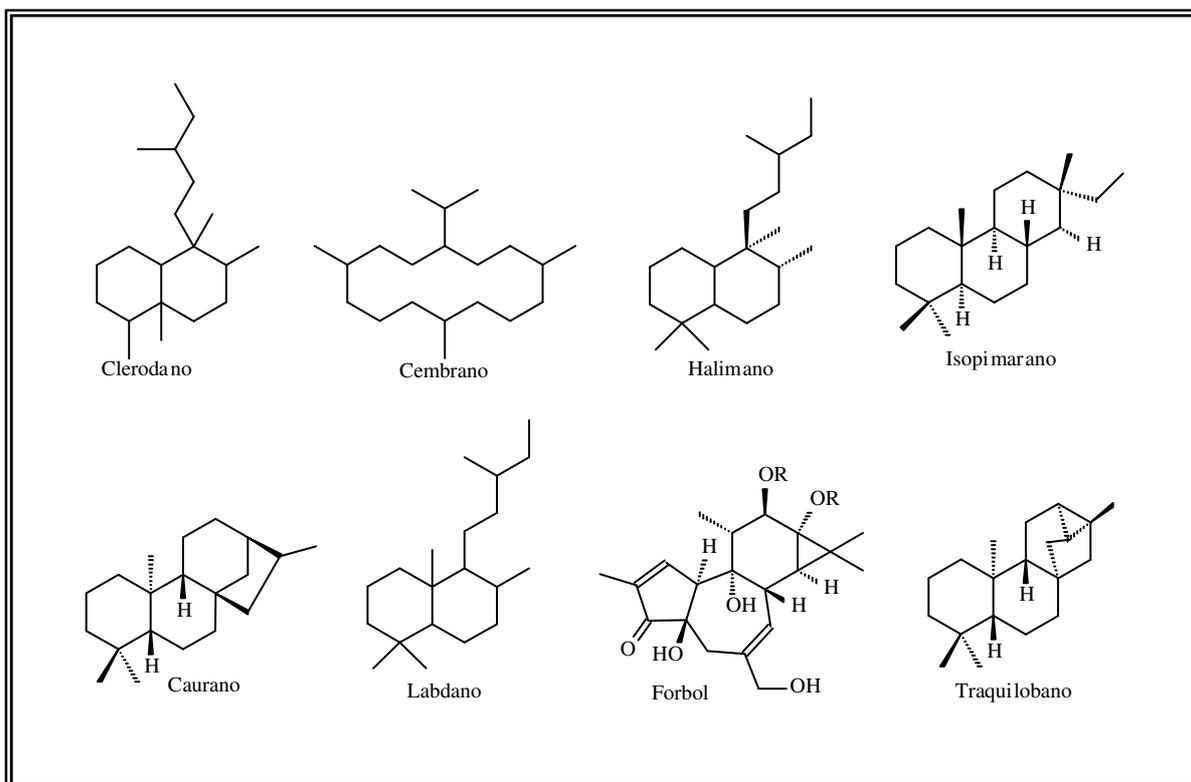
Utilizadas desde a antiguidade como fonte de novos fármacos, as plantas ainda são alvos de interesse nas pesquisas de produtos naturais. Pois, o estudo dos constituintes químicos produzidos pelo metabolismo secundário destes organismos continua proporcionando a descoberta de diversas substâncias bioativas (Moraes e Braz-Filho, 2007).

O gênero *Croton*, um dos maiores da família Euphorbiaceae, é representado por espécies que há muito tempo desempenham papel importante na medicina tradicional em diferentes partes do mundo. Tais usos incluem tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos, diabetes, feridas externas, febre, hipertensão, inflamação, malária, dor, úlceras e obesidade (Salatino *et al.*, 2007). Comprovando os usos tradicionais, extratos, óleos essenciais e substâncias puras obtidas de espécies de *Croton* têm demonstrado ampla faixa de propriedades biológicas (Bezerra *et al.*, 1986; Eisenreich *et al.*, 2003; Magalhães *et al.*, 2004; Sylvestre *et al.*, 2006), o que torna este gênero uma fonte promissora de compostos bioativos.

Nas plantas da família Euphorbiaceae, têm sido relatados inúmeros compostos pertencentes a diferentes classes químicas. Dentre elas, as principais são diterpenos, alcalóides, flavonóides e triterpenóides, contudo cumarinas, glicosídeos cianogênicos e taninos também são relatados (Torres, 2008).

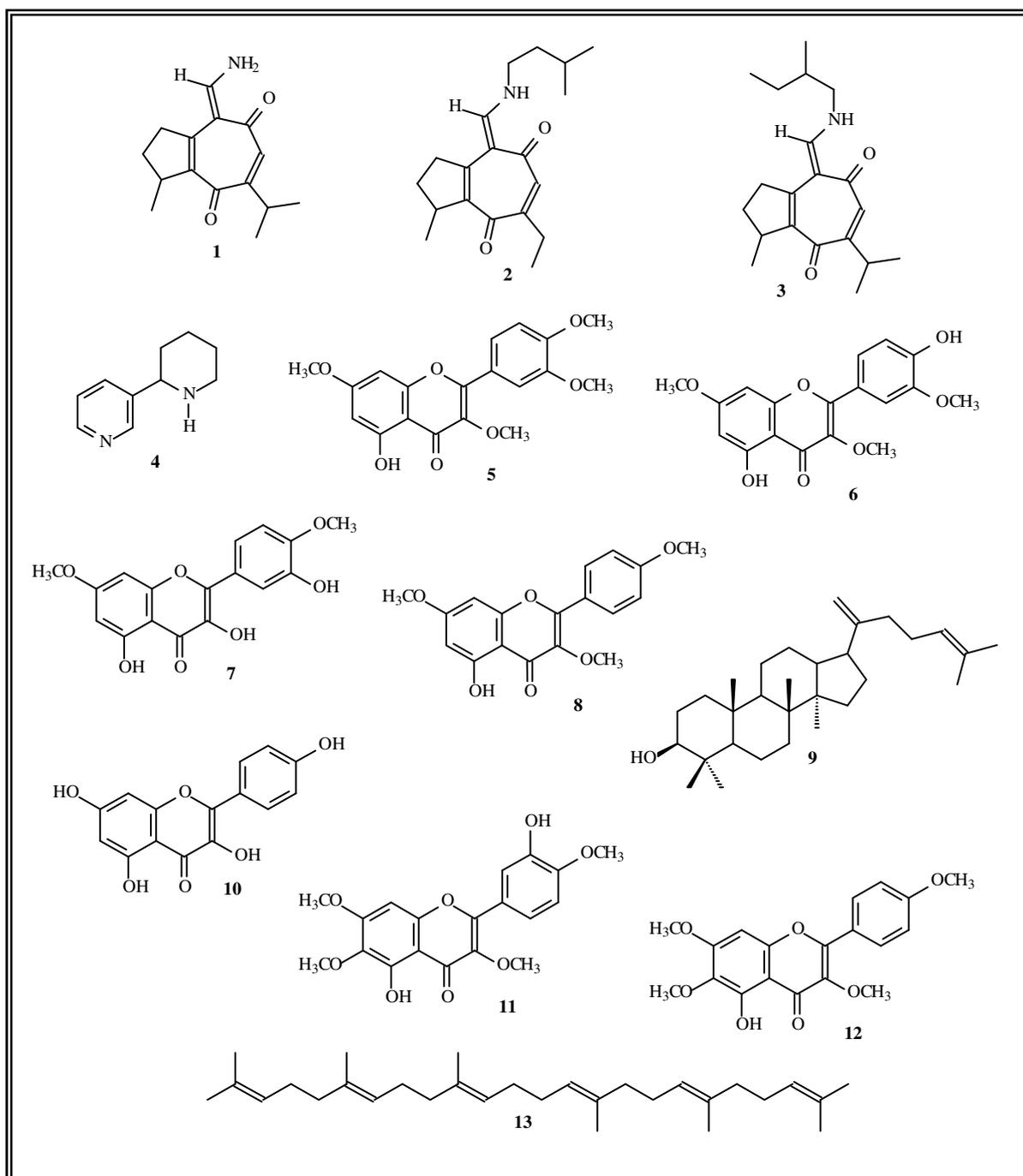
Segundo Salatino *et al.* (2007), a química do gênero *Croton* é consideravelmente diversa, predominando como metabólitos secundários os terpenóides, principalmente os diterpenos, que podem pertencer aos esqueletos clerodano, cembrano, halimano, isopimarano, caurano, labdano, forbol e traquilobano (Figura 1). Triterpenóides pentacíclicos ou esteroidais têm sido frequentemente relatados em espécies de *Croton* (Salatino *et al.*, 2007). Também têm sido reportados os isolamentos de alcalóides indólicos e principalmente derivados isoquinolínicos (Barbosa-Filho *et al.*, 2005; Milanowski *et al.*, 2002), bem como flavonóides, lignanas, benzenóides e poliprenóides (Palmeira Júnior *et al.*, 2006). Muitas espécies são produtoras de óleo essencial cuja composição química é rica em monoterpenóides, sesquiterpenóides e fenilpropanóides (Palmeira Júnior *et al.*, 2006).

**Figura 1** – Esqueletos dos principais diterpenos isolados do gênero *Croton*.



A espécie *Croton muscicarpa* Müll Arg., conhecida popularmente como “velame-de-cheiro”, é um arbusto nativo do nordeste do Brasil (Barbosa-Filho *et al.*, 2005). Trabalhos anteriores referentes à espécie *C. muscicarpa* relatam o isolamento de três alcalóides sesquiterpênicos do tipo guaiano, muscicapinas A (1), B (2) e C (3), e um derivado da nicotina, a anabasina (4), obtidos das raízes (Barbosa-Filho *et al.*, 2005). A partir do exsudato dos talos foram isolados os flavonóides retusina (5), pachipodol (6), ombuina (7), 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxicanferol (8) e o triterpeno damaradienol (9) (Barreto, 2008). Também foram isolados os flavonóides canferol (10), casticina (11) e 5-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxiflavona (12), e o triterpeno esqualeno (13) das folhas de *C. muscicarpa* (Gomes, 2010). (Quadro 1)

Embora não existam relatos sobre a utilização na medicina popular de *C. muscicarpa*, o presente trabalho foi motivado pelo grande número de atividades comprovadas por estudos científicos em espécies deste gênero, e por contribuir para o conhecimento químico do gênero *Croton*. Este trabalho relata o isolamento e caracterização dos metabólitos secundários presentes nos talos e raízes de *Croton muscicarpa* coletados na Chapada Diamantina no estado da Bahia.

**Quadro 1** – Substâncias isoladas de *Croton muscicarpa* em trabalhos anteriores

Este trabalho encontra-se dividido em Introdução; Considerações Botânicas – Capítulo 1; Revisão bibliográfica de sesquiterpenos encontrados no gênero *Croton* – Capítulo 2; Determinação Estrutural – Capítulo 3; Procedimentos Experimentais – Capítulo 4; Conclusão – Capítulo 5 e Referências Bibliográficas.

No primeiro capítulo, são relatadas informações botânicas sobre *Croton muscicarpa*, o gênero *Croton* e a família Euphorbiaceae.

O segundo capítulo aborda uma visão geral sobre sesquiterpenos e a revisão bibliográfica de sesquiterpenos encontrados em espécies do gênero *Croton*.

O terceiro capítulo trata das determinações estruturais dos compostos isolados, utilizando técnicas como Espectroscopia na região do Infravermelho (IV), Espectrometria de Massas (EM) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN  $^1\text{H}$ ) e de Carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), incluindo técnicas bidimensionais como COSY, HSQC, HMBC e NOESY.

No quarto capítulo, são descritas as técnicas utilizadas para o isolamento dos constituintes fixos de *C. muscicarpa*, dentre elas, a cromatografia clássica, como a cromatografia gravitacional e sob pressão, utilizando gel de sílica.

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

### 1.1 Considerações botânicas sobre a família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae está representada nas regiões tropicais e temperadas de todo o planeta por um total de 8.000 espécies, distribuídas em 317 gêneros. Estes estão agrupados em 49 tribos, segundo o sistema de classificação proposto por Webster (Sátiro e Roque, 2008).

Pertencente à ordem Malpighiales, a família Euphorbiaceae é dividida em cinco subfamílias: Acalyphoideae Kostel, Cheilosoideae K. Wurdack, Crotonoideae Burmeist, Euphorbioideae L. e Peroideae K. Wurdack (Souza, 2011).

Segundo Sátiro e Roque (2008), levantamentos florísticos para o Brasil revelam que a família é uma das mais ricas em número de espécies, cerca de 1.000, distribuídas em cerca de 80 gêneros. Sua distribuição é ampla, possuindo representantes em todos os diferentes tipos de vegetação do país.

Entre todas as famílias de Malpighiales, Euphorbiaceae se sobressai em relação à riqueza de espécies, diversidade morfológica e fitoquímica e importância econômica. Merecem destaque, a seringueira (*Hevea brasiliensis* (Wiild. ex. A. Juss) Muell Arg.), pela produção da borracha; a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), usada na alimentação; a mamona (*Ricinus communis* L.), pela extração do óleo da semente para a fabricação de combustível e pela sua aplicação na medicina popular, o rabo-de-gato (*Acalypha reptans* Sw.), pelo uso ornamental, entre outras (Bigio, 2009; Souza, 2011).

A família Euphorbiaceae compreende plantas de hábito bastante variado, desde ervas, subarbustos, árvores, até trepadeiras (Souza, 2011), com folhas alternas inteiras ou partidas, em geral com estipulas, latentes ou não. Flores sempre de sexo separado, em geral monoclamídeas, ocorrendo também diclamídeas em plantas monóicas, reunidas em inflorescências muito variadas, em geral do tipo cacho (Joly, 1998). O fruto é geralmente capsular com deiscência explosiva, abrindo-se em três mericarpos, sendo conhecido como cápsula tricoca (Sátiro e Roque, 2008). Sementes ricas em endospermas, muitas vezes oleaginosas, providas de grande carúncula (Joly, 1998).

## 1.2 Considerações botânicas sobre o gênero *Croton*

A subfamília Crotonoideae é formada por cerca de 2.400 espécies agrupadas em 67 gêneros e 12 tribos. O gênero *Croton* L. é o segundo maior e mais diverso, somando mais da metade das espécies da subfamília, cerca de 1.200, distribuídas predominantemente no continente americano. O Brasil é um dos principais centros de diversidade do gênero, com cerca de 300 espécies, que está representado nos mais variados ambientes e tipos vegetacionais (Oliveira, 2011). O gênero é muito comum em áreas perturbadas e de vegetação secundária, estando entre os dez mais abundantes (aproximadamente 750) na América do Sul (Caruzo, 2010).

Espécies de *Croton* têm sido úteis para reflorestamento de áreas degradadas (*C. floribundus* Spreng., *C. piptocalyx* Müll. Arg., *C. salutaris* Casar. e *C. urucurana* Baill.); outras, como *C. glandulosus* L. e *C. lundianus* (Didr.) Müll. Arg., são invasoras de culturas e pastagens. Algumas espécies conhecidas vulgarmente como marmeleiros na região nordeste do Brasil têm importância em virtude dos óleos voláteis medicinais presentes em altas concentrações em suas folhas (Caruzo, 2010).

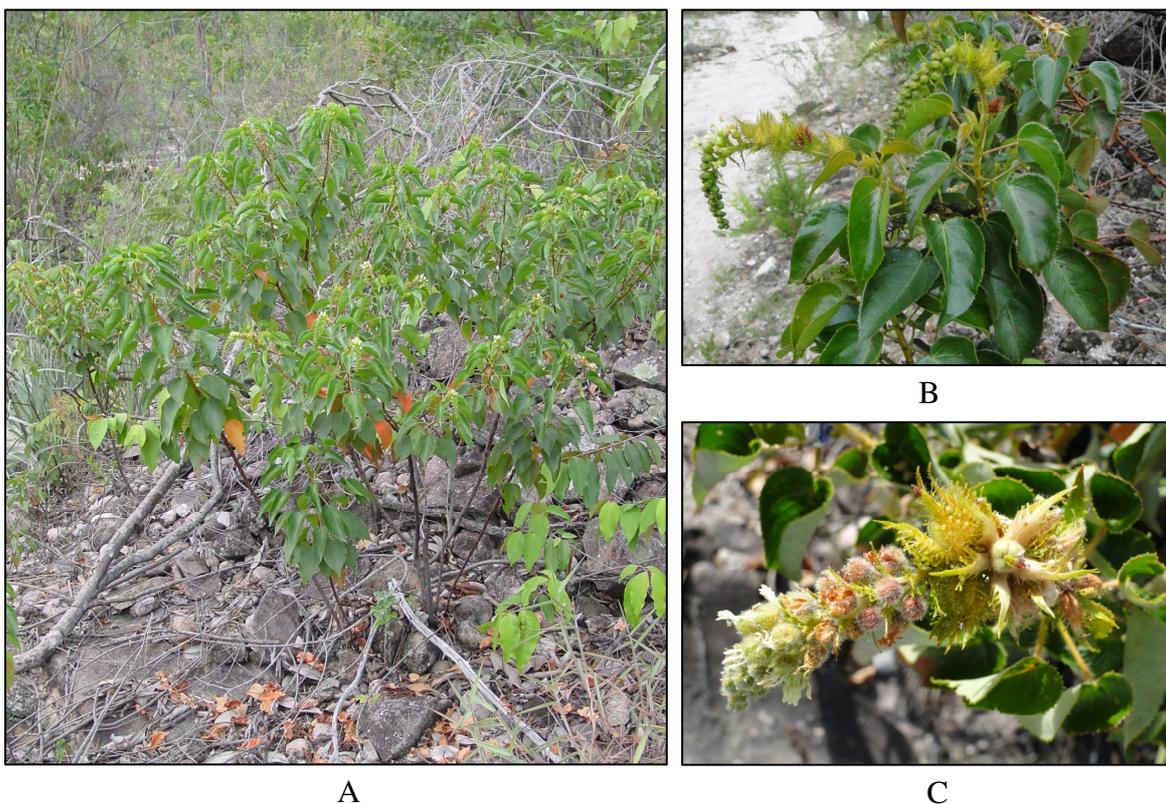
As espécies deste gênero são:

[...] árvores, arbustos ou subarbustos monóicos, latescentes, com tricomas simples, estrelados ou escamiformes, sem tricomas urticantes. Folhas simples, alternas, membranáceas a cartáceas, concolores ou discolores; lâmina foliar elíptica a ovada, ápice agudo a abtuso-mucronulado, margem inteira, base cuneada a cordada, simétrica, glabrescente a pubescente, peciolada; glândulas ausentes na junção do pecíolo com a lâmina foliar, estípelas ausentes; estípulas não interpeciolares, livres, glandulares ou não. Inflorescências racemosas ou pseudo-racemosas, terminais, brácteas presentes ou ausentes, 1 flor por bráctea, bractéolas ausentes. Flores estaminadas apicais, em nós distais da ráquis, pediceladas, diclamídeas, em geral dialissépalas, glabrescentes a pubescentes; estames em número variado, em 1 verticilo, livres, anteras com tecas não divergentes, estaminódios ausentes, disco nectarífero segmentado em glândulas opostas às sépalas. Flores pistiladas em nós proximais da ráquis, curtamente pediceladas a sésseis, em geral monoclamídeas, se diclamídeas, com pétalas muito reduzidas, cálice em geral dialissépalo, glabrescente a pubescente; ovário globóide, pubescente, 1 óvulo/lóculo; estiletes 3, geralmente ramificados na porção superior, livres ou unidos em tubo, disco nectarífero segmentado em glândulas opostas às sépalas. Fruto cápsula tricoca, oblongo a globóide, pubescente; sementes oblongas, carunculadas.” (Sátiro e Roque, 2008)

### 1.3 Considerações botânicas sobre a espécie *Croton muscicarpa* Müll Arg.

Arbusto de 1m de altura, ereto, com caule, folhas jovens e inflorescências bastante viscosas; o pecíolo e limbo são subiguais, sendo o limbo palmatinérvio de 3 a 5 cm de comprimento, sem glândulas na base; as estípulas são suborbicular, com inflorescências longas de 5 a 8 cm de comprimento; as flores femininas são longas pediceladas, lacínia do cálice feminina linear-lanceolada, de ambos os lados glanduloso; pétala masculina é longa obovata, com a base interna pubescente, margem liciada com ambas as faces sem pêlo; as brácteas, de 2,5 mm de comprimento, são linear-lanceolada em ambas as faces, com glândulas pequenas. Os frutos de 8 mm de comprimento são escuros e brilhantes, contendo sementes de 6 mm de comprimento e 3,5 mm de largura (Barreto, 2008). (Figura 2)

**Figura 2** – Fotos de *Croton muscicarpa* Müll. Arg: (A) planta em seu habitat natural; (B) e (C) detalhe para as folhas e inflorescências.



Fonte: Prof. Edilberto Rocha Silveira

## CAPÍTULO 2 – LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

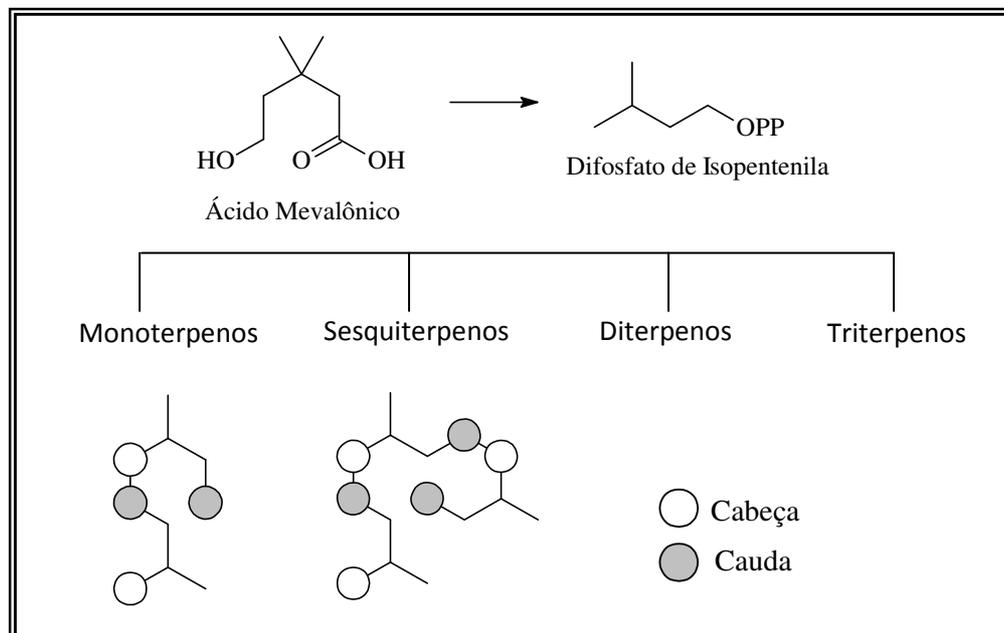
Neste levantamento bibliográfico são apresentadas as espécies do gênero *Croton* estudadas quimicamente nas quais foram identificadas a presença de sesquiterpenos, seja por isolamento ou por identificação nos óleos essenciais. Os dados foram coletados de artigos publicados até janeiro de 2012, através de pesquisas realizadas no *Scifinder* e nos sites científicos <http://www.sciencedirect.com> e <http://www.webofscience.com>.

### 2.1 Terpenóides e Sesquiterpenos – Definição

Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo que esse termo é empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno (Figura 3). A unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico (Figura 3). Os esqueletos carbonados dos terpenóides são formados pela condensação de um número variável de unidades pentacarbonadas (unidades isoprênicas) (Simões *et al.*, 2004). Mas segundo Sonwa (2004), a melhor definição de terpeno é que são compostos cujo esqueleto carbônico é teoricamente construído a partir de unidades isoprênicas, ou tem seu esqueleto construído sobre essas unidades em algum estágio de sua biosíntese. Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades C<sub>5</sub> em: monoterpenos (C<sub>10</sub>); sesquiterpenos (C<sub>15</sub>); diterpenos (C<sub>20</sub>); sesterpenos (C<sub>25</sub>); triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>).

Os sesquiterpenos são, em sua grande maioria, compostos formados por três unidades isoprênicas ligadas umas às outras por condensação cabeça-cauda (Figura 3). O grupamento isopropila do 2-metilbutano é a cabeça e o grupo etila constitui a cauda. O número de ciclizações e modificações secundárias imagináveis dentro deste grupo é impressionante. Mais de 300 hidrocarbonetos sesquiterpênicos têm sido isolados de extratos de plantas de diversas origens (Sonwa, 2004).

**Figura 3** – Formação cabeça-cauda dos esqueletos carbonados dos compostos mono- e sesquiterpenóides.



## 2.2 Relato de Sesquiterpeóides no gênero *Croton*

Embora a prospecção química do gênero *Croton* seja ampla, a quantidade de trabalhos referentes ao isolamento de sesquiterpenos em espécies deste gênero é muito restrita. A maior parte dos relatos desta classe de substâncias é limitada à identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais destas espécies por comparação dos dados obtidos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa (CG-EM) com dados da literatura.

Dentre os relatos envolvendo o isolamento de sesquiterpenos em *Croton*, está o isolamento de eudesmano (**1**) da casca de *C. eluteria* (Campagnuolo *et al.*, 2005); também o isolamento do sesquiterpeno do tipo guaino *rel*-(1R,4S,6R,7S,8aR)-decahidro-1-hidroximetil-5,9,9-trimetil-4,7-(epoximetano)azulen-6-ol (**2**) de *C. regelianus* (Torres *et al.*, 2010); e o isolamento de crocaudatol (**3**) e oplopanona (**4**) de *C. caudatus* (Wang *et al.*, 2008) (Quadro 1).

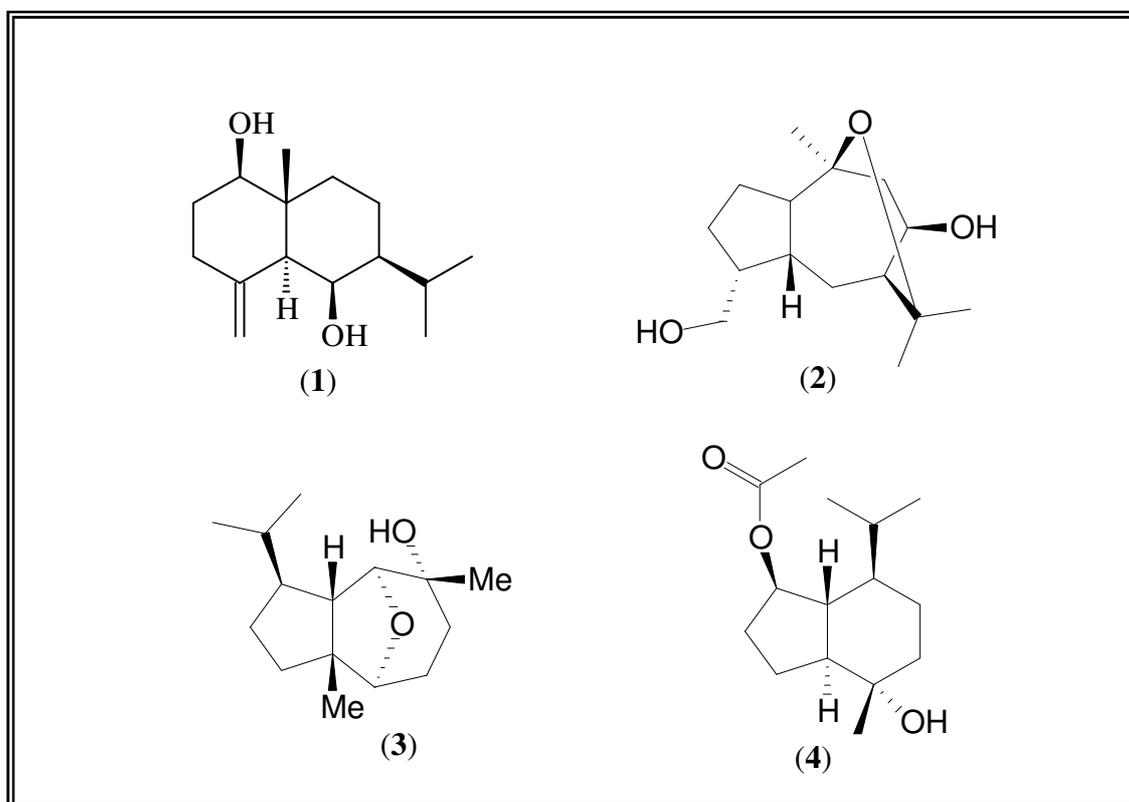
Aguilar-Guadarrama (2004) e colaboradores relataram o isolamento de 5 $\alpha$ -7 $\alpha$ ,10 $\beta$ H-3-patchoulen-2-ona (**5**), 5 $\alpha$ -7 $\alpha$ ,10 $\beta$ H-4(14)- patchoulen-2 $\alpha$ -ol (**6**), 9 $\alpha$ ,10 $\beta$ -dihidroxi-2 $\beta$ ,4 $\beta$ -peroxi-1 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ H-guaino (**7**), 5 $\alpha$ ,10 $\beta$ -4(15)-eudesmen-1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol (**8**),

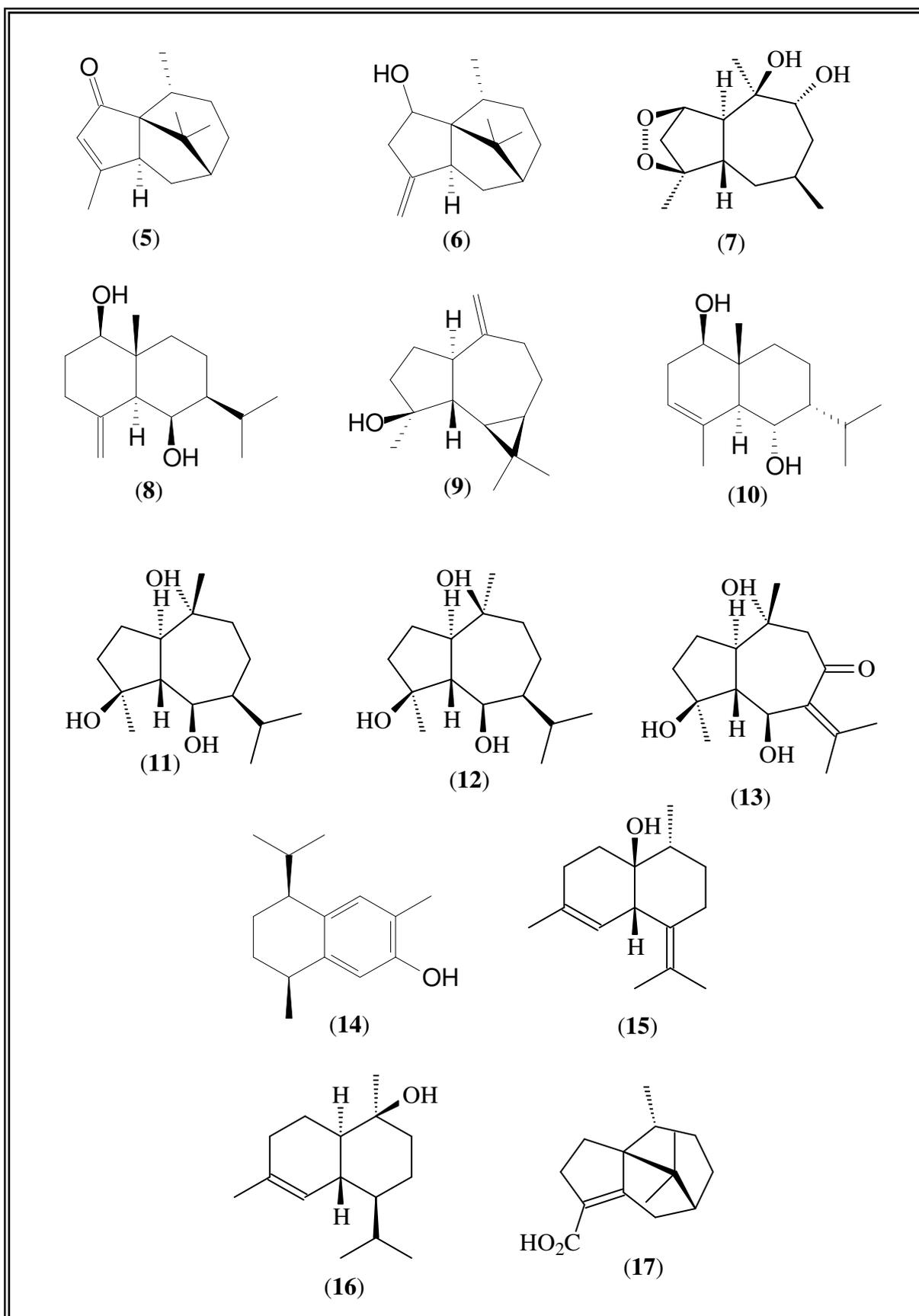
espatulenol (**9**),  $5\alpha,10\beta$ -3-eudesmen- $1\alpha,6\beta$ -diol (**10**), teuclatriol (**11**), epiteuclatriol (**12**) e zedoarondiol (**13**) de *C. arboreous*. (Quadro 2)

Também foram isolados o *cis*-7-hidroxicalameneno (**14**) de *C. cajucara* (Pereira *et al.*, 2011); de *C. hieronymi* foram isolados epicubenol (**15**) e  $\tau$ -cadinol (**16**) (Catalán *et al.*, 2003). e de *C. crassifolius* foi isolado o ácido ciperenólico (**17**) (Boonyarathanakornkit *et al.*, 1988). (Quadro 2)

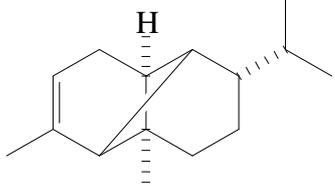
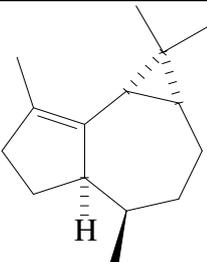
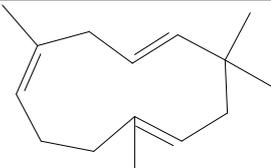
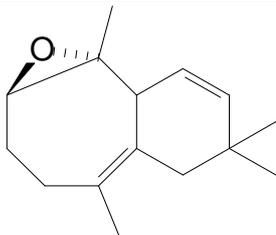
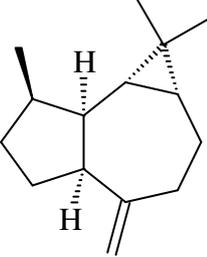
Os sesquiterpenos encontrados nos óleos essenciais de espécies do gênero *Croton* são descritos na tabela 1.

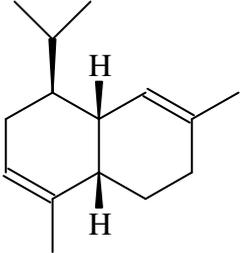
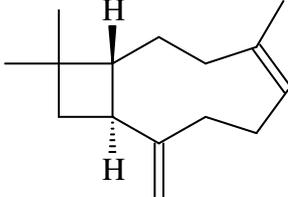
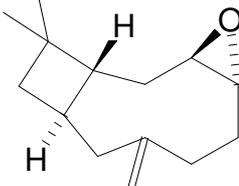
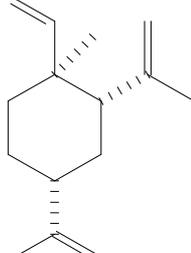
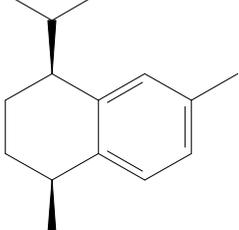
**Quadro 2** – Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero *Croton*

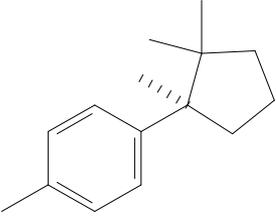
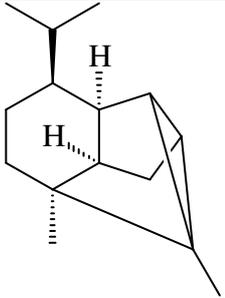
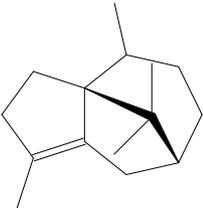
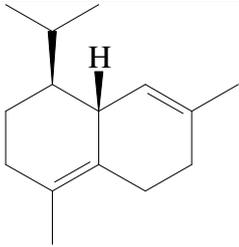
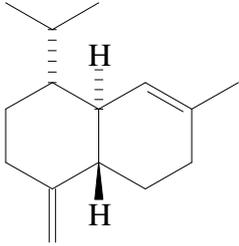


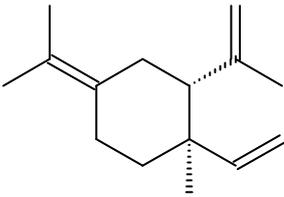
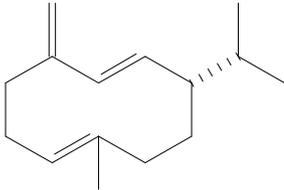
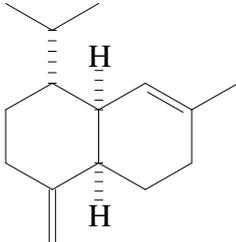
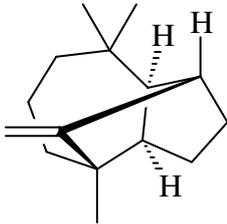
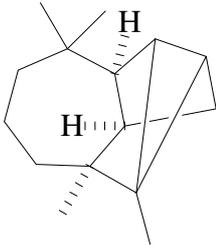
**Quadro 3** – Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero *Croton*

**Tabela 1** – Sesquiterpenos encontrados nos óleos essenciais de *Croton*

	<i>C. cajucara</i> ; <i>C. zambesicus</i> <i>C. sellowii</i> <i>C. flavens</i> <i>C. sonderianus</i> <i>C. stipuliformis</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006 Block <i>et al.</i> , 2006 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 McChesney <i>et al.</i> , 1984 Franco <i>et al.</i> , 2011
<b><math>\alpha</math>-copaeno (18)</b>		
	<i>C. flavens</i> <i>C. sonderianus</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 McChesney <i>et al.</i> , 1984a
<b><math>\alpha</math>-gurjuneno (19)</b>		
	<i>C. flavens</i> <i>C. sellowii</i> <i>C. zambesicus</i> <i>C. sonderianus</i> <i>C. gossypifolius</i> <i>C. argyrophylloides</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Block <i>et al.</i> , 2006 Craveiro <i>et al.</i> , 1978a Suarez <i>et al.</i> , 2011 Craveiro <i>et al.</i> , 1978b
<b><math>\alpha</math>-humuleno (20)</b>		
	<i>C. sellowii</i> <i>C. draco</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Setzer <i>et al.</i> , 2007
<b><math>\alpha</math>-epoxi-2-humuleno (21)</b>		
	<i>C. cajucara</i> <i>C. zambesicus</i> <i>C. flavens</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006 Block <i>et al.</i> , 2006 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
<b>alo-aromadendreno (22)</b>		

	<i>C. cajucara</i> <i>C. zambesicus</i> <i>C. gossypifolius</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006 Block <i>et al.</i> , 2006 Suarez <i>et al.</i> , 2011
<b><math>\alpha</math>-muuroleno (23)</b>		
	<i>C. sonderianus</i> <i>C. argyrophyloides</i> <i>C. sonderianus</i> <i>C. flavens</i> <i>C. sellowii</i> <i>C. gossypifolius</i> <i>C. cajucara</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1978a Craveiro <i>et al.</i> , 1978b McChesney <i>et al.</i> , 1984 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Suarez <i>et al.</i> , 2011 Souza <i>et al.</i> , 2006
<b><math>\beta</math>-cariofileno (24)</b>		
	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
<b>óxido de cariofileno (25)</b>		
	<i>C. sonderianus</i> <i>C. argyrophyloides</i> <i>C. flavens</i> <i>C. nepetifolius</i>	McChesney <i>et al.</i> , 1984 Craveiro <i>et al.</i> , 1978b Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 Craveiro <i>et al.</i> , 1980
<b><math>\beta</math>-elemeno (26)</b>		
	<i>C. sellowii</i> <i>C. flavens</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
<b><i>cis</i>-calameneno (27)</b>		

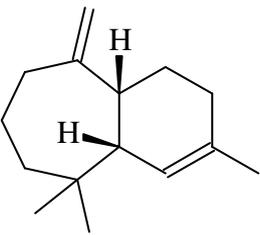
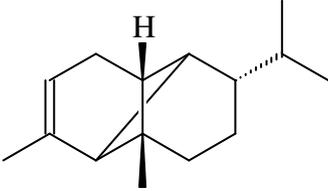
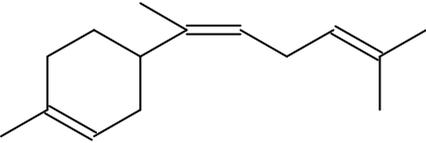
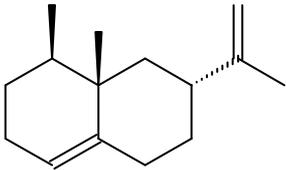
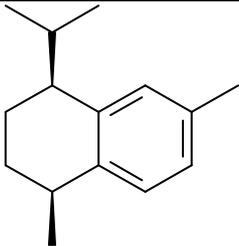
	<i>C. zambesicus</i> <i>C. sellowii</i>	Block <i>et al.</i> , 2006 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
cupareno (28)		
	<i>C. zambesicus</i> <i>C. sellowii</i>	Block <i>et al.</i> , 2006 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
Ciclosativeno (29)		
	<i>C. zambesicus</i> <i>C. sellowii</i> <i>C. flavens</i> <i>C. sonderianus</i>	Block <i>et al.</i> , 2006 Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 McChesney <i>et al.</i> , 1984
cipereno (30)		
	<i>C. sellowii</i> <i>C. cajucara</i> <i>C. zambesicus</i> <i>C. sonderianus</i> <i>C. stipuliformis</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Souza <i>et al.</i> , 2006 Block <i>et al.</i> , 2006 McChesney <i>et al.</i> , 1984 Franco <i>et al.</i> , 2011
δ-cadineno (31)		
	<i>C. sellowii</i> <i>C. flavens</i> <i>C. sonderianus</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 McChesney <i>et al.</i> , 1984
γ-cadineno (32)		

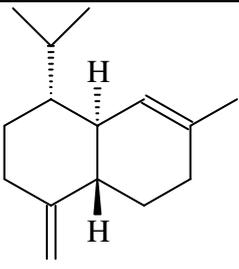
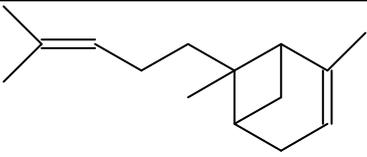
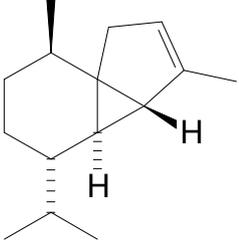
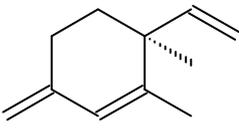
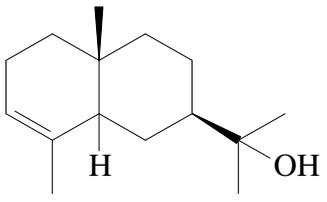
 <p><math>\gamma</math>-elemeno (33)</p>	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
	<i>C. sonderianus</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1978a
	<i>C. argyrophylloides</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1978b
	<i>C. nepetifolius</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1980
 <p>germacreno D (34)</p>	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
	<i>C. zambesicus</i>	Block <i>et al.</i> , 2006
	<i>C. flavens</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
	<i>C. draco</i>	Setzer <i>et al.</i> , 2007
 <p><math>\gamma</math>-muuroleno (35)</p>	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
	<i>C. zambesicus</i>	Block <i>et al.</i> , 2006
	<i>C. sonderianus</i>	McChesney <i>et al.</i> , 1984
	<i>C. stipuliformis</i>	Franco <i>et al.</i> , 2011
 <p>junipeno (36)</p>	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
 <p>Longiciclono (37)</p>	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
	<i>C. flavens</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
	<i>C. draco</i>	Setzer <i>et al.</i> , 2007

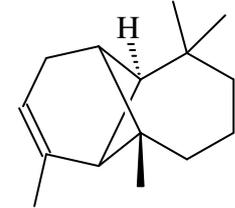
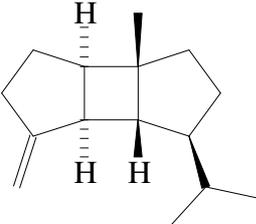
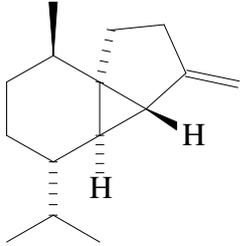
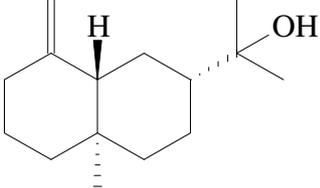
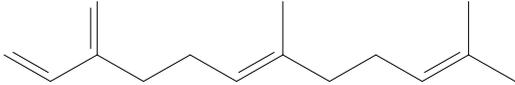
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2-dehidro-4,8-dimetil-6-(1-metiletil)-naftaleno (38)</p>		
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,6,7,8,8<math>\alpha</math>-hexahidro-5,8<math>\alpha</math>-dimetil-3-(1-metiletil)-2-naftalenol (39)</p>		
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1<math>\alpha</math>,2,3,5,6<math>\alpha</math>,7,8,8<math>\alpha</math>-octahidro-4,8<math>\alpha</math>-dimetil-6-(1-metiletil)-1-naftalenol (40)</p>		
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,3,4-tetrahidro-5-metil-1-metileno-7-(1-metiletil)-naftaleno (41)</p>		

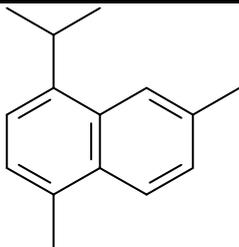
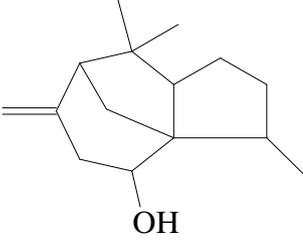
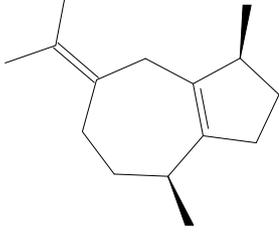
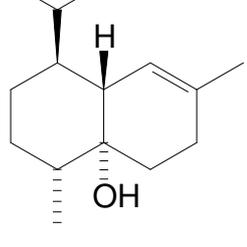
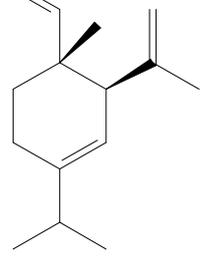
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,3,4-tetrahidro-7-isopropil-1,5-dimetil-naftaleno, (42)</p>	<hr/>	
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,3,4-tetrahidro-1,5-dimetil-7-(1-metiletenil)-naftaleno, (43)</p>	<hr/>	
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,3,4-tetrahidro-1,5-dimetil-8-(1-metiletil)-naftaleno (44)</p>	<hr/>	
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>1,2,3,4-tetrahidro-1,5-dimetil-8-(1-metiletenil)-naftaleno (45)</p>	<hr/>	

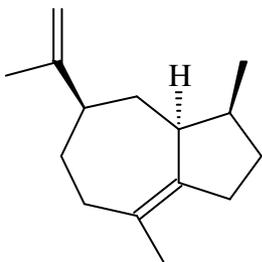
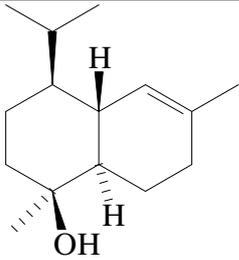
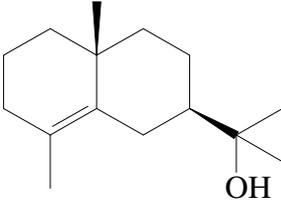
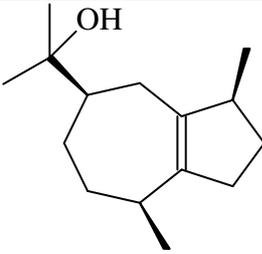
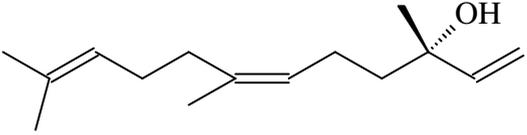
	<i>C. eluteria</i>	Hagedorn <i>et al.</i> , 1991
<p>5,6,7,8-tetrahidro-4,8-dimetil-1-(1-metiletil)- 2-naftalenol (46)</p>		
	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
<p>espatulenol (47)</p>	<i>C. gossypiifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
	<i>C. gossypiifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<p><math>\alpha</math>-amorfeno (48)</p>		
	<i>C. gossypiifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<p><math>\alpha</math>-cadinol (49)</p>		
	<i>C. gossypiifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<p>agarospirol (50)</p>		

	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<b><math>\alpha</math>-himachaleno (51)</b>		
	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<b><math>\alpha</math>-ylangeno (52)</b>		
	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<b><i>cis</i>-<math>\alpha</math>-bisaboleno (53)</b>		
	<i>C. gossypifolius</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2011
<b>valenceno (54)</b>		
	<i>C. sonderianus</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1978a
<b>(-)-<i>cis</i>-calameneno (55)</b>		

 <p><math>\gamma</math>-cadineno (56)</p>	<i>C. zambesicus</i>	Block <i>et al.</i> , 2006
 <p><math>\alpha</math>-bergamoteno (57)</p>	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
 <p><math>\alpha</math>-cubebeno (58)</p>	<i>C. flavens</i> <i>C. nepetifolius</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000 Craveiro <i>et al.</i> , 1980
 <p><math>\alpha</math>-elemeno (59)</p>	<i>C. sonderianus</i>	Craveiro <i>et al.</i> , 1978a
 <p><math>\alpha</math>-eudesmol (60)</p>	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004

	<i>C. cajucara</i> <i>C. flavens</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006 Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
<b><math>\alpha</math>-longipineno (61)</b>		
	<i>C. flavens</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
<b><math>\beta</math>-bourboneno (62)</b>		
	<i>C. flavens</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
<b><math>\beta</math>-cubebeno (63)</b>		
	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
<b><math>\beta</math>-eudesmol (64)</b>		
	<i>C. sonderianus</i>	McChesney <i>et al.</i> , 1984
<b><math>\beta</math>-farneseno (65)</b>		

 <p data-bbox="311 470 494 515">cadaleno (66)</p>	<p data-bbox="606 201 766 246"><i>C. cajucara</i></p>	<p data-bbox="989 201 1228 246">Souza <i>et al.</i>, 2006</p>
 <p data-bbox="231 795 574 840">cendr-8(15)-en-10-ol (67)</p>	<p data-bbox="606 537 750 582"><i>C. eluteria</i></p>	<p data-bbox="989 537 1276 582">Hagedorn <i>et al.</i>, 1991</p>
 <p data-bbox="279 1131 526 1176">cis-<math>\beta</math>-guaieno (68)</p>	<p data-bbox="606 873 750 918"><i>C. sellowii</i></p>	<p data-bbox="989 873 1292 918">Palmeira-Jr <i>et al.</i>, 2004</p>
 <p data-bbox="311 1456 494 1500">cubenol (69)</p>	<p data-bbox="606 1209 750 1254"><i>C. sellowii</i></p>	<p data-bbox="989 1209 1292 1254">Palmeira-Jr <i>et al.</i>, 2004</p>
 <p data-bbox="295 1814 510 1859"><math>\delta</math>-elemeno (70)</p>	<p data-bbox="606 1545 734 1590"><i>C. flavens</i></p> <p data-bbox="606 1590 734 1635"><i>C. draco</i></p>	<p data-bbox="989 1545 1308 1590">Woerdenbag <i>et al.</i>, 2000</p> <p data-bbox="989 1590 1228 1635">Setzer <i>et al.</i>, 2007</p>

	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
<p><math>\delta</math>-guaieno (71)</p>		
	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
<p>epi-<math>\alpha</math>-cadinol (72)</p>		
	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
<p><math>\gamma</math>-eudesmol (73)</p>		
	<i>C. zambesicus</i>	Block <i>et al.</i> , 2006
<p>guaiol (74)</p>		
	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
<p>nerolidol (75)</p>		

	<i>C. sonderianus</i>	McChesney <i>et al.</i> , 1984
palustrol (76)		
	<i>C. sonderianus</i>	McChesney <i>et al.</i> , 1984
tujopseno (77)		
	<i>C. flavens</i>	Woerdenbag <i>et al.</i> , 2000
trans-nerolidol (78)		
	<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006
viridiflorol (79)		
	<i>C. sellowii</i>	Palmeira-Jr <i>et al.</i> , 2004
zerumbono (80)		

## CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

### 3.1 Determinação estrutural de CM-1

O tratamento cromatográfico da fração hexânica (CMET-H), obtida a partir do extrato etanólico dos talos de *Croton muscicarpa*, utilizando cromatografia em coluna, levou a obtenção de um óleo amarelado (15,8 mg), solúvel em clorofórmio denominado CM-1 (Procedimento Experimental p. 92).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 5, p. 50) apresentou uma banda em  $2925\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação axial de ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  e outra em  $1449\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação angular assimétrica de  $\text{CH}_3$ . Ainda no mesmo espectro, foi observada uma banda em  $1107\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C-O e outra banda em  $1462\text{ cm}^{-1}$  compatível com deformação angular simétrica no plano de  $\text{CH}_2$ .

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (Figura 6, p. 50) mostrou a presença de 16 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 7, p. 51) possibilitou determinar para a estrutura de CM-1 a presença de 3 carbonos metínicos (CH), um relacionado a carbono oxigenado ( $\delta_{\text{C}}$  78,1), 4 carbonos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) e 5 carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ), dos quais uma linha referente a carbono de grupo metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  57,9. Além de 4 carbonos não hidrogenados, em que os 2 sinais em  $\delta_{\text{C}}$  142,5 e 136,5 foram atribuídos a carbonos  $\text{sp}^2$ , indicando a presença de uma dupla ligação tetrassubstituída (Tabela 2).

**Tabela 2** – Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD de CM-1 com padrão de hidrogenação [(RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD e DEPT ( $\theta = 135$ ),  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)]

C	CH	$\text{CH}_2$	$\text{CH}_3$
142,5 (C=C)	78,1 (C-O)	42,5	57,9 (C-O)
136,5 (C=C)	51,2	28,9	26,4
65,0	35,7	27,3	20,6
41,4		22,3	18,3
			14,7
4C	3CH	4 $\text{CH}_2$	5 $\text{CH}_3$
<b>Fórmula molecular: <math>\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}</math></b>			

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-1 (Figura 8 e 9, p. 51 e 52), revelou a presença de 4 sinais característicos de hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,77 (s, 3H); 0,82 (d, 7,2 Hz, 3H); 0,96 (s, 3H) e 1,76 (s, 3H), este último atribuído a hidrogênios de metila ligada a carbono  $\text{sp}^2$ , e outro ( $\delta_{\text{H}}$  0,82) relativo hidrogênios de grupamento metila ligado a carbono metínico. Observou-se a presença de um simpleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  4,15 (sl, 1H) relacionado a hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Além de um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,37 (s, 3H) de hidrogênios de grupo metoxila. Os dados de RMN  $^{13}\text{C}$  e RMN  $^1\text{H}$  mostraram-se compatíveis com esqueleto sesquiterpênico.

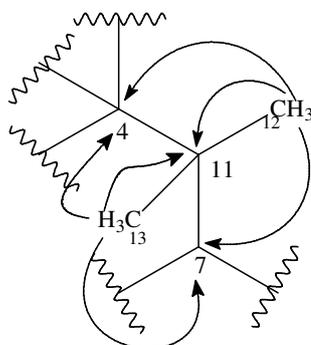
A fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}$  foi proposta a partir da união dos dados espectroscópicos e está de acordo com o pico do íon-molecular  $m/z$  234 Daltons observado no espectro de massas (Figura 10, p. 52), apresentando grau de insaturação igual a 4, um desses justificado pela presença de dupla ligação, e os outros graus referentes a 3 anéis.

Através do espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 11 e 12, p. 53) foi possível atribuir os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro foram observados os acoplamentos do sinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,15 (sl, 1H) com o sinal do carbono oximetínico em  $\delta_{\text{C}}$  78,1 (C-6), bem como os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,77 (s, 3H); 0,82 (d, 7,2 Hz, 3H); 0,96 (s, 3H) e 1,76 (s, 3H) com os carbonos  $\delta_{\text{C}}$  26,4 (C-13); 18,3 (C-14); 20,6 (C-12) e 14,7 (C-15) respectivamente. Também foi possível observar o acoplamento dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  2,68 (m) e 2,18 (dd, 16,0 Hz; 10,0 Hz) ao carbono metilênico em  $\delta_{\text{C}}$  42,5 (C-2), e dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  1,69 (m) e 1,56 (m) com o carbono metilênico em  $\delta_{\text{C}}$  22,3 (C-8). Os acoplamentos dos outros sinais de hidrogênio com seus respectivos carbonos podem ser observados na Tabela 3.

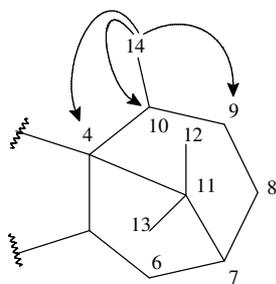
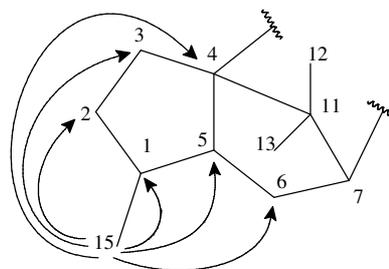
Segundo o espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 13, p. 54) foram observados acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,68 (H-2a) e 2,18 (H-2b) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,45 (H-3b) e 1,63 (H-3a) respectivamente. Além do acoplamento vicinal do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  1,56 (H-8b) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,37 (2H-9). Com estas informações foram estabelecidas as conectividades entre os carbonos C-2 ( $\delta_{\text{C}}$  42,5) com C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  27,3) e C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  22,3) com C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  28,9).

O espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 14 e 15, p. 54 e 55) mostrou as correlações dos hidrogênios com os carbonos a duas ( $^2J$ ), três ( $^3J$ ) e quatro ( $^4J$ ) ligações. Desse modo, puderam-se observar algumas correlações importantes para o assinalamento inequívoco dos deslocamentos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o

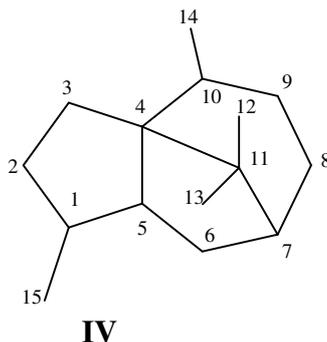
CM-1, como a correlação dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,96 (s, 3H-12) acoplado com os carbonos em  $\delta_C$  26,4 (C-13); 41,4 (C-11); 51,2 (C-7) e 65,0 (C-4); e em  $\delta_H$  0,77 (s, 3H-13) acoplado com os carbonos em  $\delta_C$  20,6 (C-12); 41,4 (C-11); 51,2 (C-7) e 65,0 (C-4) (sub-estrutura **I**).

**I**

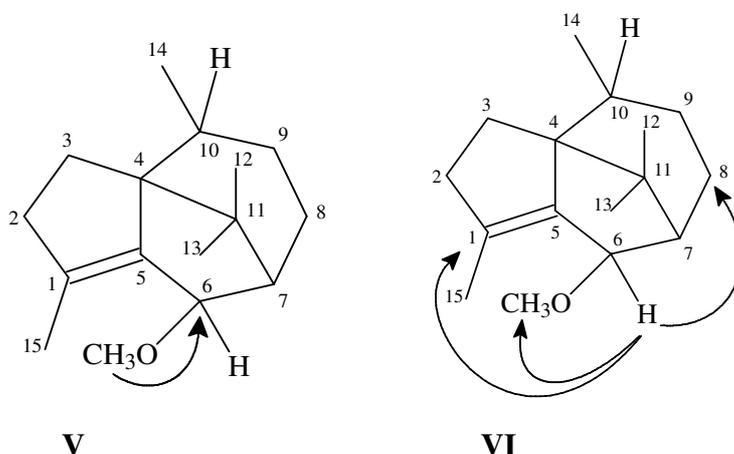
O espectro de HMBC ainda exibiu correlações dos outros dois sinais referentes a hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,82 (d, 7,2 Hz, 3H-14) com os carbonos em  $\delta_C$  28,9 (C-9); 35,7 (C-10) e 65,0 (C-4), e em  $\delta_H$  1,76 (s, 3H-15) com os carbonos em  $\delta_C$  42,5 (C-2); 65,0 (C-4); 78,1 (C-6); 136,5 (C-1) e 142,5 (C-5) (sub-estrutura **II** e estrutura **III**).

**II****III**

A reunião dos dados acima descritos possibilitaram deduzir que CM-1 tratava-se de um sesquiterpeno de esqueleto patchoulano (Erman e Stone, 1971), visualizado na estrutura **IV**, que contém estrutura básica de 15 átomos de carbono.

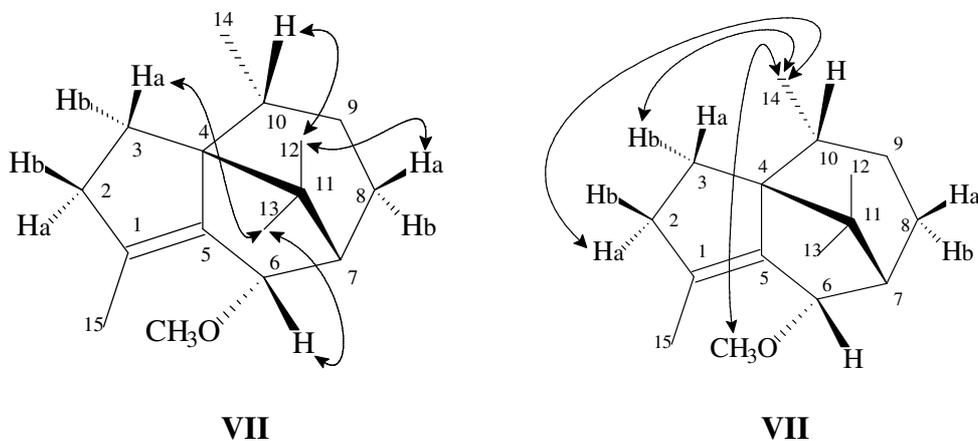


Através da análise do espectro HMBC foi possível determinar com segurança a posição do substituinte metoxila no carbono C-6 do núcleo pacthoulano, em função da correlação observada entre o sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  3,37 com o carbono metínico em  $\delta_C$  78,1 (C-6) (estrutura **V**). A posição da dupla ligação C=C foi deduzida a partir dos acoplamentos observados dos hidrogênios em  $\delta_H$  1,76 (s, 3H-15), observados anteriormente na sub-estrutura **III**, das correlações entre o sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  4,15 (sl, H-6) com os carbonos em  $\delta_C$  22,3 (C-8); 57,9 (CH<sub>3</sub>O-) e 136,5 (C-1) (estrutura **VI**), além da análise dos dados citados anteriormente.



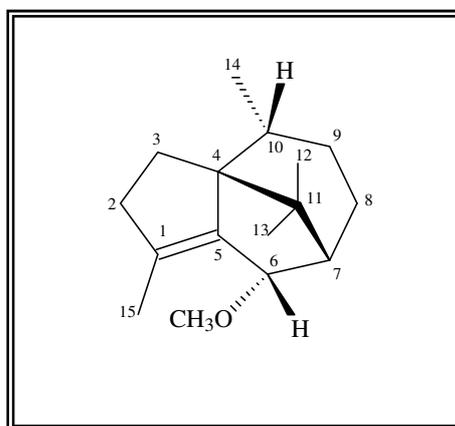
A configuração relativa inferida para os centros estereogênicos existentes na molécula foi deduzida através do espectro RMN 2D <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-NOESY (Figura 16, p. 55), o qual revelou interações espaciais entre os hidrogênios em  $\delta_H$  3,37 (s, -OCH<sub>3</sub>) com os hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,82 (3H-14), o que sugere que ambos estão do mesmo lado (*sin*) na molécula. Observou-se interações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,77 (s, 3H-13) com os hidrogênios em  $\delta_H$  4,15 (s, H-6) e 1,63 (td, H-3a), bem como dos hidrogênios em  $\delta_H$  0,96 (s, 3H-12) com os hidrogênios em  $\delta_H$  1,98 (m, H-10) e 1,69 (m, H-8a). Também foi possível visualizar as interações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$

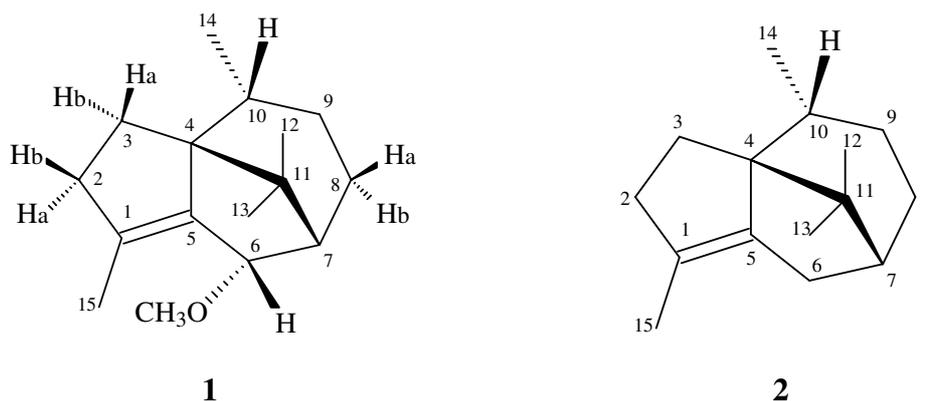
0,82 (3H-14) com os hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,45 (m, H-3b) e 2,68 (m, H-2a) (estruturas VII e VIII).



A reunião de todos os dados analisados permitiu afirmar indubitavelmente que CM-1 tratava-se de um sesquiterpeno de esqueleto patchoulano, denominado 6 $\alpha$ -metoxi-cipereno (Figura 4). O referido composto teve seus dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  comparados com os do sesquiterpeno cipereno (Havlik *et al.*, 2009) isolado de *Rhaponticum carthamoides* (Asteraceae) (Tabela 3). Pela comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de CM-1 com cipereno, pôde-se observar significativas diferenças entre os valores de  $\delta_C$  dos carbonos C-1, C-6 e C-8, onde o deslocamento em  $\delta_C$  22,3 atribuído ao carbono C-8 está relacionado ao efeito  $\gamma$ -gauche de proteção do grupamento metoxila. Esta é a primeira vez que ele está sendo relatado na literatura.

**Figura 4** – Estrutura de CM-1.

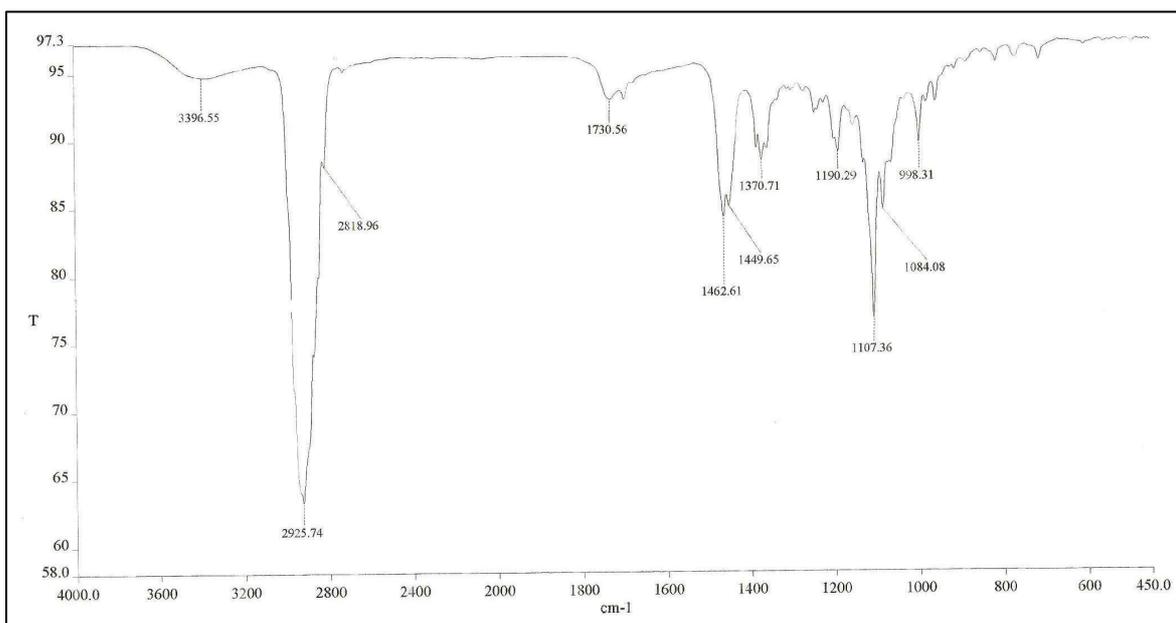




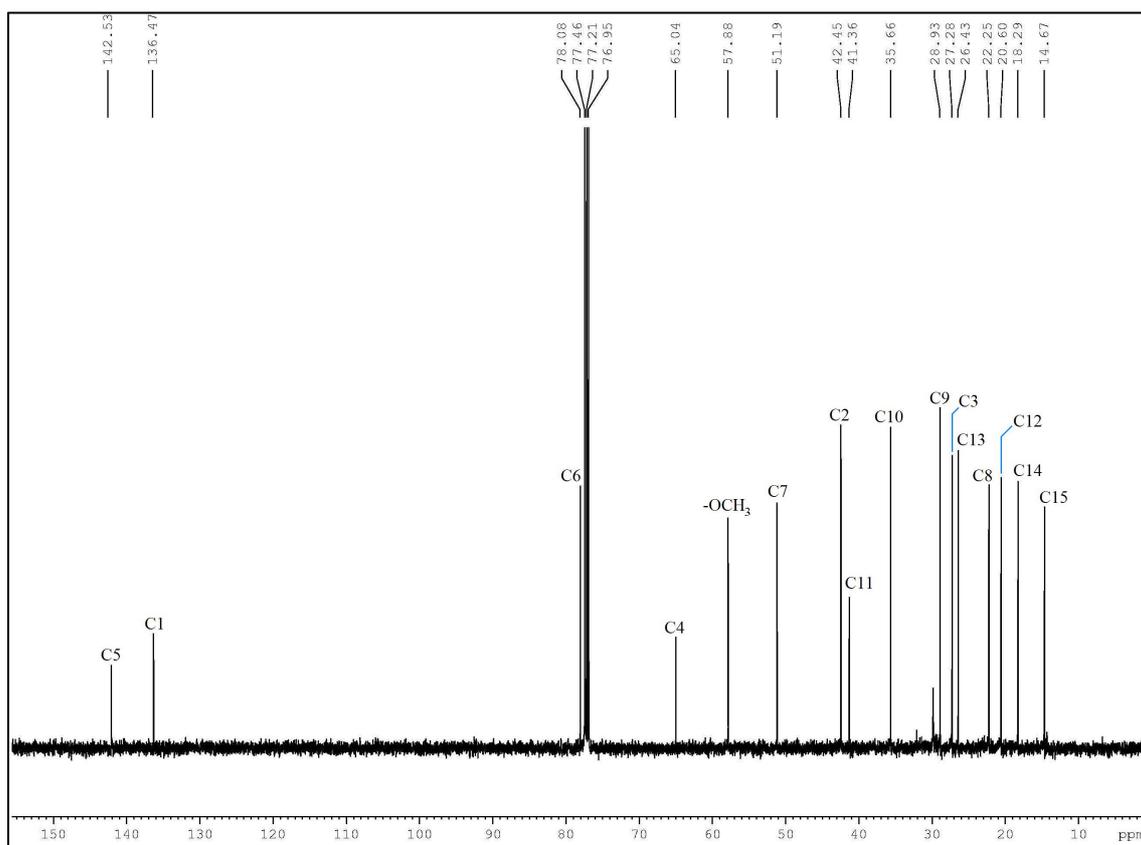
**Tabela 3** – Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HSQC e HMBC ( $^2J$ ,  $^3J$  e  $^4J$ ) (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (**1**), comparado com os valores da literatura de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para o sesquiterpeno cipereno (**2**) (Havlik *et al.*, 2009).

C	$\delta_c$	HSQC	HMBC			Cipereno
		$\delta_H$	$^2J$	$^3J$	$^4J$	$\delta_c$
1	136,5	-	H-2a; H-2b; 3H-15	H-6; H-3b		127,6
2	42,5	a: 2,68 (m) b: 2,18 (dd, 16,0 Hz; 10,0 Hz)	-	3H-15	-	42,3
3	27,3	a: 1,63 (td, 10,0 Hz; 2,5 Hz) b: 1,45 (m)	H-2b	-	-	26,3
4	65,0	-	H-10; H-3a; H-3b	H-2b; 2H-9; 3H-14; 3H-12; 3H-13	3H-15	65,8
5	142,5	-	H-6	H-2a; H-2b; H-10; 3H-15	H-3b	142,2
6	78,1	4,15 (sl)	-	H-8a; 3H(-OMe)	3H-15	27,5
7	51,2	2,04 (m)	-	2H-9; 3H-12; 3H-13	-	48,7
8	22,3	a: 1,69 (m) b: 1,56 (m)	2H-9	H-6	-	27,9
9	28,9	1,37 (m; 2H)	H-10	3H-14	-	28,3
10	35,7	1,98 (m)	2H-9; 3H-14	H-3a; H-3b	-	35,2
11	41,4	-	3H-12; 3H-13	H-10; H-3b	-	41,4
12	20,6	0,96 (s)	-	3H-13	-	19,4
13	26,4	0,77 (s)	-	3H-12	-	26,1
14	18,3	0,82 (d, 7,2 Hz)	H-10	2H-9	-	18,0
15	14,7	1,76 (s)	-	H-2b;	H-3a	14,2
OMe	57,9	3,37 (s)	-	H-6	-	-

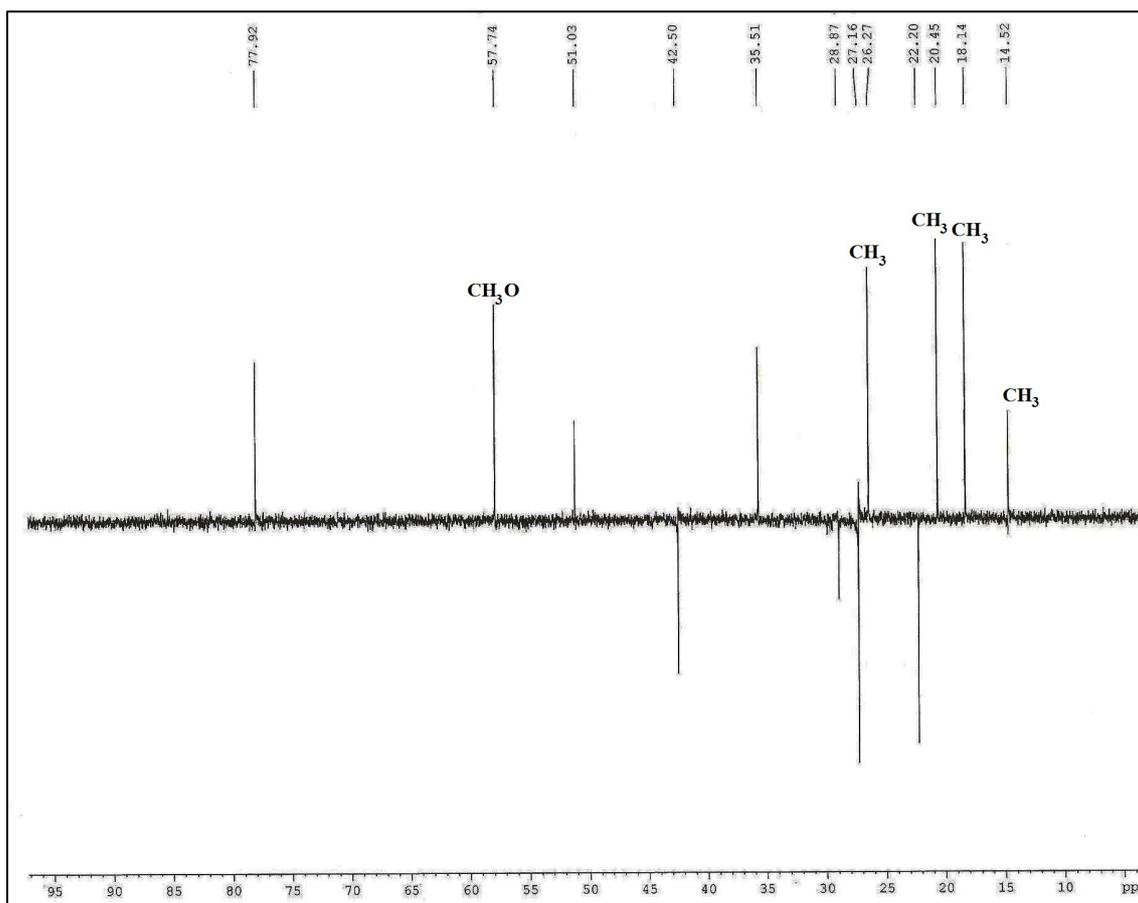
**Figura 5** – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-1 em filme de KBr



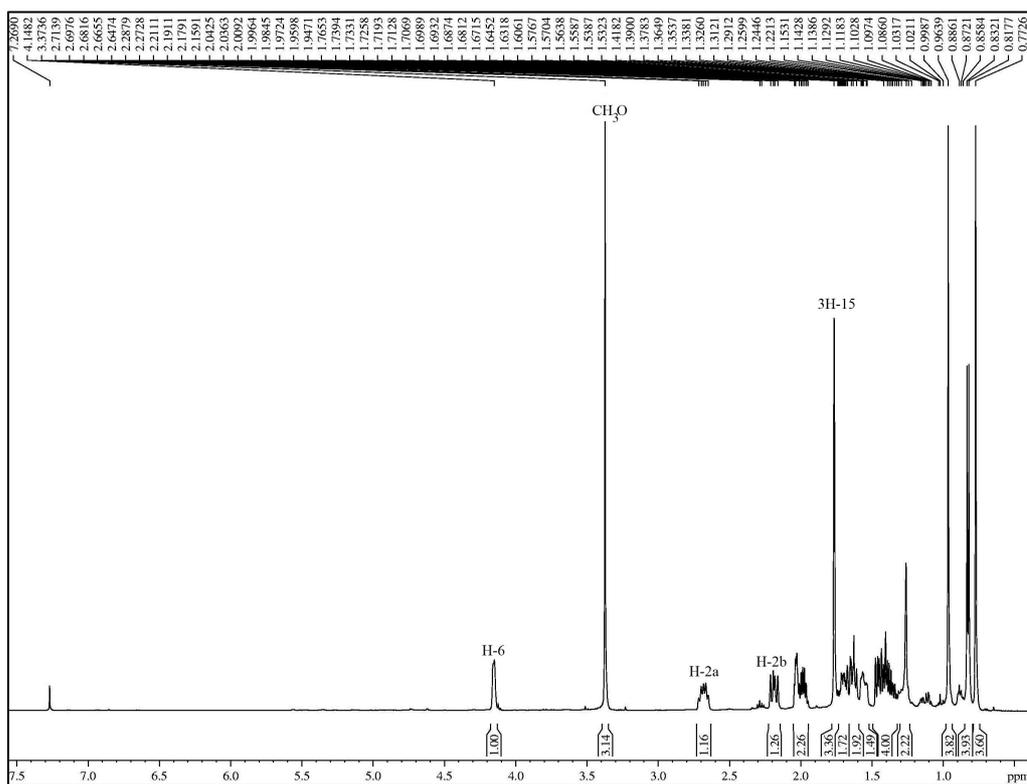
**Figura 6** – Espectro de RMN <sup>13</sup>C-CPD (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CM-1



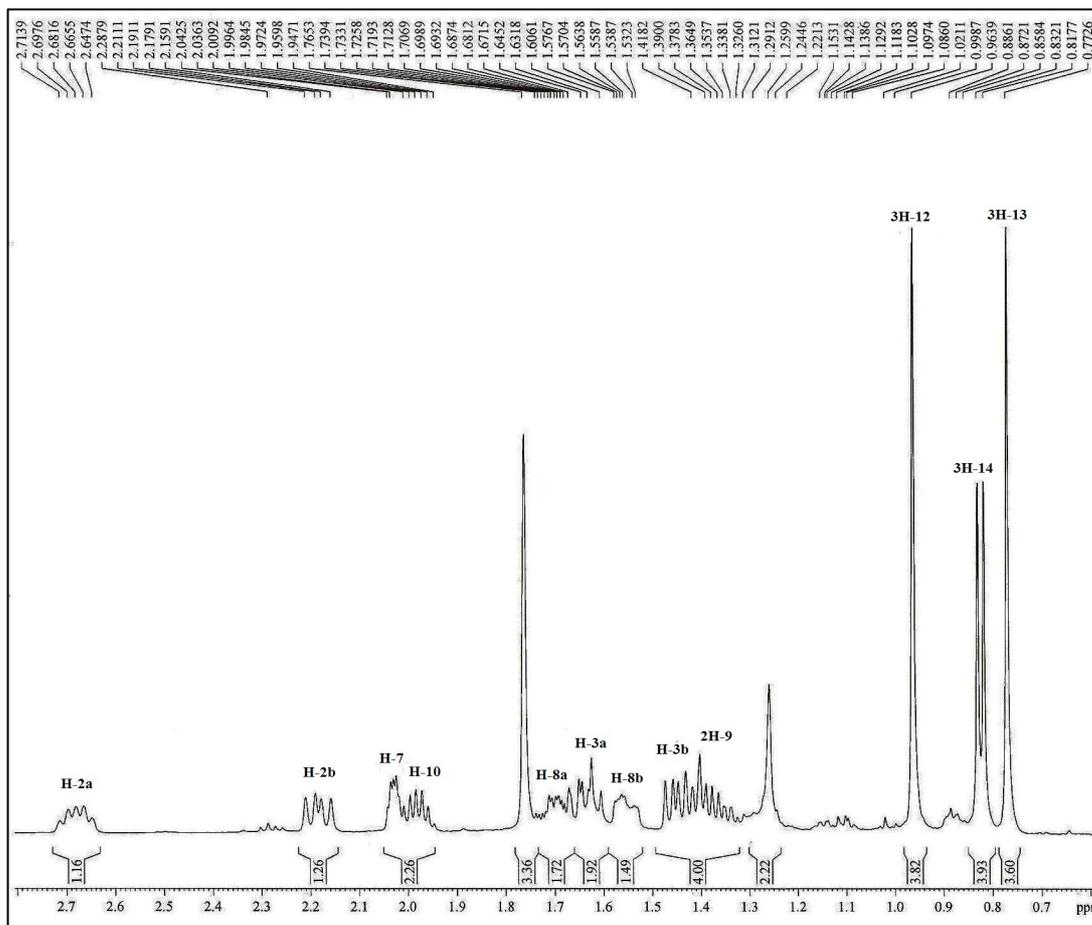
**Figura 7** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1



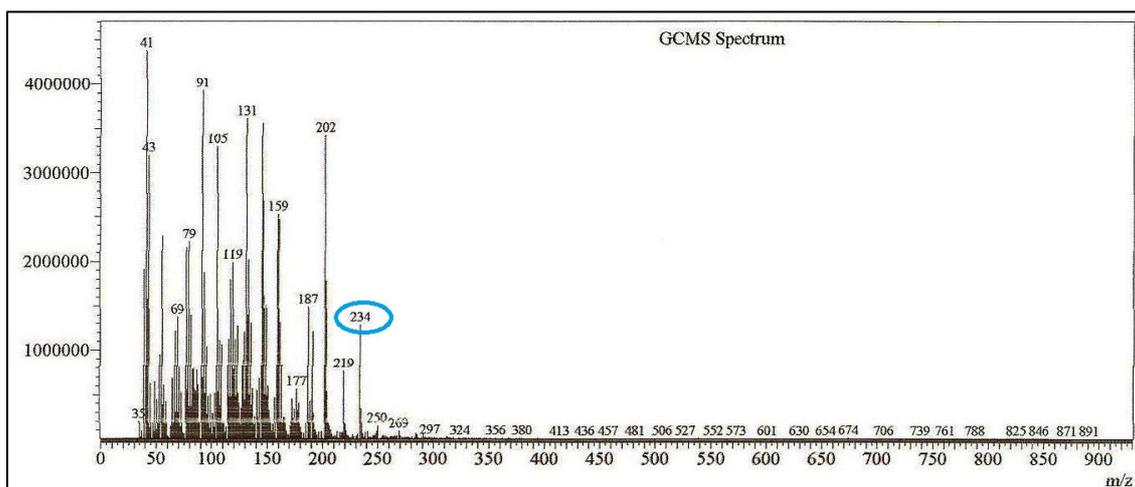
**Figura 8** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-1



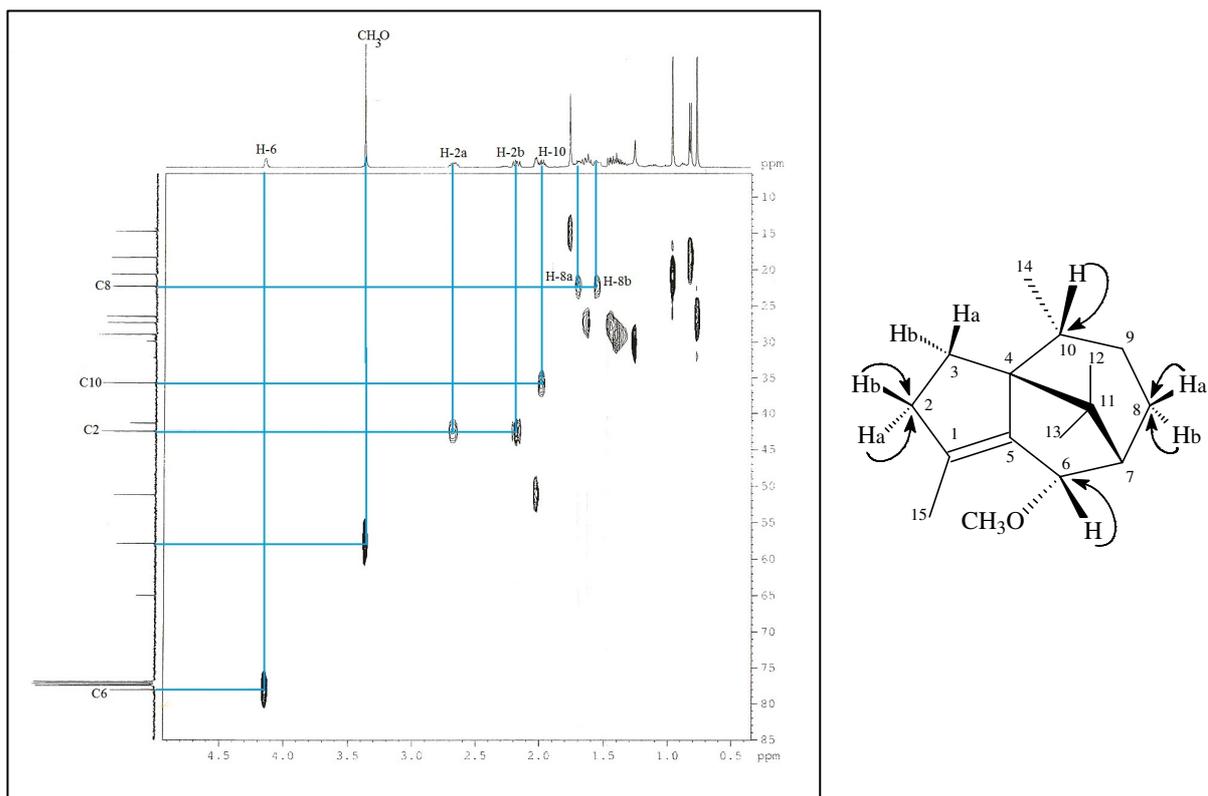
**Figura 9** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-1 (Expansão)



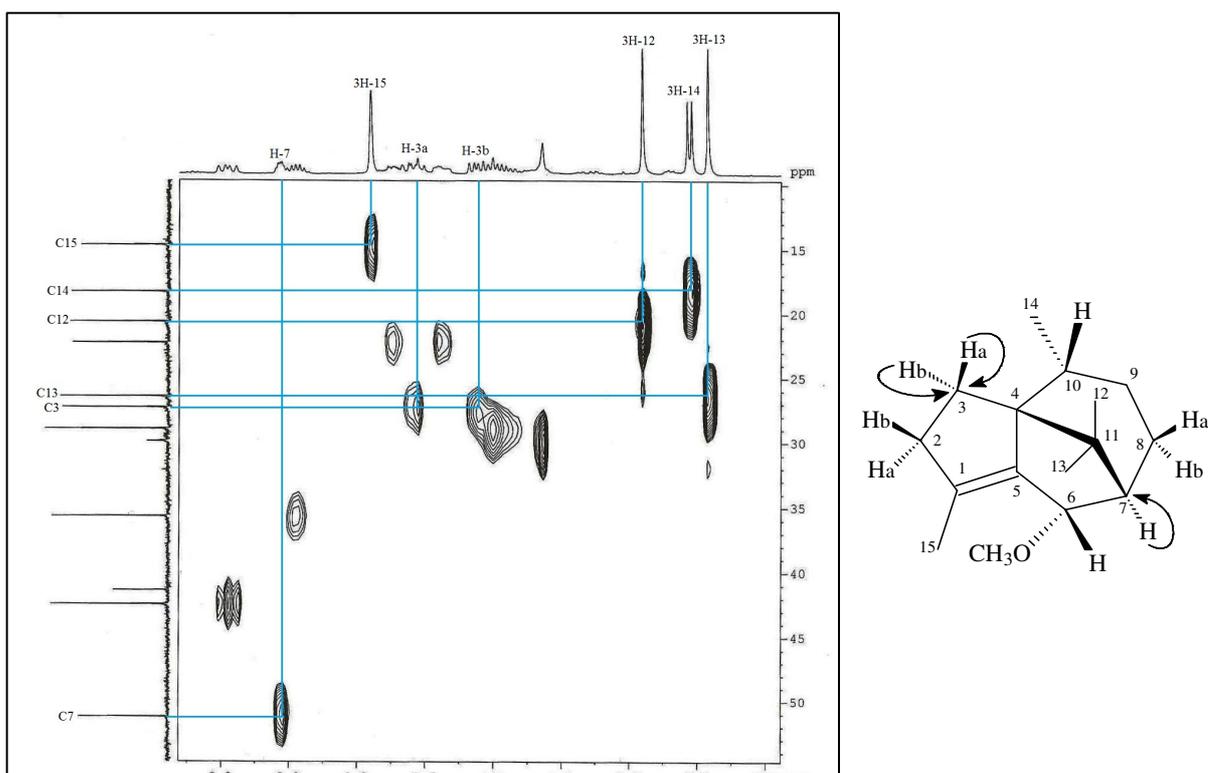
**Figura 10** – Espectro de Massas de CM-1 (IE, 70 eV)



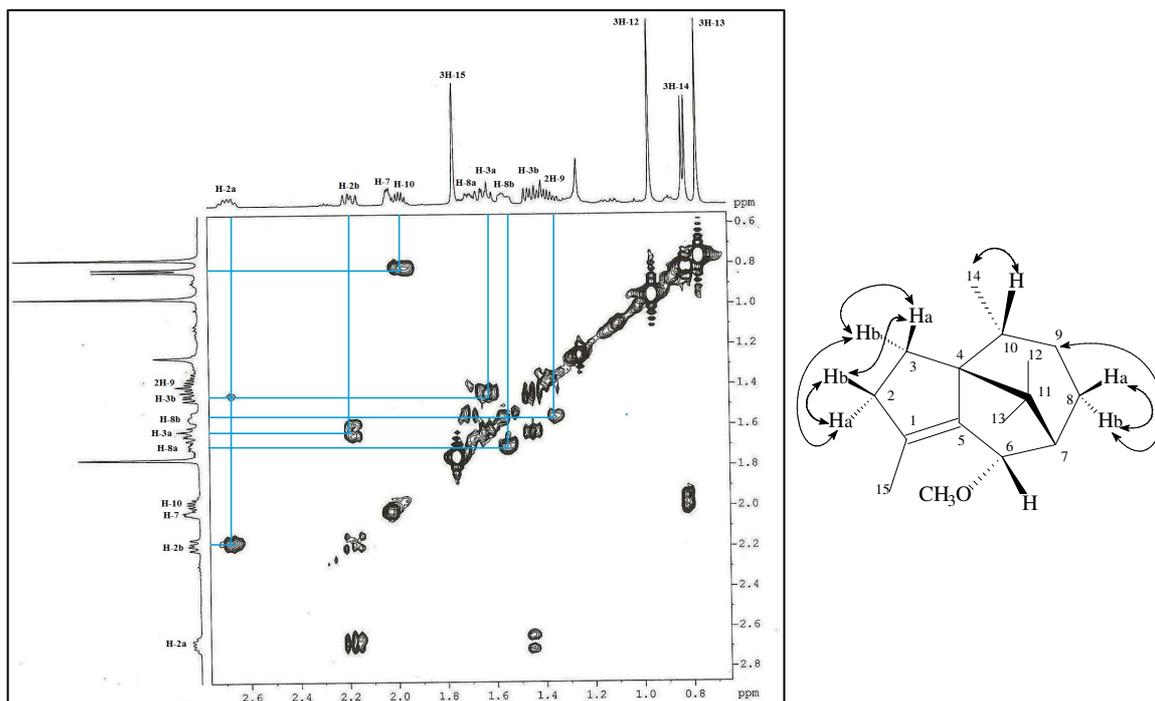
**Figura 11** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1



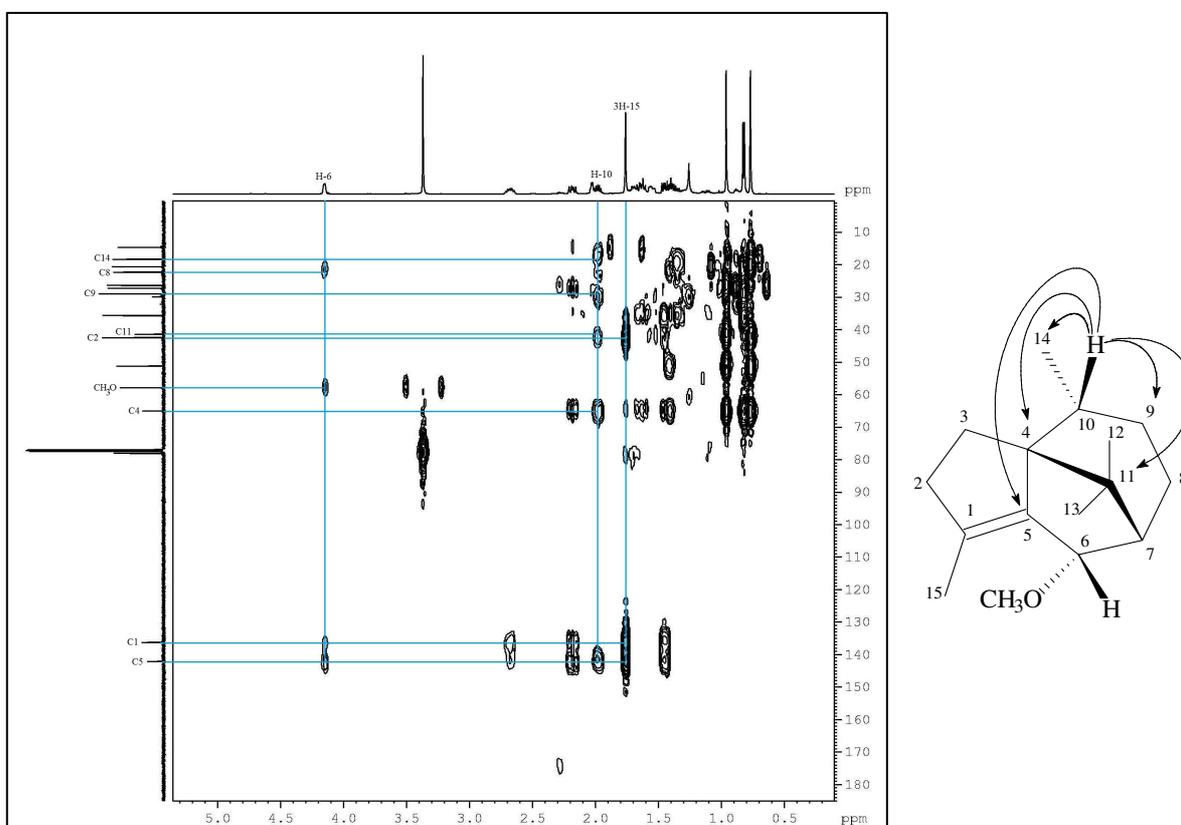
**Figura 12** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (Expansão)



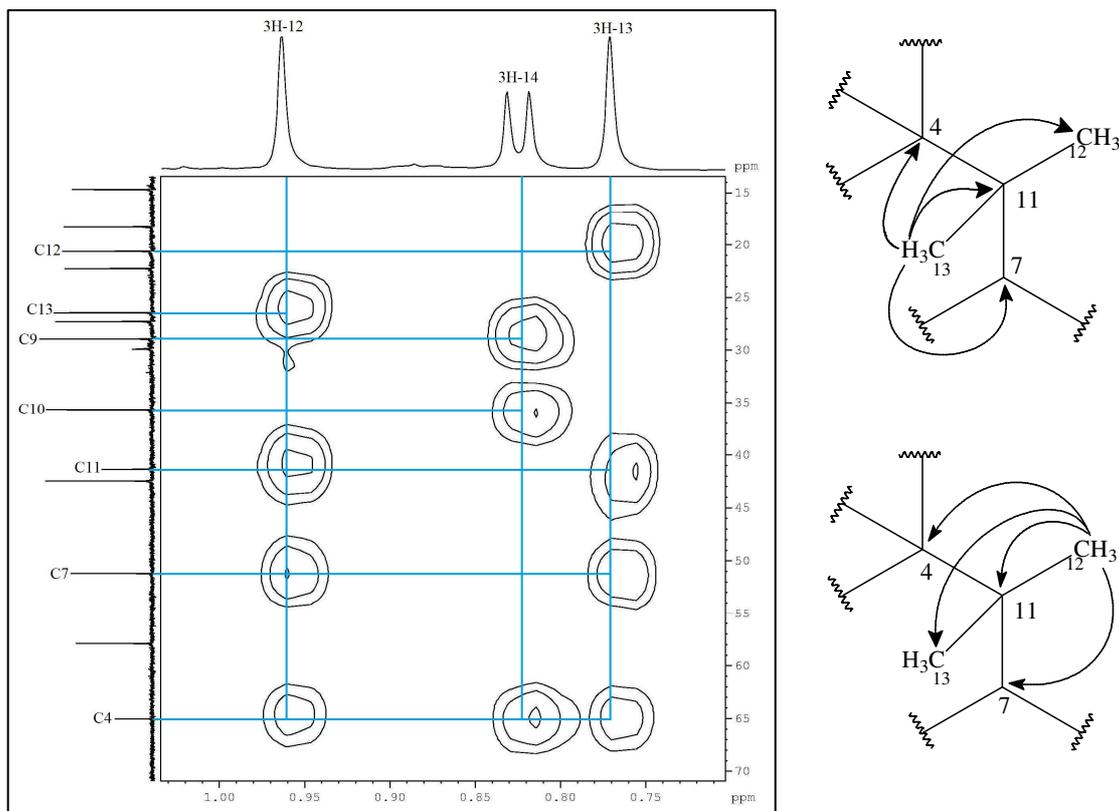
**Figura 13** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1



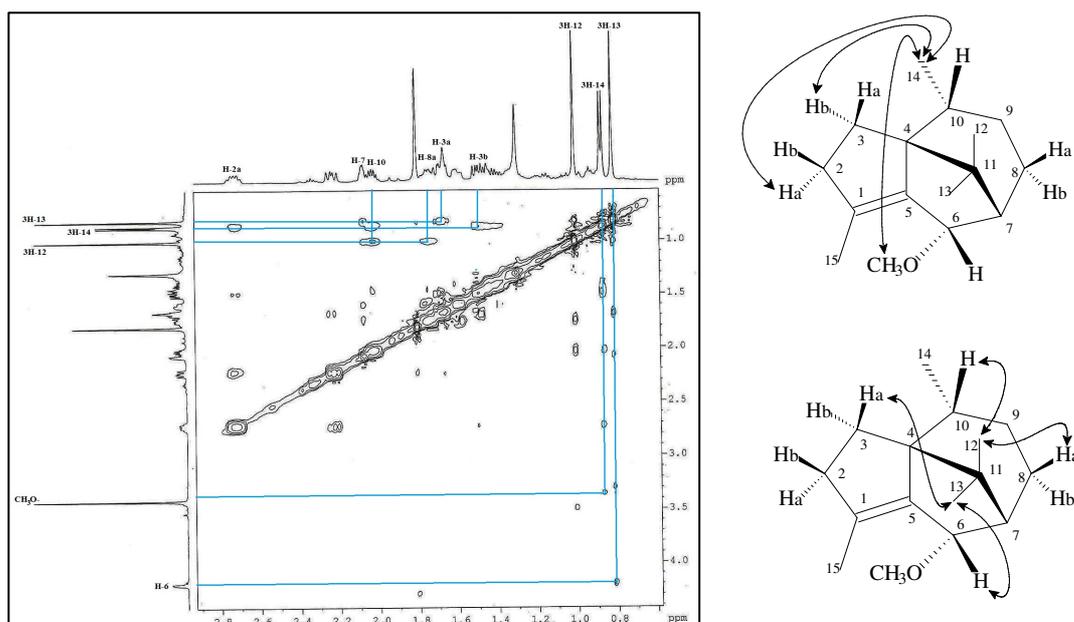
**Figura 14** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1



**Figura 15** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-1 (Expansão)



**Figura 16** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY de CM-1



### 3.2 Determinação estrutural de CM-2

O tratamento cromatográfico da fração hexânica (CMET-H), obtida a partir do extrato etanólico dos talos de *Croton muscicarpa*, utilizando cromatografia em coluna, levou a obtenção de um óleo amarelado (15,6 mg), solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD, denominado CM-2 (Procedimento Experimental p. 94).

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 18, p. 61) de CM-2 apresentou uma banda larga em  $3428\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial da ligação O-H, uma banda em  $2926\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação axial de ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  e outra em  $1455\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação angular assimétrica de  $\text{CH}_3$ . Ainda no mesmo espectro, foi observada uma banda em  $1275\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C-O e outra banda em  $888\text{ cm}^{-1}$  compatível com deformação angular de C-H fora do plano de alceno 1,1-dissubstituído.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Figura 19, p. 61) mostrou a presença de 15 linhas espectrais, ressaltando a natureza sesquiterpênica de CM-2. A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) e de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 20, p. 62) possibilitou identificar a presença de 4 carbonos metínicos (CH), 5 carbonos metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), sendo um de grupo metilênico terminal ( $\delta_{\text{C}}$  106,2), e 3 carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ). Além de 3 carbonos não hidrogenados, um relacionado a carbono carbinólico ( $\delta_{\text{C}}$  81,0), e outro em  $\delta_{\text{C}}$  153,4 o qual foi atribuído a carbono  $\text{sp}^2$ .(Tabela 4)

**Tabela 4** – Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD de CM-2 com padrão de hidrogenação [(RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD e DEPT ( $\theta = 135$ ),  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)]

C	CH	$\text{CH}_2$	$\text{CH}_3$
153,4 (C=C)	54,3	106,2 (C=C)	28,6
81,0 (C-O)	53,3	41,7	26,0
20,1	29,9	38,8	16,3
	27,4	26,7	
		24,7	
3C	4CH	5 $\text{CH}_2$	3 $\text{CH}_3$
<b>Fórmula molecular: <math>\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}</math></b>			

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-2 (Figuras 21 e 22, p. 62 e 63), revelou a presença de 3 sinais característicos de hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,04 (s, 3H-13); 1,05 (s, 3H-12); 1,28 (s, 3H-15), sendo o último atribuído a hidrogênios de metila ligada a carbono oxigenado. Também foram observados dois sinais em campo alto em  $\delta_{\text{H}}$  0,46 (dd, 9,8 Hz; 11,3 Hz, H-6) e 0,71 (m, 6,4 Hz; 9,8 Hz; 11,2 Hz, H-7) característicos de hidrogênios de anel ciclopropânico, atribuídos a H-6 e H-7 de sesquiterpeno de esqueleto aromadendrano (Moreira, *et al.*, 2003). Revelou ainda dois simpletos largos em  $\delta_{\text{H}}$  4,66 (s, H-14a) e 4,69 (s, H-14b), com deslocamentos químicos característicos de hidrogênios exometilênicos.

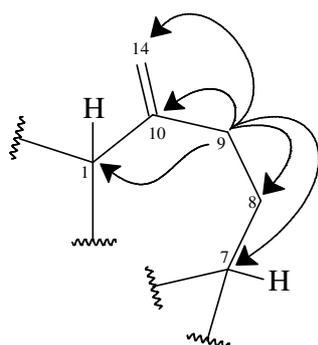
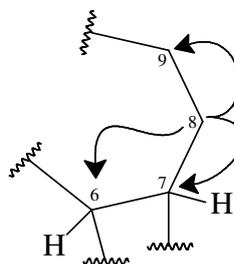
A fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$  foi proposta a partir da união dos dados espectroscópicos e está de acordo com o pico do íon-molecular  $m/z$  220 Daltons observado no espectro de massas (Figura 23, p. 63), apresentando grau de insaturação igual a 4, um desses justificado pela presença de dupla ligação, e os outros graus referentes a 3 anéis.

Através do espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 24 e 25, p. 64) foi possível atribuir os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro foram observados os acoplamentos do sinal dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,66 (s, H-14a) e 4,69 (s, H-14b) com o sinal do carbono metilênico terminal em  $\delta_{\text{C}}$  106,2 (C-14), bem como os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,04 (s, 3H-13); 1,05 (s, 3H-12) e 1,28 (s, 3H-15) com os carbonos  $\delta_{\text{C}}$  16,3 (C-13); 28,6 (C-12); 26,0 (C-15) respectivamente. Também foi possível observar o acoplamento dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  0,46 (dd, 9,8 Hz; 11,3 Hz, H-6), 0,71 (m, 6,4 Hz; 9,8 Hz; 11,2 Hz, H-7) aos carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  29,9 (C-6) e 27,4 (C-7). Além dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  1,32 (m, 10,6 Hz, H-5) e 2,20 (dd, 10,5 Hz; 15,8 Hz, H-1) com os carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  54,3 (C-5) e 53,3 (C-1). Os acoplamentos dos demais sinais de hidrogênio com seus respectivos carbonos podem ser observados na Tabela 5.

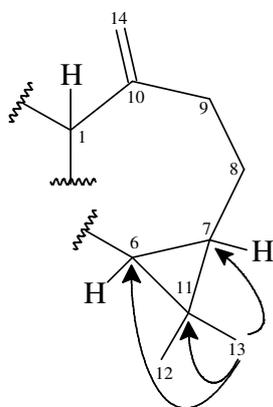
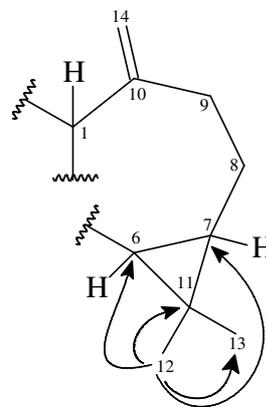
Segundo o espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 26 e 27, p. 65) foram observados acoplamentos vicinais entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,64 (H-2a) e 1,91 (H-2b) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,78 (H-3b) e 2,20 (H-1) respectivamente. Ainda foram observados acoplamentos vicinais entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  1,02 (H-8a) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  0,71 (H-7) e 2,04 (H-9a). Além do acoplamentos vicinais do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  1,32 (H-5) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  0,46 (H-6) e 2,20 (H-1).

O espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 28 e 29, p. 66) mostrou as correlações dos hidrogênios com os carbonos a duas ( $^2J$ ) e três ( $^3J$ )

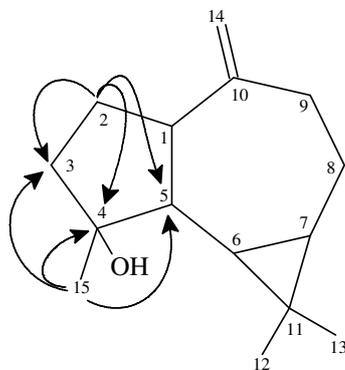
ligações. Desse modo, puderam-se observar algumas correlações importantes para o assinalamento inequívoco dos deslocamentos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o CM-2, como a correlação dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (H-9a) e 2,42 (s, H-9b) acoplando com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  53,3 (C-1); 153,4 (C-10); 106,2 (C-14); 24,7 (C-8); 27,4 (C-7); e em  $\delta_{\text{H}}$  1,98 (H-8b) acoplando com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  38,8 (C-9); 27,4 (C-7); 29,9 (C-6) (sub-estruturas **I** e **II**).

**I****II**

No espectro de HMBC foram observadas correlações de outros dois sinais referentes a hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,04 (3H-13) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  20,1 (C-11); 27,4 (C-7) e 29,9 (C-6), e em  $\delta_{\text{H}}$  1,05 (3H-12) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  16,3 (C-13); 20,1 (C-11); 27,4 (C-7) e 29,9 (C-6), posicionando o anel ciclopropano nos carbonos metínicos C-6 e C-7 na estrutura. (sub-estruturas **III**, **IV**).

**III****IV**

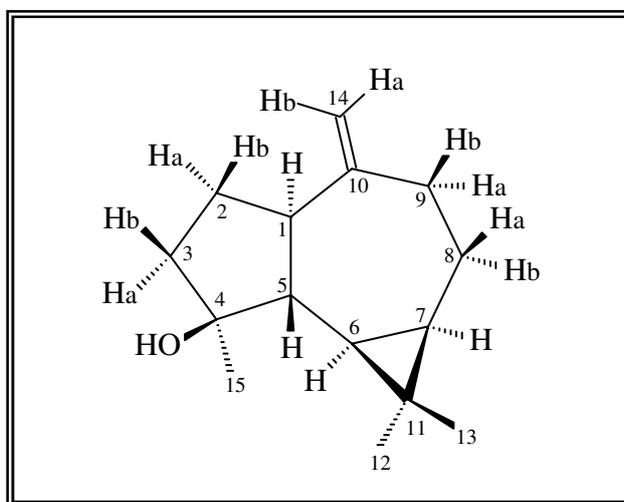
O espectro HMBC ainda exibiu correlações dos hidrogênios metílicos  $\delta_H$  1,28 (3H-15) com os carbonos em  $\delta_C$  41,7 (C-3); 81,0 (C-4) e 54,3 (C-5) e dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,64 (H-2a) e 1,91 (H-2b) com os carbonos em  $\delta_C$  41,7 (C-3); 54,3 (C-5) e 81,0 (C-4) (sub-estrutura V).



V

A análise comparativa dos dados acima descritos com dados da literatura (Inagaki *et al.*, 1985) possibilitaram deduzir que CM-2 tratava-se de um sesquiterpeno de esqueleto aromadendrano (Goldsby, *et al.*, 1987; Calancea, *et al.*, 2009; Moreira, *et al.*, 2003) denominado espatulenol (Figura 17), comum nos óleos essenciais de espécies do gênero *Croton* (Meccia, *et al.*, 2000; Boyom, *et al.*, 2002; Suarez, *et al.*, 2011), e isolado anteriormente de *Croton caracasana* (Suirez *et al.*, 2008). O referido composto apresenta relatos na literatura de atividades espasmolítica (Perez-Hernandez, *et al.*, 2008) e antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis* (Ulubelen, *et al.*, 1994) além de efeito imunoinibitório (Ziaei, *et al.*, 2011).

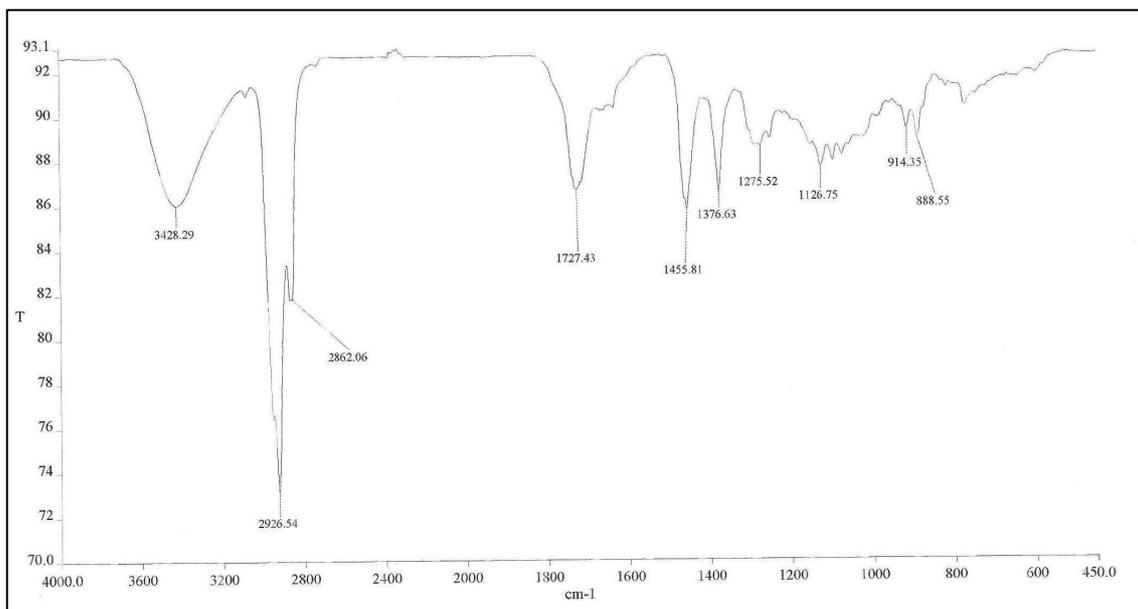
**Figura 17** – Estrutura do Espatulenol



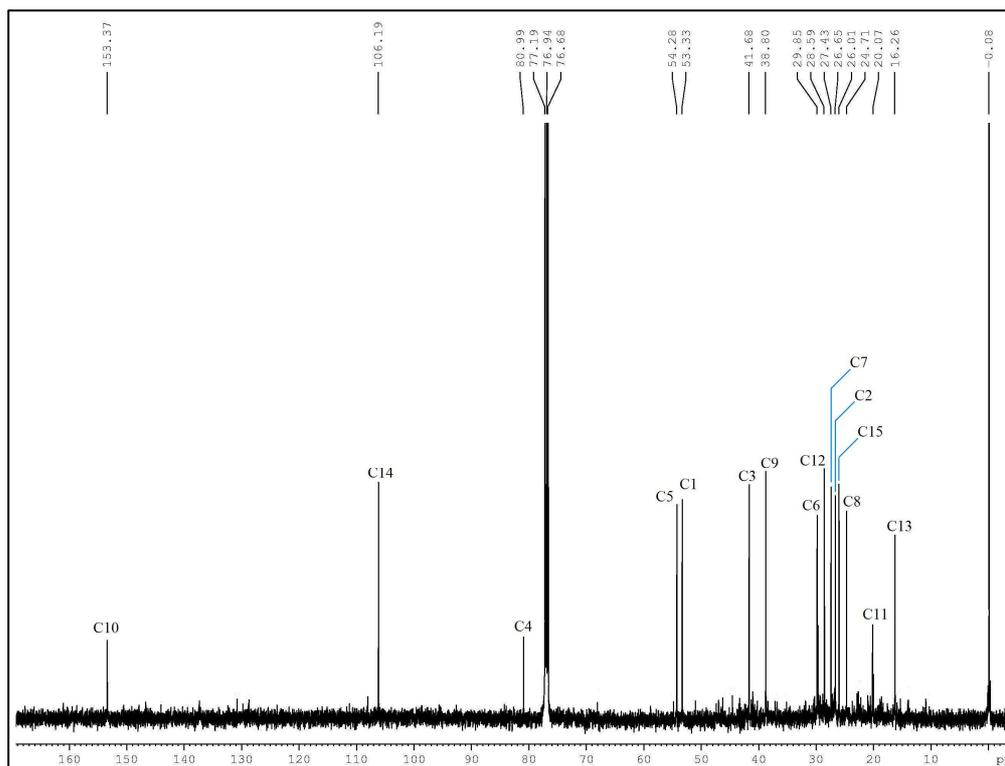
**Tabela 5** – Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HSQC e HMBC ( $^2J$ ,  $^3J$ ) (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Figura 18), comparado com os valores da literatura de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (400 x 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para o sesquiterpeno espatulenol (Inagaki *et al.*, 1985).

C	CM-2	HSQC	HMBC		Espatulenol	
	$\delta_c$	$\delta_H$	$^2J$	$^3J$	$\delta_c$	$\delta_H$
1	53,3	2,20 (dd, 10,5 Hz; 15,8 Hz)	H-2b	H-9b; H-14b; H-14a	53,4	2,20
2	26,7	a: 1,64 (m) b: 1,91 (m, 6,4 Hz; 5,7 Hz)	H-3a	-	26,7	1,64; 1,91
3	41,7	a: 1,55 (m) b: 1,78 (m, 7,0 Hz)	H-2b	3H-15	41,7	1,54; 1,77
4	81,0	-	H-3b; 3H-15	H-2a	80,9	-
5	54,3	1,32 (m, 10,6 Hz)		H-2a; 3H-15	54,3	1,31
6	29,9	0,46 (dd, 9,8 Hz; 11,3 Hz)		H-8b; 3H-12; 3H-13	29,8	0,46
7	27,4	0,71 (m, 6,4 Hz; 9,8 Hz; 11,2 Hz)	H-8b	H-9b; H-9a; 3H-12; 3H-13	27,5	0,71
8	24,7	a: 1,02 b: 1,98 (m; 7,0 Hz; 7,0 Hz)	H-9b; H-9a	-	24,8	1,01; 1,96
9	38,8	a: 2,04 (t, 13,2 Hz; 13,2 Hz) b: 2,42 (dd, 7,05 Hz; 12,3 Hz)	H-8b	H-14b; H-14a	38,9	2,04; 2,42
10	153,4	-	H-9b; H-9a	H-5	153,4	-
11	20,1	-	3H-12; 3H-13	H-5	20,2	-
12	28,6	1,05 (s, 3H)	-	-	28,7	1,05
13	16,3	1,04 (s, 3H)	-	3H-12	16,3	1,04
14	106,2	a: 4,66 (s, 1H) b: 4,69 (s, 1H)	-	H-9b; H-9a	106,3	4,66; 4,69
15	26,0	1,28 (s, 3H)	-	-	26,1	1,28

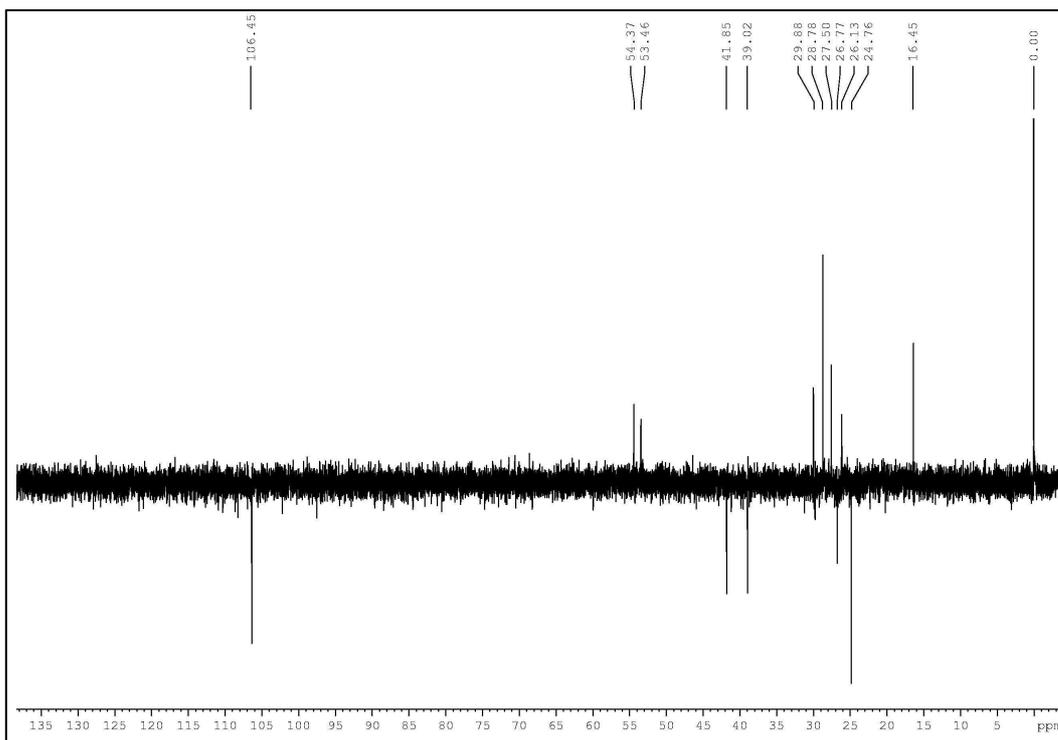
**Figura 18**– Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-2 em filme de KBr



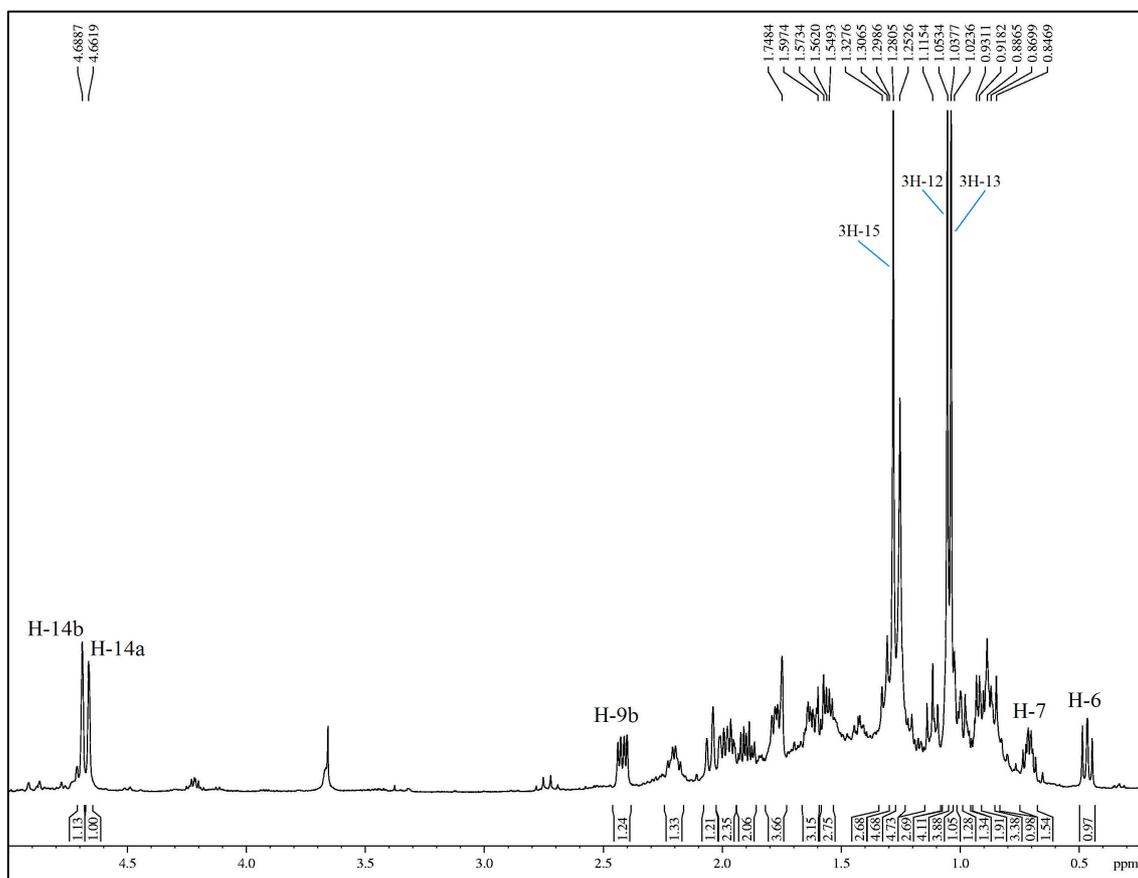
**Figura 19** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2



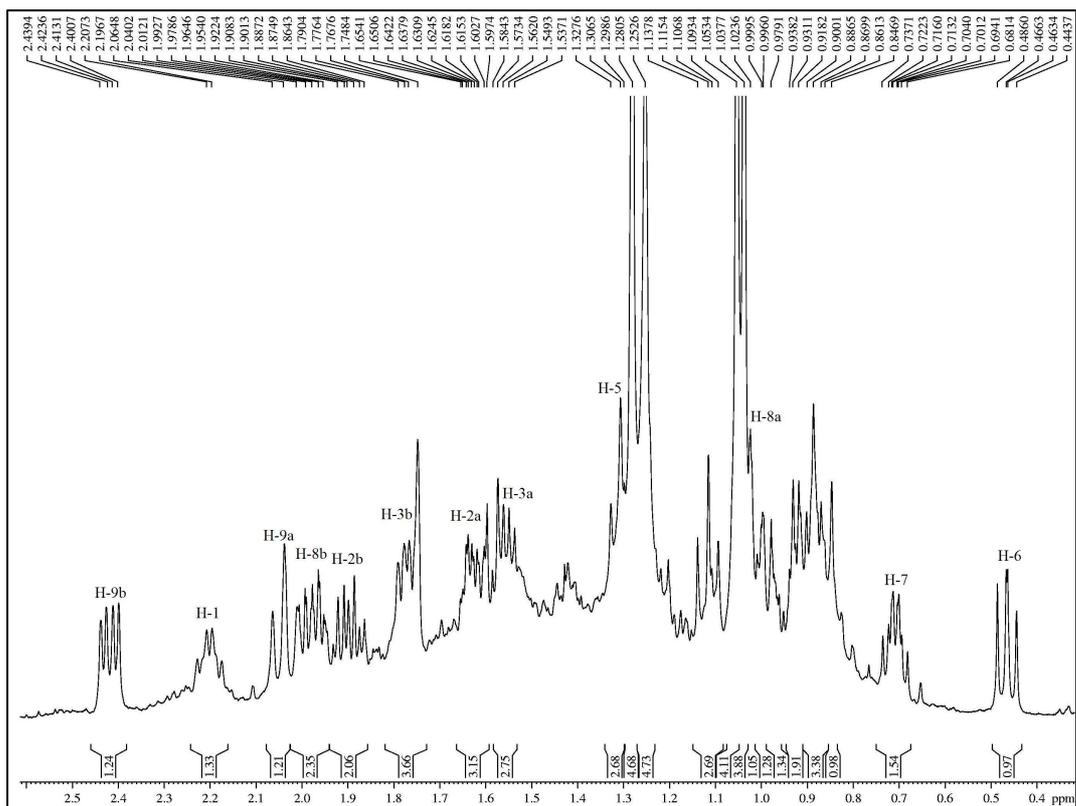
**Figura 20** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2



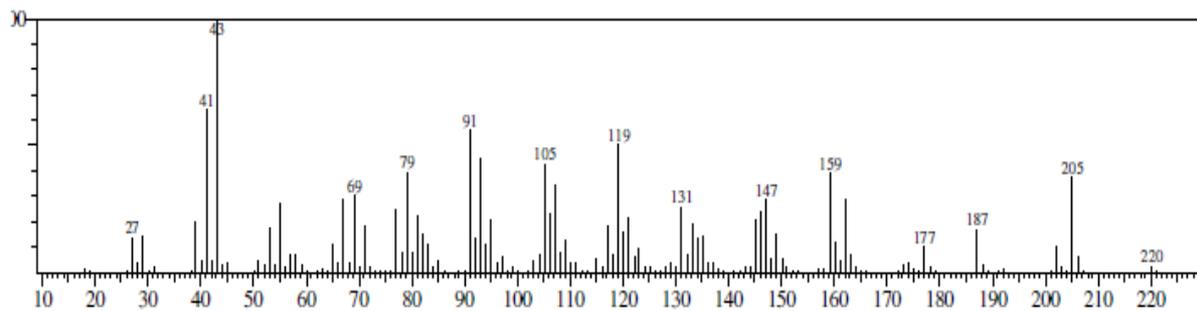
**Figura 21** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-2



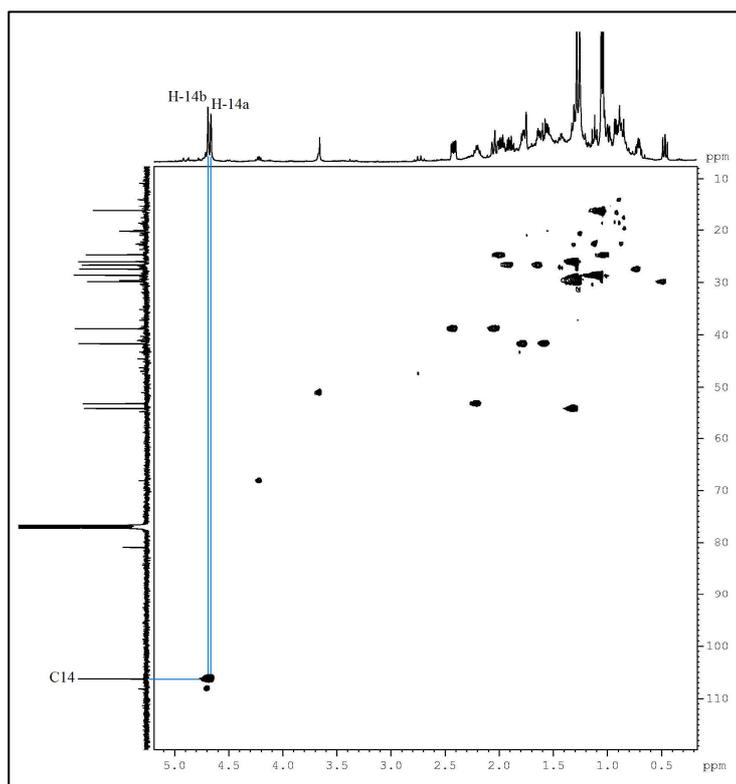
**Figura 22** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-2 (Expansão)



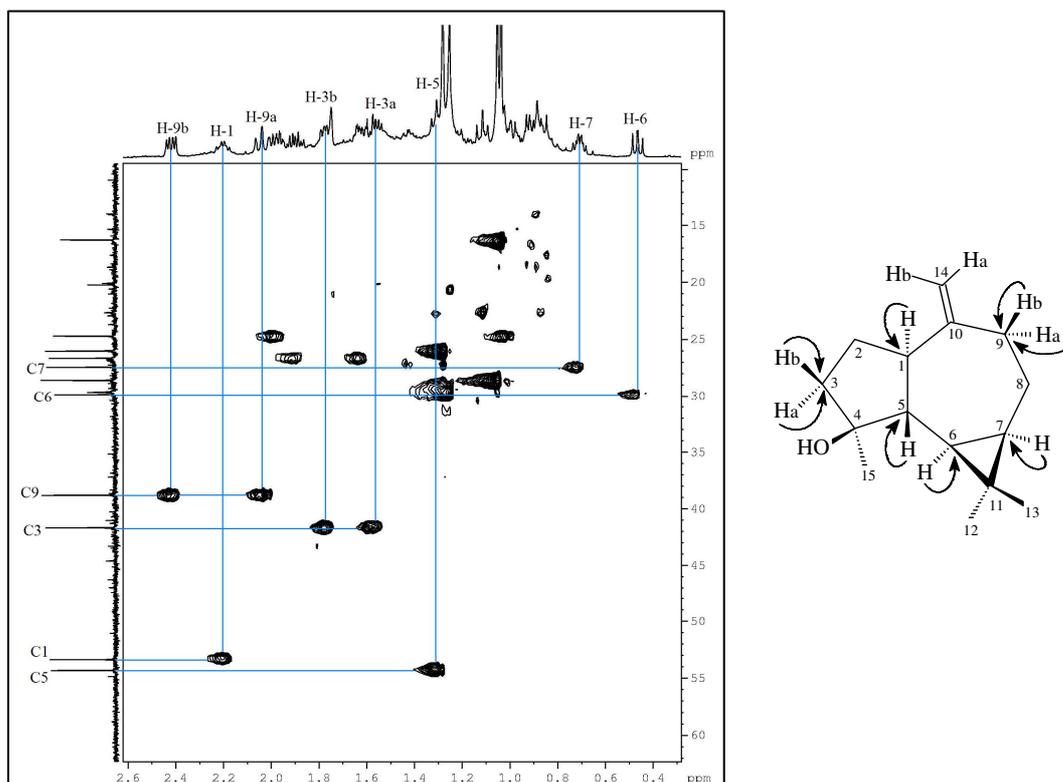
**Figura 23** – Espectro de Massas de CM-2 (IE, 70 eV)



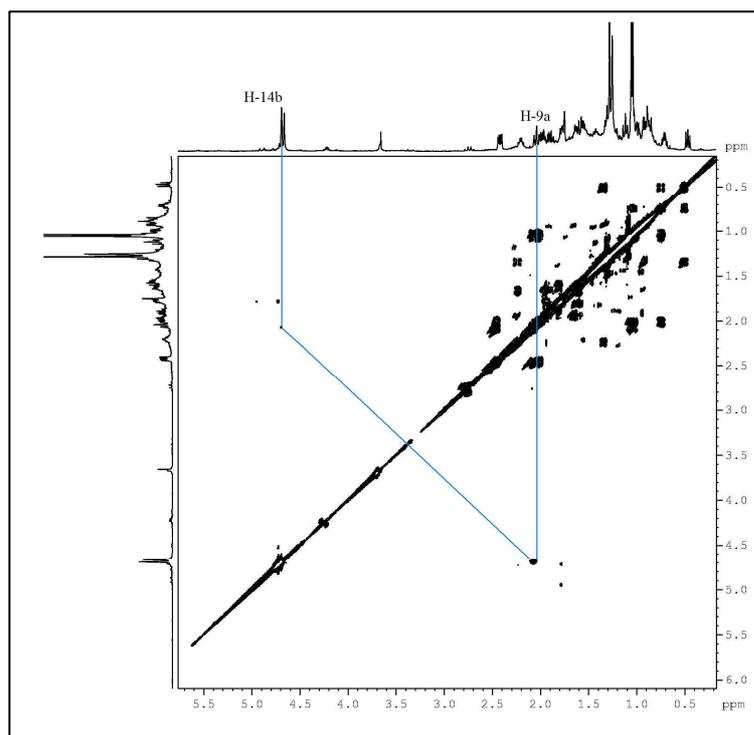
**Figura 24** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2



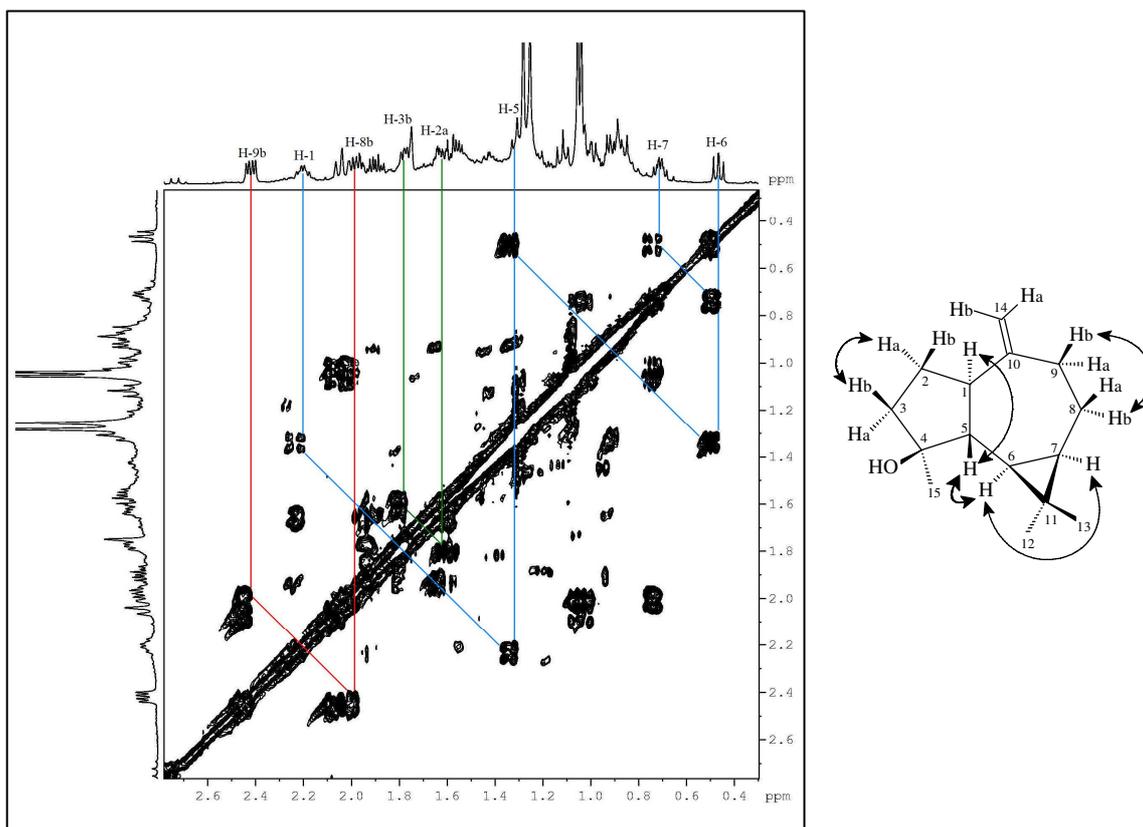
**Figura 25** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão)



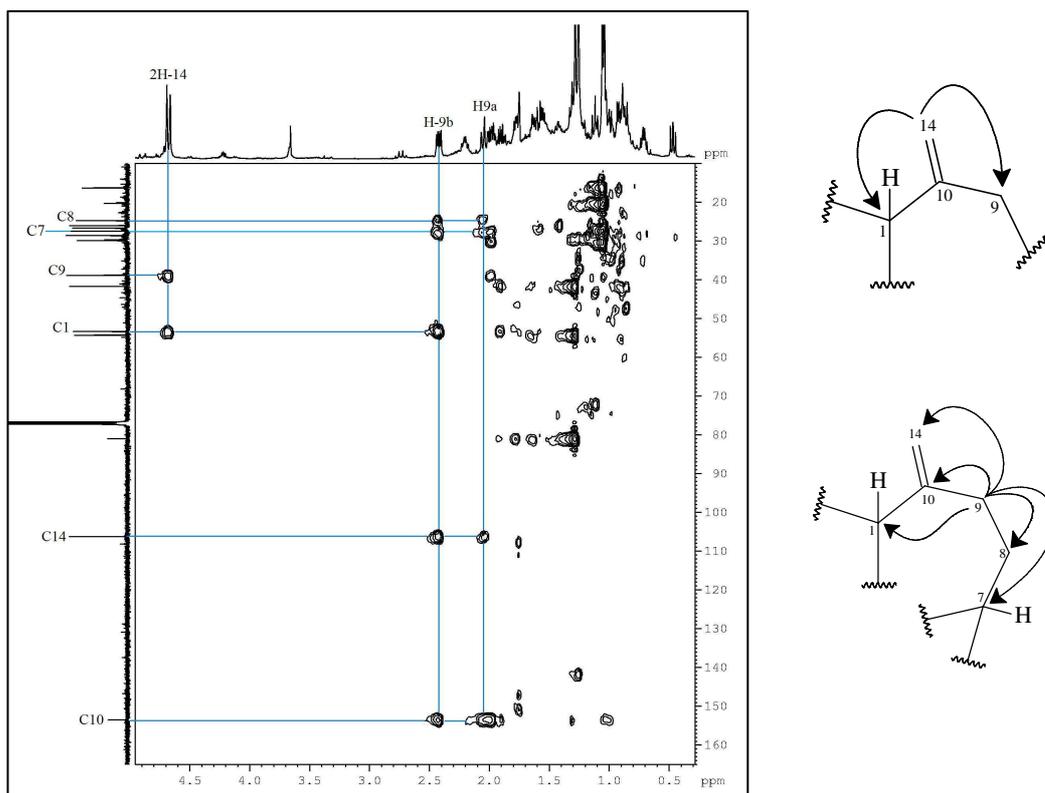
**Figura 26** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2



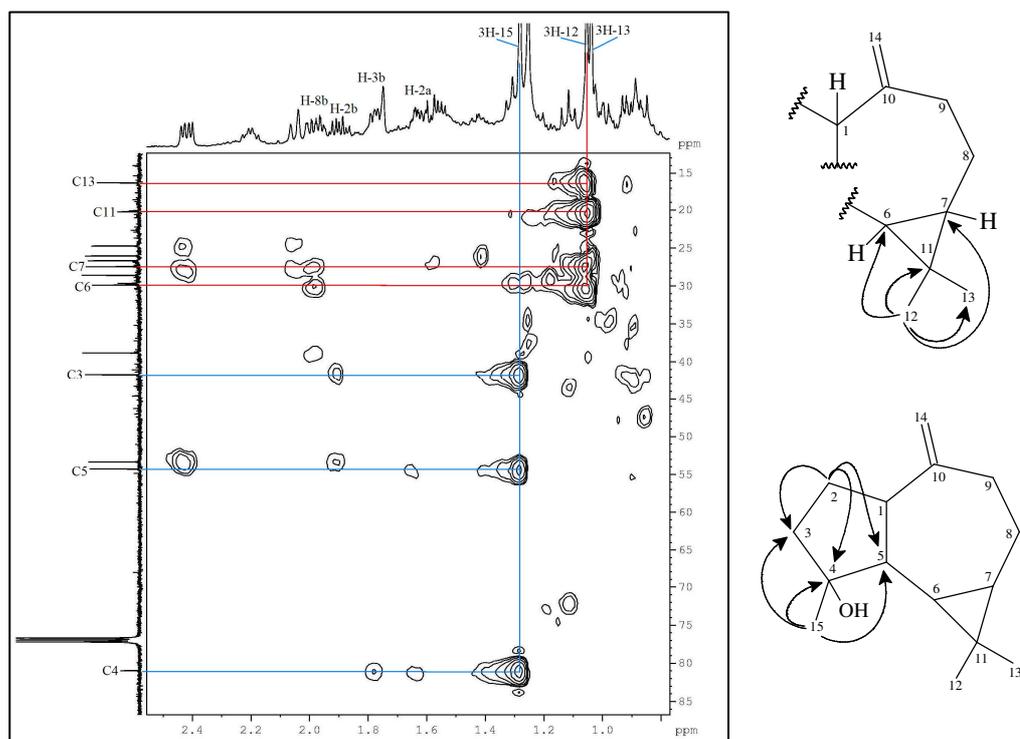
**Figura 27** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão)



**Figura 28** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2



**Figura 29** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-2 (Expansão)



### 3.3 Determinação estrutural de CM-3

O tratamento cromatográfico da fração CMHR-2 (Procedimento Experimental p. 97), obtida a partir do extrato hexânico das raízes de *Croton muscicarpa*, resultou no isolamento de 8,9 mg de um sólido branco, em forma de agulhas, solúvel em clorofórmio, homogêneo em CCD, com ponto de fusão na faixa de 298,6-300,2 °C, denominado CM-3.

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Figura 32, p. 72) de CM-3 apresentou duas absorções intensas em 1686 e 1731  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas a deformação axial de ligação C=O, sugerindo a presença de duas carbonilas. Também foi observado uma banda larga em 3403  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação axial da ligação O-H. Além disso, foram observadas bandas de deformações axiais de ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  em 2856 e 2934  $\text{cm}^{-1}$ . Mostrou ainda, absorção em 1467  $\text{cm}^{-1}$  de deformação angular de  $\text{CH}_2$  no plano, absorção em 1376  $\text{cm}^{-1}$  de deformação angular simétrica de  $\text{CH}_3$ , e em 1241  $\text{cm}^{-1}$  uma banda intensa referente a deformação axial de ligação C-O.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Figura 33 e 34, p. 72 e 73) revelou seis simpletos na faixa de  $\delta_{\text{H}}$  0,85 a 0,96, que foram relacionados a sete grupamentos metila ligados a carbono quaternários [ $\delta_{\text{H}}$  0,85 (s, 3H-23); 0,88 (s, 3H-24); 0,92 (s, 3H-30); 0,93 (s, 3H-27); 0,94 (s, 3H-29) e 0,96 (s, 6H, 3H-26 e 3H-25)], além de um outro em  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (s, 3H-32) relativo a hidrogênios metílicos de grupamento acetila. Além disso, foram ainda visualizados sinais em região de desproteção correspondentes a um hidrogênio olefínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,52 (d, 4,85 Hz, H-15) e um hidrogênio ligado a carbono oxigenado em 4,47 (dd, 4,7 Hz; 10,0 Hz; H-3).

Observando o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 35 e 36, p. 73 e 74) verificou-se a presença de 32 linhas espectrais, sendo dois sinais referentes a grupamentos carbonilas em  $\delta_{\text{C}}$  184,0 e 171,2; compatíveis com um esqueleto triterpênico acetilado. Observou-se também dois sinais em  $\delta_{\text{C}}$  160,8 e 117,0; que juntamente com o sinal  $\delta_{\text{H}}$  5,52 observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , indicaram a presença uma dupla ligação trissubstituída.

A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta = 135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 37, p. 74) de CM-3, permitiu identificar a presença de 8 carbonos metílicos, 10 metilênicos, 5 metínicos e 9 carbonos não-hidrogenados, respectivamente. Observou-se ainda dois sinais referentes a carbonos

insaturados, um não-hidrogenado e outro mono hidrogenado em  $\delta_C$  160,8 (C-14) e 117,0 (C-15), respectivamente, e um carbono oximetínico em  $\delta_C$  81,1 (C-3). (Tabela 6).

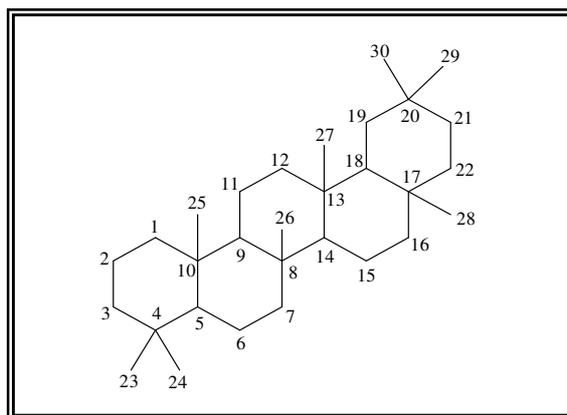
**Tabela 6** – Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD de CM-3 com padrão de hidrogenação [(RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD e DEPT ( $\theta = 135$ ),  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)]

<b>C</b>	<b>CH</b>	<b>CH<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub></b>
184,1	117,0	41,0	32,1
171,2	81,1	37,6	28,9
160,8	55,8	35,6	28,2
51,7	49,3	33,9	26,4
39,3	41,7	33,6	22,7
38,2		31,6	21,5
37,9		31,0	16,8
37,6		23,7	15,8
29,5		18,9	
		17,5	
C <sub>9</sub>	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>24</sub>
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> e -CO <sub>2</sub> H			
<b>Fórmula molecular: C<sub>32</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub></b>			

A partir dos dados obtidos pôde-se propor a fórmula molecular C<sub>32</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub>, com índice de deficiência de hidrogênio igual a 8.

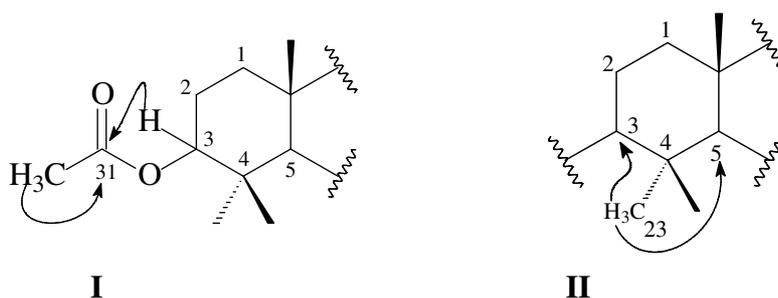
Análise comparativa dos dados acima descritos com dados da literatura relacionados a esqueletos triterpênicos (Tabela 7) permitiu sugerir uma estrutura de triterpeno pentacíclico do tipo oleanano para CM-3 (Figura 30).

**Figura 30** – Estrutura básica de um esqueleto triterpênico do tipo oleanano



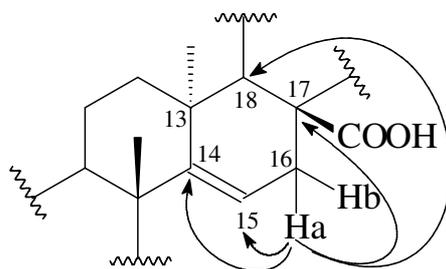
O espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 38 e 39, p. 75) permitiu associar inequivocamente todos os sinais dos hidrogênios a seus respectivos carbonos, como observado na Tabela 7.

A análise do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 40, 41 e 42, p. 76 e 77) permitiu verificar o acoplamento do sinal de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,47 (H-3) e 2,04 (H-32) com o sinal do carbono carbonílico em  $\delta_{\text{H}}$  171,2 (C-31) (Sub-estrutura **I**). Também foi observado o acoplamento dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  0,85 (3H-23) com os sinais dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  55,8 (C-5) e 81,1 (C-3) (sub-estrutura **II**).



A posição da dupla ligação trissubstituída nos carbonos C-14 e C-15, foi determinada pela presença dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  160,8 e 117,0 observados no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , que de acordo com dados da literatura são característicos de esqueleto da subclasse taraxerano ( $\delta_{\text{C}}$  158-162 e  $\delta_{\text{C}}$  115-118) (Mahato *et al.*, 1994). A posição também foi confirmada pelos acoplamentos do hidrogênio metilênico em  $\delta_{\text{H}}$  2,36 (H-16a) com os sinais referentes aos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  160,8 (C-14); 117,0 (C-15); 51,7 (C-

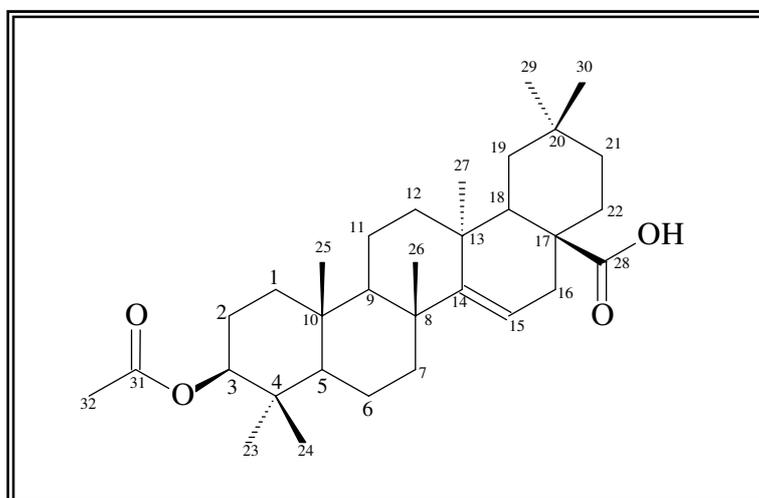
17) e 41,7 (C-18) observados no espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (sub-estrutura III).



III

Através da análise dos dados espectroscópicos obtidos para CM-3, bem como a comparação com dados da literatura para triterpenos de esqueleto oleanano da subclasse taraxerano (D-fridoleanano) (Ahmad *et al.*, 1994 e Mahato *et al.*, 1994), juntamente com a comparação do ponto de fusão (298,6-300,2 °C) com os das literatura (Prachayasittikul *et al.*, 2009; San Gil *et al.*, 2008), concluiu-se que CM-3 tratava-se do ácido 3-acetil-olean-14-en-28-óico (ácido acetil aleuritólico, AAA) (Figura 31). Este triterpeno comum em espécies do gênero *Croton*, isolado anteriormente de *C. cajucara* e *C. urucurana* (Salatino *et al.*, 2007), apresenta relatos sobre atividades citotóxica (Reyes, *et al.*, 2010), antiinflamatória (Mavar-Manga, *et al.*, 2008), gastroprotetora (Pertino, *et al.*, 2007), contra *Trypanosoma cruzi* (Campos, *et al.*, 2010) e antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* e *Shigella dysentery* (Mathabe, *et al.*, 2008).

**Figura 31** – Estrutura do Ácido Acetil-Aleuritólico (AAA)

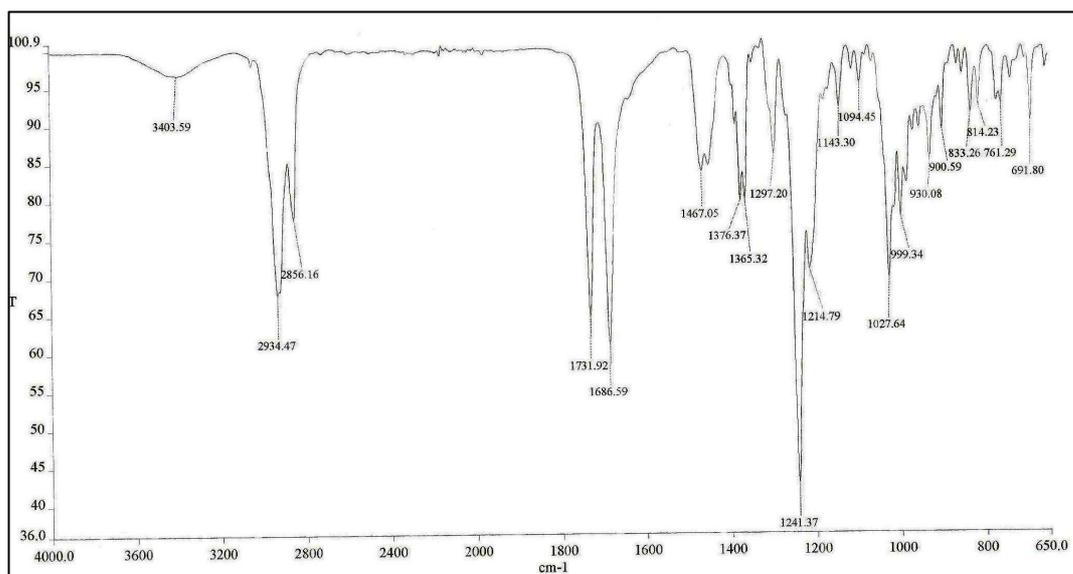


**Tabela 7** – Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (**1**), comparado com os valores de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  da literatura (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para o ácido acetil-aleurítico (AAA).

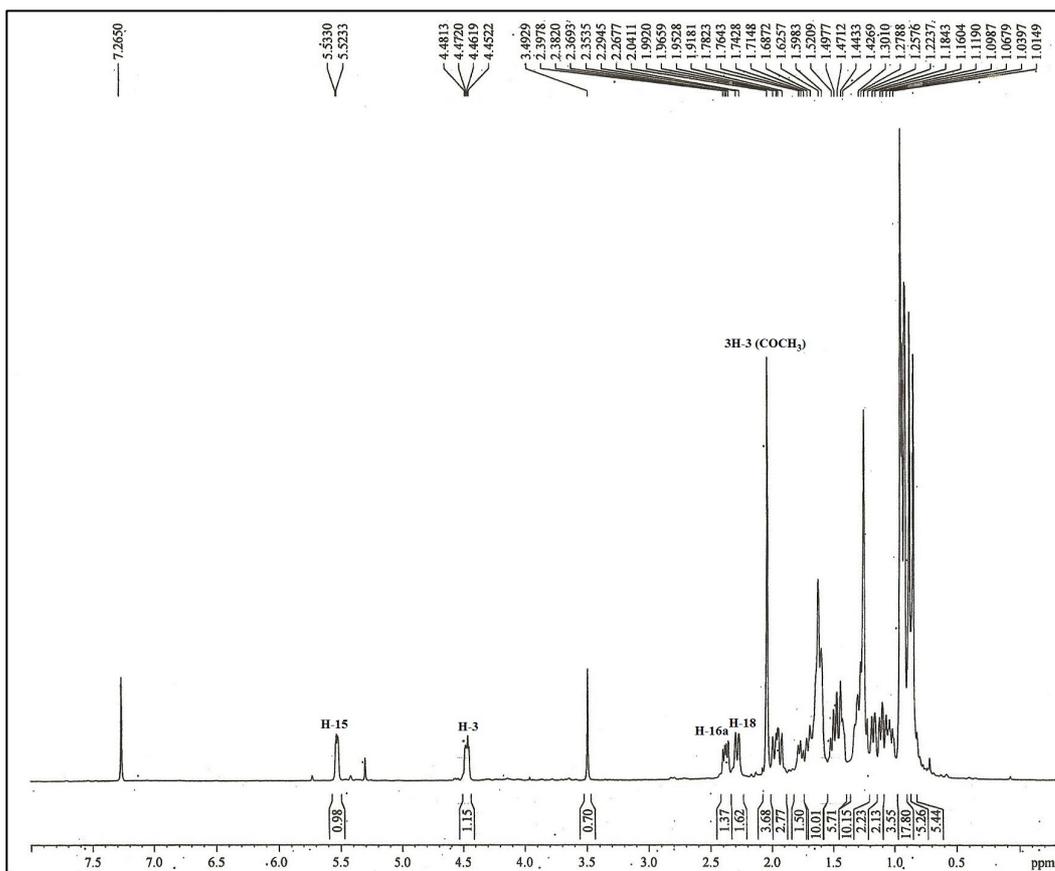
C	CM-3	HSQC	AAA	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1	37,6	1,62; 1,04	37,4	1,61; 1,04
2	23,7	1,63; 1,60	23,4	1,66; 1,61
3	81,1	4,47 (dd, 10,0 e 4,7 Hz)	80,8	4,47
4	37,6	-	37,6	-
5	55,8	0,88	55,5	0,88
6	18,9	1,60; 1,49	18,7	1,62; 1,49
7	41,0	1,97 (d, 13,1 Hz); 1,30	40,7	1,97; 1,30
8	39,3	-	39,0	-
9	49,3	1,43	49,0	1,42
10	37,9	-	37,9	-
11	17,5	1,63; 1,49	17,2	1,69; 1,48
12	33,6	1,77 (t, 9,0 Hz); 1,62	33,2	1,78; 1,60
13	38,2	-	37,2	-
14	160,8	-	160,5	-
15	117,0	5,52 (d, 4,9 Hz)	116,8	5,52
16	31,6	2,36 (dd, 19,3 e 7,9 Hz); 1,93 (d, 17,4 Hz)	31,3	2,37; 1,93
17	51,7	-	51,4	-
18	41,7	2,28 (d, 13,4)	41,3	2,28
19	35,6	1,26; 1,11	35,2	1,24; 1,09
20	29,5	-	29,2	-
21	33,9	1,17; 1,07	33,6	1,16; 1,05
22	31,0	1,70; 1,44	30,6	1,69; 1,44
23	28,2	0,85 (s)	27,9	0,85
24	16,8	0,88 (s)	16,5	0,88
25	15,9	0,96 (s)	15,6	0,95
26	26,4	0,96 (s)	26,1	0,95
27	22,7	0,93 (s)	22,4	0,92
28	184,1	-	184,2	-
29	32,1	0,94 (s)	31,8	0,94
30	28,9	0,92 (s)	28,6	0,91
31	171,2	-	170,9 <sup>a</sup>	-
32	21,5	2,04 (s)	21,2 <sup>a</sup>	2,03

<sup>a</sup>Ahmad *et al.*, 1994; <sup>b</sup>Mahato *et al.*, 1994

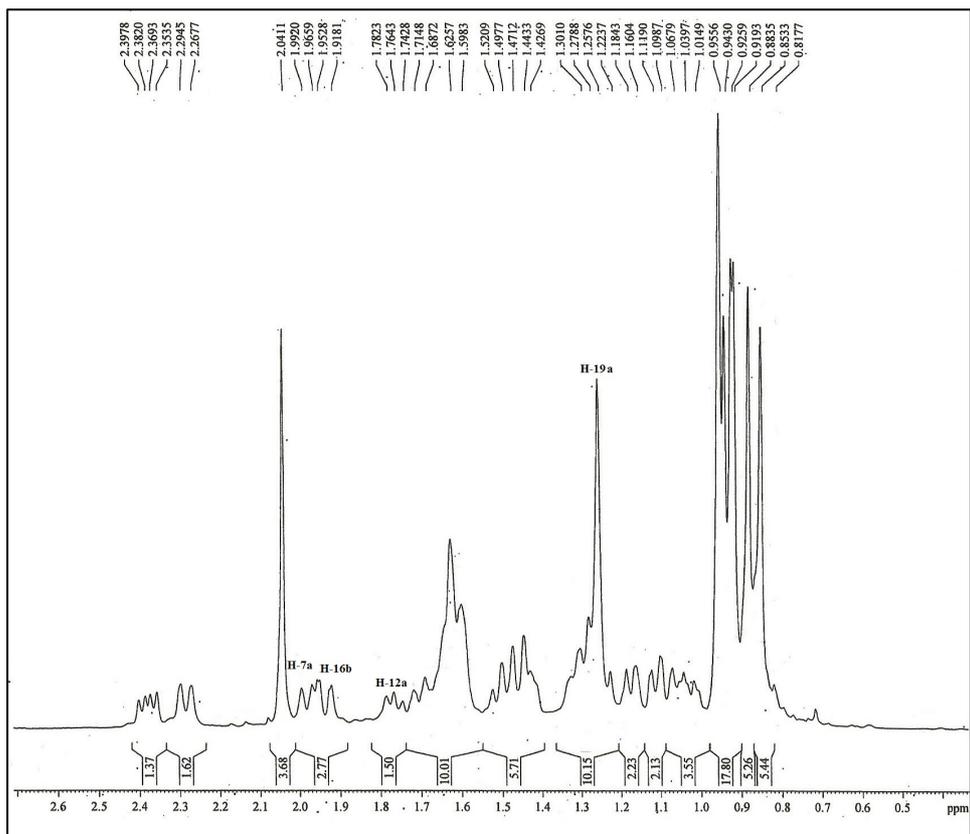
**Figura 32**– Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-3 em filme de KBr



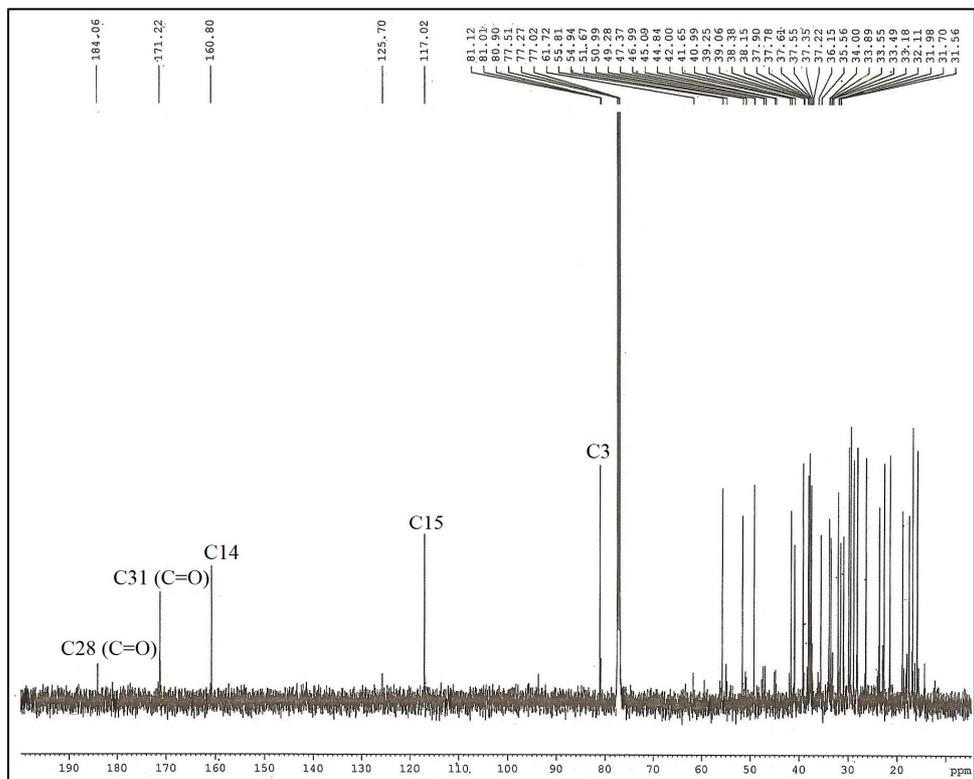
**Figura 33** – Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de CM-3



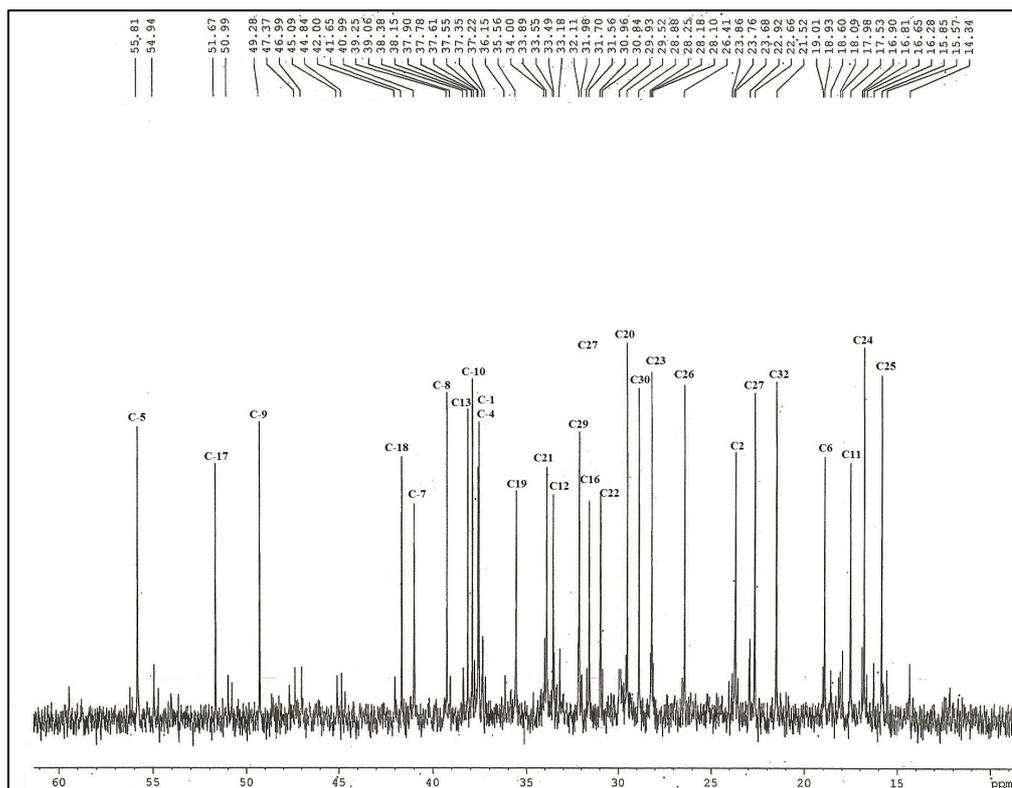
**Figura 34** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-3 (Expansão)



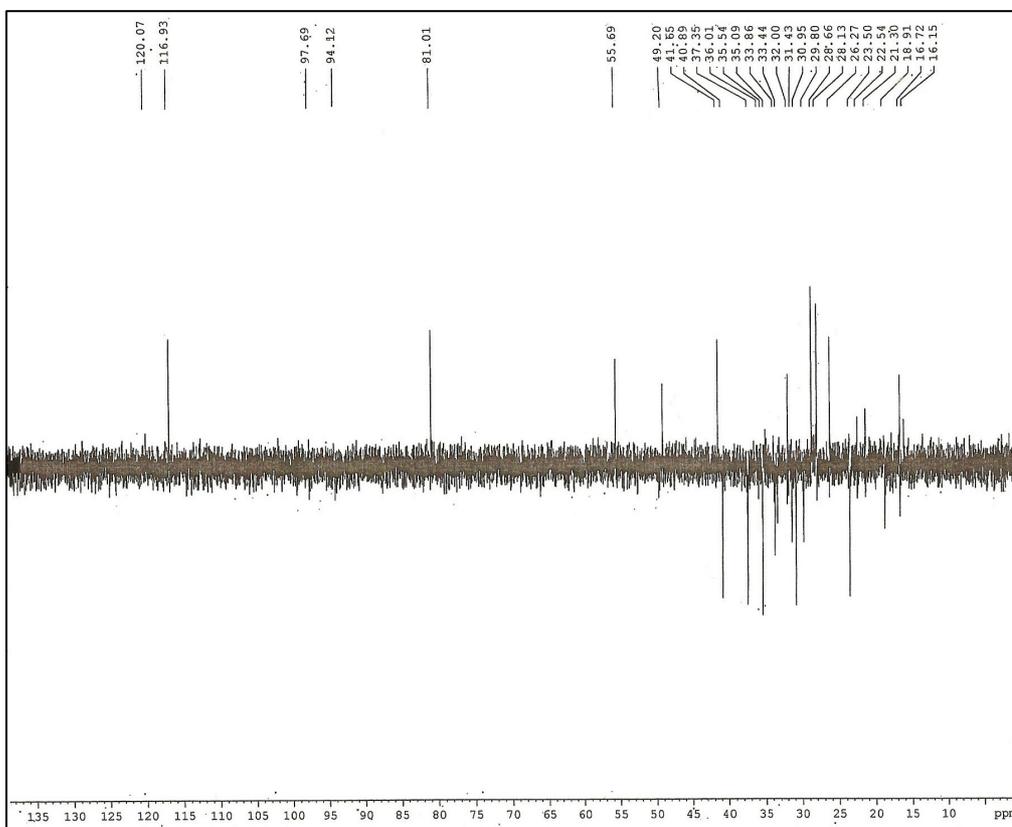
**Figura 35** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3

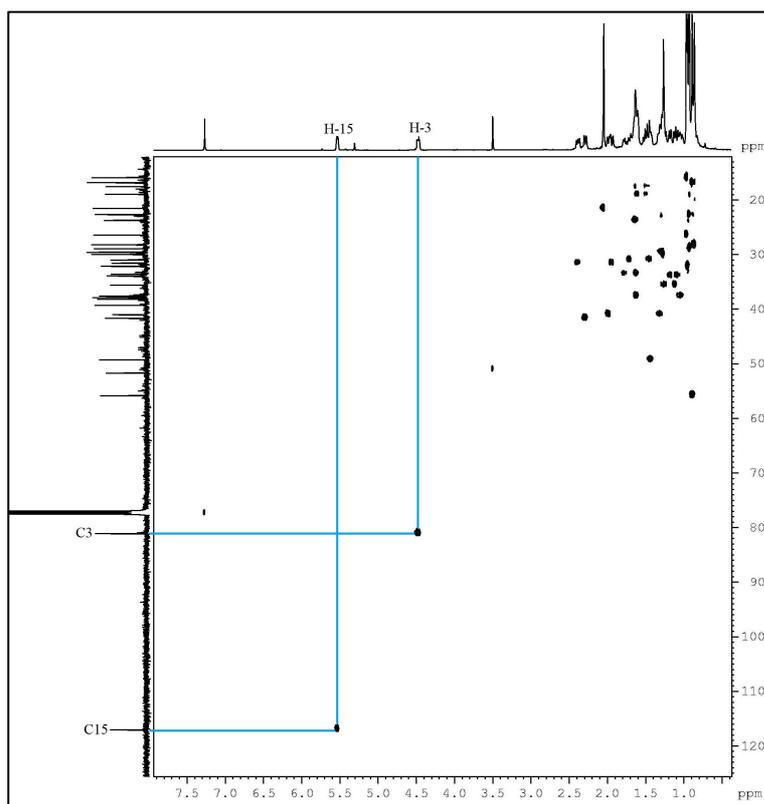
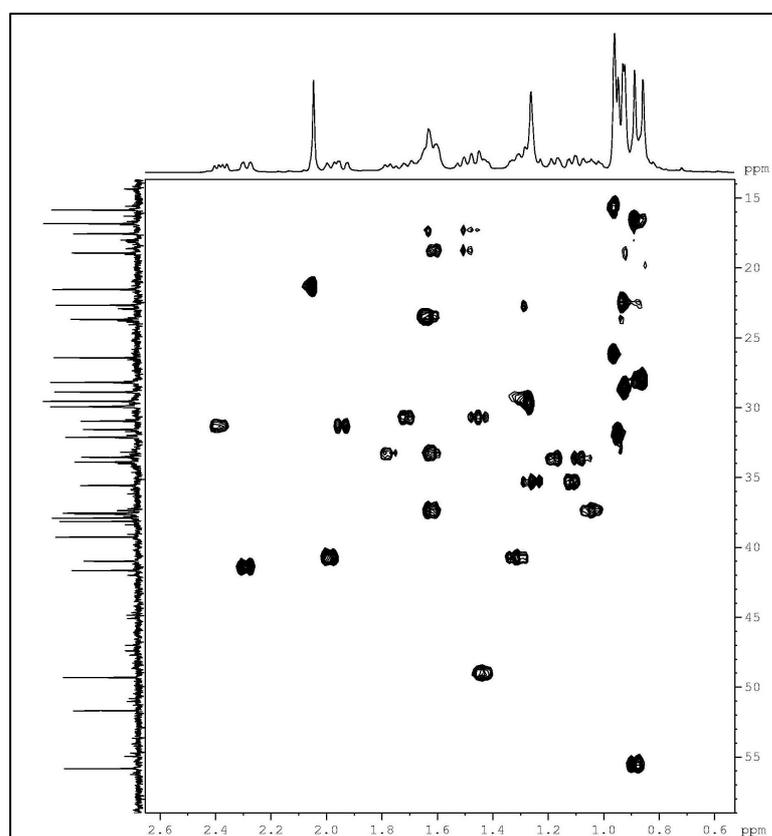


**Figura 36** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão)

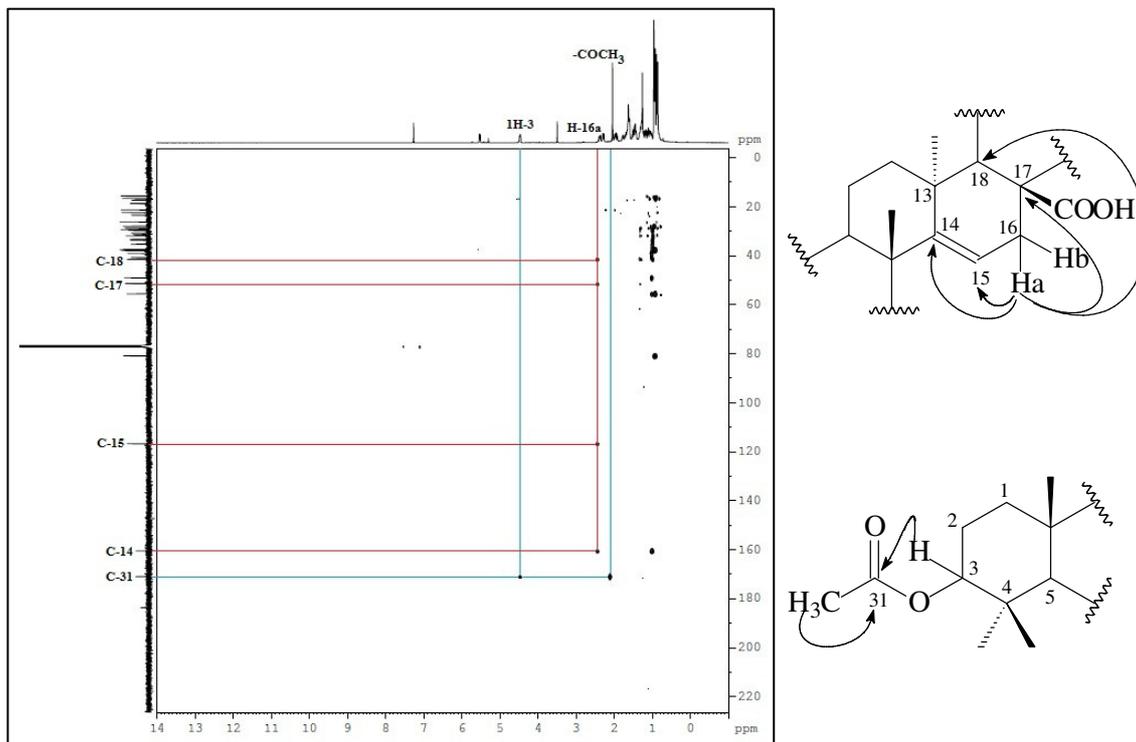


**Figura 37** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3

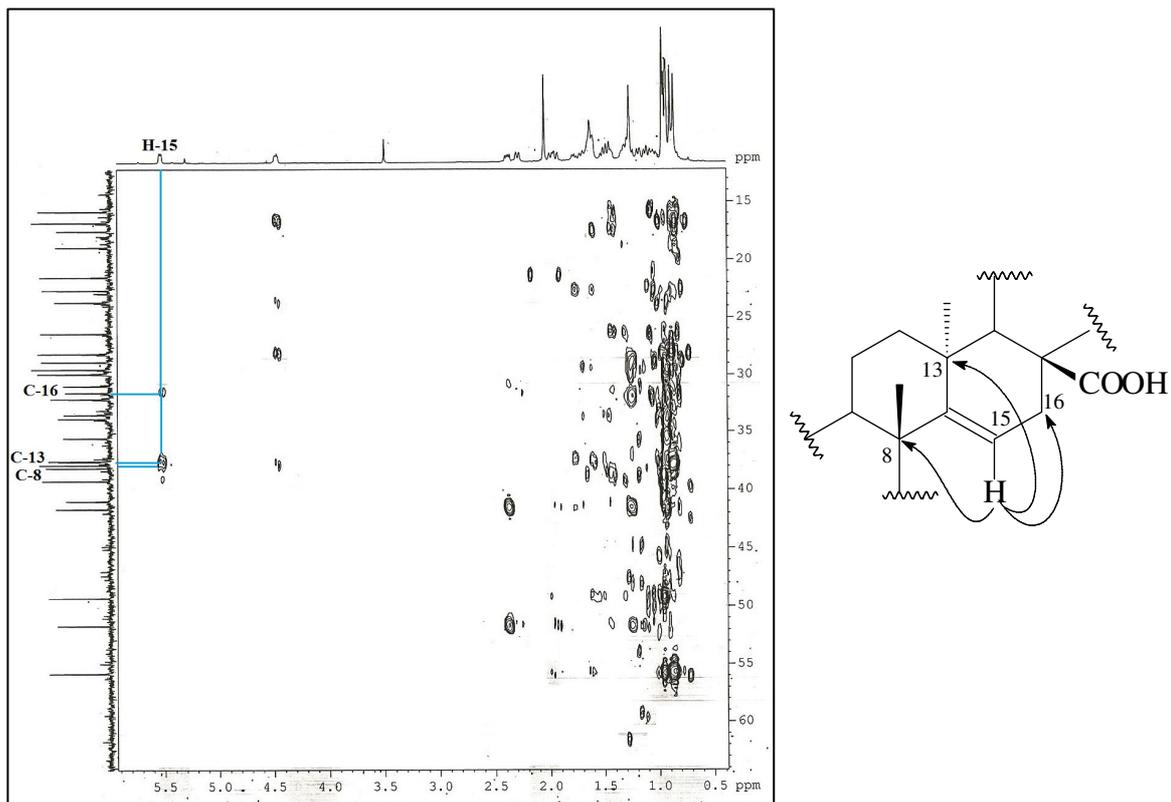


**Figura 38** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3**Figura 39:** Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão)

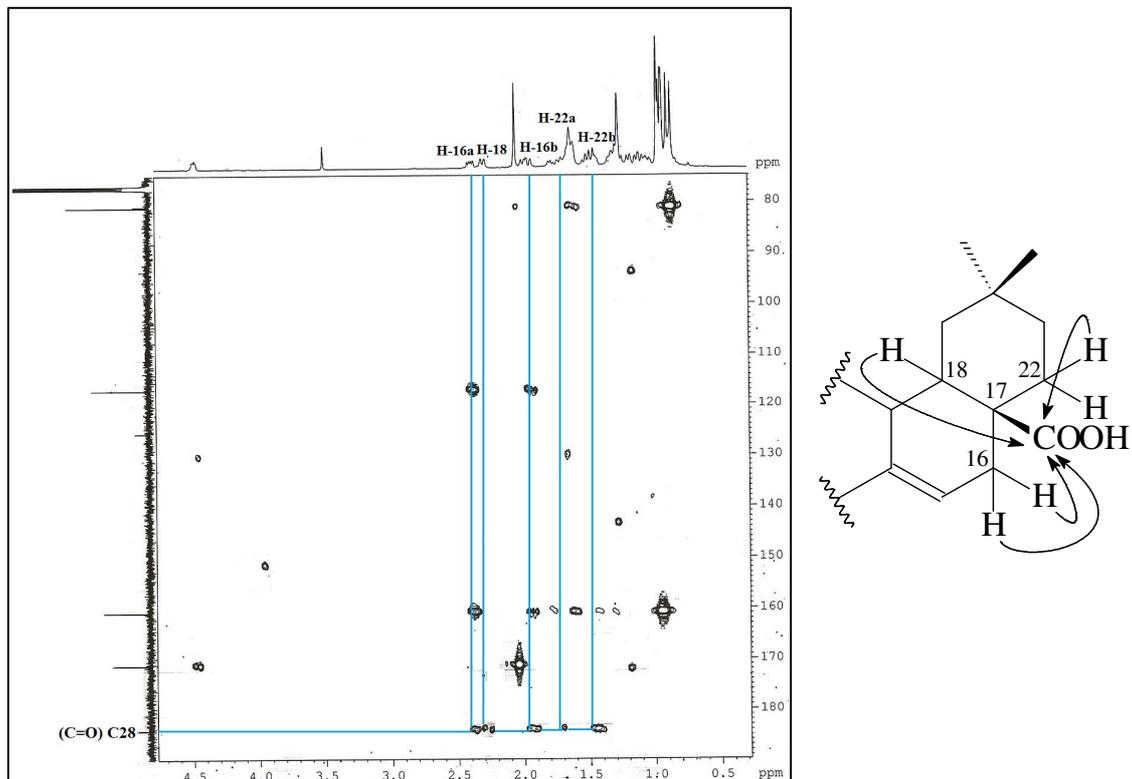
**Figura 40** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3



**Figura 41** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão)



**Figura 42** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-3 (Expansão)



### 3.4 Determinação estrutural de CM-4

O tratamento cromatográfico das frações diclorometano (CMHR-[4-5] e CMHR-[3]), obtidas a partir do extrato hexânico das raízes de *Croton muscicarpa*, utilizando cromatografia em coluna, levou à obtenção de um sólido amarelo (11,5 mg), solúvel em clorofórmio, denominado de CM-4, com faixa de fusão 162,2-163,0 °C (Procedimento Experimental, p. 100).

O espectro de absorção no IV (Figura 45, p. 83) apresentou duas bandas em 2918 e 2833  $\text{cm}^{-1}$  referentes à deformação axial de ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$  e outra em 1353  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação angular simétrica de ligação C-H de  $\text{CH}_3$ . Ainda no mesmo espectro, foi observada uma banda em 1664  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C=O conjugada, bandas em 1587, 1508 e 1471  $\text{cm}^{-1}$  referentes à deformação axial de ligação C=C de aromático. As bandas em 1263 e 1150  $\text{cm}^{-1}$  são compatíveis com as deformações axiais assimétrica e simétrica de ligação C-O-C.

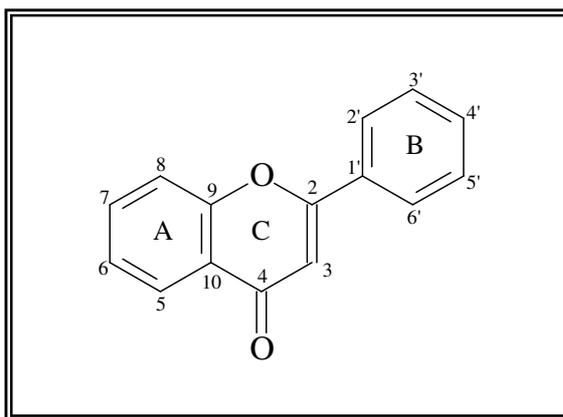
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Figura 46, p. 83) mostrou a presença de 20 linhas espectrais que ao serem comparadas com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 47, p. 84) possibilitou a identificação do sinal relacionado ao carbono carbonílico conjugado em  $\delta_{\text{C}}$  179,1 (C-4), confirmado pelo espectro no infravermelho em 1664  $\text{cm}^{-1}$ . Apresentou também 14 linhas espectrais entre  $\delta_{\text{C}}$  159,0 e 90,5 referentes a carbonos  $\text{sp}^2$ , dos quais 8 foram atribuídos a carbonos aromáticos oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  159,0 (C-7); 156,1 (C-2); 153,0 (C-9); 152,5 (C-5); 151,6 (C-4'); 149,0 (C-3'); 139,0 (C-3); 132,5 (C-6), 4 sinais de carbonos aromáticos hidrogenados em  $\delta_{\text{C}}$  122,4 (C-6'); 111,5 (C-2'); 111,1 (C-5'); 90,5 (C-8) e 2 sinais de carbonos aromáticos não oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  123,1 (C-1') e 106,8 (C-10). Os 5 sinais entre  $\delta_{\text{C}}$  61,1 e 56,2 foram relacionados a cinco carbonos metílicos oxigenados (Tabela 8).

**Tabela 8** – Deslocamento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD de CM-4 com padrão de hidrogenação [(RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD e DEPT ( $\theta = 135$ ),  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)]

C	CH	CH <sub>3</sub>
179,1 (C=O)	122,4	61,1 (C-O)
159,0 (C-O)	111,5	60,4 (C-O)
156,1 (C-O)	111,1	56,5 (C-O)
153,0 (C-O)	90,5	56,3 (C-O)
152,5 (C-O)		56,2 (C-O)
151,6 (C-O)		
149,0 (C-O)		
139,0 (C-O)		
132,5 (C-O)		
123,1		
106,8		
11C	4CH	5CH <sub>3</sub>
<b>Fórmula molecular: C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub></b>		

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-4 (Figura 48, p. 84) revelou 4 sinais característicos de hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  7,73 (dd, 1,8 Hz; 8,5 Hz, H-6'); 7,68 (d, 1,8 Hz, H-2'); 6,99 (d, 8,5 Hz, H-5') e 6,50 (s, H-8). Observou-se a presença de cinco sinais característicos de metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,86 (s, 3H); 3,92 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 3,96 (s, 3H) e ainda uma hidroxila quelada em  $\delta_{\text{H}}$  12,60.

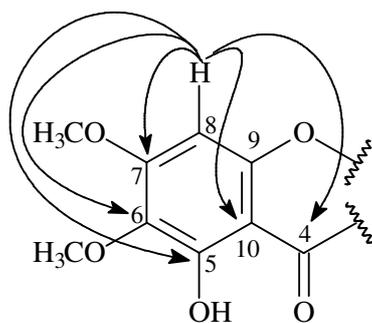
A fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$  foi proposta a partir da união dos dados espectroscópicos e está de acordo com o pico do íon-molecular  $m/z$  388 Daltons observado no espectro de massas (Figura 49, p. 85), apresentando IDH igual a 11, um desses justificado pela presença de uma carbonila, oito referentes a dois anéis aromáticos, e os outros dois a uma ligação dupla e um anel. Desta forma, foi possível correlacionar a estrutura de CM-4 a um flavonóide do tipo flavona, contendo a estrutura básica de 15 átomos de carbono num padrão  $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ . (Figura 43).

**Figura 43** – Esqueleto base de uma flavona

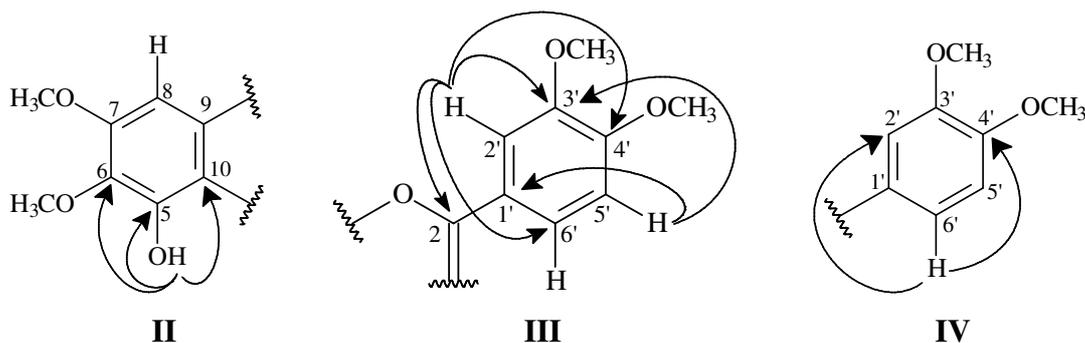
Através do espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 50 e 51, p. 85 e 86) foi possível atribuir os sinais de hidrogênio aos seus respectivos carbonos. Neste espectro foram observados os acoplamentos do sinal dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,73 (H-6'); 7,68 (H-2'); 6,99 (H-5') e 6,50 (H-8) com os sinais dos carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  122,4 (C-6'); 111,5 (C-2'); 111,1 (C-5') e 90,5 (C-8) respectivamente (Tabela 9).

No espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 52, p. 86) foi observado um acoplamento do tipo *orto* entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,73 (dd, 1H, 1,8 Hz; 8,5 Hz, H-6') com o hidrogênio em 6,99 (d, 1H, 8,5 Hz, H-5'). Esta informação juntamente com a análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , nos levaram a supor a existência de um sistema ABX de anel aromático trissubstituído na estrutura de CM-4.

O espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figuras 53, 54 e 55, p. 87 e 88) mostrou as correlações dos hidrogênios com os carbonos a duas ( $^2J$ ), três ( $^3J$ ) e quatro ( $^4J$ ) ligações. Desse modo, puderam-se observar algumas correlações importantes para o assinalamento inequívoco dos deslocamentos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o CM-4, como a correlação do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,50 (H-8) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  179,1 (C-4); 159,0 (C-7); 152,5 (C-5); 132,5 (C-6) e 106,8 (C-10) (sub-estrutura I).

**I**

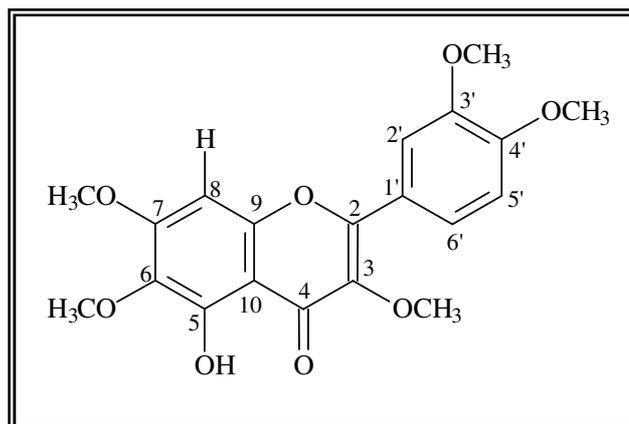
O espectro HMBC também exibiu correlações do hidrogênio da hidroxila em  $\delta_H$  12,60 (5-OH) com os carbonos em  $\delta_C$  152,5 (C-5); 132,5 (C-6) e 106,8 (C-10). Além das correlações dos hidrogênios em  $\delta_H$  6,99 (H-5') com os carbonos em  $\delta_C$  123,1 (C-1'); 149,0 (C-3'); em  $\delta_H$  7,68 (H-2') com os carbonos em  $\delta_C$  156,1 (C-2); 149,0 (C-3'); 151,6 (C-4'); 122,4 (C-6'); e em  $\delta_H$  7,73 (H-6') com os carbonos em  $\delta_C$  111,5 (C-2') e 151,6 (C-4') (sub-estruturas **II**, **III** e **IV**).



O espectro HMBC de CM-4, ainda exibiu correlações entre os hidrogênios de duas metoxilas em  $\delta_H$  3,86 (3-OMe) e 3,92 (6-OMe) com os carbonos em  $\delta_C$  139,0 (C-3) e 132,5 (C-6) respectivamente. As posições das metoxilas referentes aos hidrogênios 7-OMe, 3'-OMe e 4'-OMe foram feitas por comparação dos seus deslocamentos químicos com os dados descritos na literatura (Tabela 9).

Levando em consideração às informações acima discutidas e comparando-as com os dados da literatura de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  de artemetina (Martínez *et al.*, 1987), aliado à comparação dos dados físicos como ponto de fusão (162,2-163,0 °C) (Singh *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 1989), conclui-se que o referido composto tratava-se do flavonóide denominado 5-hidroxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona (Artemetina) (Figura 44), isolado anteriormente de *Croton brasiliensis* e *Croton sellowii* (Palmeira Junior *et al.*, 2005; 2006). Na literatura são relatadas para artemetina atividades antioxidante (Dugas, *et al.*, 2000), antiinflamatória (Michielin, *et al.*, 2009), contra *Plasmodium falciparum* (Ortet, *et al.*, 2011) e hipotensiva (Sousa, *et al.*, 2011).

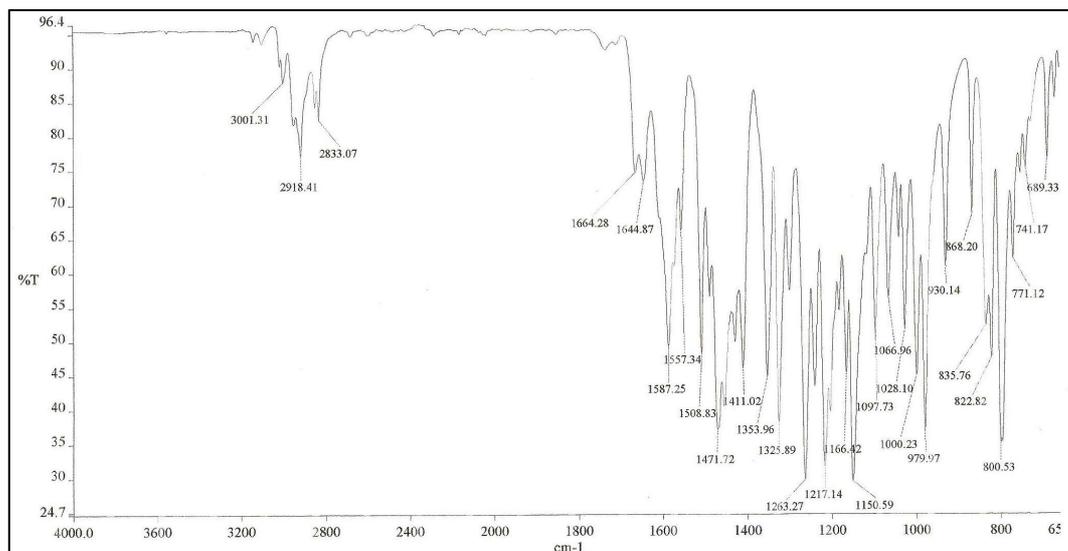
Figura 44 – Estrutura da Artemetina



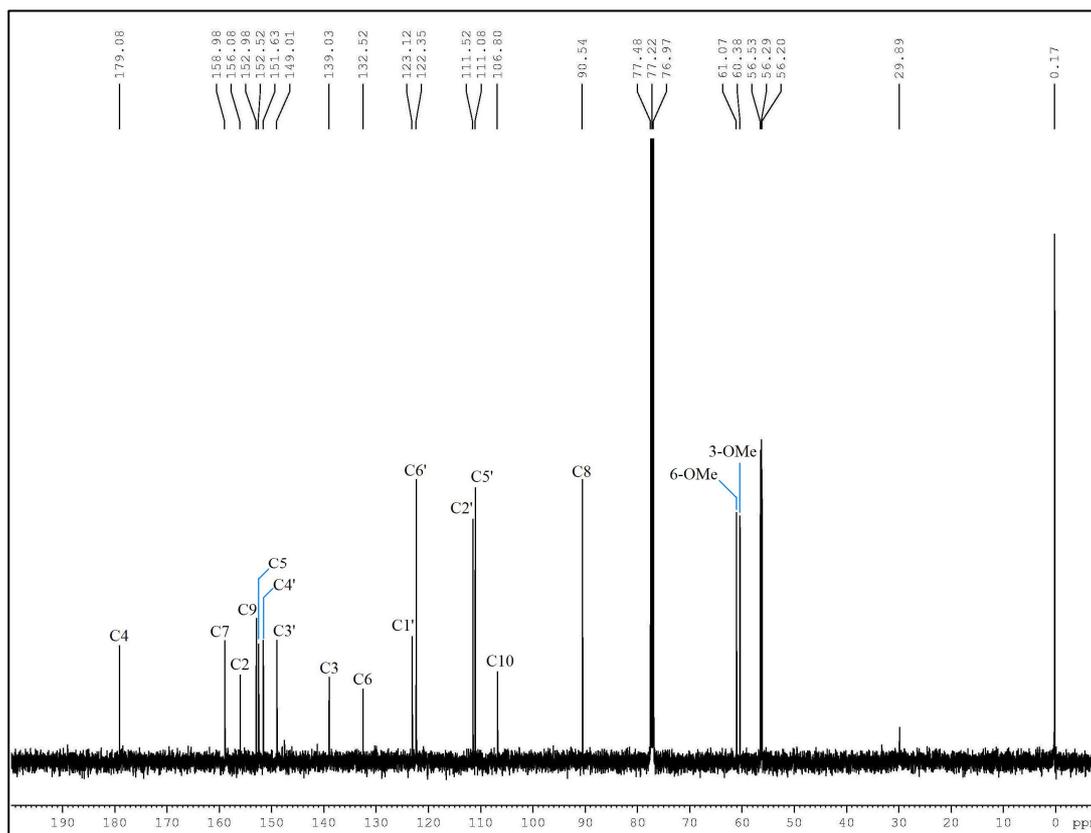
**Tabela 9** – Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HSQC e HMBC ( $^2J$ ,  $^3J$  e  $^4J$ ) (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4, comparado com os valores da literatura de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (200 x 50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para a 3-metoxiflavona flavona Artemetina (Martínez *et al.*, 1987).

C	HSQC		HMBC			$\Delta c$	Artemetina $\delta_{\text{H}}$
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J$	$^3J$	$^4J$		
2	156,1	-	-	H-2'	-	155,9	-
3	139,0	-	-	3-OMe	-	138,8	-
4	179,1	-	-	-	H-8	178,9	-
5	152,5	-	5-OH	-	H-8	152,3	-
6	132,5	-	-	5-OH; H-8; 6-OMe	-	132,3	-
7	159,0	-	H-8	7-OMe	-	158,8	-
8	90,5	6,50 (s, 1H)	-	-	-	90,4	6,47 (s)
9	153,0	-	-	-	-	152,8	-
10	106,8	-	-	5-OH; H-8	-	106,6	-
1'	123,1	-	-	H-5'	-	122,9	-
2'	111,5	7,68 (d, 1H, 1,8 Hz)	-	H-6'	-	110,9	7,65 (d, 2,1 Hz)
3'	149,0	-	H-2'	H-5'; 3'-OMe	-	148,8	-
4'	151,6	-	-	H-6'; H-2'; 4'-OMe	-	151,5	-
5'	111,1	6,99 (d, 1H, 8,5 Hz)	-	-	-	111,4	6,96 (d, 8,5 Hz)
6'	122,4	7,73 (dd, 1H, 1,8 Hz; 8,5 Hz)	-	H-2'	-	122,2	7,69 (dd, 8,5 Hz; 2,1 Hz)
3-OMe	60,4	3,86 (s; 3H)	-	-	-	60,1	-
6-OMe	61,1	3,92 (s; 3H)	-	-	-	60,8	-
7-OMe	56,2	3,96 (s; 3H)	-	-	-	56,0	-
3'-OMe	56,5	3,96 (s; 3H)	-	-	-	56,3	-
4'-OMe	56,3	3,96 (s; 3H)	-	-	-	56,1	-
5-OH		12,60 (s, 1H)	-	-	-	-	12,5 (s)

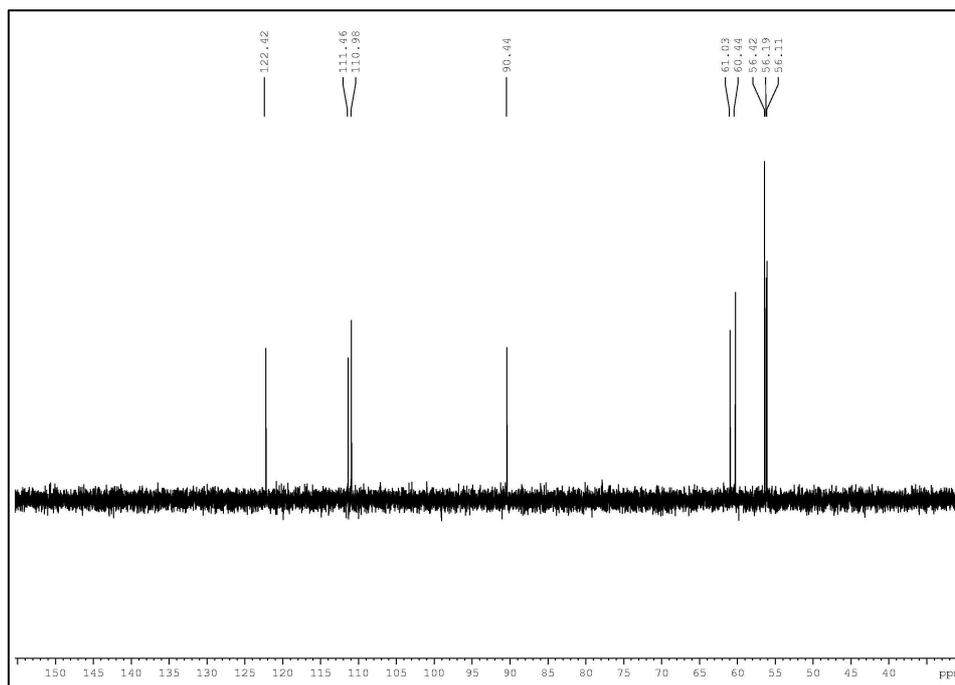
**Figura 45** – Espectro de absorção na região do Infravermelho de CM-4 em filme de KBr



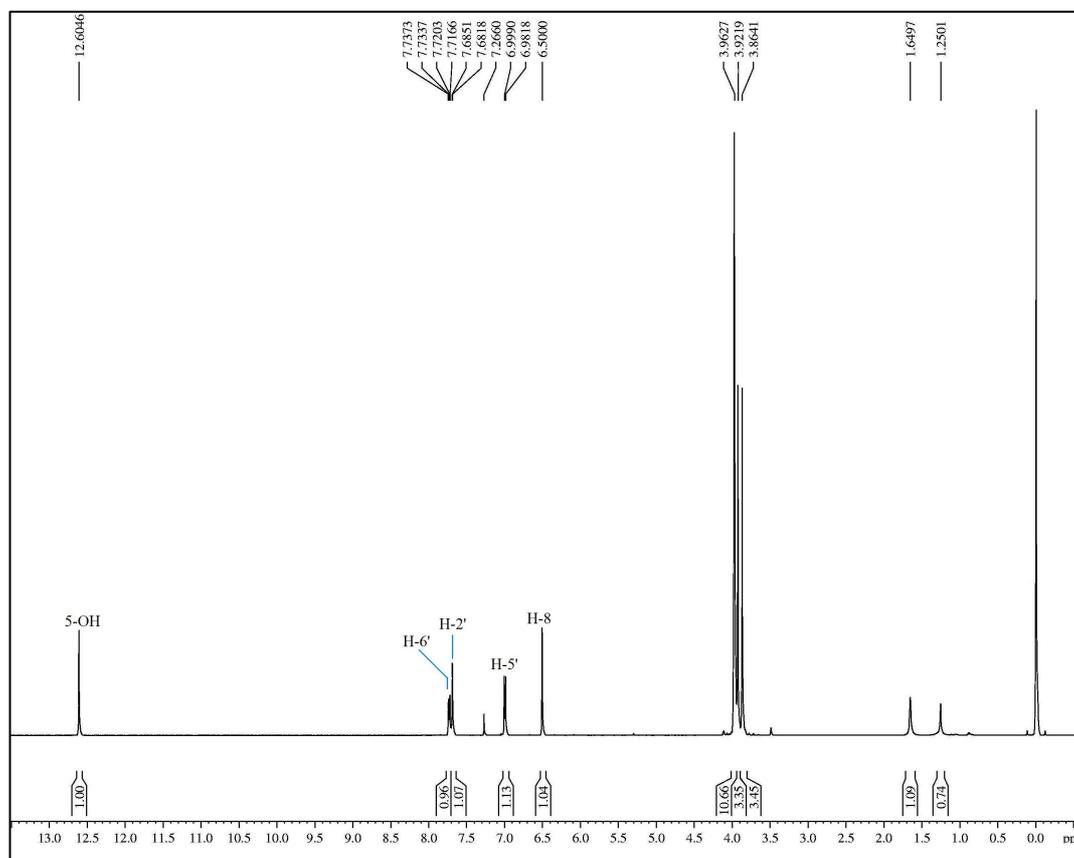
**Figura 46** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4

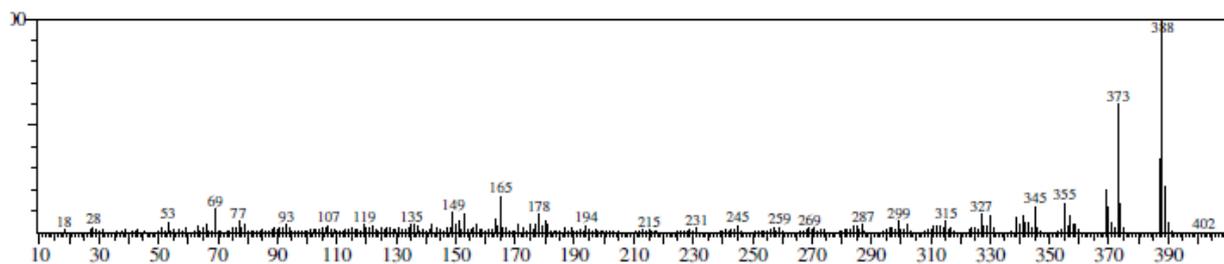
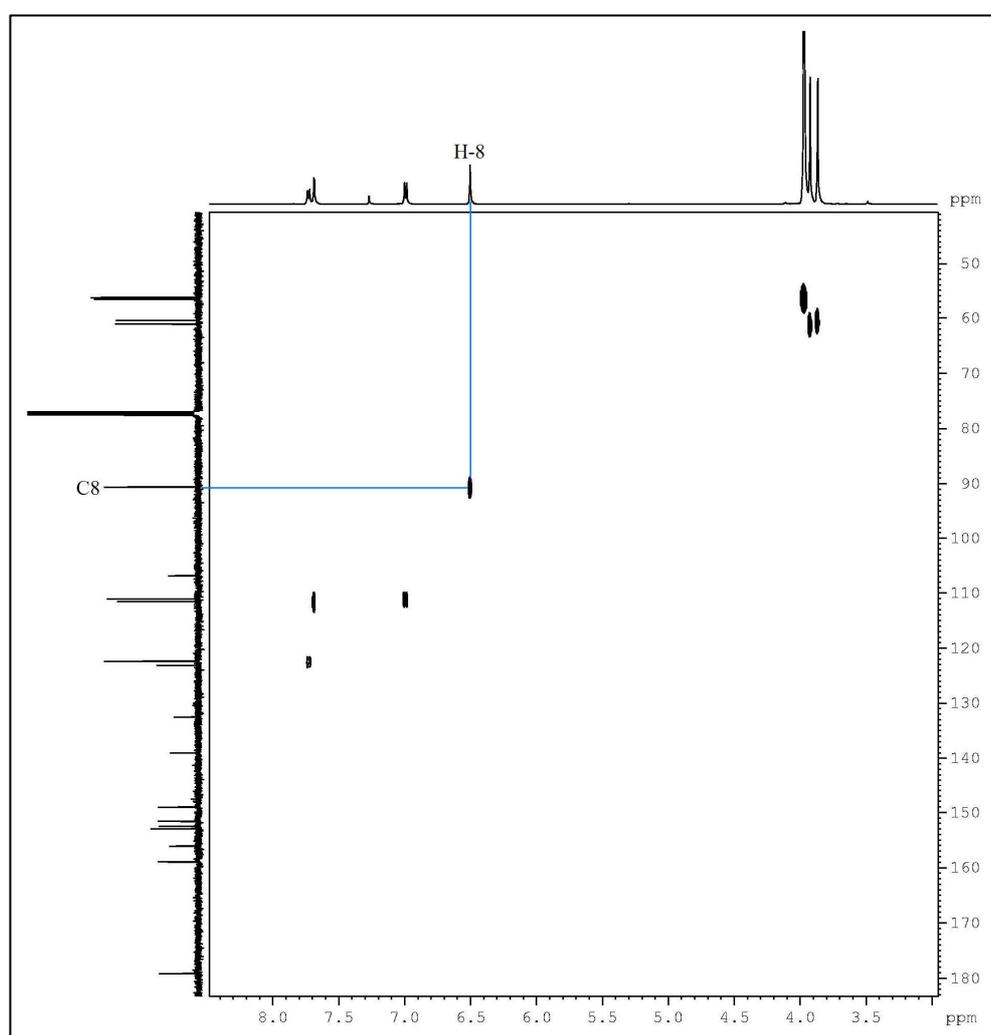


**Figura 47** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT ( $\theta=135$ ) (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4

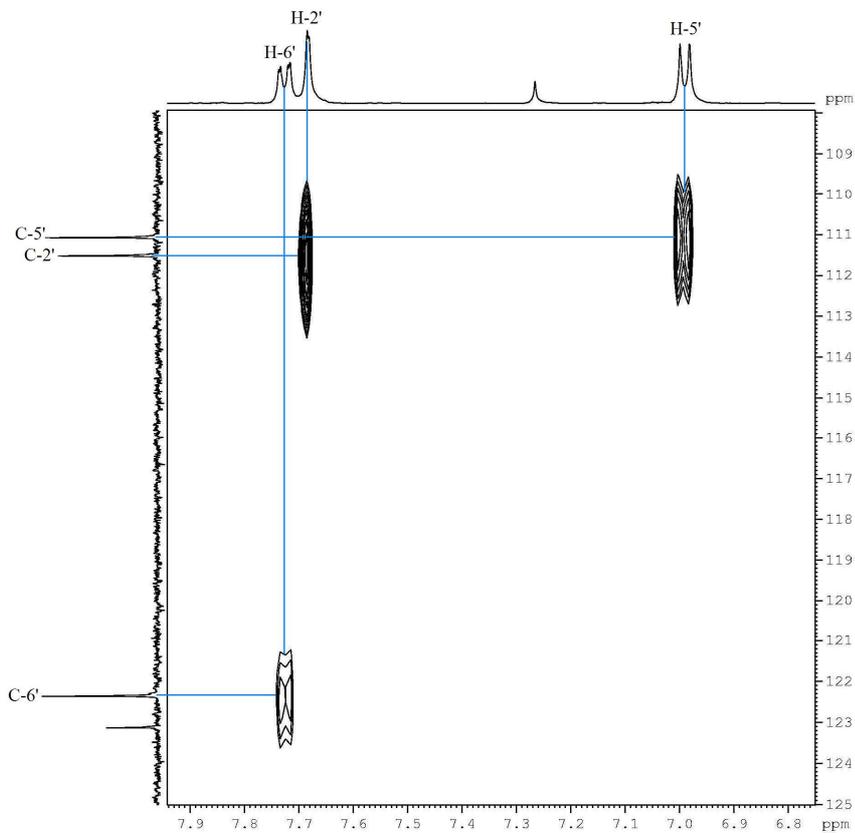


**Figura 48** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de CM-4

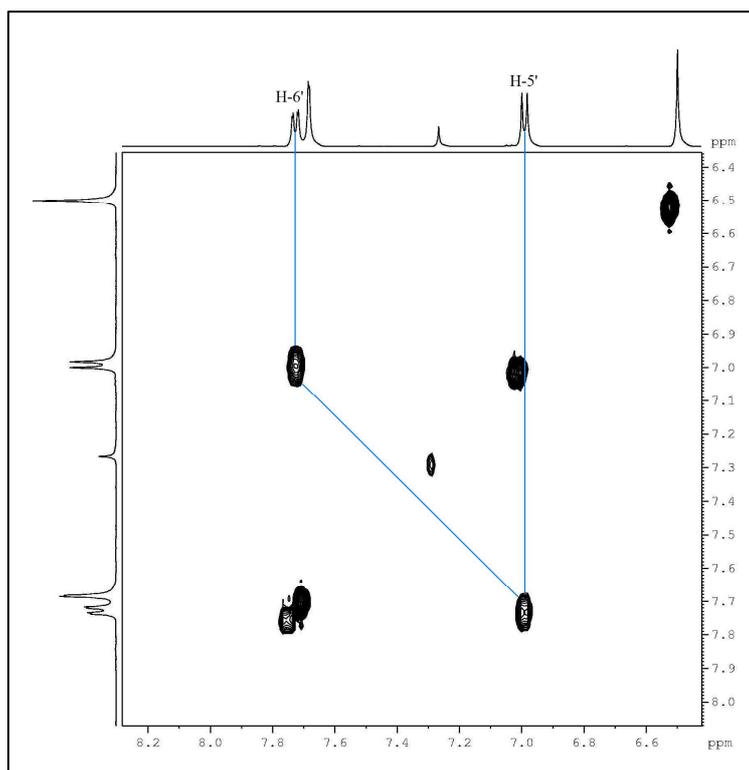


**Figura 49** – Espectro de Massas de CM-4 (IE, 70 eV)**Figura 50** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4

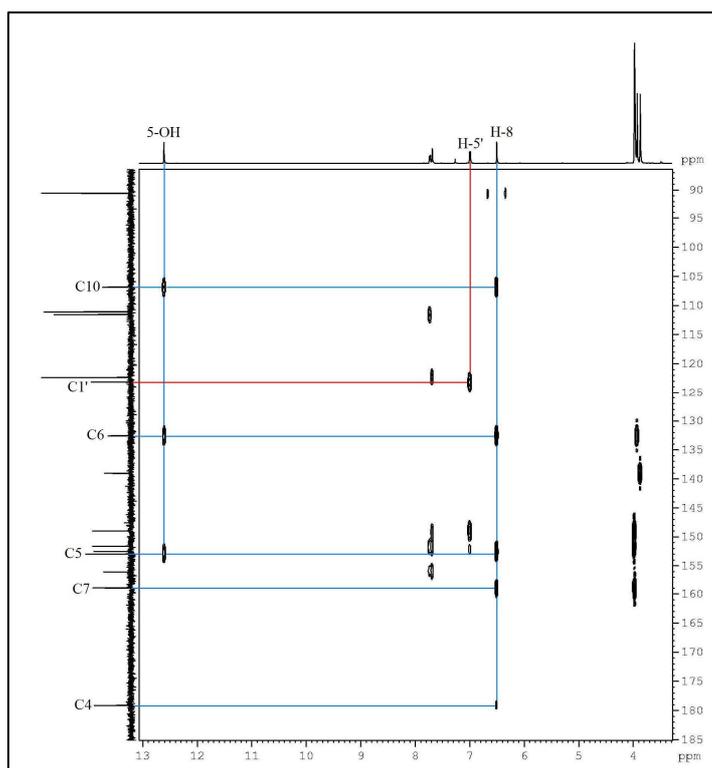
**Figura 51** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão)



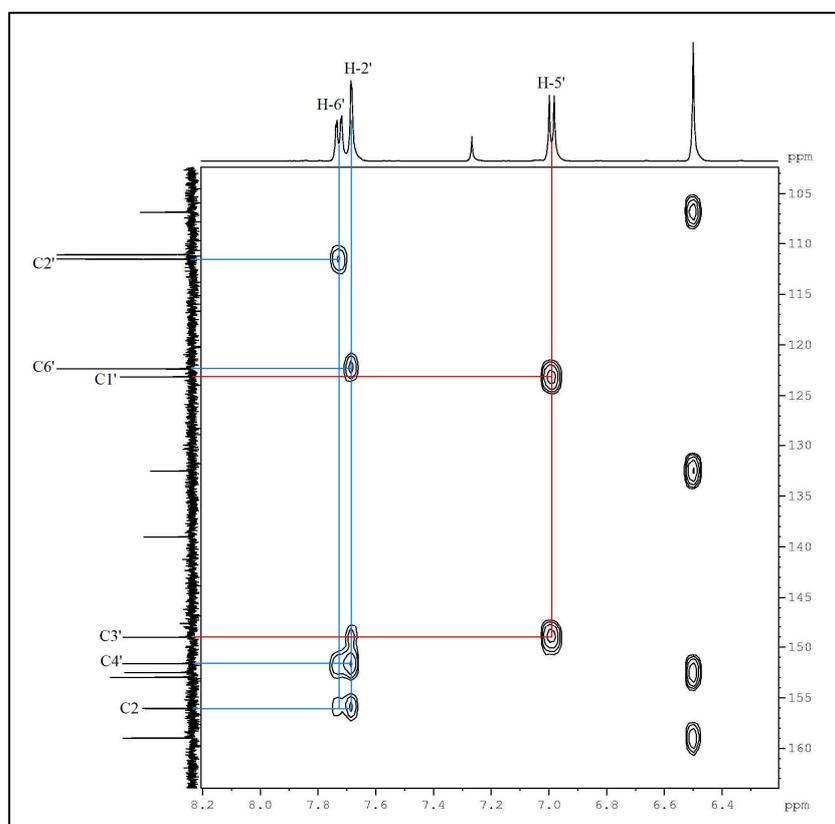
**Figura 52** – Espectro de RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4



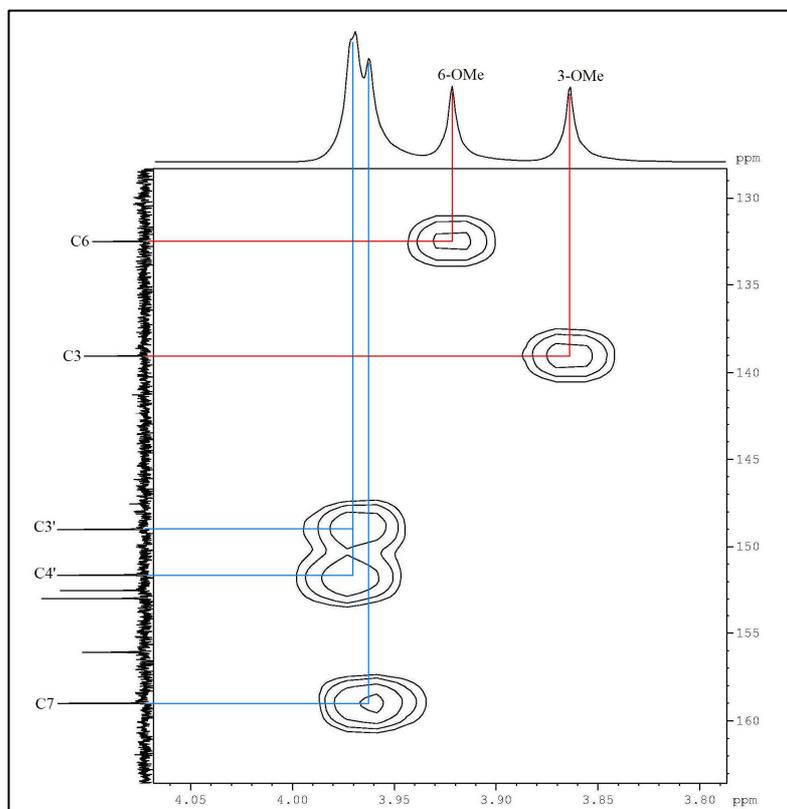
**Figura 53** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4



**Figura 54** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão)



**Figura 55** – Espectro RMN 2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CM-4 (Expansão)



## **CAPÍTULO 4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

### **4.1 Coleta do Material**

Os talos e raízes de *Croton muscicarpa*, selecionados para o estudo, foram coletados na Chapada Diamantina-Bahia em dezembro de 2009, pelo Prof. Edilberto R. Silveira. A identificação botânica foi realizada pela Profa. Daniela Santos Carneiro-Torres do Departamento de Ciências Biológicas Jequié da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). A exsicata da planta referente à coleta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra, do Departamento de Biologia da UFC, sob o registro de número 38.644.

### **4.2 Métodos Cromatográficos**

#### **4.2.1 Cromatografia Líquida em Coluna (CC)**

As cromatografias de adsorção foram realizadas utilizando-se gel de sílica 60 ( $\Phi$  63-200  $\mu\text{m}$ ), da Vetec para a cromatografia em coluna e gel sílica 60 ( $\Phi$  40-63  $\mu\text{m}$ ) da Merck para cromatografia sob média pressão (cromatografia flash). Os comprimentos e os diâmetros das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e as quantidades de sílica a serem utilizadas. Para a eluição foram utilizados os solventes: hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol assim como misturas binárias desses solventes em ordem crescente de polaridade. Todos os solventes eram de qualidade P.A. ou destilados.

#### **4.2.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)**

Foram utilizadas cromatoplasmas de gel de sílica 60 ( $\Phi$   $\mu\text{m}$  2 – 25  $\mu\text{m}$ ) sobre alumínio da Merck (com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm). As placas de vidro empregadas de dimensões 10 cm x 5 cm foram feitas utilizando-se gel de sílica 60 ( $\Phi$  2 – 25  $\mu\text{m}$ ).

A revelação das substâncias, foi feita por exposição à irradiação na faixa do ultravioleta (UV) em aparelho Spectroline modelo ENF 240 C/F, com dois comprimentos de onda (365 e 312 nm) e por aspensão com solução de vanilina

(C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) em ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) e etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), seguida de aquecimento em chapa elétrica a 100°C por aproximadamente 5 minutos.

### **4.3 Métodos Espectroscópicos**

#### **4.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)**

Os espectros na região do IV foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer modelo FT-IR Spectrum 100 no Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste (LEMANOR) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando filme de KBr para análise de amostras líquidas e acessório de refletância total atenuada (ATR) para amostras sólidas.

#### **4.3.2 Espectrometria de Massas (EM)**

O espectro de massas de CM-1 foi obtido em espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50 através de impacto eletrônico a 70 eV, da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Os espectros de massas de CM-2 e CM-4 foram obtidos em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa (CG-EM) Shimadzu, modelo QP 2010 através de impacto eletrônico a 70 eV, do Laboratório de Bioinorgânica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

#### **4.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e Carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C) uni e bidimensionais, foram obtidos à temperatura ambiente, em espectrômetros Bruker, modelos Avance DPX-300 ou modelo Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e 499,80 MHz, e na frequência do carbono a 75,47 MHz e 125,67 MHz, respectivamente.

Os espectros unidimensionais de RMN <sup>13</sup>C-CPD foram efetuados sob desacoplamento total de hidrogênios. Quantidades variadas de amostra foram dissolvidas em 0,6 mL de CDCl<sub>3</sub> e acondicionadas em tubos de RMN de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e foram

referenciados para o RMN  $^1\text{H}$  pelo picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas do solvente clorofórmio ( $\delta$  7,27) e para RMN  $^{13}\text{C}$  pelo pico central do tripleto a  $\delta$  77,23 do clorofórmio deuterado.

As multiplicidades dos sinais exibidos nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$  foi determinado a partir da utilização da técnica DEPT, variando o ângulo de nutação ( $\theta$ ) de  $135^\circ$ , descrito segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT  $135^\circ$  do espectro de BC-CPD.

Os experimentos bidimensionais de correlação homonuclear (COSY) e heteronuclear (HSQC e HMBC) foram efetuados em sonda multinuclear de 5mm, com detecção inversa, empregando-se gradiente de campo, posicionado no eixo z e magnitude de 10A.

## 4.4 Métodos Físicos

### 4.4.1 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em um equipamento de microdeterminação Marconi modelo MA 381, utilizando capilar de vidro em placa aquecedora e uma central de processamento N4800, localizado no Laboratório de Análise Fitoquímica de Plantas Medicinais (LAFIPLAM) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. As determinações foram realizadas a uma taxa de aquecimento de  $2^\circ\text{C}/\text{min}$  e não foram corrigidos.

### 4.5 Obtenção do extrato etanólico dos talos de *C. muscicarpa* - CMET

Os talos de *Croton muscicarpa* foram secos à temperatura ambiente, moídos e extraídos por maceração, utilizando hexano, seguido por três extrações utilizando etanol. Foram 7 dias, os intervalos entre cada extração. O extrato bruto foi obtido a partir da remoção do solvente em rota- evaporador sob pressão reduzida, obtendo-se 91,83 g (4,5%) de um material marrom escuro, viscoso denominado CMET.

#### 4.5.1 Tratamento cromatográfico de CMET

Uma alíquota de 80,0 g do extrato etanólico dos talos de *Croton muscicarpa* foi retirada e submetida à cromatografia de partição. A partição foi realizada solubilizando o extrato em 500 mL da mistura metanol/água 30% v/v. Durante o procedimento observou-se que parte do extrato não se dissolveu, sendo separado e denominado CMET-FIns. A fração solúvel foi então submetida à extração utilizando: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. Foram obtidas 6 frações, concentradas em rota-evaporador sob pressão reduzida. Ao concentrar a fração *n*-butanol, foi observada a formação de um precipitado, insolúvel em metanol e solúvel em água. O precipitado foi então separado por filtração utilizando papel de filtro em funil de vidro comum. As frações obtidas foram denominadas CMET-H, CMET-D, CMET-Ac, CMET-Aq, CMET-Bu e CMET-Bu-ppt (Tabela 10). Todas forma analisadas por CCD.

**Tabela 10** – Particionamento do extrato etanólico CMET

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (g)	Rendimento(%)
CMET-FIns	-	28,82	36,03
CMET-H	Hexano	3,11	3,89
CMET-D	Diclorometano	23,95	29,94
CMET-Ac	Acetato de Etila	7,70	9,63
CMET-Aq	Água	8,35	10,44
CMET-Bu	<i>n</i> -Butanol	1,23	1,54
CMET-Bu-ppt	<i>n</i> -Butanol	2,11	2,64
<b>TOTAL</b>	-	<b>75,27</b>	<b>94,11</b>

#### 4.5.2 Fracionamento cromatográfico de CMET-H e isolamento de CM-1

Uma alíquota de 2,6 g de CMET-H foi adsorvida em 5,0 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 6,0 cm sobre 70,21 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, bem como, suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 11. Foram obtidas 97 frações que foram concentradas sob pressão

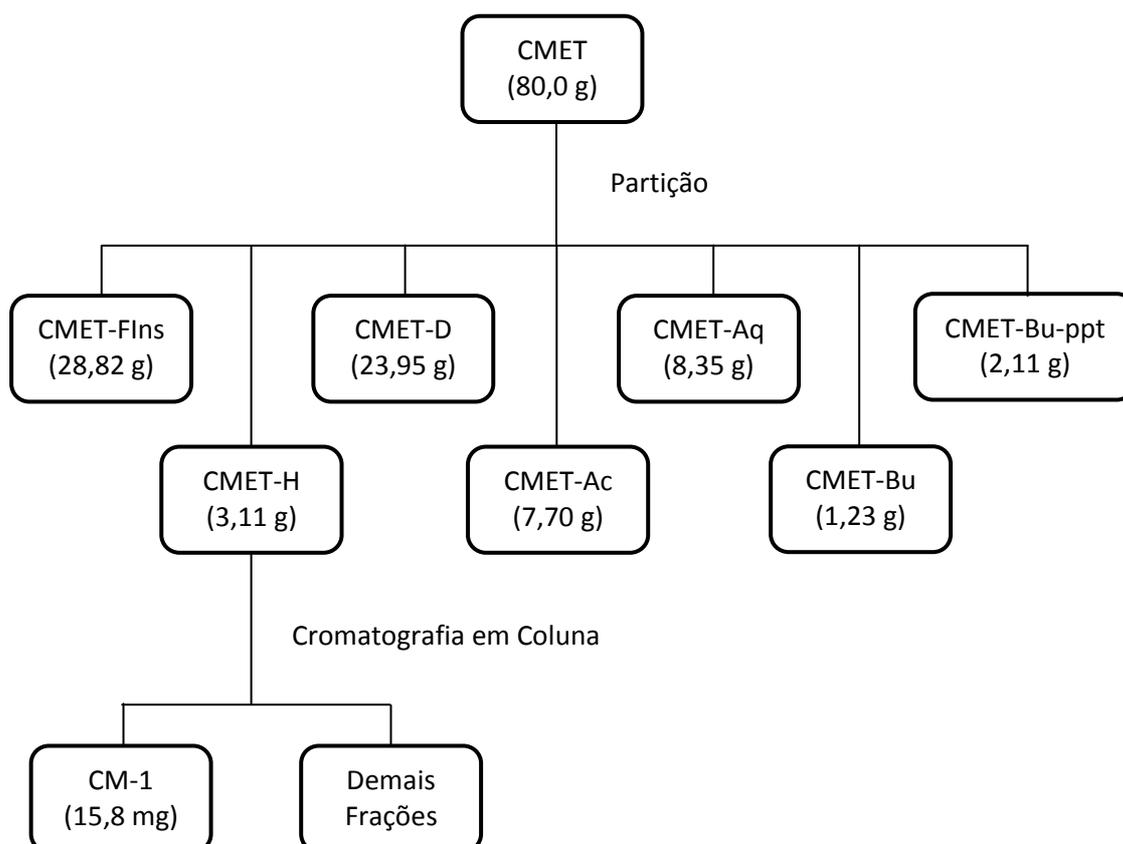
reduzida em rota-evaporador e comparadas por CCD e reunidas de acordo com suas semelhanças.

**Tabela 11** – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
1-44	Hexano 100% a Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 35%	1,0
45-46	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	16,6
47	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	2,7
48-49	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	15,8
50-53	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	15,0
54-55	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 65%	5,9
56-57	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 65%	10,1
58-59	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 65%	12,1
60-64	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 70%	40,3
65	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 70%	13,3
66-69	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 85%	111,2
70-71	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	173,1
72-74	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	175,4
75	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	63,9
76	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	64,7
77	AcOEt 100%	58,8
78-79	AcOEt 100%	97,2
80-81	AcOEt 100%	72,4
82-84	AcOEt 100%	1000,17
85-86	AcOEt 100%	102,6
87	AcOEt 100%	24,8
88-95	AcOEt 100%	55,8
96-97	MeOH 100%	43,9

A fração [48-49] (15,8 mg) denominada CM-1 (Fluxograma 1) apresentou-se como um óleo amarelado, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD. Análise por RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (unidimensionais), EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiu identificá-la como o hidrocarboneto sesquiterpênico denominado 6 $\alpha$ -metoxi-cipereno.

**Fluxograma 1 – Isolamento de CM-1**



#### 4.5.3 Isolamento de CM-2

Uma alíquota de 161,9 mg da fração [72-74], obtida do fracionamento de CMET-H (Tabela 11), foi adsorvida em 400,0 mg de gel de sílica e acondicionada em uma coluna do tipo “flash” de diâmetro interno de 2,0 cm sobre 20 g de gel de sílica 60 ( $\Phi$  40-63  $\mu\text{m}$ ) da Merck. A eluição foi realizada utilizando como eluentes a mistura hexano/diclorometano 55% V/V (600 mL), diclorometano 100% (100 mL) e metanol 100% (100 mL), em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 49 frações que após

análise comparativa por CCD foram reunidas em 4 frações, conforme suas semelhanças (Tabela 12).

**Tabela 12** – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H-[72-74]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>PESO (mg)</b>
1-12	3,0
13-23	90,1
24-41	5,1
42-49	48,9

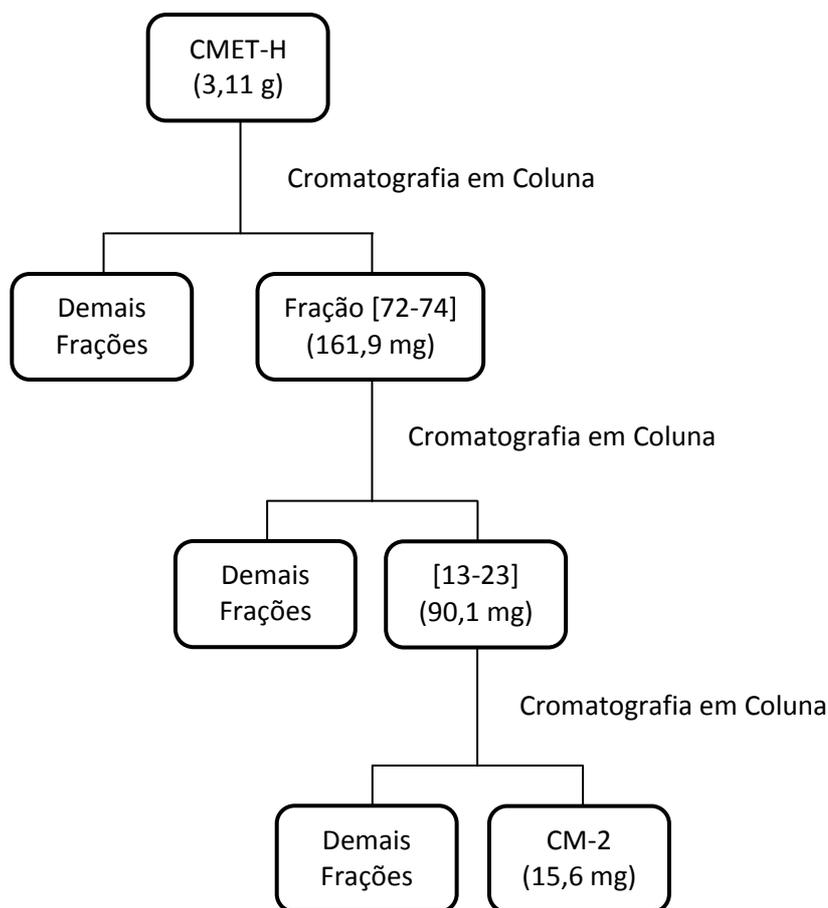
A fração [13-23] (90,1 mg) foi adsorvida em 170,0 mg de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 0,7 cm sobre 2,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano e diclorometano, assim como as misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 9 frações que após concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotatório e analisadas por CCD, foram reunidas conforme suas semelhanças em 5 frações, de acordo com a Tabela 13.

**Tabela 13** – Frações da coluna cromatográfica de CMET-H-[72-74]-[13-23]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>PESO (mg)</b>
1-2	Hexano 100%	1,0
3	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	15,6
4	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	1,7
5-6	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	2,4
7-9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	59,0

A fração 3 (15,6 mg), denominada CM-2 (Fluxograma 2), apresentou-se como um óleo amarelado, solúvel em clorofórmio e homogêneo em CCD. Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , IV estão sendo analisados visando sua determinação estrutural.

**Fluxograma 2 – Isolamento de CM-2**



#### 4.6 Obtenção do extrato hexânico das raízes de *C. muscicarpa* - CMHR

As raízes de *Croton muscicarpa* foram secas à temperatura ambiente, moídas e extraídas por maceração, utilizando hexano em 3 extrações, com intervalos de 7 dias entre cada extração. O extrato bruto foi obtido a partir da remoção do solvente em rota-evaporador sob pressão reduzida, obtendo-se 8,84 g (0,58 %) de um material esverdeado, viscoso denominado CMHR.

#### 4.6.1 Fracionamento cromatográfico de CMHR

Uma alíquota do extrato CMHR (8,69 g) foi submetida à cromatografia em coluna filtrante, sendo adsorvida em 19,4 g de gel de sílica e disposta em uma coluna de diâmetro interno de 5,5 cm sobre 29,2 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 14. Foram obtidas 7 frações que foram concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotatório e analisadas por CCD.

**Tabela 14** – Frações da coluna filtrante de CMHR

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (g)
1	Hexano 100%	0,47
2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	2,85
3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	1,10
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	0,36
5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	0,17
6	AcOEt 100%	3,24
7	MeOH 100%	0,46

#### 4.6.2 – Isolamento de CM-3

Uma alíquota da fração 2 (2,64 g) obtida do fracionamento de CMHR (Tabela 14) foi adsorvida em 6,15 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de diâmetro interno de 6,0 cm sobre 80,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, bem como, suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 15. Foram obtidas 141 frações que foram comparadas por CCD, e reunidas de acordo com suas semelhanças em 18 frações.

**Tabela 15** – Frações da coluna cromatográfica de CMHR-[2]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>PESO (mg)</b>
1-52	Hexano 100% a Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	66,5
53-56	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	75,1
57-59	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	75,7
60-65	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	123,1
66-69	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 70%	51,1
70-74	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 70%	28,9
75-86	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	236,2
87-97	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	378,4
98-101	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	130,8
102-108	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 25%	349,3
109-111	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 50%	276,0
112-114	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 50%	243,9
115-119	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 50%	303,3
120-126	AcOEt 100%	233,1
127-136	AcOEt 100%	79,3
137-139	MeOH 100%	9,2
140	MeOH 100%	8,1
141	MeOH 100%	9,3

Uma alíquota da fração [87-97] (356,9 mg) foi adsorvida em 0,75 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna flash de 2,0 cm de diâmetro interno sobre 30,12 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, assim como por misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 67 frações que após serem concentradas sob pressão reduzida em rota-evaporador, foram comparadas por CCD, resultando em 10 frações, conforme as suas semelhanças (Tabela 16).

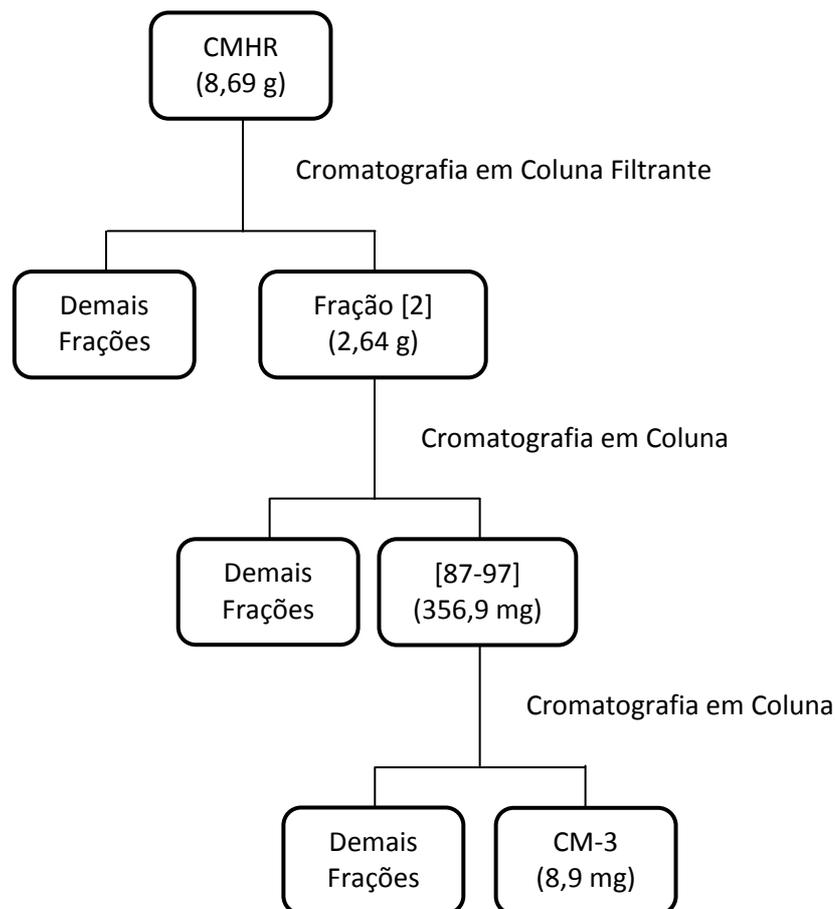
**Tabela 16** – Frações da coluna flash de CMHR-[2]-[87-97]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>PESO (mg)</b>
2	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	20,2
3	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	110,3
4	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	116,3
5-22	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	71,4
23-29	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	14,8
30-36	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	8,9
37-39	Hex/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 90%	3,2
40-50	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	6,0
51-61	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	3,0
62-67	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 10%	0,6

A fração [30-36] (8,9 mg) apresentou-se como um sólido branco, em forma de agulhas, com ponto de fusão na faixa de 298,6-300,2 °C, denominado como CM-3, como pode ser observado no Fluxograma 3.

Análises por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar CM-3 como sendo o triterpeno ácido acetil aleuritólico (AAA).

### Fluxograma 3 – Isolamento de CM-3



#### 4.6.3 Isolamento de CM-4

As frações 4 (0,36 g) e 5 (0,17 g) obtidas do fracionamento de CMHR (Tabela 14) foram reunidas e adsorvidas 1,12 g de gel de sílica e acondicionadas em uma coluna de diâmetro interno de 3,0 cm sobre 55,8 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, acetato de etila e metanol, bem como, suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 17. Foram obtidas 53 frações, as quais foram comparadas por CCD, e reunidas de acordo com suas semelhanças em 13 frações.

**Tabela 17** – Frações da coluna cromatográfica de CMHR-[4-5]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>PESO (mg)</b>
1	Hexano/ AcOEt 25%	6,7
2	Hexano/ AcOEt 25%	11,8
3	Hexano/ AcOEt 25%	30,2
4-5	Hexano/ AcOEt 25%	72,7
6-11	Hexano/ AcOEt 25%	60,3
12-17	Hexano/ AcOEt 25%	61,2
18-20	Hexano/ AcOEt 25%	27,8
21-32	Hexano/ AcOEt 25%	70,9
33-43	Hexano/ AcOEt 40%	36,6
44-47	Hexano/ AcOEt 40%	15,2
48-49	Hexano/ AcOEt 40%	8,6
50-51	AcOEt 100%	11,3
52-53	AcOEt/ MeOH 50%	89,0

Uma alíquota da fração 3 (1,00 g) obtida do fracionamento de CMHR (Tabela 14) foi adsorvida 4,11 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna flash de diâmetro interno de 3,0 cm sobre 70,0 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes hexano, acetato de etila e metanol, bem como, suas misturas binárias em ordem crescente de polaridade, de acordo com a Tabela 18. Foram obtidas 49 frações que foram comparadas por CCD, e reunidas de acordo com suas semelhanças em 16 frações.

**Tabela 18** – Frações da coluna flash de CMHR-[3]

<b>FRAÇÃO</b>	<b>ELUENTE</b>	<b>PESO (mg)</b>
3-5	Hexano/ AcOEt 15%	23,9
6	Hexano/ AcOEt 15%	5,8
7	Hexano/ AcOEt 15%	8,1
8	Hexano/ AcOEt 15%	19,4
9-10	Hexano/ AcOEt 15%	67,6
11-13	Hexano/ AcOEt 15%	135,7
14-16	Hexano/ AcOEt 15%	121,4
17-19	Hexano/ AcOEt 15%	109,1
20-26	Hexano/ AcOEt 15%	141,2
27-35	Hexano/ AcOEt 15%	95,8
36-40	Hexano/ AcOEt 30%	90,4
41-44	Hexano/ AcOEt 30%	42,2
45-46	Hexano/ AcOEt 30%	32,5
47	AcOEt 100%	9,1
48	AcOEt 100%	83,2
49	MeOH 100%	12,2

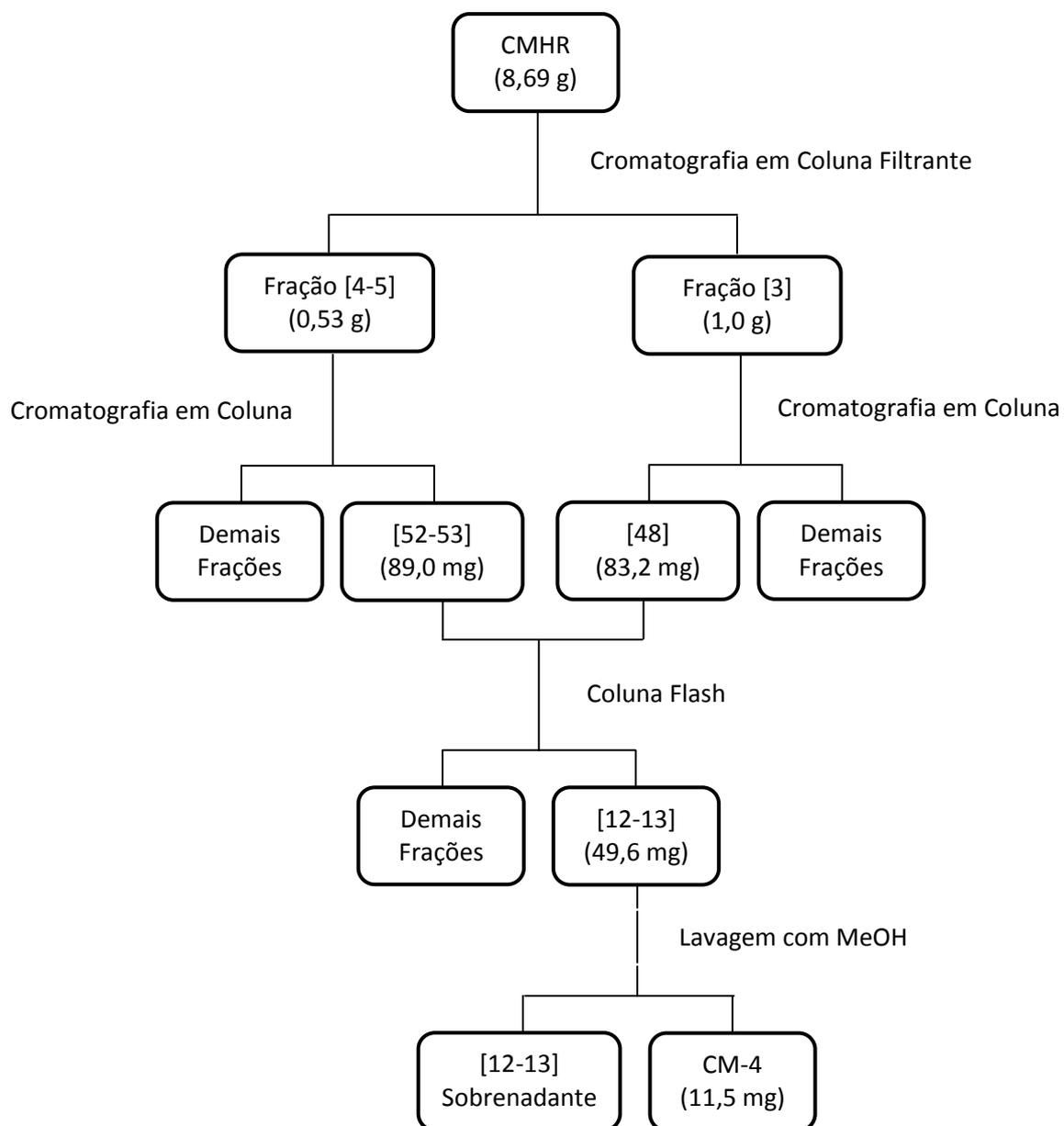
As frações CMHR-[4-5]-[52-53] (89,0 mg) e CMHR-[3]-[48] (83,2 mg) foram reunidas devido suas semelhanças em origem e observações em CCD. Em seguida a fração reunida (172,2 mg) foi adsorvida em 0,30 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna flash de 1,0 cm de diâmetro interno sobre 12,3 g de gel de sílica. A eluição foi realizada pelos solventes diclorometano e acetato de etila e metanol, assim como por misturas binárias destes solventes em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 27 frações que após comparadas por CCD, foram reunidas, resultando em 8 frações, conforme as suas semelhanças (Tabela 19).

**Tabela 19** – Frações da coluna flash de CMHR-[4-5]-[52-53] + CMHR-[3]-[48]

FRAÇÃO	ELUENTE	PESO (mg)
6-9	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 100%	1,1
10	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	1,9
11	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	3,4
12-13	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	49,6
14	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /AcOEt 5%	11,1
15-18	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	3,0
21-23	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	66,4
24-27	MeOH 100%	8,7

A fração [12-13] (49,6 mg), solúvel em diclorometano, após análise por RMN <sup>1</sup>H, apresentou-se como uma mistura de flavonóides. Ao testar a sua solubilidade frente ao metanol, observou-se a formação de um precipitado amarelo. A fim de separá-lo da amostra, este foi lavado com metanol repetidas vezes, resultando em 11,5 mg de um sólido amarelo, solúvel em clorofórmio, com ponto de fusão na faixa de 162,2-163,0 °C, denominado CM-4, como pode ser observado no Fluxograma 4.

Análises por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, EM, IV e comparação com dados obtidos da literatura permitiram identificar CM-4 como sendo o flavonol 5-hidroxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona (artemetina).

**Fluxograma 4 – Isolamento de CM-4**

## CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO

O estudo químico dos extratos etanólico dos talos e hexânico das raízes de *Croton muscicarpa* Müll. Arg. utilizando métodos cromatográficos clássicos, resultou no isolamento de quatro metabólitos secundários.

Os constituintes isolados que tiveram suas estruturas químicas determinadas foram os sesquiterpenos, espatulenol e 6 $\alpha$ -metóxi-cipereno, isolados dos talos. Das raízes foram isolados o triterpeno, ácido acetil aleuritólico (AAA) e uma polimetoxiflavona, a 5-hidroxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona (artemetina). Os resultados confirmam a presença de terpenóides e flavonóides no gênero *Croton* e sugerem *C. muscicarpa* como fonte promissora destes metabólitos secundários.

Foram relatadas na literatura, diversas atividades biológicas dos constituintes isolados neste trabalho, indicando que a espécie *C. muscicarpa* apresenta potencial para estudos biológicos de seus extratos ou frações, embora não seja relatado seu uso na medicina popular.

Também foi verificado que o sesquiterpeno 6 $\alpha$ -metóxi-cipereno não apresentava descrição na literatura, sendo relatado pela primeira vez neste trabalho.

Além dos resultados mostrados até o momento, outras partes da planta, extratos e frações ainda estão em fase de prospecção de seus constituintes, impulsionando a continuação do estudo fitoquímico de *C. muscicarpa* e a investigação de atividades farmacológicas dos constituintes isolados, visto que muitas plantas que não são conhecidas quimicamente podem ser de grande importância na química medicinal.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; RIOS, M. Y.; Three New Sesquiterpenes from *Croton arboreous*. **Journal of Natural Products**. v. 67, p. 914-917, 2004.

AHMAD, V. U.; RAHMAN, ATTA-UR-RAHMAN. **Handbook of Natural Products Data**. v. 2, Editora Elsevier, Amsterdam, 1994.

BARBOSA-FILHO, J. M.; ARAÚJO-JÚNIOR, V. T. de; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, E. V. L. B.; AGRA, M. F.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R. Muscicapines, a New Class of Guaiane-Type Sesquiterpene Alkaloids from *Croton muscicapa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16, 3B, 553-557, 2005.

BARRETO, M. B. Estudo químico de *Croton muscicapa* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) e avaliação da composição química volátil de *Ocimum* spp (Lamiaceae). **Dissertação de Mestrado**, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará-UFC, 2008.

BEZERRA, M. Z. B.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; ROUQUAYROL M. Z. Uma nova espécie do gênero *Croton* e as ações farmacológicas inesperadas de alguns dos seus constituintes químicos. **Química Nova**. v. 9, n. 4, p. 271-273, 1986.

BIGIO, N. C. As espécies de *Pera Mutis* (Euphorbiaceae) na Amazônia Brasileira. **Dissertação de Mestrado**, Museu Paraense Emílio Goeldi, Universidade Federal Rural da Amazônia, 2009.

BLOCK, S.; FLAMINI, G.; BRKIC, D.; MORELLI, I.; QUETIN-LECLERCQ, J. Analysis of the essential oil from leaves of *Croton zambesicus* Muell. Arg. growing in Benin. **Flavour and Fragrance Journal**. v.21, p. 222-224, 2006.

BOONYARATHANAKORNKIT, L.; CHE, C. T.; FONG, H. H. S.; FARNSWORTH, N. R. Constituents of *Croton crassifolius* roots. **Planta Medica**. v.54, n.1, p. 61-63, 1988.

BOYOM, F. F.; KEUMEDJIO, F. DONGMO, P. M. J.; NGADJUI, B. T.; ZOLLO, P. H. A.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M. Essential oils from *Croton zambesicus* Muell. Arg. growing in Cameroon. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 17, n. 3, p. 215-217, 2002.

CALANCEA, M.; CARRET, S.; DEPRES, J. P. Short access to the aromadendrane family: highly efficient stereocontrolled total synthesis of (+/-)-cyclocolorenone and (+/-)-alpha-gurjunene. **European Journal of Organic Chemistry**. v. 19, p. 3134-3137, 2009.

CAMPAGNUOLO, C.; FATTORUSSO, E.; PETRUCCI, F.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; APPENDINO, G.; MARQUEZ, N.; MUNOZ, E. A prenylbisabolane with NF-KappaB inhibiting properties from Cascarilla (*Croton eluteria*). **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. v.13, n.13, p.4238-4242, 2005.

CAMPOS, M. C. O.; SALOMÃO, K.; CASTRO-PINTO, D. B. LEON, L. L.; BARBOSA, H. S.; MACIEL, M. A. M.; CASTRO, S. L. *Croton cajucara* crude extract and isolated terpenes: activity on *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**. v. 107, p. 1193-1204, 2010.

CARUZO, M. B R. Sistemática de *Croton* sect. *Cleodora* (Euphorbiaceae s.s.). **Tese de Doutorado**, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2010.

CATALÁN, C. A. N.; HELUANI, C. S.; KOTOWICZ, C.; GEDRIS, T. E.; HERZ, W. A linear sesterterpene, two squalene derivatives and two peptide derivatives from *Croton hieronymi*. **Phytochemistry**. v.64, p.625-629, 2003.

CRAVEIRO, A. A.; SILVEIRA, E. R.; MATOS, F. J. A.; DE ALENCAR, J.W. Essential and fatty oils of *Croton sonderianus*. **Revista Latinoamericana de Química**. v. 9, n. 2, p. 95-97, 1978.a.

CRAVEIRO, A. A.; MONTE, F. J. Q.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J.W. Volatile constituents of *Croton aff. Argyrophyloides* Muell. arg. **Revista Latinoamericana de Quimica**. v. 9, n. 2, p. 98-99, 1978.b.

CRAVEIRO, A. A.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; DANTAS, T. N. C. Fixed and volatile constituents of *Croton aff. nepetifolius*. **Journal of Natural Products**. v.43, n. 6, p. 756-757, 1980.

DUGAS, A. J.; CASTAÑEDA-ACOSTA, J.; BONIN, G. C.; PRICE, K. L.; FISCHER, N. H.; WINSTON, G. W. Evaluation of the total peroxy radical-scavenging capacity of flavonoids: Structure-activity relationships. **Journal of Natural Products**. v. 63, p. 327-331, 2000.

EISENREICH, W. J.; HOFNER, G.; BRACHER, F. Alkaloids from *Croton flavens* L. and their affinities to GABA-receptors. **Natural Product Research**. v. 17, n. 6, p. 437-440, 2003.

ERMAN, W. F.; STONE, L. C. General approach to total synthesis of patchoulane sesquiterpenes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 16, n. 6, p. 1093-1096, 1971.

FRANCO, M. S.; CORDERO, C. P.; MORANTES, S. J.; ARISTIZABAL, F.; OSORIO, C. Cytotoxic labdane diterpenoids isolated from the hexane fraction of the *Croton stipuliformis* stem bark. **Vitae**. v. 18, n. 2, p. 173-182, 2011.

GOLDSBY, G.; BURKE, B. A. Sesquiterpene lactones and a sesquiterpene diol from Jamaican *Ambrosia peruviana*. **Phytochemistry**. v. 26, n. 4, p. 1059-1063, 1987.

GOMES, C. L. Estudo Químico de *Croton muscicarpa* Müll. Arg. e *Croton glutinosus* (Euphorbiaceae). **Dissertação de Mestrado**, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará-UFC, 2010.

HAGEDORN, M. L.; BROWN, S. M. The constituents of cascarilla oil (*Croton eluteria* Bennett). **Flavour and Fragrance Journal**. v. 6, n. 3, p. 193-204, 1991.

HAVLIK, J.; BUDESINSKY, M.; KLOUCEK, P.; KOKOSKA, L.; VALTEROVA, I. Norsesquiterpene hydrocarbon, chemical composition and antimicrobial activity of *Rhaponticum carthamoides* root essential oil. **Phytochemistry**. v. 70, n. 3, p. 414-418, 2009.

INAGAKI, F.; ABE, A. Analysis of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectra of spathulenol by two-dimensional methods. **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2**. v.11, p. 1773-1778, 1985.

JOLY, A. B. **BOTÂNICA: Introdução a Taxonomia Vegetal**. 12<sup>o</sup>ed. São Paulo, Editora Nacional, 1998.

MAGALHÃES, P. J. C.; LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J. H. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on guinea-pig ileum: A myogenic activity. **Fundamental and Clinical Pharmacology**. v. 18, n. 5, p. 539-546, 2004.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P.  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. **Phytochemistry**. v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MARTÍNEZ, V.; BARBERA, O.; SANCHEZ-PARAREDA, J.; MARCO, J. A. Phenolic and acetylenic metabolites from *Artemisia assoana*. **Phytochemistry**. v. 26, n. 9, p. 2619-2624, 1987.

MATHABE, M. C.; HUSSEIN, A. A.; NIKOLOVA, R. V.; BASSON, A. E.; MEYER, J. J. M.; LALL, N. Antibacterial activities and cytotoxicity of terpenoids isolated from *Spirostachys Africana*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 116, p. 194-197, 2008.

MAVAR-MANGA, H.; HADDAD, M.; PIETERS, L.; BACCELLI, C.; PENGE, A.; QUETIN-LECLERCQ, J. Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 115, p. 25-29, 2008.

McCHESNEY, J. D.; SILVEIRA, E. R. The use of Carbon-Carbon Connectivity in the structure determination of marmelerin, a novel benzofuran sesquiterpene from *Croton sonderianus*. **Journal Organic Chemistry**. v.49, p. 5154-5157, 1984.

MECCIA, G.; ROJAS, L. B.; ROSQUETE, C. SAN FELICIANO, A. Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 15, n. 3, p. 144-146, 2000.

MICHIELIN, E. M. Z.; SALVADOR, A. A.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA Jr, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 6615-6623, 2009.

MILANOWSKI, D. J.; WINTER, R. E. K.; ELVIN-LEWIS, M. P. F.; LEWIS, W. H. Geographic distribution of three alkaloid chemotypes of *Croton lechleri*. **Journal of Natural Products**. v. 65, p. 814-819, 2002.

MORAIS, S. M.; BRAZ-FILHO, R. **Produtos naturais: estudos químicos e biológicos**. Fortaleza, EdUECE, 2007.

MOREIRA, I. C.; LAGO, J. H. G.; YOUNG, M. C.; ROQUE, N. F. Antifungal aromadendrane sesquiterpenoids from the leaves of *Xylopiá brasiliensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 14, n. 5, p. 828-831, 2003.

OLIVEIRA, T. G. Micropropagação e conservação *in vitro* de *Croton antisiphiliticus* Mart. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

ORTET, R.; PRADO, S.; REGALADO, E. L.; VALERIOTE, F. A.; MEDIA, J.; MENDIOLA, J.; THOMAS, O. P. Furfuran lignans and flavone from *Artemisia gorgonum* Webb and their *in vitro* activity against *Plasmodium falciparum*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 138, p. 637-640, 2011.

PALMEIRA JÚNIOR, S. F.; ALVES, V. L.; MOURA, F. S.; VIEIRA, L. F. A.; CONSERVA, L. M.; LEMOS, R. P. L. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 3, p. 397-402, 2006.

PALMEIRA JUNIOR, S. F.; CONSERVA, L. M.; SILVEIRA, E. R. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 16, n. 6B, p. 1420-1424, 2005.

PALMEIRA JÚNIOR, S. F.; MOURA, F. S.; ALVES, V. L.; OLIVEIRA, F. M.; BENTO, E. S.; CONSERVA, L. M.; ANDRADE, E. H. A. Neutral components from hexane extracts of *Croton sellowii*. **Flavour and Fragrance Journal**. v.19, n. 1, p. 69-71, 2004.

PEREIRA, A. Q.; CHAVES, F. C. M.; PINTO, S. C.; LEITÃO, S. G.; BIZZO, H. R. Isolation and identification of *cis*-7-hydroxycalamenene from the essential oil of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Essential Oil Research**. v.23, n. 2, p. 20-23, 2011.

PEREZ-HERNANDEZ, N.; PONCE-MONTER, H.; MEDINA, J. A.; JOSEPH-NATHAN, P. Spasmolytic effect of constituents from *Lepechinia caulescens* on rat uterus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 30-35, 2008.

PERTINO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; RODRÍGUEZ, J. A.; THEODULOZ, C. Gastroprotective effect and cytotoxicity of terpenes from the Paraguayan crude drug “yagua rova” (*Jatropha isabelli*). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 111, p. 553-559, 2007.

PRACHAYASITTIKUL, S.; SUPHAPONG, S.; WORACHARTCHEEWAN, A.; LAWUNG, R.; RUCHIRAWAT, S.; PRACHAYASITTIKUL, V. Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**. v. 14, p. 850-867, 2009.

REYES, B. M.; RAMÍREZ-APAN, M. T.; TOSCANO, R. A.; DELGADO, G. Triterpenes from *Garcia parviflora*. Cytotoxic evaluation of natural and semisynthetic friedelanes. **Journal of Natural Products**. v. 73, p. 1839-1845, 2010.

SALATINO, A.; SALATINO, F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SAN GIL, R. A. S.; ALBUQUERQUE, M. G.; ALENCASTRO, R. B.; PINTO, A. C.; GOMES, F. E. S.; DANTAS, T. N. C.; MACIEL, M. A. M. Solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR and molecular modeling studies of acetyl aleuritolic acid obtained from *Croton cajucara* Benth. **Journal of Molecular Structure**. v. 885, p. 82-88, 2008.

SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 22, n. 1, p. 99-118, 2008.

SETZER, W. N.; STOKES, S. L.; BANSAL, A.; HABER, W. A.; CAFFREY, C. R.; HANSELL, E.; MCKERROW, J. H. Chemical composition and cruzain inhibitory activity of *Croton draco* bark essential oil from Monteverde, Costa Rica. **Natural Product communications**. v. 2, n. 6, p. 685-689, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. GOSMANN, G. MELLO, J. C. P. MENTS, L. A.; PETROVIK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5<sup>o</sup> ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

SINGH, V.; DAYAL, R.; BARTLEY, J. P. Chemical constituents of *Vitex negundo* leaves. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**. v. 25, n. 1, p. 94-98, 2003.

SONWA, M. M. C. Isolation and structure elucidation of essential oil constituents – Comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. **Dissertation for Degree of Doctor**. Faculty of Chemistry, University of Hamburg, Hamburg, 2000.

SOUZA, M. A. A.; SOUZA, S. R.; VEIGA, V. F.; CORTEZ, J. K. P. C.; LEAL, R. S.; DANTAS, T. N. C.; MACIEL, M. A. M. Chemical composition of the fixed oil of *Croton cajucara* and its antifungal properties. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, p. 599-610, 2006.

SOUZA, S. M. A. Estudos morfológicos e filogenéticos de *Sebastiania* Spreng. (Hippomaneae, Euphorbiaceae). **Dissertação de Mestrado**. Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

SOUZA, P.; GASPAROTTO, A.; CRESTANI, S.; STEFANELLO, M. E. A.; MARQUES, M. C. A.; SILVA-SANTOS, J. E.; KASSUYA, C. A. L. Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. **Phytomedicine**. v. 18, n. 10, p. 819-825, 2011.

SUAREZ, A. L.; OROPEZA, M.; VASQUEZ, L.; TILLET, S.; COMPAGNONE, R. S. Chemical composition of the essential oil of *Croton gossypifolius* from Venezuela. **Natural Product Communications**. v. 6, n. 1, p. 97-99, 2011.

SUIREZ, A. L.; CHAVEZ, K.; DELLE MONACHE, F.; VASQUEZ, L. DELANNOY, D. M.; ORSINI, G. COMPAGNONE, R. S. New 3,4-seco ent-kaurenes from *Croton caracasana* flowers. **Natural Product Communications**. v. 3, n. 3, p. 319-322, 2008.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A.; NAGAU, F.; LEGAULT, J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 103, p. 99-102, 2006.

TORRES, M. C. M. Estudo químico e biológico de *Croton regelianus* var. *matosii* (Euphorbiaceae). **Dissertação de Mestrado**, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará-UFC, 2008.

TORRES, M. C. M.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; DINIZ, J. C.; VIANA, F. A.; PESSOA, O. D. L. Terpenoids from *Croton regelianus*. **Helvetica Chimica Acta**. v. 93, p.375-381, 2010.

ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; ERIS, C.; SÖNMEZ, U.; KARTAL, M.; KURUCU, S.; BOZOK-JOHANSSON, C. Terpenoids from *Salvia sclarea*. **Phytochemistry**. V. 36, n. 4, p. 971-974, 1994.

WANG, Y.; HAMBURGER, M.; GUEHO, J.; HOSTETTMANN, K. Antimicrobial flavonoids from *Psiadia trinervia* and their methylated and acetylated derivatives. **Phytochemistry**. v. 28, n. 9, p. 2323-2327, 1989.

WANG, Y.; ZOU, Z. Sesquiterpenes from the stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. **Zhongguo Tianran Yaowu**. v. 6, n. 5, p. 339-341, 2008.

WOERDENBAG, H. J.; BOS, R.; VAN MEETEREN, H. E.; BAARSLAG, J. J.J.; DE JONG-VAN DEN BERG, L. T. W.; PRAS, N.; DO REGO KUSTER, G.; PETRONIA, R. R. L.; VOS, G. I. Essential oil of *Croton flavens* L. (Welensali), a medicinal plant from Curacao. **Journal of Essential Oil Research**. v. 12, n. 6, p. 667-671, 2000.

ZIAEI, A.; RAMEZANI, M.; WRIGHT, L.; PAETZ, C.; SCHNEIDER, B.; AMIRGHOFAN, Z. Identification of spathulenol in *Salvia mirzayanii* and the immunomodulatory effects. **Phytotherapy Research**. v. 25, n. 4, p. 557-562, 2011.