



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**ESTUDO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE E SUA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE: *Senna martiana* (Benth) I. e B.**

Edângelo Moura Siqueira Macedo

FORTALEZA-CEARÁ

2006

**ESTUDO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE E SUA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE: *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn.**

Edângelo Moura Siqueira Macedo

**Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação
em Química Orgânica, Como requisito parcial para obtenção do grau de mestre**

Orientador: Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza, 2006

M12e Macedo, Edangelo Moura Siqueira
Estudo químico de plantas do Nordeste e sua atividade antioxidante:
Senna martiana (Benth) I. e B. / Edangelo Moura Siqueira Macedo
132 f. il., color. enc.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza,
2006.
Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra
Orientadora: Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva

1. Senna martiana 2. Antioxidante 3. Antraquinonas I.Silva, Maria
Goretti de Vasconcelos II. Universidade Federal do Ceará – Mestrado em
Química Orgênica III. Título

CDD 547

**Este trabalho foi realizado sob a orientação da Professora Doutora Maria
Goretti de Vasconcelos Silva do Departamento de Química Orgânica e
Inorgânica da Universidade Federal do Ceará**

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Edângelo Moura Siqueira Macedo

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: Janeiro de 2006

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Francisco José de Abreu Matos
Universidade Federal do Ceará – UFC

Profa. Dra. Otília Deusdênia L. P. Cavalcante
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa
Universidade Estadual do Ceará – UECE

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dá forças e coragem durante toda a minha caminhada.

Aos meus pais Edson e Enilda pelo amor e por sempre me mostrarem o caminho a seguir, aos meus irmãos Erica, Eder e Eloilma pelo carinho, a minha esposa Marlyane pelo incentivo e por estar ao meu lado nas horas difíceis.

Aos meus amigos, Leo, Fábio, Rogério, Leandro, Sales, Alexandre e Roberto por me ajudarem a tomar decisões difíceis e por proporcionar um ambiente de trabalho agradável e descontraído.

Aos colegas de trabalho Amélia, Francilene, Franci, Marilac, Benício e Zeca por fazerem parte do meu dia-a-dia e contribuírem de forma direta ou indireta na conclusão deste trabalho.

A minha orientadora Goretti, pelo ensino, pela amizade e pelo interesse no estudo fitoquímico me encorajando a prosseguir.

Ao professor Matos pelo seu amor as plantas medicinais nordestinas, a pesquisa e ao nosso aprendizado.

Aos professores Edilberto Silveira, Edson de Paula, Selene, Tereza Trevisan, pela contribuição na execução deste trabalho.

Aos operadores do aparelho de ressonância, Leo, Daniel, Nirla, Glauber e Grazielle por terem ocupado seu tempo na obtenção dos espectros aqui apresentados.

Ao CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro e pela concessão das bolsas.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE TABELAS.....	V
LISTA DE ESQUEMAS.....	VII
LISTA FLUXOGRAMAS.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
RESUMO.....	IX

CAPÍTULO 1

1	INTRODUÇÃO.....	1
---	-----------------	---

CAPÍTULO 2

2.	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	2
2.1.	Considerações botânicas sobre a família Leguminosae.....	2
2.2.	Considerações botânicas sobre <i>Senna martiana</i> (Benth) I. e B.	3

CAPÍTULO 3

3.	BIOSSÍNTESE DE ANTRAQUINONAS.....	4
3.1.	Biossíntese de antraquinonas via chiquimato-mevalonato.....	4
3.2.	Biossíntese de antraquinonas via chiquimato-malonato.....	6

CAPÍTULO 4

4.	LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	8
4.1.	Constituintes químicos e atividade biológica do gênero <i>Senna</i>	8

CAPÍTULO 5

5.	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	20
5.1.	Estudo dos constituintes químicos fixos de <i>Senna martiana</i>	20

5.2.	Determinação dos constituintes fixos das sementes de <i>Senna martiana</i>	20
5.3.	Determinação dos constituintes químicos do caule de <i>Senna martiana</i>	27
5.3.1.	Determinação estrutural de SMCH1.....	27
5.3.2.	Determinação estrutural de SMCH2.....	32
5.3.3.	Determinação estrutural de SMCH3.....	38
5.3.4.	Determinação estrutural de SMCH4.....	49
5.3.5.	Determinação estrutural de SMCD1.....	60
5.3.6.	Determinação estrutural de SMCD2.....	69

CAPÍTULO 6

6.	PARTE EXPERIMENTAL.....	91
6.1.	Material botânico.....	91
6.1.1.	Coleta para o estudo dos constituintes químicos de <i>Senna martiana</i> (Benth) Irw. e Barn.	91
6.2.	Métodos cromatográficos.....	91
6.3.	Técnicas espectroscópicas.....	92
6.3.1.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H	
6.3.2.	Espectrometria de massas (EM).....	93
6.3.3.	Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	94
6.3.4.	Ponto de fusão (pf).....	94
6.4.	Análise do potencial antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de <i>Senna martiana</i>	94
6.4.1.	Método DPPH.....	94
6.4.2.	Método DHBA.....	95
6.5.	Estudo dos constituintes fixos de <i>Senna martiana</i>	95
6.5.1.	Estudo dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das sementes de <i>Senna martiana</i>	95
6.5.2.	Obtenção dos extratos etanólicos das folhas, inflorescências e caule de <i>Senna martiana</i>	97
6.5.3.	Preparação da areia para o tratamento cromatográfico.....	98

6.5.4.	Fracionamento preliminar do extrato do caule de <i>Senna martiana</i>	98
6.5.5.	Tratamento cromatográfico de SMCH de <i>Senna martiana</i>	99
6.5.6.	Fracionamento cromatográfico da fração SMCH1/1-4.....	100
6.5.7.	Isolamento de SMCH2-11A a partir de SMCH1/1-4.....	101
6.5.8.	Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/7-8.....	103
6.5.9.	Isolamento de SMCH4/45-61A a partir de SMCH3/18-26.....	104
6.5.10.	Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/9-10.....	106
6.5.11.	Isolamento de SMCH7/25-39A.....	107
6.5.12.	Isolamento de SMCH3 e SMCH4.....	107
6.5.13.	Tratamento cromatográfico de SMCD de <i>Senna martiana</i>	110
6.5.14.	Tratamento cromatográfico de SMCD1/25-32.....	111
6.5.15.	Tratamento cromatográfico de SMCD2/21-33.....	111
6.5.16.	Isolamento de SMCD1.....	112
6.5.17.	Tratamento cromatográfico de SMCD1/47-50.....	114
6.5.18.	Isolamento de SMCD2.....	115

CAPÍTULO 7

7.	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Senna martiana</i>	117
7.1.	Resultados dos testes de capacidade antioxidante.....	117
7.1.1.	Método DHBA.....	117
7.1.2.	Preparação do ensaio.....	118
7.1.3.	Método DPPH.....	121
7.1.4.	Preparação do ensaio.....	121

CAPÍTULO 8

8.	CONCLUSÃO.....	127
----	----------------	-----

CAPÍTULO 9

9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	128
----	---------------------------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

BB: Broad Band

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

COSY: Correlation Spectroscopy

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DHBA: Ácido diidroxibenzóico

DPPH: Difenil-picril-hidrazil

EM: Espectro de Massas

eV: Elétron volts

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

IV: Infravermelho

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1

SMC: Extrato etanólico do Caule de *Senna martiana*

SMCD: Fração Diclorometânica do extrato etanólico do Caule de *Senna martiana*

SMCD1: *Senna martiana* Caule fração diclorometânica substância 1

SMCD2: *Senna martiana* Caule fração diclorometânica substância 2

SMCH: Fração Hexânica do extrato etanólico do Caule de *Senna martiana*

SMCH1: *Senna martiana* Caule fração hexânica substância 1

SMCH2: *Senna martiana* Caule fração hexânica substância 2

SMCH3: *Senna martiana* Caule fração hexânica substância 3

SMCH4: *Senna martiana* Caule fração hexânica substância 4

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia de <i>Senna martiana</i> com detalhe do fruto e da flor.....	3
Figura 2: Cromatograma dos ésteres metílicos das sementes de <i>Senna martiana</i> ..	21
Figura 3: Espectro de massas do éster metílico do ácido tetradecanóico.....	22
Figura 4: Espectro de massas do éster metílico do ácido pentadecanóico.....	22
Figura 5: Espectro de massas do éster metílico do ácido 9-hexadecenóico.....	22
Figura 6: Espectro de massas do éster metílico do ácido hexadecanóico.....	23
Figura 7: Espectro de massas do éster metílico do ácido 9-octadecanóico.....	23
Figura 8: Espectro de massas do éster metílico do ácido heptadecanóico.....	23
Figura 9: Espectro de massas do éster metílico do ácido 9,12-octadecadienóico...	24
Figura 10: Espectro de massas do éster metílico do ácido octadecanóico.....	24
Figura 11: Espectro de massas do éster metílico do ácido 10-nonadecenóico.....	24
Figura 12: Espectro de massas do éster metílico do ácido 11,14-eicosadienóico...	25
Figura 13: Espectro de massas do éster metílico do ácido eicosanóico.....	25
Figura 14: Espectro de massas do éster metílico do ácido docosanóico.....	25
Figura 15: Espectro de massas do éster metílico do ácido tricosanóico.....	26
Figura 16: Espectro de massas do éster metílico do ácido tetracosanóico.....	26
Figura 17: Espectro de absorção na região do infravermelho de SMCH1.....	29
Figura 18: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCH1.....	29
Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCH1.....	30
Figura 20: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCH1.....	31
Figura 21: Espectro de massas de SMCH1.....	31
Figura 22: Espectro de absorção na região do infravermelho de SMCH2.....	35
Figura 23: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de SMCH2.....	35
Figura 24: Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) de SMCH2.....	36
Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de SMCH2.....	37
Figura 26: Espectro de absorção na região do infravermelho de SMCH3.....	44
Figura 27: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SMCH3.....	44
Figura 28: Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de SMCH3.....	45
Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de SMCH3.....	45

Figura 30: Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMCH3.....	46
Figura 31: Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMCH3.....	47
Figura 32: Espectro de massas de SMCH3.....	48
Figura 33: Espectro de absorção na região do infravermelho de SMCH4.....	54
Figura 34: Espectro de massas de SMCH4.....	54
Figura 35: Espectro RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CDCl ₃) de SMCH4.....	55
Figura 36: Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMCH4.....	56
Figura 37: Sub-espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) faixa de 6,4-7,8 ppm de SMCH4.....	56
Figura 38: Espectro HMQC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMCH4.....	57
Figura 39: Sub-espectro (faixa 105-125 e 6,5-8,0 δ) de HMBC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMCH4.....	58
Figura 40: Sub-espectro (faixa de 160-190 e 6,5-8,0 δ) de HMBC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMCH4.....	59
Figura 41: Espectro de absorção na região do infravermelho de SMCD1.....	64
Figura 42: Espectro de massas de SMCD1.....	64
Figura 43: Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO) de SMCD1.....	65
Figura 44: Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO) de SMCD1.....	65
Figura 45: Espectro de RMN ¹³ -DEPT 135° (125 MHz, DMSO) de SMCD1.....	66
Figura 46: Espectro de RMN de correlação heteronuclear HMQC de SMCD1.....	67
Figura 47: Espectro de correlação heteronuclear HMBC de SMCD2.....	68
Figura 48: Espectro na região do infravermelho de SMCD2.	79
Figura 49: Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	80
Figura 50: Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2	81
Figura 51: Espectro de RMN ¹³ C-DEPT 135° (125 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	82
Figura 52: Espectro de correlação heteronuclear HMQC de SMCD2.....	83
Figura 53: Sub-espectro (faixa 60-85 e 2,8-3,6 δ) de HMQC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	84
Figura 54: Sub-espectro (faixa 115-135 e 6,7-7,6 δ) de HMQC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	85

Figura 55: Espectro de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2...	86
Figura 56: Sub-espectro (faixa 70-85 e 2,6-3,6 δ) de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	87
Figura 57: Sub-espectro (faixa 135-165 e 6,7-7,8 δ) de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.....	88
Figura 58: Espectro de RMN (500 MHz, acetona-deuterada) COSY de SMCD2..	89
Figura 59: Espectro de massas de alta resolução de SMCD2.....	90
Figura 60: Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante de <i>Senna martiana</i> pelo método DHBA.....	120
Figura 61: Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH da espécie <i>Senna martiana</i>	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades biológicas de espécies do gênero <i>Senna</i>	8
Tabela 2: Metabólitos secundários isolados de espécies pertencentes ao gênero <i>Senna</i>	9
Tabela 3: Ácidos graxos obtidos através dos seus respectivos ésteres metílicos, do extrato hexânico das sementes de <i>Senna martiana</i>	21
Tabela 4: Comparação dos dados de RMN ¹³ C de SMCH2 em comparação com os dados da literatura [GOULART, 1993].	34
Tabela 5: Deslocamento químicos de (δ) RMN ¹³ C, para SMCH3 (500 MHz, CDCl ₃) com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros DEPT 135° com o RMN ¹³ C-BB.....	39
Tabela 6: Deslocamento químico de RMN ¹³ C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCH3.....	42
Tabela 7: Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de SMCH3 comparados com a literatura [DAGNE, 1984].....	43
Tabela 8: Deslocamento químico de carbono 13 (δ) para SMCH4 (125 MHz, CDCl ₃) em comparação com os dados de carbono 13 de SMCH3 e fisiona [HÖFLE, 1977].....	50
Tabela 9: Deslocamento químico de RMN ¹³ C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCH4.....	53
Tabela 10: Comparação entre os dados de RMN ¹³ C de SMCH3 e SMCD1.....	61
Tabela 11: Dados espectroscópicos de SMCD1.....	63
Tabela 12: Comparação dos dados de RMN ¹³ C com DEPT 135° de SMCD2.....	72
Tabela 13: Comparação dos dados de RMN ¹ H e ¹³ C de SMCD2 com os dados de MAI, 2001.....	75
Tabela 14: Dados espectroscópicos de RMN ¹ H, ¹³ C e correlação heteronuclear a longa distância de SMCD2.....	77
Tabela 15: Fracionamento do extrato do caule de <i>Senna martiana</i>	97

Tabela 16: Dados oriundo do tratamento cromatográfico de SMC.....	99
Tabela 18: Dados resultantes do fracionamento cromatográfico em areia da fração SMCH do caule de <i>S. martiana</i>	100
Tabela 19: Dados resultantes do tratamento cromatográfico em gel de sílica da fração SMCH1/1-4 do caule de <i>S. martiana</i>	101
Tabela 20: Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/7-8.....	103
Tabela 21: Fracionamento cromatográfico de SMCH1/9-10.....	106
Tabela 22: Tratamento cromatográfico da fração SMCH6/55-64.....	107
Tabela 23: Tratamento cromatográfico de SMCD.....	110
Tabela 24: Tratamento cromatográfico de SMCD1/25-32.....	111
Tabela 25: Fracionamento cromatográfico de SMCD2/21-33.....	112
Tabela 26: Tratamento cromatográfico de SMCD1/47-50.....	114
Tabela 27: Porcentagem de inibição dos extratos estudados sobre o ácido salicílico na formação do 2,3-DHBA e 2,5-DHBA (%).....	120
Tabela 28: Avaliação do potencial sequestrador de radicais livres pela medida da absorvância dos extratos de <i>Senna martiana</i>	125

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema I: Rota biossintética de antraquinonas via chiquimato-mevalonato.....	4
Esquema II: Rota biossintética de antraquinonas via acetato-mevalonato.....	7
Esquema III: Mecanismo reacional do ensaio DHBA.....	119
Esquema IV: Reação entre catequina e epicatequina com o radical livre DPPH [SANG, 2002].....	122
Esquema V: Proposta mecanística para a reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto A [SANG, 2002].....	123
Esquema VI: Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto B [SANG, 2002].....	124

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1: Saponificação do extrato hexânico das sementes de <i>Senna martiana</i>	96
Fluxograma 2: Metilação da fração saponificável das sementes de <i>Senna martiana</i>	97
Fluxograma 3: Obtenção de SMCH1 a partir do tratamento cromatográfico de SMC.....	102
Fluxograma 4: Obtenção da fração SMCH2 obtida a partir do tratamento cromatográfico do caule de <i>S. martiana</i>	105
Fluxograma 5: Obtenção e isolamento de SMCH3 e SMCH4 a partir do extrato etanólico do caule de <i>Senna martiana</i>	109
Fluxograma 6: Obtenção e isolamento de SMCD1 a partir do extrato etanólico do caule de <i>Senna martiana</i>	113
Fluxograma 7: Obtenção e isolamento de SMCD2 a partir do extrato etanólico de <i>Senna martiana</i>	116

ABSTRACT

This work presents the study of the chemical composition of *Senna martiana* (Benth) Irw. and Barn. belonging to the family of Leguminosae (subfamily Papilionoideae, synonym Fabaceae). This study was oriented for the volatile chemical representatives of the leaves, knowledge and of the fixed representatives of the flowers and of the stem. Another object of interest was the evaluation of the antioxidant activity of the hydroalcoholic extracts of the organs of the plant above mentioned.

The bibliographical rising revealed the absence of studies phytochemistry, biological or pharmacological accomplished with this species, reason for which the plant was selected for study.

The study phytochemistry of the plant was accomplished using techniques as chromatographic for adsorption in open column (CC); chromatographic in thin layer (CCD), and in the determination of the structures technical such as spectroscopic as: absorption in the area of the red band (IV); Nuclear Magnetic Resonance of Hydrogen (RMN ¹H); Nuclear Magnetic Resonance of Carbon 13 (RMN ¹³C) united and bidimensional. The volatile representatives extraction was accomplished by hydrodistillation being used microwave oven as heating source and in the evaluation of the antioxidant activity it was used as analysis techniques, the capacity kidnapper of free radicals (method DPPH) and the measure of the antioxidant potential (method DHBA).

The study of the fixed oil of the seeds of *Senna martiana*, resulted in the identification of fourteen fatty acids, being majority, the hexadecanoic acid (37%) and the 9,12-octadecanoic acid (34,1%). The study chromatographic of the extract ethanolic of the stem of *Senna martiana* made possible the isolation and identification of the triacontanoic acid (melissico ac.), β -sitosterol, of three anthraquinones 1,8-dihydroxy, chrysophanol, physcion and aloe-emodin, whose chemical identities were confirmed by the analysis of their spectra and comparison with the data of the literature. Among the isolated representatives it was obtained a heteroside of a bianthrone of the unpublished chrysophanol in the literature.

RESUMO

Neste trabalho apresenta-se o estudo da composição química de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn. pertencente à família das Leguminosas (subfamília Papilonoideae, sinônimo Fabaceae). Norteou-se este estudo para o conhecimento dos constituintes químicos voláteis das folhas e dos constituintes fixos das inflorescências e do caule. Outro objeto de interesse foi a avaliação da atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos dos órgãos da planta acima citados.

O levantamento bibliográfico revelou a ausência de estudos fitoquímicos, biológicos ou farmacológicos realizados com esta espécie, motivo pelo qual a planta foi selecionada para estudo.

O estudo fitoquímico da planta foi realizado utilizando técnicas como cromatografia por adsorção em coluna aberta (CC); cromatografia em camada delgada (CCD), e na determinação das estruturas técnicas espectroscópicas tais como: absorção na região do infravermelho (IV); Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H); Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais. A extração dos constituintes voláteis foi realizada por hidrodestilação usando-se forno de microondas como fonte de aquecimento e na avaliação da atividade antioxidante utilizou-se como técnicas de análise, a capacidade sequestradora de radicais livres (método DPPH) e a medida do potencial antioxidante (método DHBA).

O estudo do óleo fixo das sementes de *Senna martiana*, resultou na identificação de quatorze ácidos graxos, sendo majoritários, o ácido hexadecanóico (37%) e o ácido 9,12-octadecanóico (34,1%). O estudo cromatográfico do extrato etanólico do caule de *Senna martiana* possibilitou o isolamento e identificação do ácido triacontanóico (ác. melíssico), β -sitosterol, de três antraquinonas 1,8-dihidroxiladas, crisofanol, fisciona e aloe-emodina, cujas identidades químicas foram confirmadas pela análise de seus espectros e comparação com os dados da literatura. Dentre os constituintes isolados obteve-se um heterosídeo de uma biantrona do crisofanol inédito na literatura.

1 INTRODUÇÃO

A química de produtos naturais tem como um dos principais objetivos, o isolamento e caracterização de compostos químicos de plantas superiores, que especialmente é complementada pela avaliação da atividade biológica das substâncias isoladas, com a perspectiva de um possível aproveitamento destas substâncias.

Nesta dissertação é realizado o estudo fitoquímico de uma planta nativa da flora nordestina, *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn., conhecida popularmente como caixão de canafístula e canafístula brava, pertencente á família leguminoseae.

O levantamento bibliográfico não revelou nenhum estudo sobre a espécie, porém foi possível encontrar vários estudos com as plantas pertencentes ao gênero *Senna*, onde várias classes de compostos estão presentes nestas espécies. Dentre as classes de compostos citadas, temos: flavonóides, alcalóides, terpenos e principalmente antraquinonas monoméricas e diméricas, encontradas livres e glicosiladas. A literatura relata também algumas atividades biológicas para as espécies deste gênero, tais como: larvicida, antifúngica, antivirótica, anticancer, laxativa e antioxidante.

Essa dissertação traz uma breve descrição botânica da espécie estudada, uma pesquisa bibliográfica sobre os compostos isolados das espécies pertencentes ao gênero *Senna* e suas respectivas atividades biológicas, a análise do potencial antioxidante dos extratos das partes da planta, além da descrição dos processos de isolamento, da determinação estrutural dos compostos isolados e das técnicas usadas para avaliar a atividade antioxidante.

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.

2.1. Considerações botânicas sobre a família Leguminosae

A família Leguminosae possui uma ampla distribuição geográfica, representada por cerca de 650 gêneros e mais de 18.000 espécies subordinadas a três subfamílias (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Fabaceae – sinônimo Papilionoideae). As espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Mimosoideae são principalmente tropicais e as da Fabaceae encontram-se mais frequentemente nas regiões temperadas. A subfamília fabaceae abrange espécies com características consideradas mais avançadas dentro das leguminosas. Em 1984 foi determinado que as três subfamílias das leguminosas por possuírem algumas diferenças anatômicas e pelo grande número de espécies que cada subfamília possuía passassem a ser classificadas como famílias. No entanto a partir de 1988, Arthur Cronquist e colaboradores passaram a recomendar que a classificação anterior, ou seja, Caesalpinioideae, Mimosoideae e Fabaceae voltassem a ser classificadas como subfamílias, pois as diferenças anatômicas eram poucas em comparação a quantidade de semelhanças estruturais que estas possuíam [BARROSO, 1984; CRONQUIST, 1988].

De modo geral, as espécies da família Leguminosae são caracterizadas como ervas anuais ou perenes, eretas, prostradas, difusas ou escandentes, subarbustos, arbustos eretos, sarmentos ou escandentes, e árvores de pequeno, médio ou grande porte, com sistema radicular bem desenvolvido e predominância da raiz principal sobre suas ramificações [BARROSO, 1984].

Os tipos foliares são muito variados. Podem ser encontradas desde folhas simples a compostas pinadas, bipinadas, trifolioladas, digitadas até mesmo unifoliadas. O indumento pode estar constituído de pêlos simples, unisseriados ou multisseriados, ou de tricomas glandulosos. O tipo de inflorescência das Leguminosae é o racemoso. O androceu típico é o de dez estames. O fruto característico da família é o legume, um tipo que pode ser definido como monocarpelar, seco, deiscente ao longo da sutura do carpelo e da costa mediana [BARROSO, 1984].

2.2. Considerações botânicas de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn.

Senna martiana (Benth) Irw. e Barn. (Figura 1) é uma espécie pertencente à família Leguminosae Papilonoideae (sinônimo Fabaceae), sendo conhecida popularmente como caixão de canafístula e canafístula brava [CRONQUIST, 1988].

É um arbusto de ampla copa, suavemente lenhoso de crescimento rápido com propagação de ramos, atingindo uma altura de 1,5 a 4,0 m, normalmente finos e longos, apresentando uma folhagem reduzida em comparação as demais espécies do mesmo gênero.

Apresenta-se na caatinga como moitas, crescendo juntamente com as ervas daninhas, ao redor de lagoas e ao longo das margens da estrada [CRONQUIST, 1988]. Esta espécie apresenta-se muito semelhante a *Cassia alata* que é muito comum no Ceará, diferenciando-se no entanto pela inflorescência que é mais abundante e exuberante.

Espécie nativa do Nordeste do Brasil, habita desde o Rio Grande do Norte passando por Paraíba e Pernambuco até o extremo da Bahia (ao longo do Rio São Francisco até o Rio Pardo). Existem registros de *Senna martiana* no Ceará, na Chapada do Apodi e na reserva de Aiuaba.

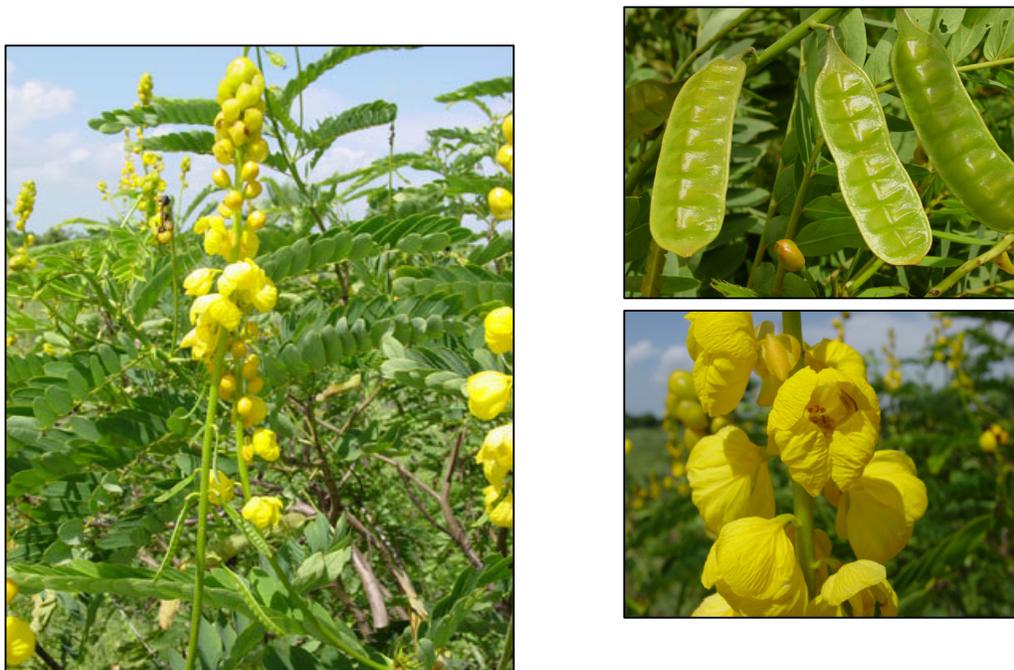


Figura 1 – Fotografia de *Senna martiana* com detalhe do fruto e da flor [foto: Prof. Silveira, E. R.]

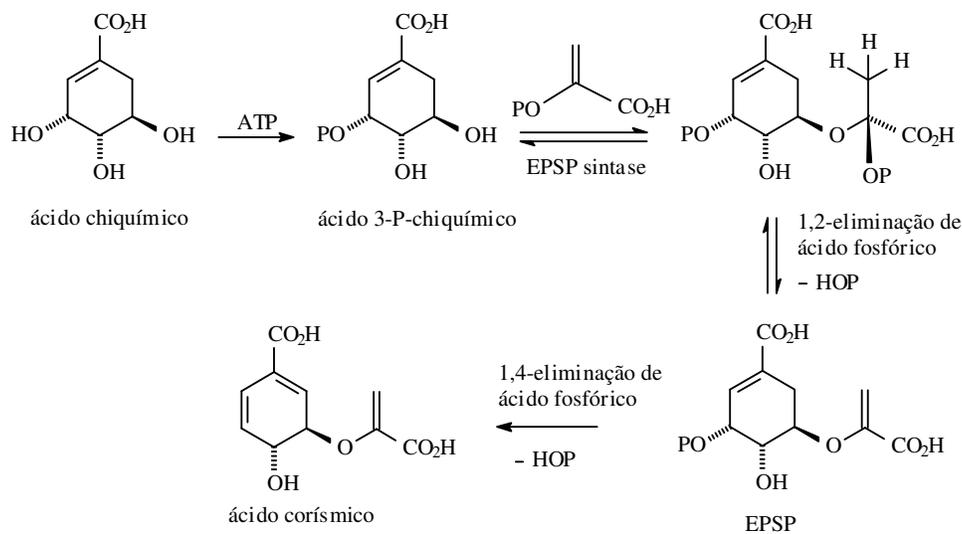
3. BIOSÍNTESE DE ANTRAQUINONAS

3.1. Biossíntese de antraquinonas via chiquimato-mevalonato

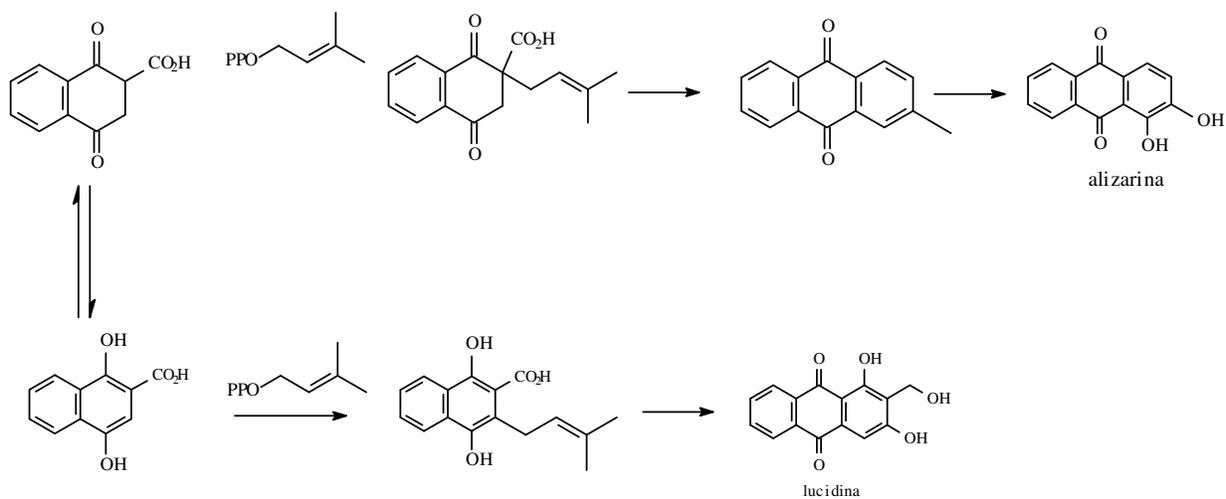
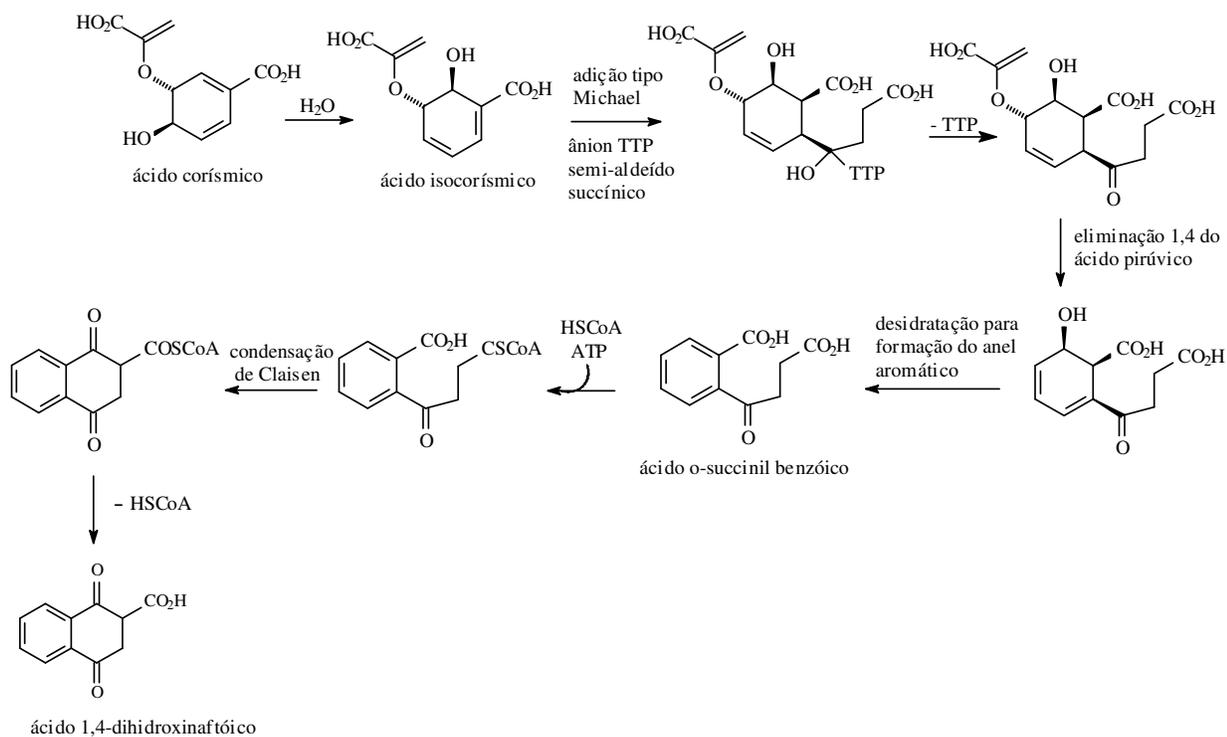
As antraquinonas naturais, que são isoladas de plantas superiores podem ser diferenciadas pela presença de substituintes nos anéis aromáticos. Antraquinonas que possuem substituintes em apenas um anel aromático são formadas através de uma via chiquimato. Esta rota biossintética se inicia quando o ácido chiquímico incorpora três átomos de carbono com o auxílio de ATP e da enzima EPSP, dando origem a um precursor intermediário C₁₀. Posteriormente este intermediário perde duas moléculas de ácido fosfórico por duas reações de eliminação, uma 1,2 em seguida uma 1,4, para dar origem ao ácido corísmico, um composto muito importante da via chiquimato.

O ácido corísmico sofre várias reações como mostrado no **Esquema I**, até a formação do ácido 1,4-dihidroxi-naftóico que em seguida sofre prenilação para a formação do terceiro anel. Como etapas finais observa-se modificações como descarboxilação, hidroxilação e metilação (**Esquema I**) [DEWICK, 2002].

Esquema I – Rota biossintética de antraquinonas via chiquimato. [DEWICK, 2002]



Esquema I - Continuação



3.2. Biossíntese de antraquinonas via acetato-malonato

O caminho biossintético que leva a formação de antraquinonas substituídas nos dois anéis é através da via acetato-malonato. Esta via biossintética envolve a condensação de uma unidade de acetilcoenzima A como iniciador e sete unidades de malonilcoenzima A como continuador, conduzindo a uma cadeia poli- β -cetometilênica e originando a antrona (intermediário hipotético 1 ou 2) que em seguida sofre oxidação em C₁₀ e C₉ a uma antraquinona (crisofanol, fisciona, endocrocina ou emodina). A diversidade de derivados antraquinônicos desta classe se originam a partir de modificações no precursor formal [DEWICK, 2002]. O esquema II ilustra a biossíntese da emodina, fisciona e crisofanol que são antraquinonas, há muito tempo conhecidas por suas propriedades purgativas e que ocorrem em plantas superiores tais como senna, cascara sagrada, frangula, ruibarbo e aloes [DEWICK, 2002].

4. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

4.1. Constituintes Químicos e Atividade Biológica do Gênero *Senna*

O levantamento bibliográfico (1985-2006) no Chemical Abstracts, e no SciFinder[®] Scholar[™], revelou para dez espécies do gênero *Senna*, atividades biológicas comprovadas e relevantes, contribuindo para um maior interesse no estudo do gênero. Estas atividades estão listadas na Tabela 1. As espécies pertencentes ao gênero *Senna*, são caracterizadas por apresentarem conhecida atividade laxativa, propriedade esta que é atribuída a presença de antraquinonas e biantronas, notadamente aos senosídeos A e B, que são bastante utilizados na indústria farmacêutica [PATRA, 2005]. Algumas espécies de *Senna* são venenosas para bovinos e caprinos, levando à síndrome da degeneração muscular e conseqüentemente a morte [CALORE, 1998].

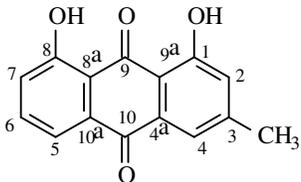
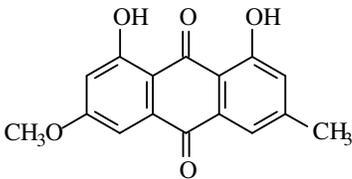
Outras atividades biológicas foram relacionadas aos constituintes químicos presentes, como por exemplo, a atividade estrogênica atribuída às hidroxiantraquinonas [MATSUDA, 2001]. A Tabela 2 apresenta os metabólitos secundários isolados das espécies do gênero nos últimos 20 anos.

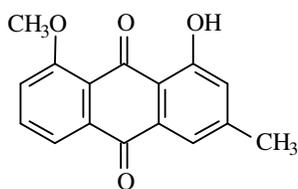
Tabela 1 – Atividades biológicas de espécies do gênero *Senna*.

Espécies do gênero <i>Senna</i>	Atividade biológica	Referencia
<i>Senna alata</i>	Tóxica	YAGI, 1998
<i>Senna angustiolia</i>	Laxativa	AZAM, 2003
<i>Senna birostris</i>	Antioxidante	VILA, 2003
<i>Senna obliqua</i>	Antimicrobiana	GRAHAM, 2004
<i>Senna racemosa</i>	Antimicrobiana	SANSORES, 2000
<i>Senna racemosa</i>	Antimicrobiana	SANSORES, 2000
<i>Senna skinneri</i>	Mutagênica	ARRIETA, 1999
<i>Senna spectabilis</i>	Citotóxica	SRIPHONG, 2003
<i>Senna stipulaceae</i>	Antifedante	VALENCIA, 2000
<i>Senna wislizeni</i>	Mutagênica	ARRIETA, 1999

As atividades biológicas citadas acima, estão diretamente relacionadas aos constituintes presentes em cada espécie, desta maneira a Tabela 2 mostra os metabólitos secundários isolados das espécies do gênero *Senna*.

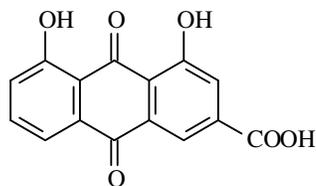
Tabela 2 – Metabólitos secundários isolados de espécies pertencentes ao gênero *Senna*.

Substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Senna</i>	
 <p>1,8-diidroxi-3-metilantraquinona (Crisofanol)</p>	 <p>1,8-diidroxi-3-metil-6-metoxiantraquinona (Fisciona)</p>
<p>Origem:</p> <p><i>Senna bicapsulares</i> [VALIENTE, 2003] <i>Senna didymobotrya</i> [ALEMAYEHU, 1996] <i>Senna didymobotrya</i> [ALEMAYEHU, 1989] <i>Senna lindheimeriana</i> [BARBA, 1992] <i>Senna longiracemosa</i> [ALEMAYEHU, 1993] <i>Senna racemosa</i> [MENA, 2002] <i>Senna rugosa</i> [BARBOSA, 2004] <i>Senna septentrionalis</i> [ALEMAYEHU, 1997]</p>	<p>Origem:</p> <p><i>Senna bicapsulares</i> [VALIENTE, 2003] <i>Senna birostris</i> [VILA, 2003] <i>Senna didymobotrya</i> [ALEMAYEHU, 1997] <i>Senna didymobotrya</i> [ALEMAYEHU, 1996] <i>Senna lindheimeriana</i> [BARBA, 1992] <i>Senna longiracemosa</i> [ALEMAYEHU, 1993] <i>Senna multiglandulosa</i> [ALEMAYEHU, 1996] <i>Senna racemosa</i> [MENA, 2002] <i>Senna rugosa</i> [BARBOSA, 2004] <i>Senna septentrionalis</i> [ALEMAYEHU, 1997] <i>Senna sophora</i> [ALEMAYEHU, 1998]</p>



1-hidroxi-8-metoxi-3-metilantraquinona
(Crisofanol 8-metil éter)

Origem: *Senna lindheirina* [BARBA, 1992]

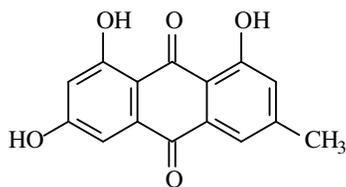


Reina

Origem:

Senna alata [YAGI, 1998]

Senna didymobotrya [ALEMAYEHU, 1989]



1,6,8-triidroxi-3-metilantraquinona
(Emodina)

Origem:

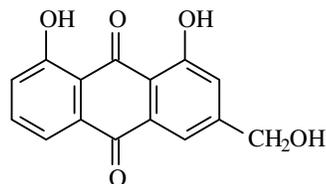
Senna alata [YAGI, 1998]

Senna didymobotrya [ALEMAYEHU, 1996]

Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]

Senna multiglandulosa [ABEGAZ, 1994]

Senna septentrionalis [ALEMAYEHU, 1997]

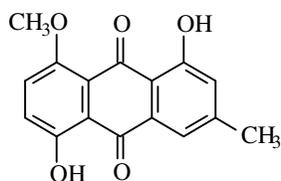


1,8-diidroxi-3-carbinolantraquinona
(Aloe-emodina)

Origem:

Senna alata [YAGI, 1998]

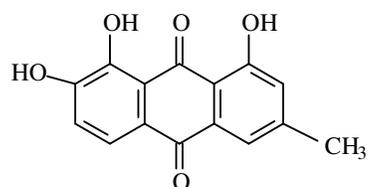
Senna didymobotrya [1989]



1,5-diidroxi-8metoxi-3-metilantraquinona
(Questina)

Origem:

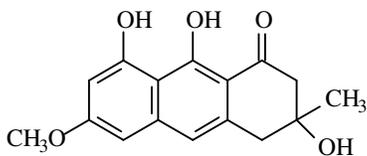
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



1,7,8-triidroxi-3-metil-antraquinona
(Nataloe-emodina)

Origem:

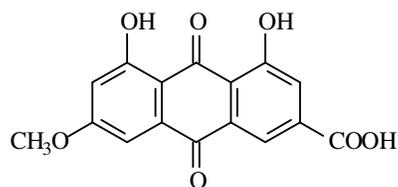
Senna longiracemosa [ALEMAYEHU, 1993]



torosacrisona

Origen:

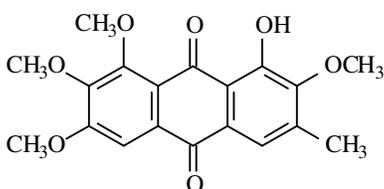
Senna didymobotrya [ALEMAYEHU, 1989]
Senna longiracemosa [ALEMAYEHU, 1993]
Senna multiglandulosai [ALEMAYEHU, 1996]
Senna septentrionalis [ALEMAYEHU, 1997]



Ácido parientínico

Origen:

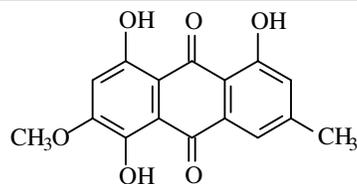
Senna didymobotrya [ALEMAYEHU, 1989]



1-hidroxi-3-metil-2,6,7,8-tetrametoxi-9,10-antraquinona

Origen:

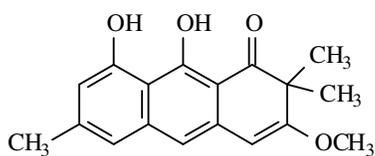
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



1,5,8-triidroxi-6-metoxi-3-metil-antraquinona
(Xantorina)

Origen:

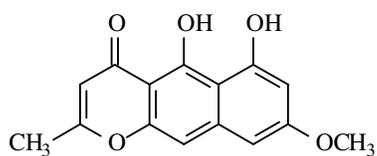
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]
Senna sophera [ALEMAYEHU, 1998]



Racemocrisona

Origen:

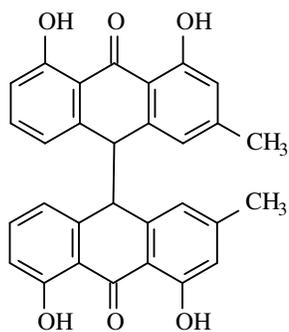
Senna racemosa [MENA-REJON, 2002]



Rubrofusarina

Origen:

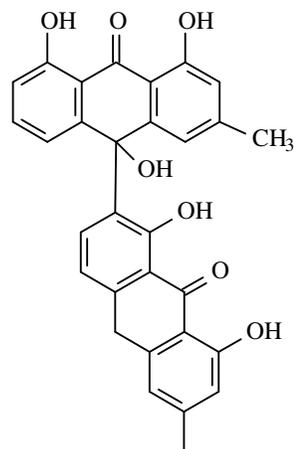
Senna obliqua [GRAHAM, 2004]



Crisofanol biantrona

Origem:

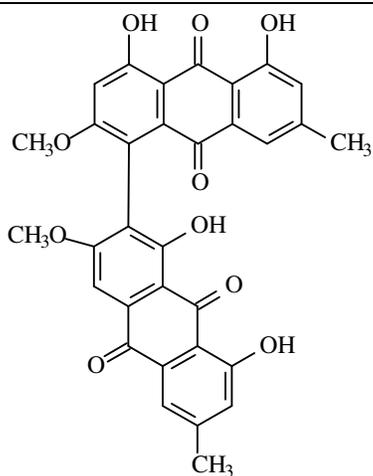
Senna longiracemosa [ALEMAYEHU, 1993]



10-(Crisofanol-7'-il)-10-hidroxi-crisofanol-10'-antrona

Origem:

Senna longiracemosa [ALEMAYEHU, 1993]



Floribundone

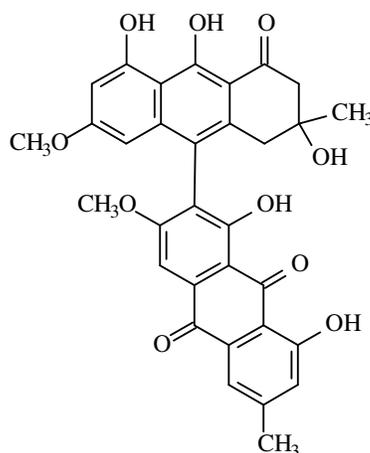
Origem:

Senna corymbosa [BARBA, 1992]

Senna multiglandulosa [ALEMAYEHU, 1996 e
ABEGAZ, 1994]

Senna septentrionalis [ALEMAYEHU, 1997]

Senna sophera ALEMAYEHU, 1998]

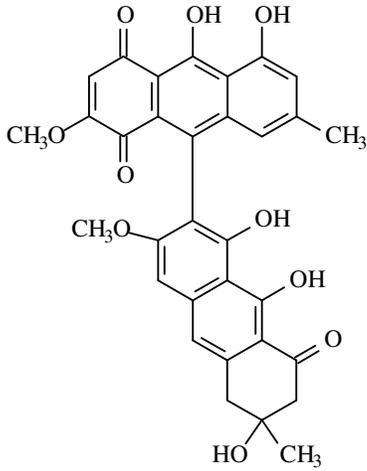


Anidroflengmacina

Origem:

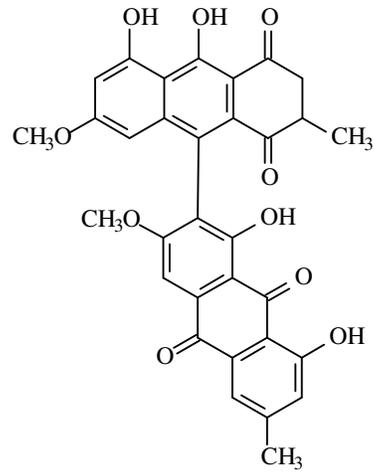
Senna multiglandulosa [ALEMAYEHU, 1996 e
ABEGAZ, 1994]

Senna sophera [ALEMAYEHU, 1998]



Presengulone

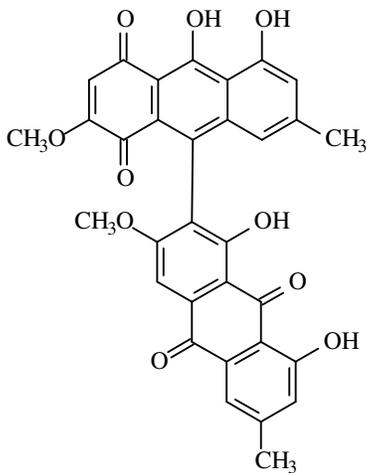
Origem: *Senna sophera*
[ALEMAYEHU, 1998]



Isosengulona

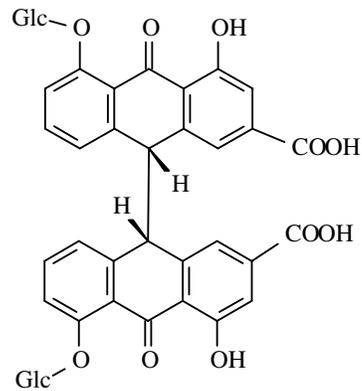
Origem:

Senna multiglandulosa [ALEMAYEHU, 1996]
Senna sophera [ALEMAYEHU, 1998]



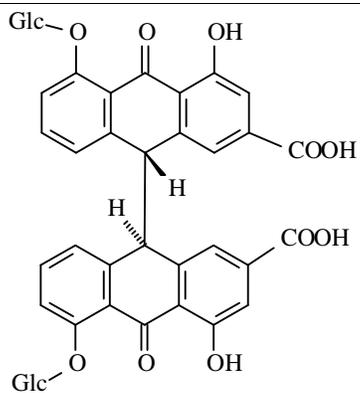
Sengulona

Origem: *Senna sophera* [ALEMAYEHU, 1998]
Senna multiglandulosa [ABEGAZ, 1994]



Senosideo A

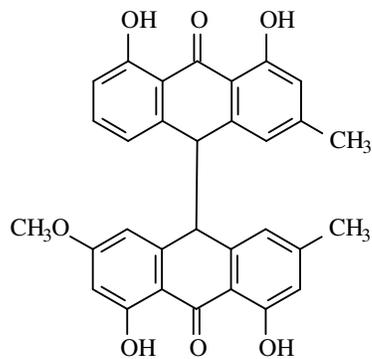
Origem: *Senna angustifolia*
[AZAM, 2003]



Senosideo B

Origem: *Senna angustifolia*

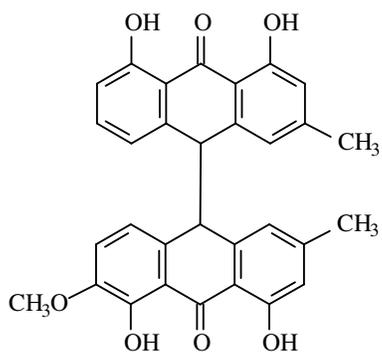
[AZAM, 2003]



Crisofanol-fisciona-10,10'-biantrona

Origem: *Senna longiracemosa*

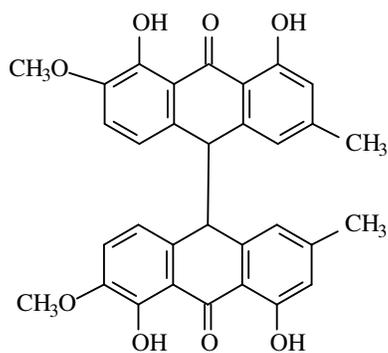
[ALEMAYEHU, 1993]



Crisofanol-isofisciona-10,10'-biantrona

Origem: *Senna longiracemosa*

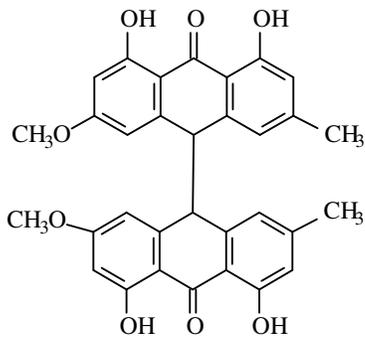
[ALEMAYEHU, 1993]



Isofisciona-10,10'-biantrona

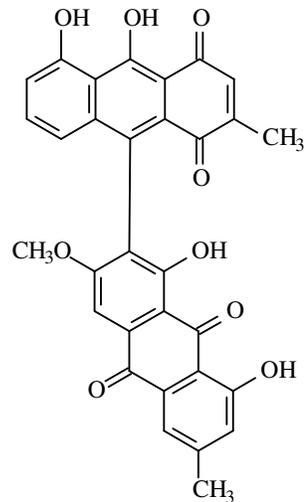
Origem: *Senna longiracemosa*

[ALEMAYEHU, 1993]



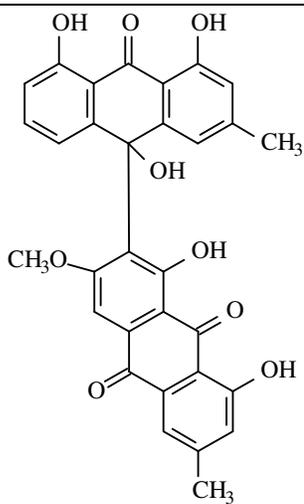
Fisciona-10,10'-biantrona

Origem: *Senna sophera*
[ALEMAYEHU, 1998]



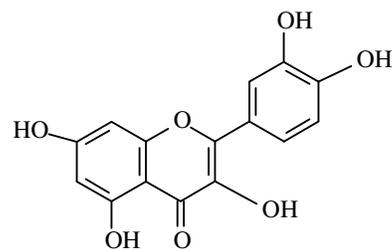
5,10-dihidroxi-2-metil-9-(fisciona-7'-il)-
1,4-antraquinona

Origem: *Senna didymobotrya*
[ALEMAYEHU, 1996]



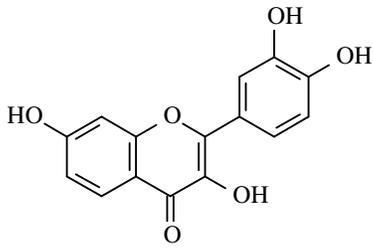
10-hidroxi-10-(fisciona-7'-il)-crisofanol antrona

Origem: *Senna didymobotrya*
[ALEMAYEHU, 1996]



Quercetina

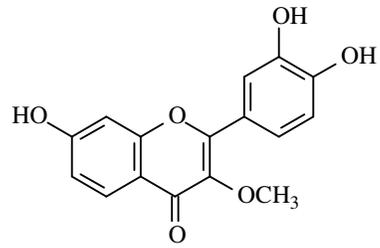
Origem: *Senna skinneri* e *Senna wislizeni*
[ARRIETA, 1999]



3,7,3',4'-tetrahidroxi-flavona

Origem:

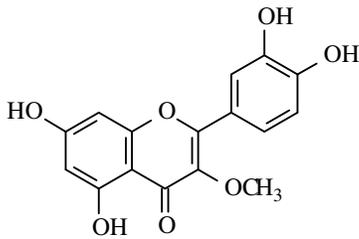
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



7,3',4'-trihidroxi-3-metoxi-flavona

Origem:

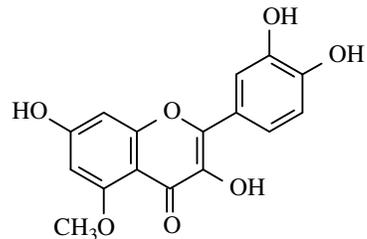
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



5,7,3',4'-tetrahidroxi-3-metoxi-flavona

Origem:

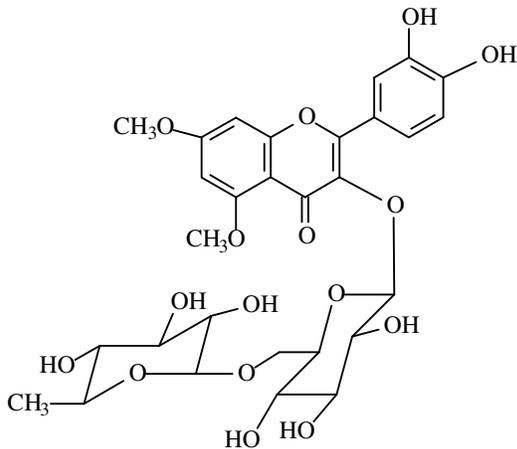
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



3,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxi-flavona

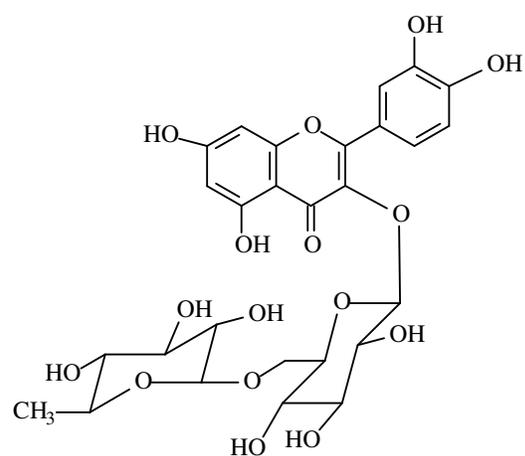
Origem:

Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



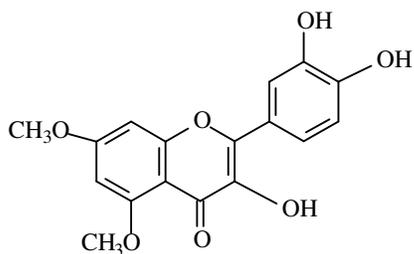
5,7-dimetoxirutina

Origem: *Senna skinneri* e *Senna wislizeni*
[ARRIETA, 1999]



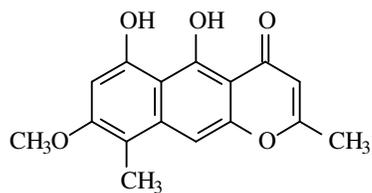
Rutina

Origem: *Senna skinneri* e *Senna wislizeni*
[ARRIETA, 1999]



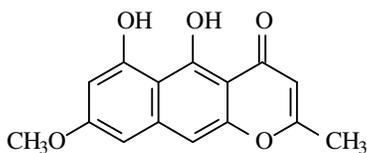
5,7-dimetoxirutina aglicona

Origem: *Senna skinneri* e *Senna wislizeni*
[ARRIETA, 1999]



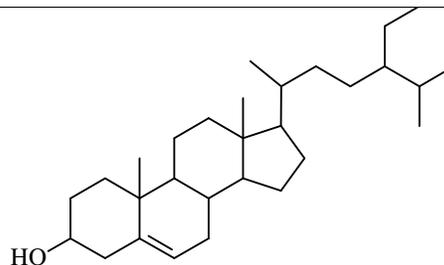
Quinquangulina

Origem: *Senna obliqua* [GRAHAM, 2004]
Senna rugosa [BARBOSA, 2004]



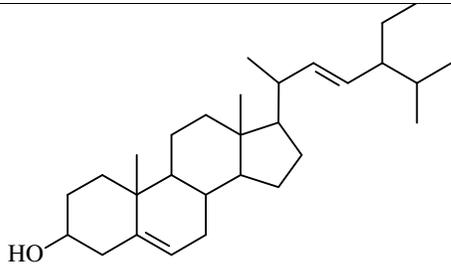
Rubrofurazina

Origem: *Senna longiracemosa* [ALEMAYEHU,
1993]
Senna obliqua [GRAHAM, 2004]
Senna rugosa [BARBOSA, 2004]



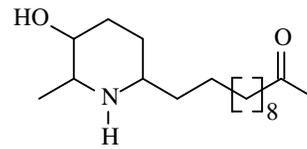
β - sitosterol

Origem: *Senna bicapsulares* [VALIENTE,
2003, TORRENEGRA, 2002]
Senna corymbosa [BARBA, 1992]
Senna racemosa [MENA, 2002]



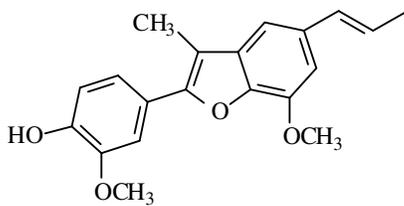
Estigmasterol

Origen: *Senna bicapsulares* [VALIENTE, 2003,
TORRENEGRA, 2002]
Senna corymbosa [BARBA, 1992]
Senna hirsuta [LORIA, 2002]
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]
Senna racemosa [MENA, 2002]



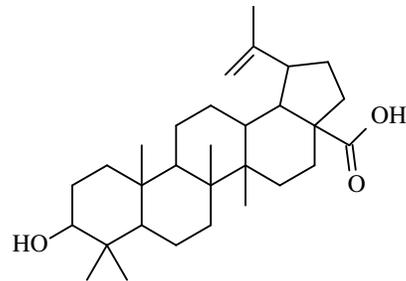
Cassina

Origen: *Senna racemosa* [MENA, 2002,
SANSORES, 2000]



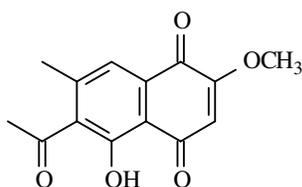
Piceatanol

Origen:
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



Ác. betulínico

Origen:
Senna lindheimeriana [BARBA, 1992]



2-metoxi-estipandrona

Origem:

Senna longiracemosa [ALEMAYEHU, 1993]

Foram encontrados registros de estudo químico para vinte espécies de *Senna*, com maior frequência para *S. lindheimeriana* com treze referências e *S. longiracemosa* com onze trabalhos nestes últimos 20 anos. Algumas espécies só foram citadas uma vez como *S. birostris*, *S. hirsuta*, *S. obliqua* e *S. lindheirina*. Em relação aos componentes químicos, foram relatadas principalmente antraquinonas e biantronas, constituindo assim, as duas classes mais comuns no gênero, com 11 diferentes antraquinonas e 15 biantronas, tanto na forma livre como glicosilada. De todas as antraquinonas relatadas, a fisciona foi isolada e identificada em dez das espécies estudadas. Além destas duas classes de substâncias, foram encontrados também registros para hidroxiantronas, flavonóides, esteróides e triterpenos. Em trabalho recente, foram identificados em *S. spectabilis*, nove alcalóides piperidínicos, além de quatro na forma glicosilada.

5 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

5.1. Estudo dos constituintes químicos fixos de *Senna martiana*.

5.2. Determinação dos constituintes fixos das sementes de *Senna martiana*

As sementes de *S. martiana* (295 g), após serem trituradas foram maceradas com hexano por um período de uma semana, em seguida o material foi filtrado obtendo-se o extrato hexânico que foi submetida a evaporação em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se assim um material de aspecto oleoso de coloração amarelada. O óleo obtido foi submetido a uma reação de saponificação, onde a parte saponificável sofreu uma reação de metilação, segundo os **Fluxogramas 01 e 02, p. 96 e 97**, respectivamente.

Os ésteres metílicos obtidos foram analisados por CG/EM. A identificação dos constituintes presentes nos óleos fixos foi realizada por comparação dos índices de Kovat e espectros de massas com uma espectroteca de padrões [ADAMS, 2001 e STENHAGEN, 1974].

Com os dados obtidos a partir da análise por CG/EM foi possível caracterizar os ésteres metílicos referentes a vinte e três ácidos graxos detectados no cromatograma (**Figura 2, p. 21**), permitindo identificar 97,4% da composição do óleo. Destacaram-se como componentes majoritários os ésteres metílicos dos ácidos: palmítico (37,0%), linoleico (34,1%) e esteárico (6,5%), **Tabela 3, p. 21**.

Tabela 3 – Ácidos graxos obtidos através dos seus respectivos ésteres metílicos, do extrato hexânico das sementes de *S. martiana*.

Constituintes	MM	Teor (%)
Ácido tetradecanóico (Ac. mirístico)	242	1,3
Ácido pentadecanóico (Ac. pentadécílico)	256	1,5
Ácido 9-hexadecenóico (Ac. palmitolítico)	268	1,5
Ácido hexadecanóico (Ac. palmítico)	270	37,0
Ácido 9-octadecenóico (Ac. oleico)	282	3,7
Ácido heptadecanóico (Ac. margarítico)	284	1,9
Ácido 9,12-octadecadienóico (Ac. linoleico)	294	34,1
Ácido octadecanóico (Ac. esteárico)	298	6,5
Ácido 10-nonadecenóico	310	1,1
Ácido 11,14-eicosadienóico	322	0,4
Ácido eicosanóico (Ác. araquídico)	326	1,7
Ácido docosanóico (Ac. behêmico)	354	2,0
Ácido tricosanóico	368	0,7
Ácido tetracosanóico (Ac. lignocérico)	382	1,6

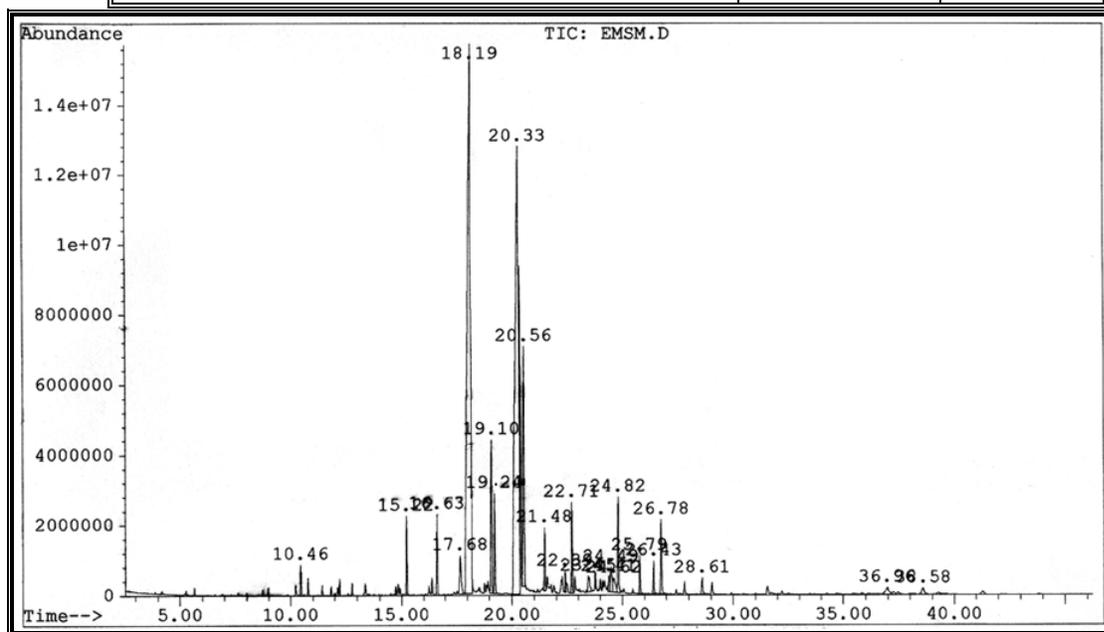


Figura 2 - Cromatograma dos ésteres metílicos das sementes de *S. martiana*

Os espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos identificados no extrato hexânico das sementes de *S. martiana*, são mostrados a seguir.

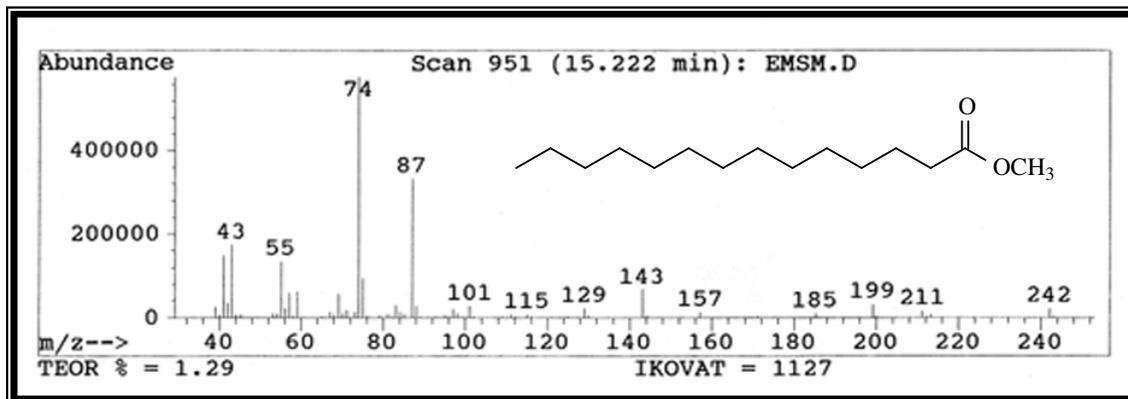


Figura 3 - Espectro de massas do éster metílico do ácido tetradecanóico.

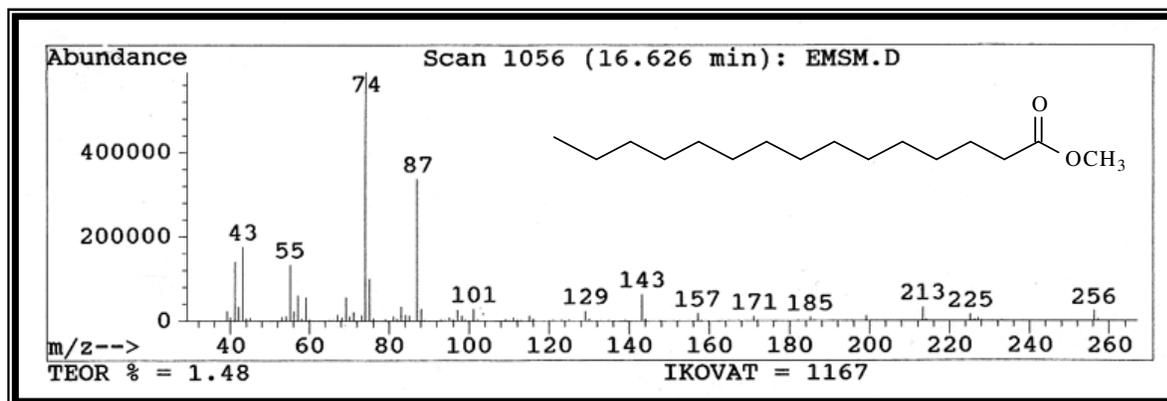


Figura 4 - Espectro de massas do éster metílico do ácido pentadecanóico.

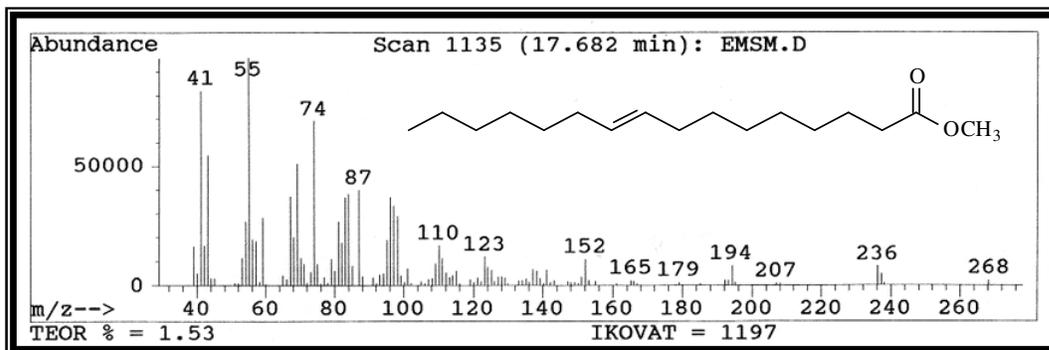


Figura 5 - Espectro de massas do éster metílico do ácido 9-hexadecenóico.

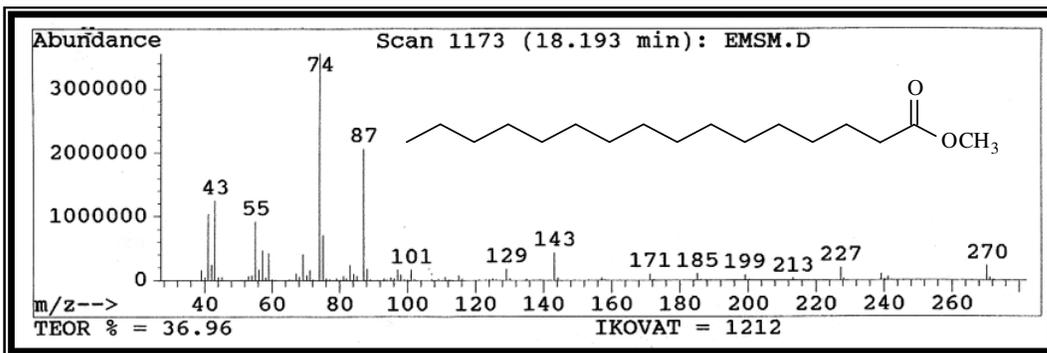


Figura 6 - Espectro de massas do éster metílico do ácido hexadecanóico.

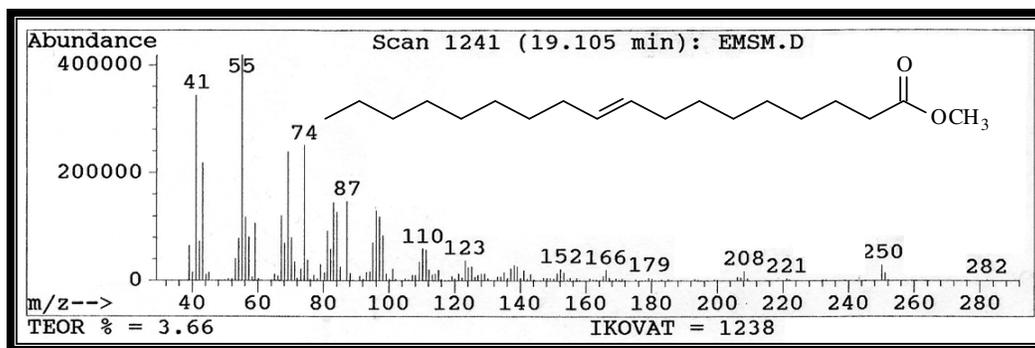


Figura 7 - Espectro de massas do éster metílico do ácido 9-octadecenóico.

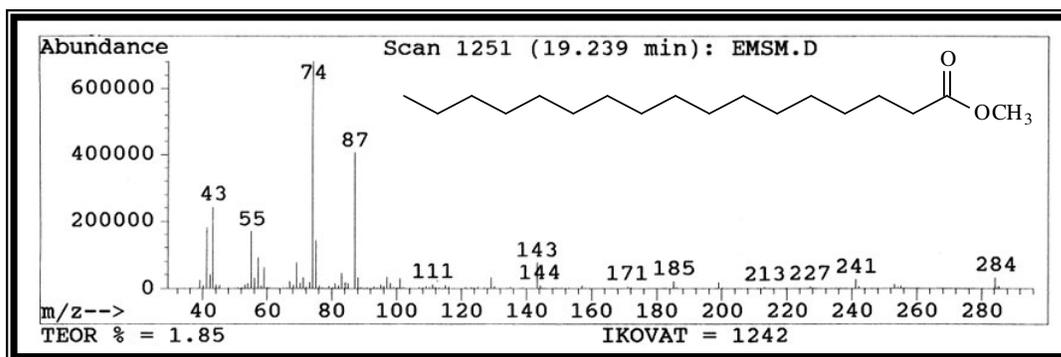


Figura 8 - Espectro de massas do éster metílico do ácido heptadecanóico.

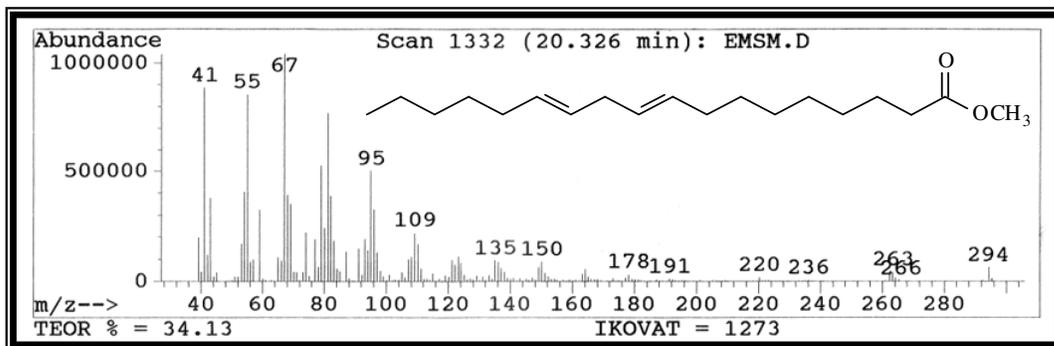


Figura 9 - Espectro de massas do éster metílico do ácido 9,12-octadecadienóico.

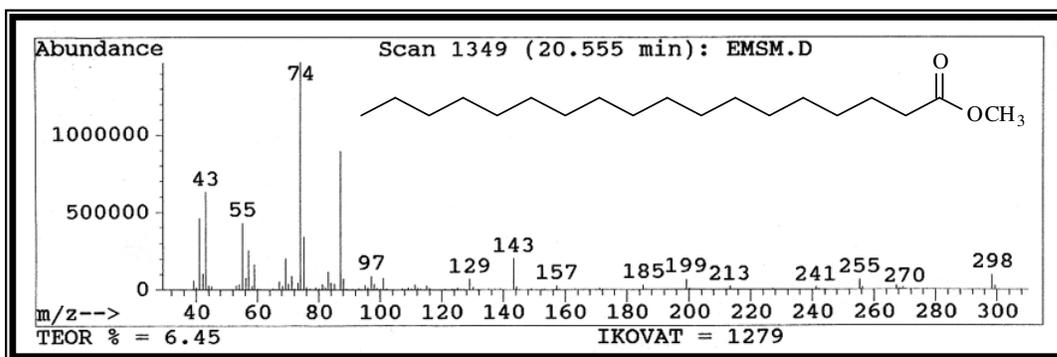


Figura 10 - Espectro de massas do éster metílico do ácido octadecanóico.

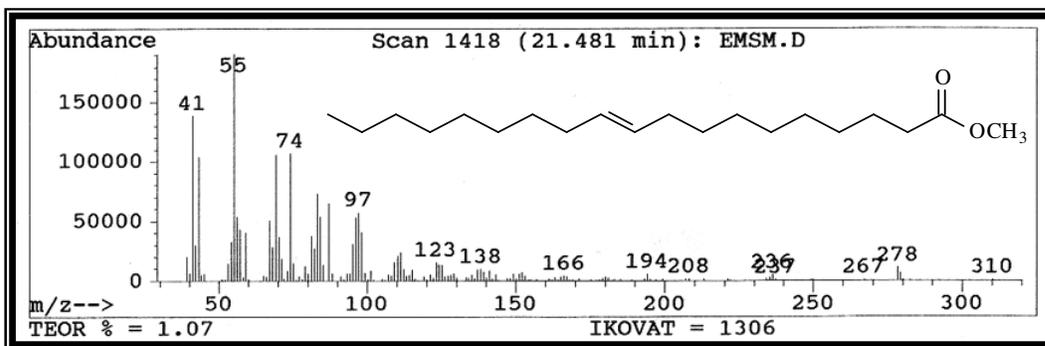


Figura 11 - Espectro de massas do éster metílico do ácido 10-nonadecenoico.

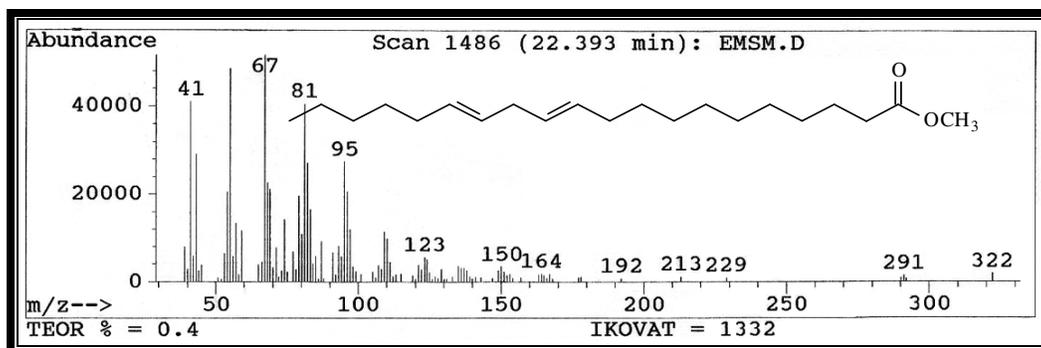


Figura 12 – Espectro de massas do éster metílico do ácido 11,14-eicosadienóico.

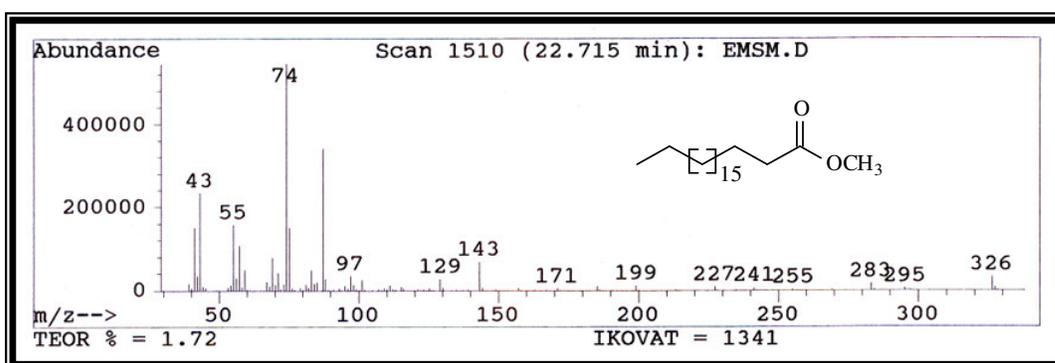


Figura 13 - Espectro de massas do éster metílico do ácido eicosanóico.

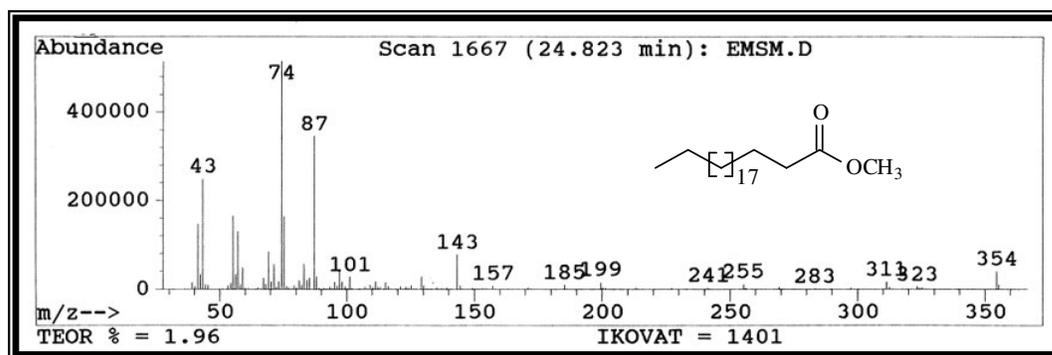


Figura 14 - Espectro de massas do éster metílico do ácido docosanóico.

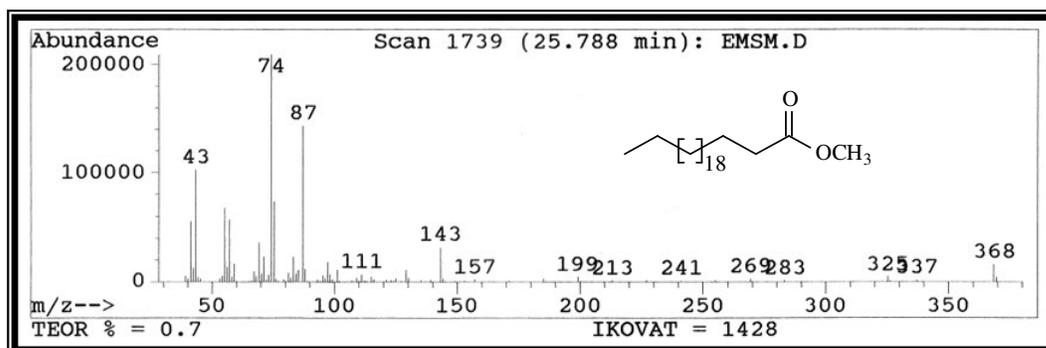


Figura 15 - Espectro de massas do éster metílico do ácido tricosanóico.

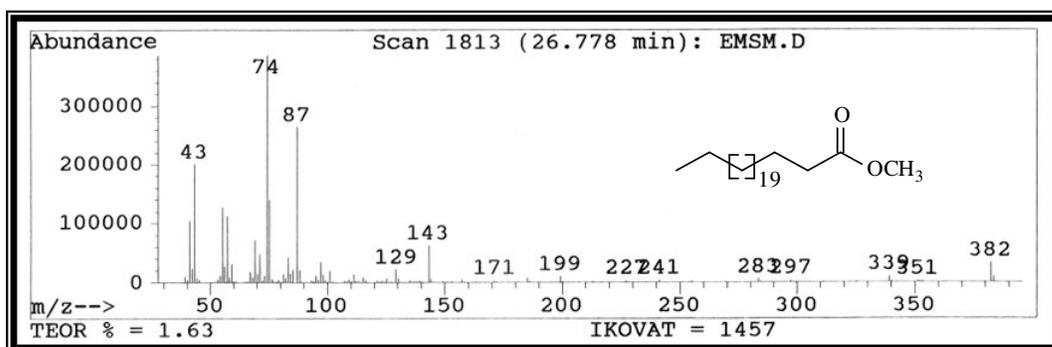


Figura 16 - Espectro de massas do éster metílico do ácido tetracosanóico.

5.3. Determinação dos constituintes químicos do caule de *S. martiana*

5.3.1- Determinação estrutural de SMCH1

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico do caule de *Senna martiana*, forneceu a fração denominada SMCH1 (**Fluxograma 3, p. 102**), que se apresentou como um sólido branco amorfo solúvel em piridina e apresentando uma faixa de fusão de 77-79 °C.

O espectro de absorção na região do IV de SMCH1 (**Figura 17, p. 29**) permitiu a identificação de uma banda larga e centrada em 3419 cm⁻¹ de deformação axial da ligação O-H, uma banda em 2918 cm⁻¹ característica de deformação axial da ligação C-H de um grupamento metila, uma banda centrada em 2850 cm⁻¹ de acordo com a deformação axial da ligação C-H de metileno, uma banda em 1707 cm⁻¹ de deformação axial da ligação dupla C=O, uma banda em 1466 cm⁻¹ de deformação angular da ligação C-H de metileno, uma banda em 1299 cm⁻¹ de deformação angular da ligação C-H de metileno e uma banda em 721 cm⁻¹ de deformação angular de ligação C-H.

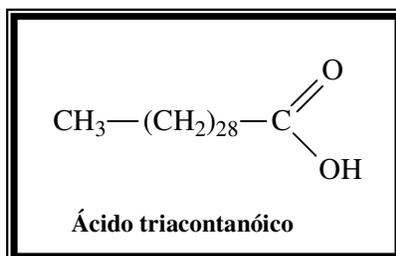
No espectro de RMN ¹H (300 MHz, C₅D₅N) (**Figura. 18, p. 29**) de SMCH1, observou-se os seguintes sinais: δ 0,89 (3H, t, J= 6,0 Hz), 1,29 (21H, sl), 1,41 (2H, m), 1,82 (2H, m, J= 7,31) e 2,54 (2H, t, J= 7,38) que podem ser atribuídos a hidrogênios de hidrocarboneto alifático. O sinal em δ 2,54 sugere uma proximidade destes hidrogênios com algum grupo de desproteção talvez uma carbonila.

No espectro de RMN ¹³C (75 MHz, C₅D₅N) (**Figura 19, p. 30**) foi possível observar 8 linhas espectrais, onde o deslocamento químico de δ 14,2 é referente a um grupamento metila. Foram observados sinais em δ 22,9, 25,6, 29,6, 29,81, 32,1 e 34,9 referentes a carbonos metilênicos. O sinal em δ 34,9 é compatível com um grupamento metilênico que pode estar ligado à uma carbonila. Também foi possível observar um sinal com deslocamento químico em δ 175,9 atribuído a carbono de carbonila. A comparação do espectro de RMN ¹³C - DEPT 135° de SMCH1 (**Figura 20, p. 31**) com o espectro de RMN ¹³C-BB revelou o padrão de substituição dos carbonos,

confirmando assim a presença de um carbono metílico e de vários carbonos metilênicos, como também o sinal em δ 175,9 que é referente a carbono não hidrogenado.

O espectro de massas de SMCH1 (**Figura 21, p. 31**) mostrou o pico do íon molecular com razão massa/carga (m/z) em 452 daltons que juntamente com os dados apresentados acima foi possível sugerir para SMCH1 a fórmula molecular $C_{30}H_{60}O_2$.

Com os dados apresentados foi possível concluir que SMCH1 tratava-se de um ácido graxo de cadeia longa denominado ácido triacontanóico, conhecido na literatura como ácido melíssico. Este composto já foi isolado de outras plantas como *Hibiscus tiliaceus* L. [MELECCHI, 2005] e *Eucalyptus globulus* [FREIRE, 2005]. Os ácidos graxos são de grande interesse em geoquímica orgânica como precursores de hidrocarbonetos alifáticos [FABIANSKA, 2004].



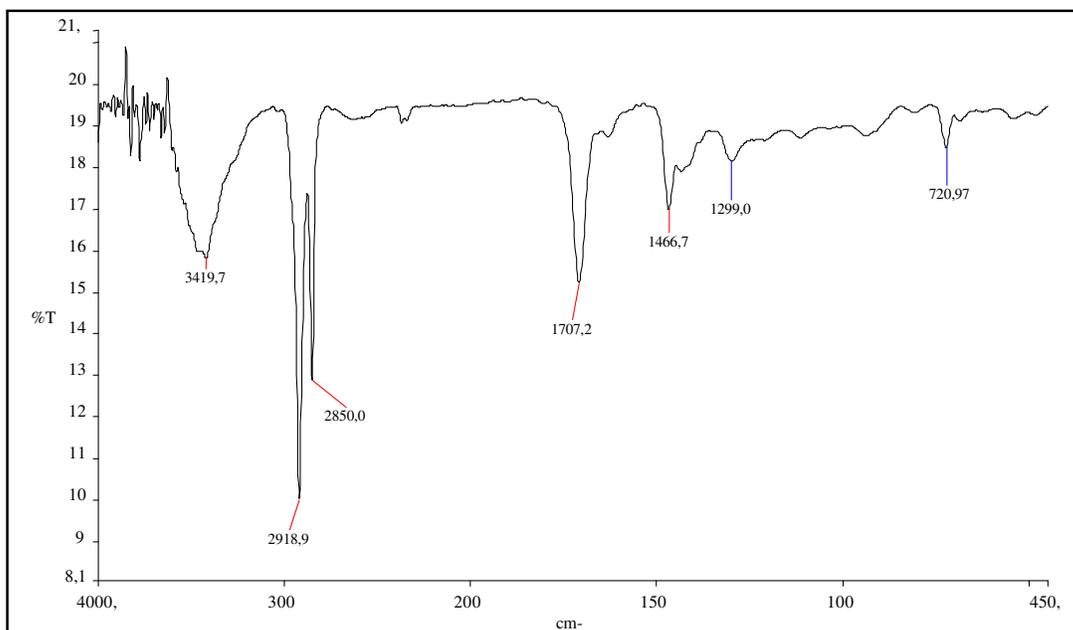


Figura 17 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV, KBr) de SMCH1

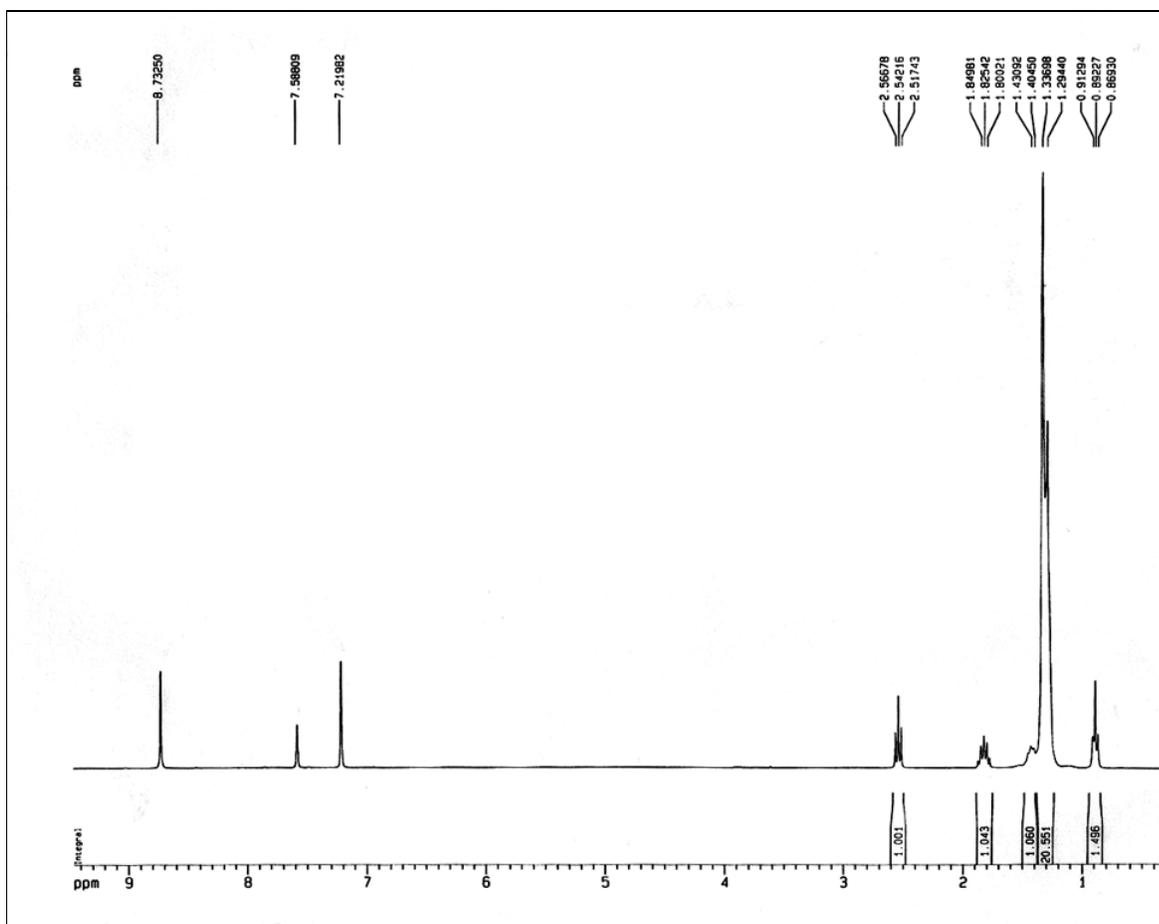


Figura 18 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, C₅D₅N) de SMCH1

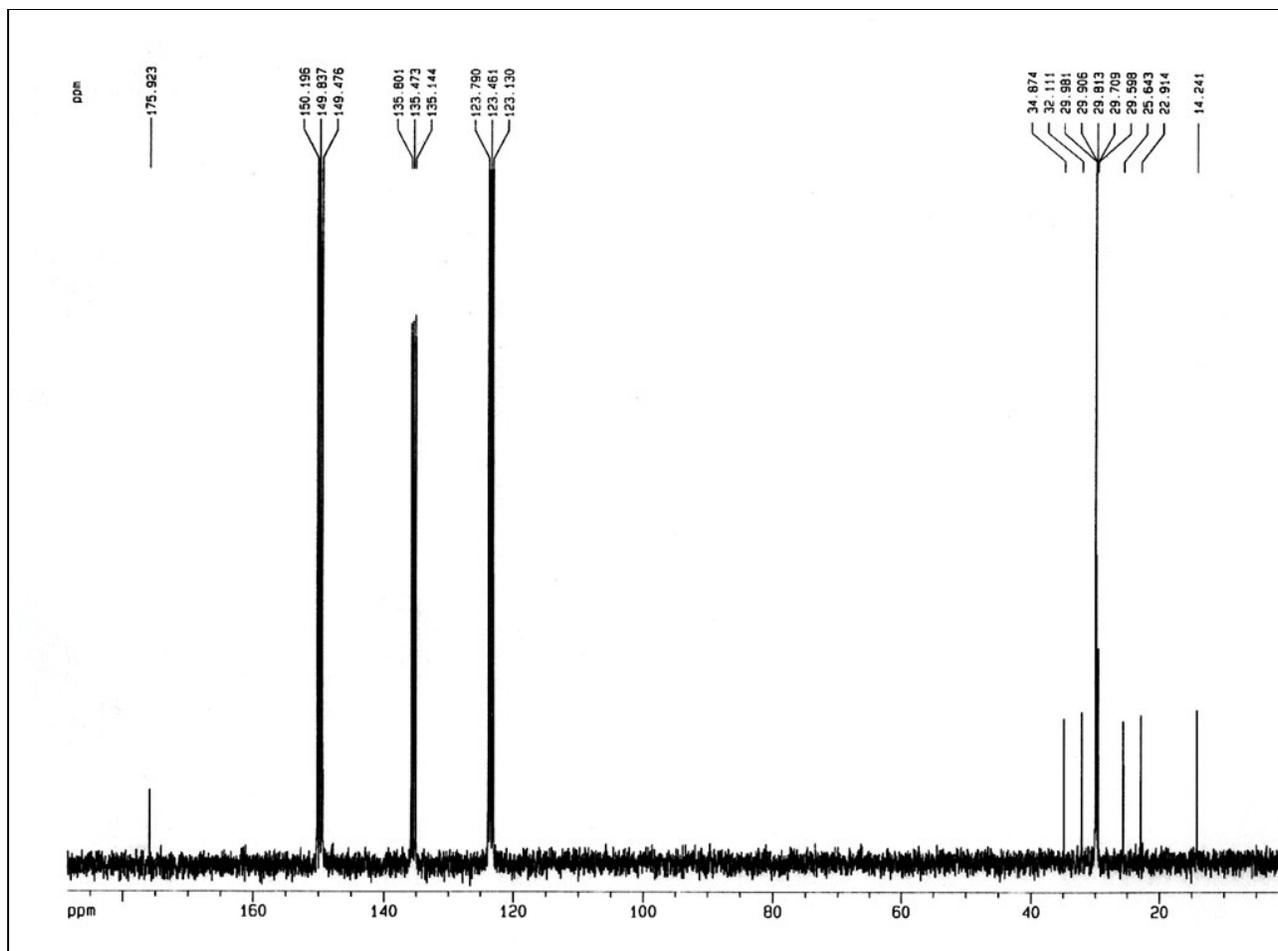


Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCH1

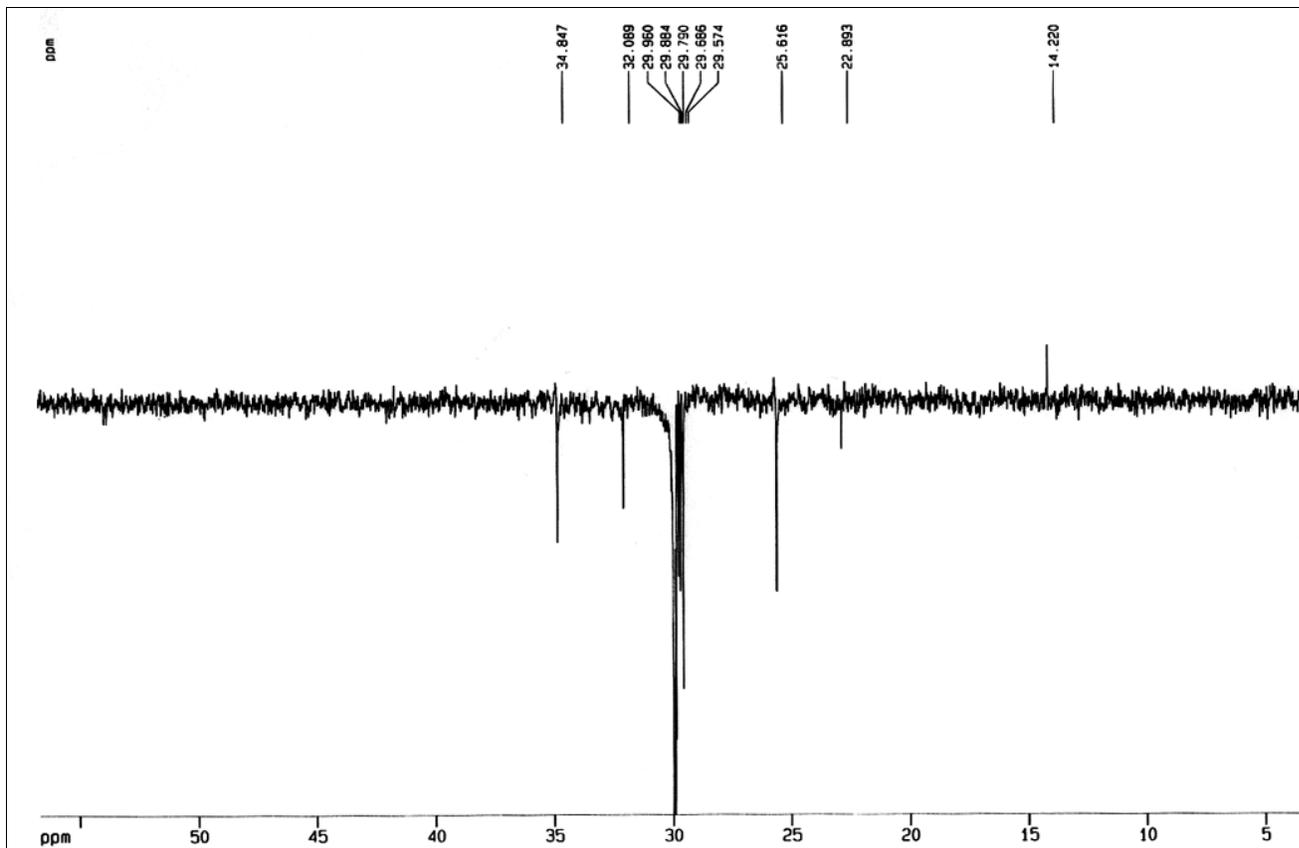


Figura 20 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCH1

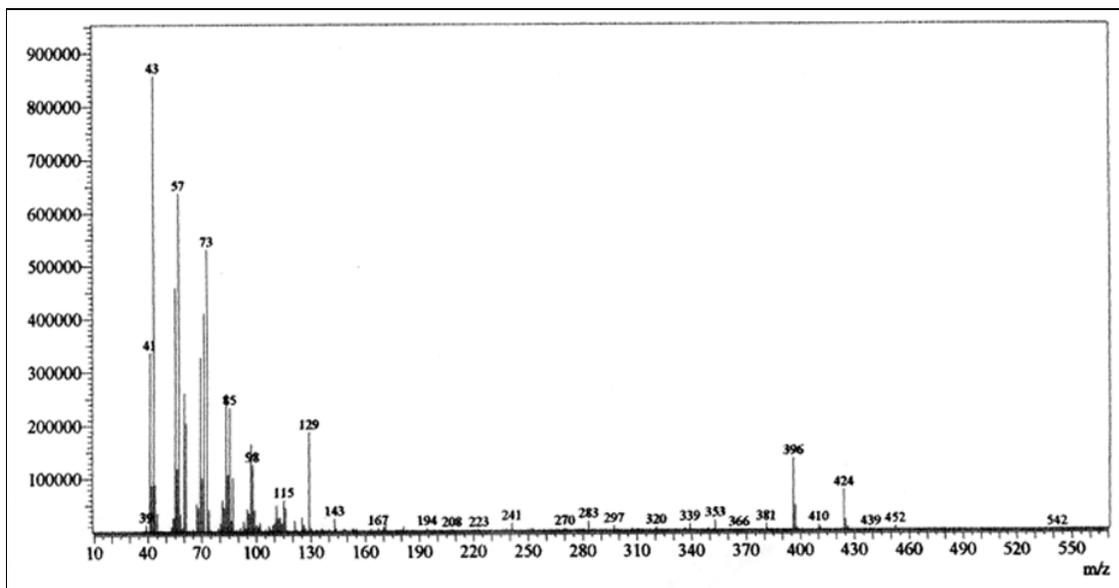


Figura 21 – Espectro de massas de SMCH1

5.3.2. Determinação estrutural de SMCH2

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico de *S. martiana* (**Fluxograma 4, p. 105**), levou ao isolamento de cristais incolores na forma de agulhas solúveis em clorofórmio que apresentaram uma faixa de fusão de 130,4 á 132,8 °C. Com a utilização do teste de Lieberman-Buchard conforme a literatura [MATOS, 1998], a amostra apresentou resultado positivo para esteróides (coloração esverdeada).

No espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (**Figura 22, p. 35**), foi possível observar uma banda em 3420 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação O-H, as absorções em 2937 e 2863 cm^{-1} características de deformação axial da ligação C-H de grupamento metila, ainda se observa uma banda em 1463 cm^{-1} que se refere a deformação angular da ligação C-H de sistema cíclico, uma absorção em 1378 cm^{-1} relacionada à deformação angular da ligação C-H, e as bandas em 1057 e 963 cm^{-1} referentes a deformação angular da ligação C-H de alquenos.

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) (**Figura 23, p. 35**), mostrou a presença dos sinais em δ 0,68 (s), 1,02 (s) e 0,79 – 0,94 (m) referentes a absorção de hidrogênios de grupos metílicos de esteróides, de um multiplete em δ 3,53 referente a hidrogênio ligado a carbono oxigenado e outro multiplete em δ 5,36 referente a hidrogênios olefínicos.

A comparação do espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (**Figura 24, p. 36**) com o espectro de RMN ^{13}C -BB revelou a presença de três carbonos não-hidrogenados (C), nove carbonos metínicos (CH), onze carbonos metilênicos (CH_2) e seis carbonos metílicos (CH_3). Com estes dados foi possível estabelecer para SMCH2 a fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{49}$.

Com base nos dados de infravermelho (banda em 3420 cm^{-1}), no deslocamento de hidrogênio em δ 3,53 e de carbono em δ 72,03, foi possível constatar a presença de uma hidroxila na substância em questão. O espectro de RMN ^{13}C apresentou claramente a existência de dois carbonos em δ 121,89 e 141,02, que se referem a carbonos com hibridação sp^2 . Desta forma pode-se propor para SMCH2 a fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, o que corrobora com dados referentes a uma substância da classe dos esteróides.

Os dados obtidos no espectro de RMN ^{13}C em comparação com os dados descritos na literatura [GOULART, 1993] estão resumidos na **Tabela 4, p. 34**.

Com os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C de SMCH2 e em comparação com os dados da literatura [CARVALHO, 1998, GOULART, 1993], foi possível elucidar de forma inequívoca a estrutura de SMCH2 como sendo o esteróide β -sitosterol. Sendo este o fitoesteróide mais comum, citado na literatura como constituinte químico de espécies de vários gêneros e famílias, como por exemplo em *Annona cherimolia* (Annonaceae) [RUBALCAVA, 2005], *Salvia jaminiana* (Lamiaceae) [KABOUCHE, 2005] e *Proustia genus* (Asteraceae) [DELPORTE, 2005] entre outras. A literatura também relata várias atividades biológicas atribuídas a este composto, como antibacteriana [KABOUCHE, 2005], antiinflamatória e analgésica [DELPORTE, 2005].

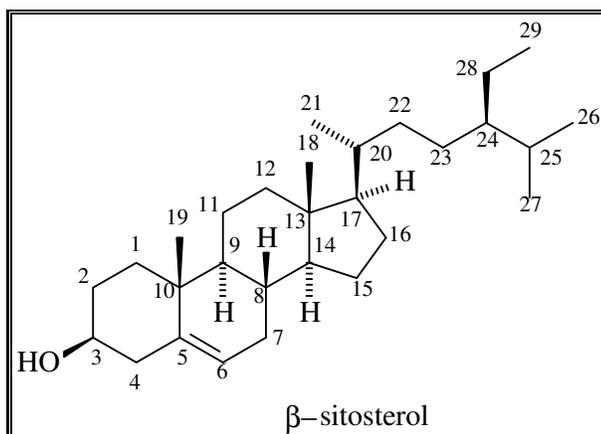


Tabela 4 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C de SMCH2 em comparação com os dados da literatura [GOULART, 1993].

<i>Carbonos</i>	δ_c SMCH2	Literatura	<i>Carbonos</i>	δ_c SMCH2	Literatura
1	37,52	37,25	16	28,44	28,24
2	31,93	31,64	17	56,36	56,05
3	72,03	71,81	18	12,08	11,87
4	42,57	42,29	19	19,59	19,38
5	141,02	140,73	20	36,37	36,16
6	121,89	121,72	21	19,28	19,03
7	31,93	31,89	22	34,24	33,94
8	31,93	31,89	23	40,05	39,12
9	50,44	50,44	24	46,15	45,83
10	36,75	36,40	25	26,49	26,03
11	21,93	21,08	26	19,01	18,76
12	40,05	39,78	27	19,99	19,81
13	42,57	42,29	28	23,36	23,06
14	57,04	56,75	29	12,20	11,99
15	24,52	24,30			

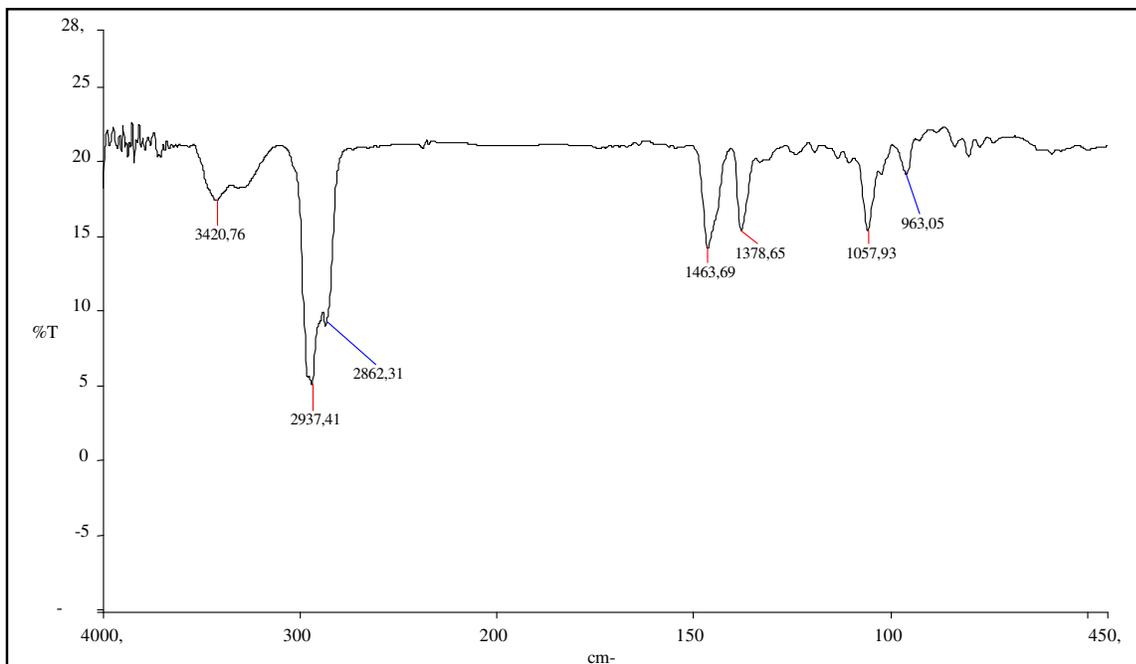


Figura 22 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de SMCH2

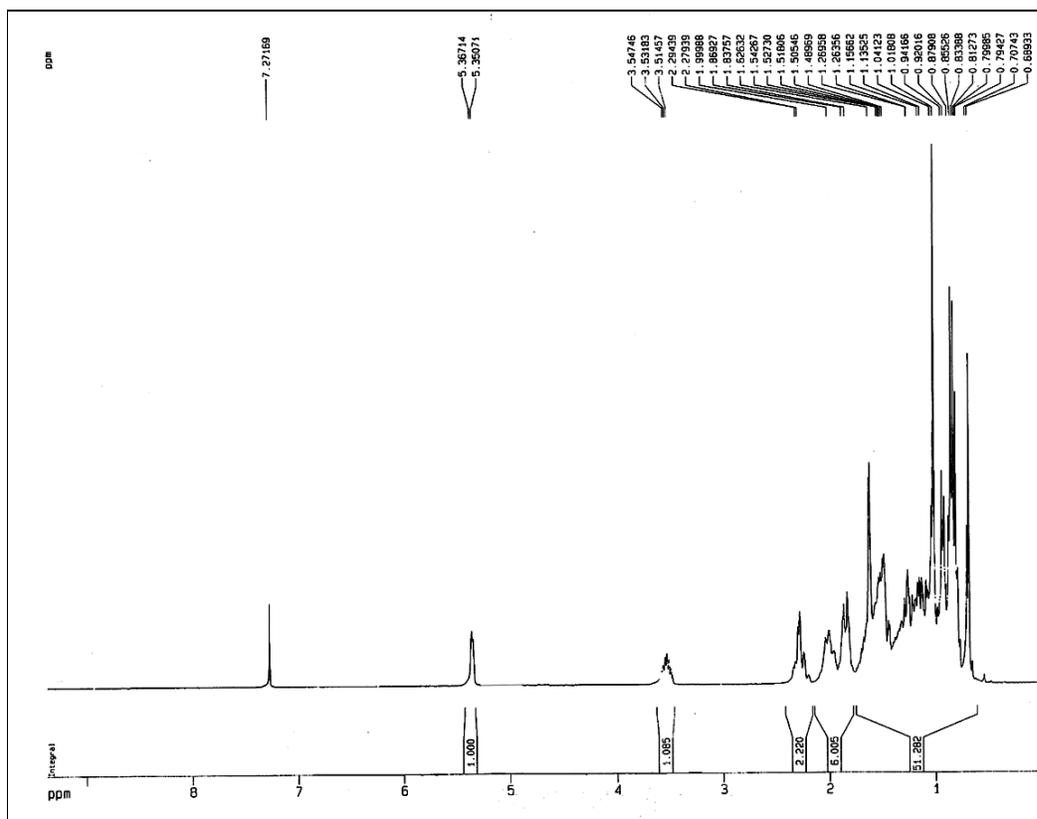


Figura 23 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de SMCH2

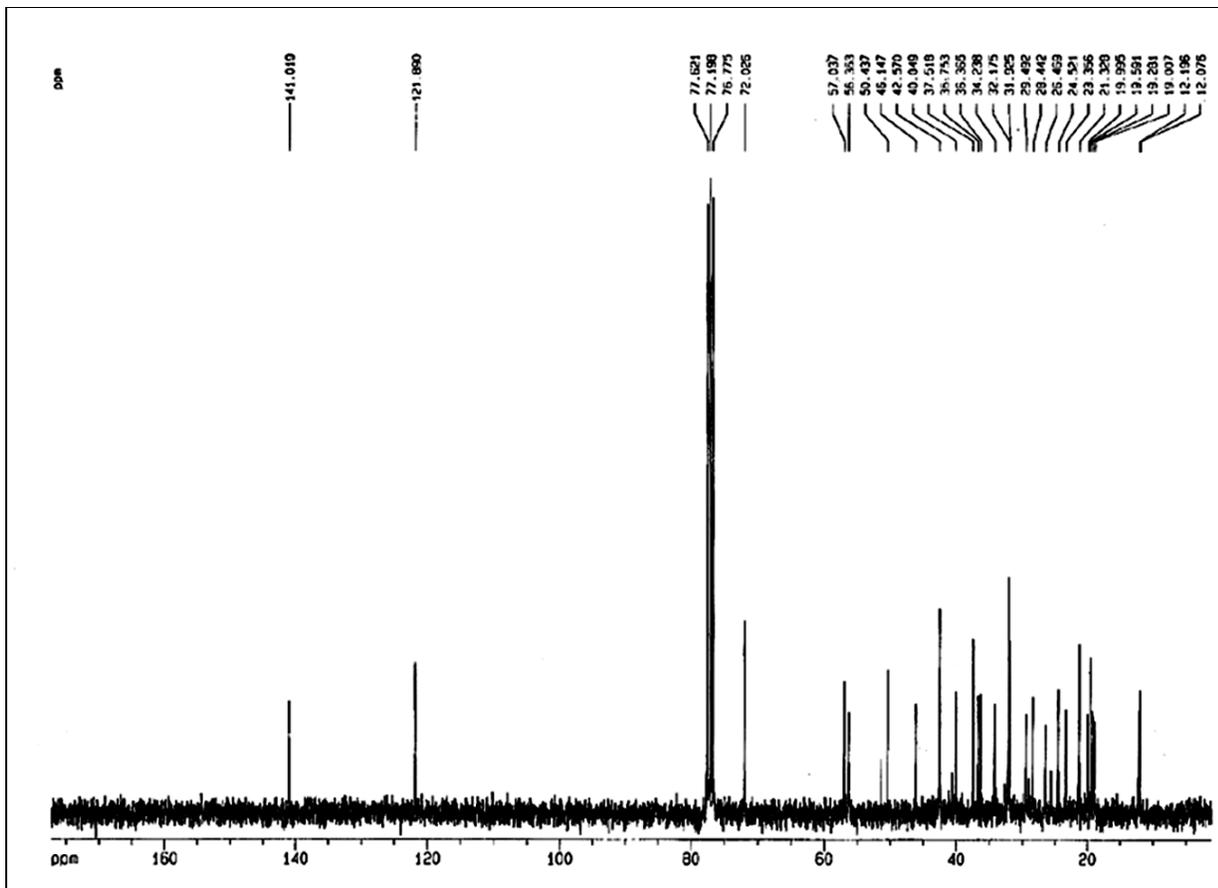


Figura 24 –Espectro de RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) de SMCH2

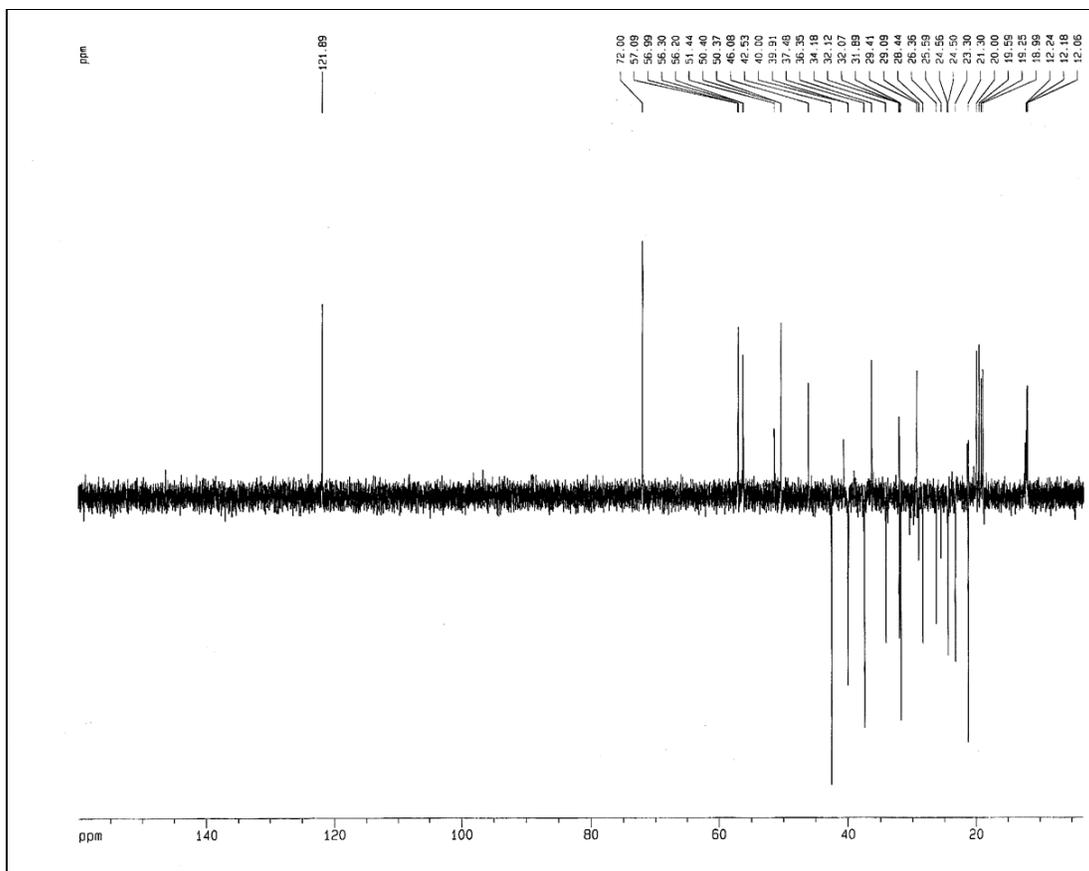


Figura 25 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de SMCH2

5.3.3. Determinação estrutural de SMCH3

O tratamento cromatográfico da fração hexânica obtida do extrato etanólico do caule de *S. martiana*, segundo o **Fluxograma 5, p. 109**, levou ao isolamento de um sólido alaranjado, com uma faixa de fusão de 192,2 à 196,4°C, que ao ser colocado na presença de vapores de hidróxido de amônio, apresentou coloração avermelhada. O sólido foi solúvel em CHCl_3 , e denominado SMCH3.

O espectro na região do infravermelho (IV) de SMCH3 (**Figura 26, p. 44**), apresentou uma banda centrada em 3434 cm^{-1} de deformação axial de ligação O-H, outra banda em 3053 cm^{-1} de deformação axial da ligação =C-H compatível com sistema aromático, 1677 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=O, uma banda em 1627 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=O de carbonila quelada, duas bandas em 1566 e 1474 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=C de aromáticos, uma banda em 1370 cm^{-1} de deformação angular no plano da ligação O-H, referente a hidroxilas fenólicas, uma absorção em 1273 cm^{-1} que está de acordo com a deformação axial da ligação C-O, as bandas em 1207 , 1086 , 1024 , 839 e 752 cm^{-1} de deformação angular da ligação C-H de sistema aromático e uma banda em 672 cm^{-1} de deformação angular da ligação O-H.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (**Figura 27, p. 44**), de SMCH3 apresentou sinais em δ 7,89 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 8,28 (1H, t, $J = 7,9$ Hz) e 8,41 (1H, d, $J = 7,9$ Hz) característicos de hidrogênios aromáticos com acoplamento *orto*. Mostrou também, sinais em δ 7,69 (1H, s) e 8,23 (1H, s) referentes a hidrogênios aromáticos posicionados de forma *meta* ou *para*. Foi possível observar um sinal simples em δ 3,08 (3H, s), além de sinais simples localizados em região de desproteção, δ 12,58 (1H, s) e δ 12,70 (1H, s) que podem ser relacionados a duas hidroxilas queladas por ligação de hidrogênio.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (500 MHz, CDCl_3) de SMCH3 (**Figura 28, p. 45**) mostrou quinze linhas espectrais. A linha espectral com deslocamento químico em δ 22,4 estava de acordo com um carbono metílico, provavelmente ligado a anel aromático, foi possível também observar dois sinais na região de carbono carbonílico em δ 182,0 e 192,6. O deslocamento em δ 192,6 é consistente com a presença de uma carbonila quelada. Na região característica de carbonos aromáticos foram observados doze sinais, dos quais os carbonos com deslocamento em δ 162,9 e

162,6 referiam-se a carbonos aromáticos oxigenados. Foi possível observar ainda na região de aromáticos, em comparação com o espectro RMN ^{13}C - DEPT 135° (**Figura 29, p. 45**), a presença de cinco carbonos metínicos (CH) e por diferença entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135°, nove carbonos não hydrogenados (C). Com os dados até aqui apresentados foi possível propor para SMCH3, segundo a **Tabela 5**, a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$, cujo índice de deficiência de hidrogênio foi igual a onze.

Tabela 5 – Deslocamentos químicos de (δ) RMN ^{13}C , para SMCH3 (500 MHz, CDCl_3) com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros DEPT 135° com o RMN ^{13}C -BB.

C	CH	CH ₃	Oxigênios	TOTAL
192,6	137,1	22,4	2 carbonilas	
182,0	124,7		2 hidroxilas	
162,9	124,5			
162,6	121,5			
149,5	120,1			
133,8				
133,4				
116,0				
113,9				
				C_{15}H_8
C_9	C_5H_5	CH_3	O_4	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$

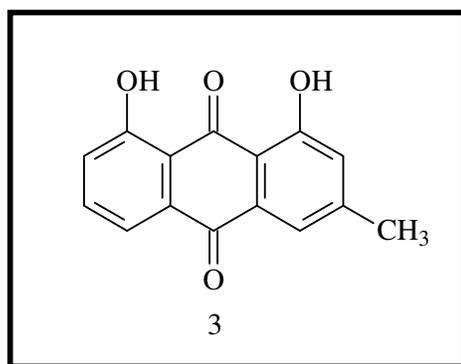
O espectro de massas (**Figura 32, p. 48**), apresentou como pico do íon molecular que coincidiu com o pico base m/z 254 daltons, que em comparação com os dados mencionados na **Tabela 5**, confirma a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$.

Os dados discutidos até o presente momento, em especial o padrão de acoplamento obtido no espectro de RMN ^1H e a diferença entre os espectros de RMN ^{13}C – BB e RMN ^{13}C – DEPT 135° sugerem para SMCH3 uma estrutura antraquinônica trissubstituída. O padrão de substituição pode ser observado pela presença de nove carbonos não hydrogenados, dos quais seis referem-se aos carbonos pertencentes ao esqueleto antraquinônico (δ 192,6; 182,0; 133,8; 133,4; 113,9 e 116,0) e

os outros três aos carbonos antraquinônicos substituídos (δ 162,9; 162,6 e 149,5). O caráter dioxigenado pode ser comprovado através das absorções em δ 162,9 e 162,6, mostradas no espectro de RMN ^{13}C .

O acoplamento *orto* observado no espectro de RMN ^1H para três hidrogênios sugere que um dos núcleos antraquinônicos seja monossustituído, da mesma forma os dois hidrogênios mostrados como singletos referem-se a hidrogênios com um acoplamento *meta* ou *para*, sendo assim, o outro núcleo antraquinônico é dissustituído.

A partir dos dados apresentados acima foi possível sugerir para SMCH3 a estrutura antraquinônica dioxigenada do tipo **3**, nos quais os substituintes são dois grupos hidroxila e um grupo metila.

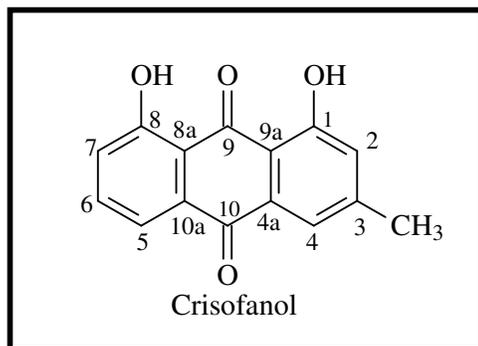


A correlação de todos os hidrogênios com os seus respectivos carbonos para a estrutura (**3**), foi confirmada pela análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C -COSY à uma ligação (HMQC) (**Figura 30, p. 46 e Tabela 6, p. 42**), mostrando os seguintes acoplamentos: hidrogênios em δ 3,08; 7,69; 7,89; 8,23; 8,28; 8,41 com os carbonos em δ 22,4; 124,5; 124,7; 121,6; 137,1 e 120,1 respectivamente.

As atribuições dos deslocamentos químicos foram confirmadas através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância ^1H , ^{13}C (HMBC) (**Figura 31, p. 47 e Tabela 6, p.42**), o qual mostrou os seguintes acoplamentos: os hidrogênios em δ 3,08 e 8,23 com o carbono em δ 124,5, o hidrogênio em δ 3,08 com o carbono em δ 149,5, os hidrogênios em δ 3,08 e 7,69 com o carbono em δ 121,5, o hidrogênio em 7,89 δ com o carbono em δ 120,1, o hidrogênio em δ 8,41 com o carbono em δ 124,7, os hidrogênios em δ 8,28 e 7,89 com o carbono em δ 162,6, os hidrogênios em δ 7,69 e 8,23 com o carbono em δ 113,9, os hidrogênios em δ 8,23 e 8,41 com o carbono em δ 182,0 e o hidrogênio em δ 8,28 como carbono em δ 133,8.

Os valores das absorções de RMN ^{13}C obtidos de SMCH3 foram comparados com os dados da literatura [DAGNE,1984] e apresentadas na **Tabela 7**.

A análise dos dados apresentados acima permitiu inferir para a substância SMCH3 a estrutura (**3**), denominada 1,8-dihidroxi-3-metil-antraquinona, conhecida como crisofanol.



O crisofanol já foi isolado de outras espécies de plantas superiores principalmente pertencentes às famílias Leguminosae e Rhamnaceae. Ele foi identificado em *Cassia tora* L. (Leguminosae) [YEN, 2000; DAGNE, 1984], *Cassia italica* (Mill) Lam (Leguminosae) [KAZMI, 1994], *Cassia siamea*, *Vatairea guianenses* e *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae) [SILVA, 1987], *Rumex crispus* e *Rhamnus purshiana* (Rhamnaceae), *Maesopsis eminii* Engl. e *Kniphofia foliosa* (Liliaceae) (Poligonaceae) [Thomson, 1971]. Registros na literatura revelam atividades biológicas comprovadas para esta substância, desde o seu primeiro uso como purgativa, como no tratamento de doenças hepáticas e psoríase [DEWICK, 1988; YEN, 2000].

Tabela 6 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCH3.

Carbono	δ_{C}	HMQC		HMBC	
		δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1	162,9	-			
2	124,5	7,69 (1H, s)	-		3,08; 8,23
3	149,5	-	3,08		
4	121,5	8,23 (1H, s)			3,08; 7,69
4a	133,4	-	-		-
5	120,1	8,41(1H, d, J = 7,9 Hz)	-		7,89
6	137,1	8,28 (1H, t, J = 7,9 Hz)	-		-
7	124,7	7,89 (1H, d, J = 7,9 Hz)	-		8,41
8	162,6	-	7,89		8,28
8a	116,0	-	-		7,89; 8,41
9	192,6	-	-		-
9a	113,9	-	-		7,69; 8,23
10	182,0	-	-		8,23; 8,41
10a	133,8	-	-		8,28
Me	22,4	3,08 (3H, s)	-		7,69; 8,23

Tabela 7 – Dados de RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃)de SMCH3 comparados com dados da literatura [DAGNE,1984].

Carbono	δ SMCH-3	δ Literatura
1	162,9	162,4
2	124,5	124,5
3	149,5	149,3
4	121,5	121,4
4a	133,4	133,2
5	120,1	119,9
6	137,1	136,9
7	124,7	124,3
8	162,6	162,7
8a	116,0	115,8
9	192,6	192,5
9a	113,9	113,7
10	182,0	181,9
10a	133,8	133,6
Me	22,4	22,3

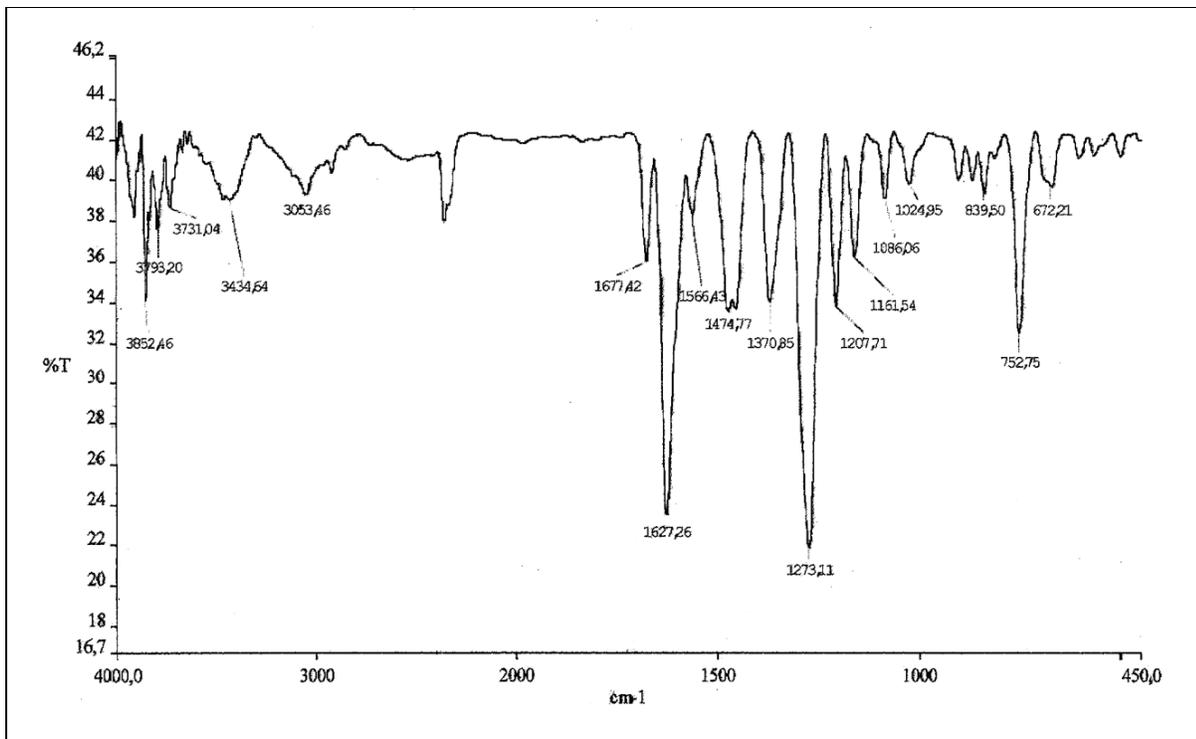


Figura 26 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SMCH3

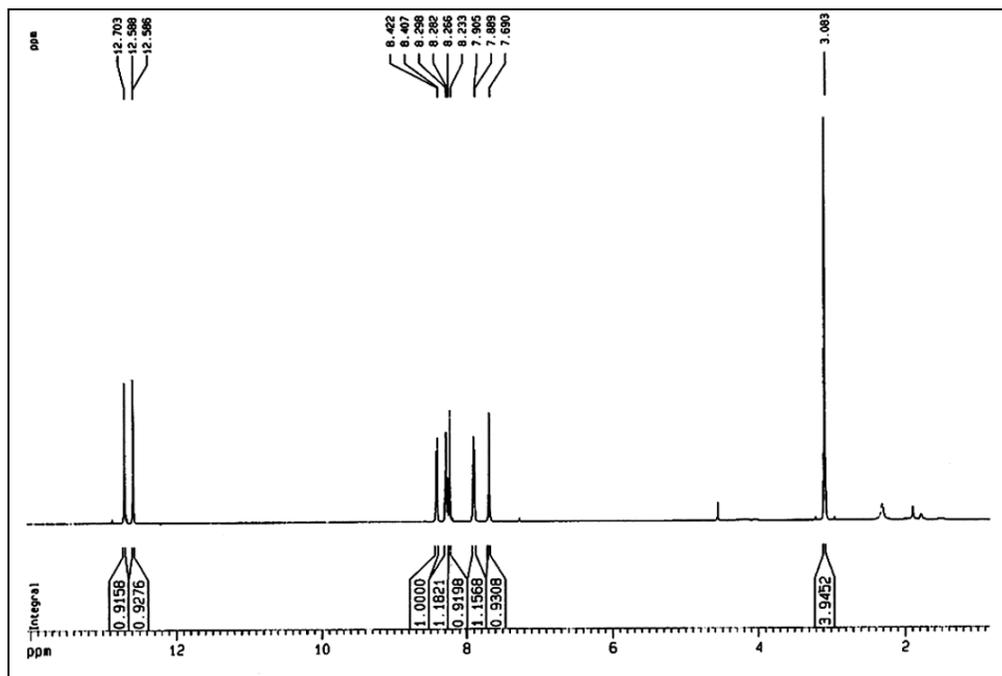


Figura 27 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMCH3

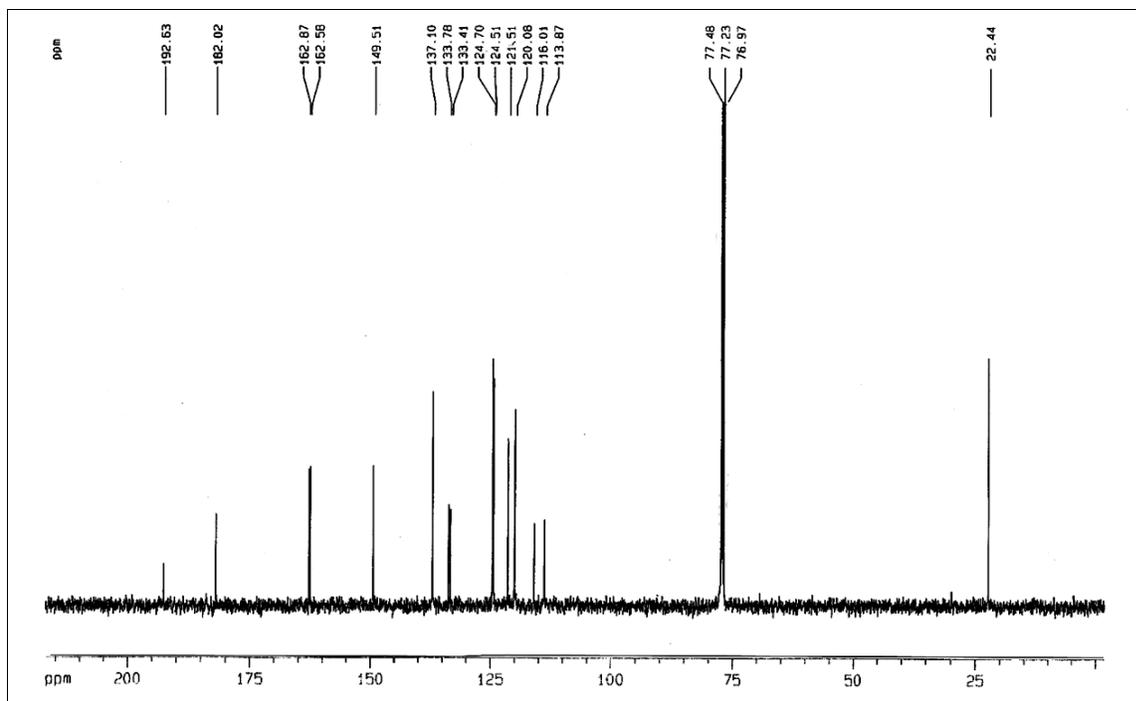


Figura 28 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SMCH3

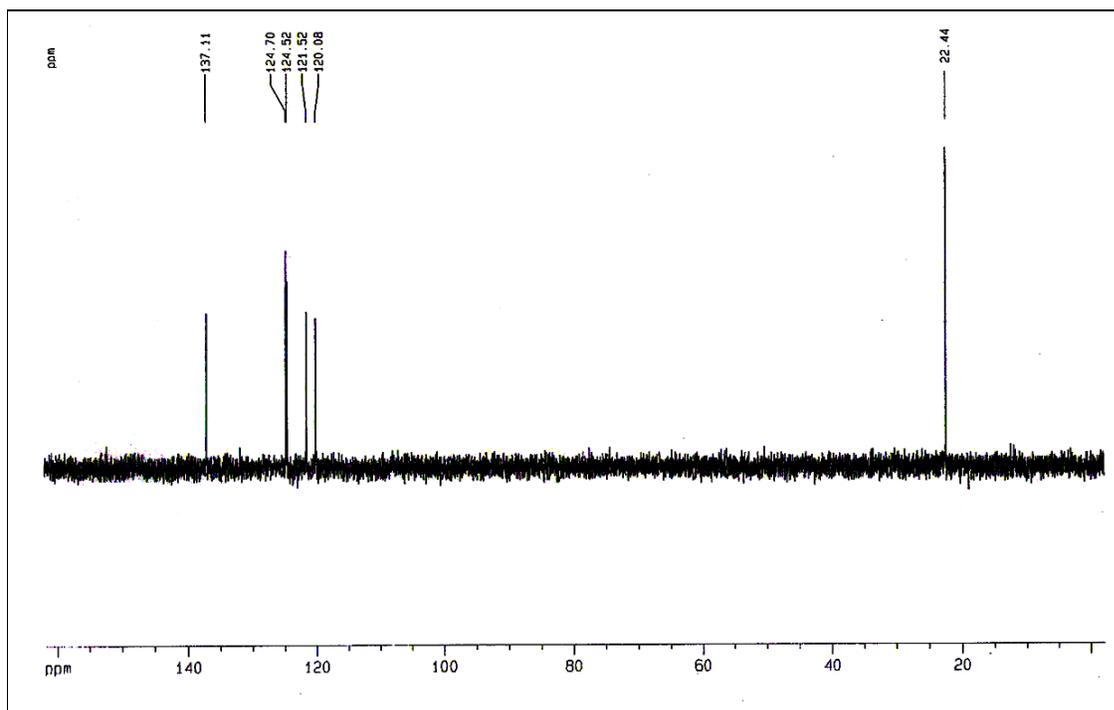


Figura 29 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de SMCH3

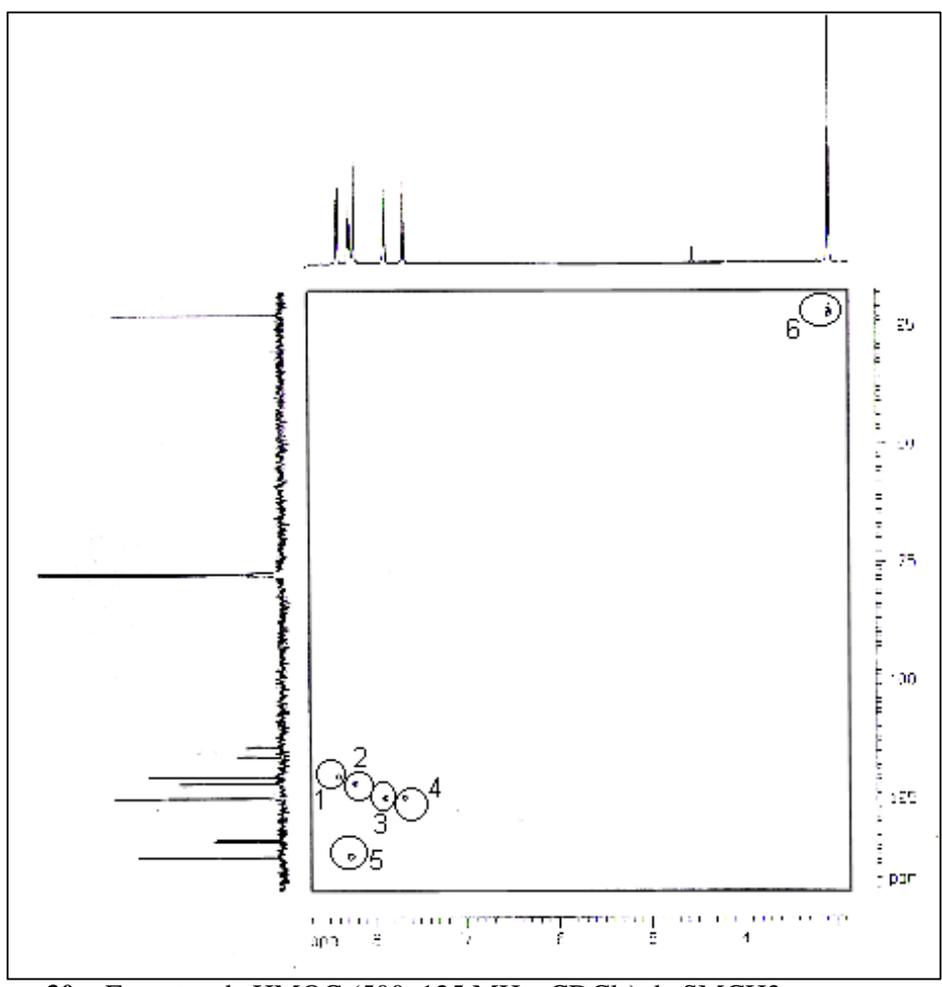
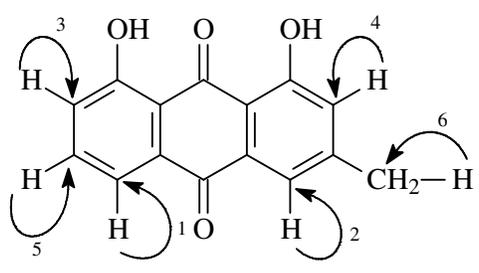


Figura 30 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl₃) de SMCH₃.

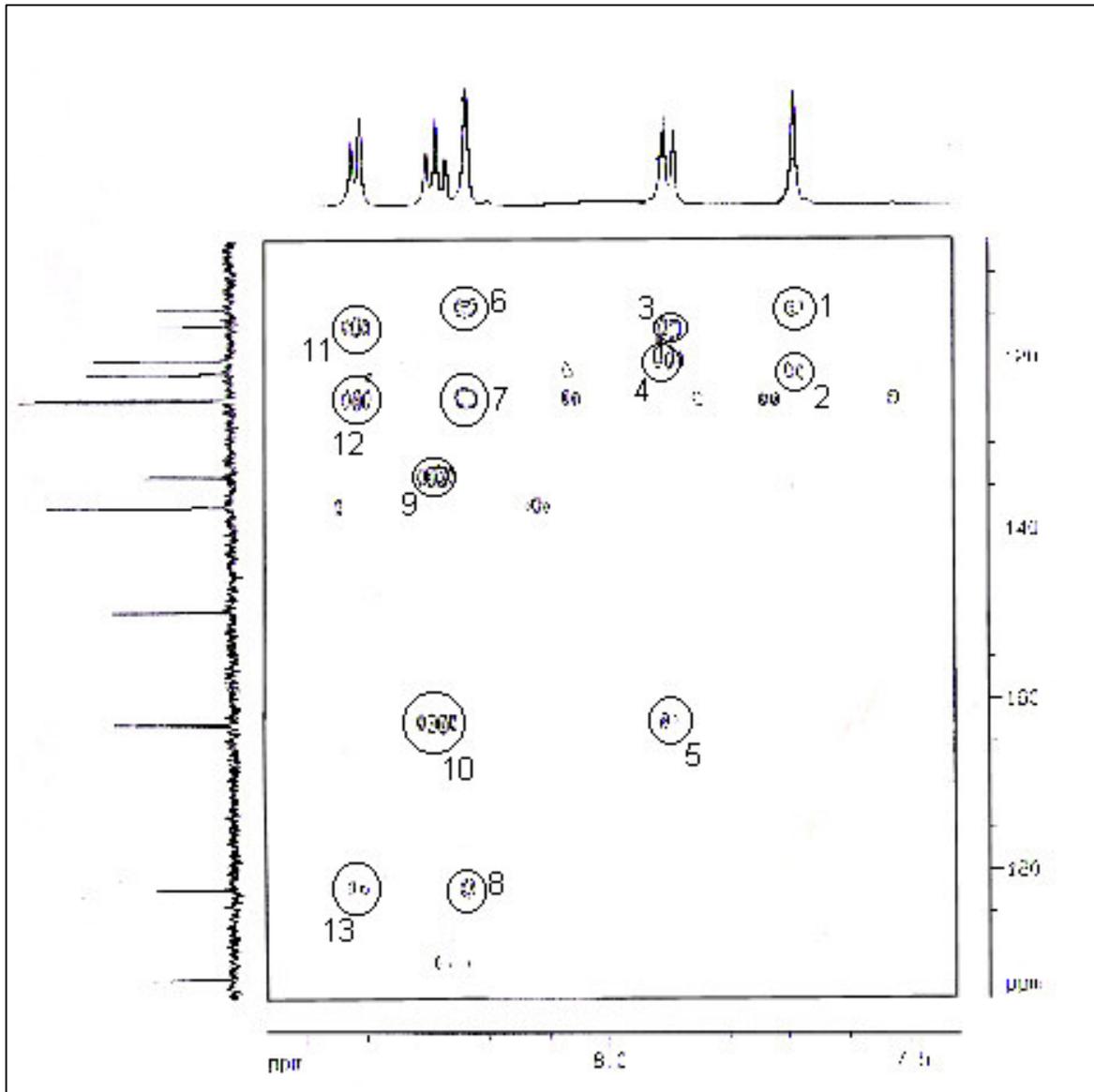
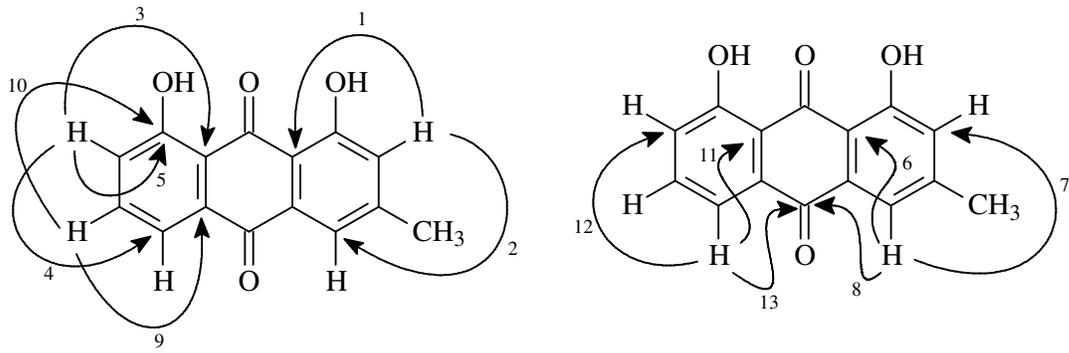


Figura 31 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl_3) de SMCH3.

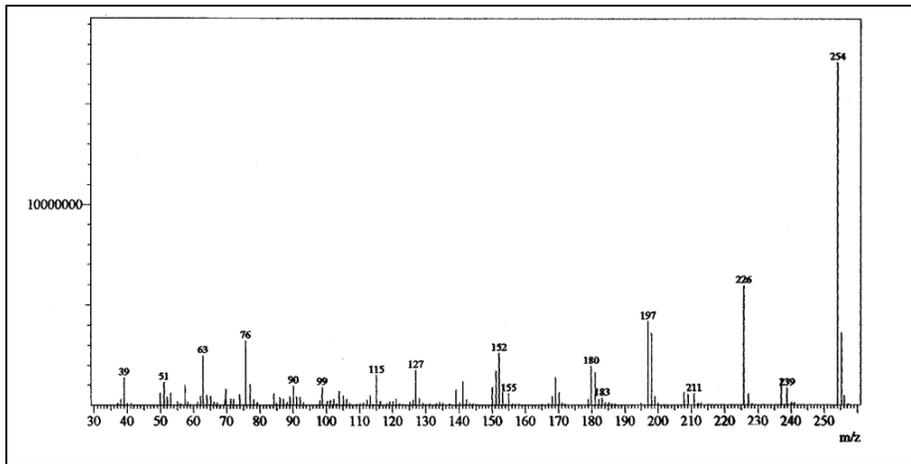


Figura 32 – Espectro de massas de SMCH3

5.3.4. Determinação estrutural de SMCH4

Um sólido amarelo-alaranjado em forma de agulhas, obtido a partir do tratamento da fração SMCH7/25-31 (**Fluxograma 5, p. 109**) do extrato hexânico de *Senna martiana*, apresentou faixa de fusão de 205,8 à 206,2 °C e foi denominado SMCH4.

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 33, p. 54**) mostrou uma banda em 3433 cm⁻¹ característico de deformação axial de ligação O-H, duas bandas em 2923 e 2847 cm⁻¹ de deformação axial de ligação C-H, em 1728 cm⁻¹ de deformação axial de ligação C=O, em 1627 cm⁻¹ de deformação axial de C=O de carbonila quelada, duas em 1566 e 1420 cm⁻¹ de deformação axial de ligação C=C de sistema aromático, 1368 cm⁻¹ de deformação angular de ligação C=C, as bandas em 1323, 1272 e 1224 cm⁻¹ de deformação axial de ligação C-O e duas bandas em 758 e 610 cm⁻¹ de deformação angular de ligação O-H.

O espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) (**Figura 36, p. 56**) mostrou um sinal em δ 2,46 referente a três hidrogênios de um grupo metila, um sinal em δ 3,95 referente a três hidrogênios de uma metoxila, mostrou quatro sinais na região de hidrogênios de sistema aromático sendo um singlete em δ 7,64 (1H), três dubletos em δ 7,09 (1H, d, J = 0,5 Hz), em 7,38 (1H, d, J = 2,5 Hz) e 6,70 (1H, d, J = 2,5 Hz), referentes a hidrogênios *meta* posicionados. Foi possível observar também dois singletos, em δ 12,12 (1H, OH) e 12,32 (1H, OH), referentes a hidroxilas queladas por ligação de hidrogênio.

Ao se comparar o espectros de RMN ¹H de SMCH3 e SMCH4, foi possível evidenciar a ausência de um sinal de hidrogênio aromático. Esta observação pode ser comprovada ao se analisar o espectro de RMN ¹³C-DEPT 135°, onde foi observado a presença de 10 carbonos não hidrogenados para SMCH3, ao passo que o mesmo espectro de SMCH4 mostra a presença de 9 carbonos não hidrogenados. O que evidencia que SMCH4 apresenta um substituinte a mais do que SMCH3.

Os dados dos espectros de RMN ¹³C – BB (125 MHz, CDCl₃) de SMCH4 e SMCH3 foram comparados, desta forma foi possível observar que a principal discrepância entre tais dados encontrou-se na presença do pico em δ 56,3 no espectro de SMCH4, após este sinal ser analisado através do espectro de RMN ¹³C – DEPT 135°, ficou claro que o mesmo se tratava de um carbono

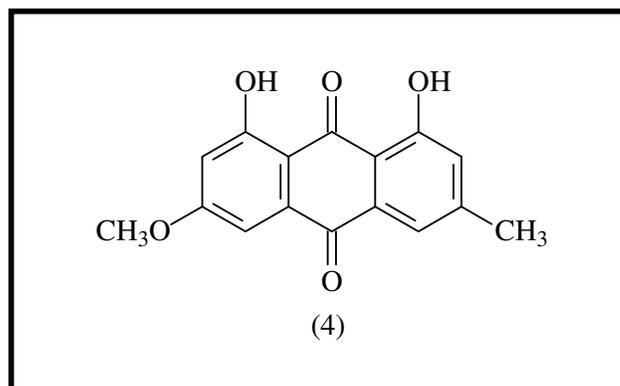
metílico, provavelmente ligado a um oxigênio, foi possível ainda obter a fórmula molecular $C_{16}O_{12}O_5$, que foi confirmada pelo espectro de massas com o pico do íon molecular em m/z 284 (Figura 34, p. 54)

Os dados de RMN ^{13}C -BB de SMCH4 e SMCH3, bem como os da literatura foram comparados e podem ser resumidos na Tabela 8.

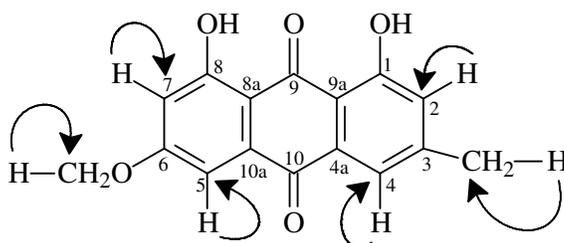
Tabela 8 – Deslocamento químico de carbono 13 (δ) para SMCH4 (125 MHz, $CDCl_3$) em comparação com os dados de carbono 13 de SMCH3 e fisiona [HÖFLE, 1977].

Carbono	SMCH3	SMCH4	δ Fisiona
1	162,9	162,7	162,5
2	124,5	124,7	124,5
3	149,5	148,7	148,6
4	121,5	121,5	121,3
4a	133,4	133,4	133,2
5	120,1	108,4	108,2
6	137,1	166,8	166,6
7	124,7	107,0	106,8
8	162,6	165,4	165,2
8a	116,0	110,5	110,3
9	192,6	191,0	190,8
9a	113,9	113,9	113,7
10	182,0	182,3	182,0
10a	133,8	135,5	135,3
Me	22,4	22,4	22,2
MeO	-	56,3	56,1

Com base nos dados mostrados, é possível concluir que SMCH4 trata-se de uma antraquinona tetrasubstituída, sendo que os dois núcleos antraquinônicos apresentam-se dissustituídos, visto que o espectro de RMN 1H mostra dois pares de hidrogênios que apresentam acoplamento *meta*. Assim para SMCH4 é possível elucidar uma estrutura antraquinônica do tipo **4**, nos quais os substituintes são dois grupos hidroxilas, um metila e uma metoxila.



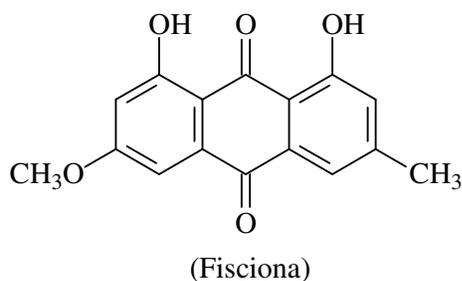
O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a uma ligação (HMQC) de SMCH4 (**Figura 38, p.57**) possibilitou atribuir os deslocamentos dos hidrogênios em δ 7,09 (H-2), 7,64 (H-4), 7,38 (H-5) e 6,70 (H-7) aos carbonos em δ 124,7 (C-2), 121,5 (C-4), 108,4 (C-5) e 107,0 (C-7) respectivamente, assim como a absorção do hidrogênio em δ 2,46 (H-Me) com o carbono em δ 22,4 (C-Me) e o do hidrogênio em δ 3,95 (H-OMe) com o carbono em δ 56,3 (C-OMe).



O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a longa distância (HMBC) de SMCH4 (**Figura 39, pág. 58**), mostrou a correlação entre os hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 12,12 (OH-1) com o carbono em δ 162,7 (C-1); os hidrogênios em δ 12,12 (OH-1), 2,46 (H-Me) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 124,7 (C-2); os hidrogênios em δ 2,46 (H-Me) e 12,12 (OH-1) com o carbono em δ 148,7 (C-3); os hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 2,46 (H-Me) com o carbono em δ 121,5 (C-4); o hidrogênio em δ 6,70 (H-7) com o carbono em δ 108,4 (C-5), os hidrogênios em δ 3,95 (H-OMe), 7,38 (H-5) e 12,32 (OH-8) com o carbono em δ 166,8 (C-6); os hidrogênios em δ 12,32 (OH-8) e 7,38 (H-5) com o carbono em δ 107,0 (C-7); os hidrogênios em δ 6,70 (H-7) e

12,32 (OH-8) com o carbono em δ 165,4 (C-8); os hidrogênios em δ 12,32 (OH-8), 6,70 (H-7) e 7,38 (H-5) com o carbono em δ 110,5 (C-8a); os hidrogênios em δ 12,12 (OH-8), 7,09 (H-2) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 113,9 (C-9a); os hidrogênios em δ 7,38 (H-5) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 182,3 (C-10); o hidrogênio em δ 7,38 (H-5) com o carbono em δ 135,5 (C-10a) e dos hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 22,4 (C-Me).

Com os dados apresentados, foi possível concluir que SMCH4 se tratava de uma antraquinona com caráter trioxigenado, tetrassubstituída como é comprovado pelo acoplamento *meta* observado no espectro de RMNH ^1H . Desta forma, foi possível afirmar que SMCH4 tratava-se da antraquinona, 1,8-dihidroxi-3-metil-6-metoxi-antraquinona, denominada também como fisciona. A fisciona já foi isolada de *Ventilago maderaspatana* (Rhamnaceae), *Vataireopsis araroba* (Leguminosae), [THOMSON, 1971] e *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae), [SILVA,1987]. Trabalhos na literatura atribuem para esta substância atividades biológicas significativas como anti-câncer, no combate a osteoporose e doenças cardíacas [GALATI, 2002].



Os dados espectrométricos referentes a elucidação estrutural de SMCH4 encontram-se resumidos na **Tabela 9**.

Tabela 9 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCH4.

Carbonos	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	
			$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
1	162,7	-	7,09 e 12,12	-
2	124,7	7,09 (d, J = 0,5 MHz)	-	12,12; 2,46 e 7,64
3	148,7	-	2,46	-
4	121,5	7,64 (sl)	-	7,09 e 2,46
4 ^a	133,4	-	-	-
5	108,4	7,38 (d, J = 2,5 MHz)	-	6,70
6	166,8	-	7,38	3,95
7	107,0	6,70 (d, J = 2,5 MHz)	-	12,32 e 7,38
8	165,4	-	6,70 e 12,32	-
8a	110,5	-	-	12,32; 6,70 e 7,38
9	191,0	-	-	-
9a	113,9	-	12,12	7,09 e 7,64
10	182,3	-	-	7,38 e 7,64
10a	135,5	-	7,38	-
Me	22,4	2,46 (s)	-	7,09 e 7,64
MeO	56,3	3,95 (s)	-	-

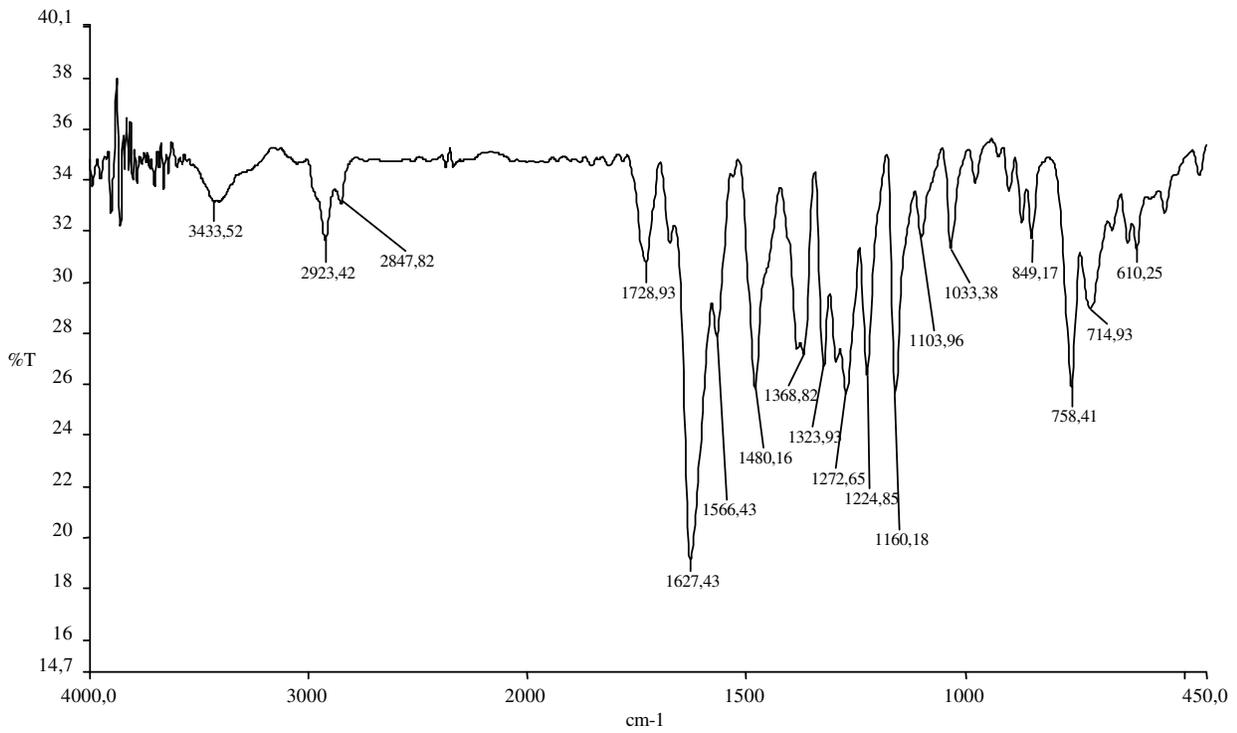


Figura 33 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de SMCH4

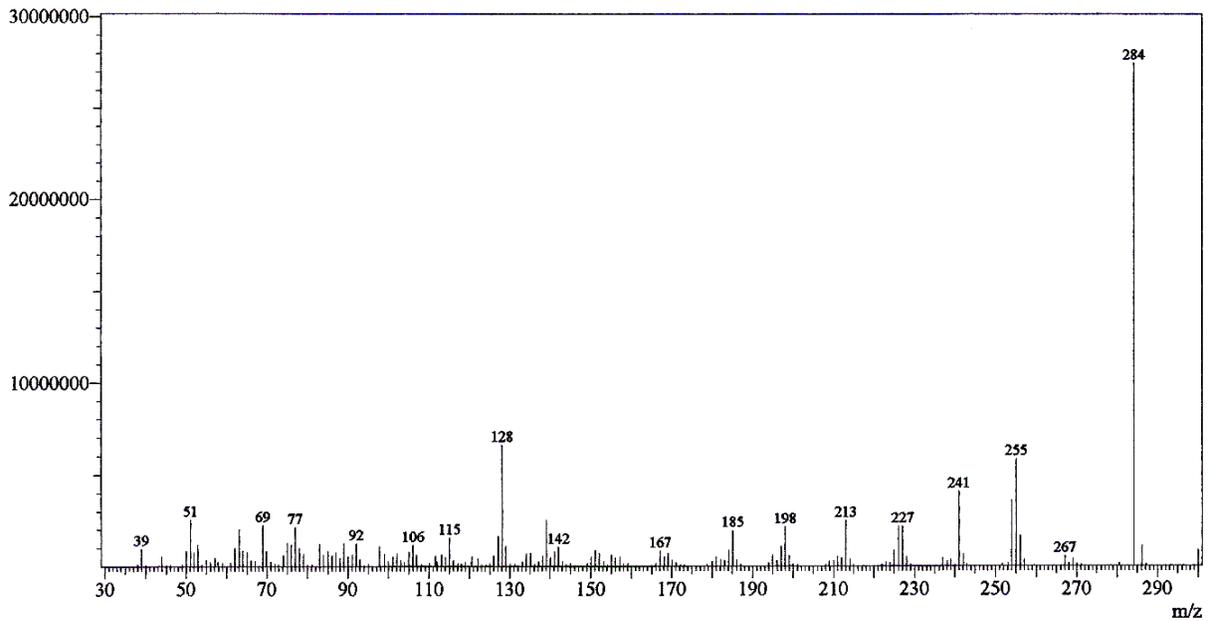


Figura 34 – Espectro de massas de SMCH4.

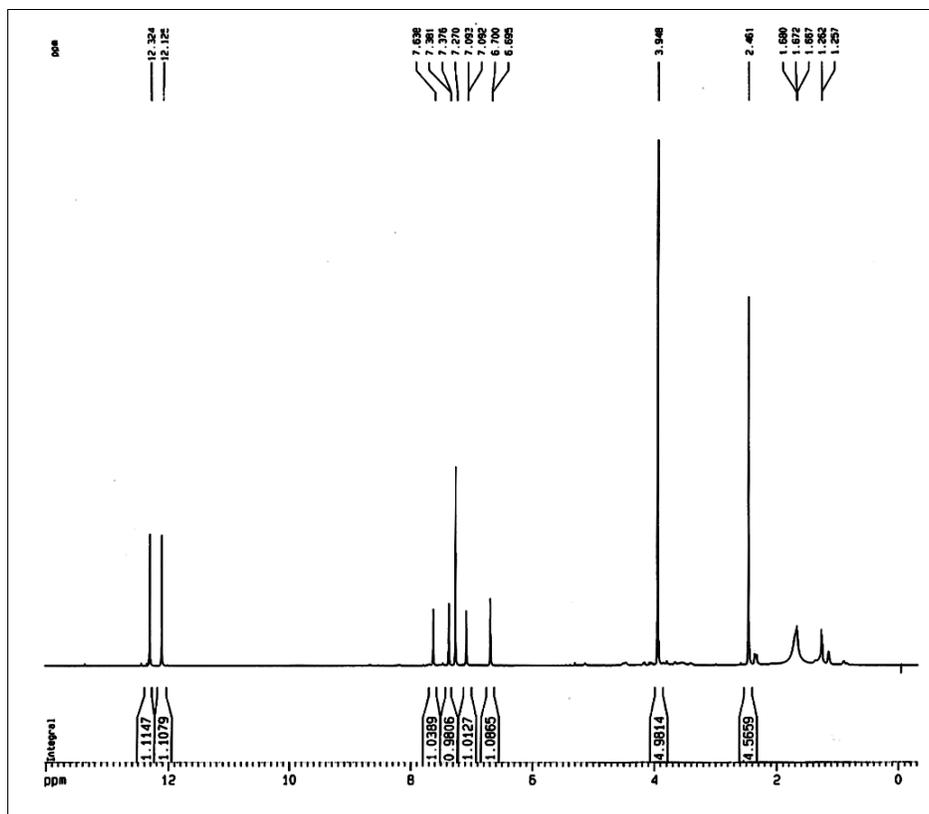


Figura 36 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SMCH4

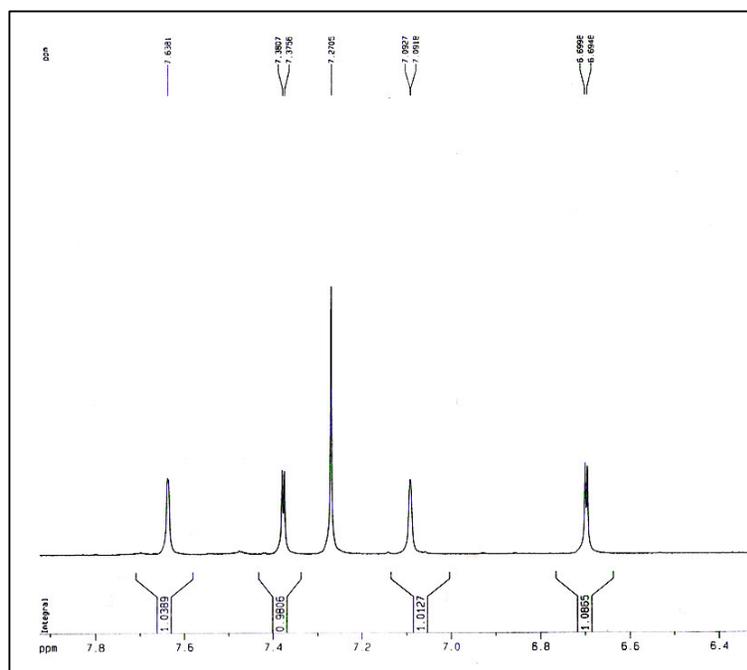


Figura 37 – Sub-espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) faixa de 6,4 -7,8 ppm de SMCH4

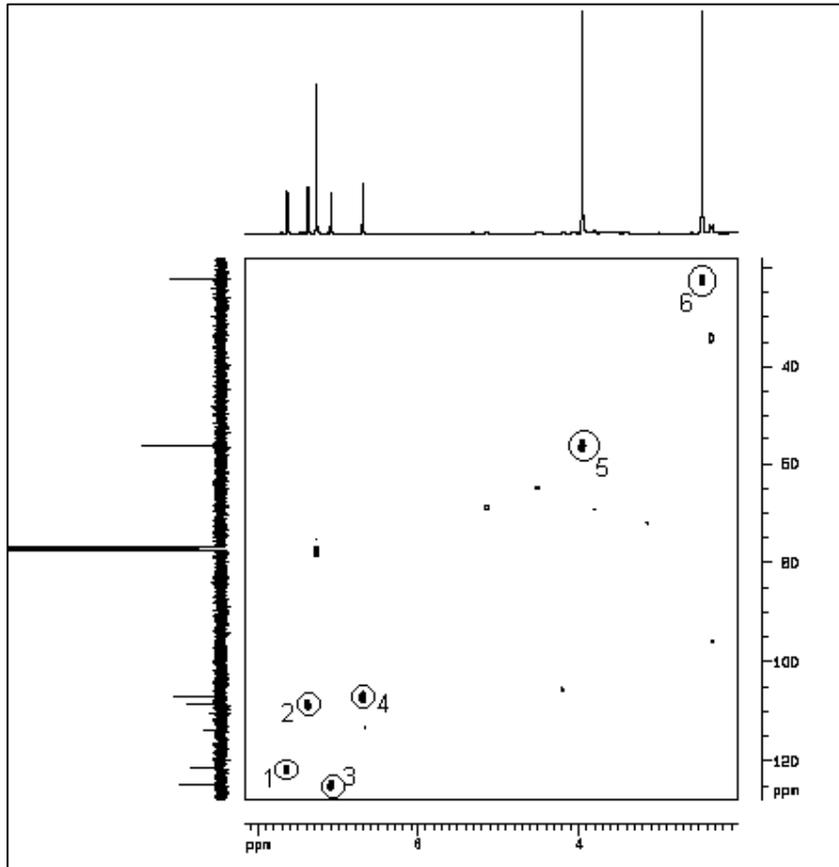
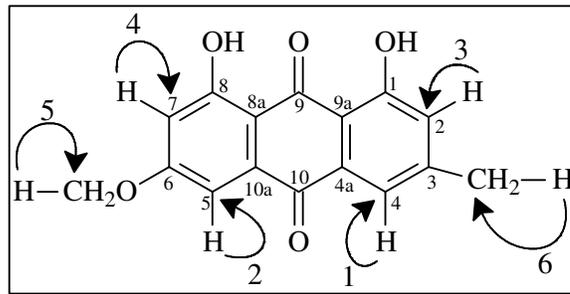


Figura 38 – Espectro de RMN (500 MHz, CDCl₃) HMQC de SMCH4

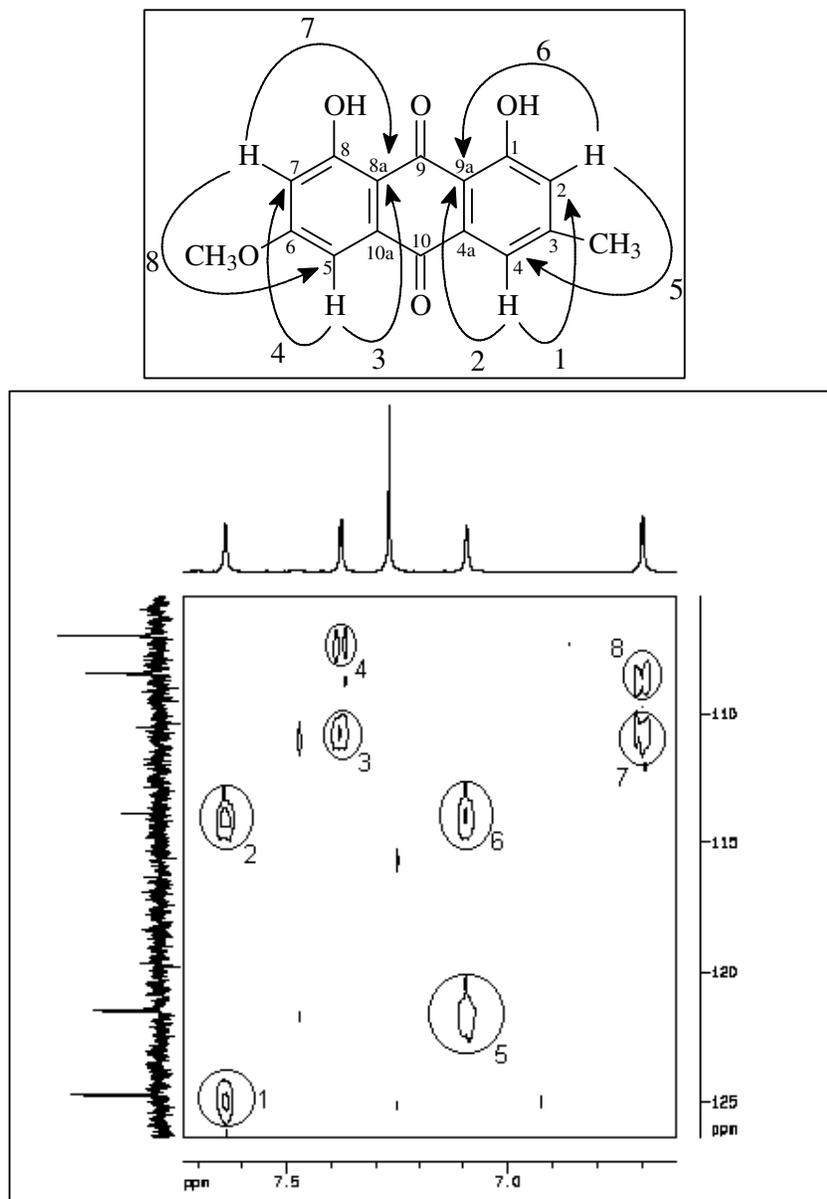


Figura 39 – Sub-Espectro (faixa 105-125 δ e 6,5-8,0 δ) de RMN (125, 500 MHz, CDCl₃) HMBC de SMCH₄.

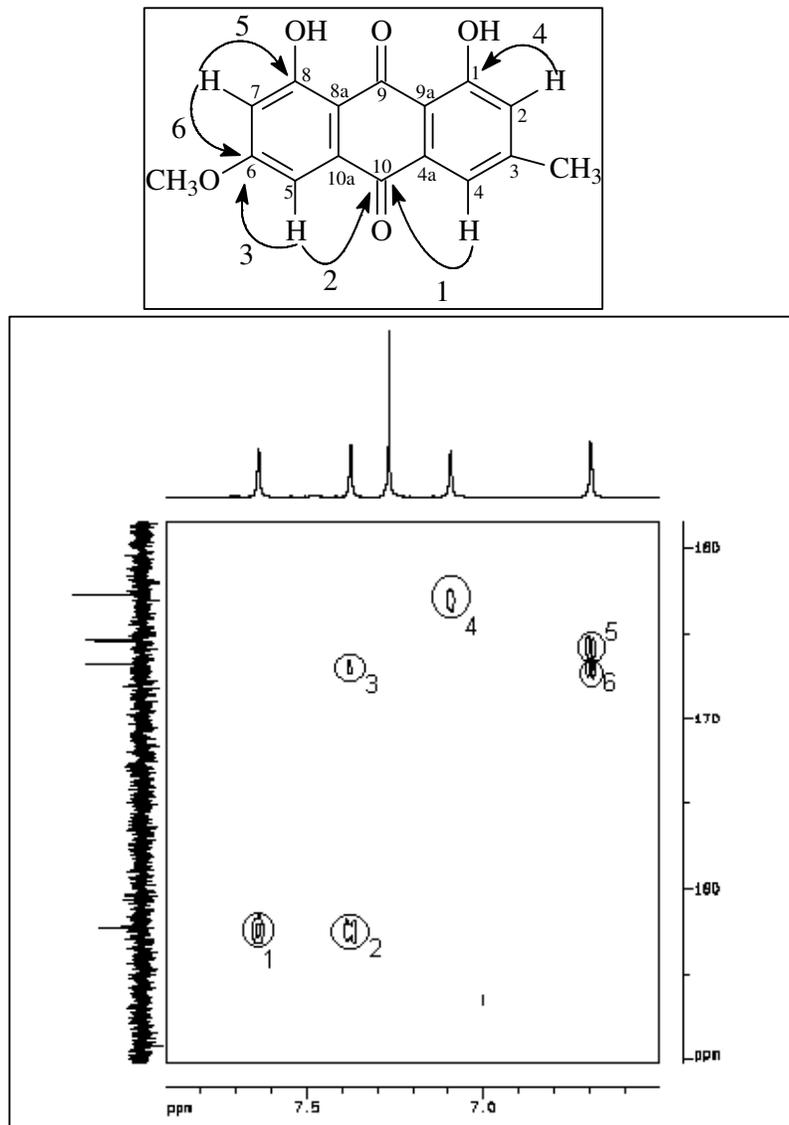


Figura 40 – Sub-Espectro (faixa de 160-190 δ) de RMN (500 MHz, CDCl_3) HMBC de SMCH4.

5.3.5. Determinação estrutural de SMCD1

A substância SMCD1 obtida a partir do tratamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de *S. martiana*, tratava-se de um sólido amorfo de cor laranja, com faixa de fusão de 222,5 – 223,0 °C, solúvel em acetona (**Fluxograma 6, p. 113**).

Através do espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 41, p. 64**) foi possível observar uma banda em 3414 cm^{-1} de deformação axial de ligação O-H, duas bandas em 3079 e 2927 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=C, duas bandas em 1674 e 1627 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=O, sendo a banda em 1627 cm^{-1} , referente a carbonila quelada, duas bandas em 1573 e 1459 cm^{-1} de deformação axial de ligação =C-H de aromático, em 1387 cm^{-1} de deformação angular de ligação C-H, as bandas em 1276, 1202 e 1087 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-O, e duas bandas em 754 e 695 cm^{-1} de deformação angular de ligação O-H.

Com relação ao espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) (**Figura 43, p. 65**), foi possível observar a presença de um singleto em δ 4,62 (2H, s) referente a hidrogênios ligados a carbono oxigenado e cinco sinais na região de hidrogênios aromáticos em δ 7,28 (1H, s), 7,36 (1H, d, J = 7,8 Hz), 7,68 (1H, s), 7,70 (1H, t, J = 7,8 Hz) e 7,78 (1H, d, J = 7,8 Hz). Entre três dos hidrogênios aromáticos é possível observar um acoplamento do tipo *orto*.

Comparou-se os espectros de RMN ^1H de SMCH3 e SMCD1, onde foi possível observar a mesma quantidade de sinais, cinco sinais na região de hidrogênios aromáticos e um em região de maior proteção, este último mostra a principal diferença entre SMCH3 e SMCD1.

O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) de SMCD1 ao ser comparado com o espectro de RMN ^{13}C de SMCH3 apresentou as mesmas similaridades observadas nos espectros de RMN ^1H de SMCH3 e SMCD1, onde foi observado a mesma quantidade de sinais, no entanto um apresentou deslocamento químico com uma distinção relevante, para SMCH3 este sinal apresentou um deslocamento em δ 22,4, para SMCD1 o deslocamento observado foi em δ 62,1. Estes sinais ao serem observados pelo espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (**Figura 45, p. 66**) fica evidente seu tipo de hidrogenação, o sinal em δ 22,4 para SMCH3 como já dito antes trata-se de um carbono metílico, já para SMCD1 o sinal com deslocamento em δ 62,1 tratava-se de um carbono metilênico,

provavelmente ligado a um oxigênio, que fica evidente por se encontrar em uma região de desproteção.

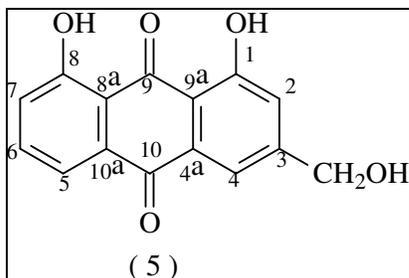
Tabela 10 – Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de SMCH3 e SMCD1.

Carbono	SMCH3	SMCD1
1	162,9	161,6
2	124,5	120,9
3	149,5	153,5
4	121,5	116,9
4a	133,4	133,2
5	120,1	119,1
6	137,1	137,2
7	124,7	124,6
8	162,6	161,9
8a	116,0	116,0
9	192,6	191,3
9a	113,9	114,5
10	182,0	181,6
10a	133,8	113,4
Me	22,4	-
MeO	-	62,1

Com base nos dados discutidos até o momento, foi possível inferir a existência de cinco carbonos oxigenados, dos quais dois carbonos referentes a carbonos carbonílicos, sinais em δ 181,6 e 191,3, dois referentes a carbonos ligados a hidroxila, sinais em δ 161,6 e 161,9, e um carbono metilênico, sinal em δ 62,1, sendo assim pode-se chegar a seguinte fórmula molecular para SMCD1, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$.

O espectro de massas de SMCD1 (**Figura 42, p. 64**) mostrou o pico do íon molecular m/z 270, o que comprova a fórmula molecular acima.

O que foi discutido até o momento nos levou a propor para SMCD1, uma estrutura antraquinônica trissubstituída, sendo que os substituintes tratam-se de duas hidroxilas e um carbono metilênico hidroxilado, como pode ser visto abaixo (5).



O espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a uma ligação HMQC (Figura 46, p. 67) e a mais de uma ligação HMBC de SMCD1 (Figura 47, p. 68) permitiu associar de maneira correta as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 11, p. 63).

A estrutura proposta acima foi então confirmada, e com base nos dados obtidos, foi possível chegar a conclusão de que SMCD1, tratava-se de uma antraquinona conhecida como aloe-emodina, esta substância no entanto, já foi isolada de outras espécies plantas.

Aloe-emodina apresenta várias atividades farmacológicas como antitumoral, antifúngica, antibacteriana, antiviral e laxativa. Recentemente foi reportado que esta substância apresenta fototoxicidade á pele humana, e adicionalmente foi revelado também que aloe-emodina na presença de luz ultravioleta, induz melanoma maligno em ratos [LIANG, 2006].

Os dados discutidos até o momento podem ser resumidos na tabela 11.

Tabela 11 – Dados espectroscópicos de SMCD1.

Carbono	δ_C	δ_H	HMBC	
			$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
1	161,6	-	-	-
2	120,9	7,69 (1H, s)	-	4,62; 7,68
3	153,5	-	4,62	-
4	116,9	7,68 (1H, s)		4,62; 7,28
4 ^a	133,2	-	-	7,78
5	119,1	7,70 (1H, d, J = 7,8 Hz)	-	7,36
6	137,2	7,78 (1H, t, J = 7,8 Hz)	-	-
7	124,6	7,36 (1H, d, J = 7,8 Hz)	-	7,70
8	161,9	-	7,89	7,78
8 ^a	116,0	-	-	7,36; 7,70
9	191,3	-	-	-
9 ^a	114,5	-	-	7,28; 7,68
10	181,6	-	-	7,68
10 ^a	133,4	-	-	-
CH ₂ OH	62,1	4,62 (2H, s)	-	-

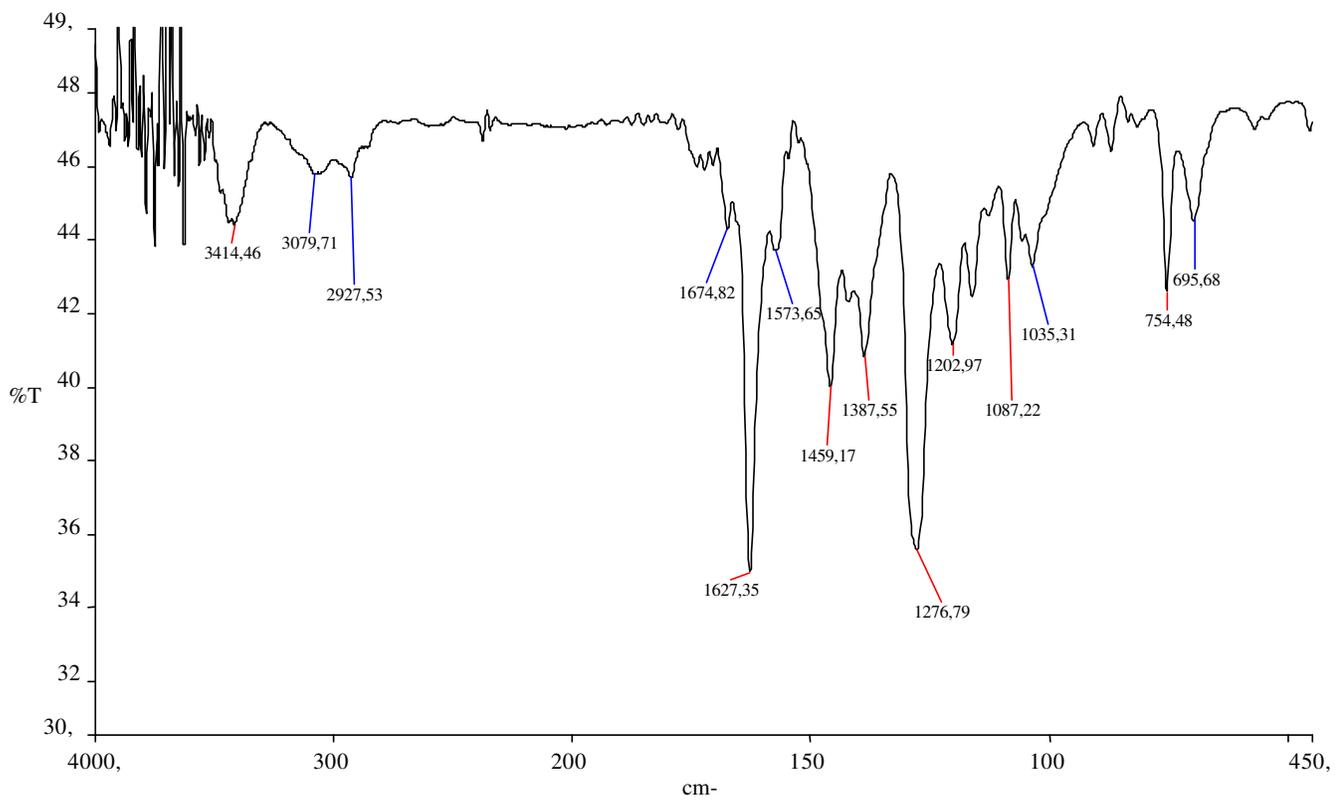


Figura 41- Espectro na região do infravermelho de SMCD1.

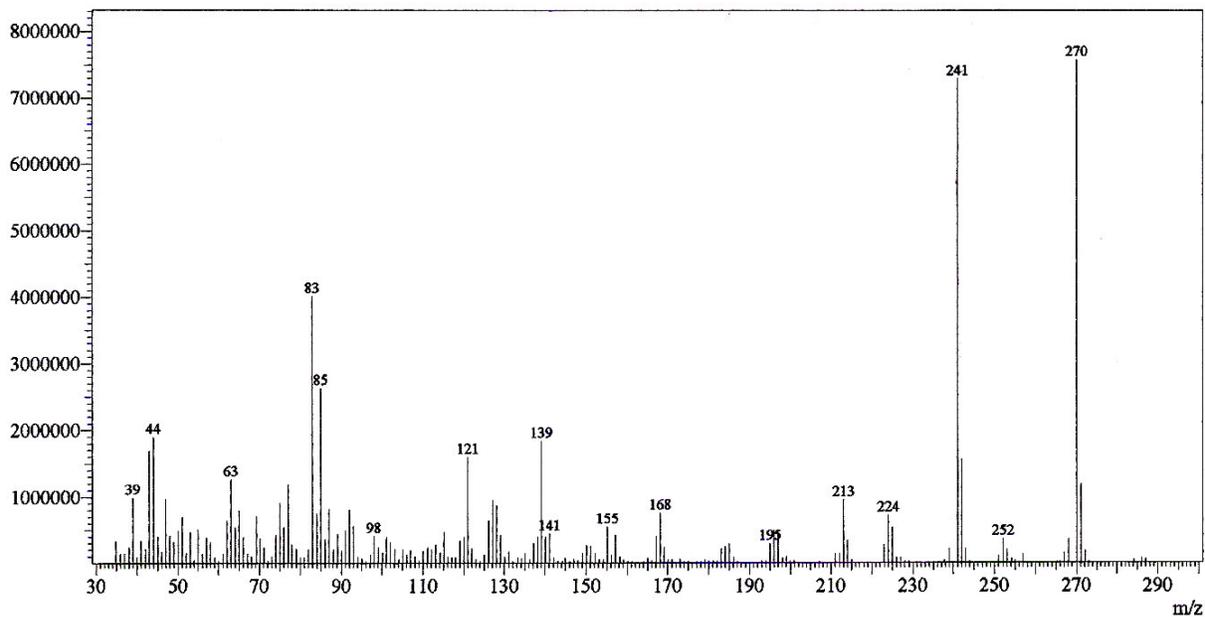


Figura 42 – Espectro de massas de SMCD1.

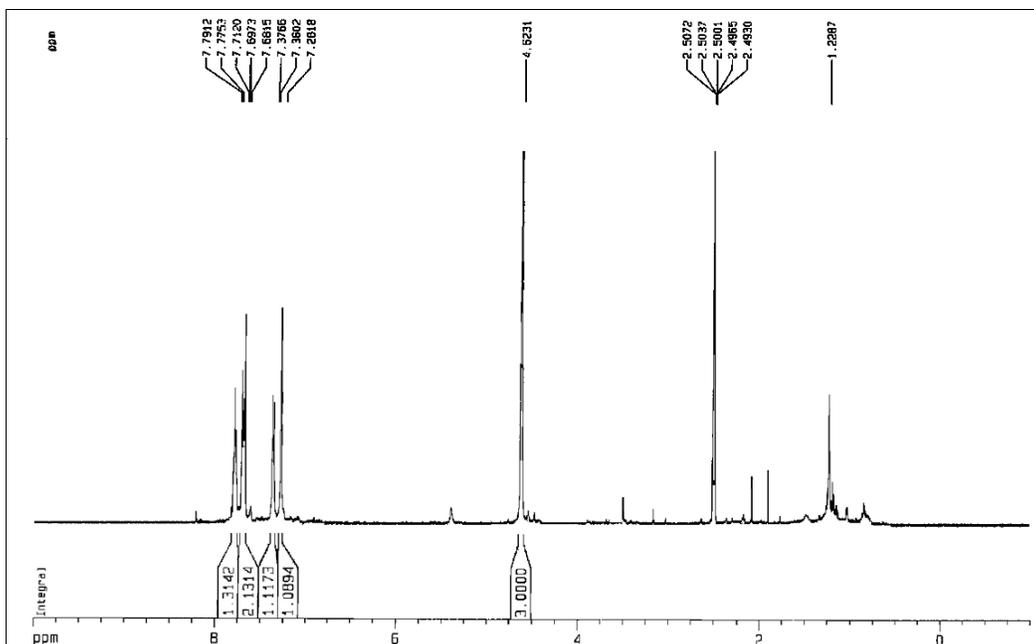


Figura 43 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO) de SMCD1.

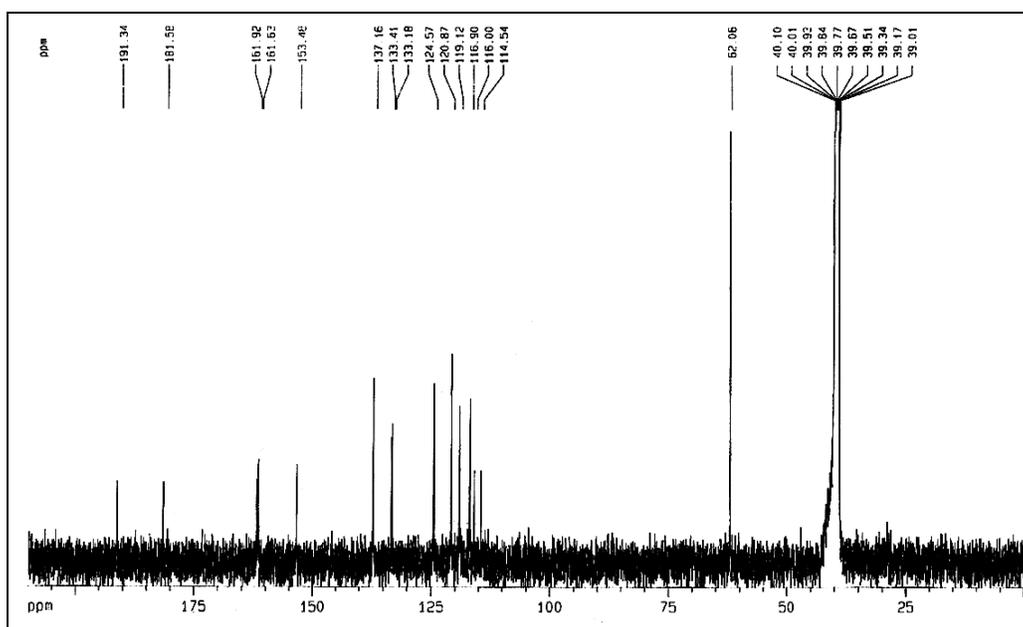


Figura 44 – Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) de SMCD1.

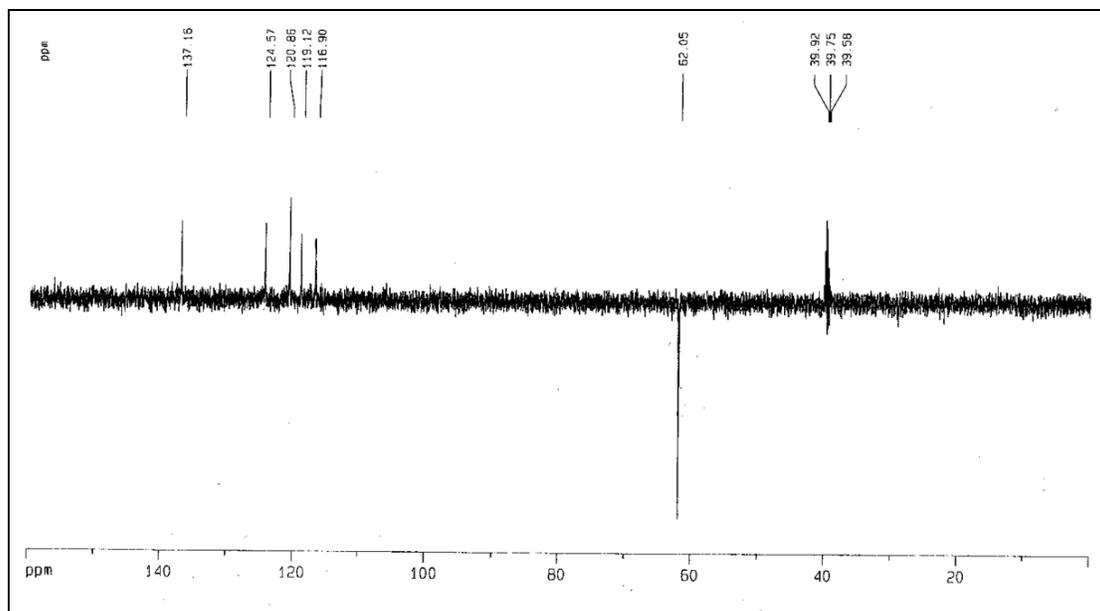


Figura 45 – Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° (125, MHz) de SMCD1.

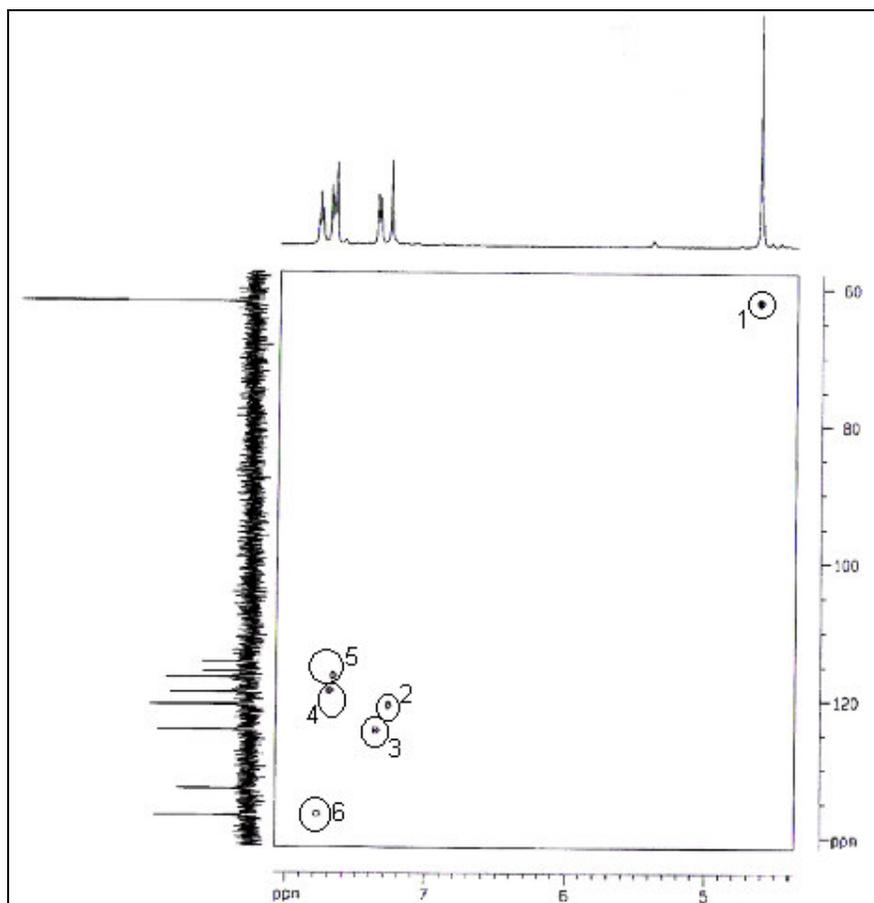
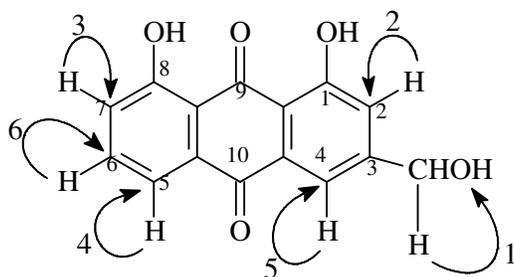


Figura 46 – Espectro de RMN de correlação heteronuclear HMQC de SMCD1.

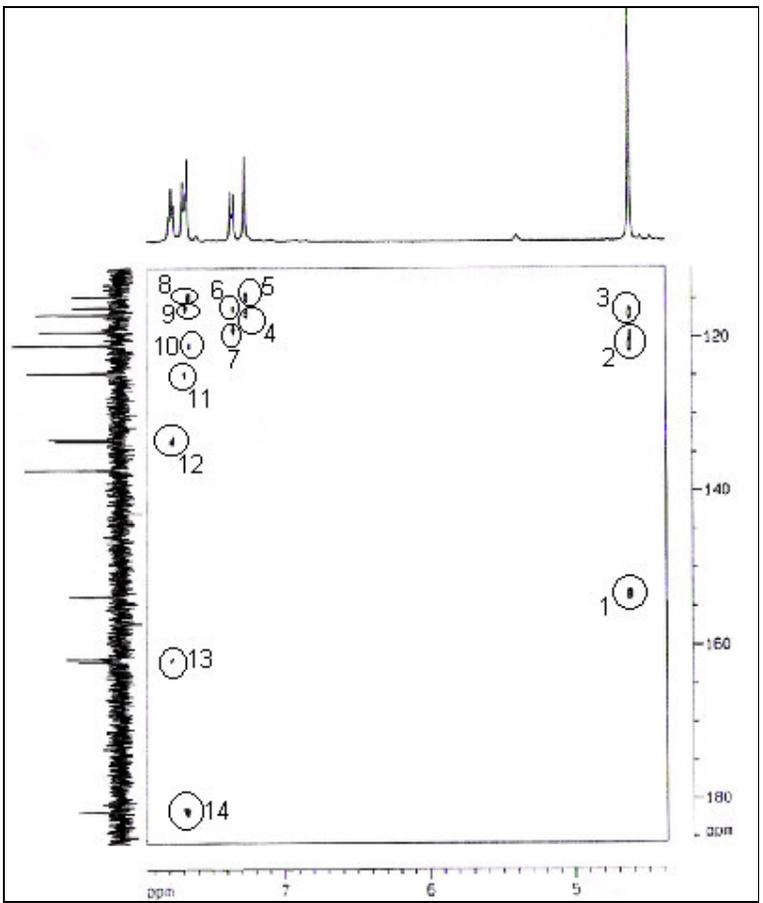
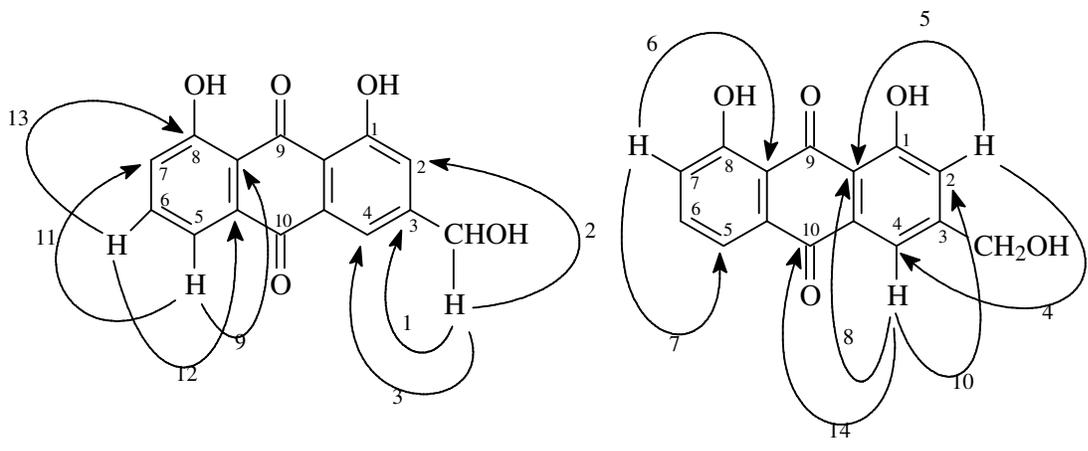


Figura 47 – Espectro de correlação heteronuclear HMBC de SMCD1.

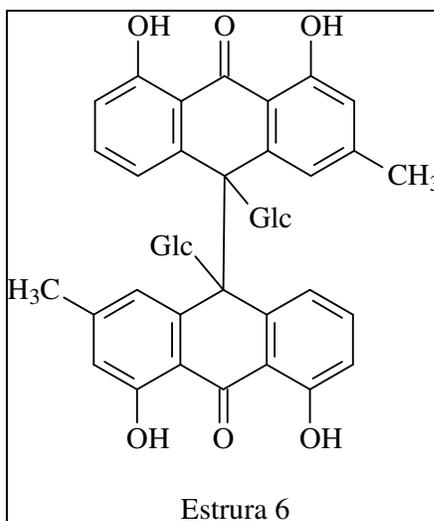
5.3.6. Determinação estrutural de SMCD2

A substância SMCD2 mostrou-se como um filme de cor laranja, solúvel em acetona, com uma faixa de fusão de 168,2-170,1 °C, que foi obtido a partir do tratamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de *Senna martiana* (**Fluxograma 7, p. 116**).

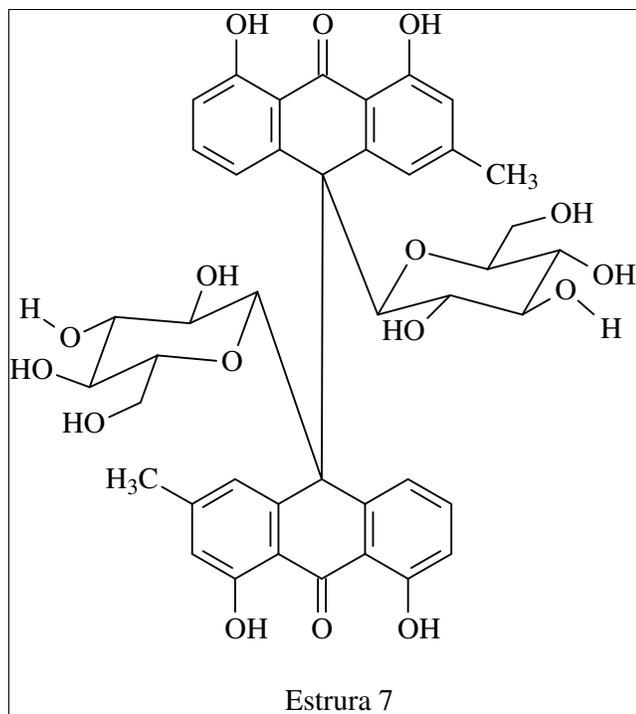
O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 48, p. 79**) permitiu identificar uma deformação axial em 3401 cm⁻¹ de ligação O-H, absorções em 2921 e 2863 cm⁻¹ de deformação axial de ligação C-H, uma absorção em 1638 cm⁻¹ referente a uma deformação axial de ligação C=O, cujo deslocamento para região mais baixa comprova seu caráter quelado. Foi possível observar ainda as absorções em 1609, 1487 e 1452 cm⁻¹ referentes a deformação axial da ligação C=C de sistema aromático, a deformação em 1358 cm⁻¹ referente a deformação angular de ligação C-H, além das absorções em 1286 e 1084 cm⁻¹ relacionadas a deformação axial da ligação C-O e a absorção em 758 cm⁻¹ referente a deformação angular de ligação O-H.

Com relação ao espectro de RMN ¹H [500 MHz, Acetona-d₆] (**Figura 49, p. 80**), observou-se dois sinais em δ 2,39 (3H, s) e 2,40 (3H, s) referentes a hidrogênios metílicos, uma faixa de sinais em δ 2,93-2,97 (4H, m), dois tripletos em δ 3,09 (1H, J= 9,4 Hz) e 3,10 (1H, J= 9,5 Hz), dois dubletos em 3,26 (1H, J= 9,4 Hz) e 3,27 (1H, J= 9,5 Hz), uma faixa de sinais em 3,34-3,42 (4H, m), um duplo-dublete em 3,50 (2H, dd, J = 11,3 e 2,6 Hz), estes sinais observados na faixa de δ 2,93 à 3,50 estão de acordo com hidrogênios de um sistema glicosilado, foi possível ainda observar dez sinais na região de sistemas aromáticos, em δ 6,74 (1H, sl), 6,75 (1H, sl), 6,90 (1H, dl), 6,91 (1H, dl), 7,27 (1H, sl), 7,36 (1H, sl), 7,40 (1H, dd, J = 7,6 e 0,6 Hz), 7,50 (1H, dd, J = 7,6 e 0,9 Hz), 7,55 (1H, t, J= 7,6 Hz), 7,56 (1H, t, J = 7,6 Hz). Com base nos dados apresentados acima é possível observar que os sinais estão dobrados, indicando que a substância SMCD2, trata-se de uma mistura ou de uma substância dimérica.

Ao observarmos os deslocamentos de RMN ¹H de SMCD2 de forma a eliminar a duplicidade dos sinais e excluirmos a faixa de sinais em δ 2,97 à 3,50 podemos compará-los aos deslocamentos de SMCH3, desta forma encontramos uma grande semelhança de deslocamentos (**Tabela 14, p. 75**). Podemos propor para SMCD2 uma estrutura antraquinônica semelhante a SMCH3, no entanto de forma dimérica glicosilada como mostrado na **estrutura 6**.



O espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, Acetona- d_6] (**Figura 50, p. 81**), mostrou a presença de trinta e quatro linhas espectrais, uma em δ 22,52 referente a um carbono metílico, dez na faixa δ 63,29 - 84,55, provavelmente referentes a carbonos oxigenados, vinte e quatro sinais na região de carbonos aromáticos na faixa de δ 115,12 - 162,90, sendo que os sinais na região de δ 162,17 - 162,90 referem-se a carbonos oxigenados e um sinal em δ 194,32 referente a carbono de carbonila quelada. O espectro de RMN ^{13}C , confirma o provável caráter dimérico do composto em questão, o que já havia sido exposto pelo espectro de RMN ^1H , pois os sinais aparecem de forma dobrada. No entanto, há uma discrepância entre os dados de RMN ^{13}C e a estrutura proposta acima (**Estrutura 6**), o sinal em aproximadamente δ 101,0 referente ao carbono anomérico da glicose não está presente, o que nos leva a concluir que se trata de uma glicose desoxiglicosídica, a provável forma estrutural de SMCD2 é mostrada abaixo (**Estrutura 7**).



Ao se comparar o espectro de RMN ^{13}C com o espectro de DEPT 135° (**Figura 51, p. 82**) foi possível estabelecer o padrão de hidrogenação dos carbonos de SMCD2, estes dados foram resumidos na **Tabela 12**.

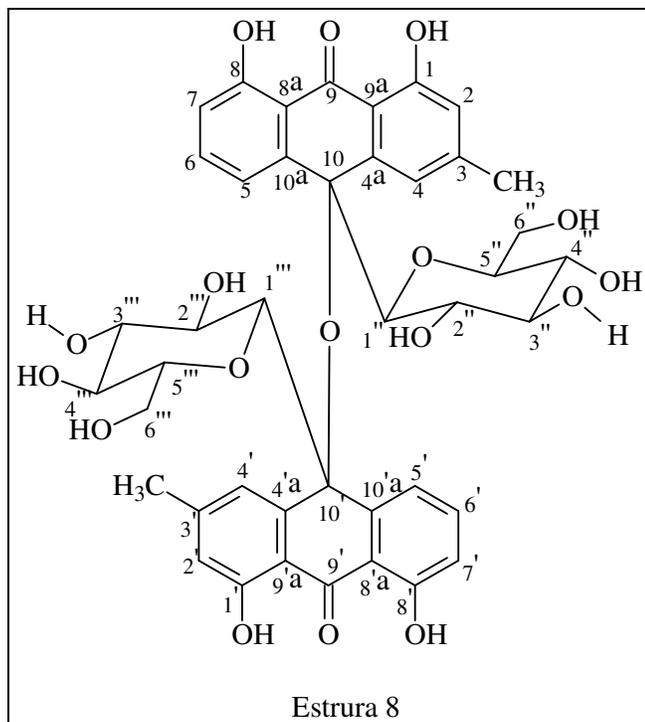
Tabela 12 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C com DEPT 135° de SMCD2.

C	CH	CH ₂	CH ₃	TOTAL
76,77	71,83	63,29	22,52	
76,83	71,83	63,29	22,52	
115,15	72,93			
115,26	72,93			
117,26	79,32			
117,45	79,36			
146,49	81,01			
146,53	81,12			
148,14	84,56			
148,93	84,56			
149,04	117,61			
149,09	117,66			
162,17	117,78			
162,45	117,86			
162,64	117,98			
162,90	118,80			
194,32	118,91			
194,32	120,10			
	136,16			
	136,97			
C ₁₈	C ₂₀ H ₂₀	C ₂ H ₄	C ₂ H ₆	C ₄₂ H ₃₀

Sabe-se no entanto, pela comparação dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C de SMCH3 e SMCD2, bem como pelos deslocamentos dos sinais de RMN ^{13}C de SMCD2 para campo de desproteção, que a mesma apresenta dezesseis átomos de oxigênio, dos quais doze são hidrogenados, desta forma podemos propor para SMCD2 a fórmula molecular C₄₂H₄₂O₁₆ (MM: 802 daltons).

Após a obtenção do espectro de massas de SMCD2, que nos forneceu o pico do íon molecular m/z 859, neste valor inclui-se uma molécula de água (m/z 18) e um íon sódio (m/z 23), que ao serem subtraídos do valor mostrado anteriormente obtém-se o valor m/z 818 que mostrou a

presença de um átomo de oxigênio a mais, o que nos levou a fórmula molecular $C_{42}H_{42}O_{17}$, a estrutura de SMCD2 é mostrada corretamente na **estrutura 8**, o que justifica o pico no espectro de RMN ^{13}C em δ 76,77 e 76,83, corresponde ao deslocamento dos carbonos 10' e 10 respectivamente.



O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) bem como o de mais de uma ligação (HMBC) de SMCD2 (**Figura 52 e 55, p. 83 e 86**), permitiram associar as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (**Tabela 14, p. 77**).

Os dados de RMN ^{13}C de SMCD2, foram comparados com os dados da literatura [MAI, 2001] em que uma biantrona, mostrada a baixo, foi isolada de *Rhamnus nepalensis*.

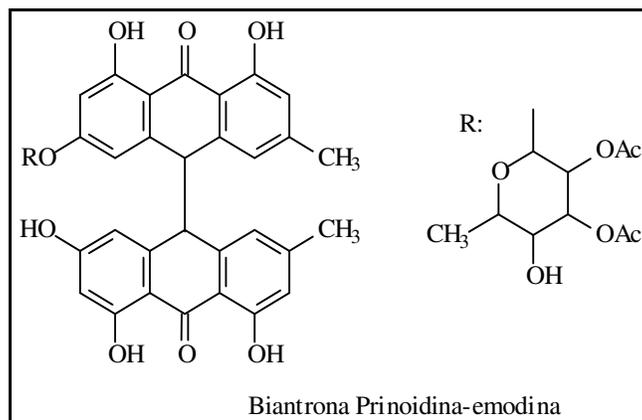


Tabela 13 – Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de SMCD2 com os dados de MAI, 2001.

Carbono	SMCD2		Biantrona Prinoidina-emodina	
	$\delta\text{ C}$	$\delta\text{ H}$	$\delta\text{ C}$	$\delta\text{ H}$
1	162,45		161,6	
2	117,66	6,74	117,2	6,61
3	148,93		147,2	
4	118,91	7,36	121,0	6,12
4a	149,04		140,4	
5	118,80	7,40	109,2	5,75
6	136,16	7,55	160,4	
7	117,98	6,91	102,7	6,55
8	162,64		164,7	
8a	117,45		112,0	
9	194,32		190,5	
9a	115,12		114,0	
10	76,83		56,3	4,18
10a	146,53		143,5	
Me	22,52	2,4	22,1	2,27
1'	162,90		162,5	
2'	117,86	6,75	117,2	6,61
3'	148,14		147,2	
4'	120,10	7,27	121,0	6,02
4a'	146,49		140,4	
5'	117,16	7,50	108,7	5,70
6'	136,97	7,56	161,8	
7'	117,78	6,90	102,5	6,32
8'	162,17		164,4	
8a'	117,26		111,0	
9'	194,32		190,4	
9a'	115,26		114,0	
10'	76,77		56,3	4,10
10a'	149,09		142,9	
Me'	22,52	2,4	22,1	2,27

A comparação mostrada acima, mostra evidentemente a diferença entre os deslocamentos dos carbonos 10, onde em SMCD2 (C10 e C 10', δ 76,83 e 76,77) este carbono encontra-se ligado a

um oxigênio conferindo um maior deslocamento comparado com o carbono 10 da literatura (C10 e C10', δ 56,3 e 56,3).

Com base no exposto acima é possível propor para SMCD2 a estrutura de uma antrona dimérica desoxiglicosilada, denominada crisofanol-10,10'-il-10-oxi-10,10'-bi-1,5-anidroglucitol. O levantamento bibliográfico no Scifinder escolar, revelou que a biantrona SMCD2, trata-se de uma substância inédita.

Os dados discutidos até o momento podem ser resumidos na **Tabela 14**.

Tabela 14 – Dados espectroscópicos de RMN ^1H , ^{13}C e correlação heteronuclear a longa distância de SMCD2.

Carbono	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	
			$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
Carbonos não hidrogenados (C)				
1	162,45	-	H-2	
1'	162,90	-	H-2'	
3	148,93	-	Me-3; H-4	
3'	148,14	-	Me-3'	
4a	146,53	-	H-4	H-1''
4'a	146,49	-		H-1'''
8	162,64	-		H-6
8'	162,17	-		H-6
8a	117,45	-		H-5; H-7
8'a	117,26	-		H-5'; H-7'
9/9'	194,32	-		
9a	115,12	-		H-2; H-4
9'a	115,26	-		H-2'; H-4'
10	76,83	-	H-1''	H-4; H-5; H-2''
10'	76,77	-	H-1'''	H-4'; H-5'; H-2'''
10a	149,04	-		H-6; H-1''
10'a	149,09	-	H-5'	H-6''; H-1'''
Carbonos metínicos (CH)				
2	117,66	6,74(sl)		Me-3; H-4
2'	117,86	6,75 (sl)		Me-3'; H-4'
4	118,91	7,36 (sl)		Me-3; H-2
4'	120,10	7,27 (sl)		Me-3'; H-2'
5	118,80	7,40 (dd, J= 7,6 e 0,6 Hz)		H-7

Tabela 15 (Cont.) – Dados espectroscópicos de SMCD2.

5'	117,61	7,50 (dd, J= 7,6 e 0,9 Hz)		H-7'
6	136,16	7,55 (t, J= 7,6 Hz)	H-5; H-7	
6'	136,97	7,56 (t, J= 7,6 Hz)	H-5'	
7	117,98	6,91 (dl, J= 7,6 Hz)		H-5
7'	117,78	6,90 (dl, J= 7,6 Hz)		H-5'
Carbonos metílicos (CH₃)				
Me-3	22,52	2,39 (s)		H-2; H-4
Me-3'	22,52	2,40 (s)		H-2'; H-4'

Carbonos do sistema anidroglucitol

1''	84,55	3,26 (d, J= 9,4 Hz)	H-2''	H-3''
2''	72,93	3,09 (t, J= 9,4 Hz)	H-1''; H-3''	H-4''
3''	79,32	3,42-3,34 (m)	H-2''; H-4''	H-1''
4''	71,83	2,97-2,93 (m)	H-5''	2H-6''
5''	81,12	2,97-2,93 (m)	H-4''; 2H-6''	H-1''
6''	63,29	3,59 (dd, J= 11,3 e 2,6 Hz); 3,39 (m)	H-5''	H-4''
1'''	84,56	3,27 (d, J= 9,5 Hz)	H-2'''	H-3'''
2'''	72,93	3,10 (t, J= 9,5 Hz)	H-1''', H-3'''	H-4'''
3'''	79,36	3,42-3,34 (m)	H-2'''; H-4'''	H-1'''
4'''	71,83	2,97-2,93 (m)	H-5'''	2H-6'''
5'''	81,01	2,97-2,93 (m)	H-4'''; 2H-6'''	H-1'''
6'''	63,29	3,50 (dd, J= 11,3 e 2,6 Hz); 3,39 (m)	H-5'''	H-4'''
6'''	72,9	3,50 (dd, J= 11,3 e 2,6 Hz); 3,39 (m)	H-5'''	H-4'''

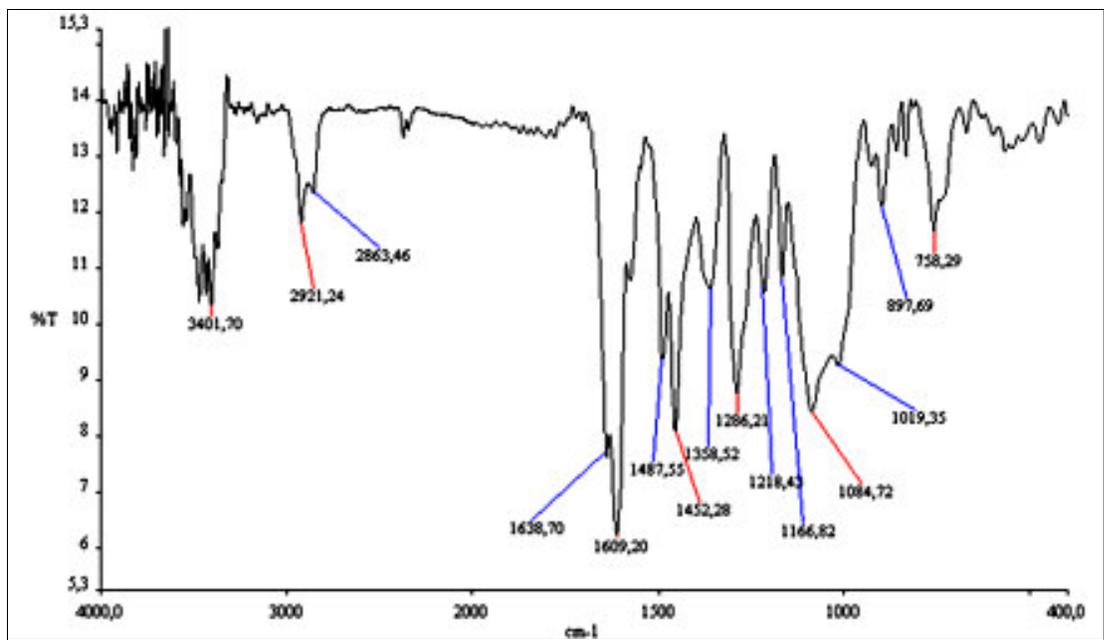


Figura 48 – Espectro na região do infra-vermelho de SMCD2.

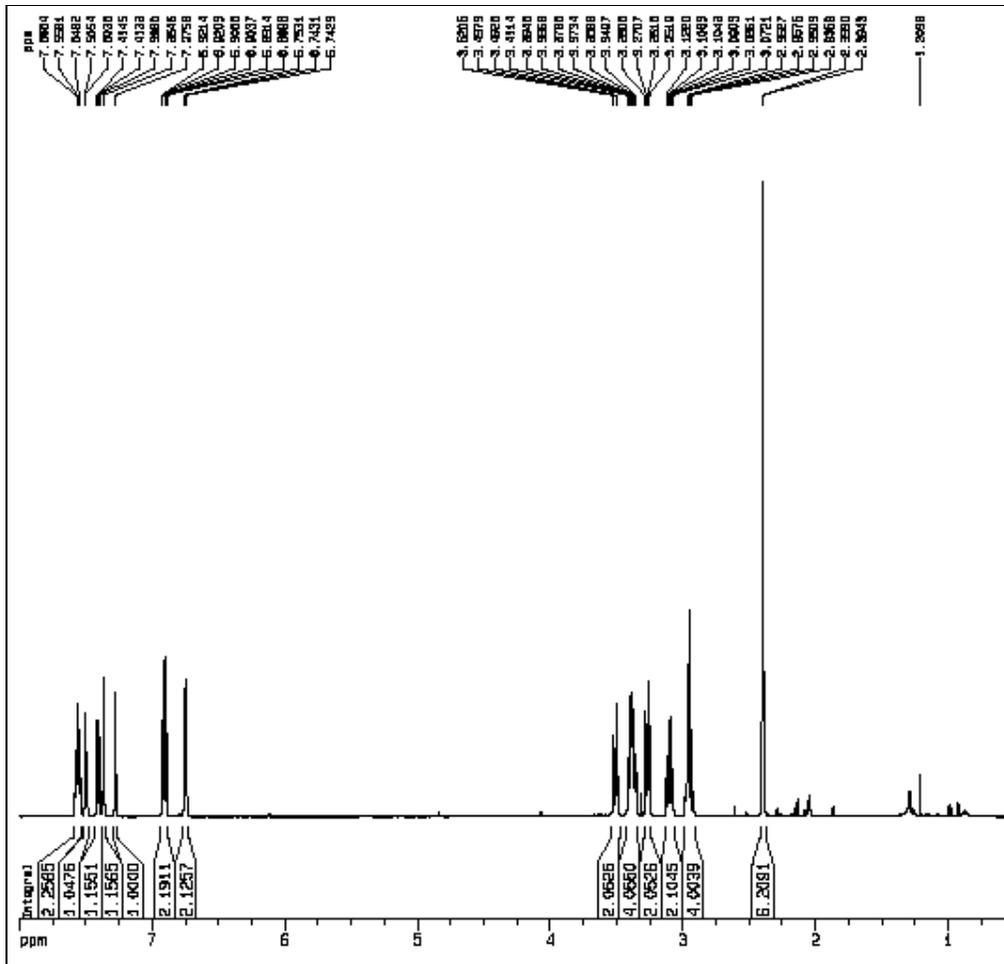


Figura 49 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, acetona- deuterada)de SMCD2.

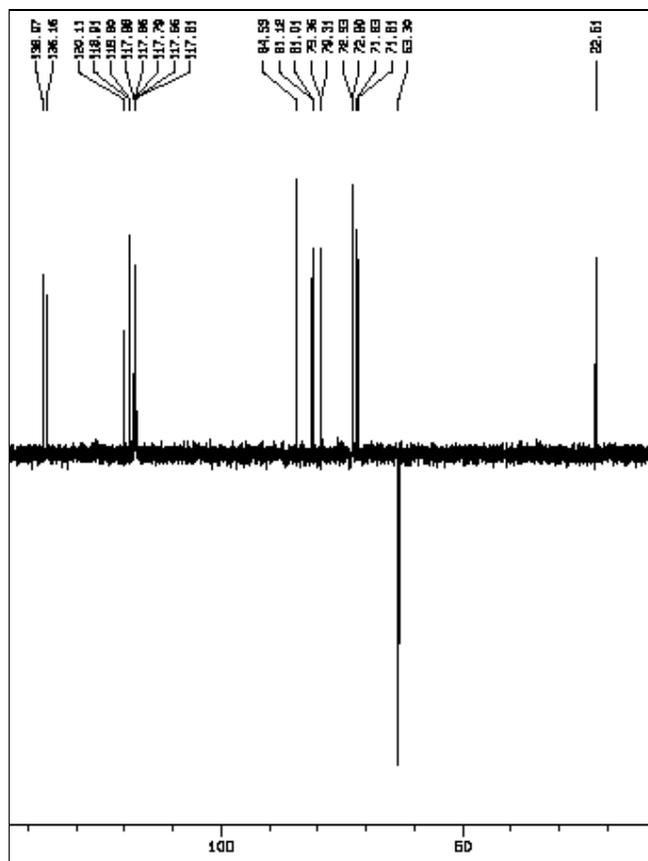


Figura 51 – Espectro de RMN ^{13}C DEPT 135° (125 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

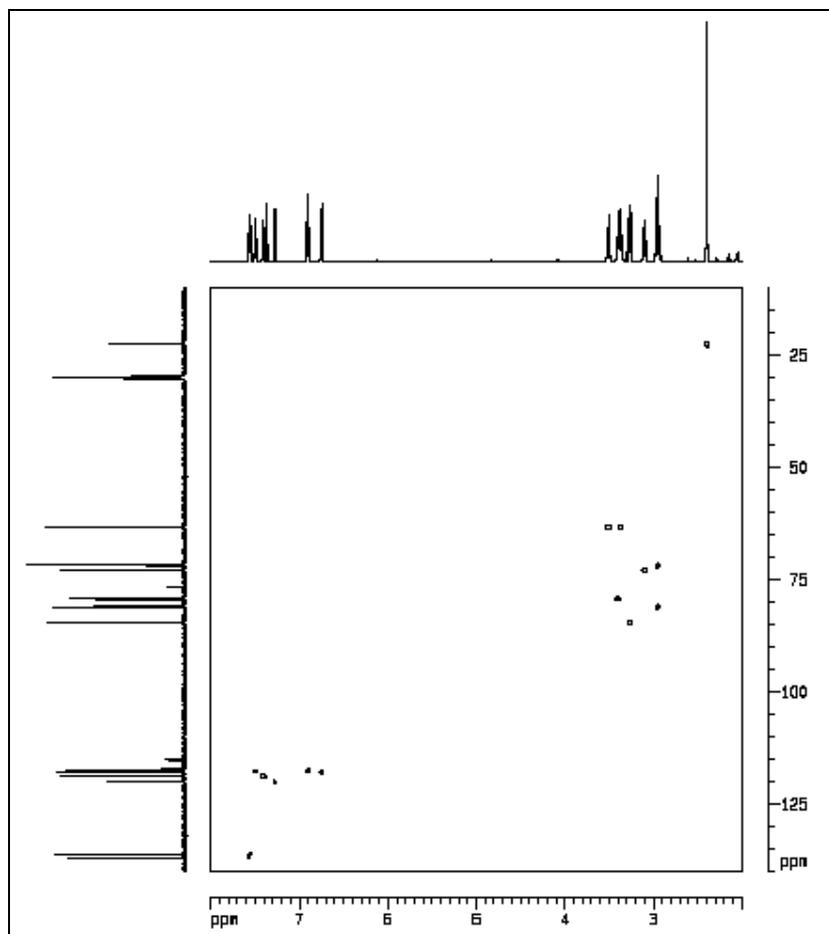


Figura 52 – Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) de SMCD2.

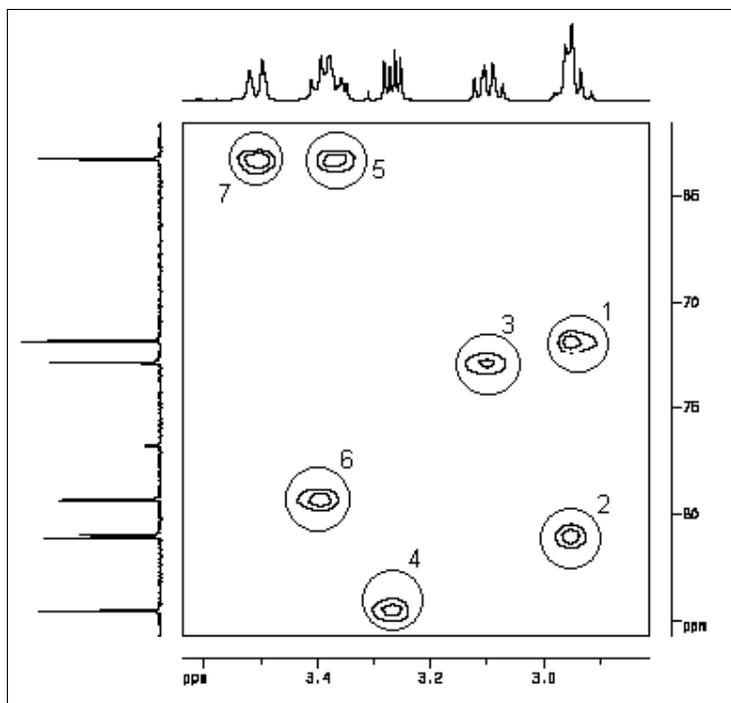
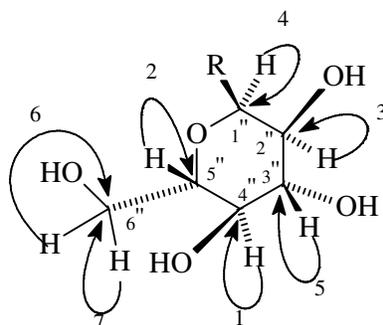


Figura 53 – Sub-Espectro (faixa 60-85 e 2,8-3,6 δ) de HMQC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

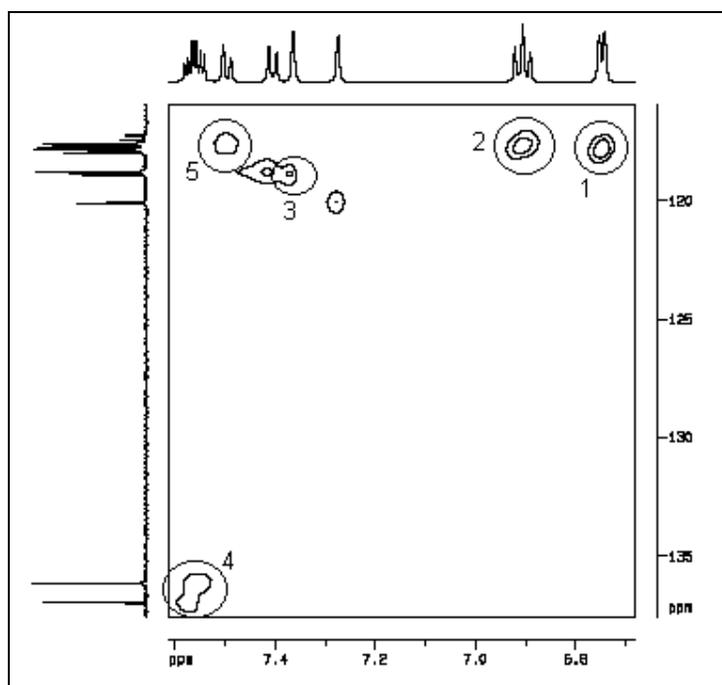
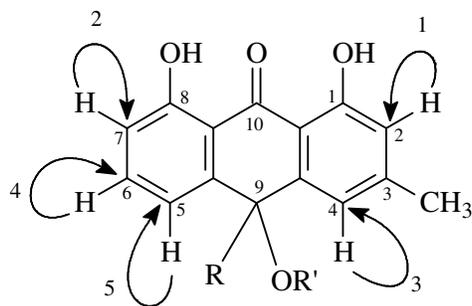


Figura 54 – Sub-Espectro (faixa 115-135 e 6,7-7,6 δ) de HMQC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

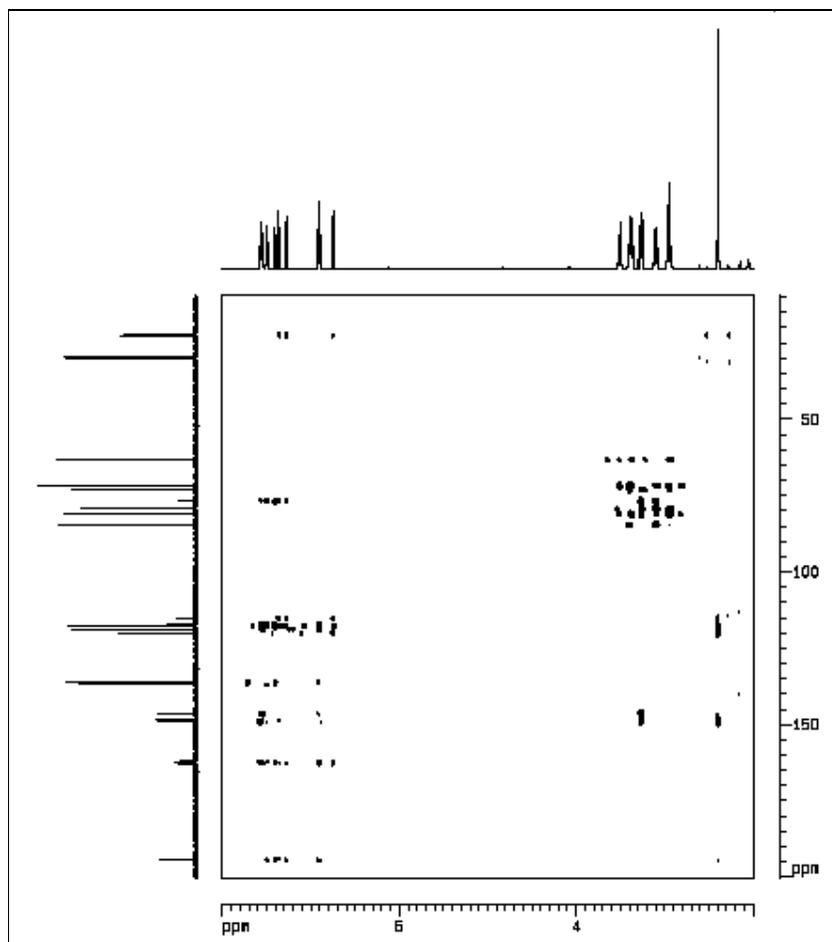


Figura 55 – Espectro de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

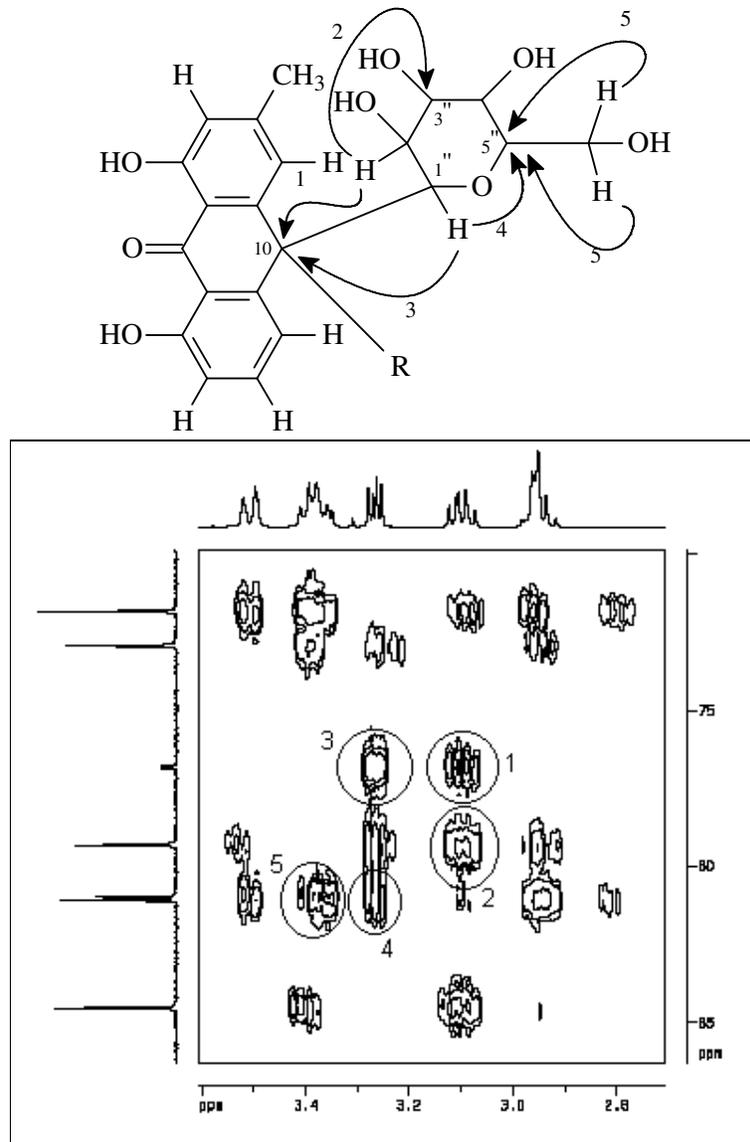


Figura 56 – Sub-espectro (faixa 70-85 e 2,6-3,6 δ) de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

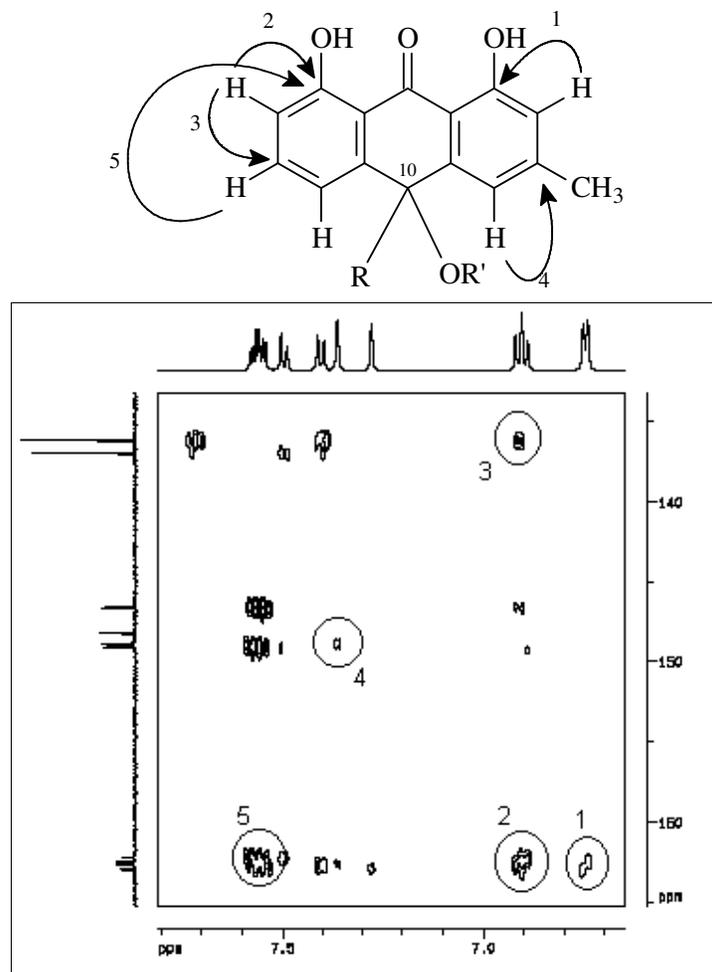


Figura 57 – Sub-espectro (faixa 135-165 e 6,7-7,8 δ) de HMBC (125, 500 MHz, acetona-deuterada) de SMCD2.

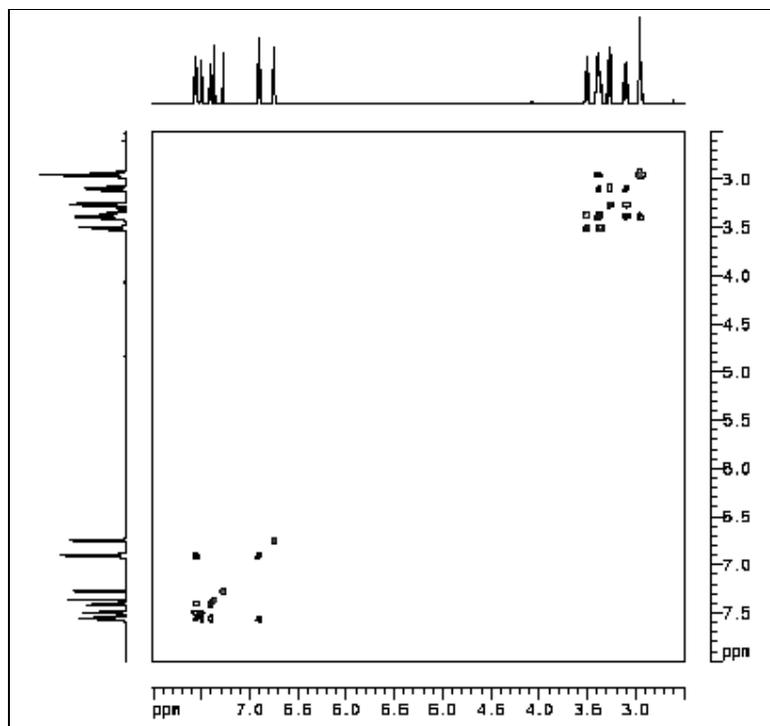


Figura 58 – Espectro de RMN (500 MHz, acetona-deuterada) COSY de SMCD2.

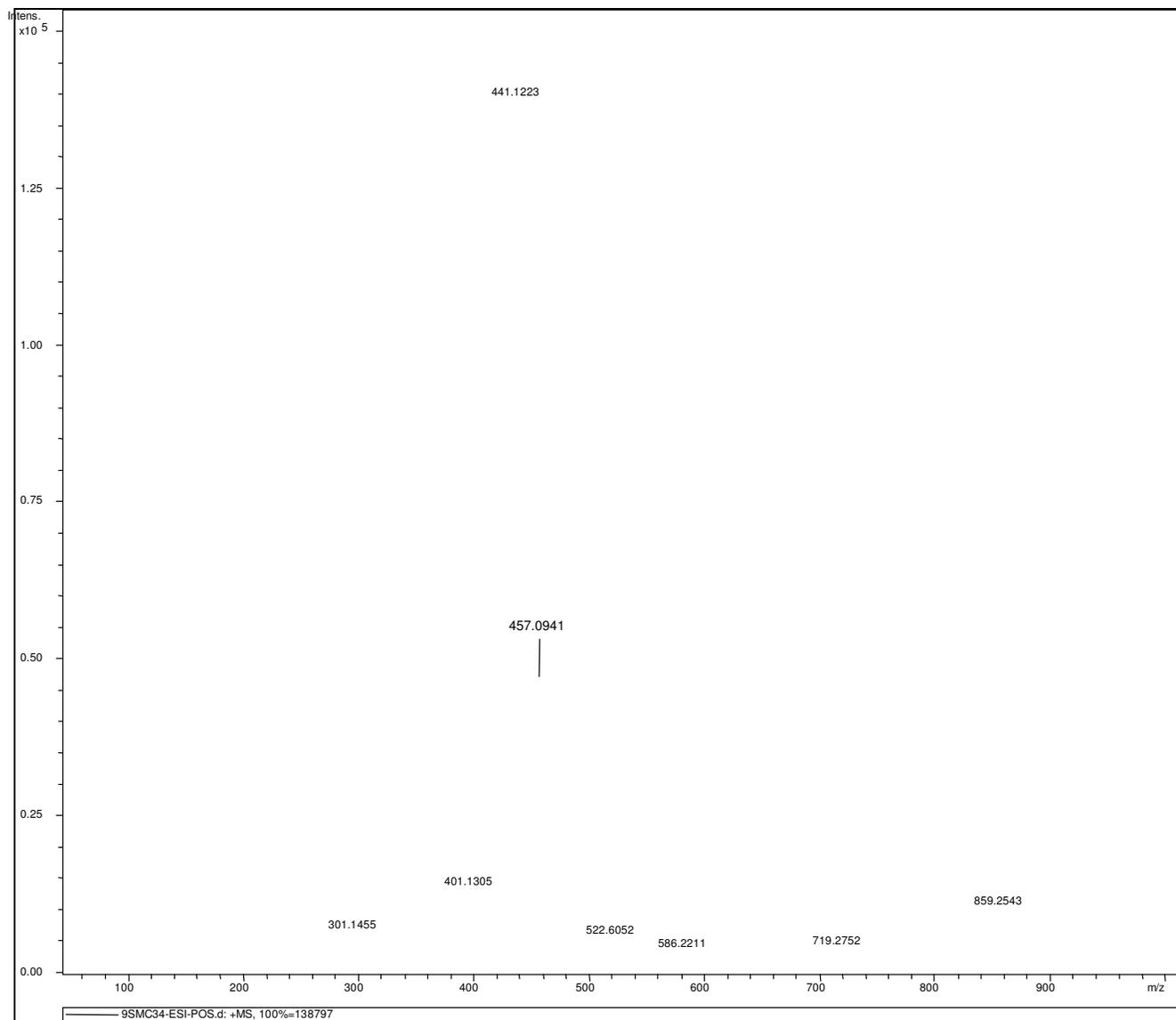


Figura 59 – Espectro de massas de alta resolução de SMCD2.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1- Material botânico

6.1.1- Coleta para o estudo dos constituintes químicos de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn

O material utilizado para o estudo fitoquímico de *S. martiana*, flores, folhas, frutos e caule, foram coletadas no dia 22 de maio de 2003 na região da Chapada do Apodi, pelos professores Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Maria Goretti de Vasconcelos Silva do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará.

A identificação botânica foi realizada pelo professor Edson de Paula Nunes, do departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A exsicata referente a coleta da espécie citada acima encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 32440.

6.2- Métodos Cromatográficos

A cromatografia de adsorção em coluna aberta foi amplamente utilizada no isolamento e na purificação dos compostos identificados de *S. martiana*. O comprimento e o diâmetro das colunas variam de acordo com as quantidades de gel de sílica e de material a ser cromatografado. A fase estacionária (adsorvente) usada foi: gel de sílica 60 da VETEC (ϕ mm 0,063 – 0,200) Cod. 1095 para cromatografia em coluna de fase normal; para cromatografia de camada delgada (CCD) utilizou-se cromatoplacas de confecção manual - gel de sílica 60G F254 VETEC Cod. 1134; e nas cromatofolhas comerciais - gel de sílica 60 (ϕ μ m 2-25) da Sigma Chemical CO (com indicador de fluorescência na faixa de 254 η m).

Os eluentes utilizados seguiram uma série eluotrópica, que podia ser tanto isocrática ou com aplicação de gradiente de polaridade. Os solventes mais usados foram; hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, todos de qualidade P.A. ou previamente destilados.

A revelação das substâncias nas cromatoplasmas foi realizada utilizando-se métodos físicos: exposição à radiação de luz ultravioleta (UV) em dois comprimentos de ondas 312 nm e 365 nm obtidos em lâmpada modelo UVLS-28 da *Sovereign Computer Systems*; e também por métodos químicos: com vapores de iodo granulado e pela pulverização com solução de vanilina (C₈H₈O₃) e ácido perclórico (HClO₄) 10% em etanol P.A., seguido de aquecimento em estufa a 100° C durante 5 min.

6.3 - Técnicas espectroscópicas

6.3.1- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) e de Carbono-13 (RMN ¹³C)

Os dados técnicos e as condições operacionais sobre os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C unidimensionais e bidimensionais foram obtidos junto ao Centro Nordestino de Aplicação e uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), coordenado pelo Prof. Dr. Edilberto Silveira Rocha do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Os espectros foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e modelo Avance DRX-500, operando na frequência do hidrogênio a 300 e 500 MHz, e na frequência do carbono a 75 e 125 MHz., respectivamente.

Na dissolução das amostras foram utilizados os seguintes solventes: clorofórmio deuterado (CDCl₃), piridina deuterada (C₅D₅N), dimetil sulfóxido deuterado (DMSO-d₆) e acetona deuterada (CD₃COCD₃).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de RMN ¹H, pelos picos dos hidrogênios pertencentes as moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,3), piridina (δ 8,7; 7,6 e 7,2), acetona (δ 2,04) e DMSO (δ 2,5). Para os espectros de RMN¹³C, os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,0), piridina (δ 123,5; 135,5 e 149,2), acetona (δ 29,8 e 206,5) e DMSO (δ 39,7).

Os conceitos de multiplicidades dos sinais dos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (singlete), d (dubleto), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete), sl (singlete largo) e dd (duplo-dubleto).

O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C foi determinado através da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer, com ângulo de nutação de 135° , CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2), e foi descrito segundo a convenção: C (carbonos não-hidrogenado); CH (carbono metínico); CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT 135° do espectro RMN ^{13}C -BB.

Usou-se também os espectros de RMN bidimensionais de correlação homonuclear (^1H , ^1H -COSY) e de correlação heteronuclear com detecção inversa (HMQC e HMBC) para associar as absorções dos hidrogênios aos seus respectivos carbonos.

6.3.2- Espectrometria de massas (EM)

Os espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos graxos extraídos das sementes de *S. martiana* foram obtidos em espectrômetro de massa VG Auto Spec da Fisions Instruments, modelo M, operando em impacto de 70 eV, acoplado a cromatógrafo a gás, modelo HP-5890 A série II (CG/EM) do Parque de Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Ceará (PADETEC), equipado com coluna capilar de sílica revestida com metilfenilsilicone apresentando 25,0 m de comprimento, 0,20 mm de diâmetro interno e 0,30 mm de diâmetro externo, mantendo-se fluxo de 1m/min. de Hélio como gás de arraste, com um gradiente de aumento de temperatura de $4^\circ\text{C}/\text{min}$. de 50 a 180°C e $20^\circ\text{C}/\text{min}$ de 180 a 280°C , sendo a temperatura do injetor de 250°C .

Para a determinação de SMCD2 utilizou-se um espectrômetro do tipo ultrOTOFO_Q ESI-TOF da Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA, condições do experimento bomba de infusão, fluxo 300 $\mu\text{L}/\text{h}$, fase móvel $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (8:2) e $\text{ACN}:\text{H}_2\text{O}$ (8:2). O modo de aquisição é via bomba de infusão, a concentração da amostra é de 10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$. O aparelho é de alta resolução necessitando de uma calibração interna e externa antes de realizar as análises. Usa-se para a calibração interna uma solução de NA-TFA e na calibração externa uma solução de formiato de sódio (10mM).

6.3.3 - Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV), foram obtidos em espectrômetros Perckin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 e espectrômetros Nicolet, modelo 400 D, da central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Utilizando-se pastilha de KBr para análise das substâncias sólidas.

6.3.4 - Ponto de fusão (pf)

Na determinação dos pontos de fusão das substâncias isoladas usou-se um aparelho de microderminação da Microquímica provido de placa aquecedora modelo MQAPF-301. A determinação foi feita a uma velocidade de aquecimento de 2° C/min.

6.4 – Análise do potencial antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de *Senna martiana*

6.4.1 – Método DPPH

100 mg de cada extrato hidroalcoólico de *Senna martiana* foi dissolvido em 1mL de metanol, então 0,1mL desta solução foi adicionada a de 3,9 mL de DPPH (1,1-dimetil-2-picril-hidrazil) com a concentração de $6,5 \times 10^{-5}$ mol/L, desta maneira mediu-se a absorbância, em um espectrofotômetro durante o intervalo de 0-300min em um comprimento de onda de 515 nm. Os resultados encontram-se na **Tabela 28, p. 125**.

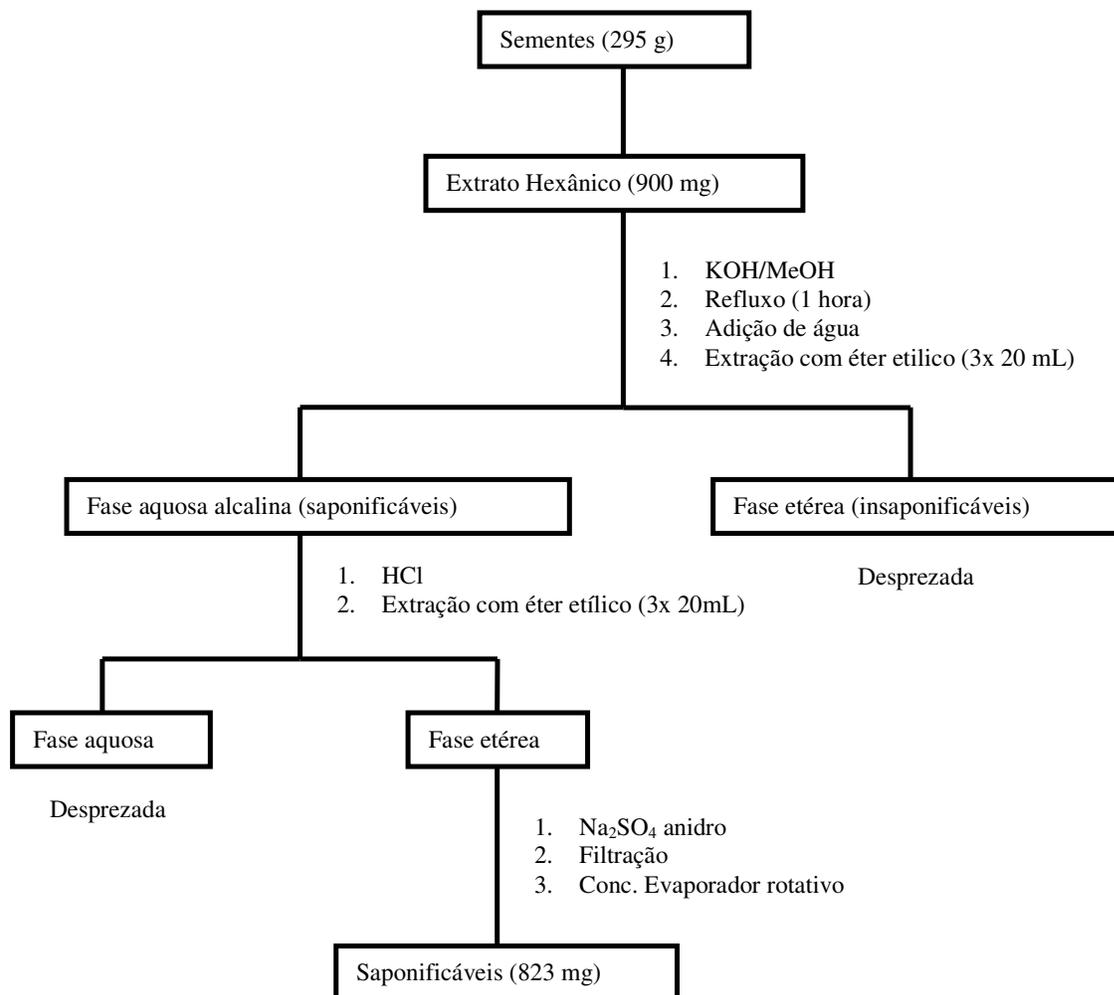
6.4.2 – Método DHBA

Cerca de 100 mg da amostra foram dissolvidas em 2 mL de metanol, centrifugada em tubos plásticos, filtrada e o solvente foi removido utilizando-se fluxo de nitrogênio. O resíduo seco foi misturado com em 1 mL de tampão fosfato, e 10 µL de uma diluição 1:5 de xantina oxidase em NH_4SO_4 (3,20 mol/L) foi adicionada para iniciar a reação. Os tubos foram incubados por 3 horas até que a reação se completasse a uma temperatura de 37 °C. depois da incubação, 20 µL da mistura reacional foi analisada por HPLC utilizando como método de detecção, absorciometria na região do ultravioleta. Os dados referentes aos resultados desde ensaio são mostrados na **Tabela 27, p. 120**.

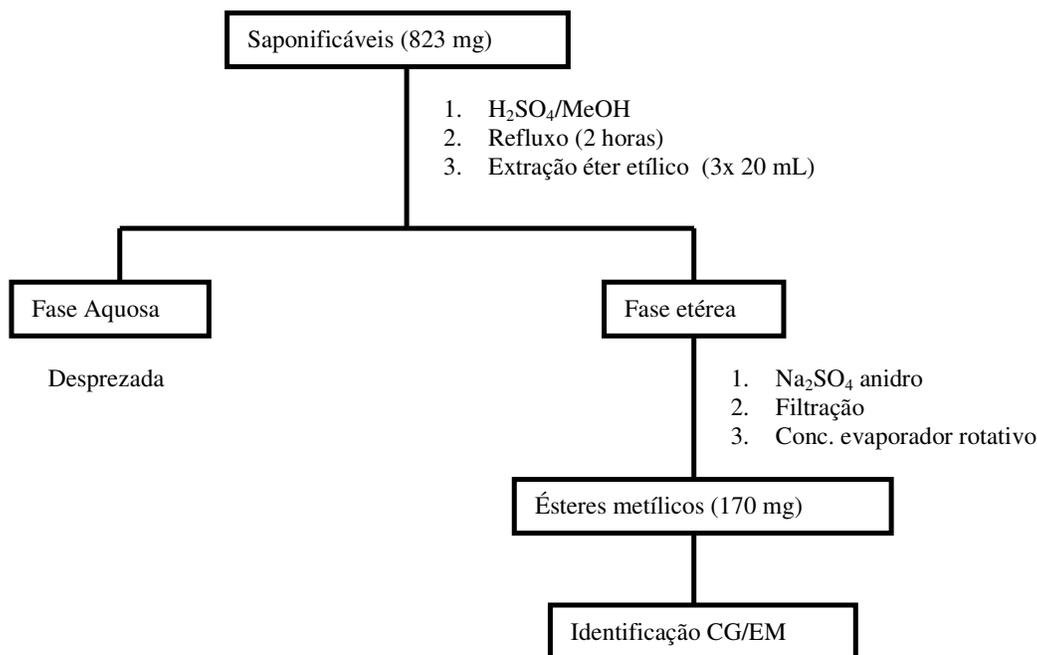
6.5 - Estudo dos constituintes fixos de *Senna martiana*

6.5.1 - Estudo dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das sementes de *Senna martiana*

As sementes (295 g) foram submetidas a extração com hexano à temperatura ambiente e o extrato foi concentrado em evaporador rotativo, produzindo 900 mg de óleo fixo para análise dos ácidos graxos através dos seus ésteres metílicos. O procedimento para obtenção do material saponificável seguido de sua esterificação está resumido nos fluxogramas 1 e 2 abaixo.



Fluxograma 01 – Saponificação do extrato hexânico das sementes de *Senna martiana*.



Fluxograma 02 – Metilação da fração saponificável das sementes de *Senna martiana*.

6.5.2 - Obtenção dos extratos etanólicos das folhas, inflorescências e caule de *Senna martiana*.

As folhas, inflorescências e caule após a coleta, foram trituradas mecanicamente e extraídas exaustivamente com etanol a temperatura ambiente, onde para a obtenção de cada extrato a torta foi desprezada. Os extratos etanólicos foram concentrados em evaporador rotativo. Os resultados estão mostrados na tabela abaixo:

Tabela 15 – Fracionamento do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*.

Material	Peso (g)	Umidade (%)	Extrato Peso (g)	Aspecto
Folhas	2150	50,5	SMF (197,95)	Verde escuro pastoso
Flores	650	60,1	SMFl 26,02	Marrom escuro pastoso
Caule	3020	23,2	SMC 70,00	Marrom escuro pastoso

6.5.3 - Preparação da areia para o tratamento cromatográfico

Tendo em vista que o processo de fracionamento utilizado frequentemente, tem como fase estacionária a sílica (SiO_2) e observando sua característica polar, ou seja, em reter uma grande quantidade de substâncias durante o seu uso, neste trabalho estudou-se a possibilidade da utilização de outros adsorventes como fase estacionária a ser usada satisfatoriamente, visando diminuir o custo no desenvolvimento do trabalho (preço da sílica para coluna: R\$ 320,00/500g). O uso de areia surgiu como uma alternativa para este problema.

A areia utilizada neste trabalho foi coletada na praia do Icaraí, sendo em seguida submetida ao tratamento químico descrito a seguir. Lavagem sucessivamente até ao ponto de não haver mais turbidez na água de lavagem. Com o objetivo de retirar toda e qualquer matéria orgânica contida na areia, esta foi tratada com uma solução de H_2SO_4 (2,0 mols/L) e KMnO_4 (1,0 mol/L) onde foi posta em contato por um período de 24 horas, após este período todo o ácido foi retirado através de inúmeras lavagens com água, até que o pH se encontrasse neutro. A areia foi posta para secar em estufa e posteriormente moída em moinho de bolas e peneirada a diversas granulometrias (60, 100, 120, 180 e 200 mesh).

6.5.4- Fracionamento preliminar do extrato do caule de *Senna martiana*.

O estudo cromatográfico iniciou-se com a utilização de uma coluna filtrante, usando-se areia como fase estacionária, do extrato etanólico do caule de *Senna martiana* (SMC). O extrato (70 g) foi pulverizado em gral de porcelana e acondicionado sobre 955 g de areia (60 mesh) previamente tratada. A farofa então foi adsorvida em 2,0 kg de areia (60 mesh) em coluna cromatográfica. Utilizou-se os seguintes solventes em ordem crescente de polaridade como eluentes: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros. Todas as frações obtidas foram concentradas em evaporador rotativo. A quantidade de material de cada fração está descrita na **Tabela 16**.

Tabela 16 – Dados oriundos do tratamento cromatográfico de SMC.

Eluentes	Frações (rótulo)	Peso (g)
Hexano	SMCH	13,9
	SMCD	10,7
Diclorometano		
Acetato de etila	SMCA	1,5
Metanol	SMCM	34,4
Total		60,5
Rendimento (%)		86,4

6.5.5- Tratamento cromatográfico de SMCH de *Senna martiana*

O tratamento cromatográfico do extrato etanólico de *S. martiana* forneceu a fração SMCH (13,9 g) que foi adsorvida em 176,1g de areia (100 mesh), pulverizada em gral de porcelana e devidamente acondicionada sobre 350g de areia (100 mesh) em coluna cromatográfica. Usando como solvente hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em combinações binárias seguindo uma escala crescente de polaridade. As frações de 1` a 4, eluídas com hexano, foram coletadas em um volume de 50 mL, e as demais em volumes variados entre 50 e 100 mL. As frações 5 e 6 foram eluídas com hexano/diclorometano (4:1), 7 e 8 com hexano/diclorometano (1:1), 9 com hexano/diclorometano (3:7), 10 com diclorometano, 11 com dilorometano/acetato de etila (4:1), 12 e 13 com diclorometano/acetato de etila (1:1), 14 com diclorometano/acetato de etila (3:7), 15 e 16 com acetato de etila, 17 com acetato de etila/metanol (4:1) e a fração 18 com metanol. As frações coletadas, encontram-se descritas na **Tabela 18**, as amostras foram reunidas segundo os resultados observados pela análise em CCD de acordo com a semelhança dos Rf.

Tabela 18 - Dados resultantes do tratamento cromatográfico em areia da fração SMCH do caule de *Senna martiana*.

Fração	Peso (g)
SMCH1 (1-4)	0,986
SMCH1 (5-6)	0,428
SMCH1 (7-8)	2,678
SMCH1 (9-10)	3,984
SMCH1 (11-12)	2,649
SMCH1 (13-18)	1,263
Total	11,988
Rendimento (%)	86,2

6.5.6- Fracionamento cromatográfico da fração SMCH1/1-4

A fração SMCH1/1-4 (986 mg) (**Tabela 19**), foi pulverizada em gral sendo adsorvida em 3,5 g de gel de sílica, e em seguida acondicionada sobre uma camada de 70 g de sílica gel, utilizada como fase estacionária em coluna cromatográfica. Utilizou-se como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias. As frações foram eluídas variando-se a proporção entre os eluentes de maneira a se obteve um resultado satisfatório. Depois de analisadas em cromatografia em camada delgada (CCD) foram reunidas de acordo com a semelhança dos Rf.

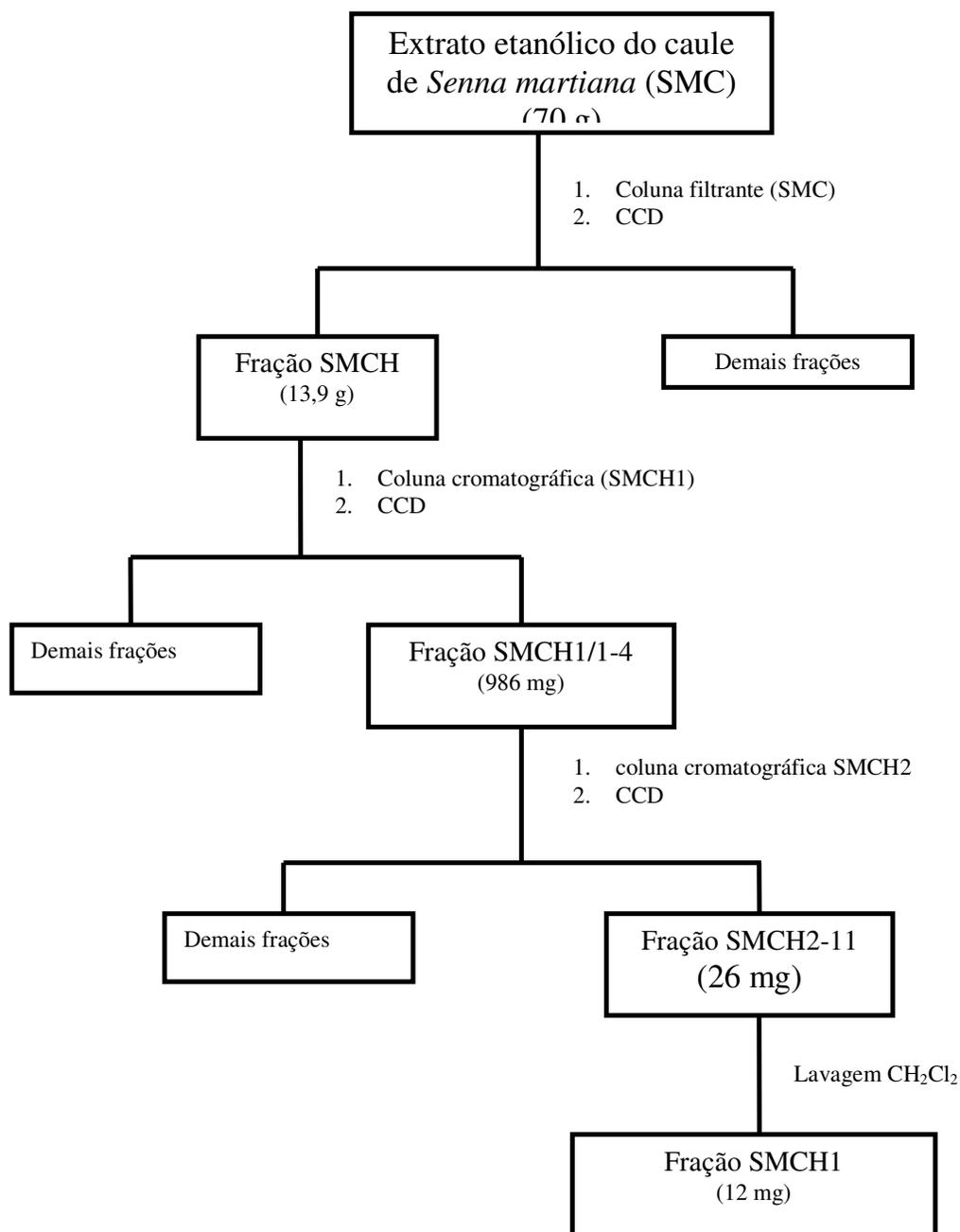
Tabela 19 - Dados resultantes do tratamento cromatográfico em gel de sílica da fração SMCH1/1-4 do caule de *Senna martiana*.

Eluente	Frações	Peso (mg)
Hexano	1-6	57
Hexano/diclorometano (9:1)	7	52
Hexano/diclorometano (8:2)	8	41
Hexano/diclorometano (1:1)	9-10	84
Hexano/diclorometano (2:8)	11-13	69
Diclorometano	14-15	85
Diclorometano/acetato de etila (9:1)	16	63
Diclorometano/acetato de etila (1:1)	17-19	154
Acetato de etila	20	105
Acetato de etila/metanol (8:2)	21-23	123
Acetato de Etila/metanol (1:1)	24	68
Metanol	25	54
Total		955
Rendimento (%)		96,9 %

6.5.7- Isolamento de SMCH2-11A a partir de SMCH1/1-4

O tratamento cromatográfico da fração SMCH1/1-4, forneceu entre outras, a fração 11 (26 mg), denominada SMCH2-11, oriunda da eluição com hexano/diclorometano (2:8). Esta fração apresentava-se como uma mistura de um sólido amorfo branco e uma substância de aspecto oleoso amarelo, que por sua vez, também estava presente em outras frações.

Lavagens sucessivas com diclorometano da fração SMCH2-11, resultou na obtenção da fração SMCH2-11A (12mg), denominada SMCH1, a qual se apresentava como um sólido amorfo branco solúvel apenas em piridina e apresentando uma faixa de fusão entre 77 - 79 °C. O isolamento desta fração pode ser resumido no Fluxograma 3.



Fluxograma 3 – Obtenção de SMCH1 a partir do tratamento cromatográfico de SMC

6.5.8 – Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/7-8

O tratamento cromatográfico da fração SMCH forneceu entre outras as frações 7 e 8, que ao serem analisadas por CCD apresentaram-se semelhantes, desta forma foram reunidas e denominada SMCH1/7-8 (2,4 g), esta apresentava-se com um aspecto de graxa, de cor marrom.

A fração SMCH1/7-8 foi macerada até a sua completa pulverização em gral sendo consumido na sua adsorção 1,2 g de gel de sílica, a mesma foi acondicionada sobre uma camada de 46 g de gel de sílica em coluna cromatográfica. Os eluentes usados no processo cromatográfico obedeceram uma ordem crescente de polaridade sendo usados puros ou em combinações binárias. A **Tabela 20**, mostra as reuniões que se deram com observação dos Rf das frações analisadas.

Tabela 20 – Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/7-8.

Eluentes	Fração	Peso (mg)
Hexano	SMCH3 (1-6)	45
Hexano/diclorometano (9:1)	SMCH3 (7-12)	87
Hexano/diclorometano (8:2)	SMCH3 (13-17)	107
Hexano/diclorometano (1:1)	SMCH3 (18-20)	128
Hexano/diclorometano (3:7)	SMCH3 (21-26)	154
Diclorometano	SMCH3 (27-45)	193
Diclorometano/acetato de etila (9:1)	SMCH3 (46-61)	325
Diclorometano/Acetato de etila (7:3)	SMCH3 (62-70)	106
Diclorometano/acetato de etila (1:1)	SMCH3 (71-83)	73
Acetato de etila	SMCH3 (84-95)	183
Acetato de etila/metanol (1:1)	SMCH3 (96-120)	343
Metanol	SMCH3 (120-145)	61
Total		2005
Rendimento		74,9 %

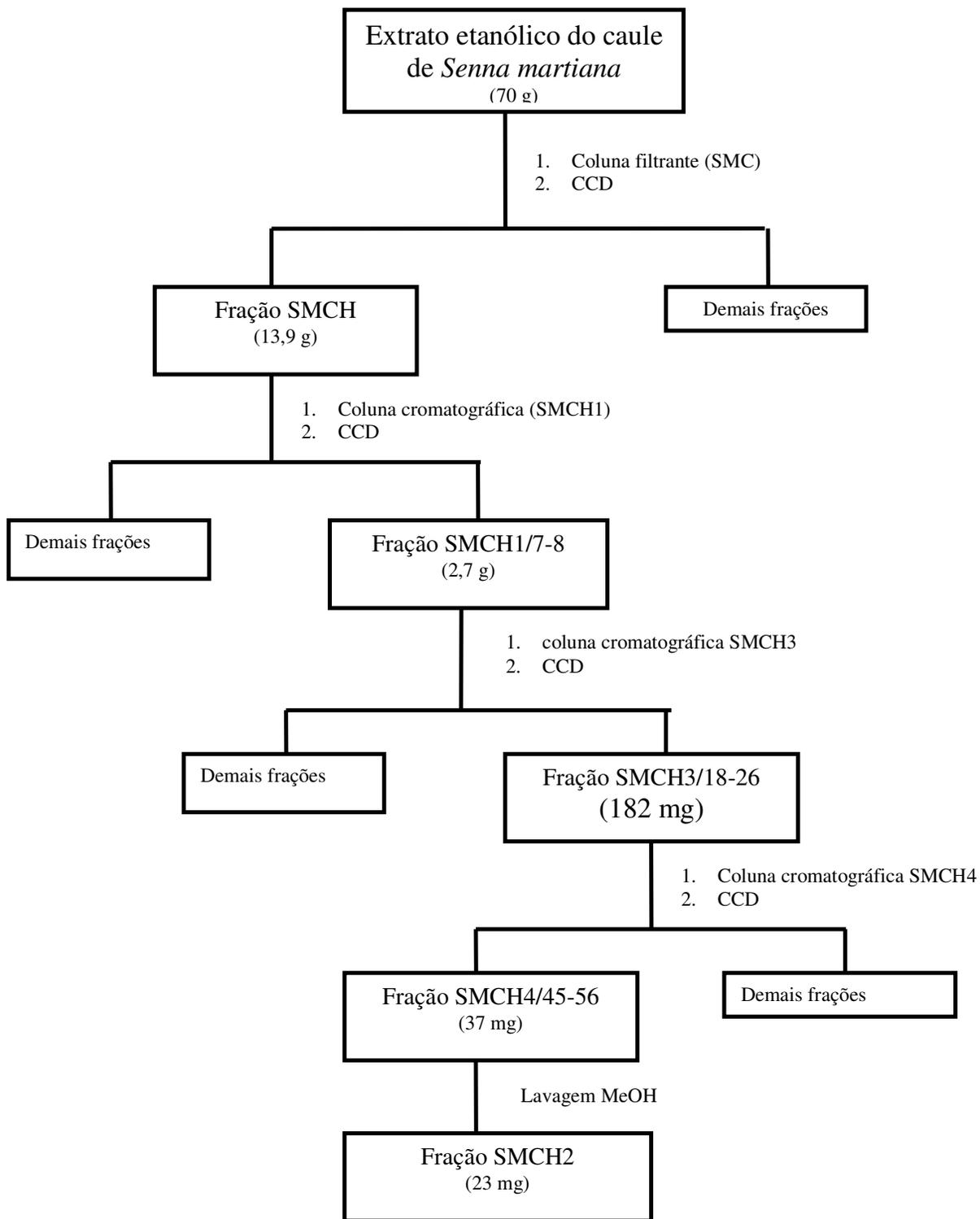
As frações 18 – 26 apresentaram-se semelhantes tanto visualmente quanto pela análise por CCD de seus Rf. Desta forma estas duas frações foram reunidas dando origem a uma nova fração denominada SMCH3/18-26 (282 mg).

6.5.9 – Isolamento de SMCH4/45-61A a partir de SMCH3/18-26

A fração SMCH3/18-26 (282 mg) foi então adsorvida em 250 mg de sílica gel, pulverizada em gral de porcelana e colocada sobre 50 g de sílica em coluna cromatográfica. Utilizou-se como solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em combinações binárias.

O tratamento cromatográfico de SMCH3/18-26, forneceu entre outras as frações 45 - 61 (37 mg), denominada SMCH4/45-61, que ao serem analisadas em CCD mostraram-se como uma mistura. O procedimento então adotado foi a lavagem exaustiva do material com metanol que resultou na fração SMCH4/45-61A (23 mg), denominada de SMCH2, que apresentou-se como um sólido cristalino, solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão de 131,3 – 132,8 °C.

O tratamento e obtenção de SMCH2 encontra-se resumido no **Fluxograma 4, p. 120**.



Fluxograma 4 – Obtenção da fração SMCH2 obtida a partir do tratamento cromatográfico do caule de *S. martiana*.

6.5.10 – Tratamento cromatográfico da fração SMCH1/9-10

O fracionamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de *S. martiana* forneceu entre outras a fração SMCH1/9-10 (3,9 g), esta foi adsorvida em 60 g de sílica gel, pulverizada em gral de porcelana e devidamente acondicionado sobre 100 g de sílica gel em comluna cromatográfica. Utilizou-se como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias. A **Tabela 21**, mostra o fracionamento obtido do tratamento de SMCH1/9-10.

Tabela 21 – fracionamento cromatográfico de SMCH1/9-10.

Eluentes	Frações	Peso (mg)
Hexano/diclorometano (9:1)	08-16	113
Hexano/diclorometano (8:2)	17-31	237
Hexano/diclorometano (6:4)	32-53	285
Hexano/diclorometano (4:6)	54-66	567
Diclorometano	67-75	438
Diclorometano/acetato de etila (8:2)	76-80	395
Diclorometano/acetato de etila (1:1)	81-90	423
Acetato de etila	91-103	461
Metanol	104-113	372
Total		3291
Rendimento		82,6 %

Após a análise por CCD, as frações foram reunidas de acordo com a semelhança de seus Rf. As frações 55-64 foram reunidas e denominadas SMCH6/55-64 (198 mg).

6.5.11 – Isolamento de SMCH7/25-39A

A fração SMCH6/55-64 (538 mg), **Tabela 21, p. 106**, foi acondicionada em 170 mg de sílica gel, e colocada sobre 40 g de sílica gel em coluna cromatográfica. Os solventes utilizados foram hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias, como mostrado na **Tabela 22**.

Tabela 22 – Tratamento cromatográfico da fração SMCH6/55-64.

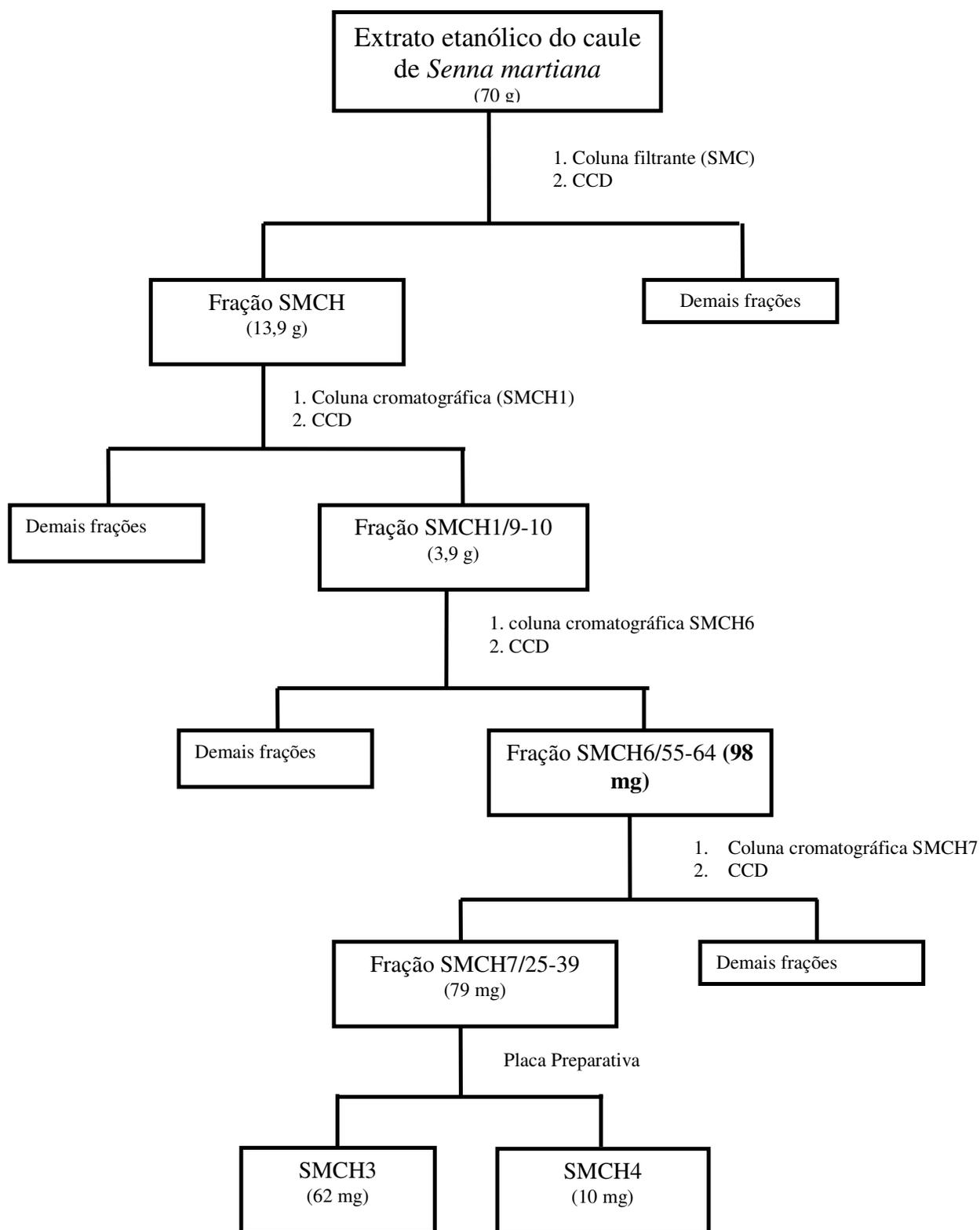
Eluentes	Frações	Peso (mg)
Hexano	01-10	23
Hexano/diclorometano (8:2)	11-56	85
Hexano/diclorometano (1:1)	57-66	63
Hexano/diclorometano (3:7)	67-76	69
Diclorometano	77-85	53
Diclorometano/acetato de etila (1:1)	86-93	72
Acetato de etila	94-103	71
Metanol	104-110	56
Total		492
Rendimento		91,4 %

Após a análise das frações por CCD, foi possível a reunião das frações que apresentavam Rf semelhantes, a análise das frações 25-39 por CCD, mostrou-se como duas manchas separadas por meio centímetro ao ser eluída com hexano/diclorometano (8:2), então elas foram reunidas e denominadas de SMCH7/25-39 (79 mg).

6.5.12 – Isolamento de SMCH3 e SMCH4

A fração SMCH7/25-39 (79 mg) foi então submetida a separação cromatográfica utilizando-se como técnica a cromatografia em placa preparativa. As placas foram previamente deixadas na estufa à 120°C por 10 min, a amostra foi dissolvida na menor quantidade de solvente (diclorometano) e foi realizada a aplicação do material em quatro placas preparativas, sendo que

cada placa era usada duas vezes, primeiramente a eluição se dava em um sentido e em seguida os spots eram aplicados no lado oposto e a placa era eluída mais uma vez. A observação da placa após ser eluída em hexano/diclorometano (8:2) apresentava-se de forma bastante resolvida, pois as faixas podiam ser vistas naturalmente apresentando uma distância, considerável (1,0 cm) entre elas, por este motivo não se fazia a necessidade de utilização de métodos físicos de revelação. Desta forma as faixas foram retiradas das placas por raspagem e deixadas em contato com diclorometano em um erlemayer por 30 min, depois filtrado e submetido a evaporação em evaporador rotativo à pressão reduzida. O tratamento de SMCH7/25-39 forneceu dois cristais, ambos em forma de agulhas, no entanto um amarelo com uma faixa de fusão de 205,8 – 206,2 °C e outro laranja apresentando como faixa de fusão 196,4 – 196,2 °C. Após serem separadas por placa preparativa as amostras foram denominadas SMCH3 (62 mg) e SMCH4 (10 mg). O **Fluxograma 5, p. 109**, ilustra resumidamente o tratamento cromatográfico para a obtenção de SMCH3 e SMCH4.



Fluxograma 5 – Obtenção e isolamento de SMCH3 e SMCH4 a partir do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*.

6.5.13 – Tratamento cromatográfico de SMCD de *Senna martiana*

O fracionamento cromatográfico do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*, forneceu entre outras a fração diclorometânica (10,7 g) denominada SMCD. Esta fração foi então puerisada com 30 g de gel de sílica e em seguida acondicionada sobre uma camada de 100 g de gel de sílica, como fase estacionária em uma coluna cromatográfica. O fracionamento cromatográfico foi realizado utilizando-se como eluentes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias, obedecendo um gradiente crescente de polaridade. Após o fracionamento e evaporação do solvente, as frações foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com os valores de R_f obtidos. O tratamento cromatográfico de SMCD é descrito na **Tabela 23**.

Tabela 23 – Tratamento cromatográfico de SMCD.

Eluente	Frações	Peso (g)
Hexano	1 – 5	0,228
Hexano/diclorometano (4:1)	6 – 15	0,326
Hexano/diclorometano (1:1)	16 – 20	1,051
Hexano/diclorometano (1:4)	21 – 25	0,987
Diclorometano	26 – 33	1,326
Diclorometano/Acetato de etila (4:1)	34 – 39	0,438
Diclorometano/Acetato de etila (1:1)	40 – 45	0,725
Diclorometano/Acetato de etila (1:4)	46 – 51	1,829
Acetato de etila	52 – 57	0,835
Acetato de etila/Metanol (4:1)	58 – 64	0,901
Acetato de etila/Metanol (1:1)	65 – 70	0,838
Acetato de etila/Metanol (4:1)	71 – 76	0,635
Metanol	76 – 80	0,328
Total		10,447
Rendimento		97,6%

6.5.14 – Tratamento cromatográfico de SMCD1/25-32

Após o tratamento cromatográfico de SMCD, as frações obtidas foram então analisadas por CCD, as que apresentaram Rf semelhante foram então reunidas. Dentre estas, as frações 25 – 32 (2,1 g) depois de reunidas foram denominadas SMCD1/25-32. Esta foi então pulverisada em sílica gel (10 g) e cromatografada utilizando-se como fase fixa sílica gel (55 g). Durante este procedimento hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, foram utilizados como eluentes, de forma pura e em combinações binárias, de forma a se obter um aumento gradativo na polaridade do eluente. O fracionamento de SMCD1/25-32 é mostrado na **Tabela 24**.

Tabela 24 – Tratamento cromatográfico de SMCD1/25-32.

Eluente	Frações	Peso (mg)
Hexano	1 – 3	45
Hexano/diclorometano (4:1)	4 – 10	102
Hexano/diclorometano (1:1)	11 – 16	249
Hexano/diclorometano (1:4)	17 – 20	183
Diclorometano	21 – 27	128
Diclorometano/Acetato de etila (4:1)	28 – 38	137
Diclorometano/Acetato de etila (1:1)	39 – 43	163
Diclorometano/Acetato de etila (1:4)	44 – 54	153
Acetato de etila	55 – 60	165
Acetato de etila/Metanol (4:1)	61 – 71	108
Acetato de etila/Metanol (1:1)	71 – 83	185
Metanol	84 – 95	164
Total		1882
Rendimento		89,6 %

6.5.15 – Tratamento cromatográfico de SMCD2/21-33

O tratamento cromatográfico da fração SMCD1/25-32 forneceu entre outras, as frações 21 – 33 (110 mg), que ao serem analisadas por CCD, apresentaram-se com mesmo Rf. Estas foram então reunidas e denominadas SMCD2/21-33. Esta fração após ser pulverisada em grau de porcelana com

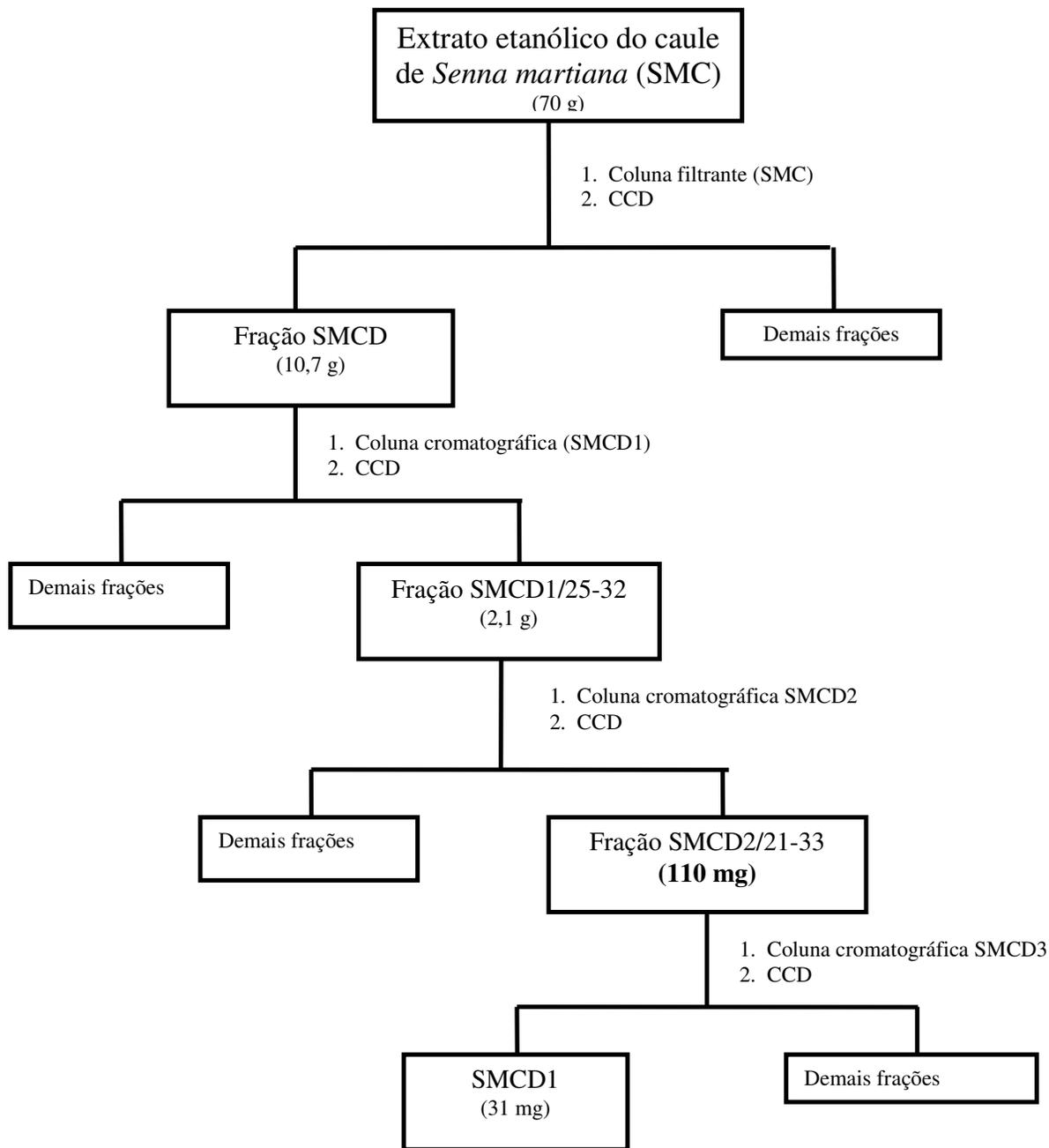
3,0 g de sílica gel foi então cromatografada utilizando-se como fase estacionária sílica gel (40 g). Os eluentes foram empregados de forma pura e em combinações binárias em ordem crescente de polaridade. Os resultados do fracionamento podem ser resumidos na **Tabela 25**.

Tabela 25 – Fracionamento cromatográfico da fração SMCD2/21-33.

Eluentes	Frações	Peso (mg)
Diclorometano	1 – 10	8
Diclorometano/Acetato de etila (4:1)	11 – 20	16
Diclorometano/Acetato de etila (1:1)	21 – 25	18
Diclorometano/Acetato de etila (1:4)	26 – 31	17
Acetato de etila	32 – 36	13
Acetato de etila/metanol (4:1)	37 – 41	11
Acetato de etila/metanol (1:1)	42 – 46	12
Metanol	47 – 55	8
Total		103
Rendimento		93,6 %

6.5.16 – Isolamento de SMCD1

Através do tratamento cromatográfico de SMCD2/21-33 foi possível obter as frações 23 – 29 que ao serem analisadas por CCD, mostraram-se semelhantes e com grau de pureza apreciável, sendo então reunidas e denominadas SMCD3/23-29 (31 mg). Esta fração apresentou-se como cristais amorfos de cor laranja com faixa de fusão de 221-223 °C, solúvel em acetona, e passou a ser denominada SMCD1. A obtenção de SMCD1 está resumida no **Fluxograma 6**.



Fluxograma 6 – Obtenção e isolamento de SMCD1 a partir do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*.

6.5.17 – Tratamento cromatográfico de SMCD1/47-50

Com o tratamento cromatográfico da fração SMCD do extrato etanólico de *Senna martiana* (descrito no item 6.5.13), foi possível obter entre outras as frações 47 - 50, que ao serem analisadas por CCD, mostraram-se semelhantes e desta forma foram reunidas, dando origem a fração denominada SMCD1/47-50 (715 mg).

A fração SMCD1/47-50 foi então pulverizada em grau de porcelana utilizando-se 5 g de sílica gel, em seguida fracionada em coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária 20 g de sílica gel. Os eluentes empregados neste tratamento foram hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, de forma pura ou em combinações binárias, obedecendo um aumento gradativo da polaridade do eluente. O tratamento cromatográfico de SMCD1/47-50 é mostrado na **Tabela 26**.

Tabela 26 – Tratamento cromatográfico de SMCD1/47-50.

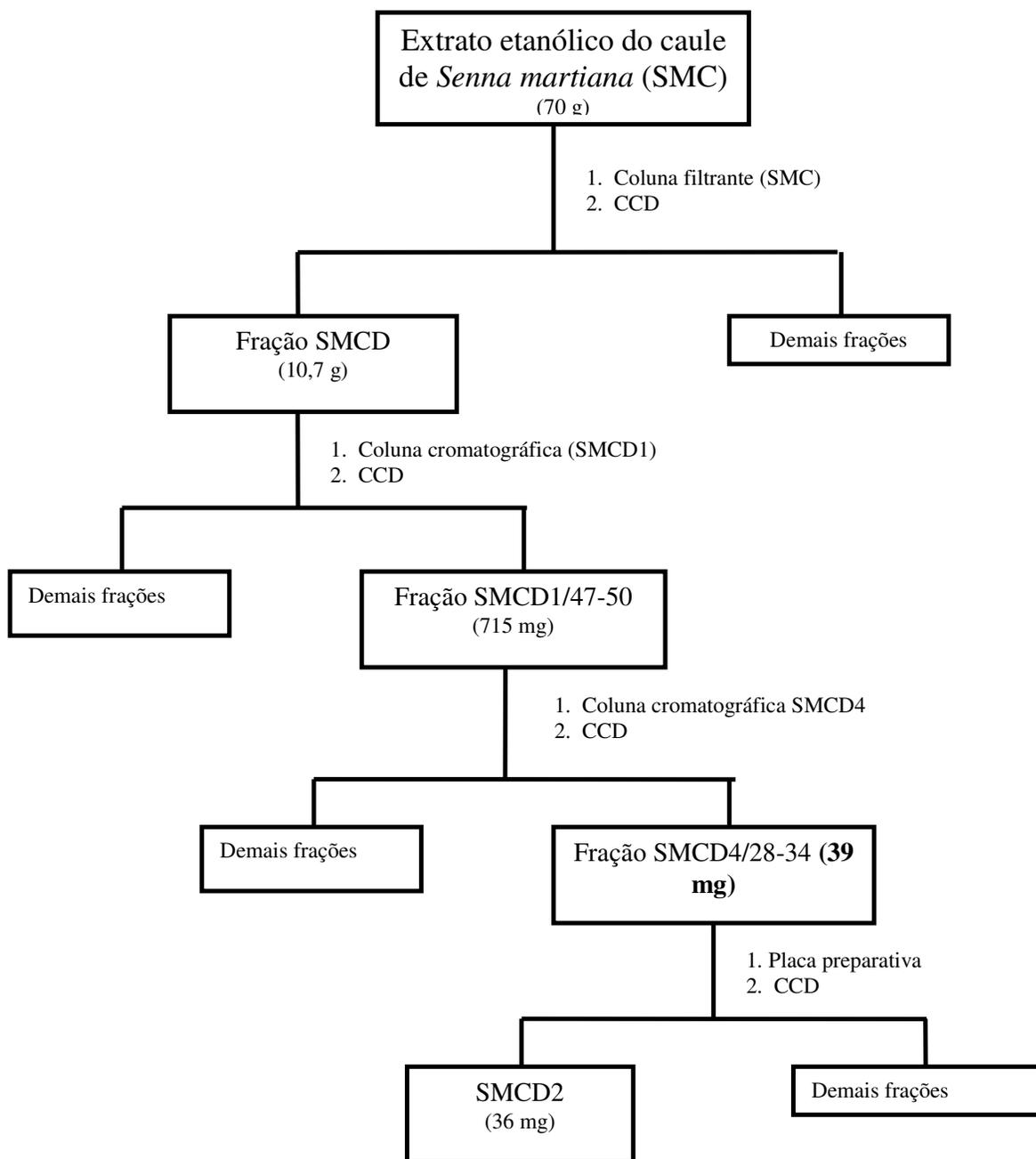
Eluente	Frações	Peso (mg)
Hexano	1 – 5	23
Hexano/diclorometano (1:1)	6 – 10	59
Diclorometano	11 – 17	123
Diclorometano/acetato de etila (1:4)	18 – 25	85
Diclorometano/acetato de etila (1:1)	26 – 37	73
Diclorometano/acetato de etila (4:1)	38 – 45	56
Acetato de etila	46 – 51	62
Acetato de etila/metanol (1:4)	52 – 57	71
Acetato de etila/metanol (1:1)	58 – 63	86
Metanol	63 - 65	36
Total		674
Rendimento		94,3 %

6.5.18 – Isolamento de SMCD2

O fracionamento de SMCD1/47-50, forneceu entre outras as frações 28-34, que se mostraram semelhantes segundo a análise por CCD. Estas foram então reunidas e denominadas SMCD4/28-34 (39 mg), a análise por CCD mostrou que esta fração apresentava-se pura para análise espectroscópica.

Sendo assim esta foi então cromatografada em placa preparativa utilizando-se como eluente diclorometano/acetona (3:2). Após o tratamento cromatográfico obteve-se uma substância de coloração alaranjada e de aspecto oleoso denominado SMCD2 (36 mg).

A obtenção de SMCD2, encontra-se resumida no **Fluxograma 7**.



Fluxograma 7 – Obtenção e isolamento de SMCD2 a partir do extrato etanólico de *Senna martiana*.

7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Senna martiana*

7.1 – Resultados dos testes de capacidade antioxidante

Foram realizados os testes de atividade antioxidante com os extratos hidroalcoólicos das folhas, flores e caule de *Senna martiana* fazendo uso de duas técnicas, DPPH e DBHA.

7.1.1 – Método DHBA

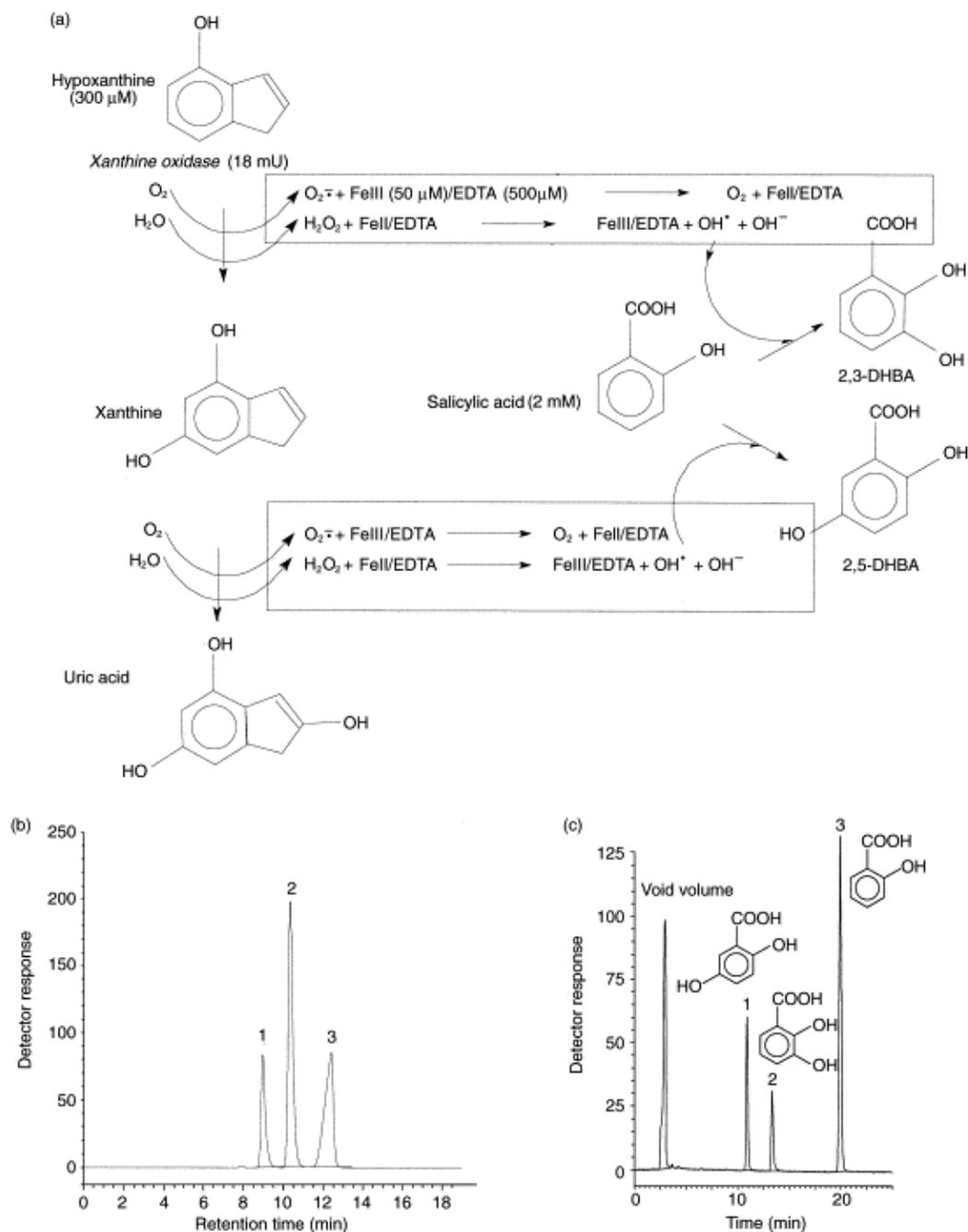
A capacidade antioxidante medida pela técnica DHBA, consiste em um sistema enzimático contendo a hipoxantina como um substrato e uma enzima, xantina oxidase, esta provoca a oxidação da hipoxantina em duas etapas até a formação do ácido úrico. Em ambas as etapas de oxidação há liberação de espécies radicalares, que por sua vez reagem com o ácido salicílico, presente no meio, e levam a formação dos ácidos benzóicos dihidroxilados (2,3-DHBA e 2,5-DHBA). Os produtos finais desta reação foram previamente quantificados em um experimento padrão, via CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

Desta forma é possível inserir no sistema uma substância que tenha um potencial antioxidante para ser avaliada. Portanto, se a referida substância conseguir competir com o ácido salicílico na captura das espécies radicalares ou inibir a oxidação da hipoxantina atuando sobre a enzima, menores quantidades de DHBA e ácido úrico serão formadas, indicando uma capacidade antioxidante para a substância testada. Este método pode ser resumido no **Esquema III, pg. 119**.

7.1.2 – Preparação do ensaio

A mistura reacional consiste em uma quantidade relevante da amostra (~ 10 mg) dissolvida em 2 mL de metanol, em seguida é centrifugada filtrada e o solvente removido com fluxo de nitrogênio. Sobre o resíduo seco é então posto 1,0 mL de um tampão fosfato, 10 µL de uma diluição 1:5 de xantina oxidase em NH_4SO_4 (3,2 mol/L). Retira-se então uma alíquota de 0,06 mL desta mistura e adiciona-se sobre 0,06 mL de uma solução de hipoxantina (10 mmol/L), quando a reação então deverá ser iniciada. Os tubos foram incubados por 3 horas até que a reação se completasse a uma temperatura de 37° C depois da incubação, 20 µL da mistura reacional foi analisada por CLAE, utilizando como método de detecção absorciometria na região do ultravioleta.

Os testes pelo método do DHBA foram realizados no German Cancer Center – Heidelberg-Alemanha pela Profa. Maria Teresa Sales Trevisan, cujos resultados encontram-se na **Tabela 60, pg. 120**.



Esquema III - Esquema para a geração de espécies reativas de oxigênio no sistema hipoxantina/xantina oxidase: (a) Reação; (b) Cromatograma do HPLC da Hipoxantina (1), dos produtos hidroxilados da xantina (2) e do ácido úrico (3); (c) ácido salicílico, 2,3-DHBA e 2,5-DHBA.

Tabela 27 - Porcentagem de inibição dos extratos estudados sobre ácido salicílico na formação do 2,3-DHBA e 2,5-DHBA (%)

Concentração do extrato (mg/mL)	<i>Senna martiana</i> (porcentagem de inibição)		
	Folhas (SMF)	Flores (SMFI)	Caule (SMC)
0,125	2	0	1
0,250	0	2	0
0,500	5	3	2
1,250	13	28	15
2,500	44	52	28

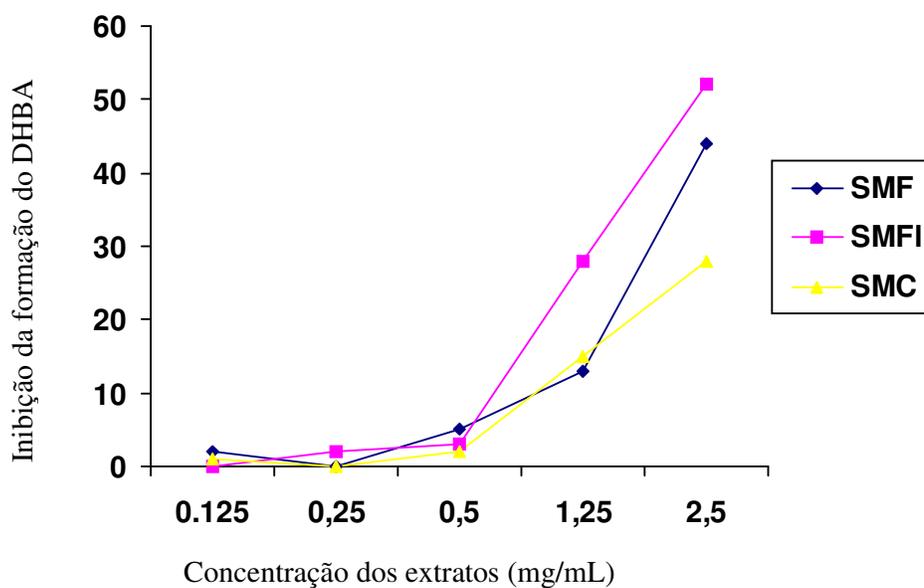


Figura 60 – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante de *Senna martiana* pelo método DHBA

7.1.3 – Método DPPH

A análise antioxidante por este método consiste na captura por uma substância com potencial antioxidante do radical livre DPPH (1,1-dimetil-2-picril-hidrazil).

Substâncias que apresentam um potencial antioxidante, tem como propriedade característica a capacidade seqüestradora de radicais livres. Ao se adicionar uma substância que possui atividade antioxidante a uma solução contendo radicais livres (DPPH), ocorre um decréscimo da absorbância inicial indicando uma diminuição da quantidade de radicais livres. Quanto maior o potencial antioxidante de determinada substância maior será a captura de radicais livres, e conseqüentemente maior o decréscimo na absorbância da solução. O potencial antioxidante é medido pelo índice de varredura (%IV), quanto maior o valor do índice maior a capacidade seqüestradora da substância em questão. O índice de varredura é calculado de acordo com a seguinte expressão:

$$IV\% = \frac{(Abs_{DPPH} - Abs_{SUBST}) \times 100}{Abs_{DPPH}}$$

Onde: Abs_{DPPH} = absorbância da solução inicial do DPPH

Abs_{SUBST} = absorbância da substância após 300 minutos

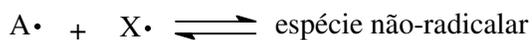
7.1.4 – Preparação do ensaio

Em 3,9 mL de uma solução de DPPH ($6,5 \times 10^{-5}$ mol/L), adiciona-se 0,1 mL de uma solução teste (1 mg/mL), e em um espaço de 300 minutos é feito a leitura da absorbância em um comprimento de onda de 515 nm.

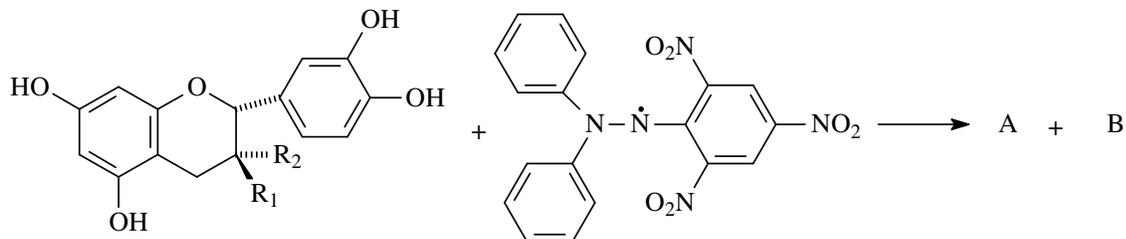
Os **Esquemas IV, V e VI, p. 122, 123 e 124**, propõem como uma substância que possui uma atividade antioxidante atua na captura do radical livre, exemplificando com a catequina ou epicatequina [SANG, 2002].

Esquema IV – Reação entre catequina e epicatequina com o radical livre DPPH [SANG, 2002].

Reação Geral:

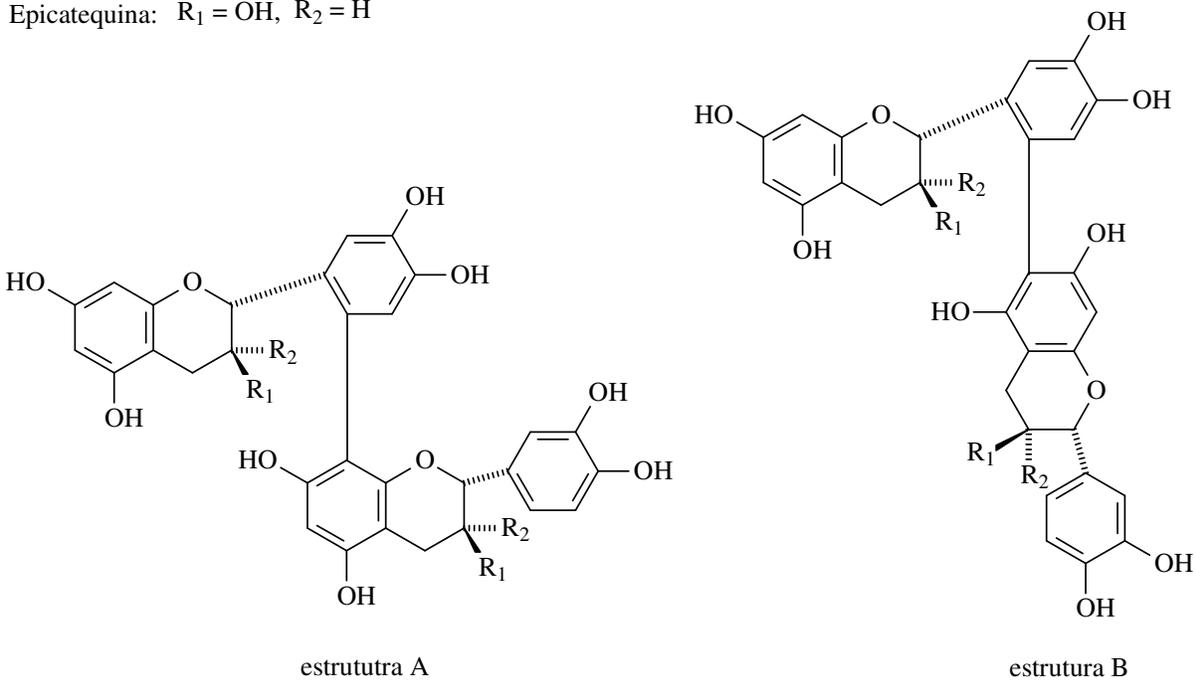


Reação específica:

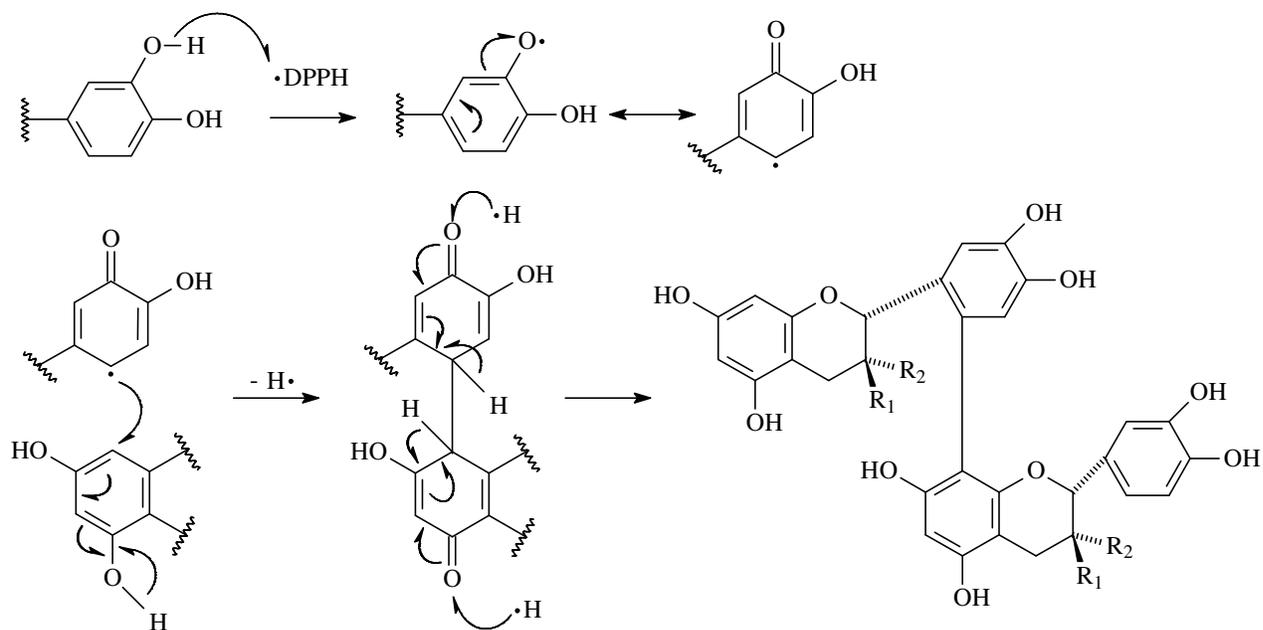


Catequina: R₁ = OH, R₂ = H

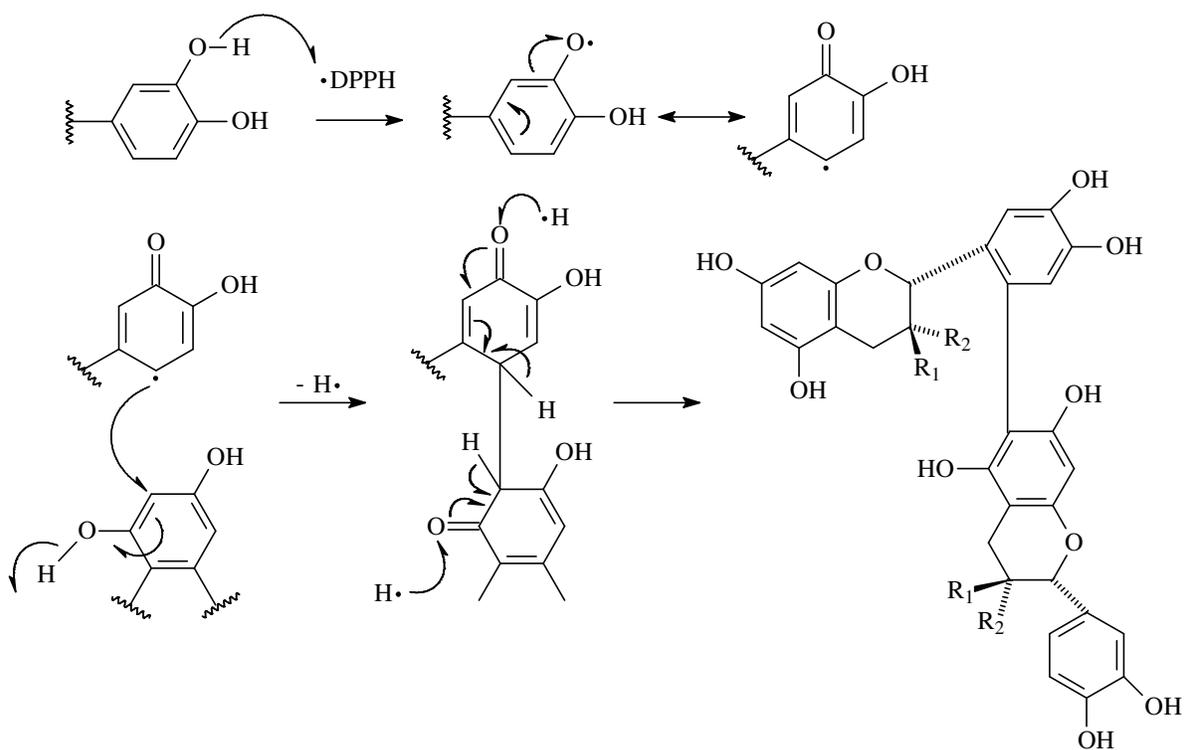
Epicatequina: R₁ = OH, R₂ = H



Esquema V – Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto A [SANG, 2002].



Esquema VI - Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto B [SANG, 2002].



Os ensaios realizados pelo método DPPH foram realizados no Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Produtos Naturais da Universidade Estadual do Ceará, sob a orientação da Profa. Dra. Selene Maia de Moraes. Os resultados encontram-se na **Tabela 28, p. 125**.

Tabela 28 – Avaliação do potencial seqüestrador de radicais livres pela medida da absorbância dos extratos de *Senna martiana*

Tempo (mim)	Absorbância		
	<i>Senna martiana</i>		
	Flores (SMFI)	Caule (SMC)	Folhas (SMF)
0	1,094	0,956	0,723
2	0,275	0,590	0,243
4	0,211	0,650	0,223
6	0,193	0,624	0,223
8	0,130	0,623	0,179
10	0,134	0,620	0,188
15	0,176	0,581	0,201
20	0,171	0,583	0,219
30	0,168	0,620	0,100
40	0,317	0,622	0,272
60	0,141	0,746	0,199
70	0,248	0,625	0,328
100	0,198	0,594	0,227
120	0,095	0,604	0,185
150	0,172	0,648	0,228
180	0,143	0,627	0,185
210	0,119	0,639	0,183
240	0,147	0,648	0,222
270	0,153	0,659	0,208
300	0,145	0,656	0,250
Índice de varredura (%)	96,1	27,0	37,7

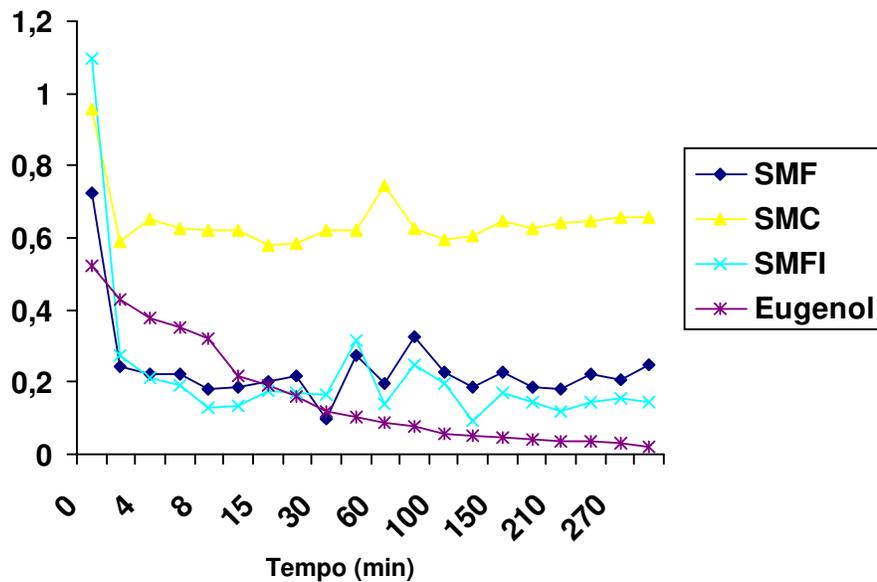


Figura 61 – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH da espécie *Senna martiana*

Estes resultados demonstram que utilizando-se o método do DHBA o extrato hidroalcoólico das flores de *S. martiana* apresentou uma porcentagem de inibição da formação do DHBA (52,0 %), superior aos demais extratos. Quando o método empregado é do DPPH, o extrato etanólico das flores apresentou também o maior índice de varredura (96,1%), ou seja, é o extrato que possui a melhor capacidade seqüestradora do radical livre DPPH, onde se pode compará-la a capacidade antioxidante. Através dos dados mostrados tanto na Tabela 27, p. 120, como na Tabela 28, p. 125 como também nos gráficos observa-se que o extrato hidroalcoólico das flores de *S. martiana* apresenta significativo potencial antioxidante, chegando através do método do DPPH a se aproximar do padrão utilizado (eugenol).

8 CONCLUSÃO

A análise dos constituintes voláteis das folhas mostrou que a referida espécie não produziu óleo essencial, utilizando-se a técnica de hidrodestilação usando forno de microondas como fonte de aquecimento.

O estudo do óleo fixo das sementes de *Senna martiana*, resultou na identificação dos seguintes ácidos graxos: tetradecanóico, pentadecanóico, 9-hexadecanóico, hexadecanóico, heptadecanóico, 9,12-octadecanóico, octadecanóico, 10-nonadecenóico, eicosanóico, docosanóico, tricosanóico, 9-octadecenóico, 11,14-eicosadienóico, e tetracosanóico. Dos compostos identificados os constituintes majoritários foram, o ácido hexadecanóico (37%) e o ácido 9,12-octadecanóico (34,1%). Pode-se observar um teor significativo (44%) de ácidos graxos insaturados identificados.

A análise cromatográfica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana* possibilitou o isolamento e caracterização de um ácido alifático denominado de ácido triacontanóico (ác. melíssico), do esteróide β -sitosterol e de três antraquinonas 1,8-dihidroxiladas, crisofanol, fisciona e aloe-emodina e um dímero, crisofanol biantrona desoxiglicosilado, cujas identidades químicas foram confirmadas pela análise de seus espectros de RMN, IV, EM e comparação com os dados da literatura, sendo que estas substâncias são inéditas na espécie estudada. Após o levantamento bibliográfico foi possível concluir que a biantrona é inédita na literatura.

O extrato hidroalcoólico das flores de *S. martiana* mostrou-se bastante promissor com relação ao seu potencial antioxidante tanto pelo método DPPH (IV 96,1%) como pelo método DHBA inibindo significativamente a formação do DHBA.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEGAZ, B., M.; BEZABEH, M.; ALEMAYEHU, G.; DUDDECK, H., Anthraquinones from *Senna multiglandulosa*, *Phytochemistry*, v. 35, n. 2, p. 465-468, **1992**.

ADAMS, R.P., Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy, Carol Stream: Allured Publishing Corporation, **2001**.

ALEMAYEHU, G.; ABEGAZ, B., M., Bianthraquinones from the seeds of *Senna multiglandulosa*. *Phytochemistry*, v. 41, n. 3, p. 919-921, **1996**.

ALEMAYEHU, G.; ABEGAZ, B.; KRAUS, W., A 1,4-anthraquinone-dihydroanthracenone dimer from *Senna sophora*. *Phytochemistry*, v. 48, n. 4, p. 699-702, **1998**.

ALEMAYEHU, G.; ABEGAZ, B.; SNATZKE, G.; DUDDECK, H., Bianthrone from *Senna longiracemosa*. *Phytochemistry*, v. 32, n. 5, p. 1273-1277, **1993**.

ALEMAYEHU, G.; ABEGAZ, B.; SNATZKE, G.; DUDDECK, H., Quinones of *Senna didymobotrya*, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, v.3, n. 1, p. 37-40, **1989**.

ALEMAYEHU, G.; HAILU, A.; ABEGAZ, B., M., Bianthraquinones from *Senna didymobotrya*, *Phytochemistry*, v. 42, n. 5, p. 1423-1425, **1996**.

ALEMAYEHU, G.; WOLDEYESUS, B.; ABEGAZ, B. M., (+)-Floribundone 3 from the pods of *Senna septemtrionalis*, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, v. 11, n. 1, p. 25-29, **1997**.

ARRIETA, B., D.; ZEPEDA, V., L., G.; JIMENEZ, E., M., Phytochemical studies on *Senna skinneri* and *Senna wislizeni*, *Natural Product Letters*, v. 13, n. 3, p. 223-228, **1999**.

AZAM, M. M.; SHARMA, A. K.; WARIS, AMTUL, Variation in sennoside content and dry matter yield of senna (*Cassia angustifolia*) grown under arid conditions of Rajasthan, *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, v. 25, n.3, p. 651-655, **2003**.

BARBA, B.; DIAZ, J., G.; HERZ, W., Anthraquinones and other constituents of two *Senna* species, *Phytochemistry*, v.31, n. 12, p. 4374-4375, **1992**.

BARBOSA, F. G., Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Senna rugosa* (G. Don) Irw. & Barn., *Eugenia citrifolis* Poir e *Solanum asperum* L. Rich, p. 78. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, **1999**.

BARBOSA, F., G.; OLIVEIRA, M., C., F.; BRAZ., R.; SILVEIRA., E., R., Anthraquinones and naphthopyrones from *Senna rugosa*, *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, n. 3, p. 363-365, **2004**.

BARROSO, G. M. & PEIXOTO, A. L. & ICHASA, C. G. & GUIMARÃES, E. F. & LIMA, H. C., Sistemática de Angiospermas do Brasil, Imprensa Universitária da universidade de Viçosa, v. 2, p. 377, **1984**.

BOVERIS, A. D., GALATRO, A., SAMROTTA, L., RICCO, R., GURNI, A. A., PUNTARULO, S., Antioxidant Capacity of a 3-deoxyanthocyanidin from Soybean, *Phytochemistry*, v. 58, p. 1097-1105, **2001**.

CALORE, E., E.; CAVALIERE, M., J.; HARAGUCHI, M.; GORNIK, S., L.; DAGLI, M., L., Z.; RASPANTINI, P., C.; CALORE, N., M., P.; WEG, R., Toxic peripheral neuropathy of chicks fed *Senna occidentalis* seeds, *Ecotoxicology and Environmental Safety* v. 39, n. 1, p. 27-30, **1998**.

COLLINS, C.H.; BRAGO, G.L., *Introdução a Métodos Cromatográficos*, Editora da Unicamo, 7ª Edição, **1997**.

CRONQUIST, A., *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, 2ª ed., New York, USA, **1988**.

DAGNE, E. STEGLICH, W. Knipholone: a unique anthraquinone derivative from *Kniphofia foliosa*. *Phytochemistry*, v.23, n.8, p.1729-1731, **1984**.

DELPORTE, C., BACKHOUSE, N., ERAZO, S., NEGRETE, R., VIDAL, P., SILVA, X., PEREZ, L. L., FELICIANO, A. S., MUNOZ, O., Analgesic-antiinflammatory properties of *Proustia pyrifolia*, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 99, p. 119-124, **2005**.

DEWICK, P. M., *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*, 2ª ed, Library of Congress Cataloguing in publication data, **2002**.

FABIANSKA, M. J., GC-MS investigation of distribution of fatty acids in selected Polish brown coals, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 72, p. 241- 244, **2004**.

FERREIRA, B., MARCOS; DAGLI, Z Aidan, M. L; MAIORKA, CESAR, P.; GORNIK, LIMA, S., Sub-acute intoxication by *Senna occidentalis* seeds in rats, *Food and Chemical Toxicology*, v. 43, n. 4, p. 497-503, **2005**.

FREIRE, C. S. R., SILVESTRE, A. J. D., NETO, C. P., EVTUGUIN, D. V., Effect of oxygen, ozone and hydrogen peroxide bleaching stages on the contents and composition of extractives of *Eucalyptus globulus* kraft pulps, *Bioresource Technology*, **2005**.

GALATI, G., SABZEVARI, O., WILSON, J. X., O'BRIEN, P. J., Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics, *Toxicology*, v. 117, p. 91-104, **2002**.

GOULART, M. O. F., SANT'ANA A. E. G., LIMA, R. A. L., CAVALCANTE, S. H., CARVALHO, M. G., FILHO R. B., Fitoconstituíntes químicos isolados de *Jatropha elliptica*. Atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono e hidrogênio dos diterpenos jatrolonas A e B, *Química Nova*, v. 16, p. 2, **1993**.

GRAHAM, J. G.; ZHANG, H.; PENDLAND, S., L.; SANTARSIERO, B., D.; MESECAR, A., D.; CABIESES, F.; FARNSWORTH, N., R., Antimycobacterial Naphthopyrones from *Senna obliqua*. *Journal of Natural Products*, v. 67, n. 2, p. 225-227, **2004**.

HÖFLE, G. ¹³C-NMR-Spektroskopie chinoider verbindungen – II, Substituierte 1,4-naphthochinone und anthrachinone, *Tetrahedron*, v. 33, p. 1963-1970, **1977**.

INGKANINAN, K.; IJZERMAN, A. P.; VERPOORTE, R., Luteolin, a Compound with Adenosine A1 Receptor-Binding Activity, and Chromone and Dihydronaphthalenone Constituents from *Senna siamea*, *Journal of Natural Products*, v. 63, n. 3, p. 315-317, **2000**.

IRWIN, H. S., BARNEBY, R. C., The American Cassiinae: A synoptical Revision of Leguminosae tribe Cassia subtribe Cassinae in the new word. The New York Botanical Garden, Bronx, New York, **1982**.

KABOUCHE, A., BOUTAGHANE, N., KABOUCHE, Z., SEGUIN, E., TILLEQUIN, F., BENLABED, K., Components and antibacterial activity of the roots of *Salvia jaminiana*, *Fitoterapia*, v. 76, p. 450–452, **2005**.

Kanokmedhakul, K., Kanokmedhakul, S., Phatchana, R., Biological activity of Anthraquinones and Triterpenoids from *Prismatomeris fragrans*, *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**.

KAZMI, M. H., MALIK, A., HAMEED, S. et al. An anthraquinone derivative from *Cassia italica*. *Phytochemistry*, v.36, n.3, p. 761-763, **1994**.

LIANG, S., HONG-FANG, J., HONG-YU, Z., Theoretical study on photophysical and photosensitive properties of aloe emodin *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* v.738, n. 31, **2006**, p.221-224.

LORIA, J., M., P.; RENDON, W., J.; ANAYA, I.; BRAVO, J., A., Phytochemical study of the plant species *Senna hirsuta* (L). *Revista Boliviana de Quimica*, v. 19, n. 1, p. 67-72, **2002**.

MATOS, F.J.A.; *Introdução a Fitoquímica Experimental*, Fortaleza, Edições UFC, **1998**.

MELECCHI, M. I. S., PÉRES, V. F., DARIVA, C., ZINI, C. A., ABAD, F. C., MARTINEZ, M. M., CAMARÃO, E. B., Optimization of the Sonication Extraction Method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers, *Ultrasonics Sonochemistry*, **2005**.

MENA, R., GONZALO, J.; PEREZ, R., K.; SANSOREZ, P., P.; RIOS, T.; QUIJANO, L., Racemochryson, a dihydroanthracenone from *Senna racemosa*, *Journal of Biosciences* v. 57, n. 9,10, p. 777-779, **2002**.

PATRA, D. D.; CHAND, S.; SASTRY, K. P.; SINGH, S. P.; BAHL, J. R.; KHANUJA, S. P. S. Agrotechnologies of senna (*Cassia angustifolia*), *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, v. 27, n. 1, p. 101-105, **2005**.

PETER, S., MARKST, C., WIENHAUS, O., Esters of *Picea abies* needle cuticular wax, *Phytochemistry*, v. 40, n. 2, p. 599-600, **1995**.

RUBALCAVA, C. L., MEDINA, B. P., REYES, R. E., HEINZE, G., VÁZQUEZ, M. M., Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolia* in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex, *Life Sciences*, **2005**.

SANG, S., CHENG, X., STARK, R. E., ROSEN, R. T., YANG, C. S., HO, C., Chemical Studies on Antioxidante Mechanism of Tea Catechins: Analysis of Radical Reaction Products of Catechin and Epicatechin with 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 10, p. 2233-2237, **2002**.

SANSORES, P. P.; ROSADO, V., M; B., W; MENA, R., G., J.; QUIJANO, L., Cassine, an antimicrobial alkaloid from *Senna racemosa*, *Fitoterapia*, v.71, n. 6, p. 690-692, **2000**.

SILVA, L. G. F., GOTTLIEB, O. R., MAGALHÃES, M. T. Constituintes do *Kielmeyera rosea*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 40, n. 2, 155-156, **1968**.

SILVA, M. G. V., Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas Superiores do Nordeste: *Vaitarea macrocarpa* (Benth) Ducke. Fortaleza, p. 182. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, **1987**.

SRIPHONG, L.; SOTANAPHUN, U.; LIMSIRICHAIKUL, S.; WETWITAYAKLUNG, P.; CHAICHANTIPYUTH, C.; PUMMANGURA, S., Cytotoxic alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. *Planta Medica*, v. 69, n. 11, p. 1054, **2003**.

STENHAGEN, E., ABRAHAMSSON, S., McLAFFERTY, F. W., Registry of Mass Spectral Data, A Wiley-Interscience Publication, v. 1, 2, 3 e 4, USA, **1974**.

THOMSON, R. H., Naturally Occuring Quinones, 2^a Ed., New York, **1971**.

TORRENEGRA, R.; JIMENEZ, R. Phytochemical studies of leaves and flowers on *Senna bicapsularis* (L) Roxburgh var. *bicapsularis* *Actualidades Biologicas* (Medellin, Colombia), v. 24, n. 76, p. 69-74, **2002**.

VALENCIA, E.; VALENZUELA, E.; BARROS, E.; HERNANDEZ, M.; LAZO, C.; GUTIERREZ, C.; GONZALEZ, C., A.; GONZALEZ, A. G.; BERMEJO, Y., J., Phytochemical study and antifeedant activity of *Senna stipulaceae*, *Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica*, v. 45, n. 2, p. 297-301, **2000**.

VALIENTE, R.; TORRENEGRA, R., .Phytochemical studies of roots and seeds on *Senna bicapsularis* (L) Roxburgh var. *bicapsularis*, *Actualidades Biologicas* (Medellin, Colombia), v. 25, n. 79, **2003**.

VILA, J. L.; MOLLINEDO, PATRICIA; STERNER, OLOV, Phytochemical study and antioxidant activity of *Senna birostris*. *Revista Boliviana de Quimica*, v. 20, n.1, p. 49-52, **2003**.

WINKLER, A., HAUMAIER, L., ZECH, W., Insoluble alkyl carbon components in soils derive mainly from cutin and suberin, *Organic Geochemistry*, v. 36, p. 519–529, **2005**.

YAGI, S. M.; EL TIGANI, S.; ADAM, S. E., I., Toxicity of *Senna obtusifolia* fresh and fermented leaves (kawal), *Senna alata* leaves and some products from *Senna alata* to rats, *Phytotherapy Research*, v. 12, n. 5, p. 324-330, **1998**.

YEN, G., DUH, CHUANG, D., Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone, *Food Chemistry*, v. 70, p. 473-441, **2000**.