



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

PAULA KARINA SANTOS UCHÔA

ESTUDO QUÍMICO DE *Croton floribundus* Spreng
(EUPHORBIACEAE)

FORTALEZA-CE
2011

PAULA KARINA SANTOS UCHÔA

**ESTUDO QUÍMICO DE *Croton floribundus* Spreng
(EUPHORBIACEAE)**

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

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Mary Anne Sousa Lima

**FORTALEZA-CE
2011**

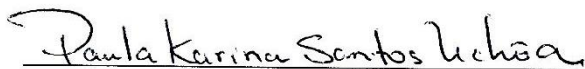
U19e Uchôa, Paula Karina Santos
Estudo químico de *Croton floribundus* Spreng (Euphorbiaceae) / Paula
Karina Santos Uchôa. – 2011.
162 f. : il. color., enc.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Área de concentração: Química Orgânica
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências. Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza,
2011.

1. Croton 2. Plantas – Análise 3. Diterpenos I. Lima, Mary Anne Sousa
(Orient.)II. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação
em Química III. Título


CDD547

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

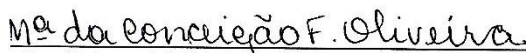

Paula Karina Santos Uchôa

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 21/07/2011

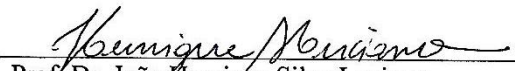
EXAMINADORES:



Prof. Dra. Mary Anne Sousa Lima
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. João Henrique Silva Luciano
Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia-IFCE

Aos meu pais, Paulo (*in memoriam*) e
Leni, que por meio de incentivos e
exemplos, proporcionaram o alicerce
para a minha caminhada.

Agradecimentos

À Deus acima de tudo.

À minha família, a quem eu devo todas as minhas conquistas, pelo apoio, carinho e presença constante. Em especial aos meus pais, Leni e Paulo (*in memoriam*); à minha irmã, Júlia; às minhas Avós Maria e Fátima; às tias Juliana, Socorro e Conceição; às primas Brena, Bruna, Camila e à minha pequena Ana Clara muitas vezes meu acalanto nos momentos mais difíceis.

À prof^a Mary Anne Sousa Lima pela dedicação, carinho, compreensão e paciência ao longo desses anos de convivência. Além da valorosa orientação e dos preciosos ensinamentos, que muito tem contribuído para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao prof^o Edilberto Rocha Silveira pela coleta do material botânico, pelos ensinamentos, carinho e apoio nas mais diversas ocasiões.

Ao prof^o José Nunes da Silva Jr., pelas orientações concedidas nas modificações estruturais realizadas.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Química pelos conhecimentos transmitidos.

Aos operadores dos aparelhos de Ressonância Magnética Nuclear: Honório e prof^a Mary Anne; de Infravermelho: Regivaldo, Elis, Patrícia e Karisia e de Espectrometria de Massa: Karen, pela obtenção dos espectros das substâncias isoladas.

Aos colegas de laboratório: Antônia, Antônio Neto, Ceíça, Daniel, Duvilardo, Érika, Gustavo, Honório, Hozana Patrícia, Isabel, João Vito, Henrique, Karen, Karine, Karisia, Mariano, Max, Milton, Nayara, Nicolau, Patrícia, Paulo, Pérsio, Regivaldo, Renata, Ticiane, Vanessa e Zelina, por tornar cada dia de trabalho mais alegre e agradável.

Aos funcionários Mundinha, Lana, Célia, Orlando e seu Paulo pelo suporte técnico.

Aos órgãos financiadores CNPq, CAPES, FUNCAP, FINEP E PRONEX.

E ao meu querido Expedito, sempre presente na alegria e na tristeza, na saúde e na doença.

SUMÁRIO

| | |
|--|-------------|
| LISTA DE FIGURAS | ix |
| LISTA DE TABELAS | xiii |
| LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS | xv |
| RESUMO | xvi |
| ABSTRACT | xvii |
| | |
| 1INTRODUÇÃO | 1 |
| 2CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS | 3 |
| 2.1Considerações sobre a família Euphorbiaceae | 3 |
| 2.2Considerações sobre o gênero <i>Croton</i> | 3 |
| 2.3Considerações sobre <i>Croton floribundus</i> | 4 |
| 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO | 6 |
| 3.1Biossíntese de diterpenos cauranos e traquilobanos | 6 |
| 3.2Diterpenos cauranos | 7 |
| 3.3Diterpenos traquilobanos | 8 |
| 3.4Ocorrência de diterpenos cauranos e traquilobanos no reino vegetal | 9 |
| 4DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL | 18 |
| 4.1Determinação estrutural de CF-1 | 18 |
| 4.2Determinação estrutural de CF-2 | 31 |
| 4.3Determinação estrutural de CF-7 | 42 |
| 4.4Determinação estrutural de CF-5 | 51 |
| 4.4.1Derivados reacionais de CF-5..... | 61 |
| 4.4.1.1Reação de acetilação – obtenção de CF-5D1 | 61 |
| 4.4.1.2Reação de oxidação – obtenção de CF-5D2..... | 69 |
| 4.5Determinação estrutural de CF-6 | 79 |
| 4.6Determinação estrutural de CF-3 | 91 |
| 4.7Determinação estrutural de CF-4 | 104 |
| 5PARTE EXPERIMENTAL | 117 |
| 5.1Material botânico | 117 |
| 5.2Métodos cromatográficos | 117 |
| 5.2.1Cromatografia de adsorção | 117 |

| | |
|---|------------|
| 5.2.2Cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE)..... | 118 |
| 5.3Métodos espectroscópicos | 118 |
| 5.3.1Espectroscopia na região do infravermelho (IV) | 118 |
| 5.3.2Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) e de Carbono-13 (RMN ¹³ C) | 119 |
| 5.3.3Espectrometria de massa (EM) | 120 |
| 5.4Métodos físicos | 120 |
| 5.4.1Ponto de fusão (p.f.) | 120 |
| 5.4.2Rotação óptica | 120 |
| 5.5Estudo fitoquímico das cascas da raiz de <i>Croton floribundus</i> | 121 |
| 5.5.1Obtenção dos extratos das cascas da raiz: CFCRH e CFCRE | 121 |
| 5.5.2Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das cascas da raiz de <i>Croton floribundus</i> | 121 |
| 5.5.2.1Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A | 122 |
| 5.5.2.2Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (4) e isolamento de CF-1 | 122 |
| 5.5.2.3Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (5) e isolamento de CF-2 | 122 |
| 5.5.2.4Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (6-8) e isolamento de CF-3 ... | 123 |
| 5.5.2.5Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (9-10) e isolamento de CF-4 . | 123 |
| 5.5.2.6Isolamento de CF-5 | 124 |
| 5.5.2.7Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D | 124 |
| 5.5.2.8Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D (9-13) e isolamento de CF-6 | 125 |
| 5.5.2.9Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D (18-19) e isolamento de CF-7 | 125 |
| 5.6Obtenção dos derivados reacionais | 126 |
| 5.6.1Reação de acetilação – obtenção de CF-5D1 | 126 |
| 5.6.2Reação de oxidação – obtenção de CF-5D2 | 127 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 128 |
| 7CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>C. floribundus</i> | 129 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 134 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| FIGURA 1 | Fotos de diferentes partes de <i>C. floribundus</i> : (A) frutos, (B) inflorescências e (C) espécime em seu <i>habitat</i> natural | 5 |
| FIGURA 2 | Ciclização do GGPP sob catálise ácida | 6 |
| FIGURA 3 | Diterpenos de série normal e <i>enantio</i> | 7 |
| FIGURA 4 | Esqueleto básico de um diterpeno do tipo <i>ent</i> -caurano | 8 |
| FIGURA 5 | Esqueleto básico de um diterpeno do tipo <i>ent</i> -traquilobano, com destaque para o sistema triciclo[3.2.1.0]octano | 9 |
| FIGURA 6 | Distribuição de diterpenos cauranos e traquilobanos em espécies do gênero <i>Croton</i> | 10 |
| FIGURA 7 | Esqueleto básico de um diterpeno do tipo <i>ent</i> -traquilobano | 19 |
| FIGURA 8 | Estrutura de CF-1 - ácido <i>ent</i> -traquiloban-19-óico | 23 |
| FIGURA 9 | Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-1 | 25 |
| FIGURA 10 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-1 | 25 |
| FIGURA 11 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 26 |
| FIGURA 12 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 27 |
| FIGURA 13 | Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 28 |
| FIGURA 14 | Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 28 |
| FIGURA 15 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 29 |
| FIGURA 16 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-1 | 30 |
| FIGURA 17 | Estrutura de CF-2 -ácido <i>ent</i> -15 α -hidroxitraquiloban-19-óico | 34 |
| FIGURA 18 | Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-2 | 37 |
| FIGURA 19 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-2 | 37 |
| FIGURA 20 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de CF-2 | 38 |
| FIGURA 21 | Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CD_3OD) de CF-2 | 39 |
| FIGURA 22 | Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de CF-2 | 39 |
| FIGURA 23 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de CF-2 | 40 |
| FIGURA 24 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - | |

| | | |
|-----------|--|----|
| | HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de CF-2 | 41 |
| FIGURA 25 | Estrutura de CF-7 - <i>ent</i> -traquiloban-19-ol | 44 |
| FIGURA 26 | Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-7 | 46 |
| FIGURA 27 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-7 | 46 |
| FIGURA 28 | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CF-7 | 47 |
| FIGURA 29 | Espectro de RMN ¹³ C - CPD (125 MHz, CDCl ₃) de CF-7 | 48 |
| FIGURA 30 | Espectro de RMN ¹³ C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de CF-7 | 48 |
| FIGURA 31 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-7 | 49 |
| FIGURA 32 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-7 | 50 |
| FIGURA 33 | Estrutura de CF-5 - <i>ent</i> -traquiloban-18,19-diol | 53 |
| FIGURA 34 | Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5 | 55 |
| FIGURA 35 | Espectro de massa de alta resolução (EM - IES) de CF-5 | 55 |
| FIGURA 36 | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 56 |
| FIGURA 37 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹ H, ¹ H - COSY (500 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 57 |
| FIGURA 38 | Espectro de RMN ¹³ C - CPD (125 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 58 |
| FIGURA 39 | Espectro de RMN ¹³ C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 58 |
| FIGURA 40 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 59 |
| FIGURA 41 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-5 | 60 |
| FIGURA 42 | Esquema reacional da acetilação de CF-5 | 61 |
| FIGURA 43 | Estrutura de CF-5D1 - <i>ent</i> -18,19-diacetoxitraquilobano | 62 |
| FIGURA 44 | Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5D1 | 64 |
| FIGURA 45 | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CF-5D1 | 65 |
| FIGURA 46 | Espectro de RMN ¹³ C - CPD (125 MHz, CDCl ₃) de CF-5D1 | 66 |
| FIGURA 47 | Espectro de RMN ¹³ C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de CF-5D1 | 66 |
| FIGURA 48 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-5D1 | 67 |
| FIGURA 49 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-5D1 | 68 |
| FIGURA 50 | Esquema reacional da oxidação de CF-5 | 69 |

| | | |
|-----------|---|----|
| FIGURA 51 | Estrutura de CF-5D2 -ácido <i>ent</i> -18-nortraquiloban-19-óico | 72 |
| FIGURA 52 | Proposta mecanística para formação de CF-5D2 - ácido <i>ent</i> -18-nortraquiloban-19-óico | 72 |
| FIGURA 53 | Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5D2 | 74 |
| FIGURA 54 | Espectro de massa de alta resolução (EM - IES) de CF-5D2 | 74 |
| FIGURA 55 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-5D2 | 75 |
| FIGURA 56 | Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2 | 76 |
| FIGURA 57 | Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2 | 76 |
| FIGURA 58 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2 | 77 |
| FIGURA 59 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2 | 78 |
| FIGURA 60 | Esqueleto básico de um diterpeno do tipo <i>ent</i> -caureno | 80 |
| FIGURA 61 | Estrutura de CF-6 -ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-óico | 83 |
| FIGURA 62 | Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-6 | 85 |
| FIGURA 63 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-6 | 85 |
| FIGURA 64 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 86 |
| FIGURA 65 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 87 |
| FIGURA 66 | Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 88 |
| FIGURA 67 | Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 88 |
| FIGURA 68 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 89 |
| FIGURA 69 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-6 | 90 |
| FIGURA 70 | Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-3 | 93 |
| FIGURA 71 | Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-3 | 95 |
| FIGURA 72 | Estrutura de CF-3 - <i>ent</i> -caur-16-en-6,19-diol | 95 |
| FIGURA 73 | Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-3 | 97 |
| FIGURA 74 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-3 | 97 |
| FIGURA 75 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-3 | 98 |
| FIGURA 76 | Espectro de RMN ^1H (500 MHz, C_6D_6) de CF-3 | 98 |
| FIGURA 77 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, CDCl_3) de CF-3 | 99 |
| FIGURA 78 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - | |

| | | |
|-----------|--|-----|
| | COSY (500 MHz, C ₆ D ₆) de CF-3 | 99 |
| FIGURA 79 | Espectro de RMN ¹³ C - CPD (125 MHz, CDCl ₃) de CF-3 | 100 |
| FIGURA 80 | Espectro de RMN ¹³ C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de CF-3 | 100 |
| FIGURA 81 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-3 | 101 |
| FIGURA 82 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl ₃) de CF-3 | 102 |
| FIGURA 83 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹ H, ¹ H - NOESY (500 MHz, CDCl ₃) de CF-3 | 103 |
| FIGURA 84 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹ H, ¹ H - NOESY (500 MHz, C ₆ D ₆) de CF-3 | 103 |
| FIGURA 85 | Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-4 | 108 |
| FIGURA 86 | Estrutura de CF-4 - ácido <i>ent</i> -16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico | 109 |
| FIGURA 87 | Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-4 | 111 |
| FIGURA 88 | Espectro de massa (EM - IE) de CF-4 | 111 |
| FIGURA 89 | Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 112 |
| FIGURA 90 | Espectro de RMN ¹³ C - CPD (125 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 113 |
| FIGURA 91 | Espectro de RMN ¹³ C - DEPT 135° (125 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 113 |
| FIGURA 92 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HSQC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 114 |
| FIGURA 93 | Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ¹ H, ¹³ C - HMBC (500 x 125 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 115 |
| FIGURA 94 | Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹ H, ¹ H - NOESY (500 MHz, CD ₃ OD) de CF-4 | 116 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----|--|----|
| 1. | Diterpenos de esqueleto caurano isolados a partir de espécies do gênero <i>Croton</i> | 10 |
| 2. | Diterpenos de esqueleto traquilobano isolados a partir de espécies do gênero <i>Croton</i> | 16 |
| 3. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-1 | 19 |
| 4. | Dados de RMN ^{13}C de CF-1 em comparação com dados da literatura para o ácido traquiloban-19-óico (NGAMROJNAVANICH <i>et al.</i> , 2003a) e para o ácido traquiloban-18-óico (LEONG e HARRISON, 1997) | 23 |
| 5. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C -HSQC e ^{13}C -HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-1 | 24 |
| 6. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-2 | 32 |
| 7. | Dados de RMN ^{13}C de CF-2 em comparação com dados da literatura para o ácido <i>ent</i> -15 α -hidroxitraquiloban-19-óico (TAKAHASHI <i>et al.</i> , 2001) e para o ácido <i>ent</i> -15 β -hidroxitraquiloban-19-óico (MORRIS, CHARLET e FOSTER, 2008) | 35 |
| 8. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-2 | 36 |
| 9. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-7 | 43 |
| 10. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-7 e comparação com dados de RMN ^{13}C da literatura para o <i>ent</i> -traquiloban-19-ol (NGAMROJNAVANICH <i>et al.</i> , 2003a) | 45 |
| 11. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-5 | 52 |
| 12. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-5 | 54 |
| 13. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-5D1 | 62 |
| 14. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-5D2 | 70 |
| 15. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC ^nJ (n=2, n=3) de CF-5D2 | 73 |
| 16. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de | |

| | | |
|-----|---|-----|
| | hidrogenação dos carbonos de CF-6 | 80 |
| 17. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-6 e comparação com dados de RMN ^{13}C da literatura para o ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-óico (MONTE <i>et al.</i> , 1988) | 84 |
| 18. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-3 | 92 |
| 19. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-3 | 96 |
| 20. | Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-4 | 105 |
| 21. | Dados de RMN ^{13}C de CF-4 em comparação com dados da literatura para o ácido <i>ent</i> -16 α -hidroxi-caur-11-en-19-óico (HERZ, GOVINDAN e WATANABE, 1982)..... | 109 |
| 22. | Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-4 | 110 |
| 23. | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do extrato hexânico da casca da raiz de <i>C. floribundus</i> (CFCRH) | 121 |
| 24. | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração CFRH-D | 125 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|---------------------|---|
| $[\alpha]_D^{20}$ | Rotação óptica específica |
| δ | Deslocamento químico |
| \emptyset | Diâmetro |
| CCD | Cromatografia em Cama Delgada |
| CENAUREMN | Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear |
| CFCRH | Extrato hexânico das cascas da raiz de <i>Crotonfloribundus</i> |
| CFCRE | Extrato etanólico das cascas da raiz de <i>Crotonfloribundus</i> |
| COSY | Correlation Spectroscopy |
| CPD | Composite Pulse Decoupling |
| DEPT | Distortionless Enhancement by polarization Transfer |
| DQOI | Departamento de Química Orgânica e Inorgânica |
| EM | Espectrometria de massa |
| eV | Eletrons Volts |
| HMBC | Heteronuclear Multiple Bond Correlation |
| HSQC | Heteronuclear Single Quantum Coherence |
| Hz | Hertz |
| IDH | Índice de Deficiência de Hidrogênio |
| IE | Impacto Eletrônico |
| IES | Ionização por <i>electrospray</i> |
| IV | Infravermelho |
| J | Constante de acoplamento |
| LEMANOR | Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste |
| NOESY | Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy |
| p.f. | Ponto de fusão |
| ppm | Partes por milhão |
| RMN ^{13}C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| RMN ^1H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio |

RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico das cascas da raiz de *Croton floribundus* Spreng, coletadas no município de Pacoti-CE. A investigação fitoquímica do extrato hexânico de *C. floribundus* levou ao isolamento de três diterpenos do tipo caureno, ácido *ent-caur-16-en-19-óico*, *ent-caur-16-en-6 α ,19-diol* e ácido *ent-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico*, sendo os dois últimos relatados pela primeira vez para o gênero *Croton*. Além destes compostos, foram isolados quatro diterpenos do tipo traquilobano, identificados como sendo ácido *ent-traquiloban-19-óico*, ácido *ent-15 β -hidroxitraquiloban-19-óico*, *ent-traquiloban-19-ol* e o *ent-traquiloban-18,19-diol*, que não possui registro na literatura. Foram preparados ainda dois derivados reacionais de caráter inédito, obtidos através de reações de acetilação e oxidação do diterpeno traquilobânico *ent-traquiloban-18,19-diol*, que foram caracterizados como sendo *ent-18,19-diacetoxitraquilobano* e ácido *ent-18-nortraquiloban-19-óico*. Todos os diterpenos isolados foram submetidos a testes de atividade citotóxica, utilizando linhagens de células tumorais de cólon (HCT-8), mama (MDAMB-435) e cérebro (SF-295), onde testes preliminares indicaram que os compostos *ent-caur-16-en-6 α ,19-diol* e ácido *ent-18-nortraquiloban-19-óico* apresentaram moderada atividade. Os metabólitos secundários foram isolados através de técnicas cromatográficas usuais, utilizando cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna e cromatografia líquida de alta eficiência. A determinação estrutural foi realizada através de métodos físicos (ponto de fusão e rotação óptica) e do uso de técnicas espectrométricas como: infravermelho (IV), espectrometria de massas (EM) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e carbono-13 (RMN ^{13}C), incluindo experimentos bidimensionais (COSY, HSQC, HMBC, NOESY), além de comparação com dados da literatura.

ABSTRACT

The present work reports the chemical study of root barks from *Croton floribundus* Spreng, collected at Pacoti-CE. The phytochemical investigation of hexane extract lead to the isolation of three kaurene-type diterpenes, *ent*-kaur-16-en-19-oic acid, *ent*-kaur-16-en-6 α ,19-diol and *ent*-16 α -hydroxykaur-11-en-19-oic acid, reported for the first time to the genus *Croton*. In addition, four trachylobane-type diterpenes were isolated and identified as *ent*-trachyloban-19-oic acid, *ent*-15 β -hydroxytrachyloban-19-oic acid, *ent*-trachyloban-19-ol and the *ent*-trachyloban-18,19-diol, which was described as a new compound. Two derivatives of *ent*-trachyloban-18,19-diol were prepared through acetylation and oxidation reactions, and were characterized as *ent*-18,19-diacetoxytrachylobane and *ent*-18-nortrachyloban-19-oic acid. Each of these isolated diterpenes were submitted to cytotoxic activity using colon (HCT-8), breast (MDAMB-435) and brain (SF-295) cell lines, and the compounds *ent*-kaur-16-en-6 α ,19-diol and *ent*-18-nortrachyloban-19-oic acid showed moderated activity in preliminaries assays. The secondary metabolites were isolated through usual chromatography techniques, using thin layer chromatography, column chromatography and high performance liquid chromatography. The structure determination of the isolated compounds was performed through physical (melting point and optical rotation) and spectrometrical techniques, such as: infrared (IR), mass spectrometric (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR), including bidimensional experiments, and comparison with the literature data.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm seu uso descrito por praticamente todos os povos desde os tempos mais remotos. No Brasil, especialmente na região nordeste, o uso de plantas medicinais e preparações caseiras assumem importância fundamental no tratamento de patologias que afetam as populações de baixa renda. Nesse sentido, o uso de plantas medicinais pode se constituir numa alternativa terapêutica muito útil devido a sua eficácia, aliada a um baixo custo operacional, a relativa facilidade para aquisição das plantas e a compatibilidade cultural com a população atendida (MACIEL *et al.*, 2002; MATOS, 1994; MATOS, 2007).

De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial. (MACIEL *et al.*, 2002).

Dentre as diferentes classes de produtos naturais usados na cura de doenças, destaca-se a dos diterpenos, por exibir relevante diversidade estrutural e um elevado número de atividades farmacológicas. Essas substâncias podem ser encontradas em diferentes partes do vegetal e em representantes de diversas famílias de plantas superiores. Dentro do contexto de plantas bioprodutoras de diterpenos insere-se as espécies da família Euphorbiaceae, as quais tem sido alvo de inúmeras investigações fitoquímicas.

A família Euphorbiaceae possui cerca de 300 gêneros e 7500 espécies dispersas em toda a superfície terrestre, onde é amplamente distribuída em regiões tropicais e temperadas caracterizando grande parte da flora brasileira. A família destaca-se ainda por ser uma das maiores entre as dicotiledôneas, e por isso é dividida em quatro subfamílias (Phyllanthoideae, Crotoideae, Porantheroideae e Ricinocarpoideae). Os espécimes vão desde ervas a trepadeiras e árvores de grande porte, sendo geralmente produtoras de látex. No Brasil, espécies de Euphorbiaceae são bastante representativas em número e popularidade, onde se destacam a seringueira (*Hevea Brasiliensis* Muell Arg.), nativa da região amazônica no norte do Brasil, a maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell Arg.), da região nordestina; a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.); e a mamona (*Ricinus comunis* L.) (WEBSTER, 1967; WILSON, 1976; SILVEIRA, 1979).

O gênero *Croton*, é um dos maiores da família Euphorbiaceae, compreendendo cerca de 1300 espécies de ampla distribuição em regiões de clima quente, menos frequente em

regiões temperadas e raramente em regiões frias. É ainda representado por espécimes que desempenham papel importante na medicina tradicional em diferentes partes do mundo. Dentre os usos como fonte terapêutica alternativa, pode-se citar o tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos, diabetes, feridas externas, febre, hipertensão, malária, úlceras e obesidade (SALATINO *et al.*, 2007).

Diversas espécies do gênero tiveram suas propriedades químico-farmacológicas investigadas, e se mostraram como uma fonte prolífica de metabólitos secundários com importantes atividades farmacológicas. Como *C. celtidifolius* que mostrou atividade antiinflamatória e antioxidante; *C. cajucara* que apresentou atividade antinociceptiva e antiulcerogênica; *C. kongensis* que possui atividade antimicrobacteriana e antimalárica; *C. lechleri* que apresentou atividade anticâncer e *C. schiedeanus* que revelou atividade anti-hipertensiva e vasorelaxante (SALATINO *et al.*, 2007).

Do ponto de vista químico, os terpenóides são os metabólitos secundários predominantes no gênero, principalmente os diterpenóides. No entanto, triterpenos, alcalóides, flavonóides, compostos fenólicos e lignanas também tem sido relatados para espécies do gênero (SALATINO *et al.*, 2007).

Croton floribundus é uma arvoreta que possui ocorrência no Nordeste do Brasil, onde é conhecida popularmente como “capixingui” ou “tapixingui”. As cascas do caule desta planta têm sido utilizadas na medicina popular no tratamento de sífilis, e as folhas têm emprego na medicina humana e veterinária no tratamento de úlceras (CORRÊA, 1984).

Desta forma, baseando-se no fato de que o gênero *Croton* se mostra como uma prolífica fonte de diterpenos, o presente trabalho teve como objetivo a investigação fitoquímica desta espécie, visando o isolamento e caracterização estrutural de diterpenos bioativos.

CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 Considerações sobre a família Euphorbiaceae

Euphorbiaceae é uma família que compreende cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7500 espécies, distribuídas em todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais. Os maiores centros de dispersão encontram-se nas Américas e na África, e os gêneros mais representativos são o *Euphorbia* (2.300 espécies), *Croton* (1.300 espécies) e *Phyllanthus* (800 espécies). No Brasil, ocorrem 72 gêneros e cerca de 1.100 espécies difundidas em todos os tipos de vegetação (JOLLY, 1998).

Segundo Jolly (1998) a família Euphorbiaceae é descrita de acordo com a seguinte transcrição:

São plantas de hábitos bastante variados, existindo ervas, árvores, subarbustos e também trepadeiras, com folhas alternas inteiras ou partidas, em geral com estípulas, latescentes ou não. Flores sempre de sexo separado, em geral com monoclamídeas, ocorrendo também diclamídeas, em plantas monóicas, reunidas em inflorescências muito variadas, em geral tipo cacho. Às vezes com flores femininas acima (*Ricinus*) ou em geral abaixo (*Croton*) ou inflorescência de sexo separado (*Euphorbia*). Fruto seco esquizocarpo, separando-se elasticamente em 3 cocos. Este abrindo-se posteriormente. Sementes ricas em endospermas, muitas vezes oleaginoso, providas de grande carúncula (JOLLY, 1998).

2.2 Considerações sobre o gênero *Croton*

O gênero *Croton* é o segundo maior da família Euphorbiaceae, compreendendo cerca de 1300 espécies de ampla distribuição em regiões quentes, menos freqüentemente em regiões temperadas e raramente em regiões frias, das quais cerca de 300 ocorrem no Brasil (SALATINO *et al.*, 2007).

De acordo com Craveiro (1981) as espécies do gênero *Croton* apresentam geralmente,

Folhas com revestimento piloso, inteiras, ou raramente, trilobadas, com estípulas muitas vezes características, principalmente nos ramos jovens e renovos. Apresentam revestimento piloso, algumas vezes com pêlos estrelados, outras, com pêlos lepidotos ou escamosos. As flores de ambos os sexos são pequenas, esbranquiçadas e dispostas em racemos mais ou menos alongados, dispondo-se as masculinas, geralmente mais numerosas, na parte apical e as femininas na parte

basal. O fruto é uma cápsula tricoca, de 2 a 6 mm de diâmetro e as sementes são geralmente escuras e oleaginosas. Muitas espécies são odoríferas, estando o óleo essencial distribuído em todos os órgãos da planta, principalmente nas folhas e cascas do caule (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

2.3 Considerações sobre *Croton floribundus* Spreng

Croton floribundus Spreng (fig. 1, p.5) apresenta crescimento muito rápido e ciclo de vida curto, muito abundante em formações secundárias, repovoando clareiras e proliferando em bordas de mata. É uma espécie muito empregada em reflorestamentos mistos, protetivos ou comerciais, com sombreamento de espécies de estágios mais avançados de sucessão (DURIGAN *et al.*, 2002). O mel produzido a partir de suas flores é de coloração quase branca, de aroma muito diferenciado, saborosíssimo e de excelente qualidade. A árvore também possui propriedades medicinais (LORENZI, 1992; CARVALHO, 2003). Inicia a frutificação precocemente, cerca de três anos após o plantio; os frutos são do tipo cápsula tricoca, contendo três sementes, as quais são arredondadas, de cor preta, e que, de acordo com Lorenzi (1992), apresentam viabilidade que não ultrapassa os quatro meses.

Segundo Corrêa (1984), *Croton floribundus* pode ser descrita como:

Arbusto grande, ou árvore pequena, até 10 m. de altura; ramos cilíndricos e raminhos angulosos-obtusos, revestido de epiderme pardo escura ou violácea, subverrucosos e com pêlos estrelados; folhas alternadas, pecioladas, estipuladas, oblongo-ovadas ou oblongo-elípticas, agudas, subinteiras, com limbo até 12 cm de comprimento e 6 cm de largura, escuras e com pêlos estrelados e hirtos-escabrosos na página superior e argenteo-ochraceos na inferior; flores brancas, monóicas (as femininas com pétalas pubescentes), dispostas em racimos compridos; fruto cápsula globoso-deprimida. Fornece madeira amarelada e com veios escuros (CORRÊA, 1984).

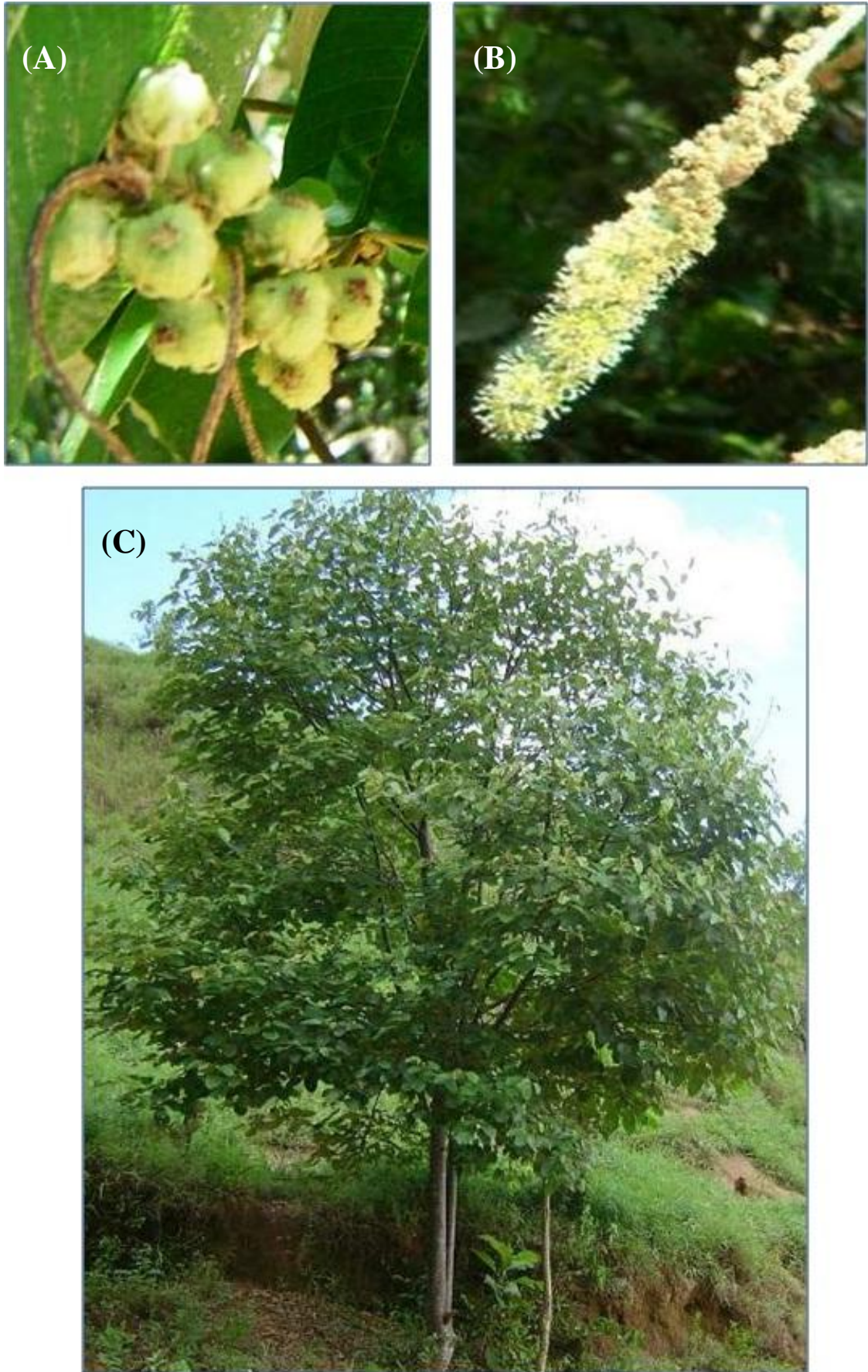


Figura 1 – Fotos representando diferentes partes de *C. floribundus*: (A) frutos, (B) inflorescências e (C) espécimen em seu *habitat* natural. (Fotos: E. R. Silveira)

LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

A investigação fitoquímica das cascas da raiz de *Croton floribundus* levou ao isolamento de diterpenos de esqueletos caurano e traquilobano. Desta forma, o presente levantamento apresenta características estruturais e biossintéticas destes compostos, e dados de ocorrência natural no gênero *Croton* através da listagem das espécies estudadas quimicamente.

3.1 Biossíntese de diterpenos cauranos e traquilobanos

Os diterpenos constituem uma vasta classe de produtos naturais isoprenoidais, biossintetizados a partir do ácido mevalônico, cuja sequência biossintética leva ao 2E,6E,10E-pirofosfato de geranylgeranila (GGPP).

Diterpenos cíclicos resultam de diferentes processos biossintéticos de ciclização do GGPP, sendo o principal o que ocorre sob catálise ácida. A protonação do GGPP leva à uma sequência de ciclização sincronizada, terminando com a perda de um próton de um grupamento metil, levando a formação de dois intermediários bicíclicos perhidronaftaleno, o (+)-copalil PP e o (-)-copalil PP (fig. 2, p. 6). Esses intermediários levam a duas séries enantioméricas que se diferenciam pelas configurações invertidas dos carbonos C-5, C-9 e C-10, a série normal e a série *enantio* (imagem especular da série normal) (DEWICK, 2009; GARCÍA, OLIVEIRA e BATISTA, 2007).

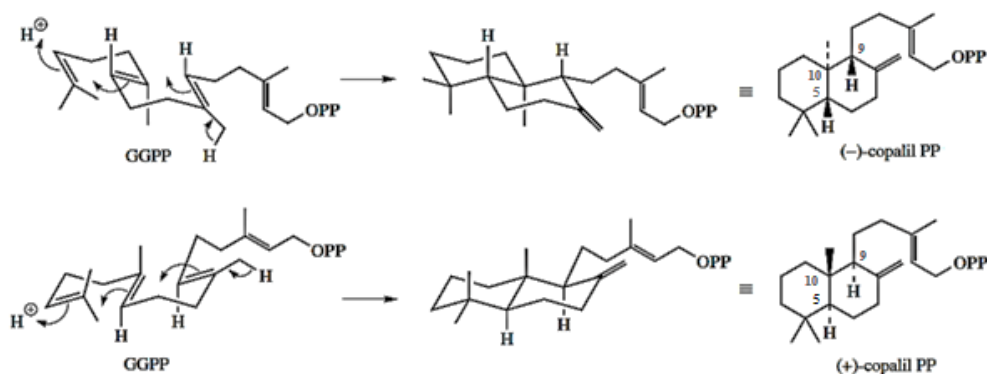


Figura 2 – Ciclização do GGPP sob catálise ácida

A partir do copalil PP uma sequência de ciclizações e rearranjos catalisados por enzimas do levam a formação diterpenos de esqueletos, tais como caurano, traquilobano, pimarano, beirano, labdano, entre outros (fig. 3, p. 7) (DEWICK, 2009).

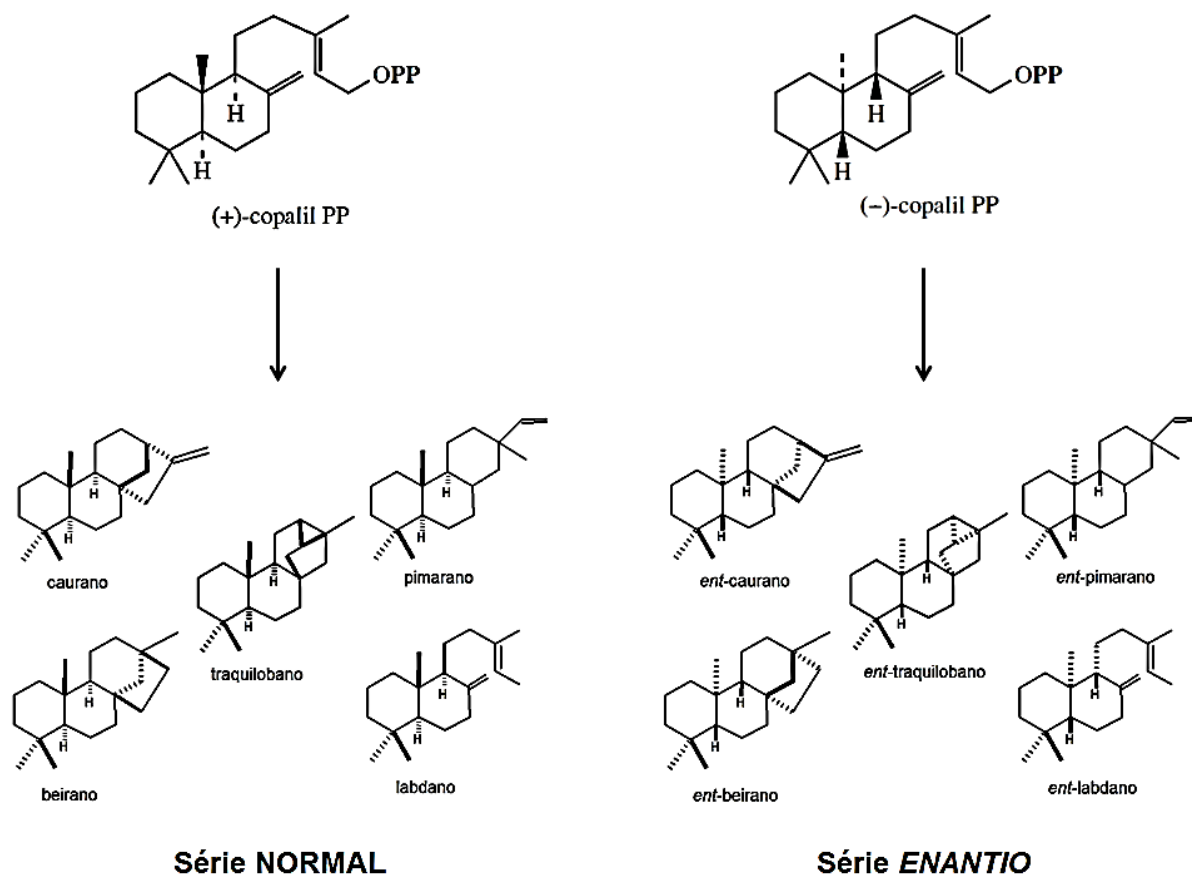


Figura 3 – Diterpenos de série normal e *enantio*

3.2 Diterpenos cauranos

Diterpenos cauranos representam um importante grupo de diterpenos tetracíclicos cujas estruturas apresentam uma unidade perhidrofenantreno (anéis A, B e C) ligada a uma unidade ciclopentano (anel D), esta última formada por uma ponte entre os carbonos C-8 e C-13 (fig. 4, p. 8). A maioria dos diterpenos cauranos encontrados na natureza pertencem à série *enantio*. Exceto em alguns poucos casos (presença de dupla ligação entre C-9 e C-11), os *ent-*

cauranos são caracterizados por apresentarem valores negativos de rotação óptica $[\alpha]_D$. (GARCÍA, OLIVEIRA e BATISTA, 2007).

Estes compostos podem ser encontrados em diferentes espécies de plantas superiores, e se encontram distribuídos em várias famílias, dentre as quais: Asteraceae (*Wedelia* spp., *Mikania* spp., *Oyedaea* spp., *Baccharis* spp., *Solidago* spp., *Vernonia* spp., *Xanthium* spp., *Eupatorium* spp., *Espeletias* pp.), Annonaceae (*Annona* spp., *Xylopi* spp., *Mitrephora* spp.), Euphorbiaceae (*Beyeria* spp., *Croton* spp., *Ricinocarpus* spp., *Suregada* spp.), Celastraceae (*Tripterygium* spp.), Apiaceae (*Alepidea* spp.), Velloziaceae (*Vellozia* spp.), Lamiaceae (*Rabdosia* spp., *Isodons* pp., *Sideritis* spp.), Fabaceae (*Copaifera* spp.), Rutaceae (*Phebalium* spp.), Chrysobalanaceae (*Parinari* spp.), Jungermanniaceae (*Jungermannia* spp.), Erythroxylaceae (*Erythroxylum* spp.) e Rhizophoraceae (*Bruguiera* spp.), entre outras (GARCÍA, OLIVEIRA e BATISTA, 2007).

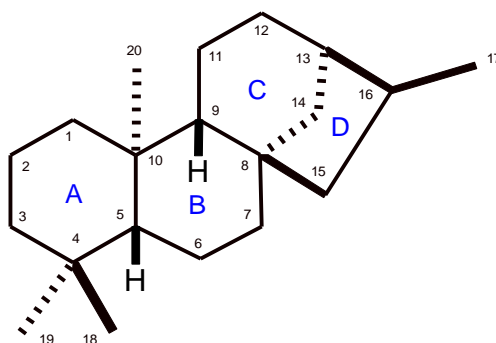


Figura 4 – Esqueleto básico de um diterpeno do tipo *ent*-caurano

3.3 Diterpenos traquilobanos

Diterpenos traquilobanos são metabólitos secundários de ocorrência rara na natureza, tendo sido relatados pela primeira vez em *Trachylobium verrucosum* (Leguminosae). Esse tipo de diterpeno é caracterizado por apresentar um esqueleto carbônico pentacíclico com sistema triciclo[3.2.1.0]octano nos anéis C, D e E (fig. 5, p. 9). Todos os diterpenos traquilobanos já isolados a partir de fontes naturais pertencem à série *enantio* e apresentam valores de rotação óptica negativos. Desde a sua primeira identificação, eles têm sido isolados a partir de algumas famílias e gêneros de plantas, principalmente de Asteraceae

(*Helianthus*), Labiateae (*Sideritis*), Annonaceae (*Xylopia*) e Euphorbiaceae (*Croton*) (FRAGA, 1994).

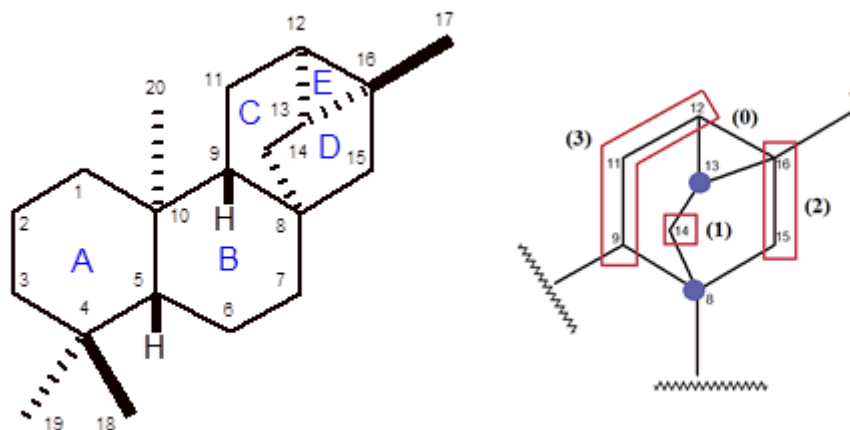


Figura 5 – Esqueleto básico de um diterpeno do tipo *ent*-traquilobano, com destaque para o sistema triciclo[3.2.1.0]octano

3.4 Ocorrência de diterpenos cauranos e traquilobanos no reino vegetal

Uma pesquisa bibliográfica foi realizada no *Chemical Abstracts* (*SciFinder®Scholar™*) abrangendo o período de 1907 a 2011, acerca da ocorrência de diterpenos de esqueletos caurano e traquilobano isolados no gênero *Croton*.

Nessa pesquisa foram encontrados um total de 70 compostos, que se mostraram divididos em 54 diterpenos de esqueleto caurano (tabela 1, p. 10) e 16 de esqueleto traquilobano (tabela 2, p. 16). A distribuição destes compostos no gênero se mostrou ainda restrita às espécies: *C. argyrophyloides*, *C. hutchinsonianus*, *C. insularis*, *C. kongensis*, *C. lacifferus*, *C. macrostachys*, *C. oblongifolius*, *C. robustus*, *C. tonkinensis* e *C. zambesicus* (fig. 6, p. 10).

A análise dos dados obtidos permitiu ainda observar que normalmente diterpenos do tipo caurano apresentam a dupla ligação entre os carbonos C-16 e C-17. Verificou-se também que diterpenos cauranos e traquilobanos geralmente apresentam as metilas C-18 ou C-19 oxidadas, na maioria das vezes por grupamentos hidroxila, acetila e carboxila. Outras posições, como C-1, C-3, C-7, C-15 e menos frequente C-14, podem se mostrar oxidadas normalmente ocorrendo na forma de álcool, cetona, ou ainda de éster.

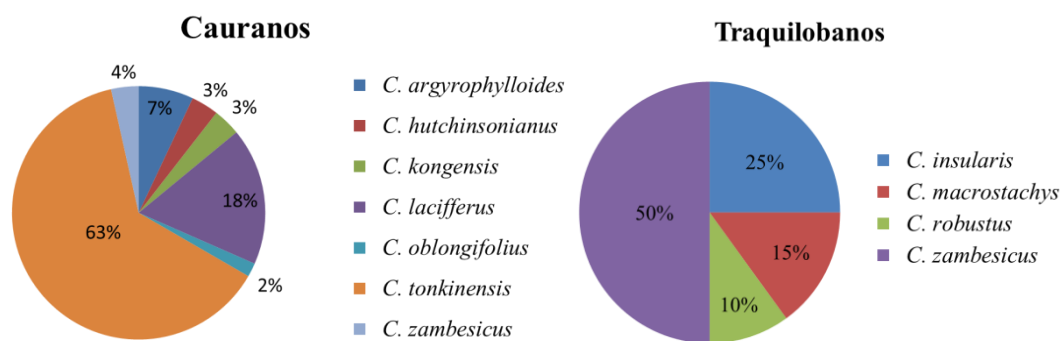


Figura 6 – Distribuição de diterpenos cauranos e traquilobanos em espécies do gênero *Croton*

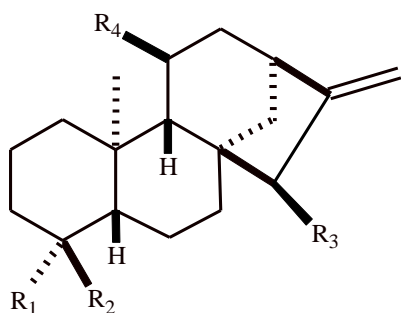
Tabela 1 – Diterpenos de esqueleto caurano isolados a partir de espécies do gênero *Croton*

| Composto isolado | Espécie | Parte estudada | Referência bibliográfica |
|--|----------------------------|---------------------------|---|
| (1) Ácido <i>ent</i> -caur-16-en-18-óico | <i>C. argyrophylloides</i> | – | MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988 |
| (2) Ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-óico | <i>C. oblongifolius</i> | – | NGAMROJNAVANICH <i>et al.</i> , 2003b |
| (3) Ácido <i>ent</i> -11 α -acetoxicaur-16-en-18-óico | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (4) <i>ent</i> -caur-16-en-18-ol | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |
| (5) <i>ent</i> -caur-16-en-15 α ,18-diol | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |
| (6) Ácido <i>ent</i> -15-oxo-caur-16-en-18-óico | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas Planta completa | GIANG <i>et al.</i> , 2005 KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (7) <i>ent</i> -18-hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Planta completa | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (8) <i>ent</i> -7 β ,18-di-hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas Planta completa | MINH <i>et al.</i> , 2004 DAO <i>et al.</i> , 2010 KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (9) <i>ent</i> -7 β ,14 α ,18-tri-hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Planta completa | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (10) <i>ent</i> -7 β -hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Planta completa | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (11) <i>ent</i> -7 β -acetoxi-11 α -hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (12) <i>ent</i> -11 α -acetoxi-7 β -hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |
| (13) <i>ent</i> -7 β ,14 α -di-hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas Planta completa | GIANG <i>et al.</i> , 2003 YANG <i>et al.</i> , 2009 KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (14) <i>ent</i> -11 α -acetoxi-7 β ,14 α -di-hidroxicaur-16-en-15-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |

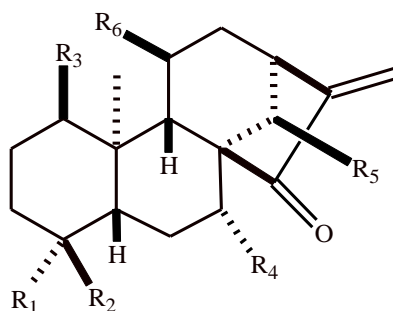
| | | | | |
|------|---|-----------------------|-----------------|--|
| (15) | <i>ent-1α-acetoxi-7β,14α-di-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | MINH <i>et al.</i> , 2003 MINH <i>et al.</i> , 2004 GIANG <i>et al.</i> , 2003 |
| | | | Planta completa | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (16) | <i>ent-18-acetoxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Planta completa | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (17) | <i>ent-18-acetoxi-11α-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (18) | <i>ent-7β,18-diacetoxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | -- | PHAN; LE; PHAN, 2007 |
| (19) | <i>ent-18-acetoxi-7β-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2003 |
| | | | Planta inteira | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| | | <i>C. kongensis</i> | Partes aéreas | CHEN <i>et al.</i> , 2007 |
| | | | Folhas | YANG <i>et al.</i> , 2009 |
| (20) | <i>ent-11α,18-diacetoxi-7β-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |
| (21) | <i>ent-18-acetoxicaur-16-en-7,15-diona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | -- | PHAN; LE; PHAN, 2007 |
| (22) | <i>ent-18-acetoxi-14α-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2003 |
| (23) | <i>ent-18-acetoxi-7β,14α-di-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2003 |
| (24) | <i>ent-1α,7β,14α-triacetoxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | MINH <i>et al.</i> , 2003 |
| | | <i>C. kongensis</i> | Partes aéreas | CHEN <i>et al.</i> , 2007 |
| (25) | <i>ent-1α,14α-diacetoxi-7β-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2004 |
| (26) | <i>ent-1α,7β-diacetoxi-14α-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2004 |
| (27) | <i>ent-7β,14β-di-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (28) | <i>ent-1α-acetoxi-7β,14β-dihidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (29) | <i>ent-18-acetoxi-7β,14β-di-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (30) | <i>ent-1α,7β,14β-triacetoxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (31) | <i>ent-1α,14β-diacetoxi-7β-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |
| (32) | <i>ent-1α,7β-diacetoxi-14β-hidroxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | DAO <i>et al.</i> , 2010 |

| | | | |
|--|---------------------------|----------------|--|
| (33) <i>ent-caurano</i> | <i>C. zambesicus</i> | Óleo essencial | BLOCK <i>et al.</i> , 2006 |
| (34) <i>ent-cauran-16β,17-diol</i> | <i>C. hutchinsonianus</i> | Casca do caule | LI <i>et al.</i> , 1990 |
| (35) <i>ent-cauran-3β,16β,17-triol</i> | <i>C. zambesicus</i> | Frutos | MOHAMED <i>et al.</i> , 2009 |
| (36) <i>ent-cauran-16β,17,19-triol</i> | <i>C. hutchinsonianus</i> | Casca do caule | LI <i>et al.</i> , 1990 |
| | <i>C. kongensis</i> | Partes aéreas | CHEN <i>et al.</i> , 2007 |
| (37) Ácido 16 α -H- <i>ent-cauran-17-óico</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (38) 16 α -H- <i>ent-cauran-17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (39) 16 β -H- <i>ent-cauran-17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (40) <i>ent-cauran-16α,17-diol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (41) 16 α -H- <i>ent-cauran-17-oato de metila</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (42) <i>ent-18,7β-diacetoxicaur-16-en-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2004 |
| | | Planta inteira | DAO <i>et al.</i> , 2010 KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (43) <i>ent-(16S)-1α,14α-diacetoxi-7β-hidroxi-17-metoxicauran-15-ona</i> | <i>C. tonkinensis</i> | Folhas | GIANG <i>et al.</i> , 2005 |
| (44) | <i>C. argyrophyloides</i> | Caule | MONTE <i>et al.</i> , 1984 |
| (45) | <i>C. argyrophyloides</i> | Caule | MONTE <i>et al.</i> , 1984 |
| (46) <i>ent-caur-15-en-17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (47) <i>ent-caur-15-en-3β,17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (48) <i>ent-3β-acetoxicaur-15-en-17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (49) Ácido 17-nor-15,16-dioxo- <i>ent-cauran-18-óico</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |
| (50) | <i>C. tonkinensis</i> | – | PHAN; NGUYEN; PHAN, 2007 |
| (51) | <i>C. tonkinensis</i> | – | PHAN; NGUYEN; PHAN, 2007 |
| (52) 14 α -hidroxicaur-16-en-7-ona | <i>C. tonkinensis</i> | Planta inteira | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (53) 14 α -acetoxi-17-formil-caur-15-en-18-ol | <i>C. tonkinensis</i> | Planta inteira | KUO <i>et al.</i> , 2007 |
| (54) <i>ent-15β,16-epoxicauran-17-ol</i> | <i>C. lacciferus</i> | Raízes | BANDARA <i>et al.</i> , 1988 |

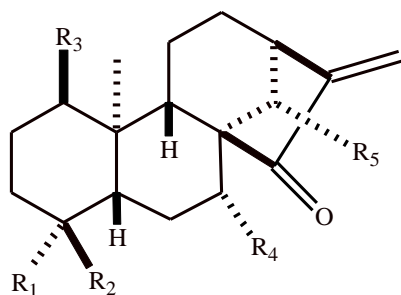
(–) não informado



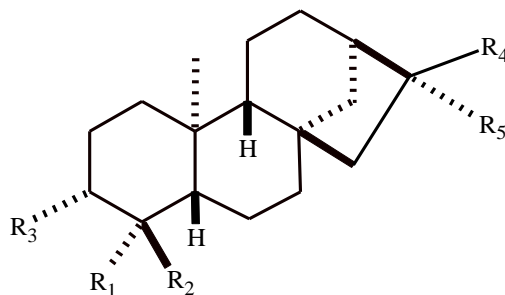
| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ |
|-----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (1) | CH ₃ | COOH | H | H |
| (2) | COOH | CH ₃ | H | H |
| (3) | CH ₃ | COOH | H | OAc |
| (4) | CH ₃ | CH ₂ OH | H | H |
| (5) | CH ₃ | CH ₂ OH | OH | H |



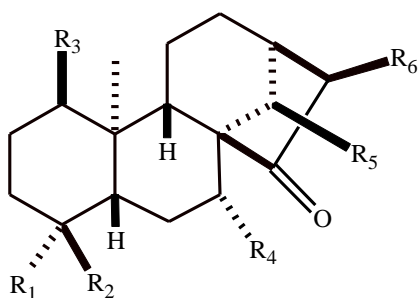
| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ | R₅ | R₆ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (6) | CH ₃ | COOH | H | H | H | H |
| (7) | CH ₃ | CH ₂ OH | H | H | H | H |
| (8) | CH ₃ | CH ₂ OH | H | OH | H | H |
| (9) | CH ₃ | CH ₂ OH | H | OH | OH | H |
| (10) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | H | H |
| (11) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | H | OAc |
| (12) | CH ₃ | CH ₃ | H | OAc | H | OH |
| (13) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | OH | H |
| (14) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | OH | OAc |
| (15) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OH | OH | H |
| (16) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | H | H | H |
| (17) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | H | H | OH |
| (18) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OAc | H | H |
| (19) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OH | H | H |
| (20) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OH | H | OAc |
| (21) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | =O | H | H |
| (22) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | H | OH | H |
| (23) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OH | OH | H |
| (24) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OAc | OAc | H |
| (25) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OH | OAc | H |
| (26) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OAc | OH | H |



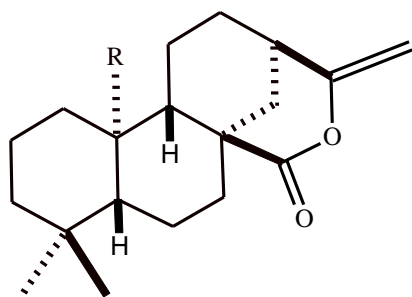
| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ | R₅ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (27) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | OH |
| (28) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OH | OH |
| (29) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OH | OH |
| (30) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OAc | OAc |
| (31) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OH | OAc |
| (32) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OAc | OH |



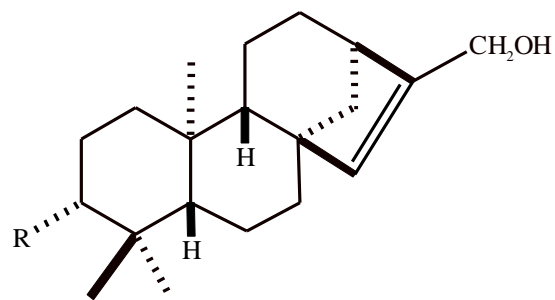
| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ | R₅ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (33) | CH ₃ | CH ₃ | H | H | H |
| (34) | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₂ OH | OH |
| (35) | CH ₃ | CH ₃ | OH | CH ₂ OH | OH |
| (36) | CH ₂ OH | CH ₃ | H | CH ₂ OH | OH |
| (37) | CH ₃ | CH ₃ | H | H | COOH |
| (38) | CH ₃ | CH ₃ | H | H | CH ₂ OH |
| (39) | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₂ OH | H |
| (40) | CH ₃ | CH ₃ | H | OH | CH ₂ OH |
| (41) | CH ₃ | CH ₃ | H | H | COOCH ₃ |



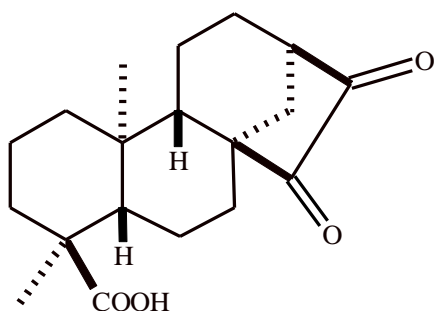
| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ | R₅ | R₆ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------|
| (42) | CH ₃ | CH ₂ OAc | H | OH | H | CH ₃ |
| (43) | CH ₃ | CH ₃ | OAc | OH | OAc | CH ₂ OCH ₃ |



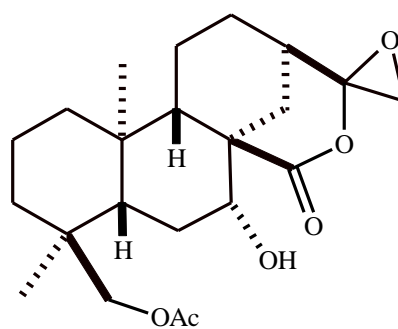
R
(44) COOCH₃
(45) COOH



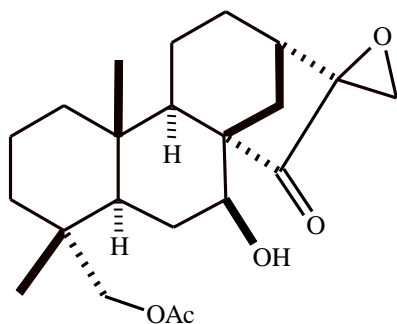
R
(46) H
(47) OH
(48) OAc



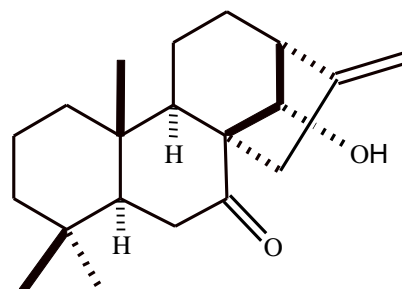
(49)



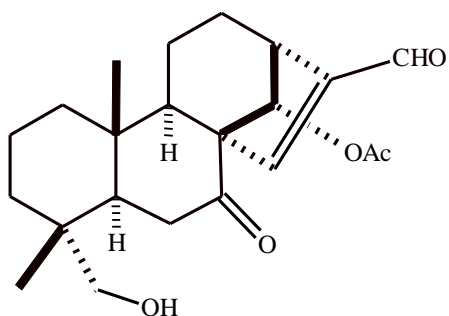
(50)



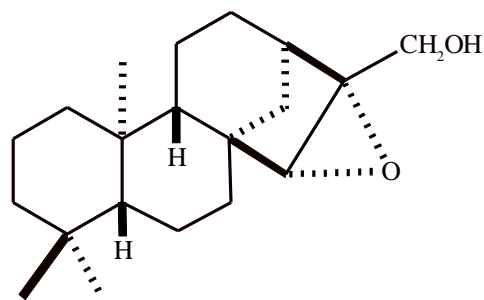
(51)



(52)



(53)

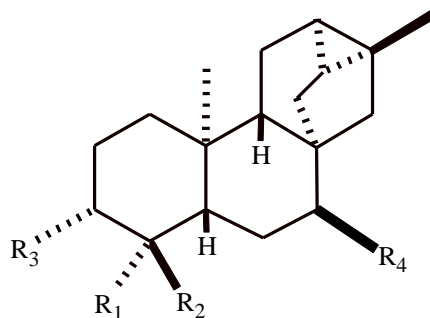


(54)

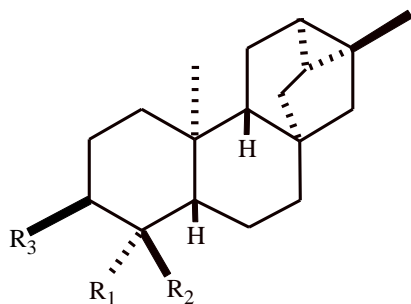
Tabela 2 – Diterpenos de esqueleto traquilobano isolados a partir de espécies do gênero *Croton*

| Composto isolado | Espécie | Parte estudada | Referência bibliográfica |
|--|------------------------|---------------------|--|
| (55) <i>ent</i> -traquilobano | <i>C. zambesicus</i> | Óleo essencial | BLOCK <i>et al.</i> , 2006 |
| (56) Ácido <i>ent</i> -traquiloban-19-óico | <i>C. insularis</i> | Partes aéreas | GRAIKOU <i>et al.</i> , 2004 |
| | <i>C. robustus</i> | Casca do caule | NGAMROJNAVANICH <i>et al.</i> , 2003a |
| (57) Ácido <i>ent</i> -traquiloban-18-óico | <i>C. macrostachys</i> | Raízes | KAPINGU <i>et al.</i> , 2000 |
| (58) Ácido <i>ent</i> -7 α -acetoxitraquiloban-18-óico | <i>C. zambesicus</i> | Casca do caule | NGADJUI <i>et al.</i> , 1999 |
| (59) <i>ent</i> -traquiloban-19-ol | <i>C. robustus</i> | Casca do caule | NGAMROJNAVANICH <i>et al.</i> , 2003a |
| (60) <i>ent</i> -traquiloban-7 α ,18-diol | <i>C. zambesicus</i> | Casca do caule | NGADJUI <i>et al.</i> , 1999 |
| (61) <i>ent</i> -traquiloban-3 β ,18-diol | <i>C. zambesicus</i> | Partes aéreas | BACCELLI <i>et al.</i> , 2007 |
| | <i>C. insularis</i> | Partes aéreas | GRAIKOU <i>et al.</i> , 2004 |
| (62) <i>ent</i> -traquiloban-3 β ,19-diol | <i>C. macrostachys</i> | Raízes | KAPINGU <i>et al.</i> , 2000 |
| (63) <i>ent</i> -traquiloban-3 β ,18-diol | <i>C. macrostachys</i> | Raízes | KAPINGU <i>et al.</i> , 2000 |
| (64) <i>ent</i> -18-hidroxitraquiloban-3-ona | <i>C. zambesicus</i> | Folhas | BLOCK <i>et al.</i> , 2004 BLOCK <i>et al.</i> , 2005 MARTINSEN <i>et al.</i> , 2010 |
| | | Partes aéreas | BACCELLI <i>et al.</i> , 2007 |
| (65) <i>ent</i> -traquiloban-3-ona | <i>C. zambesicus</i> | Folhas | BLOCK <i>et al.</i> , 2004 BLOCK <i>et al.</i> , 2005 MARTINSEN <i>et al.</i> , 2010 |
| | | Óleo essencial | BLOCK <i>et al.</i> , 2006 |
| | | <i>C. insularis</i> | Partes aéreas |
| (66) <i>ent</i> -traquiloban-3 β -ol | <i>C. zambesicus</i> | Partes aéreas | BACCELLI <i>et al.</i> , 2007 |
| | | Folhas | BLOCK <i>et al.</i> , 2005 |
| (67) ácido 17-nor-15,16-dioxo- <i>ent</i> -cauran-18-óico | <i>C. insularis</i> | Partes aéreas | GRAIKOU <i>et al.</i> , 2004 |
| (68) <i>ent</i> -traquiloban-3 α ,18-diol | <i>C. zambesicus</i> | Partes aéreas | BACCELLI <i>et al.</i> , 2007 |
| (69) <i>ent</i> -traquiloban-3 α -ol | <i>C. zambesicus</i> | Folhas | BLOCK <i>et al.</i> , 2002 |
| | | Oleo essencial | BLOCK <i>et al.</i> , 2006 |
| | | <i>C. insularis</i> | Partes aéreas |
| (70) <i>ent</i> -traquiloban-14,15-diona | <i>C. zambesicus</i> | Folhas | MARTINSEN <i>et al.</i> , 2010 |

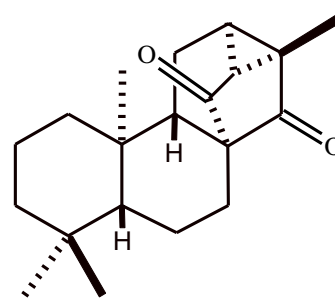
(–) não informado



| | R₁ | R₂ | R₃ | R₄ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (55) | CH ₃ | CH ₃ | H | H |
| (56) | COOH | CH ₃ | H | H |
| (57) | CH ₃ | COOH | H | H |
| (58) | CH ₃ | COOH | H | OAc |
| (59) | CH ₂ OH | CH ₃ | H | H |
| (60) | CH ₃ | CH ₂ OH | H | OH |
| (61) | H | CH ₂ OH | OH | H |
| (62) | CH ₂ OH | CH ₃ | OH | H |
| (63) | CH ₂ OH | CH ₂ OH | OH | H |
| (64) | CH ₃ | CH ₂ OH | =O | H |
| (65) | CH ₃ | CH ₃ | =O | H |
| (66) | CH ₃ | CH ₃ | OH | H |
| (67) | CH ₂ OAc | CH ₃ | H | H |



| | R₁ | R₂ | R₃ |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|
| (68) | CH ₃ | CH ₂ OH | OH |
| (69) | CH ₃ | CH ₃ | OH |



(70)

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1 Determinação estrutural de CF-1

O tratamento cromatográfico da fração CFHCR-A proveniente do extrato hexânico das cascas da raiz de *Croton floribundus* (item 5.5.2.2, p. 122), forneceu um composto na forma de um sólido cristalino incolor, com p.f. 149,3 - 150,7 °C e $[\alpha]_D^{25} = -66^\circ (c = 0,13; \text{CHCl}_3)$, que foi denominado CF-1.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de CF-1 (fig. 9, p. 25) revelou absorções em 1693 cm^{-1} relativa a deformação axial de ligação C=O, e em 1264 cm^{-1} , referente à deformação axial da ligação C-O; além de uma forte e característica absorção compreendida entre 3100 e 2600 cm^{-1} resultante da superposição das absorções do grupo hidroxila de ácido carboxílico e de grupos metil, metileno e metino.

No espectro de RMN ^{13}C - CPD (fig. 13, p. 28) foram observadas 19 linhas espectrais, destacando-se a absorção em δ_C 184,9, referente a carbono carbonílico de ácido. A intensa absorção em δ_C 20,7 foi relacionada a dois carbonos magneticamente equivalentes. A comparação com o espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (fig. 14, p. 28), permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de CF-1 com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como: 3 carbonos metílicos, 8 carbonos metilênicos, 4 carbonos metínicos e 5 carbonos não-hidrogenados. Os deslocamentos químicos dos carbonos de CF-1, juntamente com os seus respectivos padrões de hidrogenação encontram-se listados na tabela 3 (p. 19).

O espectro de RMN ^1H de CF-1 (fig. 11, p. 26) revelou absorções simples e intensas em δ_H 0,88 (3H-20, s), 1,13 (3H-17, s) e 1,21 (3H-18, s), compatíveis com hidrogênios de três grupamentos metilas. Foram apresentados ainda sinais na região de proteção em δ_H 0,58 (1H-12, d, $J = 7,5$ Hz) e 0,83 (1H-13, dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz), característicos de sistema ciclopropânico tetrasubstituído.

O espectro de massa, obtido por impacto eletrônico a 70 eV (fig. 10, p. 25), apresentou o pico do íon molecular com m/z 302, correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$. O índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a seis foi compatível com um esqueleto diterpênico do tipo traquilobano (fig. 7, p. 19). A outra insaturação foi relacionada a uma carbonila de ácido carboxílico. A natureza levorrotatória de CF-1 foi evidenciada no

valor obtido para a rotação ótica $[\alpha]_D^{20} = -66^\circ (c = 0,13; \text{CHCl}_3)$, indicando que esse composto pertencia à série *enantio*.

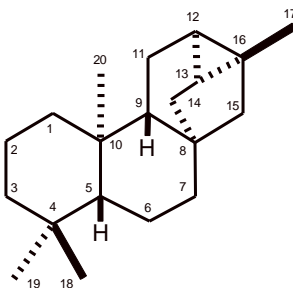


Figura 7 – Esqueleto básico de um diterpeno do tipo *ent*-traquilobano

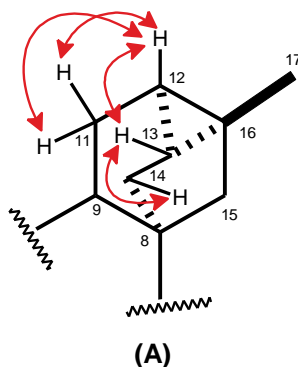
Tabela 3 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-1

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|------|-------------------|-------------------|
| | | 18,9 | |
| | | 19,9 | |
| 22,6 | | 21,9 | |
| 39,1 | 20,7 | 33,3 | 12,6 |
| 40,9 | 24,4 | 38,0 | 20,7 |
| 43,8 | 52,9 | 39,4 | 29,0 |
| 184,9 (COOH) | 57,2 | 39,6 | |
| | | 50,5 | |
| 5 C | 4 CH | 8 CH ₂ | 3 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₀ O ₂ | | | |

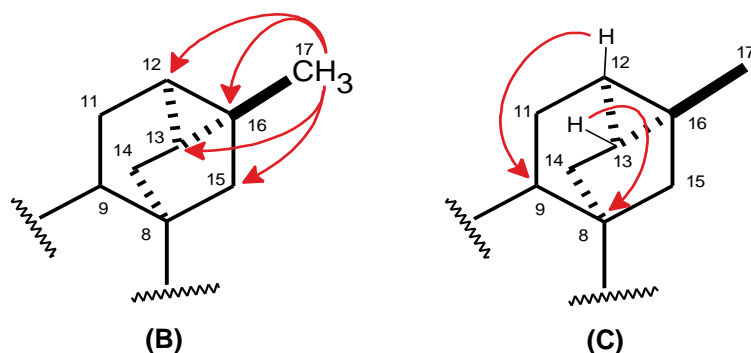
A análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H , ^{13}C - HSQC (fig. 15, p. 29) permitiu assinalar as correlações em δ_{H} 0,58 e 0,83 aos carbonos em δ_{C} 20,7 (CH-12) e 24,4 (CH-13), respectivamente. Através da análise desse espectro, foi possível realizar os assinalamentos inequívocos de cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a tabela 5 (p. 24).

No espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY de CF-1 (fig. 12, p. 27) foram visualizados o acoplamento do hidrogênio metínico em δ_{H} 0,58 (H-12) com os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 1,86 (H-11a) e 1,67(H-11b), e com o hidrogênio metínico δ_{H} 0,83 (H-13). Nesse mesmo espectro foi possível observar o acoplamento entre o

hidrogênio metínico em δ_{H} 0,83 (H-13) e o hidrogênio metilênico em δ_{H} 1,18 (H-14b), confirmando, dessa forma, o fragmento ciclopropânico característico de traquilobanos (subestrutura A).

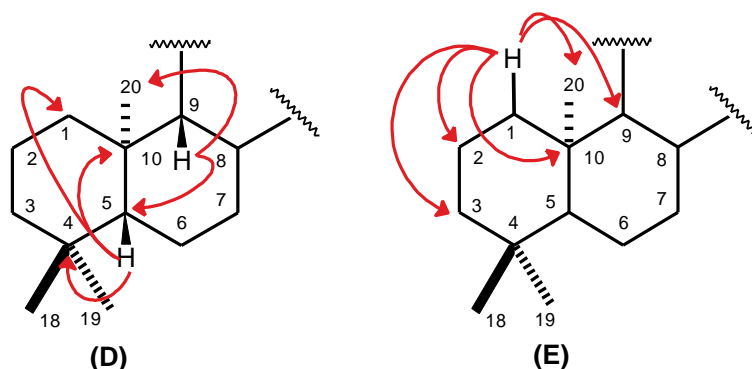


Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de CF-1, através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância ^1H , ^{13}C - HMBC (fig. 16, p. 30). Esta análise revelou o acoplamento entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,13 (H-17) com o carbono quaternário em δ_{C} 22,6 (C-16, $^2J_{\text{CH}}$), com o carbono metilênico em δ_{C} 50,5 (CH₂-15, $^3J_{\text{CH}}$), e com os carbonos metínicos em δ_{C} 20,7 (CH-12, $^3J_{\text{CH}}$) e δ_{C} 24,4 (CH-13, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura B). Observou-se também o acoplamento dos hidrogênios metínicos do anel ciclopropânico em δ_{H} 0,83 (H-13) e δ_{H} 0,58 (H-12) com os carbonos em δ_{C} 40,9 (C-8, $^3J_{\text{CH}}$) e δ_{C} 52,9 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$), respectivamente (subestrutura C)

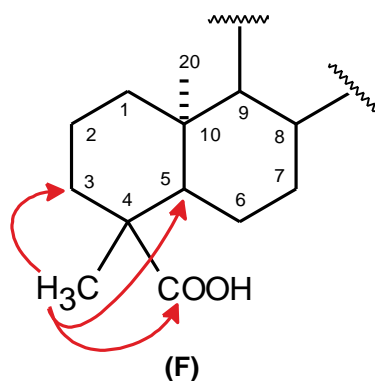


A estrutura da decalina foi confirmada pelas correlações, no espectro de HMBC, entre o hidrogênio metínico em δ_{H} 1,09 (H-9) com o carbono metínico em δ_{C} 57,2 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) e com o carbono metílico em δ_{C} 12,6 (CH₃-20, $^3J_{\text{CH}}$), e também pelos acoplamentos

entre o hidrogênio metínico em δ_H 1,01(H-5) com o carbono metilênico em δ_C 39,6 (CH₂-1, $^3J_{CH}$) e com os carbonos não-hidrogenados em δ_C 39,1 (C-10, $^2J_{CH}$) e em δ_C 43,8 (C-4, $^3J_{CH}$) (subestrutura D). Além destas, foram também observadas as correlações entre o hidrogênio metilênico em δ_H 0,78 (H-1b) com o carbono metílico em δ_C 12,6 (CH₃-20, $^3J_{CH}$), com os carbonos metilênicos em δ_C 18,9 (CH₂-2, $^2J_{CH}$) e δ_C 38,0 (CH₂-3, $^3J_{CH}$), com o carbono metínico em δ_C 52,9 (CH-9, $^3J_{CH}$) e com o carbono quaternário em δ_C 39,1 (C-10, $^2J_{CH}$) (subestrutura E).



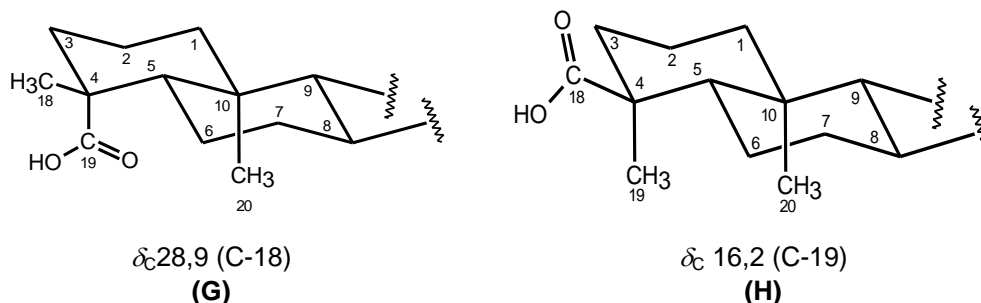
Ainda no espectro de HMBC, foi possível assinalar o acoplamento dos hidrogênios do grupo metila em δ_H 1,21 (3H-18) com o carbono carboxílico em δ_C 184,9 (C-19, $^3J_{CH}$), com o carbono metínico em δ_C 57,2 (CH-5, $^3J_{CH}$) e com o carbono metilênico em δ_C 38,0 (CH₂-3, $^3J_{CH}$), indicando que um dos grupos metilas ligadas ao carbono C-4 encontra-se oxidada. (subestrutura F).



A partir da análise comparativa dos dados de RMN ¹³C de CF-1, com aqueles descritos na literatura para o ácido *ent*-traquiloban-18-óico (LEONG e HARRISON, 1997) e para o ácido *ent*-traquiloban-19-óico (NGAMROJNAVANICH *et al.*, 2003a), pôde-se

Estudo químico de Croton floribundus Spreng (EUPHORBACEAE) UCHÔA, P. K. S.

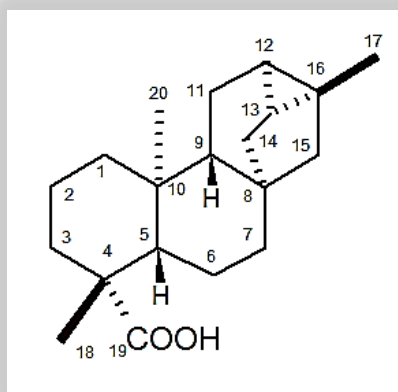
observar que as principais diferenças entre os dois isômeros consistem nos deslocamentos químicos referentes aos carbonos metílicos C-18 e C-19, conforme tabela 4 (p. 23).



Baseando-se em dados da literatura que relatam as diferenças de deslocamentos químicos de grupos metilas em sistema decalina, pôde-se observar que, em geral, quando esses substituintes se encontram na posição axial apresentam menores valores de deslocamento químico do que quando se encontra na posição equatorial. Esse efeito é observado devido à interação do tipo γ -*gauche* de proteção, que é consideravelmente maior sobre a metila na posição axial. (ABRAHAM e LOFTUS, 1980).

Portanto, o valor de deslocamento químico do grupamento metila ligado a C-4 ($\delta_C 29,0$), condizente com o valor esperado para uma metila na posição equatorial (C-18), possibilitou o posicionamento do grupo carboxila em $\delta_C 184,9$ na posição axial (C-19).

A reunião de todos os dados espectroscópicos discutidos permitiu identificar CF-1 como sendo o ácido *ent*-traquiloban-19-óico [lit. p.f. 128-131 °C e $[\alpha]_D^{20} = -73,1^\circ (c = 1,0; CHCl_3)$] (fig. 8, p. 23), já isolado anteriormente no gênero *Croton* espécies *Croton robustus* (NGAMROJNAVANICH *et al.*, 2003a) e *Croton insularis* (GRAIKOU *et al.*, 2004).

Figura 8 – Estrutura de CF-1 - ácido *ent*-traquiloban-19-óicoTabela 4 – Dados de RMN ^{13}C de CF-1 em comparação com dados da literatura para o ácido *ent*-traquiloban-19-óico (NGAMROJNAVANICH *et al.*, 2003a) e para o ácido *ent*-traquiloban-18-óico (LEONG e HARRISON, 1997)

| C | δ_c | | |
|----|------------------------------------|---|---|
| | CF-1 (CDCl ₃ , 125 MHz) | Ácido <i>ent</i> -traquiloban-19-óico (CDCl ₃ , 125 MHz) | Ácido <i>ent</i> -traquiloban-18-óico (CDCl ₃ , 125 MHz) |
| 1 | 39,6 | 39,4 | 38,4 |
| 2 | 18,9 | 18,7 | 17,2 |
| 3 | 38,0 | 37,8 | 37,0 |
| 4 | 43,8 | 43,7 | 47,2 |
| 5 | 57,2 | 57,0 | 53,2 |
| 6 | 22,6 | 21,7 | 23,0 |
| 7 | 39,4 | 39,2 | 38,3 |
| 8 | 40,9 | 40,7 | 40,9 |
| 9 | 52,9 | 52,8 | 50,9 |
| 10 | 39,1 | 38,9 | 37,6 |
| 11 | 19,9 | 19,7 | 19,6 |
| 12 | 20,7 | 20,5 | 20,5 |
| 13 | 24,4 | 24,3 | 24,2 |
| 14 | 33,3 | 33,1 | 33,5 |
| 15 | 50,5 | 50,3 | 50,3 |
| 16 | 22,6 | 22,4 | 22,5 |
| 17 | 20,7 | 20,5 | 20,5 |
| 18 | 29,0 | 28,9 | 185,0 |
| 19 | 184,9 | 184,5 | 16,2 |
| 20 | 12,6 | 12,4 | 14,9 |

Tabela 5 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-1

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|----------------------------------|---|------------------------|---------------------|
| | δ_{C} ^a | δ_{H} ^b | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 39,6 | a - 1,57 (d, 12,9 Hz, 1H); b - 0,78 (td, $J = 7,4$ e 3,5 Hz, 1H) | – | 3H-20; H-5 |
| 2 | 18,9 | a - 1,83 (m, 1H); b - 1,38 (m, 1H) | 2H-3 | – |
| 3 | 38,0 | a - 2,12 (d, $J = 13,25$ Hz); b - 0,88 (m, 1H) | – | 3H-18 |
| 4 | 43,8 | – | 3H-18; 2H-3 | H-5 |
| 5 | 57,2 | 1,01 (m, 1H) | – | 3H-20; 3H-18, H-9 |
| 6 | 22,6 | 1,74 (m, 2H) | 2H-7 | – |
| 7 | 39,4 | a - 1,47 (m, 1H); b - 1,32 (m, 1H) | – | 2H-15 |
| 8 | 40,9 | – | 2H-7; 2H-14; H-15a; | H-13 |
| 9 | 52,9 | 1,09 (m, 1H) | 2H-11 | 3H-20; H-12; H-15a; |
| 10 | 39,1 | – | H-5; 3H-20 | 2H-11 |
| 11 | 19,9 | a - 1,86 (m, 1H); b - 1,67 (m, 1H) | – | – |
| 12 | 20,7 | 0,58 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) | – | 3H-17 |
| 13 | 24,4 | 0,83 (dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz, 1H) | 2H-14 | H-15b; 3H-17 |
| 14 | 33,3 | a - 2,05 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H); b - 1,18 (m, 1H) | – | 2H-7; H-9; 2H-15 |
| 15 | 50,5 | a - 1,41 (m, 1H); b - 1,25 (m, 1H) | – | 2H-14; 3H-17; 2H-7 |
| 16 | 22,6 | – | 3H-17; H-15a | 2H-14; 2H-11 |
| 17 | 20,7 | 1,13 (s, 3H) | – | H-12; H-15a |
| 18 | 29,0 | 1,21 (s, 3H) | – | – |
| 19 | 184,9 | – | – | 3H-18; H-5 |
| 20 | 12,6 | 0,88 (s, 3H) | – | H-9 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

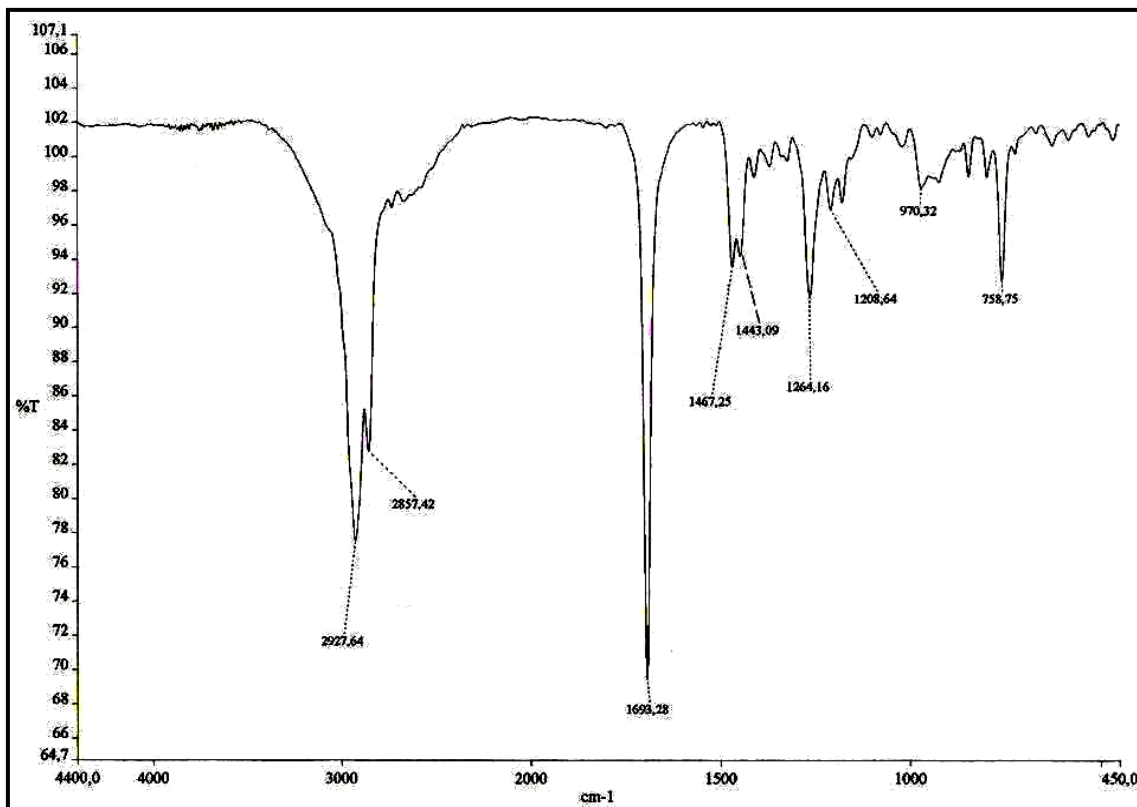


Figura 9– Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-1

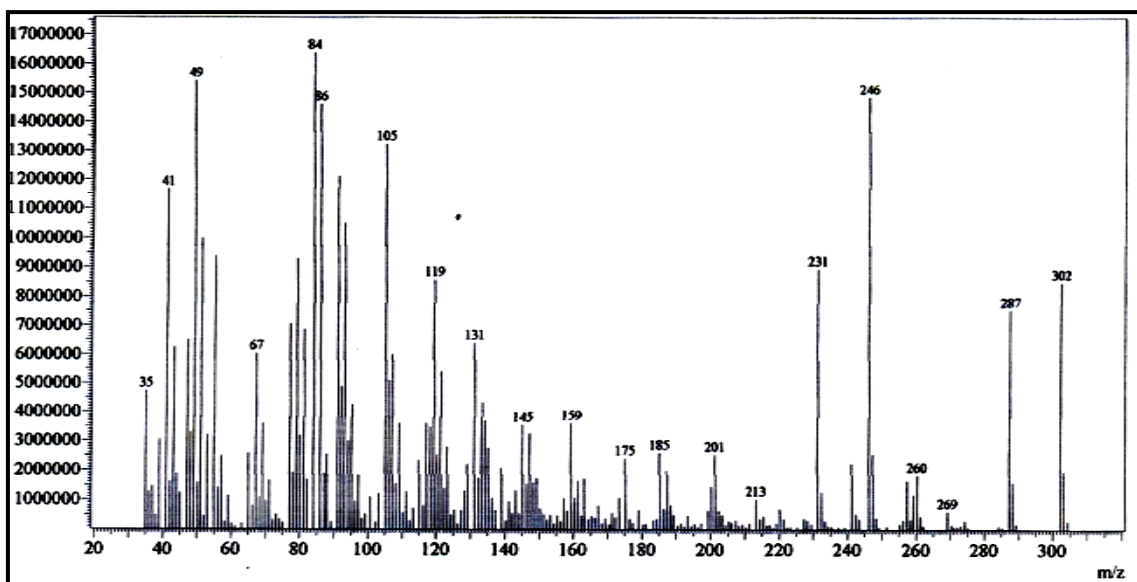


Figura 10 – Espectro de massa (EM-IE, 70 eV) de CF-1

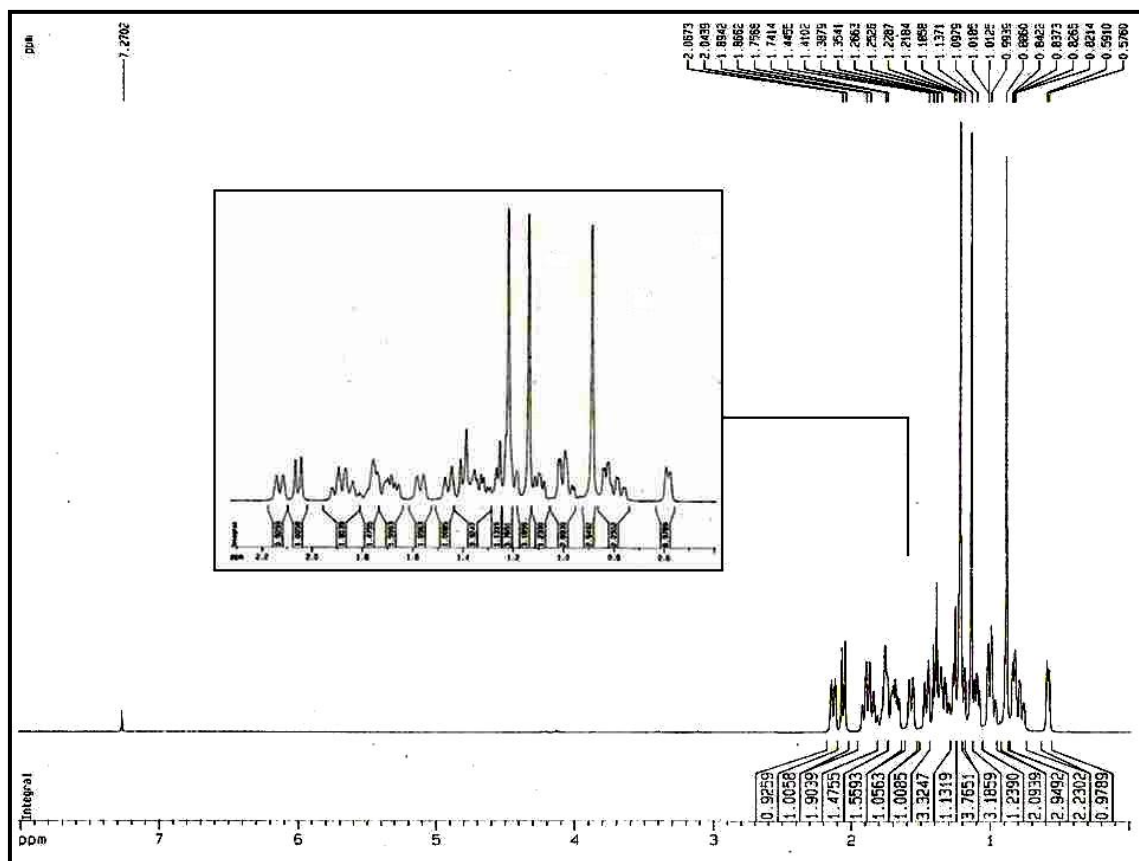


Figura 11 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-1

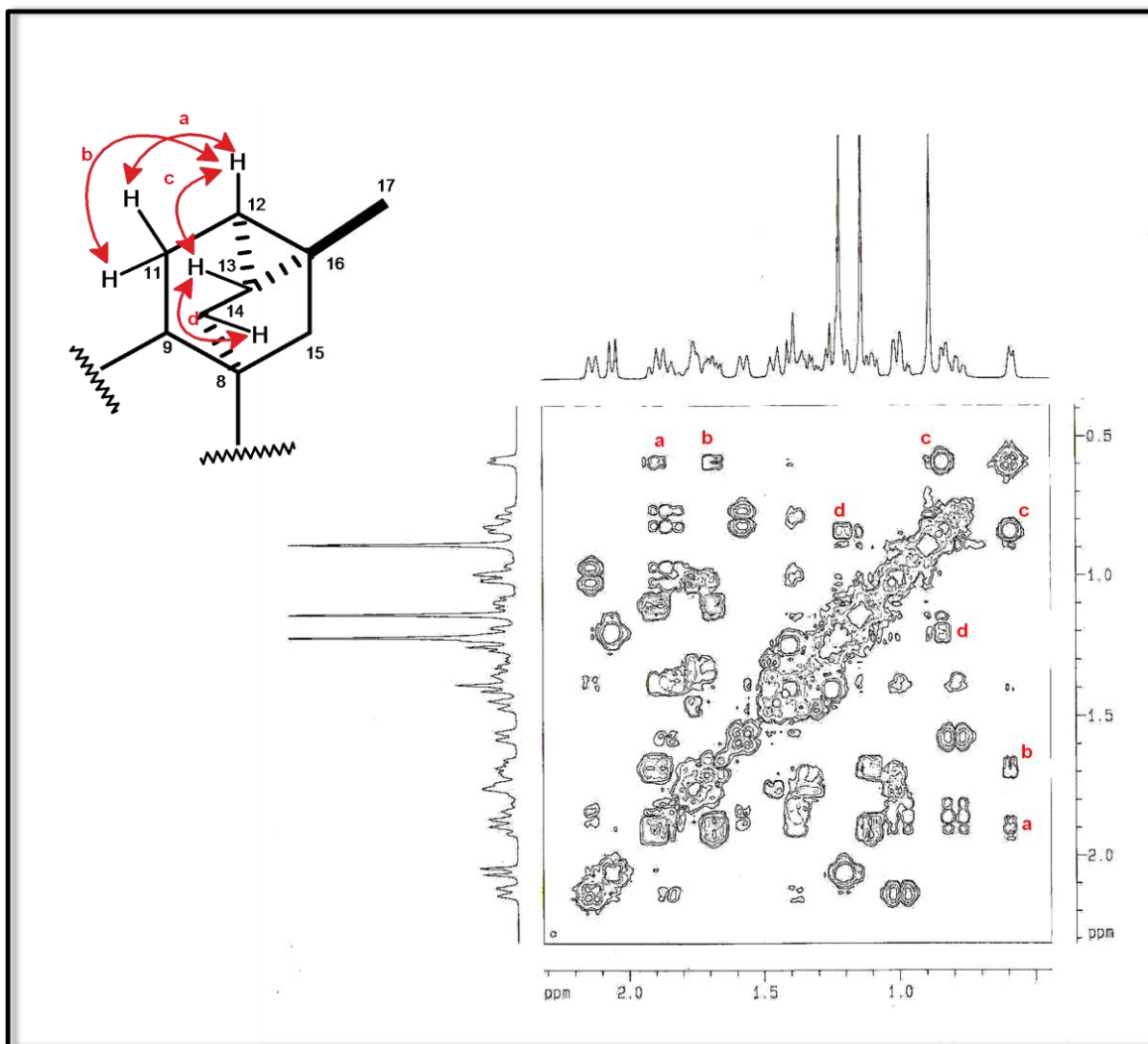


Figura 12 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹H, ¹H - COSY (500MHz, CDCl₃) de CF-1

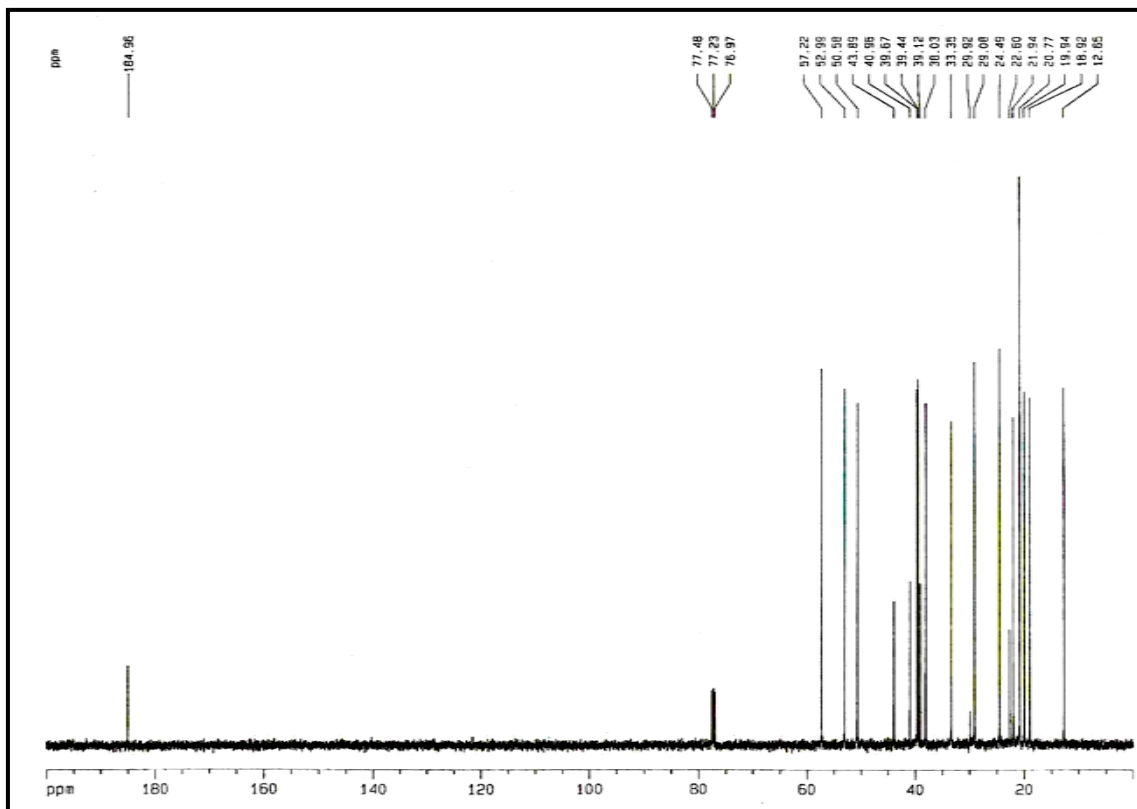


Figura 13 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-1

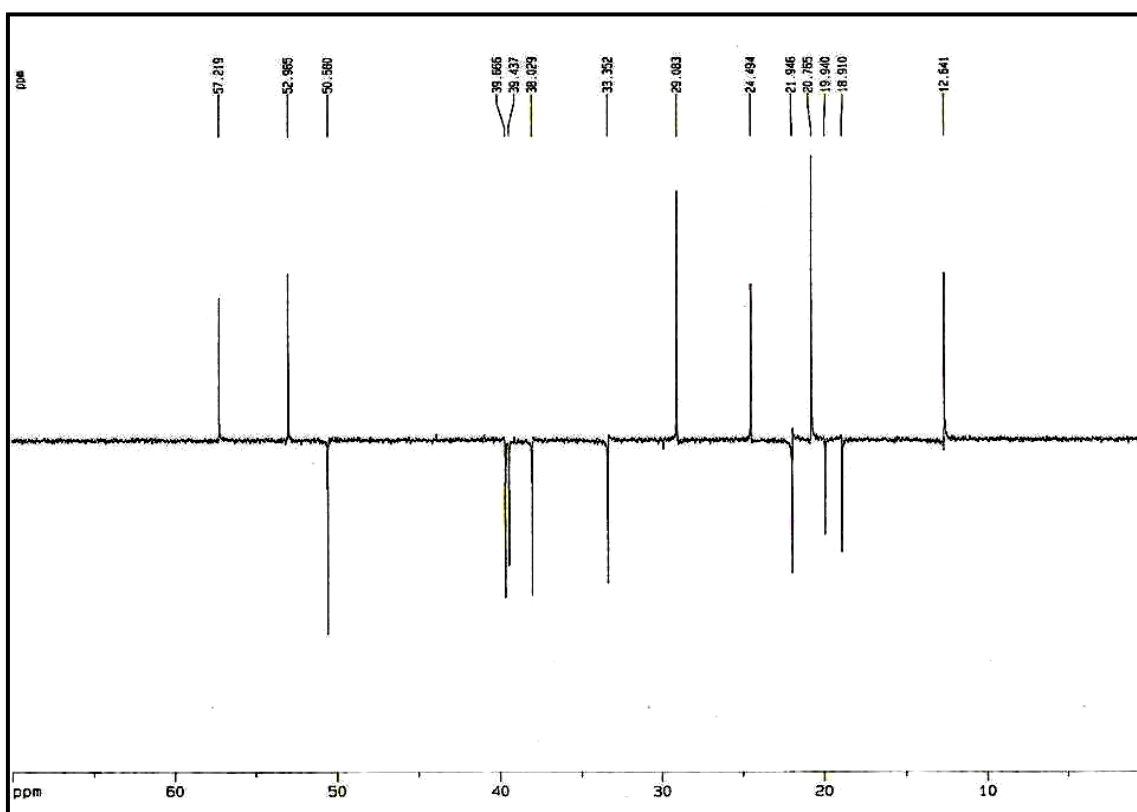


Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-1

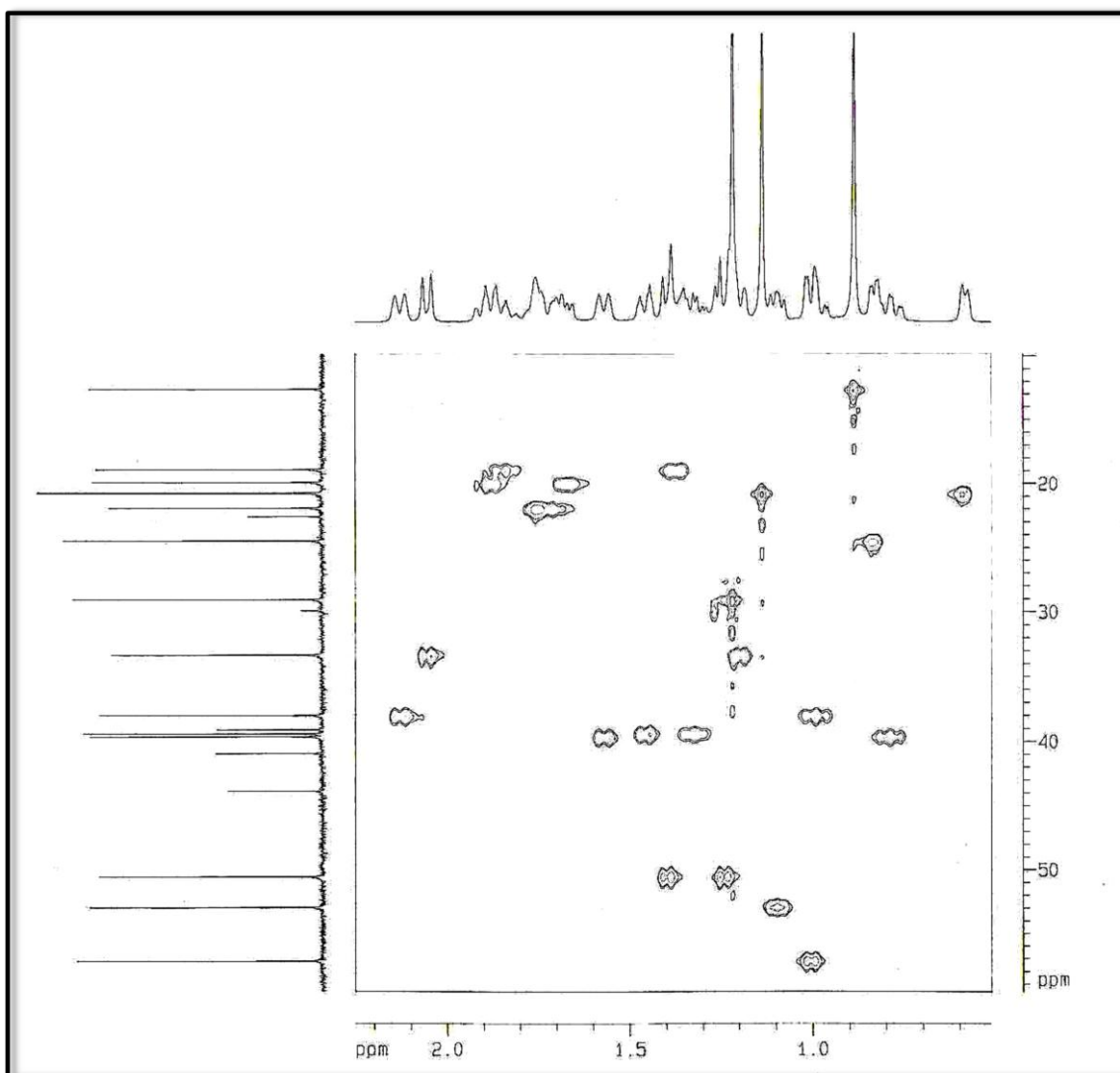


Figura 15 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-1

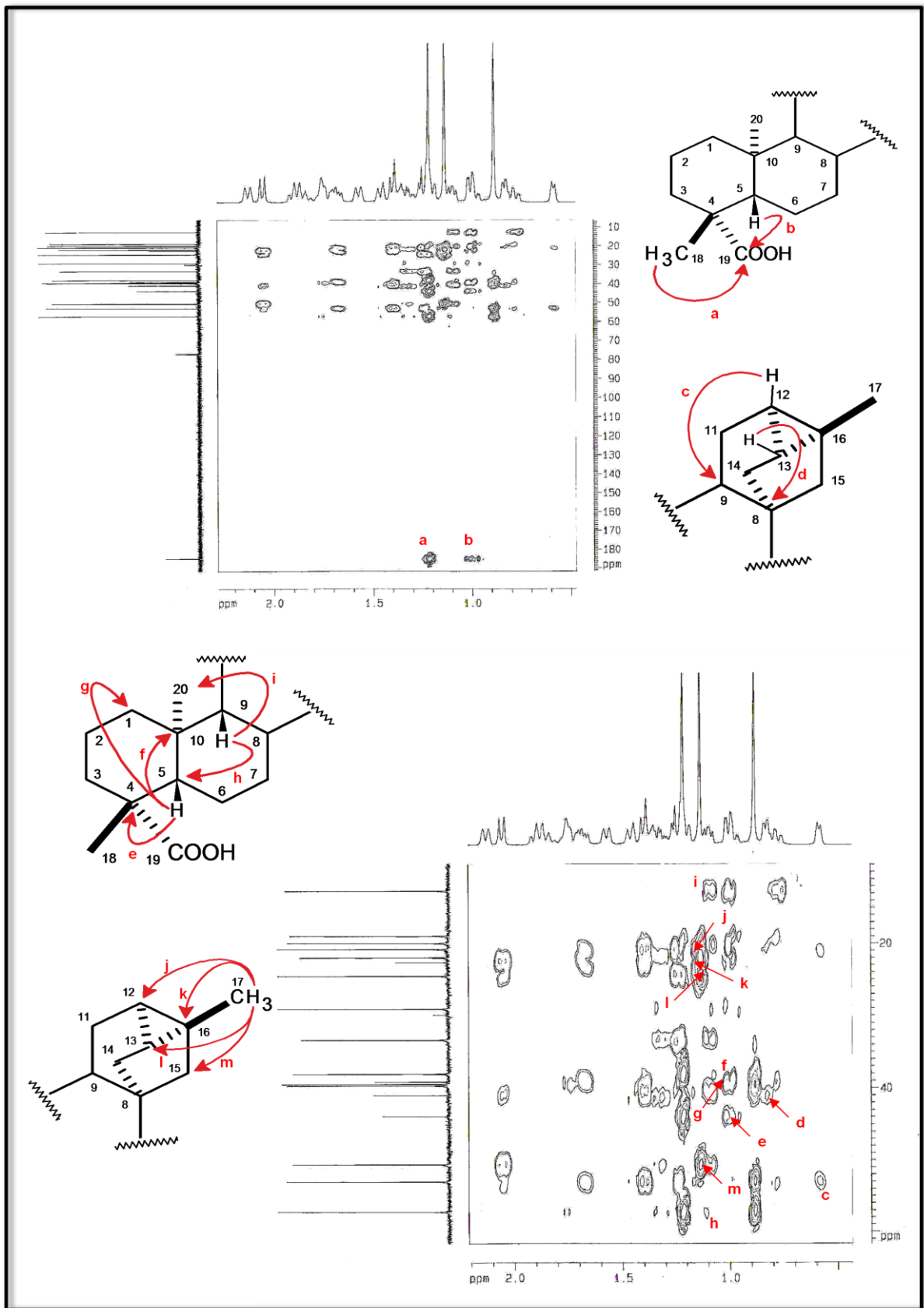


Figura 16 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-1

4.2 Determinação estrutural de CF-2

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração CFHCR-A, obtida a partir do extrato hexânico das cascas da raiz de *Croton floribundus* (item 5.5.2.3, p. 122), levaram ao isolamento de um sólido branco amorfo com p.f. 224,2 - 226,3°, denominado CF-2.

O espectro de infravermelho de CF-2 (fig. 18, p. 37) mostrou banda larga em 3463 cm^{-1} associada a deformação axial de ligação O-H; bandas em 1053 e 1039 cm^{-1} relativas à deformações axiais de ligações C-O; além de uma banda fina e intensa em 1695 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação C=O, que indicaram o caráter oxigenado de CF-2.

No espectro de RMN ^{13}C - CPD (fig. 21, p. 39) foram observadas 20 linhas espectrais. A análise comparativa entre os espectros de RMN ^{13}C - CPD e DEPT 135° (fig. 22, p. 39) mostrou a presença de 3 carbonos metílicos, 7 carbonos metilênicos, 5 carbonos metínicos, dos quais o sinal em δ_{C} 84,6 (CH-15) foi atribuído a um carbono oximetínico, e 5 carbonos não-hidrogenados, sendo o sinal em δ_{C} 183,4 (C-19) referente a uma carbonila de ácido carboxílico. Os deslocamentos químicos dos carbonos de CF-2, juntamente com os seus respectivos padrões de hidrogenação encontram-se listados na tabela 6 (p. 32).

De maneira análoga a CF-1, o espectro de RMN ^1H de CF-2 (fig. 20, p. 38) também revelou os sinais em δ_{H} 0,64 (1H-12, d, $J = 7,5$ Hz) e 0,81 (1H-13, dd, $J = 7,5$ e 2,9 Hz), característicos de esqueleto traquilobano, além dos sinais referentes a três grupamentos metilas em δ_{H} 0,88 (3H-20, s), 1,13 (3H-17, s) e 1,21 (3H-18, s). A única diferença encontrada entre os dois compostos foi a presença de um sinal adicional hidrogênio oximetínico em δ_{H} 3,28 (H-15, s).

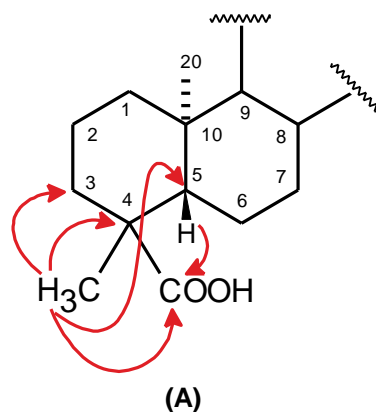
A reunião dos dados descritos acima, juntamente com o espectro de massa (EM - IE) (fig. 19, p. 37), que forneceu o pico do íon molecular em m/z 318, permitiram sugerir que CF-2 também tratava-se de um diterpeno de esqueleto traquilobano com fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$.

Tabela 6 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-2

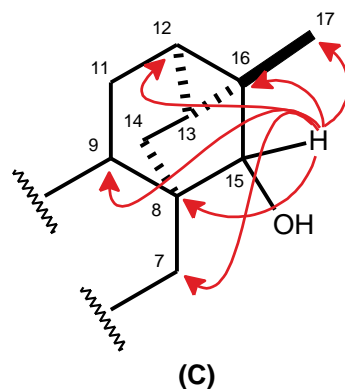
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|--------------|-------------------|-------------------|
| | | 19,5 | |
| 25,9 | 21,3 | 20,3 | |
| 39,6 | 22,3 | 23,0 | 13,8 |
| 42,3 | 43,7 | 31,6 | 18,6 |
| 45,2 | 58,1 | 37,9 | 29,9 |
| 183,4 (COOH) | 84,6 (CO) | 39,9 | |
| | | 41,2 | |
| 5 C | 5 CH | 7 CH ₂ | 3 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₀ O ₃ | | | |

A análise detalhada do espectro bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H , ^{13}C - HSQC (fig. 23, p. 40), possibilitou realizar a inequívoca correlação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios (δ_{H}) aos seus respectivos carbonos (δ_{C}) conforme mostrado na tabela 8(p. 36).

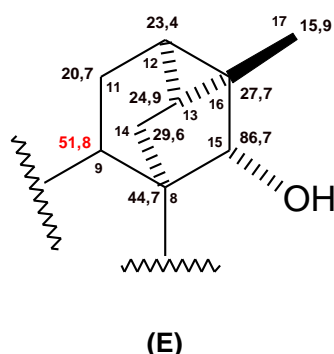
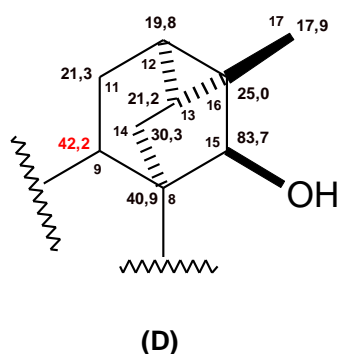
Dentre as conectividades à longa distância observadas no espectro de HMBC (fig. 24, p. 41), destacam-se as correlações dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,15 (3H-18) com os carbonos em δ_{C} 39,9 (CH₂-3, $^3J_{\text{CH}}$), 45,2 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$), 58,1 (C-5, $^3J_{\text{CH}}$) e 183,4 (C-19, $^3J_{\text{CH}}$). Assim como observado para CF-1, a correlação do hidrogênio metínico em δ_{H} 0,90 (H-5) com a carboxila em δ_{C} 183,4 (C-19, $^3J_{\text{CH}}$), aliado ao valor de deslocamento químico do grupamento metila ligado à C-4 em δ_{C} 29,9, possibilitou estabelecer a posição do grupamento carboxila em C-19. (subestrutura A).



Ainda no espectro de HMBC, foram observadas importantes correlações do hidrogênio oximetínico em δ_H 3,28 (H-15) com os carbonos em δ_C 18,6 (CH₃-17, $^3J_{CH}$), 21,3 (CH-12, $^3J_{CH}$), 25,9 (C-16, $^2J_{CH}$), 37,9 (CH₂-7, $^3J_{CH}$), 42,3 (C-8, $^2J_{CH}$) e 43,7 (CH-9, $^3J_{CH}$). A partir desta análise foi possível posicionar o grupo hidroxila em C-15 de forma inequívoca (subestrutura C).



Comparando-se os valores de RMN ^{13}C descritos na literatura para os epímeros, ácido 15 α -hidroxitraquiloban-19-óico (TAKAHASHI *et al.*, 2001) (subestrutura D) e ácido 15 β -hidroxitraquiloban-19-óico (MORRIS, CHARLET e FOSTER, 2009) (subestrutura E) (tabela 7, p. 35), pôde-se verificar que a principal diferença observada entre os epímeros 15 α -OH e 15 β -OH consistia no valor de δ_C referente a C-9, cujo valor em δ 42,2 encontra-se deslocado para ambiente de maior proteção em cerca de 9 ppm quando o grupo hidroxila se encontra α -orientado, devido ao efeito γ -gauche de proteção (TAKAHASHI *et al.*, 2001).



Desta forma, o valor de deslocamento químico apresentado em CF-2 para C-9 (δ_C 43,2) permitiu estabelecer a estereoquímica 15 α -OH para este composto.

Os dados acima descritos levaram a conclusão que CF-2 tratava-se do diterpeno de esqueleto traquilobano, ácido *ent*-15 α -hidroxitraquiloban-19-óico (fig. 17, p. 34), que apesar de possuir ocorrência inédita no gênero *Croton*, já foi isolado anteriormente de *Xilopia aethiopica* (HARRIGAN *et al.*, 1994) e *Xilopia sericea* (TAKAHASHI *et al.*, 2001).

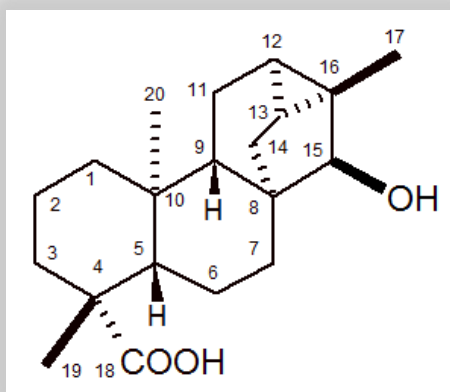


Figura 17 – Estrutura de CF-2 - ácido *ent*-15 α -hidroxitraquiloban-19-óico

Tabela 7 – Dados de RMN ^{13}C de CF-2 em comparação com dados da literatura para o ácido *ent-15 α -hidroxi-traquiloban-19-óico* (TAKAHASHI *et al.*, 2001) e para o ácido *ent-15 β -hidroxi-traquiloban-19-óico* (MORRIS, CHARLET e FOSTER, 2009)

| C | δ_{C} | | |
|----|---|---|---|
| | CF-2 (CD_3OD , 125 MHz) | Ácido <i>ent-15α-hidroxi-traquiloban-19-óico</i> (CDCl_3 , 50 MHz) | Ácido <i>ent-15β-hidroxi-traquiloban-19-óico</i> (CDCl_3 , 125 MHz) |
| 1 | 41,2 | 39,3 | 39,5 |
| 2 | 20,3 | 18,2 | 18,6 |
| 3 | 39,9 | 38,3 | 37,7 |
| 4 | 45,2 | 43,6 | 43,3 |
| 5 | 58,1 | 56,2 | 56,4 |
| 6 | 23,0 | 18,7 | 19,0 |
| 7 | 37,9 | 36,4 | 33,7 |
| 8 | 42,3 | 40,9 | 44,7 |
| 9 | 43,7 | 42,2 | 51,8 |
| 10 | 39,6 | 37,9 | 38,6 |
| 11 | 19,5 | 21,3 | 20,7 |
| 12 | 21,3 | 19,8 | 23,4 |
| 13 | 22,3 | 21,2 | 24,9 |
| 14 | 31,6 | 30,3 | 29,6 |
| 15 | 84,6 | 83,7 | 86,7 |
| 16 | 25,9 | 25,0 | 27,7 |
| 17 | 18,6 | 17,9 | 15,9 |
| 18 | 29,9 | 28,6 | 28,8 |
| 19 | 183,4 | 177,9 | 182,3 |
| 20 | 13,8 | 12,6 | 12,8 |

Tabela 8 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-2

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|--------------------------------|---|----------------------|--------------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 41,2 | a - 1,57 (m, 1H); b - 0,87 (m, 1H) | – | 3H-20 |
| 2 | 20,3 | 1,28 (m, 2H) | – | – |
| 3 | 39,9 | a - 2,90 (d, $J = 13,1$ Hz); b - 0,92 (m, 1H) | – | 3H-18 |
| 4 | 45,2 | – | 3H-18 | H-5 |
| 5 | 58,1 | 0,90 (m, 1H) | – | 3H-18; 3H-20 |
| 6 | 23,0 | 1,79 (m, 2H) | – | – |
| 7 | 37,9 | a - 1,45 (m, 1H); b - 1,20 (m, 1H) | – | H-15 |
| 8 | 42,3 | – | H-9; H-14a; H-15; | H-13 |
| 9 | 43,7 | 1,43 (m, 1H) | H-11b | H-14a; 3H-20 |
| 10 | 39,6 | – | H-1a; 3H-20 | – |
| 11 | 19,5 | a - 1,85 (t, $J = 2,9$ Hz, 1H); b - 1,63 (dd, $J = 7,4$ e 2,0 Hz 1H) | – | – |
| 12 | 21,3 | 0,64 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H)) | H-11b | H-15; 3H-17 |
| 13 | 22,3 | 0,81 (dd, $J = 7,6$ e 2,9 Hz, 1H) | H-14a | H-11a; 3H-17 |
| 14 | 31,6 | a - 2,17 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); b - 1,18 (m, 1H) | – | H-7a; H-9; H-15 |
| 15 | 84,6 | 3,28 (s, 1H) | – | H-14a; 3H-17 |
| 16 | 25,9 | – | H-15; 3H-17 | H-11a; H-14 ^a |
| 17 | 18,6 | 1,13 (s, 3H) | – | H-15 |
| 18 | 29,9 | 1,15 (s, 3H) | – | – |
| 19 | 183,4 | – | – | H-5; 3H-18 |
| 20 | 13,8 | 0,95 (s, 3H) | – | H-5; H-9 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

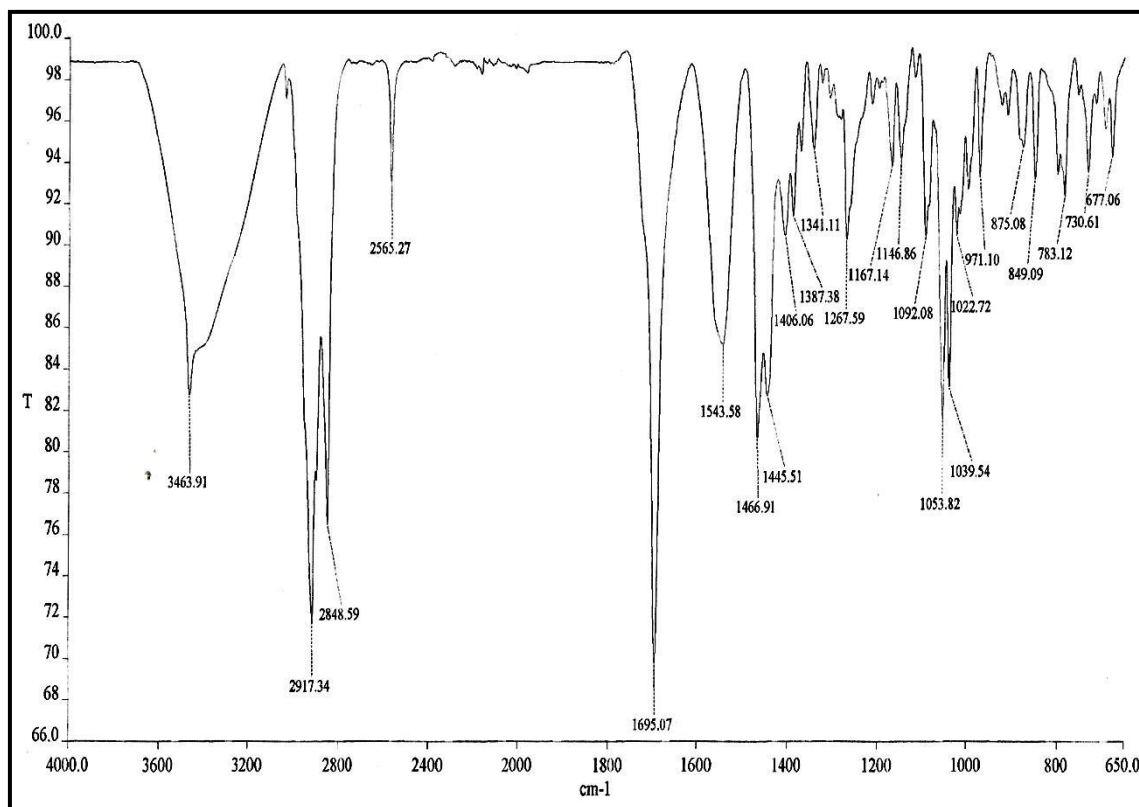


Figura 18 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-2

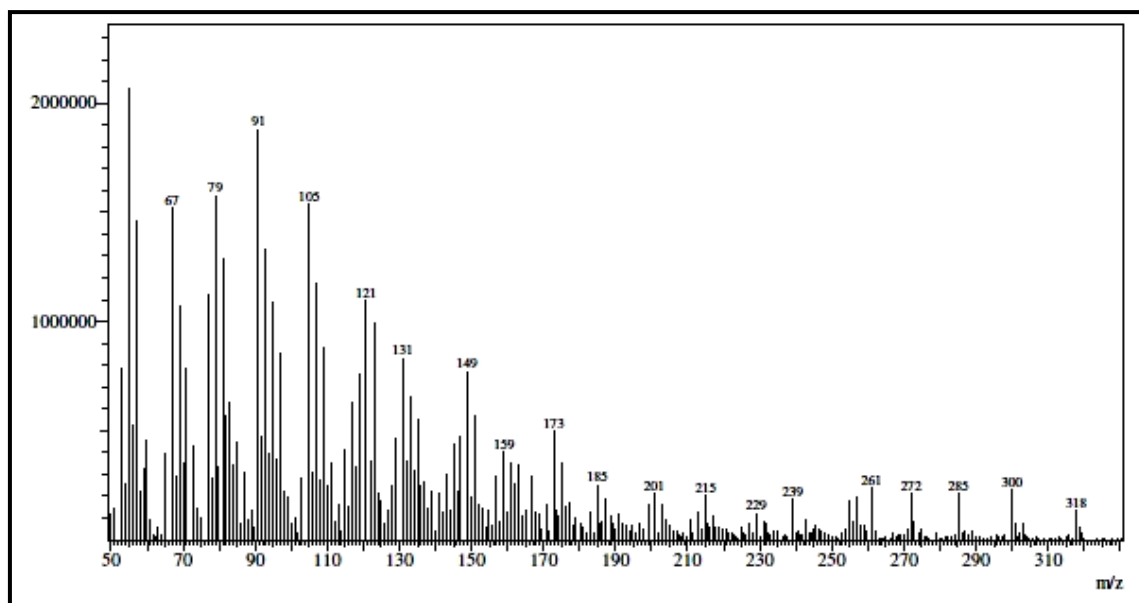


Figura 19 – Espectro de massa (EM – IE, 70 eV) de CF-2

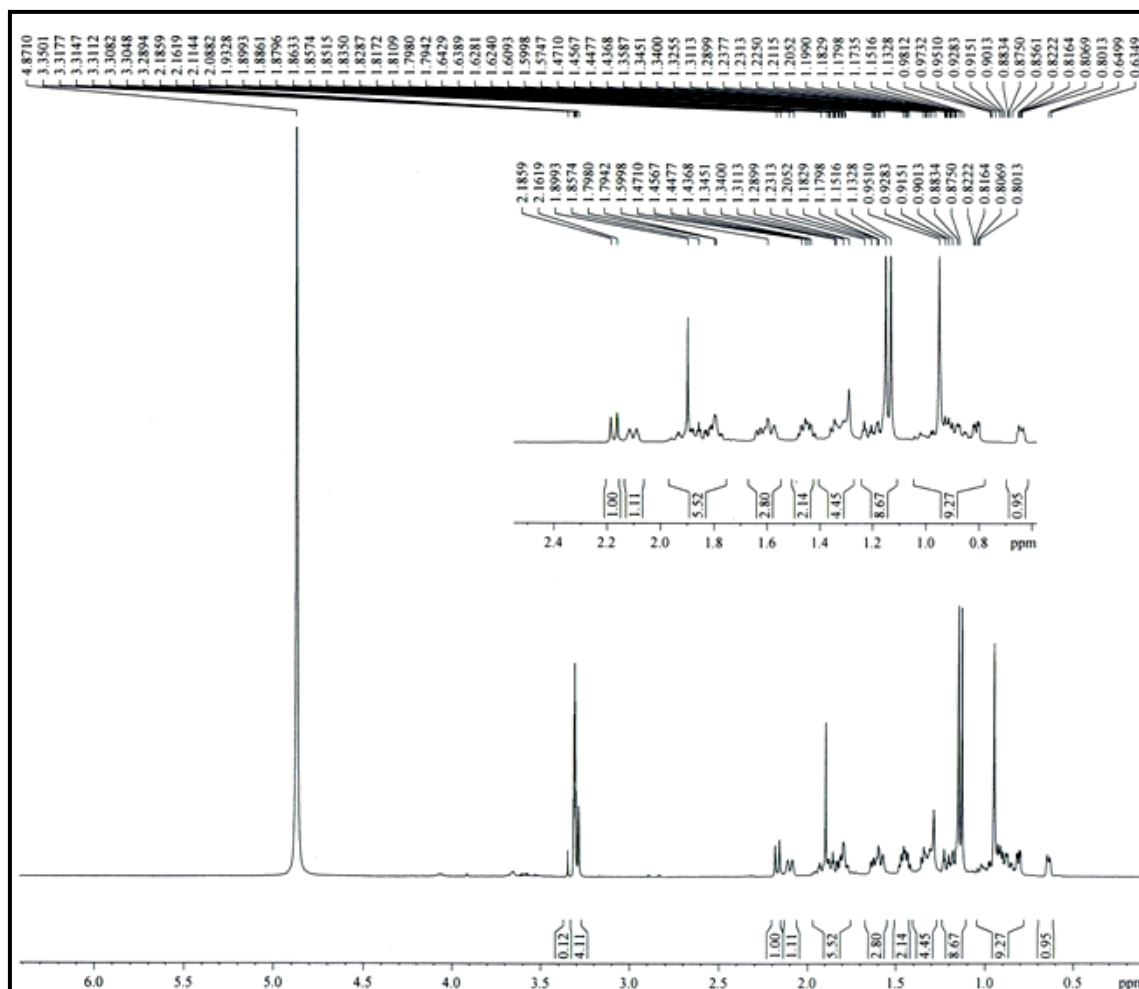


Figura 20 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de CF-2

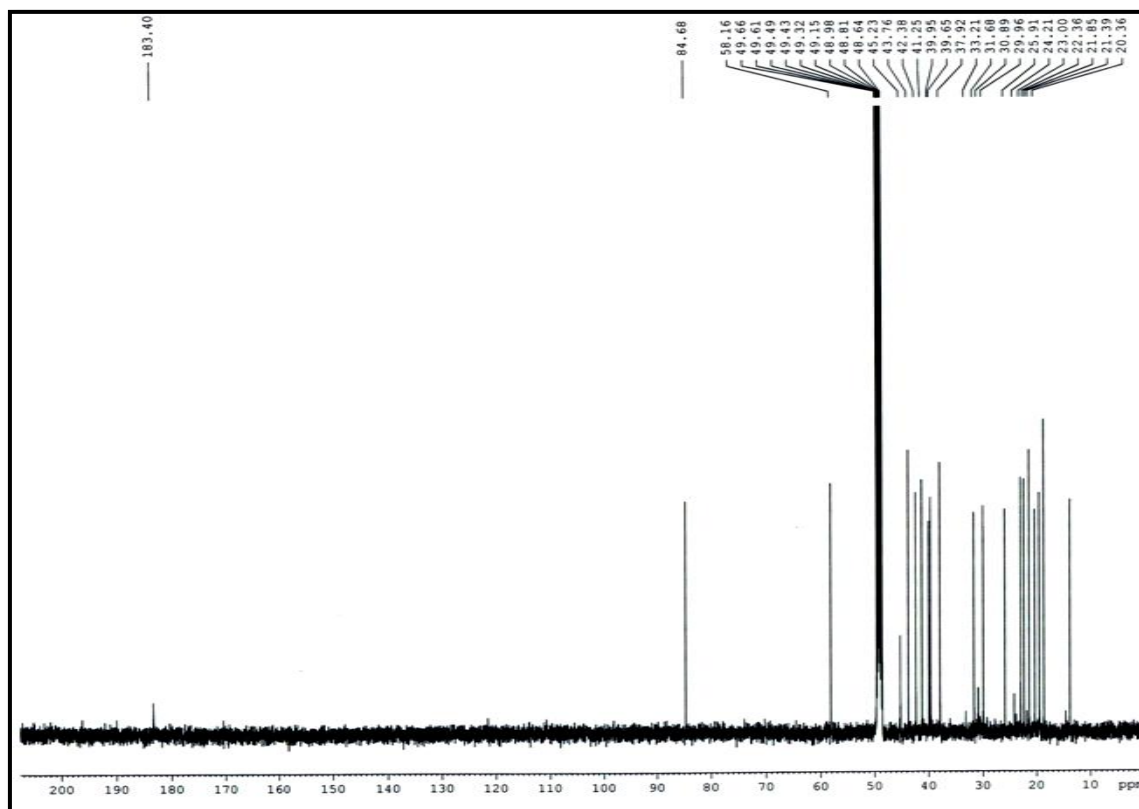


Figura 21 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CD_3OD) de CF-2

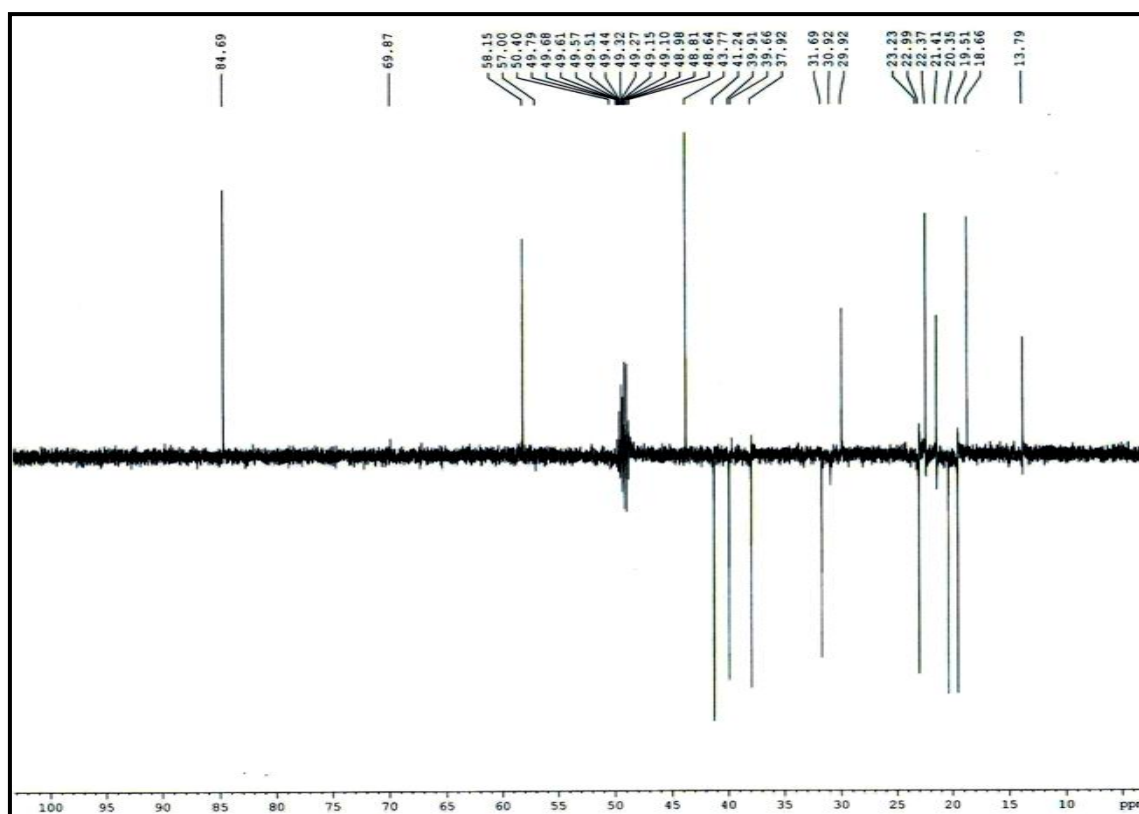


Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de CF-3

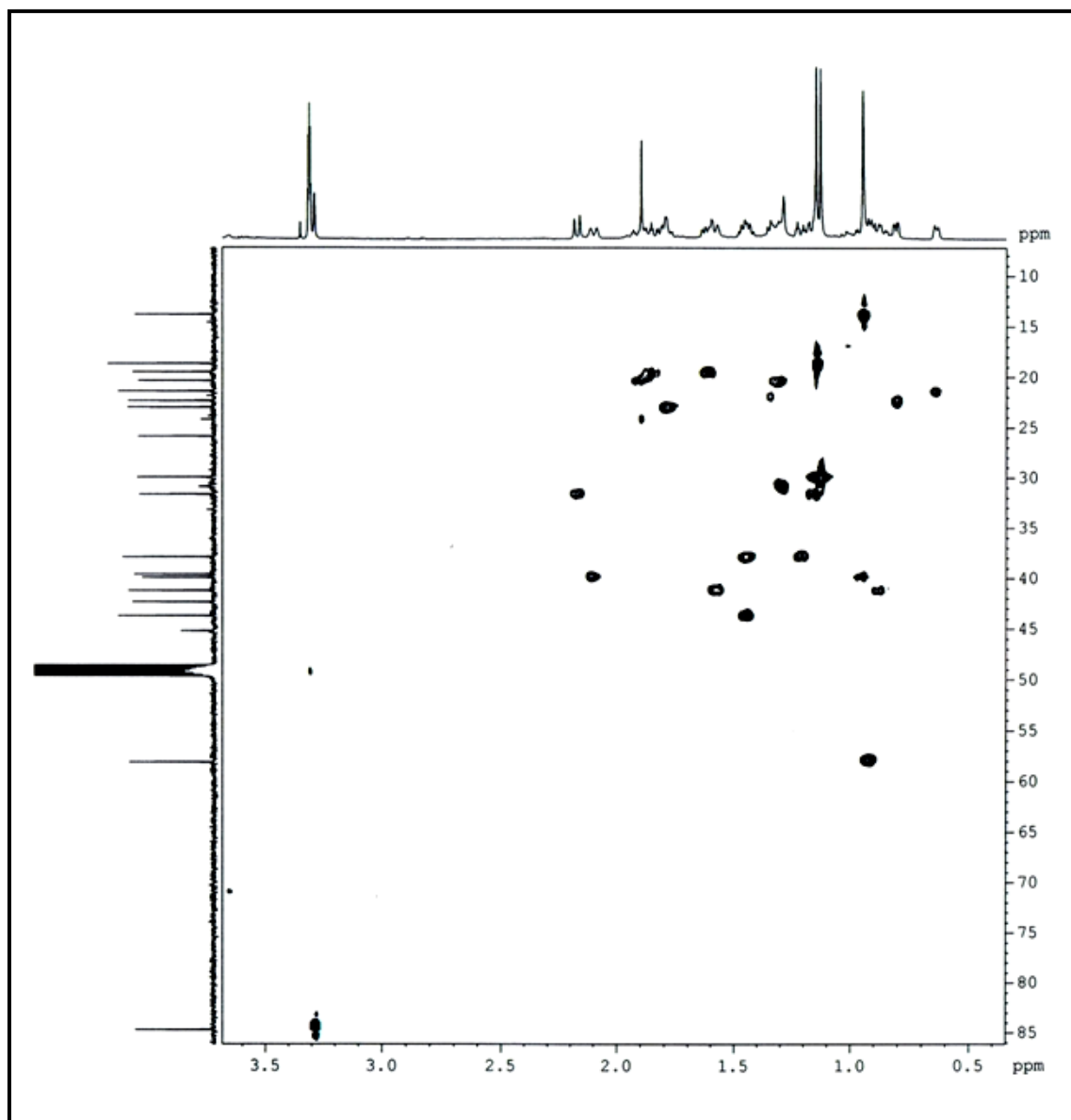


Figura 23 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de CF-2

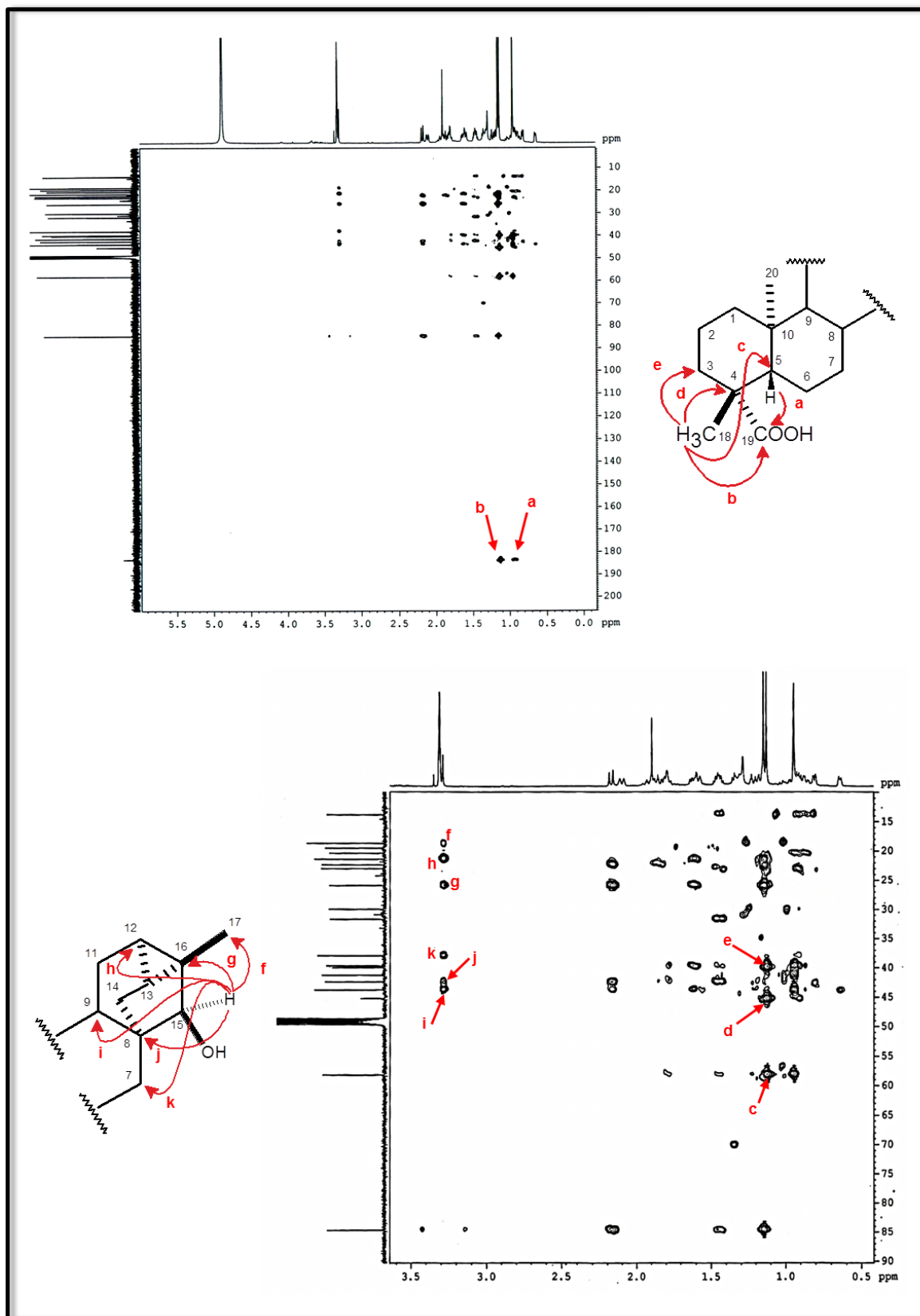


Figura 24 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de CF-2

4.3 Determinação estrutural de CF-7

O tratamento cromatográfico da fração CFHCR-D proveniente do extrato hexânico das cascas da raiz de *Croton floribundus* (item 5.5.2.9, p. 125), forneceu um composto na forma de um sólido cristalino branco, com ponto de fusão (p.f.) 129,3 - 130,4 °C e $[\alpha]_D^{25} = -47^\circ (c = 0,1; \text{CHCl}_3)$, o qual foi denominado CF-7.

No espectro de infravermelho de CF-7 (fig. 26, p. 46), foram observadas absorções em 2929,6 e 2852,5 cm^{-1} referentes às deformações axiais das ligações C-H; além das absorções em 3333,7 e 1091,3 cm^{-1} associadas às deformações axiais das ligações O-H e C-O, respectivamente.

Como já observado anteriormente para CF-1 e CF-2, o espectro de RMN ^1H (fig. 28, p. 47) mostrou sinais referentes a três grupamentos metilas em δ_{H} 0,92 (H-20, s), 0,93 (H-18, s) e 1,10 (H-17, s), além dos sinais em δ_{H} 0,57 (H-12, d, $J = 7,5$ Hz) e 0,80 (H-13, dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz), fornecendo um indicativo que CF-7 também tratava-se de um diterpeno traquilobano.

No espectro de RMN ^{13}C - CPD (fig. 29, p. 48) foram observadas 20 linhas espectrais, destacando-se a absorção em δ_{C} 65,6 associada a um carbono oxigenado. A posterior comparação entre os espectros de RMN ^{13}C - CPD e DEPT 135° (fig. 30, p. 48) de CF-7, permitiu indicar o padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-7, os quais foram identificados como sendo: 3 carbonos metílicos, 9 carbonos metilênicos, 4 carbonos metínicos e 4 carbonos não-hidrogenados, conforme tabela 9 (p. 43).

As principais diferenças observadas entre os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de CF-7 e CF-1 consistiram no aparecimento dos sinais adicionais em δ_{H} 3,72 (H-19a, d, $J = 10,9$ Hz) e 3,42 (H-19b, d, $J = 10,9$ Hz) no espectro de RMN ^1H de CF-7. No espectro de RMN ^{13}C de CF-7 foi observada a ausência do sinal da carbonila de ácido em δ_{C} 184,9, e o surgimento do sinal referente a um carbono oximetilênico em δ_{C} 65,6. Estes dados sugeriram uma estrutura de um diterpeno derivado do ácido traquiloban-19-óico, cuja carbonila em C-19 encontra-se reduzida.

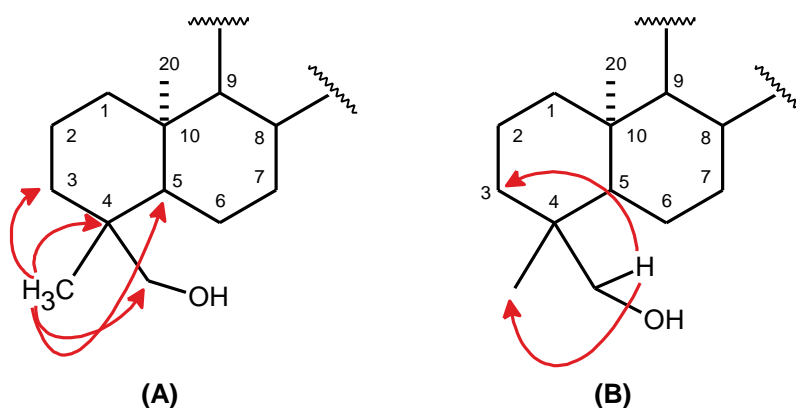
Esta sugestão foi confirmada pela análise do espectro de massa (fig. 27, p. 46) que mostrou o sinal referente ao pico do íon molecular em m/z 288 daltons, e determinou para CF-7 a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$.

Tabela 9 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-7

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|---|------|-------------------|-------------------|
| | | 17,8 | |
| | | 19,9 | |
| | | 20,4 | |
| 22,4 | 20,6 | 33,4 | 15,9 |
| 38,3 | 24,3 | 35,7 | 20,5 |
| 38,3 | 53,4 | 39,3 | 26,8 |
| 40,7 | 56,8 | 39,5 | |
| | | 50,4 | |
| | | 65,6 (CO) | |
| 4 C | 4 CH | 9 CH ₂ | 3 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₂ O | | | |

Através da análise do espectro de RMN ^1H , ^{13}C - HSQC (fig. 31, p. 49), foi possível realizar os assinalamentos inequívocos de cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a tabela 10 (p. 45).

No espectro de HMBC (fig. 32, p. 50) foram observadas as correlações entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,93 (3H-18) e os carbonos em δ_{C} 35,7 (CH₂-3, $^3J_{\text{CH}}$), 38,3 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$), 56,8 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) e 65,6 (CH₂-19, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura A). Em adição, as correlações do hidrogênio carbinólico em δ_{H} 3,42 (H-19b) com o carbono metílico em δ_{C} 26,8 (CH₃-18, $^3J_{\text{CH}}$) e com o carbono metilênico em δ_{C} 35,7 (CH₂-3, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura B), além do valor de deslocamento químico observado para o grupamento metila em δ_{C} 26,8 (C-18), indicaram a presença de um grupo oximetilênico na posição axial em C-19.



Através das informações mencionadas acima, e comparação com dados de RMN ^{13}C descrito na literatura (tabela 10, p.45) (NGAMROJNAVANICH *et al.*, 2003a), foi possível identificar CF-7 como sendo o diterpeno de esqueleto traquilobano, *ent*-traquiloban-19-ol [lit. p.f. 130-131 °C e $[\alpha]_D^{20} = -42,2^\circ (c = 1,0; \text{CHCl}_3)$] (fig. 25, p. 44), já isolado anteriormente de *C. robustus*.

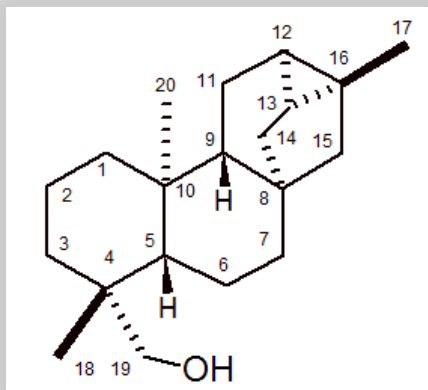


Figura 25 – Estrutura de CF-7 - *ent*-traquiloban-19-ol

Tabela 10 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-7 e comparação com dados de RMN ^{13}C da literatura para o *ent*-traquiloban-19-ol (NGAMROJNA VANICHet al., 2003a)

| C | HSQC | | HMBC | | NGAMROJNA VANICHet al., 2003 |
|----|--------------------------------|---|-------------------|-------------------|------------------------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ | |
| 1 | 39,3 | a - 1,34 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H); b - 0,75 (td, $J = 13,5$ e 3,4 Hz, 1H) | – | H-2b | 39,3 |
| 2 | 17,8 | a - 1,50 (m, 1H); b - 1,36 (m, 1H) | H-3b | – | 17,8 |
| 3 | 35,7 | a - 1,75 (d, $J = 13,75$ Hz); b - 0,88 (m, 1H) | – | 3H-18; H-19b | 35,7 |
| 4 | 38,3 | – | 3H-18 | – | 38,3 |
| 5 | 56,8 | 0,89 (sl, 1H) | – | 3H-20; 3H-18 | 56,8 |
| 6 | 20,4 | a - 1,58 (m, 1H); b - 1,55 (m, 1H) | – | – | 20,3 |
| 7 | 39,5 | a - 1,52 (m, 1H); b - 1,40 (m, 1H) | – | H-6b | 39,4 |
| 8 | 40,7 | – | H-9; H-15b | – | 40,7 |
| 9 | 53,4 | 1,10 (m, 1H) | H-11b | – | 53,4 |
| 10 | 38,3 | – | 3H-20 | – | 38,2 |
| 11 | 19,9 | a - 1,88 (td, $J = 14,1$ e 2,5 Hz, 1H); b - 1,64 (m, 1H) | – | – | 19,9 |
| 12 | 20,6 | 0,57 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H) | H-11b | H-15a; 3H-17 | 20,6 |
| 13 | 24,3 | 0,80 (dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz, 1H) | – | H-15b | 24,2 |
| 14 | 33,4 | a - 2,02 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H); b - 1,15 (m, 1H) | – | H-9; H-15b | 33,4 |
| 15 | 50,4 | a - 1,38 (m, 1H); b - 1,25 (m, 1H) | – | H-14a; 3H-17 | 50,3 |
| 16 | 22,4 | – | 3H-17 | H-14a | 22,4 |
| 17 | 20,5 | 1,10 (s, 3H) | – | H-15a | 20,5 |
| 18 | 26,8 | 0,93 (s, 3H) | – | 2H-19 | 26,8 |
| 19 | 65,6 | a - 3,72 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H); b - 3,42 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H) | – | H-5; 3H-18 | 65,6 |
| 20 | 15,1 | 0,92 (s, 3H) | – | H-5; H-9 | 15,1 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

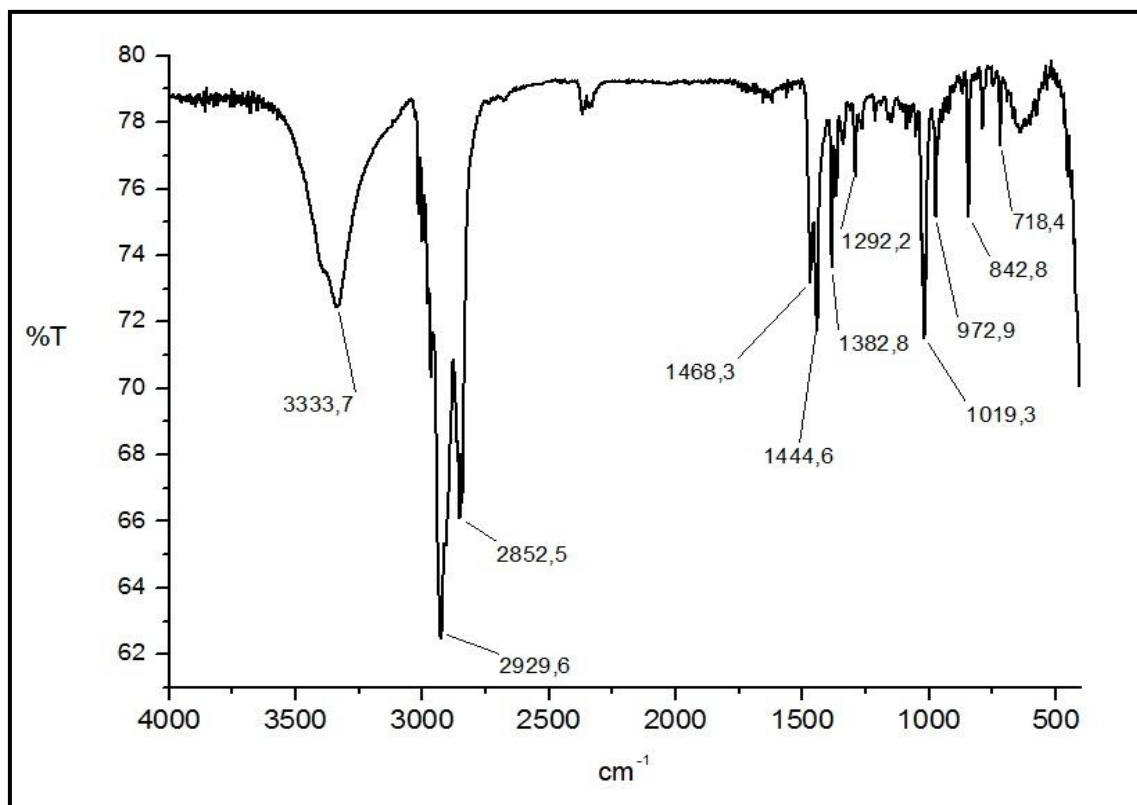


Figura 26 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-7

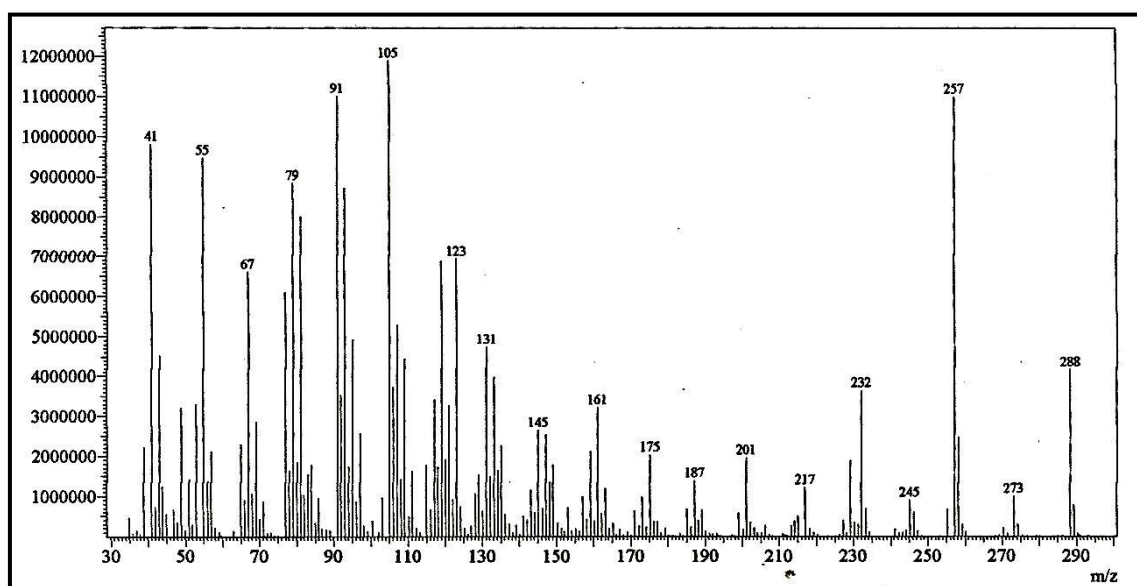


Figura 27 – Espectro de massa (EM-IE, 70 eV) de CF-7

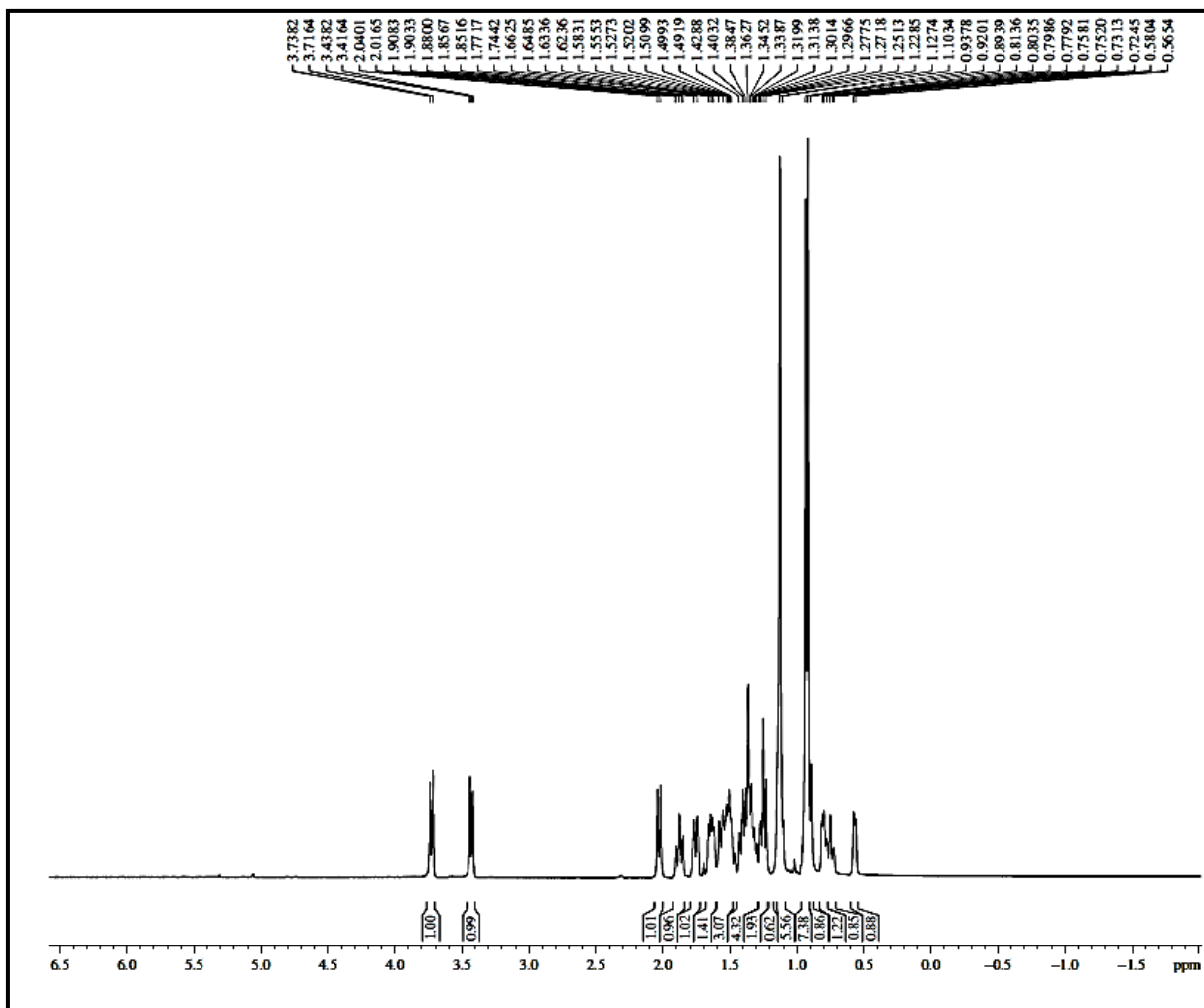


Figura 28 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de CF-7

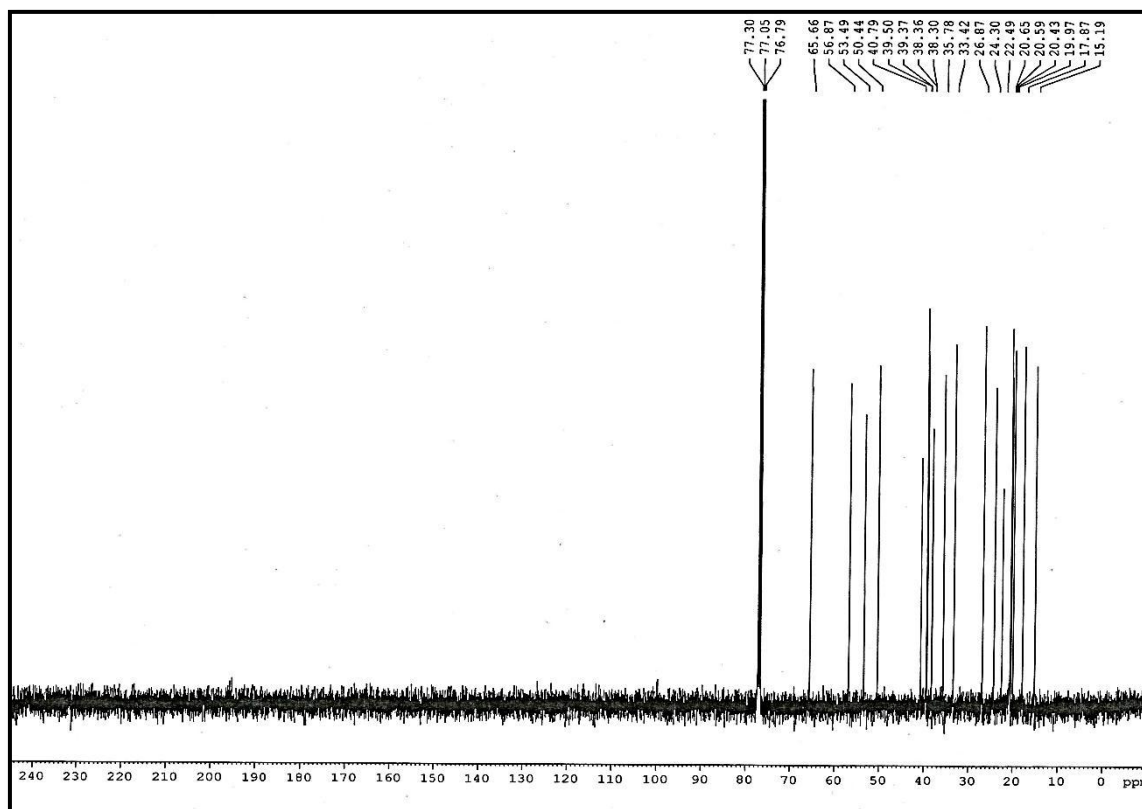


Figura 29 – Espectro de RMN ¹³C - CPD (125 MHz, CDCl₃) de CF-7

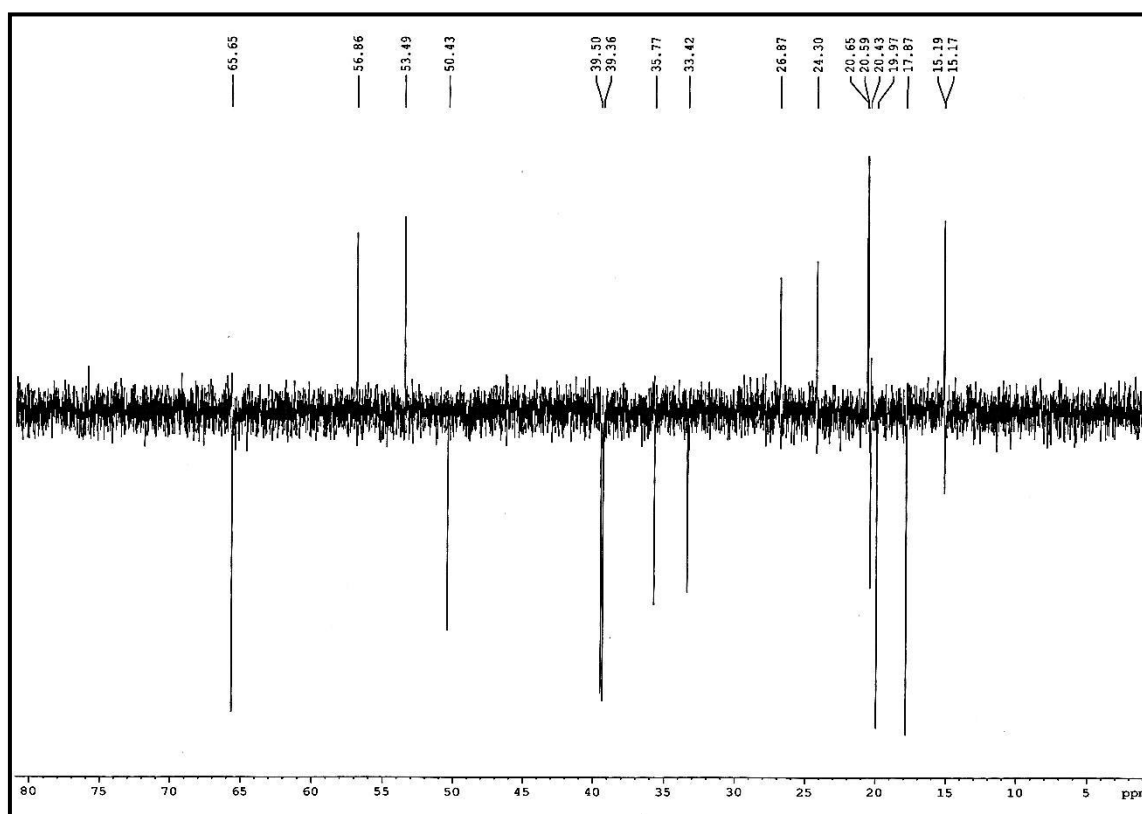


Figura 30 – Espectro de RMN ¹³C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl₃) de CF-7

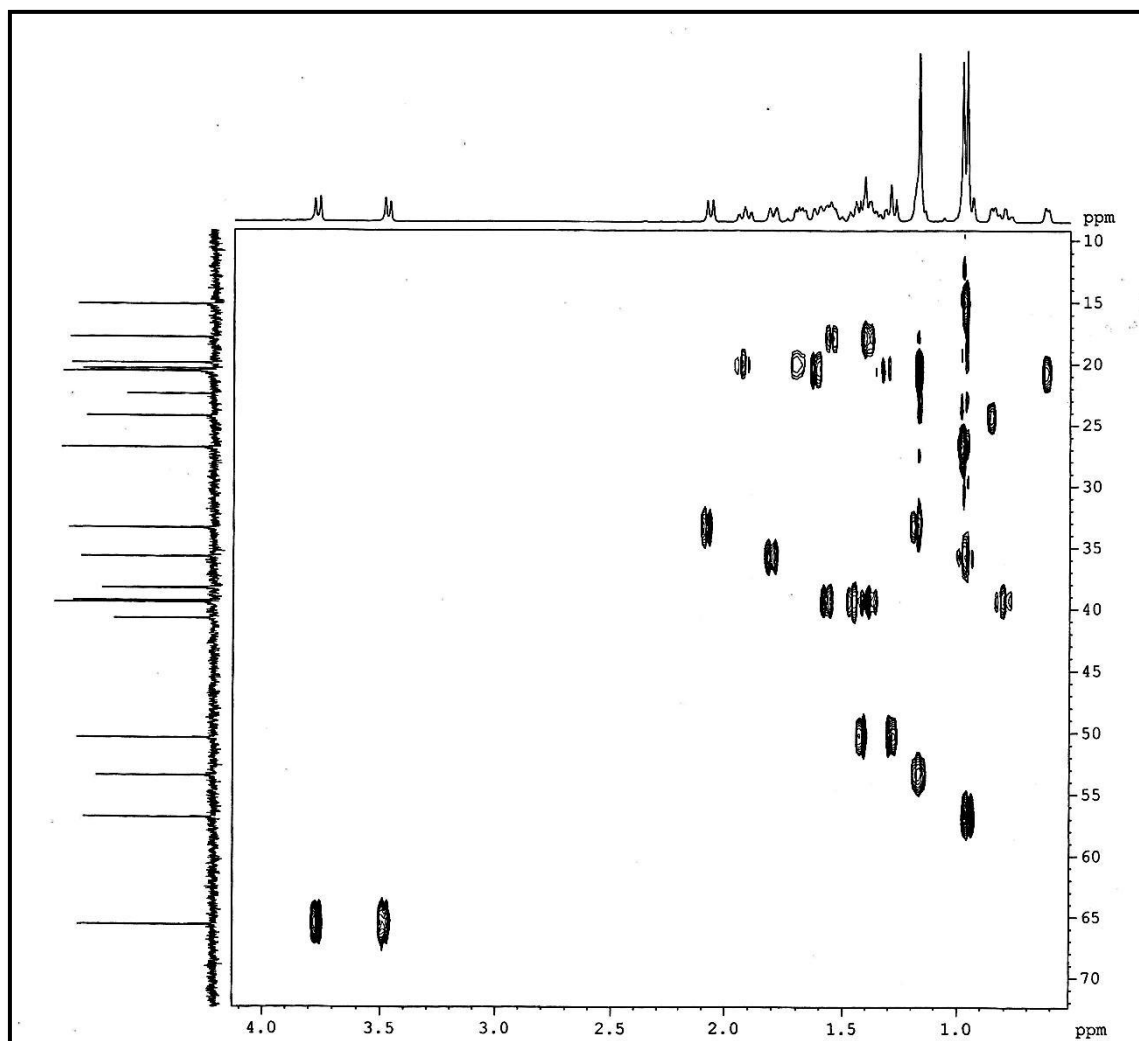


Figura 31 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-7

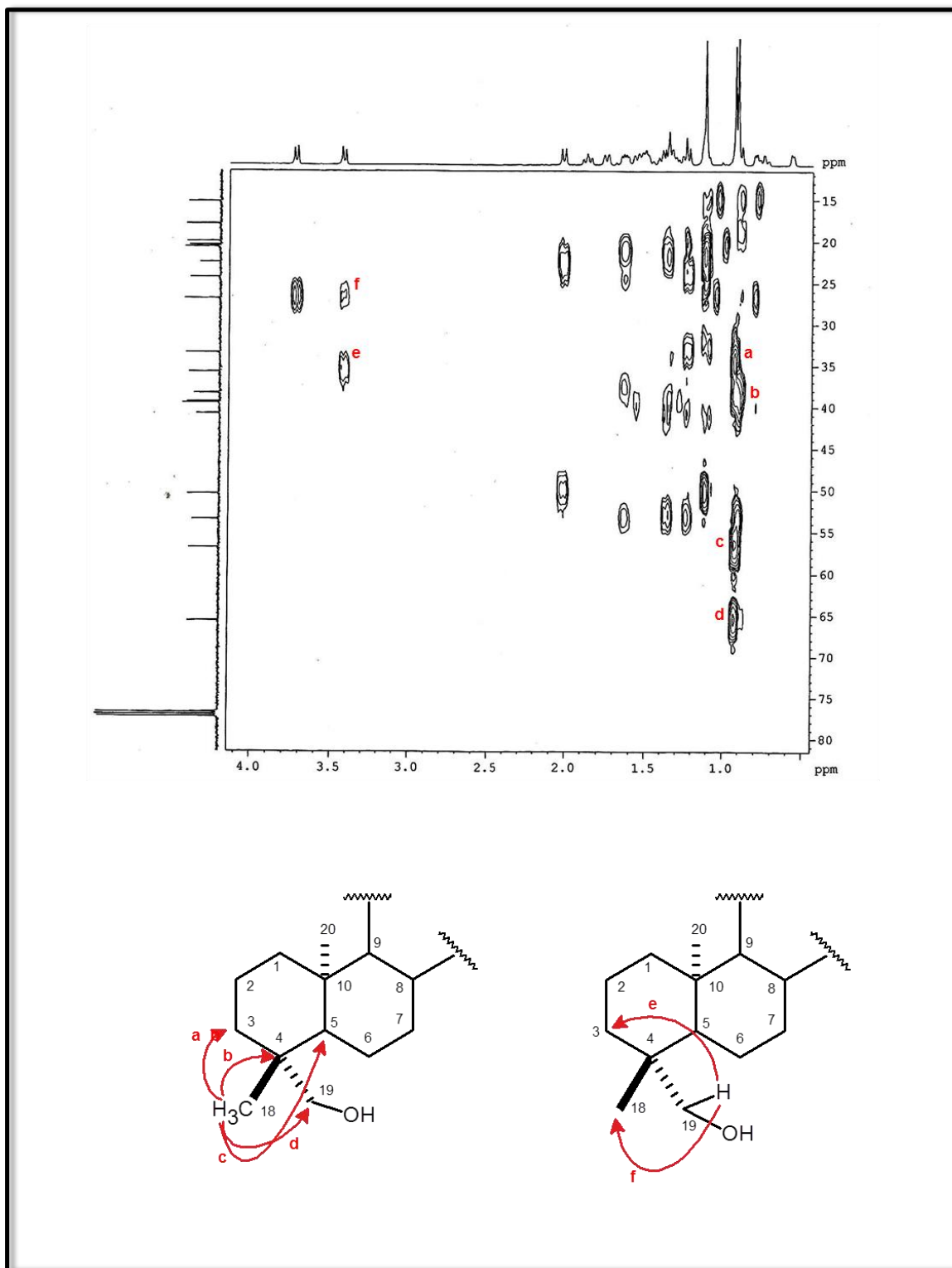


Figura 32 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-7

4.4 Determinação estrutural de CF-5

Tratamento cromatográfico da fração CFHCR-A, obtida a partir do extrato hexânico das cascas da raiz de *Croton floribundus* (item 5.5.2.6, p. 124), levou ao isolamento de um sólido cristalino incolor, com p.f. 148,2 - 149,3 °C e $[\alpha]_D^{25} = -41^\circ (c\ 0,1; \text{CHCl}_3)$, que foi denominado CF-5.

O espectro de absorção na região do infravermelho de CF-5 (fig. 34, p. 55) apresentou absorções em 2923 e 2857 cm^{-1} características de deformações axiais assimétricas e simétricas de ligação C-H de carbono sp^3 , respectivamente. O caráter oxigenado de CF-5 foi observado através das absorções em 3332 cm^{-1} , associada à deformação axial O-H de grupo hidroxila; e em 1029 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de ligação C-O de álcool.

O espectro de RMN ^{13}C - CPD de CF-5 (fig. 38, p. 58) apresentou 17 linhas espectrais. A análise comparativa com o espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (fig. 39, p. 58), permitiu identificar a presença de 2 carbonos metílicos, 10 carbonos metilênicos, 4 carbonos metínicos e 4 carbonos não-hidrogenados (tabela 11, p. 52). Pelos valores tabelados, pôde-se facilmente assinalar os sinais em δ_{C} 65,0 e 74,0 como sendo referentes a dois carbonos metilênicos carbinólicos, confirmando o caráter oxigenado de CF-5 já observado no espectro de IV.

A análise do espectro de RMN ^1H de CF-5 (fig. 36, p. 56) mostrou sinais característicos de sistema ciclopropânico tetrasubstituído em δ_{H} 0,58 (1H-12, d, $J = 7,5$ Hz) e 0,83 (1H-13, dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz) do esqueleto traquilobano. Foram observados ainda dois sinais relativos a grupamentos metilas em δ_{H} 0,90 (3H-20, s) e 1,12 (3H-17, s), além de quatro sinais na região de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em δ_{H} 3,91 (d, $J = 10,5$ Hz, H-19a), 3,88 (d, $J = 10,5$ Hz, H-18a), 3,71 (d, $J = 10,5$ Hz, H-19b) e 3,33 (d, $J = 10,5$ Hz, H-18b).

O espectro COSY (fig. 37, p. 57) permitiu distinguir os hidrogênios de cada grupo oximetilênico, através do acoplamento geminal entre os sinais de hidrogênios em δ_{H} 3,91 (H-19a) e 3,71 (H-19b), bem como entre os sinais em δ_{H} 3,88 (H-18a) e 3,33 (H-18b), respectivamente.

A fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ para CF-5 foi obtida a partir do pico do aduto molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ em m/z 327,2349 (calculado m/z 327,2295), obtido no espectro de massa de alta resolução (fig. 35, p. 55).

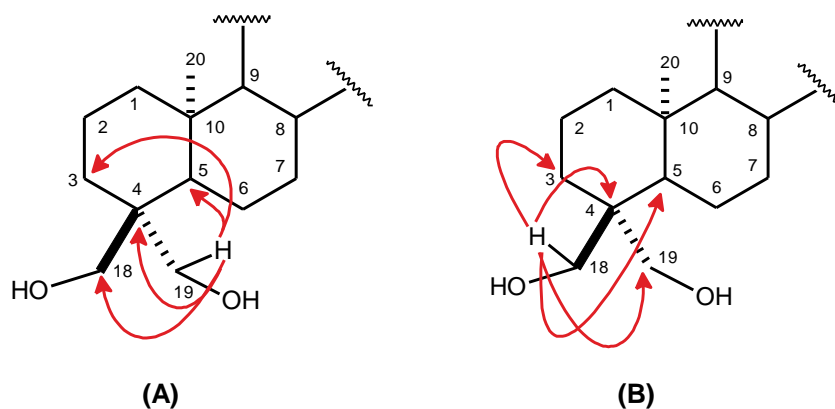
Tabela 11 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-5

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|-------|--------------------|-------------------|
| | | 17,39 | |
| | | 20,15 | |
| | | 20,77 | |
| 22,65 | 20,75 | 30,47 | |
| 38,28 | 24,42 | 33,56 | 15,12 |
| 40,67 | 53,56 | 39,05 | 20,74 |
| 41,77 | 53,59 | 39,31 | |
| | | 50,52 | |
| | | 65,04 (CO) | |
| | | 74,04 (CO) | |
| 4 C | 4 CH | 10 CH ₂ | 2 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₂ O ₂ | | | |

A análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H , ^{13}C - HSQC (fig. 40, p. 59) possibilitou realizar as correlações inequívocas de cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios (tabela 12, p. 54). Em particular, foi possível associar as absorções em δ_{H} 3,91 (H-19a) e 3,77 (H-19b) e em δ_{H} 3,91 (H-18a) e 3,77 (H-18b) aos carbonos oximetilênicos em δ_{C} 65,0 (CH₂-19) e em δ_{C} 74,0 (CH₂-18), respectivamente. Pôde-se visualizar ainda que os hidrogênios em δ_{H} 0,58 (H-12), 1,12 (3H-17) e 1,60 (2H-6) correlacionavam-se com o mesmo sinal de carbono em δ_{C} 20,7, de maneira que este foi relacionado a três carbonos magneticamente equivalentes. De maneira análoga, o sinal em δ_{C} 53,5 foi atribuído a dois carbonos magneticamente equivalentes, devido às correlações com os hidrogênios em δ_{H} 0,94 (H-5) e 1,14 (H-9).

Uma análise mais detalhada acerca da estrutura de CF-5 foi realizada através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância ^1H , ^{13}C - HMBC (fig. 41, p. 60). Esta análise revelou o acoplamento dos hidrogênios oximetilênicos em δ_{H} 3,91 e 3,71 (2H-19) e δ_{H} 3,88 e 3,33 (2H-18) com os carbonos carbinólicos em δ_{C} 74,0 (C-18, $^3J_{\text{CH}}$) e em δ_{C} 65,0 (C-19, $^3J_{\text{CH}}$), respectivamente. Neste espectro foi observado ainda o acoplamento concomitante desses hidrogênios com o carbono não-hidrogenado em δ_{C} 41,7 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$), com o carbono metínico em δ_{C} 53,5 (C-5, $^3J_{\text{CH}}$), e com o carbono metilênico em

δ_C 30,4 (C-3, $^3J_{CH}$), indicando que as hidroxilas encontram-se ligadas aos carbonos C-18 e C-19 do sistema decalina (subestruturas A e B).



Com base em todas as informações descritas, além da natureza levorrotatória de CF-5, pôde-se sugerir que esse composto também pertence à série *enantio* (BLOCK *et al.*, 2004). A partir dessas evidências, o composto CF-5 foi identificado como sendo o diterpeno *ent*-traquiloban-18,19-diol (fig. 33, p. 53), que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.

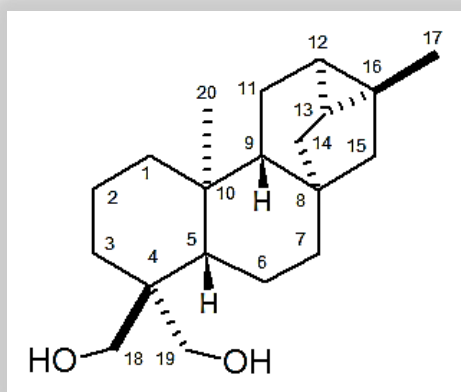


Figura 33 – Estrutura de CF-5 - *ent*-traquiloban-18,19-diol

Tabela 12 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-5

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|--------------------------------|--|-------------------|---------------------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 39,0 | a - 1,52 (d, $J = 11,15$ Hz, 1H); b - 0,78 (td, $J = 7,5$ e 2,4 Hz, 1H) | – | 2H-3; 3H-20 |
| 2 | 17,3 | a - 1,55 (m, 1H); b - 1,35 (m, 1H) | H-1b | – |
| 3 | 30,4 | a - 2,00 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H) b - 0,96 (m, 1H) | – | 2H-1; H-18a; H-19a |
| 4 | 41,7 | – | H-5; H-18a; H-19a | – |
| 5 | 53,5 | 0,94 (m, 1H) | H-9 | 2H-1; 2H-3; H-18a; H-19a; 3H-20 |
| 6 | 20,7 | 1,60 (m, 2H) | H-5 | – |
| 7 | 39,3 | 1,35 (m, 2H) | – | 2H-15 |
| 8 | 40,6 | – | H-9; H-14a; 2H-15 | 2H-6; H-11a; H-13 |
| 9 | 53,5 | 1,14 (m, 1H) | – | 2H-1; 2H-11; H-12; 2H-15; 3H-20 |
| 10 | 38,2 | – | 2H-1; H-5; 3H-20 | – |
| 11 | 21,1 | a - 1,88 (td, $J = 13,0$ e 3,0 Hz, 1H); b - 1,64 (ddd, $J = 13,6$; 6,1 e 1,8 Hz, 1H) | H-12 | – |
| 12 | 20,7 | 0,56 (d, $J = 7,55$ Hz, 1H) | – | H-13; H-14a; 2H-15; 3H-17 |
| 13 | 24,4 | 0,80 (dd, $J = 7,5$ e 2,4 Hz, 1H) | H-14a | H-15b; 3H-17 |
| 14 | 33,5 | a - 2,02 (m, 1H); b - 1,14 (m, 1H) | – | H-9; H-12; 2H-15 |
| 15 | 50,5 | a - 1,36 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H); b - 1,23 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H) | – | 3H-17 |
| 16 | 22,6 | – | 2H-15; 3H-17 | H-14a |
| 17 | 20,7 | 1,12 (s, 3H) | – | H-12; H 13; 2H-15 |
| 18 | 74,0 | a - 3,88 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H); b - 3,33 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) | – | H-5; H-19a |
| 19 | 65,0 | a - 3,91 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H); b - 3,71 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H) | – | H-3b; H-5; H-18a |
| 20 | 15,1 | 0,90 (s, 3H) | – | H-1b; H-5; H-9 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

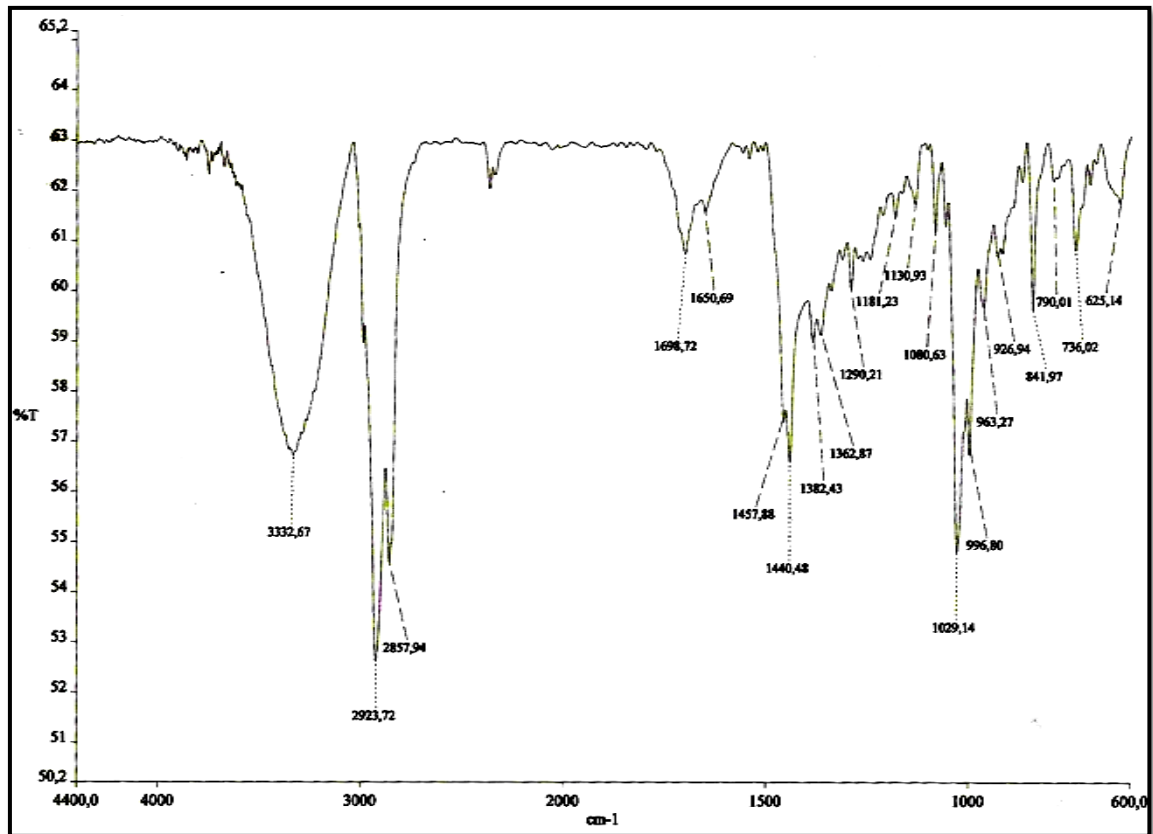


Figura 34 – Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5

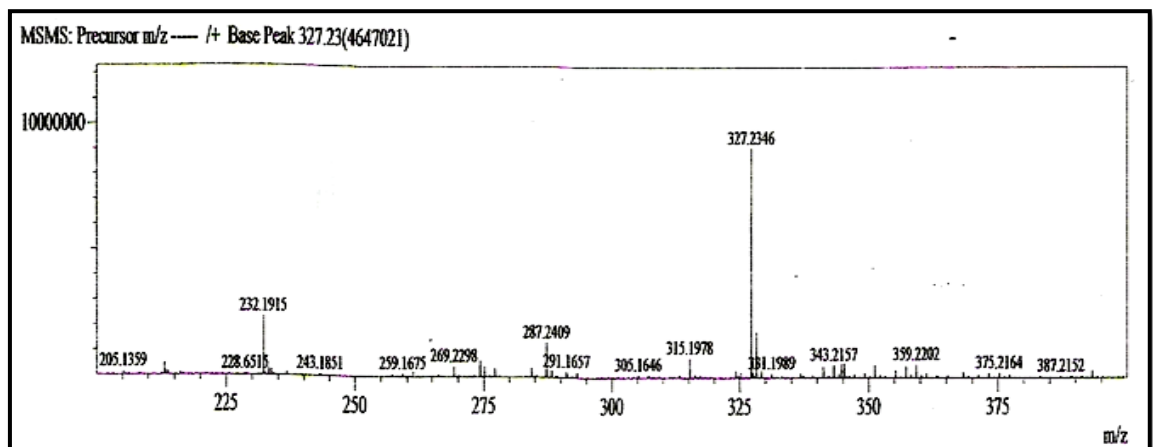


Figura 35 – Espectro de massa de alta resolução (EM-IES) de CF-5

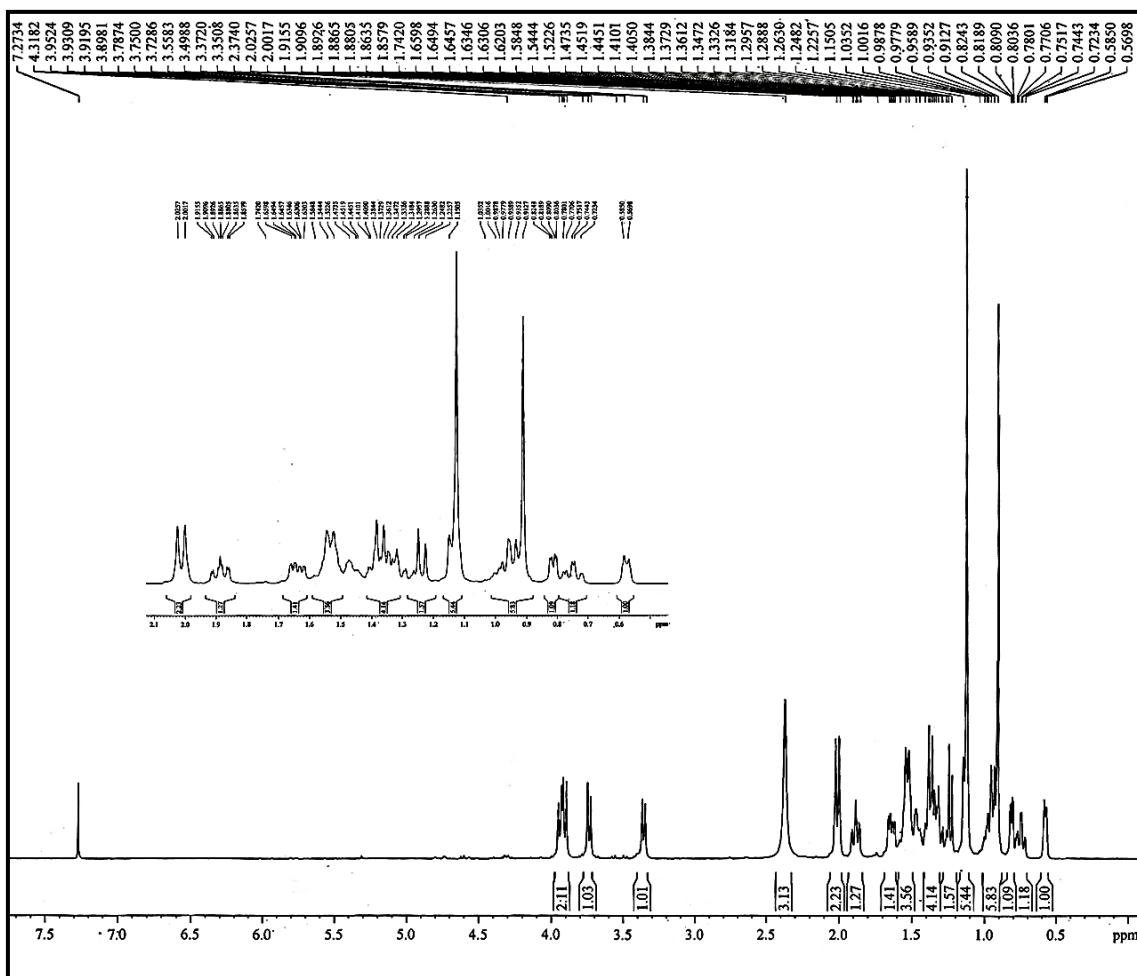


Figura 36 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de CF-5

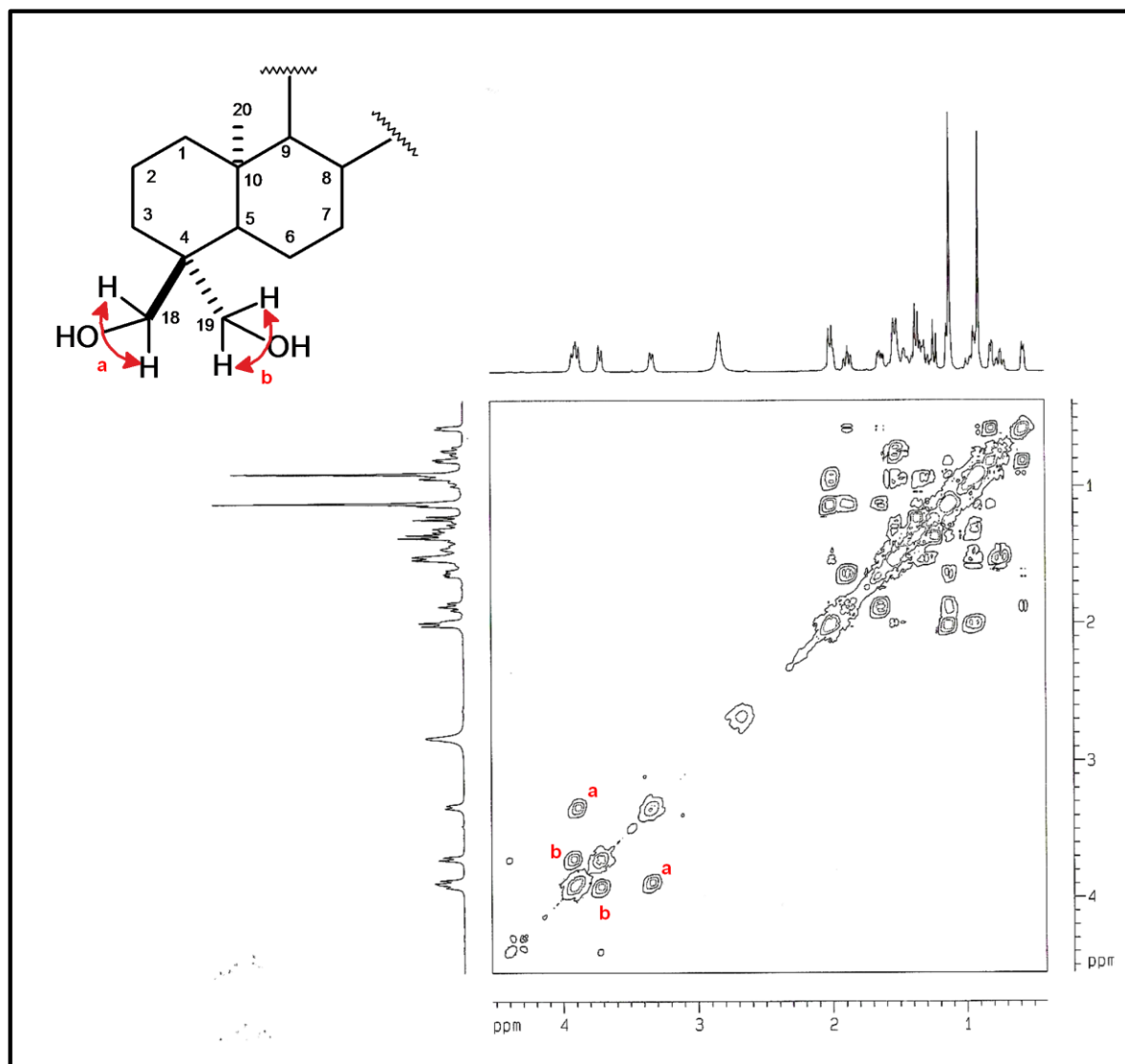
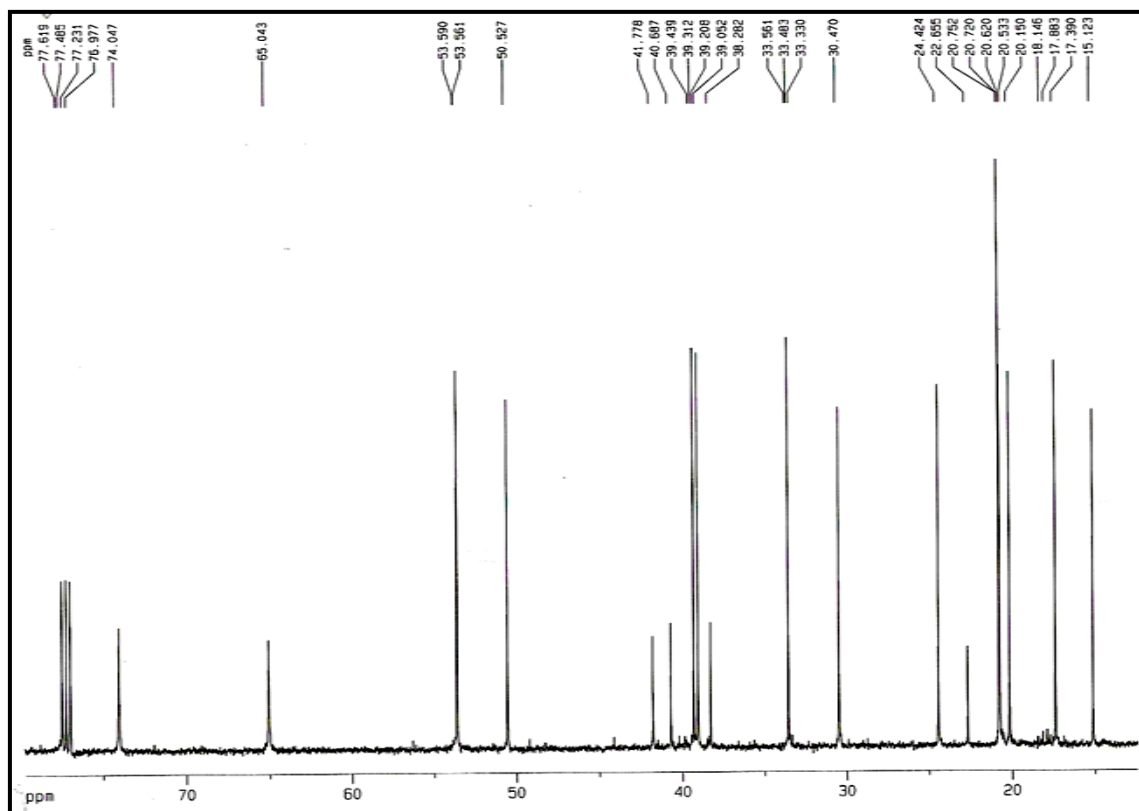
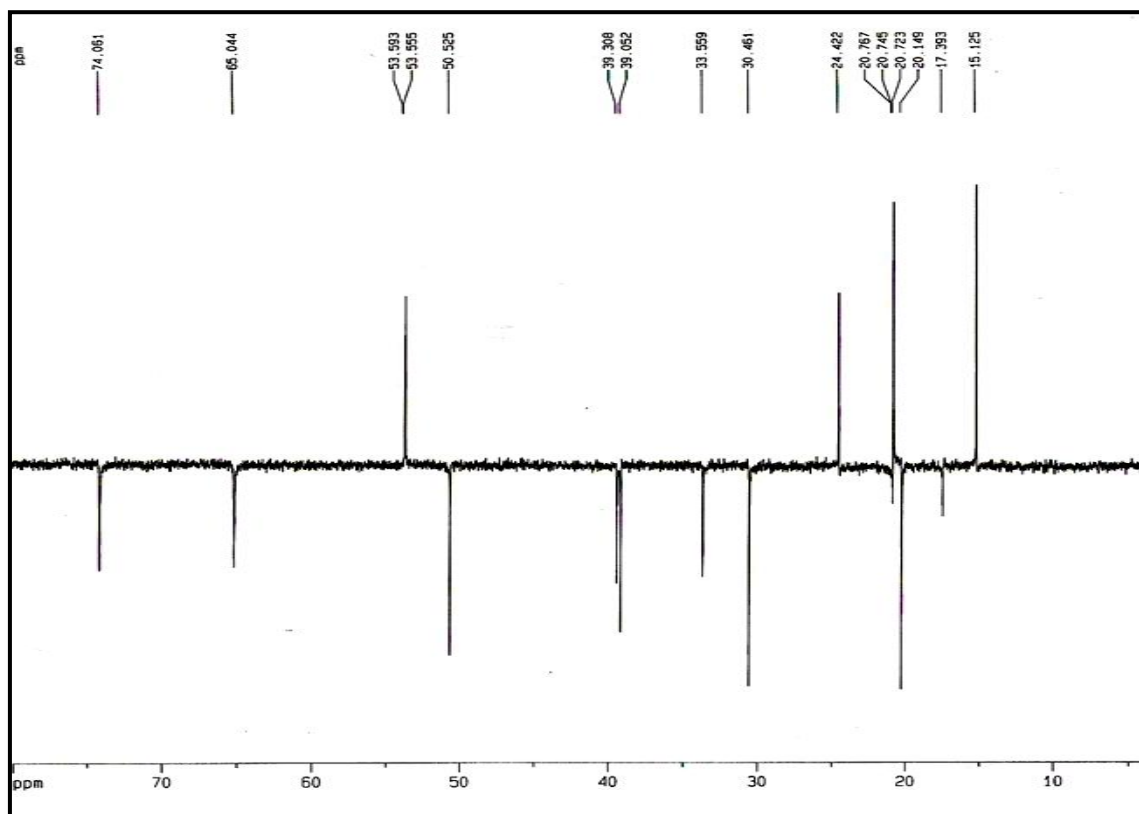


Figura 37 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, CDCl_3) de CF-5

Figura 38 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-5Figura 39 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-5

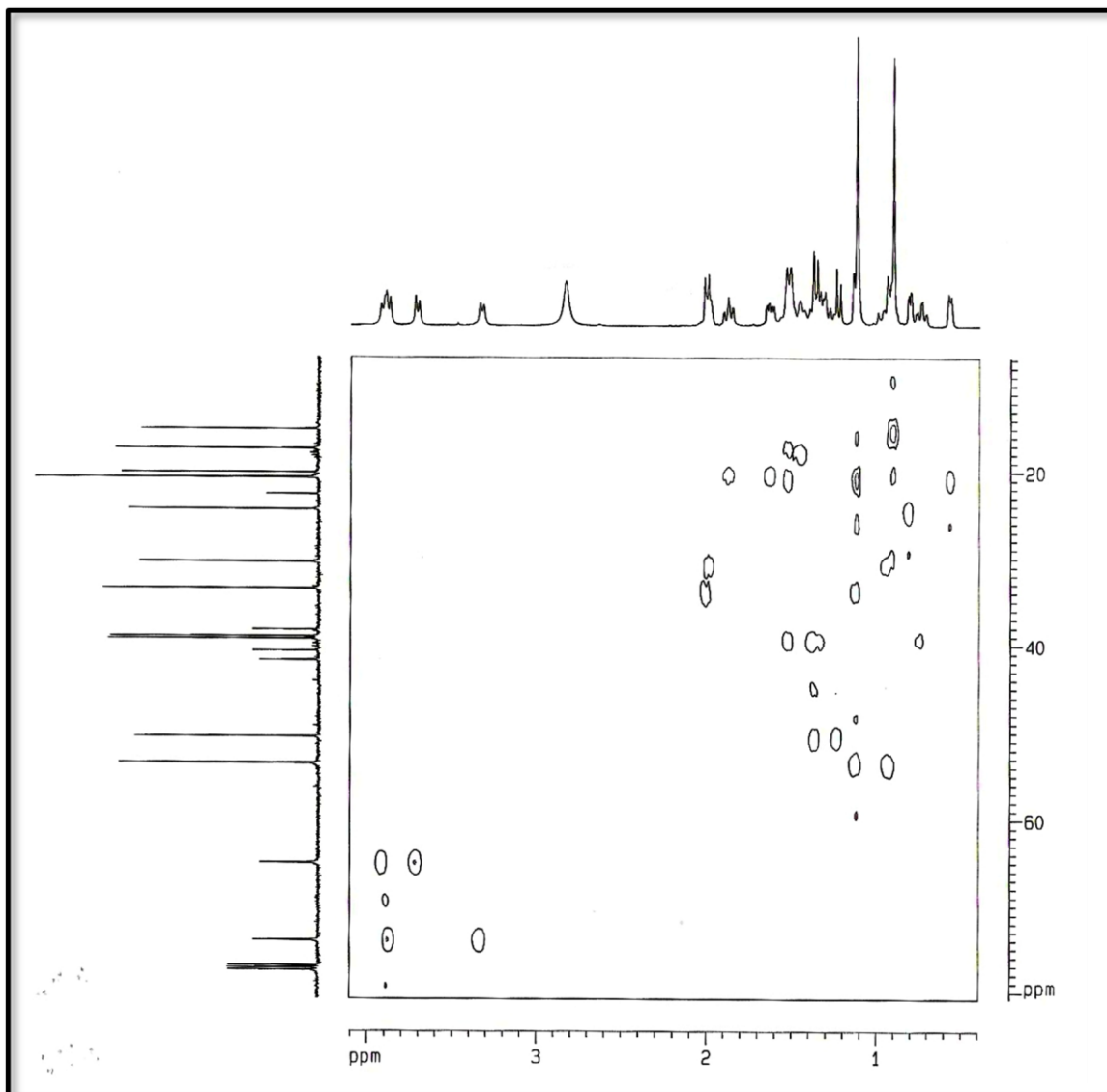


Figura 40 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5

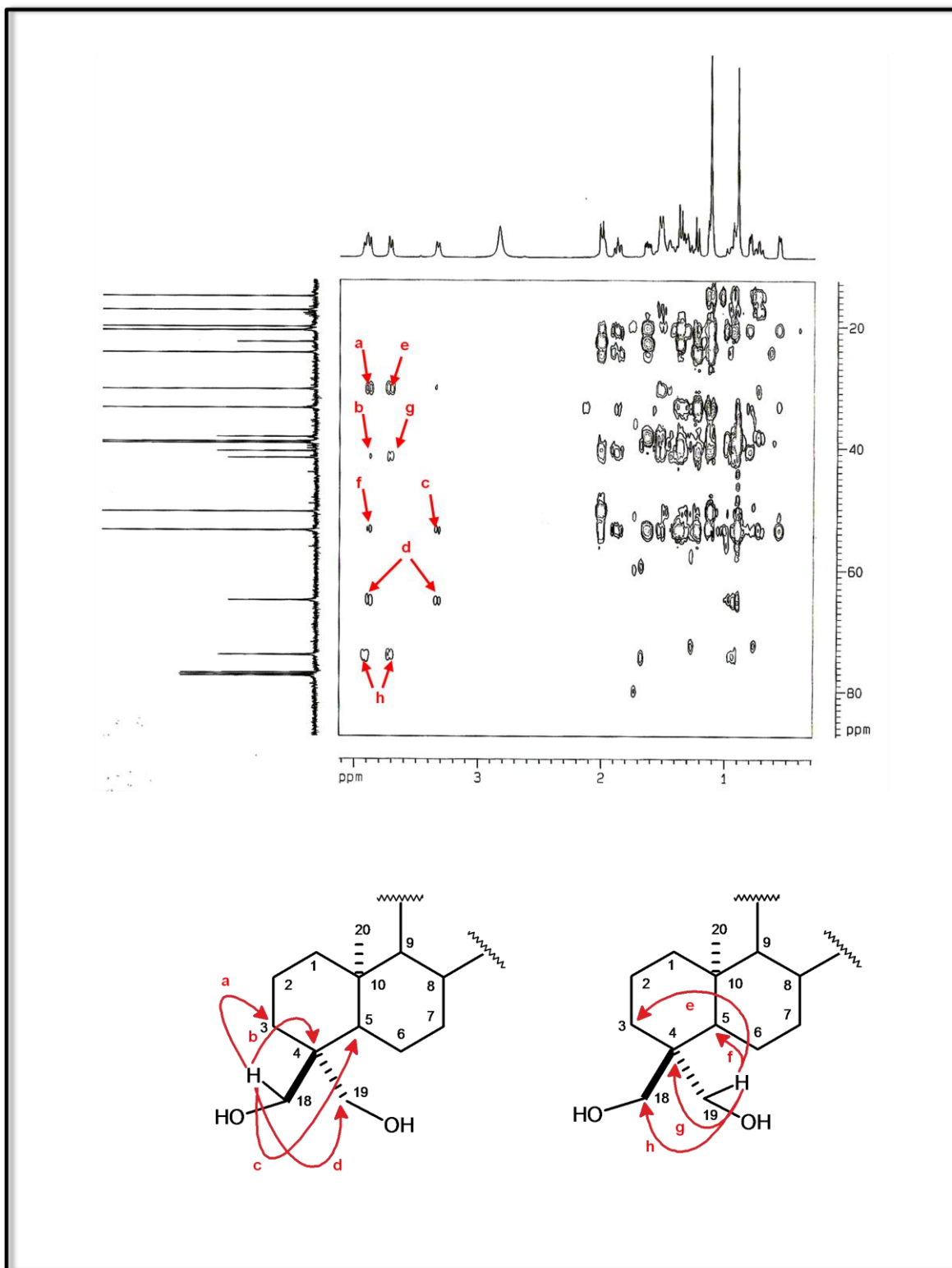


Figura 41 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5

4.4.1 Derivados reacionais de CF-5

4.4.1.1 Reação de acetilação – obtenção de CF5-D1

A reação de acetilação do composto CF-5, utilizando piridina e anidrido acético, levou a obtenção do derivado acetilado CF-5D1 (item 5.6.1, p. 126), conforme figura 42 (p. 61).

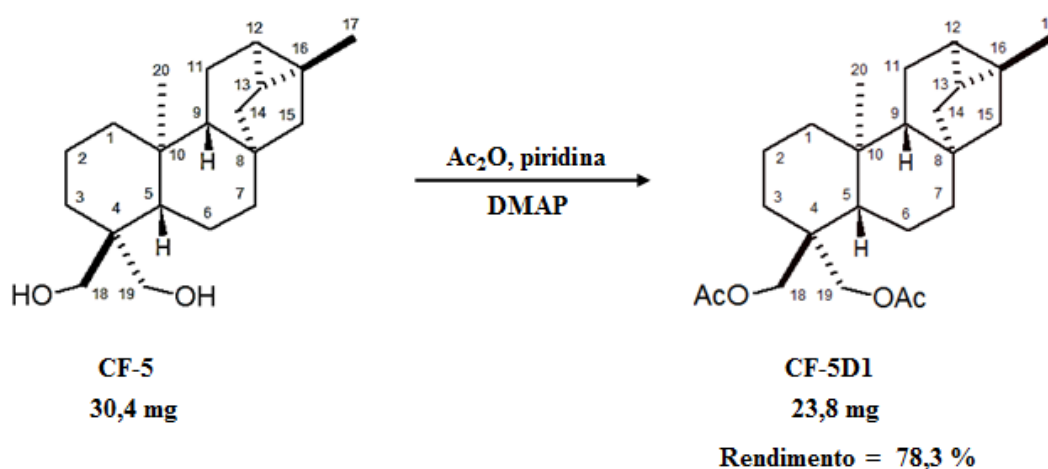


Figura 42 – Esquema reacional da acetilação de CF-5

O espectro de absorção na região de infravermelho de CF-5D1 (fig. 44, p. 64) quando comparado ao de CF-5 (fig. 34, p.55) não apresentou a absorção em 3332 cm^{-1} , referente à deformação axial de ligação O-H de grupo hidroxila. No entanto, esse espectro revelou uma absorção adicional intensa em 1737 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C=O.

No espectro de RMN ^1H de CF-5D1 (fig. 45, p.65) foi observada a presença dos sinais em δ_{H} 2,03 (s, 3H) e 2,05 (s, 3H), característicos de grupamentos metilas ligados a carbonos carbonílicos.

A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C - CPD e DEPT 135° de CF-5D1 (figs. 46 e 47, p.66) com os de CF-5, revelou a presença dos sinais adicionais, referentes aos carbonos pertencentes aos grupos acetilas, em δ_{C} 21,1; 21,2 e 171,2. Onde o sinal em δ_{C} 171,2, visivelmente mais intenso para um carbono carbonílico, foi atribuído a duas carbonilas magneticamente equivalentes.

A atribuição dos sinais referentes a cada carbono de CF-5D1 foi realizada pela comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de CF-5 com os de CF-5D1, além da análise dos espectros de HSQC (fig. 48, p. 67) e HMBC (fig. 49, p. 68), conforme tabela 13 (p. 62).

O produto da reação de acetilação de CF-5, denominado CF-5D1, foi caracterizado como sendo o *ent*-18,19-diacetoxitraquilobano (fig. 43, p. 62) e está sendo citado pela primeira vez na literatura.

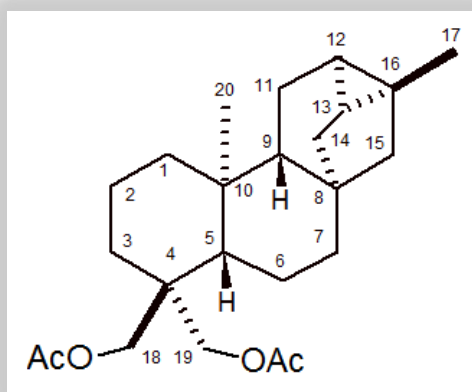


Figura 43 – Estrutura química de CF-5D1 - *ent*-18,19-diacetoxitraquilobano

Tabela 13 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-5D1

| C | HSQC | | HMBC | |
|------------------------------|--------------------------------|---|----------------------|---------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 38,8 | a - 1,52 (m, 1H); b - 0,78 (td, $J = 12,0$ e $3,4$ Hz, 1H) | – | H-3b; H-5; 3H-20 |
| 2 | 17,3 | a - 1,55 (m, 1H); b - 1,41 (m, 1H) | – | – |
| 3 | 31,3 | a - 1,62 (m, 1H); b - 1,18 (m, 1H) | – | 2H-18; 2H-19 |
| 4 | 40,0 | – | 2H-18; 2H-19 | – |
| 5 | 51,1 | 1,17 (m, 1H) | – | 2H-18; 2H-19; 3H-20 |
| 6 | 20,8 | a - 1,50 (m, 1H); b - 1,31 (m, 1H) | – | – |
| 7 | 39,4 | 1,34 (m, 1H); b - 1,28 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H) | – | H-15a |
| 8 | 40,8 | – | H-9; H-14a; 2H-15 | – |
| 9 | 53,6 | 1,15 (m, 1H) | H-11b | 2H-15; 3H-20 |
| 10 | 38,2 | – | H-11b; 3H-20 | – |
| 11 | 20,1 | a - 1,89 (td, $J = 12,9$ e $2,5$ Hz, 1H); b - 1,66 (m, 1H) | – | – |
| 12 | 20,7 | 0,57 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H) | H-11b | H-15a; 3H-17 |
| 13 | 24,3 | 0,82 (dd, $J = 7,6$ e $2,3$ Hz, 1H) | H-14a | H-15b; 3H-17 |
| 14 | 33,4 | a - 2,00 (m, 1H); b - 1,12 (m, 1H) | – | H-9; H-15b |
| 15 | 50,3 | a - 1,36 (m, 1H); b - 1,23 (m, 1H) | – | H-14a; 3H-17 |
| 16 | 22,6 | – | H-15a; 3H-17 | H-11b; H-14a |
| 17 | 20,7 | 1,12 (s, 3H) | – | H-15a |
| 18 | 69,7 | a - 3,99 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H); b - 3,92 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H) | – | 2H-19 |
| 19 | 64,8 | a - 4,27 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H); b - 4,02 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) | – | 2H-18 |
| 20 | 15,2 | 0,98 (s, 3H) | – | H-1b; H-5; H-9 |
| (CH_3CO)' | 21,2 | 2,05 (s, 3H) | – | – |
| (CH_3CO)' | 171,2 | – | 2H-18 | 2H-19 |
| (CH_3CO)'' | 21,1 | 2,03 (s, 3H) | – | – |
| (CH_3CO)'' | 171,2 | – | 2H-19 | 2H-18 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

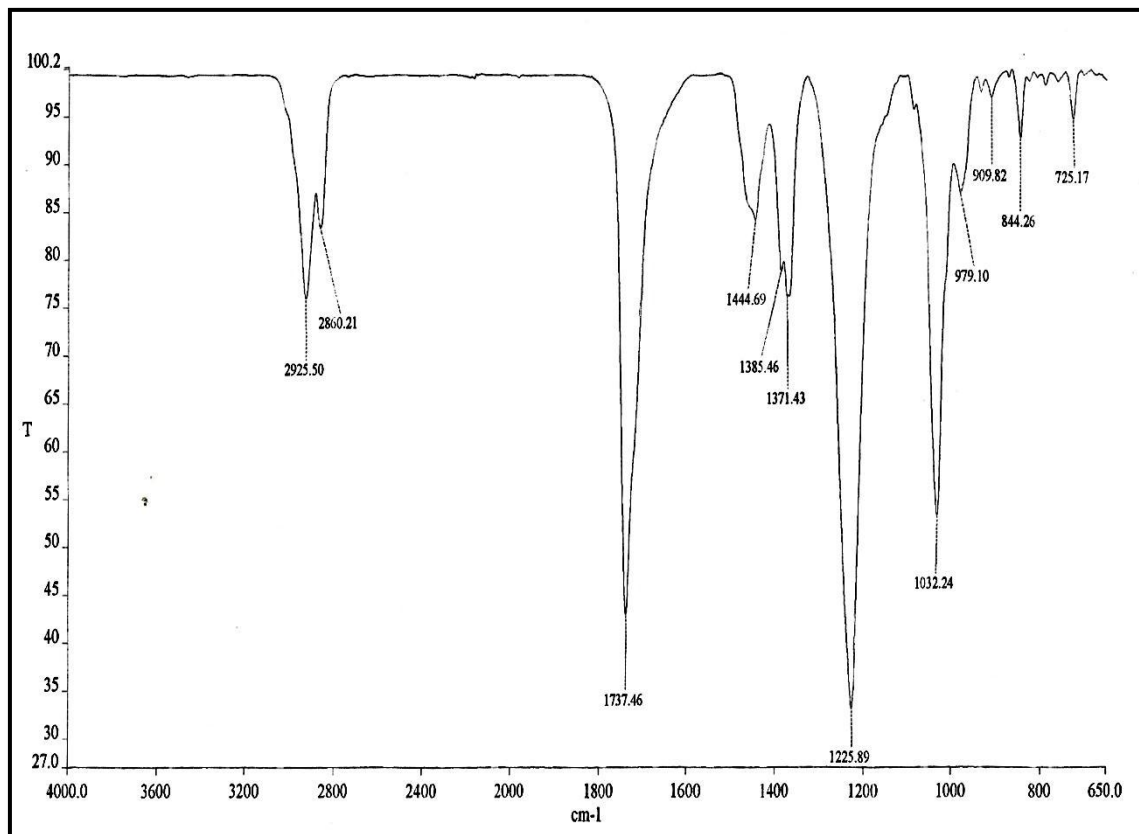


Figura 44 – Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5D1

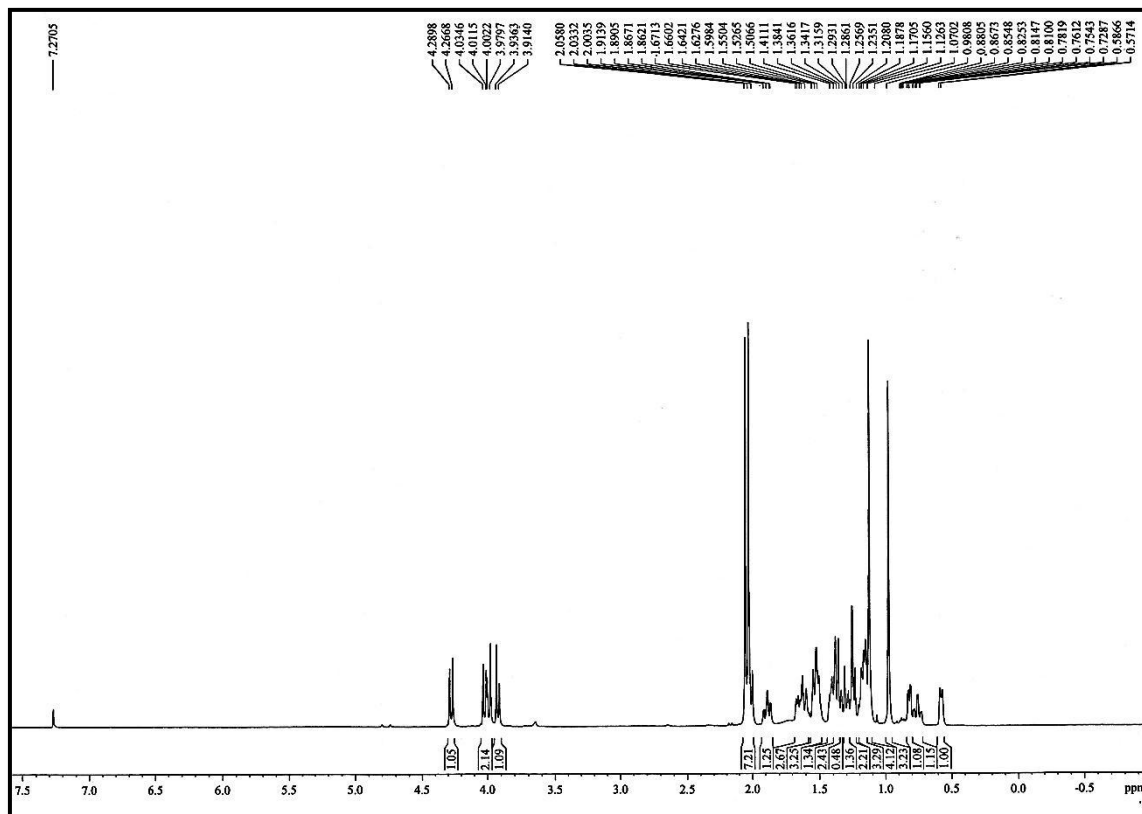
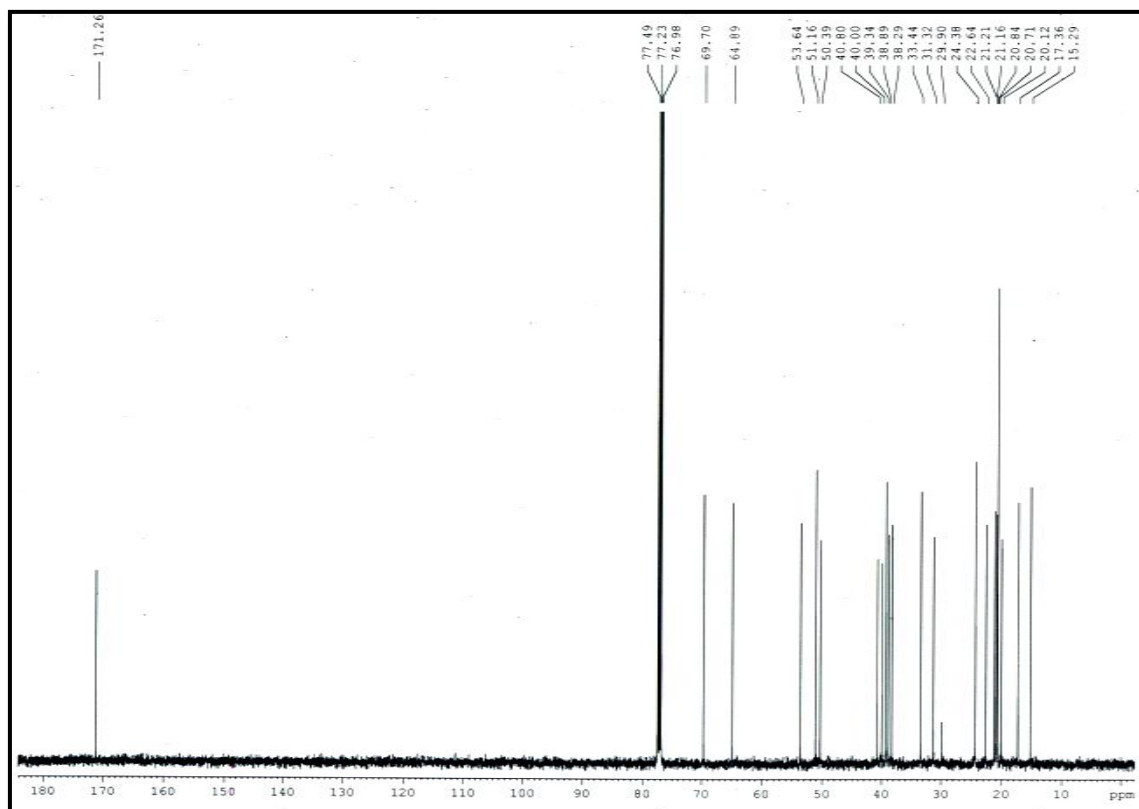
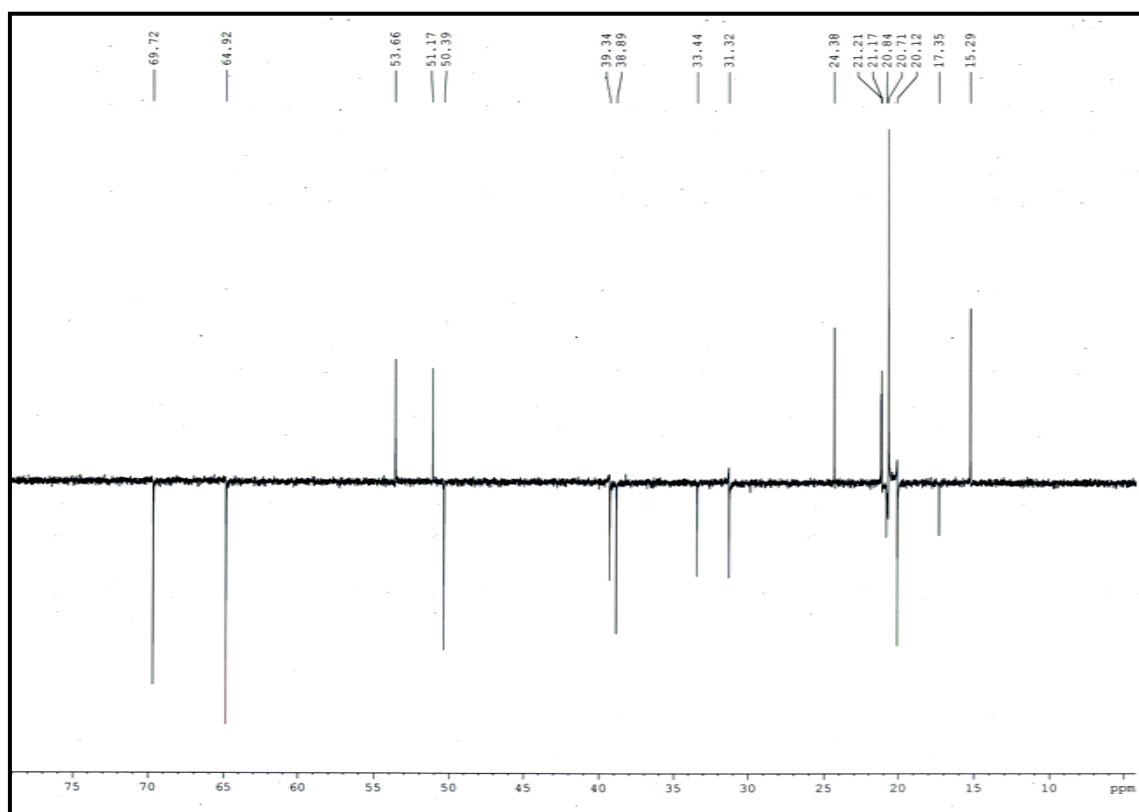


Figura 45 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-5D1

Figura 46 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D1Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D1

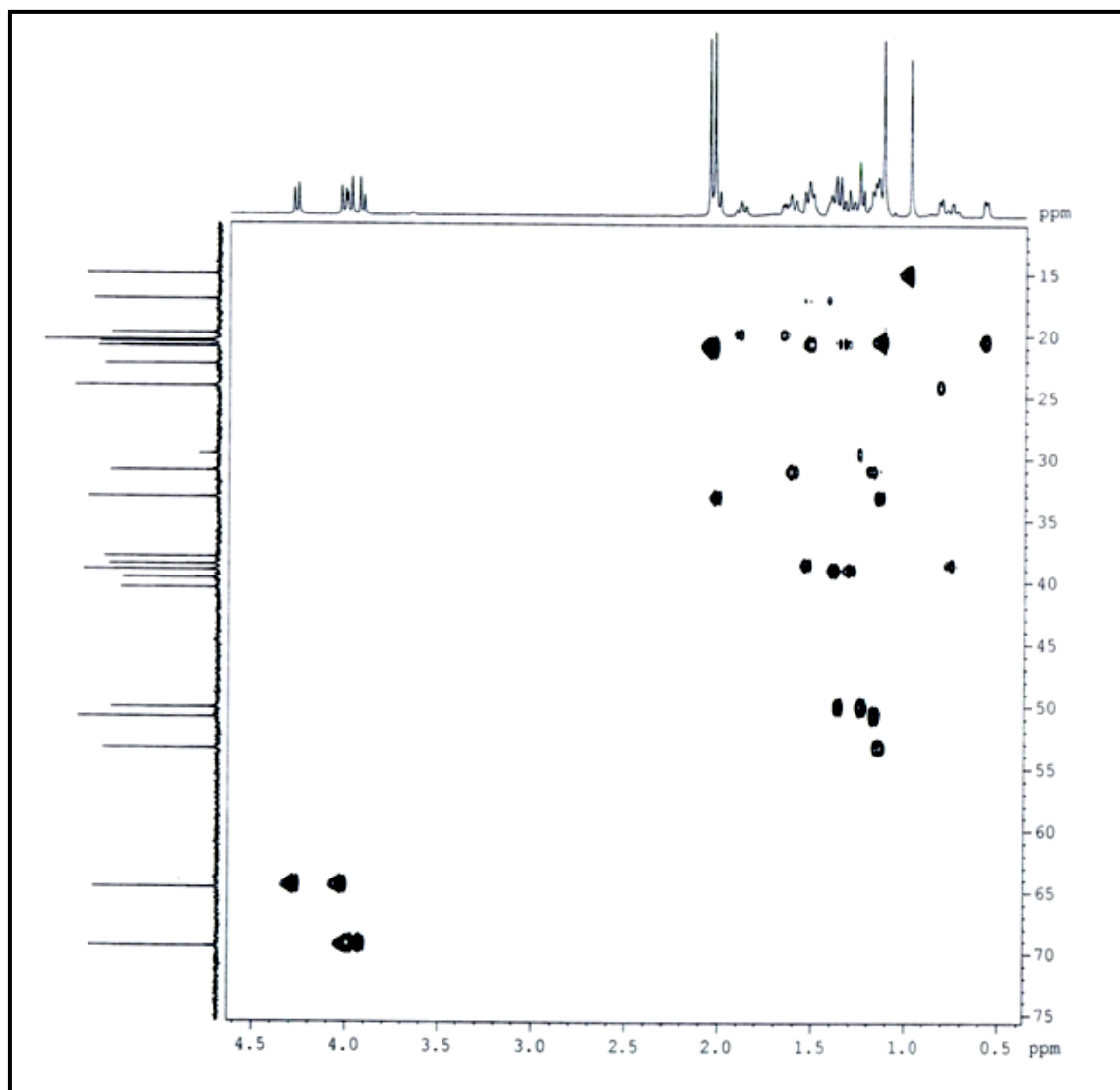


Figura 48 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D1

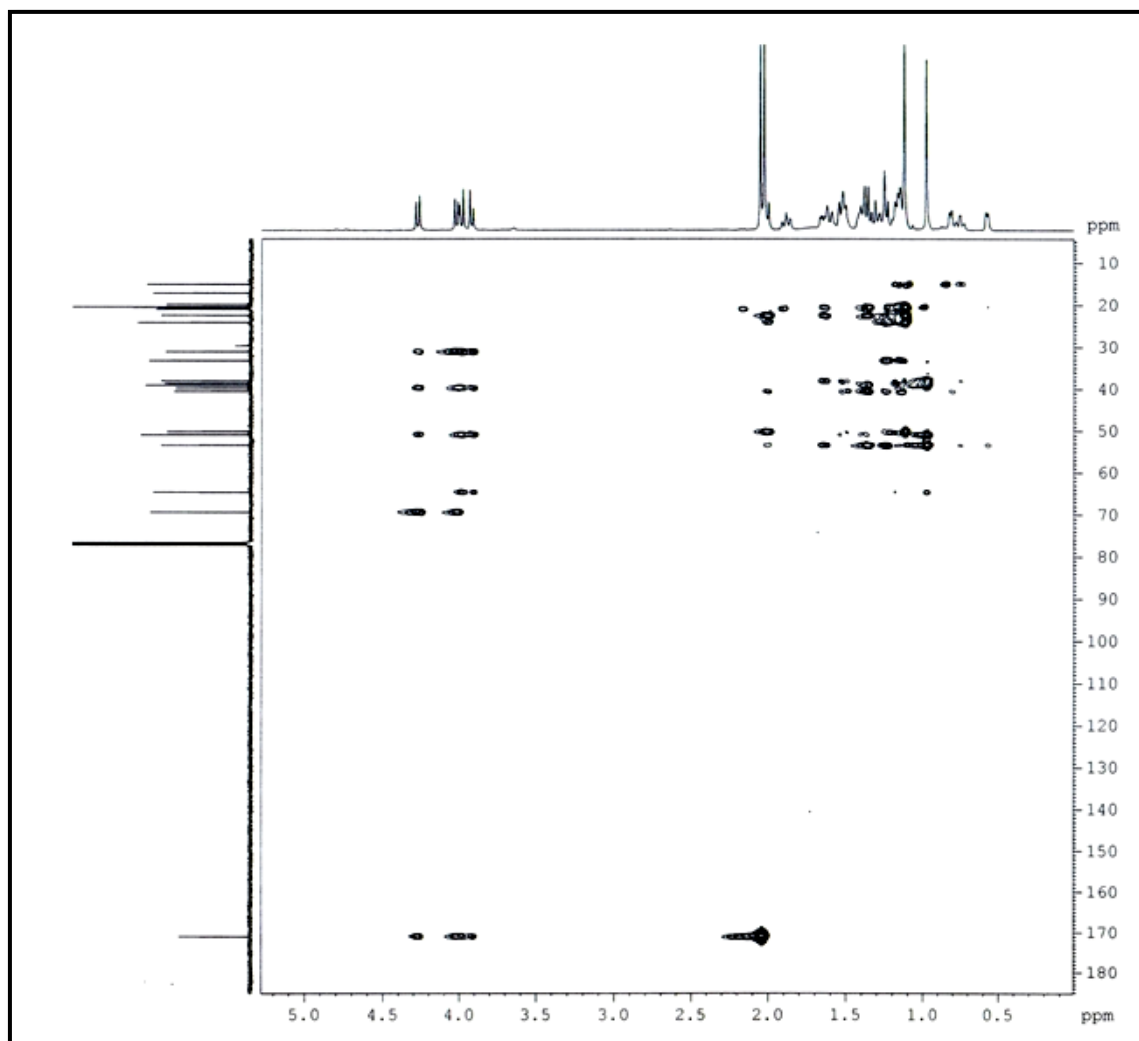


Figura 49 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D1

4.4.1.2. Reação de oxidação – obtenção de CF-5D2

A reação de oxidação de CF-5 utilizando PCC (item 5.6.2, p.127) forneceu um sólido cristalino incolor, com p.f 139,3 - 142,2 °C, que foi denominado de CF-5D2 (fig. 50, p. 69).

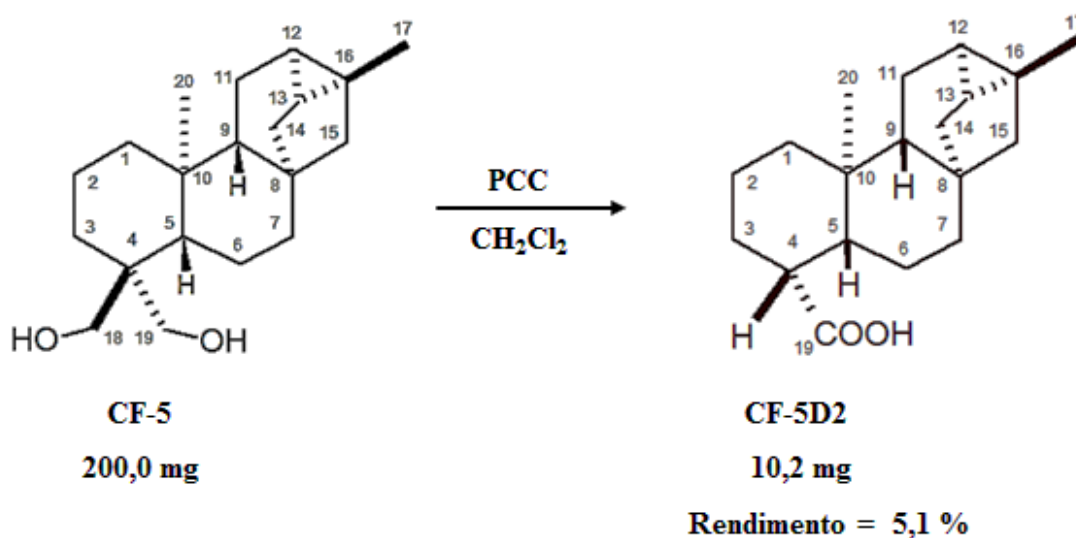


Figura 50 – Esquema reacional da oxidação de CF-5

O espectro de IV de CF-5D2 (fig. 53, p. 74) mostrou a presença de uma banda larga compreendida entre 3400 e 2700 cm^{-1} , relativa à superposição das absorções referentes às deformações axiais de ligações C-H e ligação O-H de grupo hidroxila. Além destas, foi observada uma forte absorção em 1687 cm^{-1} , relativa à deformação axial de ligação C=O.

O espectro de RMN ^1H de CF-5D2 (fig. 55, p. 75), quando comparado ao de CF-5, não mostrou a presença dos sinais referentes aos hidrogênios hidroximetilênicos entre δ_{H} 3,91 e 3,33, indicando a ocorrência de transformações químicas nesses grupamentos.

O espectro de RMN ^{13}C – CPD (fig. 56, p. 76) e comparação com o espectro RMN ^{13}C – DEPT 135° (fig. 57, p.76) ratificaram a ocorrência da reação, visto que além de não serem observados sinais na região de carbonos sp^3 oxigenados, foi verificada a presença de um sinal em δ_{C} 181,3, referente a carbono carbonílico de ácido. Através da análise desses espectros foi identificada a presença de 19 sinais, sendo 2 carbonos metílicos, 8 carbonos metilênicos, 5 carbonos metínicos e 4 carbonos não-hidrogenados (tabela 14, p. 70).

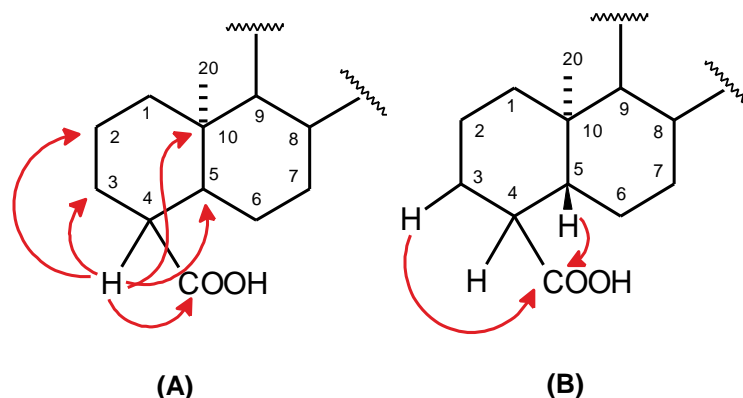
Tabela 14 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN¹³C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-5D2

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|------|-------------------|-------------------|
| | | 18,0 | |
| | | 19,5 | |
| 22,4 | 20,5 | 26,6 | |
| | 24,3 | | |
| 38,6 | 42,7 | 28,3 | 12,4 |
| 40,9 | 49,4 | 33,1 | 20,5 |
| 181,3 (COOH) | 52,3 | 38,8 | |
| | | 39,1 | |
| | | 50,3 | |
| 4 C | 5 CH | 8 CH ₂ | 2 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₁₉ H ₂₈ O ₂ | | | |

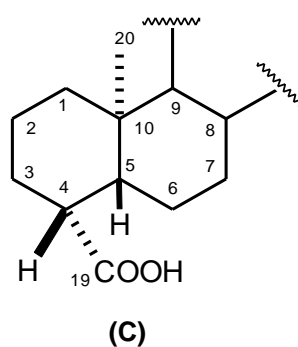
O pico do íon *quasi*-molecular [M-H]⁺ em m/z 287,2082 (calculado m/z 288,4244), obtido no espectro de massa de alta resolução (fig. 54, p. 74), compatível com a fórmula molecular C₁₉H₂₈O₂, juntamente com os dados de RMN ¹H e ¹³C permitiram sugerir que CF-5D2 tratava-se de um norditerpeno de esqueleto traquilobano.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos e seus respectivos hidrogênios foi realizada por comparação com os dados de CF-5, e através da análise detalhada do espectro de HSQC (fig. 58, p. 77) e HMBC (fig. 59, p. 78), conforme tabela 15 (p. 73).

No espectro de HMBC de CF4-D2 foram observadas importantes correlações entre o hidrogênio metínico em δ_H 2,46 (H-4) com os carbonos em δ_C 18,0 (CH₂-2, ³J_{CH}), 28,3 (CH₂-3, ²J_{CH}), 38,6 (C-10, ³J_{CH}), 49,4 (CH-5, ³J_{CH}) e 181,3 (C-19, ³J_{CH}) (subestrutura A), além das correlações dos hidrogênios em δ_H 1,31 (H-3) e 1,40 (H-5) com o carbono carbonílico em δ_C 181,3 (C-19, ³J_{CH}) (subestrutura B). Essas correlações, além de confirmarem a presença de um hidrogênio diretamente ligado a C-4, permitiram ainda posicionar o grupamento carboxila em C-4.



O grupamento carboxila pôde ser disposto na posição axial (C-19) do sistema decalina, devido à multiplicidade observada para o sinal referente à H-4 (δ_{H} 2,46) no espectro de RMN ^1H . Esse sinal mostrou-se como um simpleto largo, sugerindo constantes de acoplamento pequenas entre H-4 e os hidrogênios H-5 e 2H-3. Como H-5 se encontra em posição axial, uma constante de acoplamento pequena entre H-4 e H-5 só pode ser compreendida posicionando H-4 na equatorial, estando β -orientado (subestrutura C).



Com base nos dados de RMN e EM - IES, o derivado reacional CF-5D2 foi determinado como sendo o norditerpeno de caráter inédito na literatura ácido *ent*-18-nortraquiloban-19-óico (fig. 51, p. 72).

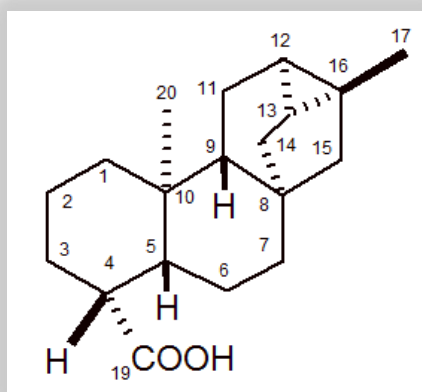


Figura 51 – Estrutura de CF-5D2 - ácido *ent*-18-nortraquiloban-19-óico

Um provável mecanismo que justifica a formação do composto CF-5D2 envolve a oxidação de CF-5, *ent*-traquiloban-18,19-diol, à um intermediário dicarboxilado (I). A partir desse intermediário, que contém um grupo carboxila ligado a um carbono α -carbonila, uma reação de descarboxilação favorece a eliminação de CO_2 , levando à formação do derivado reacional proposto, conforme figura 52 (p. 72) (BRUICE, 2004).

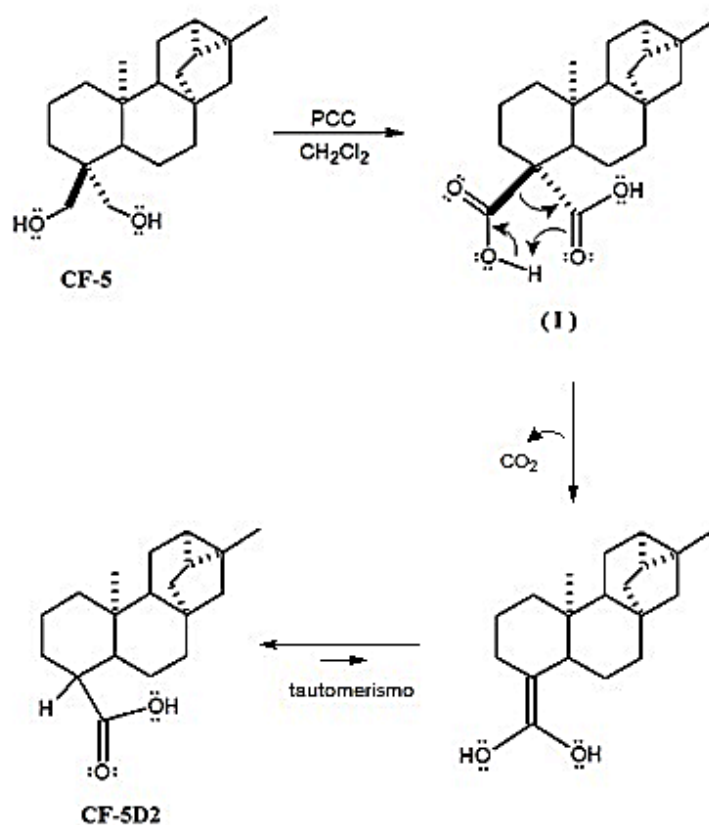


Figura52 – Proposta mecanística para formação de CF-5D2 - ácido *ent*-18-nortraquiloban-19-óico

Tabela 15 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-5D2

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|--------------------------------|--|----------------------------|-----------------------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 39,1 | a - 1,56 (d, $J = 12,9$ Hz, 1H); b - 0,77 (td, $J = 13,2$ e 3,8 Hz, 1H) | – | 3H-20 |
| 2 | 18,0 | a - 1,86 (m, 1H); b - 1,40 (m, 1H) | H1b; H3b | H-4 |
| 3 | 28,3 | a - 2,11 (d, $J = 12,7$ Hz, 1H); b - 1,31 (m, 1H) | H-4 | – |
| 4 | 42,7 | 2,46 (sl, 1H) | H-3b; H-5 | H-2b |
| 5 | 49,4 | 1,40 (m, 1H) | H-4 | 2H-7; 3H-20 |
| 6 | 26,6 | a - 1,90 (m, 1H); b - 1,44 (m, 1H) | H-5; 2H-7 | – |
| 7 | 38,8 | 1,40 (m, 2H) | – | – |
| 8 | 40,9 | – | 2H-7; H-9; H-14a; H-15b | H-13 |
| 9 | 52,3 | 1,09 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) | H-11a | H-5; H-12; H-14a; 2H-15; 3H-20 |
| 10 | 38,6 | – | H-1b; H-9; 3H-20 | H-4; H-11b |
| 11 | 19,5 | a - 1,91 (m, 1H); b - 1,66 (ddd, $J = 14,5; 7,2$ e 2,0 Hz, 1H) | H-9 | – |
| 12 | 20,5 | 0,58 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H) | H-11b | H-15a; 3H-17 |
| 13 | 24,3 | 0,82 (dd, $J = 7,7$ e 3,0 Hz, 1H) | H-14a | H-15b; 3H-17 |
| 14 | 33,1 | a - 2,05 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H); b - 1,48 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H) | – | H-9; 2H-15; 3H-17 |
| 15 | 50,3 | a - 1,40 (m, 1H); b - 1,24 (m, 1H) | – | H-14a; 3H-17 |
| 16 | 22,4 | – | 2H-15; 3H-17 | H-11b; H-14a |
| 17 | 20,5 | 1,13 (s, 3H) | – | H-12; H-15a |
| 18 | – | – | – | – |
| 19 | 181,3 | – | H-4 | H-3b; H-5 |
| 20 | 12,4 | 0,90 (s, 3H) | – | H-1b; H-5; H-9 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

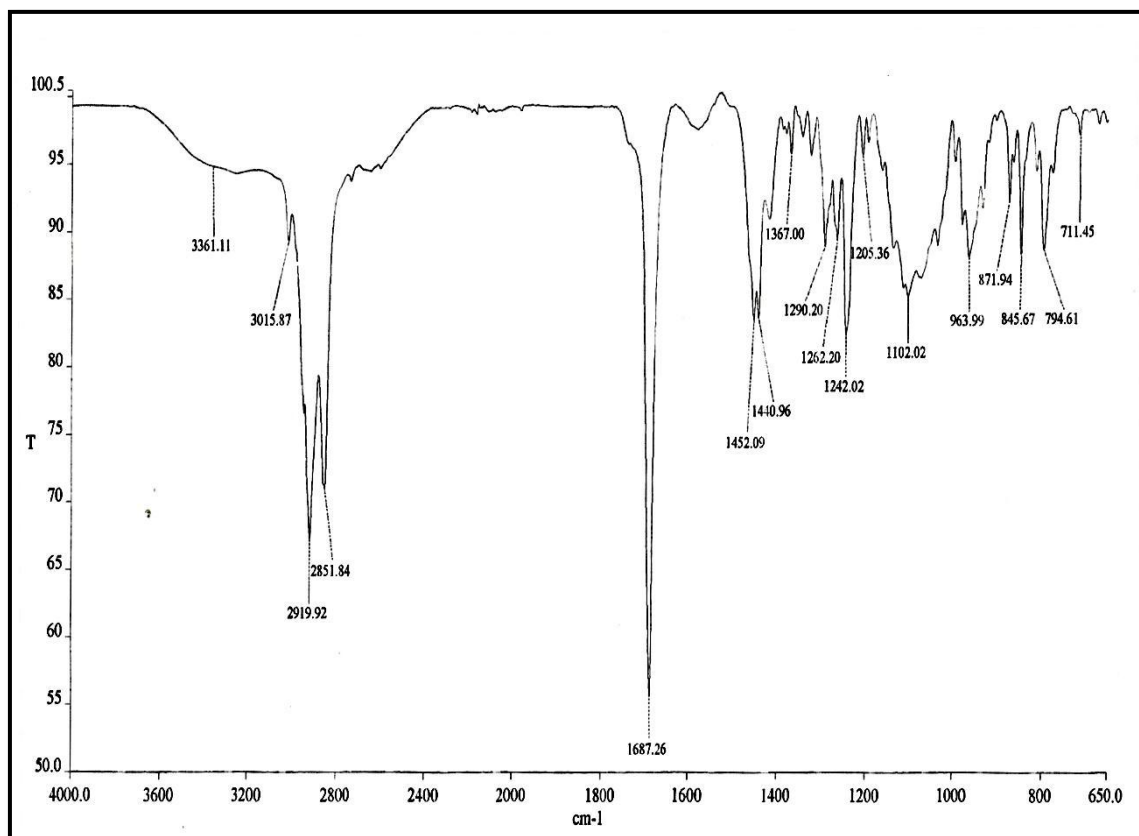


Figura 53 – Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-5D2

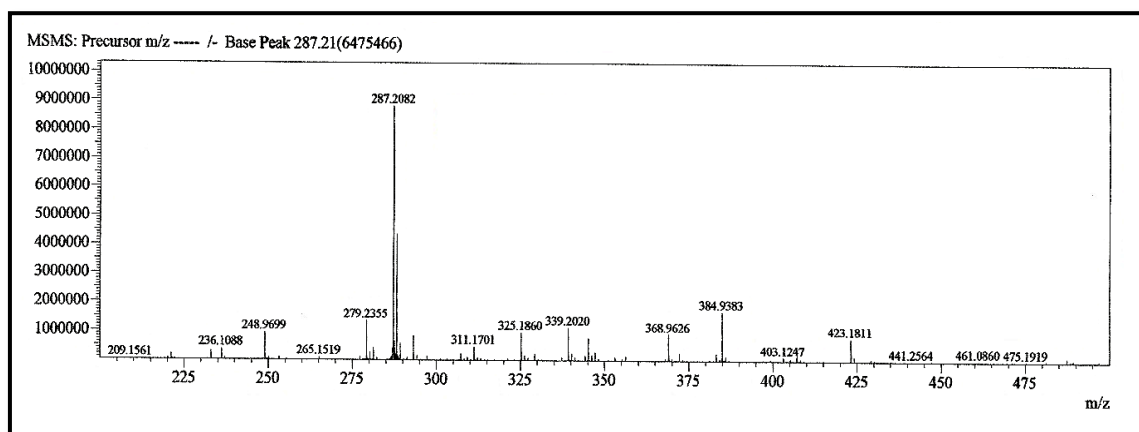


Figura 54 – Espectro de massa de alta resolução (EM-IES) de CF-5D2

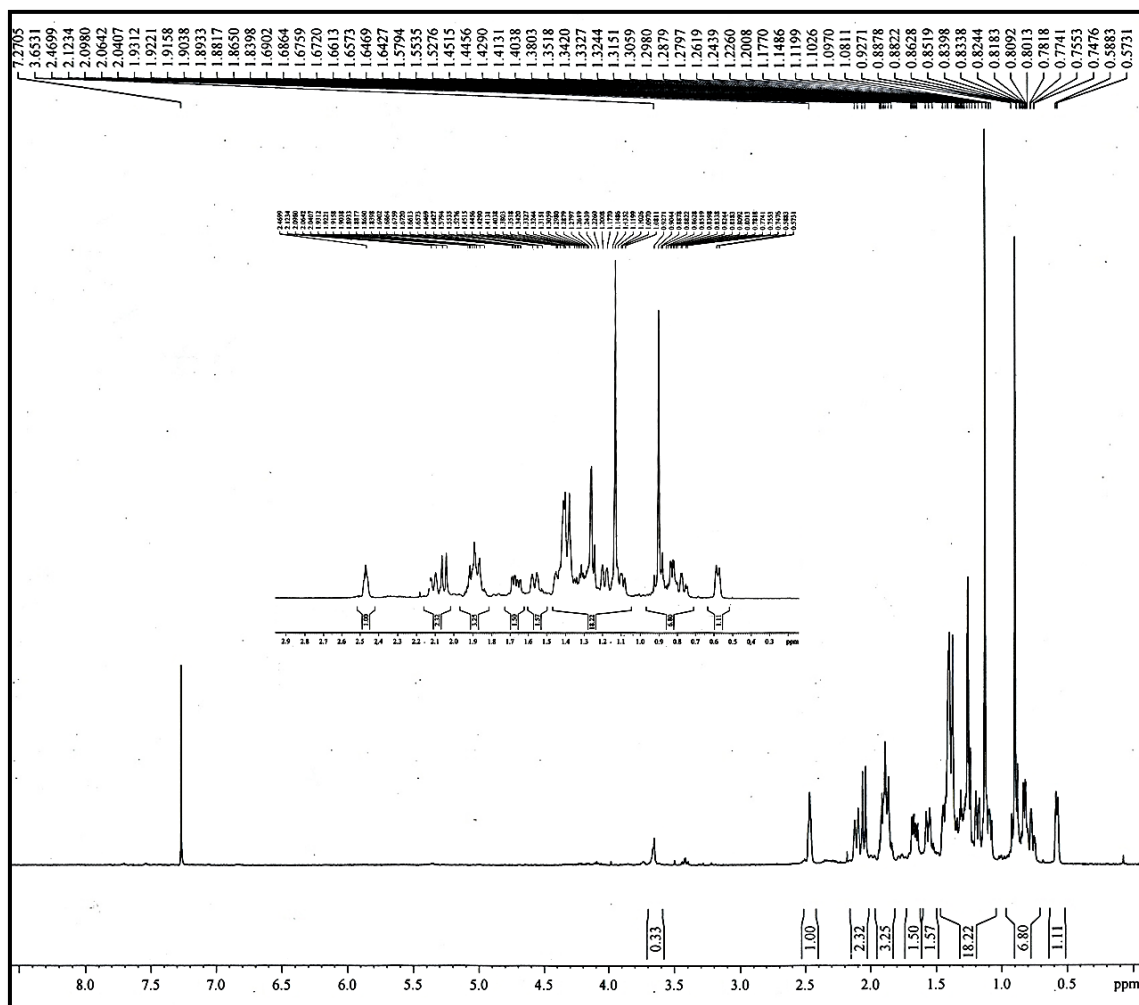


Figura 55 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de CF-5D2

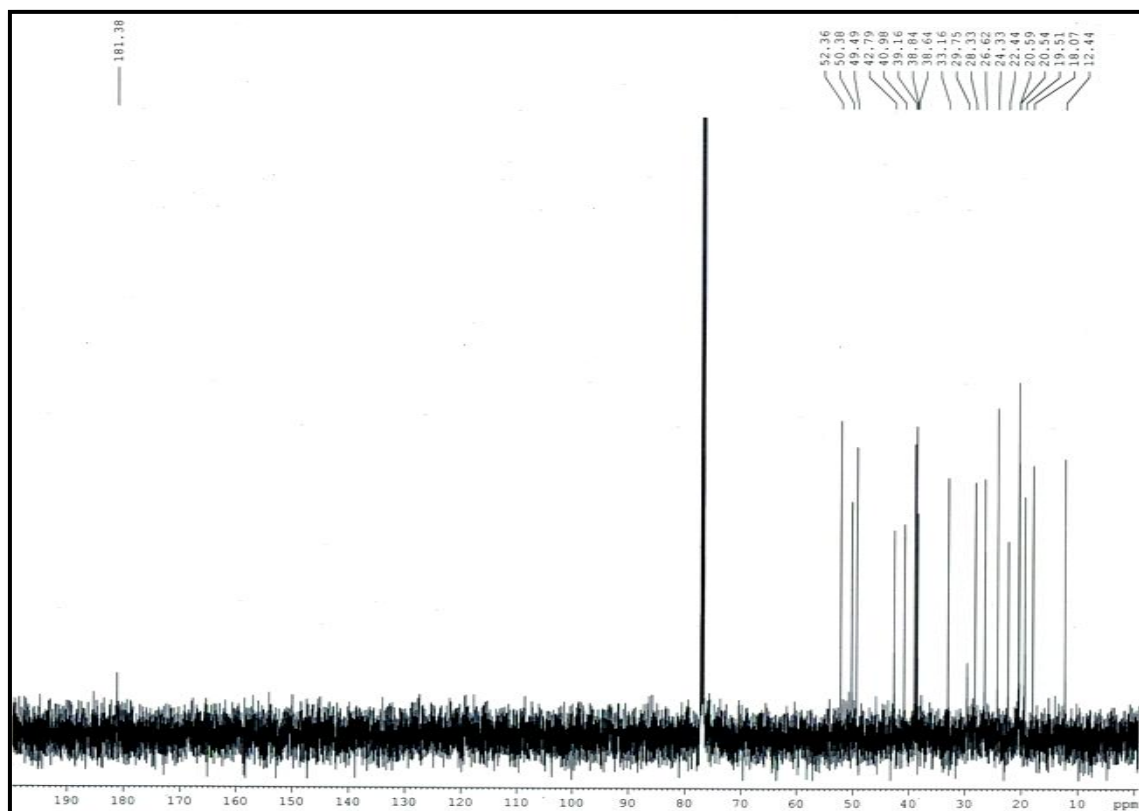


Figura 56 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2

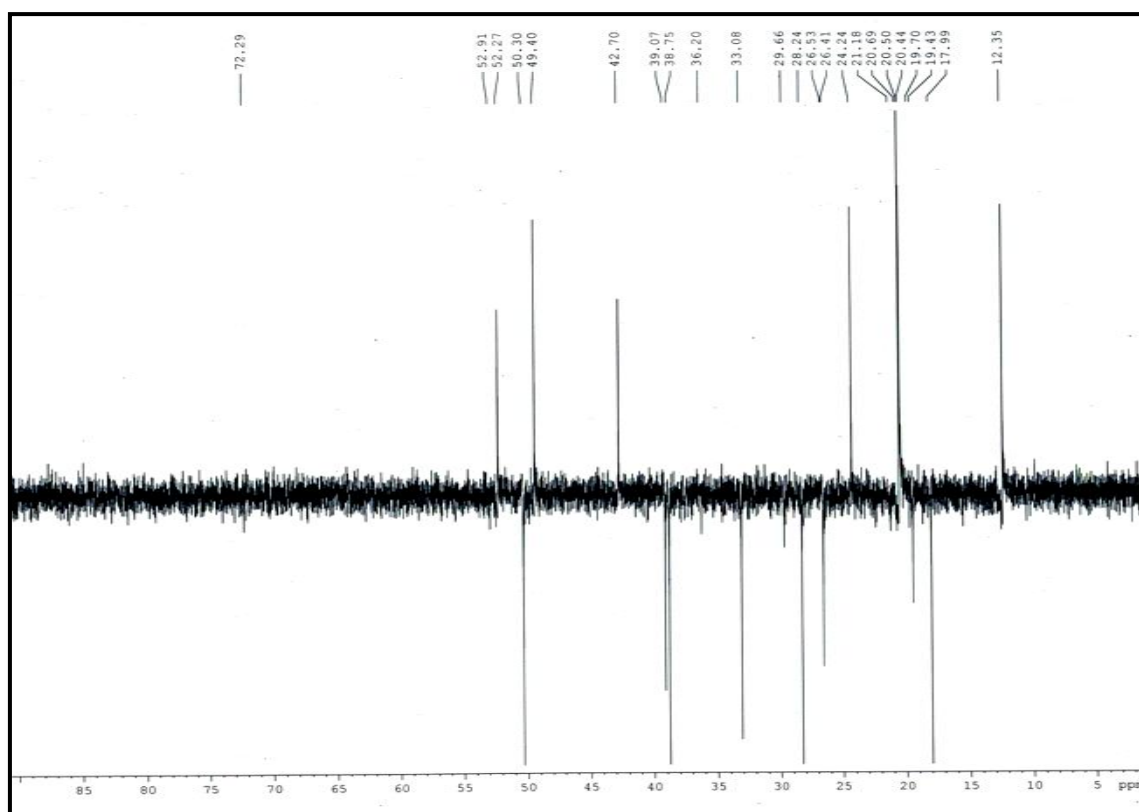


Figura 57 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2

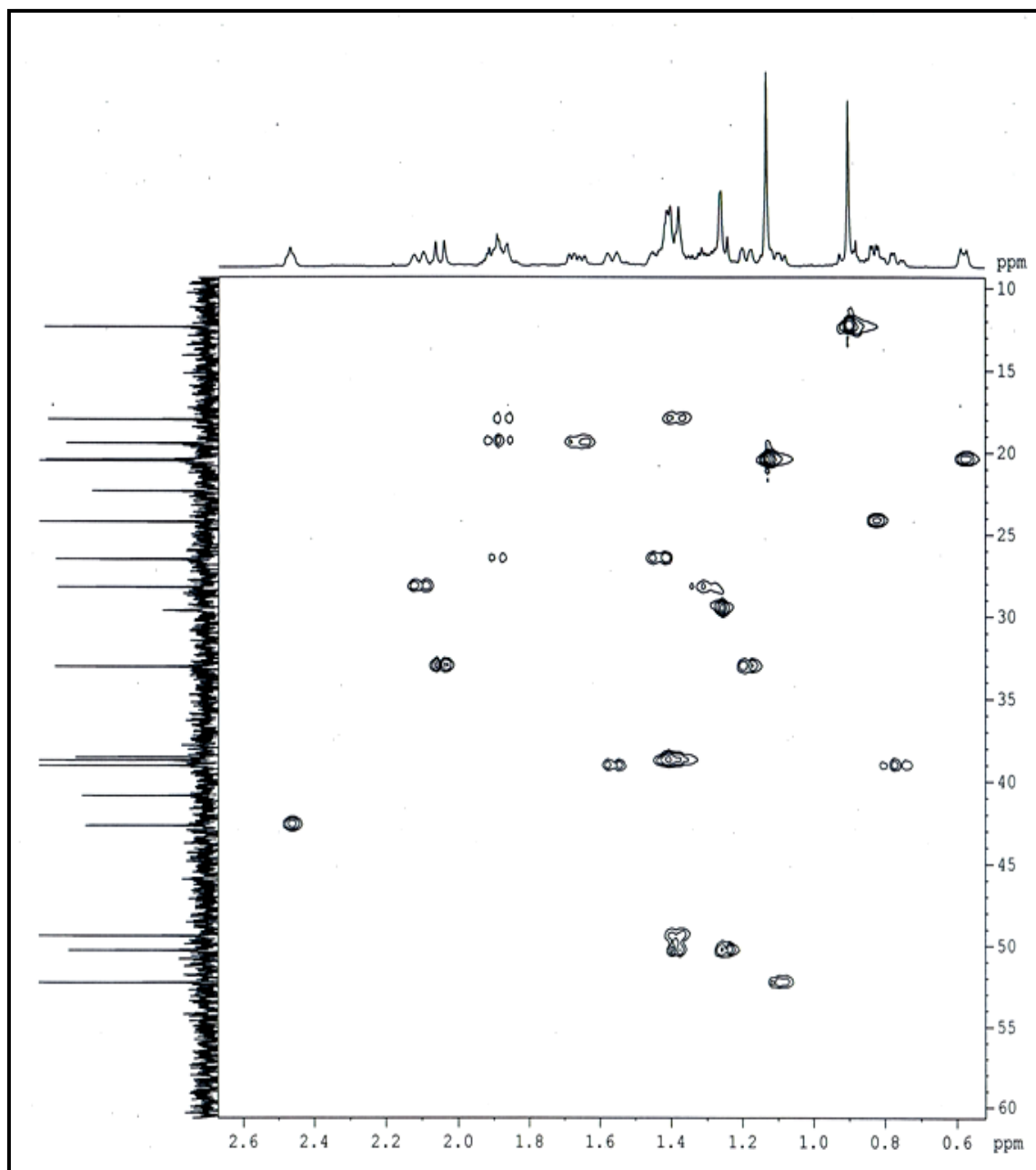


Figura 58 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2

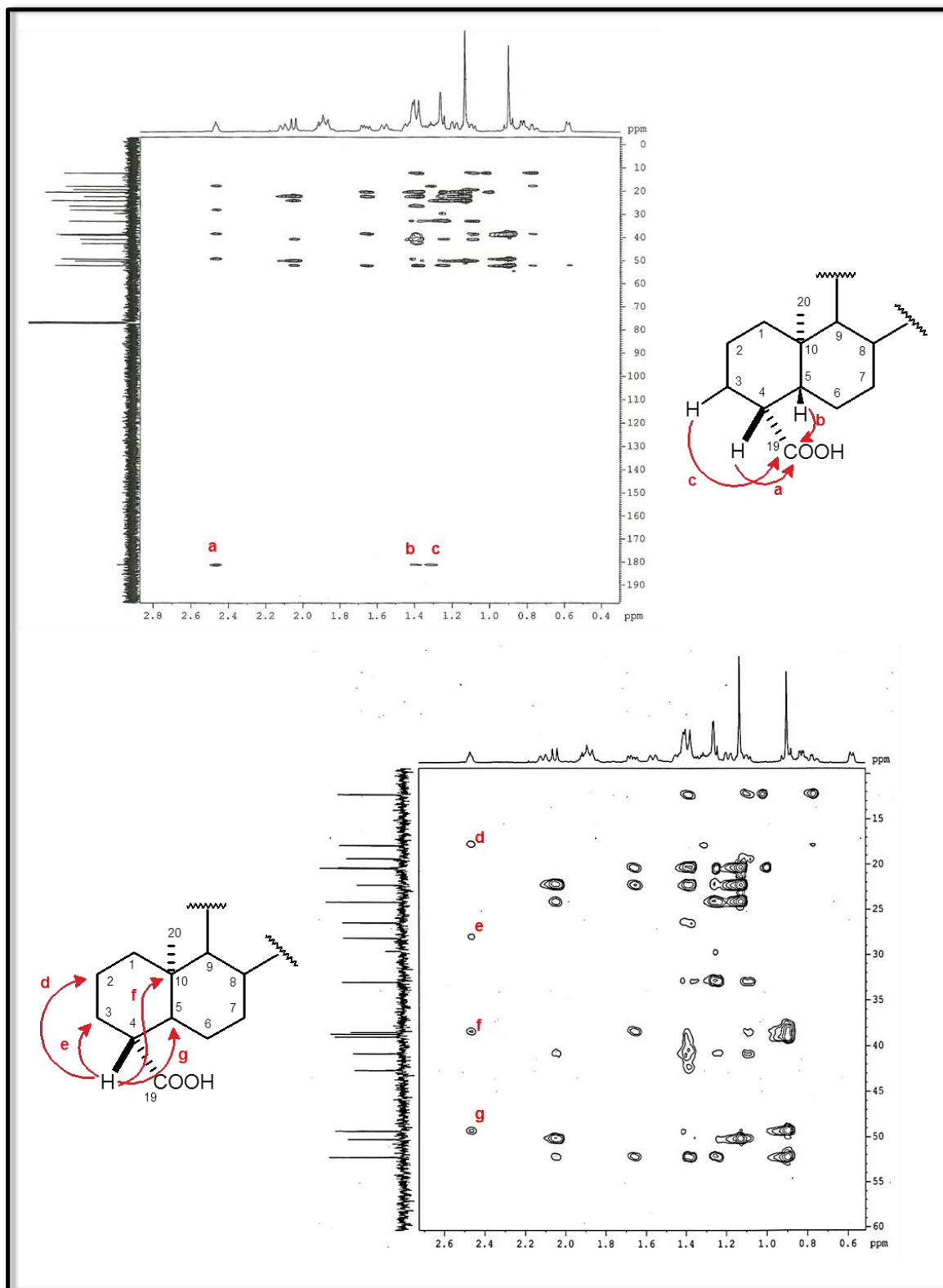


Figura 59 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-5D2

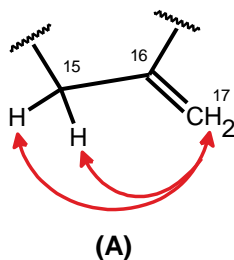
4.5 Determinação estrutural de CF-6

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração CFHCR-H, utilizando-se gel de sílica (63 - 200 μm), possibilitaram o isolamento um sólido cristalino incolor com p.f. 161,6 - 163,9 $^{\circ}\text{C}$ e $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -99^{\circ}$ (c 0,1; CHCl_3), o qual foi denominado CF-6 (item 5.5.2.8, p. 125).

O espectro de absorção na região do infravermelho de CF-6 (fig. 62, p. 85) apresentou absorções em 1691 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$), 1260 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}-\text{O}}$) e banda compreendida entre 3100 e 2800 cm^{-1} ($\nu_{\text{O}-\text{H}}$ e $\nu_{\text{Csp}^3-\text{H}}$) referentes a presença de ácido carboxílico; além da banda fraca em 3071 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^2-\text{H}}$) e da banda em 1464 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$), que evidenciaram a presença de uma dupla ligação.

O espectro de RMN ^{13}C - CPD de CF-6 (fig. 66, p. 88) apresentou 20 linhas espectrais, destacando-se os sinais na região de carbonos olefínicos em δ_{C} 103,2 e 156,0 e o sinal referente a um carbono carbonílico em δ_{C} 184,9. Comparando-se os espectros de RMN ^{13}C - CPD e DEPT 135 $^{\circ}$ (fig. 67, p. 88), pôde-se deduzir a presença de dois carbonos metílicos, dez carbonos metilênicos, três carbonos metínicos e cinco carbonos não-hidrogenados (tabela 16, p. 80).

No espectro de RMN ^1H de CF-6 (fig. 64, p. 86) foi possível observar sinais referentes a dois grupos metilas em δ_{H} 0,95 (3H-20, s) e 1,24 (3H-18, s). Esse espectro ainda revelou sinais em δ_{H} 4,80 (1H-17, sl) e 4,74 (1H-17, sl), que foram atribuídos a dois hidrogênios olefínicos, que mostraram acoplamento alílico com os hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,06 (2H-15) no espectro COSY (fig. 65, p. 87), conforme subestrutura A.



O espectro de massa (IE) (fig. 63, p. 85) de CF-6 apresentou o pico do íon molecular em m/z 302, o que possibilitou propor a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$. Através do

índice de deficiência de hidrogênio igual a seis, pôde-se sugerir que CF-6 tratava-se de um diterpeno de esqueleto caureno pertencente à série *enantio*, de acordo com a natureza levorrotatória do composto, $[\alpha]_D^{20} = -99^\circ (c 0,1; \text{CHCl}_3)$ (fig. 60, p. 80).

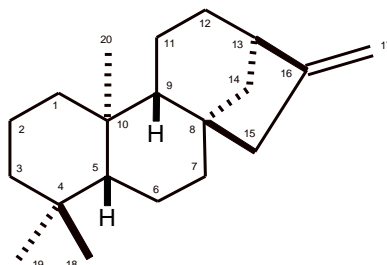


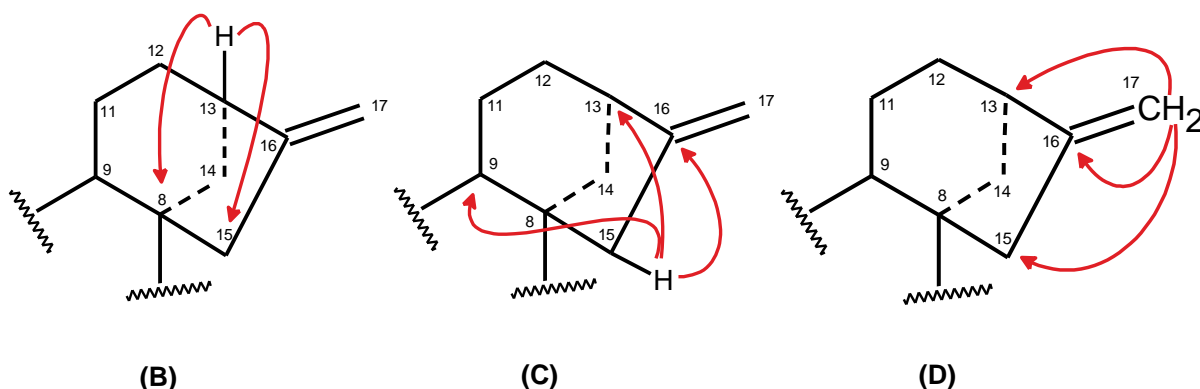
Figura 60 – Esqueleto básico de um diterpeno do tipo *ent*-caureno.

Tabela 16 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-6.

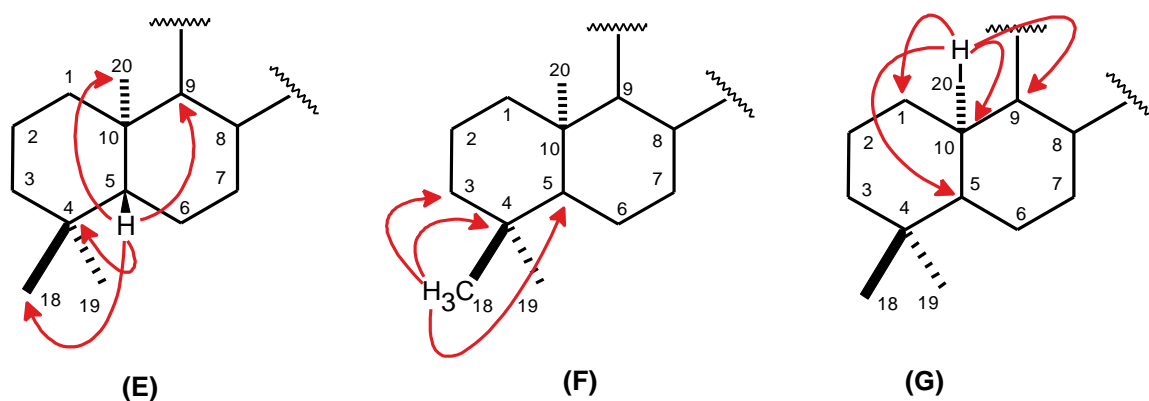
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|------|--------------------|-------------------|
| | | 18,6 | |
| | | 19,3 | |
| | | 22,0 | |
| 39,8 | | 33,3 | |
| 43,9 | 44,0 | 37,9 | 15,8 |
| 44,4 | 55,3 | 39,9 | 29,1 |
| 156,0 | 57,2 | 40,9 | |
| 184,9 (COOH) | | 41,5 | |
| | | 49,1 | |
| | | 103,2 | |
| 5 C | 3 CH | 10 CH ₂ | 2 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₀ O ₂ | | | |

Através do espectro bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação ^1H , ^{13}C - HSQC (fig. 68, p. 89), pôde-se correlacionar inequivocamente os deslocamentos químicos dos hidrogênios (δ_{H}) e dos seus respectivos carbonos (δ_{C}) conforme (tabela 17, p. 84). A análise desse espectro mostrou o acoplamento dos hidrogênios em δ_{H} 4,80 e 4,74 (2H-17) com o sinal em δ_{C} 103,2 (CH₂-17), confirmando a presença da dupla ligação exocíclica.

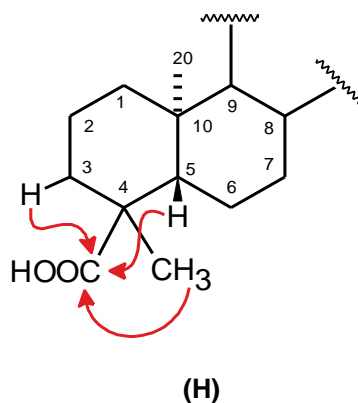
No espectro bidimensional de correlação heteronuclear a mais de uma ligação ^1H , ^{13}C - HMBC (fig. 69, p. 90) foi possível observar as correlações do hidrogênio metínico em δ_{H} 2,64 (H-13) com os carbonos em δ_{C} 49,1 (CH-15, $^3J_{\text{CH}}$) e 44,4 (C-8, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura B), dos hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,06 (2H-15) com os carbonos δ_{C} 44,0 (CH-13, $^3J_{\text{CH}}$), 55,3 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$) e 156,0 (C-16, $^2J_{\text{CH}}$) (subestrutura C), bem como o acoplamento dos hidrogênios vinílicos em δ_{H} 4,80 e 4,74 (2H-17) com os carbonos em δ_{C} 156,0 (C-16, $^2J_{\text{CH}}$), 44,0 (CH-13, $^3J_{\text{CH}}$) e 49,1 (C-15, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura D).



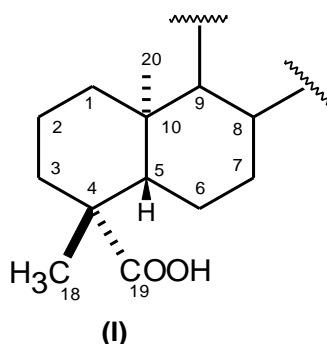
Ainda no espectro de HMBC foram observadas correlações entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,95 (3H-20) com os sinais em δ_{C} 39,8 (C-10, $^2J_{\text{CH}}$), 40,9 (CH₂-1, $^3J_{\text{CH}}$), 55,3 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$) e 57,2 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura E); bem como as correlações do hidrogênio metínico em δ_{H} 1,00 (H-5) com os sinais de carbono em δ_{C} 15,8 (CH₃-20, $^3J_{\text{CH}}$), 29,1 (CH₃-18, $^3J_{\text{CH}}$), 43,9 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$) e 55,3 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura F). Em adição, o acoplamento dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,24 (3H-18) com os sinais em δ_{C} 37,9 (CH₂-3, $^3J_{\text{CH}}$), 43,9 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$) e 57,2 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura G) permitiram sugerir a presença de um sistema do tipo decalina para a estrutura de CF-6.



Os acoplamentos dos hidrogênios em δ_{H} 1,24 (3H-18), 1,09 (H-5) e 1,00 (H-3b) com o carbono carbonílico em δ_{H} 184,9, indicaram que o grupo carboxila encontra-se ligado à C-4 (subestrutura H).



De acordo com dados de RMN ^{13}C da literatura acerca de derivados do ácido caurenóico, pôde-se observar que, quando o grupo carboxila se encontra na posição axial (C-19) e o grupamento metila na posição equatorial (C-18), os valores de deslocamentos químicos para o grupamento metila se apresentam em torno de δ 29,0. Por outro lado, quando o grupo carboxila está na posição equatorial (C-18) e o grupamento metila na axial (C-19), este passa a absorver em aproximadamente δ 18,0 (ATTA-UR-RAHMAN e AHMAD, 1992). Desta forma, o valor de deslocamento químico da metila em δ 29,9 observado no espectro de RMN ^{13}C de CF-6 foi condizente com a estereoquímica do grupo carboxila na posição axial (subestrutura I).



A análise dos dados, aliada a comparação com dados da literatura (MONTE *et al.*, 1988), permitiu identificar CF-6 como sendo o ácido *ent*-caur-16-en-19-óico (fig. 61, p. 83), um diterpeno *ent*-caureno já isolado a partir de *Croton argyrophylloides* (MONTE *et al.*,

1988), que apresenta um amplo espectro de bioatividades como anti-inflamatória, antifúngica, antiulcerogênica, moluscida, entre outras (GHISALBERT *et al.*, 1997).

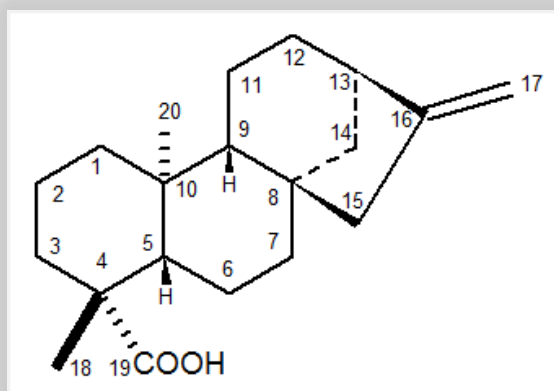


Figura 61 – Estrutura de CF-6 - ácidoent-caur-16-en-19-óico

Tabela 17 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-6; e comparação com dados de RMN ^{13}C da literatura para o ácido *ent-caur-16-en-19-óico* (MONTE *et al.*, 1988)

| C | HSQC | | HMBC | | MONTE <i>et al.</i> , 1988 (CDCl ₃ , 125 MHz) |
|----|--------------------------------|--|-------------------|-----------------------------|--|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ | |
| 1 | 40,9 | a - 1,89 (m, 1H); b - 0,81 (m, 1H) | – | 3H-20; H-9, H-5 | 39,9 |
| 2 | 19,3 | 1,44 (m, 2H) | H-3b; H-1a | – | 18,0 |
| 3 | 37,9 | a - 2,16 (d, $J = 13,7$ Hz, 1H); b - 1,00 (m, 1H) | – | 3H-18; H-1a | 37,0 |
| 4 | 43,9 | – | 3H-18; H-5 | 2H-6 | 47,6 |
| 5 | 57,2 | 1,09 (m, 1H) | 2H-6; | 3H-20; 3H-18; 2H-7; H-3a | 50,0 |
| 6 | 22,0 | 1,81 (m, 2H) | H-5; H-7b | – | 23,3 |
| 7 | 41,5 | a - 1,51 (sl, 1H); b - 1,46 (m, 1H) | – | H-5 | 40,7 |
| 8 | 44,4 | – | – | H-13; 2H-7; 2H-6 | 44,4 |
| 9 | 55,3 | 1,06 (m, 1H) | – | 3H-20; 2H-15; H-1b | 56,2 |
| 10 | 39,8 | – | 3H-20 | – | 39,8 |
| 11 | 18,6 | 1,60 (m, 2H) | H-12a; H-9 | – | 18,0 |
| 12 | 33,3 | a - 1,60 (m, 1H); b - 1,42 (m, 1H) | – | H-9 | 33,3 |
| 13 | 44,0 | 2,64 (sl, 1H) | – | 2H-17; 2H-15; 2H-11 | 44,0 |
| 14 | 39,9 | a - 1,99 (m, 1H); b - 1,13 (m, 1H) | – | 2H-12 | 39,5 |
| 15 | 49,1 | 2,06 (m, 2H) | – | H-13; H-14a; H-9 | 49,1 |
| 16 | 156,0 | – | 2H-17; 2H-15 | H-12a | 155,3 |
| 17 | 103,2 | a - 4,80 (sl, 1H); b - 4,74 (sl, 1H) | – | – | 103,2 |
| 18 | 29,1 | 1,24 (s, 3H) | – | H-3; H-5 | 29,2 |
| 19 | 184,9 | – | – | 3H-18; H-5; H-3 | 185,0 |
| 20 | 15,8 | 0,95 (s, 3H) | – | H-1; H-9 | 16,1 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

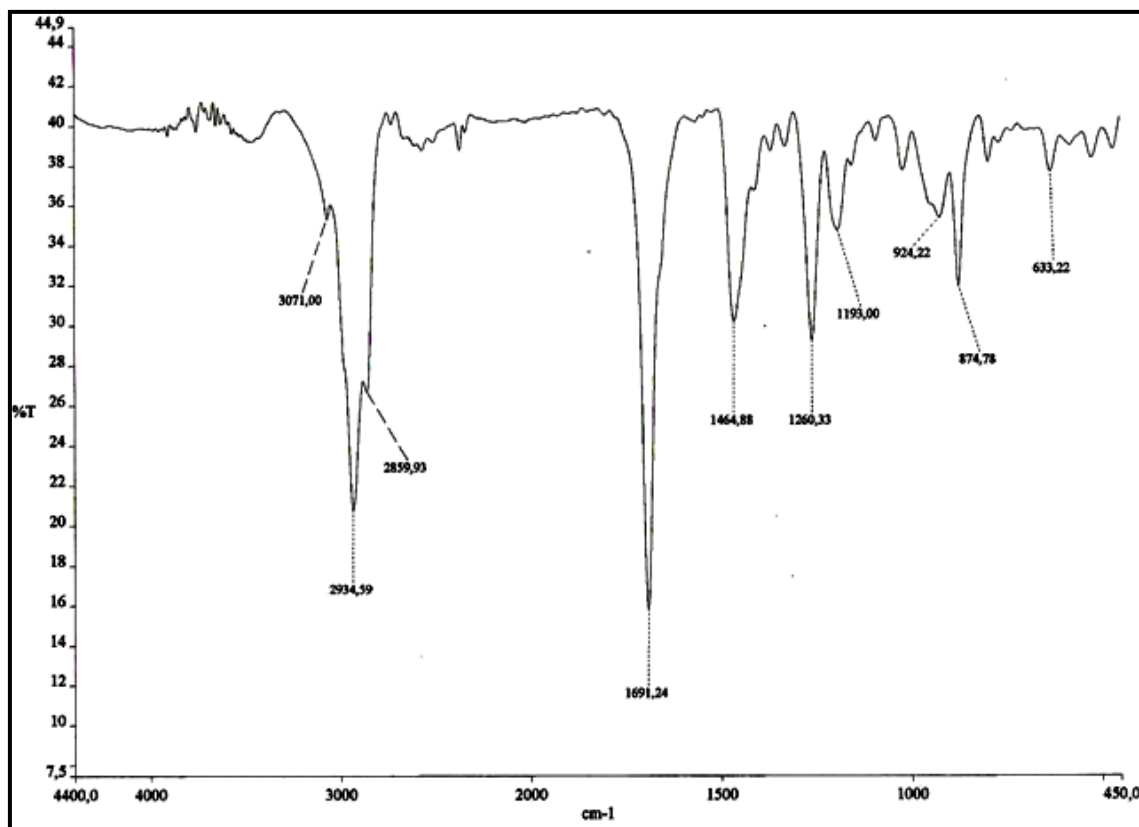


Figura 62 – Espectro na região do infravermelho (NaCl) de CF-6

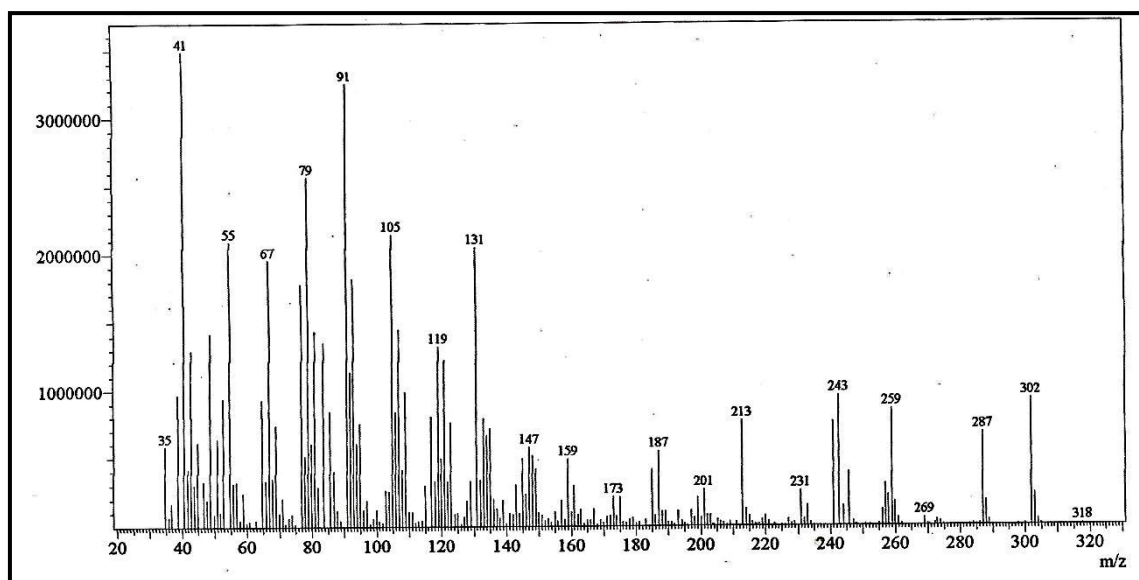


Figura 63 – Espectro de massa (EM – IE, 70 eV) de CF-6

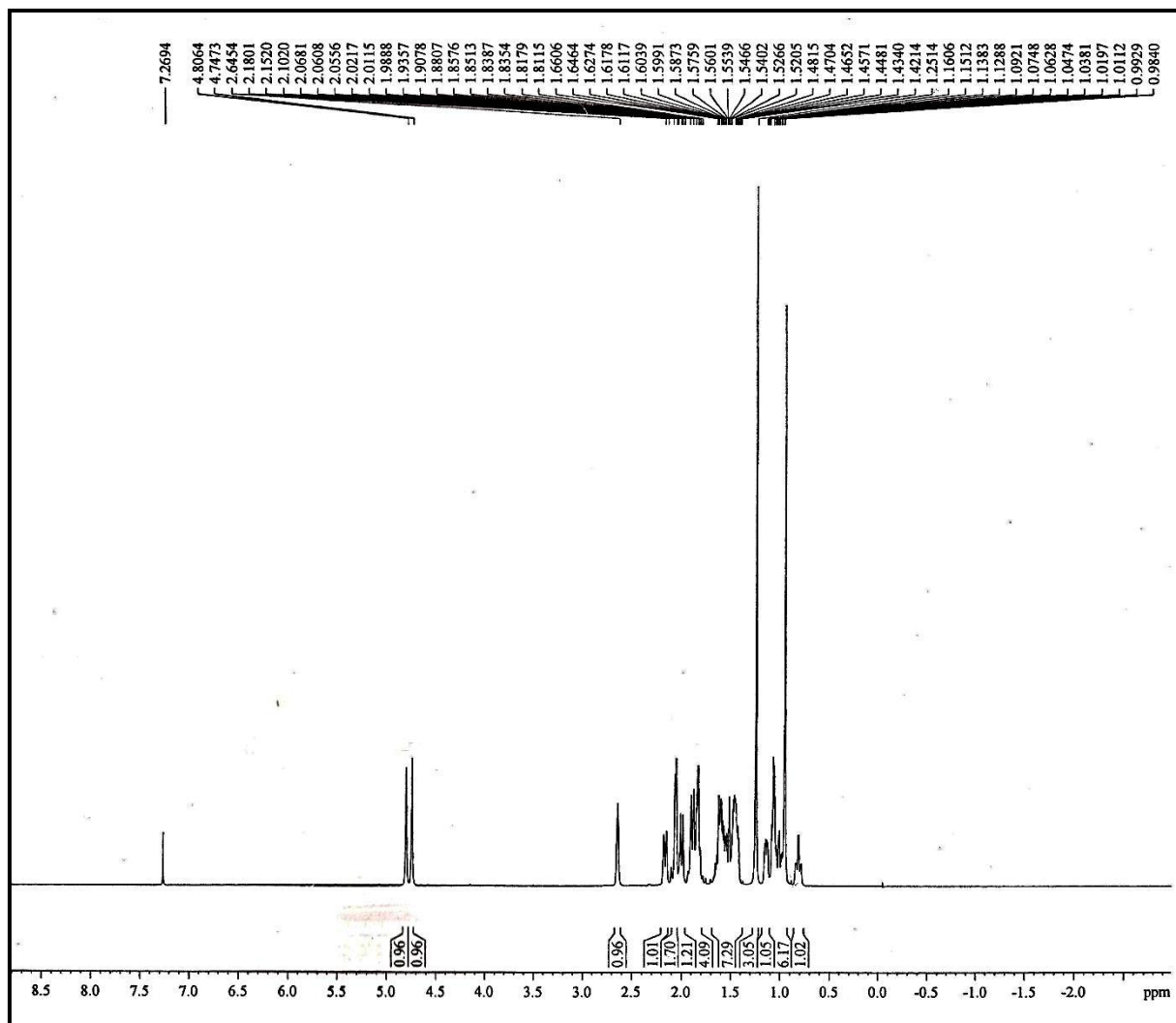


Figura 64 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de CF-6

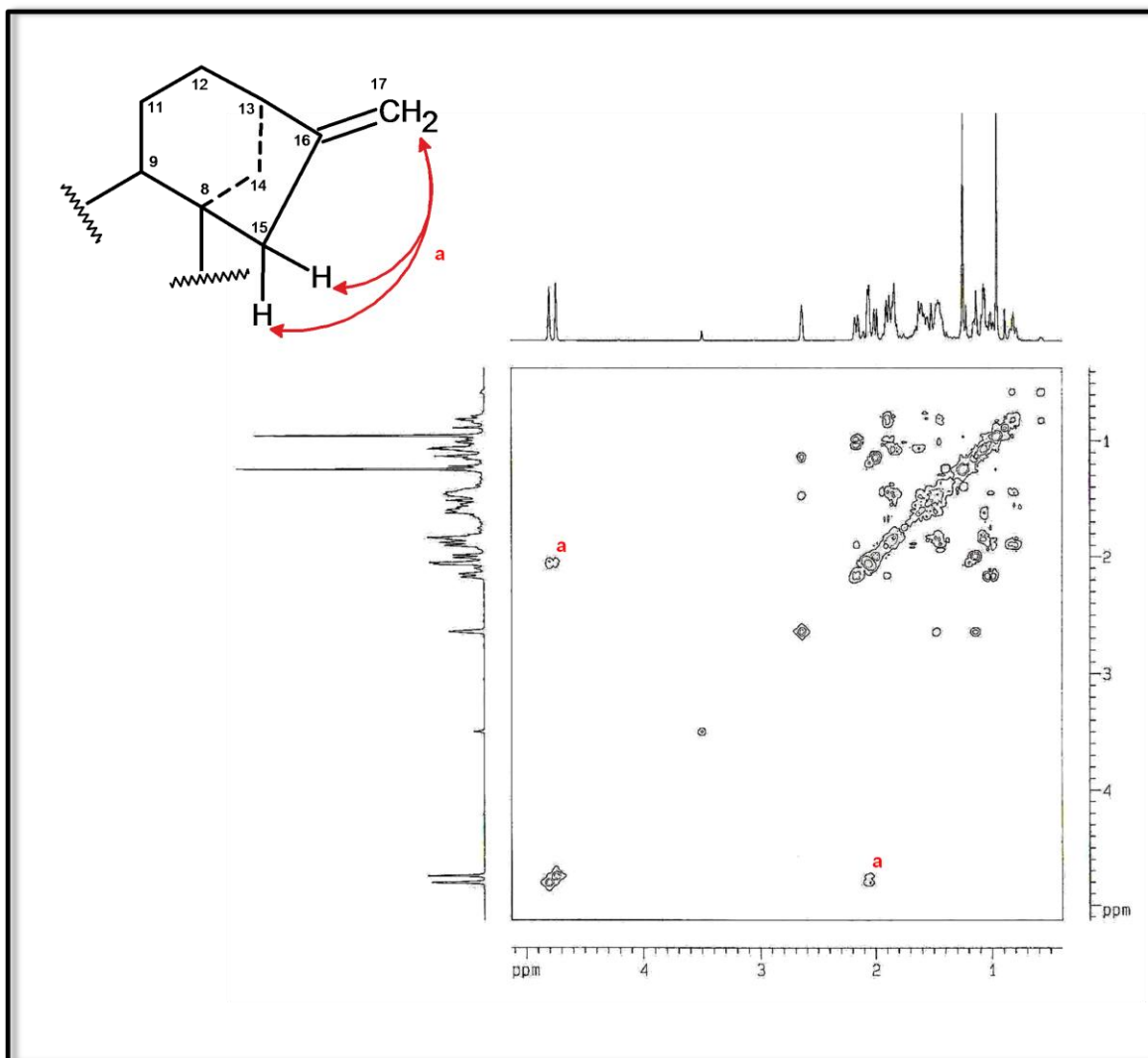


Figura 65 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500 MHz, CDCl_3) de CF-6

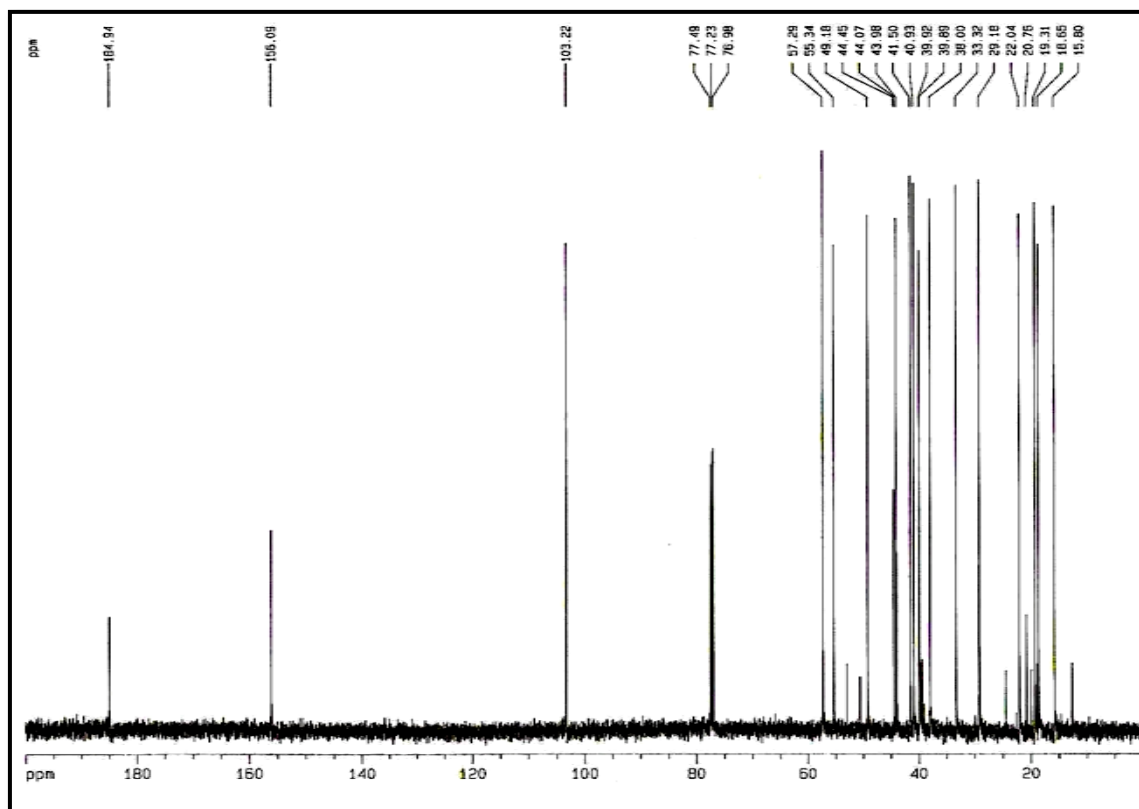


Figura 66 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-6

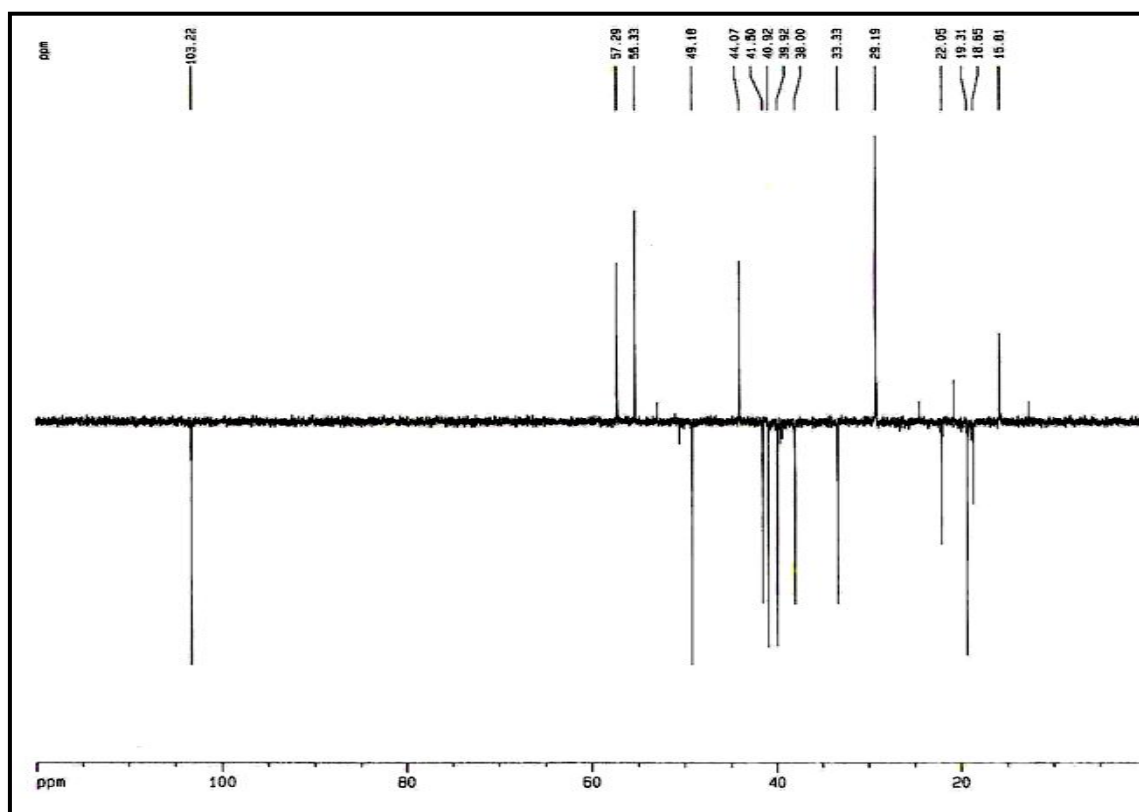


Figura 67 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-6

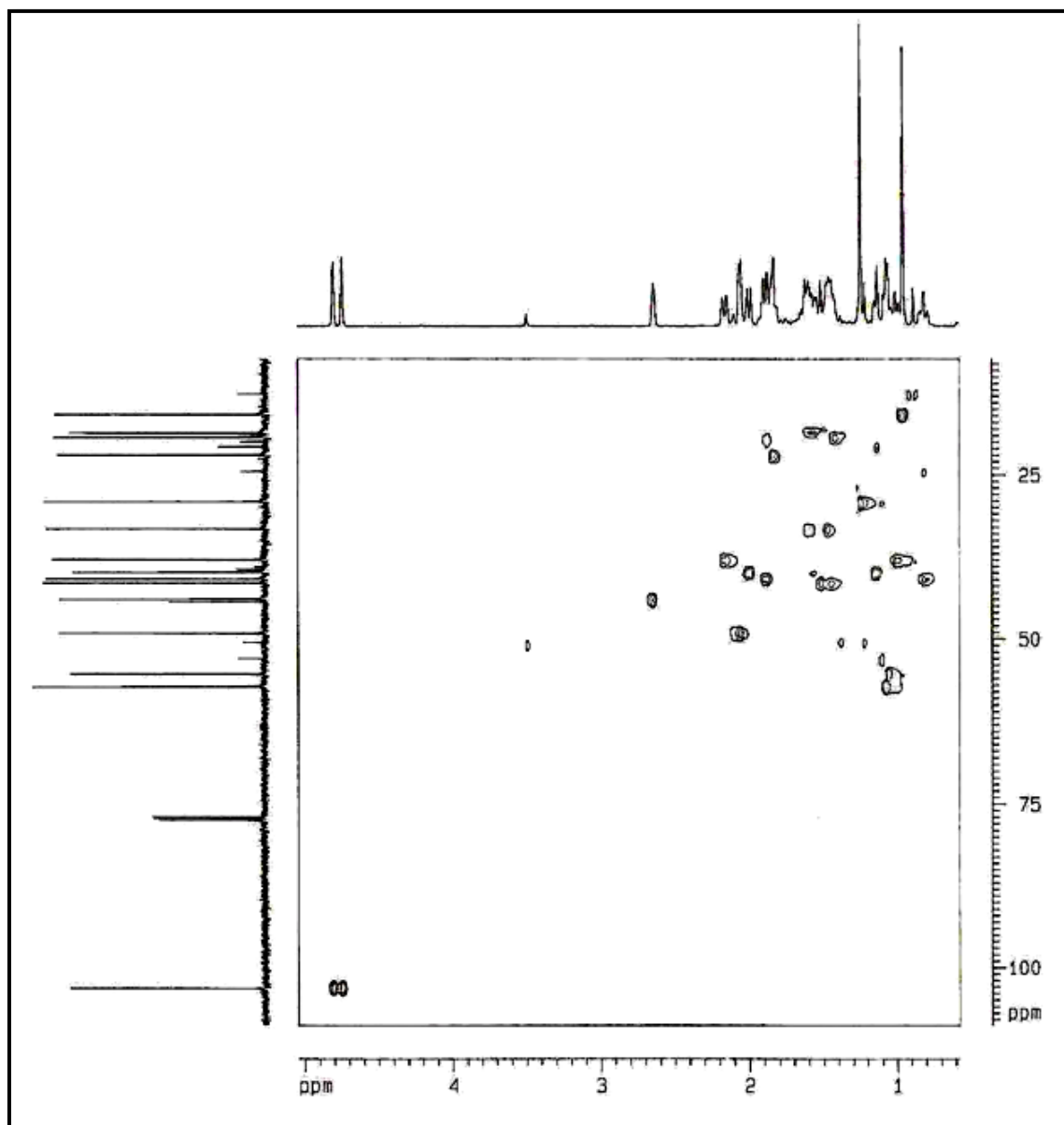


Figura 68 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-6

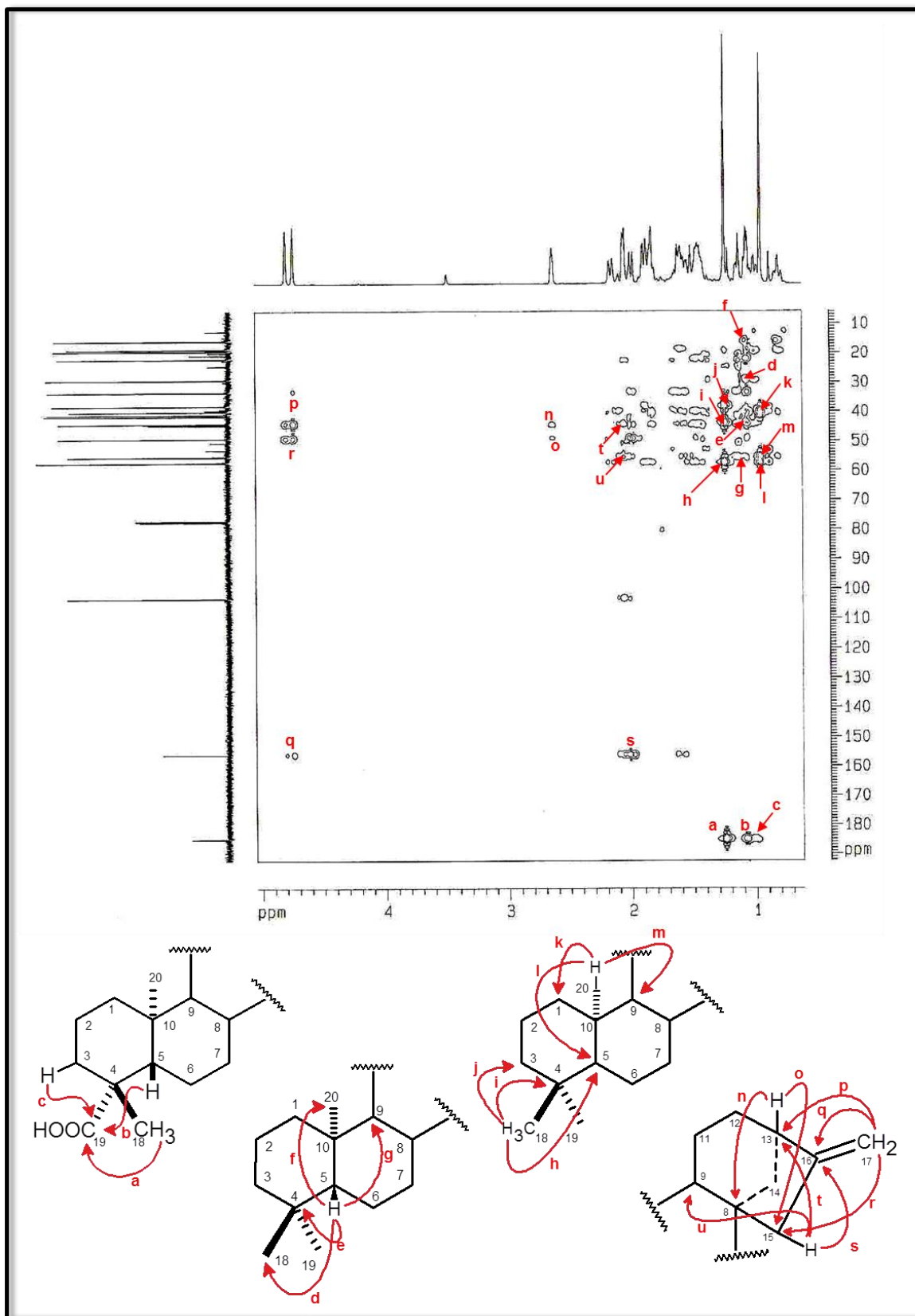


Figura 69 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-6

4.6 Determinação estrutural de CF-3

Sucessivos fracionamentos cromatográficos da fração CFHCR-A, utilizando gel de sílica flash, possibilitaram o isolamento de um sólido cristalino incolor com p.f. 90,3 - 92,1 °C e $[\alpha]_D^{25} = -71^\circ (c 0,1; \text{CHCl}_3)$, que foi denominado de CF-3. (item 5.5.2.4, p. 123)

O espectro de absorção na região do infravermelho de CF-3 (fig. 72, p. 97) apresentou bandas em 2923 e 2858 cm^{-1} características de deformações axiais de ligação C-H de grupos metílicos e metilênicos. Mostrou também uma absorção larga em 3230 cm^{-1} , referente à deformação axial O-H de grupo hidroxila, além de absorções em 1074 e 1041 cm^{-1} associadas a deformações axiais de ligação C-O, indicando o caráter oxigenado do composto. A absorção fraca em 1658 cm^{-1} , característica de deformação axial de ligação C=C e as absorções intensas em 1014 e 873, referentes a deformações angulares fora do plano de ligação =C-H, indicaram a presença de dupla ligação.

O espectro de RMN ^{13}C - CPD de CF-3 (fig. 79, p. 100) mostrou 20 linhas espectrais, sendo duas na região de carbonos olefínicos e as demais na região de carbono saturado. Comparação deste espectro com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (fig. 80, p. 100) permitiu identificar sinais correspondentes a dois carbonos metílicos, dez carbonos, metilênicos, quatro carbonos metínicos e quatro carbonos não-hidrogenados (tabela 18, p. 92). Os sinais em δ_{C} 68,4 e 66,5 foram associados a um carbono oximetilênico e oximetínico, respectivamente, enquanto que os sinais em δ_{C} 102,8 (CH_2) e δ_{C} 155,2 (C) foram atribuídos a uma dupla ligação exocíclica, corroborando com as informações obtidas no espectro de infravermelho.

A análise do espectro de RMN ^1H (fig. 75, p. 98) mostrou absorções simples e intensas em δ_{H} 1,43 (3H-20, s) e 1,05 (3H-18, s), relativas a hidrogênios de dois grupos metilas, e absorções centradas em δ_{H} 4,37 (1H-6, sl), δ_{H} 4,28 (1H-19, d, $J = 11,0$ Hz) e em δ_{H} 3,16 (1H-19, d, $J = 11,0$ Hz), que foram relacionadas a três hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos. De maneira análoga a CF-6, esse espectro ainda revelou sinais característicos de dois hidrogênios não-equivalentes de um grupo metilênico terminal em δ_{H} 4,84 (1H-17, sl) e 4,78 (1H-17, sl), fornecendo um indicativo de que CF-3 também se tratava de um diterpeno de esqueleto caureno.

A partir dos dados obtidos pôde-se propor para CF-3 a fórmula molecular $C_{20}H_{32}O_2$, em acordo com o sinal do íon molecular no espectro de massa em m/z 304 (fig. 74, p. 97).

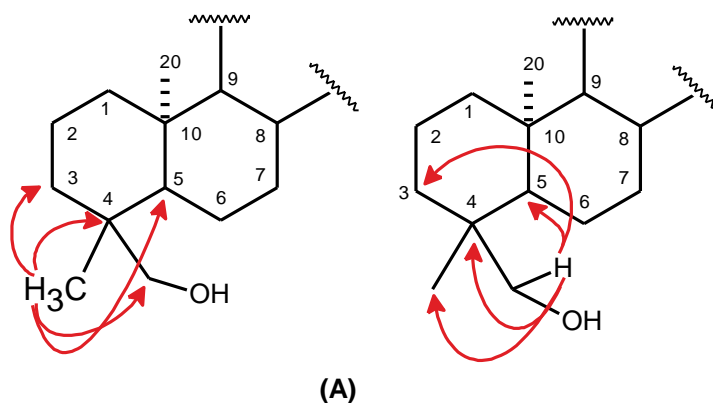
Tabela 18 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-3

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|---------------------------------------|--------------|--------------------|-------------------|
| | | 18,3 | |
| | | 18,6 | |
| | | 33,1 | |
| 39,1 | 44,5 | 40,7 | |
| 39,2 | 56,4 | 41,0 | 18,5 |
| 42,1 | 57,1 | 43,0 | 27,9 |
| 155,2 | 66,5 (CO) | 47,1 | |
| | | 49,7 | |
| | | 68,4 (CO) | |
| | | 102,8 | |
| 4 C | 4 CH | 10 CH ₂ | 2 CH ₃ |
| Fórmula molecular – $C_{20}H_{32}O_2$ | | | |

A atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos hidrogênios (δ_H) e dos seus respectivos carbonos (δ_C), foi estabelecida através da análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação 1H , ^{13}C - HSQC (fig. 81, p. 101) conforme (tabela 19, p. 96). A análise desse espectro mostrou as correlações existentes entre os hidrogênios em δ_H 4,84 (H-17a) e 4,78 (H-17b) ao carbono metilênico terminal em δ_C 102,8 (CH₂-17); dos hidrogênios em δ_H 4,28 (H-19a) e 3,16 (H-19b) ao carbono carbinólico em δ_C 68,4 (CH₂-19); e do hidrogênio em δ_H 4,37 (H-6) ao carbono oximetínico em δ_C 66,5 (CH-6).

No espectro de HMBC (fig. 82, p. 102) foram observadas as correlações à longa distância dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,05 (3H-18) com o carbono oximetilênico em δ_C 68,4 (CH₂-19), e dos hidrogênios oximetilênicos em δ_H 4,28 e 3,16 (2H-19) com o carbono metílico em δ_C 27,9 (CH₃-18). Nesse espectro verificou-se ainda o acoplamento concomitante desses hidrogênios com os carbonos em δ_C 39,2 (C-4, $^2J_{CH}$), 57,1 (CH-5, $^3J_{CH}$) e 40,7 (CH₂-3,

$^3J_{CH}$) (subestrutura A), o que permitiu propor a presença de um substituinte metila e um oximetilênico geminais localizados em C-4.



O espectro bidimensional de correlação homonuclear 1H , 1H - NOESY (fig. 83, p. 103) revelou acoplamentos dipolares entre os hidrogênios hidroximetilênicos δ_H 4,28 e 3,16 (2H-19) e os hidrogênios metílicos em δ_H 1,43 (3H-20), e destes últimos com o hidrogênio em δ_H 2,39 (H-14a), indicando que estes se encontram do mesmo lado na molécula. Estes dados permitiram sugerir o posicionamento do grupo oximetilênico (CH_2 -19) na posição axial no sistema decalina (fig. 70, p. 93).

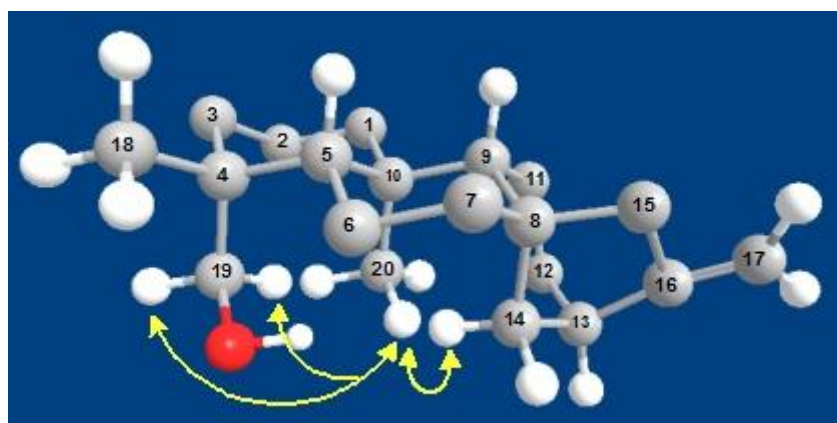
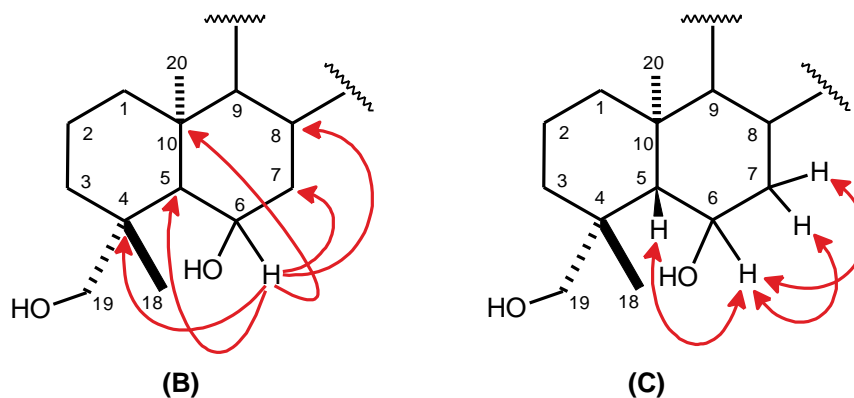


Figura 70 – Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-3

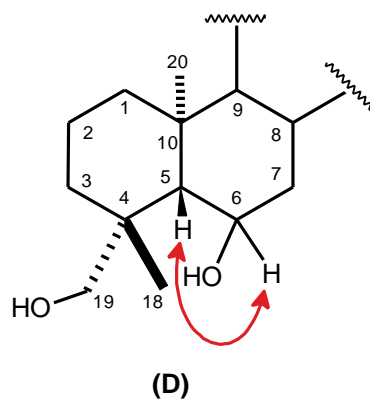
A posição do outro grupamento hidroxila em C-6 foi sugerida devido ao acoplamento do hidrogênio oximetínico em δ_H 4,37 (H-6) com os carbonos quaternários em δ_C 39,2 (C-4, $^3J_{CH}$), 39,1 (C-10, $^3J_{CH}$) e 42,1 (C-8, $^3J_{CH}$), com o carbono metínico em δ_C 57,1 (CH-5, $^2J_{CH}$) e com o carbono metilênico em δ_C 47,1 (CH_2 -7, $^2J_{CH}$) (subestrutura B). Através

da análise do espectro COSY (fig. 77, p. 99) também pôde-se visualizar as correlações entre esse mesmo hidrogênio (H-6) com os hidrogênios em δ_H 1,70 (2H-7) e em δ_H 1,04 (H-5) (subestrutura C).



Para determinação da configuração relativa do carbono C-6 foram realizados novos experimentos de RMN 1H (fig. 76, p. 98), COSY (fig. 78, p. 99) e NOESY (fig. 84, p. 103). Para tal foi utilizado benzeno como solvente, a fim de se obter melhor resolução dos espectros e conseqüente separação dos sinais referentes à H-5 e 3H-18, sobrepostos nos experimentos realizados inicialmente em clorofórmio.

No espectro de RMN 1H foi observado uma aparente separação dos sinais de H-5 (δ_H 0,71) e 3H-18 (δ_H 0,96), que foi confirmada pelo espectro COSY, onde foi possível observar o acoplamento escalar entre o sinal em δ_H 0,71 (H-5) e o hidrogênio hidroximetínico em δ_H 4,21 (H-6) (subestrutura D).



O espectro NOESY revelou o acoplamento dipolar entre o hidrogênio hidroximetínico em δ_H 4,21 (H-6) e o simpleto intenso em δ_H 0,96 (3H-18), o que possibilitou

sugerir que o grupamento hidroxila ligado a C-6 estaria α -orientado, conforme figura 71 (p. 95).

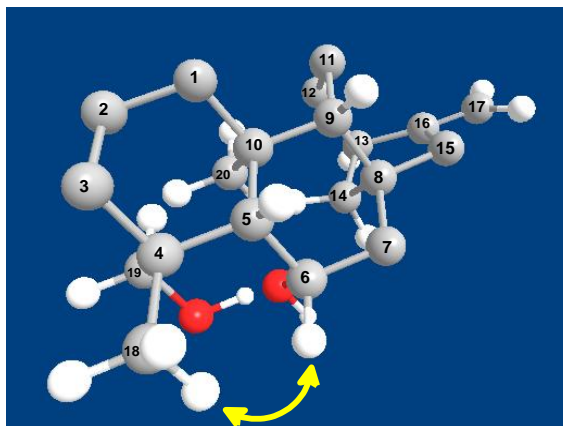


Figura 71 – Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-3

Diante de todos os dados espectroscópicos discutidos, foi possível estabelecer que CF-3 trata-se do diterpeno de esqueleto *ent*-caureno, denominado *ent*-caur-16-en-6 α ,19-diol (lit. p.f. 174-175,5 °C) (CROSS, GALT e HANSON, 1963) (fig. 72, p. 95), relatado na literatura como derivado reacional da 7-hidroxi-caurenolida, sendo portanto inédito como produto natural. Vale ressaltar ainda que os dados de RMN ^1H e ^{13}C desse metabólito secundário estão sendo relatados pela primeira vez na literatura.

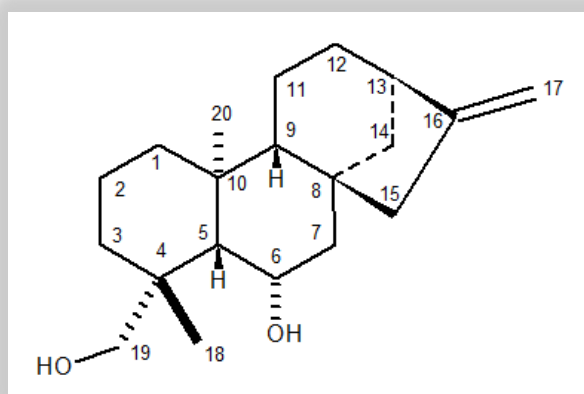


Figura 72 – Estrutura de CF-3 - *ent*-caur-16-en-6 α ,19-diol

Tabela 19 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-3

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|--------------------------------|---|-----------------------|-----------------------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 43,0 | a - 1,85 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H); b - 0,85 (m, 1H) | – | H-3b; 3H-20 |
| 2 | 18,3 | a - 1,78 (m, 1H); b - 1,58 (m, 1H) | 2H-1; H-3b | – |
| 3 | 40,7 | a - 1,52 (m, 1H); b - 1,21 (m, 1H) | – | 3H-18; 2H-19 |
| 4 | 39,2 | – | 3H-18; 2H-19 | H-6 |
| 5 | 57,1 | 1,04 (m, 1H) | H-6 | 3H-18; 2H-19; 3H-20 |
| 6 | 66,5 | 4,37 (sl, 1H) | H-5 | – |
| 7 | 47,1 | 1,78 - 1,69 (m, 2H) | H-6 | – |
| 8 | 42,1 | – | H-14a; 2H-15 | H-6; H-13 |
| 9 | 56,4 | 1,19 (m, 1H) | – | H-1b; H-5; H-14a; 2H-15; 3H-20 |
| 10 | 39,1 | – | 2H-1; H-9; 3H-20 | H-6 |
| 11 | 18,6 | a - 1,78 (m, 1H); b - 1,58 (m, 1H) | – | – |
| 12 | 33,1 | a - 1,75 (m, 1H); b - 1,55 (m, 1H) | – | H-14a |
| 13 | 44,5 | 2,68 (s, 1H) | H-14a | H-17a |
| 14 | 41,0 | a - 2,39 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H); b - 1,28 (m, 1H) | – | – |
| 15 | 49,7 | 2,12 (m, 2H) | – | H-13; H-14a; H-17b |
| 16 | 155,2 | – | H-13; 2H-15; H-17a | H-14a |
| 17 | 102,2 | a - 4,84 (sl, 1H); b - 4,78 (sl, 1H) | – | H 13; 2H-15 |
| 18 | 27,9 | 1,05 (s, 3H) | – | H-3b; H-5; 2H-19 |
| 19 | 68,4 | a - 4,28 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H); b - 3,16 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H) | – | 3H-18 |
| 20 | 18,5 | 1,43 (s, 3H) | – | H-5; H-9 |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

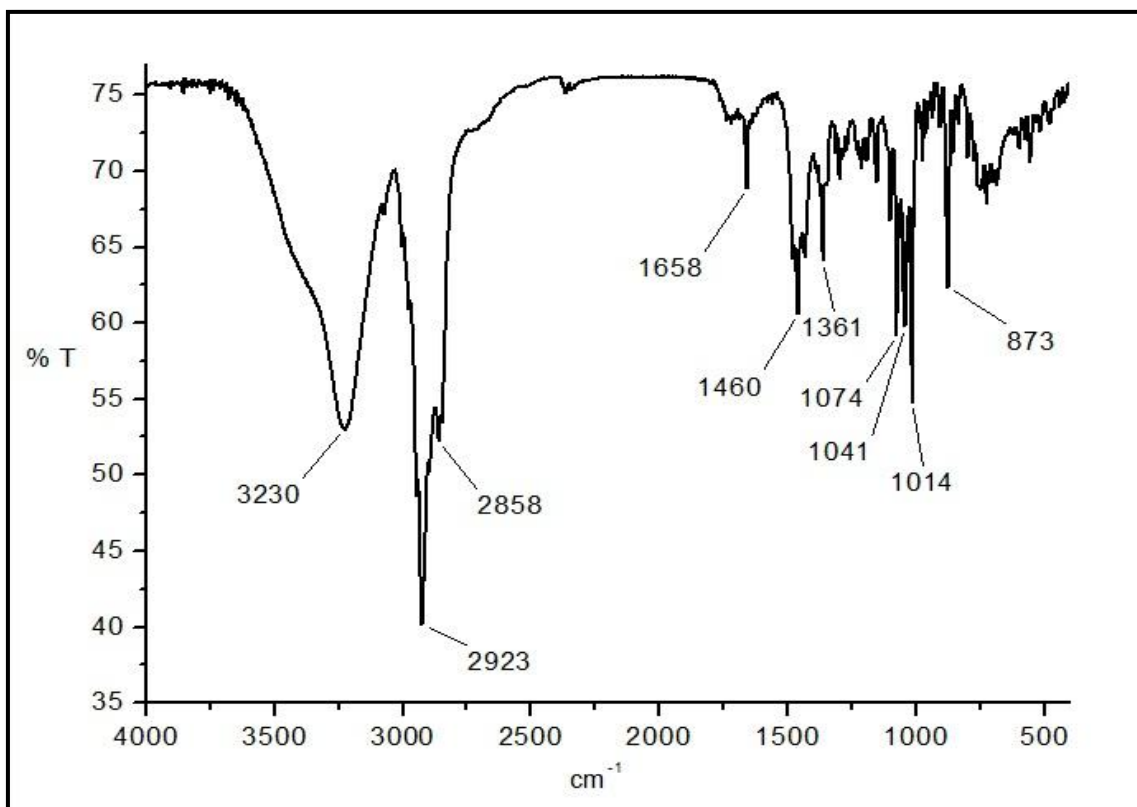


Figura 73 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-3

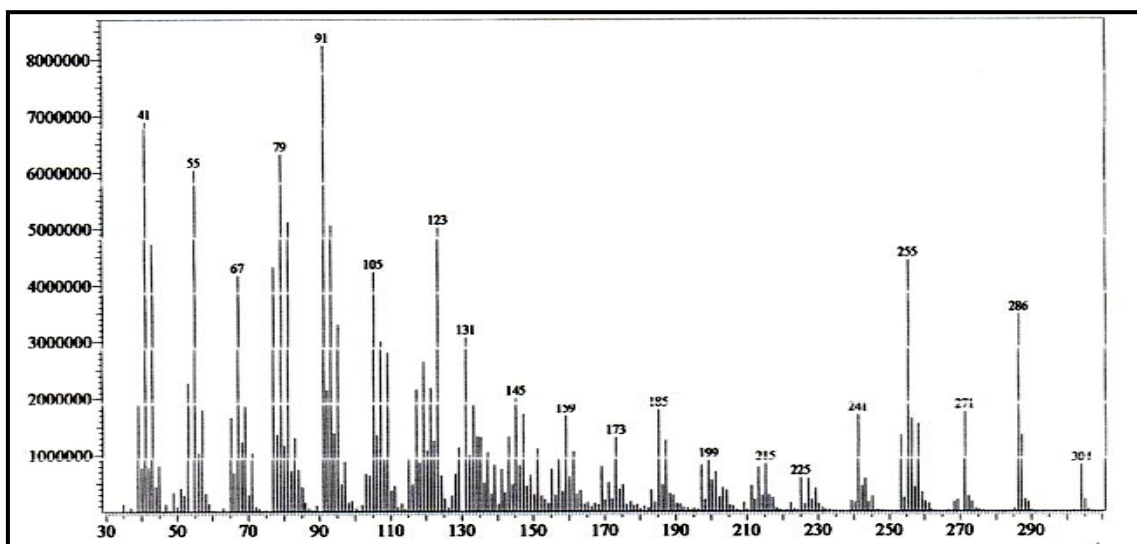


Figura 74 – Espectro de massa (EM-IE, 70 eV) de CF-3

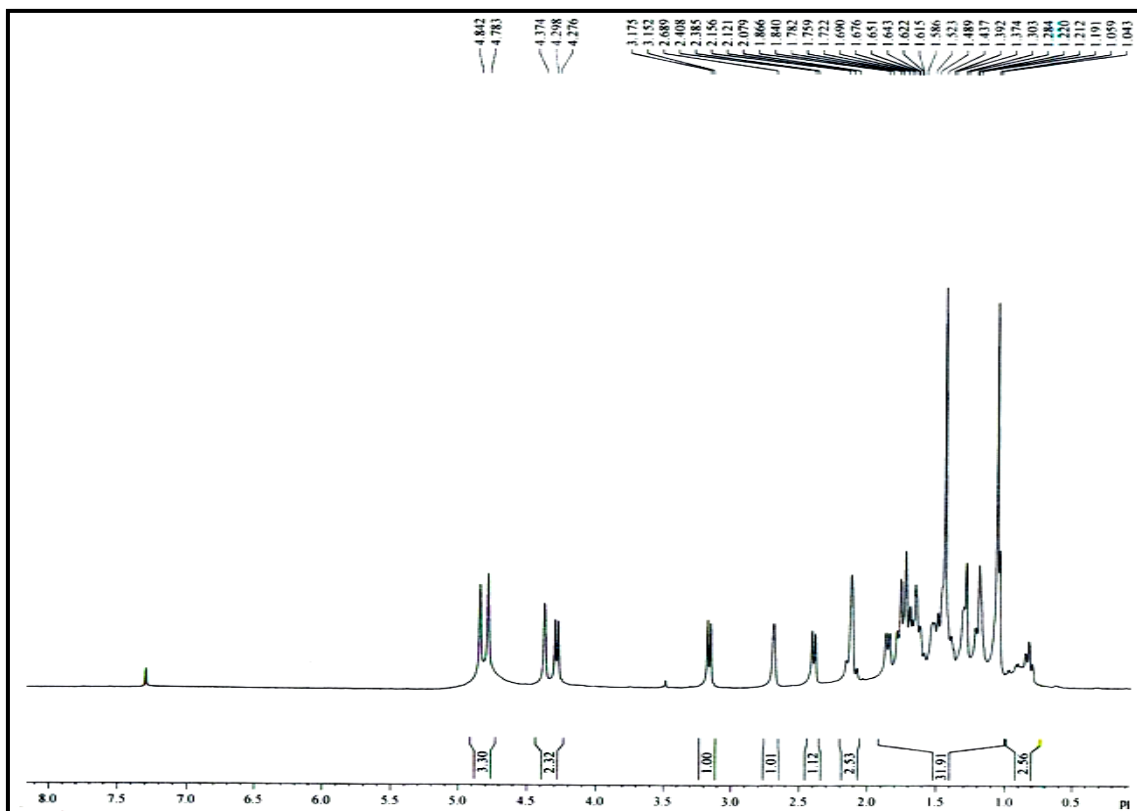


Figura 75 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CF-3

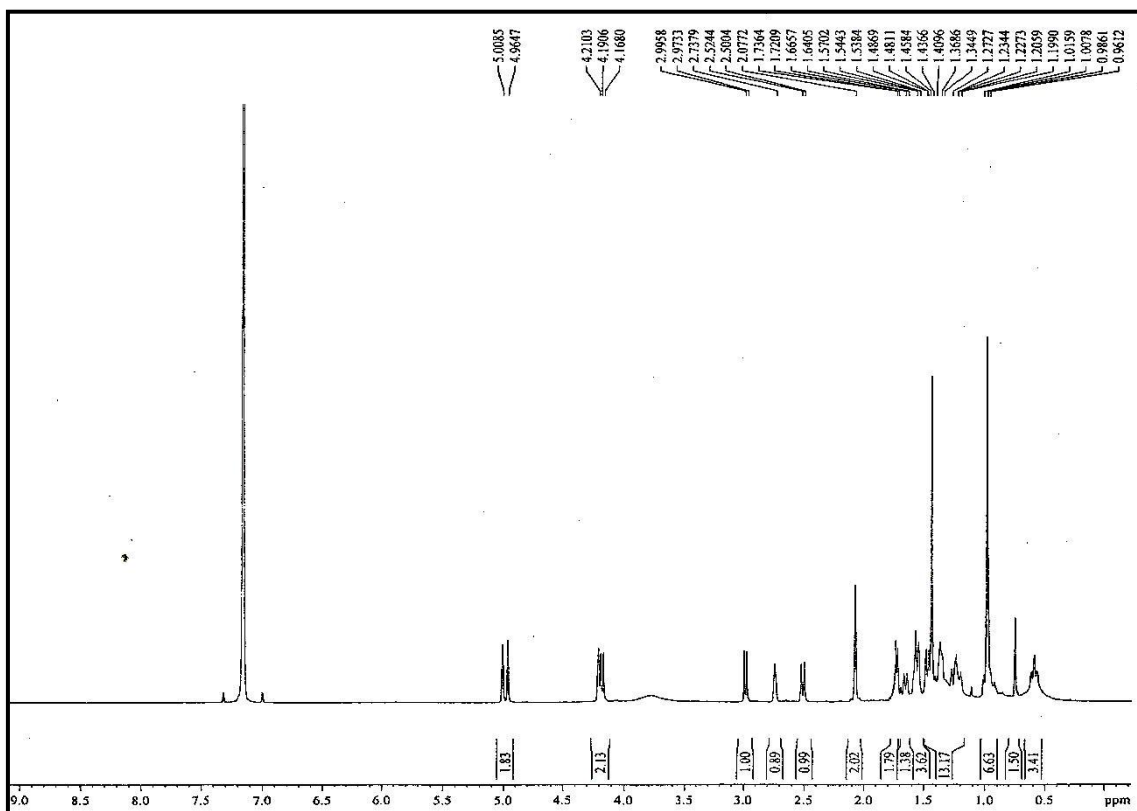


Figura 76 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, C_6D_6) de CF-3

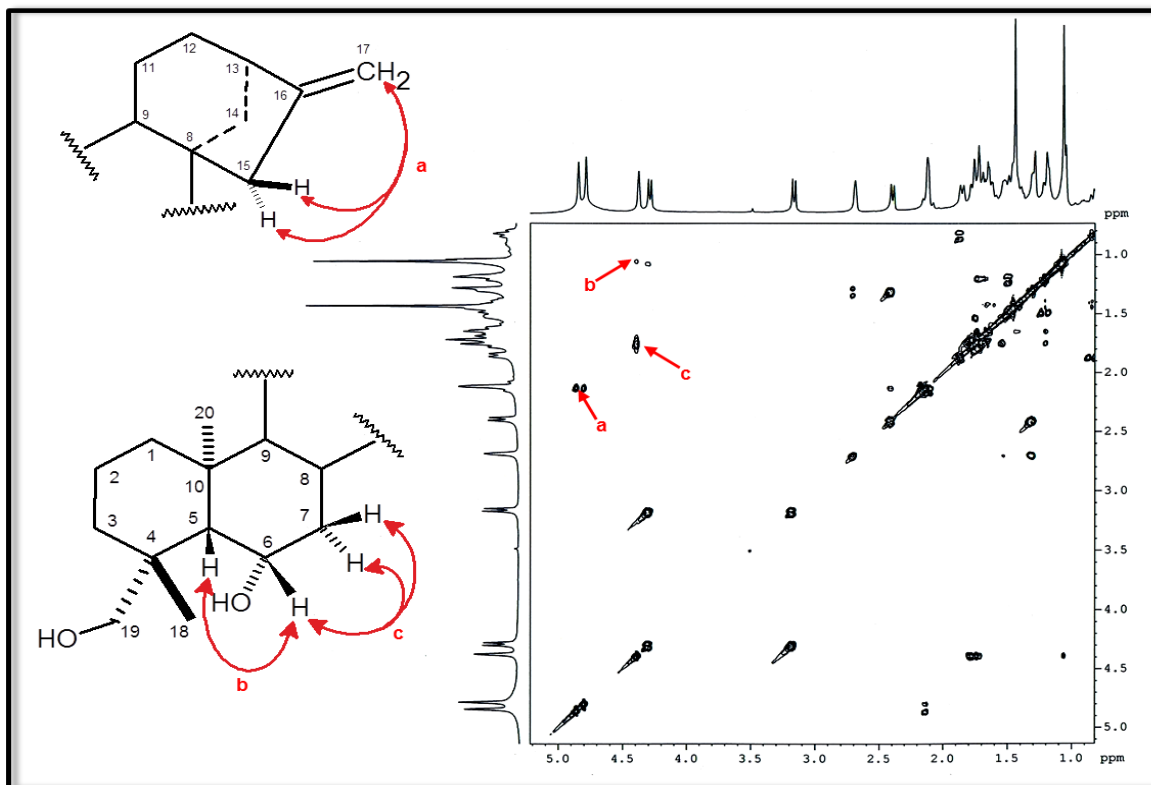


Figura 77 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500MHz, CDCl_3) de CF-3

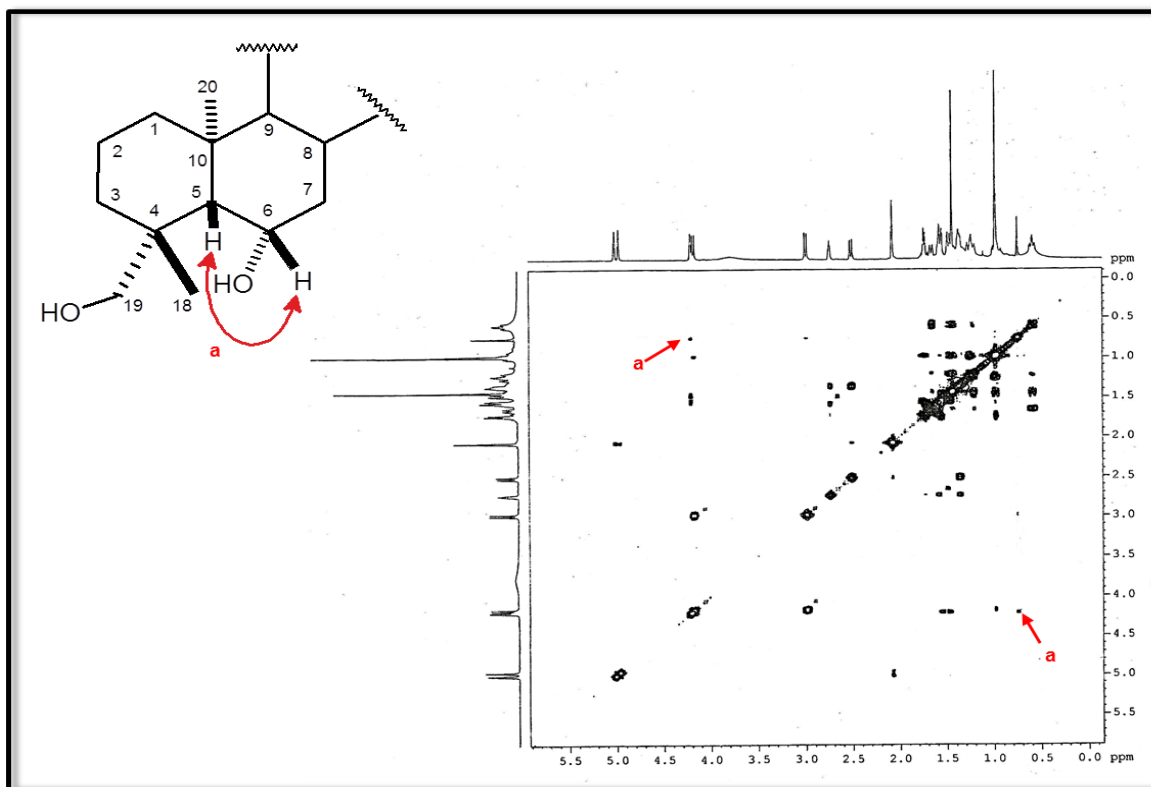


Figura 78 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - COSY (500MHz, C_6D_6) de CF-3

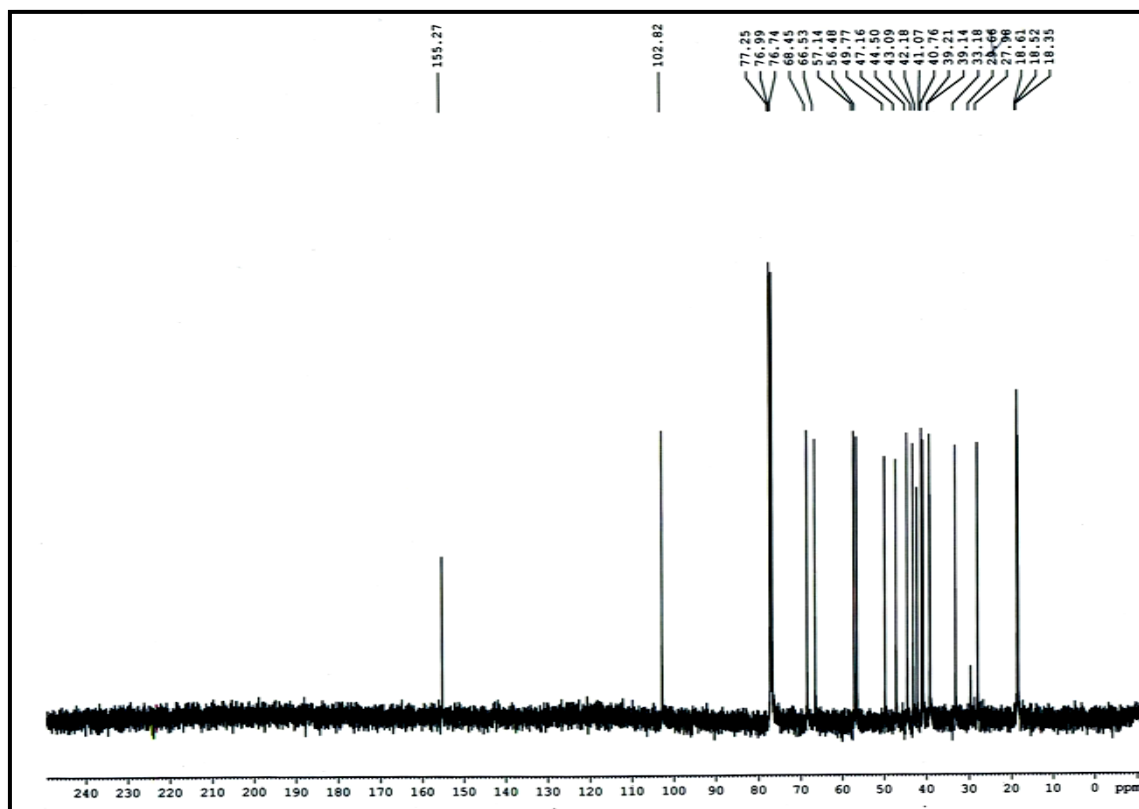


Figura 79 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CDCl_3) de CF-3

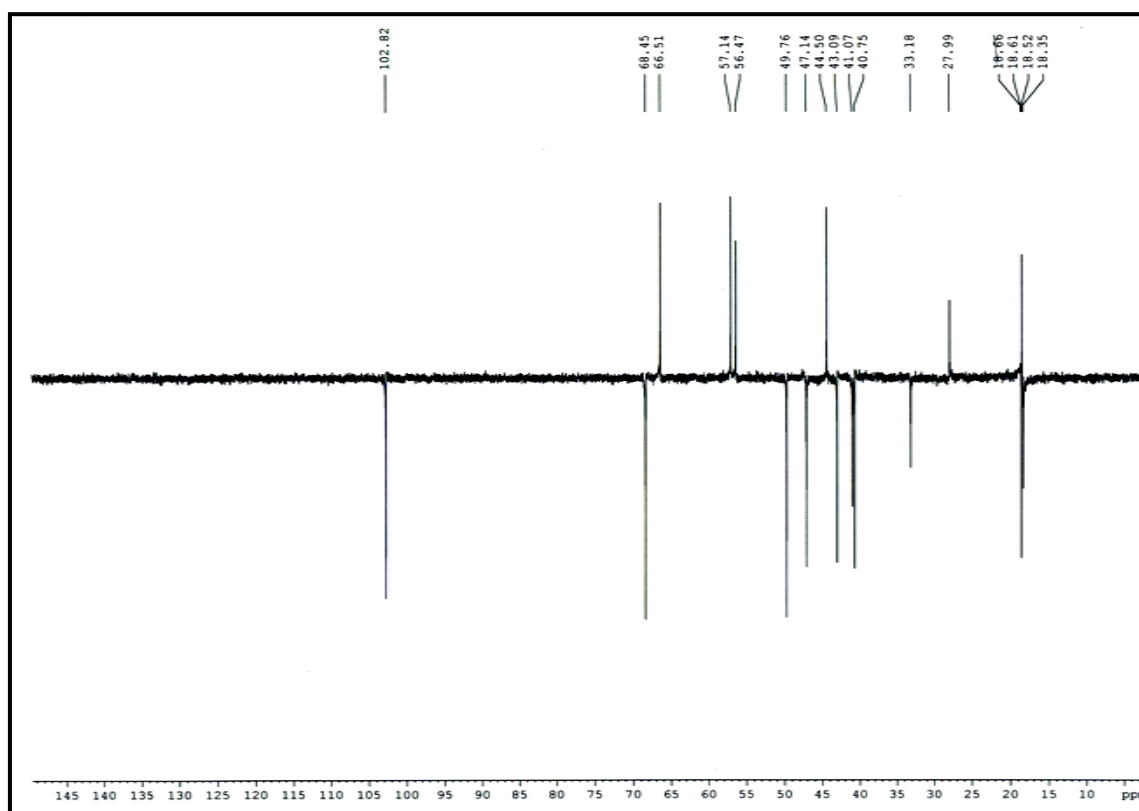


Figura 80 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CF-3

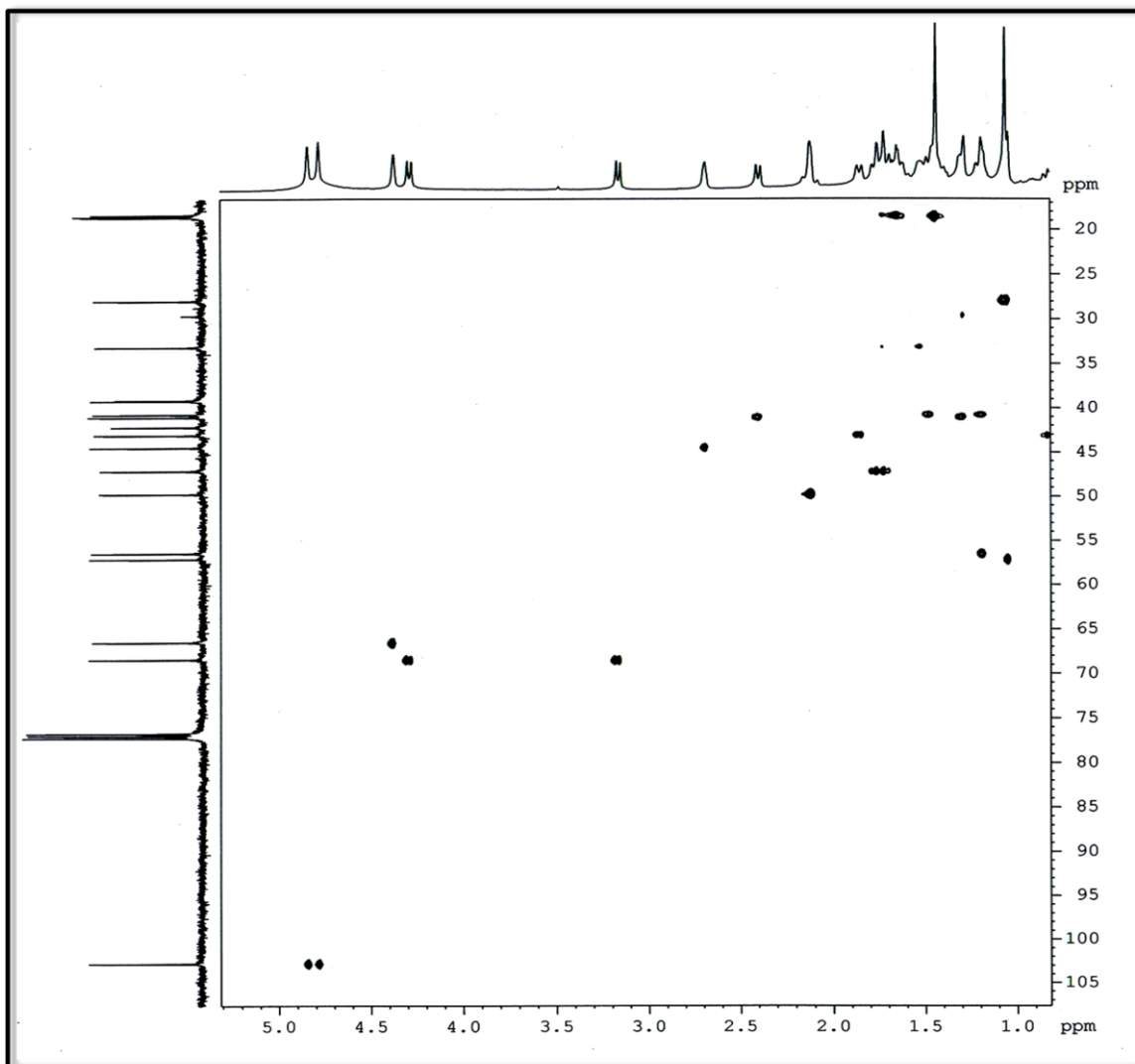


Figura 81 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-3

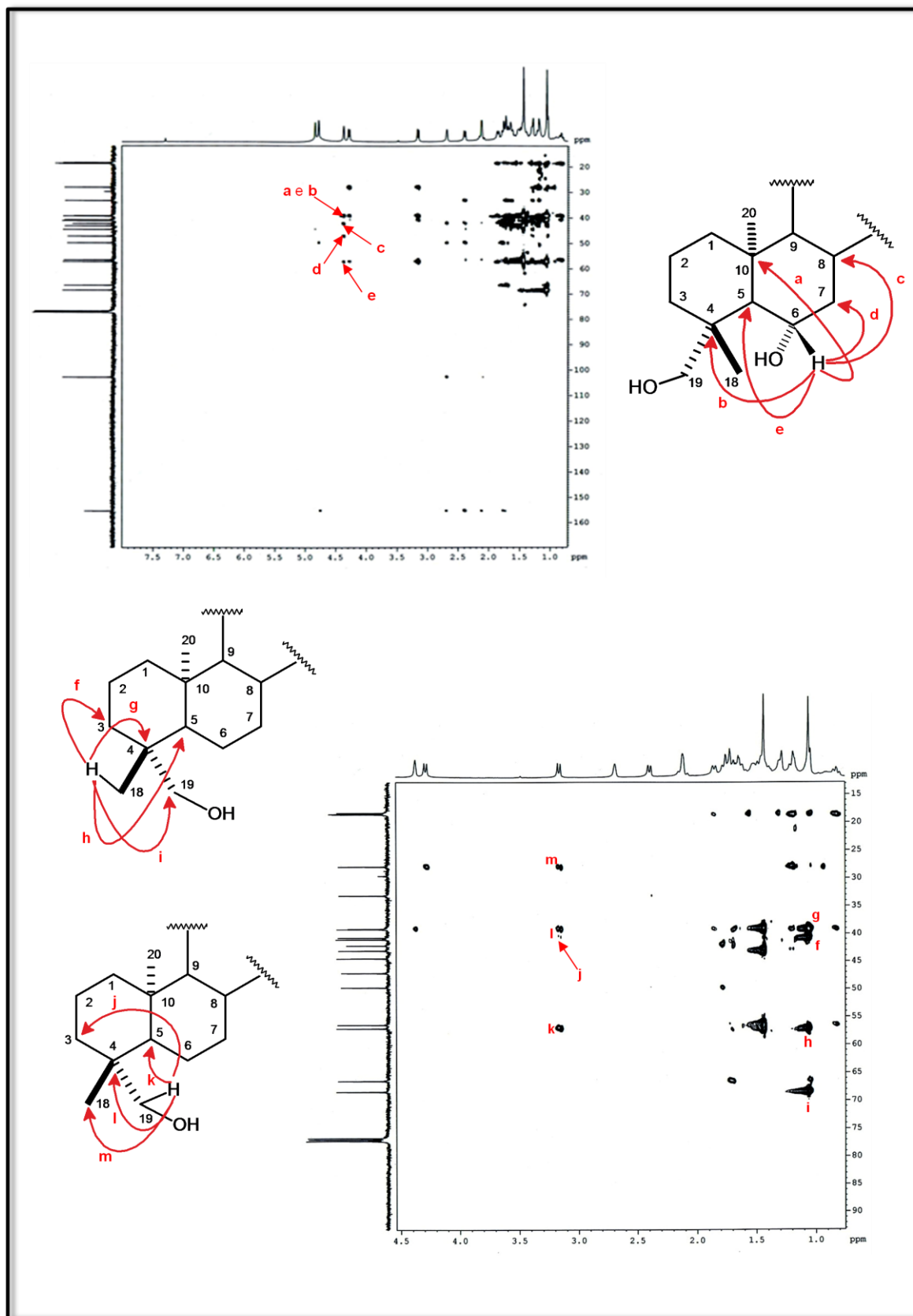


Figura 82 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CDCl_3) de CF-3

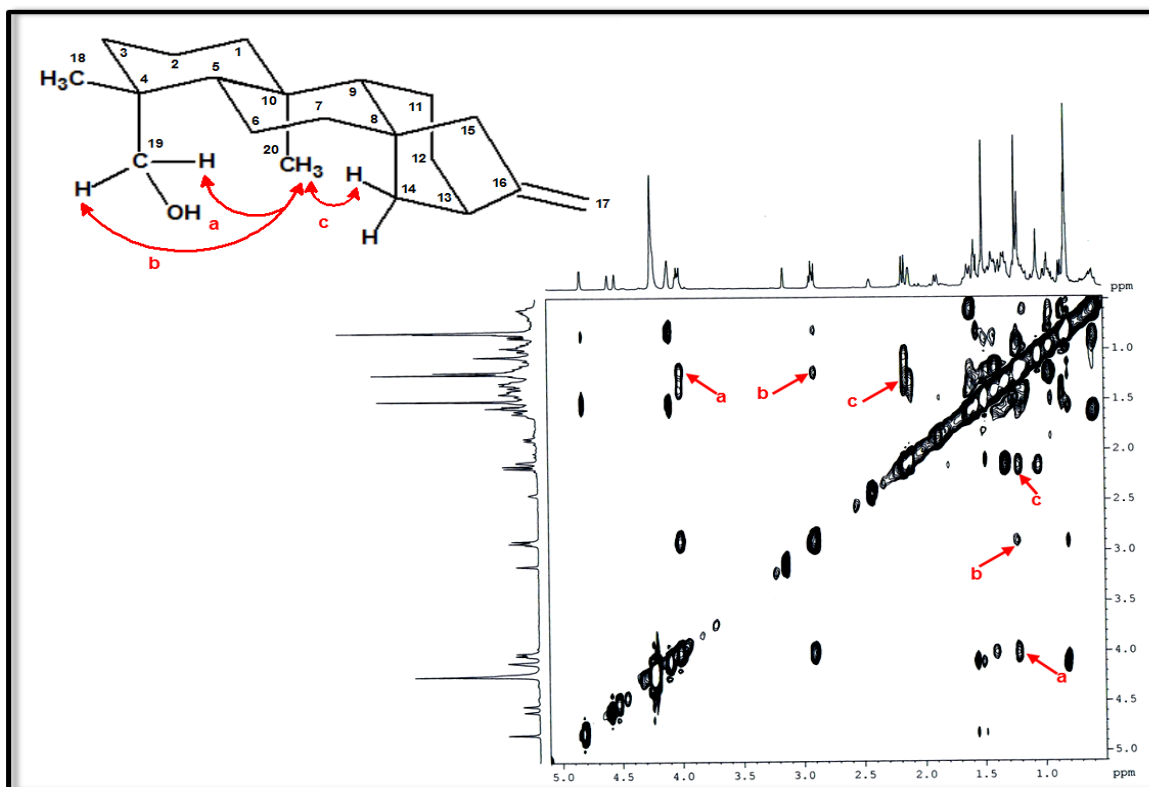


Figura 83 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - NOESY (500 MHz, CDCl_3) de CF-3

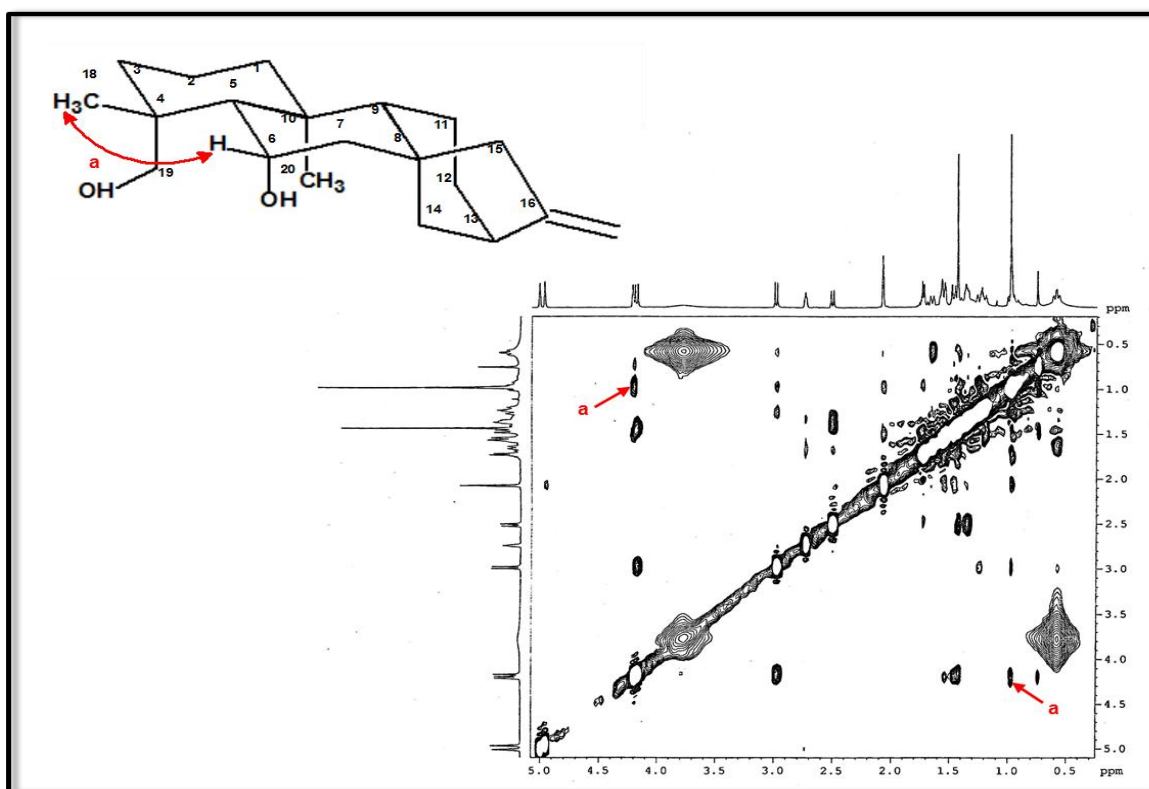


Figura 84 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - NOESY (500 MHz, C_6D_6) de CF-3

4.7 Determinação estrutural de CF-4

A fração acetato de etila proveniente do extrato hexânico das cascas da raiz de *C. floribundus*, foi submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos utilizando-se gel de sílica (item 5.5.2.5, p. 123) para o isolamento de um sólido branco amorfo, com p.f. 209,7 - 211,3 °C (dec) e atividade ótica $[\alpha]_D^{25} = -83^\circ(c\ 0,18; CH_3OH)$, que foi denominado de CF-4.

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de CF-4 (fig. 87, p. 111) mostrou uma banda de absorção centrada em 3477 cm^{-1} , compatível com deformação axial de ligação O-H de grupo hidroxila, bem como um banda fina e intensa em 1701 cm^{-1} , referente à deformação axial C=O de carbonila. Este espectro apresentou também uma banda muito fraca em 3022 cm^{-1} , referente à deformação axial de ligação =C-H e bandas de absorção em 2923 e 2848 cm^{-1} , características de deformação axial C-H de carbono sp^3 ; além das bandas em 1249 e 1116 cm^{-1} , relacionadas a deformação axial de ligação C-O.

O espectro de RMN ^{13}C - CPD de CF-4 (fig. 90, p. 113) apresentou sinais correspondentes a vinte átomos de carbono, revelando a natureza diterpênica do composto. A posterior análise comparativa com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (fig. 91, p. 113), possibilitou atribuir para a estrutura de CF-4 três carbonos metílicos, sete carbonos metilênicos, cinco carbonos metínicos e cinco carbonos não-hidrogenados (tabela 20, p. 105), além de permitir associar o sinal em $\delta_C\ 84,5$ (C-16) a um carbono quaternário carbinólico e os sinais em $\delta_C\ 133,8$ (CH-12) e $128,4$ (CH-11) a uma ligação dupla dissubstituída.

O espectro de RMN 1H de CF-4 (fig. 89, p. 112) mostrou sinais em $\delta_H\ 5,91$ (1H-12, t, $J = 9,7$ Hz) e $5,56$ (1H-11, dd, $J = 9,7$ e $3,6$ Hz), relativos a hidrogênios olefínicos em uma dupla ligação dissubstituída, além de sinais correspondentes a três grupamentos metilas em $\delta_H\ 1,27$ (3H-17, s), $1,17$ (3H-18, s) e $0,88$ (3H, s).

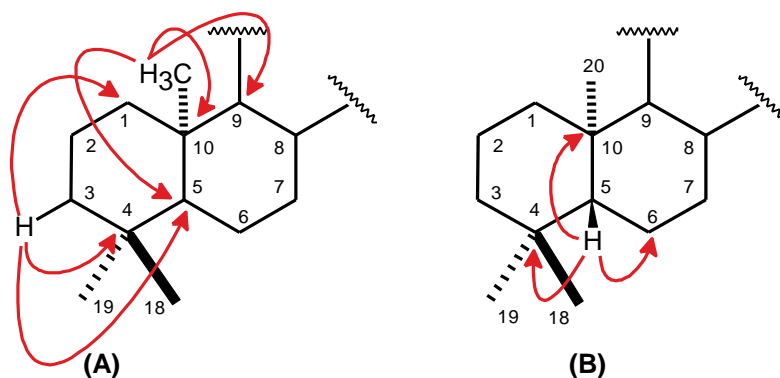
O espectro de massa de CF-4 obtido por impacto eletrônico a 70 eV (fig. 88, p. 111), mostrou sinal referente ao pico do íon molecular em $m/z\ 318$ daltons. A partir dos dados descritos (RMN 1H , RMN ^{13}C - CPD e DEPT 135° e EM) pode-se prôpor para CF-4 a fórmula molecular $C_{20}H_{30}O_3$ (IDH = 6), compatível com uma estrutura diterpênica tetracíclica contendo uma carbonila e uma ligação dupla olefínica.

Tabela 20 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e padrão de hidrogenação dos carbonos de CF-4

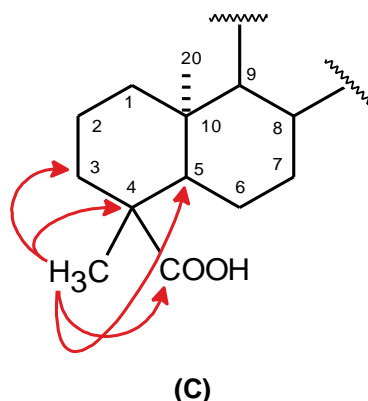
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|-------|-------------------|-------------------|
| | | 20,5 | |
| 40,1 | 51,1 | 23,4 | |
| 44,6 | 57,4 | 35,0 | 16,5 |
| 45,3 | 63,0 | 39,7 | 25,9 |
| 84,5 (CO) | 128,4 | 41,5 | 29,9 |
| 184,7 (COOH) | 133,8 | 42,7 | |
| | | 59,6 | |
| 5 C | 5 CH | 7 CH ₂ | 3 CH ₃ |
| Fórmula molecular – C ₂₀ H ₃₀ O ₃ | | | |

O espectro de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a uma ligação - HSQC (fig. 92, p. 114), permitiu associar inequivocamente os sinais de cada hidrogênio ao seu respectivo carbono conforme tabela 22 (p. 110). δ_{H} 0,88 (3H-20) e o carbono em δ_{C} 63,0 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$);

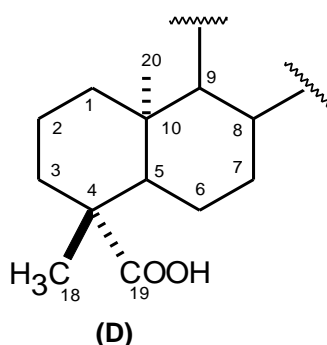
O espectro bidimensional HMBC (fig. 93, p. 115) mostrou correlações à longa distância entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,88 (3H-20) com os sinais em δ_{C} 40,1 (C-10, $^2J_{\text{CH}}$), 57,4 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) e 63,0 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$); bem como as correlações do hidrogênio metilênico em δ_{H} 1,00 (H-3b) com os sinais de carbono em δ_{C} 45,3 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$), 41,6 (CH₂-1, $^3J_{\text{CH}}$) e 57,4 (CH-5, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura A). Em adição, o acoplamento do hidrogênio metínico δ_{H} 1,11 (H-5) com os sinais de carbono δ_{C} 23,4 (CH₂-6, $^2J_{\text{CH}}$), 40,1 (C-10, $^2J_{\text{CH}}$) e 45,3 (C-4, $^2J_{\text{CH}}$) (subestrutura B) permitiram sugerir a presença de um sistema tipo decalina para a estrutura de CF-4.



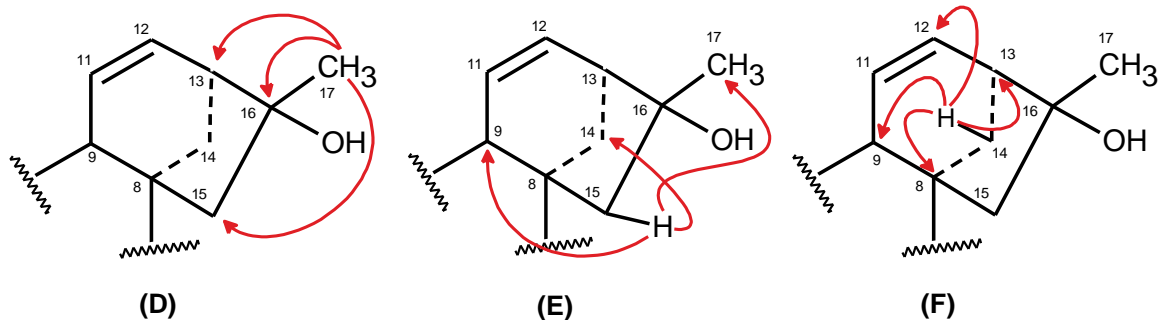
Os acoplamentos dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,17 (3H-18) com os carbonos em δ_C 45,3 (C-4, $^2J_{CH}$), 39,7 (CH₂-3, $^3J_{CH}$), 57,4 (CH-5, $^3J_{CH}$) e 184,7 (C-19, $^3J_{CH}$) (subestrutura C), indicaram a localização de uma metila e do grupo carboxila em C-4.



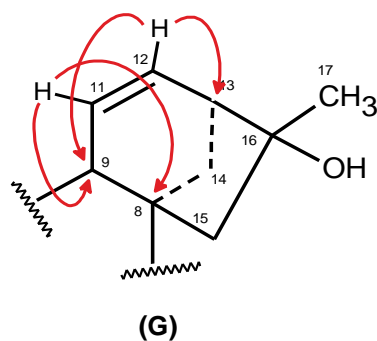
O valor de deslocamento químico do carbono metílico, também ligado à C-4, em δ_C 29,0 (CH₃-18) foi compatível com o valor esperado para um substituinte metila na posição equatorial (C-18) no sistema decalina. Consequentemente o grupo carboxila estaria substituído na posição axial em C-19 (subestrutura D).



As correlações observadas no espectro de HMBC entre os hidrogênios metílicos em δ_H 1,27 (3H-17) com o carbono carbinólico em δ_C 84,5 (C-16, $^2J_{CH}$), e com os carbonos em δ_C 51,1 (CH-13, $^3J_{CH}$) e 59,6 (CH₂-15, $^3J_{CH}$) (subestrutura D), bem como o acoplamento do hidrogênio metilênico δ_H 1,42 (H-15b) com os sinais em δ_C 44,6 (C-8, $^2J_{CH}$), 25,9 (CH₃-17, $^3J_{CH}$) e 35,3 (CH₂-14, $^3J_{CH}$) (subestrutura E), e do hidrogênio metilênico em δ_H 1,65 (H-14b) com os sinais em δ_C 44,6 (C-8, $^2J_{CH}$), 51,1 (CH-13, $^2J_{CH}$), 63,0 (CH-9, $^3J_{CH}$) e 133,8 (CH-12, $^3J_{CH}$) (subestrutura F) possibilitaram propor para CF-4 o fragmento mostrado abaixo.



O posicionamento de uma ligação dupla entre C-11 e C-12 foi realizado em função das correlações observadas entre o sinal relativo ao hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,56 (H-11) com os carbonos em δ_{C} 63,0 (CH-9, $^2J_{\text{CH}}$), 44,6 (C-8, $^3J_{\text{CH}}$) e 51,1 (CH-13, $^3J_{\text{CH}}$) e do hidrogênio metínico também olefínico em δ_{H} 5,91 (H-12) com os sinais em δ_{C} 51,1 (CH-13, $^2J_{\text{CH}}$) e 63,0 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura G).



A configuração relativa do carbono C-16 foi deduzida através do espectro NOESY (fig. 94, p. 116), o qual revelou acoplamentos dipolares entre os hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,27 (3H-17) e o hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,91 (H-12), como consequência o grupo hidroxila deveria estar α -orientado (fig. 85, p. 108) (LEVERRIER *et al.*, 2010).

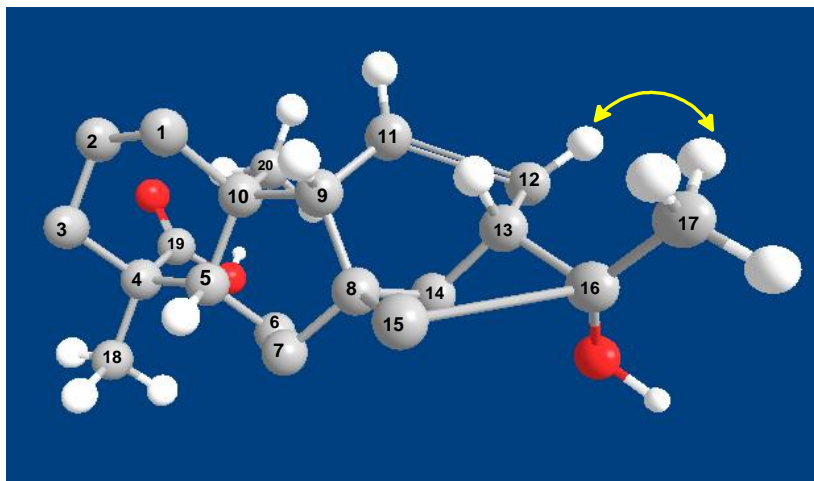
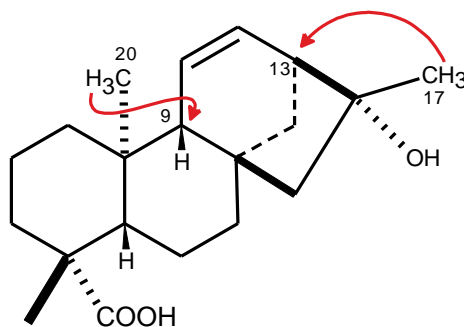


Figura 85 – Acoplamentos dipolares observados no espectro NOESY de CF-4

Através das informações relacionadas acima, pôde-se concluir que CF-4 trata-se de um diterpeno de esqueleto *ent*-caur-11-eno, denominado ácido *ent*-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico (fig. 86, p. 109).

A comparação com dados de RMN ^{13}C registrados na literatura para o *ent*-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico (HERZ, GOVINDAN e WATANABE, 1982) mostrou valores de deslocamentos químicos (δ_{C}) referentes aos carbonos C-9 e C-13 em δ_{C} 49,2 e 60,7, respectivamente (tabela 21, p. 109). No entanto, os valores de deslocamentos químicos de C-9 e C-13 atribuídos para CF-4 encontram-se invertidos, com valores de δ_{C} 63,0 e 51,1. Estes dados foram inequivocamente estabelecidos através das correlações observadas no espectro de HMBC entre o grupo metila em δ_{H} 0,88 (3H-20) e o carbono em δ_{C} 63,0 (CH-9, $^3J_{\text{CH}}$), bem como através do acoplamento entre a metila em δ_{H} 1,27 (3H-17) com o carbono em δ_{C} 51,1 (CH-13, $^3J_{\text{CH}}$) (subestrutura H). Essas observações nos permitem corrigir os dados dos deslocamentos químicos para C-9 e C-13, em relação ao reportados na literatura.



(H)

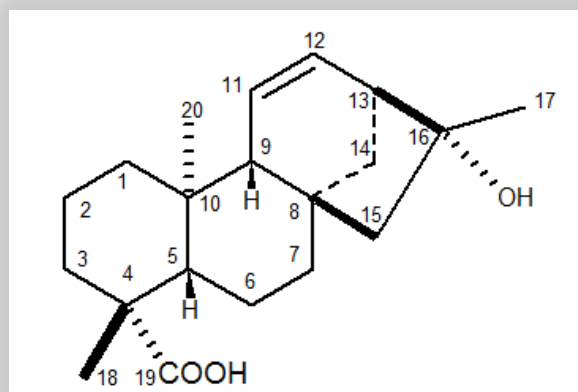


Figura 86 – Estrutura de CF-4 - ácido *ent*-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico

Tabela 21 – Dados de RMN ^{13}C de CF-4 em comparação com dados da literatura para o ácido *ent*-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico (HERZ, GOVINDAN e WATANABE, 1982)

| C | δ_{C} | |
|----|---|---|
| | CF-4 (CD_3OD , 125 MHz) | Ácido <i>ent</i> -16 α -hidroxi-caur-11-en-19-óico (DMSO-d_6 , 67,90 MHz) |
| 1 | 41,6 | 40,9 |
| 2 | 20,5 | 18,7 |
| 3 | 39,7 | 37,6 |
| 4 | 45,3 | 42,8 |
| 5 | 57,4 | 54,9 |
| 6 | 23,4 | 21,6 |
| 7 | 42,7 | 39,4 |
| 8 | 44,6 | 42,6 |
| 9 | 63,0 | 49,2 |
| 10 | 40,1 | 38,3 |
| 11 | 128,4 | 126,0 |
| 12 | 133,8 | 132,8 |
| 13 | 51,1 | 60,7 |
| 14 | 35,3 | 33,7 |
| 15 | 59,6 | 58,2 |
| 16 | 84,5 | 81,8 |
| 17 | 25,9 | 25,6 |
| 18 | 29,9 | 28,5 |
| 19 | 184,7 | 173,2 |
| 20 | 16,5 | 15,3 |

Tabela 22 – Dados de RMN ^1H , ^{13}C e correlações de ^1H , ^{13}C - HSQC e ^{13}C - HMBC nJ (n=2, n=3) de CF-4

| C | HSQC | | HMBC | |
|----|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------|
| | $\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$ | $\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$ | $^2J_{\text{CH}}$ | $^3J_{\text{CH}}$ |
| 1 | 41,6 | a - 1,81 (m, 1H); b - 1,04 (m, 1H) | – | H-3b |
| 2 | 20,5 | a - 1,90 (m, 1H); b - 1,33 (m, 1H) | – | – |
| 3 | 39,7 | a - 2,13 (m, 1H); b - 1,00 (m, 1H) | – | 3H-18 |
| 4 | 45,3 | – | H-3b; H-5; 3H-18 | – |
| 5 | 57,4 | 1,11 (m, 1H) | – | 3H-18; H-3b; 3H-20 |
| 6 | 23,4 | 1,72 (m, 2H) | H-5 | – |
| 7 | 42,7 | 1,51 (m, 2H) | – | H-15a |
| 8 | 44,6 | – | H-9; 2H-14; H-15b | H-11; H-13 |
| 9 | 63,0 | 1,40 (m, 1H) | H-11 | H-12; 2H-15; 3H-20 |
| 10 | 40,1 | – | H-5; H-9; 3H-20 | – |
| 11 | 128,4 | 5,56 (dd, $J = 9,7$ e $3,0$ Hz, 1H) | H-9 | – |
| 12 | 133,8 | 5,91 (t, $J = 9,7$ Hz, 1H) | – | H-9; 2H-14a |
| 13 | 51,1 | 2,17 (m, 1H) | H-12; H-14b | H-11; 3H-17 |
| 14 | 35,3 | a - 1,82 (m, 1H); b - 1,65 (m, 1H); | – | H-9; H-15b |
| 15 | 59,6 | a - 1,48 (m, 1H); b - 1,42 (m, 1H); | – | 2H-7; H-14a; 3H-17 |
| 16 | 84,5 | – | 3H-17 | H-14a |
| 17 | 25,9 | 1,27 (s, 3H) | – | H-15b |
| 18 | 29,9 | 1,17 (s, 3H) | – | – |
| 19 | 184,7 | – | – | H-3b; H-5; 3H-18 |
| 20 | 16,5 | 0,88 (s, 3H) | – | – |

^a 125 MHz; ^b 500 MHz

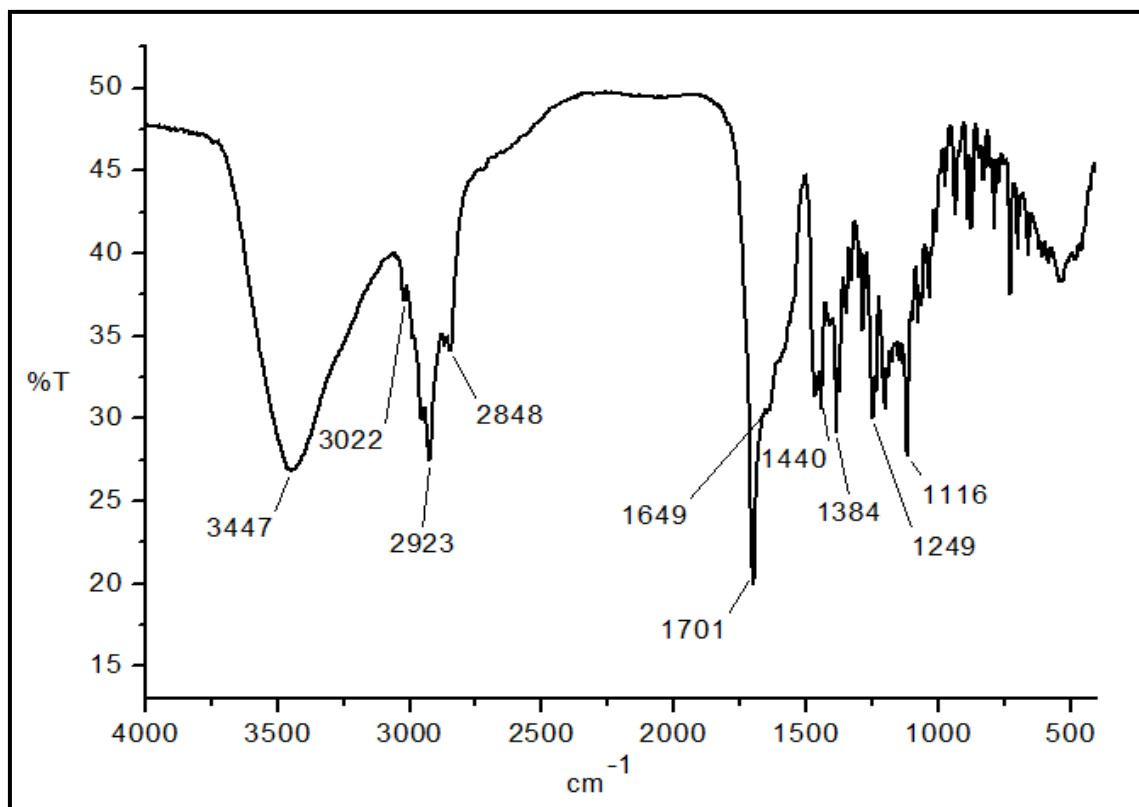


Figura 87 – Espectro na região do infravermelho (KBr) de CF-4

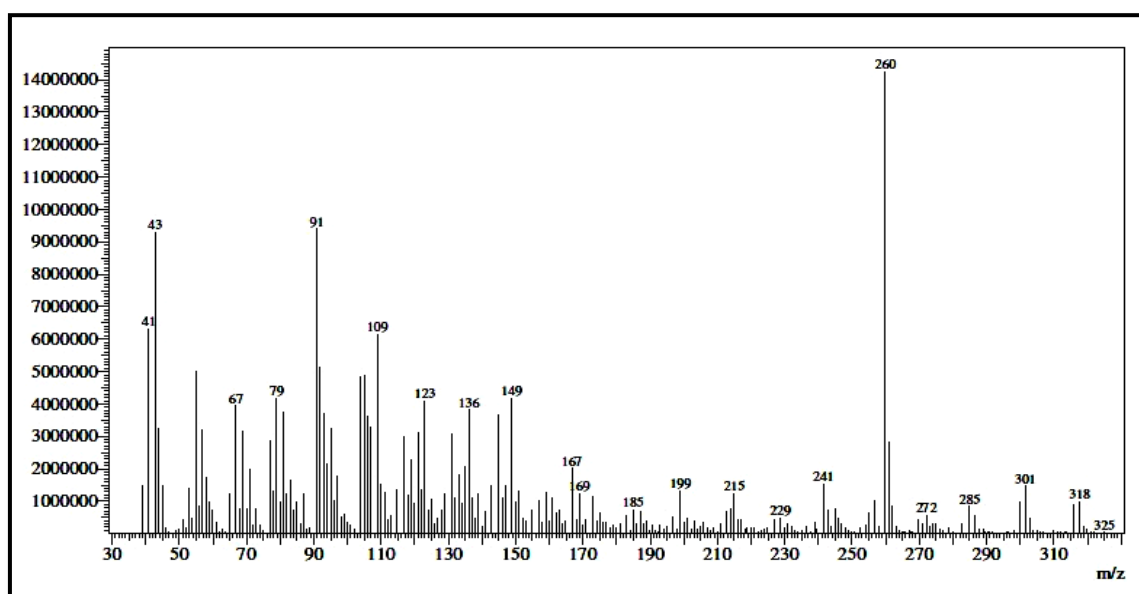


Figura 88 – Espectro de massa (EM-IE, 70 eV) de CF-4

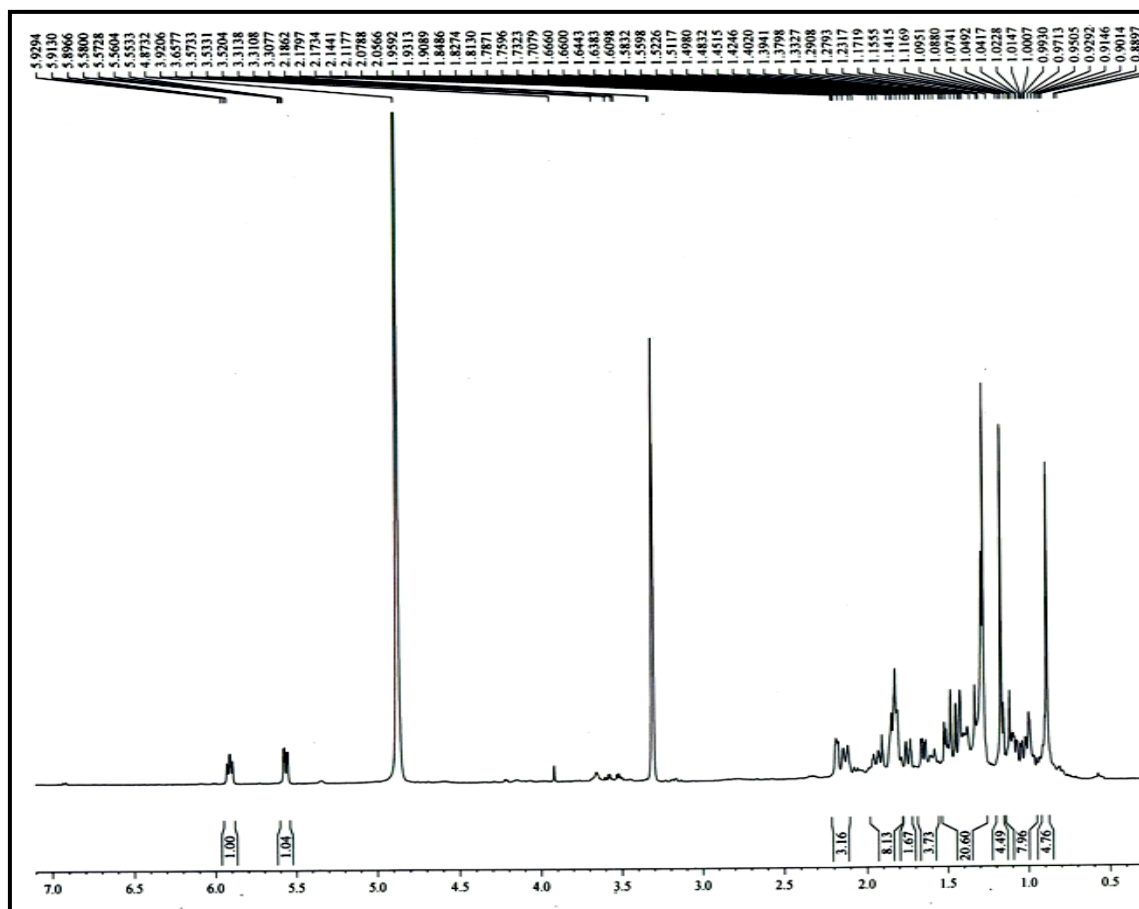


Figura 89 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) de CF-4

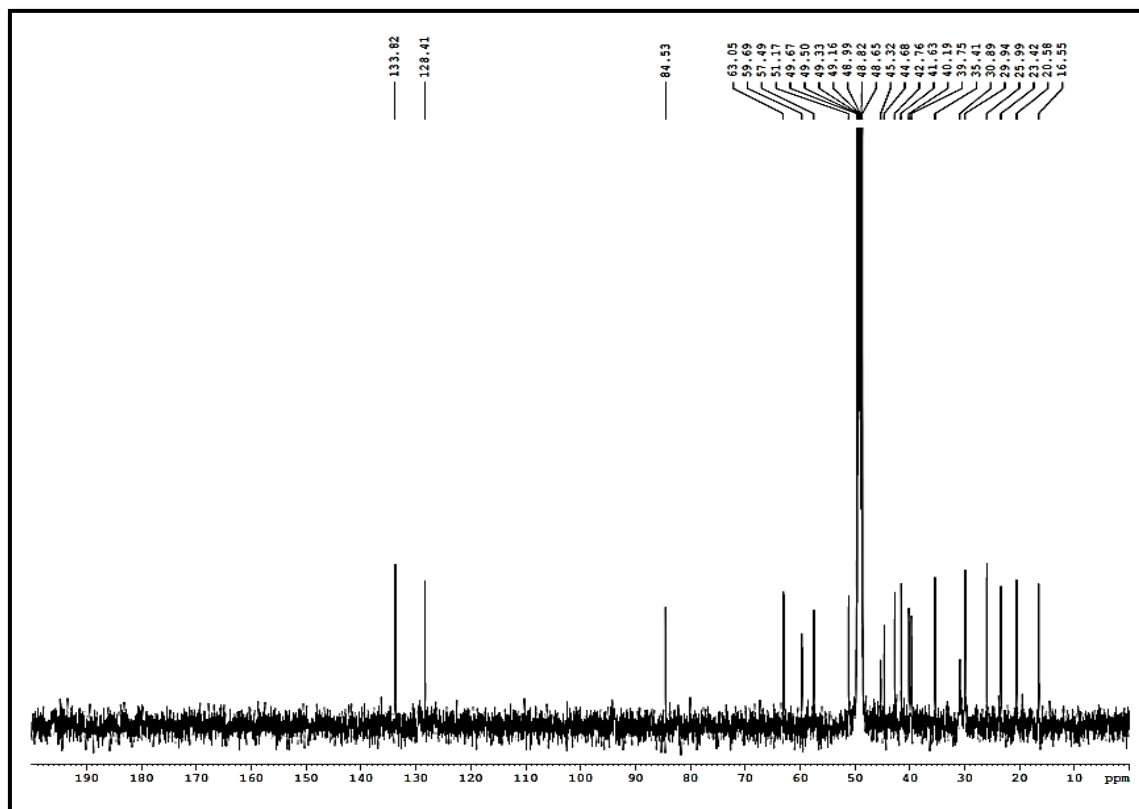


Figura 90 – Espectro de RMN ^{13}C - CPD (125 MHz, CD_3OD) de CF-4

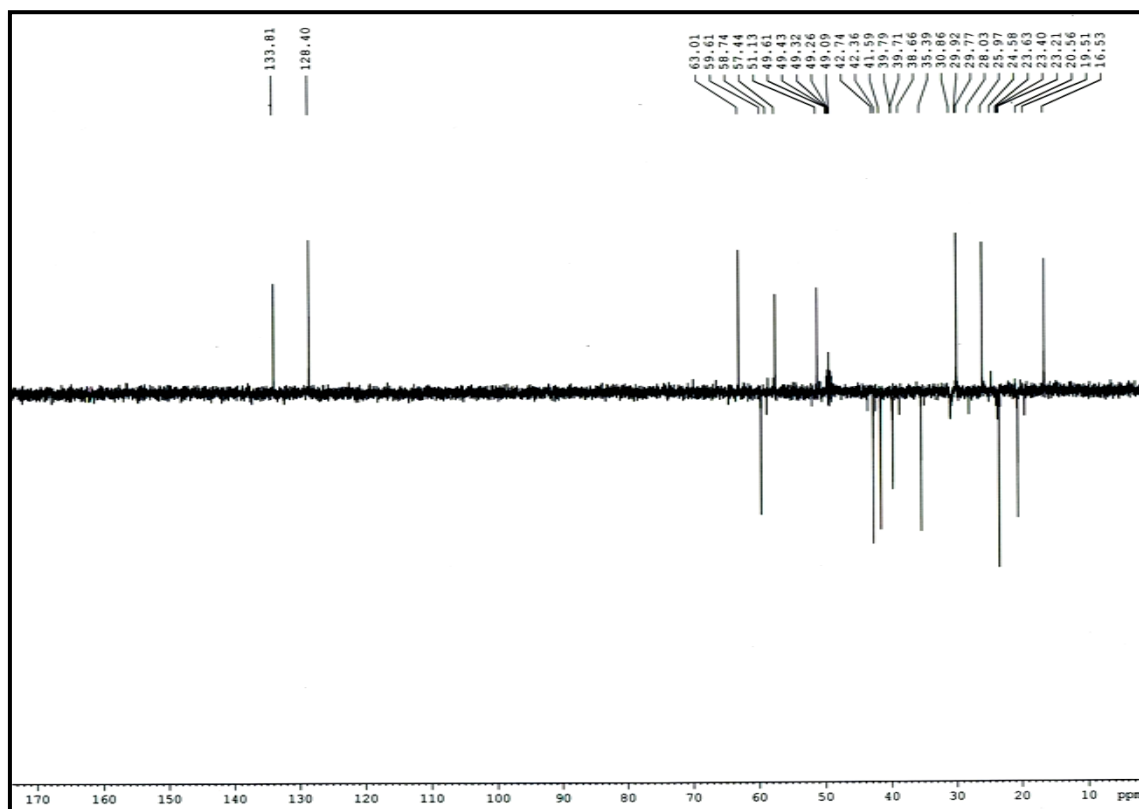


Figura 91 – Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° (125 MHz, CD_3OD) de CF-4

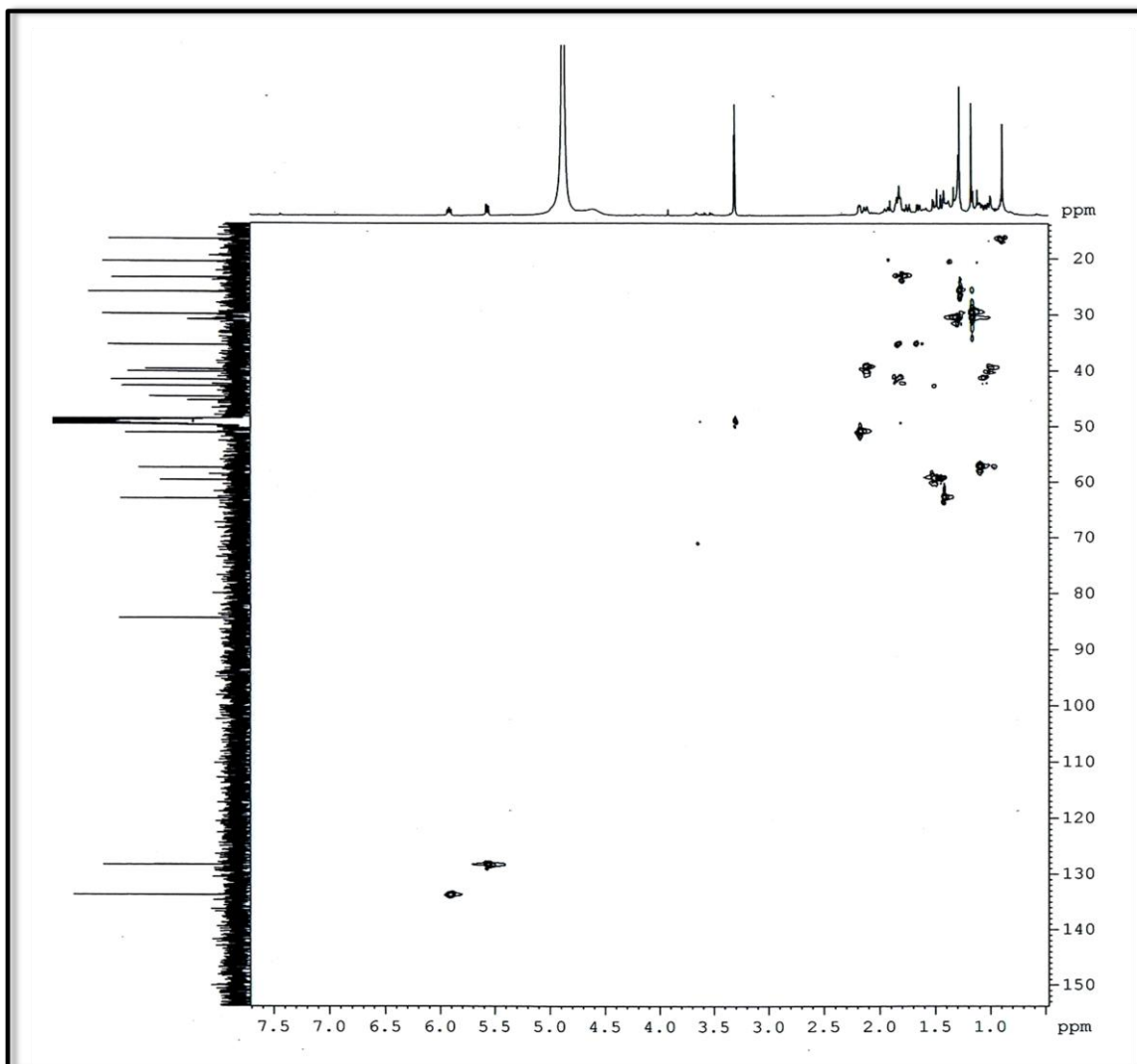


Figura 92 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HSQC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de CF-4

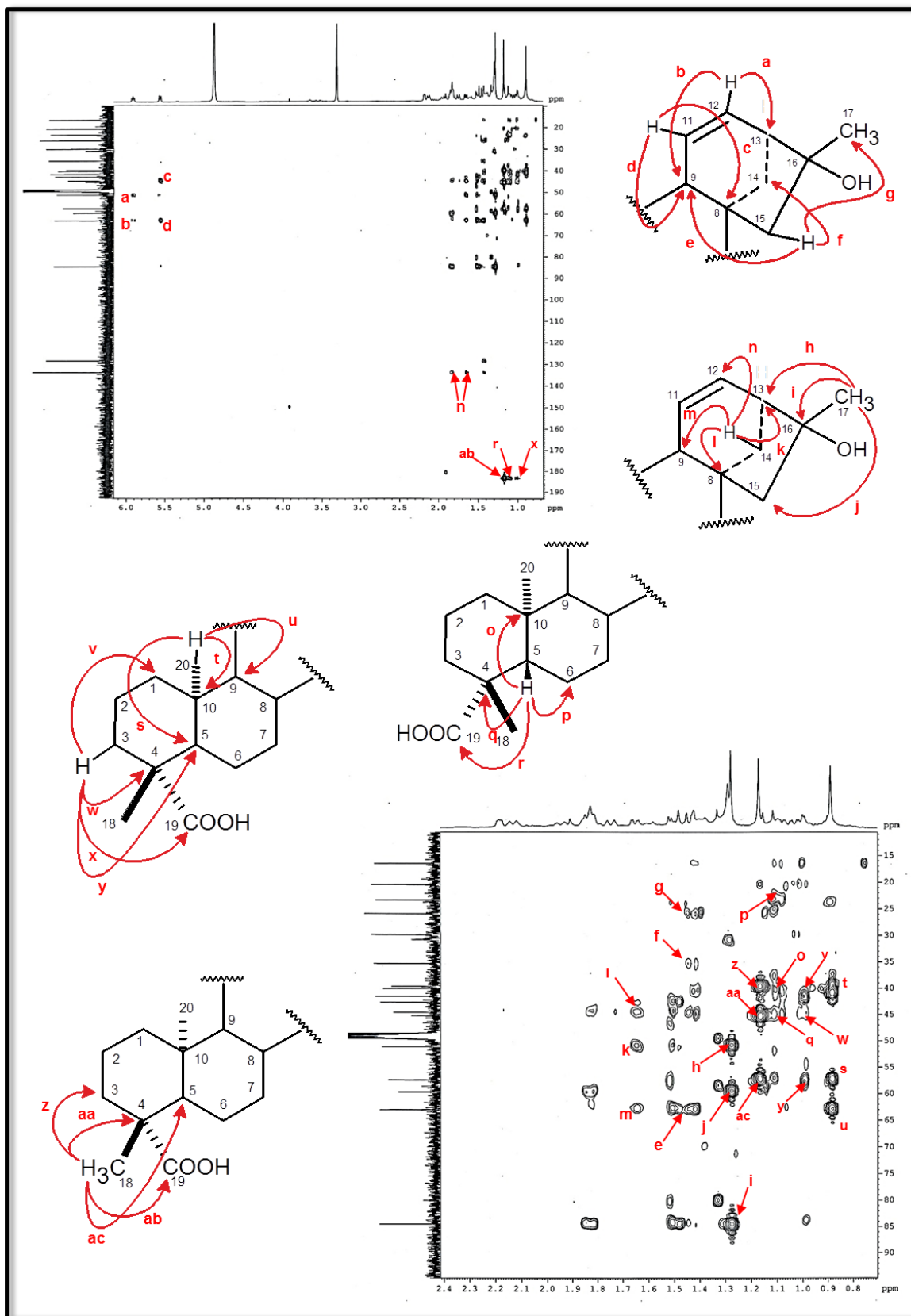


Figura 93 – Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C - HMBC (500 x 125 MHz, CD_3OD) de CF-4

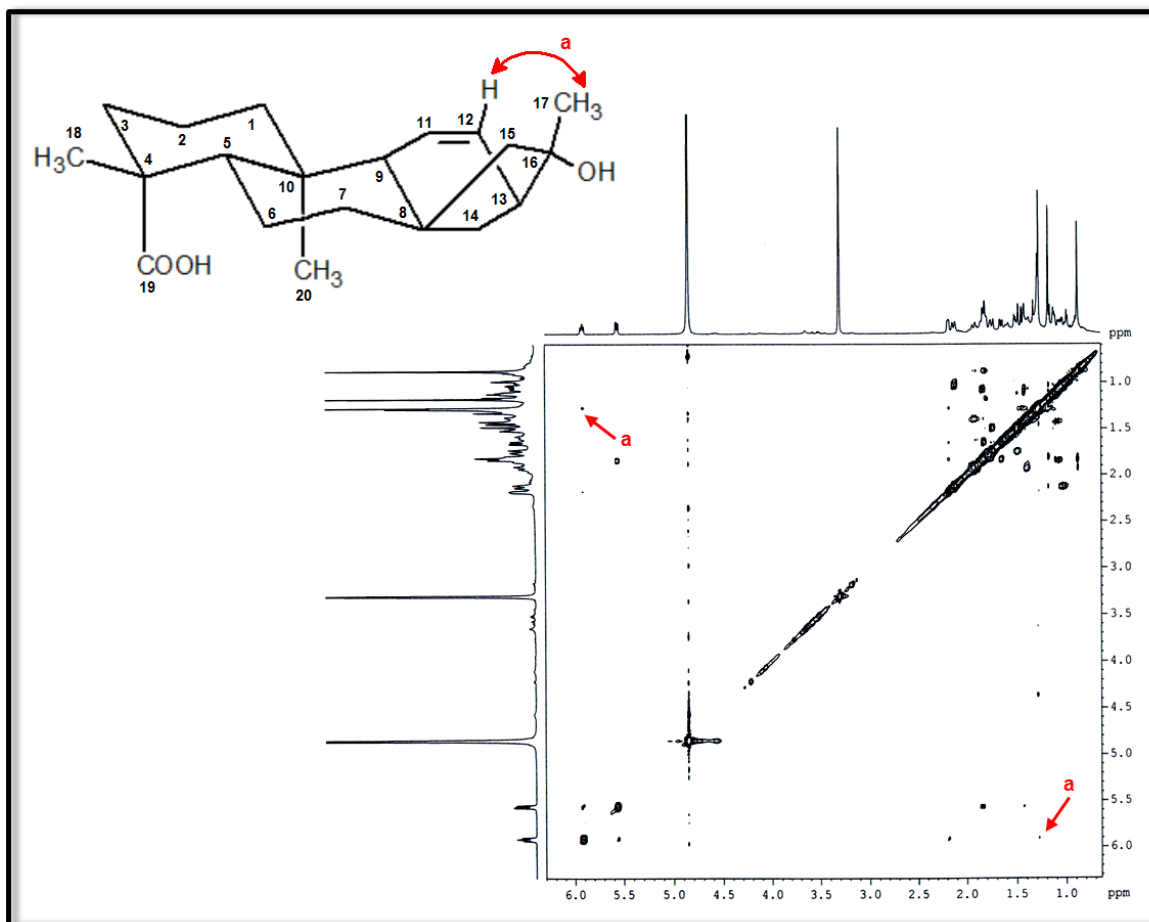


Figura 94 – Espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ^1H , ^1H - NOESY (500 MHz, CD_3OD) de CF-4

PARTE EXPERIMENTAL

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material botânico

As cascas da raiz de *Croton floribundus* foram coletadas na localidade de Pico alto, no município de Pacoti (CE), pelo prof. Edilberto Rocha Silveira, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. O material vegetal foi identificado botanicamente pelo prof. Edson de Paula Nunes, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A exsicata correspondente à coleta encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra/UFC, com o número de inscrição 39.851.

5.2 Métodos cromatográficos

5.2.1 Cromatografia de adsorção

Nas cromatografias de adsorção foi empregada gel de sílica 60 da Merck ou da Vetec, com granulometria de \varnothing 63 - 200 μm para cromatografia em coluna aberta e \varnothing 40 - 63 μm para cromatografia sob média pressão (cromatografia do tipo *flash*). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as alíquotas das amostras e as quantidades de gel de sílica utilizadas. As colunas utilizadas na cromatografia de adsorção sob média pressão (cromatografia flash) foram de vidro resistente à pressão e continham bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact N° 682403 de Ind. de aparelhos médicos Ltda. Cromatografias em camada delgada foram efetuadas em cromatoplas de gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre alumínio da Merck e ainda através de cromatoplas de sílica gel 60 G da Vetec cód. 1094 sobre lâminas de vidro. Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol da marca Synth®.

A revelação das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foi obtida por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (314 e 366 nm) realizada em aparelho Spectroline modelo ENF-240 C/F e/ou por aspersão com solução de vanilina ($C_8H_8O_3$) e ácido perclórico 0,75 mol/L ($HClO_4$) em etanol (C_2H_6O), seguido de aquecimento em chapa elétrica a 100 °C por aproximadamente 3 minutos, ou ainda por exposição a vapores de iodo.

5.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento constituído de uma bomba ternária de alta pressão SHIMADZU LC-20AT, detector UV-Visível com arranjo de diodo SHIMADZU SPD-M20A e um forno termostático para acomodação da coluna.

Paras as análises cromatográficas utilizou-se uma coluna semi-preparativa de fase normal Phenomenex (10 x 150 mm, 5 μ m). Os solventes empregados como fase móvel foram hexano e isopropanol com grau de pureza CLAE da marca Tedia Brazil, que foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,22 μ m (Phenomenex). As amostras foram dissolvidas com os solventes usados na fase móvel e filtradas num sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,22 μ m (Phenomenex).

5.3 Métodos espectroscópicos

5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos a partir de amostras dispersas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) e discos de cloreto de sódio (NaCl), utilizando espectrômetros:

- ABB BOMEM, modelo FTLA 2000-102, com janela espectral de 400 a 4000 cm^{-1} pertencente ao Laboratório de Bioinorgânica (DQOI/UFC);
- Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 da central analítica do DQOI/UFC;

- Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 100 do LEMANOR (DQOI/UFC).

5.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Carbono-13 (RMN ^{13}C)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-500, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), operando na frequência do hidrogênio a 500,13 MHz e na frequência do carbono a 125,75 MHz.

Os solventes utilizados nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foram benzeno (C_6D_6), clorofórmio (CDCl_3) e metanol (CD_3OD) deuterados, comercializados pelas companhias ACROS, Cambridge Isotope Laboratories, Merck ou Aldrich.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: benzeno (δ_{H} 7,16), clorofórmio (δ_{H} 7,27) e metanol (δ_{H} 3,31). Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos centrais dos carbonos-13 dos solventes: benzeno (δ_{C} 128,39), clorofórmio (δ_{C} 77,23) e metanol (δ_{C} 49,17).

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplete duplete), t (triplete), td (triplo duplete), q (quarteto), m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica DEPT 135° e segundo convenção: C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico).

5.3.3 Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massa de baixa resolução foram registrados num espectrômetro Shimadzu, modelo QP 5000/DI-50, através de impacto eletrônico a 70 eV (DQOI/UFC).

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos por ionização por *electrospray* (IES) em espectrômetro de massa modelo LCMS - IT - TOF (225-07100-34) - SHIMADZU, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste (LEMANOR – DQOI - UFC).

5.4 Métodos físicos

5.4.1 Ponto de fusão (p.f.)

Os pontos de fusão foram obtidos em equipamento de microdeterminação digital da Mettler Toledo, composto por uma placa aquecedora FP82HT e uma unidade de processamento FP90 pertencente ao DQOI/UFC. As determinações foram realizadas a uma taxa de aquecimento de 3 °C/min e não foram corrigidas.

5.4.2 Rotação óptica

As rotações ópticas foram determinadas em polarímetro Perkin-Elmer, modelo 341, localizado no DQOI/UFC. As medidas foram realizadas a 589 nm (25 °C)

5.5 Estudo fitoquímico das cascas da raiz de *Croton floribundus*

5.5.1 Obtenção dos extratos das cascas da raiz: CFCRH e CFCRE

1,58 kg de cascas da raiz de *Croton floribundus*, depois secas e moídas, foram extraídos exaustivamente (3 repetições) com hexano a frio. As soluções foram evaporadas sob pressão reduzida em evaporador rotativo, para a obtenção do extrato denominado CFCRH (97,1 g; 6,1% de rendimento).

Após a extração com hexano a frio, o material vegetal foi submetido à extração com etanol bruto por aproximadamente 72 horas a frio de forma exaustiva (3 extrações). A solução etanólica obtida foi destilada em evaporador rotativo sob pressão reduzida. O extrato obtido foi denominado CFCRE (134,9 g; 8,5% de rendimento).

5.5.2 Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das cascas da raiz de *C. floribundus*

O extrato CFCRH (60,0 g) foi adsorvido a 60,0 g de gel de sílica (\varnothing 63 - 200 μ m), e acondicionado em uma coluna de vidro (\varnothing_{int} = 7,5 cm) contendo 120,0 g de gel de sílica (\varnothing 63 - 200 μ m). Para a eluição foram utilizados os solventes: hexano (2,5 L), diclorometano (4,0 L), acetato de etila (1,0 L) e metanol (0,5 L), fornecendo as frações descritas na tabela 23 a seguir.

Tabela 23 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do extrato hexânico da casca da raiz de *C. floribundus* (CFCRH)

| ELUENTE | DENOMINAÇÃO | MASSA |
|------------------------------------|-------------|--------|
| Hexano | CFCRH-H | 5,5 g |
| Diclorometano | CFCRH-D | 38,1 g |
| Acetato de etila | CFCRH-A | 6,6 g |
| Metanol | CFCRH-M | 1,0 g |
| Total – 51,2 g; Rendimento – 85,3% | | |

5.5.2.1 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A

A fração CFCRH-A (6,6 g) foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 61,0 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) numa coluna de vidro ($\varnothing_{\text{int}} = 3,5 \text{ cm}$). CFCRH-A foi fracionada por eluição isocrática com uma mistura binária dos solventes hexano/acetato de etila 30%, com a última fração (f27) eluída com metanol. Foram obtidas 27 frações com aproximadamente 50 mL cada, que foram reunidas, após análise em CCD, da seguinte maneira: f1-3 (38,8 mg), **f4** (97,2 mg), **f5** (335,2 mg), **f6-8** (427,7 mg), **f9-10** (251,2 mg), **f11-14** (1,8 g), f15-16 (329,9 mg), f17-21 (151,3 mg), f 22-23 (136,0 mg), f24-26 (186,4 mg) e f27 (1,4 g).

5.5.2.2 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (4) e isolamento de CF-1

A fração 4 (97,2 mg) foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), acondicionada em uma coluna de vidro ($\varnothing_{\text{int}} = 2 \text{ cm}$) contendo 26,0 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) e eluída com a mistura binária hexano/diclorometano 10%, coletando-se frações de 50 mL. A análise em CCD das 24 frações obtidas possibilitou a reunião das frações semelhantes: f1-2, f3-6, f7-8, **f9-10**, f11-17 e f18-19. A fração 9-10 (20,2 mg), um sólido cristalino incolor, solúvel em clorofórmio, apresentou-se uniforme em CCD e foi denominada CF-1. A caracterização estrutural desse composto encontra-se discutida na página 18.

5.5.2.3 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (5) e isolamento de CF-2

Numa coluna de vidro ($\varnothing_{\text{int}} = 2,5 \text{ cm}$) contendo 36,0 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), acondicionou-se a fração CFCRH-A (5) (335,2 mg), previamente adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 40-63 \mu\text{m}$). CFCRH-A (5) foi eluída com a mistura binária hexano/acetato de etila 15%, seguida de adição de metanol, coletando-se 16 frações de aproximadamente 50 mL.

Através da análise por CCD as frações semelhantes foram reunidas nos seguintes grupos: f1-4, **f5**, f6, f7-9, f10-15 e f16.

A fração (5) (65,0 mg) foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 63 - 200 \mu\text{m}$) e acondicionada sobre 18,6 g de gel de sílica ($\varnothing = 63 - 200 \mu\text{m}$) em uma coluna de vidro de 2,0 cm de diâmetro. Para eluição foi utilizada a mistura binária dos solventes hexano/acetato de etila 15% levando a obtenção de 27 frações que foram reunidas, de acordo com suas semelhanças nos seguintes grupos: f1-3, f4-5, **f6-25** e f26-27.

Cromatografia em camada delgada preparativa da fração f6-25 (28,7 mg), utilizando como eluente Hex/AcOEt 40%, levou ao isolamento de 13,5 mg de um sólido branco, denominado CF-2. A elucidação estrutural desse composto encontra-se discutida na página 31.

5.5.2.4 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (6-8) e isolamento de CF-3

A fração CFCRH-A (6-8) (427,7 mg) foi adsorvida com gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), pulverizada em gral de porcelana e disposta sobre 36,0 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) em uma coluna de vidro de 2,5 cm de diâmetro. A utilização da mistura binária hexano/acetato de etila 10% para eluição, seguida por adição de metanol, levou a obtenção de 29 frações com aproximadamente 50 mL. Análise comparativa por CCD permitiu reunir as frações semelhantes: f1-2, f3, f4-8, f9, f10-12, **f13-14**, f15-22, f23-24, f25-28 e f29. A fração 13-14 (32,0 mg) constituída de um sólido cristalino incolor, foi codificado de CF-3 e sua elucidação estrutural encontra-se discutida na página 91.

5.5.2.5 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-A (9-10) e isolamento de CF-4

A fração CFCRH-A (9-10) (325,0 mg) foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) e acondicionada em uma coluna de vidro ($\varnothing_{\text{int}} = 2,5 \text{ cm}$) contendo 36,0 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$). Para eluição foi utilizada a mistura binária dos solventes hexano/acetato de

etila 10% e metanol. As 13 frações obtidas foram submetidas à análise por CCD, resultando em 5 grupos de frações: f1-3, f4-6, f7-8, **f9-11** e f12-13.

A fração 9-11 (56,3 mg) foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 63 - 200 \mu\text{m}$) e disposta sobre 25,5 g gel de sílica ($\varnothing = 63 - 200 \mu\text{m}$) em uma coluna de vidro de 2,0 cm de diâmetro. A utilização da mistura binária dos solventes hexano/acetato de etila 20% como eluente, culminou na obtenção de 14 frações, que foram reunidas conforme suas semelhanças: f1-3, f4, f5-6, f7, **f8-11**, f12-13 e f14. A fração 8-11 (15,0 mg) constituída de um sólido amorfo branco, foi codificada de CF-4 e sua determinação estrutural encontra-se descrita na página 104.

5.5.2.6 Isolamento de CF-5

A fração 11-14 (1,8 g) (item 5.5.2.1, p. 122) apresentou um precipitado levemente amarelado, que após adição da mistura hexano/acetato de etila 2% e filtração simples, levou a obtenção de 627,3 mg de um material cristalino branco na forma de agulhas, denominado CF-5. A caracterização desse composto encontra-se discutida na página 51.

5.5.2.7 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D

Uma alíquota de 5,0 g da fração CFCRH-D foi adsorvida a gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) e acondicionada em uma coluna de vidro ($\varnothing_{\text{int}} = 2,5 \text{ cm}$) contendo 3,5 g de gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$). O fracionamento foi realizado utilizando como eluente a mistura binária dos solventes hexano/diclorometano em ordem crescente de polaridade (tabela 24, p. 125), levando a obtenção de 23 frações, que após análise comparativa em CCD, foram reunidas nos seguintes grupos de acordo com suas semelhanças: f1-7, f8, **f9-13**, f14-17, **f18-19**, f20, f21, f22 e f23.

Tabela 24 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração CFCRH-D

| ELUENTE | FRAÇÃO | VOLUME |
|---------|--------|--------|
| H/D 20% | 1-3 | 50 mL |
| H/D 30% | 4-8 | 50 mL |
| H/D 40% | 9-13 | 50 mL |
| H/D 50% | 14-17 | 50 mL |
| H/D 75% | 18-22 | 50 mL |
| MeOH | 23 | 100 mL |

5.5.2.8 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D (9-13) e isolamento de CF-6

A fração CFCRH-D (9-13) (982,1 mg) foi submetida à coluna cromatográfica utilizando-se gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$) e hexano/diclorometano 20% como sistema de eluição. As 33 frações obtidas após comparação por CCD foram reunidas, de acordo com suas semelhanças, em 7 grupos: f1, f2-10, f11-20, f21-24, f25-31, **f32** e f33, onde a fração f32 (323,5 mg) apresentou-se como um sólido branco, homogêneo em CCD, denominado CF-6. A caracterização estrutural desse composto encontra-se discutida na página 79.

5.5.2.9 Fracionamento cromatográfico de CFCRH-D (18-19) e isolamento de CF-7

A fração CFCRH-D (18-19) (923,3 mg) foi cromatografada em gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), utilizando como eluente a mistura binária hexano/diclorometano em ordem crescente de polaridade. As 72 frações obtidas foram reunidas, após análise em CCD, da seguinte maneira: f1-39, f40-43 e **f44-72**. Cromatografia em camada delgada preparativa da fração f44-72 (486,3 mg), utilizando como eluente diclorometano, levou a obtenção de um 50,0 mg de um sólido cristalino branco. Embora uniforme em CCD, através da análise espectroscópica desse sólido constatou-se que o mesmo tratava-se de uma mistura de duas substâncias de mesmo Rf.

A mistura foi então submetida a tratamento cromatográfico em CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência). Onde o melhor método de separação foi verificado com utilização de uma coluna semi-preparativa de fase normal Phenomenex (10 x 150 mm, 5 μ m) e sistema de eluição hexano/isopropanol (99:1) com um fluxo de 3 mL/min, usando loop de 200 μ L para injeção da amostra. Foram coletadas 2 frações, referentes aos dois picos 1 (t_R = 6,3 min) e 2 (t_R = 6,8 min), além da purga correspondente.

A análise de RMN ^1H das substâncias relativas aos picos coletados comprovou a pureza apenas da substância referente ao pico 1, que após evaporação do solvente, forneceu 18,7 mg de um sólido cristalino branco, o qual foi denominado CF-7. A caracterização estrutural desse composto encontra-se discutida na página 42.

5.6 Obtenção dos derivados reacionais

5.6.1 Reação de acetilação de CF-5 – obtenção de CF-5D1

Em um balão de 10 mL foram adicionados 30,4 mg (0,1 mmol) de CF-5, 2 mL (21,1 mmol) de anidrido acético, 1 mL (12,4 mmol) de piridina e DMAP em quantidades catalíticas. O sistema foi mantido sob agitação magnética à temperatura ambiente e a reação foi acompanhada por CCD até o desaparecimento total do *spot* relativo ao material de partida. Após 3 horas de reação, adicionou-se 20 mL de solução de CuSO_4 5% e a mistura reacional foi extraída com CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). À fase orgânica foi adicionada uma solução de NaHCO_3 5% até pH neutro, e a solução resultante foi extraída com CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). A fase orgânica obtida foi lavada com água destilada e tratada com Na_2SO_4 anidro. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se 23,8 mg de um líquido viscoso amarelo, denominado CF-5D1, com rendimento de 78,3 %. A determinação estrutural desse derivado reacional encontra-se discutida na página 61.

5.6.2 Reação de oxidação de CF-5 – obtenção de CF-5D2

496,3 mg (2,3 mmol) de PCC foram adsorvidos a 500,0 mg de gel de sílica ($\varnothing = 63 - 200 \mu\text{m}$) e então adicionados a um balão de 50 mL juntamente com 20 mL de CH_2Cl_2 . 200,0 mg (0,32 mmol) do composto CF-5 foi adicionado lentamente à suspensão sob agitação. Após 15 minutos de reação, verificou-se que todo o material de partida havia sido consumido através de análise por CCD. Em seguida, aproximadamente 20 mL de éter etílico foram adicionados lentamente sob agitação vigorosa e a solução foi filtrada sob vácuo através de uma camada de 3,5 g de Celite. Todo o material remanescente no balão foi transferido e lavado várias vezes com porções de 25 mL de éter etílico. O filtrado foi concentrado em rotaevaporador à temperatura ambiente, resultando em 200,3 mg de um sólido marrom.

O sólido marrom foi cromatografado em gel de sílica ($\varnothing = 40 - 63 \mu\text{m}$), utilizando como eluente a mistura binária dos solventes hexano/diclorometano 25%. As 87 frações obtidas foram reunidas, após comparação por CCD, de acordo com suas semelhanças nos seguintes grupos: **f1-44**, f45-56, f57-80, f81-86 e f87.

A fração f1-44 foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa utilizando como eluente hexano/diclorometano 50%, levando a obtenção de 10,2 mg de sólido branco uniforme em CCD, que foi codificado CF-5D2 (rendimento = 5,1%). A determinação estrutural de CF-5D2 encontra discutida na página 69.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Croton floribundus* foi realizado através da investigação preliminar dos constituintes não-voláteis do extrato hexânico das cascas da raiz.

Este estudo revelou a predominância de diterpenos de esqueleto caureno e traquilobano na espécie e conduziu ao isolamento e caracterização estrutural de sete diterpenos, sendo três de esqueleto caureno, ácido *ent-caur-16-en-19-óico*, *ent-caur-16-en-6 α ,19-diol* e ácido *ent-16 α -hidroxi-caur-11-en-19-óico*, e quatro de esqueleto traquilobano, ácido *ent-traquiloban-19-óico*, ácido *ent-15 α -hidroxitraquiloban-19-óico*, *ent-traquiloban-19-ol* e *ent-traquiloban-18,19-diol*.

Dentre as substâncias isoladas, o composto *ent-traquiloban-18,19-diol* possui caráter inédito na literatura. Embora já tenham sido relatados na literatura, os diterpenos ácido *15 α -hidroxitraquiloban-19-óico*, ácido *ent-16 α -hidroxi-caur-11-en-19-óico* e *ent-caur-16-en-6 α ,19-diol* estão sendo relatado pela primeira vez no gênero *Croton*, sendo o último obtido pela primeira vez como produto natural.

Foram obtidos ainda dois derivados do *ent-traquiloban-18,19-diol*, produto natural inédito na literatura. Através de reação de acetilação foi obtido o *ent-18,19-diacetoxitraquilobano*. A reação de oxidação, utilizando PCC/CH₂Cl₂, embora tenha fornecido o diterpeno ácido *ent-18-nortraquiloban-19-óico*, não se mostrou como um bom método oxidativo, uma vez que ocorreu a formação de vários sub-produtos.

Todos os compostos isolados foram submetidos a ensaios de atividade citotóxica frente às linhagens de células tumorais de cólon (HCT-8), mama (MDAMB-435) e cérebro (SF-295). No entanto, os testes preliminares indicaram que apenas os compostos *ent-caur-16-en-6 α ,19-diol* e ácido *ent-18-nortraquiloban-19-óico* demonstraram potencial citotóxico para a linhagem HCT-8.

Os resultados aqui descritos confirmam o potencial químico-farmacológico de espécies do gênero *Croton*, e em especial dos diterpenos, que se mostram como substâncias bioativas, e ainda como protótipos importantes na obtenção de novas moléculas de interesse do ponto de vista químico, espectroscópico e farmacológico.

**CONSTANTES FÍSICAS E
DADOS
ESPECTROMÉTRICOS**

7 CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *C. floribundus*

7.1 CF-1

Nome: Ácido *ent*-traquiloban-19-óico

F. M.: C₂₀H₃₀O₂

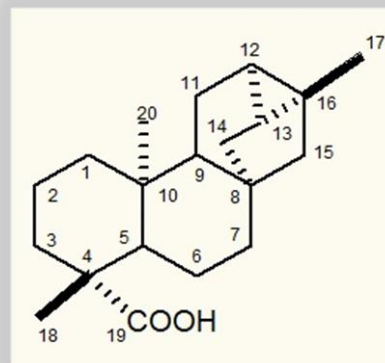
M.M.: 302 daltons

p.f.: 149,3 - 150,7 °C

[α]_D²⁵ = -66° (*c* = 0,13; CHCl₃)

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, NaCl (cm⁻¹): 2927; 2857; 1693; 1467; 1443; 1264; 1208; 970; 758

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 5, p. 24

7.2 CF-2

Nome: Ácido *ent*-15 α -hidroxitraquiloban-19-óico

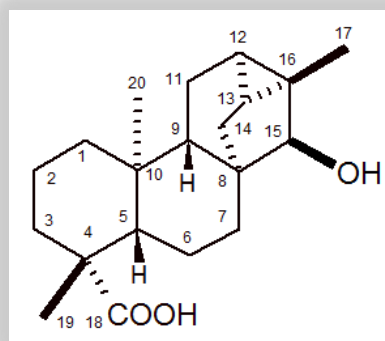
F. M.: C₂₀H₃₀O₃

M.M.: 318 daltons

p.f.: 224,2 - 226,3° (dec)

Aspecto: Sólido amorfo branco

Solubilidade: Metanol



Espectroscopia na região do IV, filme (cm⁻¹): 3463; 2917; 2848; 2565; 1695; 1543; 1466; 1053; 1039; 849; 783

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CD₃OD): Ver tabela 8, p. 36

7.3 CF-3

Nome: *ent*-caur-16-en-6 α ,19-diol

F. M.: C₂₀H₃₂O₂

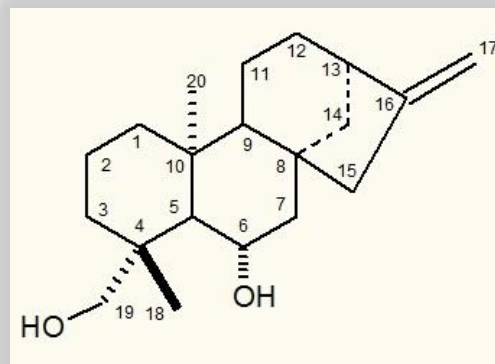
M.M.: 304 daltons

p.f.: 90,3 - 92,1 °C

$[\alpha]_D^{25} = -71^\circ (c 0,1; \text{CHCl}_3)$,

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, KBr (cm⁻¹): 3230; 2923; 2858; 1658; 1460; 1361; 1074; 1041; 1014; 873

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 19, p. 96

7.4 CF-4

Nome: ácido *ent*-16 α -hidroxicaur-11-en-19-óico

F. M.: C₂₀H₃₀O₃

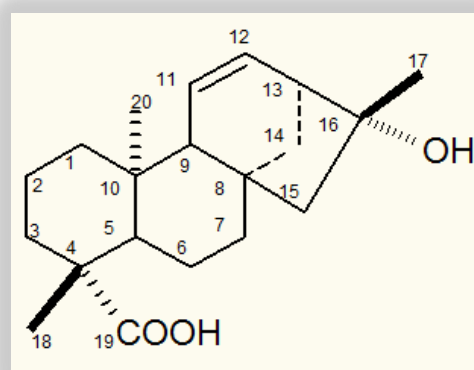
M.M.: 318 daltons

p.f.: 209,7 - 211,3 °C (dec)

$[\alpha]_D^{25} = -83^\circ (c 0,18; \text{CH}_3\text{OH})$

Aspecto: Sólido amorfo branco

Solubilidade: Metanol



Espectroscopia na região do IV, KBr (cm⁻¹): 3447; 3022; 2923; 2848; 1701; 1649; 1440; 1384; 1249; 1116

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CD₃OD): Ver tabela 22, p. 110

7.5 CF-5

Nome: *ent*-traquiloban-18,19-ol

F. M.: C₂₀H₃₂O₂

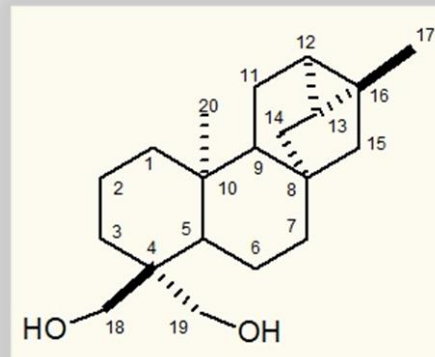
M.M.: 304 daltons

p.f.: 148,2 - 149,3 °C

[α]_D²⁵ = -41°(c 0,1; CHCl₃),

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, NaCl (cm⁻¹): 3332; 2923; 2857; 1698; 1440; 1382; 1029; 841; 736

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 12, p. 54

7.6 CF-5D1

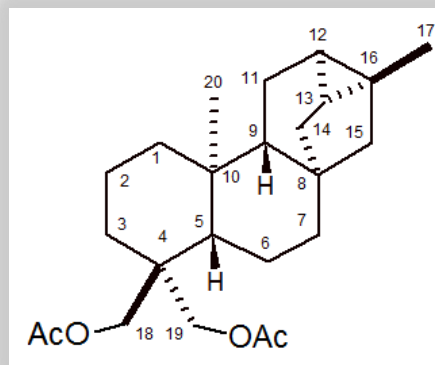
Nome: *ent*-18,19-diacetoxitraquilobano

F. M.: C₂₄H₃₆O₄

M.M.: 388 daltons

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, filme (cm⁻¹): 2925; 2860; 1737; 1444; 1371; 1225; 1032; 844

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 13, p. 62

7.7 CF-5D2

Nome: Ácido *ent*-18-nor-traquiloban-19-óico

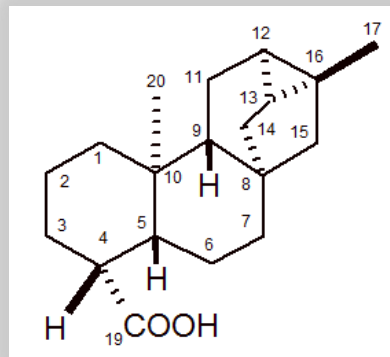
F. M.: C₁₉H₂₈O₂

M.M.: 388 daltons

p.f.: 139,3 - 142,2 °C

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, filme (cm⁻¹): 3361; 2919; 2851; 1687; 1452; 1242; 1102; 963; 845; 794

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 15, p. 73

7.9 CF-6

Nome: Ácido *ent*-caur-16-en-19-óico

F. M.: C₂₀H₃₀O₂

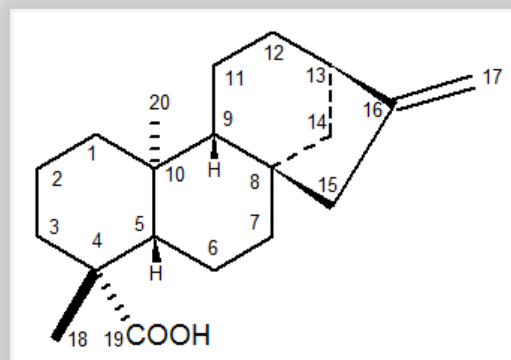
M.M.: 302 daltons

p.f.: 161,6 - 163,9 °C

[α]_D²⁵ = -99° (c 0,1; CHCl₃)

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, NaCl (cm⁻¹): 2934; 1691; 1464; 1260; 1193; 924; 874

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 17, p. 84

7.10 CF-7

Nome: *ent*-traquiloban-19-ol

F. M.: C₂₀H₃₂O

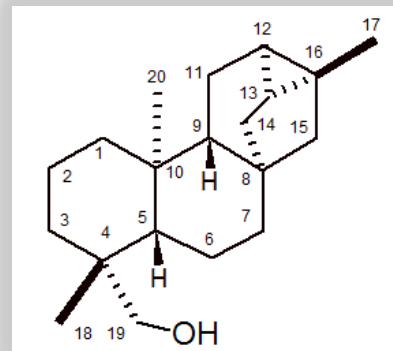
M.M.: 288 daltons

p.f.: 129,3 - 130,4 °C

[α]_D²⁵ = -47° (*c* = 0,1; CHCl₃)

Aspecto: Sólido cristalino incolor

Solubilidade: Clorofórmio



Espectroscopia na região do IV, KBr (cm⁻¹): 3333; 2929; 2852; 1468; 1444; 1382; 1292; 1091; 972; 842; 718

Espectroscopia de RMN ¹H e ¹³C (500 e 125 MHz, CDCl₃): Ver tabela 10, p. 45

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, R. J.; LOFTUS, P. **Proton and carbon-13 NMR spectroscopy, an integrated approach**. Great Britain: Heyden, 1980.
- ATTA-UR-RAHMAN; AHMAD, V.-U. **¹³C NMR of natural products - diterpenes v.2**. New York: Plenum Press, 1992.
- BACCELLI, C.; NAVARRO, I.; BLOCK, S.; ABAD, A.; MOREL, N.; QUETIN-LECLERCQ, J. Vasorelaxant activity of diterpenes from *Croton zambesicus* and synthetic trachylobanes and their structure-activity relationships. **J. Nat. Prod.**, v. 70, n. 6, p. 910-917, 2007.
- BANDARA, B. M. R.; WIMALASIRI, W. R.; MACLEOD, JOHN K. *Ent*-kauranes and oleananes from *Croton lacifferus*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 3, p. 869-871, 1988.
- BLOCK, S.; STEVIGNY, C.; DE PAUW-GILLET, M.-C.; DE HOFFMANN, E.; LLABRES, G.; ADJAKIDJE, V.; QUETIN-LECLERCQ, J. *Ent*-Trachyloban-3 β -ol, a new cytotoxic diterpene from *Croton zambesicus*. **Planta Med.** v. 68, n. 7, p. 647-649, 2002.
- BLOCK, S.; BACCELLI, C.; TINANT, B.; VAN MEERVELT, L.; ROZENBERG, R.; JIWAN, J.-L. H.; GABRIEL LLABRÈS, G.; DE PAUW-GILLET, M.-C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1165-1171, 2004.
- BLOCK, S.; BRKIC, D.; HUBERT, P.; QUETIN-LECLERCQ, J. A validated method for the quantification of pimarane and trachylobane diterpenes in the leaves of *Croton zambesicus* by capillary gas chromatography. **Phytochem. Anal.**, v. 16, n. 5, p. 342-348, 2005.
- BLOCK, S.; FLAMINI, G.; BRKIC, D.; MORELLI, I.; QUETIN-LECLERCQ, J. Analysis of the essential oil from leaves of *Croton zambesicus* Muell. Arg. growing in Benin. **Flav. Frag. J.**, v. 21, n. 2, p. 222-224, 2006.
- BRUICE, P.Y. **Organic Chemistry**, 4th ed. Prentice Hall, 2004, 819 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**, v.1. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 335-341 p.

CHEN, W.; YANG, X.-D.; ZHAO, J.-F.; ZHANG, H.-B.; LI, L. Two new, 1-oxygenated *ent*-kaurane-type diterpenes from *Croton kongensis*. **Helv. Chim. Acta**, v. 90, n. 8, p. 1554-1558, 2007.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivada**, v. 1. Rio de Janeiro: Imprensa nacional, 1984. 503-504 p.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: EUFC, 1981. 210 p.

CROSS, B. E.; GALT, R. H. B.; HANSON, J. R. New metabolites of *Gibberella fujikuroi*. Part III. The structures of 7-hydroxykaurenolide. **J. Chem. Soc.**, p. 2944-2961, 1963.

DAO, T. T.; LE, T. V. T.; NGUYEN, P. H.; THUONG, P. T.; MINH, P. T. H.; WOO, E.-R.; LEE, K. Y.; OH, W. K. SIRT1 inhibitory diterpenoids from the Vietnamese medicinal plant *Croton tonkinensis*. **Planta Med.**, v. 76, n. 10, p. 1011-1014, 2010.

DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3th ed. New York: John Wiley & Sons, 2009, 228 p.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, M.; GARRIDO, M. A. O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. 2.ed. São Paulo: Páginas & Letras, 2002. 22 p.

FRAGA, B. M. The trachylobane diterpenes. **Phytochem. Anal.**, p. 49-56, 1994.

GARCÍA, P. A.; OLIVEIRA, A. B.; BATISTA, R. Occurrence, biological activities and synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. **Molecules**, v. 12, p. 455-483, 2007.

GHISALBERTI, E. L. The biological activity of naturally occurring kaurane diterpenes. **Fitoterapia**, v. 68, n. 4, p. 303-325, 1997.

GIANG, P. M.; JIN, H. Z.; SON, P. T.; LEE, J. H.; HONG, Y. S.; LEE, J. J. *Ent*-kaurane diterpenoids from *Croton tonkinensis* inhibit LPS-induced NF- κ B activation and NO production. **J. Nat. Prod.**, v. 66, n. 9, p. 1217-1220, 2003.

GIANG, P. M.; SON, P. T.; LEE, J. J.; OTSUKA, H. Four *ent*-kaurane-type diterpenoids from *Croton tonkinensis* GAGNEP. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 52, n. 3, p. 879-882, 2004.

GIANG, P. M.; SON, P. T.; HAMADA, Y.; OTSUKA, H. Cytotoxic diterpenoids from Vietnamese medicinal plant *Croton tonkinensis* GAGNEP. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 53, n. 3, p. 296-300, 2005.

GRAIKOU, K.; ALIGIANNIS, N.; SKALTSOUNIS, A. L.; CHINOU, I.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; LITAUDON, M. New diterpenes from *Croton insularis*. **J. Nat. Prod.**, v. 67, n. 4, p. 685-688, 2004.

HARRIGAN, G. G.; BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I. Kaurane and trachylobane diterpenes from *Xilopia aethiopica*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 109-113, 1994.

HERZ, W.; GOVINDAN, S. V.; WATANABE, K. Diterpenes of *Helianthus rigidus* and *H. salicifolius*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 946-947, 1982.

JOLLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 12.ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1998.

KAPINGU, M. C.; GUILLAUME, D.; MBWAMBO, Z. H.; MOSHI, M. J.; ULISO, F. C.; MAHUNNAH, R. L. A. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*, **Phytochemistry**, v. 54, p. 767-770, 2000.

KUO, P.-C.; SHEN, Y.-C.; YANG, M.-L.; WANG, S.-H.; THANG, T. D.; DUNG, N. X.; CHIANG, P.-C.; LEE, K.-H.; LEE, E.-J.; WU, T.-S. Crotonkinins A and B and related diterpenoids from *Croton tonkinensis* as anti-inflammatory and antitumor agents. **J. Nat. Prod.**, v. 70, n. 12, p. 1906-1909, 2007.

LEONG, Y. W.; HARRISON, L. J. *Ent*-trachylobane diterpenoids from the liverwort *Mastigophora diclados*. **Phytochemistry**, v. 45, p. 1457-1459, 1997.

LEVERRIER, A.; MARTIN, M.-T.; SERVY, C.; OUZZANI, J.; RETAILLEAU, P.; AWANG, K.; MUKHTAR, M. R.; GUÉRITTE, F.; LITAUDON, M. Rearranged diterpenoids from the biotransformation of *ent*-trachyloban-18-oic acid by *Rhizopus arrhizus*. **J. Nat. Prod.**, v. 73, p. 1121-1125, 2010.

LI, C.; WU, S.; TAO, G.; SUN, H. Chemical constituents from the stem bark of *Croton hutchinsonianus*. **Yun. Zhiw. Yanj.**, v. 12, n. 4, p. 457-459, 1990.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2.ed., v.1. São Paulo: Instituto Plantarum, 1992. 99 p.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím. Nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MARTINSEN, A.; BACCELLI, C.; NAVARRO, I.; ABAD, A.; QUETIN-LECLERCQ, J.; MOREL, N. Vascular activity of a natural diterpene isolated from *Croton zambesicus* and a structurally similar synthetic trachylobane. **Vasc. Pharmacol.**, v. 52, n. 1-2, p. 63-69, 2010.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2ed. Fortaleza: EUFC, 1994.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e aproveitamento de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 3ed. Fortaleza: EUFC, 2007.

MINH, P. T. H.; NGOC, P. H.; QUANG, D. N.; HASHIMOTO, T.; TAKAOKA, S.; ASAKAWA, Y. A novel *ent*-kaurane diterpenoid from the *Croton tonkinensis* GAGNEP. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 51, n. 5, p. 590-591, 2003.

MINH, P. T. H.; NGOC, P. H.; TAYLOR, W. C.; CUONG, N. M. A new *ent*-kaurane diterpenoid from *Croton tonkinensis* leaves. **Fitoterapia**, v. 75, n. 6, p. 552-556, 2004.

MOHAMED, I. E.; EL NUR, E. B. E.; CHOUDHARY, M. I.; KHAN, S. N. Bioactive natural products from two Sudanese medicinal plants *Diospyros mespiliformis* and *Croton zambesicus*. **Rec. Nat. Prod.**, v. 3, n. 4, p. 198-203, 2009.

MONTE, F. J. Q.; ANDRADE, C. H. S.; CRAVEIRO, A. A.; BRAZ-FILHO, R. New tetracyclic diterpenes from *C. argyrophylloides*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n. 1, p. 55-58, 1984.

MONTE, F. J. Q.; DANTAS, E. M. G.; BRAZ-FILHO, R. New diterpenoids from *C. argyrophylloides*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 10, p. 3209-3212, 1988.

MORRIS, B. D.; CHARLET, L. D.; FOSTER, S. P. Isolation of the three diterpenoid acids from sunflowers, as oviposition stimulants for the banded sunflower moth, *Cochylis hospes*. **J. Chem. Ecol.**, v. 35, p. 50-57, 2009.

NGADJUI, B. T.; FOLEFOG, G. G.; KEUMEDJIO, F.; DONGO, E.; SONDEGAM, B. L.; CONNOLLY, J. D. Crotonadiol, a labdane diterpenoid from the stem bark of *Croton zambesicus*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 171-174, 1999.

NGAMROJNAVANICH, N.; TONSIENGSON, S.; LERTPRATCHYA, P.; ROENGSUMRAN, S.; PUTHONG, S.; PETSOM, A. Diterpenoids from the stem barks of *Croton robustus*. **Arch. Pharm. Res.**, v. 26, p. 898-901, 2003a.

NGAMROJNAVANICH, N.; SIRIMONGKON, S.; ROENGSUMRAN, S.; PETSOM, A.; KAMINURA, H. Inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase activity by (-)-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid and its derivatives. **Planta Med.**, v. 69, n. 6, p. 555-556, 2003b.

PHAN, M. G.; LE, T. H. D.; PHAN, T. S. Chemical transformation of *ent*-kaurane-type diterpenoids from *Croton tonkinensis* GAGNEP. I - hydrolysis, acetylation, and oxidation of *ent*-18-acetoxy-7 β -hydroxykaur-16-en-15-one. **Tap. Chi. Hoa. Hoc.**, v. 45, n. 3, p. 382-385, 2007.

PHAN, M. G.; NGUYEN, T. T. H.; PHAN, T. S. Chemical transformation of *ent*-kaurane-type diterpenoids from *Croton tonkinensis* GAGNEP. II - epoxidation of *ent*-18-acetoxy-7 β -hydroxykaur-16-en-15-one. **Tap. Chi. Hoa. Hoc.**, v. 45, n. 4, p. 502-504, 2007.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.18, p. 11-33, 2007.

SILVEIRA, E. R. Contribuição ao conhecimento químico de plantas nativas do Nordeste - *Croton sonderianus* Muell Arg. **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal do Ceará, 1979.

TAKAHASHI, J. A.; VIEIRA, H. S.; BOAVENTURA, A. M. D.; HANSON, J. R.; HITCHCOCK, P. B.; OLIVEIRA, A. B. Mono and diterpenes from seeds of *Xilopia sericea*. **Quim. Nova**, v. 24, n. 5, p. 616-618, 2001.

YANG, X.-D.; CHEN, W.; ZHAO, J.-F.; YANG, L.-J.; ZHANG, H.-B.; LI, L. *Ent*-kaurane diterpenes and phenolic compounds from *Croton kongensis* (Euphorbiaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 37, n. 3, p. 237-240, 2009.

WEBSTER, G. L. The genera of the Euphorbiaceae in the South-Eastern United States. **J. Arnold. Arbor**, v. 48, 1967, 303 p.

WILSON, S. R.; NEUBERT, L. A.; HUFFMAN, J. C. The chemistry of the Euphorbiaceae. A new diterpene from *Croton californicus*. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 98, n. 12, p. 3669-3374, 1976.