



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE *CALLIANDRA*
MUCUGEANA E *CALLIANDRA SESSILIS***

WILDSON MAX BARBOSA DA SILVA

**FORTALEZA-CEARÁ
2012**

WILDSON MAX BARBOSA DA SILVA

**CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE *CALLIANDRA*
MUNCUGEANA E *CALLIANDRA SESSILIS***

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Química,
como requisito parcial para obtenção do
grau de mestre.

Orientador: Prof^a. Dra. OTÍLIA
DEUSDÊNIA LOIOLA PESSOA

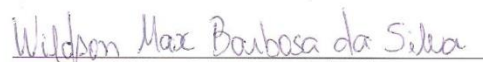
**FORTALEZA-CEARÁ
2012**

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

-
- S584c Silva, Wildson Max Barbosa da.
Contribuição ao conhecimento químico de *Callandra mucugueana* e *Callandra sessilis* / Wildson Max Barbosa da Silva. – 2012.
93f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Mestrado (Dissertação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Mestrado em Química, Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Química Orgânica.
Orientação: Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa.
1. Prospeção química. 2. Esteroides. 3. Diterpenos. 4; Ésteres graxos. I. Título.

Este trabalho foi realizado sob a orientação da Professora Doutora OTÍLIA DEUDÊNIA LOIOLA PESSOA do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará

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


Wildson Max Barbosa da Silva

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 13/04/2012


EXAMINADORES:



Prof. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa
Universidade Federal do Ceará – UFC



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



Prof. Dra. Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque
Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, pela saúde e pela força de continuar todos os dias lutando por dias melhores.

À minha mãe, Inalda Barbosa da Silva Cabral, por sua dedicação, atenção e amor.

Aos meus avós, Neli Pereira e Josué Barbosa.

As minhas irmãs, Leonor e Andressa, pelas horas de descontração e amizade.

Aos meus tios, que são os pilares da minha vida, aos meus primos.

À minha esposa, Solange Pinheiro, pela atenção e dedicação.

À professora Otília Deusdênia Loiola Pessoa, pelos conhecimentos transmitidos e orientação.

Aos Amigos Luiz Cláudio, Ayla Márcia e Andreza Pires pela amizade desde a graduação.

À professora Davina Chaves, professora do IFMA, que deu-me oportunidade de adentrar na pesquisa.

À professora Maria Leopoldina, IF Sertão Pernambucano, pelos ensinamentos em cromatografia e amizade.

Aos Amigos de laboratório, Thiciana, João Vito, Mariano, Karine, Bruno, Tasso, Karísia, Rudy, Chaguinha, Pedro.

Ao professor Edilberto pela coleta do material e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do curso: D. Mundinha, Sr. Paulo, Lana, Célia e Orlando.

À Universidade Federal do Ceará e ao curso de pós-graduação e Química, por toda minha formação.

Aos órgãos financiadores CAPES, FUNCAP, PRONEX E CNPQ.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FLUXOGRAMA	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	Vii
RESUMO.....	Viii
ABSTRACT	Ix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	3
1.1 Considerações Gerais sobre a Família Leguminosae	3
1.2 Considerações sobre o Gênero <i>Calliandra</i>	4
1.3 Considerações Gerais sobre <i>Calliandra mucugeana</i>	4
1.4 Considerações Gerais sobre <i>Calliandra sessilis</i>	5
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
CAPITULO 3: DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	25
3.1 Determinação de Estrutural de CS1	25
3.2 Determinação Estrutural de CS2	30
3.3 Determinação Estrutural de CS3	39
3.4 Determinação Estrutural de CM-1	43
3.5 Determinação Estrutural de CM1-A.....	50
3.6 Determinação Estrutural de CM2	54
CAPÍTULO 4: PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	59
4.1 Material Botânico	59
4.2 Métodos Cromatográficos	59
4.2.1 - Cromatografia de Adsorção	59
4.2.2 - Cromatografia Líquido por exclusão Molecular	59
4.2.3 - Cromatografia Líquido de Alta Eficiência	59
4.3 Métodos Espectroscópicos	60
4.3.1 - Espectroscopia de ressonância Magnética Nuclear.....	60
4.3.2 - Espectroscopia na região de infravermelho (IV)	61
4.4 Estudo dos constituintes não voláteis de <i>C. Mucungeana</i> e <i>C. Sessilis</i>	61

4.4.1	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexênico de <i>C.sessilis</i>	62
4.4.2	Fracionamento Cromatográfico da Fr 2	62
4.4.3	Fracionamento da Fr 21-26	63
4.4.4	Fracionamento Cromatográfico da Fr 9-18 e Isolamento de CS3	63
4.4.5	Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico de <i>C. sessilis</i>	64
4.4.6	Fracionamento Cromatográfico da Fração CH ₂ Cl ₂ e Isolamento de CS1	64
4.4.7	Fracionamento Cromatográfico de Fr CH ₂ Cl ₂ :AcOEt 1:1 e isolamento de CS2	66
4.4.8	Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico de <i>C. mucugana</i> ..	68
4.4.9	Fracionamento Cromatográfico da Fração CH ₂ Cl ₂ e Isolamento de CM1 e CM2.	68
4.4.10	Reação de Acetilação de CM1	69
CAPÍTULO 5: CONCLUSÃO		70
CAPÍTULO 6: CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS..		71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		74

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Fotografia de <i>Calliandra mucugeana</i>	05
Figura 02	Fotografia de <i>Calliandra sessilis</i>	05
Figura 03	Estruturas de CS-1	26
Figura 04	Espectro na região de infravermelho de	28
Figura 05	- Espectro de RMN ^1H de CS1	28
Figura 06	Espectro de RMN ^{13}C de CS1	29
Figura 07	Acoplamentos a longa distância (^1H , ^{13}C -HMBC) para CS2	31
Figura 08	Estrutura de CS-2	31
Figura 09	Espectro na região de infravermelho de CS2	33
Figura 10	Espectro de RMN ^1H de CS2	33
Figura 11	Espectro de RMN ^{13}C de	34
Figura 12	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CS2	34
Figura 13	Espectro de RMN ^1H , ^1H -COSY CS2	35
Figura 14	Expansão de RMN ^1H , ^1H -COSY CS2	35
Figura 15	Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS2	36
Figura 16	Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS2	36
Figura 17	Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS2	37
Figura 18	Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CS2	37
Figura 19	Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CS2	38
Figura 20	Espectro de massa de Alta resolução de CS2	38
Figura 21	Estrutura de CS-3	39
Figura 22	Espectro na região de infravermelho de CS3	41
Figura 23	Espectro de RMN ^1H de CS3	41
Figura 24	Espectro de RMN ^{13}C de CS3	42
Figura 25	Acoplamentos a longa distância (^1H , ^{13}C -HMBC) de CM1	44
Figura 26	Estruturas de CM1	44
Figura 27	Espectro na região de infravermelho de CM1	46
Figura 28	Espectro de RMN ^1H de CM1	46
Figura 29	Espectro de RMN ^{13}C de CM1	47
Figura 30	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CM1	47
Figura 31	Espectro de RMN ^1H , ^1H -COSY de CM1	48
Figura 32	Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CM1	48

Figura 33	Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CM1	49
Figura 34	Espectro de massa de Alta Resolução de CM1	49
Figura 35	Estrutura de CM1A	50
Figura 36	Espectro de RMN ^1H de CM1 A	51
Figura 37	Expansão do Espectro de RMN ^1H de CM1A	51
Figura 38	Espectro de RMN ^{13}C de CM1A	52
Figura 39	Expansão Espectro de RMN ^{13}C de CM1A	52
Figura 40	Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CM1A	53
Figura 41	Espectro de massa de Alta Resoução de CM1A	53
Figura 42	Estruturas de CM-2	54
Figura 43	Espectro na região de infravermelho de CM2	56
Figura 44	Espectro de RMN ^1H de CM2	56
Figura 45	Espectro de RMN ^{13}C de CM2	57
Figura 46	Expansão do Espectro de RMN ^{13}C de CM2	57
Figura 47	Expansão do Espectro de RMN ^{13}C de CM2	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação das espécies produtoras de diterpenos de esqueleto cassano.....	7
Tabela 2: Diterpenos do tipo cassano resultantes da Revisão Bibliográfica	7
Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (125MHz, CDCl ₃) de CS1	27
Tabela 4: Deslocamentos químicos de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) e ¹³ C (125 MHz) de CS24.....	27
Tabela 5: Deslocamentos Químicos de RMN C (125 MHz, CDCl ₃) de CS3	40
Tabela 6: Deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de CM-1	45
Tabela 7: Deslocamentos Químicos δ de RMN ¹³ C (125 MHz, C ₅ D ₅ N) de CM2	55
Tabela 8: Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexênico de <i>C.sessilis</i>	62
Tabela 9: Fracionamento Cromatográfico da Fr 2.....	63
Tabela 10: Fracionamento da Fr 21-26	63
Tabela 11: Fracionamento Cromatográfico da Fr 9-18 e Isolamento de CS3	64
Tabela 12: Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do Extrato etanólico de <i>C.sessilis</i>	64
Tabela 13: Dados referentes ao Fracionamento Cromatográfico de Fr CH ₂ Cl ₂	65
Tabela 14: Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de Fr ₂ CH ₂ Cl ₂	65
Tabela 15: Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de FCH ₂ Cl ₂ :AcOEt 1:1	66
Tabela 16: Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de F2C27	67
Tabela 17: Dados referentes ao fracionamento Cromatográfico de F86-95	67
Tabela 18: Dados referentes ao Fracionamento Cromatográfico de F 1-39	68
Tabela 19: Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração CH ₂ Cl ₂	69

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1: Obtenção dos extratos hexânico e etanólico de <i>C. mucugeana</i>	61
Fluxograma 2: Obtenção dos extratos hexânicos e etanólico de <i>C. Sessilis</i>	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<i>J</i>	Constante de Acoplamento
δ	Deslocamento Químico
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPD	Composite Pulse Decoupling
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EHCM	Extrato Hexânico de <i>C. mucugeana</i>
EECM	Extrato Etanólico de <i>C. mucugeana</i>
EHCS	Extrato Hexânico de <i>C. sessilis</i>
EECS	Extrato Etanólico de <i>C. sessilis</i>
EM-IES	Espectrometria de Massa com ionização por <i>electrospray</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HSQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
IV	Infravermelho
Ppm	Partes por Milhão
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RESUMO

Este trabalho descreve a investigação química das espécies *Calliandra sessilis* e *Calliandra mucungeana* (Fabaceae). A Prospecção química dos extratos das raízes das respectivas espécies permitiu o isolamento e caracterização de esteroides, diterpenos e ésteres graxos. Do extrato hexânico foram isolados a mistura ternária dos esteroides, β -sitosterol, espinasterol e estigmasterol, o triterpeno pentacíclico lupeol, além de um diterpeno de esqueleto cassano 2,12-dioxo-3-hidróxi-15,17-epóxi-cassa-13(15),14(17)-dieno. Do extrato etanólico foram isolados uma mistura binária dos ésteres tetracosanodioato de *bis*-(2,3-diidroxipropila) e docosanodioato de *bis*-(2,3-diidroxipropila) e ainda, a mistura dos esteroides glicosilados, β -sitosterol, espinasterol e estigmasterol. Na determinação estrutural dos compostos isolados, utilizou-se técnicas espectrométricas como: infravermelho (IV), espectrometria de massas (EM-IES) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e carbono-13 (RMN ^{13}C), incluindo técnicas bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC) além de comparação com dados descritos na literatura.

ABSTRACT

This work describes the chemical investigation of *Calliandra sessilis* and *Calliandra mucungeana* (Fabaceae). The Chemical prospection of the root extracts of the two species resulted in the isolation and characterization of steroids, diterpenes and fatty esters. From the hexane extract were isolated a ternary mixture of the steroids β -sitosterol, espinasterol and estigmasterol, the pentacyclic triterpene lupeol, besides a diterpene of skeleton cassane, 2,12-dioxo-3-hydroxy-15,17-epoxy-cassa-13(15),14(17)-diene. From the ethanol extract were isolated a binary mixture of *bis*-(2,3-dihydroxypropil) tetracosanodioate and *bis*-(2,3-dihydroxypropil) docosanodioate, as well as, a glucosidal steroidal mixture constituted of β -sitosterol, espinasterol and estigmasterol. The structural determinations of isolated compounds were performed by spectrometric techniques, such as: infrared (IR), mass spectrometry (IES-MS) and proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) 13-carbon (^{13}C NMR), including dimensional techniques (COSY, HSQC and HMBC), besides comparison with described data

INTRODUÇÃO

A química de produtos naturais tem como um dos principais objetivos o isolamento e a caracterização de constituintes químicos de fontes diversas como plantas, animais e microorganismos. Atualmente, é geralmente acompanhada da avaliação da atividade biológica e/ou farmacológica das substâncias isoladas com perspectiva de um possível aproveitamento como fitoterápico, medicamento ou como modelo para síntese de compostos de importância terapêutica.

Embora diversas fontes na natureza contribuam com um grande número de substâncias químicas de importância biológica, o reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o enriquecimento do arsenal de substâncias úteis para o tratamento de doenças que acometem os seres humanos [PHILLIPSON e ANDERSON, 1998].

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouco ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou ervanários. Muitas vezes estas plantas são empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. A toxicidade das plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial quando comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, isto, entretanto, não é verdade. Esta toxicidade é um problema sério e os efeitos adversos dos fitomedicamentos, as possíveis adulterações, a toxidez e as interações com outras drogas devem ser tratados com cautela. As pesquisas realizadas para a avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da sua comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais [VEIGA *et al.*].

As plantas produzem grande variedade de produtos naturais cuja maioria parece não participar diretamente do seu desenvolvimento e crescimento, no entanto, essas substâncias, geralmente com efeitos biológicos e tradicionalmente denominadas de metabólitos secundários ou produtos naturais, estão distribuídas diferentemente entre os grupos taxonômicos limitados dentro do reino vegetal [CROTEAU, KUTCHAN, LEWIS, 2000; MACEDO *et. al.*, 2007]. Algumas funções desses metabólitos são desconhecidas, mas vêm sendo elucidadas com uma frequência crescente. Sabe-se que alguns compostos desenvolvem importantes funções na planta como defesas contra plantas parasitas e patógenos (vírus, bactérias, fungos e insetos). Por outro lado, os metabólitos secundários das plantas podem

facilitar a interação animal-planta produzindo pigmentos ou substâncias voláteis, cuja função é atrair os polinizadores [DEWICK 2001; WINK *et. al.*, 2003].

A fantástica variedade e complexidade de metabólitos secundários biossintetizados pelas plantas têm sido formado e evoluído, como mecanismo de defesa dos vegetais às condições de adaptação e regulação Assim as plantas constituem um enorme laboratório de síntese orgânica, fruto de milhões de anos de evolução e adaptação sobre a terra.

É importante ressaltar que devido ao desenvolvimento das técnicas analíticas de separação e elucidação estrutural, nas últimas três décadas - mais recentemente, de instrumentos analíticos hifenados, conhecem-se cerca de 50.000 metabólitos secundários isolados de Angiospermas. Devido a tais avanços, os produtos naturais e derivados destes foram e continuam sendo de importância em determinados setores da sociedade moderna, mesmo considerando-se grande número de produtos produzidos por síntese. [REINOBOTH, DIETRICH, LUCKNER, 1990].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial busca na medicina popular meios para o alívio de alguma sintomatologia desagradável. Aproximadamente 11% das drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS são produzidas exclusivamente por plantas medicinais, além disto, um grande número de drogas foi desenvolvido a partir de fontes naturais [DA SILVA. et al, 2006].

Deste modo, é indiscutível que a Química de Produtos Naturais tem papel fundamental no desenvolvimento de vários segmentos industriais, inclusive no de medicamentos contribuindo diretamente com a qualidade de vida da população mundial.

Este trabalho visa o isolamento e a caracterização dos metabólitos secundários produzidos por *Calliandra mucugeana* espécie endêmica da Chapada Diamantina, e *Calliandra sessilis*.

1. CONSIDERAÇÕES BOTÂNCIAS

1.1. Família Leguminosae

A Família Leguminosae é umas das maiores do reino vegetal com ampla distribuição, com aproximadamente 18.000 espécies distribuídas em 619 gêneros, pertencendo boa parte a flora brasileira. Embora exista algumas exceções, uma das características dessa família é apresentar o fruto do tipo legume, também conhecido como vagem [POLHILL e RAVEN, 1981; JOLLY, 1993].

As plantas que compõem essa família têm hábitos muito variados, podem aparecer como grandes árvores, típicas das matas tropicais, arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e ainda como trepadeiras. Estão dispostas em distintos ambientes, com variações de altitude e latitude. As folhas são sempre de disposição alternadas, composta, pari ou imparidade. Suas folhas são variadas, sempre cíclicas, de simetria radial até fortemente zigomorfa, com androceu formado de 4 a 10 estames, livres ou soldados entre si e óvulo sempre súpero, unicarpelar e unicolar. Assim como as folhas, os folíolos são sempre pulvino, o que permite o movimento diuturno. Apresenta fruto variado, em geral legume e seco. As sementes são algumas vezes envoltas em mucilagem ou polpa doce [JOLY, 1998].

Muitas leguminosas apresentam o uso medicinal e ornamental, algumas produzindo madeiras nobres e valiosas usados em construções em geral. Quase todas as leguminosas apresentam uma característica ecológica de extrema importância, que se caracteriza pela simbiose de suas raízes com as bactérias do gênero *Rhizobium* e semelhantes as quais fixam o nitrogênio da atmosfera [DE ANDRADE, 2006; SANTOS, 2007; SOUZA FILHO, 2004].

A família leguminosa é subdividida em três subfamílias distintas, cuja variação nos nomes se deve a coexistência atual de mais de um sistema de classificação [BARROSO, 1991; LIMA, CORREIA, FARIAS, 1994].

- Faboideae ou Papilonoiceae - É constituído por 430 gêneros e aproximadamente 12.600 espécies de ampla distribuição pelo mundo. É considerada a subfamília mais evoluída entre as leguminosas, e também de maior importância econômica. Dentre alguns exemplos mais representativos da família podemos citar a soja (*Glycine Max*), a ervilha (*Pisum sativum*), o feijão (*Phaseolus vulgaris*) e a alfafa (*Medicago sativa*);
- Caesalpinioideae ou Caesalpiniaceae - É constituída por 152 gêneros e aproximadamente 2.700 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais.

Entre as espécies mais conhecidas no Brasil, podemos citar o tamarindo (*Tamarindus indica*) e o pau-brasil (*Caesalpinia echinata*);

- Mimosoideae ou Mimosaceae – É constituída por 60 gêneros e aproximadamente 3.000 espécies distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e cáldo-temperadas. Alguns exemplos mais representativos da família incluem: faveiro (*Albizia lebbek*), dormideira (*Mimosa pudica*) e ingá-do-brejo (*Ingá uruguensis*).

1.2. O Gênero *Calliandra*

Calliandra Benth. é um gênero pertencente a família leguminosae e a subfamília mimosoideae. A mais recente revisão taxonômica sobre o gênero foi realizada por Barneby (1998), que redefiniu seus limites excluindo os táxons da África e do subcontinente indiano de modo que, na presente circunscrição, o gênero é inteiramente neotropical. Para este gênero são descritos 132 espécies, com a área de distribuição estendendo-se do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. No Brasil é a Chapada Diamantina (Bahia) um dos principais centros da diversidade de *Calliandra* onde ocorrem 42 espécies, sendo 32 endêmicas desta região [SOUZA, 2001; SOUZA *et al.*, 2004].

1.3. *Calliandra mucugeana*

Calliandra mucugeana é uma arbusto endêmico da Chapada Diamantina tem sido registrada somente no município de Mucugê [BERNADINO *et al* 2007]. Apresenta a seguinte descrição botânica [SOUZA, 2001].

Subarbusto ca. 60 cm alt. ramificado, formando touceiras; ramos, eixos foliares, pedúnculos pubérulos e com tricomas granulares. Folhas dísticas. Estípulas setiformes a lanceolas, 1,21 x 0,50,8 mm. Folhas ivv/611; pecíolo 15 mm compr.; raque 23,5 cm compr.; pinas ligeiramente decrescente distalmente, 25 cm compr.; folíolos esparsos, ligeirarnete côncavos, 45 x 2 mm, coriáceos, oblongos, ápice arredondado, base assimétrica, face adaxial, às vezes rugosa, glabra, face abaxial com tricomas granulares, nervação palmada, nervura principal excêntrica.



Figura 01 - Fotografia de *Callinadra mucugeana*
Foto: Edilberto Rocha Silveira.

1.4. *Calliandra sessilis*

C. sessilis é uma espécie com distribuição ampla, ocorrendo desde o estado do Pará até o de Minas Gerais [BARNEBY, 1998], sendo uma planta característica do cerrado. Ocorre em diversos ambientes associados ao cerrado e ao campo rupestre. Floresce nos meses de janeiro a abril, em julho e setembro porém foi encontrado material frutificado no mês de novembro.

Subarbusto virgado, com ramos aéreos 3070 cm alt. emergindo de rizomas subterrâneos, espessos, ca. 3,0 cm diâm.; ramos e eixos foliares pubérulos a glabrescentes e com tricomas granulares; braquiblastos axilares guarnecidos na base por perfis setiformes, imbricados, 610 mm compr.; filotaxia dística. Estípulas lanceoladas 38 x 12 mm. Folhas $i/1935$, subsésseis; pecíolo 15 mm compr.; pinas 3,57 cm compr. folíolos imbricados, mais ou menos equilongos com os distais menores, 712 x 23 mm, coriáceos, oblongos a lanceolados, ligeiramente falcados, ápice arredondado a agudo, base oblíqua, smicordada, face adaxial pubérula, face abaxial pubérula e com tricomas granulares, margem cerosa, nervação palmada, nervura principal excêntrica. Brácteas florais lanceoladas ca. 3 x 2 mm.

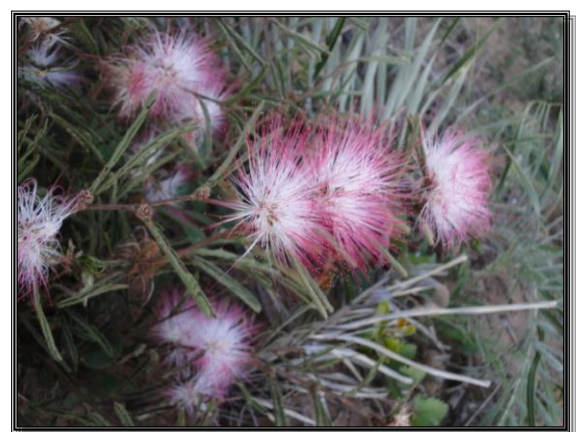


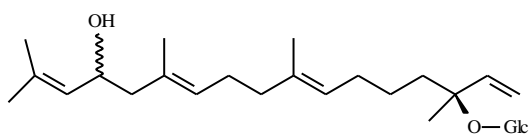
Figura 02 - Fotografia de *Calliandra sessilis*
Foto: Edilberto Rocha Silveira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Como poderá ser visto com a continuação deste trabalho foram isolados cinco compostos, entre os quais um novo diterpeno de esqueleto cassano. Isto motivou uma revisão sobre tais compostos. Os diterpenos constituem uma vasta classe de produtos naturais de natureza isoprenoidais, biosintetizados a partir do ácido mevalônico, cuja seqüência biosintética leva ao *2E,6E,10E* pirofosfato de geranylgeranila (GGPP). Presentes em alguns insetos e em vários organismos vivos eles são bastantes difundidos em plantas, onde há a maior ocorrência [BRUNETON,1995].

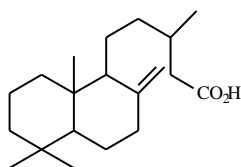
A estrutura dos diterpenos é altamente variada e dependente estritamente da sua biogênese, assim como, sua classificação.

Diterpenos acíclicos: Não são de ocorrência muito comum. Podem-se apresentar lineares ou possuir uma lactona ou um anel contendo um átomo de oxigênio em geral formado pela abertura de oxiranas.

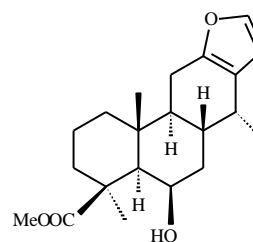


Capsianosideo

Diterpenos Cíclicos: os diterpenos cíclicos podem ser bicíclicos (labdanos, clerodanos), tricíclico (pimaranos, abientanos, cassanos, estemodandos), tetracíclicos (traquilobanos, cauranos, estemodando, estemarano), macrocíclico (taxanos, dafinanos) ou mistos de acordo com o número e o padrão de ciclização em seus esqueletos.



Ácido labd-8(17),13-dien-15-óico
(Labdano)



Caesalpinista-B
(Cassano)

Conforme levantamento bibliográfico realizado na base de dados do “Scinfinder Scholar” sobre os diterpenos do tipo cassano, foram encontrados trabalhos envolvendo 17

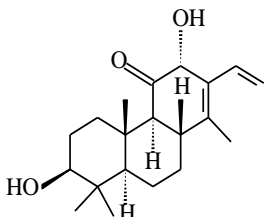
espécies sendo oito delas do gênero *Caesalpinia*, pertencentes a família Fabaceae e uma espécie da família Poaceae, *Oryza sativa*.

Um total de 115 diterpenos de esqueleto cassano foram isolados (Tabela 02, pág 9) das quais muitas apresentaram atividades biológicas como antifúngica, antituberculose, antimalárica e frente ao *Trypanossoma cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas. Na tabela 01 estão relacionadas as espécies produtoras de diterpenos cassano.

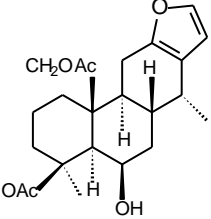
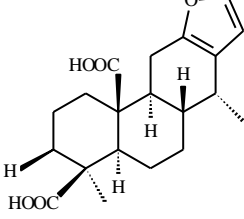
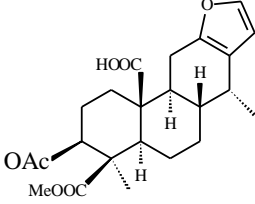
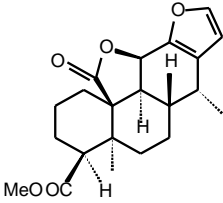
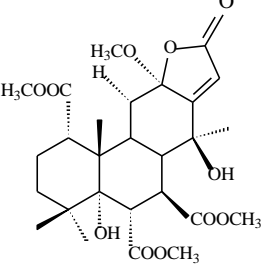
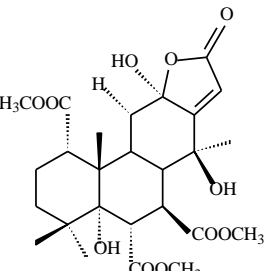
Tabela 1 - Relação das espécies produtoras de diterpenos de esqueleto cassano

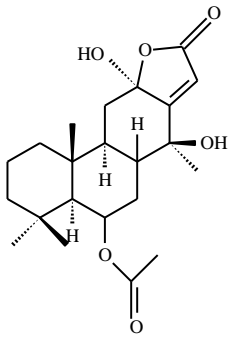
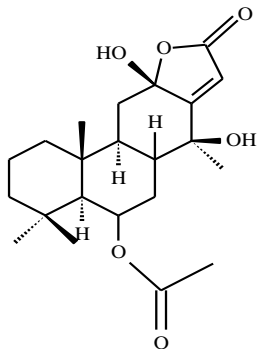
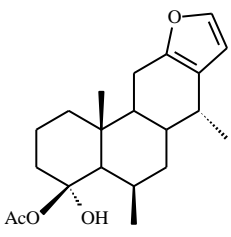
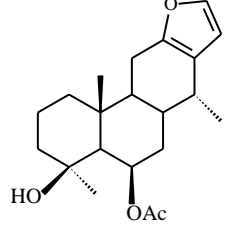
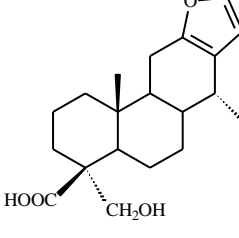
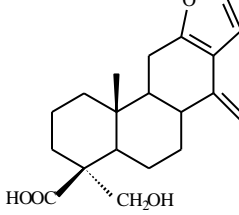
ESPÉCIE	FAMÍLIA
<i>Caesalpinia minax</i>	Fabaceae
<i>Caesalpinia bonduc</i>	"
<i>Caesalpinia crista</i>	"
<i>Caesalpinia magnifoliaata</i>	"
<i>Caesalpinia benthamiana</i>	"
<i>Caesalpinia decapetala</i>	"
<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	"
<i>Caesalpinia bunducela</i>	"
<i>Acácia nilótica</i>	"
<i>Cordyla mandagascariensis</i>	"
<i>Chamaecrista flexuosa</i>	"
<i>Lonchocarpus laxiflorus</i>	"
<i>Bowdichia nítida</i>	"
<i>Myrospermum frutescens</i>	"
<i>Vouacapoua americana</i>	"
<i>Plathymenia reticulata</i>	"
<i>Oryza sativa</i>	Poaceae

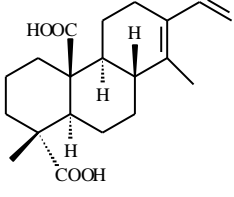
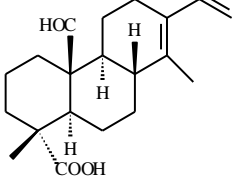
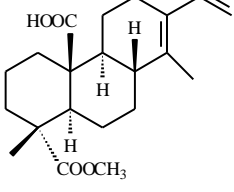
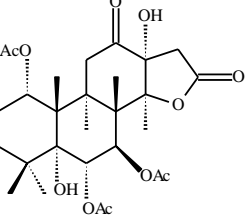
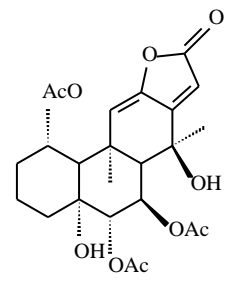
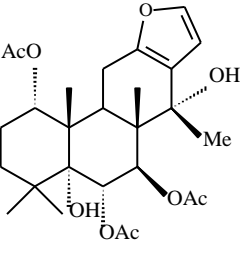
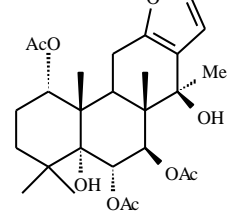
Tabela 02 - Diterpenos do tipo cassano resultantes da Revisão Bibliográfica

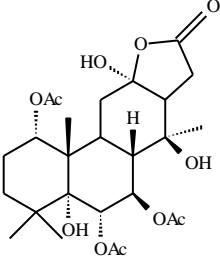
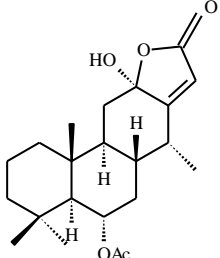
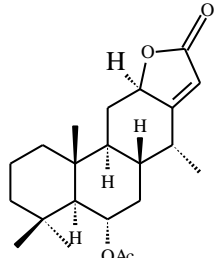
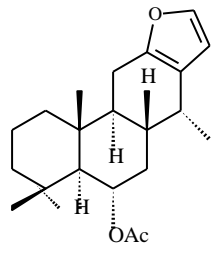
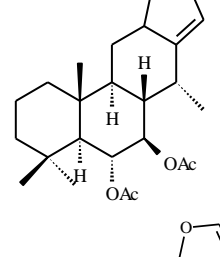
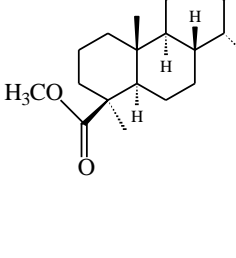
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Niloticano (01)		<i>A. nilotica</i>	ELDEEN, HEERD, STADEN, 2010

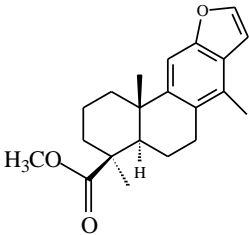
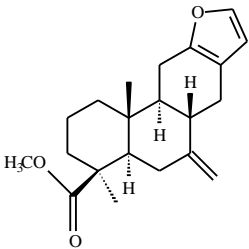
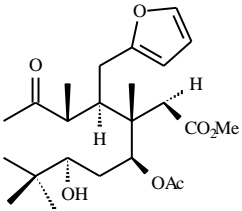
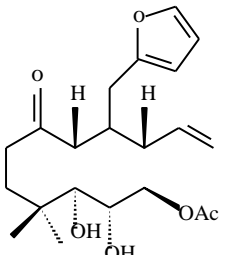
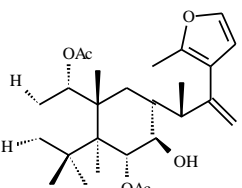
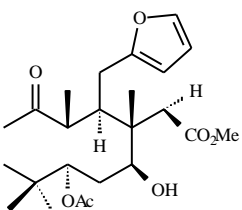
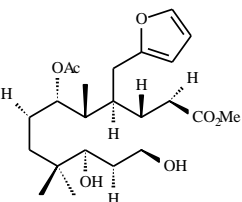
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Metil 1 α ,7 β -diacetoxi-5 α ,12 α - dihidroxi-cassa-13(15)-en- 16,12-olide-17 β -carboxilato (02)		<i>C. minax</i>	WU <i>et al.</i> ,2010
Metil7 β -acetoxi- 1 α ,5 α ,12 α - trihidroxi-cassa-13(15)-en- 16,12-olide-17 β carboxilato (03)		"	"
12 α -etoxi-1 α ,6 α , 7 β ,triacetoxi- 5 α 14 β -dihidróxi-cassa-13(15)- en-16,12-olide (04)		"	"
Caesalpinolideo-C (05)		<i>C. bonduc</i>	YADAV <i>et al.</i> ; 2009
Caesalpinolideo-D (06)		"	"
Caesalpinolideo-E (07)		"	"
Caesalpinista-A (08)		<i>C. crista</i>	YANG, YIN, HU.; 2009

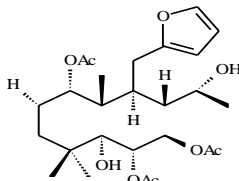
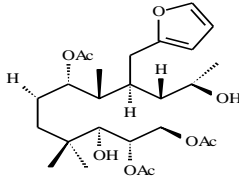
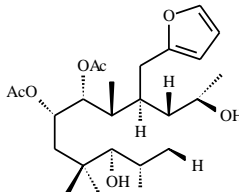
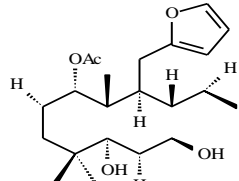
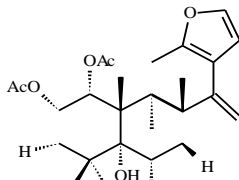
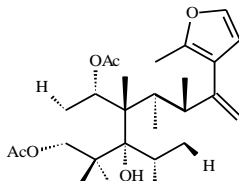
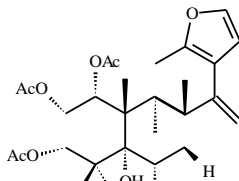
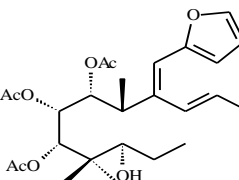
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalpinista-B (09)		<i>C. crista</i>	YANG, YIN, HU.; 2009
Caesaljapinista-B (10)		"	"
Caesaljapinista-C (11)		<i>C. crista</i>	"
Caesalpinilinn (12)		"	"
12 α -metóxi,5 α ,14 β -dihidroxi-1 α ,6 α ,7 β -triacetóxicassa-13(15)-en-16,12-olide (13)		<i>C. minax</i>	CHENG <i>et al.</i> ; 2009
Neocaesalpin-L (14)		"	"

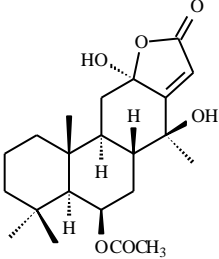
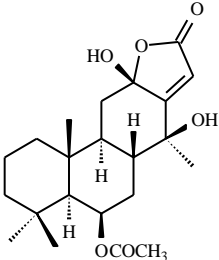
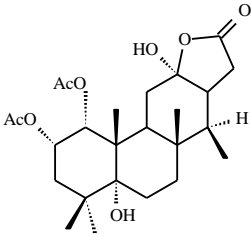
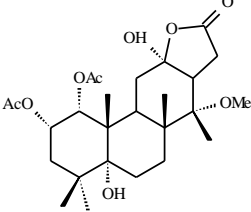
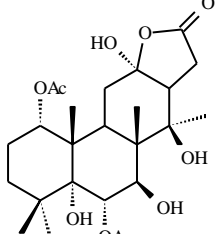
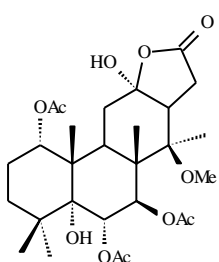
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalpínolideo-A (15)		<i>C. bonduc</i>	YADAV, SANJEEV; 2007
Caesalpinolideo-B (16)		"	"
Cordilano-A (17)		<i>C. mandagas- cariensis</i>	HOU <i>et al.</i> ; 2008
Cordilano-B (18)		"	"
Cordilano-C (19)		"	"
Cordilano-D (20)		"	"

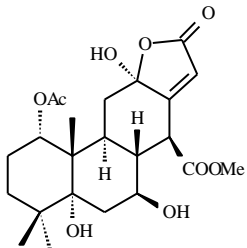
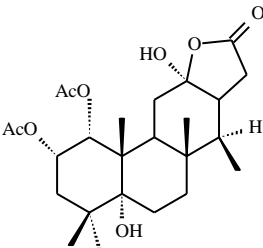
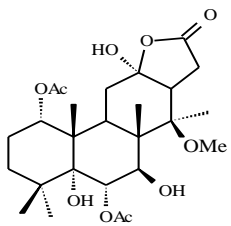
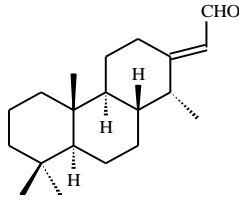
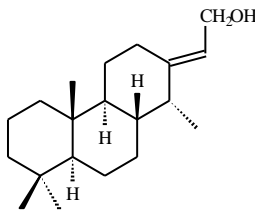
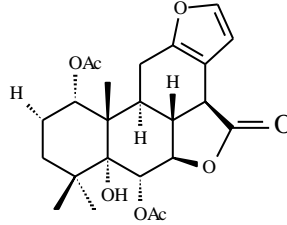
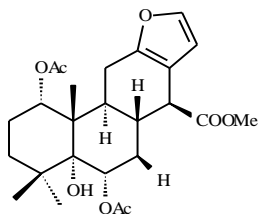
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Lonchocassano A (21)		<i>L. laxiflorus</i>	IGOLI <i>et al</i> , 2008
Lonchocassano B (22)		"	"
Lonchocassano C (23)		"	"
Magnicaesalpinideo (24)		<i>C. magnifoliata</i>	YIN, MA, HU.; 2008
Neocesalpinideo O (25)		"	"
Caesalminio D (26)		"	"
Caesalminio E (27)		"	"

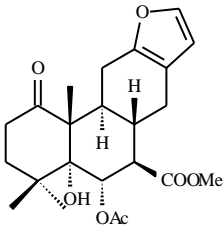
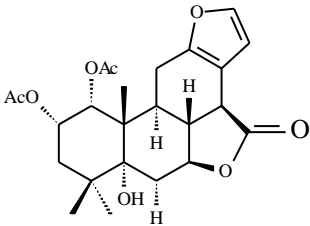
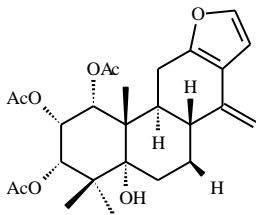
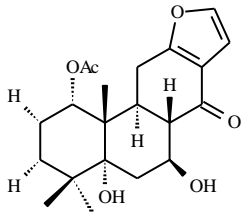
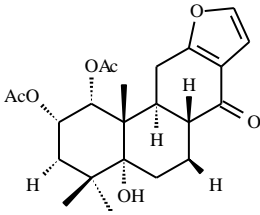
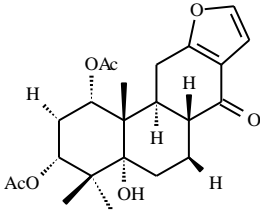
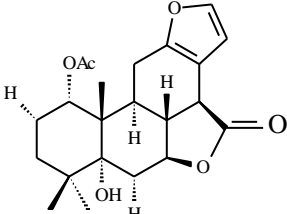
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Neocaesalpinideo L 28		<i>C. magnifoliata</i>	YIN, MA, HU.; 2008
Sucutinaranos A (29)		<i>B. nitida</i>	MATSUNO <i>et al.</i> ; 2008
Sucutinaranes B (30)		"	"
6 α -acetoxivouacapane (31)		"	"
6 α ,7 β - diacetóxivouacapane (32)		"	"
Bethaminin 1 (33)		<i>C. benthami- ana</i>	DICKSON, HOUGHTON, HYLAMDS.; 2007

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Bethaminin 2 (34)		<i>C. benthamiana</i>	DICKSON, HOUGHTON, HYLAMDS.; 2007
Caesaldekarin C (35)		"	"
Bonducelpin E (36)		<i>C. bonduc</i>	PUDHOM <i>et al.</i> 2007
Bonducelpin F (37)		"	"
Bonducelpin G (38)		"	"
Bonducelpin B (39)		"	"
Bonducelpin C (40)		<i>C. bonduc</i>	"

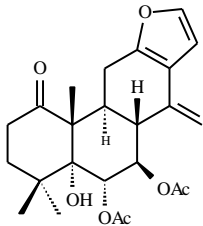
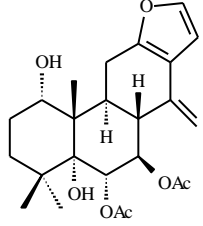
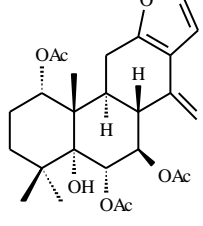
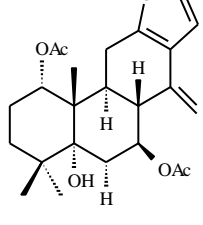
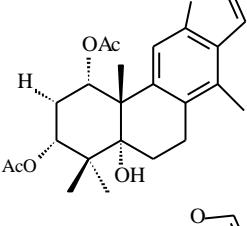
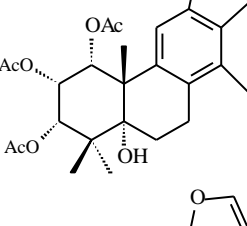
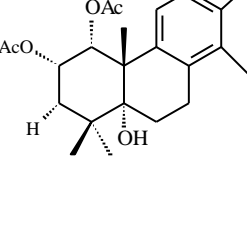
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalminio D (41)		<i>C. bonduc</i>	PUDHOM <i>et al.</i> 2007
Caesalminio E (42)		"	"
ε-Caesalpinideo (43)		"	"
Caesalpinideo K (44)		"	"
Caesalpinideo P (45)		"	"
Caesalpinideo C (46)		"	"
14(17)-Desidrocaesalpinideo F (47)		"	"
2-Acetoxi-caesalderakin (48)		"	"

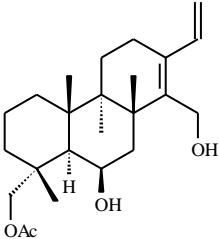
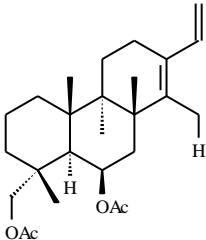
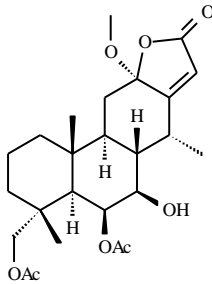
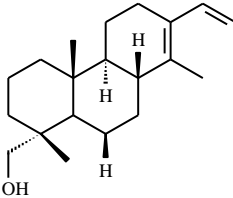
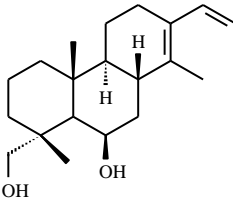
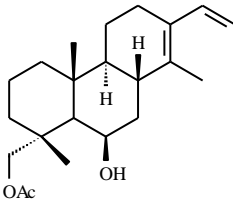
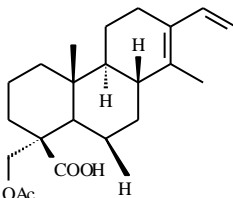
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalpinolideo A (49)		<i>C. bonduc</i>	YADAV <i>et al.</i> ; 2007
Caesalpinolideo B (50)		"	"
Neocaesalpinolideo J (51)		<i>C. minax</i>	LI, MA, HU,; 2006
Neocaesalpinideo K (52)		"	"
Neocaesalpinideo L (53)		"	"
Neocaesalpinideo M (54)		"	"

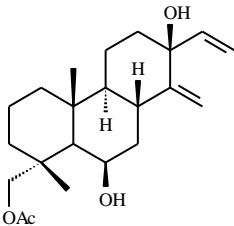
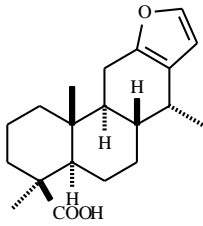
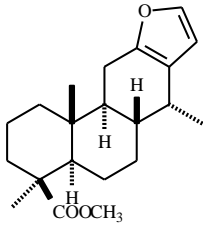
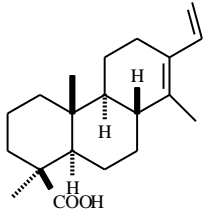
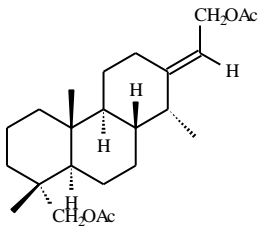
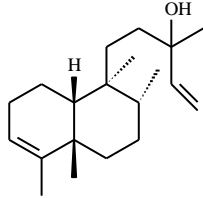
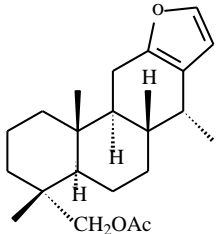
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Neocaesalpinolideo N (55)		<i>C. minax</i>	LI, MA, HU,; 2006
14-dioxi-ε-caesalpinolideo (56)		"	"
Neocaesalpinolideo H (57)		"	"
Taepeenideo J (58)		<i>C. crista</i>	CHEENPRACHA <i>et al.</i> ; 2006
Taepeenideo L (59)		"	"
Caesalpinideo D (60)		"	LINN <i>et al.</i> ; 2005
Caesalpinideo E (61)		"	"

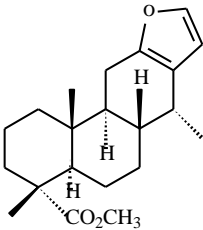
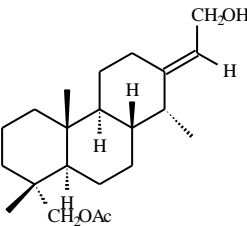
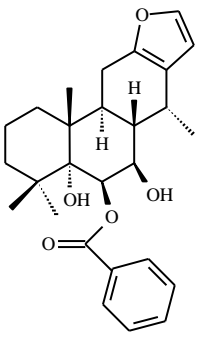
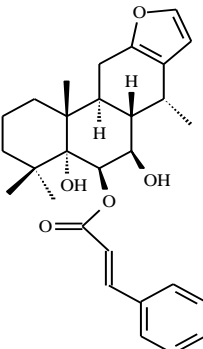
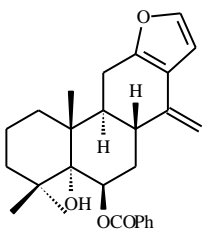
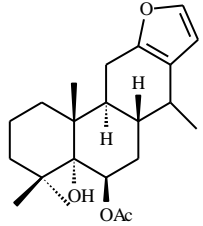
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalpinolideo F (62)		<i>C. crista</i>	LINN <i>et al.</i> ;2005
Caesalpinolideo G (63)		"	"
Norcaesalpinolideo D (64)		"	"
Norcaesalpinolideo E (65)		"	"
Norcaesalpinolideo A (66)		"	"
Norcaesalpinolideo B (67)		"	"
Caesalminio B (68)		"	"

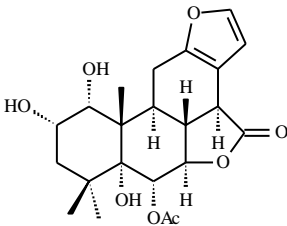
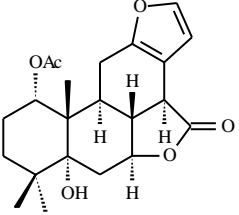
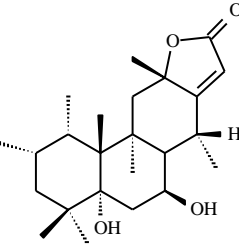
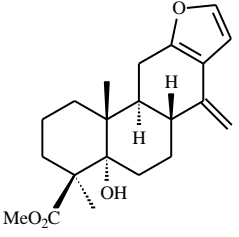
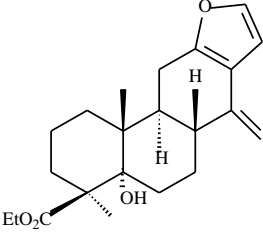
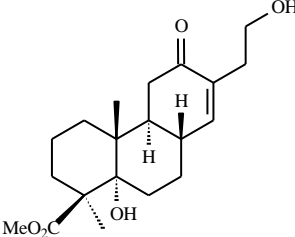
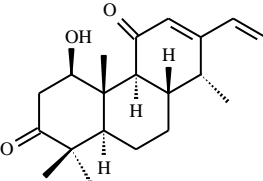
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
14(17)Desidrocaesalpinolideo F (69)		<i>C. crista</i>	LINN <i>et al.</i> ; 2005
Caesalpinolideo E (70)		"	"
Caesaldecano (71)		<i>C. decapeta</i>	KIEM <i>et al.</i> ; 2005
Caesalpinideo MM (72)		<i>C. crista</i>	KALAUNI <i>et al.</i> ; 2005
Caesalpinideo MN (73)		"	"
Caesalpinideo MO (74)		"	"
Caesalpinideo MP (75)		"	"

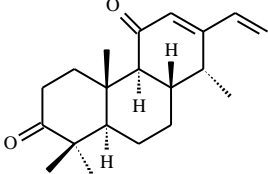
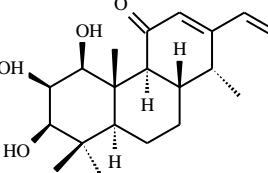
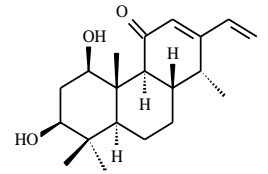
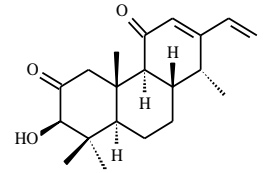
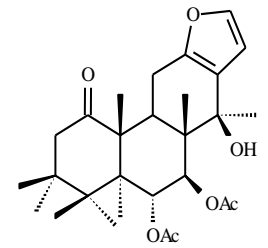
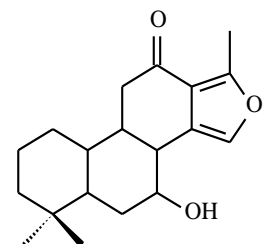
COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
1-Deacetoxi-1oxocaesalpinideo C (76)		C. crista	KALAUNI <i>et al.</i> ; 2005
1-Diacetilcaesalminio C (77)		"	"
Caesalminio C (78)		"	"
Bonducellpinolideo C (79)		"	"
Caesaldekarin (80)		"	"
2-Acetoxicaesaldecarin (81)		"	"
2-Acetoxi-3-desacetoxicaesaldecarin (82)		"	"

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Chagresnol 83		<i>M. frutescens</i>	MEDONZA <i>et al.</i> ; 2004
6 β ,18Diacetoxicassan-13,15,dieno (84)		"	"
Chagreslactona (85)		"	"
18-Hidroxicassan-13,15-dieno (86)		"	MEDONZA <i>et al.</i> ; 2003
6 β -18-Dihidroxicassan-13,15dieno (87)		"	"
6 β -Hidroxi-18-acetoxicassan-13,15dieno (88)		"	"
Ácido-18acetoxi-13,15dien-19cassanóico (89)		"	"

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
6 β ,13 β Dihidróxi-18-acetóxicassan-14(17),15 dieno. (90)		<i>M. frutescens</i>	MEDONZA <i>et al.</i> ; 2003
Ácido vouacapenóico (91)		<i>V. americana</i>	KIDO, TANIGUSHI, BABA.; 2003
Metil vouacapanato (92)		"	"
Ácido cassa-13(14),15-dien-19-oico (93)		"	"
16,18-Diacetóxicassa13(15)-eno (94)		<i>P. reticulata</i>	LEAL, LIMA, SILVEIRA.; 2003
Plathyterpol (95)		"	"
Acetato de Vinhaticil (96)		"	"

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Metil vinhaticoato (97)		<i>P. reticulata</i>	LEAL, LIMA, SILVEIRA.; 2003
16-Hidroxi-18-acetoxicassa-13(15)eno (98)		"	"
6β-Benzoil-7β-hidroxivouacapeno-5α-ol (99)		<i>C. pulcherrima</i>	PRORNSAWAN <i>et al.</i> ; 2003
6β-Cinnamoil-7β-hidroxivouacapeno-5α-ol (100)		"	"
Isovouacapenol E (101)		"	RAGASA <i>et al.</i> ; 2003
Caesaldekarin A (102)		"	"

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Caesalmineo A (103)		<i>C. minax</i>	JIANG <i>et al.</i> ; 2001
Caesalmineo B (104)		"	"
Neocaesalpin B (105)		<i>C. bonduc</i>	KINOSHITA <i>et al.</i> ; 2000
Neocaesalpin D (106)		"	"
Caesaldekarin C (107)		<i>C. bonduce- lla</i>	PETER <i>et al.</i> ; 1998
Caesaldekarin G (108)		"	"
Fitocassano A (109)		<i>O. sativa</i>	KOGA <i>et al.</i> ; 1997

COMPOSTO	ESTRUTURA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Fitocassano B (110)		<i>O. sativa</i>	KOGA, <i>et al.</i> ; 1997
Fitocassano C (111)		"	"
Fitocassano E (112)		"	"
Fitocassano D (113)		"	"
Caesalpinolideo (114)		<i>C. Bonducella</i>	PETER, TINTO,; 1997
Chamaetaxano A (115)		<i>C. flexuosa</i>	BARBA <i>et al.</i> ;1992

3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

3.1 Determinação de Estrutural de CS1 (116)

A fração diclorometano, resultante da coluna filtrante do extrato etanólico das raízes de *C. sessilis* foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas, da qual obteve-se um sólido branco amorfo denominado CSI (79).

O espectro de absorção na região do infravermelho exibiu uma banda centrada em 3440 cm^{-1} indicativa de deformação axial de ligação OH; absorções referentes a deformação axial de ligação C-H (Csp^3) em 2954 e 2850 cm^{-1} ; uma banda em 1641 cm^{-1} compatível com deformação axial de C=C de olefina, além de uma banda em 1039 cm^{-1} representativa de deformação axial de ligação C-O (Silverstein, 2007).

O espectro de RMN ^1H (Fig. 4, pág. 29) apresentou vários sinais entre δ 0,85 a 1,29 correspondentes a grupos metílicos, sinais entre δ_{H} 1,33 a 2,34 que podem ser atribuídos a grupos metilênicos bem como um multiplete em δ_{H} 3,5 referente a hidrogênio oximetínico (C-3). Também, apresentou sinais em δ_{H} 4,99 e 5,36 referentes a hidrogênios olefínicos. Estes sinais foram compatíveis com a presença de fitoesteroides (Kojima *et al.*, 1990).

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 5, pág. 29) mostrou a presença de oito linhas espectrais na região de carbonos olefínicos (δ_{C} 117,6, 121,9, 129,5, 129,7, 138,3, 138,5, 139,7 e 140,9), o que sugere a presença de 4 duplas ligações. Estes sinais foram característicos de metabólitos com esqueletos estereoidais quando insaturações estão localizadas entre C-5 e C-6 (δ_{C} 140,7-121,7), C-7 e C-8 (δ_{C} 117,5 e 138,1) e C-22 e C-23 (δ_{C} 129,5 e 140,8) (Zanon *et al.*, 2008). A comparação não só destes valores, assim como com todos dos demais valores de carbono-13 com aqueles descritos na literatura (Tabela 03, pág. 28) revelou que CS1 tratava-se de uma mistura ternária dos esteróides β -sitosterol, estigmasterol e espinasterol. Estes fitoesteróides tem em comum uma hidroxila β -posicionada em C-3 sendo que para os compostos β -sitosterol e estigmasterol este carbono aparece em δ_{C} 71,8, enquanto, para o espinasterol o deslocamento químico de C-3 aparece em δ_{C} 71,0 (Kojima *et al.*, 1990).

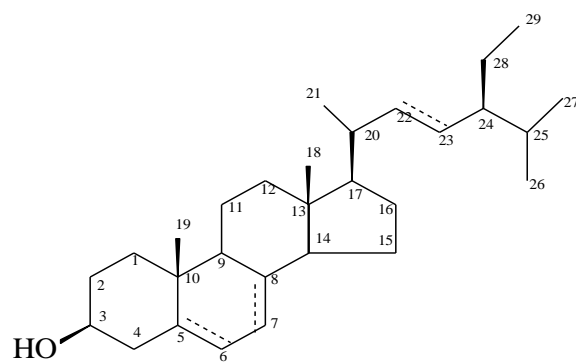


Figura 03 - Estruturas de CS-1

Δ^5 = β -Sitosterol

Δ^{7-22} = Espinasterol

Δ^{5-22} = Estigmasterol

Tabela 03 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) de CS1.

C	β -Sitosterol		Estigmasterol		Espinasterol	
	Literatura	Experimental	Literatura	Experimental	Literatura	Experimental
1	37,2	37,3	37,1	37,3	37,1	37,3
2	31,6	31,7	31,4	31,7	31,4	31,7
3	71,8	71,6	71,0	71,1	71,0	71,1
4	42,3	42,4	38,0	37,3	38,0	37,3
5	140,7	140,9	40,2	40,5	40,2	40,5
6	121,7	121,9	29,6	28,9	29,6	28,9
7	31,9	31,8	117,4	117,5	117,4	117,5
8	31,9	31,7	139,5	138,3	139,5	138,3
9	50,1	50,4	49,4	50,1	49,4	50,1
10	36,6	36,7	34,4	36,6	34,4	36,6
11	21,1	21,2	21,5	21,2	21,5	21,2
12	39,9	39,9	39,4	40,5	39,4	40,5
13	42,3	42,4	43,3	42,3	43,3	42,3
14	56,6	56,3	55,1	56,0	55,1	56,0
15	24,3	24,5	23,0	23,0	23,0	23,0
16	28,8	28,7	28,5	28,3	28,5	28,3
17	56,0	56,1	55,8	56,0	55,8	56,0
18	11,9	12,0	12,0	12,1	12,0	12,1
19	19,4	19,1	13,0	12,3	13,0	12,3
20	36,1	36,7	40,8	40,5	40,8	40,5
21	18,8	19,1	21,4	21,1	21,4	21,1
22	33,9	34,1	138,8	148,3	138,8	148,3
23	26,6	26,4	129,4	129,3	129,4	129,3
24	45,5	45,1	51,2	51,2	51,2	51,2
25	29,1	29,1	31,9	31,9	31,9	31,9
26	19,9	19,6	21,1	21,1	21,1	21,1
27	19,0	19,1	19,4	19,4	19,4	19,4
28	23,0	23,2	25,4	25,6	25,4	25,6
29	12,0	12,1	12,3	12,3	12,3	12,3

❖ Kojima *et al.*, 1990 (Solv. CDCl_3)

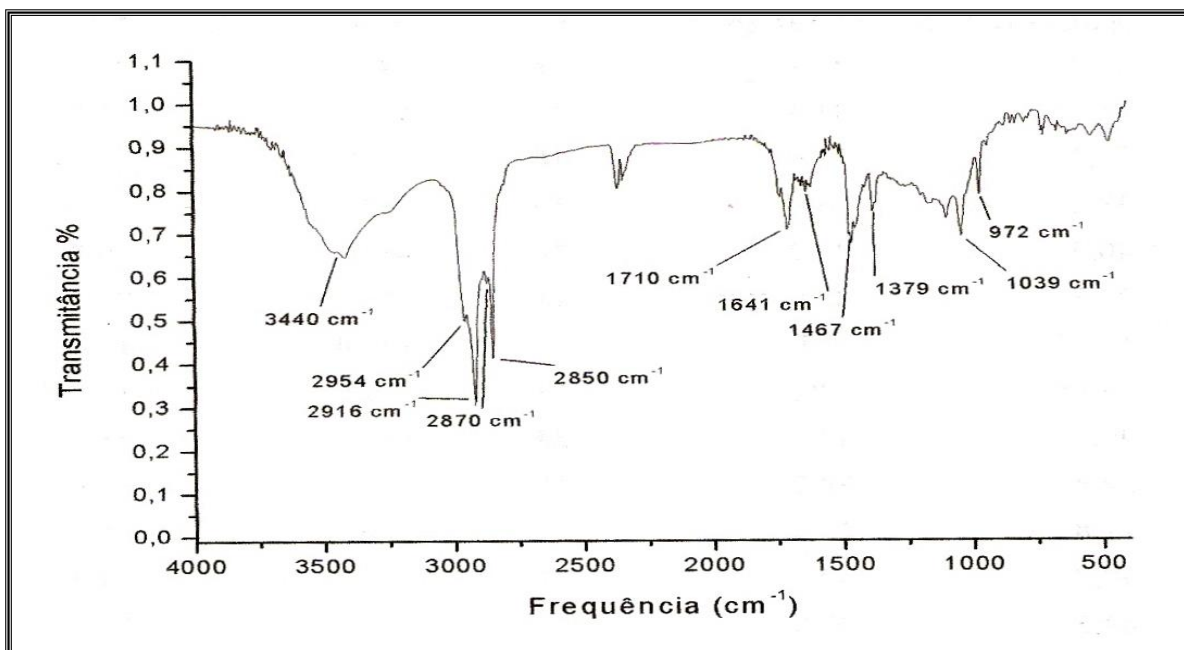


Figura 04 - Espectro na região de infravermelho de CS1 (KBr)

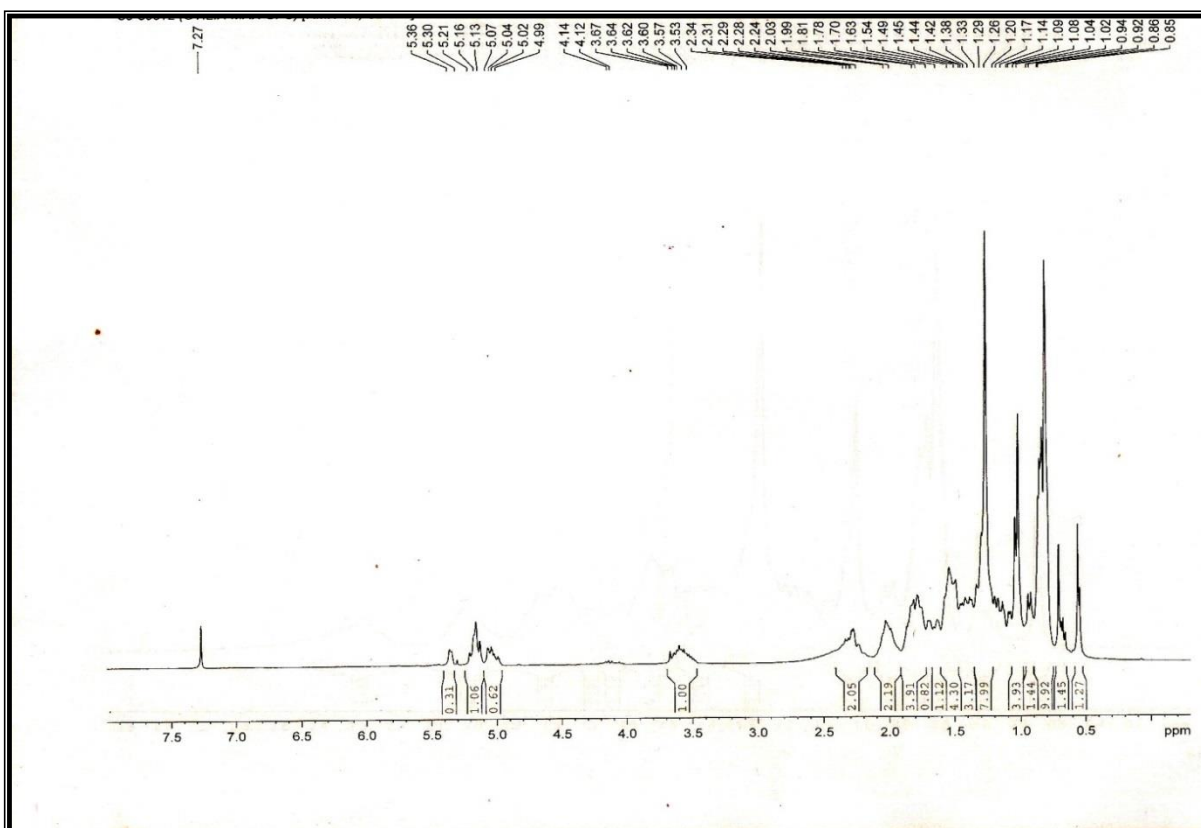


Figura 05 - Espectro de RMN ¹H de CS1 (CDCl₃, 300 MHz)

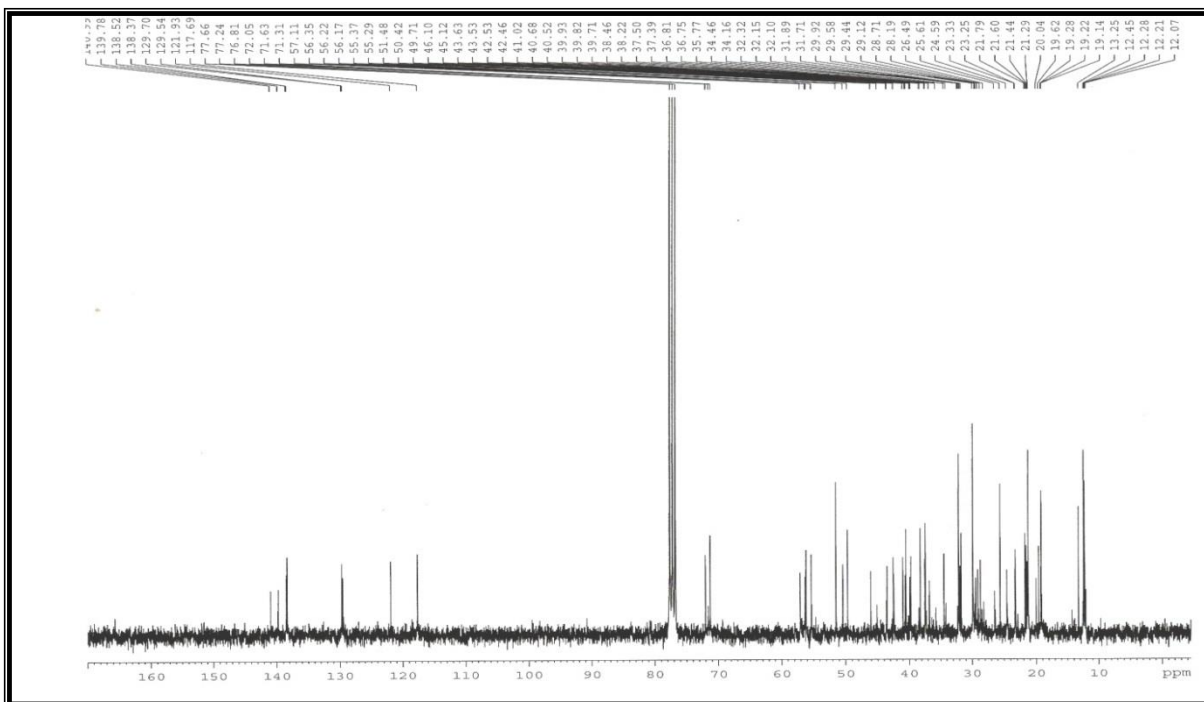


Figura 06 - Espectro de RMN ^{13}C de CS1 (CDCl_3 , 125 MHz)

3.2 Determinação Estrutural de CS2 (117)

A substância codificada como CS2 foi isolada da fração diclorometano do extrato etanólico das raízes de *C. sessilis* sob a forma de um sólido branco com faixa de fusão de 220,2 – 223,3 °C.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 8 pág. 33) revelou uma banda de absorção em 3413 cm⁻¹ característica de deformação axial de ligação O-H; absorções referentes a deformação axial de ligação C-H (sp³) em 2942 e 2873 cm⁻¹; duas bandas, uma em 1760 e outra em 1689 cm⁻¹ associadas a deformação axial de ligação C=O; além de absorções em 1252 e 1200 cm⁻¹ características de deformação axial de ligação C-O [Silverstein, 2007].

Os espectros de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) (Fig.10, pág. 34) e DEPT 135° (Fig .11, p. 34) apresentaram sinais correspondentes a vinte átomos de carbonos, sendo cinco sinais de carbonos metínicos, um dos quais com hibridização sp² (δ_C 135,4); quatro carbonos metilênicos (δ_C 21,2, 31,7, 40,2, 51,3) e quatro metílicos (δ_C 14,1, 14,8, 16,7, 29,3). A diferença dos referidos espectros revelou a presença de sete carbonos não-hidrogenados dos quais os sinais em δ_C 210,2 e 195,2 foram característicos de carbonilas de cetona, a última conjugada.

A fórmula molecular C₂₀H₂₆O₄, deduzida para CS2, foi determinada através da análise dos espectros de RMN ¹³C, em combinação com o espectro de massa de alta resolução (EMAR) (Fig .19, pág. 38), obtido por ionização por *electrospray* no modo positivo, o qual forneceu o pico em *m/z* 331,1769 ([M + H]⁺) correspondente a molécula protonada.

O espectro de RMN ¹H (Fig.9, pág 33) de CS2 mostrou quatro sinais referentes a hidrogênios de grupos metílicos em δ_H 0,73, 0,93, 1,20 e 2,55, um singleto em δ_H 3,93 referente a hidrogênio oximetínico, além de um singleto em δ_H 7,07 referente a hidrogênio de dupla ligação.

Através do espectro ¹H, ¹H COSY (Fig. 12 pág. 35) foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_H 2,55 (H-1a) com o hidrogênio em δ_H 2,20 (H-1b), o acoplamento entre o hidrogênio em δ_H 1,89 (H-6a) com o hidrogênio δ_H 1,62(H-6b) e destes com o hidrogênio δ_H 1,20 (H-5), além do acoplamento do sinal em δ_H 0,73 (H-18) com δ_H 1,79 (H-19).

Por meio do espectro HSQC (Fig. 17 Pág. 37) cada sinal de hidrogênio foi devidamente correlacionado ao seu respectivo sinal de carbono, inclusive os sinais em δ_H 2,55 (d, *J* = 12,4 Hz) e 2,20 (d, *J* = 13,0) com o sinal de carbono em δ_C 51,3 (C-1).

No espectro HMBC foram observados correlações dos sinais em δ_H 2,55 (H-1a) e 3,93 (H-3) com o sinal de carbono em δ_C 210,2 (C-2) bem como de H-1a com δ_C 29,3 (C-18), confirmando a posição da carbonila em C-2. Também foram visualizados correlações a mais de uma ligação entre os sinais δ_C 29,3 e 14,8 referentes aos carbonos C-18 e C-20, respectivamente, com o sinal δ_H 3,93 referente ao hidrogênio oximetilênico em C-3. Foi observado ainda o acoplamentos do sinal de carbono C-9 (δ_C 53,8) com os hidrogênios de C-19.

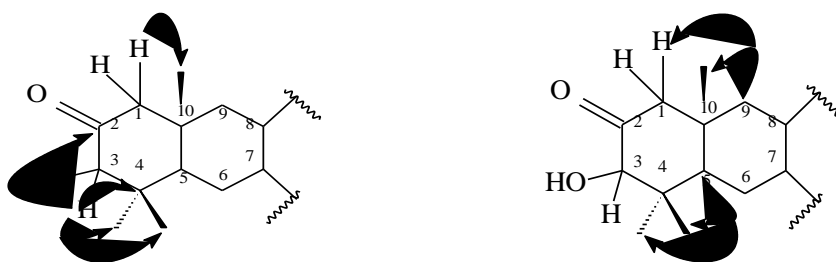


Figura 7 - Acoplamentos a longa distância (1H , ^{13}C -HMBC) para CS2.

A presença de um anel furânico na estrutura de CS2 foi evidenciado através dos sinais δ_C 129,8; 117,6; 157,3; e 135,4. A comparação com dados da literatura [Berta *et al*, 1992] permitiu posicionar de forma inequívoca o anel furânico nos carbonos C-13 e C-14, assim como a confirmação da posição da carbonila em C-2 e a posição da hidroxila em C-3 [Knioshita *et al*, 2000] conforme descritos na Tabela 04.

De acordo com as informações aqui descritas pode-se concluir que a substância em discussão trata-se de um novo diterpeno de esqueleto cassano cuja estrutura foi estabelecido como 2,12-dioxo-3-hidróxi-15,17-epóxi-cassa-13(15),14(17)-dieno, o qual está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

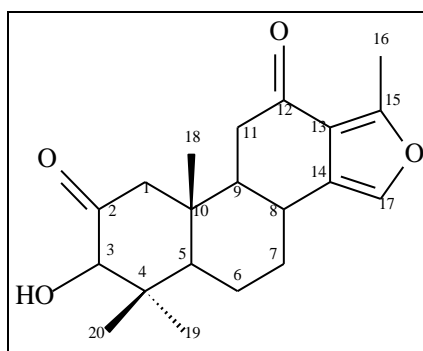
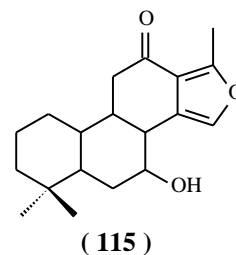
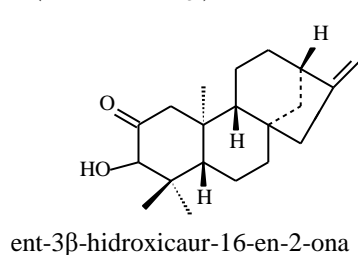
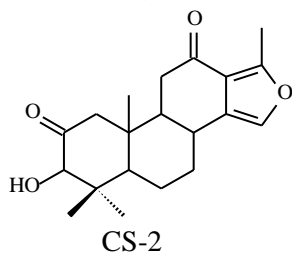


Figura 08 - Estrutura de CS-2

Tabela 04 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) e ^{13}C (125 MHz) de CS2.

C	CS-2	ent-3 β -hidroxicaur-16-en-2-ona	(115)	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	51,3	53,4	38,7	a 2,55 (d, $J = 13,0$ Hz)/ b 2,20 (d, $J = 13,0$)		
2	210,2	210,0	18,5		H-3: H1a, b H1	
3	82,8	82,8	41,6	3,93 (s)		aH1:
4	45,7	45,3	33,1		H-3:3H-19:3H-18	b H6:
5	53,3	55,4	52,1	1,79 (td, $J = 13,5;3,0$)		
6	21,2	20,1	32,1	a 1,89/ b 1,62(m)		
7	31,7	39,2	75,6	a 2,37(m) /b 1,45(m)		
8	32,3	45,5	40,4	2,63(td, $J =,9,0;4,3;1,6$)		
9	53,8	55,4	52,0	1,86 (m)		
10	43,3	44,3	36,4		3H-20, H-1a, H-1b	
11	40,2	18,4	39,8	a 2,37 (m)/ b 2,42		
12	195,2	32,8	196,0			
13	129,8	43,3	127,7			
14	117,6	40,5	117,6			
15	157,3	48,7	156,4		3H-16	
16	14,1	154,9	13,7	2,55(s)		
17	135,4	103,6	137,2	7,07(d, $J = 1,7$)		
18	29,3	29,7	29,3	1,20 (s)		
19	16,7	18,6	21,7	0,73 (s)		
20	14,8	16,4	14,0	0,93 (s)		

Berta *et al*, 1992, Knioshita *et al*, 2000 (Solv. CDCl_3)



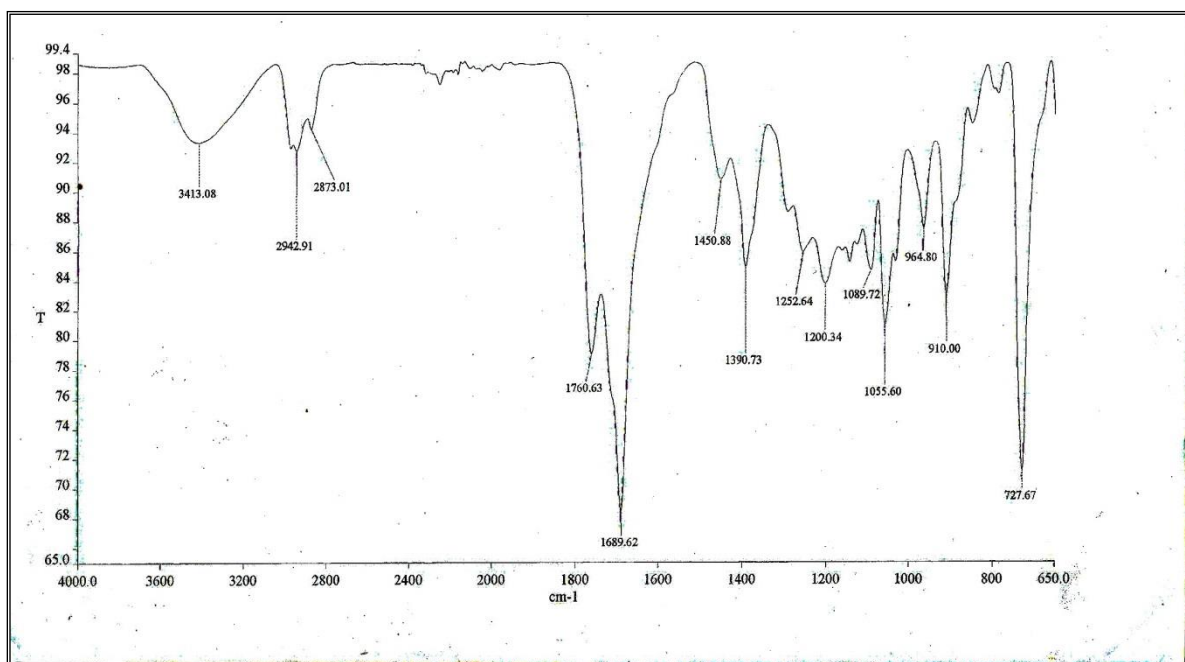


Figura 9 - Espectro na região de infravermelho de CS₂ (KBr)

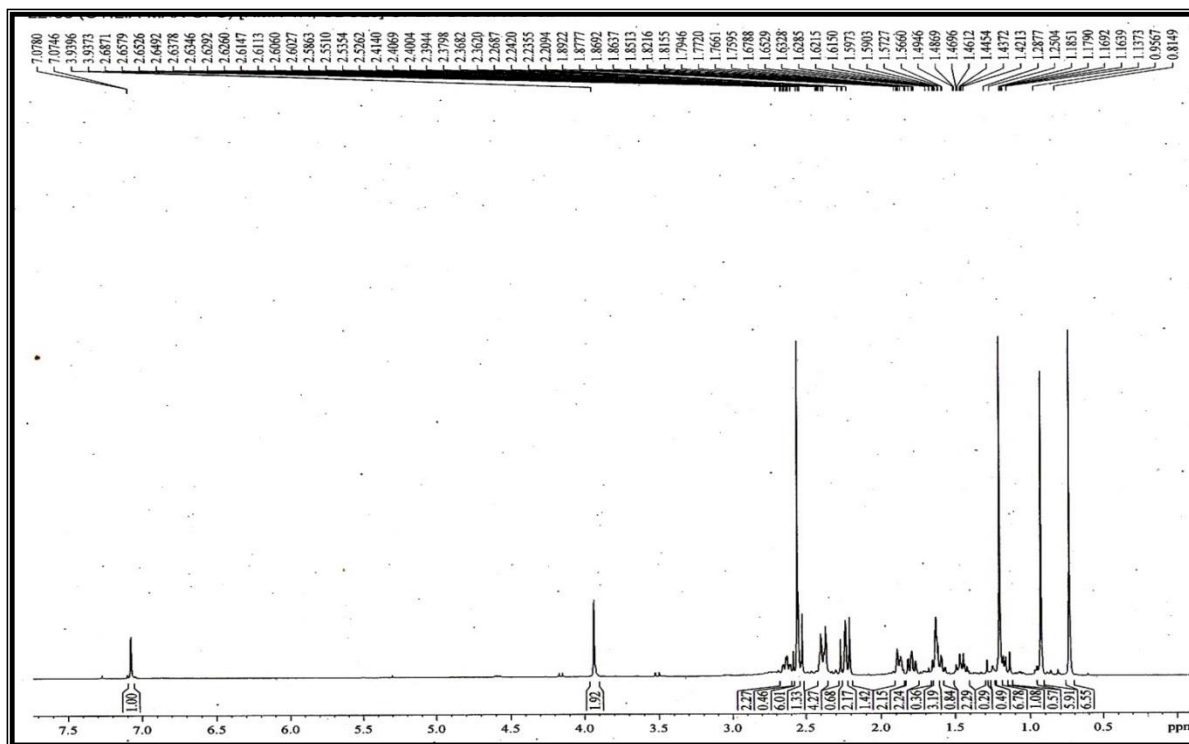


Figura 10 - Espectro de RMN ¹H de CS₂-(CDCl₃, 500 MHz)

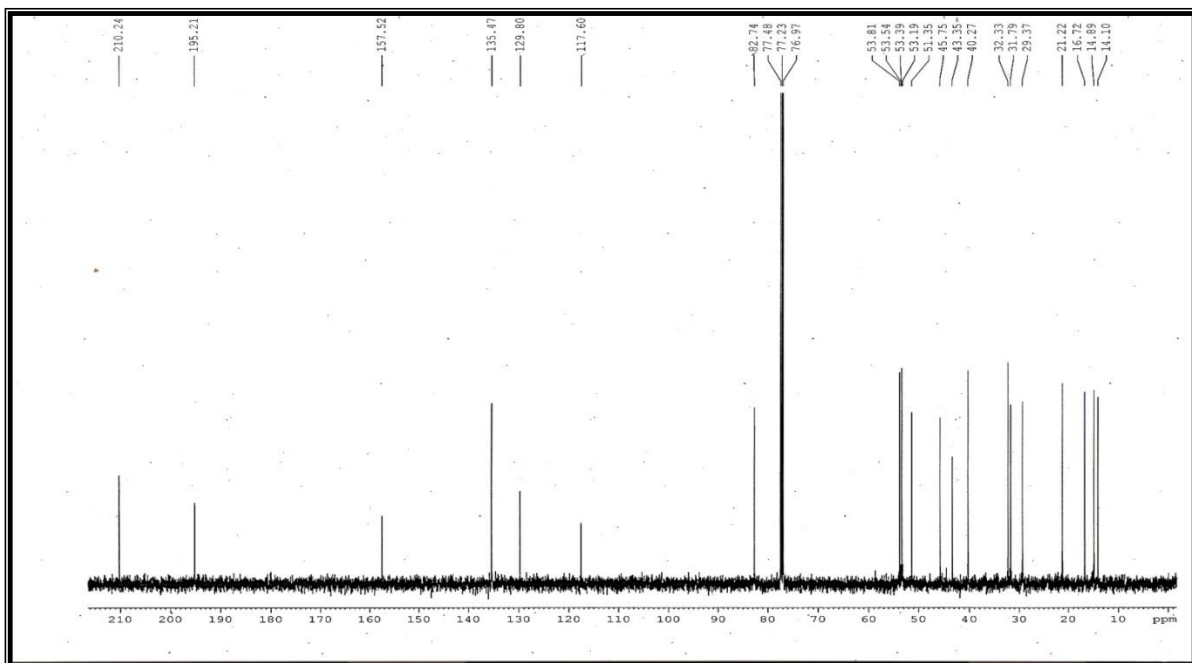


Figura 11 - Espectro de RMN ^{13}C de CS₂ -(CDCl₃, 125 MHz)

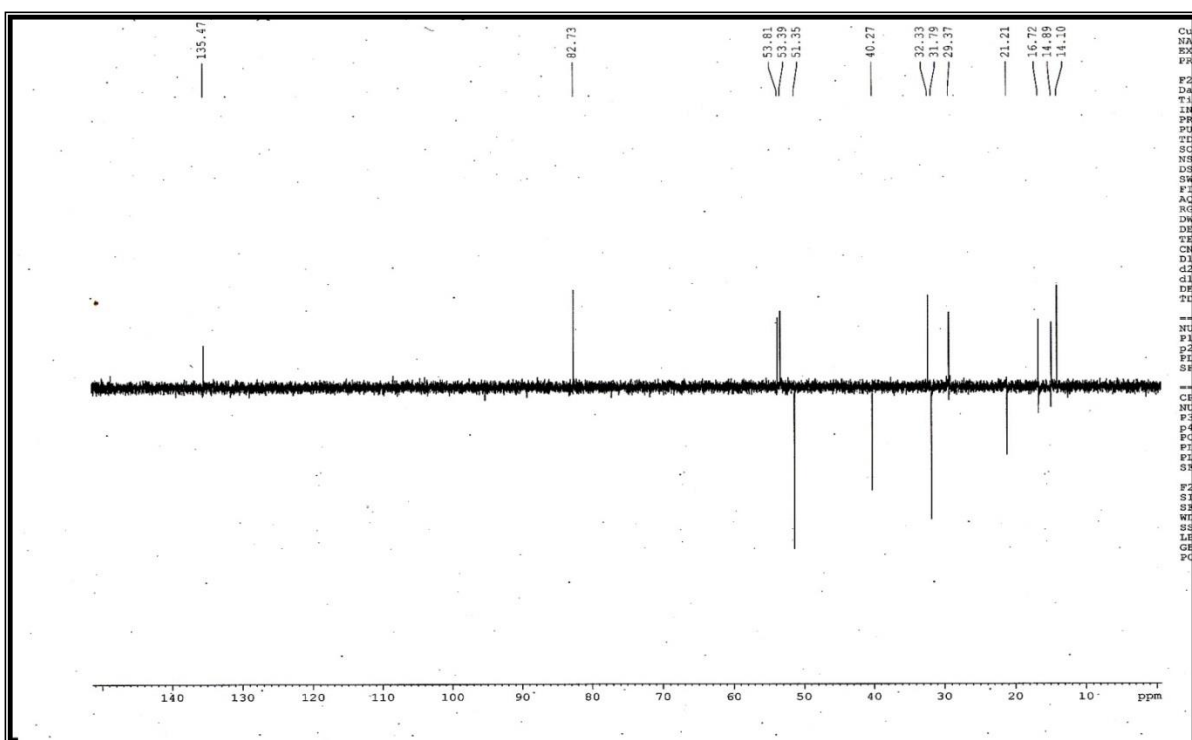


Figura 12 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CS₂ -(CDCl₃, 125MHz)

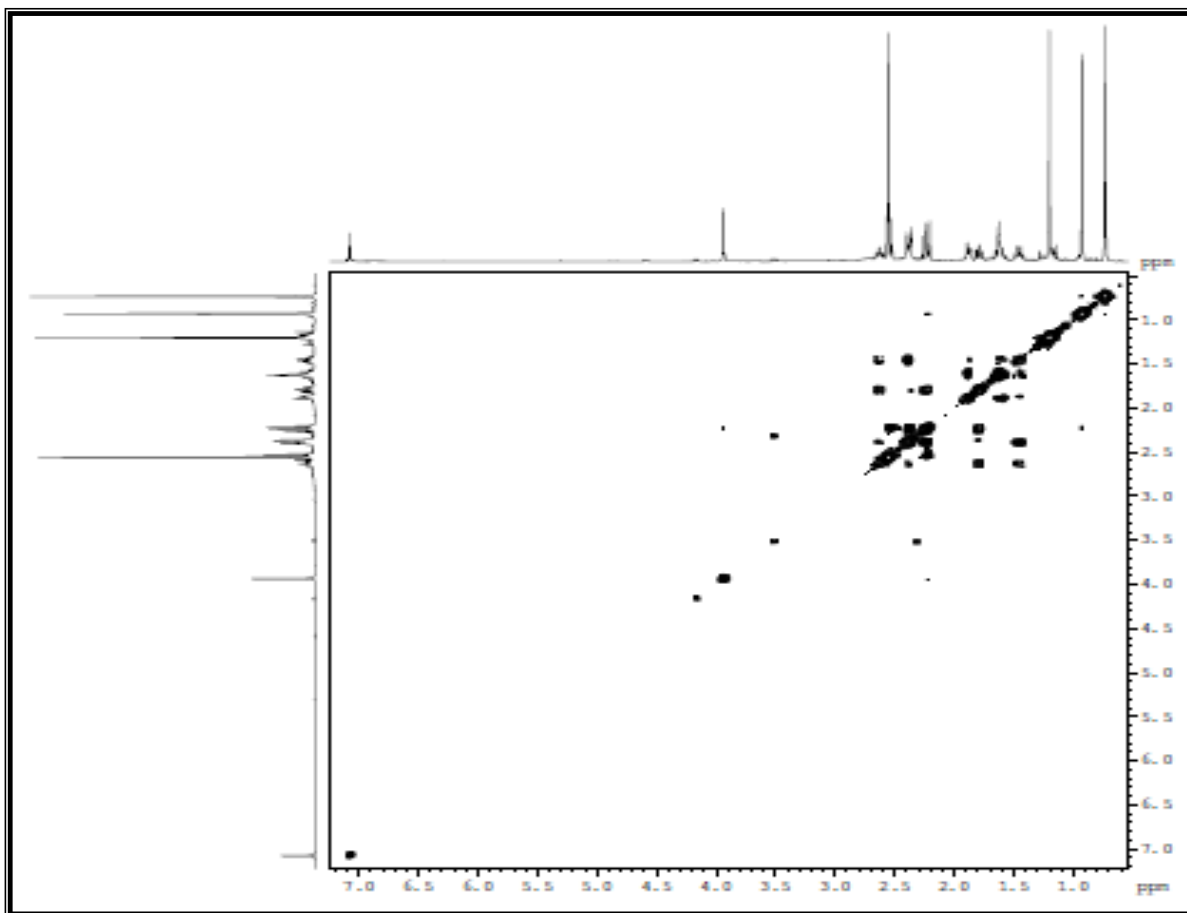


Figura 13 - Espectro de RMN ^1H , ^1H -COSY CS₂-(CDCl₃, 500 MHz)

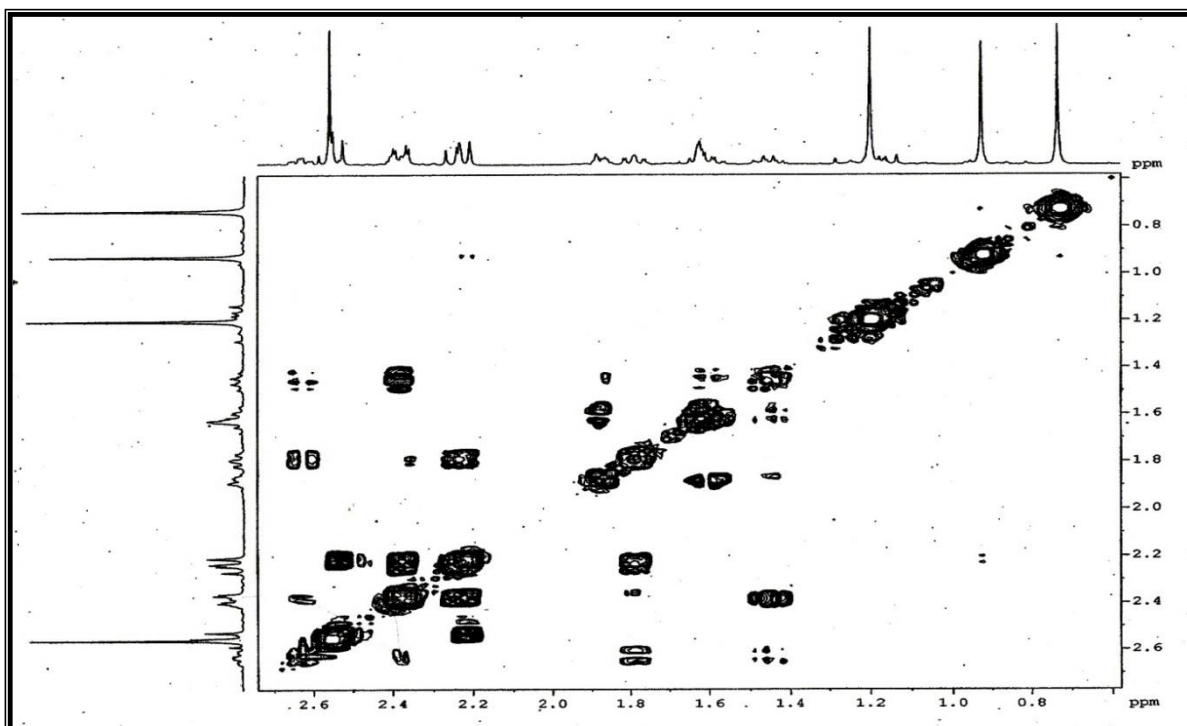


Figura 14 - Expansão de RMN ^1H , ^1H -COSY CS₂-(CDCl₃, 500 MHz)

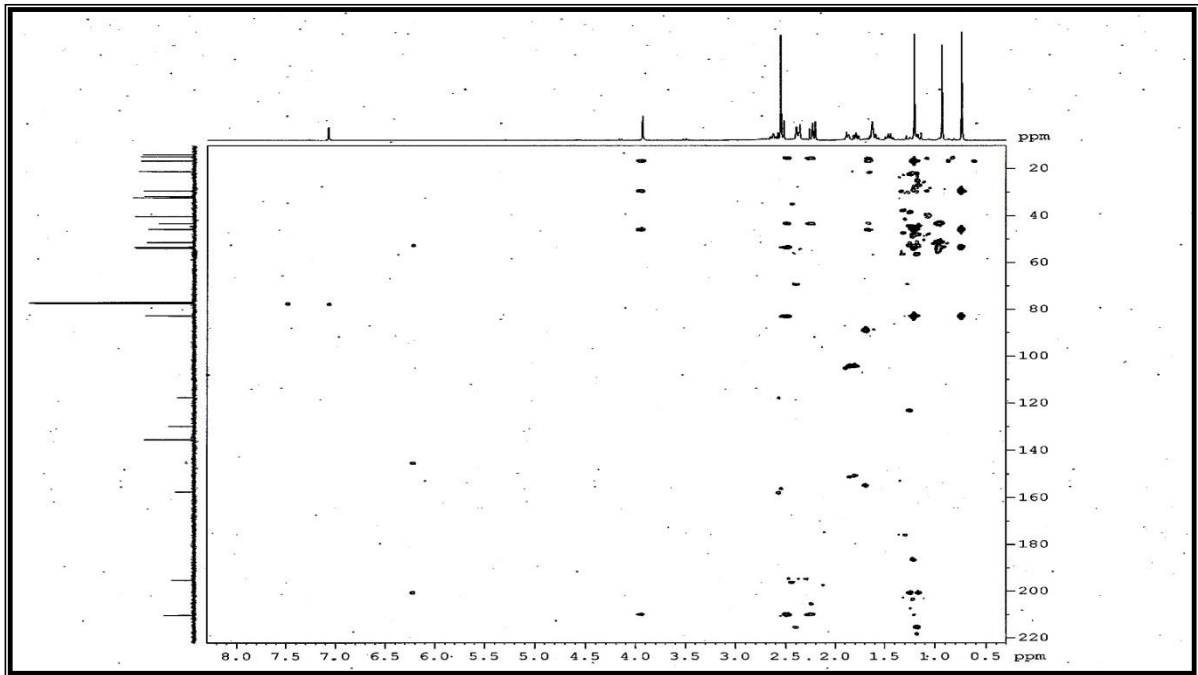


Figura 15 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS_2 -(CDCl_3 , 500 MHz)

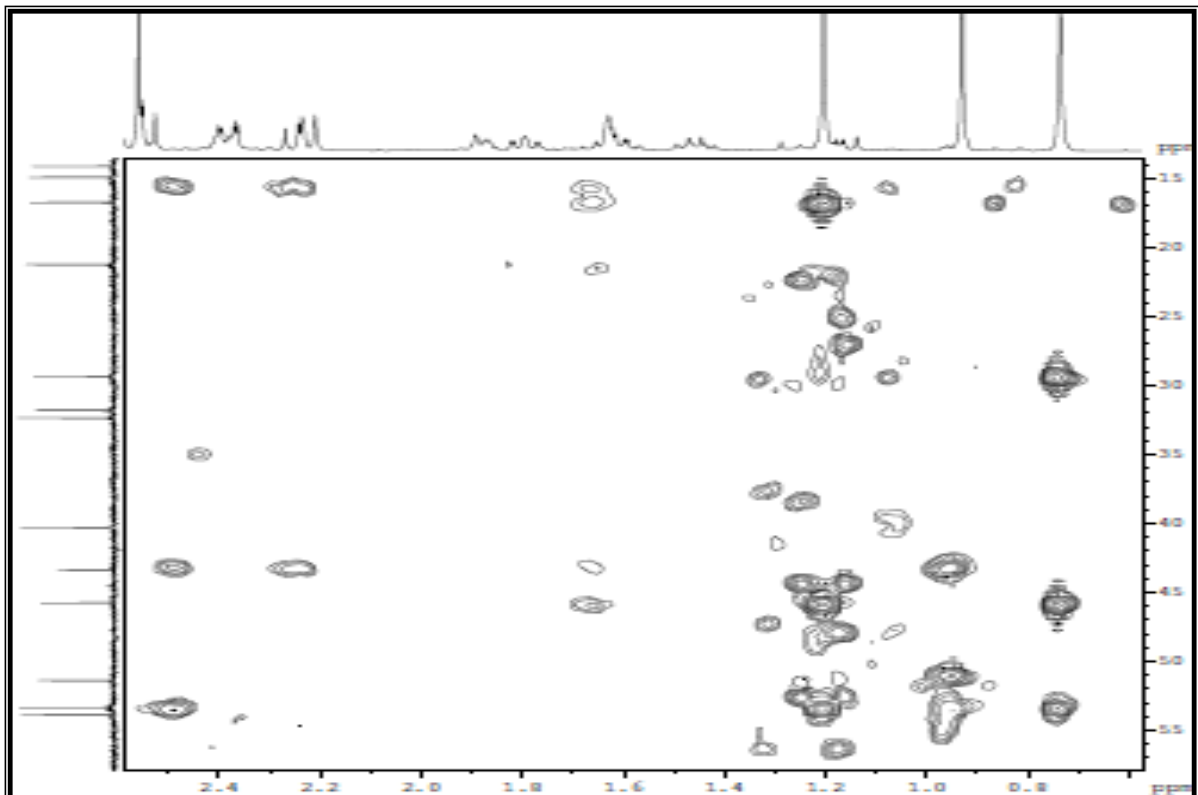


Figura 16 - Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS_2 -(CDCl_3 , 500 MHz)

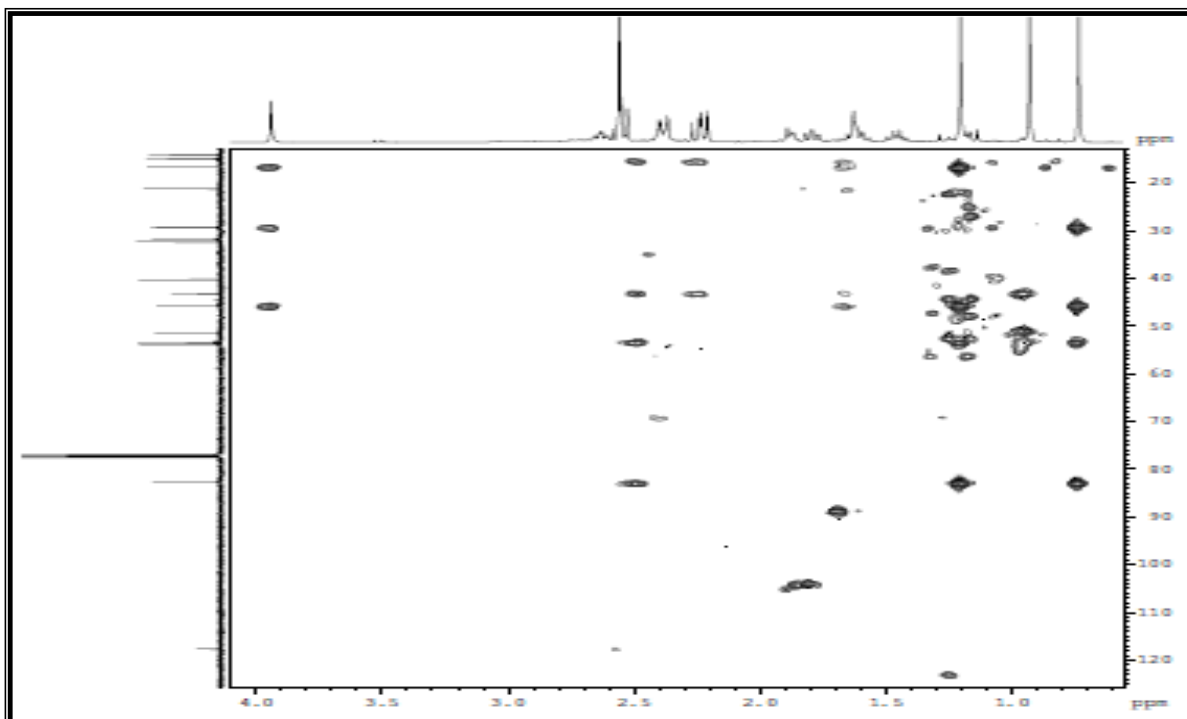


Figura 17 - Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CS_2 -(CDCl_3 , 500 MHz)

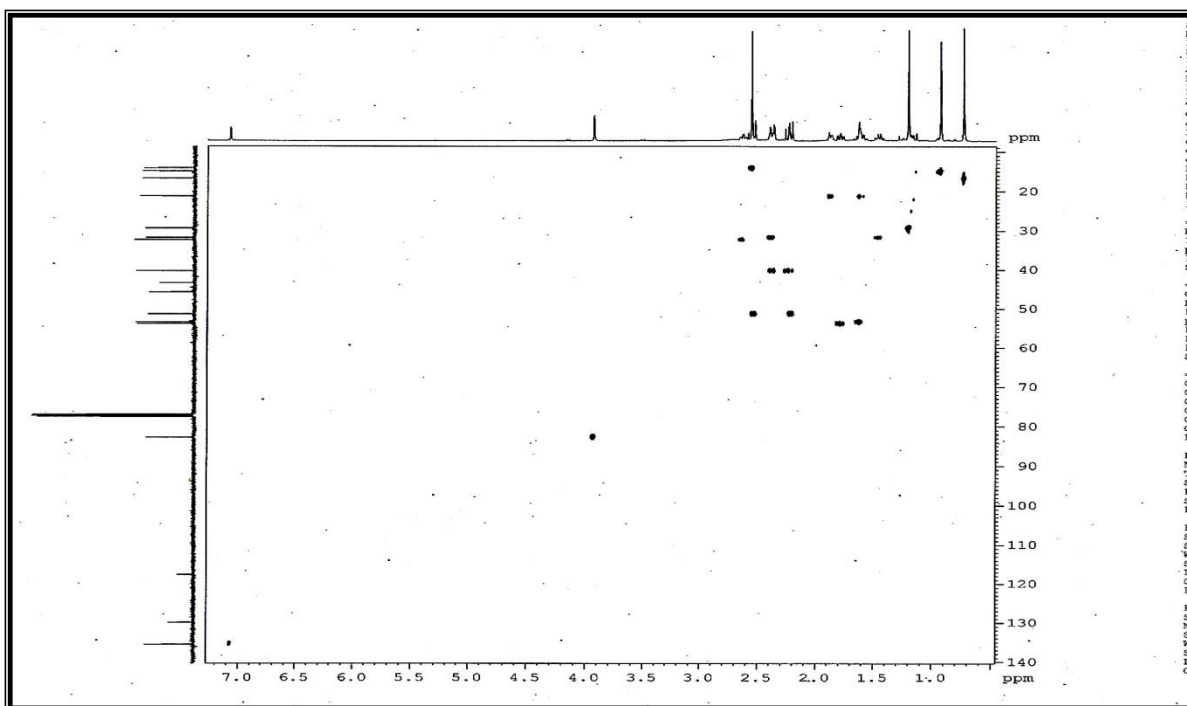


Figura 18 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CS_2 - (CDCl_3 , 500 MHz)

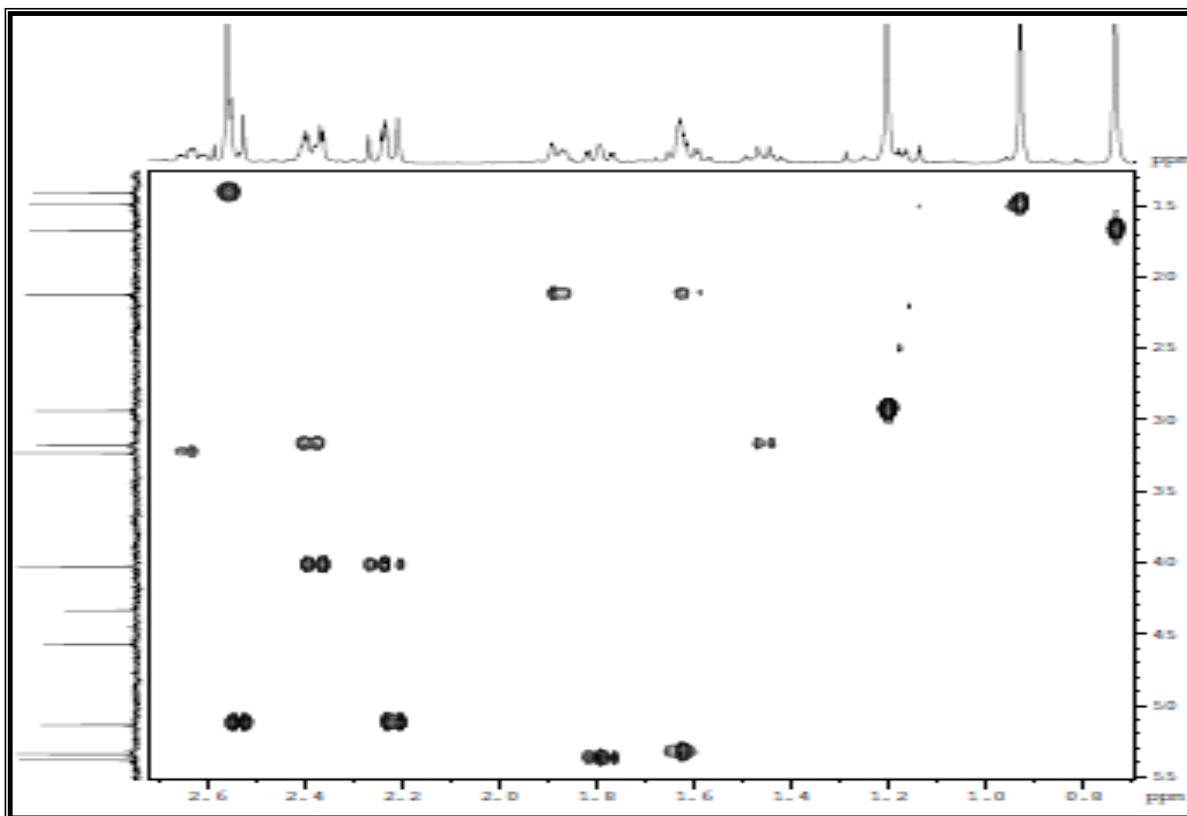


Figura 19 - Expansão de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CS2- (CDCl_3 , 500 MHz)

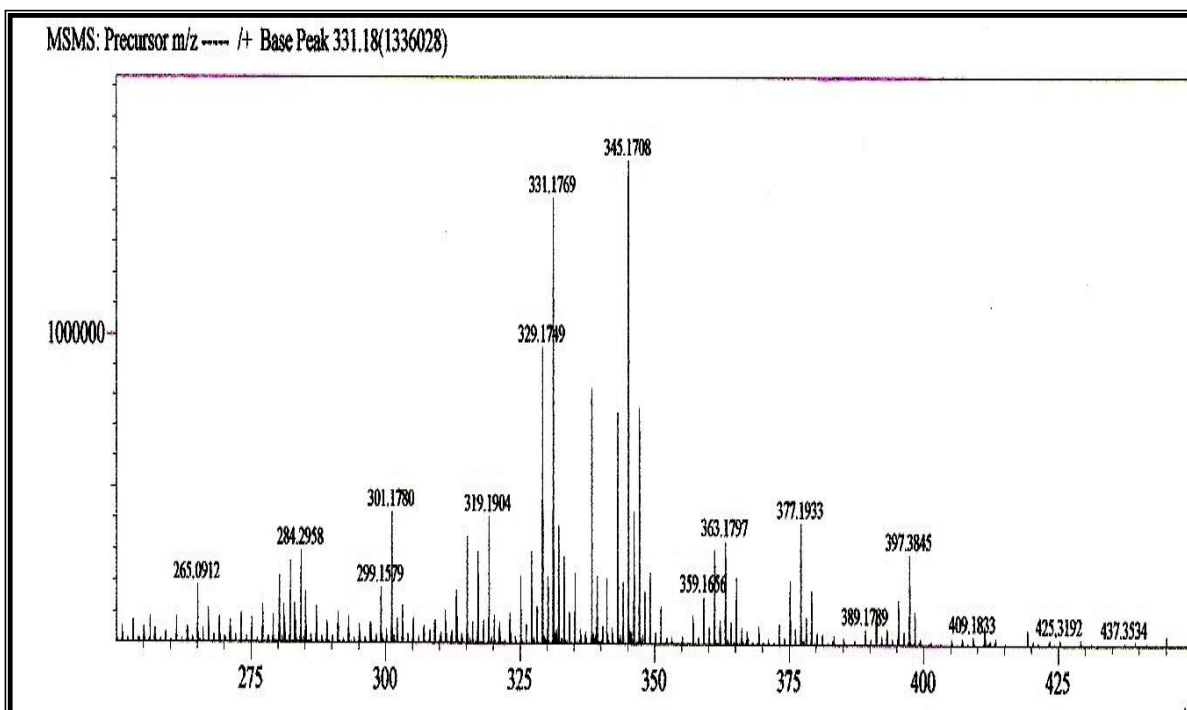


Figura 20 - Espectro de massa de Alta resolução de CS2

3.3 Determinação Estrutural de CS3 (118)

O extrato hexânico das raízes de *C. sessilis* foi submetido a sucessivas colunas cromatográficas, resultando no isolamento de um sólido branco amorfo, com faixa de fusão de 170,3 – 176,6 °C, denominado CS3.

O espectro de absorção na região no infravermelho (Fig. 21, pág. 41) apresentou uma absorção intensa em 3361 cm⁻¹, característica de deformação axial de ligação O-H, absorções em 2941 e 2867 cm⁻¹ correspondentes a deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C-H de grupamentos CH₂ e CH₃, respectivamente; uma absorção em 1641 cm⁻¹ de deformação axial de C=C, além de absorção em 1039 cm⁻¹, representativa de ligação C-O [Silverstein, 2007].

O espectro de RMN ¹H de CS3 (Fig. 22, pág 41), apresentou dois singletos um em δ_H 4,70 e outro em δ_H 4,58 característicos de hidrogênios ligados a carbonos sp² e um multiplete em δ 3,31 relacionado a um hidrogênio ligado a um carbono carbinólico. Observou-se ainda sinais atribuídos a grupos metilas em δ_H 1,69, 1,04, 0,9 8, 0,95, 0,87, 0,80 e 0,77, sendo que a metila em δ_H 1,69 encontra-se em uma região mais desprotegida, sugerindo que a mesma encontra-se ligada a um carbono sp².

No espectro de RMN ¹³C (Fig 23, pág 40), verificou-se a presença de uma linha espectral em δ_C 79,2 referente a um carbono oxigenado, e duas na região de carbonos sp² em δ_C 151,1 e 109,5, que juntamente com o sinal em δ_C 19,5, indicaram a presença de um grupo isoprenil, característico de compostos triterpênicos de esqueleto lupeno [Zanon *et al* 2008].

De acordo com os dados espectroscópicos mostrados e por comparação com dados da literatura, CS3 trata-se de um triterpeno pentacíclico de esqueleto do tipo lupeno conhecido como lupeol [Zanon *et al* 2008].

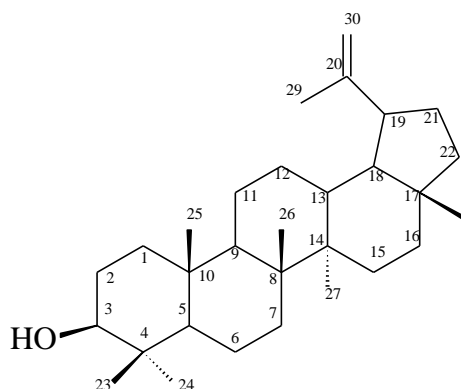


FIGURA 21 - Estrutura de CS-3

Tabela 05 - Deslocamentos Químicos de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CS3

C	Lupeol	
	<i>Literatura</i>	<i>Experimental</i>
1	38,7	38,9
2	27,4	27,6
3	79,0	79,2
4	38,8	38,9
5	55,3	55,5
6	18,3	18,5
7	34,3	34,5
8	40,8	40,2
9	50,4	50,7
10	37,1	37,4
11	20,9	21,1
12	25,1	25,9
13	38,0	38,3
14	42,8	41,0
15	27,4	27,6
16	35,6	35,8
17	43,0	43,0
18	48,3	48,5
19	47,9	48,2
20	150,9	151,1
21	29,8	29,9
22	40,0	40,2
23	27,9	27,7
24	15,3	15,5
25	16,1	16,2
26	15,9	15,5
27	14,5	14,7
28	18,0	18,5
29	109,3	109,5
30	19,31	19,54

CURSINO *et al.*, 2009 (solv. CDCl_3)

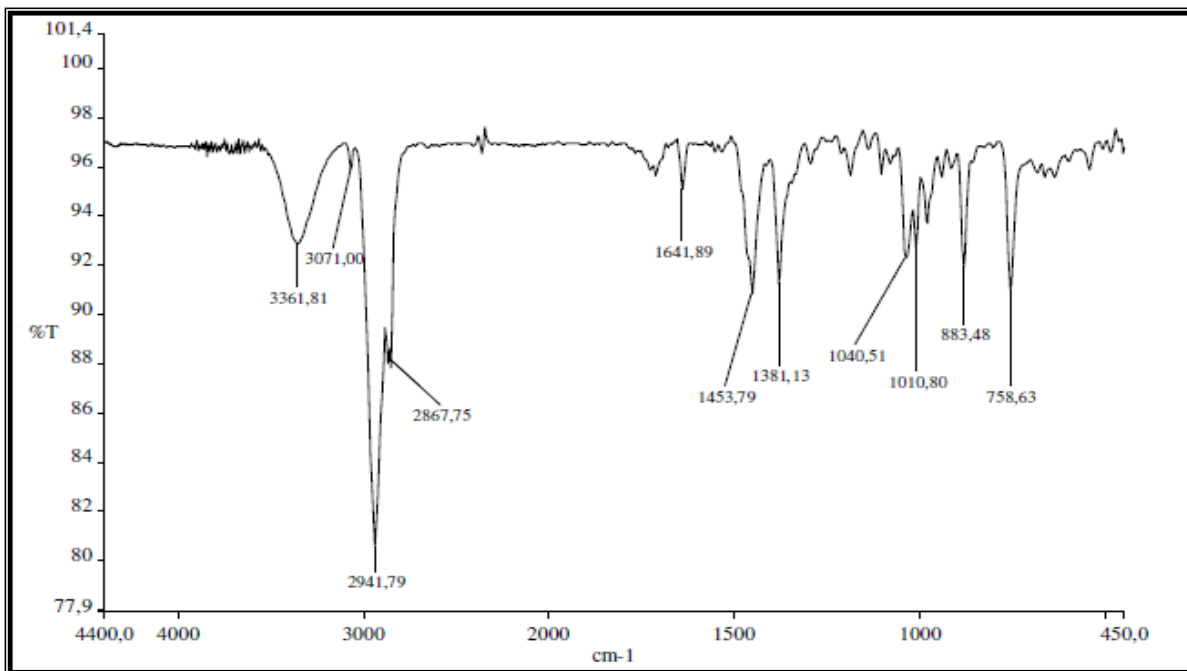


Figura 22 - Espectro na região de infravermelho de CS₃ (KBr)

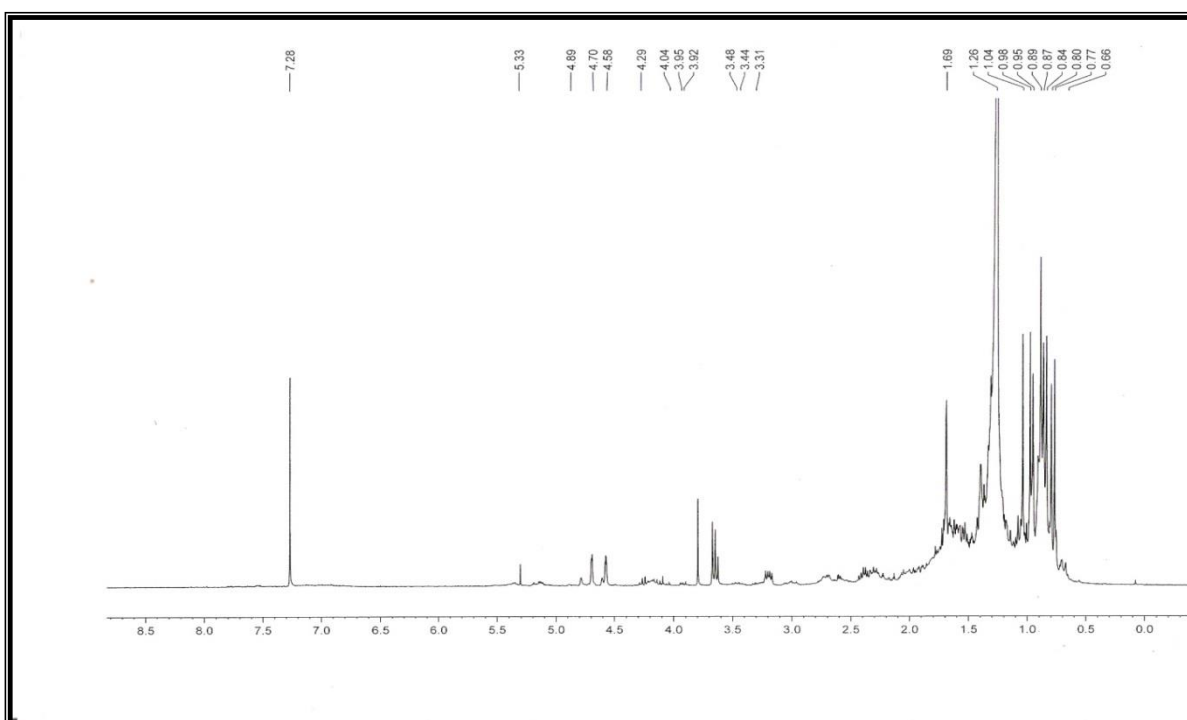


Figura 23 - Espectro de RMN ¹H de CS₃-(CDCl₃, 300 MHz)

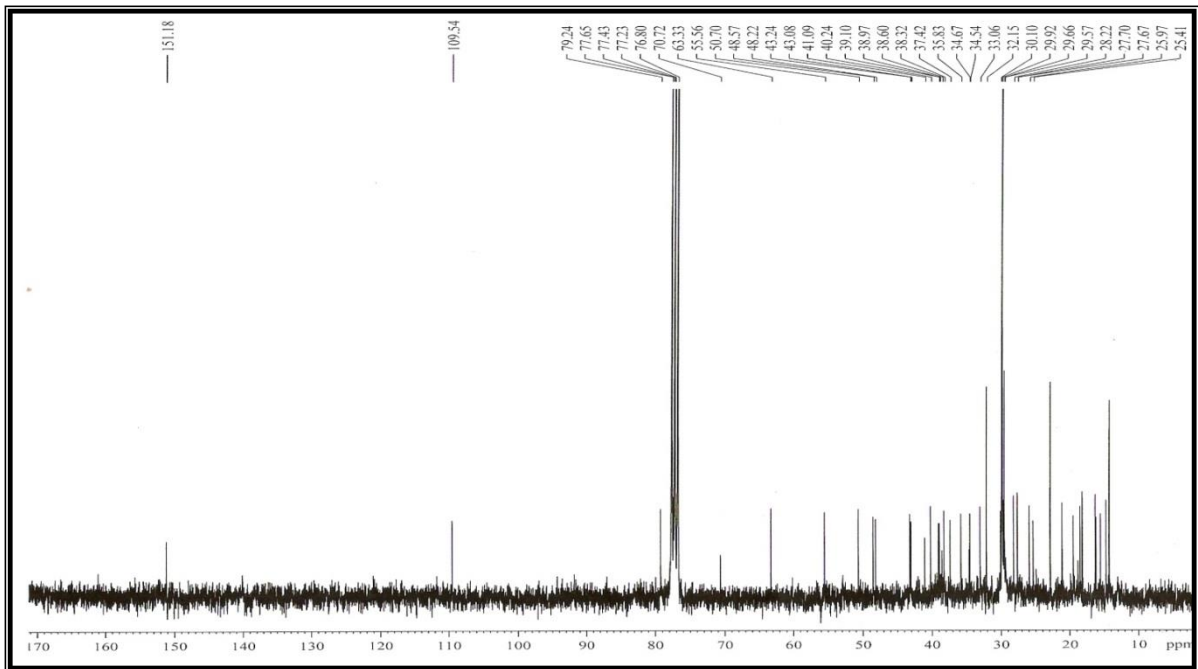


Figura 24 - Espectro de RMN ^{13}C de CS_3 (CDCl_3 , 12 5MHz)

3.4 Determinação Estrutural de CM1 (119)

A substância codificada CM-1 foi isolada da fração diclorometano , obtida do extrato etanólico das raízes de *C. mucugeana*, sob a forma de um sólido branco amorfo.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 27, pág. 46) apresentou uma absorção intensa em 3346 cm^{-1} , característico de deformação axial de ligação O-H, absorções em 2916 e 2848 cm^{-1} correspondentes a deformação axial assimétrico e simétrica de ligação C-H de grupamentos CH_2 e CH_3 e uma absorção intensa em 1734 cm^{-1} associadas a deformação axial de ligação C=O de éster.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 28, pág. 46) apresentou sinais em δ_{H} 1,21 a 1,27 característicos de hidrogênios metilênicos, e sinais em δ_{H} 4,72, 4,65, 4,12 e 4,46 referentes a hidrogênios ligados a carbonos sp^3 oxigenados.

Em uma análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C C-CPD (Fig.29, Pág. 47) e DEPT 135 (Fig.30, pág.47) observou-se um sinal em δ_{C} 71,4 referente a carbono metínico oxigenado, sinais em δ_{C} 67,2, 64,8, 34,9, 30,3 e 25,8 referentes a carbonos metilênicos, sedo os sinais em δ_{C} 67,2 e 64,8, referentes a carbonos oximetínicos. Também foi observado um sinal em δ_{C} 174,2, que nesta região do espectro é característico de carbonila de éster, corroborando com o espectro de infravermelho.

Por meio do espectro HSQC (Fig. 33, pág. 49) cada sinal de hidrogênio foi devidamente correlacionado ao seu respectivo sinal de carbono, permitindo correlacionar os sinais em δ_{H} 2,3 (t, $J = 7,5$) com o sinal de carbono em δ_{C} 35,0 , δ_{H} 1,65 (m) com δ_{C} 25,1, e δ_{H} 4,74 (dd, $J = 11.1$) com δ_{C} 67,1 e δ_{H} 4,47 com o sinal de carbono em δ_{C} 71,0.

Com base na análise exposta acima, foi possível sugerir que CM1 tratava-se de uma estrutura simétrica de um ácido graxo esterificado com o glicerol.

O espectro de massa de alta resolução (EMAR) (Fig. 34, pág 49), obtido com ionização por *electrospray* no modo positivo, mostrou dois picos correspondentes aos adutos de sódio $[\text{M} + \text{Na}]^+$, um em m/z 569,4058 o qual corresponde a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{58}\text{NaO}_8$ (massa calculada 569,4029), e outro em m/z 541,3798 indicando a fórmula molecular $\text{C}_{28}\text{H}_{54}\text{NaO}_8$ (massa calculada 541,3716). Conforme pode ser verificado estes dados mostram uma diferença de 28 unidades de massa demonstrando, portanto, que CM1 tratava-se de uma mistura de dois compostos isomólogos.

O espectro HMBC (Fig. 32, pág. 48) permitiu definir com segurança a unidade de glicerol ao grupo carboxila através dos acoplamentos dos hidrogênios em δ_{H} 2,37 (H-2/H-23),

1,65 (H-3/H-22), 4,74 (H-1') e 4,66 (H-1'') com o sinal de carbono em δ_C 174,1 (C-1/C-24). A Figura 1 sumariza as principais correlações a longa distância de CM1.

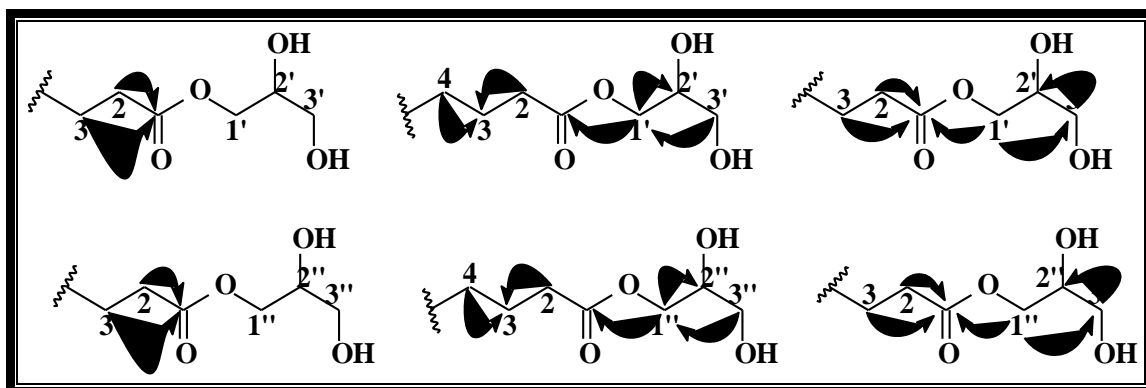


Figura 25 - Acoplamentos a longa distância (^1H , ^{13}C -HMBC) de CM1.

De acordo com os dados obtidos através dos espectros de RMN, IV e EMAR, foi possível determinar a estrutura de CM1 como sendo uma mistura dos compostos tetracosanodioato de bis-(2,3-diidroxipropila) e docosanodioato de bis-(2,3-diidroxipropila), os quais estão sendo relatados pela primeira vez na literatura.

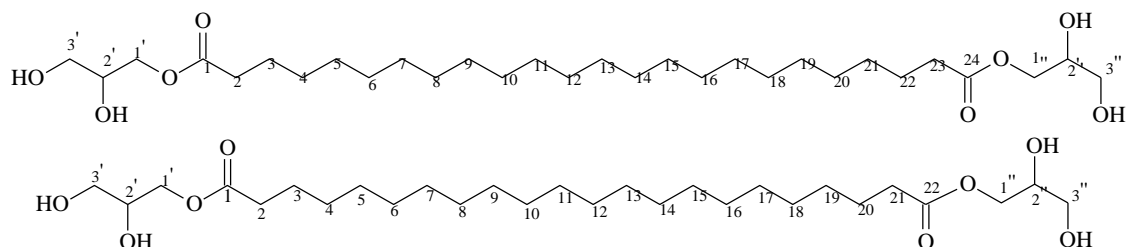


Figura 26 - Estruturas de CM1

Tabela 06 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de CM1.

C	HSQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{C-H}}$	$^3J_{\text{C-H}}$
1/24	174,1	-	2H-2/23	2H-1'/1'' 2H-3/22
2/23	35,0	2,3 (t, $J=7,5$)		
3/22	25,1	1,65 (m)	2H-2/23 2H-4/22	
4/21	30,2-29,7	1,27-1,21		
5/20	30,2-29,7	1,27-1,21		
6/19	30,2-29,7	1,27-1,21		
7/18	30,2-29,7	1,27-1,21		
8/17	30,2-29,7	1,27-1,21		
9/16	30,2-29,7	1,27-1,21		
10/15	30,2-29,7	1,27-1,21		
11/14	30,2-29,7	1,27-1,21		
12/13	30,2-29,7	1,27-1,21		
1'/1''	67,1	4,74 (dd, $J=11,1$ e 4,5 Hz) 4,66 (dd, $J=11,1$ e 6,4 Hz)		2H-3'/3''
2'/2''	71,2	4,47(m)	2H-1'/1'' 2H-3'/3''	
3'/3''	64,6	4,15 (m)		2H-1'/1''

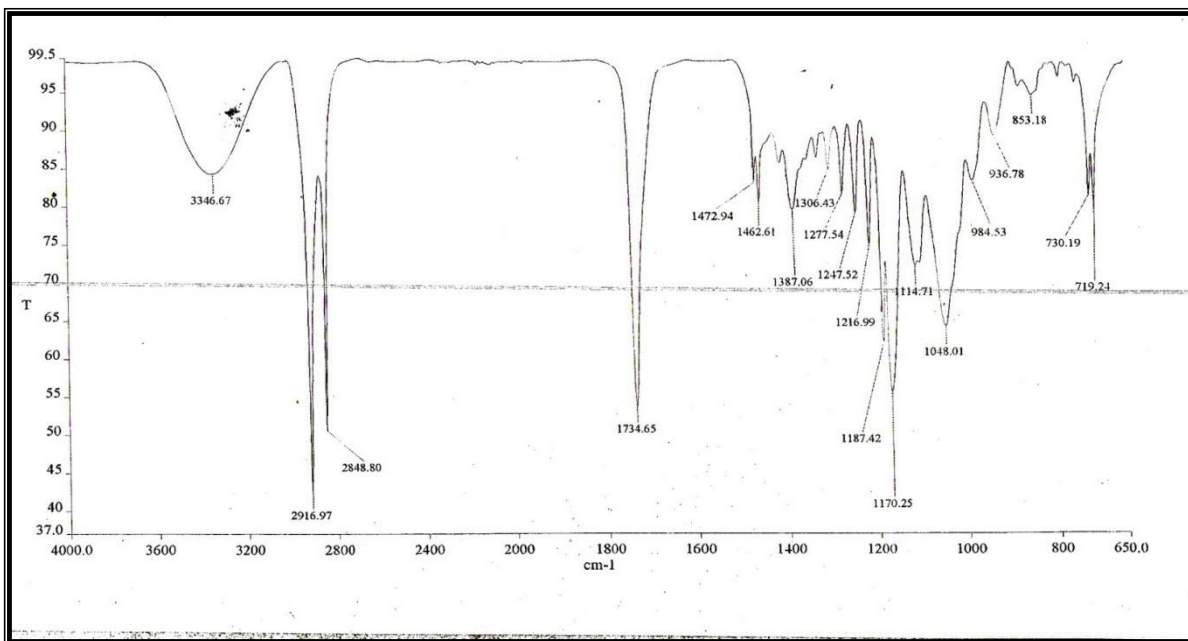


Figura 27 - Espectro na região de infravermelho de CM1(KBr)

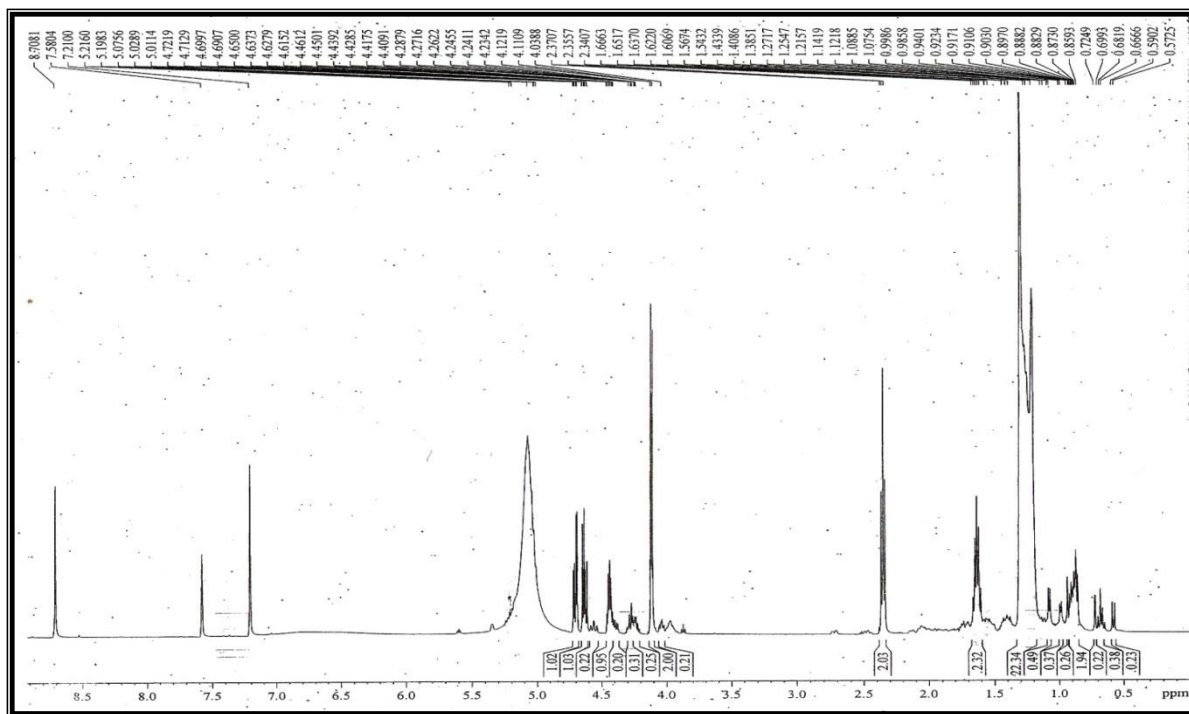


Figura 28 - Espectro de RMN ¹H de CM1(C₅D₅N, 500 MHz)

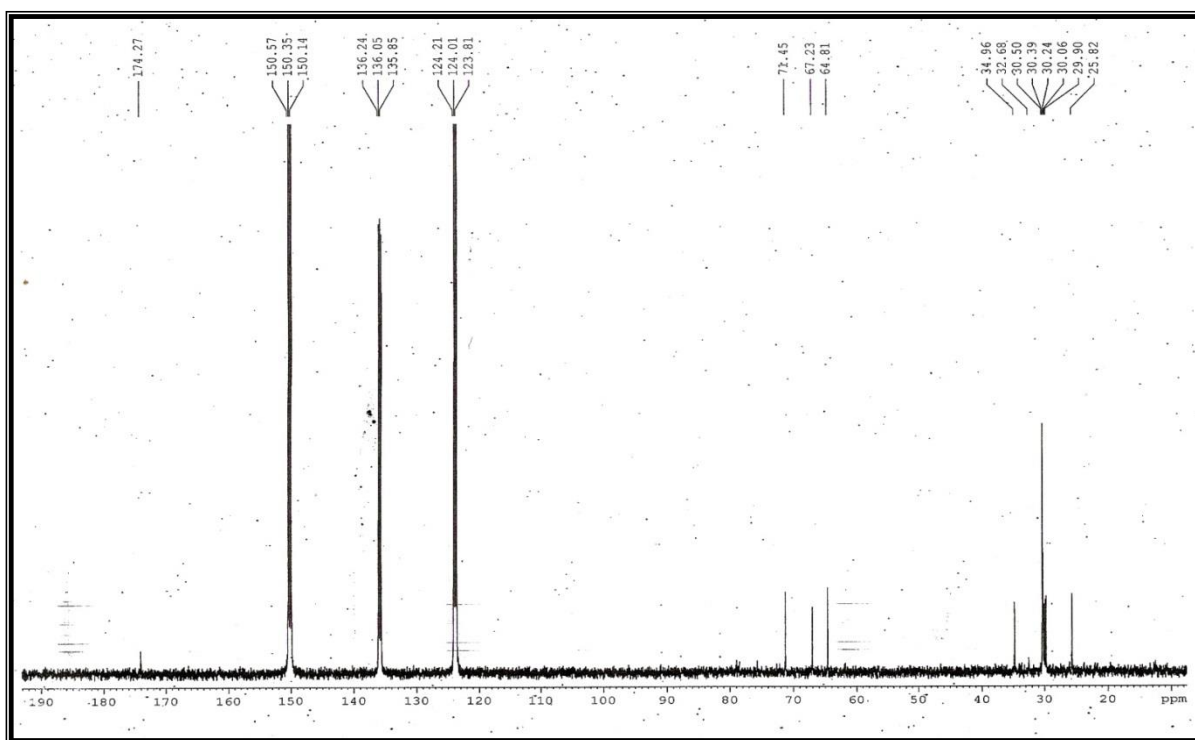


Figura 29 - Espectro de RMN ^{13}C de CM1($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz)

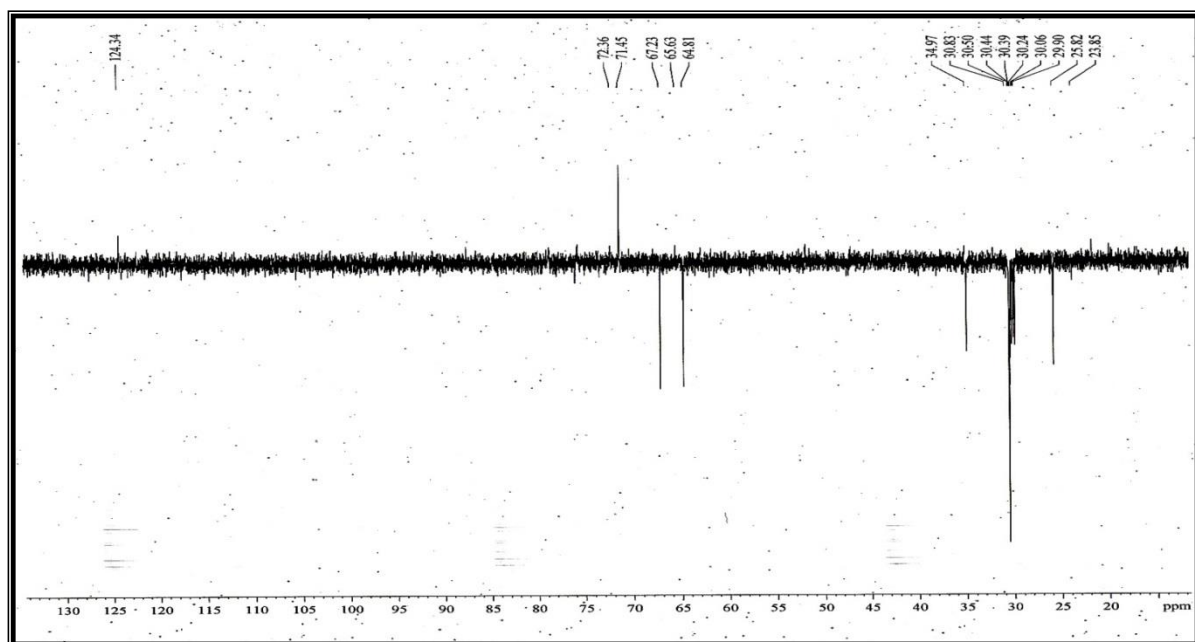


Figura 30 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CM1($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz)

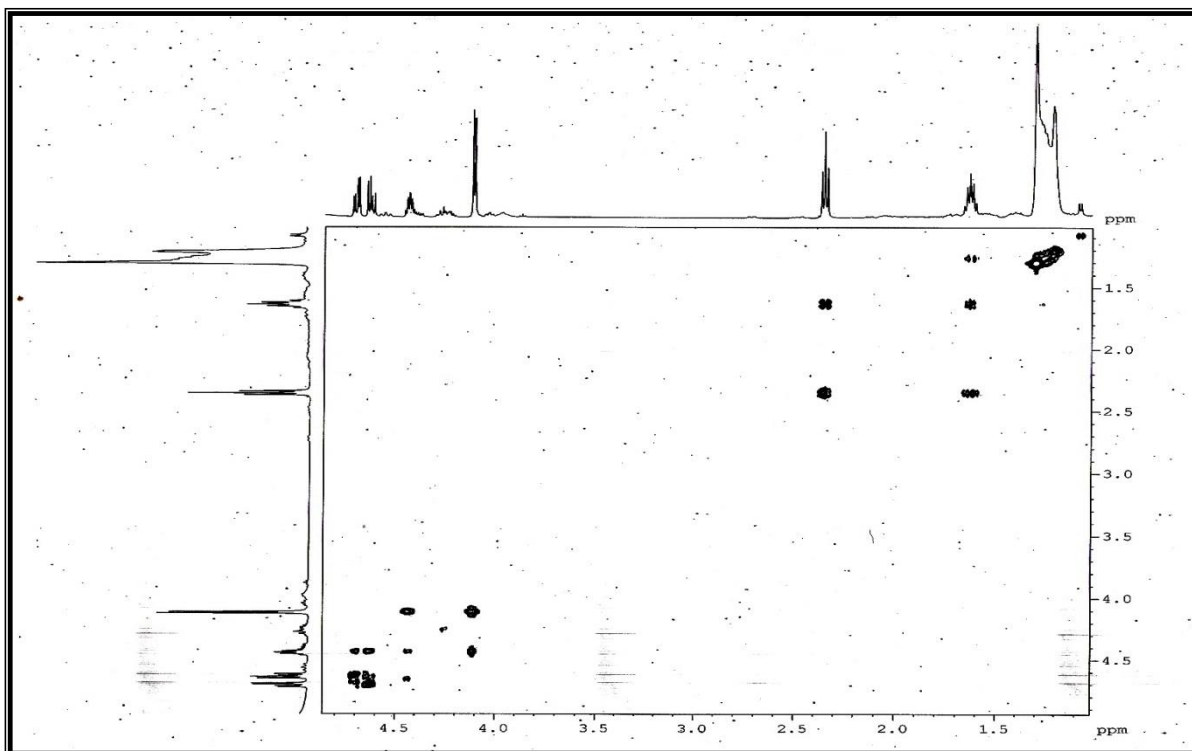


Figura 31 - Espectro de RMN ^1H , ^1H -COSY de CM1($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz)

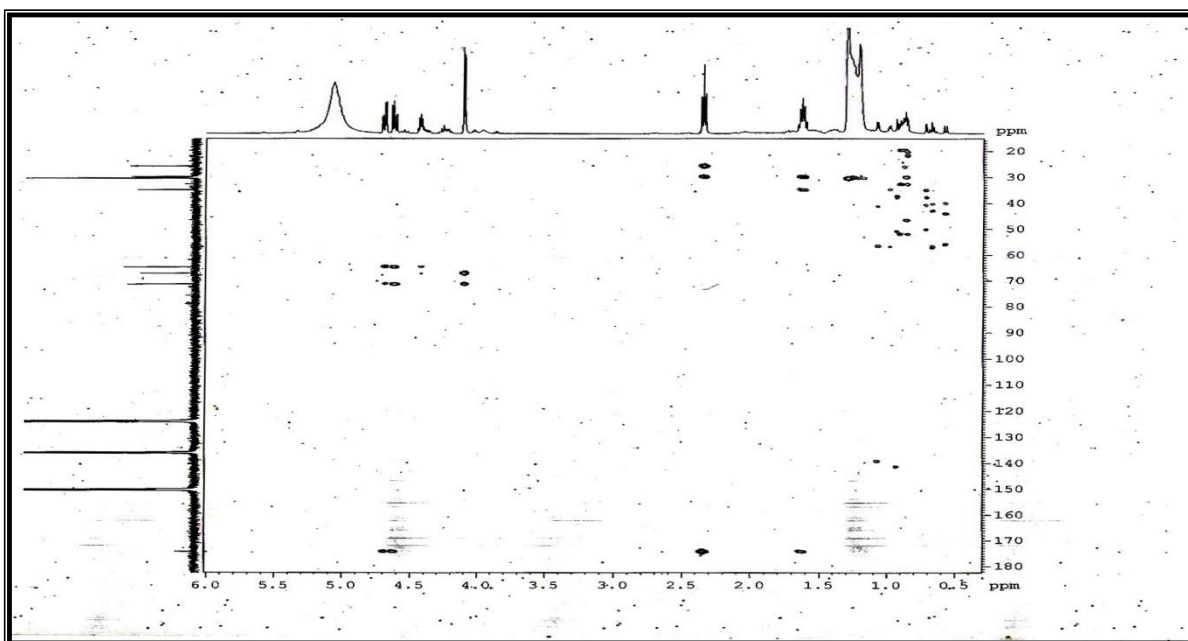


Figura 32 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC de CM1($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz)

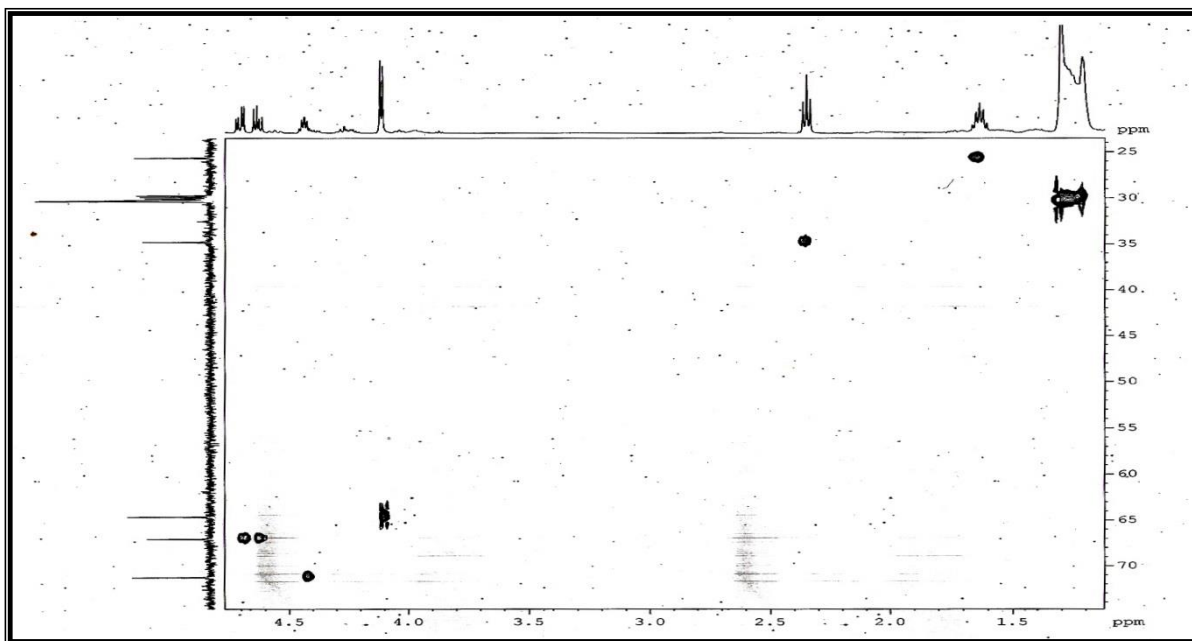


Figura 33 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de CM1 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz)

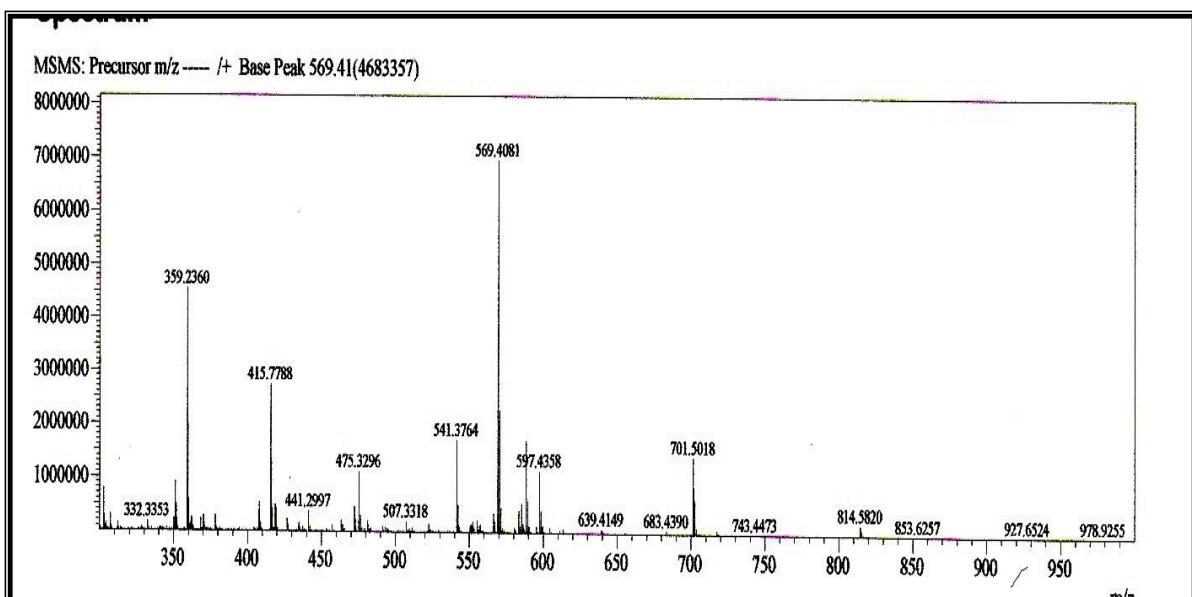


Figura 34 Espectro de massa de Alta Resolução de CM1

3.5 Determinação Estrutural de CM1A (120)

CM-1 foi submetido a uma reação de acetilação (item 4.4.10 pág. 69), para esclarecer se o mesmo era uma mistura de cadeia aberta, e onde se obteve uma resina branca, codificada como CM1A.

O espectro de massa de alta resolução (EMAR) (Fig. 41, pág 53), obtido com ionização por *electrospray* e no modo positivo, mostrou dois picos referentes aos adutos de sódio $[M+Na]^+$, em um m/z 737,4578 indicando a uma fórmula molecular $C_{38}H_{66}NaO_{12}$ (massa calculada 7377,4451) e outro m/z 709,4307 referente a fórmula molecular $C_{36}H_{62}NaO_{12}$ (massa calculada 709,4307).

O espectro de RMN 1H (Fig. 36 ,pág.51) apresentou dois singletes um em δ_H 2.08 e outro em 2.09 referentes a hidrogênios metilênicos alfa carbonílico, além de sinais em δ_H 3,65-3,67 referentes a hidrogênios ligados a carbono sp^3 oxigenado.

Os espectros de RMN ^{13}C (Fig. 38, pág. 521) e DEPT 135 (Fig.40, pág.53) mostraram sinais para grupos metílicos em δ_c 21,0 e 20,9 assim como sinais em δ_c 173,5, 170,7 e 170,3 característicos de carbonos carbonílicos de ésteres. Com base nos dados de massa de alta resolução e RMN foi confirmado a proposta estrutural de CM1 como uma mistura de cadeia aberta e através da interpretação de dados de RMN e EMAR de seu derivado acetilado CM1A.

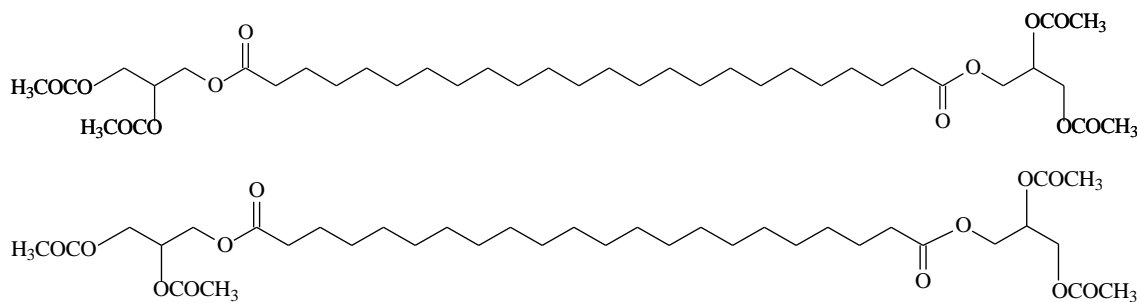


Figura 35 - Estrutura de CM1A

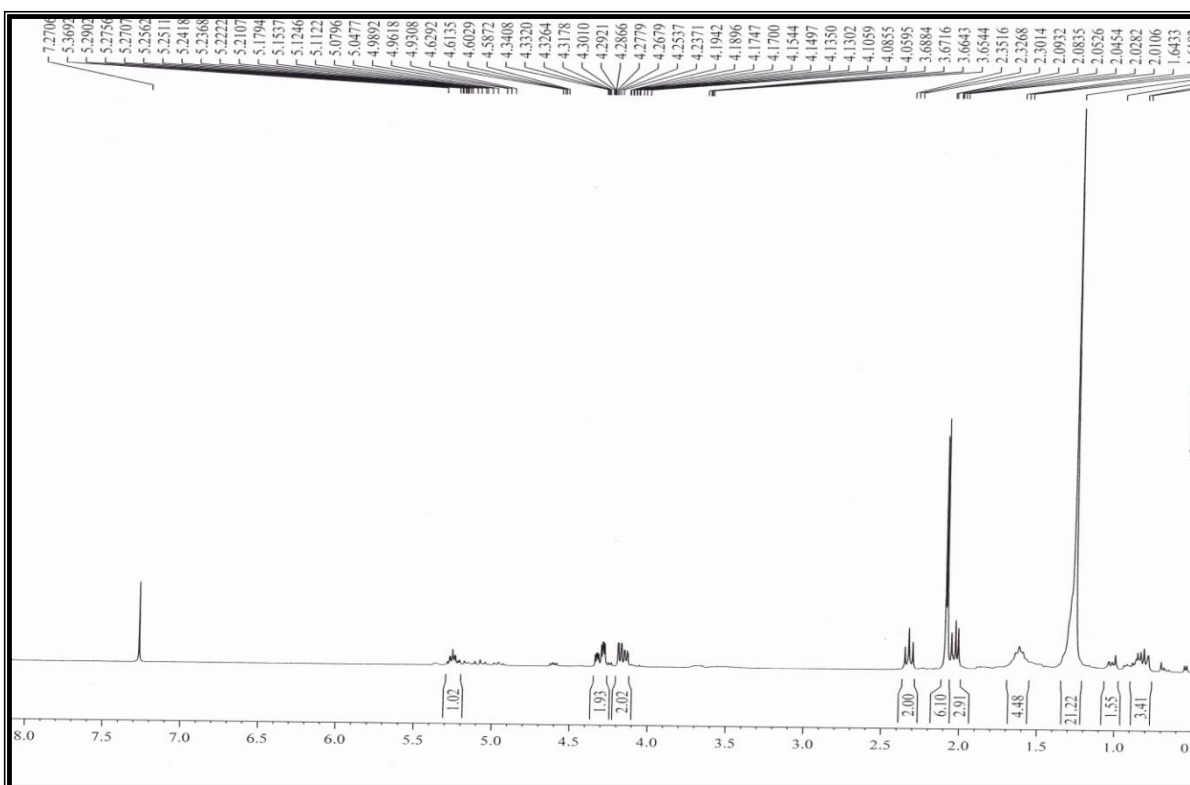


Figura 36 - Espectro de RMN ^1H de CM1 A (CDCl_3 , 300 MHz)

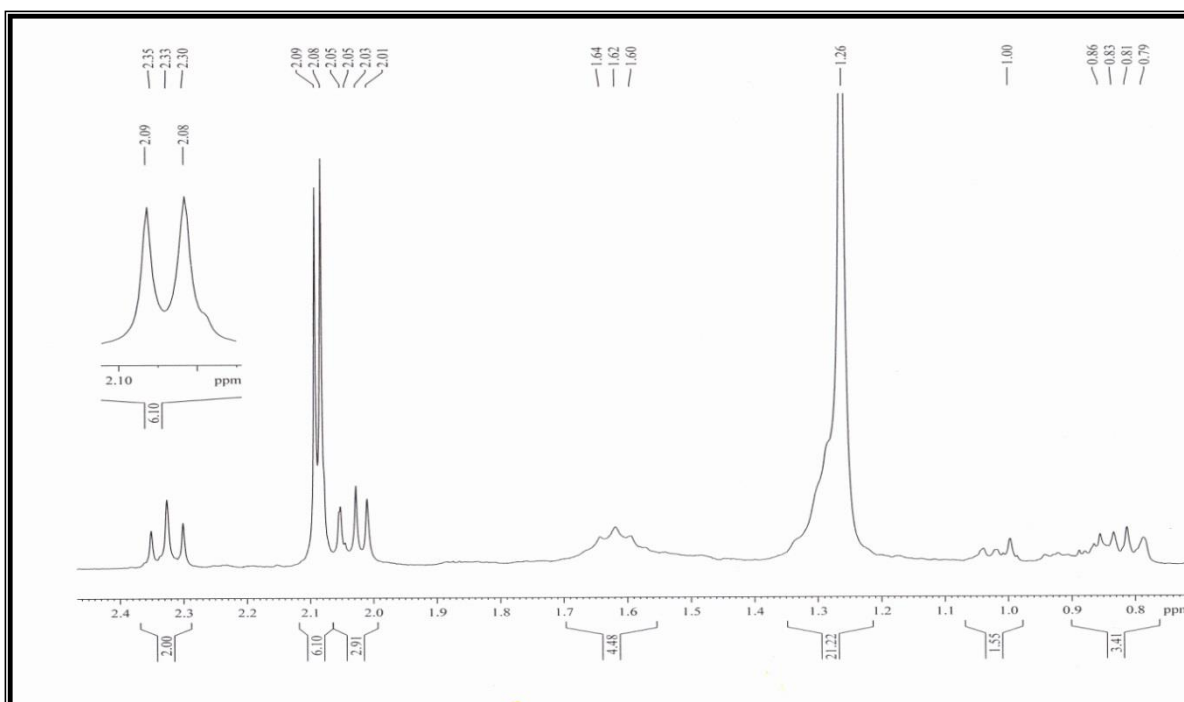


Figura 37 - Expansão do Espectro de RMN ^1H de CM1A (CDCl_3 , 300 MHz)

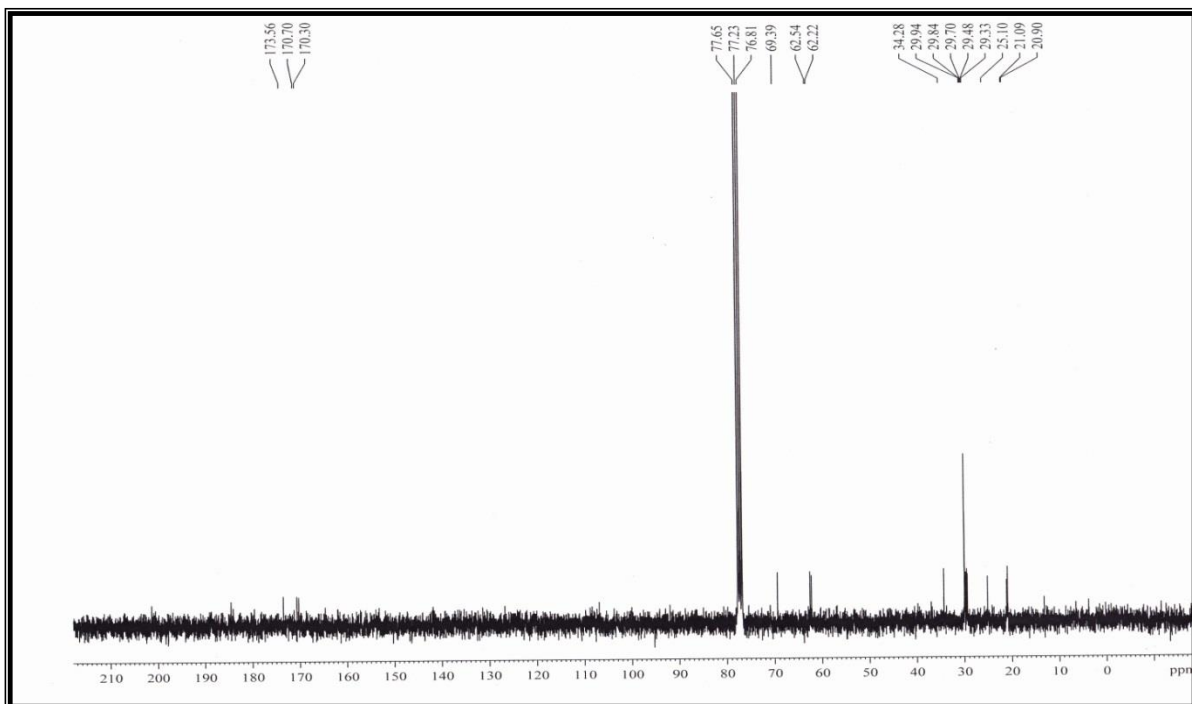


Figura 38 - Espectro de RMN ^{13}C de CM1A (CDCl_3 , 125 MHz)

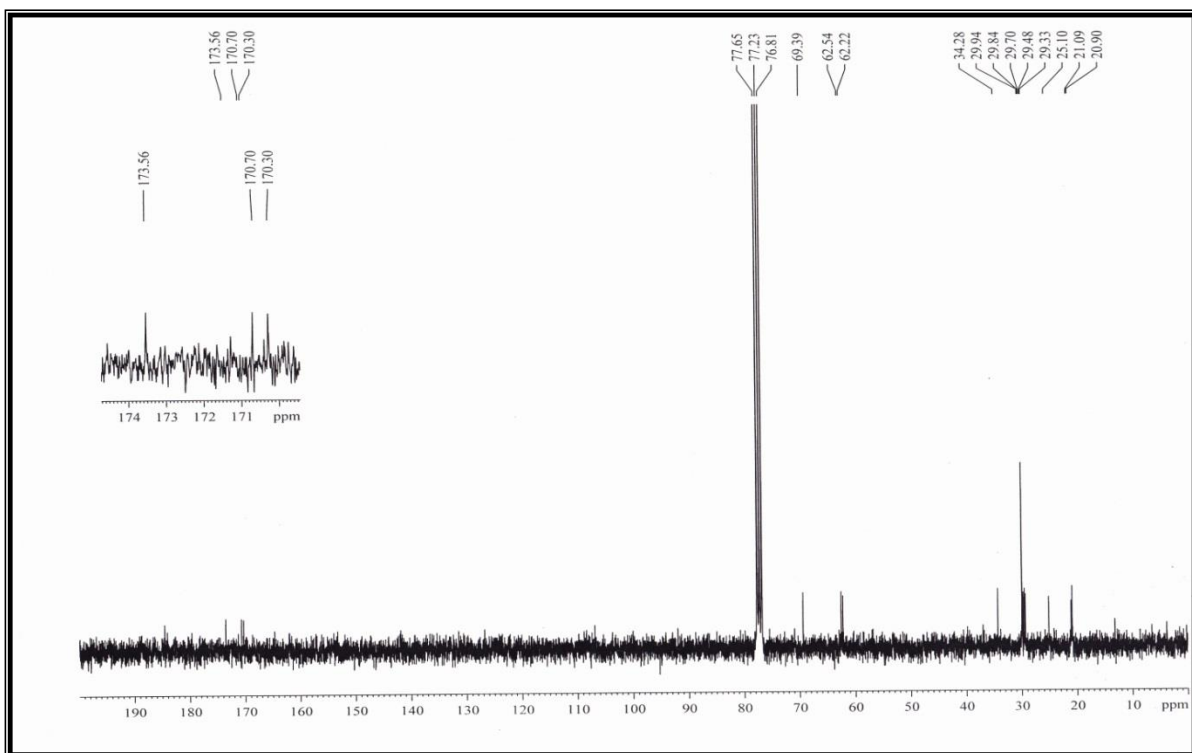


Figura 39 - Expansão Espectro de RMN ^{13}C de CM1A (CDCl_3 , 125 MHz)

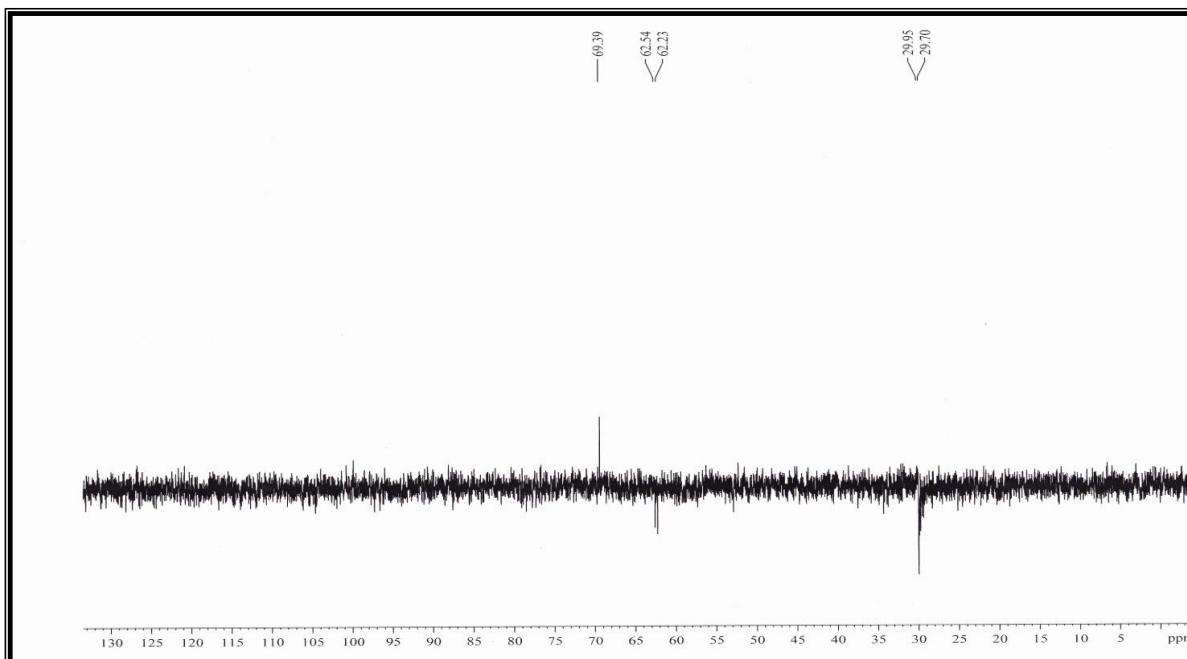


Figura 40 - Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CM1A(CDCl_3 , 125 MHz)

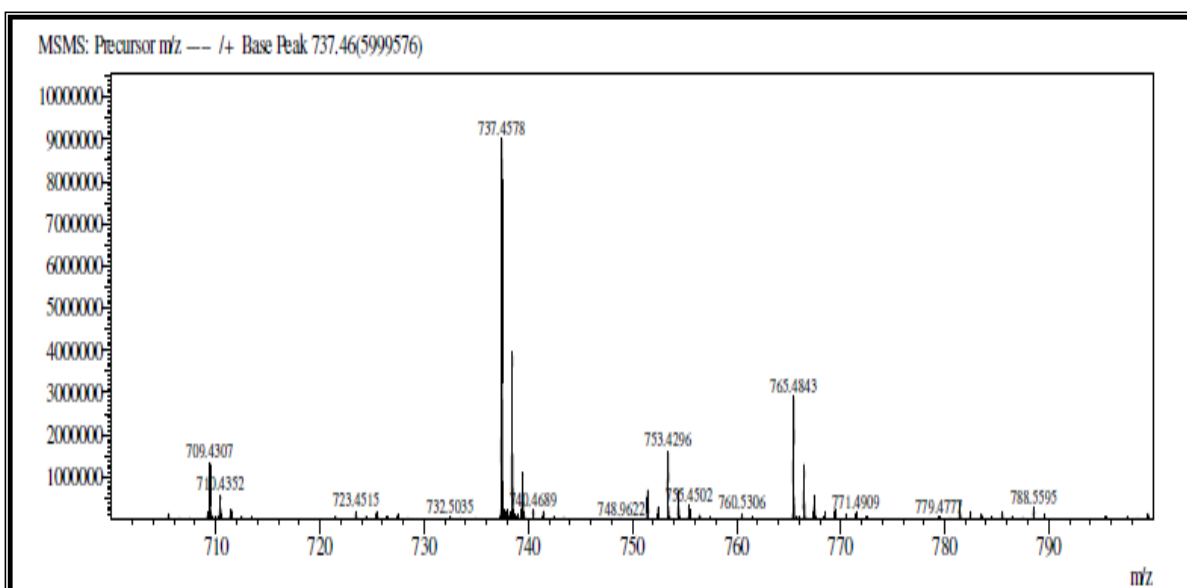


Figura-41-Espectro de massa de Alta Resoução de CM1A

3.6 Determinação Estrutural de CM2 (121)

A fração diclorometano do extrato etanólico das raízes de *C. mucungeana*, após sucessivas colunas cromatográficas, obteve-se um sólido branco amorfo com faixa de fusão 258,8-270,0 °C denominado CM-2.

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig. 43, pág. 56) apresentou uma banda larga em 3376 cm^{-1} correspondente a deformação axial de ligação O-H, absorções em 2920 e 2869 cm^{-1} características de deformação axial de ligação C-H (sp^3), uma banda em 1634 cm^{-1} associada a vibração de deformação axial C=C de olefinas, além de bandas intensas em 1049 e 1023 cm^{-1} , atribuídas a deformação axial de ligação C-O [Silverstein, 2007].

No espectro de RMN ^1H (Fig. 44, pág. 56), verificou-se a presença de três sinais na região de desproteção em δ_{H} 5,36, 5,28 e 5,09, característicos de hidrogênios ligados a carbonos sp^2 . Os sinais entre δ_{H} 4,58 e 4,01 foram atribuídos a uma unidade glicosídica, enquanto os sinais entre δ_{H} 1,04 a 2,11 típicos de esqueletos terpênicos ou esteroidais.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig 45, pág 57) apresentou um sinal em δ 79,0 característico de carbono sp^3 oxigenado. Os sinais em δ_{C} 122,2 a δ_{C} 141,3 são característicos de carbonos olefínicos. Foi observada ainda a existência de sinais entre δ_{C} 10,9, característico de carbono anomérico dos compostos β -sitosterol e estigmasterol e δ_{C} 102 característico de carbono anomérico de espinasterol. Além de sinais em δ_{C} 78,8, 78,5, 75,7, 72,1 e 63,3 característicos de carbonos oxigenados. A comparação dos dados espectroscópicos com dados da literatura, permitiu concluir que CM-2 trata-se de uma mistura de triterpenos glicosilados estigmast-5-en-3-*O*-glicopiranosídeo (β - sitosterol glicosilado), estigmast-5,22-dien-3-*O*-glicopiranosídeo (estigmasterol glicosilado) e 3-*O*- β -D-glicopiranosil espinasterol. $\Delta^5 = \beta$ -Sitosterol glicosilado $\Delta^{7-22} =$ Espinasterol glicosilado $\Delta^{5-22} =$ Estigmasterol glicosilado.

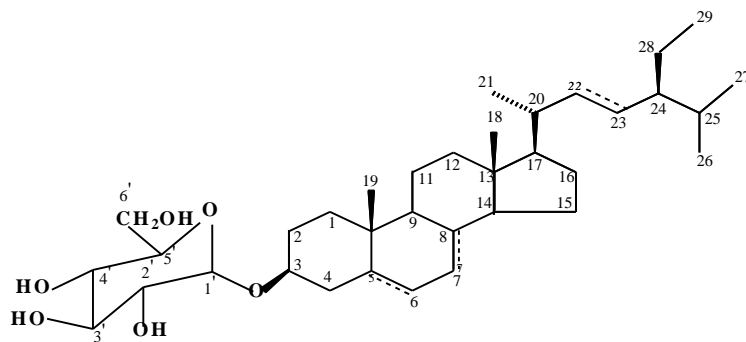


Figura 42 - Estruturas de CM-2

Tabela 07 - Deslocamentos Químicos δ de RMN¹³C (125 MHz, C₅D₅N) de CM2

C	β -Sitosterol Glicosilado	Literatura	Estimasterol Glicosilado	Litertura	Espinasterol Glicosilado	Literatura
1	37,0	37,2	37,1	37,3	37,4	37,7
2	31,6	30,6	31,4	32,5	30,4	29,6
3	79,0	79,02	71,0	79,0	77,3	77,5
4	39,5	39,7	38,0	37,7	34,8	34,9
5	141,4	141,3	140,4	139,9	40,2	40,2
6	122,2	122,2	121,1	122,2	30,1	30,4
7	31,6	32,5	117,4	30,65	117,9	118,2
8	31,7	32,4	139,5	32,4	139,7	139,9
9	50,0	50,7	49,4	49,9	49,7	49,9
10	36,5	37,8	34,4	37,89	34,6	37,8
11	20,8	21,8	21,5	21,6	21,8	21,8
12	38,5	37,8	39,4	39,7	39,7	39,7
13	42,1	42,7	43,3	40,2	43,5	45,8
14	56,5	57,3	55,1	57,3	55,4	55,6
15	24,5	24,9	23,0	24,9	23,5	23,7
16	28,7	29,6	28,5	29,9	29,0	29,6
17	55,8	56,5	55,8	56,7	56,1	56,7
18	12,0	12,5	12,0	12,6	12,3	12,8
19	19,0	19,5	13,0	19,8	13,1	13,4
20	36,0	37,2	40,8	36,8	41,2	41,1
21	18,5	19,8	21,4	19,5	21,7	21,8
22	34,0	34,9	138,8	139,1	138,7	139,9
23	28,8	29,6	129,4	130,0	129,7	139,1
24	45,7	46,4	51,2	46,4	51,5	51,8
25	28,9	29,9	31,9	30,6	32,2	32,4
26	19,5	19,8	21,1	19,8	21,4	21,6
27	18,7	19,5	19,4	19,6	20,1	20,36
28	22,8	23,8	25,4	23,8	25,8	23,8
29	12,0	12,6	12,3	12,5	12,6	16,61
1'	102,9	100,9	102,9	100,8	102,6	102,3
2'	72,19	73,3	72,1	73,4	75,7	75,4
3'	75,7	76,2	78,8	76,7	79,0	78,7
4'	72,13	70,0	72,1	70,1	72,1	71,8
5'	78,8	75,4	77,5	76,7	79,0	78,5
6'	63,3	61,7	63,2	61,0	63,2	62,9

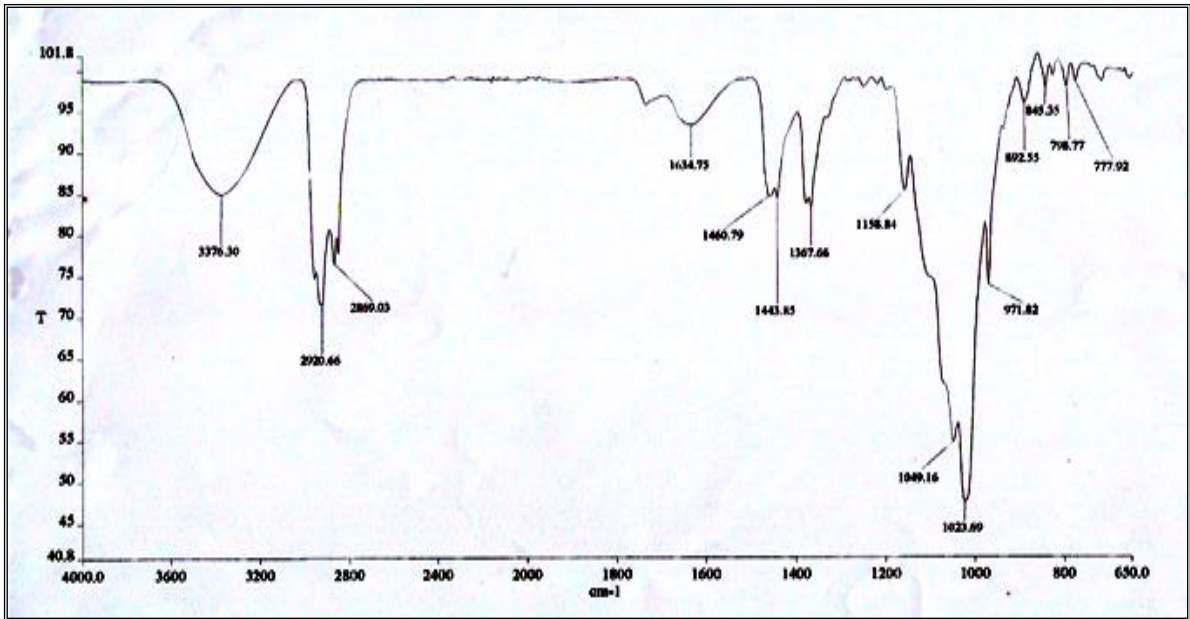


Figura 43 - Espectro na região de infravermelho de CM2 (KBr)

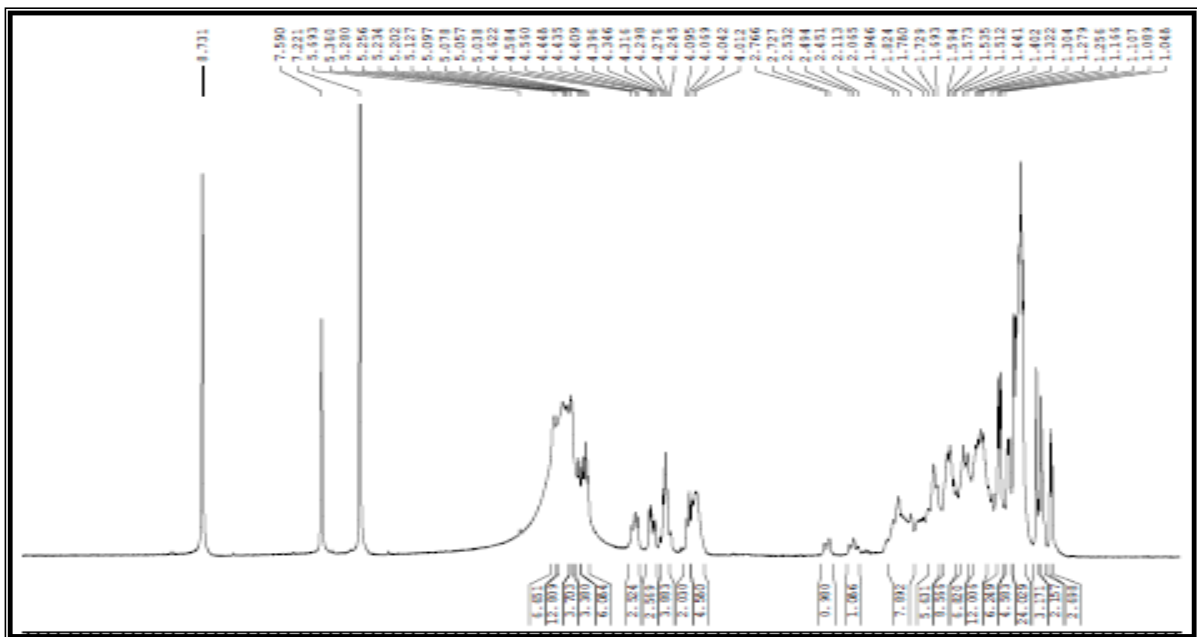


Figura 44 - Espectro de RMN ¹H de CM2 (C₅D₅N, 500 MHz)

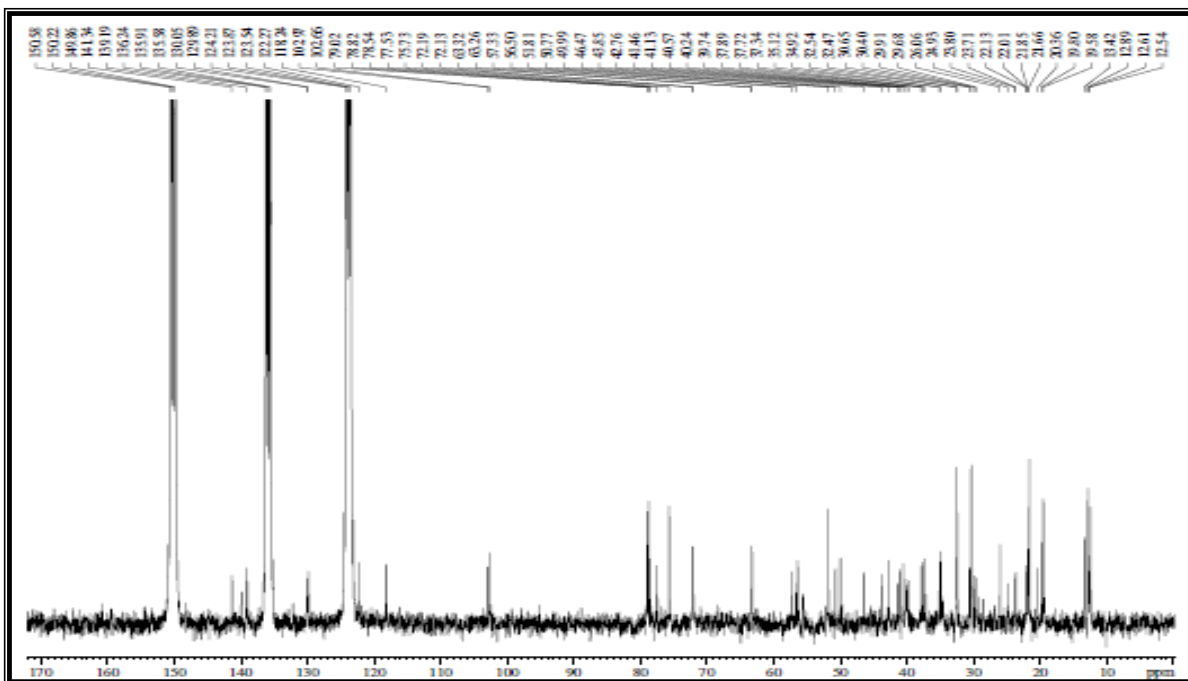


Figura 45 - Espectro de RMN ^{13}C de CM2 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz)

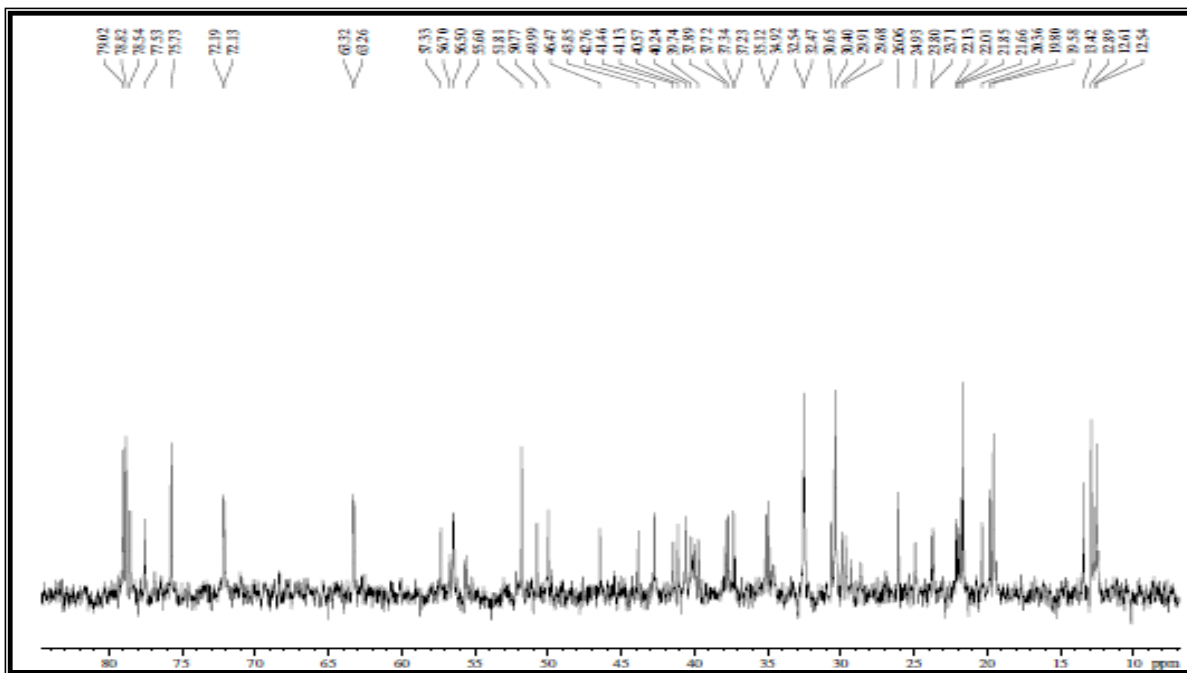


Figura 46 - Expansão do Espectro de RMN ^{13}C de CM2 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz)

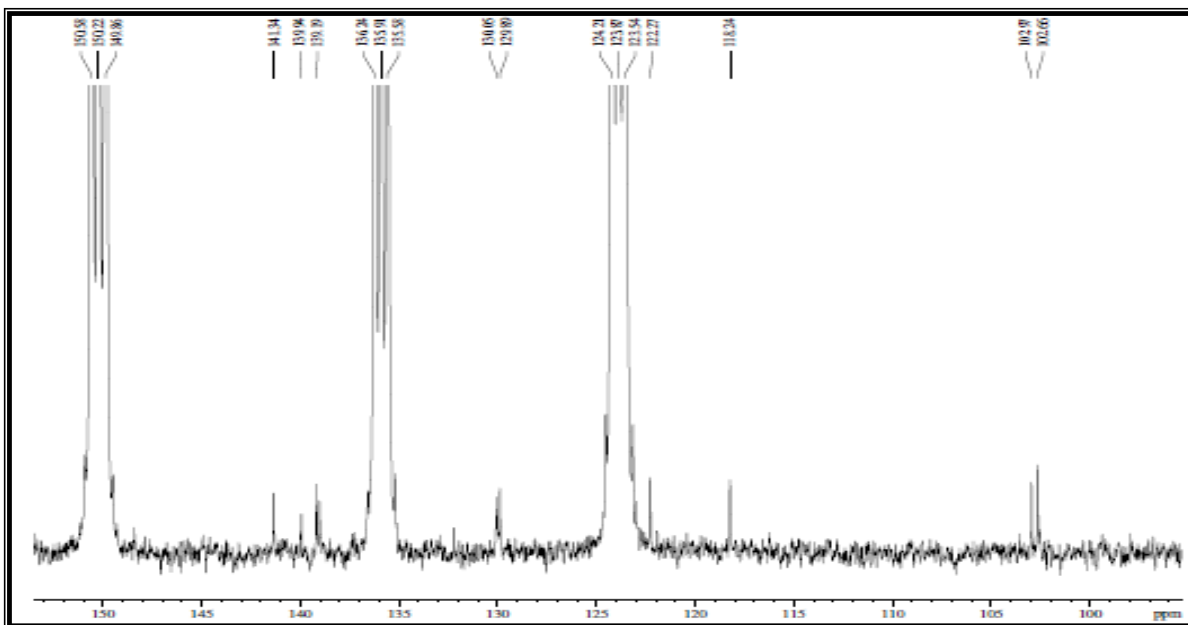


Figura 47 - Expansão do Espectro de RMN ^{13}C de CM2 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz)

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Material Botânico

O Material botânico (raízes) das duas espécies investigadas, *C mucugeana* e *C sessilis*, foi coletado na Chapada Diamantina, no estado da Bahia em Março de 2009 pelo professor Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.

4.2 Métodos Cromatográficos

4.2.1 Cromatografia de Adsorção

Para o fracionamento dos extratos brutos e frações, bem como a separação e purificação das substâncias, foram utilizadas cromatografias de adsorção em coluna gravitacional (CC) utilizado-se como suporte gel de sílica 60 comum (70-230 mesh) e para as cromatografias de adsorção em coluna sob pressão reduzida (“flash”) utilizou-se sílica gel 60 (0,040-0,063 mm; 230-400 mesh) da Merck.

O monitoramento das frações resultantes dos processos cromatográficos foi realizado em cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando cromatofolhas de alumínio da marca Merk. A revelação das placas cromatográficas foi realizada pela exposição á radiação ultravioleta (UV) em dois comprimentos de ondas (254 e 365 nm), emitidos por lâmpadas modelo UVSL-25 da mineral light e por asperção com solução de vanilina em ácido perclórico, seguida de aquecimento em chapa elétrica a 100 °C.

Os solventes empregados como eluentes foram hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade.

4.2.2 Cromatografia Líquida por Exclusão Molecular

Os fracionamentos cromatograficos por exclusão molecular foram efetuados em gel de dextrana Sephadex LH-20 da Pharmacia Fine Chemicals, utilizando-se metanol ou uma mistura ternária de Hexano, CH₂Cl₂ e metanol na proporção de 1:1:1 como fase móvel.

4.2.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As cromatografias líquida de alta eficiência foram realizada em um aparelho da marca SHIMADZU, constituído de três bombas de alta pressão, modelo LC-20AT, detector com arranjos de diodos, modelo SPD-M20A, desgaseificador acoplado, modelo DGU-20AS,

um forno termostático para acomodação da coluna modelo CTO-20A e programa SHIMADZU LC solution (2003-2008, Japão).

As análises foram feitas em uma coluna semi-preparativa C-18 (Gemini, Phenomenex) 250 x 4,6 mm e utilizado como fase móvel os solventes ACN e metanol grau CLAE, os quais foram filtrados a vácuo em membranas de Nylon com poros de PTFE de 0,45 μm . As amostras foram dissolvidas nos solventes utilizados na fase móvel e filtrados num sistema manual de membranas de teflon 0,45 μm da Whatman. A vazão foi de 4,72 mL e volume de injeção de 200 μL .

4.3 Métodos Espectrométrico

Os espectros de (IV, RMN, de massa) foram obtidos em equipamentos da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica e do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará.

4.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Carbono 13 (RMN ^{13}C), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker, modelo Advanced DRX-500, operando na frequência de 300 e 500 MHz para o hidrogênio e nas frequências de 75 e 125 MHz para carbono-13, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN).

Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras e obtenção dos espectros foram: clorofórmio (CDCl_3) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). As multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN ^1H foram indicadas seguindo convenção: s (singleto), sl (singleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete) e m (multiplete).

Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados nos espectros de RMN ^1H pelo pico do hidrogênio pertencente a fração não deuterada dos solventes: clorofórmio (δ_{H} 7,27) e piridina (δ_{H} 8,74; 7,58; 7,22), enquanto que nos espectros de carbono 13 utilizou-se tetrametilsilano como referência interna. O padrão de hidrogenação dos carbonos nos espectros de RMN ^{13}C foi determinado através do emprego da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de mutação (θ) 135 com CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2 , e foi descrito segundo a convenção: C (carbono não hydrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico)

e CH₃ (carbono metílico). Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos espectros DEPT 135° e do espectro BB (Broad Band), além das correlações dos espectros de HMBC e HSQC.

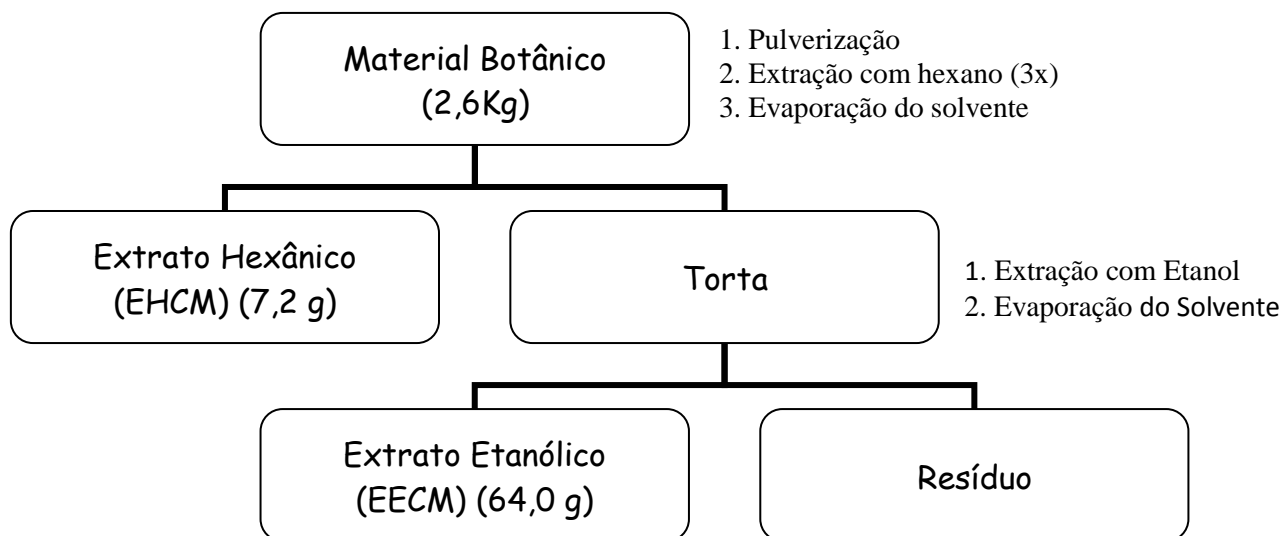
4.3.2 Espectroscopia na região de infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região de infravermelho foram registrados em espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR Spectrum 100, utilizando-se partilhas de KBr para análise das amostras.

4.4 Estudo dos constituintes não voláteis de *C. mucungeana* e *C. sessilis*

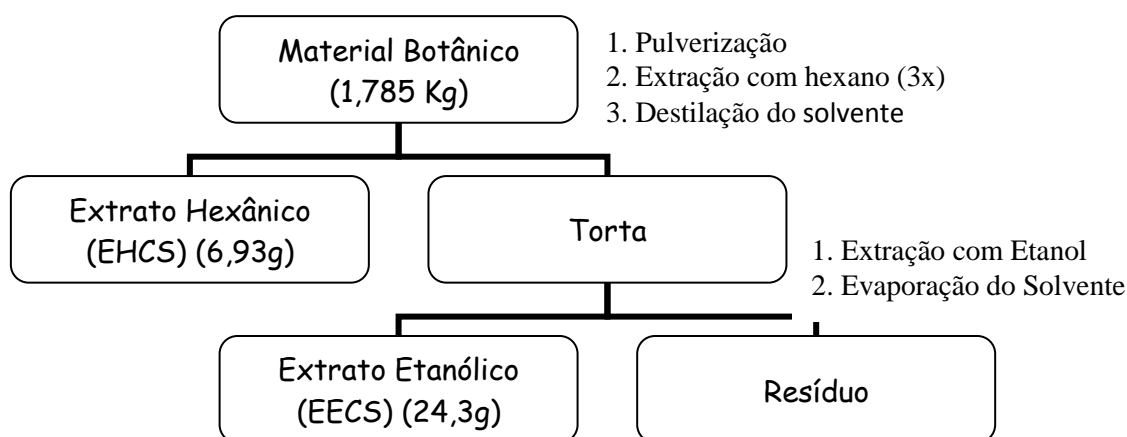
As raízes de *C. mucungeana* (2,6 Kg), foram secas a temperatura ambiente, trituradas e foram submetidas a extração com hexano seguido de etanol (Fluxograma 1). As soluções resultantes das extrações foram filtradas e concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

Fluxograma 1 - Obtenção do extrato hexânico e etanólico de *C. mucungeana*



As raízes de *C. sessilis* (1,785 Kg), foram secas a temperatura ambiente e trituradas, foram submetidas a extração com hexano seguido de etanol (Fluxograma 2). A solução resultante das extrações foram filtradas e concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

Fluxograma 2 - Obtenção do extrato hexânico e etanólico de *C. sessilis*



4.4.1 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Hexênico de *C. sessilis*

O extrato hexânico de *C. sessilis* (5,0g) foi adsorvido em 12,0g de gel de sílica, pulverizado em gral de porcelana e acondicionado sobre 35,0g de gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias sempre em ordem crescente de polaridade. As soluções obtidas foram destiladas, sob pressão reduzida, sob pressão reduzida, resultando nas frações sumarizadas na tabela 08.

Tabela 08 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do Extrato Hexênico de *C. sessilis*

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA(g)	RENDIMENTO (%)
Hexano	1	0,1	2
Hexano:AcOEt 20%	2	2,8	57
Hexano:AcOEt 40%		0,7	14,6
Hexano:AcOEt 60%	4	0,2	4,8
Hexano:AcOEt 80%	5	0,5	10,4
AcOEt	6	0,009	0,2
MeOH	7	0,2	3,8

4.4.2 Fracionamento Cromatográfico da Fr 2.

A fração 2 (2,86g) foi adsorvida em 5,0 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 20,0 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram hexano, acetato de etila e metanol puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade, sumarizadas na tabela 09.

Tabela 09 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de Fr 2.

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA(g)	RENDIMENTO (%)
Hexano	1-7	0,2	6,9
Hex:ano;AcOEt 10%	8-18	0,2	6,9
Hexano:AcOEt 20%	19-24	0,3	10,4
Hexano:AcOEt 30%	25-32	0,2	6,9
Hexano :AcOEt 40%	33-36	0,5	17,4
Hexano;AcOEt 50%	37-45	0,4	13,9
AcOEt	46-48	0,3	10,4

4.4.3 Fracionamento da Fr 25-36

A fração 21-26 (0,7g) foi adsorvida em 0,86 de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 30,0 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram diclometano e acetato de etila puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Como mostrado na tabela 10.

Tabela 10 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico Fr 21-26

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA(g)	RENDIMENTO (%)
CH ₂ Cl ₂	1-8	0,03	15
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 5%	9-18	0,05	25
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 10%	19-28	0,01	5,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 15%	29-40	0,02	10,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 20%	41-50	0,04	20,0
AcOEt	51-70	0,03	15,0

4.4.4 Fracionamento Cromatográfico da Fr 9-18 e Isolamento de CS3

A fração 9-18 (0,05g) foi misturada em 0,6g de gel de sílica do tipo ‘flash’, pulverizada em gral de porcelana, acondicionada sobre 30 g em gel de sílica e submetida a uma cromatografia

sob pressão utilizando a mistura binária Hex:AcOEt 10% deste fracionamento obteve-se as frações 1 – 60. As frações de 11-30, após processo de comparação por CCD, resultou em 0,01mg de um sólido branco amorfo codificado de CS-3. Os dados referentes ao fracionamento estão sumarizados na tabela 11.

Tabela 11 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico Fração 9-18.

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA(g)	RENDIMENTO (%)
Hex: :AcOEt 10%	1-10	0,001	2
Hex: :AcOEt 10%	11-30	0,01	30
Hex: :AcOEt 10%	31-45	0,011	22
Hex: :AcOEt 10%	46-60	0,005	10

4.4.5 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico de *C. sessilis*

O extrato etanólico de *C. sessilis* (24,3g) foi adsorvido em 40,0 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 153,0 g de gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias sempre em ordem crescente de polaridade. A destilação do solvente resultou nas frações, sumarizadas na tabela 12.

Tabela 12 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do Extrato etanólico de *C. sessilis*.

ELUENTE	FRAÇÃO	MASSA(g)	RENDIMENTO (%)
CH ₂ Cl ₂	1	2,0	8,2
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt 1:1	2	3,4	14,1
AcOEt	3	2,1	8,6
MeOH	4	14,0	57,6

4.4.6 Fracionamento Cromatográfico da Fração CH₂Cl₂ e Isolamento de CS1.

A fração Fr CH₂Cl₂(2,0g) foi adsorvida em 4,0 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 27,0 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas cinco frações de 300 mL

cada, que foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas em CCD, como descrito na Tabela 13.

Tabela 13 - Dados referentes ao Fracionamento Cromatográfico da fração CH₂Cl₂

Eluente	Frações	Massa (mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ 1:1	1	520,0
CH ₂ Cl ₂ 100%	2	484,3
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt 1:1	3	521,9
AcOEt	4	44,7
MeOH	5	257,2

A fração Fr₂ CH₂Cl₂ (484,3mg) foi adsorvida em 1,2 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 23 g de gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 101 frações coletadas em frascos de 10 mL cada, que foram concentradas a temperatura ambiente e analisadas em CCD, como descrito na Tabela 14.

Tabela 14 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de Fr₂ CH₂Cl₂

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (mg)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ 70%	1-22	1-2	36,1
		3-5	12,8
		6-8	9,13
		9-13	10
		14-21	59,7
Hexano : CH ₂ Cl ₂ 90%	23-46	22-25	40,1
		26-47	70,6
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 10%	47-57	48-58	3,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt30%	58-68	59-62	7,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 50%	69-79	63-79	4,7

CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 70%	80-100	80-100	5,0
MeOH	FMeOH	F MeOH	20

4.4.7 Fracionamento Cromatográfico de Fr CH₂Cl₂:AcOEt 1:1 e isolamento de CS₂.

A fração Fr CH₂Cl₂:AcOEt 1:1(1,68g) foi adsorvida em 12,0 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 26,31 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas sete frações de 200 ml cada, que foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas em CCD, como descrito na tabela 15.

Tabela 15 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de Fr CH₂Cl₂ : AcOEt 1:1

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa(mg)
CH ₂ Cl ₂ .100%	1		27,6
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt20%	2		1,500
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt40%	3		756,7
			316,3
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt60%	4	3 - 4	
			170,1
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt80%	5		
AcOEt	6		87,2
MeOH	7		330,5

A fração 2 (1500mg) foi adsorvida em 2,5 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 17,8 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas nove frações em frascos

de 10mL os quais foram concentradas a temperatura ambiente e analisadas em CCD, como descrito na Tabela 16.

Tabela 16 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração 2

Eluente	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ 40%	1-24	1-15	20,0
		16-39	30,0
Hexano: CH ₂ Cl ₂ 50%	23-43	40-60	140,0
Hexano: CH ₂ Cl ₂ 70%	44-54		
Hexano: CH ₂ Cl ₂ 90%	55-64		
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 10%	65-85	61-71	210,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 30%	86-93	72-85	86,0
		86-95	400,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 50%	94-104		50
AcOEt 100%	F Acetato		45
MeOH 100%	F MeOH		40

A fração 86-93(400 mg) foi recromatografada em uma coluna sob pressão em 1,2 g e acondicionado em 29,50 g de sílica do tipo “flash”. Foram obtidas 64 frações em frascos de 10 ml os quais após analisadas por CCD foram reunidos em cinco grupos de acordo com a Tabela 17.

Tabela 17 - Dados referentes ao fracionamento Cromatográfico de F86-95.

ELUENTE	FRAÇÕES	FRAÇÕES REUNIDAS	Massa (mg)
CH ₂ Cl ₂	1-30	1-39	210,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 1:1	31-51	40-50	85,0
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt 1:1	52-62	51-62	60,0
AcOEt	F Acetato	63	20,0
MeOH	F MeOH	64	20,0

A fração 1-39 (210 mg) foi adsorvida em 1,48 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 11,30 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na

eluição durante o fracionamento foram: diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou misturas binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas cinco frações em frascos de 10 mL, que foram concentradas a temperatura ambiente e analisadas em CCD, resultando em 8 grupos como descrito na tabela 18.

Tabela 18 - Dados referentes ao Fracionamento Cromatográfico de F 1-39

Eluente	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
CH ₂ Cl ₂ 100%	1-20	1-2	10,0
		3-6	8,0
		7-16	5,0
		17-21	14,0
CH ₂ Cl ₂ AcOEt 10%	21-41	22-38	98,0
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt 20%	42-53	39-53	10,0
AcOEt	54	54	20,0
MeOH	55	55	35,0

A Fração 22-38 (98,0 mg) foi analisada por CLAE para desenvolvimento do método de isolamento de CS₂. Essa análise foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência, em uma coluna semi-preparativa no modo de eluição reverso. A fase móvel utilizada nesse experimento foi MeOH : H₂O na proporção de 8:2 com um fluxo de 4,72 mL/min e volume de injeção de 200µL. O pico 1 correspondente ao tempo de retenção de 6,45 min foi coletado e resultou no isolamento de CS₂ (20,0 mg).

4.4.8 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico de *C. mucugena*

O extrato etanólico de *C. mucugena* (64,0g) foi dissolvido em 200 mL da mistura de MeOH / H₂O (1:1) e submetido á partição com os solventes CH₂Cl₂ e Acetato de Etila (5 vezes 100mL de cada solvente) as soluções resultantes foram concentradas sob pressão reduzida, fornecendo assim 3 frações: CH₂Cl₂ (9,02 g), AcOEt (12,3g) e Hidroalcoólica (34g).

4.4.9 Fracionamento Cromatográfico da Fração CH₂Cl₂ e Isolamento de CM1 e CM2

A fração diclorometano foi adsorvida em 18,00 g de gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 57,39 g em gel de sílica. Os solventes utilizados na eluição durante o fracionamento foram: hexano, acetato de etila e metanol puros ou misturas

binárias em ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 8 frações coletadas em um volume de 300 mL cada, os quais foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas em CCD, conforme a tabela 19.

Tabela 19 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração CH₂Cl₂.

Eluente	Frações	Frações reunidas	Massa (mg)
Hexano	F1		970
Hexano: AcOEt 20%	F2	F2 e F3	815
Hexano: AcOEt 40%	F3		1.900
Hexano: AcOEt 60%	F4	F4 e F5	1.002
Hexano: AcOEt 80%	F5		1.300
AcOEt	F6		600,0
AcOEt: MeOH 20%	F7		1,09
AcOEt:MeOH 40%	F8		500,0

A fração 7 (1,09 mg) foi dissolvida em 5 mL de uma mistura ternária de Hexano: CH₂Cl₂:MeOH na proporção de 1:1:1, acondicionada em uma coluna contendo SEPHADEX LH-20 e eluída na mesma mistura. Deste processo foram coletadas 50 frações de 10 mL cada. As frações de 20-30 (40 mg) apresentaram um sólido branco, os quais foram lavados com AcOEt, possibilitando assim 16,0 mg de um sólido branco denominado CM1 e as frações 40-50(20mg) apresentaram como forma de um sólido branco denominado CM2.

4.4.10 Reação de Acetilação de CM1

Uma alíquota de 10,0 mg, proveniente de CM-1, foi solubilizada em piridina (C₅H₅N) e anidrido acético (Ac₂O) na proporção de 1:1 e submetida a agitação magnética por 24 horas. O Término da reação foi monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD), seguida de tratamento com 20 mL de uma solução de HCl 10%. A extração com (CH₂Cl₂) seguida de destilação do solvente possibilitou a obtenção de uma resina branca codificada com CM1A(16mg).

5. CONCLUSÃO

A prospecção química de *Calliandra sessilis* e *Calliandra muncugeana*, resultou no isolamento e caracterização de 5 constituintes químicos pertencentes a classes diferentes de metabólitos secundários, comuns em plantas superiores. Do extrato etanólico das raízes de *C. sessilis* foi isolada uma mistura estereoidal composta por β -sitosterol, estigmasterol e espinasterol, um novo diterpeno de esqueleto do tipo cassano denominado 2,12 dioxo-3-hidróxi-15,17-epóxi-cassa-13(15),14(17)-dieno. A partir do extrato hexânico foi isolado um triterpeno de esqueleto Lupeno denominado Lupeol.

Do extrato etanólico das raízes de *C. muncugeana* foi isolado na forma de mistura dois diésteres graxos o tetracosanodioato de bis-(2,3-dihidroxi-propila) e docosanodioato de bis-(2,3-dihidroxi-propila), os quais estão sendo relatados pela primeira vez na literatura. Estes compostos são provavelmente formados a partir de um diácido esterificado com glicerol, além de uma misturas de esteróides glicosilados composta por estigmast-5en-3-*O*-glicopiranosídeo (β - sitosterol glicosilado), estigmast-5,22-dien-3-*O*-glicopiranosídeo (estimasterol glicosilado) e 3-*O*- β -D-glicopiranosil espinasterol.

6. CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS

6.1 - CS-01

F.M - C₂₉H₅₀O (sitosterol)

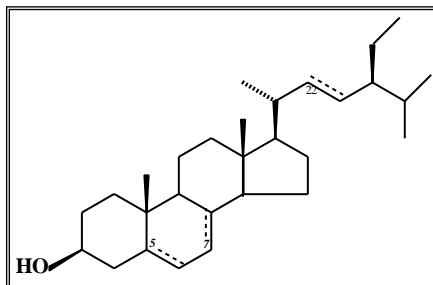
P.M - 414 u.m.a

F.M - C₂₉H₄₈O (estigmasterol)

P.M - 412 u.m.a

F.M - C₂₉H₄₈O (espinasterol)

PM - 412 u.m.a



Aspecto: Sólido branco amorfo

Espectroscopia na região do IV (cm⁻¹): 2954, 2850, 1641, 1039.

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) : Tabela 03, pág. 28

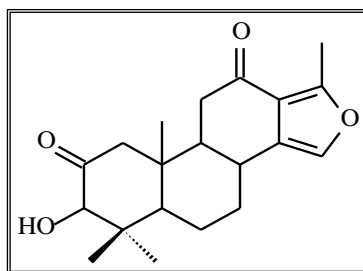
6.2 - CS-02

F.M - C₂₀H₂₆O₄

P.M - 330 u.m.a

Aspecto - Sólido branco

Faixa de Fusão: 220,2 - 223,3 °C



Espectroscopia na região do IV (cm⁻¹): 3413, 2942, 2873, 1760, 1689.

Espectrometria de massa alta resolução (EMAR) *m/z*. 331,1769 [M + H]⁺

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃).Tabela 04, pág. 32

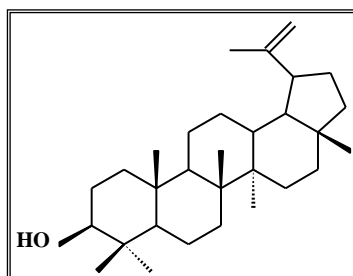
6.3 - CS-03

F.M - C₃₀H₅₀O

P.M - 426 u.ma

Aspecto - Sólido branco

Faixa de Fusão: 170,3 - 176,6 °C



Espectroscopia na região do IV (cm⁻¹). 3361, 2941, 2862, 1641, 1039

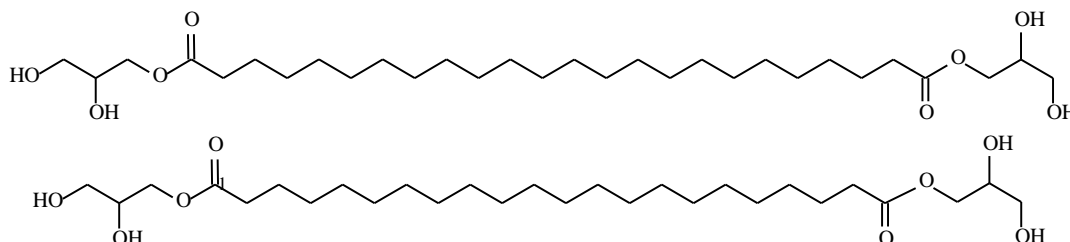
Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃). Tabela 05, pág. 40

6.4 - CM01

F.M - $C_{30}H_{58}O_8$ e $C_{28}H_{54}O_8$

P.M - 546 e 518 u.m.a

Aspecto - Sólido branco



Espectroscopia na região do IV (cm^{-1}): 3346, 2916, 2848, 1734

Espectrometria de massa alta resolução (EMAR) m/z . 569,4058 e 541,3798 $[M + Na]^+$

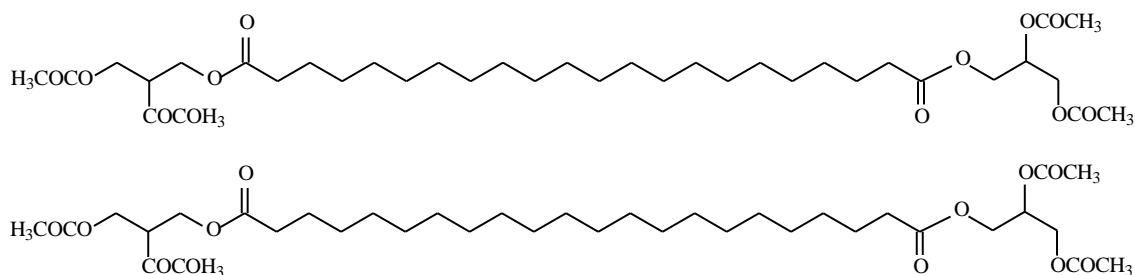
Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, C_5D_5N). Tabela 06, pág. 45

6.5 – CM1A

F.M - $C_{38}H_{66}O_{12}$ e $C_{36}H_{62}O_{12}$

P.M - 714,93 e 686,88 u.m.a

Aspecto - Sólido branco



Espectrometria de massa alta resolução (EMAR) m/z . 737,4578 e 709,4307 $[M + Na]^+$

Espectroscopia de RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$). Figura 38, pág. 52

6.6 - CM-02

F.M - C₃₅H₅₈O₆ (sitosterol glicosilado)

P.M - 574 u.m.a

F.M - C₃₅H₅₆O₆ (estigmasterol glicosilado)

P.M - 572 u.m.a

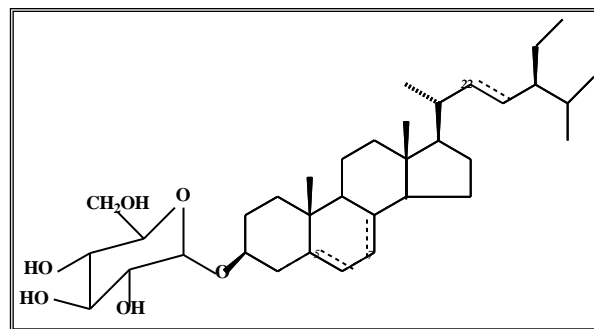
F.M - C₃₅H₅₈O₆ (espinasterol glicosilado)

PM - 574 u.m.a

Aspecto: Sólido branco amorfo

Espectroscopia na região do IV (cm⁻¹): 3376, 2920, 2869, 1634, 1049, 1023.

Espectroscopia de RMN ¹³C (125 MHz, C₅D₅N). Tabela 07, pág. 55



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROSO, G. M.; **Sistemática de Angiosperma do Brasil**. Minas Gerais: Imprensa Universitária, v. 2, p. 337, 1991.
- BERTA, B.; JÉSUS, G. D.; VIRGIL, L. G.; WERNER, G.; XORGE, A. D. Unusual Cassanes from a *Chamaecrista* Species. **Tetrahedron.**, v. 48 n.23, p. 4725-4732, 1992.
- BERNADINO, A. S; ALONSO, J. D. S; LAMIM-GUEDES, V. L.; MAGALHÃES, T. L. Produção de Néctar de *Calliandra mucugeana* (Fabaceae:Mimosoideae) em Campo Rupestre, Muncugê. **Anais do VIII congresso de Ecologia do Brasil 2007**.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal plants* 1995;part 3,387,511.
- CHENG, Y., MA, Y, L., MIAO, J, H., XU, X, D., YUAN, J, Q., YANG, J, S. A New Cassane diterpenoid lactone from the seed of *Caesalpinia minax*. **Chin. Chem. Lett.**, n. 20, p .444-446, 2009
- CHEENPRANCHA, S., KARALAI, C., PONGLIMANONT, C., CHANTAPROMMA, K., LAPHOOKHIEO. Cassane-Type Diterpenes from the Seeds of *Caesalpinia crista*. **Helv. Chim. Acta.**, n.89, 2006.
- CURSINO, L, M, C., MEQUITA, A, S, S., MESQUISTA, D, W, O., FERNANDES, C, C., JUNIOR, O, L., AMARAL, J, B., NUNEZ, C, V. Triterpenos das folhas de *Minuartia ianensis*. **Acta Amazônica.**, v. 39 n.1, p. 181-186, 2009.
- CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N .G., Natural Products (Secondary Metabolites). *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants.*, American Society of Plant Physiologists, cap. 24, 2000.
- DEWICK, P.M. 2001. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: 2ª ed. John Wiley & Sons, Ltda, 5 e 6p, 135, 145-149p.
- DICKSON, R, A., HOUGHT ,P ,J .,HYLANDSP, J., Antibacterial and antioxidant cassane diterpenoids from *Caesalpinia bethamiana*. **Phytochemistry**. V. 68, p.1436-1441, 2007.
- DA SILVA, M. S.; ANTONIOLLI, A. R; BATISTA, J. S; DA MOTA, C. N. Plantas Mediciniais usadas no Distúrbio do trato Gastrointestinal no Povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta. Bot. Bras.**, v. 20, p. 805-829, 2006.
- DA SILVA, B. P.; SOARES, J. B. R. C.; SOUZA, E. P.; PALATNIK, M.; SOUSA, C. B. P.; PARENTE, J. P. Pulcherrimasaponin, from the leaves of *Calliandra pulcherrima*, as adjuvant for imunization in the murine model of visceral leishmaniasis **Vaccine**, v. 23, p. 1061-1071, 2005.
- DE ANDRADE, S. P. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae). **Revista PIBIC**, v. 3, p. 151-158, 2006.

ELDEEN, I, M, S., HEERDEN, F, R., STADEN, J, V., In vitro Biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* subsp. *Kraussiana*. **J. Ethnopharmacol.**, p .555-5560, 2010.

HOU, Y., CAO, S., BRODIE, P. ,MILLER, J, S.,BIRKINSHAW ,C.,RATOVOSON ,F., RAKOTONDRAJAONA, ANDRIANTSIFERANAR., RASAMISONV, E, KINGSTON, D, G, I. Antiproliferative Cassane Diterpenoids of *Cordyla mandagascariensis* ssp.*mandagascariensis* from the Madagascar Rainforest. **J. Nat. Prod**, v. 71 , p. 150-152, 2008.

IGOLI, J, O ,ONYIRIUKA ,S ,O ,LETZEL ,M ,C ,NWAJI, M, N, GRAY, A ,I., Caasane Diterpenoids from *Lonchocarpus laxiflorus*. **J. Nat. Prod**, v.3 (1), p. 5-10, 2008.

JIANG, R, W., BUT, P, P, H.,MA, S, C.,MAK,T, C, W. Furanoditerpenoid from the seeds of *Caesalpinia minax* Hance.**Phytochemistry**. v 58, p. 517-521, 2001.

JOLY, A. B. Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal. São Paulo: Editora Nacional, 1993.

JOLY, A. B. Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal. 12^a.ed. São Paulo: Editora Nacional, 1998.

KANOJIYA, S., YADAV, P, P. Fragmentation patterns of newly isolated cassane butenolide diterpens and differentiation of stereoisomer by tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**. v.(43), p.1 413-1420, 2008.

KALAUNI, S, K., AWALE, S ., TEZUKA, Y .,BANKOTA, A, R., LINN, T, Z., KADOTA, S. Methyl Migrated Cassane-type Furanoditerpenes of *Caesalpinia crista* from Myanmar. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 53. p. 1300-1304, 2005.

KIDO, T.,TANIGUCHI ,M ,BABA, K. Diterpenoids from Amazônia crude Drug of Fabaceae. **Chem. Pharm. Bull.**,v. 51, p.207-208, 2003.

KIEM, P, V., MINH, C, V., HUONG, H ,T., LEE, J, J., KIM. Y, H. Caesaldecane, a Cassane Diterpenoid from the Leaves of *Caesalpinia decapetala*.**Chem. Pharm. Bull.**, v. 53, p. 428-430, 2005.

KINOSHITA, T. Chemical Studies on the Philippine Crude Drug Calumbibit(Seeds of *Caesalpinia bonduc*):The Isolation of New Cassane Diterpene Fused with α,β -Butenolide.**Chem. Pharm. Bull.**, v. 48 , p. 1375-1377, 2000.

KOJIMA, H., SATO, N., HATANO, A., OGURA, H. Sterol glucides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 70 , p. 2351-2355, 1990.

KOGA, J, OGAWA, N ,YAMAUCHI, T, KIKUCHI, M, OGASAWARA, N, SHIMURA, M. Functional for the antifungal activity of phytocassane E, a diterpene phytoalexin From Rice. **Phytochemistry**, v 44, p.249-253, 1997.

KONISHO, T.; KONOSHIMA, T.; FUJIWARA, Y.; KIYOSAWA, S. Excoecarins D, E, and K, from *Excoecaria agallocha*. **J. Nat. Prod.**, v. 6, p. 344-346, 2000.

LEAL, R. S., LIMA, M. A., SILVEIRA, E. R. Cassane Diterpenes from *Plathymenia reticulata*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, p. 120-125, 2003.

LIMA, H. C.; CORREIA, C. M. B.; FARIAS, D. S. Leguminosae. In. M. P. M. DE LIMA, R. R., GUEDES-BRUNI. **Revista Ecológica de Macaé de Cima: Nova Friburgo-Rj; Aspectos Florísticos das Espécies Vasculares**. Jardim Botânico Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 167-228, 1994.

LINN, T. Z., AWALE, S., TEZUKA, Y., BANSKOTA, A. H., KALAUNI, S. K., ATTAMIMI, F., UEDA, J. Y., ASIH, P. B. S., SYAFRUNDIN, D., TANAKA, K., KADOTA, S. Cassane and Norcassane-type Diterpenes from *Caesalpinia crista* of Indonésia and Their Antimalarial Activity against the Growth of *Plasmodium falciparum*. **J. Nat. Prod.**, v. 68, p. 706-710, 2005.

LI, D. M., MA, L., LIU, G. M., HU, L. H. Cassane-Type Diterpenes from the Seeds of *Caesalpinia minax* HANCE. **Chem. Biodiversity**, v. 3, 2006.

MACEDO, F. C. J. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C no estudo de rotas biossintéticas de produtos naturais. **Quím. nova**, v. 30, p. 116-124, 2007.

MATSUNO, Y., DEGUCHI, J., HIRASAWA, Y., OHYAMA, K., TOYODA, H., HIROBE, C., EKASARI, W., WIDYWARUYANTI, A., ZAINI, N. C., MORITA, H., Sucutiniranes A and B, new cassane-type diterpenes from *Bowdichia nitida*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v. 18, p. 3774-3777, 2008.

MENDONZA, D. T., GONZÁLEZ, L. D. U., BARRIA, E. O., CAPSON, T. L., RIOS, L. Five new cassanes diterpenoids from *Myrospermum frutescens* with Activity against *Trypanosoma cruzi*. **J. Nat. Prod.**, v. 66, p. 928-932, 2003.

MENDONZA, M. T., GONZÁLEZ, L. D. U., BARRÍA, E. E., COLEY, P. D., THOMAS, A. K., CAPSON, T. L., McPHAIL, K., RIOS, L. C. Novel Cassane and Cleistanthane Diterpenes from *Myrospermum frutescens*: Absolute Stereochemistry of the cassanes diterpenes series. **J. Nat. Prod.**, v. 67, p. 1711-1715, 2004.

MATSUNO, Y., DEGUCHI, J., HIRASAWA, Y., OHYAMA, K., TOYODA, H., HIROBE, C., EKASARI, W., WIDYWARUYANTI, A., ZAINI, N. C., MORITA, H., Sucutiniranes A and B, new cassane-type diterpenes from *Bowdichia nitida*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 18, p. 3774-3777, 2008.

MATSUNO, Y., DEGUCHI, J., HIRASAWA, Y., CHIEKO, H., SHIRO, M., MORITA, H. Sucutiniranes C-F, cassane – type Diterpenes from *Bowdichia nitida*. **J. Nat. Prod.**, v. 72, p. 976-979, 2006.

PRONSAWAN, N., KITAKOOP, P., BOONPHONG, S., NONGKUNSARN, P. Antitubercular Cassane furanoditerpenoids from the roots of *Caesalpinia pulcherrima*. **Planta Med.**, v. 69, p. 776-777, 2003.

PHILLIPSON, J. D.; ANDERSON, L. A.; **J Ethnopharmacol.**, v. 25, p. 61, 1998.

PETER, S., TINTO, W, F., McLEAN, S., REYNOLDS, W, F., YU, M. Cassane Diterpenes from *Caesalpinia Bonducella*. **Phytochemistry**. v. 47 p. 1153-1155, 1998.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H; Advances in Legumes Systematics part 1. **Royal Botanic gardens**., England, 1991.

PRANITHANCHAI, W., KARALAI, C., PONGLIMOANONT, C., SUBHADHIRASAKU. Cassane Diterpenoids from the stem of *Caesalpinia pulcherrima*. **Phytochemistry**., v. 70, p. 300-304, 2009.

PUDHOM, K., SOMMIT, D., SUWANKITTI, N., PETSOM, A., Cassane furanoditerpenoids from the Seed Kernels of *Caesalpinia bonduc* from Thailand. **J. Nat. Prod**, v. 70, p.1542-1544. REINBOTHE, C.; DIETRICH, B.; LUCKNER, M. J. **Plant. Physiol.**, v. 137, p. 224, 1990.

RAGASA,C, Y., GANZON, J., HOFILENA, J., BENJIE, T., RIDEOUT, J, A. A New Furanoid from *Caesalpinia pulcherrima*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 51, n.10, p. 1208-1210, 2003.

ROACH, J, S., McLEAN, S., REYNOLDS, W, F., TINTO, W, F. Cassane Diterpenoids of *Caesalpinia pulcherrima*. **J. Nat. Prod.**, v 66, p. 1378-1381, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 6 ed. Rio de Janeiro: LCT, 2000.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Potencial Alelopático de *Myrcia guiannensis*. **Planta Daninha**, v. 24 n. 4, p. 649-656, 2004.

SOUZA, E, R., **Aspectos taxonômicos e biogeográficos de gênero *Calliandra* BENTH. (Leguminosae-mimosoidae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.** Dissertação de Mestrado (Botânica).Departamento de Ciências Biológicas, programa de pós-graduação em Botânica,Universidade Estadual de Feira de Santana-UEFS,2001.

YADAV, P, P.,ARORA, A., BID, H, K., KONWAR, R, R., KANOJIYA, S. New Cassane butenolide hemiketal diterpenes from the marine creeper *Caesalpinia bonduc* and their antiproliferative activity. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 7194-7198, 2007.

YADAV, P, P., MAURYA, R., SARKAR, J. ARORA, A., KANOJIYA, S., SINHA, S., SRIVASTAVAM, N., RANGHUBIR, RAM. Cassanes Diterpenes from *Caesalpinia bonduc*. **Phytochemistry**. v. 70. p. 256-261, 2009.

YANG, Z, Y., YIN, Y, H., HU, L, H., Five New Cassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia crista*. **Helv. Chim. Acta.**,v. 92, 2009.

Yin, Y., MA, LEI., HU, L, H. Cassane-Type Diterpenes from the Seeds of *Caesalpinia magnifoliaolata*. **Helv. Chim. Acta.**, v.91, 2008.

WINK, M., Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular

phylogenetic perspective. **Phytochemistry** 64, p. 3-19, 2003.

WU, Z, H., HUANG, J., LI, L, J., WU, L, J., GAO, H, Y. Three new cassane diterpenes from the seeds *Caesalpinia minax* HANCE. **J. Asian Nat. Prod. Res.**, v. 12 n. 9, p.781-787, 2010.

ZANON, R, B., PEREIRA, D, F., BOSCAETTI, T, K., SANTOS, M., ATHAYDE, M, L. Fitoconstituintes isolados da fração em diclometano das folhas de *Vernonia tweediana* Baker. **Rev. Brás. Farmacogn.**, v. 18 n. 2, p .226-229, 2008.