



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

ELTON LUZ LOPES

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE  
*Croton pedicellatus* Kunth.

FORTALEZA  
2012

ELTON LUZ LOPES

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE *Croton pedicellatus* Kunth.

Trabalho submetido à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Química.

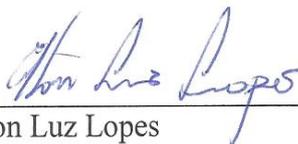
Área de concentração: Química orgânica  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Otilia Deusdênia  
Loiola Pessoa

FORTALEZA  
2012

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

- 
- L85c      Lopes, Elton Luz.  
            Contribuição ao conhecimento químico de *Croton pedicellatus* kunth / Elton Luz Lopes. – 2012.  
            147 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Pós-Graduação em Química Orgânica, Fortaleza, 2012.  
            Área de Concentração: Química Orgânica.  
            Orientação: Profª. Dra. Otilia Deusdenia Loiola Pessoa.
1. Euphorbiaceae. 2. Diterpenos clerodanos. 3. Flavonóides. I. Título.

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

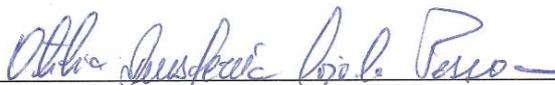


---

Elton Luz Lopes

TESE APROVADA EM: 10/09/2012

EXAMINADORES:



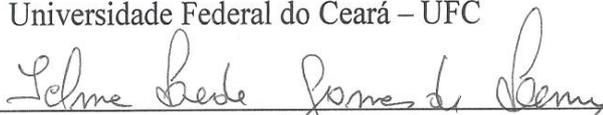
---

Prof. Dra. Otília Deusdênia Lóiola Pessoa  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dr. Manoel Andrade Neto  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos  
Universidade Federal do Ceará – UFC



---

Prof. Dr. João Batista Fernandes  
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar



---

Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ

*Para a Luiza Luz*

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, pela vida, pela saúde e por todas as pessoas que ele tem colocado no meu caminho.

À Professora Otilia Deusdênia Loiola Pessoa, professora e pesquisadora dedicada e sempre disponível, pela oportunidade de trabalhar com o seu grupo, pela amizade, carinho e compreensão que dedicou a mim como orientadora para a realização deste trabalho.

Ao Professor Manoel Andrade, pela obstinação com que trabalha por uma educação melhor e pelo cuidado com todos ao seu redor. Agradeço pela oportunidade de descobrir e entrar na Universidade, pela orientação na iniciação científica, no mestrado, no início do doutorado, mas acima de tudo meu amigo, obrigado pela orientação na vida e por compartilhar a sua amizade.

Ao Professor Edilberto Rocha Silveira, exemplo de dedicação à pesquisa, pela oportunidade de trabalhar no CENAUREMN (Centro Nordestino de aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear), pelas sugestões sempre pertinentes, pela sua amizade e pelo café incomparável.

Ao Professor Daniel Esdras, meu “chefe” no CENAUREMN, com quem tive oportunidade de aprender muito sobre RMN.

Ao Professor Raimundo Braz Filho, pela sua gentileza e disponibilidade na determinação estrutural de alguns dos compostos.

Aos Professores, Geraldo Barbosa, Jair Mafezoli, Nilce Gramosa, Mary Anne Lima, Conceição Oliveira, Telma Lemos e Gilvandete Santiago, pela amizade e disponibilidade para ajudar sempre.

Às minhas “irmãs” científicas Ceiza Menezes e Isabel Vitorino, amigas dedicadas e sempre disponíveis com quem tive o prazer de compartilhar o tempo especialmente no LEMANOR.

Aos amigos e colegas, Noberto, Regivaldo, Honório, Chaguinha, Jackson Nunes, Leôncio, Roberto Wagner, Patricia Coelho, Gustavo, Natalia, Hozana Patricia, Ayla, Karen, Zelina, Leandro, Mariano, João Vito, pela amizade.

A Marillia, meu amor, esposa, amiga, companheira... pela compreensão em todos os momentos que estive ausente para concluir este trabalho e pela dedicação à nossa linda filha Luiza.

Aos meus Pais, Elizeu e Ana Célia pela dedicação e o cuidado com os filhos para que se tornassem pessoas de bem. E aos meus irmãos e amigos Helano, Alex, Rennan e Ravena.

Aos órgãos financiadores: Capes, CNPq, FUNCAP, PRONEX, FINEP e INCT pelo suporte financeiro.

## RESUMO

O presente trabalho descreve o primeiro estudo químico das folhas de *Croton pedicellatus* Kunth. (Euphorbiaceae), um arbusto, nativo da América do Sul, popularmente conhecido como velame, nome dado a várias espécies de *Croton*. O extrato etanólico das folhas foi submetido a procedimentos clássicos de cromatografia, incluindo Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), resultando no isolamento, de 15 metabólitos secundários: dois sesquiterpenos conhecidos como blumenol A e roseosídeo; cinco diterpenos clerodanos furânicos: 12,20:15,16-diepoxi-3-hidroxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18,2-olídeo; 12,20:15,16-diepoxi-2,8-dihidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila; 12,20:15,16-diepoxi-2-hidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila; 12,20:15,16-diepoxi-3,8-dihidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila e 12,20:15,16-diepoxi-3-hidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila; seis flavonoides: alpinumisoflavona; canferol; 3-O-glicopiranosilquercetina; 6''-O-*p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosilcanferol (tilirosídeo), 6''-O-*p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol e 6''-O-*p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-3'-metoxi canferol, além dos esteróides  $\beta$ -sitosterol e seu derivado 3-O-glicosilado. A determinação estrutural de todos os metabólitos secundários isolados foi realizada através do emprego de técnicas espectrométricas como ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1 e carbono-13 (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais), espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectrometria de massas de alta resolução, obtida com ionização por *electrospray* e comparação com dados da literatura.

Palavras-chave: *Croton pedicellatus* Kunth., Euphorbiaceae, diterpenos clerodanos, flavonóides.

## ABSTRACT

The present work describes for the first time the chemical investigation from leaves of *Croton pedicellatus* Kunth. (Euphorbiaceae), a shrub, native to South America and popularly known as “velame”, name given to several *Croton* species. The ethanol extract from leaves was subjected to classical chromatographic procedures including high performance liquid chromatography (HPLC), resulting in the isolation of 15 secondary metabolites: two sesquiterpenes known as blumenol A and roseosídeo; five clerodane furan diterpenes: 12,20:15,16-diepoxy-3-hydroxy-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18,2-olide; methyl-12,20: 15,16-diepoxy-2,8-dihydroxy-3-acetoxy-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oate; methyl-12,20:15,16-diepoxy-2-hydroxy-3-acetoxy-7,20-dioxocleroda-13 (16),14-dien-18-oate; methyl-12,20:15,16-diepoxy-3,8-dihydroxy-2-acetoxy-7,20 -dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oate; methyl-12,20:15,16-diepoxy-3-hydroxy-2-acetoxy-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oate, and six flavonoids: alpinumisoflavone, kaempferol, quercetin-3-glucoside, Kaempferol-3- $\beta$ -D-(6-*trans-p*-coumaroyl)glucopyranoside (tiliroside), kaempferol-3- $\beta$ -D-(6-*trans-p*-coumaroyl)galactopyranoside and kaempferol-3'-methoxy-3- $\beta$ -D-(6-*trans-p*-coumaroyl)glucopyranoside, besides the steroids  $\beta$ -sitosterol and its derivative 3-O-glucosylated. The structure determination of all secondary metabolites isolated was performed by spectrometric techniques such as hydrogen-1 and carbon-13 nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  one/two- dimensional), infrared spectrometry (IR), high resolution mass spectrometry and comparison with literature data.

Keywords: *Croton pedicellatus* Kunth., Euphorbiaceae, clerodane diterpenes, flavonoids.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	Tricomas foliares: A-simples ( <i>C. lobatus</i> ); B-estrelados ( <i>C. jacobinensis</i> ); C-dendríticos ( <i>C.glandulosus</i> ) e D-lepidotos ( <i>C. sellowii</i> ).....	22
Figura 02	Figura de <i>Croton pedicellatus</i> .....	23
Figura 03	Fotografia de <i>C. pedicellatus</i> Kunth.....	24
Figura 04	Estrutura do esqueleto clerodano e da clerodina.....	25
Figura 05	Estruturas das formas <i>cis</i> e <i>trans</i> clerodanos.....	27
Figura 06	Estrutura dos diterpenos clerodanos isolados de <i>Croton</i> entre 2005 e 2011.....	30
	Estrutura dos diterpenos clerodanos isolados de <i>Croton</i> entre 2005 e 2011 (continuação).....	31
Figura 07	Esqueleto furanoclerodano.....	35
Figura 08	Estrutura de CP-1 com correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC.....	35
Figura 09	Estrutura de CP-1 com correlações de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY.....	36
Figura 10	Estrutura de CP-1.....	37
Figura 11	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-1....	38
Figura 12	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-1.....	38
Figura 13	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1.....	39
Figura 14	Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1.....	39
Figura 15	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1...	40
Figura 16	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1.....	40
Figura 17	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1	41
Figura 18	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1	41
Figura 19	Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1.....	42
Figura 20	Fragmento de CP-2 com correlações de HMBC.....	44
Figura 21	Fragmento 2 de CP-2 com correlações de HMBC.....	44
Figura 22	CP-2 com correlações de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY.....	45
Figura 23	Estrutura de CP-2.....	46
Figura 24	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-2....	47
Figura 25	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-2.....	47

Figura 26	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	48
Figura 27	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	48
Figura 28	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	49
Figura 29	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	49
Figura 30	Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	50
Figura 31	Fragmento de CP-3 com correlações observadas no HMBC.....	52
Figura 32	Estrutura de CP-3.....	53
Figura 33	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-3....	54
Figura 34	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-3.....	54
Figura 35	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3.....	55
Figura 36	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3.....	55
Figura 37	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3.....	56
Figura 38	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3.....	56
Figura 39	Fragmento de CP-4 com correlações do HMBC.....	57
Figura 40	Estrutura de CP-4.....	59
Figura 41	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-4....	60
Figura 42	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4.....	60
Figura 43	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4.....	61
Figura 44	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4.....	61
Figura 45	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4.....	62
Figura 46	Fragmento de CP-5 com correlações observadas no HMBC.....	63
Figura 47	Estrutura de CP-5.....	65
Figura 48	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-5....	66
Figura 49	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-5.....	66
Figura 50	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5.....	67
Figura 51	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5.....	67
Figura 52	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5.....	68
Figura 53	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5.....	68
Figura 54	Fragmento de CP-6 com correlações observadas no HMBC.....	70

Figura 55	Fragmento 2 de CP-6 com correlações observadas no HMBC..	70
Figura 56	Estrutura de CP-6.....	72
Figura 57	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-6....	73
Figura 58	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-6.....	73
Figura 59	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6.....	74
Figura 60	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6.....	74
Figura 61	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6.....	75
Figura 62	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6....	75
Figura 63	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6....	76
Figura 64	Estrutura de CP-7.....	79
Figura 65	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-7....	80
Figura 66	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-7.....	80
Figura 67	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7.....	81
Figura 68	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7....	81
Figura 69	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (500 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7.....	82
Figura 70	Fragmento de CP-8.....	83
Figura 71	Fragmento de CP-8 com correlações observadas no HMBC.....	84
Figura 72	Estrutura de CP-8.....	85
Figura 73	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-8....	86
Figura 74	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8.....	86
Figura 75	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8.....	87
Figura 76	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8.....	87
Figura 77	Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8.....	88
Figura 78	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8....	88
Figura 79	Estrutura de CP-9 com correlações observadas no HMBC.....	90
Figura 80	Estrutura de CP-9.....	91
Figura 81	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-9....	92
Figura 82	Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-9.....	92
Figura 83	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9.....	93
Figura 84	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9.....	93

Figura 85	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9.....	94
Figura 86	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9.....	94
Figura 87	Estrutura de CP-10.....	96
Figura 88	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10.....	97
Figura 89	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10.....	97
Figura 90	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10.....	98
Figura 91	Estrutura de CP-11.....	100
Figura 92	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-11..	101
Figura 93	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11.....	101
Figura 94	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11.....	102
Figura 95	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11.....	102
Figura 96	Fragmento de CP-12 com correlações do HMBC.....	104
Figura 97	Fragmento 2 de CP-12 com correlações do HMBC.....	104
Figura 98	Estrutura de CP-12.....	105
Figura 99	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-12..	106
Figura 100	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12.....	106
Figura 101	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12.....	107
Figura 102	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12.....	107
Figura 103	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12.....	108
Figura 104	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12.....	108
Figura 105	Estrutura de CP-13.....	111
Figura 106	Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-13..	112
Figura 107	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13.....	112
Figura 108	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13.....	113
Figura 109	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13.....	113
Figura 110	Espectro de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13...	114
Figura 111	Estrutura de CP-14.....	116

Figura 112	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14.....	117
Figura 113	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14.....	117
Figura 114	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – DEPT 135 (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14.....	118
Figura 115	Estrutura de CP-15.....	119
Figura 116	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-15.....	121
Figura 117	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-15..	121
Figura 118	Cromatograma de CPFE-D4 (27-48).....	130
Figura 119	Cromatograma de CPFE-D4 (49-86).....	132
Figura 120	Cromatograma de CPFE-Ac3.....	134
Figura 121	Cromatograma de CPFE-Ac4.....	134
Figura 122	Cromatograma de CPFE-Ac5(3-4)3.....	137
Figura 123	Cromatograma de CPFE-Ac5(3-4)4.....	137
Figura 124	Estruturas dos diterpenos isolados de <i>Croton pedicellatus</i> Kunth.....	140
Figura 125	Estruturas dos flavonóides isolados de <i>Croton pedicellatus</i> Kunth.....	141
Figura 126	Estruturas dos sesquiterpenos e esteróides isolados de <i>Croton pedicellatus</i> Kunth.....	142
Esquema 01	Ilustração da formação biogenética dos diterpenos de esqueleto clerodano.....	26
Gráfico 01	Publicações referentes ao isolamento de clerodanos de <i>Croton</i> .....	27
Fluxograma 01	Obtenção do extrato de <i>C. pedicellatus</i> e filtrante de CPFE-D..	127
Fluxograma 02	Isolamento de CP-9.....	129
Fluxograma 03	Isolamento de CP-1, 2, 3 e 12.....	131
Fluxograma 04	Isolamento de CP-3, 4, 5.....	132
Fluxograma 05	Isolamento de CP-6, 7, 8, 12 e 16.....	135
Fluxograma 06	Isolamento de CP-11 e 13.....	138

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Diterpenos clerodanos isolados de <i>Croton</i> no período de 2005 a 2011.....	29
Tabela 02	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1.....	37
Tabela 03	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2.....	46
Tabela 04	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3 e CP-2.....	53
Tabela 05	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4 e CP-2.....	59
Tabela 06	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5 e CP-3.....	65
Tabela 07	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6 e tilirosídeo (200/50 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (SILVA, 2005).....	72
Tabela 08	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB de CP-7 (500/125 MHz, piridina- $d_5$ ), CP-6 (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e 6''-O- <i>p</i> -cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol (100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , VEGA, 2007).....	79
Tabela 09	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8 e CP-6.....	85
Tabela 10	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9 e alpinumisoflavona (100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ , EL-MASRY, 2002).....	91
Tabela 11	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10 e canferol (VEGA, 2007).....	96
Tabela 12	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11 e 3-O-glicopiranosilquercetina (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$ ).....	100
Tabela 13	Deslocamentos químicos de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12 e Blumenol A (400/100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	105

Tabela 14	Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13 e Blumenol A.....	111
Tabela 15	Deslocamentos químicos de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-15 e $\beta$ -sitosterol (20 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	116
Tabela 16	Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de CP-15, CP14 e $\beta$ -sitosterol glicosilado (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).....	120
Tabela 17	Fracionamento de CPFE.....	127
Tabela 18	Fracionamento de CPFE-D2.....	128
Tabela 19	Fracionamento de CPFE-Ac.....	133
Tabela 20	Fracionamento de CPFE-Ac5.....	136
Tabela 21	Fracionamento de CPFE-Ac5 (3-4).....	136

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BB	broad band
CAPES	Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior
CCD	cromatografia de camada delgada
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CNPq	Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico
COSY	correlation spectroscopy
DAD	diode-array detector
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
EMAR-IES	espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray
FUNCAP	Fundação cearense de apoio ao desenvolvimento científico e tecnológico
FT-IR	fourier transform infrared spectroscopy
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
IDH	índice de deficiência de hidrogênio
IES	ionização por electrospray
IV	infravermelho
LEMANOR	Laboratório de espectrometria de massa do nordeste
NOE	nuclear Overhauser effect
NOESY	nuclear Overhauser enhancement spectroscopy
PF	ponto de fusão
PPM	partes por milhão
PRONEX	Programa de apoio a núcleos de excelência
PTFE	Politetrafluoroetileno
RMN	ressonância magnética nuclear
$t_R$	tempo de retenção

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	18
2.	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	21
3.	LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO .....	25
3.1.	Diterpenos clerodanos em Croton.....	25
4.	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE <i>C. pedicellatus</i> .....	32
4.1.	Determinação estrutural de CP-1 .....	33
4.2	Determinação estrutural de CP-2.....	43
4.3	Determinação estrutural de CP-3.....	51
4.4	Determinação estrutural de CP-4.....	57
4.5	Determinação estrutural de CP-5.....	63
4.6	Determinação estrutural de CP-6.....	69
4.7	Determinação estrutural de CP-7 .....	77
4.8	Determinação Estrutural de CP-8.....	83
4.9	Determinação estrutural de CP-9.....	89
4.10	Determinação estrutural de CP-10 .....	95
4.11	Determinação estrutural de CP-11 .....	99
4.12	Determinação estrutural de CP-12.....	103
4.13	Determinação estrutural de CP-13.....	109
4.14	Determinação estrutural de CP-14.....	115
4.15	Determinação estrutural de CP-15.....	119
5.	EXPERIMENTAL .....	122
5.1.	Métodos Cromatográficos:.....	122
5.1.1.	Cromatografia de Adsorção.....	122
5.1.2.	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	123

<b>5.2.</b>	<b>Métodos Espectroscópicos e Espectrométricos</b> .....	123
5.2.1.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN 1H) e de Carbono-13 (RMN 13C).....	123
5.2.2.	Espectroscopia na região do Infravermelho (IV).....	124
5.2.3.	Espectrometria de massas de alta resolução .....	124
<b>5.3.</b>	<b>Estudo Fitoquímico de <i>Croton pedicellatus</i> Kunth.</b> .....	125
5.3.1.	Material Botânico.....	125
5.3.2.	Extrato etanólico de <i>C. pedicellatus</i> .....	125
5.3.3.	Fracionamento de CPFE em coluna filtrante .....	126
5.3.4.	Fracionamento de CPFE com partição líquido-líquido .....	126
5.3.5.	Fracionamento de CPFE-D .....	127
5.3.6.	Fracionamento de CPFE-D2 .....	128
5.3.7.	Fracionamento de CPFE-D4 .....	129
5.3.7.1.	Fracionamento de CPFE-D4 (27-48).....	130
5.3.7.2.	Fracionamento de CPFE-D4 (49-86).....	131
5.3.8.	Fracionamento de CPFE-Ac.....	133
5.3.8.1.	Fracionamento de CPFE-Ac3.....	133
5.3.8.2.	Fracionamento de CPFE-Ac4.....	134
5.3.8.3.	Fracionamento de CPFE-Ac5.....	135
5.3.8.3.1.	Fracionamento de CPFE-Ac5 (3-4) .....	136
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	139
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	143

## 1. INTRODUÇÃO

A família Euphorbiaceae, pertencente às angiospermas, é um dos mais importantes grupos de plantas com importância econômica, política e social. Essa afirmação se justifica ao considerarmos algumas espécies integrantes dessa família como: *Hevea brasiliensis* a “seringueira” que mudou drasticamente a vida humana no mundo em apenas um século, por ser fonte natural de borracha; *Manihot esculenta*, a “mandioca”, fonte da farinha de mandioca e da fécula ou goma, considerada entre os 12 ou 13 alimentos mais importantes da humanidade (GUIMARÃES *et al.*, 2006); *Ricinus communis*, a mamona, cujo óleo é utilizado como laxante natural e como matéria prima na produção de biodiesel. Contribuindo para a importância desta família destacam-se também as plantas do gênero *Croton*, amplamente utilizadas na medicina popular em regiões como o Nordeste brasileiro e a África.

A família Euphorbiaceae apresenta cerca de 300 gêneros e 8000 espécies amplamente distribuídas em todo o mundo, com concentração significativa nas Américas e África (MACIEL *et al.*, 2006). Compreende cinco subfamílias: Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae (LIMA *et al.*, 2003). A subfamília Crotonoideae, consiste de cerca de 2400 espécies agrupadas em 67 gêneros e 12 tribos. Do total de espécies pertencente à subfamília Crotonoideae, mais da metade pertencem ao gênero *Croton*, seguido, em tamanho, por *Jatropha* ( $\pm 185$  espécies) e *Manihot* ( $\pm 100$  espécies) (LIMA *et al.*, 2006 e 2008). O gênero *Croton*, representado por cerca de 1200 espécies, possui um grande número de espécies genericamente conhecidas como marmeleiros e velames, especialmente no Nordeste do Brasil.

Muitas espécies de *Croton* crescem predominantemente em locais perturbados tais como margens de estradas, rios e clareiras de matas. Essas e outras características ecológicas, como a produção massiva de flores e frutos durante a maior parte do ano, fazem dos membros deste gênero candidatos ideais para a restauração de florestas degradadas. Por exemplo, *Croton urucurana* Spreng., foi usado na recuperação de matas ciliares no Sul do Brasil e de várias

outras regiões (CARRENHO *et al.*, 1997). Vale ressaltar que a madeira de várias espécies de *Croton* é utilizada na construção de casas e botes, em diversos trabalhos de carpintaria e como lenha (SMITH *et al.*, 2002).

O gênero *Croton* é considerado de importância etnofarmacológica, haja vista que várias de suas espécies são utilizadas no tratamento de doenças, tais como: câncer, constipação intestinal, diarreia, diabetes, febre, hipertensão, inflamação, malária, dor e úlceras, dentre outras. Em virtude de seus benefícios terapêuticos as plantas do gênero *Croton* ocupam papel de destaque nos sistemas tradicionais de plantas medicinais, particularmente das Américas, África e Ásia (SALATINO *et al.*, 2007).

A grande diversidade de atividades biológicas descritas reflete a alta diversidade química desse grupo de plantas. Os terpenóides são os metabólitos secundários predominantes, principalmente os diterpenóides que podem apresentar esqueletos dos tipos: cembranóide, clerodano, neoclerodano, halimano, isopimarano, caurano, secokaurano, labdano, phorbol e trachilobano. Os diterpenos clerodanos formam um grupo de terpenóides extremamente diversificados, com mais de 800 compostos conhecidos (MACIEL *et al.*, 2003). Óleos voláteis contendo mono- e sesquiterpenos e algumas vezes compostos derivados do chiquimato são relatados. Muitas espécies têm sido descritas como fontes de diferentes classes de alcalóides, um fato que aumenta consideravelmente a importância do gênero sob o ponto de vista farmacológico. Substâncias fenólicas também têm sido frequentemente registradas, predominando entre estas os flavonóides, lignóides e proantocianidinas (SALATINO *et al.*, 2007).

Apesar do grande número de substâncias já isoladas de plantas do gênero *Croton* e também do grande número de atividades biológicas relatadas para as mesmas, ainda é muito pequeno o número de espécies estudadas. Desta forma, investigações químicas envolvendo espécies de *Croton* visando o isolamento e caracterização de seus metabólitos micromoleculares é de extrema importância para um melhor conhecimento do gênero.

Várias espécies de *Croton* já foram estudadas no Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará, merecendo destaque os trabalhos do

Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira, que se dedica a química de *Croton* a mais de três décadas, tendo realizados estudos de pelo menos 10 espécies: *C. sonderianus*, *C. argyrophyllus*, *C. regelianus*, *C. cajucara*, *C. lundianus*, *C. glandulosus*, *C. urucarana*, *C. rhamnifolius*, *C. adenocalyx* e *C. nepetaefolius* (CRAVEIRO *et al.*, 1981, 1982; PALMEIRA-JUNIOR *et al.*, 2005, 2006; SILVEIRA *et al.*, 1985, 2005).

O objetivo desse trabalho foi realizar o estudo químico de *Croton pedicellatus* Kunth, buscando isolar novos compostos, contribuindo para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero. *C. pedicellatus* é uma espécie com ocorrência em vários países da América do Sul, inclusive no Brasil, principalmente na região Nordeste.

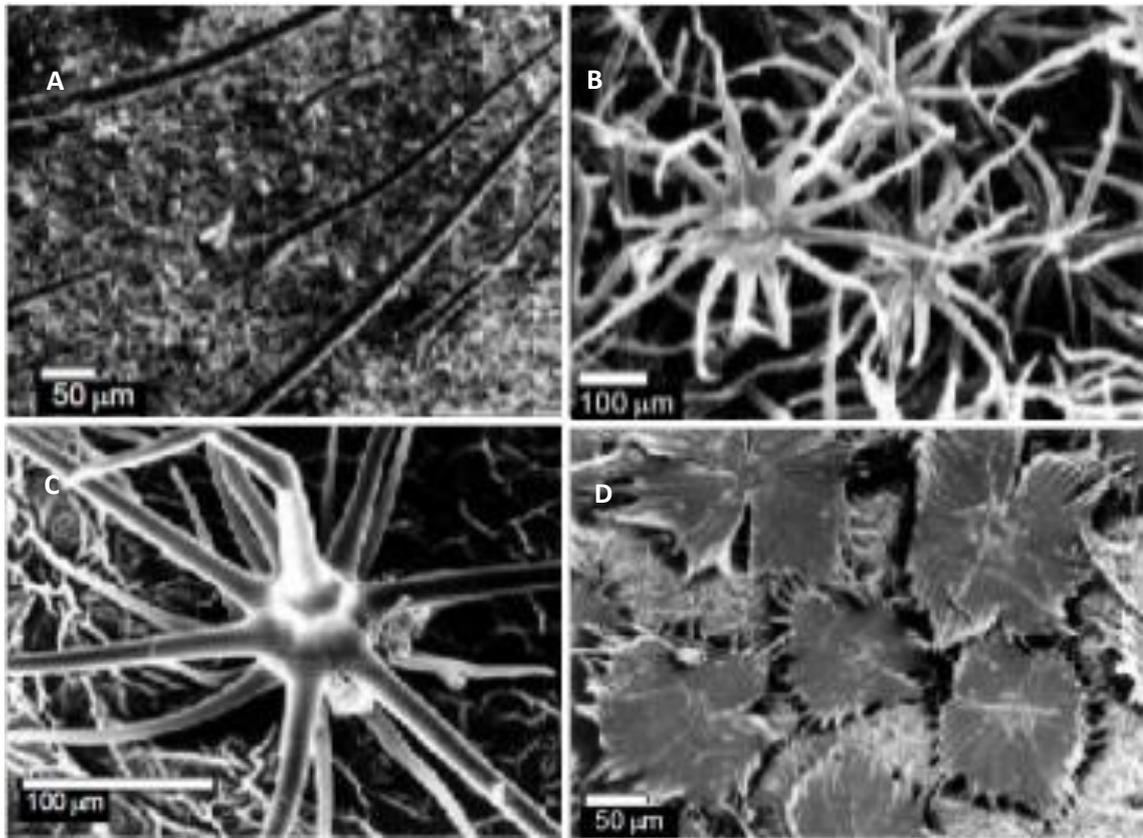
## 2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

As plantas do gênero *Croton* tem distribuição pantropical, e segundo Guimarães *et al.*, 2006, são descritas como:

*[...]”suas espécies são árvores, arbustos, ervas e lianas, geralmente monóicas, algumas vezes dióicas, com tricomas de formas variadas (estrelados, escamiformes, etc.), em geral as inflorescências apresentam as flores pistiladas na base e as Estaminadas no ápice, os estames dobrados no botão floral e as pétalas das flores pistiladas reduzidas ou ausentes.”[...]*

A grande diversidade morfológica observada para as plantas do gênero *Croton* pode ser evidenciada nos tricomas foliares, que são apêndices da epiderme presentes em diversos órgãos das plantas, constituindo seu indumento. Os estudos dos tricomas na família Euphorbiaceae são antigos e considerados importantes para a taxionomia do gênero, haja vista que cada espécie mantém um tipo constante (LUCENA *et al.*, 2006). Na família Euphorbiaceae os tricomas se apresentam nas formas: simples, predominantes nas subfamílias Crotonoideae, Phyllanthoideae, Oldfieldioideae e Euphorbioideae; estrelados, comuns nas subfamílias Crotonoideae e Acalyphoideae; dentríticos e lepidotos, observados em Crotonoideae (Figura 01).

Figura 01 – Tricomas foliares: A-simples (*C. lobatus*); B-estrelados (*C. jacobinensis*); C-dendríticos (*C.glandulosus*) e D-lepidotos (*C. sellowii*)



De acordo com tratamento encontrado no *Flora Brasiliensis*, o gênero *Croton* possui 287 representantes no Brasil, entre estes, *C. pedicellatus* Kunth. o qual é classificado como segue:

- Família *Euphorbiaceae*
- Tribo *Crotoneae* (Blume) Müll.Arg.
- SubTribo *Eucrotoneae* Griseb.
- Gênero *Croton* (L.) Müll.Arg.
- Seção *Eucroton* Müll.Arg.
- Seção *Cleodora* Müll.Arg.
- Série *Medea* Müll.Arg.

*Croton pedicellatus* Kunth (Figura 02) é uma planta de porte arbustivo, bastante ramificado com folhas pequenas e aromáticas conhecido popularmente como velame, que é o nome dado a várias espécies deste gênero. Esta espécie é encontrada na região nordeste nos Estados do Ceará, Maranhão, Piauí, Bahia e por

último no Rio Grande do Norte. Também existem relatos de sua ocorrência fora do Brasil, em regiões da Colômbia. De acordo com o melhor do nosso conhecimento não existe qualquer relato de estudo químico envolvendo esta espécie.

Figura 02 – Figura de *Croton pedicellatus*



Figura 03 - Fotografia de *C. pedicellatus* Kunth.



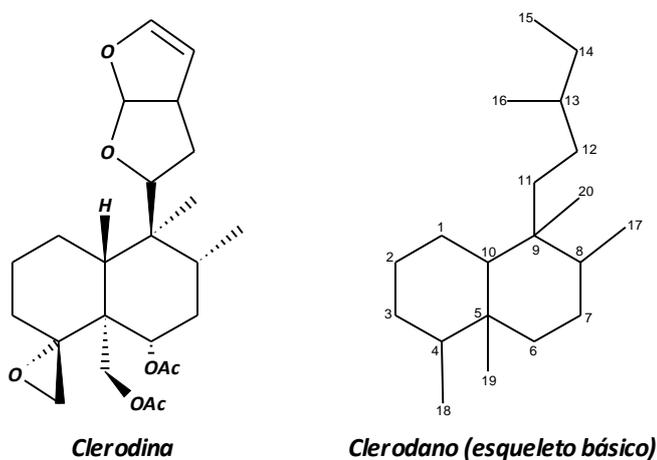
### 3. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

#### 3.1. Diterpenos clerodanos em *Croton*

Os diterpenos de esqueleto clerodano formam um grupo de terpenóides extremamente diversificados, com mais de 800 compostos conhecidos (MACIEL *et al.*, 2003). É uma das classes de terpenos mais frequentes em *Croton*, tendo sido isolados mais de cem compostos de aproximadamente 30 espécies.

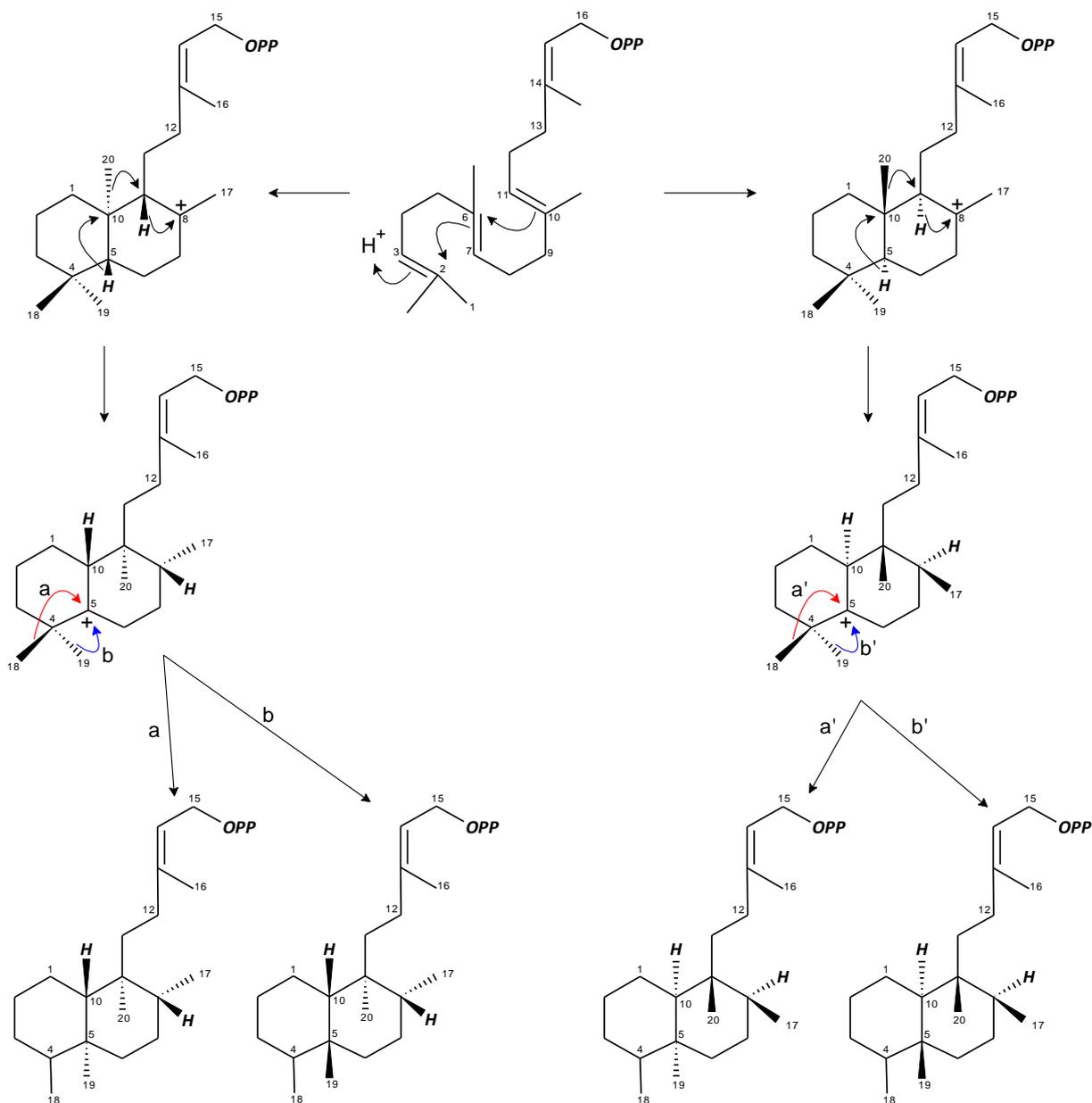
O nome clerodano foi dado em alusão à substância chamada de clerodina, isolada pela primeira vez de *Clerodendrun infortunatum* (Lamiaceae) (Figura 04) (MACIEL *et al.*, 2006).

Figura 04 – Estrutura do esqueleto clerodano e da clerodina

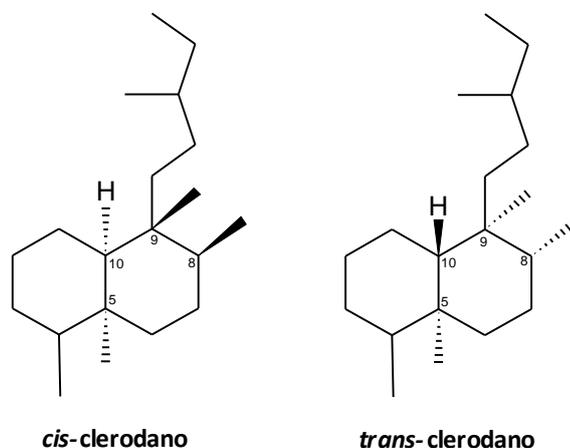


Os diterpenos são metabólitos secundários com 20 átomos de carbono, biogeneticamente derivados do acetato. Formam-se a partir de 04 unidades de isopreno, formando seu precursor biogenético chamado de pirofosfato de geranil geranila (SIMÕESv 2004). Os clerodanos se formam por rearranjo concertado do esqueleto labdano, e podem existir na forma de *cis*-clerodanos, pela migração da metila 18, ou *trans*-clerodanos por migração da metila 19 (Esquema 01).

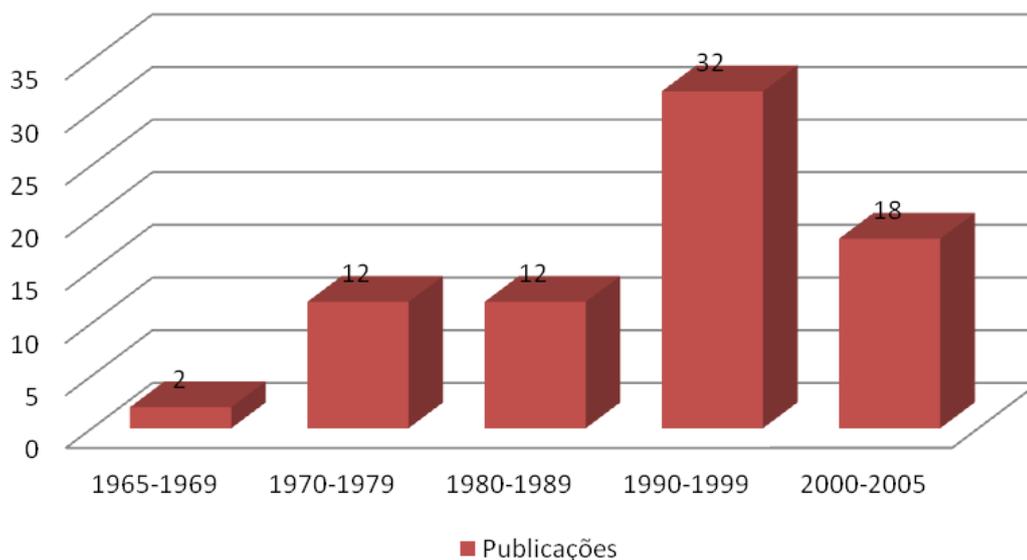
Esquema 01 – Ilustração de formação biogênica dos diterpenos de esqueleto clerodano.



Embora as formas *cis* e *trans* possam existir, ambas formadas pela migração de uma das metilas ligadas ao C-4, para o C-5 (figura 05), o último é observado na maioria dos compostos isolados. Adicionalmente, observa-se que todos os diterpenos clerodanos registrados na literatura apresentam configuração relativa *trans* para os carbonos C-9 e C-10 (MACIEL *et al.*, 2006).

Figura 05 – Estruturas das formas *cis* e *trans* clerodanos

Uma revisão sobre diterpenos clerodanos obtidos de *Croton* abrangendo o período de 1965 até 2005 foi publicada em 2006, na qual foi relatado a presença de 105 compostos. De acordo com o trabalho, as espécies das quais foram isolados o maior número de compostos foram: *C. eleuteria* (24); *C. cajucara* (10); *C. schiedeana* (10) e *C. sonderianus* (8). (PALMEIRA JÚNIOR *et al.*, 2006). E conforme pode ser observado, os trabalhos envolvendo isolamento de diterpenos clerodanos em *Croton* foram impulsionadas na década de 1990 (Gráfico 01).

Gráfico 01 – Publicações referentes ao isolamento de clerodanos de *Croton*

A partir da análise da revisão de Palmeira Júnior (2006), e com o objetivo de atualizar os dados sobre a presença de clerodanos em espécies de *Croton* realizou-se um levantamento bibliográfico no *Scifinder scholar* usando o termo “Croton” e posterior refinamento da pesquisa com o termo “clerodane”, para o período de 2006 a 2012. A pesquisa revelou 28 trabalhos relacionados a diterpenos clerodanos de *Croton*, incluindo atividade biológica, síntese, isolamento e caracterização.

No período analisado, isto é, a partir de janeiro de 2006, foram isoladas apenas seis novos compostos, sendo um de *C. laevigatus* (1), três de *C. oblongifolius* (2, 7 e 8), um de *C. palanostigma* (3) e um de *C. glabellus* (6). Com base no levantamento observaram-se cinco substâncias que foram relatadas pela primeira vez em *Croton*, das espécies *C. lechleri* (4), *C. palanostigma* (5) e *C. oblongifolius* (9 a 11). Também se verificou três novos compostos (12 a 14), isolados de *C. insularis*, que embora estejam em publicação de 2005, período de abrangência da revisão de Palmeira-Junior, não estão citados na revisão publicada em 2006 (Tabela 01).

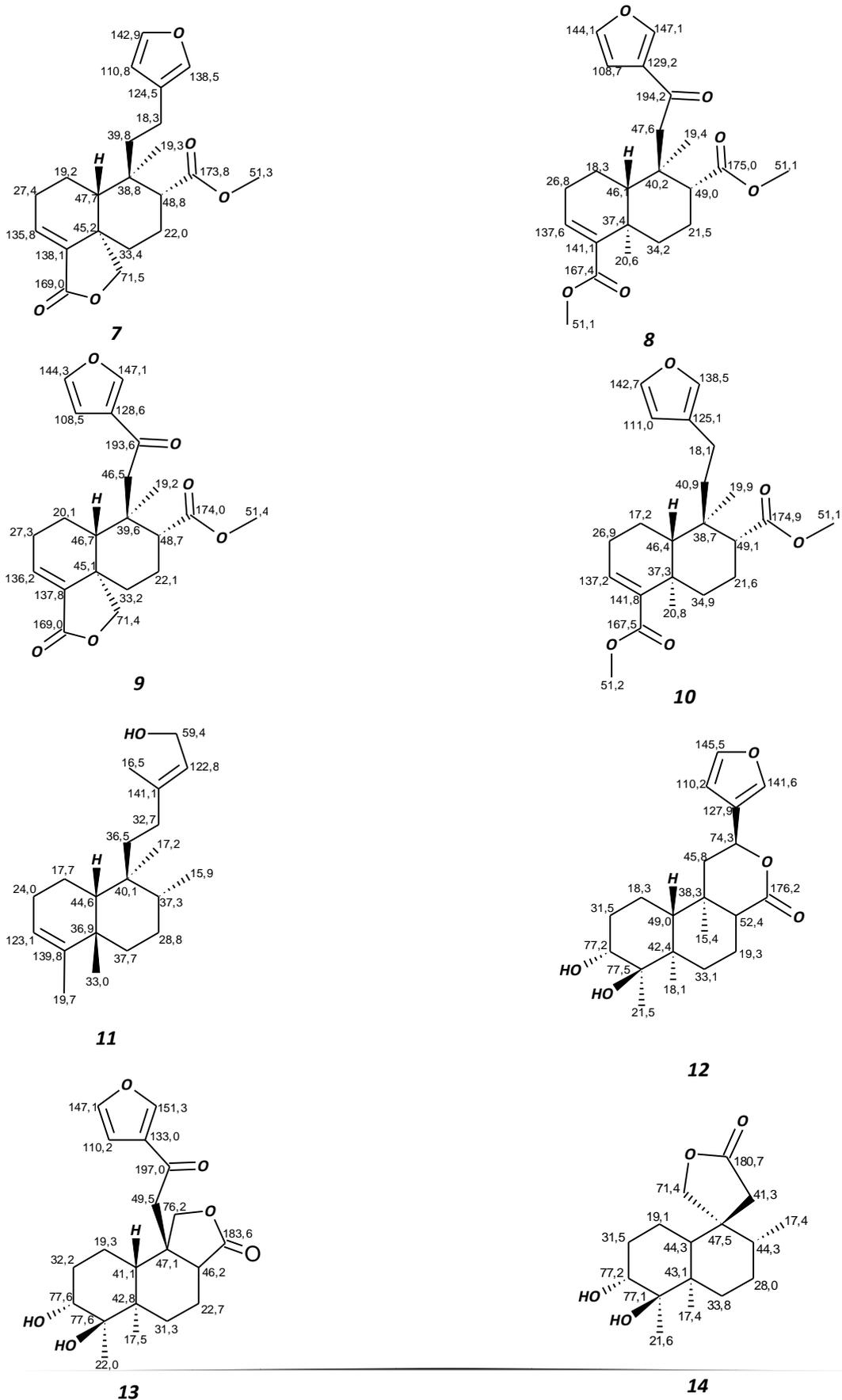
Neste trabalho são apresentados cinco novos diterpenos clerodanos, isolados das folhas de *C. pedicellatus* Kunth (15 a 19).

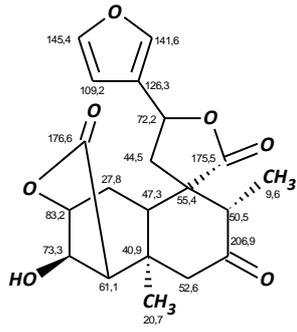
Tabela 01 – Diterpenos clerodanos isolados de *Croton* no período de 2005 a 2011

ESPÉCIE	COMPOSTO		PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
<i>C. laevigatus</i>	laevigatbenzoato	(1)	folhas	ZOU <i>et al.</i> , 2011
<i>C. oblongifolius</i>	3,4,15,16-diepoxi-cleroda-13(16),14-diene-12,17-olídeo	(2)	casca	PUDHON <i>et al.</i> , 2011
<i>C. palanostigma</i>	8-epicordatina	(3)	casca do caule	BRASIL <i>et al.</i> , 2010
<i>C. lechleri</i>	glicosídeo do ácido floribundico	(4)	latex	DE MARINO <i>et al.</i> , 2008
<i>C. palanostigma</i>	cordatina	(5)	casca	BRASIL <i>et al.</i> , 2008
<i>C. glabellus</i>	marrubiagenina	(6)	folhas	GARCÍA <i>et al.</i> , 2006
<i>C. oblongifolius</i>	dimetil 15,16-epoxi-12-oxo-3,13(16),14- <i>ent</i> -clerodatrien-17,18-dicarboxilato	(7)	raízes	YOUNGSA-AD <i>et al.</i> , 2007
<i>C. oblongifolius</i>	metil 15,16-epoxi-3,13(16),14- <i>ent</i> -clerodatrien-18,19-olídeo-17-carboxilato	(8)		
<i>C. oblongifolius</i>	nasimaluna A	(9)		
<i>C. oblongifolius</i>	nasimaluna B	(10)		
<i>C. oblongifolius</i>	<i>cis</i> -colavenol	(11)		
<i>C. insularis</i>	furocrotinsulolida A	(12)	parte aérea	GRAIKOU <i>et al.</i> , 2005
<i>C. insularis</i>	furocrotinsulolida B	(13)		
<i>C. insularis</i>	crotinsulactona	(14)		

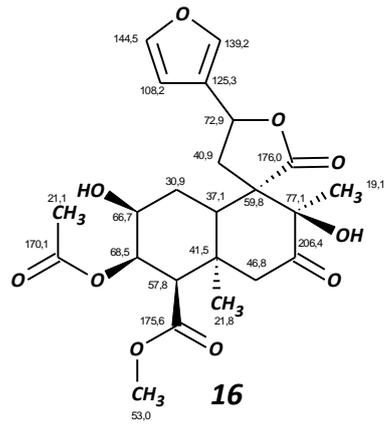


Figura 06 – Estrutura dos diterpenos clerodanos isolados de *Croton* de 2005 a 2011 (continuação)

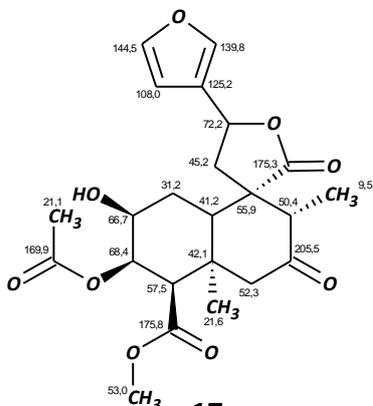




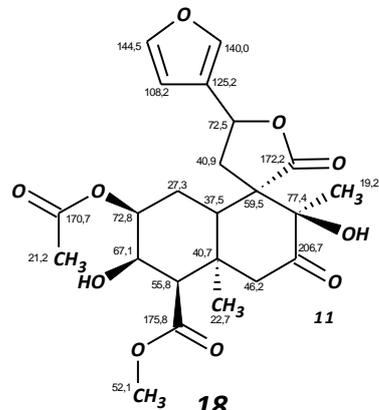
15



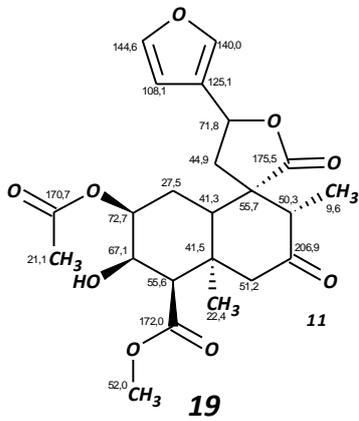
16



17



18



19

## 4. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE *C. pedicellatus*

### 4.1. Determinação estrutural de CP-1

Fracionamento cromatográfico, utilizando CLAE semi-preparativa em fase reversa, da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus* resultou no isolamento de um composto incolor  $\{[\alpha]_D^{20} = 7,5^\circ, (c\ 0,08, \text{CH}_3\text{OH})\ t_R = 6,05\ \text{min}; \text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}\ 5,2:4,8; 4,72\ \text{mL}/13\ \text{min}\}$ , denominado **CP-1** (10,8 mg).

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 11) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z\ 397,1263$ , relativo ao aduto de sódio ( $[M + \text{Na}]^+$ ) indicando a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{Na}$  (massa calculada = 397,1258, erro=7,05 ppm), a qual permite sugerir índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 10.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 12) apresentou bandas características de: deformação axial de grupo hidroxila (em  $3500\ \text{cm}^{-1}$ ); grupo carbonila de cetona (em  $1680\ \text{cm}^{-1}$ ) e uma banda intensa em  $1758\ \text{cm}^{-1}$  relativa à deformação axial de carbonila de  $\delta$ -lactona (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (acetona- $d_6$ , 500 MHz) (Figura 13), apresentou sinais em  $\delta\ 6,54$  (m, H-14),  $7,61$  (m, H-15) e  $7,71$  (m, H-16) revelando a presença de um anel furânico (SHIROTA *et al.*, 2006). Neste experimento também foram observados sinais em  $\delta\ 5,59$  (dd,  $J = 9,9$  e  $7,3$  Hz, H-12),  $4,79$  (dd,  $J = 5,1$  e  $0,9$  Hz, H-2) e  $4,50$  (s, H-3) correspondentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, assim como sinais para dois grupos metílicos em  $\delta\ 1,17$  (s, 3H-19) e  $1,11$  (d,  $J = 6,5$  Hz, 3H-17). Além dos sinais descritos, também foram verificados uma série de sinais na faixa de  $\delta\ 2,84$  a  $1,90$  relativos a hidrogênios metínicos e metilênicos.

No espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Figura 14), foram observados os acoplamentos vicinais entre os sinais em  $\delta\ 6,54$  (m, H-14) e  $7,61$  (m, H-15);  $5,59$  (dd,  $J = 9,9$  e  $7,3$  Hz, H-12) e  $2,83$  (dd,  $J = 14,3$  e  $7,3$  Hz, H-11a) e  $2,62$  (dd,  $J = 14,3$  e  $9,9$  Hz, H-11b);  $2,78$  (q,  $J = 6,5$  Hz, H-8) e  $1,11$  (d,  $J = 6,5$  Hz, 3H-17);

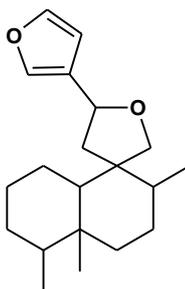
4,79 (dd,  $J = 5,1$  e  $0,9$  Hz, H-2)/ 2,40 (dd,  $J = 15,0$  e  $5,0$  Hz, H-10) e 2,66 [(dd,  $J = 15,0$  e  $5,0$  Hz), 1,91 (t,  $J = 15,0$  Hz) 2H-1] além de 4,50 (s, H-3) e 2,20 (sl, H-4).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, acetona- $d_6$ ) (Figura 15) apresentou sinais correspondentes a 20 carbonos, indicando que a estrutura em discussão tratava-se de um diterpeno. A subtração dos sinais do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB com o DEPT  $135^\circ$  (Figura 16) permitiu definir o padrão de hidrogenação relativo a cada carbono presente no espectro: 9 carbonos metínicos, 3 carbonos metilênicos, 2 metílicos e 6 carbonos não hidrogenados (Tabela 02). Com base na teoria de deslocamento químico, entre os carbonos metínicos, os sinais em  $\delta$  145,4 (C-15), 141,6 (C-16) e 109,2 (C-14) correspondem a carbonos  $sp^2$ , enquanto os sinais em  $\delta$  83,2 (C-2) 73,3 (C-3) e 72,2 (C-12), referem-se a carbonos oxigenados. Entre os carbonos não hidrogenados destacam-se os sinais em  $\delta$  206,9; 176,6 e 175,5 os quais são compatíveis com carbonos carbonílicos de cetona (C-7) e lactonas (C-18 e C-20), (PAVIA *et al.*, 2010).

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC, (Figura 17) mostrou as correlações dos hidrogênios diastereotópicos em:  $\delta$  2,83 (dd,  $J = 14,3$  e  $7,3$  Hz) e 2,62 (dd,  $J = 14,3$  e  $9,9$  Hz) com o carbono em  $\delta$  44,5 (C-11);  $\delta$  2,75 (dl,  $J = 15,0$ ) e 2,19 (dl,  $J = 15,0$ ) com o carbono em  $\delta$  52,6 (C-6);  $\delta$  2,66 (dd,  $J = 15,0$  e  $5,0$  Hz) e 1,91 (t,  $J = 15,0$  Hz) com o carbono em  $\delta$  27,8 (C-1), além de permitir a correlação direta de todos os hidrogênios metínicos e metílicos com seus respectivos carbonos (Tabela 01).

Considerando os 20 sinais de carbono, incluindo aqueles característicos de anel furânico, e do sinal de carbono quaternário em  $\delta$  55,4 (C-9), pode-se sugerir que o metabólito secundário em discussão trata-se de um diterpeno furânico de esqueleto clerodano (Figura 07) contendo em sua estrutura um sistema espiro (ATTA-UR-RAHMAR, 1992). Conforme levantamento bibliográfico sobre os constituintes químicos isolados de espécies de *Croton*, estes compostos são comuns no gênero (SILVEIRA *et al.*, 1985, 2005).

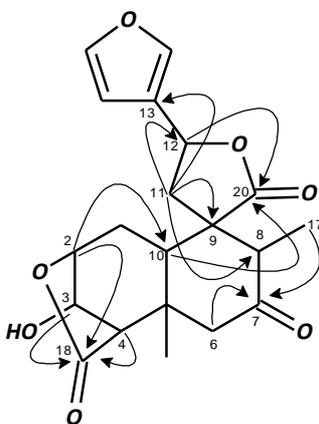
Figura 07 – Esqueleto furanoclerodano



A presença de um esqueleto clerodano furânico espiro aliado aos 3 sinais de carbonilas no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB justificaram 9 dos 10 graus de insaturação do composto, devendo então, possuir mais um anel em sua estrutura para satisfazer o IDH = 10, conforme observado através da fórmula molecular.

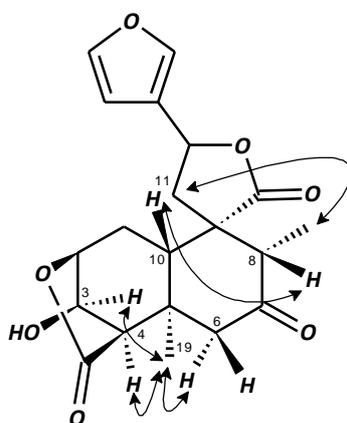
Através do espectro de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 18) foi possível confirmar a presença do anel lactônico justificando o último grau de insaturação pelas correlações observadas entre os hidrogênios H-4 ( $\delta$  2,20, sl), H-3 ( $\delta$  4,50, s) e H-2 ( $\delta$  4,79, dd,  $J = 5,1$  e  $0,9$  Hz) com o carbono C-18 ( $\delta$  176,5), além do H-2 com C-10 ( $\delta$  47,3). A posição das duas outras carbonilas foi determinada pelas correlações observadas entre os hidrogênios 2H-6 [( $\delta$  2,19, d,  $J = 15$  Hz), ( $\delta$  2,75, d,  $J = 15$  Hz)] e 3H-17 ( $\delta$  1,11, d,  $J = 6,5$  Hz) com o carbono C-7 ( $\delta$  206,9); 2H-11 [( $\delta$  2,83, dd,  $J = 14,3$  e  $7,3$  Hz) e ( $\delta$  2,62, dd,  $J = 14,3$ ,  $9,9$  Hz)] com C-8 ( $\delta$  50,5), C-9 ( $\delta$  55,4), C-12 ( $\delta$  72,2) e C-13 ( $\delta$  126,3), além dos hidrogênios H-12 ( $\delta$  5,59, dd,  $J = 9,9$  e  $7,3$  Hz) e H-10 ( $\delta$  2,40, dd,  $J = 15,0$  e  $5,0$  Hz) com o carbono C-20 ( $\delta$  175,5) (Figura 08).

Figura 08 – Estrutura de CP-1 com correlações de HMBC



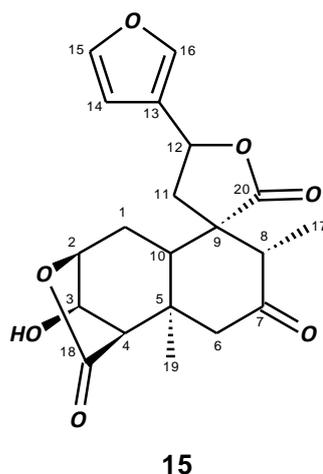
Por fim, a estereoquímica relativa de CP-1 foi determinada após análise do seu espectro de correlação espacial  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (Figura 19). A correlação entre o sinal dos hidrogênios do grupo metila ( $\text{CH}_3$ -19),  $\alpha$ -posicionado em C-5, com H-3 e H-4 indicam uma  $\beta$ -orientação para a hidroxila em C-3, bem como para o anel lactônico em C-2/C-4. A  $\alpha$ -orientação do grupo metila  $\text{CH}_3$ -17 foi definida através da correlação entre os sinais de hidrogênio H-8 e H-10, enquanto, a estereoquímica da  $\gamma$ -lactona foi estabelecida pela correlação entre os sinais de  $\text{CH}_3$ -17 e 2H-11 (Figura 09).

Figura 09 - Estrutura de CP-1 com correlações de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY



Após detalhada análise dos dados espectrais de CP-1, sua estrutura foi completamente determinada (Figura 10), e denominada 12,20:15,16-diepoxi-3-hidroxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18,2-olídeo (**15**). As plantas do gênero *Croton* são conhecidas como fontes de diterpenos dos mais diversos tipos de esqueletos, entre os quais, os clerodanos. Estes compostos apresentam grande diversidade estrutural, já tendo sido isolados mais de 800 compostos (LEAL *et al.*, 2008). Apesar dos diterpenos com esqueleto clerodano serem muito comuns em espécies do gênero *Croton*, uma detalhada pesquisa bibliográfica mostrou que este composto está sendo relatado pela primeira vez.

Figura 10 – Estrutura de CP-1

Tabela 02 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

C	$\delta_c$	$\delta_H$	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
1	27,8	2,66 (dd, 15,0; 5,0) 1,91 (t, 15,0)	H-10	
2	83,2	4,79 (dd, 5,1; 0,9)	H-1a; H-3	H-4
3	73,3	4,50 (s)	H-2; H-4	2H-1
4	61,1	2,20 (sl)		H-2; 2H-6; 3H-19
5	40,9	-	2H-6; H-10; 3H-19	H-1 <sup>a</sup>
6	52,6	2,75 (dl, 15,0) 2,19 (d, 15,0)		3H-19
7	206,9	-	2H-6	3H-17
8	50,5	2,78 (q, 6,5)	3H-17	H-6b; H-11b
9	55,4	-	H-10; 2H-11	H-1b; 3H-17
10	47,3	2,40 (dd, 15,0; 5,0)	2H-1	H-2; 2H-6; H-8; 2H-11; 3H-19
11	44,5	2,83 (dd, 14,3; 7,3) 2,62 (dd, 14,3; 9,9)		H-8
12	72,2	5,59 (dd, 9,9; 7,3)	H-11b	
13	126,3	-	H-14; H-16	H-11b; H-15
14	109,2	6,54 (m)		H-12; H-16
15	145,4	7,61 (m)	H-14	H-16
16	141,6	7,71 (m)		H-12
17	9,6	1,11 (d, 6,5)		
18	176,6	-		H-2; H-3
19	20,7	1,17 (s)		2H-6; H-10
20	175,5	-		H-10; H-11 <sup>a</sup>

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 11 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-1

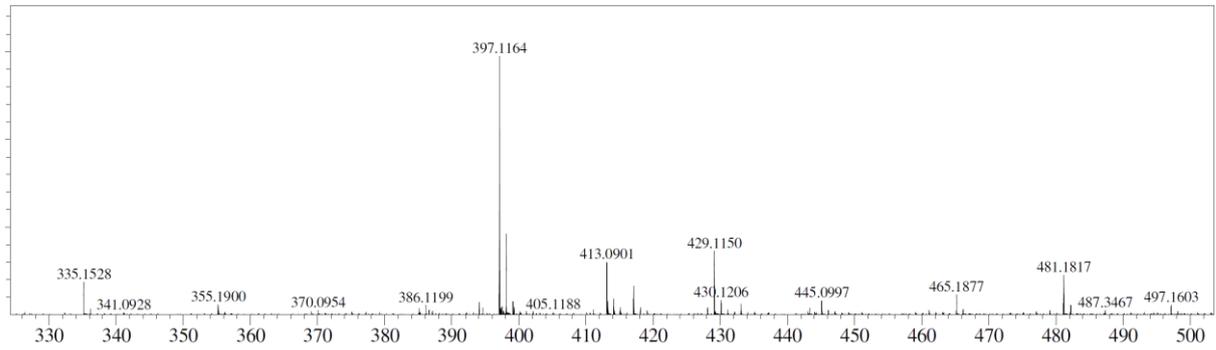


Figura 12 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-1

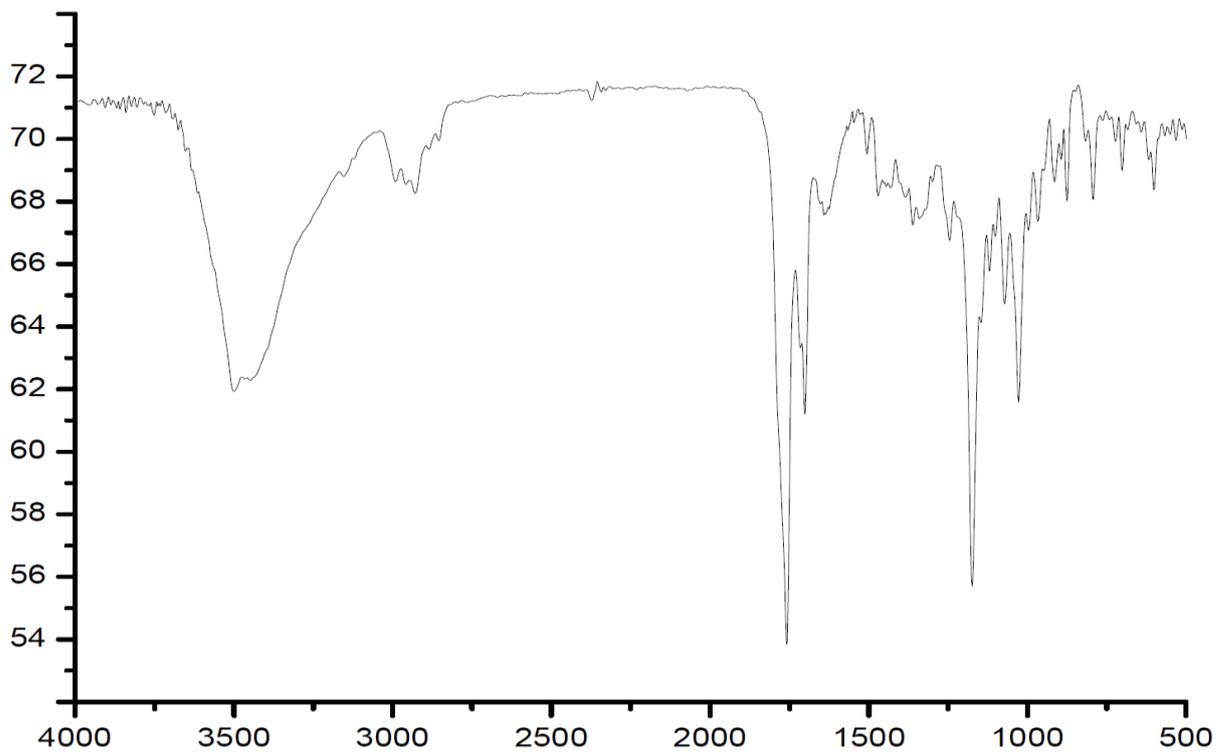


Figura 13 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

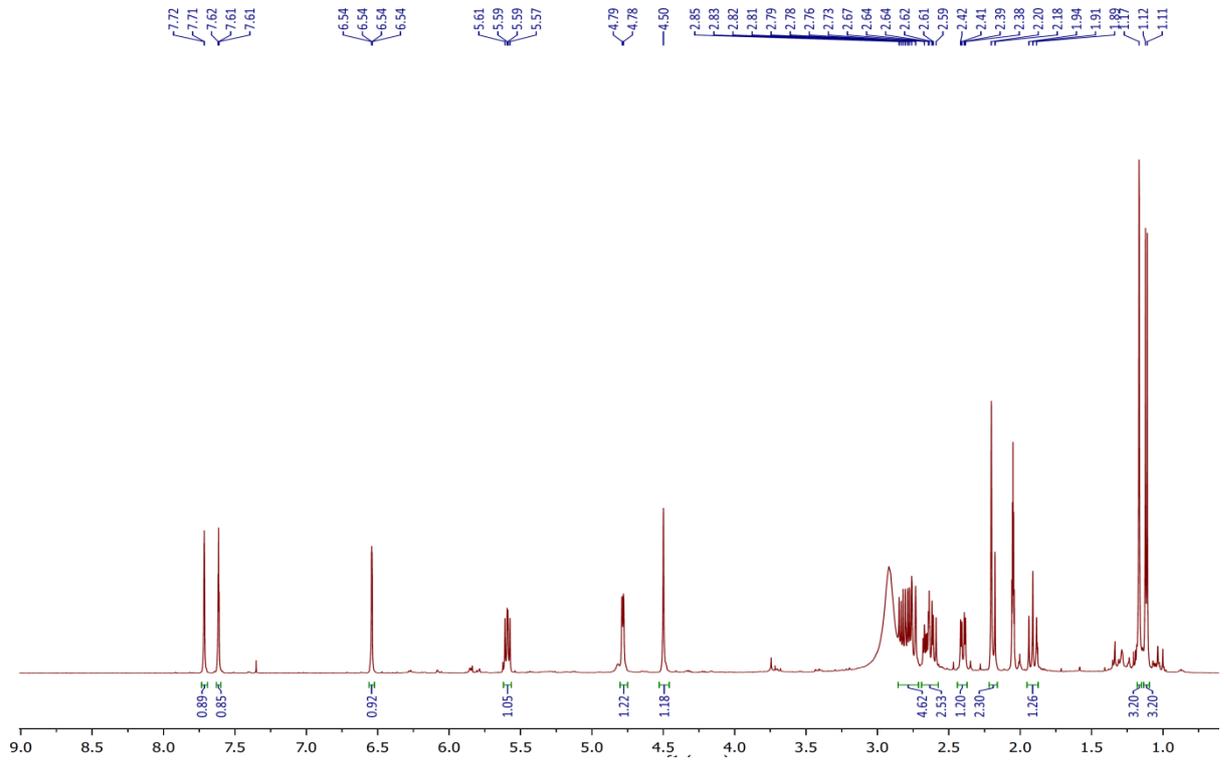


Figura 14 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

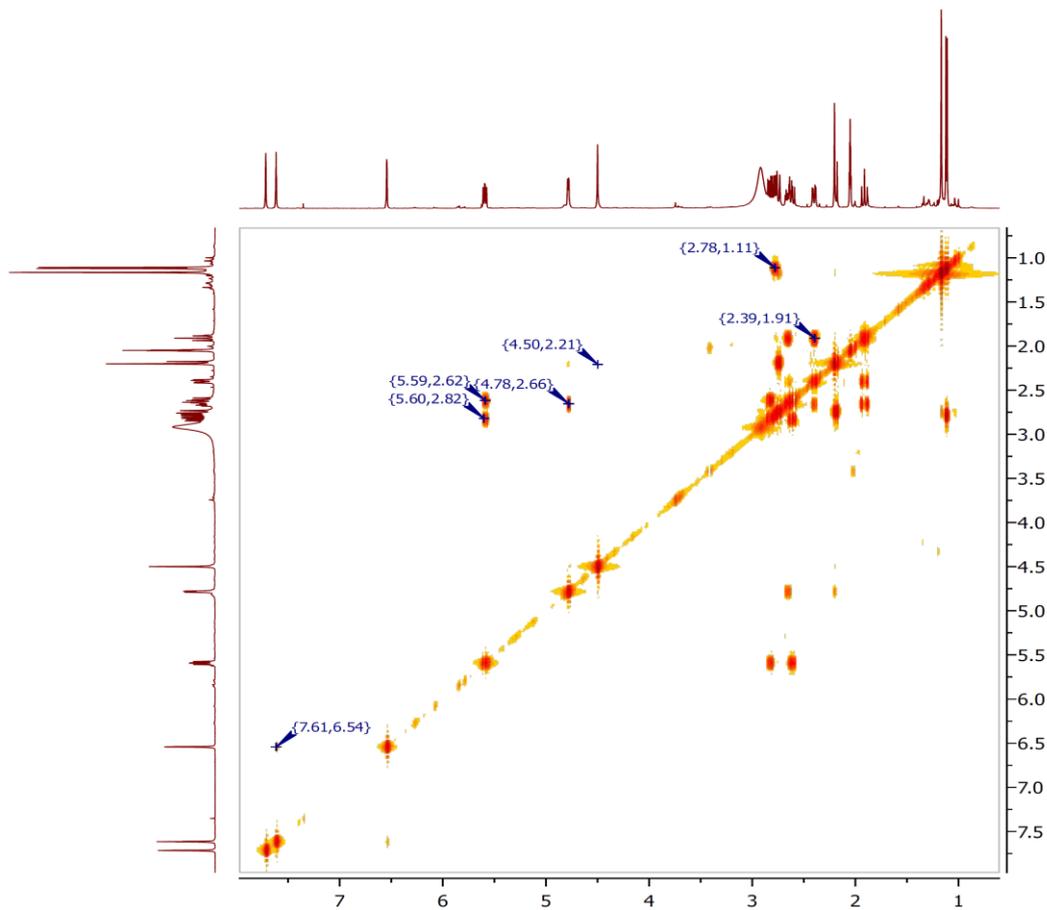


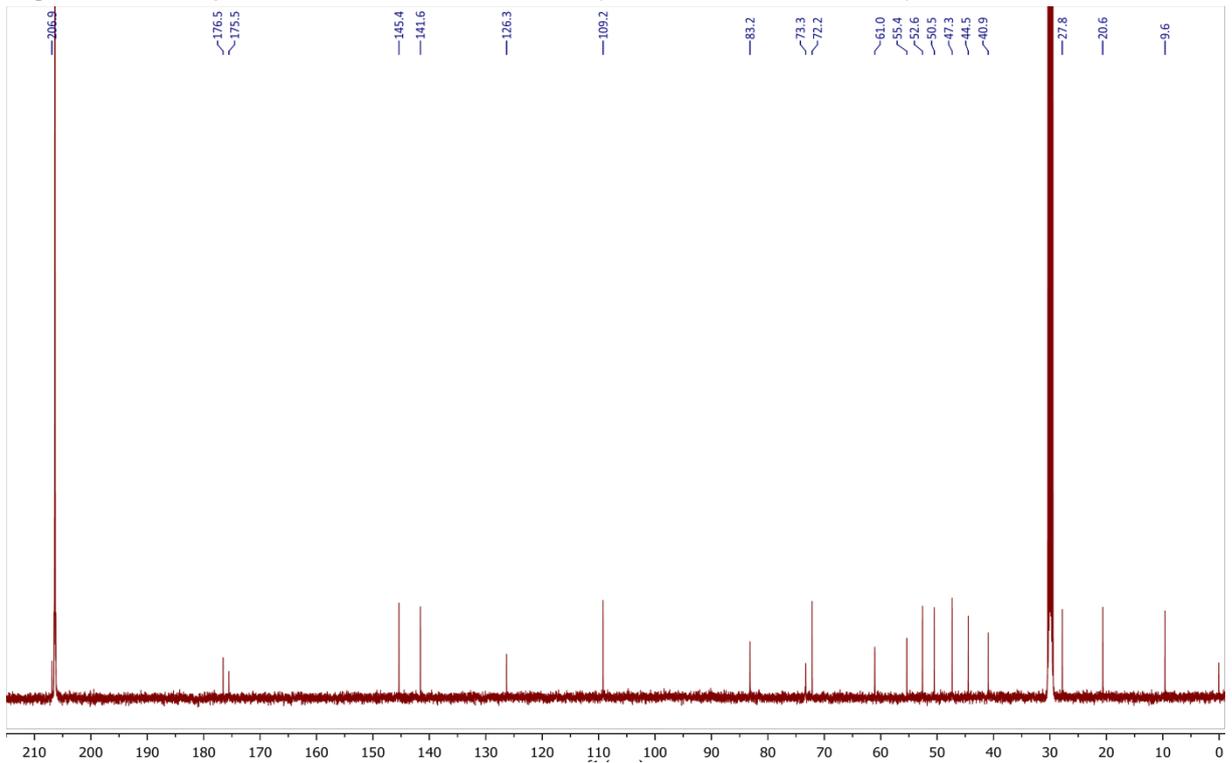
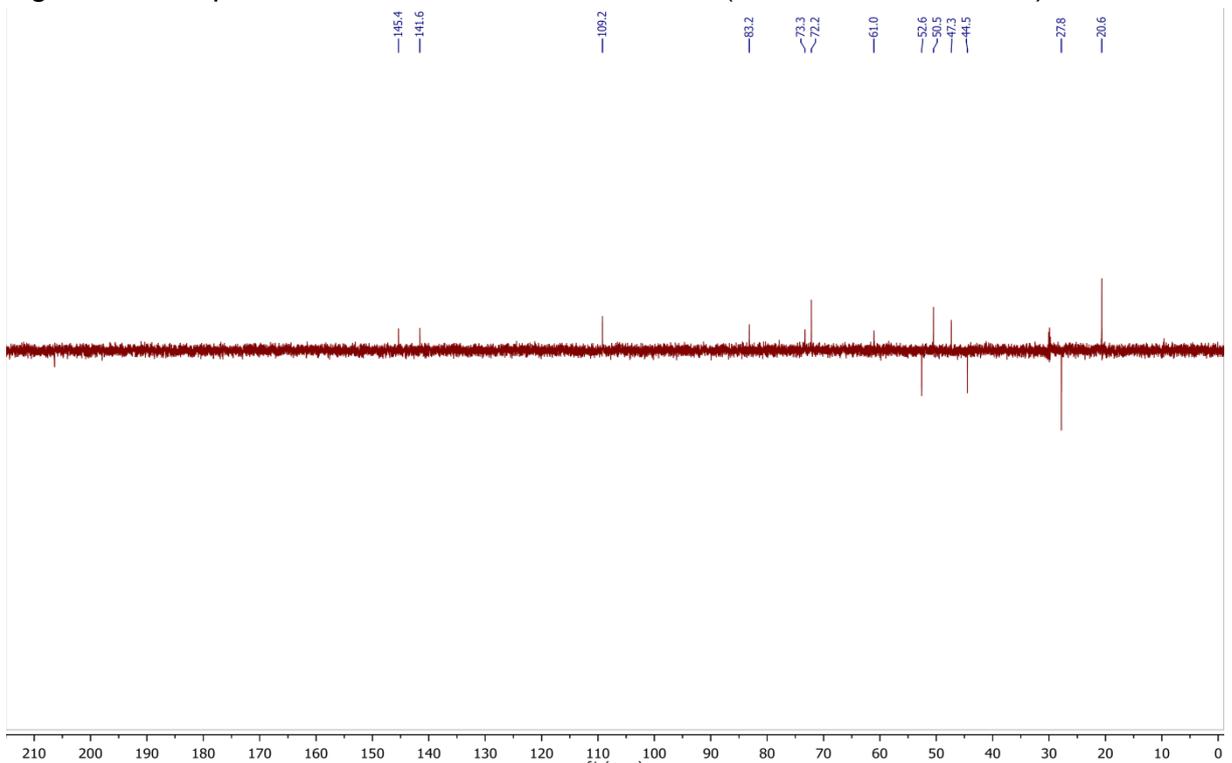
Figura 15 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1Figura 16 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

Figura 17 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

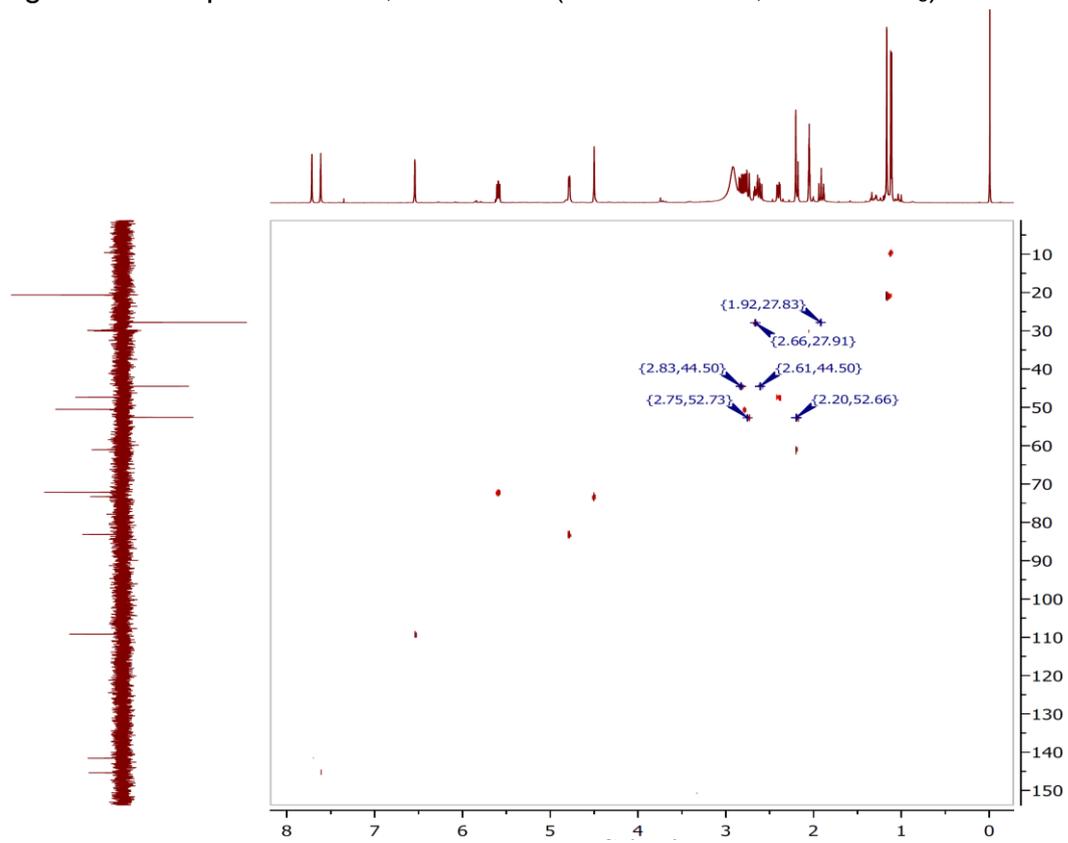


Figura 18 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

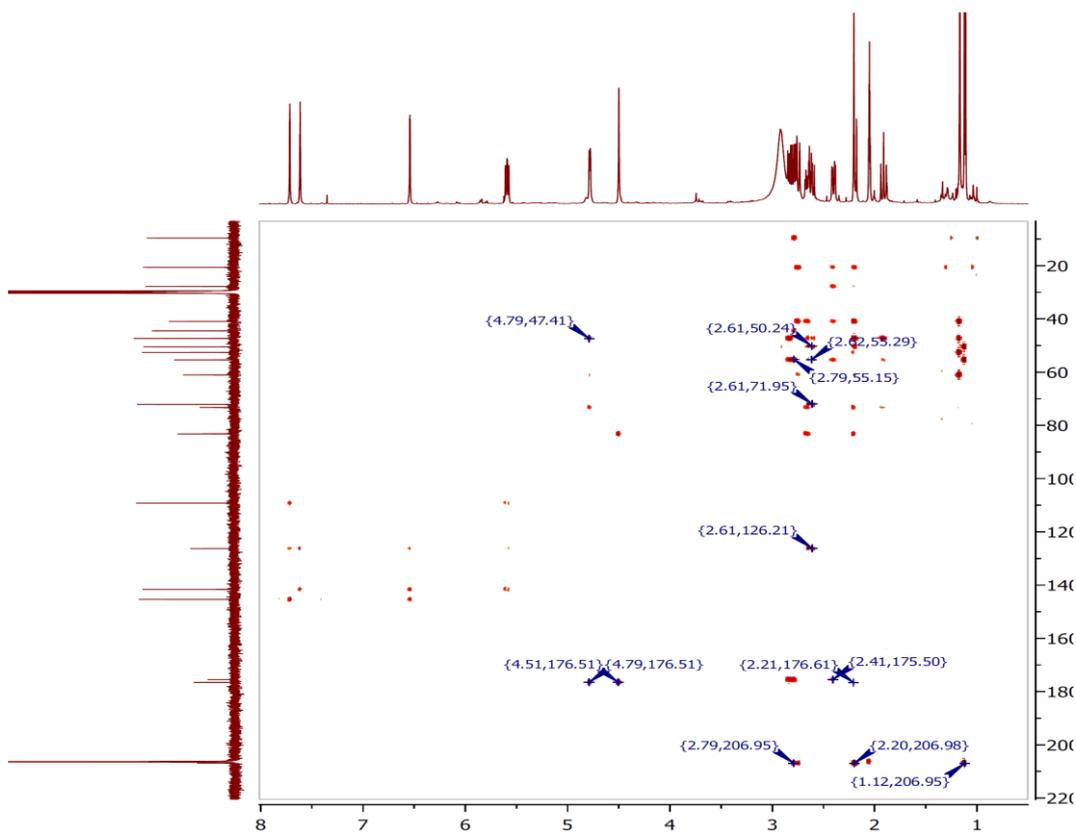
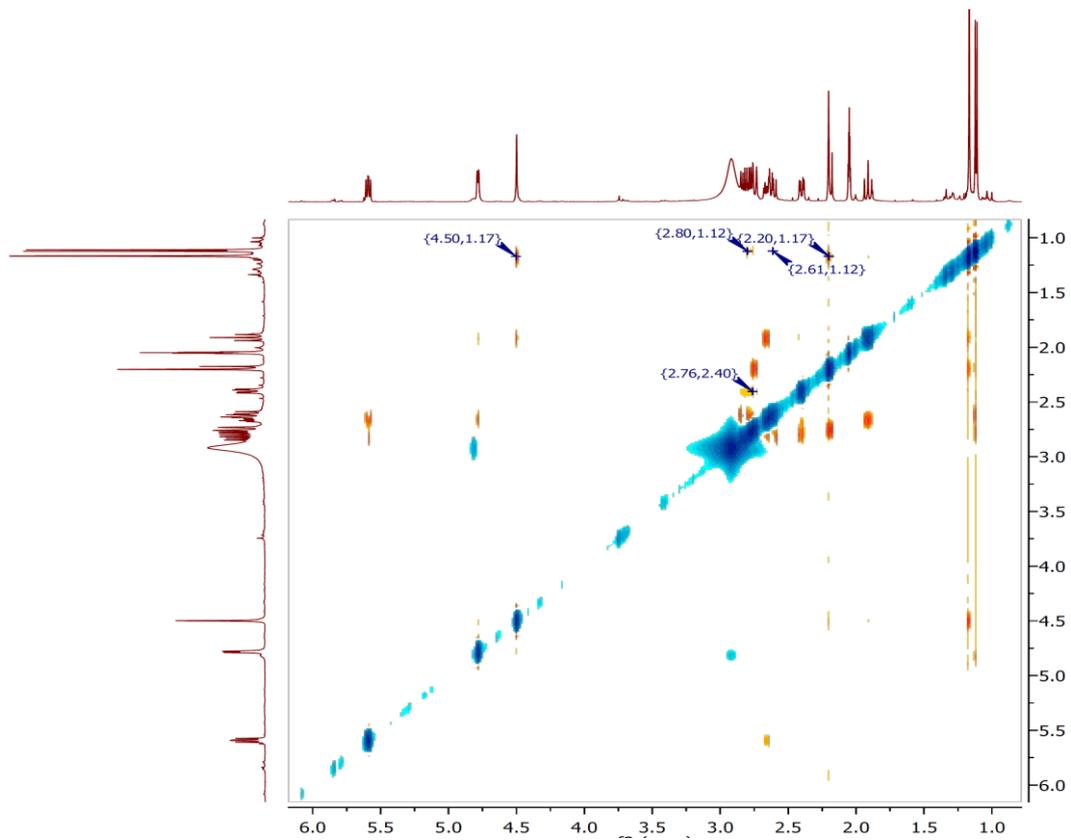


Figura 19 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz, acetona- $d_6$ ) de CP-1

## 4.2 Determinação estrutural de CP-2

O composto **CP-2**  $\{[\alpha]_D^{20} = 10,5^\circ, (c\ 0,12, \text{CH}_3\text{OH}), 38,2\ \text{mg}, \text{PF}\ 200,1\text{-}202,3\ ^\circ\text{C}\ t_R = 10,04\ \text{min}; \text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}\ 5,2:4,8; 4,72\ \text{mL}/13\ \text{min}\}$ , cristais em forma de agulhas, foi isolado utilizando CLAE semi-preparativa em coluna de fase reversa, a partir da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 24) mostrou um pico com  $m/z$  487,1581, correspondente ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), revelando a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{Na}$  (massa calculada = 487,1575, erro=1,23 ppm), indicando IDH = 10.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 25) apresentou uma banda larga em  $3382\ \text{cm}^{-1}$ , característica de deformação axial de hidroxila, além de absorções intensas relativas a deformação axial de carbonilas em  $1755$  e  $1724\ \text{cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

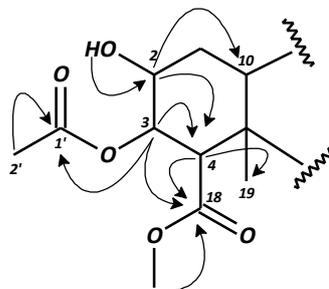
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 26) apresentou sinais em  $\delta$  6,39 (1H, d,  $J = 0,8\ \text{Hz}$ ), 7,44 (1H, m) e 7,48 (1H, m) revelando a presença de um anel furano; sinais referentes a hidrogênios oximetínicos em  $\delta$  5,50 (t,  $J = 8,4\ \text{Hz}$ , H-12), 5,11 (dd,  $J = 6,4$  e  $4,5\ \text{Hz}$ , H-3) e 4,22 (m, H-2), bem como hidrogênios característicos de metilas ligadas a carbono não hidrogenado em  $\delta$  2,77 (s), 2,08 (s), 1,32 (s) e 1,31 (s). Outros sinais foram observados na faixa de  $\delta$  3,10 a 1,80 revelando a presença de hidrogênios de grupos metínicos e metilênicos, evidenciando a natureza terpênic de CP-2.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), (Figura 27) foram observados sinais correspondentes a 23 carbonos, que após comparação com o DEPT 135 (Figura 28) foi definido o padrão de hidrogenação dos carbonos de CP-2: 8 carbonos metínicos, 3 carbonos metilênicos, 4 metílicos e 8 carbonos não hidrogenados (Tabela 03).

A análise dos dados espectrais e comparação com os dados de CP-1 (p. 36) permitiram sugerir que CP-2 tratava-se de um diterpeno furânico com estrutura

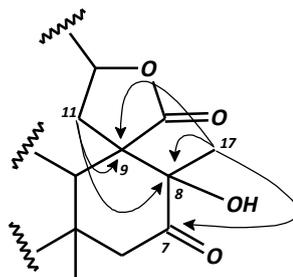
semelhante à de CP-1. Os três sinais de carbono adicionais foram atribuídos a um grupo acetoxila e uma metoxila, justificados pelos sinais em  $\delta$  2,08 (3H, s)/21,1 (C-2') e 170,1 (C-1') e em 3,77 (3H, s)/53,0 nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB, respectivamente. A posição do grupo acetoxila em C-3 foi determinada pelas correlações observadas no espectro  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 29) entre o hidrogênio H-3 ( $\delta$  5,11; dd,  $J = 6,4$  e  $4,5$  Hz) e os carbonos C-4 ( $\delta$  57,8), C-1' ( $\delta$  170,1) e C-18 ( $\delta$  175,6). De forma semelhante, as correlações entre os hidrogênios da metoxila (3,77, s), H-4 ( $\delta$  2,85; d,  $J = 6,5$  Hz) e H-3 ( $\delta$  5,11; dd,  $J = 6,5$  e  $4,5$  Hz) com C-18 confirmaram a posição da metoxila. Outras correlações importantes para a definição completa da estrutura de CP-2 estão sumarizadas no fragmento abaixo (Figura 20).

Figura 20 – Fragmento de CP-2 com correlações de HMBC



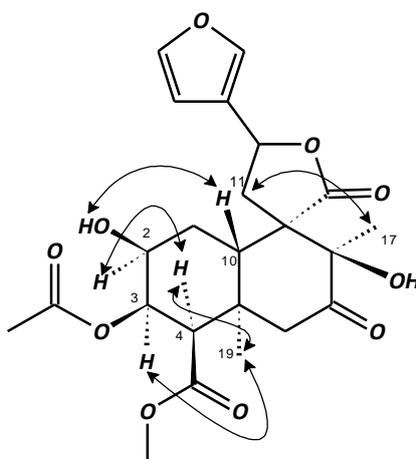
Observou-se também diferença na multiplicidade do sinal correspondente a metila-17 que passou de duplete para simpleto, o que pode ser explicado pela hidroxilação de C-8. A atribuição do sinal de C-8 foi confirmada pelas correlações dos hidrogênios H-11 [( $\delta$  2,77, dd,  $J = 15,0$  e  $8,9$  Hz) e ( $\delta$  2,59, dd,  $J = 15,0$ ,  $8,2$  Hz)] com C-8 e C-9, e de 3H-17 (1,31, s) com C-7 ( $\delta$  206,4), C-8 ( $\delta$  77,1) e C-9 ( $\delta$  59,8) (Figura 21).

Figura 21 – Fragmento 2 de CP-2 com correlações de HMBC



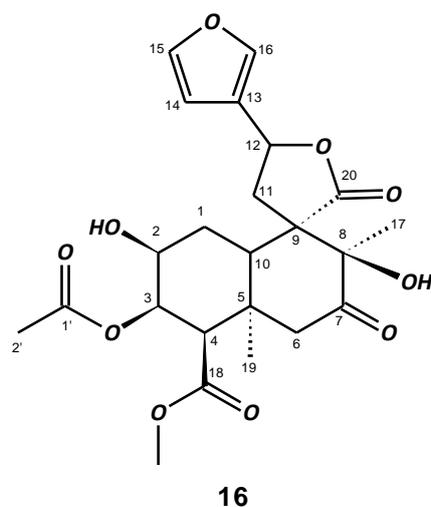
A estereoquímica  $\beta$  para os grupos acetoxila e metil éster foi estabelecida através do NOE (Figura 30) entre os hidrogênios 3H-19 com H-4 e H-3, e entre H-2 e H-4. Os grupos hidroxila em C-2 e C-8 também foram  $\beta$ -posicionados com base na interação espacial entre HO-2 e H-10, H-11a e 3H-17. A correlação NOE entre os hidrogênios 3H-19 e H-4, 3H<sub>3</sub>-19 e H-3, H-11a e 3H-17 indicam que os hidrogênios CH<sub>3</sub>-19, H-4, H-3, e 3H-17 seguem orientação  $\alpha$ . E ainda a interação espacial entre OH-2 e H-10 mostra que estes estão em orientação  $\beta$  (Figura 22).

Figura 22 – CP-2 com correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY



A análise dos dados de CP-2 aliado a comparação com CP-1, possibilitou a sua completa elucidação estrutural, cuja estrutura foi denominada 12,20:15,16-Diepoxi-2,8-dihidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila (**16**) (Figura 23). Pesquisa bibliográfica nas bases de dados *Scifinder scholar* e *Science direct* não resultaram em nenhuma ocorrência para o composto supracitado, o que indica que este, a exemplo de CP-1, está sendo descrito pela primeira vez.

Figura 23 – Estrutura de CP-2

Tabela 03 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
MeO-18	53,0	3,77 (s)		
1'	170,1	-		H-3
1	30,9	2,07 1,85 (dt, 13,8; 2,9)	H-10	
2	66,7	4,22 (m)	HO-2	H-4
2'	21,1	2,08 (s)		
3	68,5	5,11 (dd, 6,4 e 4,5)	H-2; H-4	HO-3; H-1
4	57,8	2,85 (d, 6,5)	H-3	H-2; H-6a; 3H-19
5	41,5	-	H-6b; 3H-19	
6	<u>46,8</u>	3,01 (d, 12,1) 2,11 (d, 12,1)		3H-19
7	206,4	-	2H-6	3H-17
8	77,1	-	3H-17	2H-11; H-6b
9	<u>59,8</u>	-	2H-11; H-10	3H-17
10	<u>37,1</u>	3,07 (dd, 13,8; 2,2)	3H-19	H-2; 2H-11; H-4; H-6b; 3H-19
11	<u>40,9</u>	2,77 (dd, 15,0; 8,9) 2,59 (dd, 15,0; 8,2)	H-12	
12	72,9	5,50 (t, 8,4)	2H-11	
13	125,3	-	H-12; H-14; H-16	2H-11; H-15
14	108,2	6,39 (d, 0,8)	H-15	H-12; H-16
15	144,5	7,44 (m)		H-16
16	139,2	7,48 (s)		H-12; H-14; H-15
17	<u>19,1</u>	1,31 (s)		
18	175,6	-	H-4	MeO-18; H-3
19	21,8	1,32 (s)		H-4; H-6b; H-10
20	176,0	-		H-12; 2H-11; H-10

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 24 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-2

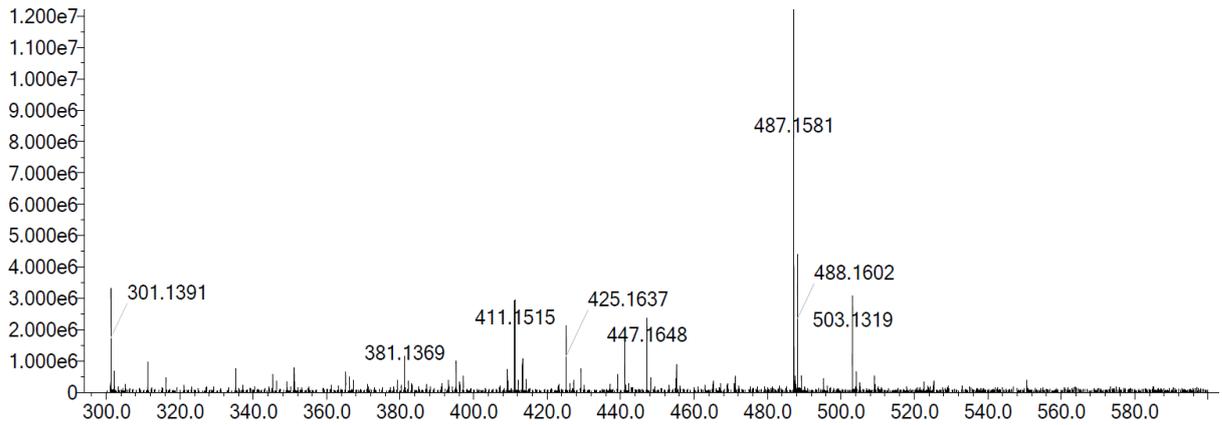


Figura 25 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-2

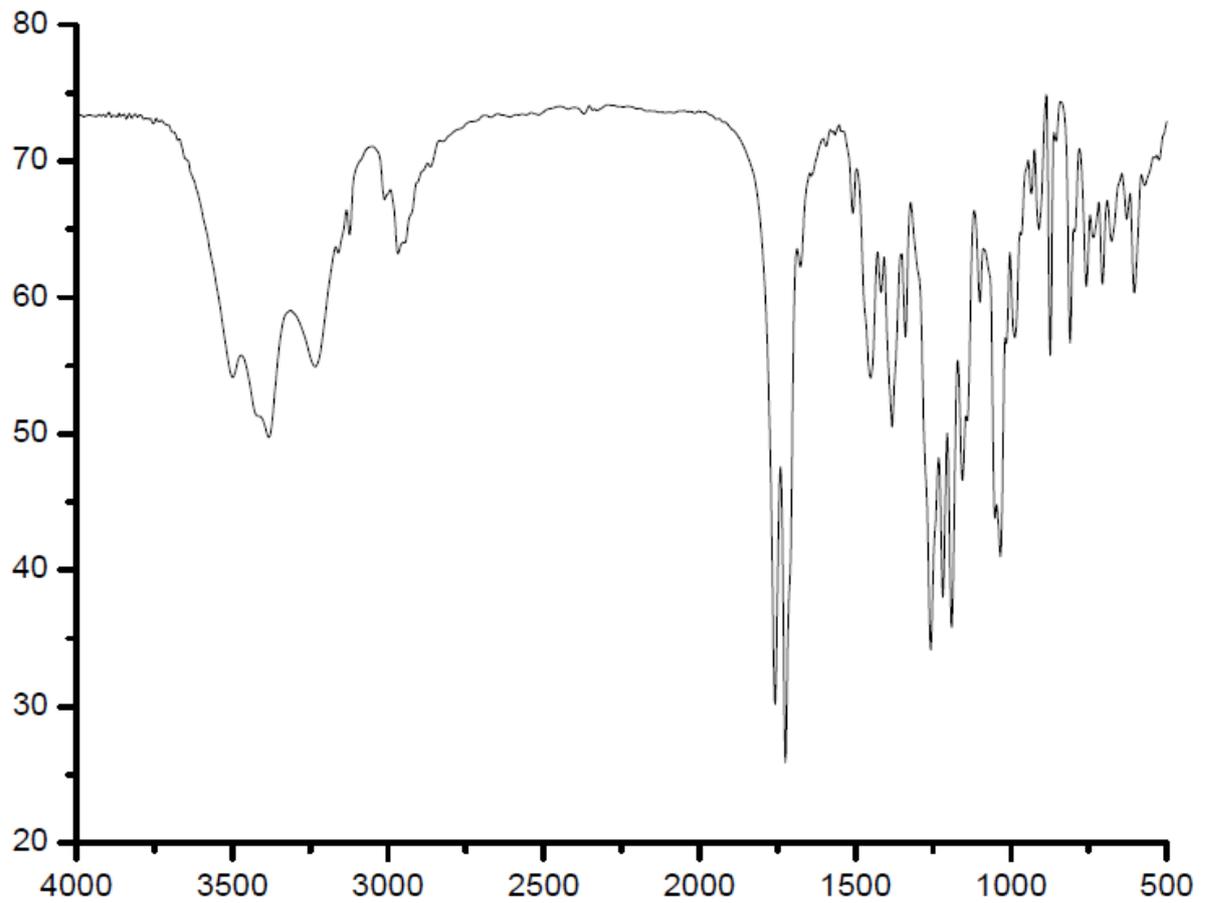


Figura 26 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CP-2

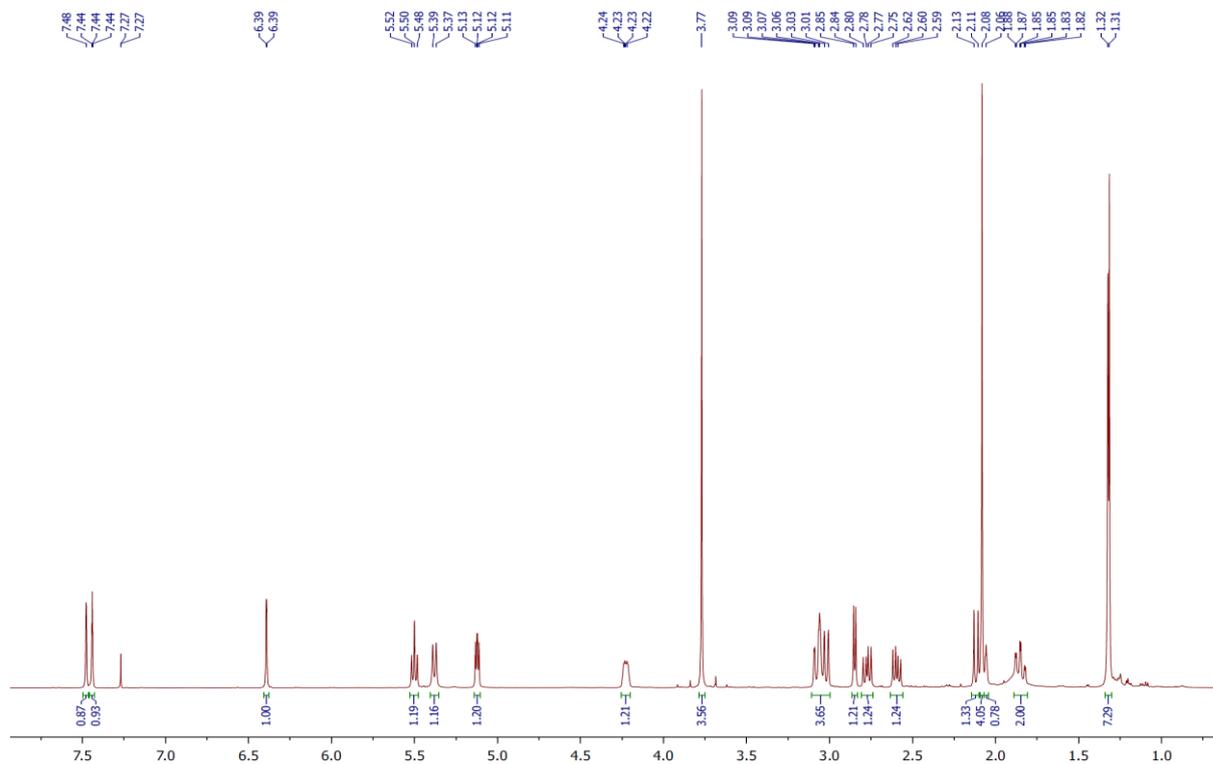


Figura 27 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CP-2

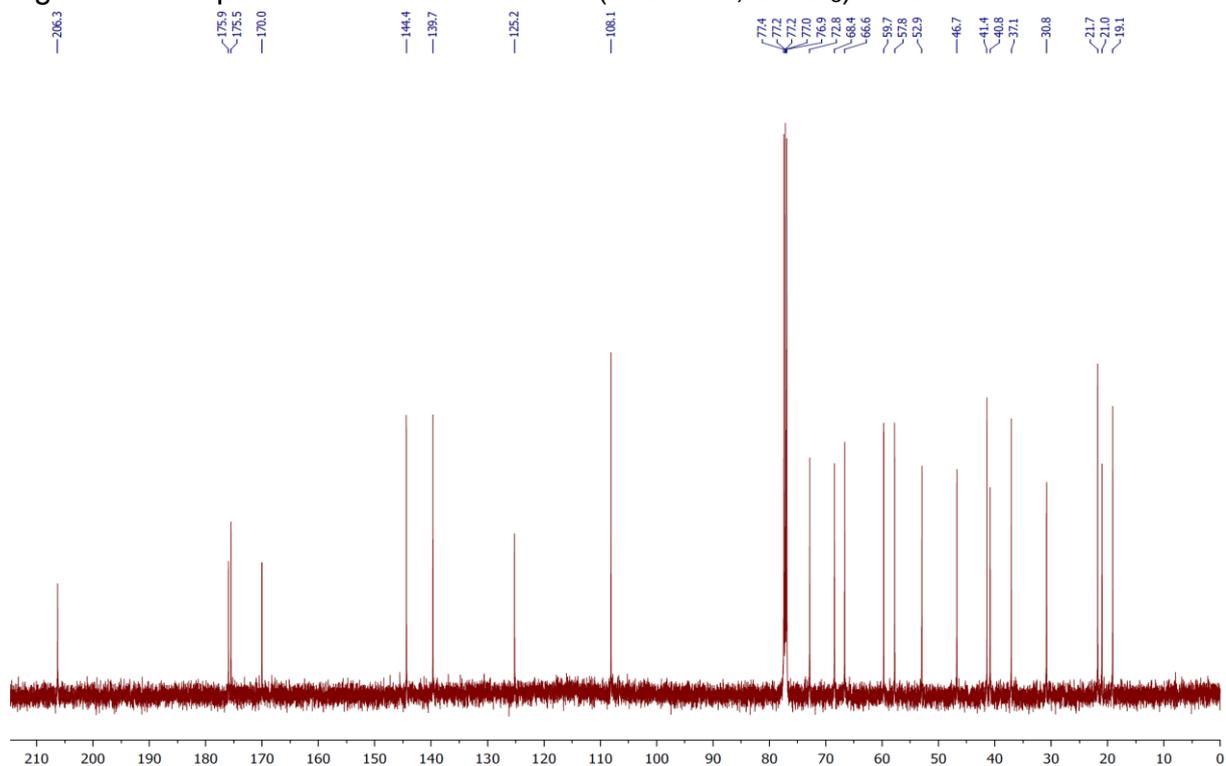


Figura 28 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2

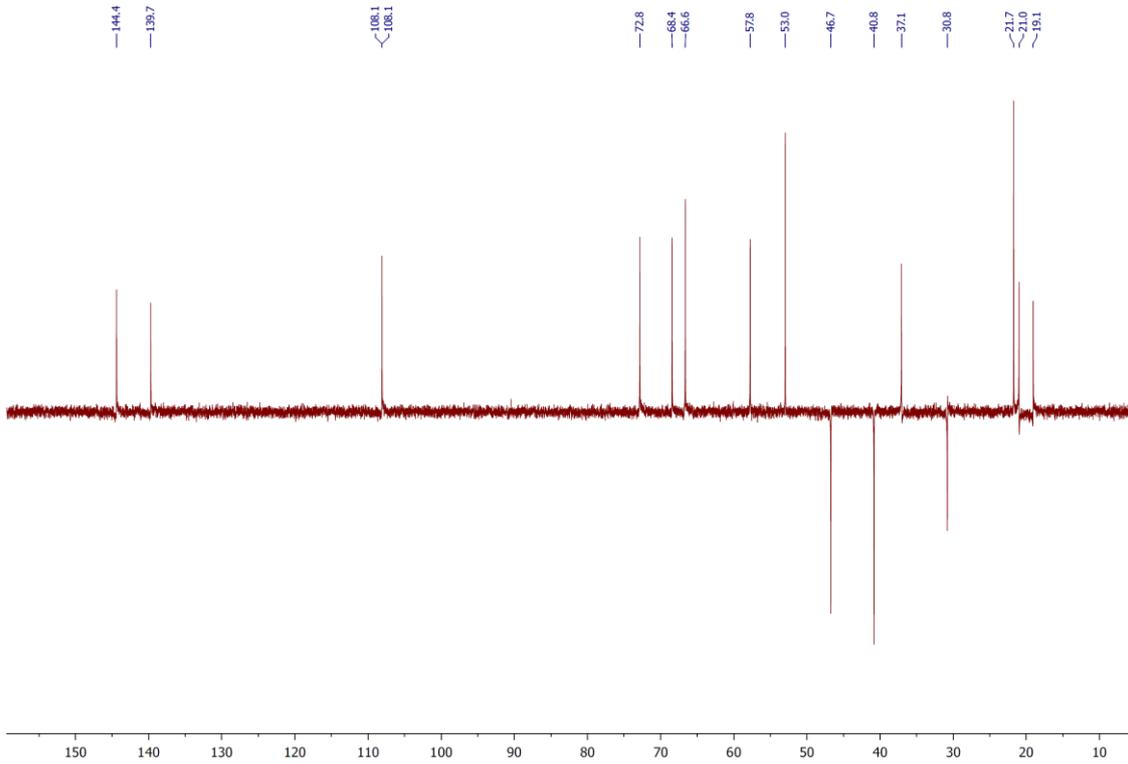


Figura 29 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2

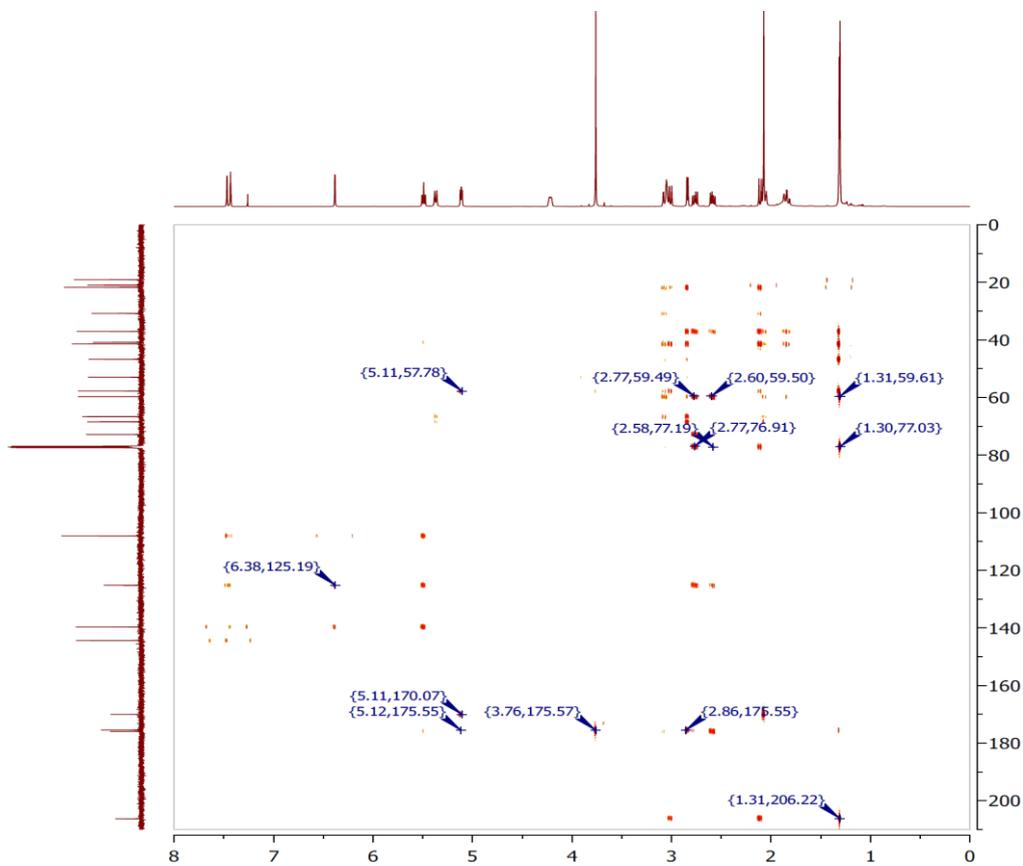
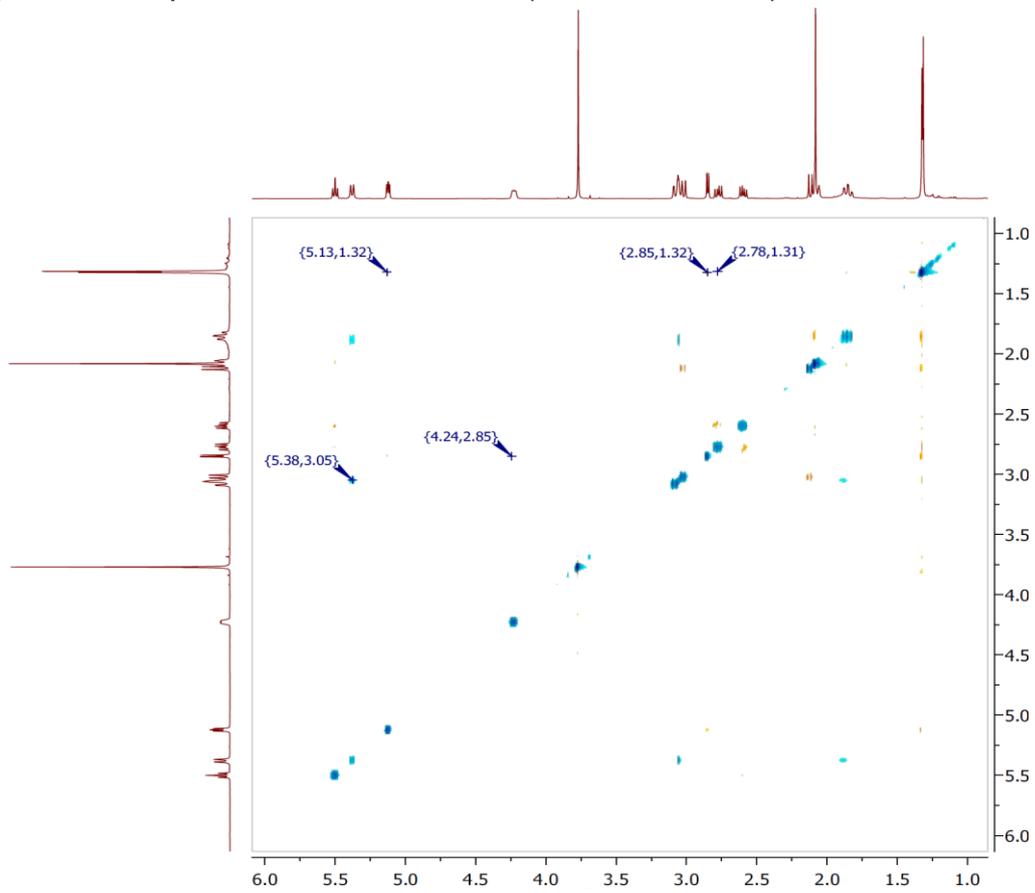


Figura 30 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-2

### 4.3 Determinação estrutural de CP-3

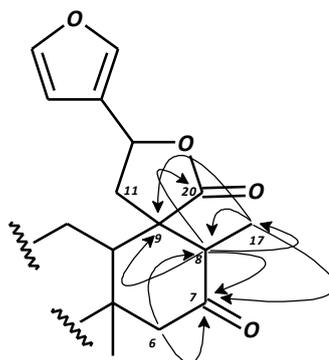
O composto denominado **CP-3**  $\{[\alpha]_D^{20} = -21,7^\circ, (c 0,12, \text{CH}_3\text{OH}), 26,3 \text{ mg, PF } 201,8\text{-}204,1 \text{ }^\circ\text{C, } t_{\text{R}} = 12,39 \text{ min; H}_2\text{O/CH}_3\text{OH } 5,2:4,8; 4,72 \text{ mL/13 min}\}$ , um sólido cristalino, foi isolado utilizando CLAE semi-preparativa em coluna de fase reversa a partir da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*.

A fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{Na}$  (massa calculada = 471,1626, erro=0,85 ppm) foi determinada através do espectro de massa de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 33), através do pico correspondente ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) com  $m/z$  471,1630. Como pode ser observada, a fórmula molecular de CP-3 difere em apenas um átomo de oxigênio em relação à CP-2 (FM=  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ , p. 42).

Os espectros de IV (Figura 34), RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB de CP-3 (Figuras 35-37) mostraram-se semelhantes aos de CP-2, indicando que estes compostos são análogos. As principais diferenças entre estes dois compostos se deram pela ausência do sinal com deslocamento químico em  $\delta$  77,1 (C-8) e surgimento do sinal em  $\delta$  50,4, pela proteção do grupo metila  $\text{CH}_3$ -17, que passou de  $\delta$  19,1 em CP-2, para  $\delta$  9,5 em CP-3, e no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  o sinal correspondente a este grupo metílico passou de simpleto para duplete (Tabela 04).

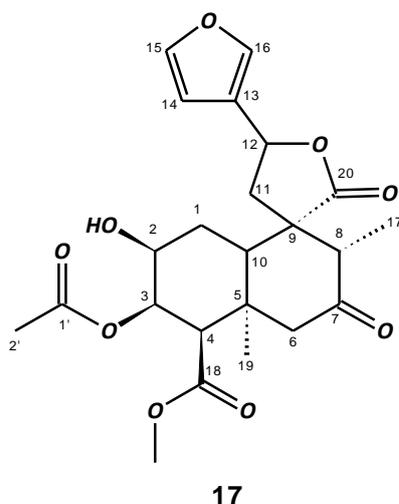
As correlações a longa distância entre o sinal de hidrogênio em  $\delta$  2,46 (q,  $J = 7,0 \text{ Hz}$ , H-8) com os sinais de carbonos em  $\delta$  205,5 (C-7), 55,9 (C-9), 45,2 (C-11), 9,5 (C-17) e 175,3 (C-20) (Figura 38), corroboram com a estrutura proposta, ou seja, uma estrutura semelhante a de CP-2, mas sem o grupo hidroxila em C-8. Outras correlações que confirmaram a proposta estão mostradas na sub-estrutura abaixo (Figura 31).

Figura 31 – Fragmento de CP-3 com correlações observadas no HMBC



A análise dos dados espectrais de CP-3, bem como a comparação destes com os de CP-2, permitiram concluir que CP-3 trata-se do 12,20:15,16-diepoxi-2-hidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila (**17**) (Figura 32). A exemplo de CP-1 e CP-2, este metabólito secundário está sendo relatado pela primeira vez.

Figura 32 – Estrutura de CP-3

Tabela 04 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3 e CP-2.

C	CP-3		CP-2	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
MeO-18	53,0	3,77 (s)	53,0	3,77 (s)
1'	169,9	-	170,1	-
1	31,2	2,15 (td, 14,0; 2,7) 1,88 (dt, 14,0; 3,0)	30,9	2,07 1,85 (dt, 13,8; 2,9)
2	66,7	4,25 (m)	66,7	4,22 (m)
2'	21,1	2,08 (s)	21,1	2,08 (s)
3	68,4	5,15 (dd, 10,5; 4,0)	68,5	5,11 (dd, 6,4; 4,5)
4	57,5	2,88 (d, 6,5)	57,8	2,85 (d, 6,5)
5	42,1	-	41,5	-
6	<u>52,3</u>	2,33 (d, 12,0) 2,20 (d, 12,0)	<u>46,8</u>	3,01 (d, 12,1) 2,11 (d, 12,1)
7	205,5	-	206,4	-
8			<u>77,1</u>	-
8	<u>50,4</u>	2,46 (q, 7,0)		
9	<u>55,9</u>	-	<u>59,8</u>	-
10	41,2	2,86 (dd, 13,0; 2,0)	<u>37,1</u>	3,07 (dd, 13,8; 2,2)
11	<u>45,2</u>	2,79 (dd, 14,5; 8,5) 2,50 (dd, 14,5; 9,0)	<u>40,9</u>	2,77 (dd, 15,0; 8,9) 2,59 (dd, 15,0; 8,2)
12	72,2	5,47 (t, 8,5)	72,9	5,50 (t, 8,4)
13	125,2	-	125,3	-
14	108,0	6,37 (sl)	108,2	6,39 (d, 0,8)
15	144,5	7,43	144,5	7,44 (m)
16	139,8	7,44	139,2	7,48 (s)
17	<u>9,5</u>	1,11 (d, 7,0)	<u>19,1</u>	1,31 (s)
18	175,8	-	175,6	-
19	21,6	1,33 (s)	21,8	1,32 (s)
20	175,3	-	176,0	-

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 33 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-3

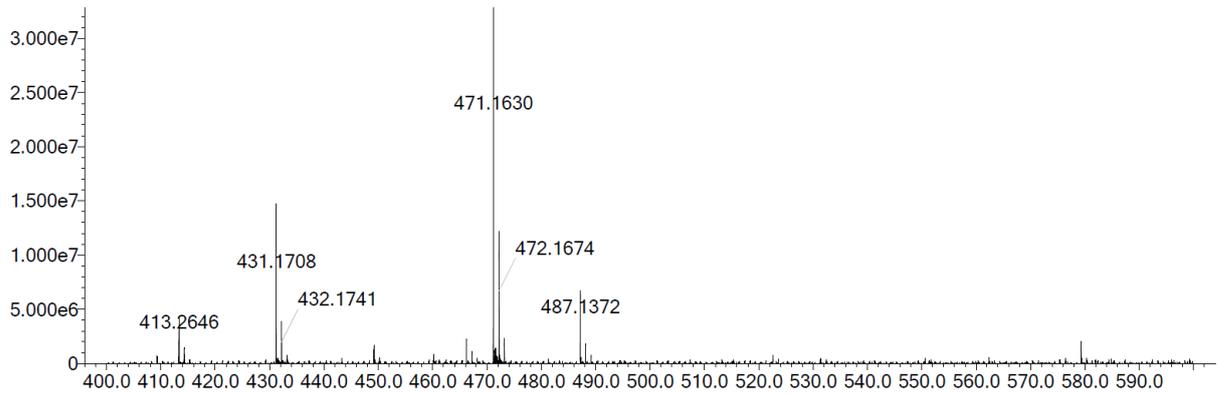


Figura 34– Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-3

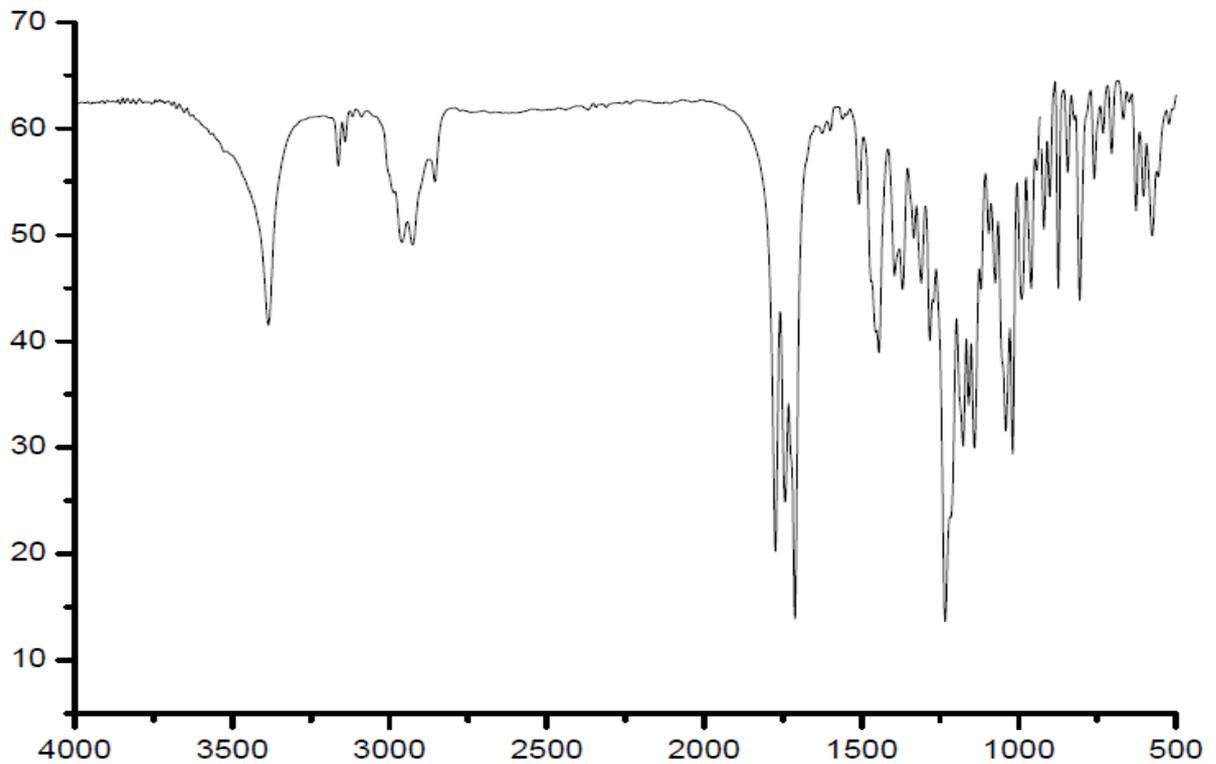


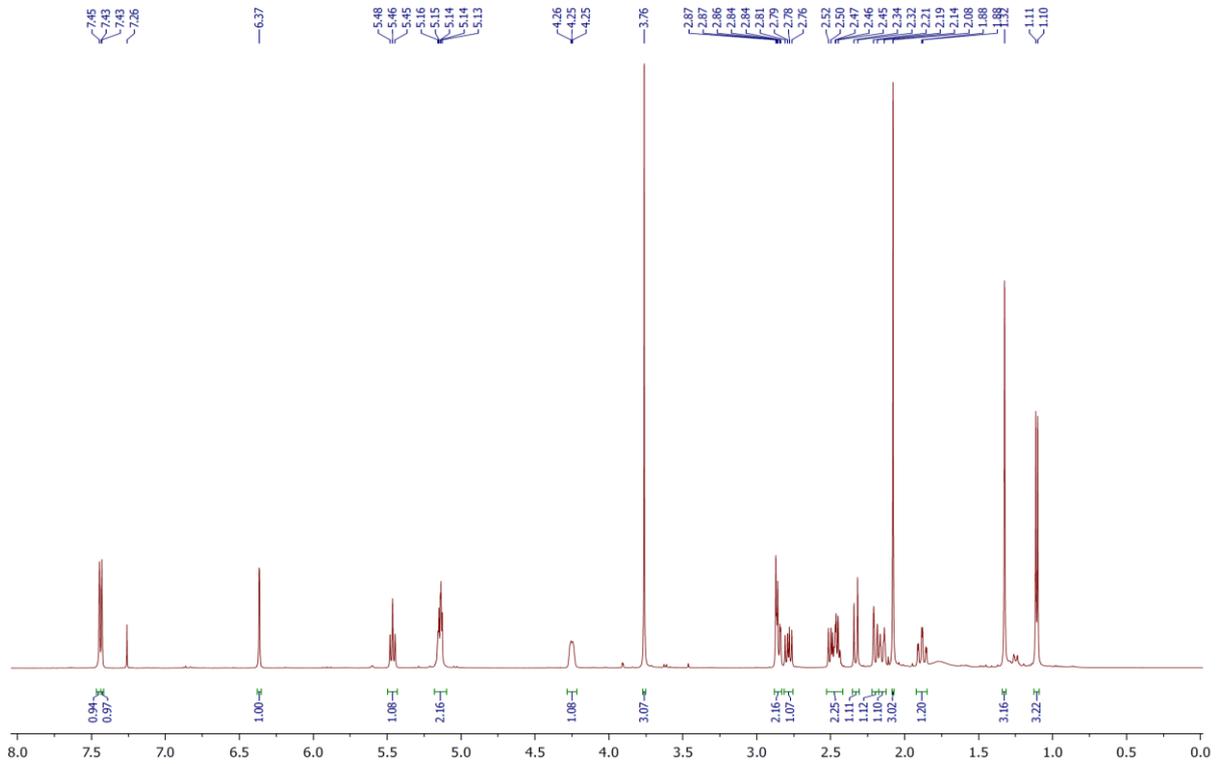
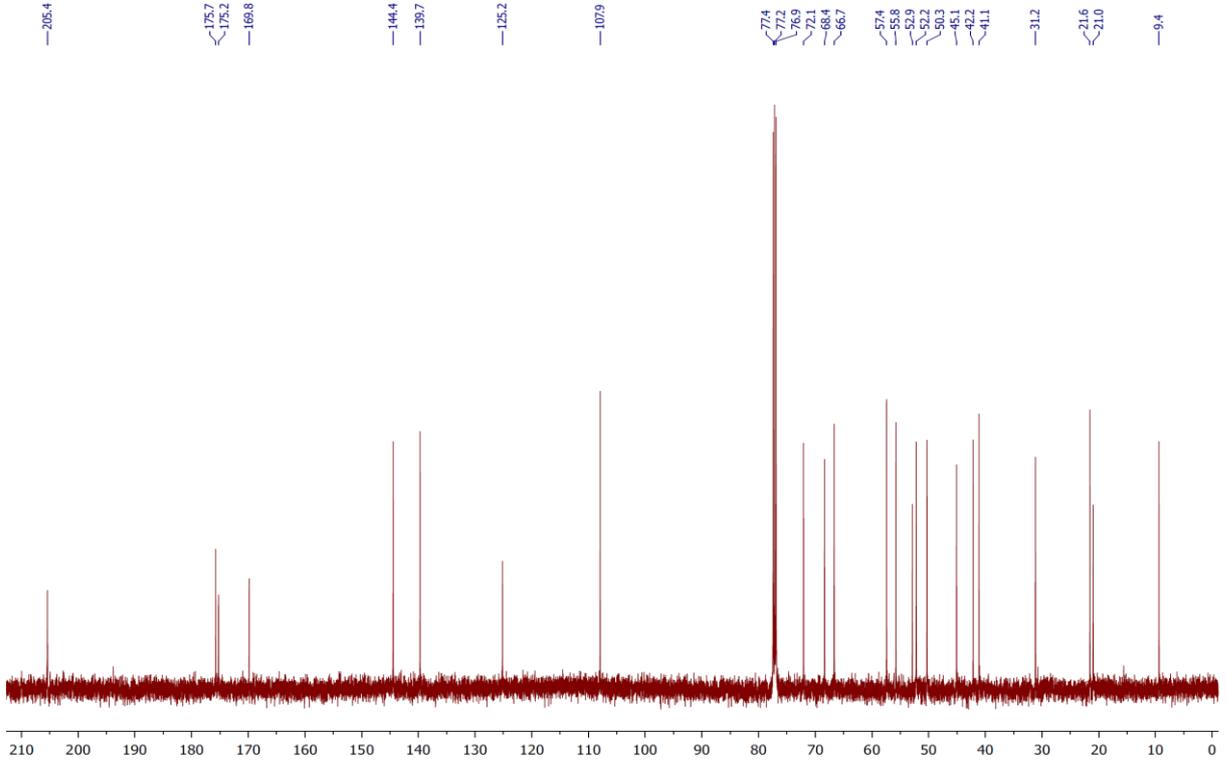
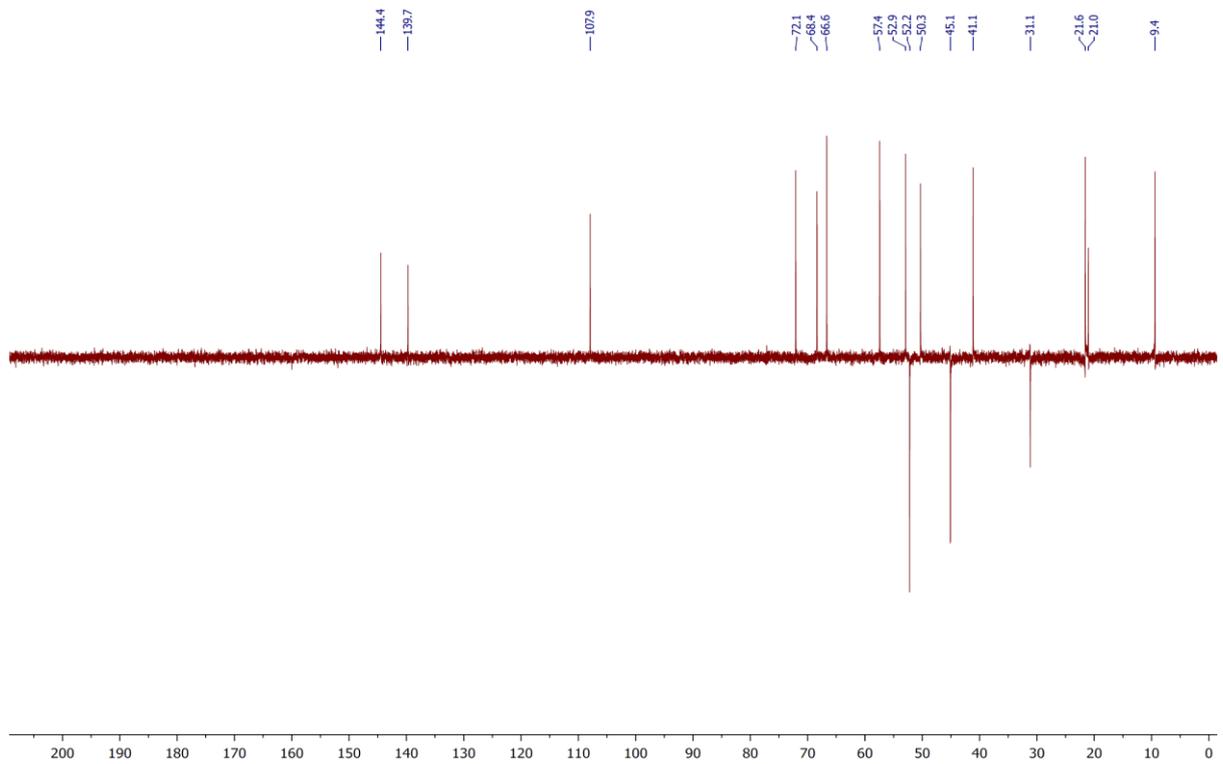
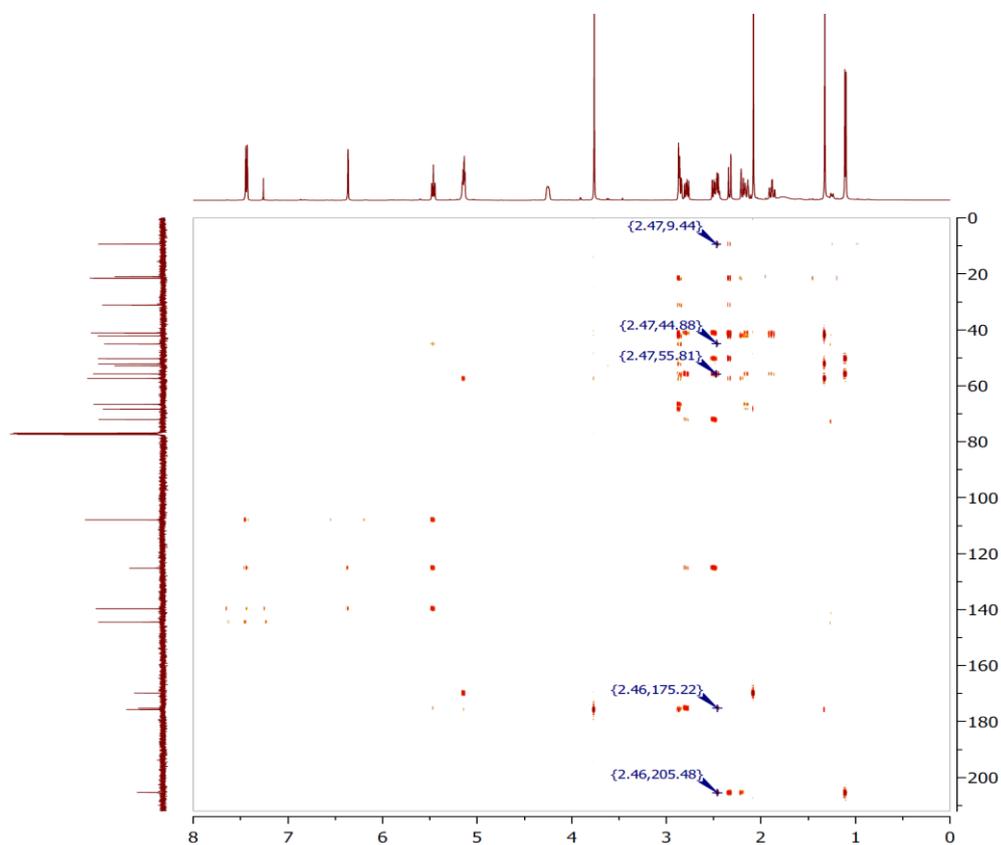
Figura 35 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3Figura 36 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3

Figura 37 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3Figura 38 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-3

#### 4.4 Determinação estrutural de CP-4

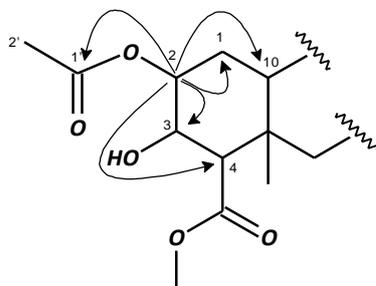
O fracionamento cromatográfico da fração diclorometano do extrato etanólico de *C. pedicellatus* resultou no isolamento de um sólido incolor codificado de **CP-4**  $\{[\alpha]_D^{20} = 2,1^\circ, (c\ 0,45, \text{CH}_3\text{OH}), 9,8\ \text{mg}, t_R = 6,22\ \text{min}, \text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}\ 1:1; 4,72\ \text{mL}/12\ \text{min}\}$ . O isolamento de CP-4 foi realizado por CLAE utilizando coluna semi-preparativa de fase reversa.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 41) mostrou um pico com  $m/z\ 487,1574$ , correspondente ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) indicando a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{Na}$  (massa calculada = 487,1575, erro = -0,21 ppm), portanto, apresentando a mesma composição molecular de CP-2 (FM =  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ , p. 42).

A comparação dos dados RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB de CP-4 (Figuras 42-44) com os de CP-2 somados aos observados no espectro de massas confirmou que estes metabólitos secundários tinham estruturas muito semelhantes (Tabela 05).

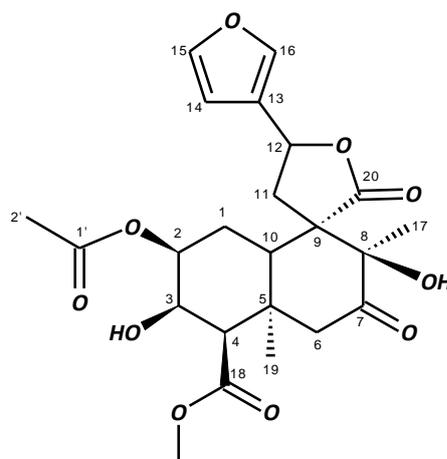
No espectro  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 45) observou-se correlações do hidrogênio em  $\delta\ 5,26$  (q,  $J = 2,9\ \text{Hz}$ , H-2) com os carbonos C-10 ( $\delta\ 37,5$ ), C-1' ( $\delta\ 170,7$ ), C-4 ( $\delta\ 55,8$ ), C-3 ( $\delta\ 67,1$ ) e C-1 ( $\delta\ 27,3$ ), indicando que, ao contrário de CP-2, em CP-4 o grupo acetoxila encontra-se localizado em C-2 enquanto o grupo hidroxila encontra-se em C-3 (Figura 39).

Figura 39 – Fragmento de CP-4 com correlações do HMBC



A interpretação dos dados espectrais de CP-4 combinado a comparação com os de CP-2 foram suficientes para concluir que o composto em discussão trata-se de 12,20:15,16-Diepoxi-3,8-dihidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila (**18**)(Figura 40), mais um diterpeno clerodano furânico inédito.

Figura 40 – Estrutura de CP-4



18

Tabela 05 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4 e CP-2.

C	CP-4			CP-2	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
MeO-18	52,1	3,80 (s)	53,0	3,77 (s)	
1'	170,7	-	170,1	-	
1	27,3	2,16 (td, 14,5; 3,0) 1,84 (dt, 14,5; 2,5)	30,9	2,07 1,85 (dt, 13,8; 2,9)	
2	72,8	5,26 (q, 3,0)	66,7	4,22 (m)	
2'	21,2	2,09 (s)	21,1	2,08 (s)	
3	67,1	4,24 (m)	68,5	5,11 (dd, 6,4; 4,5)	
4	55,8	2,54 (d, 5,0)	57,8	2,85 (d, 6,5)	
5	40,7	-	41,5	-	
6	46,2	3,93 (d, 13,0) 2,03 (d, 13,0)	46,8	3,01 (d, 12,1) 2,11 (d, 12,1)	
7	206,7	-	206,4	-	
8	77,4	-	77,1	-	
9	59,5	-	59,8	-	
10	37,5	3,53 (dd, 13,5; 3,0)	37,1	3,07 (dd, 13,8; 2,2)	
11	40,9	2,83 (dd, 15,0; 9,0) 2,36, (dd, 15,0; 8,0)	40,9	2,77 (dd, 15,0; 8,9) 2,59 (dd, 15,0; 8,2)	
12	72,5	5,42 (t, 8,5)	72,9	5,50 (t, 8,4)	
13	125,2	-	125,3	-	
14	108,2	6,40 (d, 1,5)	108,2	6,39 (d, 0,8)	
15	144,5	7,45 (t, 1,5)	144,5	7,44 (m)	
16	140,0	7,49 (m)	139,2	7,48 (s)	
17	19,2	1,35 (s)	19,1	1,31 (s)	
18	175,8	-	175,6	-	
19	22,7	1,26 (s)	21,8	1,32 (s)	
20	172,2	-	176,0	-	

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 41 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-4

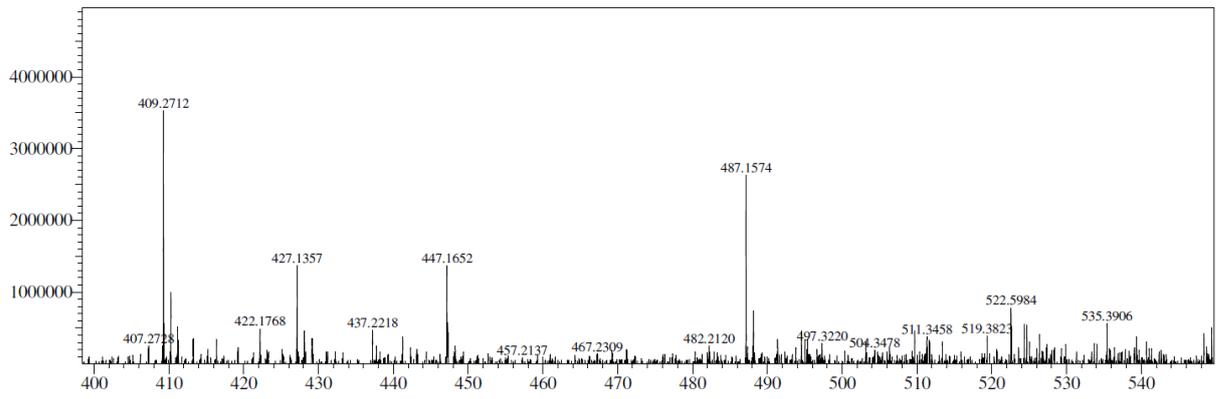


Figura 42 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4

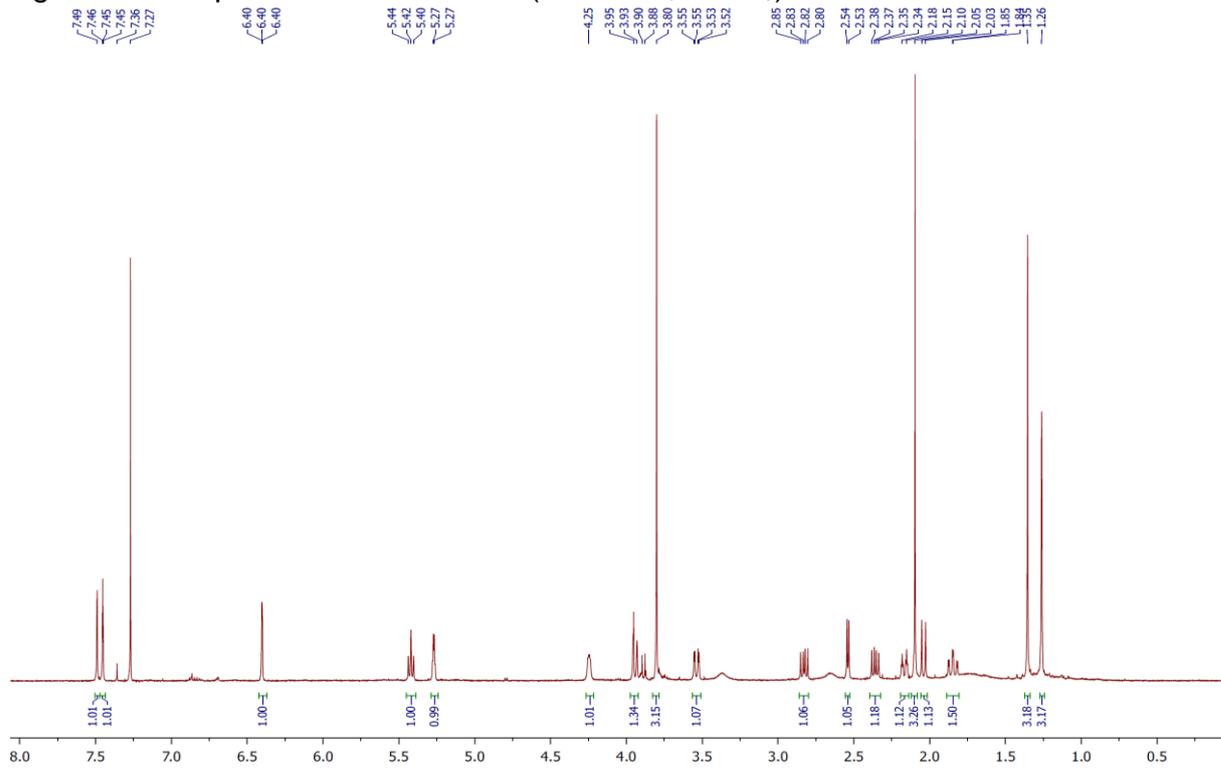


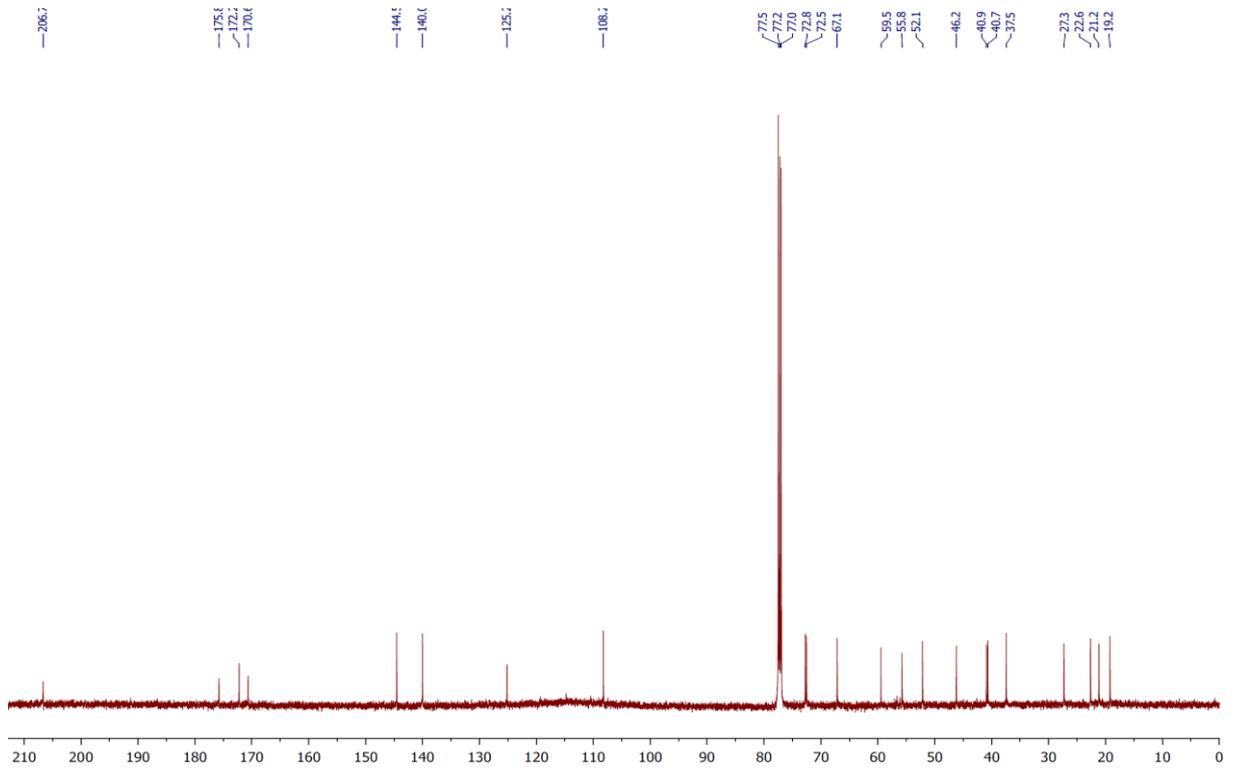
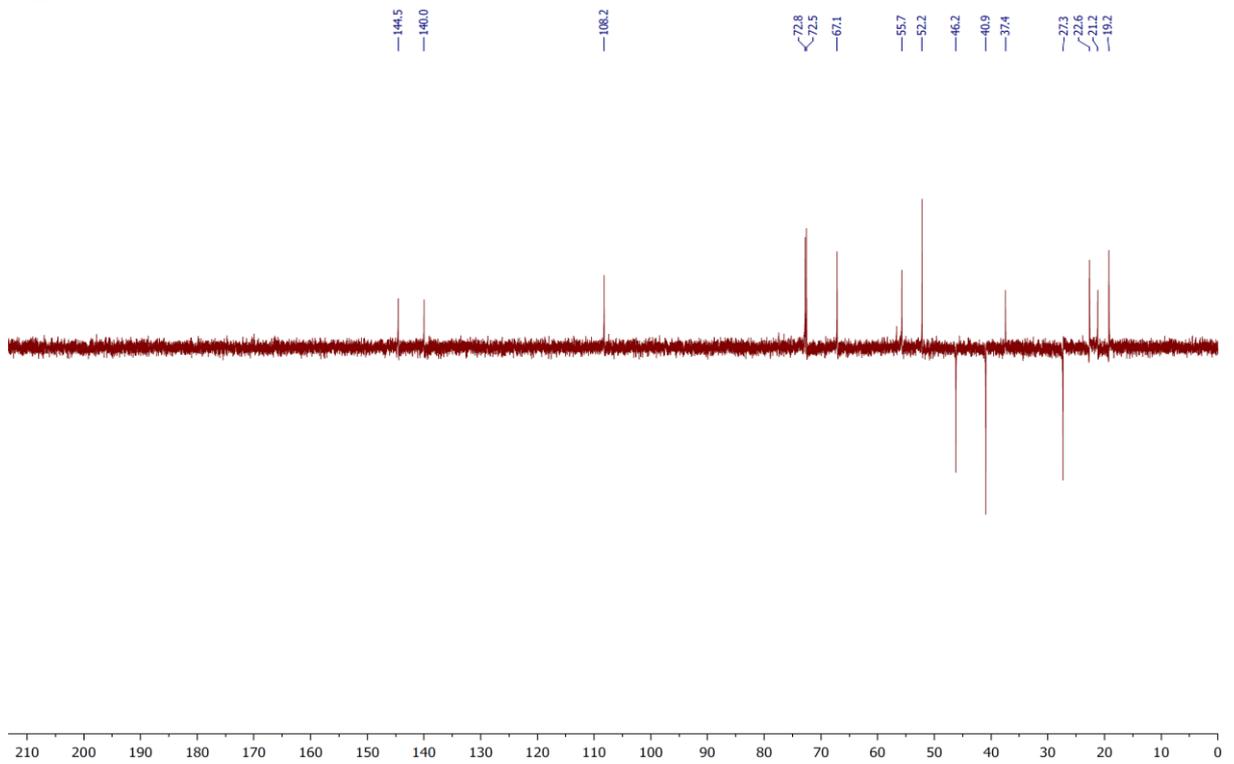
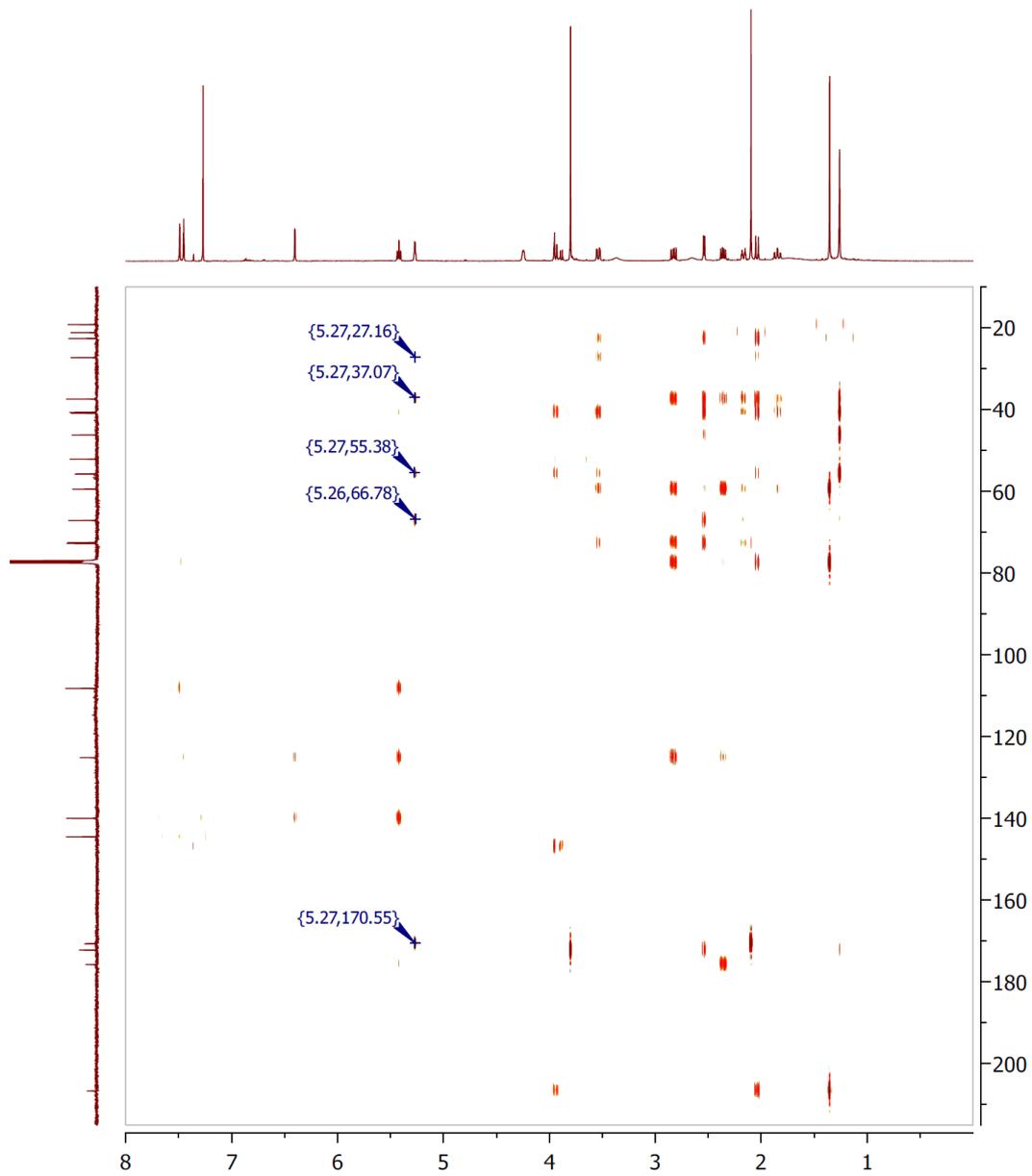
Figura 43 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4Figura 44 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4

Figura 45 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-4

#### 4.5 Determinação estrutural de CP-5

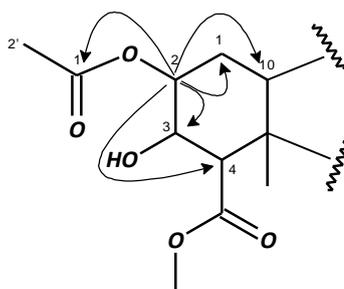
A substância **CP-5**  $\{[\alpha]_D^{20} = 15,9^\circ, (c\ 0,10, \text{CH}_3\text{OH}), 17,2\ \text{mg}, \text{PF}\ 165,0\text{-}167,1\ ^\circ\text{C}, t_R = 9,33\ \text{min}, \text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}\ 1:1; 4,72\ \text{mL}/12\ \text{min}\}$  apresentou-se como um sólido amorfo amarelado. Este foi isolado por CLAE, utilizando coluna semi-preparativa de fase reversa, a partir da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*.

O espectro de massa de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 48) mostrou um pico com  $m/z$  471,1637, correspondente ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ), indicando a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_9$  (massa calculada = 471,1626, erro = 2,33 ppm), conseqüentemente um isômero de CP-3 (p. 50), haja vista que ambos apresentam a mesma fórmula molecular.

Os dados de espectrometria de massa, IV (Figura 49) e RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (Figuras 50-52) de CP-5 quando comparados aos de CP-3, revelaram uma estreita semelhança entre os dois compostos, permitindo inferir que estes compostos são isômeros (Tabela 06).

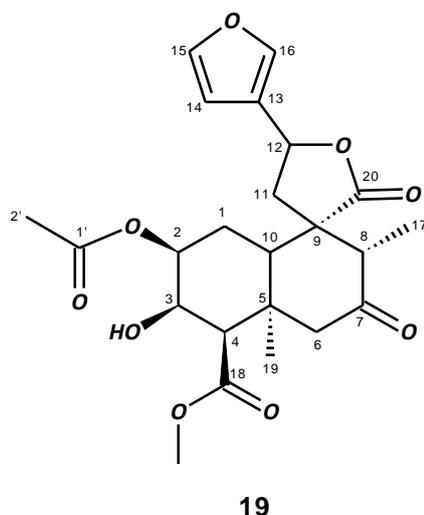
A diferença entre CP-5 e CP-3 foi confirmada pelas correlações observadas no espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 53) entre o hidrogênio H-2 ( $\delta$  5,27, q,  $J = 3,0\ \text{Hz}$ ) com os carbonos C-10 ( $\delta$  41,3), C-1' ( $\delta$  170,7), C-4 ( $\delta$  55,6), C-3 ( $\delta$  67,1) e C-1 ( $\delta$  27,5), indicando que CP-5 foi acetilado no carbono 2 diferindo de CP-3, onde o grupo acetilado reside em C-3 (Figura 46).

Figura 46 – Fragmento de CP-5 com correlações observadas no HMBC



Com base nos dados expostos, pode-se concluir que o composto CP-5 é o 12,20:15,16-Diepoxi-3-hidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila (**19**) (Figura 47), mais um diterpeno análogo aos descritos anteriormente e que, como aqueles, também teve seu ineditismo confirmado pela ausência de registros nas bases de dados de referências bibliográficas para sua estrutura.

Figura 47 – Estrutura de CP-5

Tabela 06 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5 e CP-3

C	CP-5		CP-3	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
MeO-18	52,0	3,78 (s)	53,0	3,77 (s)
1'	170,7	-	169,9	-
1	27,5	2,23 (td, 14,5; 3,0) 1,86 (dt, 14,5; 3,0)	31,2	2,15 (dd, 14,0,) 1,88 (dt, 14,0; 3,0)
2	72,7	5,27 (t, 3,0)	66,7	4,25 (m)
2'	21,1	2,10 (s)	21,1	2,08 (s)
3	67,1	4,25 (sl)	68,4	5,15 (dd, 10,5; 4,0)
4	55,6	2,54 (d, 6,0)	57,5	2,88 (d, 6,5)
5	41,5	-	42,1	-
6	51,2	2,24 (d, 12,5) 2,17 (d, 12,5)	<del>52,3</del>	2,33 (d, 12,0) 2,20 (d, 12,0)
7	206,9	-	205,5	-
8	50,3	2,58 (q, 6,0)	<del>50,4</del>	2,46 (q, 7,0)
9	55,7	-	<del>55,9</del>	-
10	41,3	3,36 (dd, 14,5; 3,0)	<del>41,2</del>	2,86 (dd, 13,0; 2,0)
11	44,9	2,82 2,56 (d, 8,5)	<del>45,2</del>	2,79 (dd, 14,5; 8,5) 2,50 (dd, 14,5; 9,0)
12	71,8	5,40 (t, 8,5)	72,2	5,47 (t, 8,5)
13	125,1	-	125,2	-
14	108,1	6,39 (d, 1,0)	108,0	6,37 (sl)
15	144,6	7,45 (d, 1,5)	144,5	7,43
16	140,0	7,48 (sl)	139,8	7,44
17	9,6	1,13 (d, 6,5)	<del>9,5</del>	1,11 (d, 7,0)
18	172,0	-	175,8	-
19	22,4	1,24 (s)	21,6	1,33 (s)
20	175,5	-	175,3	-

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 48 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-5

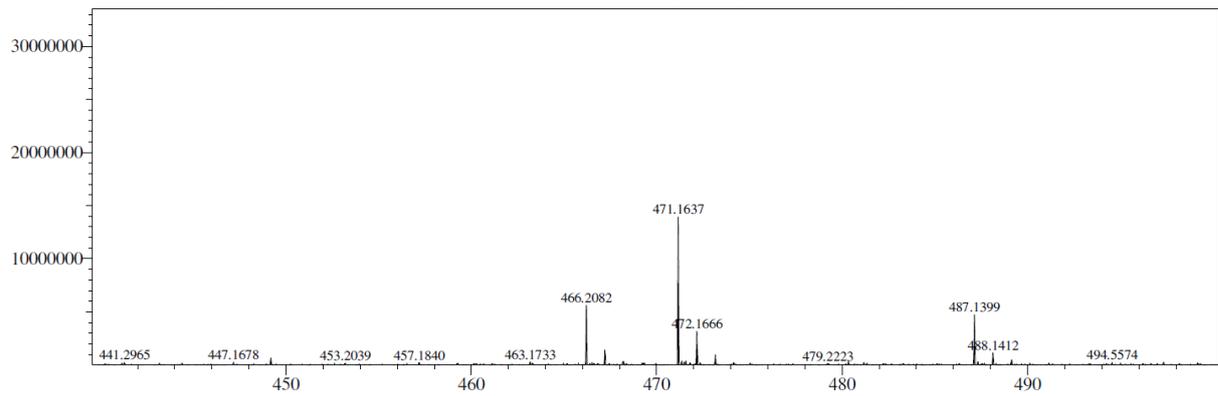


Figura 49 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-5

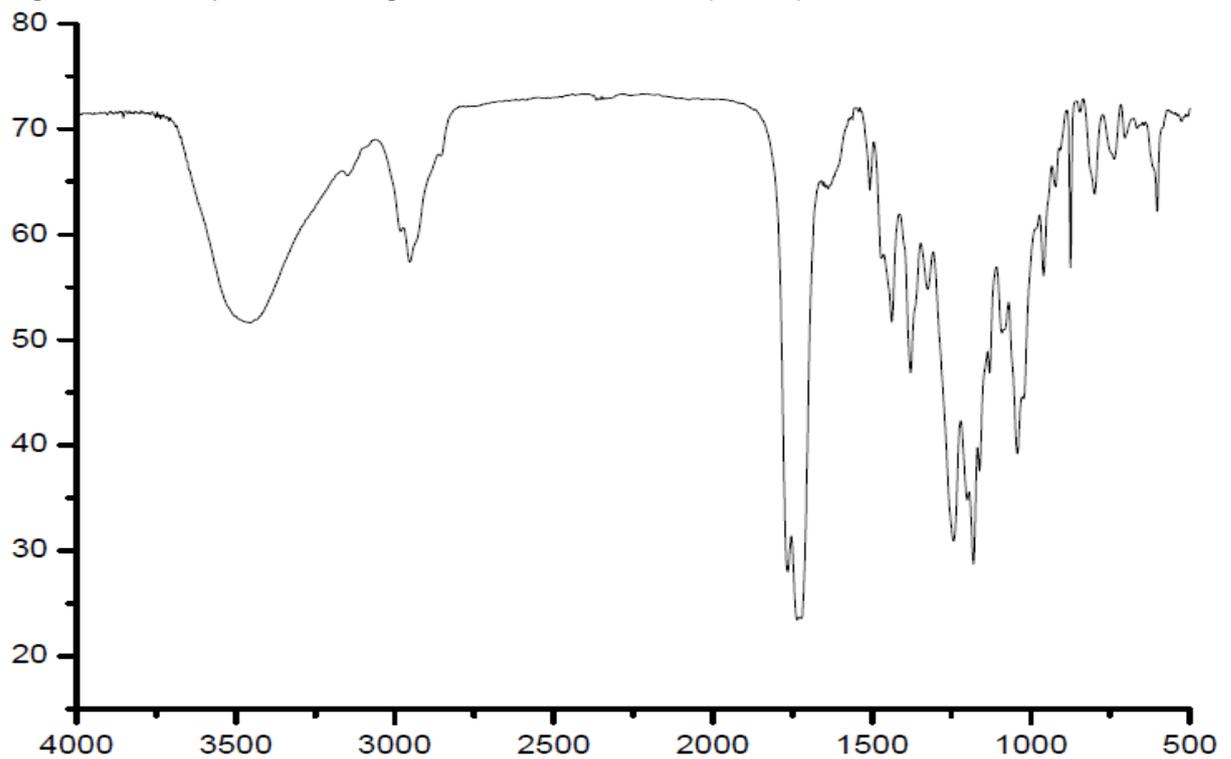


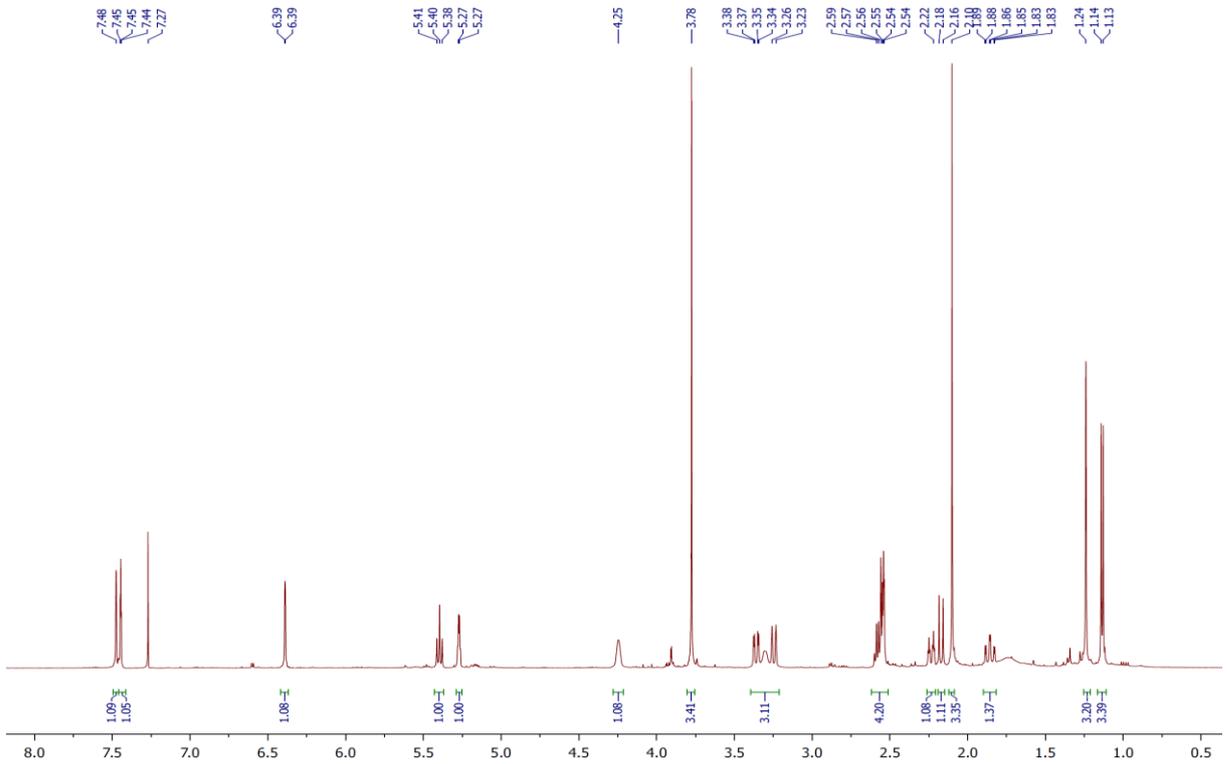
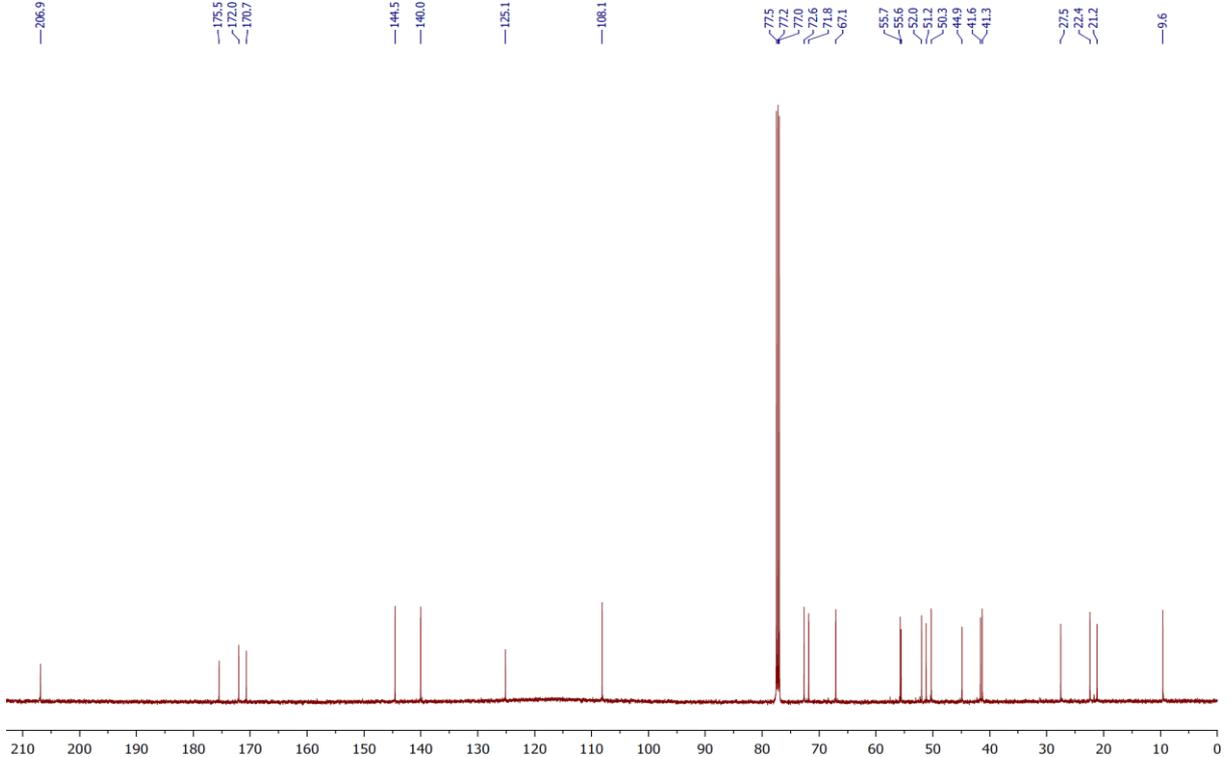
Figura 50 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5Figura 51 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5

Figura 52 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5

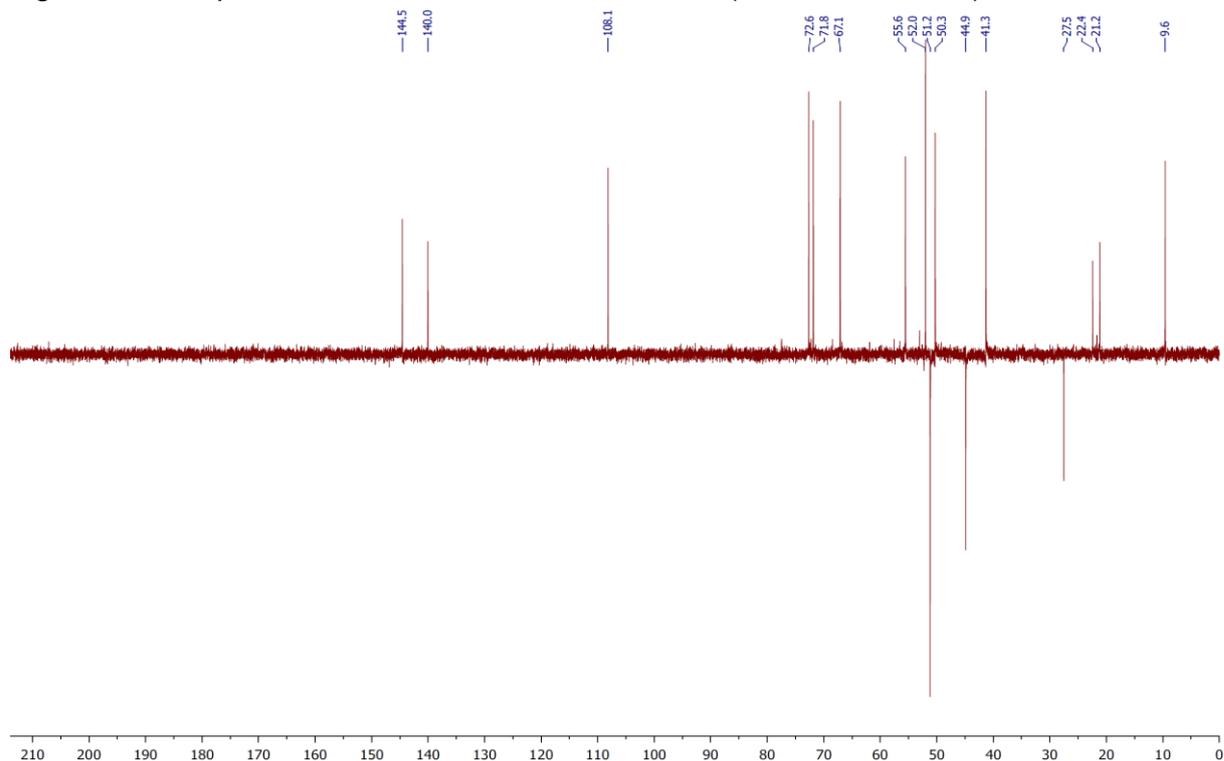
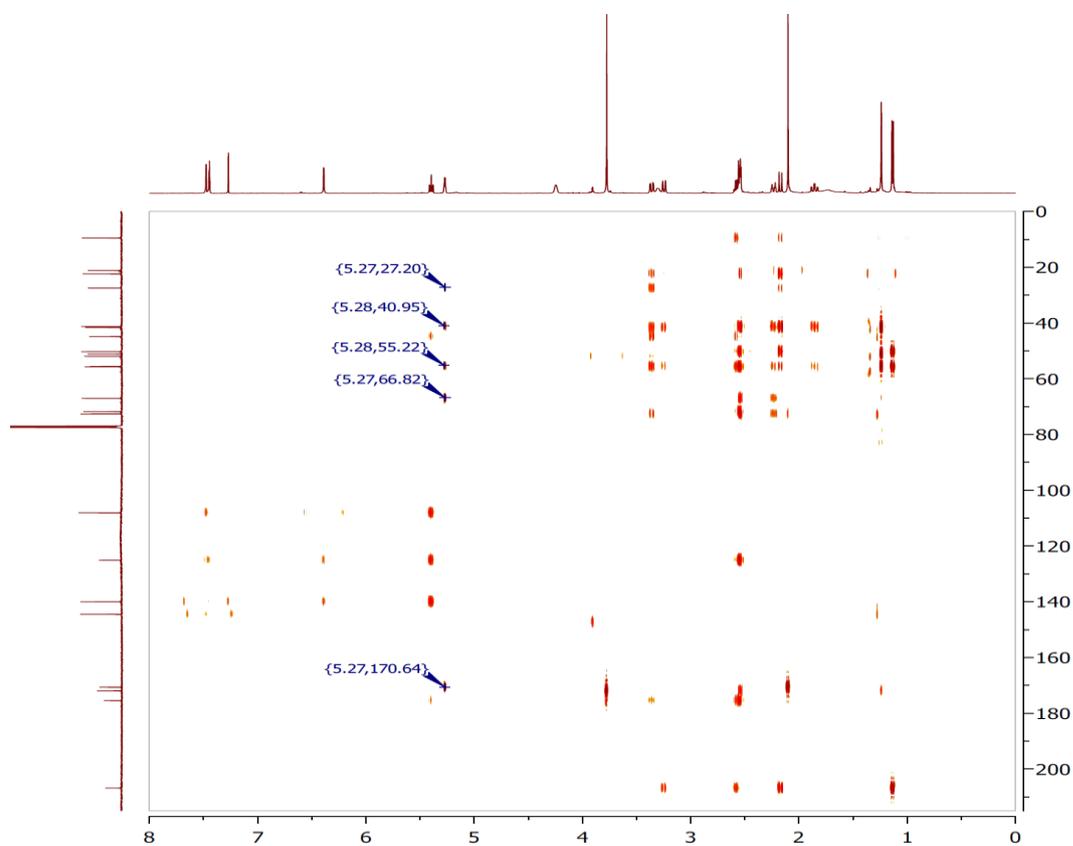


Figura 53 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-5



#### 4.6 Determinação estrutural de CP-6

O fracionamento cromatográfico, utilizando CLAE, da fração acetato de etila (CPFE-Ac4) do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus* levou ao isolamento de um sólido amorfo amarelo ( $t_R = 15,61$  min,  $H_2O/CH_3CN$  7,3:2,7; 4,72 mL/20 min), com faixa de fusão entre 218,1-219,4 °C denominado **CP-6** (100,9 mg).

O espectro de massa de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 57) mostrou um pico com  $m/z$  617,1223, correspondente ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ) indicando a fórmula molecular  $C_{30}H_{26}O_{13}Na$  (massa calculada = 617,1266, erro = -6,97 ppm).

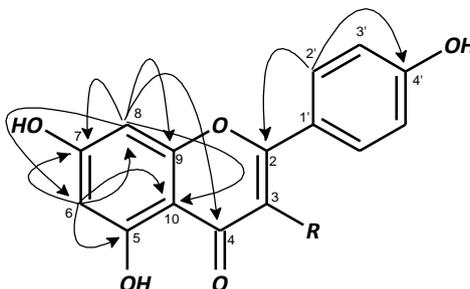
O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Figura 58) apresentou bandas características de deformação axial de grupo hidroxila ( $3461\text{ cm}^{-1}$ ) e carbonilas ( $1710 / 1606\text{ cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

O espectro de RMN de  $^{13}C$ -BB (125 MHz,  $CD_3OD$ ) (Figura 59) apresentou 20 sinais para carbonos aromáticos e carbonílicos, além de 6 sinais em região característica de carbonos  $sp^3$  oxigenados (Tabela 07), sugerindo que o composto CP-6 tratava-se de um heterosídeo flavonoídico.

O espectro de RMN de  $^1H$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) (Figura 61) apresentou um par de dupletos em  $\delta$  7,97 (2H,  $J = 8,9$  Hz) e 6,80 (2H,  $J = 8,9$  Hz), indicando a presença de um anel aromático com padrão de substituição *para*, bem como outro par em  $\delta$  6,28 (1H,  $J = 1,8$  Hz) e 6,12 (1H,  $J = 1,8$  Hz), indicando a presença de hidrogênios *meta* posicionados de um esqueleto flavonoídico (PARK *et al.*, 2007). Foram observados também sinais em  $\delta$  5,24 (1H, d,  $J = 7,6$  Hz), 4,30 (1H, dd,  $J = 11,9, 2,1$  Hz), 4,19 (1H, dd,  $J = 11,9, 6,7$  Hz), 3,49 (3H, m) e 3,34 (1H, m) confirmando a presença de uma unidade  $\beta$ -glicosídica. Adicionalmente, observou-se também dois pares de dupletos em  $\delta$  7,28 (2H,  $J = 8,6$  Hz) e 6,78 (2H,  $J = 8,6$  Hz), sugerindo a presença de um segundo anel aromático *para*-substituído, bem como sinais em  $\delta$  7,39 (1H,  $J = 15,9$  Hz) e 6,07 (1H,  $J = 15,9$  Hz), atribuídos a uma dupla ligação com configuração *trans*. A união desses dados permitem sugerir a presença de um grupo *p*-cumaroil na molécula. (ZHANG *et al.*, 2007)

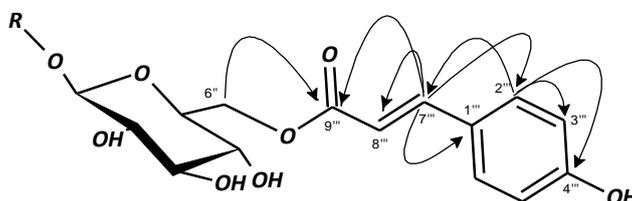
Os deslocamentos químicos da aglicona flavonoídica foram confirmados pelas correlações observadas no espectro  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 63) entre os hidrogênios H-2' ( $\delta$  7,97, d,  $J = 8,9$  Hz) com os carbonos C-2 ( $\delta$  161,6), C-3' ( $\delta$  116,2) e C-4' ( $\delta$  159,5), H-6 ( $\delta$  6,12, d,  $J = 1,8$  Hz) com C-5 ( $\delta$  163,1), C-7 ( $\delta$  166,0), C-8 ( $\delta$  95,0) e C-10 ( $\delta$  105,7) e H-8 ( $\delta$  6,28, d,  $J = 1,8$  Hz) com C-4 ( $\delta$  179,5), C-6 ( $\delta$  100,2), C-7 ( $\delta$  166,0), C-9 ( $\delta$  158,5) e C-10 ( $\delta$  105,7), como mostrado abaixo (Figura 54).

Figura 54 – Fragmento de CP-6 com correlações observadas no HMBC



A análise do espectro HMBC de CP-6 também permitiu confirmar os deslocamentos químicos referentes ao grupo *p*-cumaroil, bem como a posição onde este se encontrava ligado, através das correlações entre os hidrogênios H-2''/6''' ( $\delta$  7,28, 2H, d,  $J = 8,6$  Hz) com C-3''' ( $\delta$  116,9), C-4''' ( $\delta$  161,3) e C-7''' ( $\delta$  146,7), H-7''' ( $\delta$  7,39, 1H, d,  $J = 15,9$  Hz) com C-1''' ( $\delta$  127,2), C-2''' ( $\delta$  131,3), C-8''' ( $\delta$  114,9) e C-9''' ( $\delta$  168,9) e entre 2H-6'' (4,30, dd,  $J = 11,9, 2,1$  Hz) e (4,19, dd,  $J = 11,9, 6,7$  Hz) com o carbono carbonílico C-9''' ( $\delta$  168,9).

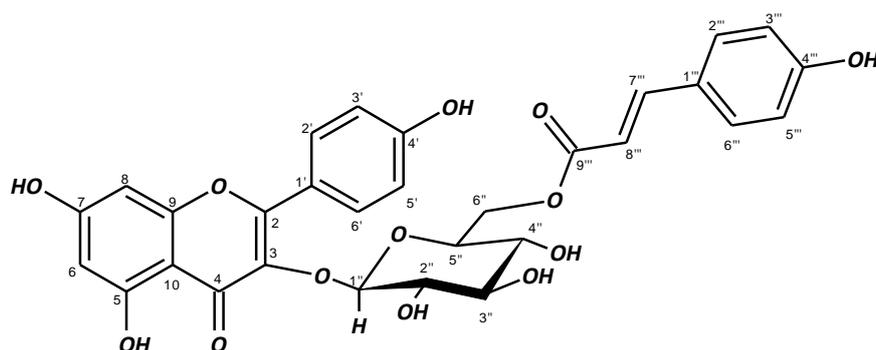
Figura 55 – Fragmento 2 de CP-6 com correlações observadas no HMBC



Por fim, a correlação entre o hidrogênio anomérico H-1'' ( $\delta$  5,24, d,  $J = 7,6$  Hz) com o carbono-3 ( $\delta$  135,4) da aglicona permitiu determinar a posição da unidade de açúcar.

Após análise espectral e comparação com dados obtidos da literatura (SILVA *et al.*, 2005), pode-se concluir que CP-6 se tratava do flavonóide 6''-O-*p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosilcanferol, comumente conhecido como tilirosídeo (**20**), já isolado anteriormente de outras espécies de *Croton gnaphalii* (LENCINA *et al.*, 2001) (Figura 56).

Figura 56 – Estrutura de CP-6



20

Tabela 07 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6 e tilirosídeo (200/50 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (SILVA, 2005).

C	AC4-2		Tilirosídeo	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
2	161,6	-	159,2	-
3	135,4	-	135,2	-
4	179,5	-	179,2	-
5	163,1	-	162,7	-
6	100,2	6,12 (d, 1,8)	99,9	6,11 (d, 2,0)
7	166,0	-	165,7	-
8	95,0	6,28 (d, 1,8)	94,9	6,27 (d, 2,0)
9	158,5	-	158,2	-
10	105,7	-	105,0	-
1'	122,8	-	122,6	-
2'/6'	132,4	7,97 (d, 8,9)	132,2	7,96 (d, 9,0)
3'/5'	116,2	6,80 (d, 8,9)	116,7	6,79 (d, 9,0)
4'	159,5	-	161,4	-
1''	104,2	5,24 (d, 8,3)	104,1	5,23 (d, 7,6)
2''	75,9	3,48	75,7	3,34-3,38 (m)
3''	78,2	3,46 (t, 9,6)	78,0	3,34-3,38 (m)
4''	71,9	3,39 (d, 9,6)	71,7	3,34-3,38 (m)
5''	75,9	3,50 (m)	75,7	3,16-3,25 (m)
6''	64,5	4,30 (dd, 11,9; 2,1) 4,19 (dd, 11,8; 6,7)	64,3	4,19 (dd, 11,8; 2,2) 4,06 (dd, 11,6; 6,4)
1'''	127,2	-	127,0	-
2'''/6'''	131,3	7,28 (d, 8,6)	131,1	7,25 (d, 8,6)
3'''/5'''	116,9	6,78 (d, 8,6)	116,0	6,77 (d, 8,6)
4'''	161,3	-	161,0	-
7'''	146,7	7,39 (d, 15,9)	146,5	7,38 (d, 16,0)
8'''	114,9	6,07 (d, 15,9)	114,7	6,05 (d, 16,0)
9'''	168,9	-	-	-

\*Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 57 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-6

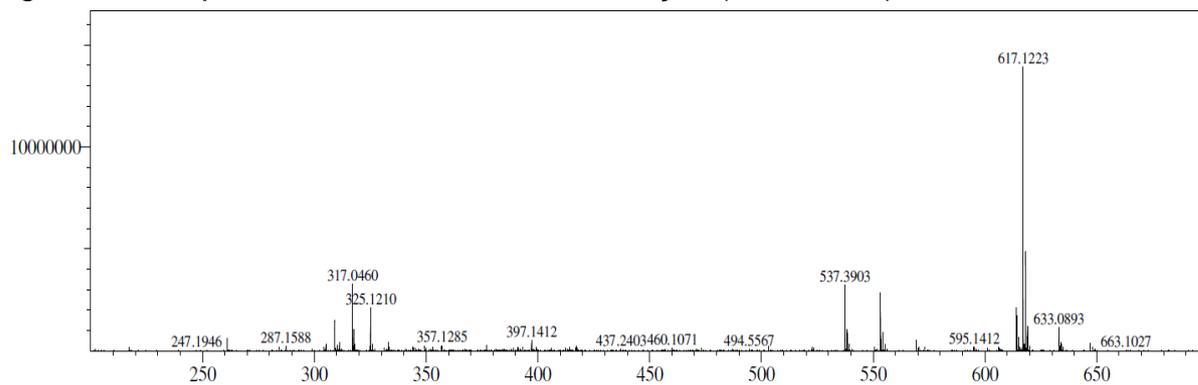


Figura 58 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-6

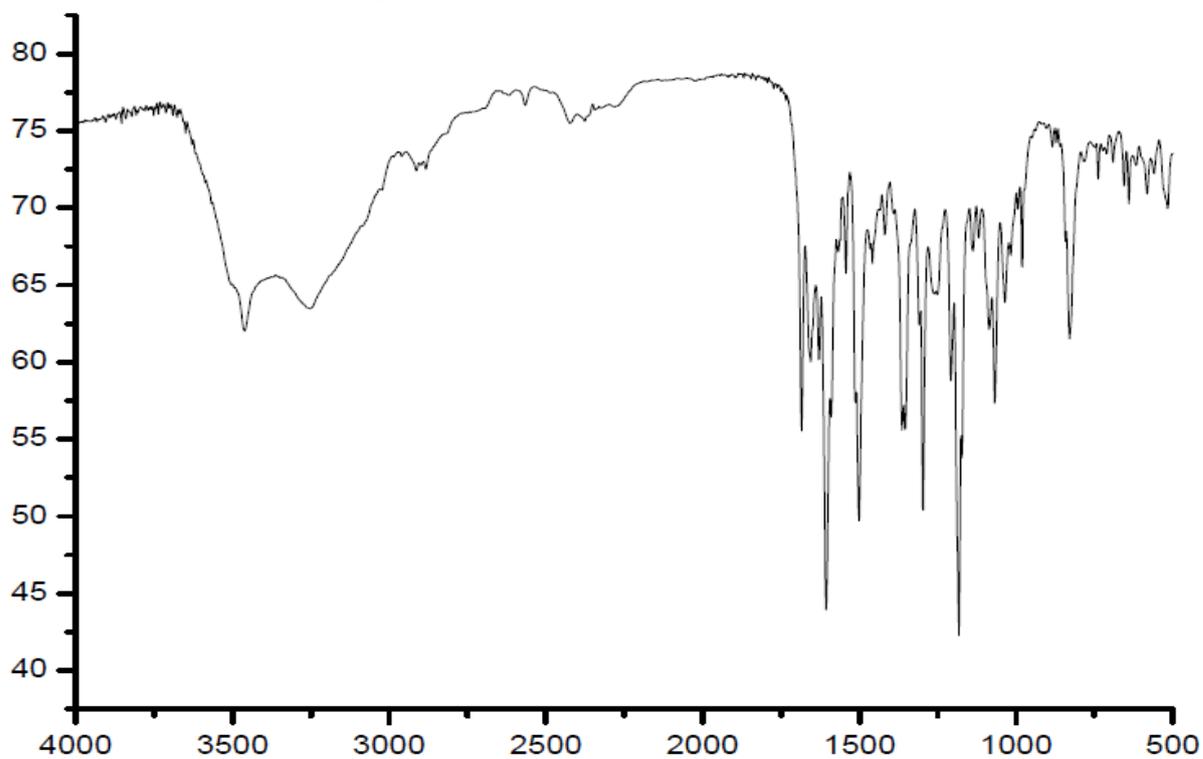


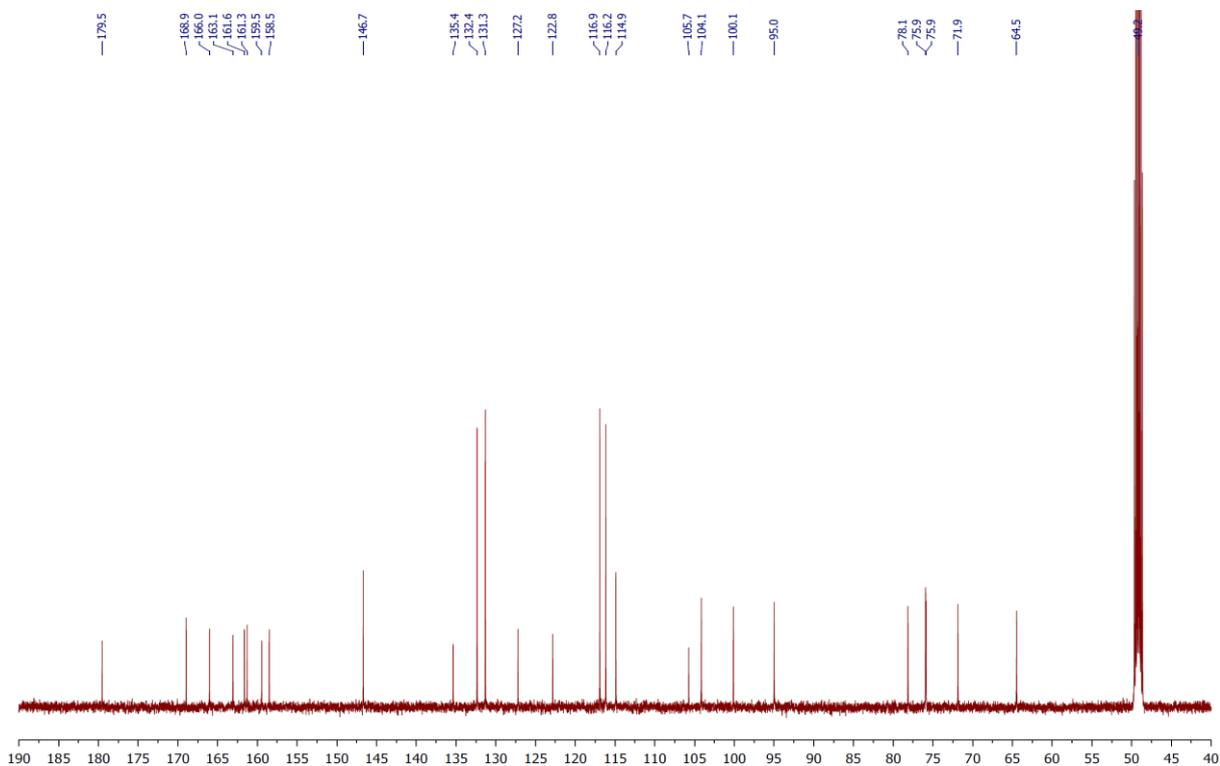
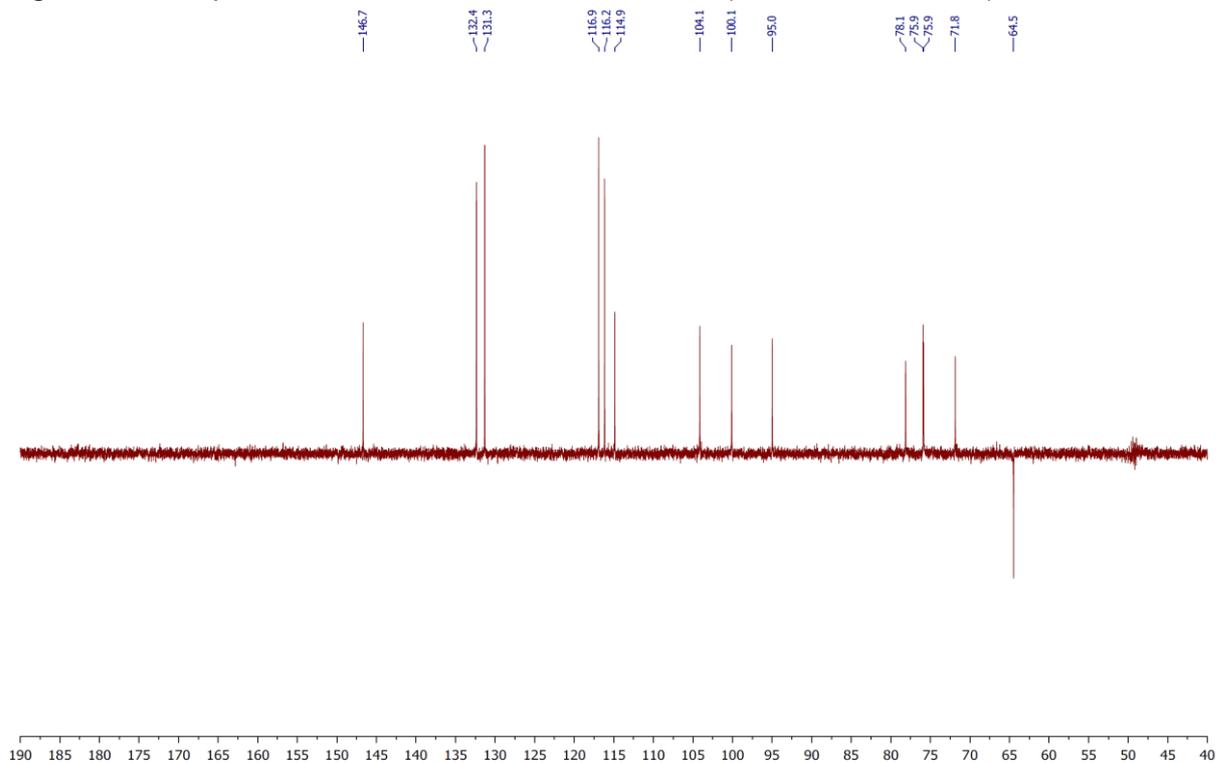
Figura 59 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6Figura 60 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6

Figura 61 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6

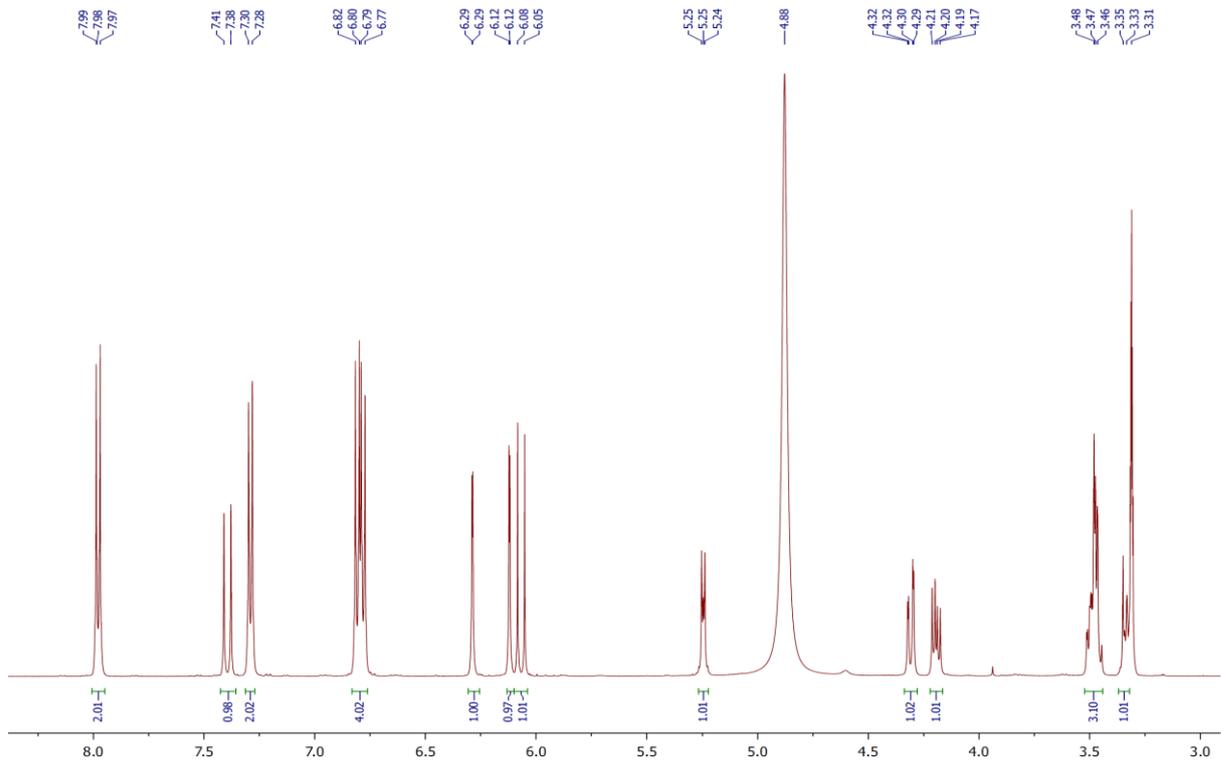


Figura 62 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6

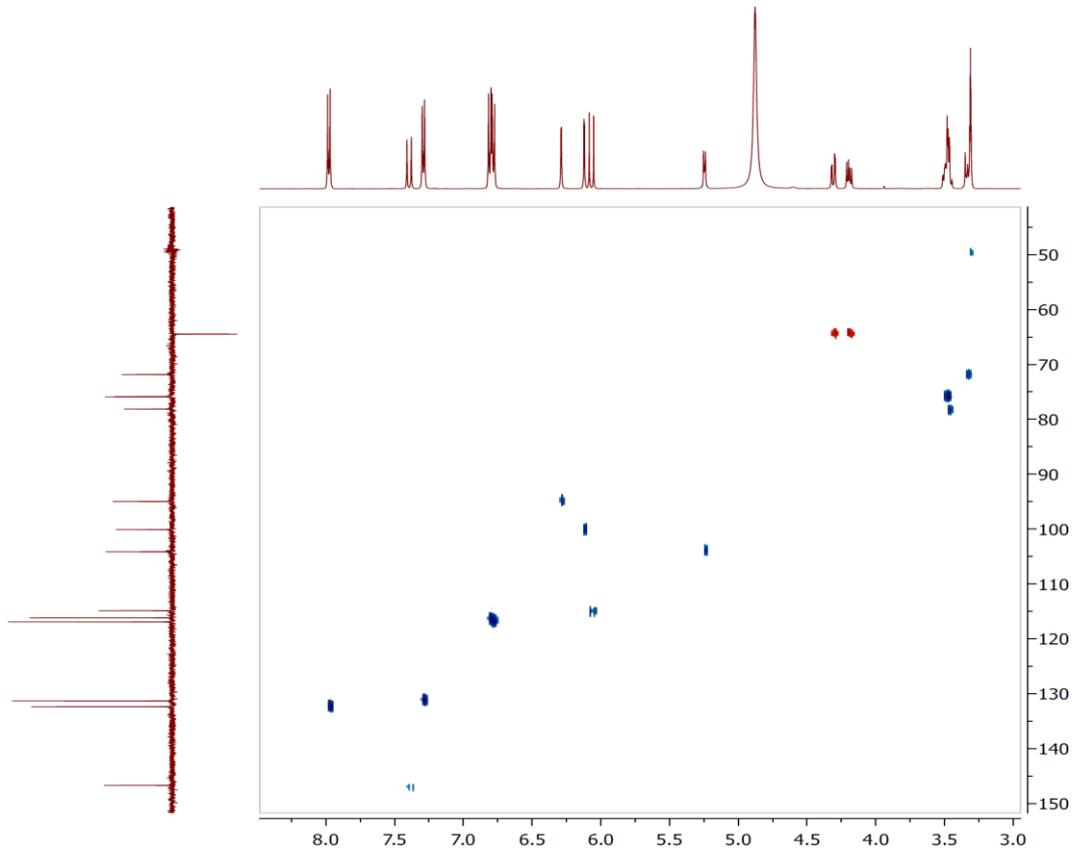
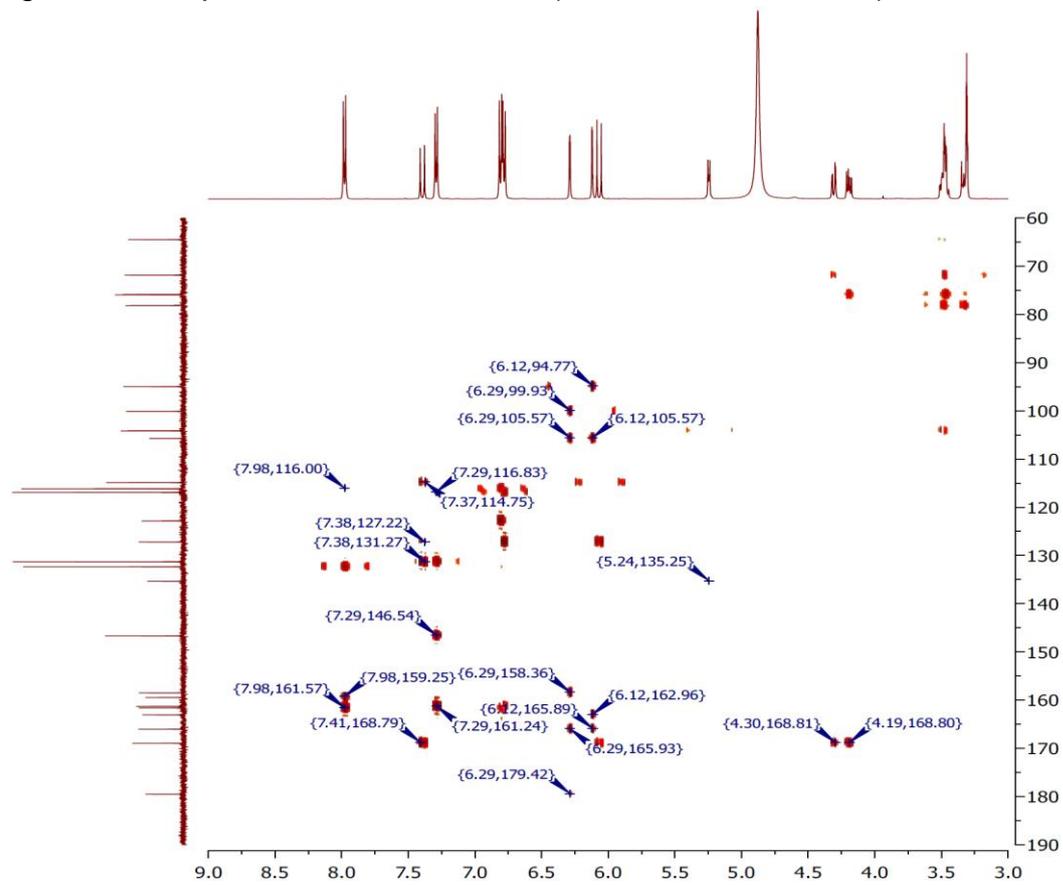


Figura 63 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-6

#### 4.7 Determinação estrutural de CP-7

O fracionamento por CLAE da fração acetato de etila do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus* (CPFE-Ac4) culminou no isolamento de um sólido amorfo amarelo ( $t_R = 14,9$  min,  $H_2O/CH_3CN$  7,3:2,7; 4,72 mL/20 min) com faixa de fusão 208,6-209,4 °C, denominado **CP-7** (12,3 mg).

O íon observado no espectro de massas de alta resolução (*electrospray*) (EMAR-IES) (Figura 65), apresentou  $m/z$  617,1226 correspondente ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ), indicando a fórmula molecular  $C_{30}H_{26}O_{13}Na$  (massa calculada = 617,1266, erro = -6,48 ppm), coincidindo com a fórmula molecular observado para CP-6 (p. 68).

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Figura 66) apresentou-se muito semelhante ao de CP-6, com bandas características de deformação axial de hidroxilas e carbonilas em 3390 e 1717/1604  $cm^{-1}$  (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

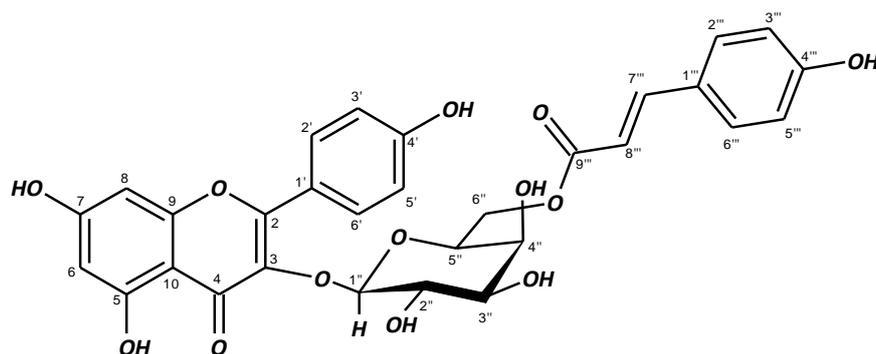
Analogamente a CP-6, o espectro de RMN de  $^1H$  (500 MHz, piridina- $d_5$ ) (Figura 67) apresentou sinais que confirmam o mesmo padrão de substituição para o anel A, com sinais para H-6 em  $\delta$  6,71 e para o H-8 em  $\delta$  6,73. O sinal em  $\delta$  13,19 (1H, s) foi atribuído à hidroxila ligada ao carbono C-5 formando ligação de hidrogênio com o carbono carbonílico. A presença do sistema AA'BB' no anel B foi confirmada pelo espectro de RMN de  $^1H$ , através dos dupletos correspondentes aos hidrogênios H2'/6' em  $\delta$  8,48 ( $J = 8,6$  Hz) e H3'/5'  $\delta$  7,19 ( $J = 8,6$  Hz) indicando que a aglicona tratava-se do canferol.

A presença do grupo cumaroil foi evidenciada pela observação no espectro de RMN de  $^1H$  dos sinais relativos a H2'''/6''' em  $\delta$  7,52 (2H, d,  $J = 8,9$  Hz) e H3'''/5''' em  $\delta$  7,16 (2H, d,  $J = 8,9$  Hz), bem como de hidrogênios relativos a insaturação com configuração *trans*: H7''' em  $\delta$  7,84 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz) e H8'''  $\delta$  6,48 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz).

Os sinais observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, piridina- $d_5$ ) (Figura 68) em  $\delta$  105,5 (C-1), 73,6 (C-2), 75,6 (C-3), 70,3 (C-4), 75,2 (C-5) e 64,8 (C-6) denotam a presença de uma unidade piranosídica, cuja comparação com os dados de CP-6 mostrou que este não se tratava da glicose, mas de uma unidade galactopiranosídica (VEGA *et al.*, 2007).

A análise dos dados de RMN, EMAR-IES, IV e comparação com CP-6 e ainda com dados da literatura permitiram concluir que o composto CP-7 é o flavonóide 6''-*O-p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol (**21**), descrito pela primeira vez no gênero *Croton* (Figura 64).

Figura 64 – Estrutura de CP-7



21

Tabela 08 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB de CP-7 (500/125 MHz, piridina- $d_5$ ), CP-6 (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e 6''-O-p-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , VEGA, 2007).

C	CP-7		CP-6	6''-O-p-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
2	162,3	-	161,6	<b>159,1</b>
3	135,7	-	135,4	<b>135,5</b>
4	179,3	-	179,5	<b>179,7</b>
5	163,2	-	163,1	<b>161,6</b>
6	100,4	6,71	100,2	<b>100,1</b>
7	166,5	-	166,0	<b>166,1</b>
8	95,1	6,73	95,0	<b>94,8</b>
9	158,1	-	158,5	<b>158,4</b>
10	105,7	-	105,7	<b>105,5</b>
1'	122,3	-	122,8	<b>122,6</b>
2'/6'	132,5	8,48 (d, 8,6)	132,4	<b>132,2</b>
3'/5'	116,6	7,19 (d, 8,6)	116,2	<b>116,0</b>
4'	158,4	-	159,5	<b>161,2</b>
1''	105,5	6,12 (d, 7,7)	104,2	<b>105,0</b>
2''	73,6	4,81 (m)	75,9	<b>72,9</b>
3''	75,6	4,33 (m)	78,2	<b>74,9</b>
4''	70,3	4,43 (s)	71,9	<b>70,6</b>
5''	75,2	4,32 (m)	75,9	<b>74,8</b>
6''	64,8	4,95 (dd, 10,9; 7,7) 4,83 (dd, 10,9; 4,5)	64,5	<b>64,4</b>
1'''	126,6	-	127,2	<b>127,1</b>
2'''/6'''	131,2	7,52 (d, 8,9)	131,3	<b>131,1</b>
3'''/5'''	117,3	7,16 (d, 8,9)	116,9	<b>116,7</b>
4'''	161,9	-	161,3	<b>161,2</b>
7'''	145,8	7,84 (d, 15,8)	146,7	<b>146,6</b>
8'''	115,4	6,48 (d, 15,8)	114,9	<b>114,7</b>
9'''	167,7	-	168,9	<b>168,7</b>
HO-5	-	<b>13,19 (s)</b>		

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 65 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-7

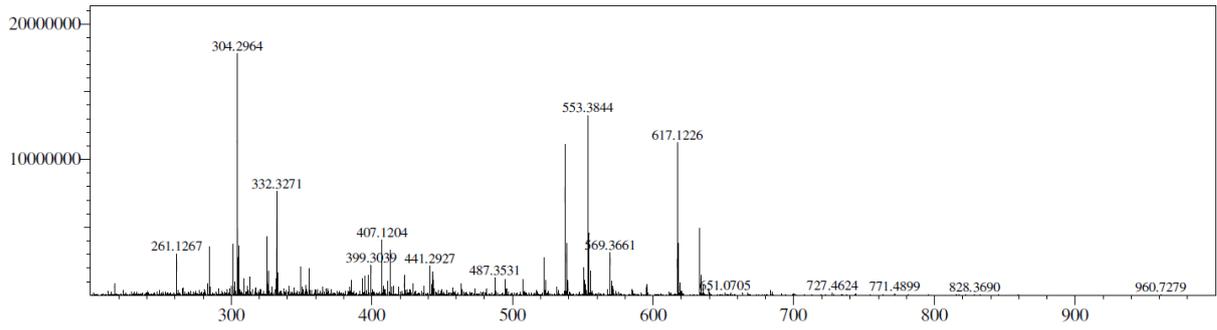


Figura 66 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-7

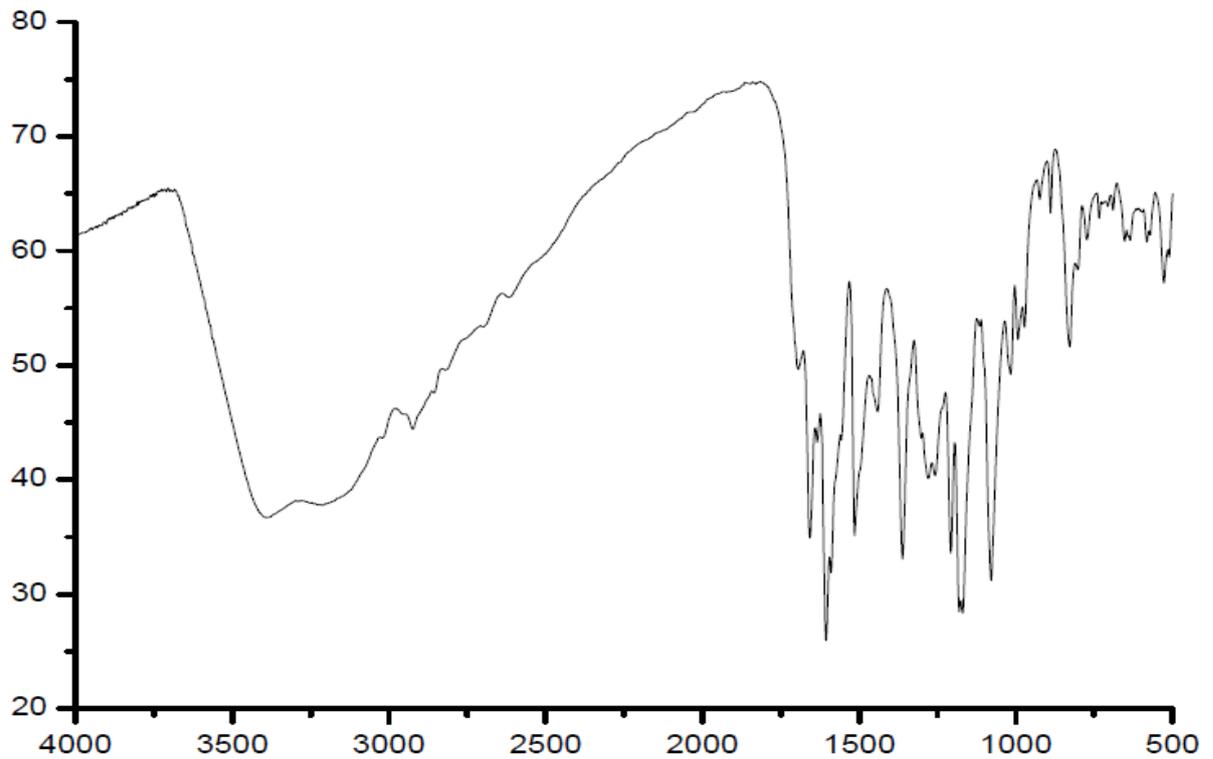


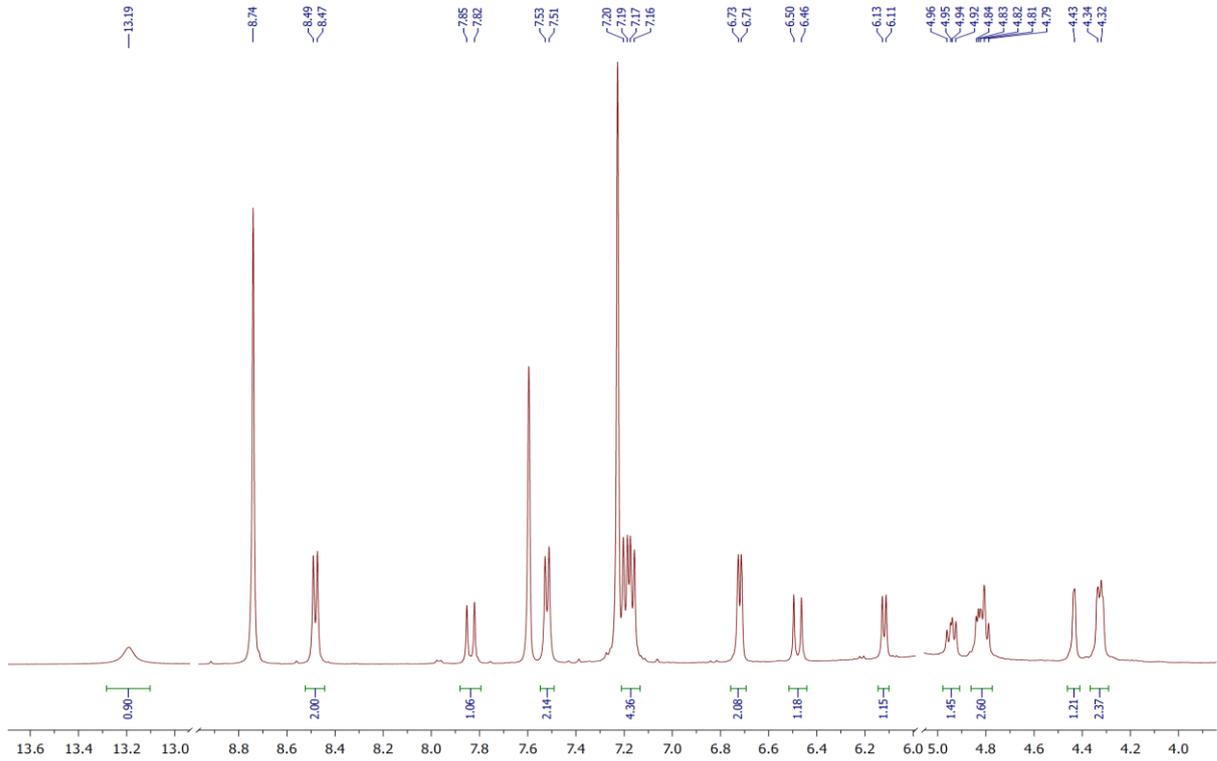
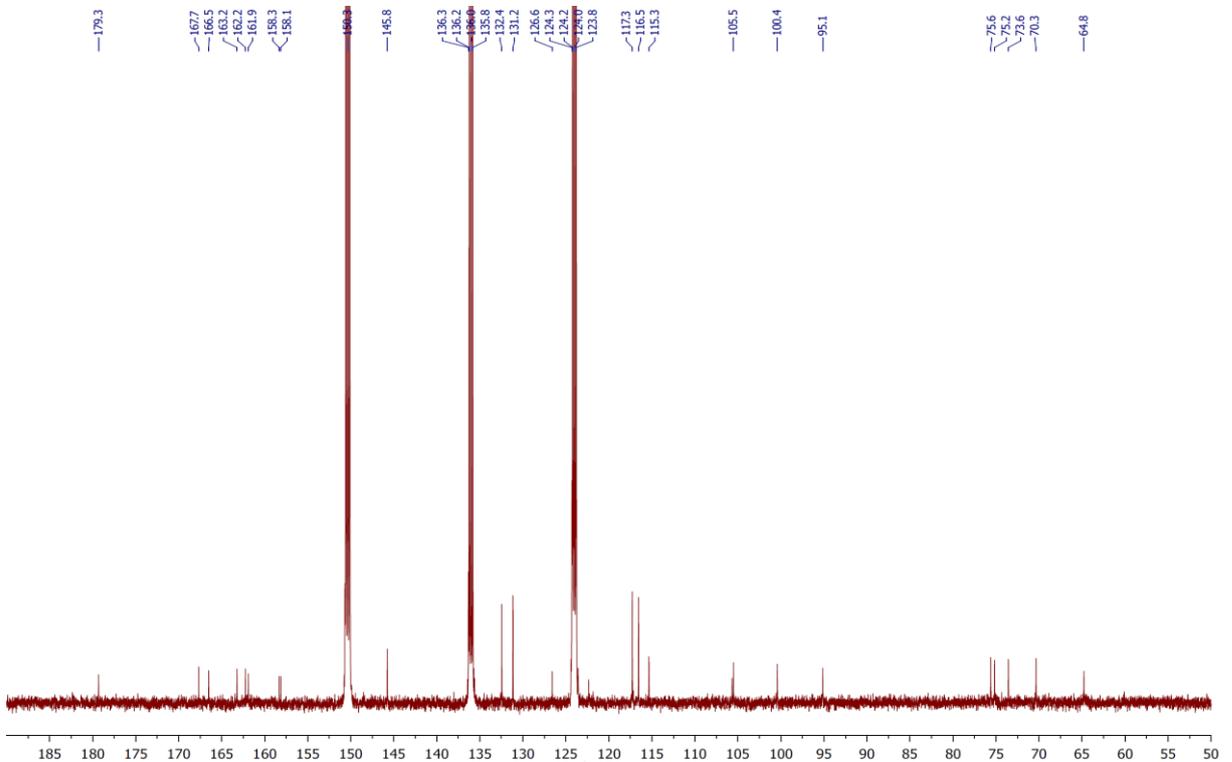
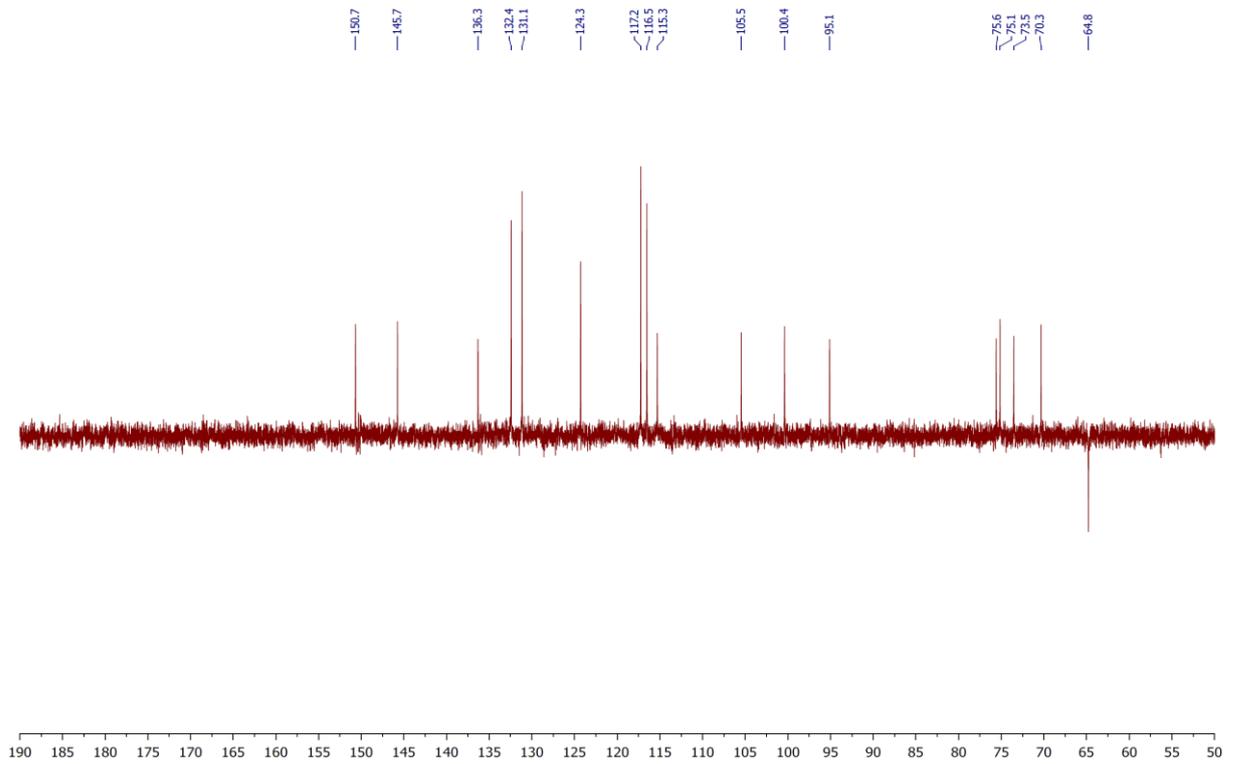
Figura 67 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7Figura 68 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7

Figura 69 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (500 MHz, piridina- $d_5$ ) de CP-7

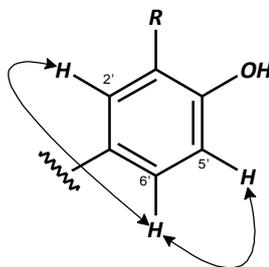
#### 4.8 Determinação Estrutural de CP-8

O composto denominado **CP-8** (PF 203-205 °C,  $t_R = 17,79$  min, H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 7,3:2,7; 4,72 mL/20 min) foi obtido por CLAE a partir da fração acetato de etila do extrato etanólico de *C. pedicellatus*. Este foi isolado como um sólido amorfo amarelo (23,2 mg).

O espectro de massas de alta resolução com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 73) de CP-8 apresentou o pico com  $m/z$  647,1330, correspondente ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ) revelando a fórmula molecular C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>O<sub>14</sub>Na (massa calculada = 647,1371, erro = -6,34 ppm), a qual difere 30 Da quando comparado a CP-6 (C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>Na, p. 68), permitindo sugerir que pode ter havido a substituição de um hidrogênio por um grupo metoxila.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Figura 74) de CP-8 apresentou sinais para dois hidrogênios meta posicionados, com sinais para H-6 em  $\delta$  6,11 (d,  $J = 1,7$  Hz) e para H-8 em  $\delta$  6,27 (d,  $J = 1,7$  Hz), confirmando o padrão de substituição para o anel A. No entanto, para o anel B foram observados 3 sinais, em  $\delta$  7,85 (d,  $J = 1,9$  Hz, H-2'); 7,54 (dd,  $J = 1,9$  e 8,4 Hz, H-6') e 6,82 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-5'), indicando um padrão de substituição do tipo AMX, o que foi confirmado pelo espectro <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY ( $\leftrightarrow$ ) (Figura 77) através do acoplamento de H-6' com H-5' ( $J = 8,4$  Hz) e com H-2' ( $J = 1,9$  Hz) (Figura 70).

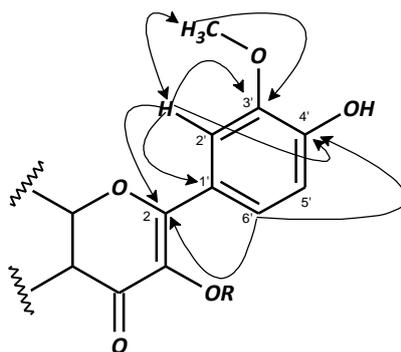
Figura 70 – Fragmento de CP-8



O sinal presente no espectro de RMN de <sup>1</sup>H em  $\delta$  3,90 (3H, s) foi atribuído a um grupo metoxila, que foi posicionado no anel B da aglicona, através do acoplamento observado no espectro <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-NOESY ( $\leftrightarrow$ ) entre H-2' e 3H-CH<sub>3</sub>O, e das

correlações observadas no espectro de  $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC ( $\rightarrow$ ) (Figura 78) entre os hidrogênios da metoxila com o carbono C-2' ( $\delta$  114,4) e de H-2' com C-3' ( $\delta$  148,4). No HMBC foi possível ainda confirmar a posição dos hidrogênios aromáticos através das correlações de H-2' com C-1' ( $\delta$  123,1), C-2 ( $\delta$  151,0) e C-4' ( $\delta$  158,9) bem como entre H-6' com C-2 e C-4' (Figura 71).

Figura 71 - Fragmento de CP-8 com correlações observadas no HMBC

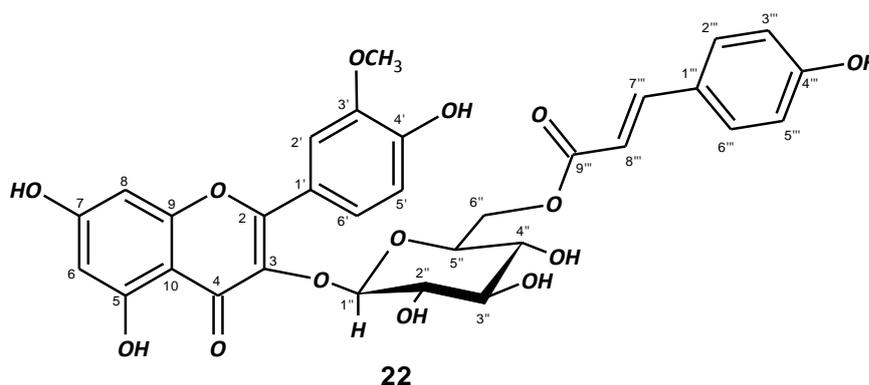


Foram observados ainda sinais relativos ao grupo cumaroil no espectro de RMN  $^1\text{H}$ : H2'''/6''' em  $\delta$  7,52 (2H, d,  $J = 8,9$  Hz) e H3'''/5''' em  $\delta$  7,16 (2H, d,  $J = 8,9$  Hz), além de hidrogênios H7''' em  $\delta$  7,84 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz) e H8'''  $\delta$  6,48 (1H, d,  $J = 15,8$  Hz).

Os sinais observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Figura 75) para o carbono anomérico C-1'' ( $\delta$  104,1), C-2'' ( $\delta$  76,0), C-3'' ( $\delta$  78,2), C-4'' ( $\delta$  72,0), C-5'' ( $\delta$  76,0) e C-6'' ( $\delta$  64,4), bem como a comparação destes com os dados de CP-6 evidenciaram a presença da unidade glicosídica (Tabela 09). Através das correlações de H-1'' com C-3 e 2H-6'' com C-9''', observadas no HMBC foi possível determinar a posição do grupo cumaroil ligado ao carbono 6'' da glicopiranosose, bem como desta ao carbono C-3 da aglicona flavonoídica.

A análise dos dados de RMN, EMAR-IES, e comparação com os dados de CP-6 e referências, permitiram concluir que o composto CP-8 tratava-se do flavonóide 6''-O-*p*-cumaroil- $\beta$ -D-glicopiranosil-3'-metoxicanferol (**22**) (Figura 72).

Figura 72 – Estrutura de CP-8

Tabela 09 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8 e CP-6.

C	CP-8		CP-6
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$
2	151,0	-	161,6
3	135,4	-	135,4
4	179,4	-	179,5
5	163,1	-	163,1
6	100,3	6,11 (d, 1,6)	100,2
7	166,7	-	166,0
8	95,1	6,27 (d, 1,6)	95,0
9	158,5	-	158,5
10	105,6	-	105,7
1'	123,1	-	122,8
2'	114,4	7,85 (d, 1,9)	132,4
3'	148,4	-	116,2
4'	158,9	-	159,5
5'	116,1	6,82 (d, 8,4)	116,2
6'	124,0	7,53 (dd, 1,9 e 8,4)	132,4
1''	104,1	5,33, (d, 7,4)	104,2
2''	76,0	3,52 (m)	75,9
3''	78,2	3,48 (m)	78,2
4''	72,0	3,34 (m)	71,9
5''	76,0	3,52 (m)	75,9
6''	64,4	4,29 (dd, 2,4 e 11,8) 4,25 (dd, 6,3 e 11,8)	64,5
1'''	127,2	-	127,2
2'''/6'''	131,3	7,28 (d, 8,6)	131,3
3'''/5'''	116,9	6,78 (d, 8,6)	116,9
4'''	161,4	-	161,3
7'''	146,8	7,37 (d, 15,9)	146,7
8'''	114,7	6,05 (d, 15,9)	114,9
9'''	168,9	-	169,0
$\text{CH}_3\text{O}$	56,8	3,90 (s)	

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 73 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-8

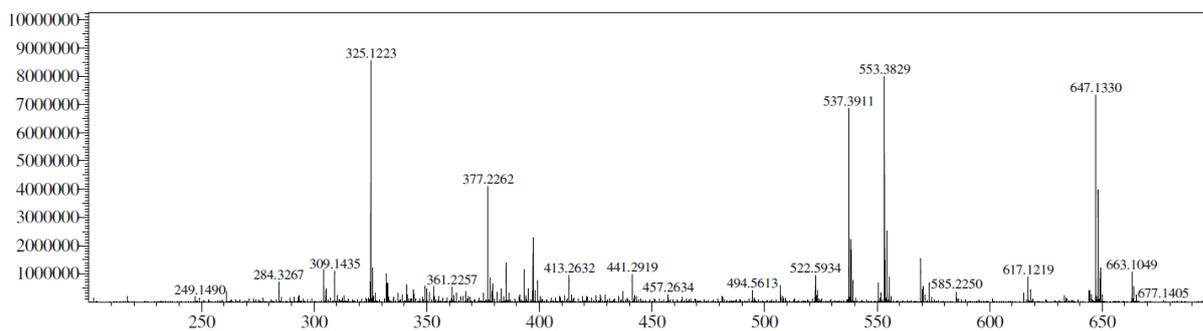
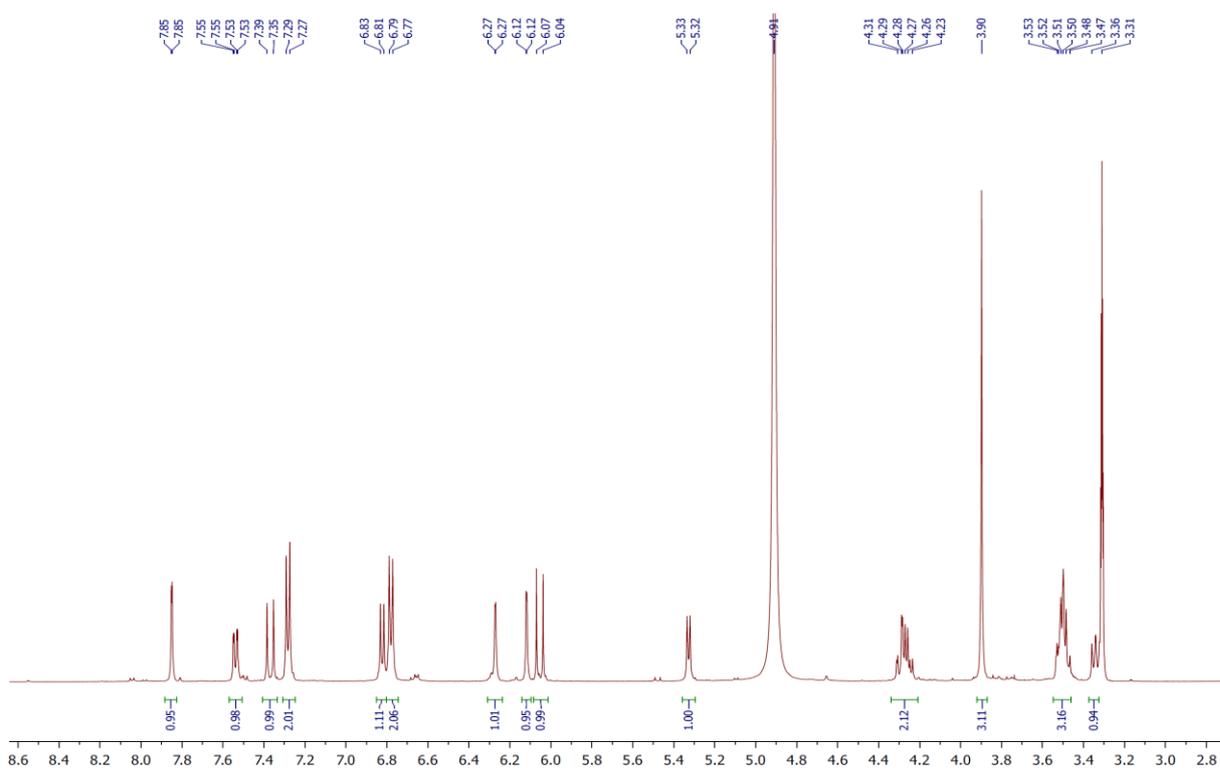
Figura 74 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8

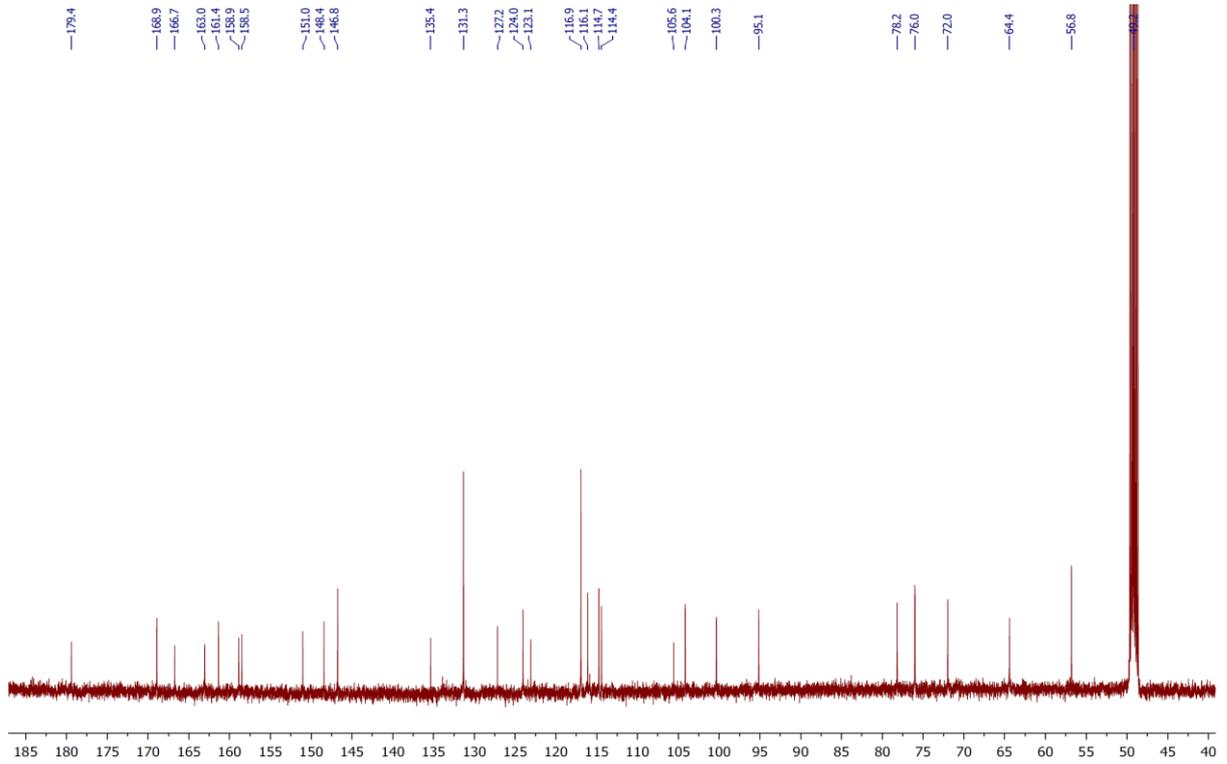
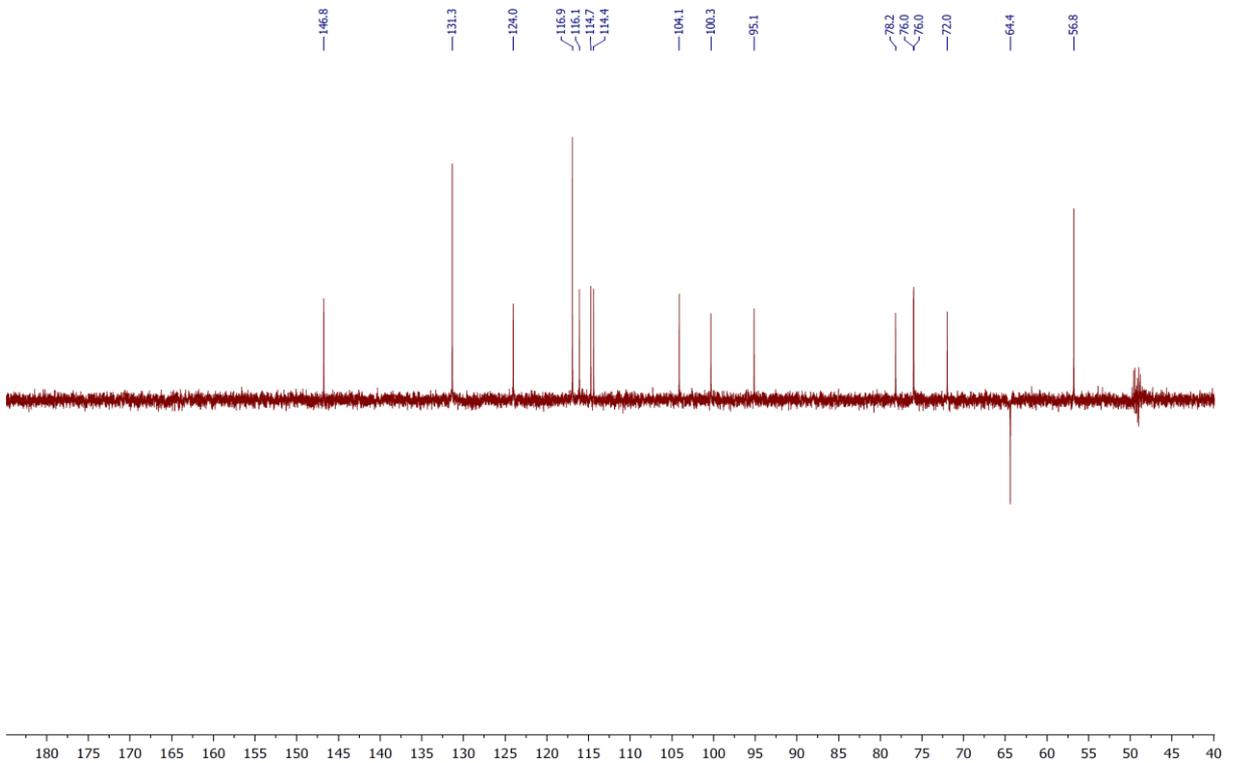
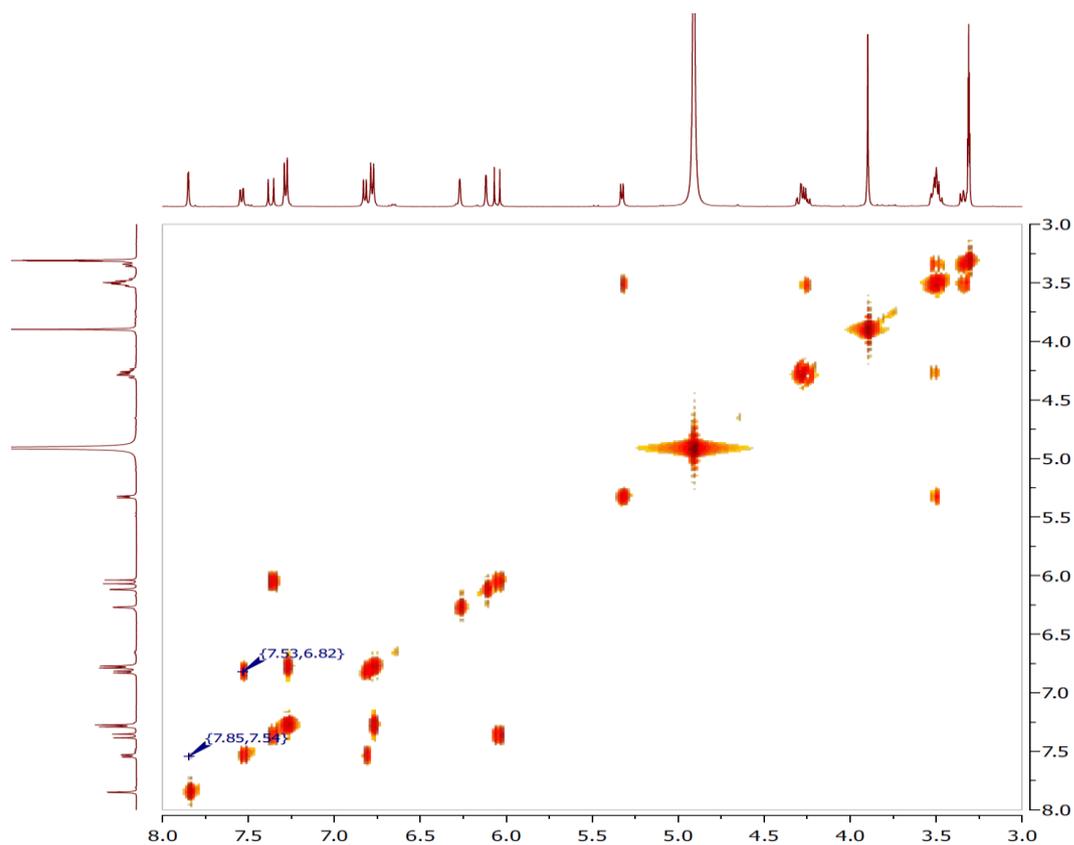
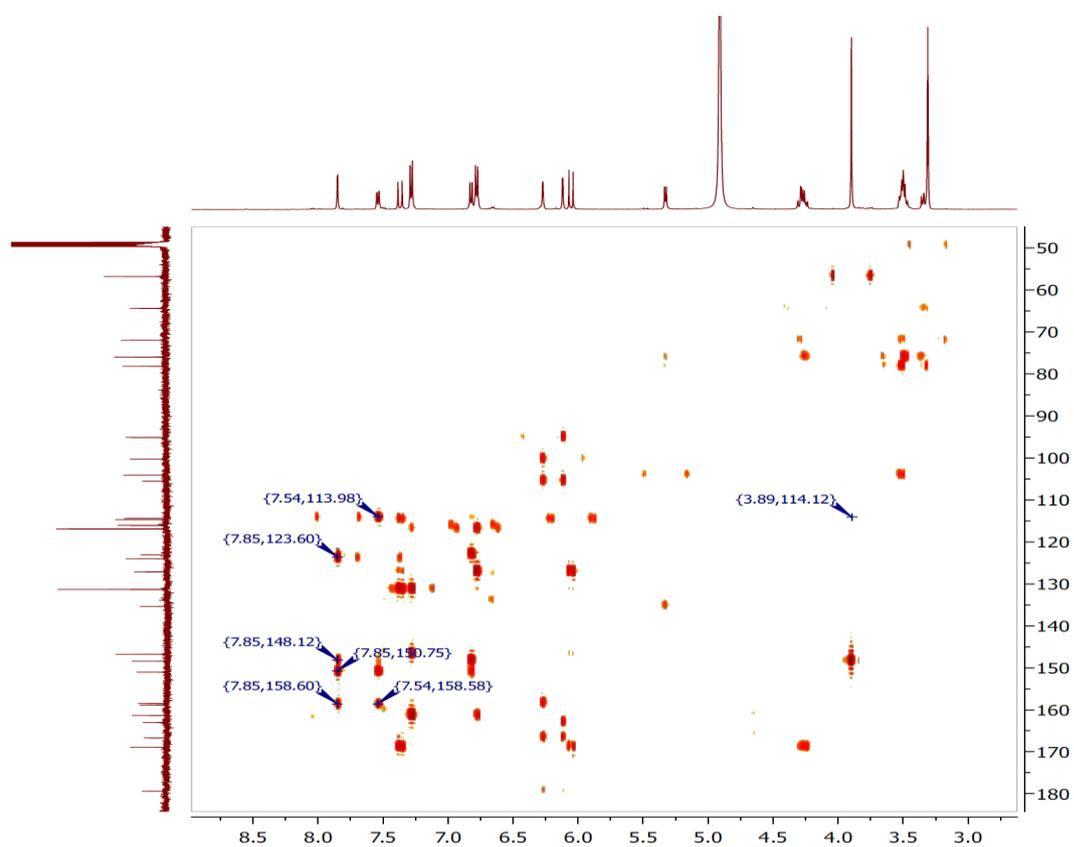
Figura 75 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8Figura 76 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8

Figura 77 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8Figura 78 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-8

#### 4.9 Determinação estrutural de CP-9

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração diclorometano (CPFE-D2) do extrato etanólico de *C. pedicellatus*, possibilitou o isolamento de um composto cristalino denominado **CP-9** (12,3 mg), com faixa de fusão entre 207,9-209,1 °C.

O espectro de massas EMAR-IES no modo negativo (Figura 81) exibiu pico do íon com  $m/z$  335,0930, relativo à molécula desprotonada ( $[M - H]^-$ ) implicando na fórmula molecular  $C_{20}H_{16}O_5$  (massa calculada= 335,0925, erro = 1,49 ppm), a qual apresenta IDH = 13.

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (Figura 82) apresentou bandas relativas à carbonila ( $1670\text{ cm}^{-1}$ ) e deformação axial de grupo hidroxila, em  $3475\text{ cm}^{-1}$ . Foi observada também banda relativa a estiramento de ligação  $C_{sp^3}\text{-H}$ , ( $2975\text{ cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

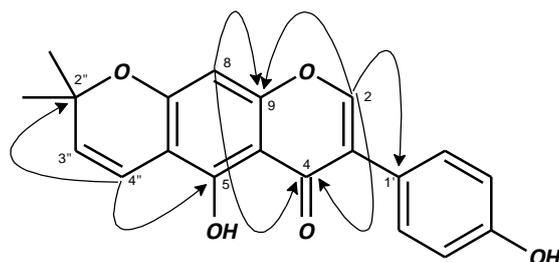
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 83) apresentou um par de dupletos em  $\delta$  7,37 (2H,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , H2'/6') e 6,87 (2H,  $J = 8,4\text{ Hz}$  H3'/5'), indicando a presença de um anel para- substituído, bem como um sinal característico de isoflavona em  $\delta$  7,82 (s, H-2). O sinal em  $\delta$  6,35 (1H, s, H-8), característico do anel A, além de sinais em  $\delta$  5,63 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , H-3'') e 6,73 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , H-4'') e 1,48 (s, 6H), indicando a presença de um grupo prenila (MÁXIMO *et al.*, 2002). Foi observado também um sinal referente à hidroxila quelada em  $\delta$  13,12 (s, OH-5).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 84) apresentou 17 sinais, dos quais três dobrados, correspondentes a 20 carbonos. A subtração dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB com o DEPT 135 (Figura 85) permitiu definir o padrão de hidrogenação dos carbonos de CP-9: 6 carbonos metínicos, sendo dois deles dobrados, 1 metílico (x2) e 10 carbonos não hidrogenados (Tabela 10).

O espectro  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC (Figura 86) foi importante para confirmar que o composto tratava-se de uma isoflavona, através das correlações observadas entre o

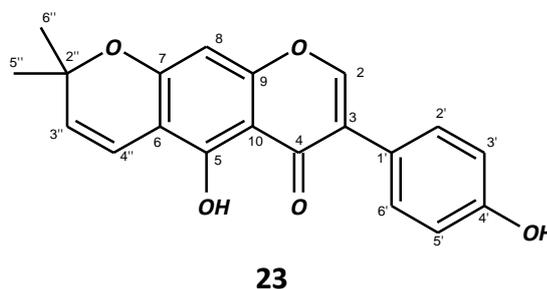
hidrogênio em  $\delta$  7,82 (s, H-2) com os carbonos  $\delta$  157,6 (C-9), 123,4 (C-1') e 181,2 (C-4). Este experimento também mostrou correlações que contribuíram para posicionar o grupo prenila entre os carbonos C-6 e C-7, através das correlações entre o hidrogênio em  $\delta$  6,35 (s, H-8) e os carbonos em  $\delta$  157,6 (C-9) e  $\delta$  181,2 (C-4), além de H-4'' (6,73, d,  $J = 10,0$  Hz) com C-2'' ( $\delta$  78,3) e C-5 ( $\delta$  157,2) (Figura 79).

Figura 79 – Estrutura de CP-9 com correlações observadas no HMBC



A análise dos dados espectrais e posterior comparação com a literatura (EL-MASRY *et al.*, 2002) levou a conclusão de que CP-9 tratava-se de uma isoflavona prenilada conhecida como alpinumisoflavona (**23**) (Figura 80), a qual está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Croton*.

Figura 80 – Estrutura de CP-9

Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9 e alpinumisoflavona (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , EL-MASRY, 2002).

C	CP-9		Alpinumisoflavona
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$
2	152,8	7,82 (s)	152,5
3	123,9	-	123,5
4	181,2	-	180,9
5	157,2	-	157
6	106,4	-	105,8
7	159,9	-	159,3
8	95,1	6,35 (s)	94,8
9	157,6	-	157,1
10	105,9	-	105,3
1'	123,4	-	121,6
2'/6'	130,6	7,37 (d, 8,4)	130
3'/5'	115,9	6,87 (d, 8,4)	115,3
4'	156,2	-	156,2
2''	78,3	-	77,8
3''	128,4	5,63 (d, 10,0)	115,1
4''	115,7	6,73 (d, 10,0)	128,1
5''/6''	28,6	1,48 (s)	27,9

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 81 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-9

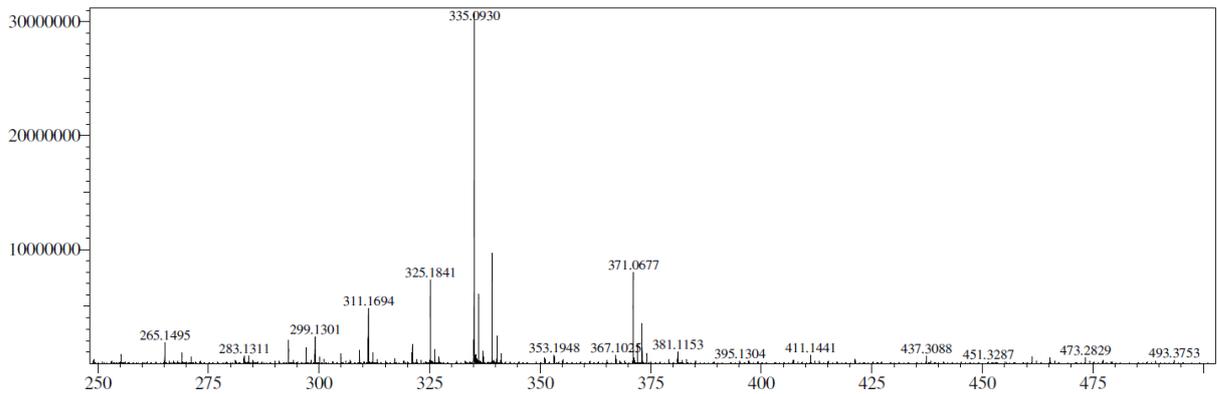


Figura 82 – Espectro na região do Infravermelho (FT-IR) de CP-9

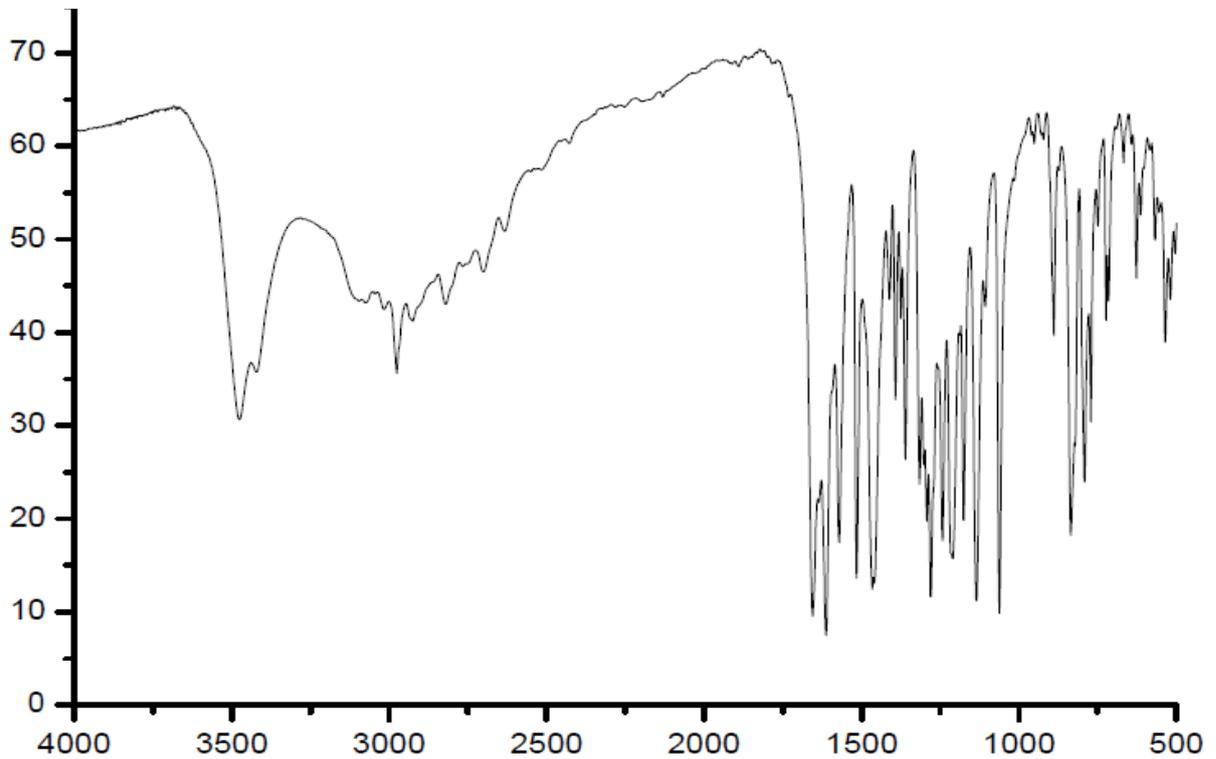


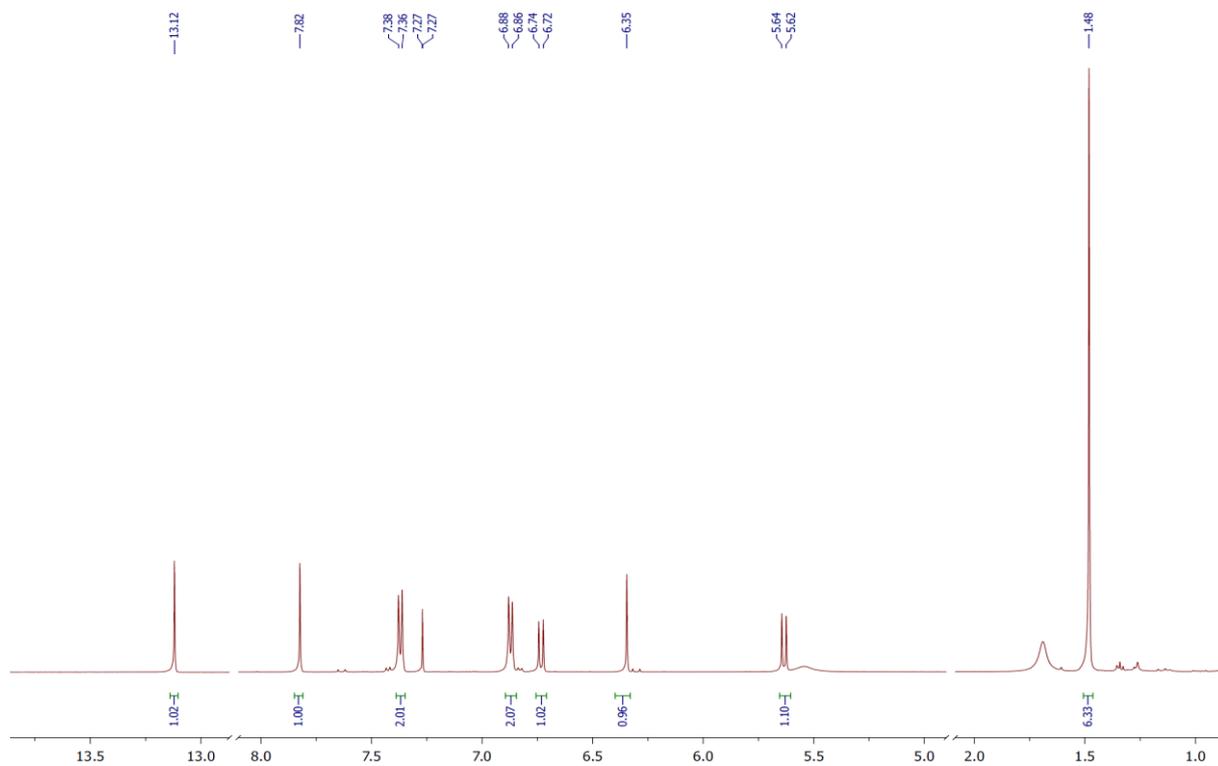
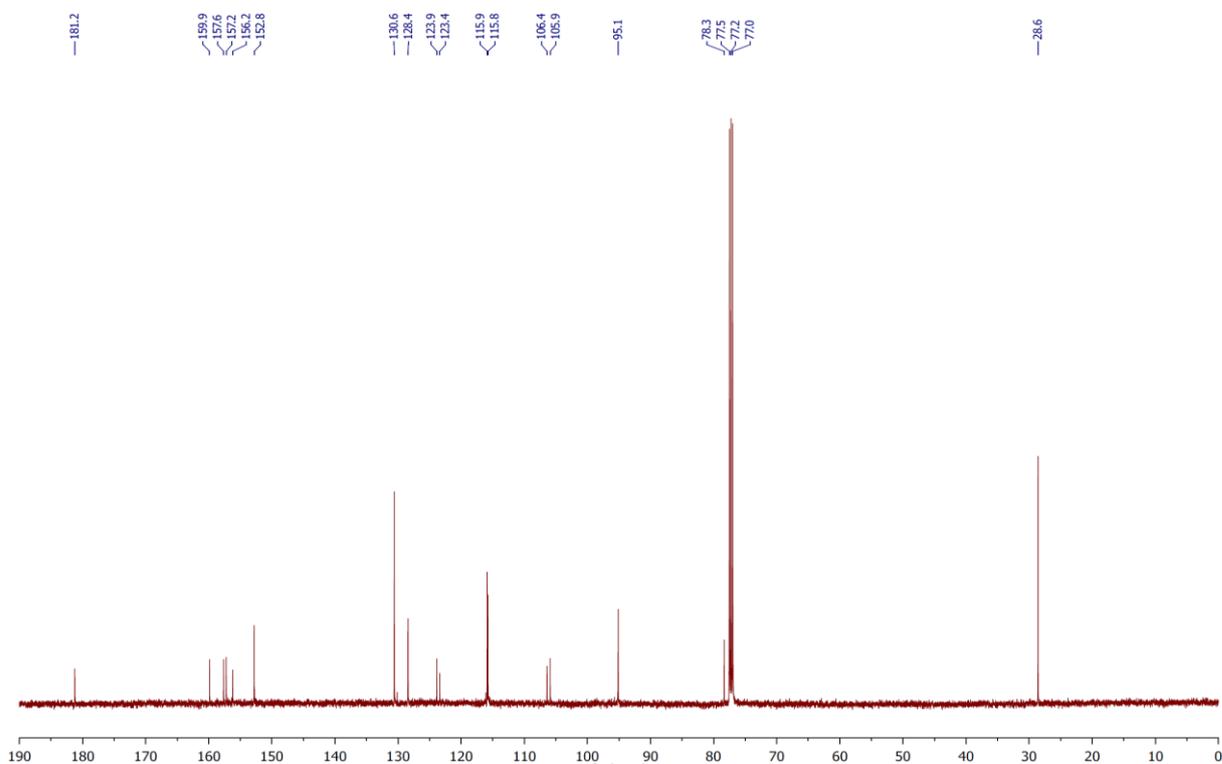
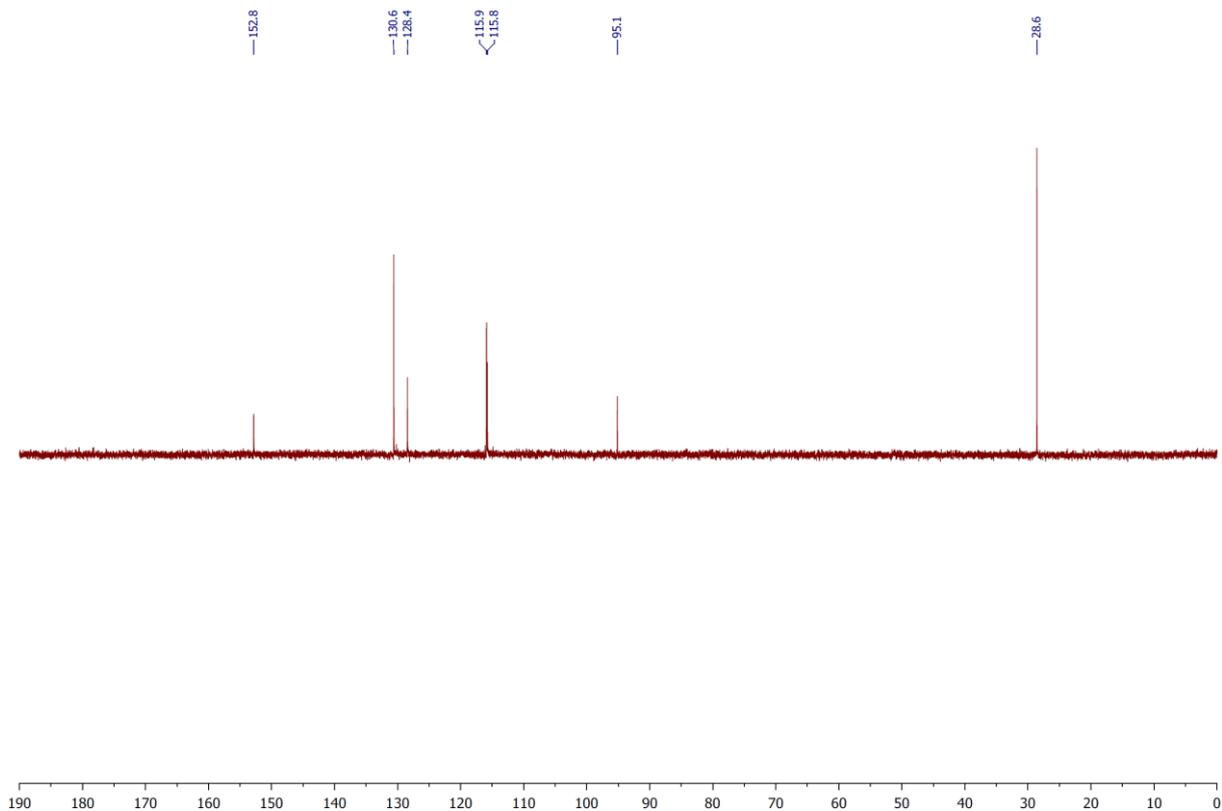
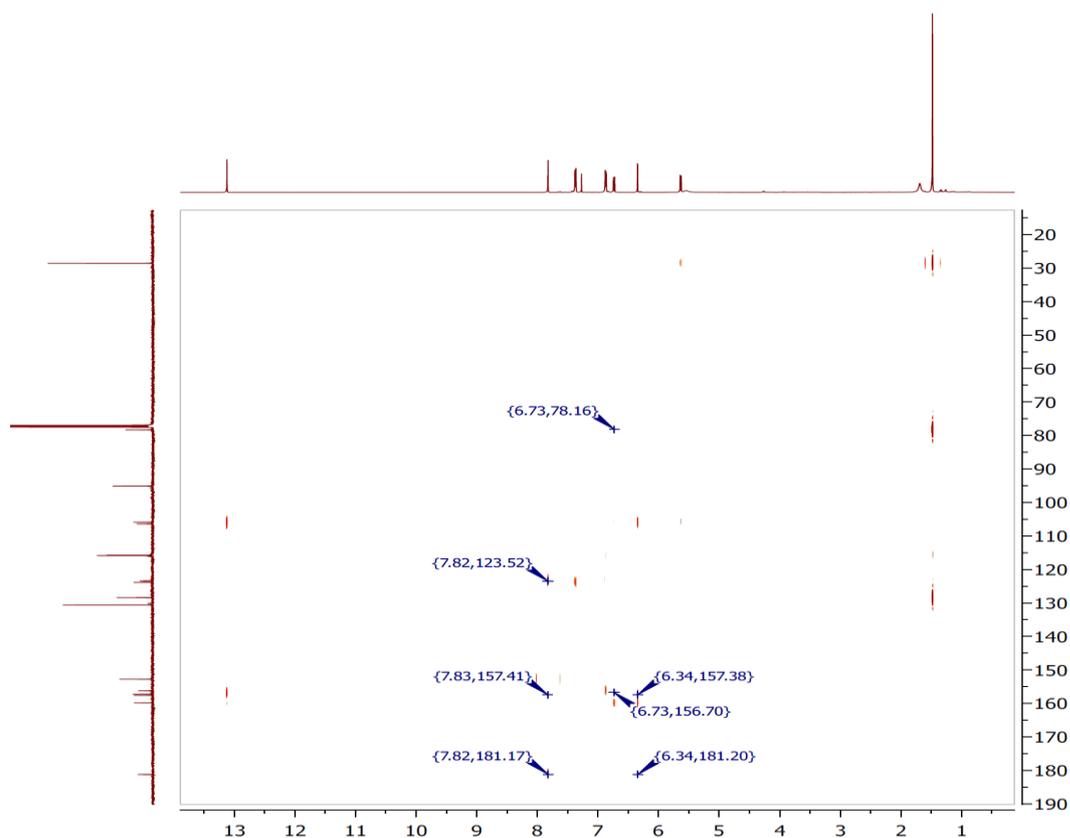
Figura 83 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9Figura 84 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9

Figura 85 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9Figura 86 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-9

#### 4.10 Determinação estrutural de CP-10

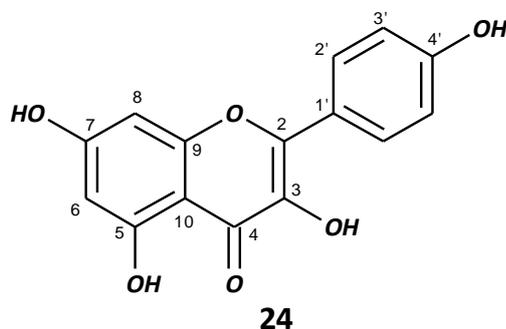
O fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*, em coluna aberta e usando gel de sílica como adsorvente, levou ao isolamento de um sólido amorfo amarelo com faixa de fusão em 207-208 °C, denominado **CP-10** (8,6 mg)

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Figura 88) foram observados dois pares de dupletos em  $\delta$  8,09 (2H, *d*,  $J = 8,9$  Hz) e 6,90 (2H, *d*,  $J = 8,9$  Hz), característicos de hidrogênios aromáticos do tipo AA'BB', e em  $\delta$  6,39 (1H, *d*,  $J = 1,8$  Hz) e 6,18 (1H, *d*,  $J = 1,8$  Hz) também para hidrogênios aromáticos, mas desta vez em posição *meta*, indicando que o composto pertence a classe dos flavonóides. (Tabela 11)

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (Figura 89) exibiu 13 linhas espectrais, corroborando os dados de hidrogênio e confirmando a natureza flavonoídica do composto. Merecem destaque, entre outros, a presença de uma carbonila de cetona conjugada (177,5) e dos sinais com deslocamento químico em 130,8 e 116,4, para dois carbonos cada um, que aliados aos carbonos em 162,6 e 123,8 confirmam a presença do anel B *para*-substituído. Adicionalmente, observa-se a presença de dois carbonos hidrogenados (99,4 e 94,6) e três oxigenados em 160,7; 165,7 e 158,4 que juntamente com os dados de RMN de  $^1\text{H}$  permitem sugerir a estrutura de anel A com hidrogênios *meta*- posicionados.

A análise dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB e o confronto com dados de referência bibliográfica levaram a conclusão que o composto **CP-10** tratava-se do canferol, um metabólito secundário bastante conhecido e que já foi previamente isolado de *Croton sparsiflorus* (MEHMOOD *et al.*, 2010) e *Croton caudatus*. (ZOU *et al.*, 2010) (Figura 87).

Figura 87 – Estrutura de CP-10

Tabela 11 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10 e canferol (VEGA *et al.*, 2007).

CP - 10			Canferol	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
2	148,2	-	148,1	
3	137,3	-	137,1	
4	177,5	-	178,0	
5	160,7	-	160,6	
6	99,4	6,18 ( <i>d</i> , 1,8)	99,3	6,2 ( <i>d</i> , 2,1)
7	165,7		165,7	
8	94,6	6,39 ( <i>d</i> , 1,8)	94,5	6,4 ( <i>d</i> , 2,1)
9	158,4		158,3	
10	104,6		104,5	
1'	123,8		123,8	
2'/6'	130,8	8,09 ( <i>d</i> , 8,9)	130,7	8,1 ( <i>d</i> , 8,9)
3'/5'	116,4	6,90 ( <i>d</i> , 8,9)	116,3	6,9 ( <i>d</i> , 8,9)
4'	162,6	-	162,5	

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

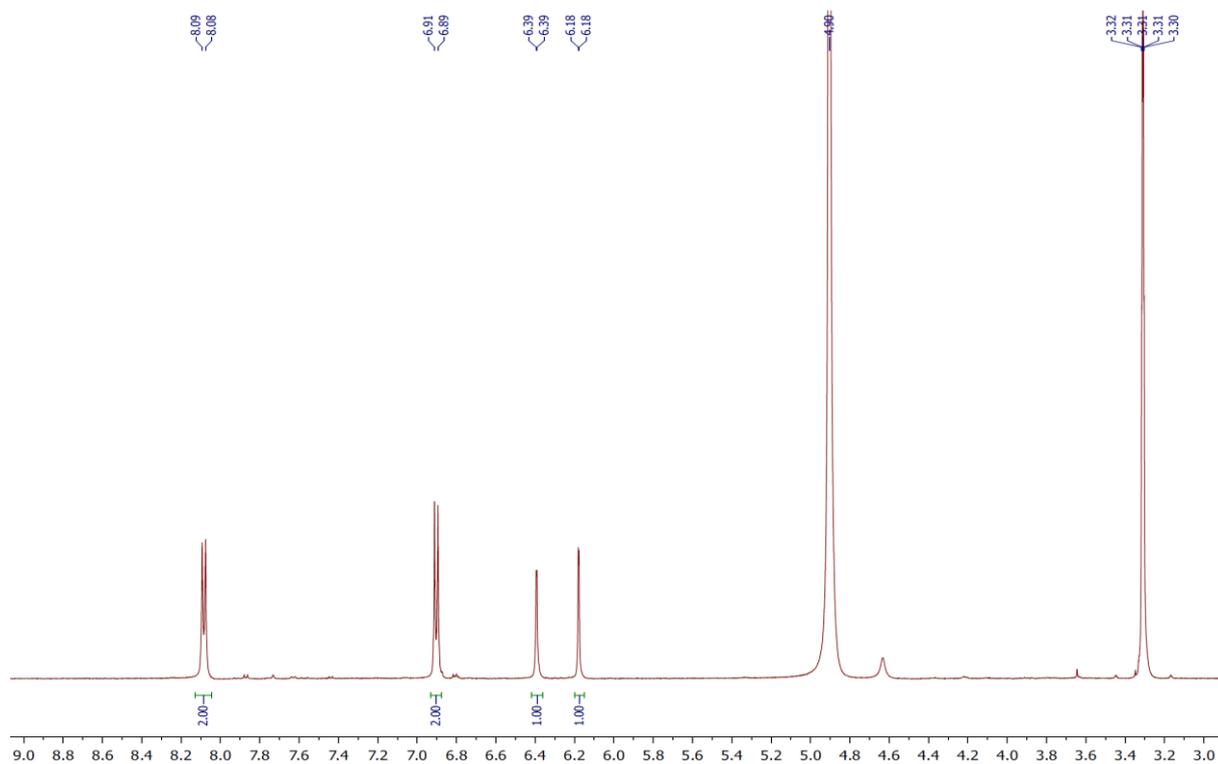
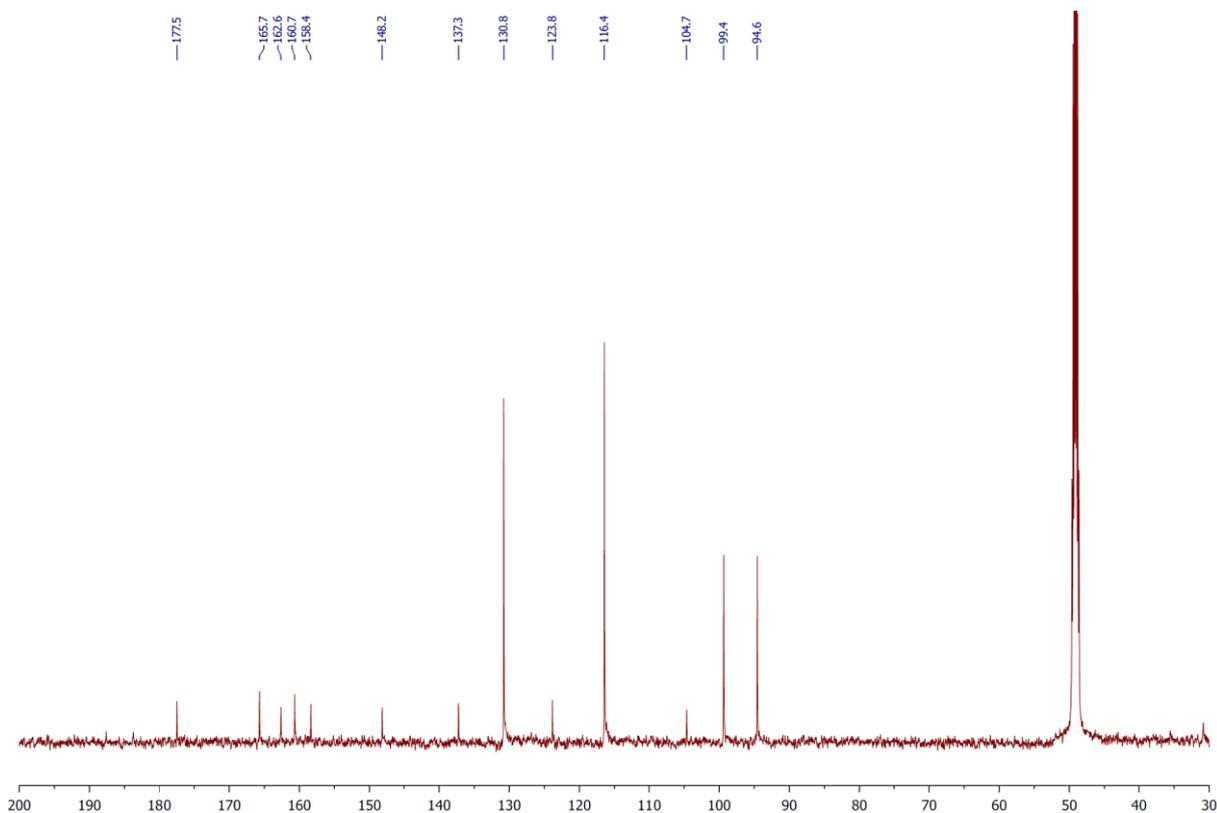
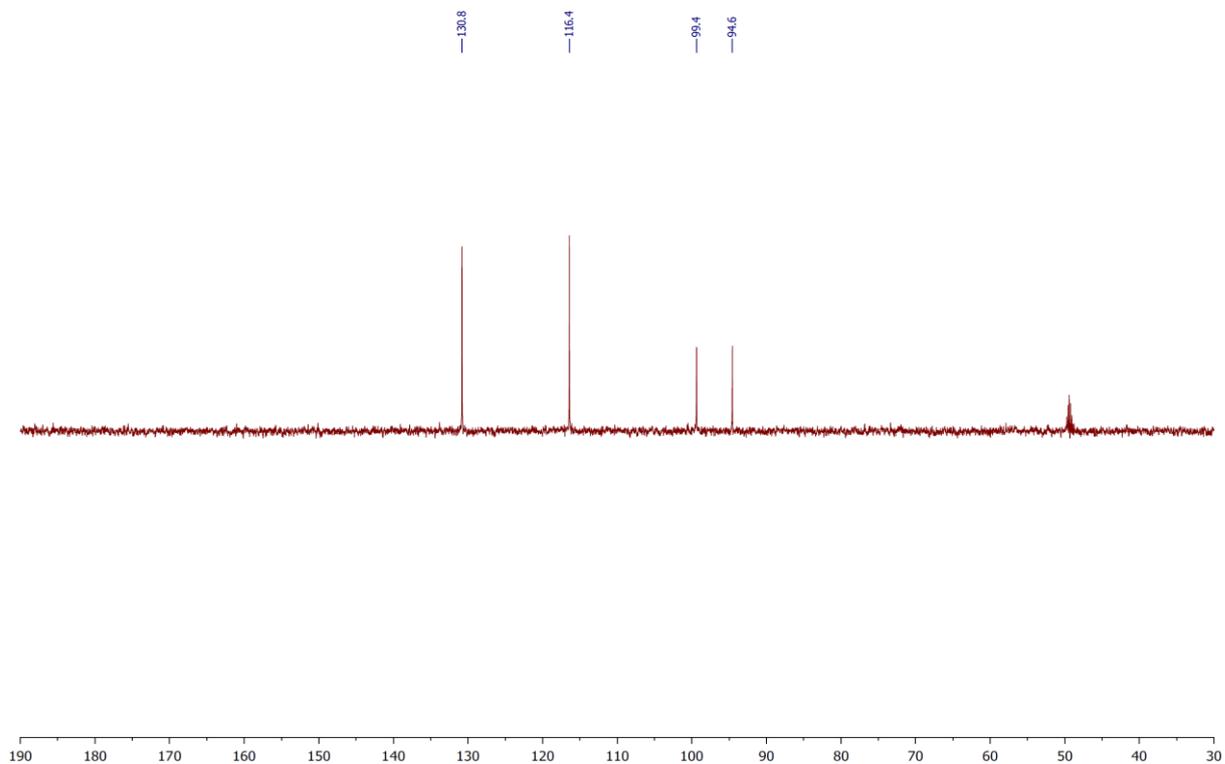
Figura 88 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10Figura 89 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10

Figura 90 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-10

#### 4.11 Determinação estrutural de CP-11

O fracionamento cromatográfico, utilizando CLAE, da fração acetato de etila (CPFE-Ac5) do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus* levou ao isolamento de um sólido amarelo ( $t_R$  4,64 min; H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 7,3:2,7; 4,72 mL/10 min), denominado **CP-11** (6,4 mg).

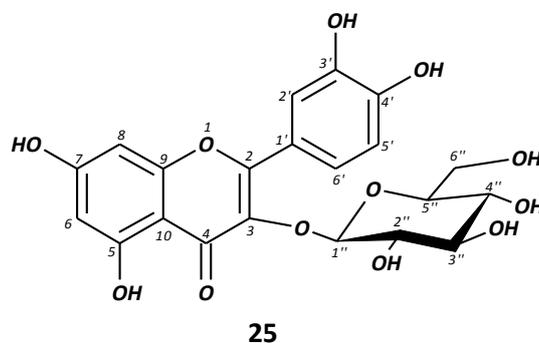
O espectro de massas EMAR-IES no modo negativo (Figura 92) exibiu pico do íon com  $m/z$  463,0895, relativo à molécula desprotonada ( $[M - H]^-$ ) implicando na fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub> (massa calculada= 463,0882, erro = 2,81 ppm).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Figura 93) apresentou dois sinais em  $\delta$  6,36 (1H, sl) e 6,18 (1H, sl), com deslocamentos característicos de hidrogênios flavonoídicos *meta* posicionados (anel A), além de 3 sinais, em  $\delta$  7,72 (1H, sl); 7,60 (d,  $J = 8,4$  Hz) e 6,88 (d,  $J = 8,4$  Hz), que forma atribuídos ao anel B, indicando um padrão de substituição do tipo ABX. Foram observados também sinais em  $\delta$  5,20 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz), 3,72 (1H, d,  $J = 12,0$  e 1,9), 3,58 (1H, dd,  $J = 12,0$  e 5,1 Hz), 3,50 (1H, m), 3,44 (1H, m), 3,36 (1H, m) e 3,24 (1H, m), indicando a presença de uma unidade  $\beta$ -glicosídica.

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (Figura 94) exibiu 21 linhas espectrais, corroborando com os dados de hidrogênio e confirmando a natureza flavonoídica do composto. Merecem destaque, entre outros, a presença de uma carbonila de cetona conjugada ( $\delta$  179,3) e dos sinais com deslocamento químico em  $\delta$  104,7; 78,5; 78,3; 75,9; 71,4 e 62,7, que confirmam a presença da  $\beta$ -glicose.

A análise espectral e comparação com dados obtidos da literatura (STARK *et al.*, 2005), permitiram concluir que **CP-11** trata-se do flavonóide 3-O-glicopiranosilquercetina (Tabela 12), um composto bastante recorrente em espécies vegetais e previamente isolado de plantas do gênero *Croton* (Figura 91).

Figura 91 – Estrutura de CP-11

Tabela 12 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11 e 3-O-glicopiranosilquercetina (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )

C	CP-11		3-O-glicopiranosilquercetina
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1			
2	158,8		156,5
3	135,7		133,9
4	179,3		177,5
5	163,3		161,2
6	100,9	6,18 (sl)	99,1
7	168,6		165,1
8	95,5	6,36 (sl)	94,0
9	158,9		156,8
10	105,1		103,9
1'	123,3		122,9
2'	117,6	7,72 (sl)	116,4
3'	146,1		144,9
4'	150,1		148,8
5'	116,2	6,88 (d, 8,4)	115,5
6'	123,2	7,60 (d, 8,4)	121,8
1''	104,7	5,20 (d, 7,5)	101,2
2''	75,9	3,50 (m)	74,3
3''	78,3	3,44 (m)	76,7
4''	71,4	3,36 (m)	70,2
5''	78,5	3,24 (m)	77,8
6''	62,7	3,72 (dd, 12,0 e 1,9) 3,59 (dd, 12,0 e 5,1)	61,0

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 92 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-11

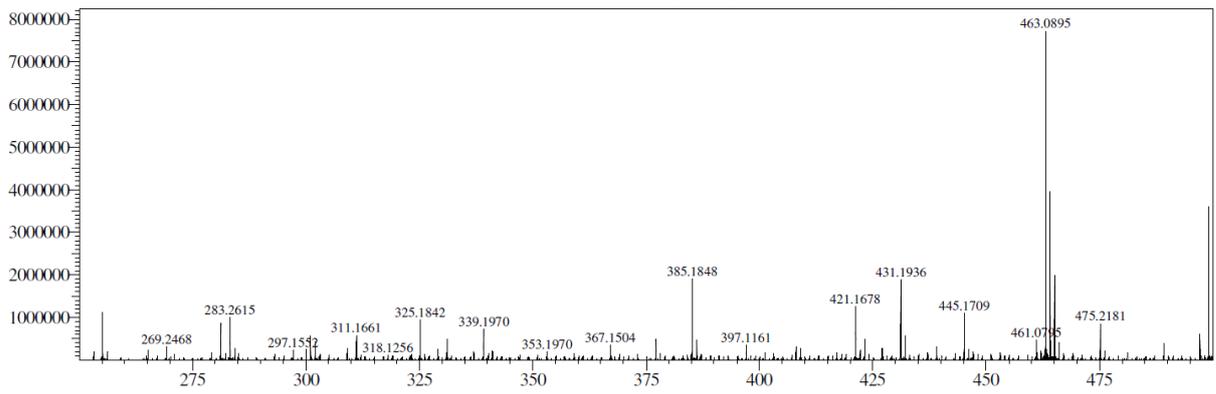
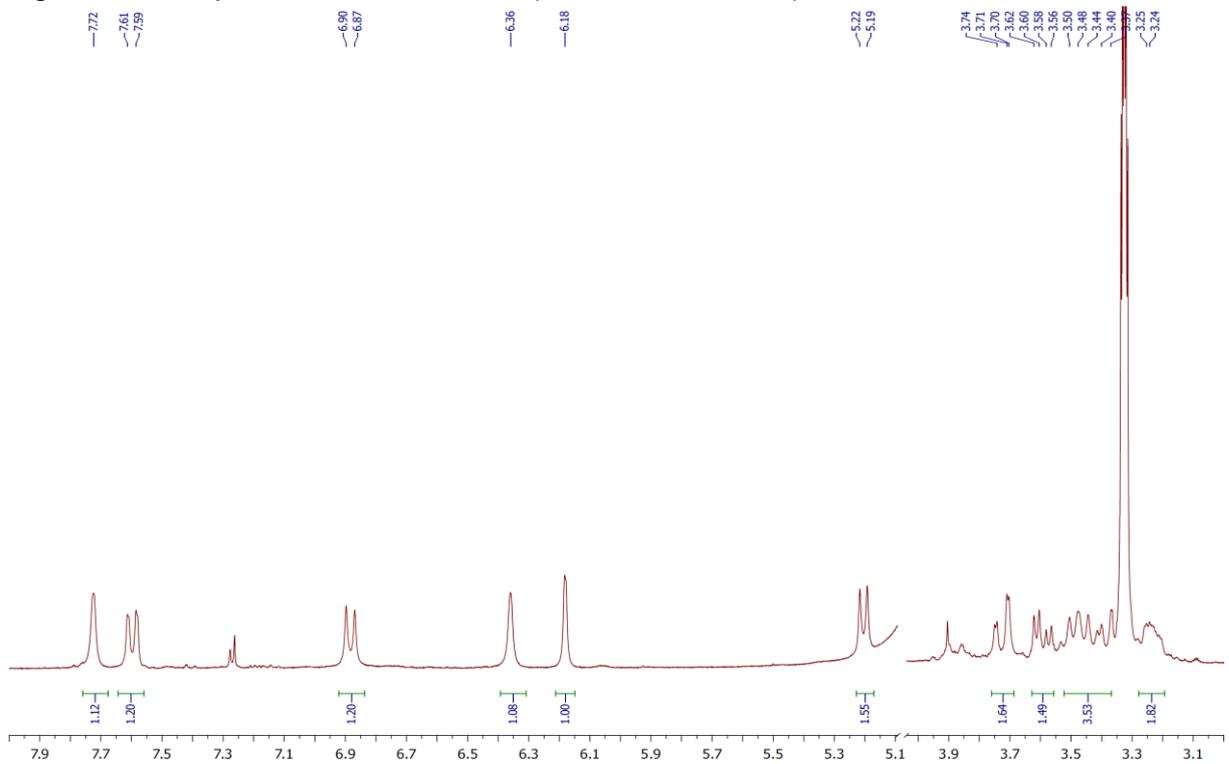
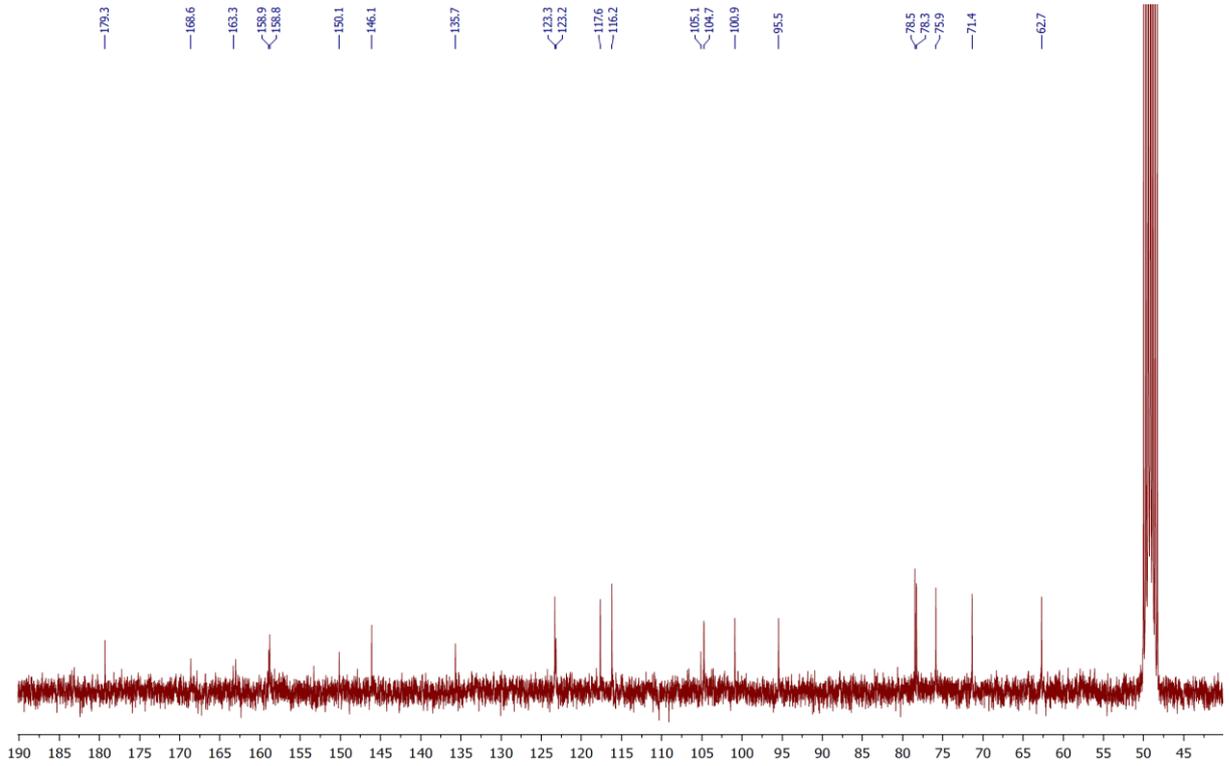
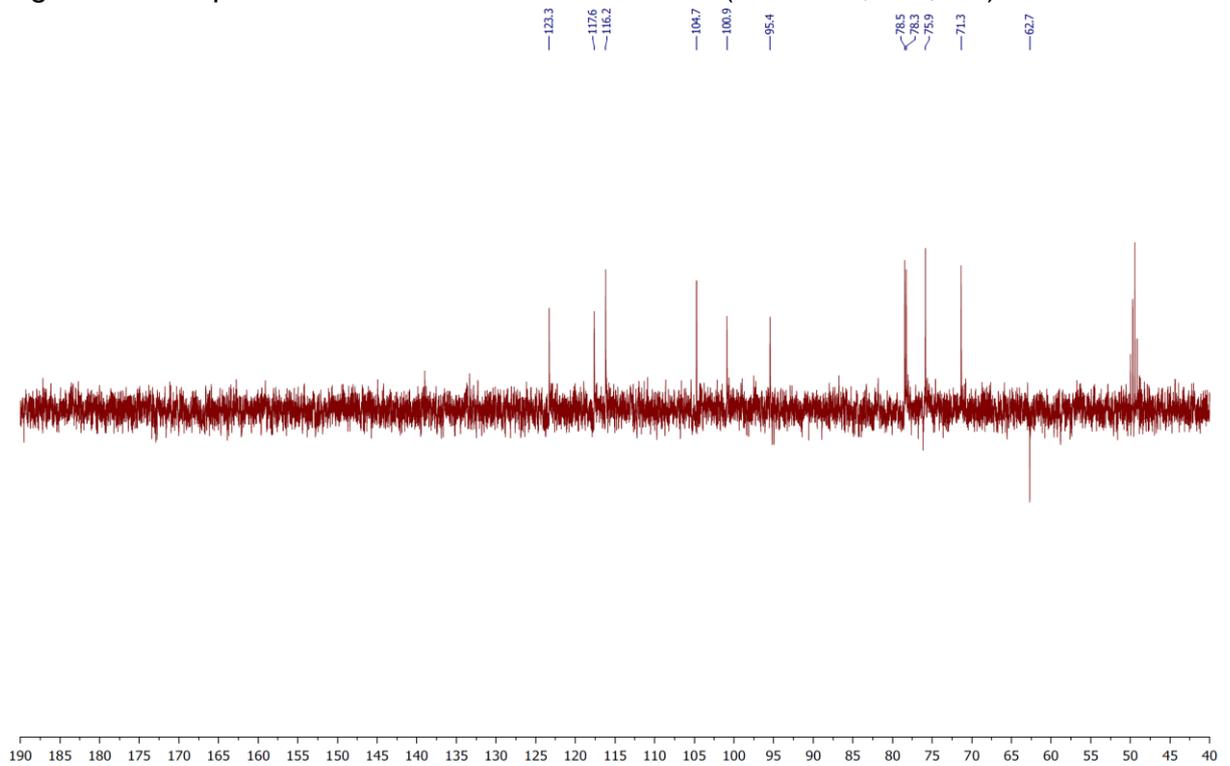
Figura 93 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11

Figura 94 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11Figura 95 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-11

#### 4.12 Determinação estrutural de CP-12

O fracionamento cromatográfico, utilizando CLAE semipreparativa de fase reversa, da fração diclorometano do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus* levou ao isolamento de um composto cristalino incolor ( $t_R = 6,05$  min, H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH 5,2:4,8; 4,72 mL/13 min), denominado **CP-12** (21,7 mg) com faixa de fusão de 110-112 °C.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 99) mostrou um pico correspondente ao íon desprotonado [M-H]<sup>-</sup> com  $m/z$  223,1339, indicando a fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> (massa calculada = 223,1340, erro = 0,45 ppm), que apresenta IDH = 04.

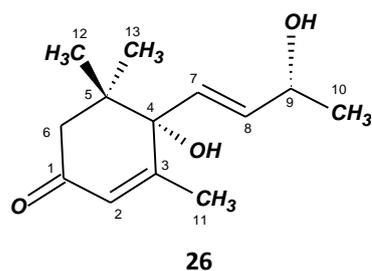
No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Figura 100) foram observados três sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,89 (*s*), 5,78 (*d*,  $J = 15,5$  Hz) e 5,84 (*dd*,  $J = 15,5$  e 5,5 Hz), sugerindo a presença de duas ligações duplas, sendo uma dissubstituída com configuração *trans*, e outra trissubstituída. Quatro grupos metílicos em 1,28 (*d*,  $J = 6,5$  Hz), 1,89 (*s*), 1,07 (*s*) e 1,01 (*s*), dois prótons metilênicos em 2,48 e 2,23 (*d*,  $J = 17,4$  Hz) e um hidrogênio ligado a carbono oxigenado em 4,39 (*q*,  $J = 6,5$  Hz).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (Figura 101) exibiu 13 linhas espectrais, corroborando os dados de hidrogênio e destacando, entre outros, a presença de uma carbonila de cetona conjugada (198,4) e dos carbonos oxigenados com deslocamento químico em 79,2 e 68,2, além dos carbonos olefínicos em 163,4; 136,0; 129,2 e 127,0 e dos metílicos com deslocamento químico 24,2; 23,92; 23,11 e 19,15 (Tabela 13).

Considerando os dados analisados, e confrontando com o IDH, podemos sugerir que o composto em questão possui um anel em sua estrutura, como forma de satisfazer a regra do cálculo do Índice de Deficiência de Hidrogênio. E isso se confirma pela verificação das correlações observadas no espectro <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMBC (Figura 104) entre o H-2 (5,89) com os carbonos C-4 (79,2), C-6 (49,9) e C-11 (19,2) e entre os hidrogênios 2H-6 com os carbonos C-1 (198,5), C-2 (127,0), C-4 (79,2) e



Figura 98 – Estrutura de CP-12

Tabela 13 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12 e Blumenol A (400/100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

	CP-12		Blumenol A	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	198,5	-	197,9	-
2	127,0	5,89 (sl)	127,0	5,91
3	163,4	-	162,6	-
4	79,2	-	79,1	-
5	41,4	-	41,1	-
6	49,9	2,43 (d, 17,4) 2,23 (d, 17,4)	49,7	2,45 (d, 16,8) 2,25 (d, 16,8)
7	129,2	5,78 (d, 15,5)	135,7	5,79 (d, 15,7)
8	136,0	5,84 (dd, 15,5, 5,5)	129,0	5,87 (dd, 15,7, 5,1)
9	68,2	4,39 (qu, 6,5)	68,1	4,42 (m)
10	23,9	1,28 (d, 6,5)	23,8	1,30 (d, 6,3)
11	19,2	1,89 (s)	18,9	1,90 (s)
12	24,2	1,01 (s)	22,9	1,02 (s)
13	23,1	1,07 (s)	24,0	1,11 (s)

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 99 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-12

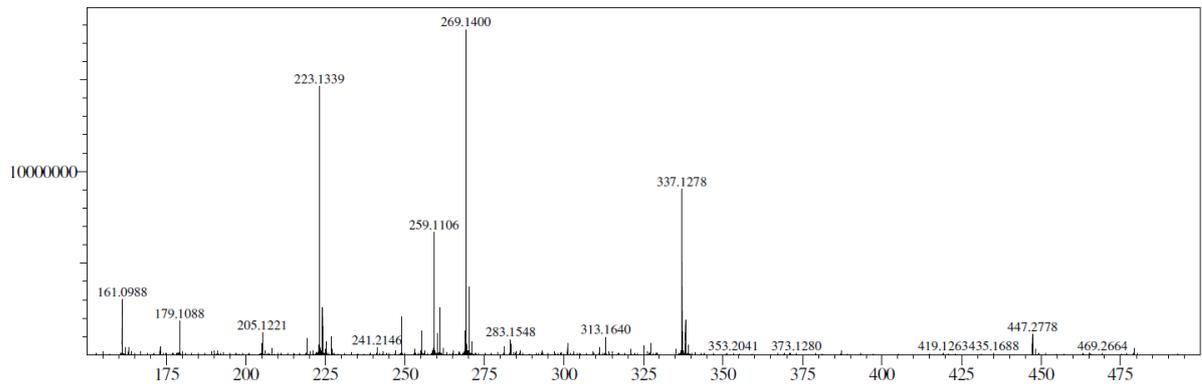
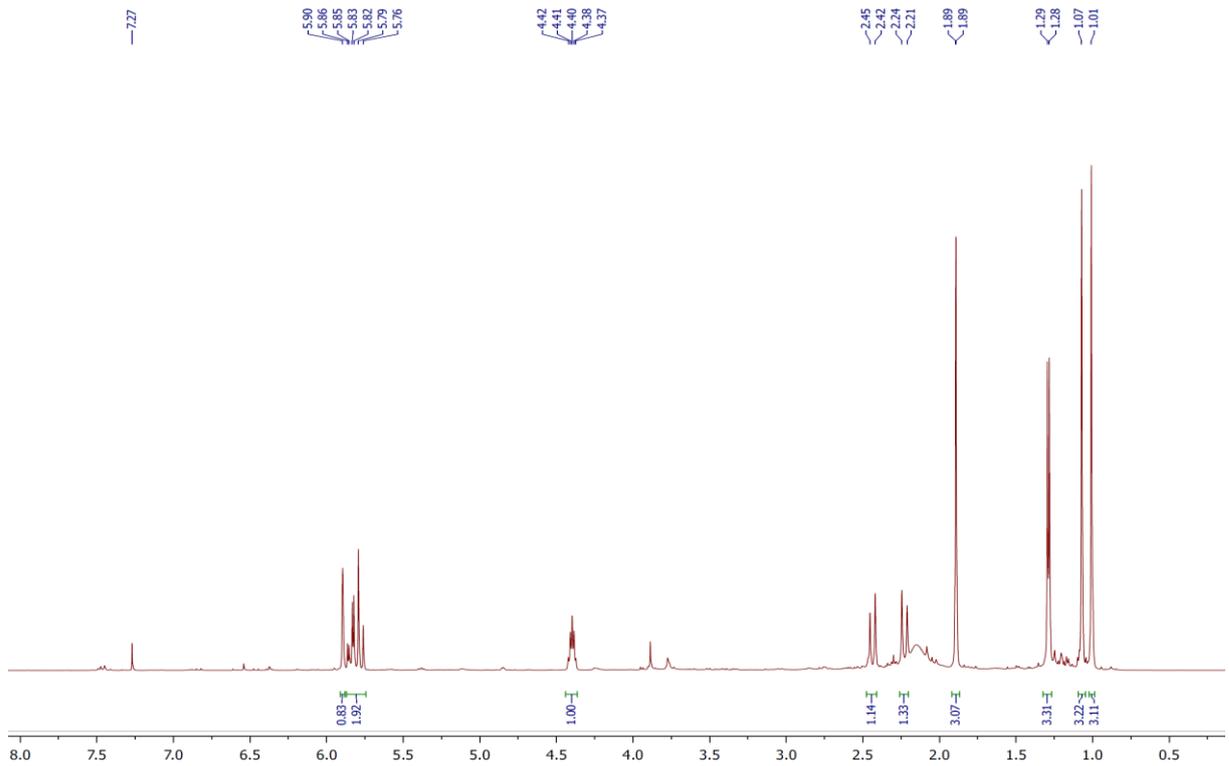
Figura 100 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12

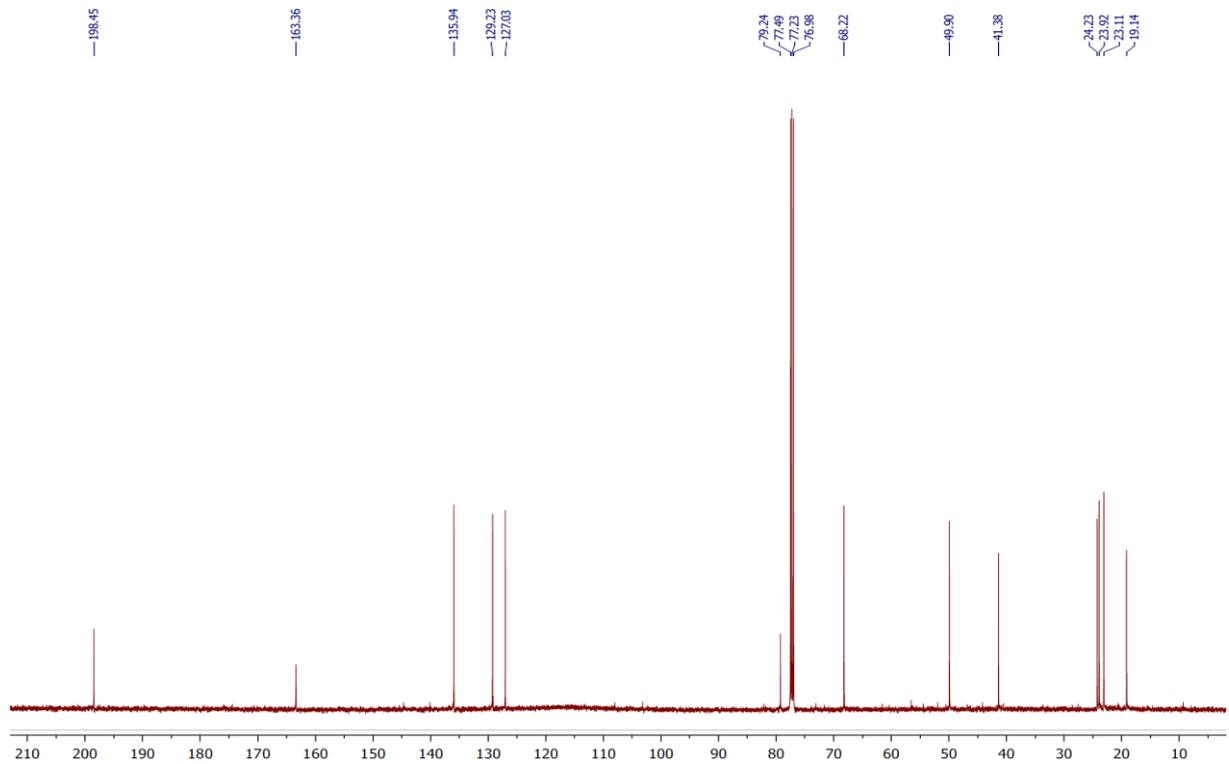
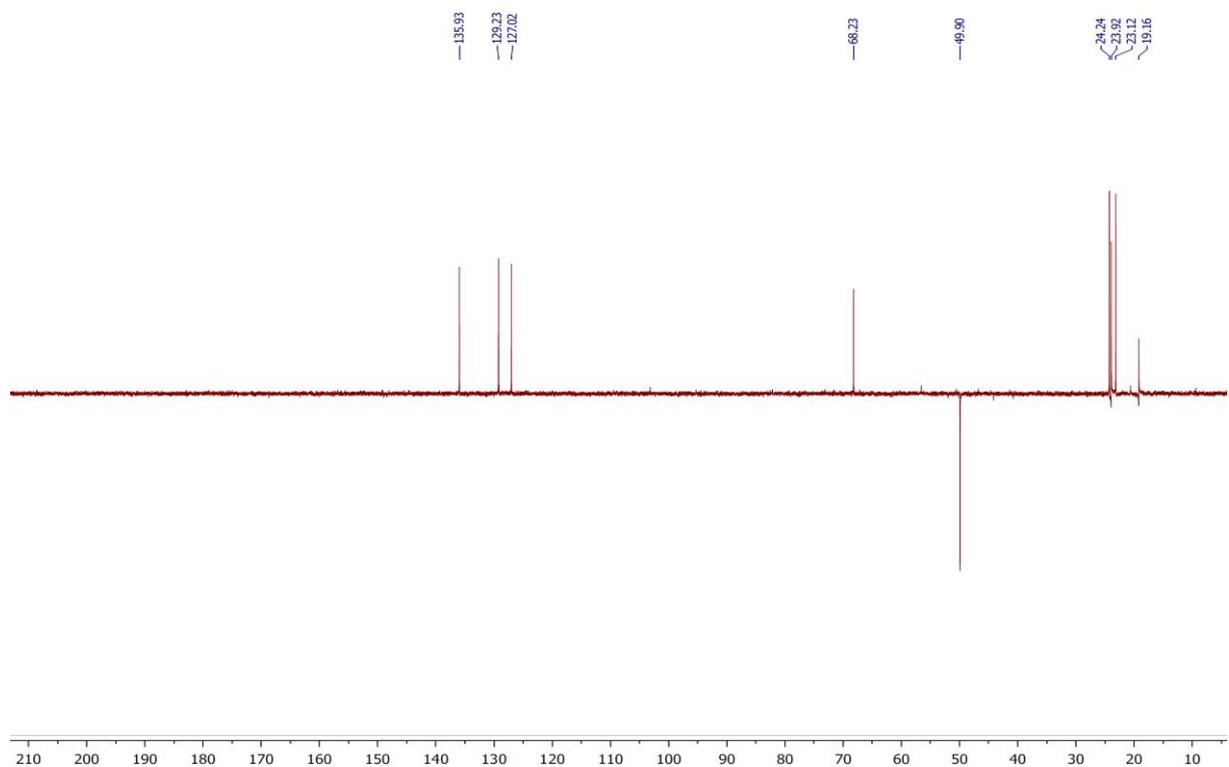
Figura 101 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12Figura 102 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12

Figura 103 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12

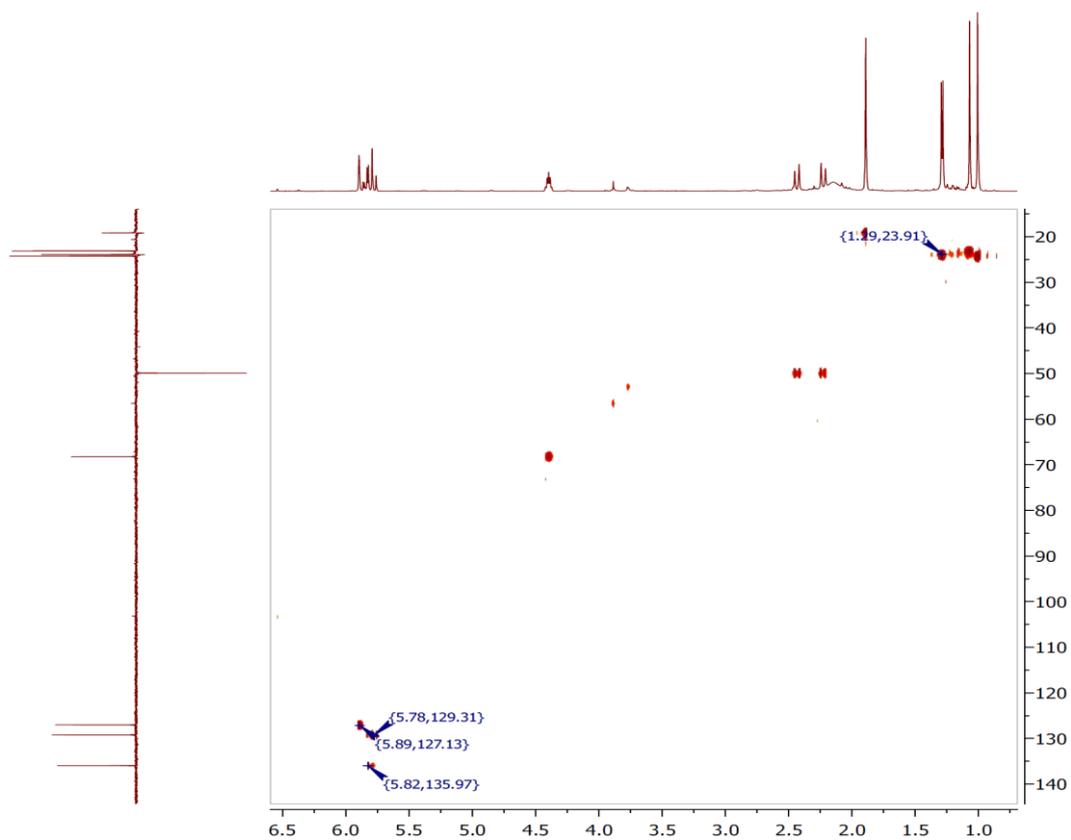
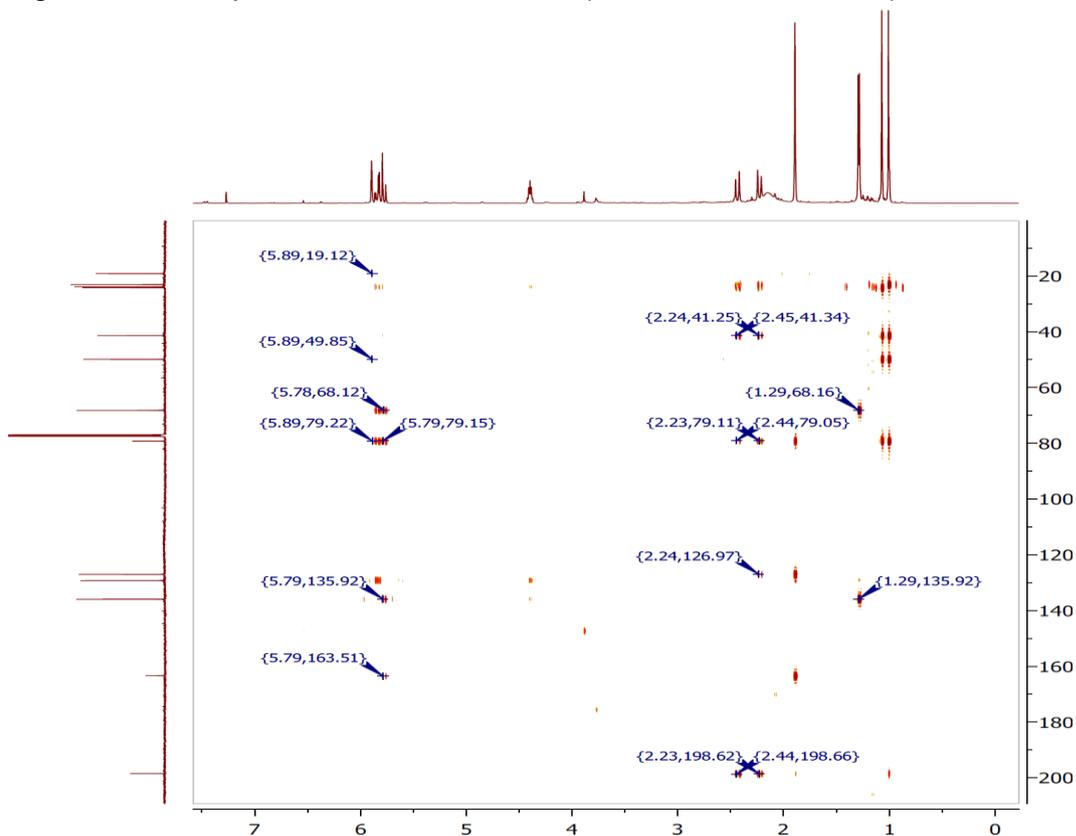


Figura 104 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-12



#### 4.13 Determinação estrutural de CP-13

O fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*, utilizando cromatografia em coluna aberta, e posteriormente CLAE semipreparativa de fase reversa, levou ao isolamento de um sólido resinoso amarelo ( $t_R = 7,18$  min,  $H_2O/CH_3OH$  8,5:1,5; 4,72 mL/10 min), denominado **CP-13** (8,8 mg).

A fórmula molecular foi deduzida através do espectro de massa de alta resolução obtido com ionização por *electrospray* (EMAR-IES) (Figura 106) que mostrou um pico correspondente ao íon  $[M-H]^-$  com  $m/z$  385,1868, compatível com a fórmula molecular  $C_{19}H_{30}O_8$  (massa calculada = 385,1868, erro = 0,0 ppm), que apresenta IDH = 05.

O espectro de RMN de  $^1H$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) (Figura 107) apresentou sinais em 4,34 (d,  $J = 7,8$  Hz), 3,85 (dd,  $J = 11,7$  e 1,4 Hz) e 3,63 (dd,  $J = 11,7$  e 5,2 Hz), além de multipletos em 3,17 - 3,34, correspondentes a uma unidade de glicose, além de sinais semelhantes ao do composto blumenol A (CP-12, p. 104) (Tabela 14).

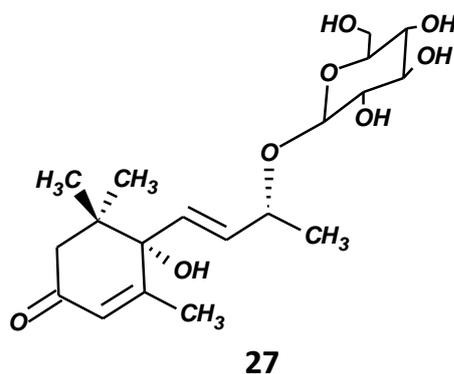
Corroborando com os dados de RMN  $^1H$ , no espectro de RMN de  $^{13}C$ -BB (125 MHz,  $CD_3OD$ ) (Figura 108), foram observadas 13 linhas espectrais compatíveis com a substância blumenol A, além de seis sinais referentes à unidade glicosídica em 102,9; 78,3; 78,2; 75,4; 71,8 e 63,0.

A estrutura do sesquiterpeno, bem como a inequívoca localização da unidade de glicose podem ser confirmadas pela observação no espectro de  $^1H,^{13}C$ -HMBC (Figura 110) das seguintes correlações: 2H-6 (2,15 e 2,52) com os carbonos C-1 (201,4), C-2 (127,3), C-4 (80,15) e C-5 (42,4); H-8 (5,86) com os carbonos C-4 (80,15), C-7 (131,7) e C-9 (77,4); 3H-10 (1,29) com C-8 (135,4) e C-9 (77,4); e H-1' (4,34) com o carbono C-9 (77,4).

Estes dados conduziram à estrutura de um derivado glicosilado do blumenol A, conhecido como roseosídeo, o qual foi previamente isolado de *Tapirira*

*guianensis* (Anacardiaceae) (CORREIA *et al.*, 2006) e *Macaranga tanarius* (Euphorbiaceae) (MATSUNAMI *et al.*, 2009). A estereoquímica relativa do composto foi confirmada como 6*S*, 9*R* pela comparação dos dados de  $^{13}\text{C}$  (80,1 e 77,4, respectivamente) com referência bibliográfica (CORREIA *et al.*, 2006), que estabelece esta relação entre o deslocamentos dos carbonos 6 e 9 com a configuração absoluta para estes centros estereogênicos (Figura 105).

Figura 105 – Estrutura de CP-13

Tabela 14 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ -BB (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13 e Blumenol A.

	Blumenol A (CP-12)		CP-13 (Roseosídeo)	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	198,5	-	201,4	-
2	127,0	5,89 (sl)	127,3	5,87 (m)
3	163,4	-	167,4	-
4	79,2	-	80,2	-
5	42,4	-	42,6	-
6	49,9	2,48 (d, 17,4) 2,23 (d, 17,4)	50,9	2,52 (d, 16,9) 2,15 (d, 16,9)
7	129,2	5,78 (d, 15,5)	131,7	5,86 (m)
8	136,0	5,84 (dd, 15,5, 5,5)	135,4	5,86 (m)
9	68,2	4,39 (qu, 6,5)	77,4	4,42 (qui, 5,4)
10	23,9	1,28 (d, 6,5)	21,3	1,29 (d, 6,3)
11	19,2	1,89 (s)	19,7	1,92 (s)
12	24,2	1,01 (s)	24,8	1,03 (s)
13	23,1	1,07 (s)	23,6	1,04 (s)
1'			102,9	4,34 (d, 7,8)
2'			75,4	3,17 (m)
3'			78,3	3,25 (m)
4'			71,8	3,24 (m)
5'			78,2	3,34 (m)
6'			63,0	3,85 (m) 3,63 (dd, 11,7 e 5,2)

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 106 – Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CP-13

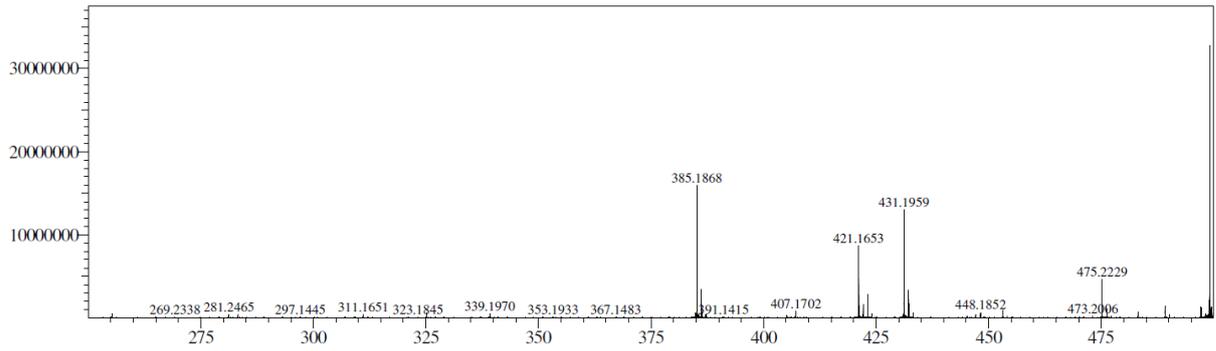


Figura 107 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CP-13

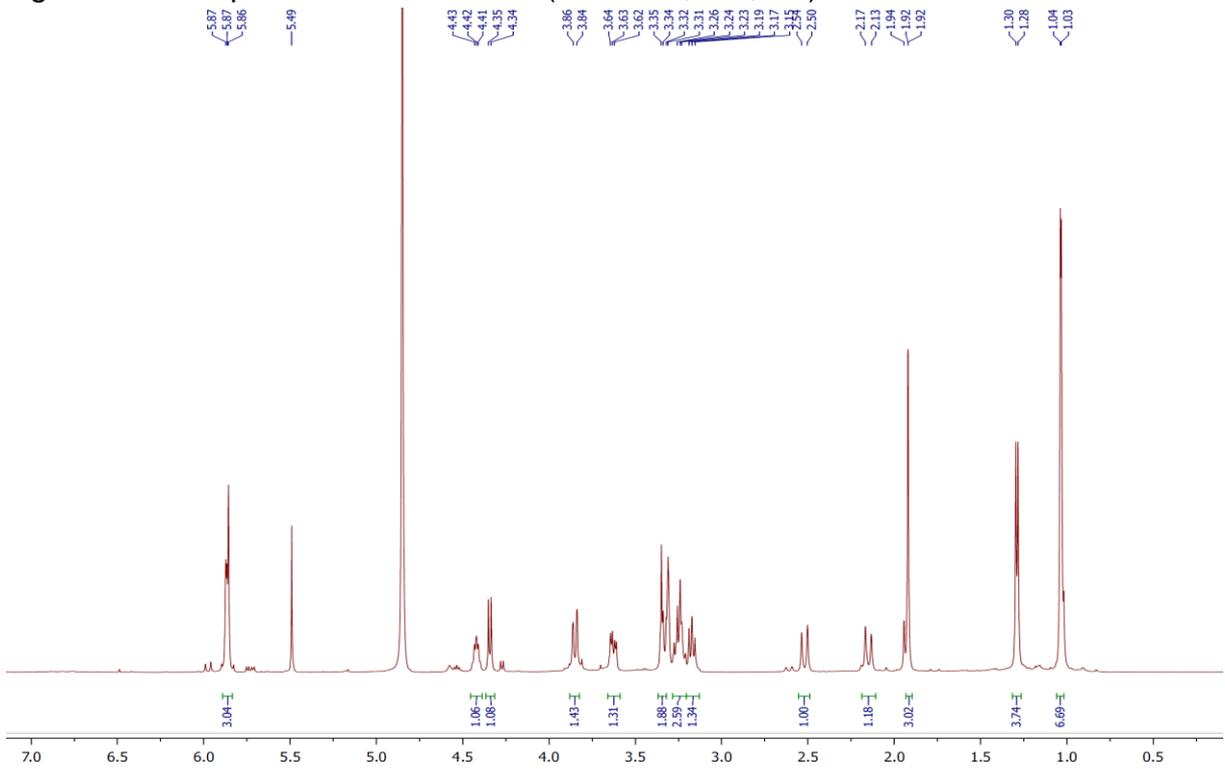


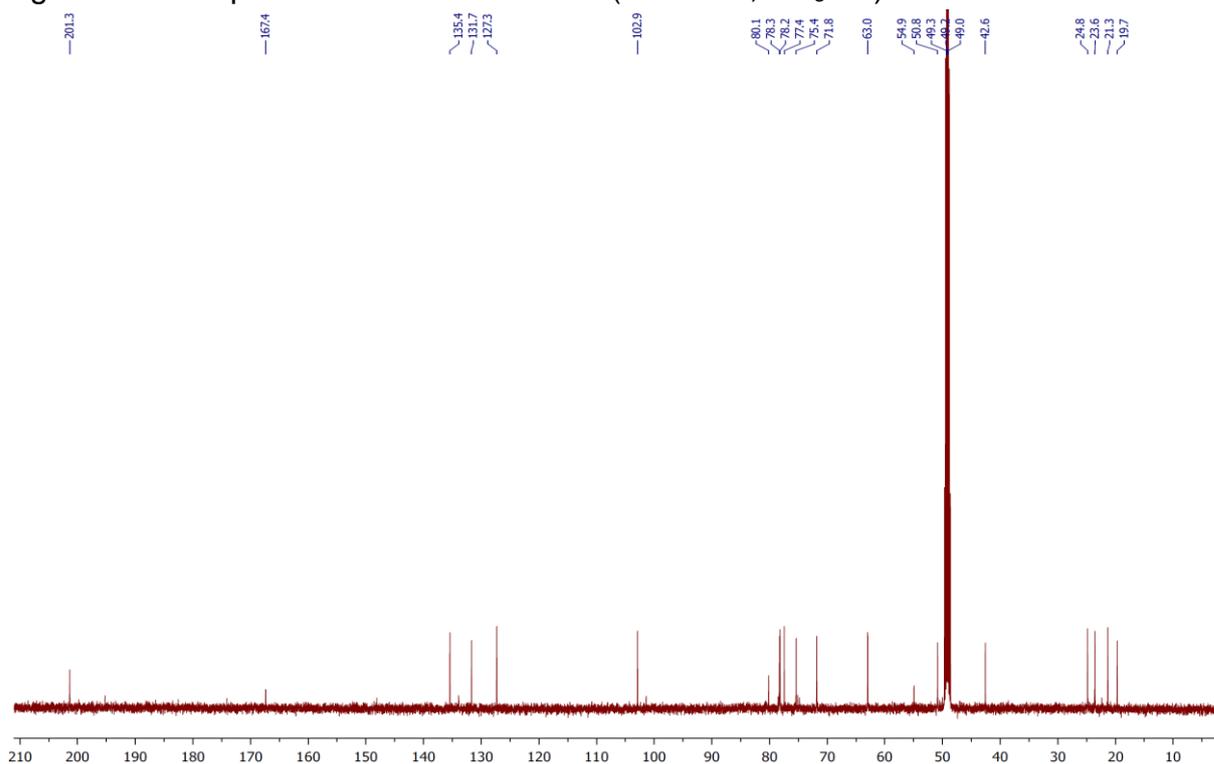
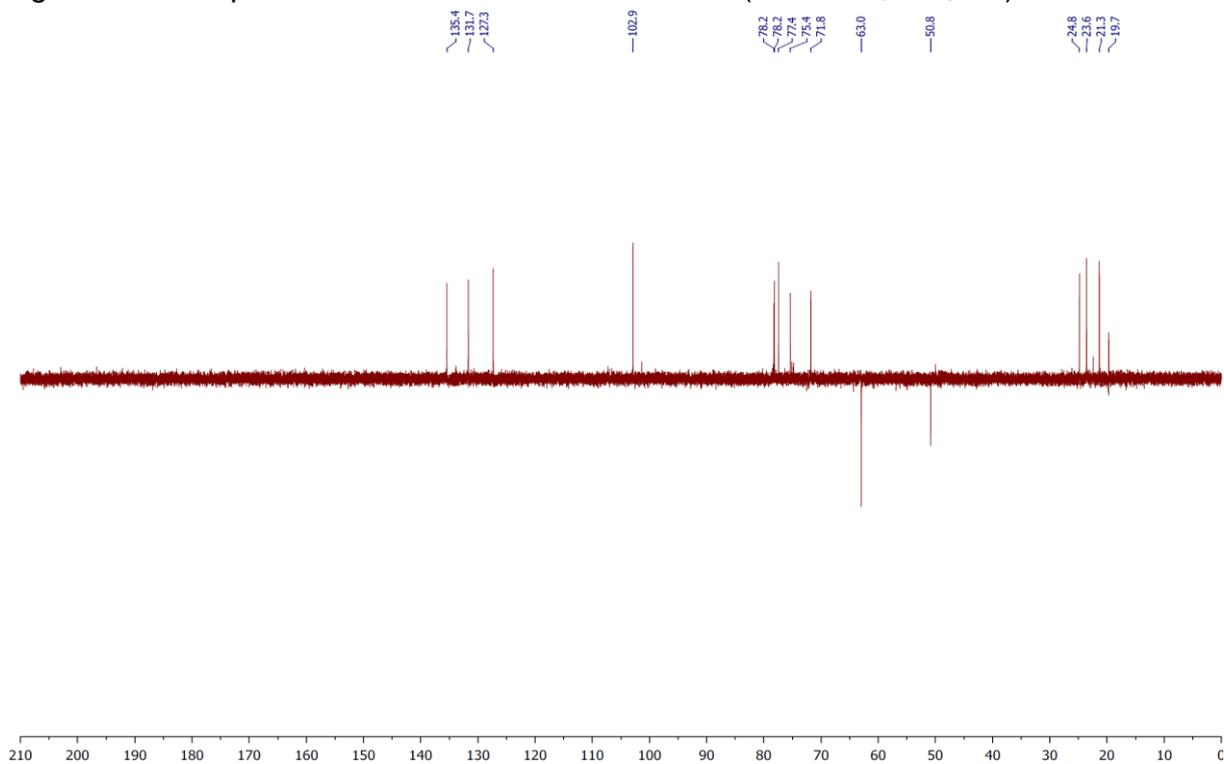
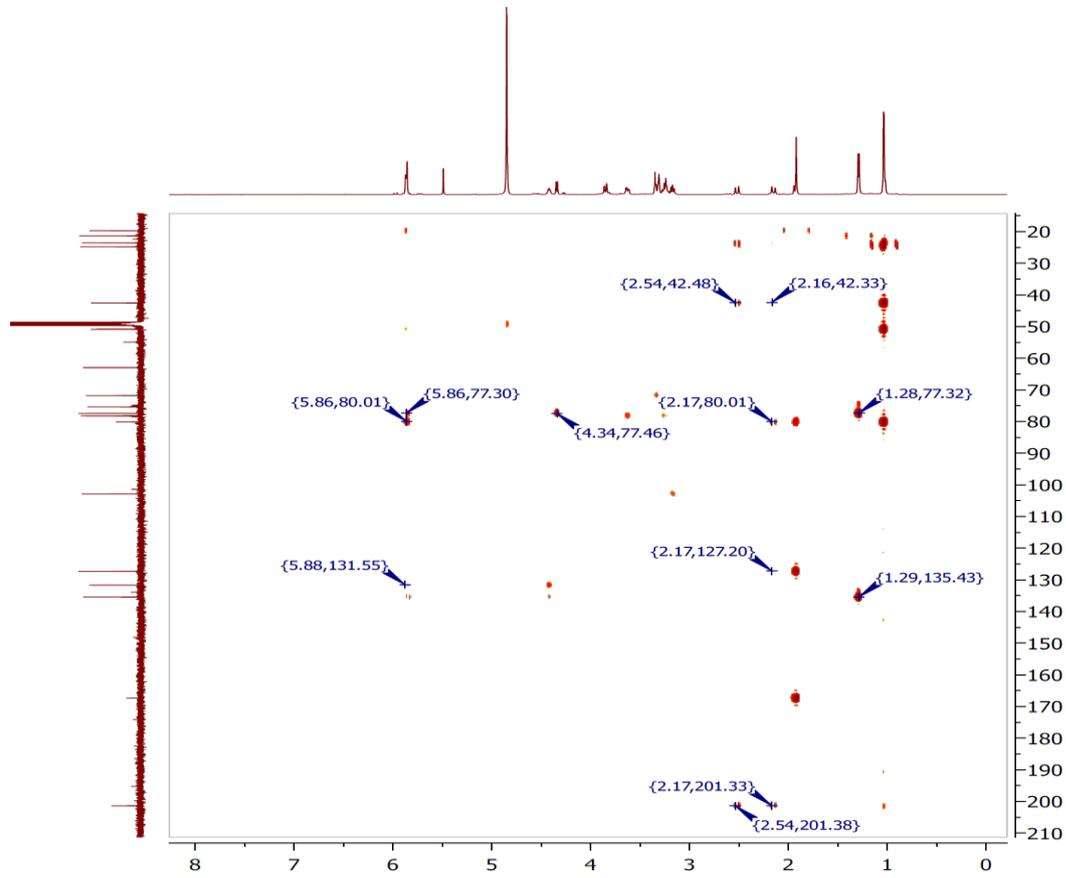
Figura 108 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13Figura 109 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13

Figura 110 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (500/125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CP-13

#### 4.14 Determinação estrutural de CP-14

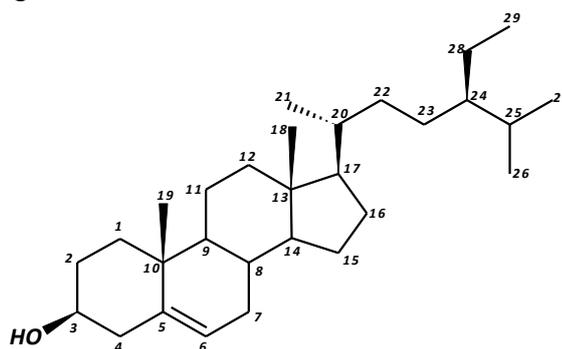
O fracionamento cromatográfico da fração hexânica proveniente do extrato etanólico das folhas de *C. pedicellatus*, levou ao isolamento de um sólido, cristalino denominado de **CP-14** (15,6 mg).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-15 (Figura 112), verificou-se a presença de um multipeto em  $\delta$  3,53 (*m*, H-3) característico de hidrogênio ligado a carbono  $\text{sp}^3$  oxigenado; além de sinal de hidrogênio olefínico em  $\delta$  5,35 (*d*,  $J = 5,0$  Hz, H-6). Os sinais observados na faixa  $\delta$  0,50-2,00 foram atribuídos a hidrogênios alifáticos, característicos de esqueletos de terpenos ou esteróides (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (Figura 113) apresentou 27 linhas espectrais, das quais destacam-se: sinal em  $\delta$  72,0 referente a carbono oxigenado, além das absorções relacionadas a carbonos olefínicos em  $\delta$  121,9; e 141,0, em acordo com os dados já observados no espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

A análise espectral e comparação com dados obtidos da literatura (MACARI *et al.*, 1990), permitiram concluir que **CP-14** trata-se do esteróide estigmast-5-en-3-ol (sitosterol) (tabela 15), um composto bastante recorrente em espécies vegetais e previamente isolado de plantas do gênero *Croton* (Figura 111).

Figura 111 – Estrutura de CP-14



28

Tabela 15 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14 e sitosterol (20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

C	$\delta_c$ (CP-14)	$\delta_c$ (sitosterol)
1	37,5	37,2
2	31,9	31,6
3	72,0	71,7
4	42,5	42,3
5	141,0	140,7
6	121,9	121,6
7	32,1	31,8
8	31,9	31,8
9	50,4	50,1
10	36,4	36,4
11	21,3	21,1
12	40,0	39,7
13	42,5	42,3
14	57,0	56,7
15	24,5	24,2
16	28,5	28,1
17	56,3	56,1
18	12,2	11,9
19	20,0	19,3
20	36,4	36,0
21	19,2	18,7
22	34,2	33,9
23	26,3	26,1
24	46,1	45,8
25	29,4	29,1
26	19,6	19,6
27	18,9	18,9
28	23,3	23,0
29	12,1	11,9

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 112 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14

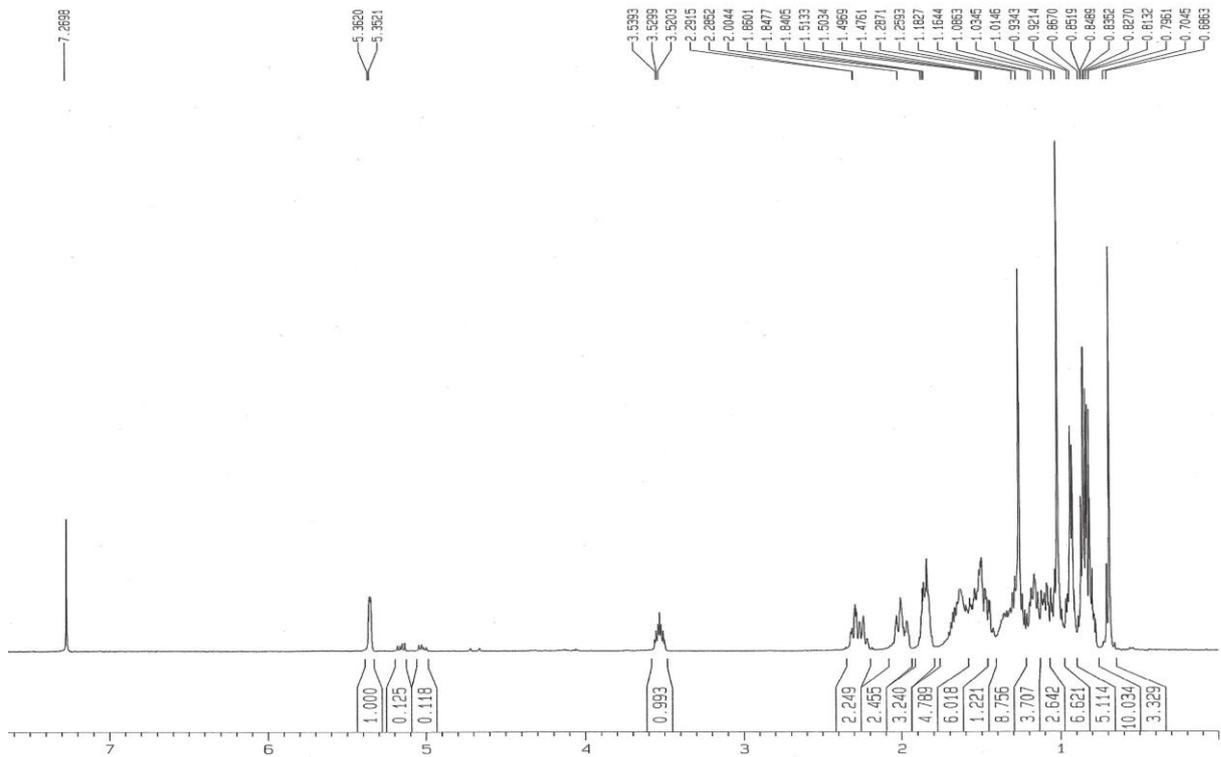


Figura 113 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14

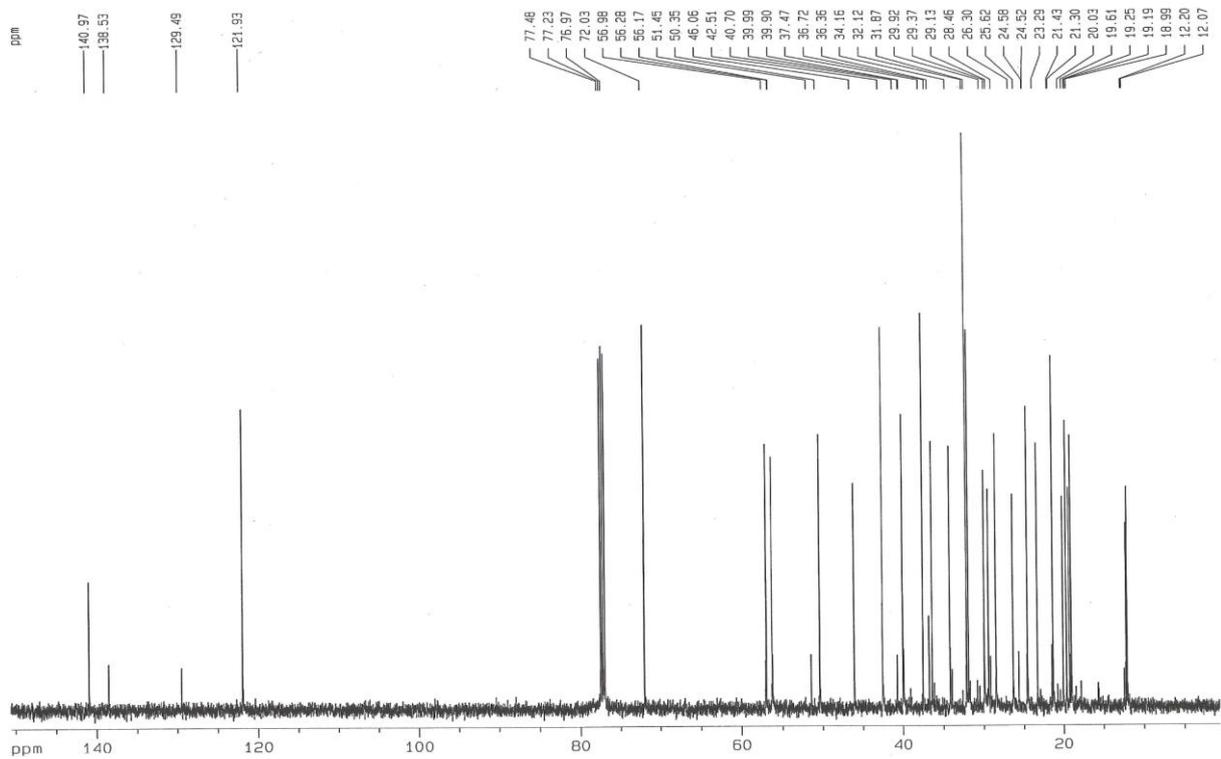
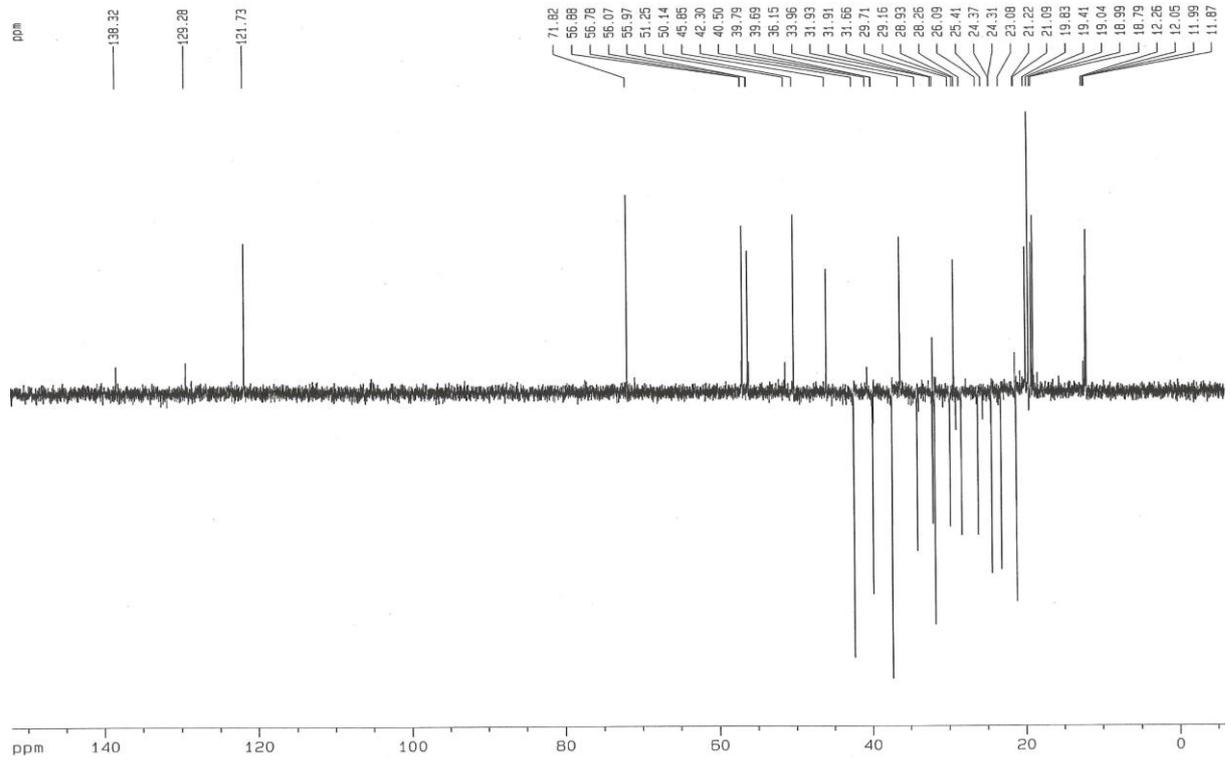


Figura 114 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-14

#### 4.15 Determinação estrutural de CP-15

O fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila proveniente do extrato etanólico de *C. pedicellatus* levou ao isolamento de um sólido amorfo branco denominado de **CP-15** (8,6 mg).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz, piridina- $d_5$ ) (figura 116), apresentou sinal em  $\delta$  5,38 (m, H-6) de hidrogênio olefínico, além de sinais de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados na região de  $\delta$  5,09-3,94, característicos de unidade glicosídica. Foram observados ainda sinais no intervalo  $\delta$  0,6-2,8 típicos de esteróides.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, piridina- $d_5$ ) (figura 117), apresentou sinais em  $\delta$  141,4 (C-5) e 122,4 (C-6) referentes a carbonos olefínicos, denotando semelhança com CP-14. Adicionalmente, foram observados sinais que confirmam a presença da unidade glicosídica:  $\delta$  103,1 característico de carbono anomérico, e 5 carbonos oxigenados em  $\delta$  63,3; 72,2; 75,8; 78,6 e 79,1.

A análise dos dados de RMN e comparação com CP-14 e ainda com dados da literatura (VOUTQUENNE *et al.*, 1999) permitiram concluir que o composto CP-15 é um esteroide glicosilado (Tabela 16), conhecido como estigmast-5-en-3-O-glicopiranosídeo ( $\beta$ -sitosterol glicosilado) (figura 115).

Figura 115 – Estrutura de CP-15

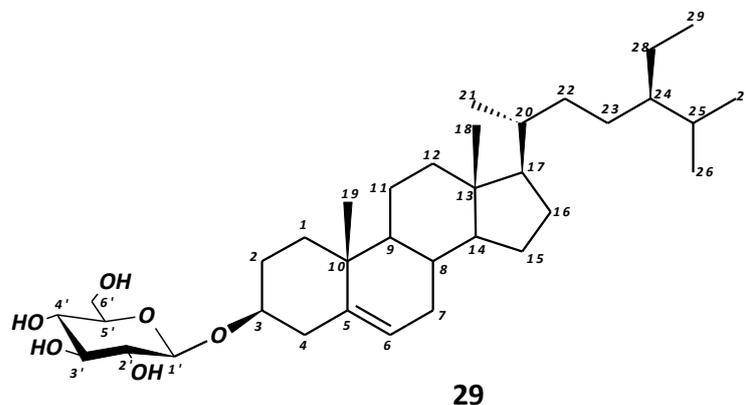


Tabela 16 - Deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CP-15, CP14 e  $\beta$ -sitosterol glicosilado (75 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

<b>C</b>	<b>CP-15</b>	<b>CP-14</b>	<b><math>\beta</math>-sitosterol glicosilado</b>
1	38,0	37,5	37,0
2	30,8	31,9	31,6
3	79,0	72,0	79,0
4	40,5	42,5	39,5
5	141,4	141,0	141,4
6	122,4	121,9	122,2
7	32,6	32,1	31,6
8	32,7	31,9	31,7
9	50,9	50,4	50,0
10	37,4	36,4	36,5
11	21,8	21,3	20,8
12	39,8	40,0	38,5
13	42,9	42,5	42,1
14	57,3	57,0	56,5
15	25,0	24,5	24,5
16	29,0	28,5	28,7
17	56,8	56,3	55,8
18	12,7	12,2	12,0
19	19,9	20,0	19,0
20	36,9	36,4	36,0
21	19,5	19,2	18,5
22	34,7	34,2	34,0
23	26,7	26,3	28,0
24	46,5	46,1	45,7
25	30,0	29,4	28,9
26	20,5	19,6	19,5
27	19,7	18,9	18,7
28	23,9	23,3	22,8
29	12,5	12,1	12,0
1'	103,1		100,9
2'	75,8		73,3
3'	79,1		76,2
4'	72,2		70,0
5'	78,6		75,4
6'	63,3		61,7

\* Multiplicidade e valor de constantes de acoplamentos são informados entre parênteses

Figura 116 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, piridina-d<sub>5</sub>) de CP-15

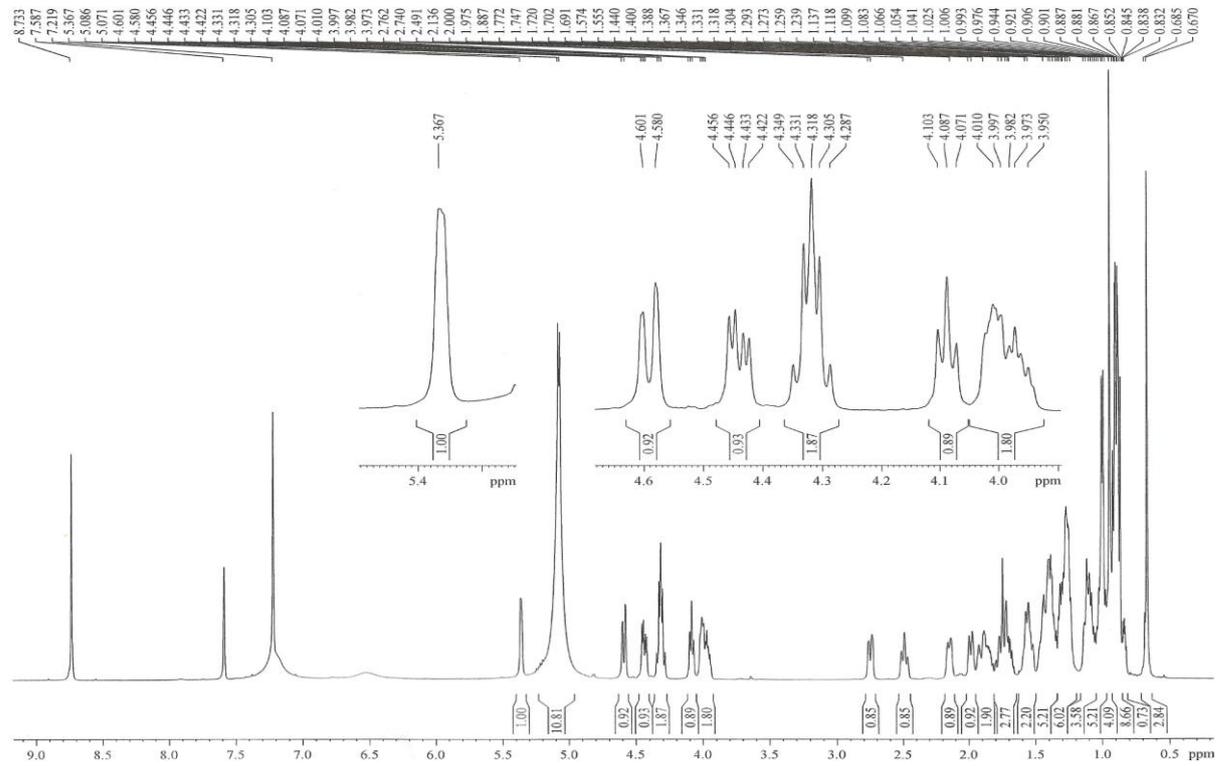
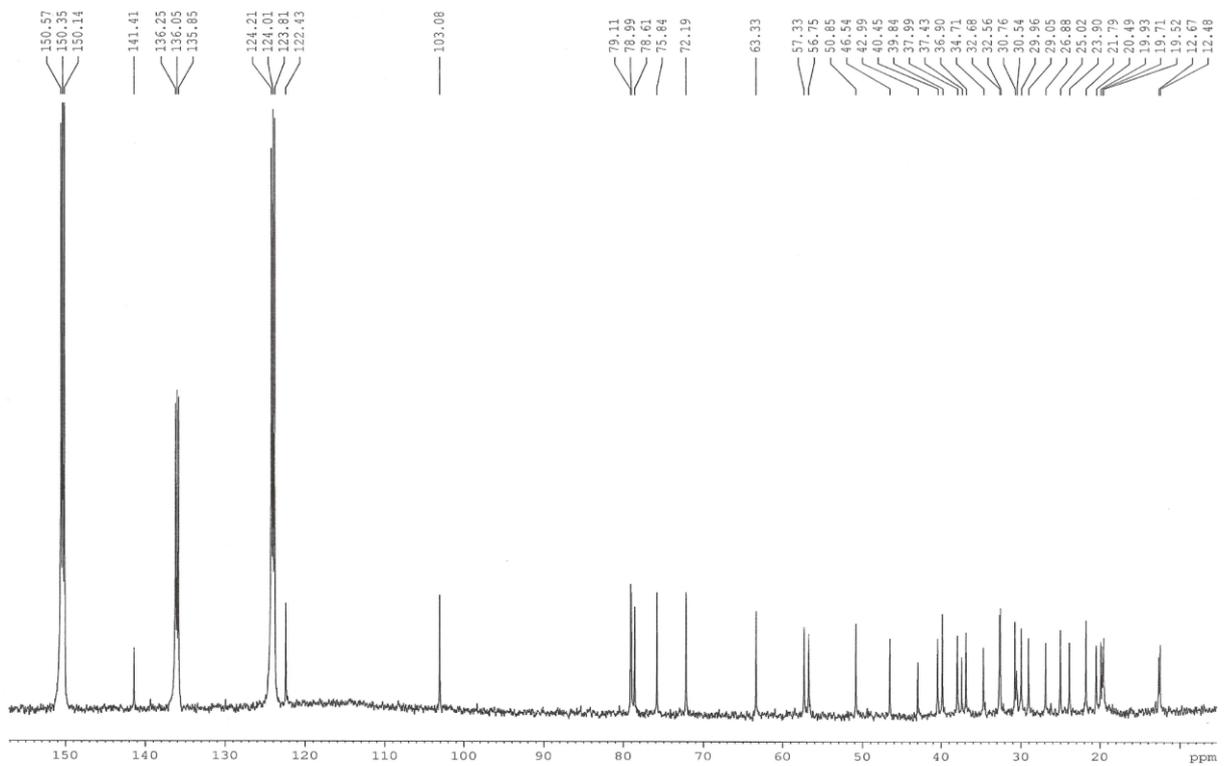


Figura 117 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, piridina-d<sub>5</sub>) de CP-15



## 5. EXPERIMENTAL

### 5.1. Métodos Cromatográficos:

#### 5.1.1. Cromatografia de Adsorção

As colunas cromatográficas por adsorção foram realizadas utilizando-se gel de sílica 60 ( $\varnothing$  63-200 $\mu$ m) para coluna normal e ( $\varnothing$  40-63  $\mu$ m) para cromatografia do tipo “flash” da Merck. O comprimento e o diâmetro das colunas utilizadas variam de acordo com as alíquotas das amostras a serem cromatografadas. As colunas utilizadas na cromatografia de adsorção sob pressão média (cromatografia flash) foram de vidro resistente à pressão e apresentando bulbo na parte superior, para armazenamento do solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact 4724059.

Na cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 F<sub>254</sub> ( $\varnothing$  02-25  $\mu$ m) em plástico da Merck, com indicador de fluorescência com absorção em 254 nm.

Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, acetona, *n*-butanol, etanol e metanol, puros ou combinados em proporções crescentes de polaridade. Para os procedimentos de cromatografia de adsorção sob pressão média os eluentes foram escolhidos após análise da amostra por CCD, sendo considerado bom o eluente que proporciona um R<sub>f</sub> próximo de 0,3 para a mancha de interesse. Os eluentes escolhidos foram utilizados no acondicionamento da sílica na coluna e como eluente de partida no procedimento cromatográfico.

Na revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas utilizaram-se lâmpadas ultravioletas com comprimento de onda de 254 e 365 nm em equipamento Vilber-Lourmat VL-8.LC e solução de vanilina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) e ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) em etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), seguido de aquecimento por exposição ao ar quente de soprador serigráfico Steinel HL 500.

### 5.1.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As frações de *C. pedicellatus* foram cromatografadas em equipamento CLAE SHIMADZU equipado com duas bombas de duplo pistão (LC-20AT), um detector Ultravioleta (DAD) e um forno para acomodação das colunas (CTO-20A), além de sistema de degaseificação de solventes (DGU-20A<sub>5</sub>) em linha. Foram utilizados *loops* e seringas de injeção de 20µL e 200µL para sistema analítico e semi-preparativo, respectivamente. As separações foram realizadas em colunas Phenomenex<sup>®</sup> RP 18 analítica (4,6 x 250 mm, 5µm) e semi-preparativa (10 x 250 mm, 5µm).

As eluições foram realizadas empregando solventes com grau de pureza recomendado para CLAE, e submetidos à filtração sob vácuo.

As amostras analisadas foram solubilizadas na fase móvel empregada em cada análise e filtradas sob membrana de PTFE (Politetrafluoretileno) com poros de 0,45 µm.

## 5.2. Métodos Espectroscópicos e Espectrométricos

### 5.2.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e de Carbono-13 (RMN <sup>13</sup>C)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (RMN de <sup>13</sup>C), Uni e Bidimensionais (COSY, HSQC, HMBC E NOESY), foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo Avance DRX-500 equipado com sonda de 5mm, instalados no Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), da Universidade Federal do Ceará. O equipamento citado opera na frequência de 500 MHz para núcleos de hidrogênio e 125 MHz para núcleos de carbono-13 e os espectros foram obtidos a temperatura de 300K.

Para realização das análises por RMN foram utilizados os seguintes solventes deuterados: clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), acetona [ $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ], metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e piridina ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ).

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos sinais dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas, dos solventes utilizados na análise. Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos dos carbonos do solvente utilizado na análise.

As multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), q (quarteto), qt (quinteto), m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos na RMN  $^{13}\text{C}$ , descrito segundo a convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico).

### 5.2.2. Espectroscopia na região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em equipamento Perkin-Elmer, modelo *FT-IR Spectrum 1000* utilizando pastilhas de KBr para análise das amostras. Para a análise dos resultados, os dados obtidos na forma de tabela (.txt) foram processados para construção de gráfico de linha utilizando software com licença gratuita *Origin 5.0*.

### 5.2.3. Espectrometria de massas de alta resolução

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em equipamento SHIMADZU LC/MS-IT-TOF. Trata-se de um equipamento de cromatografia líquida

acoplado a espectrômetro de massas tendo como analisador de massas: *íon trap* (IT) e tempo de voo (TOF).

As amostras foram analisadas por injeção direta de 5µL utilizando como fase móvel a mistura metanol:água 9:1 e foram ionizadas utilizando uma fonte *electrospray* (IES).

### 5.3. Estudo Fitoquímico de *Croton pedicellatus* Kunth.

#### 5.3.1. Material Botânico

As folhas de *Croton pedicellatus* Kunth. foram coletadas pelo Prof. Dr. Manoel Andrade Neto em agosto de 2008 na cidade de Natal, no Rio Grande do norte. Coordenadas geográficas: 06° 05' 19,7" S e 35° 07' 33,0" W.

A identificação botânica foi realizada pelos professores Manoel Andrade Neto (DQOI) e Edson de Paula Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A exsicata foi depositada no Herbário Prisco Bezerra, também no Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará sob o número 44459.

#### 5.3.2. Extrato etanólico de *C. pedicellatus*

As folhas foram expostas ao sol para secagem e em seguida trituradas para serem submetidas à extração exaustiva com etanol bruto. Foram realizadas três extrações utilizando 10 L de solvente com 1 Kg de folhas. Após destilação do solvente sob pressão reduzida em equipamento de evaporação rotativa, obteve-se um extrato de coloração marrom viscoso, denominado CPFE (80,2 g).

### 5.3.3. Fracionamento de CPFE em coluna filtrante (dessorção seletiva)

Uma alíquota de 6 g do extrato foi fracionada sobre 56,5 g de gel de sílica 60 (63-200  $\mu\text{m}$ ) utilizando como fase móvel os eluentes: hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias na proporção de 1:1, seguindo ordem crescente de polaridade. A fração hexânica (CPFE-H, 350 mg) foi submetida a cromatografia em coluna aberta ( $\varnothing = 2,0$  cm) utilizando 30,5g de gel de sílica 60 como fase estacionária. Foram coletadas 98 frações de 10 mL que após analisadas por CCD foram reunidas em grupos baseadas na semelhança apresentada sob luz ultravioleta e revelação com solução de vanilina. A fração CPFE-H (70-84) (15,6 mg) apresentou-se como uma única mancha em CCD, foi analisada por RMN e caracterizada como a o esteroide  $\beta$ -sitosterol (**CP-14**).

A fração CPFE-Ac apresentou um precipitado amarelo que depois de separado por filtração (410 mg) foi submetido a cromatografia *flash* (40-63  $\mu\text{m}$ ), empregando como eluente AcOEt/MeOH (97:3), sendo coletadas 120 frações. Baseando-se em análise por CCD, as frações foram reunidas em seis grupos: 1-23; 24-33; 34-68; 69-83 e 84 a 120. Após obtenção e análise dos espectros de RMN, a fração CPFE-Ac (24-33) (6,4 mg) foi caracterizada como um flavonoide conhecido como canferol (**CP-10**), enquanto CPFE-Ac(69-83) (8,6 mg) foi identificada como esteroide  $\beta$ -sitosterol glicosilado (**CP-15**).

### 5.3.4. Fracionamento de CPFE com partição líquido-líquido

Uma alíquota de CPFE (40 g) foi dissolvida com uma mistura de metanol/água 1:1 (200 mL) para posteriormente ser submetido a partição líquido-líquido em balão de 2L com os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol (Tabela 17). Este procedimento resultou na obtenção de cinco frações com rendimento total de 84%. (Fluxograma 01)

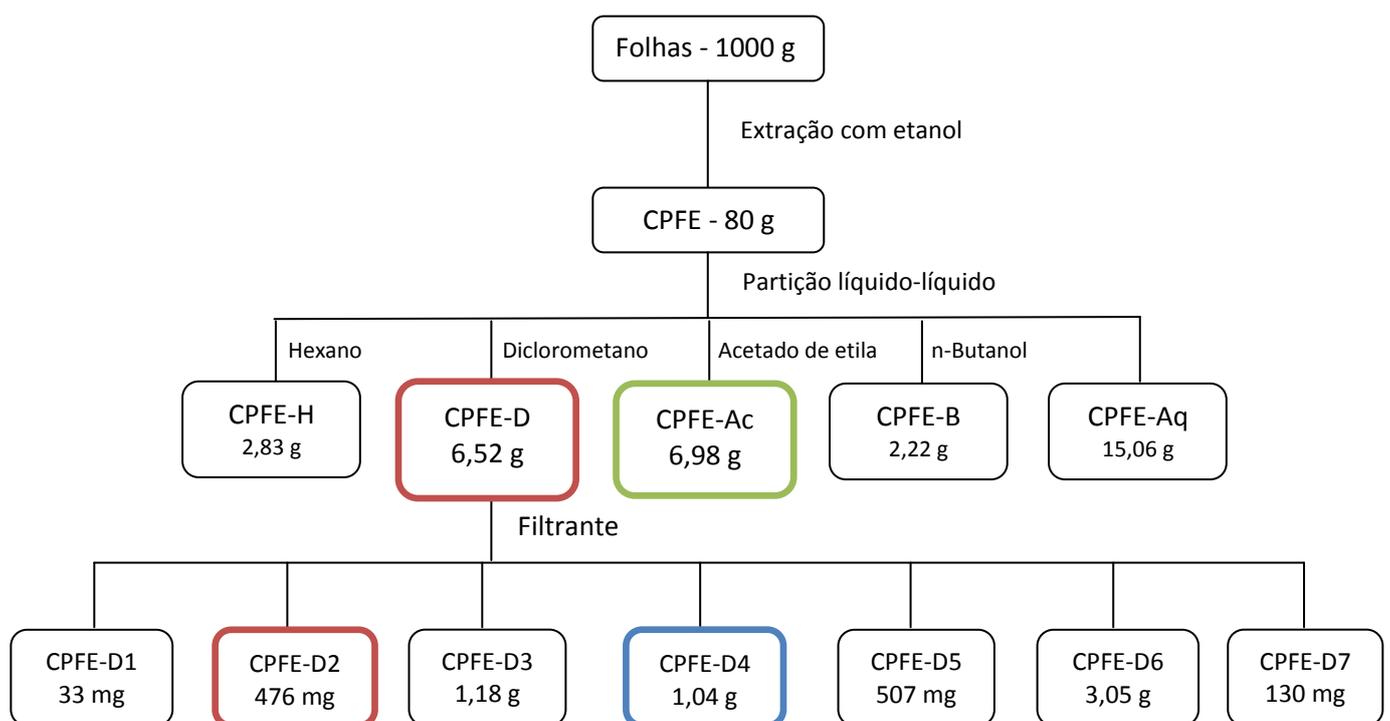
Tabela 17 - Fracionamento de CPFE

	SOLVENTE	VOLUME	FRAÇÃO	MASSA (g)
1	Hexano	50 mL (4x)	CPFE-H	2,83
2	Diclorometano	50 mL (4x)	CPFE-D	6,52
3	Acetato de etila	50 mL (4x)	CPFE-Ac	6,98
4	Butanol	30 mL (2x)	CPFE-B	2,22
5			CPFE-Aq	15,06

### 5.3.5. Fracionamento de CPFE-D

A fração obtida com diclorometano (6,52g) da partição líquido-líquido de CPFE foi submetida a fracionamento preliminar utilizando gel de sílica como fase estacionária e os solventes hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, obedecendo a uma ordem crescente de polaridade, como fase móvel. Para tanto, a fração foi pulverizada em 5,1 g de sílica, e posteriormente depositada sobre 50,0 g de sílica em coluna de vidro que apresentava 6,0 cm de diâmetro. O fracionamento resultou em sete frações denominadas CPFE-D1-7 e rendimento de 98%. (Fluxograma 01).

Fluxograma 01- Obtenção do extrato de *C. pedicellatus* e filtrante de CPFE-D.



### 5.3.6. Fracionamento de CPF-E-D2

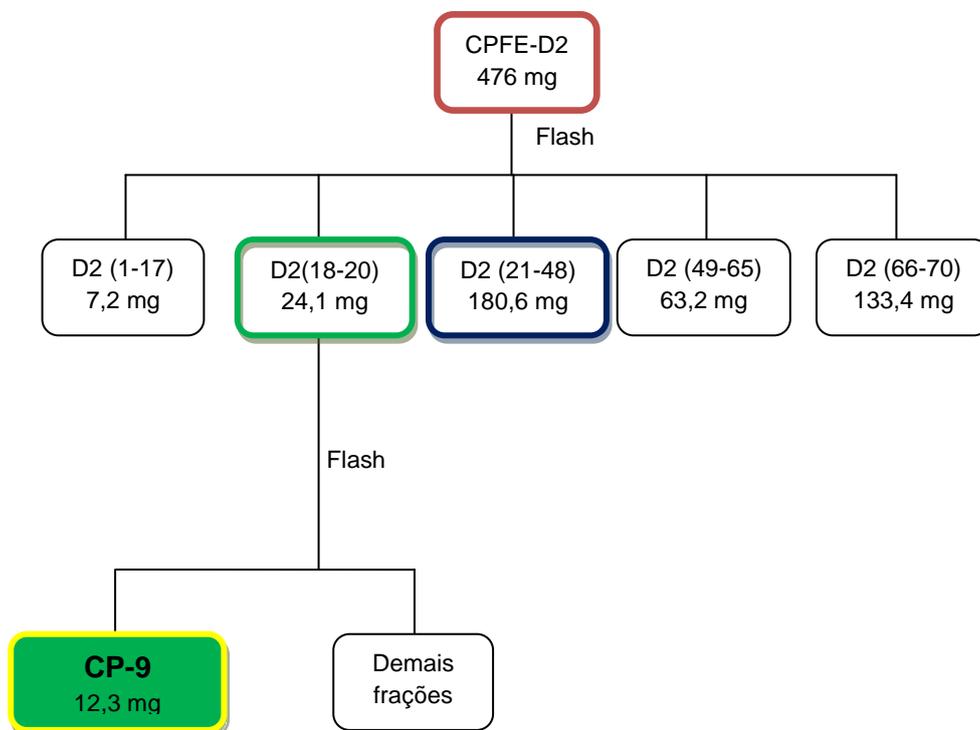
Em uma coluna de vidro que apresentava 2,5 cm de diâmetro preenchida com 65 g de sílica do tipo *flash* ( $\varnothing$  40-63  $\mu\text{m}$ ) foi acondicionada a fração CPF-E-D2 (476 mg), previamente pulverizada em 0,5 g da mesma sílica. A amostra foi eluída com uma mistura de hexano/acetato 7:3, resultando na coleta de 70 frações de 10 mL. Através de análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) as frações semelhantes foram reunidas. (Tabela 18)

Tabela 18 - Fracionamento de CPF-E-D2.

	FRAÇÃO	MASSA (mg)
1	CPF-E-D2 (1-17)	7,2
2	CPF-E-D2 (18-20)	24,1
3	CPF-E-D2 (21-48)	180,6
4	CPF-E-D2 (49-65)	63,2
5	CPF-E-D2 (66-70)	133,4

A fração CPF-E D2 (18-20) (24,0 mg) foi recromatografada sobre 21,2 g de sílica flash em coluna de 1,5 cm de diâmetro. Foi utilizada como fase móvel uma mistura isocrática de hexano/acetato de etila (8,5:0,15). Foram coletadas 49 frações com o volume de 5 mL que após análise por CCD foram reunidas em três grupos: 1-13; **14-23** e 24-49. O grupo 14-23 foi ainda lavado com hexano para resultar em um sólido cristalino branco que revelou uma mancha verde-amarela com vanilina em CCD. Foi a partir de então denominado **CP-9** (12,3 mg) e a análise de seus dados de RMN e IV permitiram caracterizá-la como o isoflavonóide alpinumisoflavona. (Fluxograma 02)

## Fluxograma 02 - Isolamento de CP-9



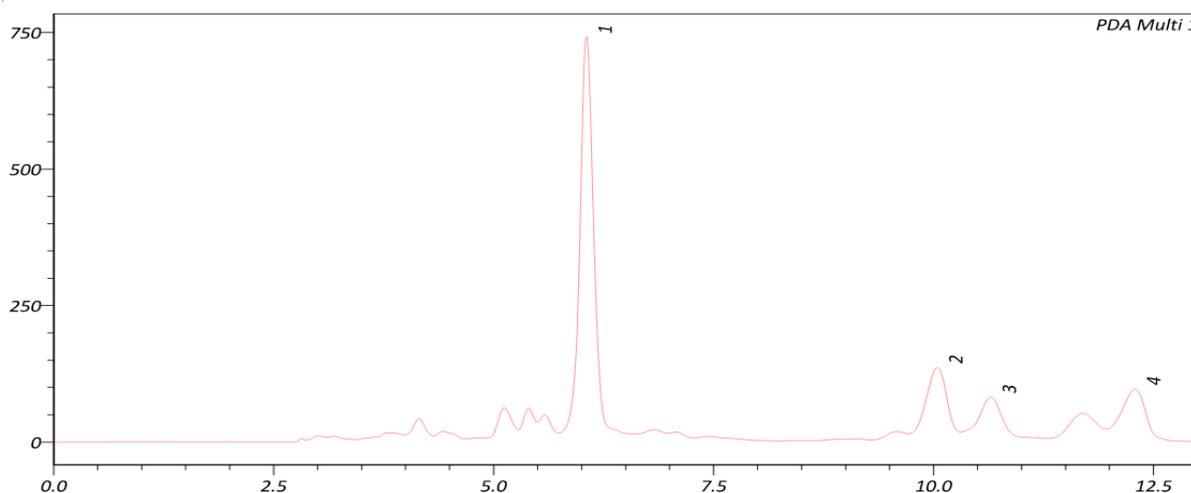
## 5.3.7. Fracionamento de CPFE-D4

A fração CPFE-D4 (1,04g) foi submetida à cromatografia flash em coluna de 2,9 cm de diâmetro. A amostra foi pulverizada com 1,3 g de sílica flash e depositada sobre 70 g da fase estacionária citada. A coluna foi eluída com os solventes hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem de polaridade crescente. Foram coletadas 92 frações de 10 mL cada, que, seguindo a análise por CCD reuniu-se em quatro grupos: 1-26; 27-48; 49-86 e 87-92.

### 5.3.7.1. Fracionamento de CPFE-D4 (27-48)

A fração 27-48 (315 mg) foi submetida a cromatografia utilizando CLAE semi preparativa isocrática de fase reversa, utilizando a mistura água/metanol 48% como fase móvel e empregando um fluxo de 4,72 mL/min. O cromatograma mostrou quatro picos bem definidos com um tempo total de corrida de 13,0 min e canal de observação de 215-400nm (Figura 118), os quais foram coletados.

Figura 118 - Cromatograma de CPFE-D4 (27-48).

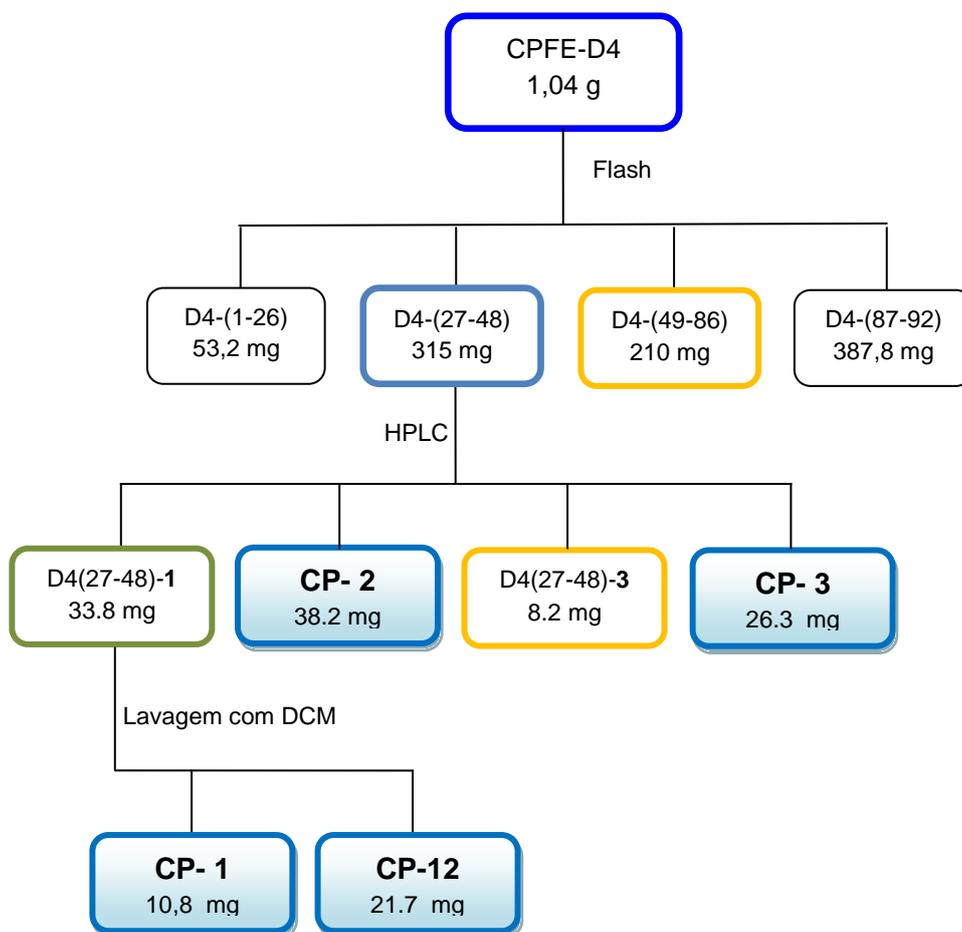


O pico 1 (33,8 mg,  $t_R = 6,05$  min) foi submetido a lavagem com diclorometano, resultando em um precipitado cristalino na forma de agulhas, incolor denominado 12,20:15,16-Diepoxi-3-hidroxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18,2-olídeo, **CP-1** (10,8 mg), um diterpeno de esqueleto clerodano furânico e um sólido amorfo denominado **CP-12** (21,7 mg) caracterizado como o *nor*-sesquiterpeno blumenol A.

Os picos 2 ( $t_R = 10,04$  min) e 4 ( $t_R = 12,39$  min), sólidos com aspecto cristalino incolor e branco, respectivamente, passaram a ser denominados 12,20:15,16-Diepoxi-2,8-dihidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-

oato de metila, **CP-2** (38,2 mg) e 12,20:15,16-Diepoxi-2-hidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila, **CP-3** (26,3 mg) e tiveram suas estruturas completamente elucidadas através da análise dos seus dados espectroscópicos e espectrométricos. (Fluxograma 03)

Fluxograma 03 - Isolamento de CP-1, 2, 3 e 12

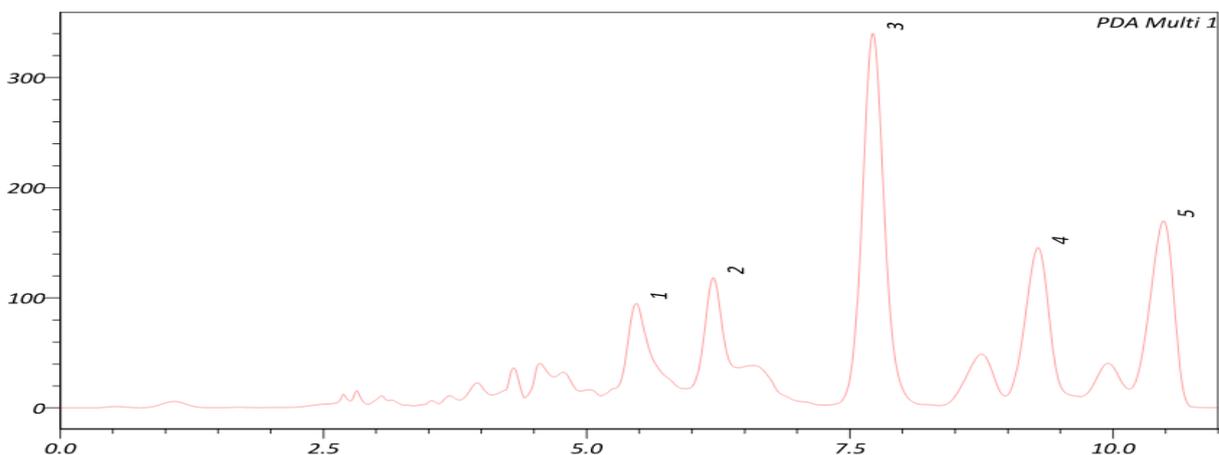


#### 5.3.7.2. Fracionamento de CPFE-D4 (49-86)

A fração 49-86 (210 mg) foi fracionada utilizando CLAE semi-preparativa com coluna de fase reversa e fluxo da fase móvel (água/metanol 1:1) de 4,72

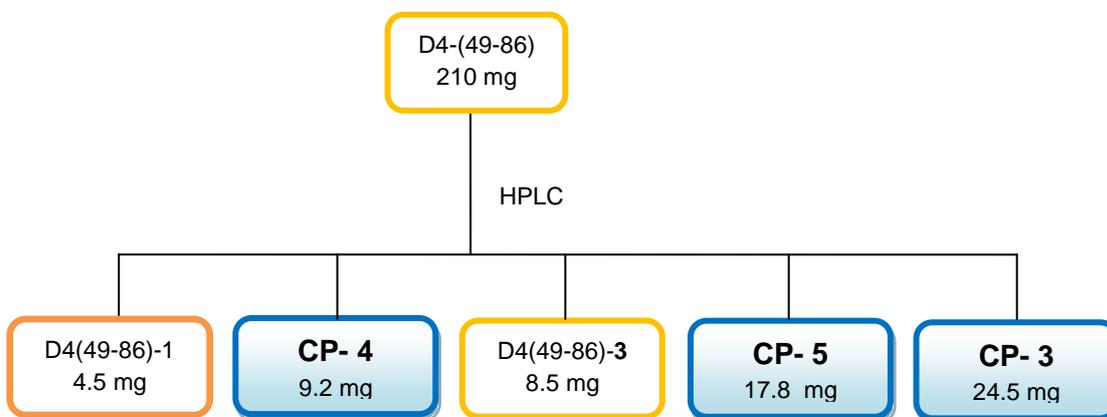
mL/min. Foram coletados cinco picos com tempo de retenção de 5,49 min (1), 6,22 min (2), 7,75 min (3), 9,33 min (4) e 10,53 min (5) e o tempo total da corrida foi de 12 minutos. (Figura 119)

Figura 119 - Cromatograma de CPFE-D4 (49-86).



Os picos 2 e 4 foram denominados de **CP-4** (9,8 mg) e **CP-5** (17,2 mg), respectivamente, foram caracterizados através de dados de RMN, EMAR-ESI e IV como diterpenos clerodanos furânicos, 12,20:15,16-diepoxi-3,8-dihidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila e 12,20:15,16-Diepoxi-3-hidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila.

Fluxograma 04 - Isolamento de CP-3, 4, 5.



### 5.3.8. Fracionamento de CPFE-Ac

A fração acetato de etila do extrato etanólico (CPFE-Ac, 6,98 g) foi submetida a tratamento cromatográfico utilizando sílica desativada. Para tanto, a sílica a ser utilizada foi imersa em etanol por 4 horas e em seguida foi realizada uma filtração à vácuo, para eliminar o etanol, seguida de sucessivas lavagens com acetato de etila.

A amostra foi pulverizada em 9,2 g de sílica e acondicionada em coluna de vidro com 5,8 cm de diâmetro e contendo 60 g da sílica desativada. A fase móvel usada para eluição da coluna foi composta de hexano, acetato de etila e metanol originando oito sub-frações como descrito na tabela 19.

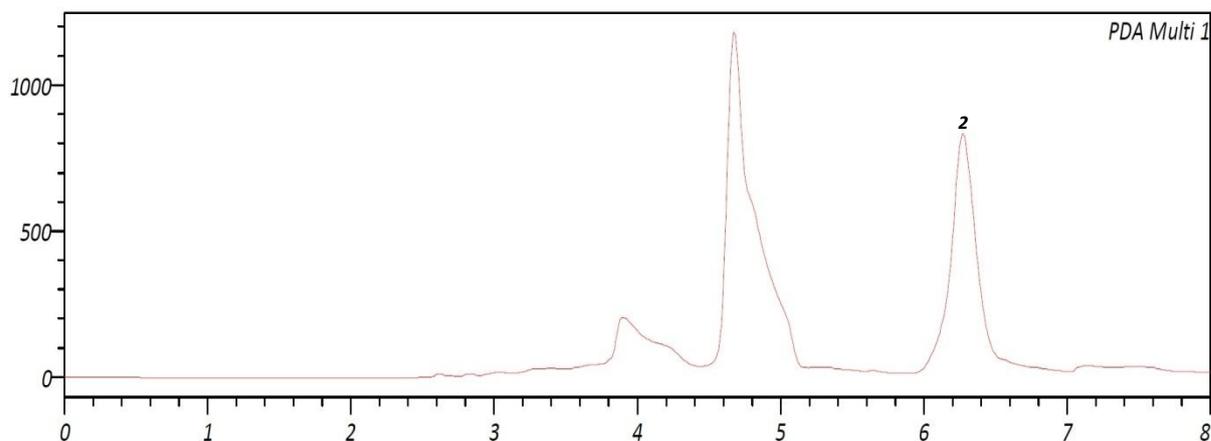
Tabela 19 - Fracionamento de CPFE-Ac

	ELUENTE	VOLUME (mL)	FRAÇÃO	MASSA (mg)
1	Hex/Ac 20%	300	CPFE-Ac1	6,2
2	Hex/Ac 50%	300	CPFE-Ac2	
3	Hex/Ac 80%	500	CPFE-Ac3	61,7
4	Ac 100%	500	CPFE-Ac4	880,3
5	Ac/MeOH 5%	500	CPFE-Ac5	1200,0
6	Ac/MeOH 15%	500	CPFE-Ac6	1500,0
7	Ac/MeOH 30%	500	CPFE-Ac7	1650,0
8	Ac/MeOH 50%	500	CPFE-Ac8	

#### 5.3.8.1. Fracionamento de CPFE-Ac3

A fração CPFE-Ac3 (60 mg) foi submetida a CLAE semi-preparativa de fase reversa utilizando água/metanol 47 % como fase móvel e fluxo de 4,72 mL/min. O método desenvolvido permitiu que fossem coletados dois picos com tempo total de corrida de 08 minutos. As frações coletadas foram denominadas de **CP-16** ( $t_R$  4,67 min; 7,2 mg) e **CP-12** ( $t_R$  6,27 min; 5,6 mg), respectivamente, e este último identificado como blumenol A. (Figura 120)

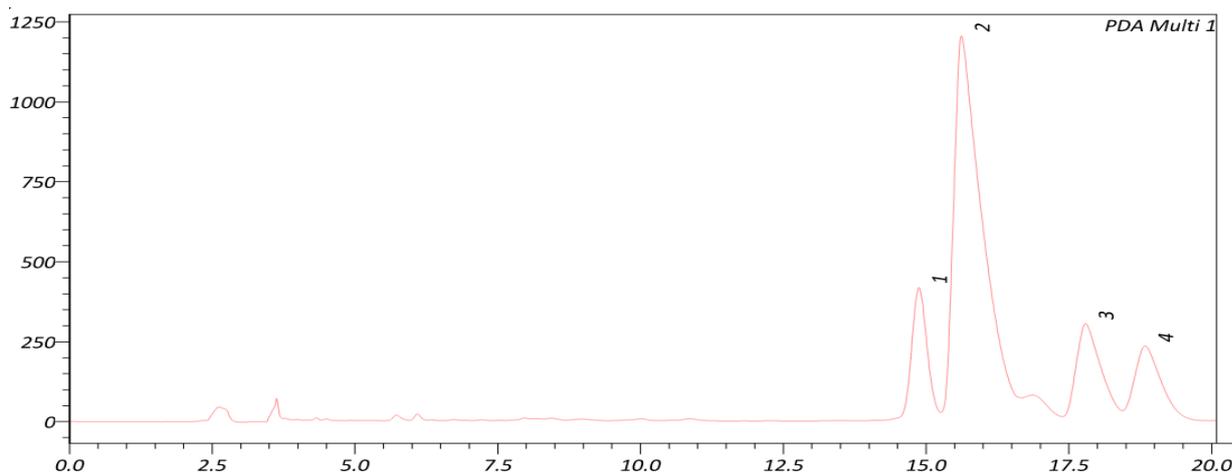
Figura 120 - Cromatograma de CPFE-Ac3



### 5.3.8.2. Fracionamento de CPFE-Ac4

Uma alíquota de CPFE-Ac4 (200 mg) foi submetida a CLAE semi-preparativa de fase reversa utilizando água/acetonitrila 27% como fase móvel e fluxo de 4,72 mL/min. O método desenvolvido permitiu que fossem coletados quatro picos com tempo total de corrida de 20 minutos. (Figura 121)

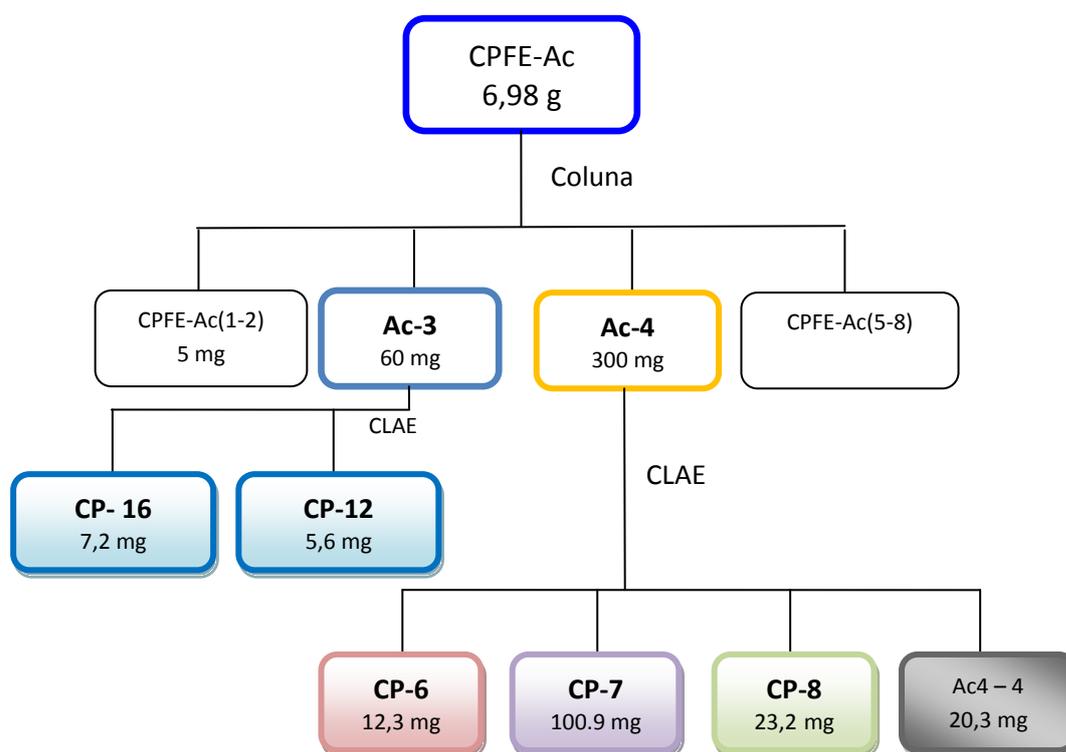
Figura 121 - Cromatograma de CPFE-Ac4.



Os picos 1 ( $t_R=14,87$  min), 2 ( $t_R=15,61$  min) e 3 ( $t_R=17,79$  min), passaram a ser denominados como **CP-7** (12,3 mg), **CP-6** (100,9 mg) e **CP-8** (23,2 mg)

(Fluxograma 05) e através dos dados de RMN, EMAR-IES e IV suas estruturas foram caracterizadas como heterosídeos flavonoídicos, 6''-*O-p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosil-canferol, 6''-*O-p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosilcanferol (tilirosídeo); e 6''-*O-p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosil-3'-metoxicanferol, respectivamente.

Fluxograma 05 - Isolamento de CP-6, 7, 8, 12 e 16.



### 5.3.8.3. Fracionamento de CPFE-Ac5

A fração CPFE-Ac5 (1,2 g) foi submetida a tratamento cromatográfico utilizando sílica desativada em etanol por 4 horas e lavagem com acetato de etila sob vácuo. A amostra foi pulverizada em 1,3 g de sílica e acondicionada em coluna de vidro com 3,9 cm de diâmetro e 8,0 cm de altura. A fase móvel usada para

eluição da coluna foi composta de hexano, acetato de etila e metanol originando oito sub-frações como descrito na tabela 20.

Tabela 20 - Fracionamento de CPFE-Ac5

FRAÇÃO	ELUENTE	VOLUME	MASSA (mg)
1	H / Ac 1:1	300 mL	15,8
2	H / Ac 80%	300 mL	28,6
3	Ac	500 mL	567,1
4	Ac/MeOH 5%	300 mL	357,2
5	Ac/MeOH 10%	300 mL	83,2
6	Ac/MeOH 20%	300 mL	40,1
7	Ac/MeOH (1:1)	200 mL	39,5
8	MeOH	200 mL	9,8

#### 5.3.8.3.1. Fracionamento de CPFE-Ac5 (3-4)

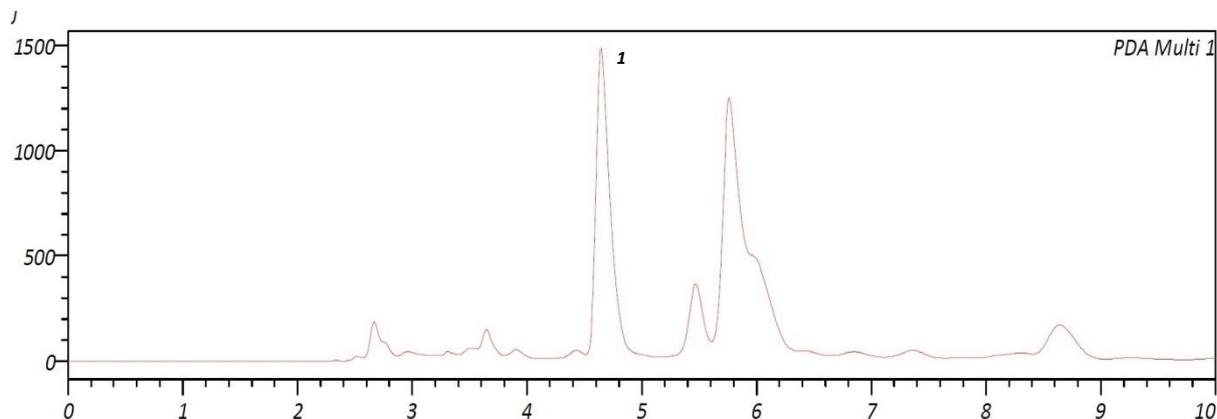
As frações 3 e 4 (924,3 mg) após reunidas foram submetidas a tratamento cromatográfico utilizando sílica desativada. A amostra foi pulverizada em 900 mg de sílica e acondicionada em coluna de vidro com 2,3 cm de diâmetro e 13,0 cm de altura. A fase móvel usada para eluição da coluna foi composta de hexano, acetato de etila e metanol originando oito sub-frações como descrito na tabela 21.

Tabela 21 - Fracionamento de CPFE-Ac5(3-4)

FRAÇÃO	ELUENTE	VOLUME	MASSA (mg)
CPFE-Ac5(3-4)1	H / Ac 1:1	100 mL	5,7
CPFE-Ac5(3-4)2	H / Ac 80%	100 mL	13,2
CPFE-Ac5(3-4)3	Ac	200 mL	89,2
CPFE-Ac5(3-4)4	Ac/MeOH 5%	200mL	78,7
CPFE-Ac5(3-4)5	Ac/MeOH 10%	100mL	137,2
CPFE-Ac5(3-4)6	Ac/MeOH 20%	100mL	179,3
CPFE-Ac5(3-4)7	Ac/MeOH (1:1)	100mL	94,8
CPFE-Ac5(3-4)8	MeOH	100mL	35,9

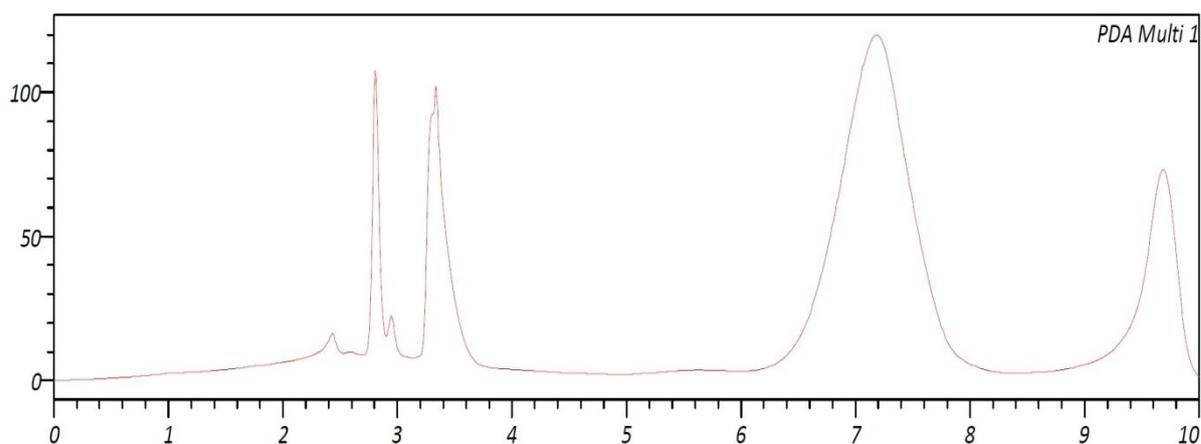
A fração CPFE-Ac5(3-4)3 (89,2 mg) foi submetida a CLAE semi-preparativa de fase reversa utilizando água/acetonitrila 27 % como fase móvel e fluxo de 4,72 mL/min. Foram coletados quatro picos com tempo total de corrida de 10 minutos. A fração correspondente ao pico 01 ( $t_R$  4,64 min; 6,4 mg) foi denominada de **CP-11** e posteriormente caracterizado 3-O-glicopiranosilquercetina. (Figura 122)

Figura 122 - Cromatograma de CPFE-Ac5(3-4)3.

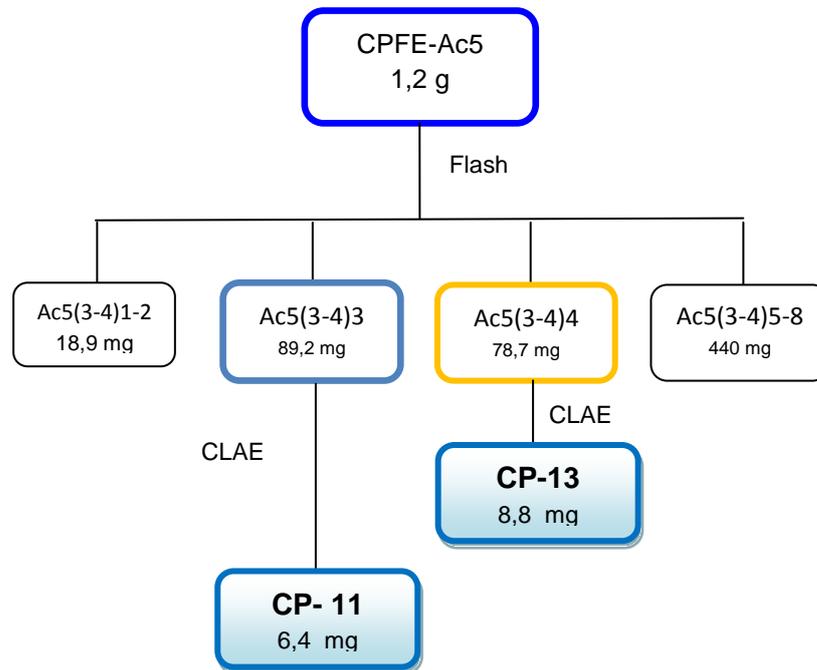


A fração CPFE-Ac5(3-4)4 (78,7 mg) foi submetida a CLAE semi-preparativa de fase reversa utilizando água/acetonitrila 15 % como fase móvel e fluxo de 4,72 mL/min. Foram coletados três picos com tempo total de corrida de 10 minutos. A fração correspondente ao pico 02 ( $t_R$  7,18 min; 8,8 mg) foi denominada de **CP-13** e posteriormente caracterizado roseosídeo. (Figura 123)

Figura 123 - Cromatograma de CPFE-Ac5(3-4)4



## Fluxograma 06 - Isolamento de CP-11e 13



## 6. CONCLUSÃO

O estudo químico do extrato etanólico das folhas de *Croton pedicellatus* Kunth. (Euphorbiaceae) culminou no isolamento de esteroides, terpenóides (sesquiterpenos e diterpenos) e flavonoides, classes de compostos conhecidas no gênero *Croton*.

Todos os diterpenos isolados são de esqueleto clerodano e suas estruturas foram estabelecidas como: 12,20:15,16-diepoxi-3-hidroxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18,2-olídeo; 12,20:15,16-diepoxi-2,8-dihidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila; 12,20:15,16-diepoxi-2-hidroxi-3-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila; 12,20:15,16-diepoxi-3,8-dihidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila e 12,20:15,16-diepoxi-3-hidroxi-2-acetoxi-7,20-dioxocleroda-13(16),14-dien-18-oato de metila. O isolamento de diterpenos clerodanos reforça a importância destes compostos como marcadores quimiotaxionômicos para o gênero, notadamente para a espécie em estudo, visto que todos os diterpenos isolados são inéditos na literatura.

Assim como os diterpenos, compostos sesquiterpênicos também são comuns no gênero, entretanto, foram isolados os *bisnor*-sesquiterpenos blumenol A e roseosídeo, onde o último está sendo relatado pela primeira vez em *Croton*.

Os flavonoides canferol, 3-*O*-glicopiranosilquercetina, alpinumisoflavona, 6''-*O*-*p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosilcanferol (tilirosídeo); 6''-*O*-*p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol e 6''-*O*-*p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosil-3'-metoxicanferol também foram isolados, e apesar de serem bem conhecidos em plantas superiores de um modo geral, a isoflavona alpinumisoflavona e os heterosídeos flavonoídicos 6''-*O*-*p*-cumaroil- $\beta$ -galactopiranosilcanferol e 6''-*O*-*p*-cumaroil- $\beta$ -glicopiranosil-3'-metoxicanferol, foram isolados pela primeira vez no gênero.

*Croton pedicellatus* mostrou ser uma prolífica fonte de terpenóides, incitando a continuidade do estudo desta, bem como de espécies congêneres por compostos desta grande classe.

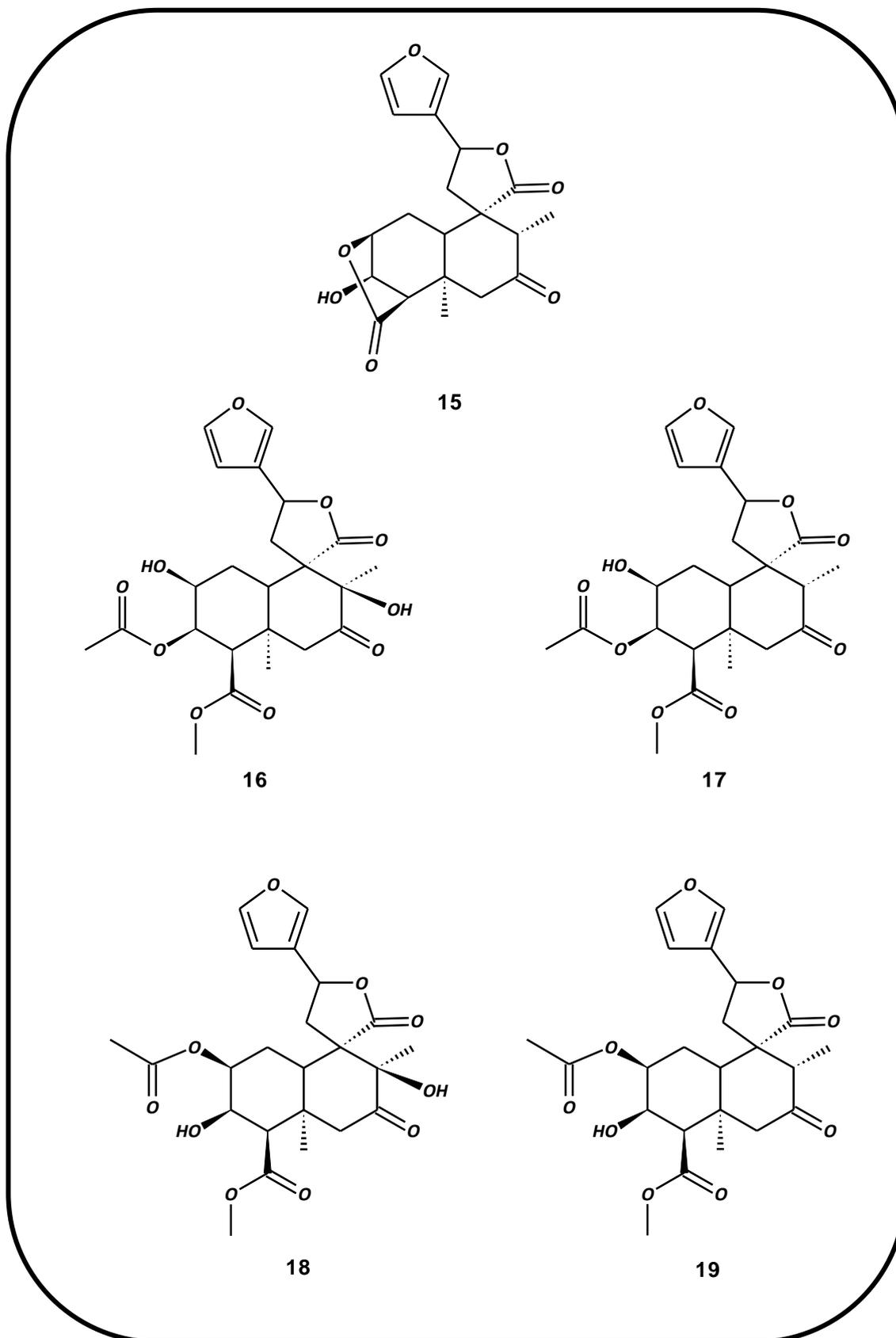
Figura 124 - Estruturas dos diterpenos isolados de *Croton pedicellatus* Kunth

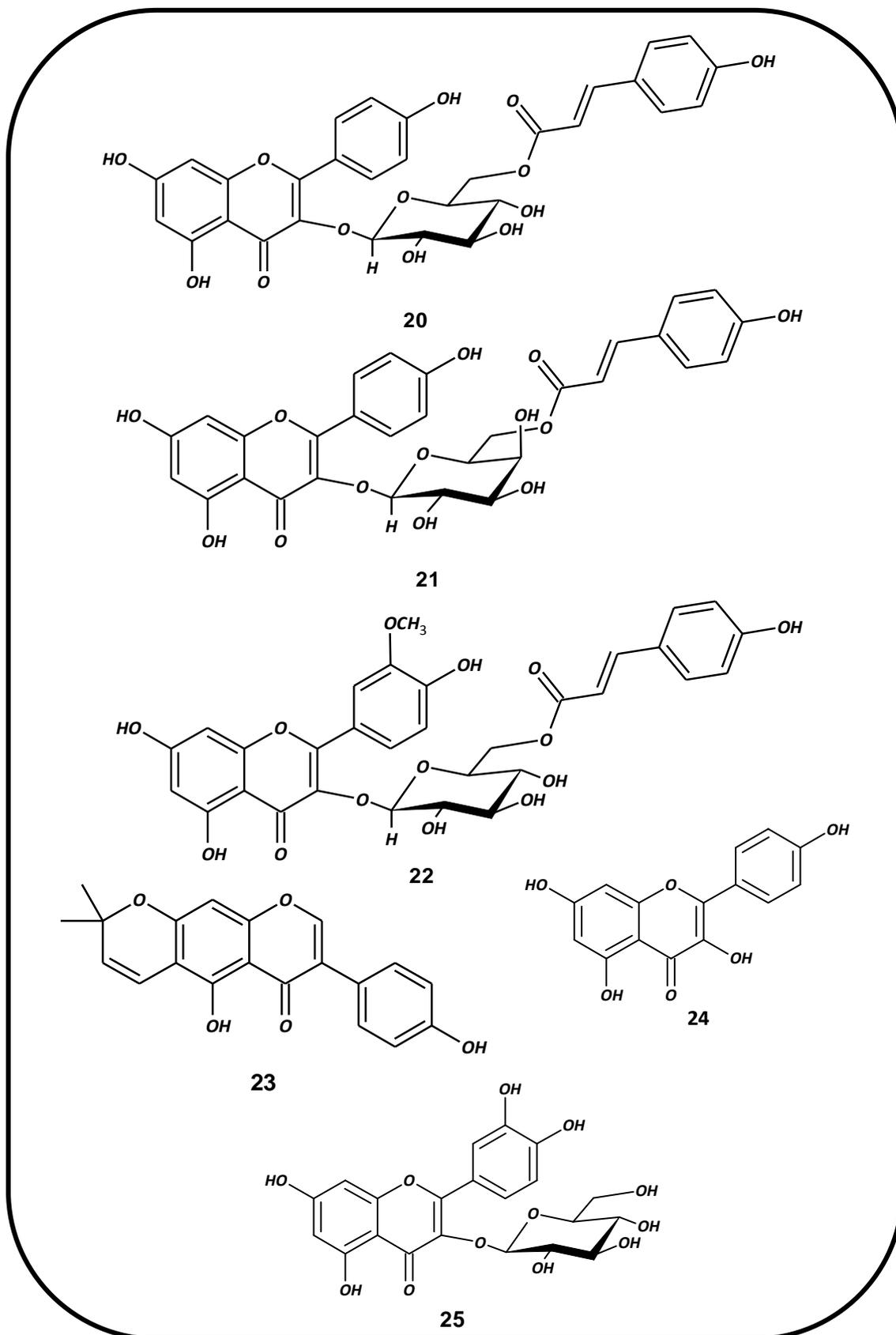
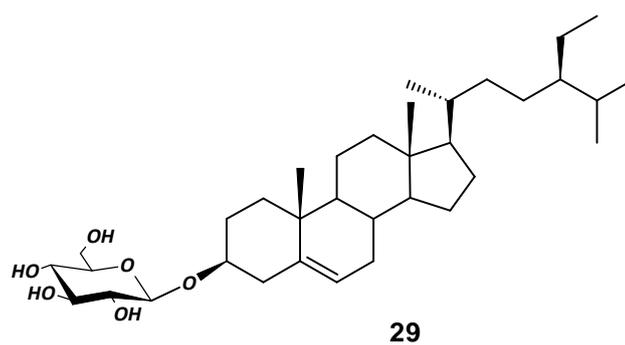
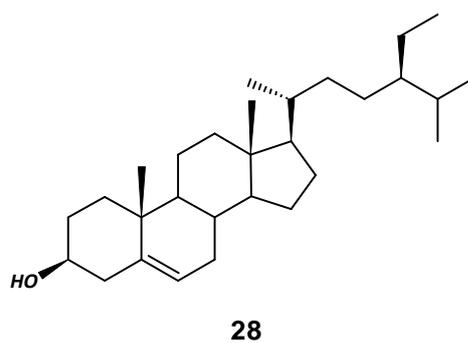
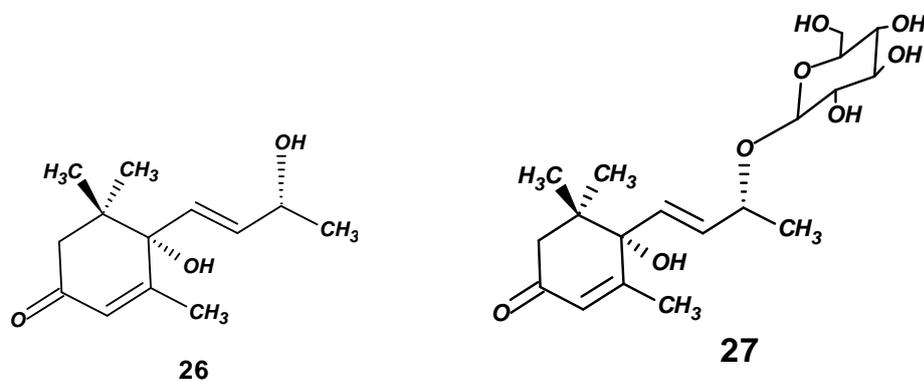
Figura 125 - Estruturas dos flavonóides isolados de *Croton pedicellatus* Kunth

Figura 126 - Estruturas dos sesquiterpenos e esteróides isolados de *Croton pedicellatus* Kunth



## REFERÊNCIAS

ATTA-UR-RAHMAR, A.; V.; U. **<sup>13</sup>C of Natural Products: Diterpenes**, Vol. 2. New York: Press Plenum, 1992.

BRASIL, D. S. B.; MULLER, A.H.; GUILHON, G.M. S. P.; ALVES, C.N.; PERIS, G.; LLUSAR, R.; MOLINER, V. Isolation, x-ray crystal structure and theoretical calculations of the new compound 8-epicordatin and identification of other terpenes and steroids from the bark and leaves of *Croton palanostigma* Klotzsch. **J. Braz. Chem. Soc.** v.21, p.731, 2010.

BRASIL, D. S. B.; ALVES, C. N.; GUILHON, G. M. S. P.; MULLER, A. H.; SECCO, R. S.; PERIS, G.; LLUSAR, R. Crystal structure and theoretical study of IR and <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of cordatin, a natural product with antiulcerogenic activity. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 108, p. 2564, 2008.

CARENHO, R.; BONONI, V.L.R.; BARBOSA, L.M. Glomales em áreas de recomposição de mata ciliar de Moji-Guaçu, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 24, p. 107, 1997.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. M.; SILVA, E. P.; DAVID, J. P.; LOPES, L. M. X.; GUEDES, M. L. S. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das folhas de *Tapirira guianensis*. **Quím. Nova** v. 31, p. 2056, 2008.

CRAVEIRO, A. A.; SILVEIRA, E. R. Two cleistanthane type diterpenes from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 2571, 1982.

CRAVEIRO, A. A.; SILVEIRA, E. R.; BRAZ FILHO, R.; MASCARENHA, I. P. Sonderianin, a furanoid diterpene from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 852, 1981.

DE MARINO, S.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALINI, S.; FICO, G.; VISIOLI, F.; IORIZZI, M. Identification of minor secondary metabolites from the latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and evaluation of their antioxidant activity. **Molecules**, v. 13, p.1219, 2008.

EL-MASRY, S.; AMER, M. E.; ABDEL-KADER, M. S.; ZAATOUT, H. H. Prenylated flavonoids of *Erythrina lysistemon* grown in Egypt. **Phytochemistry**, v. 60, p. 783, 2002.

EROSA-REJÓN, G.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L. M.; STERNER, O. Secondary Metabolites from *Heliotropium angiospermum*. **J. Mex. Chem. Soc.** v.53, p. 44, 2009.

FLORA BRASILIENSIS ONLINE. disponível em: <  
<http://florabrasiliensis.cria.org.br/>>. Acesso em: 23 abril 2012.

GARCIA, A.; RAMIREZ-APAN, T.; COGORDAN, J. A.; DELGADO, G. Absolute configuration assignments by experimental and theoretical approaches of ent-labdane- and cis-ent-clerodane-type diterpenes isolated from *Croton glabellus*. **Can. J. Chem.**, v. 84, p.1593, 2008.

GONZALEZ, A. G.; GUILLERMO, J. A.; RAVELO, A. G.; JIMENEZ, I. A. 4,5-dihydroblumenol A, a new nor-isoprenoid from *perrottetia multiflora*. **J. Nat. Prod.** v. 57, p. 400, 1994.

GRAIKOU, K.; ALIGIANNIS, N.; CHINOU, I.; SKALTSOUNIS, A.; TILLEQUIN, F.; LITAUDON, F. Chemical Constituents from *Croton insularis*. **Helv. Chim. Acta**, v. 88, 2005.

GUIMARÃES, L.; A.; C. **O gênero *croton* I. Seção *cyclostigma* griseb. E seção *luntia* (raf.) G. L. Webster (euphorbiaceae) ocorrentes na amazônia brasileira.** 2006. Dissertação (Mestrado em Botânica Tropical). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2006.

LEAL, R. S. Estudo **Etnofarmacológico e Fitoquímico das espécies medicinais *Cleome spinosa* Jacq., *Pavonia varians* Moric e *Croton cajucara* Benth.** 2008, 190 f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2008.

LIMA, L.R.; PIRANI, J.R. Taxonomic revision of *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). **Biota Neotrop.** v. 8, 2008.

LIMA, L. R. **Estudos taxonômicos em *Croton* seção *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae)**. 2006. 414 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

LIMA, L.R.; PIRANI, J. R. O gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) na Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, v. 21 p.299, 2003.

LUCENA, M. F. A.; SALES, M. F. Tricomas foliares em espécies de *Croton* L. (Crotonoideae-Euphorbiaceae). **Rodriguésia**, v. 57 p.11, 2006.

MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA Z. M. G. S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* através de análise por microcomputador. **Quím. Nova**, v. 13, p. 260, 1990.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R. Spectral Assignments and Reference Data: NMR and structure review of some natural Furoclerodanes. **Magn. Reson. Chem.**, v. 41, p.278. 2003.

MACIEL, M. A. M.; CORTEZ, J. K. P. C.; GOMES, F. E. S. O gênero *Croton* e Aspectos Relevantes de Diterpenos Clerodanos. **Fitos**, v. 2, 2006.

MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; KONDO, K.; SHINZATO, T.; KAWAHATA, M.;YAMAGUCHI, K.; TAKEDA, Y. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1277, 2009.

MÁXIMO, P.; LOURENÇO, A.; FEIO, S. S.; ROSEIRO, J. C. A New Prenylisoflavone from *Ulex jussiaei*. **Z. Naturforsch.** V. 57, p. 609, 2002.

MEHMOOD, R.; MALIK, A. Isolation and characterization of crotosparsamide, a new cyclic nonapeptide from *Croton sparsiflorus*. **Nat. Prod. Commun**, v.5, p.1885, 2010.

PALMEIRA-JUNIOR, S. F.; CONSERVA, L. M.; BARBOSA FILHO, J. M. Clerodane Diterpenes from *Croton* Species: Distribution and a Compilation of their <sup>13</sup>C NMR Spectral Data. **Nat. Prod. Commun.** v. 1, 2006.

PALMEIRA JR, S.; CONSERVA, L. M.; SILVEIRA, E. R. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, p. 1420, 2005.

PARK, Y.; MOON, B.; YANG, H.; LEE, Y.; LEE, E e LIM, Y. Complete assignments of NMR data of 13 hydroxymethoxyflavones. **Magn. Reson. Chem.** v. 45, 2007.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PUDHOM, K.; SOMMIT, D. Clerodane diterpenoids and a trisubstituted furan from *Croton oblongifolius*. **Phytochemistry Letters**. v.4, p.147, 2011.

SALATINO, A., SALATINO, M.L.F. & NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.** v. 18, 2007.

SHIROTA, O.; NAGAMATSU, K.; SEKITA, S. Neo-clerodane Diterpenes from the Hallucinogenic Sage *Salvia divinorum*. **J. Nat. Prod.** v. 69, p. 1782-1786, 2006.

SILVA, D.A.; COSTA, D.A.; SILVA, D.F.; SOUZA, M.F.V.; AGRA, M.F.; MEDEIROS, I.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 15, 2005.

SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. **Constituintes micromoleculares de plantas do nordeste com potencial farmacológico: com dados de RMN  $^{13}\text{C}$** . Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2005.

SILVEIRA, E. R. **Biological evaluation and chemical constitution of “marmeleiro preto” (*Croton sonderianus* Muell. Arg.)**. 1985, 193 f. Tese (Doutorado em Farmacognosia) – Department of Pharmacognosy, University of Mississippi, **1985**.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.(Organizadores) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

SMITH, B. A. A **systematic revision of *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae) in Ecuador**. Tese de Doutorado. University of California-Davis, Califórnia. 2002.

STARK, T.; BAREUTHER, S.; HOFMANN, T. Sensory-Guided Decomposition of Roasted Cocoa Nibs (*Theobroma cacao*) and Structure Determination of Taste-Active Polyphenols. **J. Agric. Food Chem.** v. 53, p. 5407, 2005.

VEGA, M. R. G.; ESTEVES-SOUZA, A.; VIEIRA, I. J. C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, B.; ECHEVARRIA, A. Flavonoids from *Annona dioica* Leaves and their Effects in Ehrlich Carcinoma Cells, DNA-topoisomerase I and II. **J. Braz. Chem. Soc.** v.18, p. 1554, 2007.

VOUTQUENNE, L. et al. Cytotoxic polyisoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from *Dimocarpus fumatus*. **Phytochemistry** v. 50, p. 63, 1999.

YOUNGSA-AD, W.; NGAMROJANAVANICH, N.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S.; PRAWAT, H.; KITTAKOOP, P. Diterpenoids from the roots of *Croton oblongifolius*. **Planta Medica**, v. 73, p.1491, 2007.

ZHANG, D.; GAO, H.; WANG, L.; LI, D.; KUROYANAGI, M.; WU, L. Flavonol glycosides from *Castanea mollissima* Blume. **Asian J. Trad. Med.** 2 (5), 2007.

ZOU, G.; SU, Z.; ZHANG, H.; WANG, Y.; YANG, J.; ZOU, Z.. Flavonoids from the stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. **Molecules**, v.15, p.1097, 2010.

ZOU, G.; ZHANG, H.; AISA, H.; YANG, J.; PENG, C.; ZOU, Z. Laevigatbenzoate from *Croton laevigatus* Vahl. **J. Nat. Med.** v. 65, p. 391, 2011.